

Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel

**Synthèse d'inhibiteurs pour l'étude du
mécanisme de la porphobilinogène synthase.**

Thèse

présentée à la faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel

pour l'obtention du grade de docteur ès Sciences

par

Frédéric Stauffer

de Homberg (BE)

Chimiste diplômé de l'Université de Neuchâtel

Avril 2000

IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

**Synthèse d'inhibiteurs pour l'étude du mécanisme
de la porphobilinogène synthase**

de M. Frédéric Stauffer

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL
FACULTÉ DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de
Neuchâtel sur le rapport des membres du jury,

MM. R. Neier (directeur de thèse), R. Tabacchi et
D. Arigoni (ETH Zürich)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 17 avril 2000

Le doyen:



J.-P. Derendinger

"If we ignore the philosophical implications of the words, we may say that the chemist and the biologist in their study of living organisms must carry on both a search for structure and a search for substance, and that the second of these must precede the first."

Linus Pauling, prix Nobel 1954.

Abréviations.

δ -ALA	Acide 5-aminolévulinique
cat.	Catalytique
déc.	Décomposition
dia.	Diaстéréoisomérique
lit.	Littérature
major.	Majoritaire
minor.	Minoritaire
PBG	Porphobilinogène
PBGS	Porphobilinogène synthase
quant.	Quantitatif
rac.	Racémique
T.a.	Température ambiante

Abréviations chimiques usuelles : Ac = acétyle, Bn = benzyle, ^tBu = *tert*-butyle, Et = éthyle, Me = méthyle; pour les abréviations des réactifs chimiques se référer à Guido *et al.* [1].

Remarques.

- Les dénominations site-A et site-P s'appliquent aux sites de reconnaissance de l'enzyme de chacun des deux substrats; le site-A reconnaissant le substrat à l'origine du substituant acétate dans le produit et le site-P celui à l'origine du substituant propionate [2].
- Dans le présent travail, aucun produit n'a été synthétisé ou isolé comme un énantiomère pur ou enrichi. Par conséquent, nous avons omis, à dessein, de mentionner la nature racémique des mélanges d'énantiomères par l'abréviation *rac.* Cependant les centres stéréogéniques sont indiqués par une astérisque sur le dessin des molécules.
- Un certain nombre de produits synthétisés dans ce travail est connu dans la littérature; dans une certaine mesure, nous avons appliqué des voies nouvelles ou tout au moins personnalisées d'obtention de ces composés sans prétention d'en améliorer l'efficacité mais à des fins exploratoires. Le but de ce travail synthétique a été l'obtention d'une quantité suffisante de chaque inhibiteur à tester sur l'enzyme porphobilinogène synthase dans une pureté telle que les résultats d'inhibition puissent être fiables et interprétés. Lorsque nécessaire, la pureté a été privilégiée sur le rendement et la plupart des réactions n'ont pas été optimisées bien qu'elles aient été conduites avec toute la rigueur scientifique requise.

Ce travail a été effectué d'octobre 1996 à février 2000 à l'institut de chimie de l'université de Neuchâtel sous la direction du professeur Reinhard Neier. Je tiens à remercier ce dernier pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur un projet scientifique intéressant avec une grande liberté d'action.

Mes respectueux remerciements vont également au professeur Duilio Arigoni et au professeur Raffaele Tabacchi qui ont pris part au jury de cette thèse.

Je remercie particulièrement les personnes qui ont pris part activement à la réalisation de ce travail synthétique : Caroline Kiener, Joël Grosvernier, Christian Ragot, Blaise Dardel, Gilles Gasser et Manuel Tzouros. Je remercie tout particulièrement Dr. Caroline Jarret et également Eleonora Zizzari et Dr. Jannette Bobál'ova qui ont testé sur la porphobilinogène synthase les composés synthétisés dans ce travail. Je remercie également tout mes collègues : Dr. Pavel Bobál, Dr. Christiane Bobilier, Dr. Elena Cires, Dr. Thomas Engeloeh, Dr. Alain Greppi, Dr. Matthias Henz, Dr. Klaus Neuschütz, Dr. Jean-Philippe Roblin, Dr. Olivier Siri, Dr. Thomas Thyran, Dr. Jörg Velker, Yann Berger, Jean-Philippe Fauric, Michael Schmid, Jean-Mary Simone, Carole Soldermann, Nicolas Solderman.

Je remercie sincèrement pour le service de spectrométrie de masse Christine Poliat, Armelle Michel, Camille Perret et pour le service de spectroscopie résonance magnétique nucléaire Dr. Claude Saturnin et Heinz Bursian.

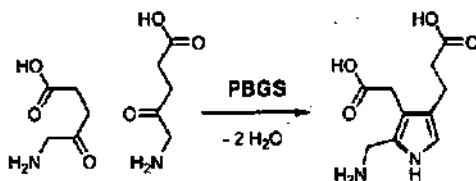
Mes remerciements vont également à l'ensemble des personnes qui permettent par leur travail de faire vivre scientifiquement, administrativement et humainement l'institut de chimie de l'université de Neuchâtel.

Ce travail a été soutenu financièrement par l'état de Neuchâtel, par le Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique, le Fonds des Industries Chimiques Bâloises et par Hoffmann-La Roche.

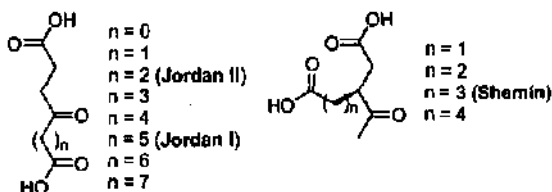
Finalement, je remercie ma famille, et en particulier ma mère, pour le soutien qu'elle m'a apporté durant mes études.

Résumé.

Nous avons synthétisé des inhibiteurs potentiels de la porphobilinogène synthase pour l'étude du biomécanisme de la condensation de deux molécules d'acide 5-aminolévulinique pour former le porphobilinogène. Ce travail est focalisé sur la détermination de la séquence de formation des liaisons entre les deux substrats : liaison C-C et liaison C-N.



Nous avons appliqué une hypothèse se basant sur la reconnaissance par le site actif des analogues d'intermédiaires clés postulés dans les différents mécanismes. Pour les intermédiaires clés de chaque mécanisme une structure minimale a été déterminée qui permet une interaction efficace qui comprend le squelette, de taille déterminée, séparant deux fonctions carboxylates et une fonction céto; cette dernière est responsable de la fixation de l'analogue de manière covalente à l'enzyme par une base de Schiff. Nous avons synthétisé une série systématique de γ -oxodiacides comprenant les structures minimales imitant les intermédiaires clés des trois mécanismes postulés (Shemin, Jordan I et Jordan II). L'évolution du potentiel d'inhibition et du type d'inhibition dans cette série a été observée et interprétée. L'inhibition quasi-irréversible observée pour l'acide γ -oxosébacique (structure minimale type Jordan I) est en faveur d'un mécanisme postulant une formation de la liaison C-N entre les deux molécules de substrat précédant la formation de la liaison C-C.



Ce résultat est équivoque car l'acide γ -oxosébacique est également un analogue de bissubstrat. Nous avons synthétisé d'autres structures avec soit un caractère d'analogue d'intermédiaire, soit un caractère d'analogue de bissubstrat plus marqué dans le but de confirmer notre conclusion provisoire favorisant le mécanisme Jordan I.

A partir de la structure de l'acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique, considéré comme un analogue de bissubstrat, nous avons établi l'interaction sélective du groupe nitro dans le site de reconnaissance du carboxylate du site-A et la meilleure tolérance du site-P pour le groupe méthylester comme remplaçant du carboxylate. L'interaction optimale du groupe nitro n'a lieu que lorsqu'il est positionné en β d'une fonction céto.

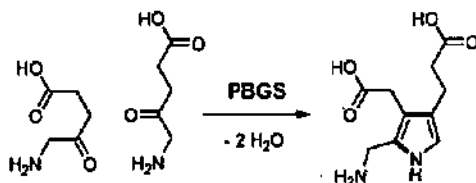
Nous avons établi que les inhibiteurs du type succinylacétone (1,3-dicétones) ne stabilisent leur interaction avec l'enzyme que s'ils sont énolisables suggérant une stabilisation sous forme cétoénamine.

Des analogues de substrats ont été synthétisés dans le but d'augmenter nos connaissances sur le site de fixation du second substrat (site-A). L'élucidation du mode de fixation de l'acide 5-aminolévulinique dans ce site devrait pouvoir être rendue possible par la cocrystallisation de l'enzyme avec l'acide 4,7-dioxosébacique, un des analogues de bissubstrat que nous avons développé dans ce travail.

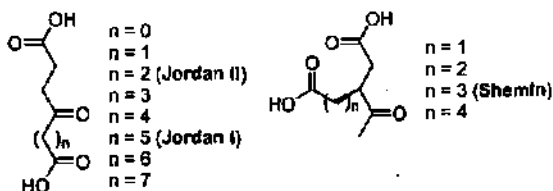
Finalement, nous proposons une stratégie nouvellement appliquée à l'étude du mécanisme de la porphobilinogène synthase visant à introduire sur le substrat un substituant fluoro à la place d'un hydrogène (lié à un carbone) qui est abstrait lors de la double condensation conduisant au porphobilinogène. Le substituant fluoro devrait bloquer la voie biosynthétique au niveau d'un intermédiaire et jouer le rôle de marqueur ^{19}F -RMN pour identifier la structure de l'intermédiaire. Nous présentons un travail synthétique exploratoire pour l'introduction d'un ou plusieurs substituants fluoro en position 3 et 5 de l'acide 5-aminolévulinique et de l'analogue acide lévulinique.

Summary.

We have synthesised potential inhibitors of porphobilinogen synthase to study the biomechanism of the condensation of two molecules of 5-aminolevulinic acid to form porphobilinogen. We have focused our work on the determination of the bonds formation sequence between the two substrates : C-C bond and C-N bond.



We have applied a hypothesis founded on the recognition by the active site surface of the key intermediates postulated by the different mechanisms. We have determined a minimal structure mimicking the key intermediates of each mechanism which is able to interact efficiently with the enzyme and which is made of a right shape skeleton between two carboxylates and a keto function; the ketone is responsible for the covalent linkage of the intermediate to the enzyme through a Schiff base. We have synthesised a systematic series of γ -oxodiacyls which contains the minimal structures mimicking the key intermediates of the three postulated mechanisms (Shemin, Jordan I and Jordan II). We have observed and explained the changes in the inhibition potency and behaviour for the series. The quasi-irreversible inhibition observed for the γ -oxosebacic acid (minimal structure type Jordan I) is in favour of a mechanism for which the C-N bond formation occurs prior to the C-C bond formation between the two substrates.



This results is ambiguous because the γ -oxosebacic acid is also a bisubstrate analog. We have synthesised some other structures with either a feature of intermediate analog or a feature of bisubstrate analog more expressed so that we could confirm our provisional conclusion in favour of the Jordan I mechanism.

Based on the structure of the *N*-(succinyl)-5-aminolevulinic acid, regarded as a bisubstrate analog, we have established a selective interaction of the nitro group in the carboxylate recognition site at the A-site and a better toleranec of the P-site for the methylester as replacment for the carboxylate. We have also established that the optimal interaction of the nitro group occurs when it is located in β -position of a ketone.

We have established that the inhibitors of the succinylacetonone type (1,3-diketones) do stabilise their interaction with the enzyme only if their can be enolised what suggests a stabilisation in a ketoenamine form.

We have synthesised some substrate analogs with the aim of increasing the knowledge about the second substrate fixation site (site-A). The way how the 5-aminolevulinic acid interacts in this site should be elucidated by the cocrystallisation with the enzyme of the 4,7-dioxosebacic acid: one of the bisubstrate analogs we have developed in this work.

Finally, we propose a strategy, newly applied to the study of the mechanism of the porphobilinogen synthase, that is based on the replacement by a fluoro group on the substrate of a hydrogen (bound to a carbon) which is removed during the double condensation leading to porphobilinogen. The substituent fluoro should block the biosynthetic pathway at the level of an intermediate and is used as a ^{19}F -NMR marker to identify the structure of the intermediate. We are presenting a exploratory synthetic work for the introduction of one or several fluoro substituents in position 3 or 5 of 5-aminolevulinic acid and of the analog levulinic acid.

1.1 INTRODUCTION.	1
1.1.1 LA PORPHOBILINOGENE SYNTHASE (PBGS).	1
1.1.1.1 Rôle et historique de la porphobilinogène synthase.	1
1.1.1.1.1 Les enzymes dans les systèmes vivants.	1
1.1.1.1.2 Rôle et importance de la porphobilinogène synthase.	2
1.1.1.1.3 Historique de l'étude de la porphobilinogène synthase.	4
1.1.1.2 Structures et mécanismes de la porphobilinogène synthase.	9
1.1.1.2.1 Structure de la porphobilinogène synthase.	9
1.1.1.2.2 Les différents mécanismes postulés pour la porphobilinogène synthase.	14
1.1.1.2.3 Implications stéréochimiques et mécanistiques des postulats Jordan I et Jordan II.	18
1.1.1.3 Inhibition de la porphobilinogène synthase.	28
1.1.1.3.1 Design d'inhibiteurs pour une étude mécanistique de la porphobilinogène synthase.	28
1.1.1.3.2 Type d'inhibiteurs et cinétique de la porphobilinogène synthase.	31
1.1.1.3.3 Sélection d'inhibiteurs connus de la porphobilinogène synthase.	34
1.1.2 LES COMPOSES FLUORES.	36
1.1.2.1 Les sources de fluor électrophile.	36
1.1.2.2 Le substituant fluoro.	37
1.1.2.3 Le rôle des composés organiques fluorés dans les systèmes vivants.	39
1.1.3 LES COMPOSES NITRO ET LES 1,3-DICETONES.	42
1.1.3.1 Le comportement acido-basique des composés nitro.	42
1.1.3.2 La tautomérie des 1,3-dicétones.	43
1.1.3.3 Inhibition de la porphobilinogène synthase par la succinylacétone.	43
1.2 BUT.	44
1.3 RESULTATS.	45
1.3.1 SYNTHÈSES DES ANALOGUES DE SUBSTRAT.	45
1.3.1.1 Synthèses des analogues fluorés de substrat.	45
1.3.1.1.1 Synthèses des analogues de substrat fluorés en position 5.	45
1.3.1.1.2 Synthèses des analogues de substrat fluorés en position 3.	48
1.3.1.2 Synthèses des analogues dérivés de la succinylacétone.	51
1.3.1.2.1 Synthèses des dérivés de la 2,4-pentandione.	51
1.3.1.2.2 Synthèses des dérivés de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque (succinylacétone).	52
1.3.1.2.3 Synthèses des dérivés cycliques de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque.	53
1.3.1.3 Synthèses des autres analogues de substrat.	55
1.3.1.3.1 Synthèses des substrats artificiels potentiels de la porphobilinogène synthase.	55
1.3.1.3.2 Synthèses des analogues de substrat avec modification(s) en position 1, 3, 4 ou/et 5.	57
1.3.2 SYNTHÈSES DES ANALOGUES D'INTERMÉDIAIRES POSTULES.	60
1.3.2.1 Synthèses des analogues d'intermédiaires postulés du mécanisme Jordan I.	60
1.3.2.1.1 Synthèses des analogues du type acyloxime et acylhydrazone.	60
1.3.2.1.2 Synthèses des analogues d'intermédiaires avec une fonction carbonyle en position γ .	62
1.3.2.2 Synthèse de la série des γ -oxodiacides.	64

1.3.2.2.1	Synthèses des γ -oxodiacides linéaires.	64
1.3.2.2.2	Synthèses des γ -oxodiacides du type acide lévulinique substitué en position 3.	67
1.3.2.3	Synthèses des dérivés du type analogue d'intermédiaire ou de "bissubstrat".	68
1.3.2.3.1	Synthèses des analogues d'intermédiaires contenant deux fonctions carbonyles en position γ .	68
1.3.2.3.2	Synthèses des dérivés de l'acide lévulinique contenant une deuxième fonction cétonc.	69
1.3.2.3.3	Synthèse d'un inhibiteur du type bissubstrat.	70
1.3.2.4	Synthèses de dérivés nitro et méthylester analogues des intermédiaires Jordan I.	71
1.3.2.4.1	Synthèses des dérivés nitro et méthylester analogues d'intermédiaires contenant une fonction carbonyle en position γ .	71
1.3.2.4.2	Synthèses des dérivés nitro et méthylester analogues d'intermédiaires contenant une deuxième fonction carbonyle en position γ .	73
1.4	DISCUSSION.	75
1.4.1	LES ANALOGUES D'INTERMÉDIAIRES POSTULÉS.	75
1.4.1.1	Les analogues d'intermédiaires postulés dans le mécanisme Jordan I et II.	75
1.4.1.2	Stratégie des analogues d'intermédiaires postulés dans le mécanisme Jordan I.	77
1.4.1.3	La série des γ -oxodiacides.	81
1.4.1.4	Inhibition par des analogues d'intermédiaires ou par des analogues de bissubstrats ?	84
1.4.2	LES ANALOGUES DE SUBSTRAT.	89
1.4.2.1	Les analogues de substrat fluorés.	89
1.4.2.2	Forme cyclique du 5-diazolévulinate de méthyle.	94
1.4.2.3	Les dérivés de la succinylacétone.	95
1.4.2.4	Les analogues de substrat modifié en position 5.	99
1.4.2.5	Les analogues de substrat modifié en position 3.	101
1.4.2.6	Les autres modifications du substrat.	102
1.4.3	L'INHIBITION SELECTIVE DES DEUX SITES DE RECONNAISSANCE (SITE-A ET SITE-P).	103
1.4.4	LES SUBSTRATS ARTIFICIELS POTENTIELS DE LA PORPHOBILINOGENE SYNTHASE.	106
1.5	CONCLUSION.	108
2.	PARTIE EXPERIMENTALE.	112

2.1	TECHNIQUES ET PRODUITS.	112
2.1.1	TECHNIQUES.	112
2.1.1.1	Chromatographie.	112
2.1.1.1.1	Chromatographie sur couche mince (CCM).	112
2.1.1.1.2	Flash-colonnes chromatographiques.	112
2.1.1.1.3	Chromatographie en phase gazeuse (GC).	112
2.1.1.2	Spectroscopie infrarouge (IR).	113
2.1.1.3	Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN).	113
2.1.1.4	Spectroscopie de masse (MS).	113
2.1.1.5	Analyses élémentaires.	114
2.1.1.6	Point de fusion.	114
2.1.1.7	Verreries, agitation, système de chauffage et de refroidissement et techniques.	114
2.1.2	PRODUITS.	114
2.1.2.1	Solvants standards.	114
2.1.2.2	Produits chimiques.	115

2.2 SYNTHÈSES.	118
2.2.1 SYNTHÈSES DES ANALOGUES DE SUBSTRATS.	118
2.2.1.1 Synthèses des analogues fluorés de substrat.	118
2.2.1.1.1 Synthèses des analogues de substrat fluorés en position 5.	118
2.2.1.1.2 Synthèses des analogues de substrat fluorés en position 3.	132
2.2.1.2 Synthèses des analogues dérivés de la succinylacétone.	140
2.2.1.2.1 Synthèses des dérivés de la 2,4-pentandione.	140
2.2.1.2.2 Synthèses des dérivés de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque (succinylacétone).	142
2.2.1.2.3 Synthèses des dérivés cycliques de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque.	150
2.2.1.3 Synthèses des autres analogues de substrats.	158
2.2.1.3.1 Synthèses des substrats artificiels potentiels de la porphobilinogène synthase.	158
2.2.1.3.2 Synthèses des analogues de substrat avec modification(s) en position 1, 3, 4 ou / et 5.	164
2.2.2 SYNTHÈSES DES ANALOGUES D'INTERMÉDIAIRES POSTULÉS.	177
2.2.2.1 Synthèses des analogues d'intermédiaires postulés du mécanisme Jordan 1.	177
2.2.2.1.1 Synthèses des analogues du type acyloxime et acylhydrazone.	177
2.2.2.1.2 Synthèses des analogues d'intermédiaires avec une fonction carbonyle en position γ .	181
2.2.2.2 Synthèses de la série des γ -oxodiacides.	187
2.2.2.2.1 Synthèses des γ -oxodiacides linéaires.	187
2.2.2.2.2 Synthèses des γ -oxodiacides du type acide lévulinique substitué en position 3.	200
2.2.2.3 Synthèses des dérivés du type analogue d'intermédiaire ou de "bissubstrat".	210
2.2.2.3.1 Synthèses des analogues d'intermédiaires contenant deux fonctions carbonyles en position γ .	210
2.2.2.3.2 Synthèses des dérivés de l'acide lévulinique contenant une deuxième fonction cétone.	213
2.2.2.3.3 Synthèse d'un inhibiteur du type analogue de bissubstrat.	218
2.2.2.4 Synthèses de dérivés nitro et méthylester analogues des intermédiaires Jordan 1.	222
2.2.2.4.1 Synthèses des dérivés nitro et méthylester analogues d'intermédiaires contenant une fonction carbonyle en position γ .	222
2.2.2.4.2 Synthèses des dérivés nitro et méthylester analogues d'intermédiaires contenant une deuxième fonction carbonyle en position γ .	229
3. ANNEXES.	237
3.1 NOUVELLE SYNTHÈSE DE DÉRIVÉS 3-ACÉTYL-2-HYDROXYFURANE SUBSTITUÉE EN POSITION 5 ET DE 2-MÉTHYLFURANES SUBSTITUÉS EN POSITIONS 3 ET 5.	237
3.1.1 DISCUSSION DES MÉCANISMES.	239
3.1.2 PARTIE EXPÉRIMENTALE.	241
3.2 SYNTHÈSE DE L'ACIDE 3-(DIMÉTHYL-4-MÉTHOXYCARBONYLMÉTHYL)PHÉNYLSILYL)-PROPIONIQUE (N9) À PARTIR DE L'ACIDE 3-(DIMÉTHYL-4-HYDROXYMÉTHYL)-PHÉNYLSILYL)PROPIONIQUE (N1).	250
4. LITTÉRATURE.	255

1. Partie théorique et résultats.

1.1 Introduction.

1.1.1 La porphobilinogène synthase (PBGs).

1.1.1.1 Rôle et historique de la porphobilinogène synthase.

1.1.1.1.1 Les enzymes dans les systèmes vivants.

Une enzyme est un biocatalyseur de type protéique qui accélère une réaction spécifique d'un ou de plusieurs substrats plus ou moins spécifiques. L'enzyme est un édifice moléculaire, voire supramoléculaire, d'une taille respectable d'un à plusieurs nanomètres de côté constitué de plusieurs dizaines à centaines d'acides aminés. Le biopolymère linéaire s'arrange en structures secondaires, tertiaire, voire quaternaire, par des interactions multiples non covalentes (exception faite des ponts disulfures), qui lui confèrent son activité unique; ceci est appelé en anglais *protein folding* et reste d'ailleurs un sujet d'études actuel [3].

L'enzyme doit être appréhendée, du point de vue de la réaction chimique, comme un catalyseur efficace, certes, mais également comme un "solvant" ou une surface inhomogène. Se basant essentiellement sur 20 acides aminés différents, ce qui représente une diversité restreinte, sur quelques molécules d'eau et sur quelques cofacteurs organiques et métalliques, la nature a développé un système autorégulé extrêmement complexe de reconnaissances et de catalyse chimique sélectives ou le plus souvent spécifiques. S'appuyant sur une approche du type combinatoire et évolutive, la nature est parvenue à mettre au point ce set de catalyseurs très efficaces qui est nécessaire à la gestion dirigée d'un système dynamique hautement organisé. Il est capital pour les systèmes vivants de diriger le flux entropique pour ainsi minimiser les déchets et interférences chimiques. La sélection entre réactions désirées et non désirées des molécules réactives s'opère grâce à l'accélération de la voie synthétique désirée; une accélération importante, usuellement d'au moins six ordres de grandeur, permettant une grande sélectivité. Une grande vitesse des transformations chimiques est également requise pour une adaptation rapide à des contraintes extérieures au système. De surcroît, plus l'enzyme est efficace pour catalyser une réaction, moins il en est requis pour accomplir la transformation. Du point de vue de la régulation, une moindre action est nécessaire pour initier et pour contrôler cette transformation. La production des enzymes étant relativement gourmande en énergie, il en résulte également une économie énergétique pour l'organisme vivant.

Les enzymes sont des récepteurs à substrats mettant en oeuvre des interactions intermoléculaires multiples et spécifiques pouvant être imagés par le modèle clé-serrure de Fischer [4]. Ce modèle, qui fut certainement le point de départ de la chimie supramoléculaire, reste valide bien que les enzymes, qui sont des entités flexibles, subissent usuellement une adaptation structurale induite par le substrat. Le concept de récepteur introduit par Ehrlich [5] implique que la reconnaissance précède nécessairement l'action, ici catalytique. Le rôle de récepteur n'est pas indépendant de la fonction catalytique. C'est l'orientation du substrat par rapport aux groupes fonctionnels de l'enzyme, et éventuellement par rapport au second substrat, qui favorise entropiquement la réaction et qui permet par stabilisation des états de

transition énergétiquement défavorables d'avantager cette dernière du point de vue enthalpique. Les enzymes sont donc des catalyseurs formidablement efficaces qui ont atteint pour certaines, l'anhydrase carbonique par exemple, un facteur d'accélération pour la réaction catalysée de 10^{10} avec une constante de vitesse pour la réaction catalysée k_{cat} de 10^6 s^{-1} et un K_M de 8.3 mM (HCAII, humain) [6]. Le rapport de k_{cat} sur K_M ($1.2 \times 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) quasi idéal de l'anhydrase carbonique confronte l'enzyme à la limite même de la diffusion du substrat, où chaque molécule de substrat diffusant (10^8 - $10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) dans le site actif est convertie en produit.

1.1.1.1.2 Rôle et importance de la porphobilinogène synthase.

La porphobilinogène synthase (E.C. 4.2.1.24) est la première enzyme commune à tous les organismes de la voie biosynthétique des composés tétrapyrroliques [7]. La PBGS catalyse, de manière non symétrique [8], la condensation de deux molécules du même substrat, l'acide 5-aminolévulinique (δ -ALA) (1), pour former le porphobilinogène (PBG) (2), un pyrrole trisubstitué [9,10] (Figure 1 a). Le PBG (2) n'est pas le produit majoritaire obtenu lors de la condensation en conditions basiques de deux molécules de δ -ALA (1). Le produit majoritaire est une molécule symétrique : le 2,5-di-(2-carboxyéthyl)-pyrazine (3) [11] (Figure 1 b). Ce dernier est obtenu par oxydation du composé dihydropyrazine 4 par l'oxygène moléculaire. De surcroît, le PBG (2) est formé en compétition avec le pseudo-PBG (5) et ce dernier semble être largement favorisé [12] (Figure 1 c).

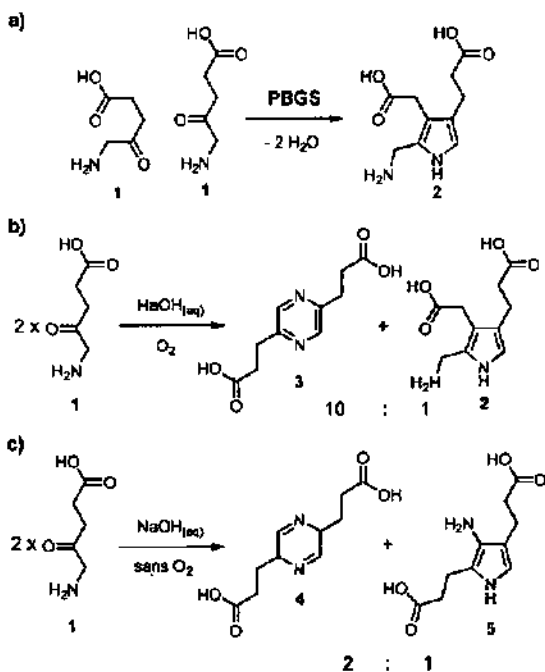


Figure 1 : Condensation biosynthétique ou chimique de l'acide 5-aminolävulinique.

Scott *et al.* [13] ont décrit la synthèse du PBG catalysée par l'Amberlite IR-45, résine contenant des fonctions amine primaire et secondaire, avec un rendement modeste mais reproductible (~10%) après 20 jours d'incubation. Cet exemple d'un catalyseur trouvé empiriquement catalysant la formation du PBG est, à notre connaissance, unique si nous excluons le rapport dans un brevet [14] proposant une PBGS-anticorps catalytique hypothétique, dont l'aptène, instable, n'a jamais été obtenu (correspondance du 1.7.98 avec R.J. Massey). Des travaux ont été menés dans le groupe de Lerner (sous la direction de Barbas III) au Scripps par Velker pour obtenir un tel anticorps de type aldolase mais sans succès (communication personnelle).

Le porphobilinogène est le second intermédiaire destiné à la formation des composés tétrapyrroliques qui tiennent une place centrale dans les processus fondamentaux de la vie : chromophore, transport d'électron (chlorophylle), d'oxygène (hémoglobine), oxydation (cytochrome P450), transpositions moléculaires (vitamine B₁₂), etc. Le précurseur tétrapyrrolique commun de tous ces composés est l'uroporphyrinogène III (6) [15,16] qui est obtenu à partir de quatre molécules de porphobilinogène par l'action successive de la porphobilinogène déaminase (hydroxyméthylbilane synthase) et de l'uroporphyrinogène III (co-)synthase (Figure 2).

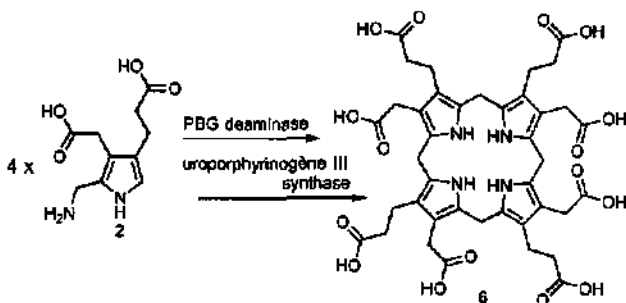


Figure 2 : Formation de l'uroporphyrinogène III à partir de quatre molécules de PBG.

Il est intéressant de constater que deux voies différentes permettent d'obtenir le substrat, l'acide 5-aminolévulinique (1), alors qu'une seule enzyme, avec un degré d'homologie relativement élevé parmi les différentes sources isolées [8], condense ce substrat; il est vrai, avec des besoins en cofacteurs métalliques variables [17]. L'acide 5-aminolévulinique (1) est synthétisé par certains procaryotes et par les animaux dans leurs mitochondries par dérivation du cycle de Krebs au niveau du succinyle coenzyme A (succinyl-CoA) dans le cycle du succinate - glycine [18]. La glycine (Gly) est acylée pour former l'acide 2-amino-3-oxoadipique qui est décarboxylé pour former l'acide 5-aminolévulinique (1). D'autres procaryotes, les algues et les végétaux dans leurs chloroplastes synthétisent l'acide 5-aminolévulinique à partir de l'acide glutamique par l'intermédiaire du glutamyl-ARN (7). Le glutamate activé est réduit à l'aldéhyde (8) puis transformé par transamination [19,20]; Jordan a proposé une structure cyclique chimiquement plus stable pour l'intermédiaire qui est réarrangé en δ-ALA [21] mais cette hypothèse semble erronée [22]. Les deux voies de biosynthèse ne sont pas exclusives puisque chez *Euglena gracilis* les deux voies sont présentes mais elles sont compartimentées; la voie du glutamate est localisée dans les

chloroplastes [23]. Chez *E. coli*, c'est la deuxième voie de synthèse présentée pour δ -ALA qui opère, elle est supposée être antérieure à la première puisque présente dans des bactéries archaïques anaérobies [24].

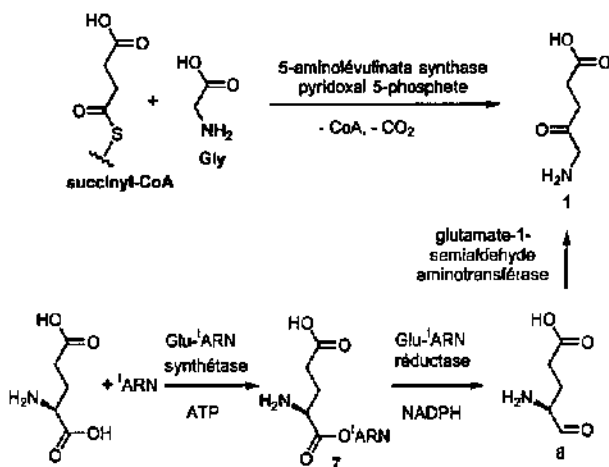


Figure 3 : Les deux voies biosynthétiques de l'acide 5-aminolévulinique.

L'étude de la porphobilinogène synthase constitue un défi passionnant pour un chimiste dû à la dichotomie entre la réactivité chimique et biocatalysée de l'acide 5-aminolévulinique (1). La question de la voie de synthèse prébiotique du PBG (2) reste à d'ailleurs un problème chimique important en suspend malgré les travaux d'Eschenmoser sur la chimie prébiotique anhydre et anaérobie [25]. Le second intérêt chimique de cette transformation est sa complexité relative avec la formation de deux liaisons distinctes entre les deux molécules de substrat, impliquant formellement une réaction de type aldol et crotonisation en plus d'une condensation entre une fonction amine et une fonction cétone (réaction de type Knorr).

1.1.1.1.3 Historique de l'étude de la porphobilinogène synthase.

En 1946, Shemin et Rittenberg furent les premiers à mettre en évidence le caractère de précurseur de la glycine dans la biosynthèse de l'hème grâce à une expérience, effectuée sur le premier, de marquage isotopique au ¹⁵N *in vivo* [26]. Le début des années cinquante voit l'identification de l'acide 5-aminolévulinique (1) [27] et du porphobilinogène (2) [9,10,16,28] comme précurseurs des composés tétrapyrroliques.

Très rapidement, un certain nombre de préparations enzymatiques issues de cellules aussi bien de plantes que d'animaux a été obtenu et la conversion enzymatique de deux molécules d'acide 5-aminolévulinique (1) en porphobilinogène (2) a été étudiée par Falk, Dresel et Rimington [29], Gibson, Neuberger et Scott [30,31], Schmid et Shemin [32] et Granick [33].

Parmi toutes les contributions des pionniers de l'étude de la PBGS, nous devons citer celle de Granick et Mauzerall [34] en 1958. Elle constitue pour l'auteur une *milestone* dans l'étude de

la PBGS. Différents points cruciaux y ont été discutés sur l'enzyme extraite de deux sources (lapin et poulet). Ces points sont le fait qu'une seule enzyme catalyse la transformation de deux δ -ALA en PBG, que les optima de pH sont de 6.3 (lapin) et 6.7 (poulet) avec une chute très rapide d'activité en direction du domaine acide par rapport à celle en direction du domaine basique. Des groupes SH essentiels pour l'activité sont présents et la PBGS est inhibée par des métaux ainsi que par l'EDTA (enlèvement d'un métal essentiel du complexe enzyme substrat) et par un motif γ -carboxylcarboxylate. Le méthylester de δ -ALA a été le seul autre substrat qui forme un pyrrole (vitesse 50% de celle avec δ -ALA) et aucun pyrrole mixte n'a été détecté. L'observation d'une cinétique de Michaelis-Menten a été expliquée par la formation d'un premier complexe E-S, avec une constante de dissociation inférieure au K_{Mapp} , et inférieure à la plus faible concentration de substrat utilisée pour les tests, puis du second complexe avec le second substrat, fixé moins fortement; la vitesse limitante de la transformation étant la formation du produit. La présence d'un métal catalytique dans le site-A a été postulée ainsi qu'une séquence de formation des liaisons entre les deux substrats du type Jordan I (voir chapitre 1.1.1.2.2).

Dix ans plus tard, une étude de Shemin sur la porphobitinogène synthase isolée de *R. spheroides* [35-37] constitue un premier tournant du point de vue mécanistique. L'activation de l'enzyme, qui montre les caractéristiques d'une enzyme allostérique influencée par des monocations (Li^+ , K^+ , Rb^+ , NH_4^+), semble être reliée à l'association de deux et trois "monomères" (= octamères) alors que l'activation moindre observée avec Na^+ , Mg^{2+} et Mn^{2+} (faibles concentrations) et de fortes concentrations de substrat en est indépendante. En fait, ces observations sont typiques de cette source et comme nous le verrons plus loin, le rôle des métaux dans la PBGS est un point délicat. Cependant, ce travail adresse des questions fondamentales sur la séquence de formation des liaisons : les formations des liaisons entre les molécules de substrat sont-elles toutes deux catalysées par l'enzyme? Si uniquement la réaction de type aldol est catalysée par l'enzyme, alors est-ce que la formation de la liaison C-N a lieu avant ou après? Si les deux liaisons sont catalysées par l'enzyme, laquelle précède l'autre? Si la réaction de type aldol a lieu initialement, est ce que la crotonisation précède la formation de la liaison C-N ou est postérieure à celle-ci? L'expérience mécanistique fondamentale a été l'identification de la formation d'une base de Schiff entre le substrat et l'enzyme identifiée par incubation de l'enzyme avec l'acide 4- ^{14}C -5-aminolévulinique suivi d'un trappage par le tétrahydroborure de sodium de la base de Schiff formée. Un mécanisme est proposé pour la première fois se basant sur un certain nombre de faits expérimentaux (voir chapitres 1.1.1.2.2 et 1.1.1.3.2).

Le début des années septante voit l'avènement de la discussion sur la réactivité *half-site* de la PBGS [38-40], ainsi que celle sur sa structure quaternaire. D'abord décrite comme un hexamère, elle est finalement identifiée comme octamérique (voir chapitre 1.1.1.2.1). Une classification de PBGS inhibée ou non par EDTA est proposée par Shemin [41]. En 1976, Akhtar reporte l'incorporation d'un tritium en position 2 du PBG (position 5 du substrat site-P) à partir de la 2- ^{14}C -2- 3H_2 -glycine convertie sélectivement en acide (S)-5- ^{14}C -5- 3H -5-aminolévulinique par la 5-aminolévulinate synthase par élimination du proton pro-R [42] puis convertie par la PBGS issue dans un premier temps de *R. spheroides* [43]. Cette expérience démontre une élimination sélective du proton pro-R de la position 5 du substrat site-P (Figure 4).

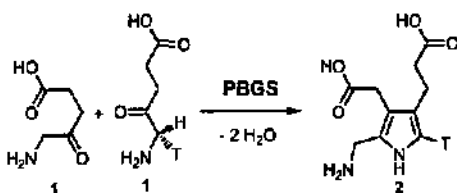


Figure 4 : Elimination sélective du proton pro-R du δ -ALA site-P.

Nous devons mentionner, la même année, une revue de Cheh et Neilands [44] dans laquelle le rôle du cofacteur métallique a été analysé du point de vue fonctionnel : rôle structural, catalytique et / ou de fixation du substrat. Par analogie aux aldolases de classe II, un zinc catalytique est introduit dans les postulats mécanistiques (voir chapitre 1.1.1.2.2). Bien que Neilands ait déjà discuté l'alternative d'une fixation du premier substrat dans le site-P, Jordan propose en 1980 un mécanisme postulant une telle fixation en se basant sur une expérience qui est certainement sa contribution majeure à l'étude de la porphobilinogène synthase. Dans cette expérience de *single turnover*, appelée *pulse labeling experiment*, il a incubé la PBGS pendant 100 ms avec une petite quantité, substoechiométrique (\leq [PBGS-monomère]), de substrat marqué soit au ^{13}C [45] soit au ^{14}C [46] en position 5 puis introduit un excès de substrat non marqué. Il en résulte un excès de carbone marqué dans le cycle pyrrolique (position 2) correspondant à la position 5 du substrat du site-P par comparaison avec la position exocyclique (position 11) issue de la position 5 du substrat du site-A. Jordan a conclu de ces expériences que le substrat fixé initialement dans le site actif l'est dans le site-P. Il déduit que le substrat qui est fixé initialement sur l'enzyme est celui qui est lié le plus fortement et qu'il forme donc une base de Schiff avec l'enzyme (Figure 5). Jordan postula, 10 ans plus tard, une alternative analogue au mécanisme de Shemin mais avec la fixation du premier substrat dans le site-P (voir chapitre 1.1.1.2.2).

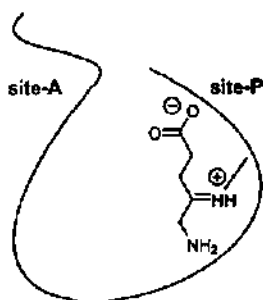


Figure 5 : Fixation du premier substrat dans le site-P.

La fin des années quatre-vingt voit l'avènement de mesures ^{13}C - et ^{15}N -RMN effectuées par Jaffe *et al.* sur la porphobilinogène synthase (280 kDalton), ce qui a représenté un pas supplémentaire vers l'extension des techniques RMN pour l'investigation d'un atome individuel à des édifices moléculaires de grandes tailles. Les études successives effectuées sur l'apoenzyme (bovine) modifiée avec le méthaneithiosulfonate de méthyle (fixation du substrat uniquement dans le site-P) et sur l'holoenzyme reconstruite par adjonction de zinc (II) et de 2-

mercaptoéthanol (complexe produit enzyme) avec l'acide 4-¹³C-5-aminolévulinique [47], 5-¹³C-5,5-D₂-5-aminolévulinique [48], l'acide 3-¹³C-3,3-D₂-5-aminolévulinique et l'acide ¹⁵N-5-aminolévulinique [49] ont permis d'obtenir les résultats suivants. Les signaux du cycle pyrrolique du PBG lié à l'enzyme, qui est en échange lent avec le PBG libre, sont en faveur d'un positionnement relativement rigide dans le site actif avec un groupe amino déprotoné. La conformation de la base de Schiff du premier substrat avec l'enzyme dans le site-P est déterminée comme étant de géométrie E ce qui est en accord avec les structures aux rayons-X [50-52]. Le déplacement chimique du ¹⁵N du groupe amino du substrat est plutôt compatible avec un état déprotoné ("*the free amino group is an environment resembling partial deprotonation*") et, basé sur un argument stoechiométrique, l'imine a été postulée comme étant chargée (iminium) en ces termes : "*Deprotonation of the amino moiety of the P-side Schiff base intermediate implies protonation of the imine nitrogen*".

En 1990, une étude affinée de Dent *et al.* (*extended X-ray absorption fine structure*) sur la PBGS bovine, une enzyme à zinc montrant une activité *half-site* [53] avec huit zinc (II) par octamère dont quatre catalytiquement essentiels [54] définit approximativement la sphère de coordination de chaque zinc; pour le zinc catalytique (Zn_A), qui est préférentiellement occupé par régénération de l'apoenzyme, cinq ligands sont proposés : deux à trois histidines, un ou pas d'oxygène d'une molécule de solvant ou d'une tyrosine, une tyrosine ou un aspartate et une cystéine; le second zinc (Zn_B) semble être coordonné par quatre cystéines. Une étude préliminaire avait démontré une coordination du zinc (II) par trois atomes de soufre et un d'azote ou d'oxygène [55] plus en accord avec la coordination du zinc (II) catalytique identifiée dans les structures aux rayons-X de *E. coli* [50] et de la levure [51], mais ne prenant pas en compte que deux types de zinc(II) sont présents.

En 1992, Jaffe a étudié l'inactivation de la PBGS bovine avec l'acide 5-chlorolévulinique (9) (quatre molécules par octamère) en tant qu'un *active-site-directed* inhibiteur, postulé comme interagissant sélectivement dans le site-A puisque le site-P reste accessible au substrat. L'alkylation de la cystéine C₂₂₃ a été mise en évidence; une étude de Jordan avait déjà mis en évidence d'une part le caractère de très bon inhibiteur compétitif de l'acide 5-chlorolévulinique (9) (11 μM) et d'autre part l'alkylation d'une cystéine par ce réactif mais avec une affinité postulée pour le site-P due à la formation de la base de Schiff identifiée après réduction avec le borehydrure de sodium [56] (voir chapitre 1.1.1.3.2). La cystéine alkylée est protégée de l'alkylation quand l'enzyme est sous forme oxydée inactive ou modifiée avec le méthaneithiosulfonate de méthyle. Jaffe a établi que le zinc (II) avec l'affinité la plus grande (<0.1 μM par rapport à 5 μM) est celui qui n'est plus fixé par l'enzyme alkylée et est supposé être le zinc catalytique. Il découle des expériences décrites, que la cystéine alkylée a été attribuée comme ligand du zinc (II) catalytique qui par conséquent se trouve localisé dans le site-A; le zinc (II) catalytique étant postulé comme étant le Zn_A.

L'étude de la porphobilinogène synthase issue d'*Escherichia coli* [57] a mis en évidence de grandes similitudes avec l'enzyme bovine. Toutes deux sont des métalloenzymes dépendantes du zinc, mais la PBGS de *E. coli* est stimulée par le magnésium, qui cependant ne remplace pas le zinc catalytique dans son rôle. Il est intéressant de constater que le produit possède un environnement magnétique (¹³C-RMN) très semblable dans les complexes produit enzyme respectifs; ce n'est pas le cas avec la PBGS de *Bradyrhizobium japonicum* qui est une enzyme à magnésium (II) [58]. Les différentes structures aux rayons-X [50,59] ont clairement établi que le zinc (II) catalytique localisé dans le site-A est un zinc comportant trois ligands cystéine et une molécule d'eau, ce qui va à l'encontre des tentatives d'attribution du rôle des métaux de

Jaffe [60] et Jordan [61] (Zn_A catalytique ou respectivement site α coordonnant le métal catalytique [61]) (Figure 6).

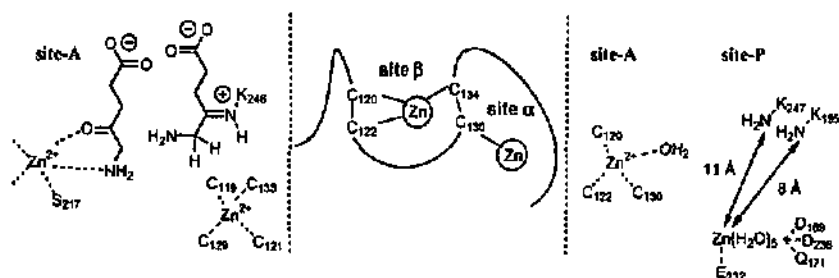


Figure 6 : Comparaison des sites de coordination du zinc catalytique et du zinc structural pour *E. coli* selon a) Jaffe [62], b) Jordan [61] et c) la structure aux rayons-X [50].

Il paraît évident que la nature du ou des cofacteurs métalliques utilisés par les PBGS, ainsi que leurs rôles, sont variables et donc, cause d'erreurs dans l'interprétation des données expérimentales accumulées. Jaffe a tenté de rationaliser le rôle des différents métaux en les classant en trois catégories : catalytiquement essentiel, catalytiquement non essentiel et structural (activateur allostérique) (M_A , M_B et M_C) [17]. L'enzyme isolée de *E. coli* appartient à la deuxième classe (4 Zn_A , 4 Zn_B et 8 Mg_C) [63] mais la structure démontre huit Zn_A catalytiques [50], la même remarque est vraie pour l'enzyme isolée de la levure [59]. La dernière version de cette classification compte cinq classes [64] (Tableau 1) et, très récemment, une séparation en quatre sites de coordination pour métaux bivalents a été suggérée [65]. Nous pensons qu'une partie de la problématique complexe de la réactivité *half-site* est liée au rôle structural des métaux. De même, si pour le métal essentiel nous pouvons réellement parler de deux classes distinctes (dépendantes du magnésium (II) ou du zinc (II)), le rôle des autres métaux nous semble être d'avantage une adaptation phylogénétique et pourrait donc ne pas avoir une importance significative dans la compréhension du mécanisme de la transformation biosynthétique de deux molécules d'acide 5-aminolévulinique (1) en porphobilinogène (2).

type	Espèce	site M_A	site M_B	site M_C	total
I	<i>H. sapiens</i>	4 Zn	4 Zn	absent	8
?	<i>S. cerevisiae</i>	8 Zn	8 Zn	absent	16
II	<i>E. coli</i>	4 Zn ou absent	4 Zn ou 8 Zn	8 Mg	16
III	<i>P. sativum</i>	4 Mg ou absent	4 Mg ou 8 Mg	8 Mg	16
IV	<i>B. japonicum</i>	absent	4 Mg	8 Mg	12
V	<i>P. aeruginos</i>	absent	absent	4 Mg	4

Tableau 1 : Classification selon Jaffe des PBGS en fonction des cofacteurs métalliques divalents requis.

1.1.1.2 Structures et mécanismes de la porphobilinogène synthase.

1.1.1.2.1 Structure de la porphobilinogène synthase.

La porphobilinogène synthase est présente dans la plupart des sources étudiées (animaux et bactéries) sous forme d'un homo-octamère (cubique) comme l'a démontré Shemin *et al.* en 1974 par microscopie électronique dans le cas de la PBGS issue du foie de boeuf [66] (exception faite de la PBGS d'épinard qui est décrite comme homo-hexamérique [67]). Une étude de Pilz *et al.* (*low angle X-ray solution scattering*) a indiqué que la structure quaternaire octamérique n'est pas complètement symétrique (constituée de quatre dimères) et que l'inhibition par le plomb (II) est certainement confinée au site actif [68]. En 1995, Jaffe *et al.* [69] ont publié un rapport préliminaire sur une structure de PBGS bovine, inactivée avec le plomb (II) ou le 5-chlorolévulinate, d'une résolution de 3.2 Å, insuffisante pour avoir la résolution atomique, qui confirme le caractère homo-octamérique de la PBGS avec un groupe spatial $I422$. En 1997, Erskine *et al.* [70] ont été les premiers à rapporter des structures pour les PBGS de *Escherichia coli* et *Saccharomyces cerevisiae* (levure) de hautes résolutions (2.0 Å et 2.3 Å, respectivement); la meilleure résolution ayant été obtenue en présence d'acide lévulinique (10). Quelques mois plus tard, Shimoni-Livny *et al.* [71] ont rapporté une structure de PBGS de *E. coli* native avec une résolution faible de 3.0 Å. Finalement en 1999, Frankenberg *et al.* ont publié la première structure d'une PBGS (*Pseudomonas aeruginosa*) ne dépendant pas du zinc (II) comme cofacteur métallique catalytiquement essentiel, mais du magnésium (II) avec une résolution de 1.67 Å pour le complexe avec l'acide lévulinique (10).

La structure de la PBGS de levure publiée en 1997 par Erskine *et al.* [59] a révélé que le monomère a une structure, communément rencontrée chez les enzymes, de type *TIM-barrel* (α/β)₈ avec un bras N-terminal (Figure 7a). Dans l'homo-octamère de symétrie D_4 (Figure 7b), les huit sites actifs pointent en direction du solvant, ce qui disqualifie l'hypothèse d'un site actif à l'interface de deux monomères expliquant la réactivité *half-site* observée pour certaines PBGS [63]. Le dimère est compact, car le bras N-terminal de chaque monomère s'enroule mutuellement autour du corps de l'autre et ressemble au nombre 69 ayant les deux chiffres dans des plans orthogonaux (Figure 7c). Le site actif se situe dans des boucles (*loops*) du côté C-terminal. Une seconde lysine K₂₁₀ (*E. coli* K₁₉₅) est localisée près de la lysine K₂₆₃ (*E. coli* K₂₄₇) qui forme la base de Schiff avec le substrat dans le site-P. Les résidus impliqués dans la coordination du zinc (II) catalytique ont été identifiés : cystéine C₁₃₃, C₁₃₅ et C₁₄₃ (*E. coli* C₁₂₀, C₁₂₂ et C₁₃₀) et une molécule d'eau. C'est ce site catalytique, contenant trois cystéines, qui interagit de manière exceptionnellement efficace (70 fM) avec le plomb (II) [72]; ce dernier est un inhibiteur puissant de la PBGS chez l'homme et les animaux en général et constitue également pour cela un problème de santé publique. Le second site de coordination du zinc, moins bien défini, implique l'histidine H₁₄₂ et la cystéine C₂₃₄ et s'avère localisé dans une région, elle-même, mal définie (résidus 220 à 233). L'histidine H₁₄₂ (*E. coli* H₁₂₈) est invariante parmi toutes les espèces mais ne semble pas jouer un rôle acido-basique dans le site-A, comme il a été proposé initialement par Tsukamoto *et al.* [73]. Cette histidine s'est avérée non essentielle pour la catalyse chez *E. coli*, comme démontré par mutagenèse dirigée [74], et ne semble pas impliquée dans la coordination du second zinc chez cette bactérie [50].

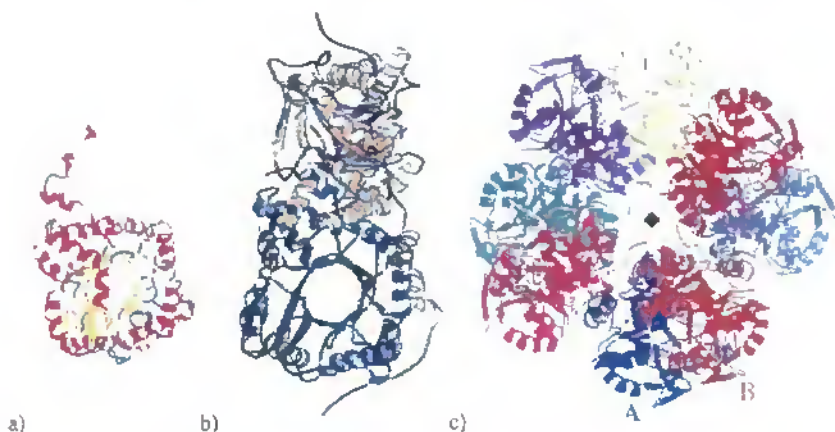


Figure 7 : Structure de la PBGS a) monomère, b) dimère et c) octamère.

L'élucidation de la structure de la PBGS de levure a certainement été un événement considérable dans l'étude de la PBGS mais, en comparaison à celle-ci, le complexe enzyme lévulinatase n'est pas moins important. L'acide lévulinique (**10**) se fixe à l'enzyme en formant une base de Schiff avec la lysine K_{263} (*E. coli* K_{247}) dans le site-P. Le carboxylate est reconnu de manière faciale en formant trois ponts-H avec les hydroxyles de la tyrosine Y_{329} (*E. coli* Y_{312}) et de la sérine S_{290} (*E. coli* S_{273}) ainsi qu'avec le NH de cette dernière du squelette peptidique. Deux conformations sont observées pour le lévulinatase dont l'une implique un pont-H avec la lysine K_{310} (*E. coli* K_{195}), suggérant un rôle catalytique de cette dernière comme démontré également par mutagenèse dirigée (Figure 8a) En plus de mettre en évidence les interactions du site-P avec le substrat, la seconde structure montre comment la région mal définie évoquée plus haut s'oriente au dessus du site acide pour former un couvercle (*lid*) parfaitement défini lorsque le site-P est occupé [51] (Figure 8b).

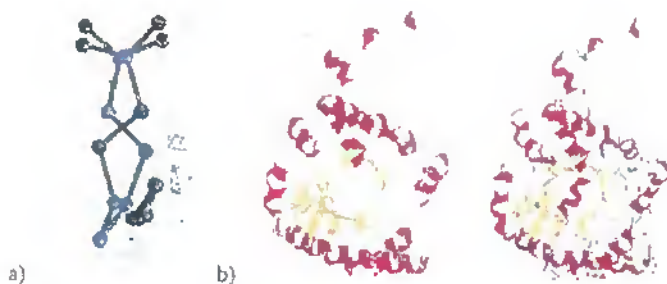


Figure 8 : a) Les deux conformères observés pour le lévulinatase lié à la lysine K_{263} . b) Comparaison de la PBGS de levure sans (gauche) et avec le lévulinatase (droite) dans le site-P montrant l'arrangement du *lid*.

Mais puisque nous étudions la porphobilinogène synthase issue de *Escherichia coli*, intéressons-nous à la structure de son complexe covalent acide lévulinique-enzyme [50]. La structure quaternaire est identique à celle décrite précédemment, bien qu'*E. coli* n'ait, par rapport à la levure, qu'un taux d'identité de séquence de 38%. Les trente premiers acides aminés forment le bras *N*-terminal, relativement différent d'une source à l'autre, contenant une hélice 3_{10} et une hélice α . Le *TIM-barrel* est constitué de l'alternance des structures secondaires suivantes : $\beta 1$, $\alpha 2$, $\beta 4$, $\alpha 3$, $\beta 5$, $\alpha 4$, $\beta 6$, $\alpha 5$, $\beta 7$, $\alpha 6$, $\beta 8$, $\alpha 7$, $\beta 9$, $\alpha 9$, $\beta 10$ et $\alpha 10$. Les résidus qui constituent le *lid* appartiennent à la boucle (197-220) située entre les structures secondaires $\beta 7$ et $\alpha 6$. Elle possède un grand taux de résidus invariants, comme le montre l'alignement des séquences primaires de sources variées [59]. Une structure hélice α est formée par les résidus 202 à 208. Le site de fixation du zinc (II) catalytique est situé dans une boucle entre les structures $\beta 5$ et $\alpha 4$ et est largement conservé parmi les enzymes dépendant du zinc. Le second site de fixation du zinc (II), octaédrique, semble impliquer le résidu glutamate E₂₃₂ et 5 molécules d'eau formant un réseau de ponts-H avec les aspartates D₁₆₉, D₂₃₆ et la glutamine Q₁₇₁.

Le site actif est constitué, formellement, de deux sites de reconnaissance distincts pour chacun des substrats (site-A et site-P). Le site-P est celui contenant la lysine K₂₄₇ responsable de la formation de la base de Schiff avec le premier substrat. La lysine K₂₄₇ est située sur le feuillet $\beta 8$ et est suivie d'une proline P₂₄₈ de conformation *cis*. La seconde lysine K₁₉₅ est située sur le feuillet $\beta 7$ adjacent. Les deux chaînes latérales de ces lysines émergent d'une poche hydrophobe constituée par les tyrosines Y₁₉₂, Y₂₀₁ et Y₂₇₀ ainsi que d'autres résidus hautement conservés comme la valine V₂₇₂ et la glutamine Q₂₂₀ (Figure 9). Cependant la lysine K₂₄₇ possède un environnement plus hydrophobe que la lysine K₁₉₅. Cette dernière est, pour cette raison, supposée être protonée, contrairement à sa voisine, qui est, nécessairement, non protonée dans la phase initiale du processus catalytique pour pouvoir agir comme nucléophile pour la formation de la base de Schiff.

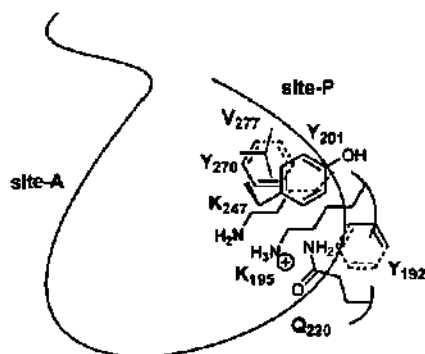


Figure 9 : Environnement schématisé des lysines catalytiques du site-P.

Le site-P est particulièrement riche en résidus aromatiques : phénylalanines F₃₆, F₇₉, F₂₀₄ et tyrosines Y₁₉₂, Y₂₀₁, Y₂₇₀, Y₃₁₂; le groupe hydroxyle de ces dernières pointant vers le site actif. L'interaction lipophile entre les méthylènes en positions 2 et 3 du substrat et le groupe phényle

de la phénylalanine F₂₀₄, appartenant au *lid*, pourrait bien être en grande partie responsable de l'organisation de ce dernier. Deux groupes invariants (aspartate D₁₁₈ et sérine S₁₆₅), interagissant mutuellement par pont-H, sont localisés entre la base de Schiff et le zinc catalytique. Ils interagissent avec celui-ci indirectement par un réseau de ponts-H. Ces deux résidus sont supposés jouer un rôle dans la fixation du substrat ou un rôle catalytique au niveau de la fonction amine du premier substrat. Un tel rôle est également postulé pour la lysine K₁₉₅ et la tyrosine Y₁₉₂ (Figure 10 a). Le site-A n'est pas parfaitement défini mais, en addition du zinc catalytique, les résidus hautement conservés suivant sont supposés jouer un rôle dans ce site : aspartate D₁₁₈, sérine S₁₆₅, lysine K₁₉₅, arginines R₂₀₅ et R₂₁₆ et glutamine Q₂₂₀. Une des arginines (R₂₀₅ et R₂₁₆) du *lid* pourrait être impliquée dans la reconnaissance du carboxylate du second substrat formant éventuellement une interaction saline (Figure 10 b).

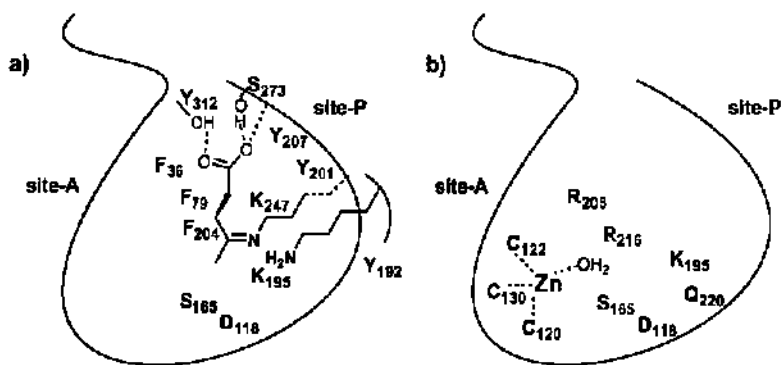


Figure 10 : a) Site-P schématisé de la PBGS et b) site-A schématisé de la PBGS.

La porphobilinogène synthase de *Pseudomonas aeruginosa*, une enzyme dépendant du magnésium (II), cristallise en présence d'acide lévulinique (10) sous forme d'un octamère composé de dimères asymétriques [52]. Cependant, ses structures tertiaire et quaternaire se sont révélées similaires à celles de la levure pour un taux d'identité de séquence de 36%. Le taux d'identité avec d'autres PBGS dépendante du magnésium (II) sont de 61% et 45% pour *Bradyrhizobium japonicum* et *Pisum sativum*, respectivement. L'asymétrie du dimère est due à la présence de deux monomères dans des états d'activation différents, dépendant de la présence ou non d'un magnésium (II) situé en dehors du site actif. Ce magnésium, essentiel à l'activité, induit, par une chaîne de ponts-H (aspartate D₁₃₉, arginine R₁₈₁ et glutamine Q₂₄₅), la "fermeture" du site actif par le *lid* en permettant l'interaction saline de l'aspartate D₁₃₉ du site actif avec la lysine K₂₆₀ du *lid*; ce dernier devient parfaitement défini (Figure 11). L'existence d'un magnésium (II) catalytique au sein même du site actif, analogue au zinc catalytique, n'est pas complètement exclue compte tenu qu'un ion sulfate occupe artificiellement le site-A dans la structure aux rayons-X, mais les dernières études menées sur cette enzyme vont à l'encontre d'un tel postulat [64].

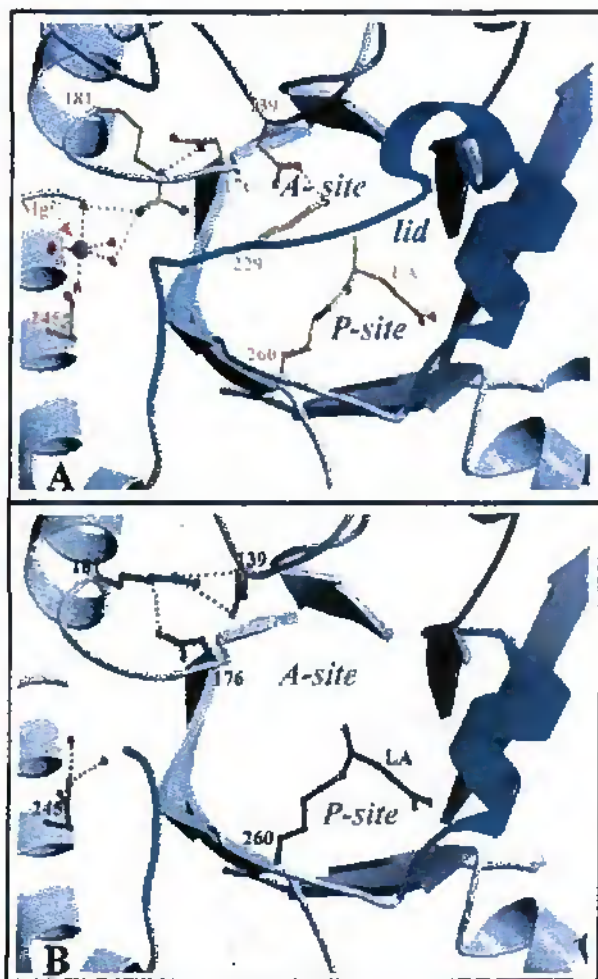


Figure 11 : Comparaison du site actif en présence (A) ou en absence (B) du magnésium.

1.1.1.2.2 Les différents mécanismes postulés pour la porphobilinogène synthase.

Différents mécanismes ont été postulés pour la formation du porphobilinogène (2) catalysée par la porphobilinogène synthase. Granick et Mauzerall [34] avait, déjà en 1958, fait une analyse très pertinente sur les deux séquences alternatives de formation des liaisons C-C et C-N entre les deux molécules de substrat ainsi que sur le rôle potentiel du cofacteur métallique zinc (II). Celui-ci était proposé comme activateur de la nucléophilie du carbone en position 3 dans le site-A. En l'absence de toute preuve expérimentale, ces auteurs ont opté pour une séquence très proche du mécanisme proposé par Neier *et al.* [75] plus de 40 ans après.

Néanmoins le premier mécanisme reconnu comme tel est celui de Shemin en 1968 [37] (*R. spheroides*) qui est basé sur une information expérimentale importante : la formation d'au moins une base de Schiff entre l'enzyme et le substrat. L'autre information expérimentale sur laquelle se base ce mécanisme est la formation du pyrrole mixte, non avérée [76], entre l'acide lévulinique (10) et le substrat. Par analogie avec les aldolases de classe I mettant en œuvre une base de Schiff pour activer la nucléophilie du carbonyle sous forme d'énamine, Shemin a postulé la formation d'une base de Schiff dans le site-A. Cette base de Schiff tautomérise en une énamine qui attaque la cétone du deuxième substrat dans le site-P (Figure 12).

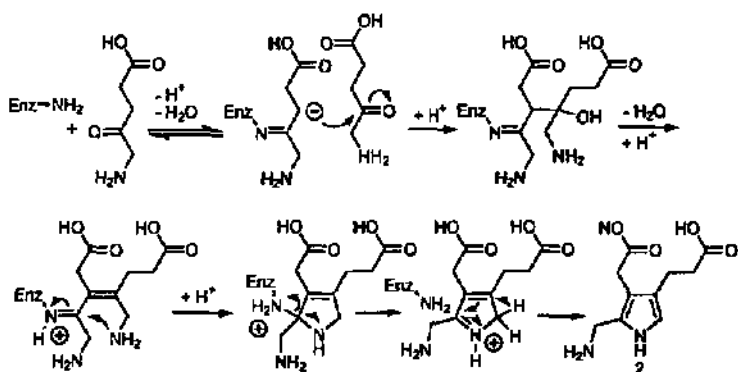


Figure 12 : Mécanisme postulé par Shemin.

Shemin a constaté que l'acide lévulinique (10) ou le lévulinate d'éthyle, ainsi que d'autres γ -cétoacides, mais pas des α -cétoacides, inactivent l'enzyme par incubation suivie d'une réduction avec le NaBH_4 . Cela semble prouver une spécificité d'interaction au niveau du site actif. De plus, mis à part le lévulinate d'éthyle, les mêmes composés s'avèrent être des inhibiteurs compétitifs. La sélectivité pour le site actif de l'acide lévulinique, la formation d'une base de Schiff entre ce dernier et l'enzyme, et le fait que l'acide lévulinique ne peut former le pyrrole mixte qu'en se plaçant dans le site-A, ont naturellement conforté Shemin dans son analogie avec les aldolases de classe I.

En 1976 Cheh et Neilands [44] ont discuté deux alternatives mécanistiques impliquant un zinc catalytique (PBGS bovine). La première alternative étendait le concept de Shemin d'analogie avec les aldolases de classe I aux aldolases de classe II. La formation de la base de Schiff dans

le site-A est postulée ainsi qu'une activation du carbonyle dans le site-P par coordination de la fonction cétone et de la fonction amine du second substrat par le zinc (Figure 13).

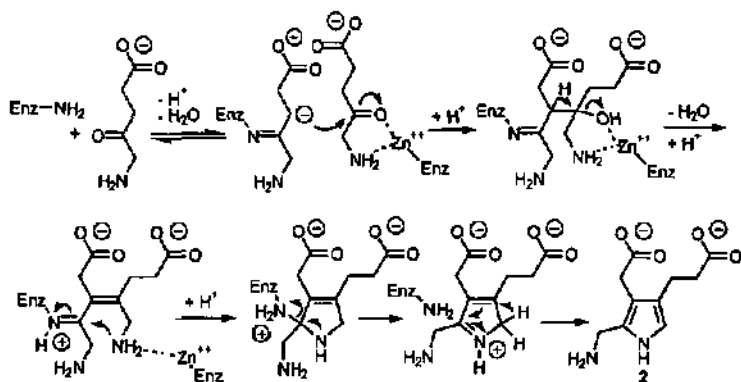


Figure 13 : Evolution du mécanisme de Shemin proposé par Cheh et Neilands.

Cheh et Neilands ont discuté trois rôles possibles pour le cofacteur métallique : un rôle structural, un rôle dans la fixation du substrat ou un rôle catalytique comme acide de Lewis. Leur postulat était en faveur d'un rôle catalytique bien qu'ils aient intégré le rôle de fixation du substrat dans leur mécanisme avec coordination de la cétone et chélation du zinc par le groupe amino; ils ont décrit cette dernière comme *tempting to draw*. La seconde alternative qu'ils ont décrite, proposée par Kung, intègre le rôle du zinc et implique la formation de la base de Schiff dans le site-P. L'activation de l'électrophilie est obtenue grâce à l'iminium formé avec l'enzyme, et la stabilisation de l'énolate par le zinc chélaté ou non avec le groupe amino du second substrat est postulée dans le site-A (Figure 14).

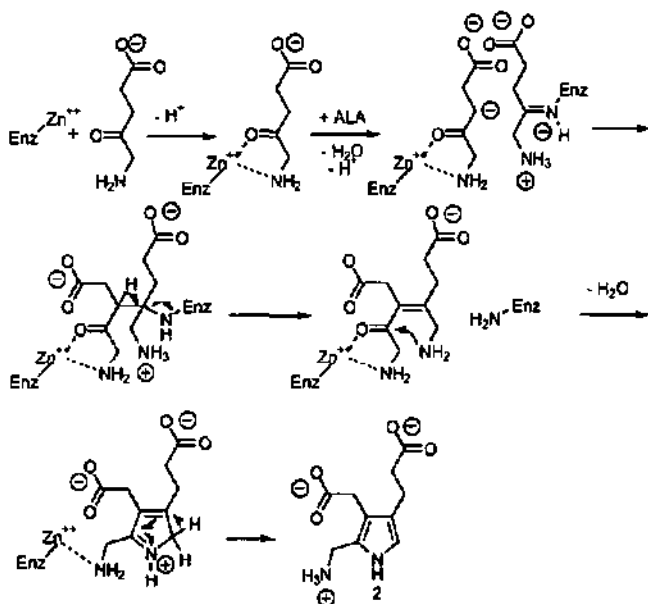


Figure 14 : Mécanisme postulé par Kung (référéncé comme mécanisme Jordan II [2]).

Ce second mécanisme est très similaire à celui que Jordan a proposé 15 ans plus tard [7] comme une alternative du mécanisme qu'il avait postulé suite aux résultats obtenus par ses expériences de ^{13}C et ^{14}C *single-turnover technique* [45,46]. Son premier postulat mécanistique est basé sur l'hypothèse que le substrat formant la base de Schiff est reconnu dans le site-P et implique la formation comme première liaison entre les deux molécules de substrat de la liaison C-N (Figure 15).

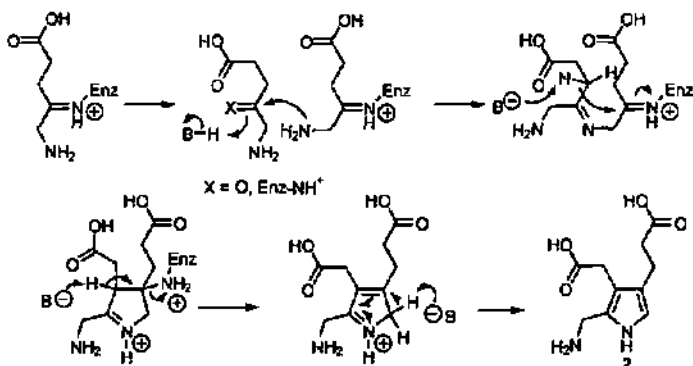


Figure 15 : Mécanisme postulé par Jordan (référéncé comme mécanisme Jordan I).

Avec la prudence qui le caractérise, Jordan est resté très général en laissant ouverte la possibilité de la formation d'une seconde base de Schiff entre l'enzyme et le second substrat ou en n'attribuant aucun rôle au cofacteur métallique, ni dans le cas de la PBGS issue du foie de bœuf (Zn), ni dans le cas de la PBGS issue de *R. spheroides* (K, ?). En 1991, Jordan propose un mécanisme n'intégrant plus une seconde base de Schiff entre l'enzyme et le second substrat (Jordan I) [21]. La même année, dans une autre contribution [7], il présente l'alternative déjà discutée par Neilands (Figure 14) d'un mécanisme qui postule la réaction de type aldol comme précédant la formation de la liaison C-N entre les deux molécules de substrat (Jordan II).

Dans les mécanismes proposés, les auteurs se sont essentiellement focalisés sur le site de fixation du substrat de manière covalente avec une lysine du site actif (site-A (Shemin) ou site-P (Jordan)) et sur la séquence de formation des deux liaisons entre les deux molécules de substrat. Il est évident par exemple, que, dans ces études préalables du mécanisme, l'état de protonation des deux molécules de substrat, des intermédiaires et du produit a été pour le plus souvent négligé et traité de manière imprécise, voire incorrecte. Cela est aisément compréhensible si nous considérons, dans un tampon pH 7 à 8, d'un côté deux substrats sous forme *zwitterion* entrant dans le site actif et de l'autre un produit étant dans ces conditions de pH chargé une fois négativement. Nous constatons un déficit stoechiométrique d'un proton. Nous pouvons compter dans cette transformation biosynthétique des transferts de protons multiples : le carbonyle du premier substrat subit deux protonations pour éliminer une molécule d'eau alors que la fonction amine de la lysine, qui forme un iminium, perd un proton; le méthylène en position 5 perd un proton et le groupe amino s'il est protoné doit perdre deux protons. Le carbonyle du second substrat est protoné deux fois pour éliminer une molécule d'eau et le méthylène en position 3 perd quand à lui ses deux protons. Le groupe ammonium reste éventuellement protoné. Même si tous les transferts de protons ne sont pas catalysés par l'enzyme, il reste, néanmoins, un nombre respectable de ces transferts qui met en jeu des groupes fonctionnels à la surface de l'enzyme.

Nous pouvons intégrer dans les différents mécanismes postulés, les résultats de Akhtar, impliquant l'élimination sélective du proton pro-R du méthylène en position 5 (site-A) déterminée par marquage par le tritium de l'hydrogène pro-S [43], ainsi que ceux de Jaffe proposant une fonction amine du premier substrat non protonée et une forme E iminium pour la base de Schiff entre le premier substrat et la lysine de l'enzyme par des mesures ¹³C-RMN et ¹⁵N-RMN sur une apoenzyme modifiée [49] et finalement, les résultats de Leeper qui a observé un effet isotopique dû probablement à la première déprotonation du méthylène en position 3 du substrat site-A [77]. Considérant les résultats de Jaffe, il faut garder un certain esprit critique par rapport au fait que ses conclusions sont une hypothèse basée sur des comparaisons avec des composés modèles en solution. L'apoenzyme pourrait influencer la nature du site-P ou celui-ci comporter un environnement magnétique tel que la comparaison avec des composés modèles s'avérerait incorrecte. L'effet isotopique, même relativement important observé par Leeper, ne conduit pas immédiatement à une conclusion définitive sur le mécanisme. De la même manière, la résolution des structures de la PBGS et plus particulièrement des complexes covalents enzyme-acide lévulinique n'a pas apporté d'argument définitif sur le mécanisme et sur la séquence de formation des liaisons entre les deux molécules de substrat. En 1998, Shoolingin-Jordan *et al.* ont écrit : "*Steric and mechanistic considerations suggest that the aldol condensation occurs first.*" [78] Analysant la disposition des résidus au niveau du site actif du complexe acide lévulinique-enzyme de levure, Shoolingin-Jordan *et al.* ont conclu que la fonction amine du premier substrat est plus vulnérable à l'attaque initial du substrat site-A entrant que la position 4. Ils ont donc proposé,

fin 1998, que la liaison C-N entre les deux substrats est formée avant que la liaison C-C ne se forme tout en laissant ouverte l'hypothèse de l'autre séquence [51]. Simultanément, Shoolingin-Jordan *et al.*, se basant sur le complexe acide lévulinique-enzyme d'*E. coli*, ont spéculé, avec "une confiance raisonnable", sur les différents groupes basiques impliqués dans le mécanisme : la première déprotonation de la position 3 du substrat site-A est effectuée par l'hydroxyde lié au zinc catalytique. La lysine K₁₉₅ est postulée comme impliquée dans le transfert de proton de et à l'azote de la base de Schiff avec l'enzyme et la lysine K₂₄₇ dans la déprotonation stéréospécifique de la position 5 du substrat site-P [50]. Dans cette même référence, les deux mécanismes Jordan I et II ont été proposés et le premier a été considéré comme plus attractif du point de vue mécanistique, car la formation de la base de Schiff intersubstrat augmente l'acidité de la position 3 du substrat site-A.

1.1.1.2.3 Implications stéréochimiques et mécanistiques des postulats Jordan I et Jordan II.

Le facteur mécanistique déterminant que nous prendrons en compte est le transfert de protons. Les arguments pour cela sont premièrement que le nombre de ces transferts est important. Le deuxième argument est qu'ils impliquent, pour une part d'entre eux certainement, des groupes fonctionnels à l'intérieur du site actif puisqu'il semble que ce dernier est isolé du milieu extérieur pendant la phase critique de formation de la liaison carbone-carbone entre les deux molécules de substrat. Le troisième argument est que des déprotonations stéréosélectives, comme celle identifiée par Akhtar [43], ou impliquées dans l'état de transition déterminant de la vitesse de la transformation, comme celle proposée par Leeper [77], se doivent d'avoir lieu à la surface de l'enzyme. Finalement, le compte de proton entrant est excédentaire d'une unité par rapport à celui sortant si nous considérons les deux molécules de substrat sous leur forme *zwitterion* majoritaire en solution à pH 8 et le porphobilinogène chargé une fois négativement dans les mêmes conditions de pH. Il a même été postulé par Jaffe [57] que le complexe enzyme-produit, observé par ¹³C-RMN, implique un PBG avec une fonction amine libre. Nous pouvons émettre quatre hypothèses : soit une régénération après chaque cycle catalytique d'un groupe basique dans le site actif, soit un "canal" à proton évacuant vers le milieu extérieur le proton excédentaire, soit une étape éliminant un proton et s'effectuant exposée au solvant, soit finalement, l'entrée d'une des deux molécules de substrat sous forme carboxylate-amine, chargée une fois négativement, ou la sortie du produit sous forme neutre, c'est-à-dire ayant le cycle pyrrolique sous forme protonée.

Le substrat forme un intermédiaire iminium dans le site-P avec la fonction amine de la chaîne latérale de la lysine K₂₄₇. Une seconde fonction amine catalytiquement indispensable (lysine K₁₉₅) est située à proximité de la première. Il est postulé par Shoolingin-Jordan [59] que cette seconde fonction amine est sous forme protonée, car son environnement est relativement polaire, et qu'elle a comme rôles d'attirer la molécule de substrat entrante et d'augmenter la nucléophilie du groupe amino de la lysine K₂₄₇ en diminuant son pK_a.

En addition nous proposons un rôle potentiel de transfert de proton pour l'ammonium de la chaîne latérale de la lysine K₁₉₅ [75] (Figure 16). Néanmoins, il est plausible que la formation de la base de Schiff entre l'enzyme et le substrat ait lieu en contact avec le milieu extérieur puisque le *lid* recouvre le site actif qu'une fois le premier substrat fixé à l'enzyme (site-P occupé). Cela est montré par la comparaison des structures aux rayons-X avec et sans acide lévulinique (10) lié à l'enzyme dans le site-P [50-52,59]. Nous devons donc garder ouverte l'hypothèse de la formation spontanée de la base de Schiff en présence de solvant (H₂O) qui pourrait alors jouer le rôle de transfert de proton attribué, dans notre postulat, à la lysine K₁₉₅.

Cela permettrait l'évacuation d'un proton à ce niveau du mécanisme (imine-ammonium(K₁₉₅)-amine(substrat)).

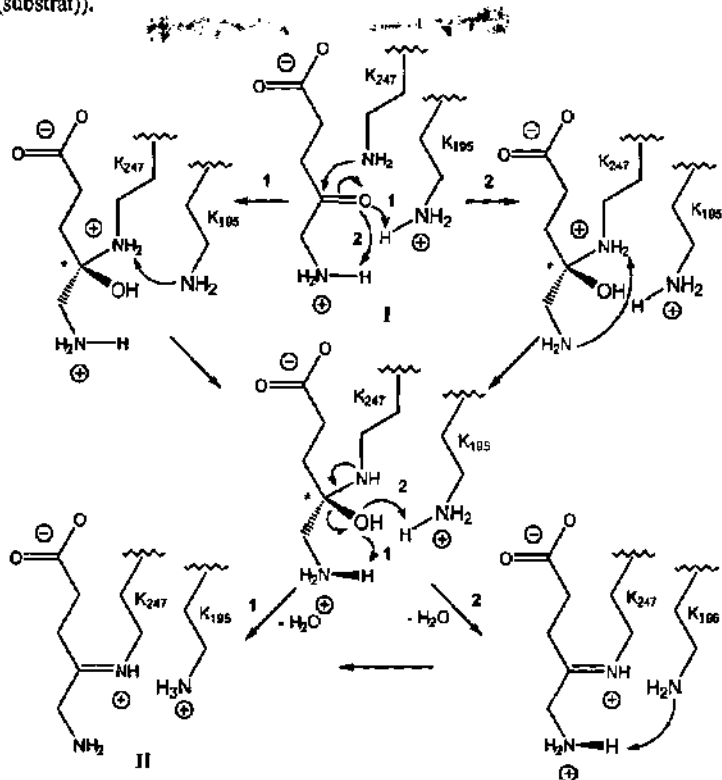


Figure 16 : Phase initiale de fixation du premier substrat dans le site-P.

Comme nous le constatons dans la figure ci-dessus, il y a obligatoirement formation transitoire d'un intermédiaire tétraédrique chiral. Nous n'avons pas connaissance de sa configuration absolue, mais il semble raisonnable de lui attribuer la configuration R. Si nous postulons la participation, comme décrite, du groupe amino de la chaîne latérale de la lysine K₁₉₅, la configuration R devrait être préférée puisque la fonction amine est positionnée sur la face *re* de l'iminium dans les structures aux rayons-X de l'enzyme cocrystallisée avec l'acide lévulinique (10)[50-52]. Il est d'ailleurs intéressant de constater que dans ces dernières, l'acide lévulinique, dans le site-P, est identifié dans deux conformations, ce qui est tout à fait compatible avec le fait que le carbone de la position 4 change à plusieurs reprises d'hybridation ($sp^2 \rightleftharpoons sp^3$) durant le processus de formation du porphobilinogène (2). La reconnaissance du carboxylate du premier substrat se fait de manière faciale par l'intermédiaire de trois ponts hydrogènes qui permettent également une certaine souplesse dans l'orientation du carboxylate (voir chapitre 1.1.1.2.1).

Nous remarquerons finalement que même si cette étape de formation de la base de Schiff, ou respectivement de l'iminium, avec l'enzyme a lieu en exposition avec le solvant, le décompte des charges pour la fixation du premier substrat, comme décrit, se révèle être équilibré (I→II).

La fonction amine du substrat est déprotonée, ce qui est nécessaire à l'attaque nucléophile de la cétone du second substrat qui suivra, et le lien entre le premier substrat et l'enzyme est un iminium, ce qui est en accord avec l'activation électrophile requise pour la réaction de type aldol ainsi qu'avec les mesures RMN effectuées par Jaffe [49]. La seule alternative pour éliminer un proton à ce niveau est la déprotonation de la fonction amine de la lysine K₁₉₅ qui aurait comme conséquence un affaiblissement de l'activation de l'iminium puisque le groupe amino de la lysine K₁₉₅ semble être à portée pour déprotoner l'iminium. La base de Schiff serait alors simplement activée par pont-H. Il reste que le groupe amino de la chaîne latérale de la lysine K₁₉₅ est postulé comme étant protoné dans la forme native de l'enzyme. Cela est en accord avec le pK_a d'un tel groupe amino à pH 8 et, il est paradoxal que, dans un mécanisme postulant une formation de la base de Schiff entre le substrat et l'enzyme avec exposition au solvant, la lysine K₁₉₅ et le groupe amino du premier substrat se retrouvent tous les deux déprotonés sans l'assistance d'autres groupes fonctionnels de l'enzyme (suggérant alors un "canal" à proton).

La seconde molécule de substrat forme un complexe de Michaelis-Menten avec l'enzyme dans le site-A. Si les différentes structures aux rayons-X ont fait progresser considérablement notre connaissance du site-P, notamment grâce à la cocristallisation de l'enzyme avec l'acide lévulinique à l'intérieur du site-P [50-52], le site-A n'a pas livré tous ses secrets. Les structures de *E. coli* et de la levure ont démontré clairement que le zinc catalytique est situé dans le site-A. Néanmoins, le rôle du zinc, possédant comme ligands dans la forme native trois cystéines (C₁₂₀, C₁₂₂ et C₁₃₀) et une molécule d'eau, n'est pas clairement établi. Il est évident que ce zinc joue un rôle de proximité avec le second substrat, soit un rôle de fixation du second substrat avec coordination de la fonction cétone qui, par la même occasion, est un moyen d'activer l'électrophilie de ce carbonyle, soit un rôle de support de la basicité (ion hydroxyle) nécessaire à la déprotonation en position 3 (Figure 17).

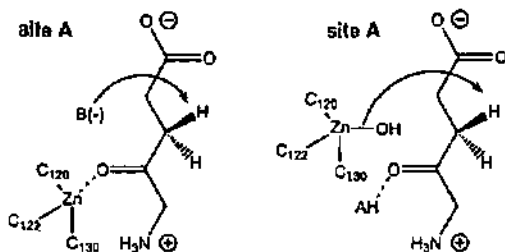


Figure 17 : Rôle du zinc (II) dans le mécanisme Jordan II.

Nous pouvons, comme Cheh et Neilands [44], postuler une coordination η^2 du deuxième substrat sur le zinc avec la participation de la fonction amine pour former un cycle chélate à 5 membres. Cependant, une telle coordination nécessite l'entrée du substrat dans le site-A sous forme anionique ou une déprotonation de l'ammonium dans le site actif. La question du rôle du zinc (II) dans le mécanisme Jordan II est importante dans le sens que ce rôle est univoque. Nous n'imaginons pas que le zinc (II) puisse dans le même temps coordonner la cétone et porter un ion hydroxyle. Dans le mécanisme Jordan I, le zinc (II) peut jouer plusieurs rôles successivement : coordonner le groupe cétone du second substrat pour la formation du complexe de Michaelis-Menten, puis activer l'électrophilie de la cétone pour favoriser l'attaque nucléophile de l'amine du premier substrat (III) et finalement recueillir un ion

hydroxyle (IV→V) pour générer la basicité nécessaire à la déprotonation en position 3 du second substrat (V→VI) (Figure 18).

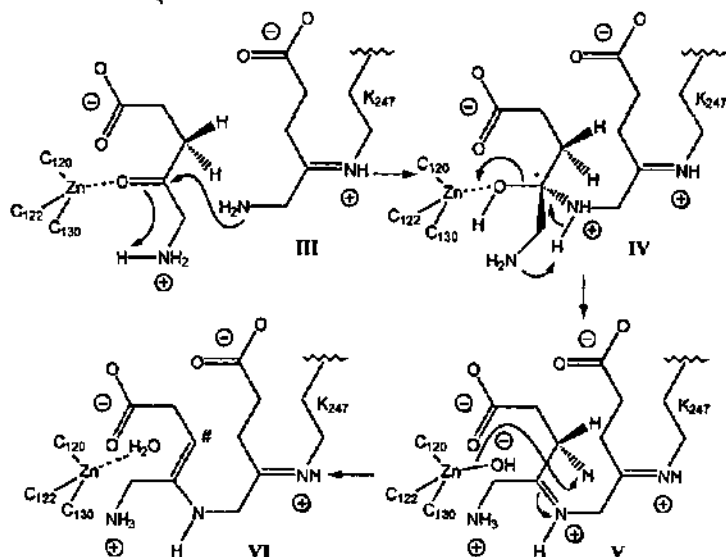


Figure 18 : Rôle du zinc dans le mécanisme Jordan I (* configuration et # géométrie non élucidées).

Une telle fluidité dans le cheminement mécanistique avec un zinc (II) multifonctionnel est à la mesure de la fabuleuse efficacité dont fait preuve la nature dans ces processus biosynthétiques. Cependant, toutes les enzymes PBGS ne possèdent pas un zinc (II) catalytique. Il a été démontré pour *P. aeruginosa* que le cofacteur métallique magnésium (II) joue un rôle différent de celui du zinc, avec une activation du site actif de l'extérieur, par un effet structural, mettant en jeu une chaîne de ponts-H [52]. Il découle des différences fondamentales, de nature, de positionnement et d'action du cofacteur métallique. Cela entraîne une séparation en enzymes contenant un *zinc-finger* riche en cystéines et en histidines qui fonctionnent avec le zinc (II) à l'intérieur même du site actif et, en enzymes dont la région homologue est riche en aspartates et dont le cofacteur est le magnésium (II) ou éventuellement le potassium (I). Jaffe a développé une classification encore plus fragmentée comprenant pas moins de cinq classes (voir tableau 1). La question réelle est de savoir s'il existe un ou plusieurs types de PBGS, avec un ou respectivement plusieurs mécanismes. Nous pouvons dire qu'il n'y a pas, dans l'état actuel de nos connaissances, de réponse à cette dernière question. Néanmoins, l'auteur préconise l'hypothèse d'un seul mécanisme commun à toutes les espèces et que les différences tiennent d'avantage du détail que du fond. Les arguments en faveur de cette hypothèse sont certainement le grand degré d'homologie dans des régions clés entre les séquences primaires des nombreuses PBGS élucidées à ce jour [52]; la similitude de structure du monomère et de l'association en dimères compacts dans les deux classes. La similitude dans le site-P de *P. aeruginosa* avec la levure (F₈₆-F₈₉, Y₂₀₂-Y₂₀₇, K₂₀₅-K₂₁₀, Y₂₁₁-Y₂₁₆, F₂₁₄-F₂₁₉, K₂₆₀-K₂₆₃, Y₂₈₃-Y₂₈₇, S₂₈₆-S₂₉₀, Y₃₂₄-Y₃₂₉) ou encore *E. coli* ne permet pas d'envisager aisément un mécanisme fondamentalement différent dans ce site. Les PBGS sont

des enzymes hautement spécialisées qui ont dû trouver précocement dans l'évolution une solution au délicat problème d'une transformation multistape fondamentale à la vie. Nous interprétons, dans ce contexte, les différences, apparemment essentielles, observées dans les différentes espèces du règne vivant comme une conséquence évolutive liée à la différenciation d'une source de vie archaïque possédant le prototype des PBGS modernes. Nous en voulons pour exemple, la transformation en une enzyme active dépendante uniquement du zinc (II) d'une enzyme purement dépendante en magnésium (II) (*Bradyrhizobium japonicum*) par mutation des trois résidus alanine A₁₄₆ et aspartates D₁₄₈, D₁₅₆ en cystéines (et la phénylalanine F₁₅₀ en tyrosine). Ces trois résidus remplacent usuellement chez les enzymes dépendantes du magnésium (II) les trois cystéines qui coordonnent le zinc (II) catalytique [79]. Il est néanmoins acquis que l'acide 5-aminolévulinique (I), substrat de la PBGS, est issu de deux voies biosynthétiques distinctes selon, apparemment, qu'il est impliqué dans la synthèse de la chlorophylle ou de l'hème [21]. De même, il existe deux classes distinctes d'aldolases [80].

Nous devons prendre en compte, dans la discussion du rôle du cofacteur métallique zinc (II), la possibilité que son action ait lieu par l'entremise d'une molécule d'eau. En effet, une molécule d'eau, coordonnée sur le zinc, peut interagir par pont-H avec la cétone du second substrat pour former le complexe de Michaelis-Menten ainsi qu'activer l'électrophilie du carbonyle. Cette molécule d'eau ayant perdu son proton jouera alors le rôle de base. En attribuant à une molécule d'eau le rôle clé du mécanisme de la partie site-A, le zinc devient un acteur de second plan qui peut être remplacé aisément par, éventuellement, un magnésium ou un, voire plusieurs groupes fonctionnels de chaînes latérales d'acides aminés dont, par exemple, un aspartate.

Nous pouvons une fois encore constater la formation transitoire d'un intermédiaire tétraédrique (IV) de configuration inconnue. La déprotonation sur la position 3 du second substrat (V) est probablement énantiosélective mais aucune information expérimentale n'en indique la stéréosélectivité; la même question se pose dans le cas du mécanisme Jordan II (Figure 14). Finalement, l'énamine formée (VI) est soit E soit Z.

Il nous semble opportun d'introduire à ce niveau de la discussion les résultats de Appleton et Leeper [77] montrant un effet isotopique (3.4 sur k_{cat} et 2.3 sur k_{cat}/K_M) sur la vitesse de réaction en présence de substrat marqué par le deutérium en position 3. Ils ne donnent dans leur article aucune interprétation mécanistique de cet effet. L'absence d'échange de deutérium catalysé par l'enzyme en position 3 est en faveur d'un effet isotopique dû à la première déprotonation sans toutefois disqualifier l'hypothèse d'un effet dû à la seconde déprotonation de la position 3. En admettant que la première déprotonation soit responsable de l'effet isotopique, celle-ci doit être incluse dans l'étape ou dans une des étapes limitantes de la vitesse de formation du produit. La 1,6-fructosediphosphate aldolase ne présente pas d'effet isotopique dans sa forme native [80], mais par contre l'enzyme ayant subi une digestion partielle présente un effet isotopique et la formation de l'énamine devient limitante de la vitesse de formation du produit [81].

Un effet isotopique a également été identifié dans une enzyme comme la malate synthase pour l'énolisation de l'acétyl-CoA [82] ou du fluoracétyl-CoA [83]. La formation de l'énolate dans le site-A postulée dans le mécanisme Jordan II est compatible avec l'effet isotopique observé bien que souvent la formation de la liaison carbone-carbone ait été considérée comme l'étape limitante de la formation du PBG depuis le premier mécanisme postulé par Shemin [37].

Cependant, cet effet isotopique nous semble beaucoup moins compatible avec le mécanisme Jordan I classique. En effet, dans ce postulat mécanistique, la première déprotonation conduit à l'intermédiaire énamine VI dont la formation à partir de l'intermédiaire V est thermodynamiquement favorable. Il nous paraît peu vraisemblable que l'enzyme ne soit pas parvenue à rendre cette transformation rapide par rapport à la cyclisation qui suit.

La principale objection au mécanisme Jordan I réside dans cette forme énamine (VI). Du point de vue chimique, la tautomérisation entre une forme imine et une forme énamine est évidente. Dans notre cas, la situation est énergétiquement favorisée par la présence d'une forme iminium et d'une base forte (DH⁺). L'intermédiaire VI est relativement stable et il constitue un puits dans le schéma énergétique du mécanisme de la biosynthèse du PBG (2). En effet, l'étape suivante est une cyclisation par réaction de type aldol avec une attaque de l'énamine (site-A) sur l'iminium (site-P). Une réaction de type énamine plus iminium est idéale puisque l'azote de l'iminium, chargé positivement, active l'électrophilie du carbone de la double liaison par effet mésomère et inductif (Figure 19 a). Le problème réside dans le fait que la réaction a lieu dans un cycle à 5 membres et que le recouvrement des orbitales, avec une direction d'attaque selon l'angle de Bürgi-Dunitz [84] (~110° [85]), ne peut être idéal qu'en perdant une grande partie de la conjugaison du système π énamine (Figure 19 b).

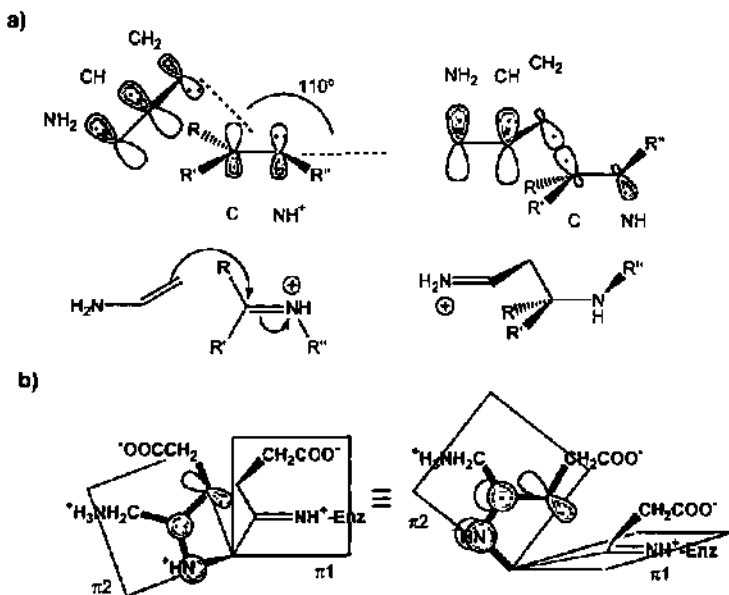


Figure 19 : Réaction de type aldol entre une énamine et un iminium a) non-cyclique b) cyclique à 5 membres.

La cyclisation de type 5-*exo-trig* est favorable selon Baldwin [86] et le type de réaction est favorable (type aldol avec énamine et iminium), mais le système réactionnel est défavorable [87] (Figure 20a), soit l'intermédiaire "iminium-anion", qui doit être généré pour une attaque de l'iminium du premier substrat conforme à l'angle de Bürgi-Dunitz est d'enthalpie substantiellement plus grande (perte importante de conjugaison) que l'intermédiaire VI (Figure 20b). La situation la plus favorable est bien sûr une situation intermédiaire. Notons que le mécanisme Jordan II ne présente pas l'inconvénient du roécabisme Jordan I.

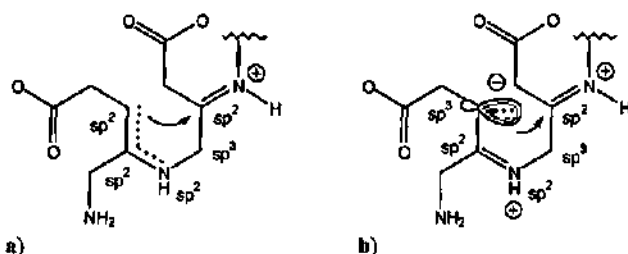


Figure 20 : Cyclisations de a) l'intermédiaire énamine b) de l'intermédiaire "iminium-anion" dans le mécanisme Jordan I.

Il nous semble que l'enzyme se doit d'éviter l'écueil d'un intermédiaire trop stable du point de vue enthalpique qui, de surcroît, ne fournit pas au système enzyme-intermédiaire une contrepartie à la préorganisation de l'état de transition de la cyclisation (Figure 21, gauche). Donc le mécanisme Jordan I classique ne semble pas expliquer, de manière satisfaisante, l'effet isotopique observé et présente un intermédiaire énamine VI qui devrait être activé d'une manière importante par l'enzyme pour conduire à la cyclisation. Si c'est réellement un mécanisme de type Jordan I qui opère, il nous paraît plus plausible de postuler une déprotonation de l'intermédiaire iminium V avec une contrainte sur le système énaminic qui, certes rendrait la déprotonation enthalpiquement moins favorable, mais qui préorganiserait le système pour la cyclisation (Figure 21, droite). Nous pouvons imaginer des alternatives avec une séquence de fixation des substrats et de formation des liaisons entre les deux molécules de substrat de type Jordan I, mais en l'absence d'informations expérimentales, voire théoriques, supplémentaires il est prématuré d'avancer d'autres hypothèses.

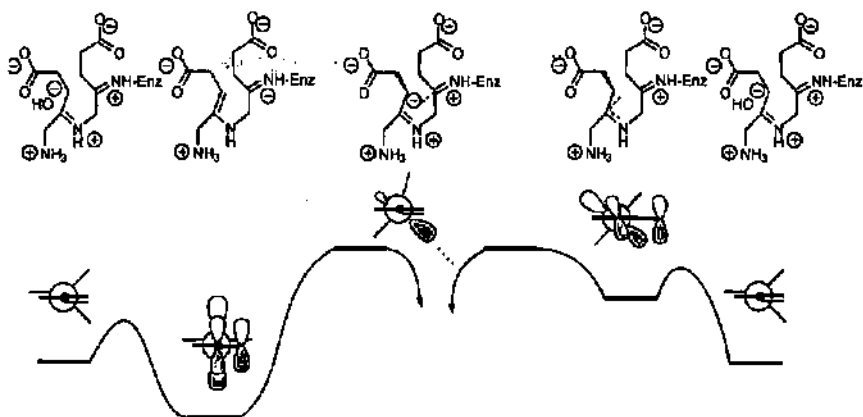


Figure 21 : Schémas énergétiques conduisant à l'état de transition de la cyclisation.

Dans le mécanisme classique Jordan I, nous pouvons compter quatre modes de cyclisation différents, donnant lieu à un intermédiaire IX contenant deux centres chiraux pouvant être formés avec une configuration absolue *RR*, *SS*, *RS* ou *SR* pour les deux centres intervenant dans la nouvelle liaison (Figure 22). Il peut paraître futile de s'attarder sur les configurations absolues de ces intermédiaires puisque l'information est perdue dans les étapes suivantes. En plus, ces configurations absolues, bien qu'importantes, n'influent a priori pas fondamentalement sur le mécanisme. Cependant, nous avons élaboré un concept de piégeage d'intermédiaires se basant sur la substitution d'un ou deux hydrogènes labiles en position 3 du substrat par un substituent fluoro (voir chapitre suivant). Si nous parvenons à synthétiser l'acide (*rac*)-5-amino-3-fluorolévulinique et si l'enzyme accepte cette molécule comme un substrat suffisamment convenable pour enclencher le processus catalytique, alors, si la déprotonation en position 3 est énantiosélective comme nous le postulons, un seul énantiomère serait déprotoné. L'autre énantiomère bloquera le processus au niveau de l'intermédiaire V (Figure 18). L'intermédiaire VI, obtenu avec le premier énantiomère du 5-amino-3-fluorolévulinat, pourrait former un analogue difluoré de l'un des intermédiaires IX (Figure 22).

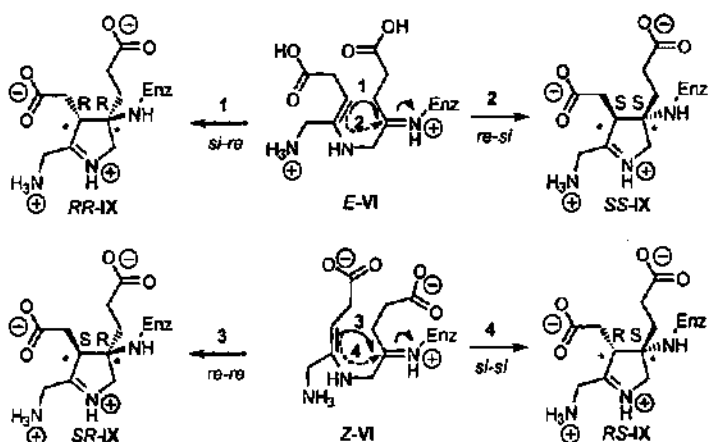


Figure 22 : Stéréochimie de l'attaque de l'énamine (face *re* ou *si*) sur l'iminium (face *re* ou *si*) pour l'étape de cyclisation dans le mécanisme Jordan I.

A ce niveau du mécanisme, nous rejoignons le postulat Jordan II et il nous reste à éliminer le groupe amino de la chaîne latérale de la lysine K₂₄₇ pour libérer le produit de la liaison covalente avec l'enzyme et à déprotoner le proton excédentaire pour obtenir l'aromaticité. L'expérience de Akhtar nous donne comme information mécanistique que c'est l'élimination du proton pro-*R* qui a lieu sur la position 5 du substrat site-P. En tant que chimiste, nous pouvons remarquer que l'acidité du proton de la position 3 du substrat site-A est plus forte (formation d'une énamine) que celle du proton de la position 5 du substrat site-P (formation d'un ylure). La seconde remarque que nous pouvons faire est que l'élimination bimoléculaire *trans* antipériplanaire est en général favorisée par rapport à l'élimination *syn* alors que l'élimination bimoléculaire avec conformation gauche est complètement défavorable. L'anion obtenu par déprotonation de la position 3 du substrat site-A est néanmoins bien stabilisé par l'iminium ce qui permet d'envisager un mécanisme de type monomoléculaire anionique.

Le mécanisme Jordan I a été postulé [46] et est présenté usuellement [2,50,75] avec une élimination du groupe amino par déprotonation en position 3 du substrat site-A. Il faut remarquer que l'élimination (E2) est applicable de façon quasi *trans* antipériplanaire seulement dans le cas des intermédiaires *SR-IX* et *RS-IX*. Un mécanisme d'élimination bimoléculaire *syn* doit être postulé pour les intermédiaires *RR-IX* et *SS-IX*. Si nous postulons que l'élimination a lieu par attaque d'une base sur la position 5 du substrat site-P, alors l'élimination, pour respecter la déprotonation pro-*R*, sera *anti* pour une configuration *S* du carbone de la position 4 et *syn* pour une configuration *R*. La déprotonation moins favorable ne semble pas alors favoriser un mécanisme de premier ordre anionique. Une activation du groupe partant amino sous forme d'ammonium est indispensable pour rendre l'élimination effective. Souvenons-nous que nous avons laissé, dans notre mécanisme de formation de la base de Schiff dans le site-P (II, Figure 16), la lysine K₁₉₅ sous forme ammonium. Il est tentant d'attribuer à cet ammonium idéalement placé par rapport à la fonction amine de la

lysine K₂₄₇ le rôle de source de proton. La fonction amine ainsi libérée se trouve dans une position idéale pour agir comme base dans l'étape d'abstraction du proton pro-R de la position 5 du substrat site-P. Ce groupe amino est également idéalement placée pour la déprotonation en position 3 du second substrat de l'intermédiaire RR-IX (Figure 23).

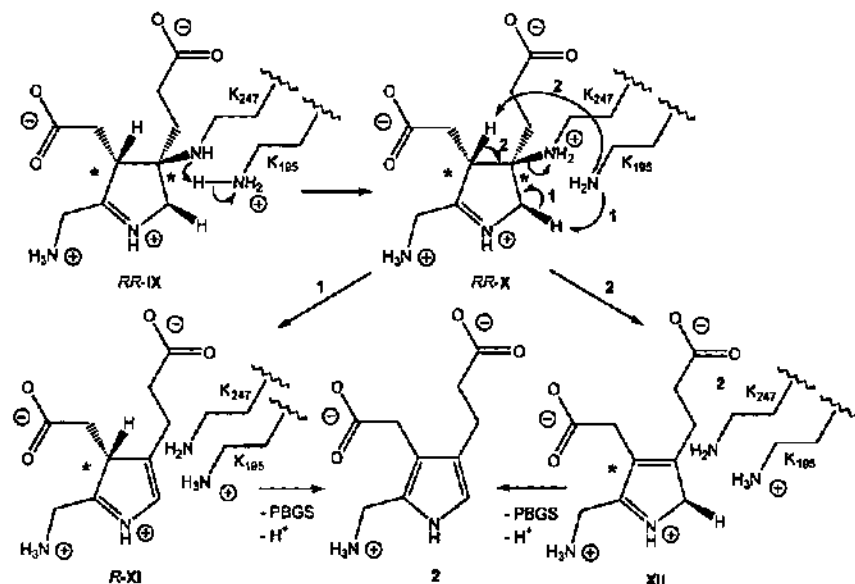


Figure 23 : Implication de la lysine K₁₉₅ dans l'élimination de la lysine K₂₄₇.

Considérons que l'intermédiaire RR-IX est l'intermédiaire réellement formé lors du chemin biosynthétique. Si nous reprenons nos hypothèses sur la stoechiométrie des protons, avec une formation de l'iminium initial, laissant une lysine K₁₉₅ sous forme amino, cette dernière peut transférer un proton de la position 3 du second substrat à la fonction amine de la lysine K₂₄₇. Puis l'élimination, assistée par l'azote de l'énamine formée, a lieu et le substrat est déprotoné une seconde fois, énantiosélectivement, par la lysine K₁₉₅. Le produit est libéré et le site actif retrouve son état initial. Si la lysine K₁₉₅ est protonnée comme nous le postulons, alors nous avons à trouver un autre groupement basique dans le site actif. Si nous considérons l'intermédiaire XI, un groupe basique doit être placé dans le site-A pour déprotoner la position 3 du substrat site-A. Si le deuxième substrat rentre sous forme anionique, le groupe amino du substrat peut engendrer cette basicité, résolvant ainsi notre excédent stoechiométrique. Il faut noter que, l'acidité du proton qui doit être abstrait pour obtenir l'aromaticité du produit est particulièrement grande et de ce fait, elle ne nécessite pas une basicité importante. Nous pouvons très bien postuler l'action d'un carboxylate, par exemple de la chaîne latérale d'un aspartate. Un tel groupe devrait alors se régénérer entre deux cycles catalytiques ou bien l'enzyme devrait évacuer ce proton par une chaîne de ponts-H vers le milieu extérieur (canal à proton). Il est à noter que rien n'empêche l'intermédiaire XI de quitter le site actif sous cette forme et de se déprotoner dès qu'il entre en contact avec le milieu extérieur. La même remarque est valable pour l'intermédiaire XII et la sélectivité de la déprotonation serait dans ce cas due au fait que lorsque le lid s'ouvre pour libérer le produit, la face orientée vers le

milieu extérieur est celle exposant le proton pro-R. Ce dernier étant très acide, il est promptement déprotoné. Le mécanisme usuellement proposé implique une déprotonation de la position 3 du substrat site-A par une base indéterminée (B') précédant la déprotonation pro-R de la position 5 du substrat site-P. Cette base (B') achève le cycle catalytique sous forme (BH). Les mêmes commentaires sur la basicité dans le site-A, qui ont été faits précédemment pour l'intermédiaire X1, restent valables, si ce n'est que la basicité requise est, cette fois, un peu plus grande.

Les propos mécanistiques exposés dans ce chapitre ont pu paraître simplistes sous certains aspects. Il est évident qu'un grand nombre d'inconnues entoure à ce jour le mécanisme malgré les structures aux rayons-X disponibles. Nous n'avons pas la prétention de décrire le mécanisme dans ses détails et de manière exhaustive, mais nous avons discuté d'alternatives devant servir de base de réflexion. Il est évident que nous avons présenté l'action de certains groupes fonctionnels en omettant de discuter l'implication de groupes participant soit comme relais, soit comme activateurs de la réactivité. Nous n'avons à ce jour entrepris aucun travail de modélisation qui a semblé prématuré en l'absence d'information plus précise sur le positionnement du second substrat dans le site-A.

1.1.1.3 Inhibition de la porphobilinogène synthase.

1.1.1.3.1 Design d'inhibiteurs pour une étude mécanistique de la porphobilinogène synthase.

Que ce soit en présence ou en absence d'une structure aux rayons-X, un concept basé sur la synthèse de molécules ayant pour cible le site actif reste le meilleur moyen d'approcher rationnellement l'étude de la fonctionnalité d'un biocatalyseur ainsi que ses interactions mutuelles avec, dans notre cas, les deux substrats identiques et jusqu'à leur transformation en produit. Notre approche, initiée par Lüönd [88], est basée sur la synthèse d'inhibiteurs analogues du substrat, analogues du produit et analogues des intermédiaires se formant lors du processus catalytique. L'affinité des analogues de substrat et de produits pour le site actif peut être relativement facilement corrélée à celle des substrats et du produit en fonction du degré d'analogie. Nous pouvons donc obtenir des informations sur l'impact de modifications ponctuelles. Le concept d'analogues d'intermédiaires est basé sur une hypothèse de départ non triviale qui est qu'une telle structure a une affinité significative pour le site actif. S'il est vrai que, lors du processus catalytique, le site actif et la structure de l'intermédiaire s'adaptent mutuellement afin de procéder à la transformation d'une manière rationnelle du point de vue énergétique, il est certainement vrai que l'enzyme subit au fil du processus des modifications chimiques (principalement des transferts de proton). L'absence de ces modifications chimiques au sein du site actif natif peut constituer un obstacle à l'adaptation de celui-ci à la structure de l'intermédiaire. L'affinité du site actif pour l'état de transition limitant la vitesse et, probablement, pour les autres états de transition d'énergies significatives est nécessairement plus forte que celle pour les intermédiaires. Cela est une caractéristique intrinsèque de la fonction catalytique de l'enzyme. Nous pouvons donc parler de tolérance ou d'intolérance du site actif pour les analogues d'intermédiaires postulés selon qu'ils sont représentatifs ou non des intermédiaires réels (*match* ou *missmatch*).

Le concept d'inhibition par des analogues d'intermédiaire ne doit pas être confondu avec celui postulé par Pauling [89] d'inhibition par des analogues d'état de transition. Ce dernier type d'inhibiteurs démontre, idéalement, une affinité d'autant plus accrue pour le site actif, comparée à celle du substrat, que l'enzyme stabilise efficacement l'état de transition. Des

études cinétiques indiquent que pour le cas des réactions à un substrat l'état de transition est lié de 10^7 à 10^{15} fois plus fortement que le substrat lui-même dans son état initial [90]. Un tel effet a été mis en évidence dans la fin des années soixante, entre autres, par les travaux de Wolfenden sur la triosephosphate isomérase [91]: Le D,L- α -glycérophosphate (11) s'est avéré être le meilleur analogue de substrat testé avec des constantes d'inhibition K_i (poulet) = 110 μM et K_i (lapin) = 230 μM pour des constantes de Michaelis du substrat DL-glyceraldehyde-3-phosphate (12) K_M (poulet) = 310 μM et K_M (lapin) = 750 μM . L'analogie d'état de transition phosphoglycolate (13) inhibait l'enzyme avec des constantes d'inhibition K_i (poulet) = 6.8 μM et K_i (lapin) = 6.0 μM . L'inhibition accrue observée a permis également de confirmer l'hypothèse mécanistique d'un intermédiaire ène-diolate (Figure 24). Actuellement l'inhibition des enzymes par des analogues d'état de transition est une approche exploitée en chimie médicinale, d'une part pour la forte affinité accessible avec de tels analogues pour le site actif d'une enzyme cible et, d'autre part, pour obtenir une sélectivité parmi les différentes enzymes impliquant des états de transition différents mais le même substrat; cette sélectivité est obtenue généralement plus difficilement avec des analogues de substrats.

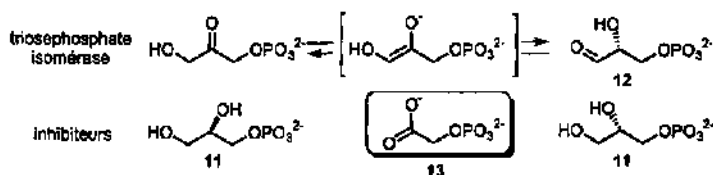


Figure 24 : Inhibition accrue par un analogue d'état de transition.

Dans notre approche, l'affinité de nos analogues pour le site actif est établie par une mesure de leur potentiel en tant qu'inhibiteurs de la transformation enzymatique. La validité d'une telle approche passe par la multiplication de modifications systématiques, permettant d'obtenir une image la plus complète possible sur le réel impact des modifications introduites et donc d'en déduire des informations sur la surface du site actif.

Une approche moderne et efficace serait de cocrystalliser des analogues de substrat, d'états de transition et de produits pour obtenir une suite d'images de l'enzyme à différents stades du processus catalytique. Cette approche permet d'obtenir des informations très précises avec un minimum de structures analogues et semble définitivement plus performante que notre approche indirecte. Il faut cependant insister sur le fait que la cristallisation est souvent aléatoire; elle demande une enzyme de très bonne pureté et n'est utile que si la résolution atomique est obtenue. Néanmoins dans le cas de notre enzyme, qui n'est pas une enzyme catalysant une réaction simple, mais une suite de réactions, les mêmes incertitudes planent sur la validité de l'hypothèse concernant les analogues d'intermédiaires. L'interprétation du comportement d'un analogue d'intermédiaire induisant une adaptation du site actif non conforme à la réalité du complexe site actif-réel intermédiaire, pourrait très bien conduire à un postulat mécanistique erroné.

Le design des analogues doit prendre en compte deux facteurs principaux. Le premier est le degré d'analogie. Il doit être aussi grand que possible afin, d'une part, d'imiter fidèlement les structures instables ou transitoires et, d'autre part, d'obtenir un minimum d'interférence de la part du reste de l'analogue par rapport à une modification éprouvée. Au fur et à mesure de l'accroissement du nombre de modifications testées, une image de l'importance relative des

modifications se dessine. Le second facteur est la conservation de l'intégrité structurale lors du test. Que ce soit, par exemple, le substrat (δ -ALA) ou le produit (PBG), les deux molécules sont chimiquement réactives et promptes à se transformer (dimérisation, ...). Il est extrêmement important pour un processus d'étude indirect, tel que celui que nous utilisons, de connaître l'identité structurale réelle de l'inhibiteur mesuré. Nous devons donc éviter autant que possible des inhibiteurs peu stables dont l'intégrité n'est pas conservée dans nos conditions expérimentales de tests. La formation d'un ou de plusieurs sous-produits complique l'interprétation des données cinétiques qui ne peut être alors effectuée que si le comportement individuel de chacun des sous-produits est connu. Nous nous devons également de tenir compte dans notre interprétation, dans les conditions de test, des paramètres structuraux que sont par exemple l'isomérisation, la tautomérie, le degré de dissociation des groupes ionisables ou la conformation en solution. La formation d'un complexe de Michaelis-Menten comporte bien d'autres facteurs qui sont parfois difficiles à appréhender comme l'est, par exemple, la dessolvation des groupes fonctionnels. Finalement, l'enzyme, qui est une entité plus ou moins flexible, s'adapte aux contraintes imposées par un élément structural qui lui est étranger et elle pourrait s'en accommoder d'une manière surprenante.

Une approche encore plus élégante est le design d'analogues reconnus comme substrat par l'enzyme et qui ont pour propriété de stopper le processus catalytique au niveau d'un des intermédiaires. L'enzyme est alors théoriquement sous une forme catalytiquement active présentant sa réelle surface complémentaire à l'intermédiaire. Une fois encore, il faut être extrêmement prudent dans le sens qu'un intermédiaire bloqué peut très bien subir une réaction secondaire et donner lieu à une structure non représentative de l'intermédiaire réel. De même, la surface du site actif, puisque privée de son champ d'action normal, peut donner lieu à une réactivité atypique. Si l'analyse par diffraction des rayons-X d'une structure site actif-intermédiaire bloqué peut constituer définitivement un risque dû à l'échelle de temps (obtention des cristaux); une technique comme la résonance magnétique nucléaire (RMN) pourrait s'avérer très appropriée et efficace. L'introduction d'un ou plusieurs groupes fluoro semble indiquée à la fois comme marqueurs pour la ^{19}F -RMN et comme substitués pour des hydrogènes labiles au cours du processus réactionnel. Comme il a été montré dans le chapitre précédent, quelque soit le mécanisme, trois hydrogènes sont abstraits, soit les deux hydrogènes en position 3 du substrat site-A ainsi qu'un hydrogène en position 5 du substrat site-P (Figure 25). Cependant l'application de cette stratégie donne une information partielle sur l'intermédiaire puisque ponctuelle et par conséquent demande un important travail de synthèse de composés modèles pour interpréter le déplacement chimique mesuré sur l'enzyme grâce à la sonde fluoro.

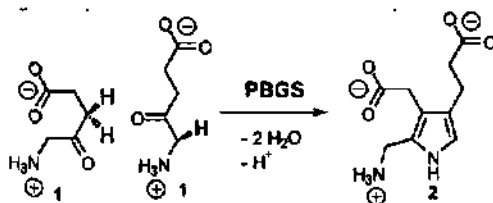


Figure 25 : Hydrogènes, liés à un carbone, abstraits lors de la condensation de deux δ -ALA pour former le PBG.

1.1.1.3.2 Type d'inhibiteurs et cinétique de la porphobilinogène synthase.

La porphobilinogène synthase appartient à la classe des enzymes à deux substrats, qui sont dans ce cas identiques. Il en découle une cinétique complexe (équation 1). Elle obéit néanmoins, en première approximation, à l'équation de Michaelis-Menten (équation 2) dans des conditions de test données ($[\delta\text{-ALA}] \gg K_{M1} \rightarrow 80 < [\delta\text{-ALA}] < 400 \mu\text{M}$) et étant acquis que la porphobilinogène synthase remplit les conditions discutée par Granick [34].

$$(1) v = \frac{V_{\text{Max}} \cdot [S]^2}{K_{M1} \cdot K_{M2} + K_{M2} \cdot [S] + [S]^2} \quad (2) v = \frac{V_{\text{Max}} \cdot [S]}{K_{M2} + [S]}$$

Cette problématique a été traitée par Jarret [92] qui a déterminé les constantes de Michaelis pour chacun des substrats : $K_{M1} = 4.6 \pm 1.9 \mu\text{M}$ et $K_{M2} = 66 \pm 13 \mu\text{M}$. En assumant que la formation du produit est l'étape limitante de la vitesse et que les deux substrats sont reconnus de façon séquentielle, la constante de Michaelis du premier substrat se doit d'être inférieure à celle du second substrat pour permettre une simplification de la relation quadratique de la vitesse de formation du produit en fonction de la concentration du substrat. Le substrat est dans une concentration bien supérieure à K_{M1} , ce qui a pour effet de saturer le premier site de fixation (Figure 26). Il est à noter que Jaffe *et al.* ont déterminé pour la PBGS (bovine), par une analyse du graphe de la concentration du substrat en fonction de l'occupation du site actif, des constantes de dissociation de $3.8 \mu\text{M}$ et $242 \mu\text{M}$ [60] avec une très forte marge d'erreur.

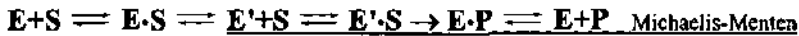
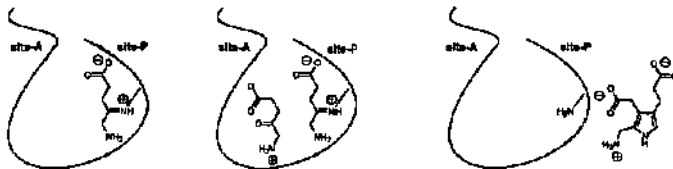


Figure 26 : Relation entre la cinétique et la fixation des deux molécules de substrat.

Nous définissons deux types d'inhibiteurs compétitifs. Les inhibiteurs I du type analogue du produit (PBG), qui interagissent au niveau du site actif (site-A et site-P) de l'enzyme E, et les inhibiteurs I' analogues de substrat ($\delta\text{-ALA}$), qui interagissent au niveau du site-A sur le complexe covalent enzyme-substrat E' (Figure 27). Les inhibiteurs compétitifs analogues de substrat I' sont reconnus dans le site-A principalement comme un motif γ -carboxylcarboxylate. Les inhibiteurs compétitifs I du type analogue du produit sont capables d'interagir suffisamment efficacement dans le site actif pour entrer en compétition avec le premier substrat et avec lui seul.

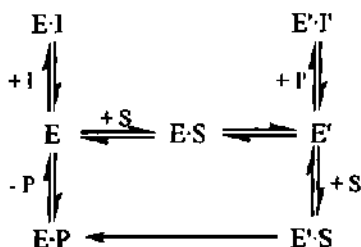


Figure 27 : Inhibition compétitive; analogues de produit I et analogues de substrat I'.

Il faut comprendre que nous classons les inhibiteurs du point de vue de leurs contributions cinétiques relatives aux conditions de test et non pas en fonction de leur comportement intrinsèque vis-à-vis du site actif. Ainsi, l'acide lévulinique (10), qui est clairement du point de vue cinétique un inhibiteur compétitif analogue de substrat, a été cocristallisé dans le site-P de l'enzyme [50-52]. Cela indique, simplement, qu'en l'absence du substrat, le site-P de l'enzyme s'accommode relativement bien de l'acide lévulinique, mais que ce dernier en présence de quantité significative de substrat ($[\delta\text{-ALA}] > 80 \mu\text{M}$) ne rentre pas de manière significative en concurrence avec le substrat. Ce point est important, car une interprétation telle que nous la faisons actuellement [92], basée sur l'analyse de Granick de 1958 [34], implique qu'un analogue de substrat, agissant comme un inhibiteur compétitif, ne rentre pas en compétition avec le premier substrat qui forme la base de Schiff. Et donc, même si le mécanisme était de type Shemin, le pyrrole mixte entre l'acide lévulinique (10) et le $\delta\text{-ALA}$ (1) ne se formerait que de manière extrêmement marginale avec des concentrations de substrat usuellement appliquées aux tests (" $K_i \gg K_{M2}$ "). Jordan [21] expliquant récemment l'erreur d'interprétation de Shemin et Nandi [37] écrit : "These workers had assumed incorrectly that levulinic acid was acting as a substrate and an inhibitor at the same site—the A site. However, levulinic acid is clearly acting as a substrate at the A site but acting only as an inhibitor at the P site (since levulinic acid has no NH_2 it cannot supply the nitrogen necessary for the pyrrole ring and cannot act as a substrate at the P site)." En fait, d'après notre modèle cinétique, l'assomption que l'acide lévulinique agirait comme substrat et comme inhibiteur dans le même site, le site-A est correcte et donc l'affirmation de Jordan erronée. Il est vrai que l'acide lévulinique ne peut être utilisé comme substrat que dans le site-A pour former un pyrrole mais l'acide lévulinique, s'il est un inhibiteur purement compétitif, ne peut agir que dans un seul site, le site-A en l'occurrence. En fait, ce qui ne manque pas d'être paradoxal, la formation catalysée par la PBGS du pyrrole mixte serait un argument en faveur d'un mécanisme type Jordan. Rappelons néanmoins que la formation de ce pyrrole mixte, ainsi que d'autres, n'a jamais été prouvée. Il faut finalement souligner que l'acide lévulinique (10) interagit sans aucun doute dans le site-P en absence de $\delta\text{-ALA}$ (1) [50].

Une inhibition mixte est observée lorsque l'inhibiteur I interagit d'une contribution cinétique comparable avec l'enzyme E et le complexe covalent enzyme-substrat E' (Figure 28). Il s'agit, d'une part, des analogues de substrat, qui sont en mesure de rentrer en compétition à la fois avec le premier substrat dans le site-P et avec le second substrat dans le site-A. Il s'agit, d'autre part, des analogues de ce que nous appellerons les bissubstrats (en référence au terme anglais *bisubstrate* [93]). Les bissubstrats sont définis comme des molécules constituées de deux exemplaires du motif structural propre au substrat qui sont reliés ensemble de manière à placer les deux parties conformément à leur position relative au sein du site actif. Les

analogues de bissubstrats sont en mesure d'interagir avec l'enzyme E au niveau des deux sites de reconnaissance et également, efficacement, dans le site-A du complexe E' avec une de leur parties analogues au substrat. L'inhibition incompétitive ne peut être différenciée de l'inhibition mixte du point de vue de son comportement cinétique et n'est pas une inhibition sélective du site actif. L'interprétation du comportement des inhibiteurs incompétitifs ou mixtes est conjectural par la nature même de la multiplicité des interactions recouvertes par ce type d'inhibition.

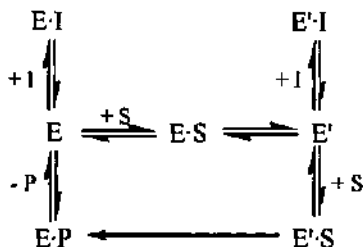


Figure 28 : Inhibition mixte de l'inhibiteur I.

Une inhibition de type slow-binding ou quasi-irréversible (slow-binding forte) est identifiée pour des inhibiteurs interagissant avec l'enzyme E et stabilisant cette interaction (voie a), Figure 29) de manière à obtenir un complexe E*. Nous pouvons envisager un même type de stabilisation du complexe covalent enzyme substrat E' plus l'inhibiteur I' (voie b), Figure 29). La voie a) s'applique à des inhibiteurs du type analogue de substrat étant par exemple capables de stabiliser l'interaction covalente avec la lysine du site-P. Elle s'applique également à des analogues de produits pour autant que ceux-ci soit en mesure d'induire une interaction particulière avec le site actif qui stabilise le complexe enzyme-inhibiteur. Les analogues de bissubstrats suffisamment fonctionnalisés pour permettre des interactions multiples efficaces doivent pouvoir stabiliser le complexe inhibiteur-enzyme par un effet de chélation du site actif. Contrairement aux analogues de bissubstrats, les analogues soit d'intermédiaires soit d'états de transition sont dessinés pour interagir avec l'enzyme sous une forme que nous qualifions de catalytiquement active et donc demande une adaptation de l'enzyme postérieure à la formation du complexe inhibiteur-enzyme. Nous différencions, ici, la fonction de l'enzyme, qui est la reconnaissance des substrats, de sa fonction catalytique. L'une et l'autre des fonctions impliquent des interactions stabilisantes soit, dans le premier cas, avec les groupes spécifiques du substrat, soit, dans le second cas, avec la structure des intermédiaires. Mais dans le cas de la reconnaissance, l'accès au site actif doit être assurée pour les deux molécules de substrat. Quant à la fonction catalytique, elle nécessite une proximité des groupes catalytiquement actifs soit dans un but d'activation de la réactivité souhaitée soit dans le but de stabiliser les structures de transition de hautes énergies. Rappelons que les groupes catalytiquement actifs peuvent subir des modifications, telles que des protonations ou déprotonations, au cours de la voie catalytique qui n'auront pas lieu si l'on entre dans le site actifs directement avec une structure intermédiaire. Des analogues d'intermédiaire peuvent être des inhibiteurs slow-binder pour autant que la structure de l'enzyme parvienne à s'adapter à la structure de l'intermédiaire (ou que réciproquement ce dernier soit en mesure d'induire une adaptation structurale du site actif). La voie de stabilisation b) peut être postulée pour des inhibiteurs I' du type analogue de substrat qui stabiliseraient suffisamment leurs interactions avec le site-A, par exemple, avec le groupe

amino du premier substrat. Notons que les interactions des inhibiteurs avec le *lid*, maintenant celui-ci en position fermée, entrent certainement en jeu dans des phénomènes de stabilisation du complexe enzyme-inhibiteur mais elles sont encore difficiles à appréhender.

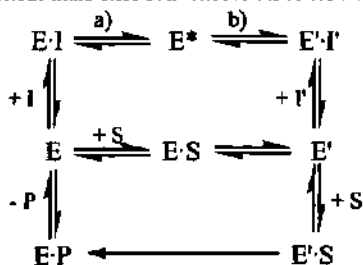


Figure 29 : Inhibition *slow-binding* ou quasi-irréversible.

La seule remarque que nous ferons sur l'inhibition irréversible pure est la difficulté d'obtenir des inhibiteurs irréversibles spécifiques pour le site actif de la PBGS. Les dérivés bromés ou chlorés soit en position 3 soit en position 5 de l'acide lévulinique ont été décrits comme inhibiteurs compétitifs mais également comme inhibiteurs irréversibles avec différents postulats sur les sites d'alkylation. En fait de telles structures réactives présentent certainement une spécificité pour le site actif relativement faible [94] et comme il l'a été mis en évidence pour le dérivé bromé méthylester une hydrolyse au moins partielle du groupe réactif dans les conditions de test a été observée (résultats groupe Neier non publiés). Des inhibiteurs de type époxyde synthétisés par Marty [95] ont démontré clairement leur non sélectivité par digestion partielle de l'enzyme traitée et analyse des fragments par spectrométrie de masse (résultat groupe Neier et groupe Jaffe non publiés). Un inhibiteur irréversible spécifique du site-P, le 3-thia analogue du substrat, a été rapporté par Leeper [96] et alkyle sélectivement la lysine responsable pour la formation de la base de Schiff dans le site-P.

1.1.1.3.3 Sélection d'inhibiteurs connus de la porphobilinogène synthase.

L'acide lévulinique (10) est véritablement l'inhibiteur standard de la porphobilinogène synthase et a été testé sur beaucoup de sources différentes de l'enzyme. Une série d'autres inhibiteurs a été testé sur une ou plusieurs sources et est donnée dans une revue de 1996 par Neier [2]. La même année, Senior *et al.* ont proposé une comparaison du comportement de treize inhibiteurs sur trois sources différentes (levure, pois et *E. coli*). En 1998, Leeper *et al.* ont publié une revue d'un travail très intéressant sur *Bacillus subtilis* [96]. Dans une certaine mesure, des idées que nous avons nous même exploitées pour notre étude de la PBGS issue de *E. coli* sont présentées.

Leeper *et al.* ont, par exemple, étudié des inhibiteurs analogues de substrat avec des modifications en position 1, 3 et 5 (Figure 30 a). Il ont également développé une synthèse de l'acide 5-amino-2-fluorolévulinique (19) [96,97] qui s'est avéré être un inhibiteur de la PBGS et n'est pas métabolisé comme un substrat artificiel (Figure 30 b). Finalement, ils ont développé une synthèse pour ce qu'ils ont nommé : "a bisubstrate analogue intended to mimic an intermediate on one of the proposed mechanisms for ALA dehydratase (Jordan I)" 20 (Figure 30 c).

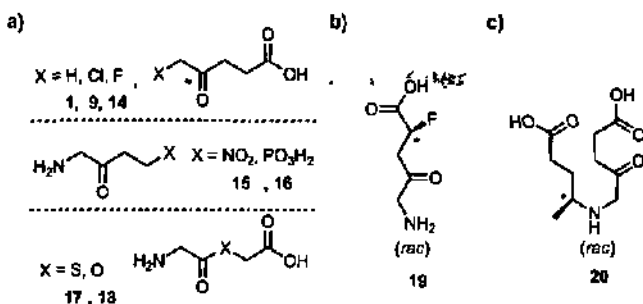


Figure 30 : Analogues par Leeper *et al.* du substrat (a), (b) et d'un intermédiaire postulé (c).

Différentes études ont mis en évidence les caractéristiques prépondérantes pour la reconnaissance des analogues de substrat dans le site-A [88,98,99]. Le carboxylate est important pour la reconnaissance et ne peut être substitué favorablement que par le groupe nitro. Le carbonyle de la cétone est important pour la reconnaissance alors que la présence du groupe amino l'est beaucoup moins (Figure 31).

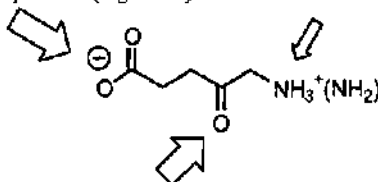


Figure 31 : Reconnaissance du substrat dans le site-A.

Un important travail a été effectué dans notre groupe par Lüönd [100] (*R. Spheroides*) et Henz [99] (*E. coli*) pour caractériser en particulier les influences mutuelles des analogues de substrat (et par conséquent du substrat) avec le site actif. Nous allons reprendre dans la partie de discussion un certain nombre d'inhibiteurs de la PBGS issue de *E. coli*.

Parmi les nombreux inhibiteurs testés, nous voulons en présenter deux. Le premier est un analogue de l'intermédiaire clé postulé dans le mécanisme Shemin : l'acide (*rac*)-(3*S*),(4*R*)-3-acétyl-4-méthoxy-4-méthylpimélique (21) qui est un inhibiteur compétitif activateur plutôt faible avec une constante d'inhibition $K_i = 11'900 \mu\text{M}$. Le deuxième est le 2-aza-PBG (22) qui est un analogue de produit compétitif avec une constante d'inhibition moyenne à faible $K_i = 5'730 \mu\text{M}$ (Figure 32).

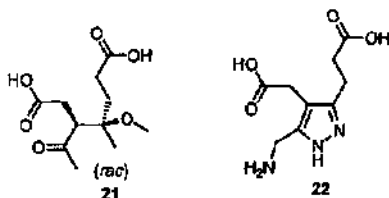


Figure 32 : Un analogue d'intermédiaire du mécanisme postulé par Shemin et un analogue de produit.

1.1.2 Les composés fluorés.

1.1.2.1 Les sources de fluor électrophile.

Les agents de fluoration peuvent être séparés en trois catégories selon qu'ils sont sources de fluorure (F^-), de fluor radical (F^\bullet) ou de fluor électrophile (F^+). Une source de fluorure commode, bien que problématique du point de vue de la sécurité des personnes, est le fluorure d'hydrogène ou acide fluorhydrique (gaz) en solution aqueuse ou, anhydre, dans un complexe avec la pyridine [101]. D'autres réactifs plus spécifiques comme le trifluorure de diéthylaminosoufre (DAST) permettent de convertir une liaison carbone oxygène en une liaison carbone fluor [102].

La source de base de fluor électrophile, a été pendant longtemps et reste le fluor élémentaire F_2 . En effet, quel élément mieux que le fluor, le plus électronégatif, peut attirer à soi les électrons d'une liaison avec le fluor pour générer un fluor électrophile? Mais le fluor est un gaz corrosif qui nécessite un laboratoire spécialement équipé pour sa manipulation. Une première génération de réactifs plus faciles à utiliser, pouvant libérer un fluor électrophile de manière plus sûre et surtout plus sélective a été développée. Parmi ceux-ci, le fluorure de perchlore ($FClO_3$), l'hypo-fluorite de trifluorométhyle (CF_3OF) et d'autres dérivés O-F apparentés [103] ainsi que le difluorure de xénon (XeF_2). Alors que ce dernier est pour des raisons économiques cantonné à des applications de laboratoires, le fluorure de perchlore et les dérivés hypo-fluorites sont des oxydants puissants et donc potentiellement dangereux dans leur application à la chimie organique de synthèse. Souvent, les dérivés organohypo-fluorites ne sont pas stables et doivent être générés *in situ* à partir du fluor élémentaire.

C'est seulement dans les années quatre-vingt, qu'une seconde génération de réactifs de fluoration électrophile basés cette fois sur une liaison azote fluor a vraiment émergé bien que Banks [104] ait démontré déjà en 1964 qu'un composé N-F pouvait délivrer un fluor électrophile. Ces composés sont neutres (R_3NF) ou de type ammonium quaternaire ($R_3N^+F A^-$) où A^- est un anion non nucléophile. Bien que leur synthèse implique, pour la plupart, le fluor élémentaire [105], une palette de réactifs de type N-F est stable et parmi elle, certains sont commercialement disponibles. Un grand nombre de dérivés ont été synthétisés avec des réactivités variables. Les dérivés de type ammonium quaternaire, avec comme extrême les sels NF_4^+ qui fluorent le nitrobenzène [106], sont en principe plus réactifs que les dérivés neutres, exception faite du *N*-fluoro-trifluorométhylsulfonimide (23) ($(CF_3SO)_2NF$) qui, à température ambiante, entraîne la fluoration du benzène, mais pas du chlorobenzène [107]. Le triflate de *N*-fluoro-pentachloropyridinium (24) attaque le benzène dans le dichlorométhane à reflux [108] alors que le bis(tétrafluoroborate) de 1-chlorométhyl-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octane 25 (selectfluor) attaque le toluène à 80°C [109]. Alors que des dérivés de types *N*-fluorosulfonimide 26 réagissent seulement avec des composés encore plus riches en électrons [110], des dérivés *N*-alkyl-*N*-fluoro-*para*-toluènesulfonamide 27 ne réagiront apparemment qu'avec des carbanions aromatiques comme substrats [111] (Figure 33).

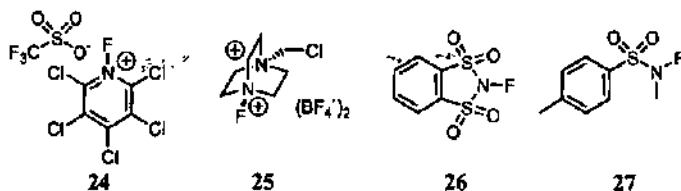


Figure 33 : Exemples de réactifs N-F (réactivité décroissante de gauche à droite).

Le bis(tétrafluoroborate) de 1-chlorométhyl-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octane (25) (selectfluor) fait partie des réactifs de fluoration électrophile qui sont commerciaux. Il a été utilisé comme réactif de fluoration avec de bons rendements sur des carbanions tels que des Grignard et dans de très bons rendements sur les carbanions stabilisés de 1,3-diesters, de β -cétoster, β -sulfonylphosphonates [112]. Cependant, le selectfluor 25 ne requiert pas nécessairement un carbanion comme substrat. Des 1,3-dicétones, des β -cétosters et des β -cétamides ont été fluorés par le selectfluor 25 directement dans l'acétonitrile, sans base présente, et plus le proton est acide, plus la fluoration est rapide [113]. Il est également intéressant de constater que l'introduction d'un premier substituant fluoro dans de tels systèmes est considérablement plus rapide que celle d'un deuxième. Il y a là corrélation entre la vitesse de réaction et le degré d'énolisation; le tautomère cétoénol étant largement défavorisé par la présence d'un substituant fluoro. Néanmoins, l'introduction d'un second substituant fluoro est accomplie dans de très bons rendements par formation préalable de l'énolate.

1.1.2.2 Le substituant fluoro.

Le remplacement d'un atome d'hydrogène ou dans une moindre mesure d'un groupe hydroxyle par un atome de fluor pour l'obtention d'analogues de substrats d'enzyme a été largement utilisé dans différents domaines de la chimie bioorganique et médicinale. Il est établi qu'un substituant fluoro imite suffisamment bien un atome d'hydrogène, en ce qui concerne son rayon de van der Waals et la longueur de sa liaison avec le carbone, pour donner le change aux enzymes et aux récepteurs. Cependant, la similarité stérique est limitée et, par exemple, le volume hémisphérique de Van der Waals du trifluorométhyle est notablement plus grand que celui du méthyle [114] (Figure 34 b). Il est intéressant de constater que les monocouches de Langmuir formées avec l'acide 12-fluorostéarique ont un comportement thermodynamique très semblable à celles de l'acide stéarique alors que celles obtenues à partir de l'acide 12,12-difluorostéarique sont notablement moins stables. Le désordre conformationnel introduit par un deuxième substituant fluoro sur un carbone d'une chaîne hydrocarbonée est également clairement explicité par la mesure du point de fusion des triglicérides obtenus à partir des trois acides mentionnés plus haut: acide stéarique (72°C), acide 12-fluorostéarique (73°C) et 12,12-difluorostéarique (58°C) [115].

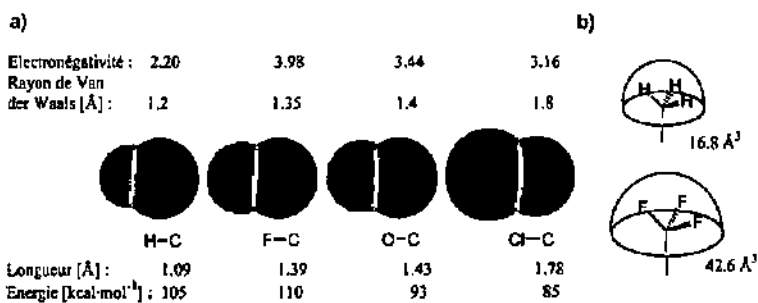


Figure 34 : Comparaisons a) des rayons de van der Waals de l'hydrogène, du fluor, de l'oxygène et du chlore et de leur électronégativité selon Pauling ainsi que de leur liaison avec le carbone et de l'énergie de celle-ci [116] b) des volumes hémisphériques de van der Waals du méthyle et trifluorométhyle.

Il apparaît évident qu'au delà de la relation isostérique entre l'hydrogène et le fluor, ce sont les différences stéréoelectroniques et de réactivité qui rendent le fluor si attrayant et en même temps si délicat à introduire dans des molécules d'intérêt biologique. La première différence réside dans l'extrême électronégativité du fluor qui implique un effet inductif électroattracteur notable; par exemple, l'acidité de groupes ionisables adjacents en est une bonne illustration [117]. En comparaison de l'oxygène d'un groupe hydroxyle, le groupe fluoro possède certes trois doublets libres, mais dû à la forte densité de charge du noyau et à leur proximité de celui-ci, ils sont peu disponibles et le caractère accepteur de ponts-H en est amoindri (2.38 kcal·mol⁻¹ calculé pour C(sp³)-F...H-O [118] par rapport à ~5 kcal·mol⁻¹ pour H-O...H-O). En comparaison avec l'hydrogène qui peut être abstrait sous forme de proton, le fluor ne peut être abstrait que sous forme anionique. La forte énergie de liaison avec le carbone rend les squelettes organiques fluorés robustes, mais des réactivités de type élimination sont favorisées par rapport à des substitutions qui sont moins opérantes.

Parmi les effets stéréoelectroniques du fluor, nous voulons en présenter deux. Le premier est l'effet *gauche* [119] et corrélié à celui-ci, l'effet *cis* [120]. L'effet *gauche* est exprimé dans le 1,2-difluoroéthane par une conformation *gauche* légèrement plus favorable (Figure 35a). L'interaction stérique *gauche*, défavorable entre les deux atomes de fluor, est compensée par une interaction d'hyperconjugaison des orbitales σ* des liaisons carbone fluor avec les liaisons σ carbone hydrogène respectivement positionnées *trans* antipériplanaire; ceci est favorisé par rapport à une interaction *trans* antiliante "conjugant" les deux fluor. L'effet *cis* semble découler des mêmes facteurs stéréoelectroniques. Cette relation *cis* est stériquement défavorable mais néanmoins thermodynamiquement préférée. Elle a été décrite par Epiotis et Cherry [121] comme étant due à une interaction non-liante entre les deux groupe fluoro adjaçant donnant lieu à une interaction favorable grâce à l'intervention de l'orbitale π* de la double liaison. Cette relation *cis* a été d'autre part attribuée à une non déstabilisation par conjugaison des groupes fluoro à travers le système π car la délocalisation est affaiblie par la géométrie *cis* [122]. L'effet *cis* a été avancé comme source de la stéréosélectivité de la formation du (2*R*,3*R*)-fluorocitrate (28) [123] par formation sélective de la forme E de l'énol du fluoroacétyl-CoA (29) [124], le fluoro et l'hydroxy étant les deux groupes fortement électronégatifs se positionnant dans une relation *cis* (Figure 35b). Un tel effet *cis* n'est pas opérant pour le cas où un énolate est formé. Le second effet est l'effet Anh et Eisenstein [125]

qui implique une stabilisation de l'approche d'un nucléophile sur un centre sp^2 par un atome d'halogène (Cl ou F) en α et positionné *trans* antipériplanaire au vecteur d'attaque. Ce phénomène s'explique par une interaction de l'orbitale σ^* de la liaison carbone halogène avec l'orbitale en formation entre l'orbitale *HOMO* du nucléophile et l'orbitale *LUMO* du système insaturé. De plus, une telle géométrie d'attaque minimise toute répulsion électrostatique entre le nucléophile et l'halogène.

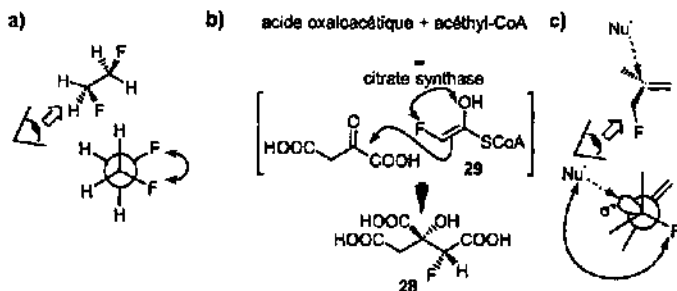


Figure 35 : Effets a) gauche, b) *cis* exprimé sur l'énol du fluoroacétyl-CoA et c) Anh et Eisenstein.

1.1.2.3 Le rôle des composés organiques fluorés dans les systèmes vivants.

Bien que le fluor soit un élément relativement répandu sur terre, avec la plus grande abondance relativement aux autres halogènes, il est présent dans les systèmes vivants principalement comme composant minéral. En effet, plus de 50 ans après la découverte du premier produit naturel fluoré, le fluoroacétate (30), seulement une douzaine de composés naturels fluorés ont été répertoriés [126]. Parmi ceux-ci, huit sont des homologues d'acides gras ω -fluorés, constituant une famille de co-métabolites isolés dans une même plante. Il est intéressant de constater qu'aucune nouvelle classe de métabolites fluorés n'a été décrite durant la dernière décennie, bien que les méthodes de *screening* et d'élucidation de structures se soient considérablement développées. De même, aucun détail biochimique spécifique à la fluoration dans aucun organisme n'a été établi et l'isolation ainsi que la purification d'une enzyme de fluoration reste un challenge pour le nouveau millénaire. Parmi les composés naturels fluorés, la nucléocidine 31 (4'-fluoro-5'-O-sulphamoyladénosine), un antibiotique à large spectre mais trop toxique pour un usage clinique, a été isolée de *Sireptomycetes calvus* obtenu à partir d'un échantillon de sol indien. Les échantillons conservés de ce microorganisme ont perdu l'aptitude à synthétiser ce métabolite, ce qui empêche toute étude de la voie biosynthétique de 31. De même que le fluoroacétate, l'acide ω -fluorooléique 32 est un composé toxique concentré, par certaines plantes de l'hémisphère sud, dans leurs feuilles et leurs graines comme mécanisme de défense (Figure 36).



Figure 36 : Rares exemples de composés naturels fluorés.

Le système le mieux étudié [126-128] est certainement *Streptomyces cattleya*, d'où deux métabolites fluorés ont été isolés : le fluoroacétate (30) et la 4-fluorothréonine (33). O'Hagan *et al.* ont tracé les précurseurs de ces deux métabolites par marquage isotopique. Ainsi le carbone de la position 2 de la glycine est incorporé en positions 1 et 2 du fluoroacétate (30) et en positions 3 et 4 de la 4-fluorothréonine (33). Le chemin biosynthétique est supposé passer par la sérine, le pyruvate, qui sont tous deux des précurseurs efficaces, puis, par la voie glycolique, vers les composés fluorés. Un autre précurseur efficace est le glycérol, dont le carbone en position 2 ainsi que l'hydroxyméthyle pro-*R* sont introduits dans les métabolites fluorés; l'hydroxyméthyle conservant ses deux hydrogènes (Figure 37).

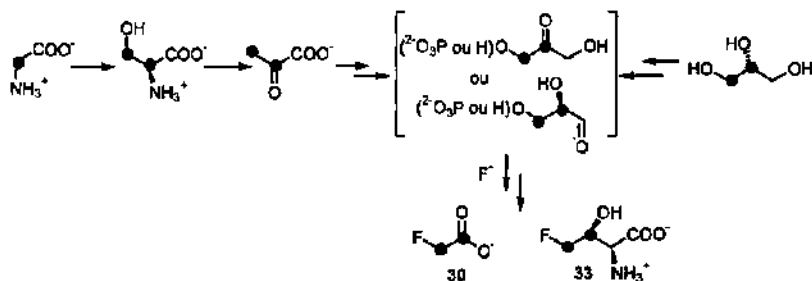


Figure 37 : Les précurseurs des métabolites fluorés chez *Streptomyces cattleya*.

Le fluoroacétate (30) est reconnu comme substrat par l'acétyl-CoA synthase pour former le fluoroacétyle-CoA (34). Une hydrolase spécifique à ce dernier semble être la clé de la résistance des plantes pouvant accumuler le fluoroacétate afin de prévenir une auto-intoxication. Comme vu précédemment, le composé 34 est converti spécifiquement en (2*R*,3*R*)-fluorocitrate (28) qui est transformé par l'aconitase en fluoro-*cis*-aconitate (35). Celui-ci est réhydroxylé avec élimination de fluorure pour donner le 4-hydroxy-*trans*-aconitate (36), qui est un puissant inhibiteur de l'aconitase [129] (Figure 38).

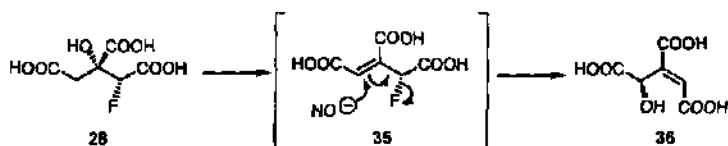


Figure 38 : Génération par l'aconitase de l'inhibiteur 4-hydroxy-*trans*-aconitate.

Ce type de réactivité a été abondamment exploité dans ce qui est appelé communément la stratégie des inhibiteurs suicides (plutôt "kamikazes"), qui sont englobés dans une classe d'inhibiteurs nommés, de façon peut-être plus appropriée, inactivateurs basés sur le mécanisme de l'enzyme (*mechanism-based enzyme inactivation* [130]). De telles substances sont activées dans le site actif et l'espèce active générée donne lieu à une réactivité atypique avec un groupe de l'enzyme qui modifie cette dernière de façon à la rendre inactive. Nous ne citerons ici qu'un seul exemple de ce type d'inhibiteurs : l'inhibition de l'acide 4-aminobutyrique α -cétoglutarate transaminase (GABA-T) par l'acide 5-fluorolévulinique (14). L'enzyme GABA-T est une enzyme dépendante du 5-phosphate de pyridoxal (37) et catalyse la transamination de l'acide 4-aminobutyrique (38) (GABA), un neurotransmetteur, en semisuccinaldéhyde (39) et la régénération du pyridoxal avec l' α -cétoglutarate (40) (Figure 39).

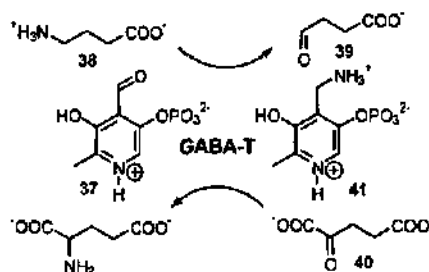


Figure 39 : Transformation catalysée par GABA-T impliquant le 5-phosphate de pyridoxal.

Le mécanisme de l'inhibition réversible postulé par Lippert *et al.* [131] est basé sur la reconnaissance de l'acide 5-fluorolévulinique (14) comme analogue du produit semisuccinaldéhyde (39) et se fixe donc sur la forme pyridoxamine (41). Puis intervient la déprotonation du pyridoximinium formé, suivie de l'élimination du fluorure et formation du système α -iminium. Ce dernier est sujet à une 1,4-addition par l'attaque d'un nucléophile du site actif conduisant à l'inhibition irréversible de l'enzyme (Figure 40).

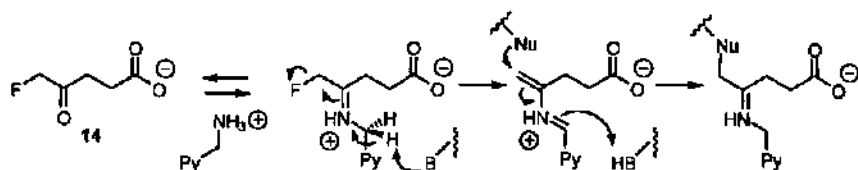


Figure 40 : Mécanisme de l'inhibition irréversible de la GABA-T par l'acide 5-fluorolévulinique.

Si l'introduction d'un groupe fluoro, comme remplacement d'un hydrogène actif afin d'en éliminer la réactivité, s'avère une stratégie souvent efficace, il est néanmoins à noter qu'une réactivité propre au substituant fluoro peut être introduite, conduisant à des effets aussi dramatiques que l'inhibition irréversible du site actif. Il est donc nécessaire d'être conscient de ces phénomènes lorsqu'un groupement fluoro est introduit dans une molécule d'intérêt

biologique ainsi que des effets électroniques et stéréoélectroniques impliqués par la présence d'un tel substituant.

1.1.3 Les composés nitro et les 1,3-dicétones.

1.1.3.1 Le comportement acido-basique des composés nitro.

Les composés alkylnitro présentent, lorsqu'un proton est géminal au groupe nitro, une certaine acidité (pK_a (nitrométhane) = 10,2). Cette acidité est influencée par des groupes électrodonneurs ou électroattracteurs en fonction qu'ils stabilisent la forme déprotonée ou la déstabilisent, respectivement [132]. En nous référant au travail de Turnbull et Maron [133] sur les nitroparaffines, nous pouvons considérer que nous avons un équilibre nitro-*aci*-nitro qui s'établit essentiellement par l'anion nitronate. La forme déprotonée nitronate est décrite par deux structures de résonance différentes (A et B). La structure de résonance B est une structure mésomère plus contributive. L'anion nitronate est cinétiquement protonée sur un des oxygènes plutôt que sur le carbone pour générer la forme *aci*-nitro. Nous constatons donc un équilibre tautomère entre les deux formes nitro et *aci*-nitro (Figure 41).

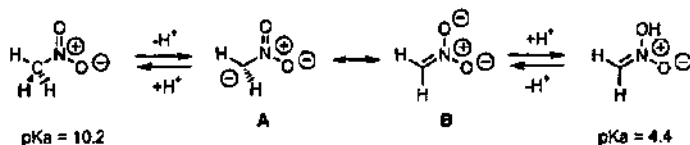


Figure 41 : Tautomérie du nitrométhane et comportement acido-basique.

La forme *aci*-nitro est suffisamment plus acide que la forme nitro pour que cette dernière soit uniquement observée dans des cas usuels. La valeur de pK_a mesurée par titration rend compte de manière satisfaisante de l'acidité du proton H-CNO₂, dans la mesure où il est laissé suffisamment de temps au système pour atteindre l'équilibre. Cet équilibre s'établit dans l'ordre de 5 minutes pour le nitroéthane [133]. Cependant, le pK_a de la forme *aci*-nitro peut être obtenu, compte tenu que les processus acido-basiques sur la forme *aci*-nitro sont rapides par rapport à ceux sur la forme nitro, et que la protonation de l'anion nitronate a lieu principalement sur l'oxygène (forme mésomère B), générant la forme *aci*-nitro. Une mesure cinétique permet d'extrapoler la valeur du pK_a de la forme *aci*-nitro car la forme *aci*-nitro s'isomérisse plus ou moins lentement dans la forme nitro thermodynamiquement plus stable.

Il est intéressant de constater que la forme *aci*-nitro peut être stabilisée par formation de pont(s)-H. Dans le cas extrême du 2-nitro-1,3-propandiol, selon que la synthèse s'effectue dans des conditions basiques suivie d'un traitement protique [134] ou dans des conditions neutres [135], la forme 2-nitro-1,3-propandiol 42 ou la forme 2-*aci*-nitro-1,3-propandiol 43, respectivement, est obtenue (Figure 42). Ces résultats ont été confirmés par une étude de Bernasconi *et al.* [136] qui ont confirmé la caractérisation spectroscopique des deux formes qui sont parfaitement stables et qui, par un traitement basique, forment le même nitronate.

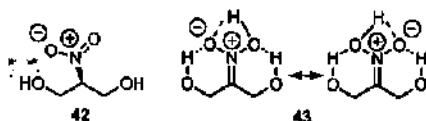


Figure 42 : Les deux formes tautomères stables 2-nitro- et 2-aci-nitro-1,3-propandiol.

1.1.3.2 La tautomérie des 1,3-dicétones.

De la même façon que les composés nitro, les composés 1,3-dicétones présentent une tautomérie et une certaine acidité dépendantes de la présence d'un proton en position 2. Comme précédemment montré, la forme 1,3-dicéto est convertie en une forme cétoénoil. Cependant, dans le cas de ce système, l'acidité du proton de la position 2 de la 1,3-dicéto est souvent peu différente de celle du proton de l'hydroxy. Cela a pour conséquence que les deux formes en équilibre sont observées, par exemple, par $^1\text{H-NMR}$; le signal du proton de l'hydroxy dans le chloroforme deutéré est identifié avec un déplacement chimique vers les champs bas (~ 15 ppm), caractéristique d'un proton pauvre en électron, et légèrement élargit. Schwarzenbach *et al.* [137] ont mesuré le pK_a apparent de la 2,4-pentanedione (44) à 8.94 dans l'eau à 25°C.

Pour les 1,3-dicétones non substituées sur la position 3, usuellement la forme cétoénoil est favorisée sur la forme dicéto mais la distribution est dépendante du solvant. Pour les 1,3-dicétones monofluorées, la forme dicéto semble être favorisée. Purrington *et al.* [138] ont observé ce phénomène, qui n'est pas immédiat à appréhender, si nous considérons l'effet inductif du fluor sur le proton qui lui est géminal. La conclusion qui ressort de leur étude est que la forme classique cétoénoil est défavorisée par une interaction HOMO-HOMO antiliante d'un doublet libre du fluor, l'interaction LUMO-HOMO étant non liante (Figure 43).

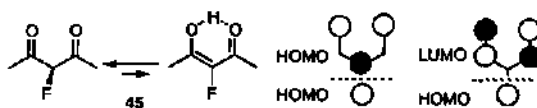


Figure 43 : Forme dicéto préférée pour la 3-fluoro-2,4-pentanedione (45).

Une étude plus récente de Chambers *et al.* a mis en évidence la formation de la forme énol de 45 jusqu'à 95% dans des conditions thermiques [139]. Cette forme énol est cinétiquement relativement stable puisqu'elle s'équilibre dans un mélange 90% forme dicéto - 10% forme énol dans un délai de 2 mois à T.a. La tautomérie est catalysée par la présence d'acide formique.

1.1.3.3 Inhibition de la porphobilinogène synthase par la succinylacétone.

Depuis que la succinylacétone (46) (acide 4,6-dioxoheptanoïque) a été identifiée comme un métabolite anormale de la dégradation chez les patients souffrant d'une maladie génétique appelée tyrosinémie [140], cette molécule a été testée comme inhibiteur très efficace de la PBGS sur une dizaine de sources différentes (voir les références p.119 dans [2]). Les symptômes de cette maladie ont été corrélés avec ceux de la porphyria et un haut taux d'acide 5-aminolévulinique (1) a été identifié dans les urines des patients souffrant de tyrosinémie. Le

précurseur de la succinylacétone (46) est le succinylacétoacétate qui pourrait être obtenu soit par réduction du maléylacétoacétate soit du fumarylacétoacétate. Le fait que ce dernier soit faiblement métabolisé semble être la cause primaire de cette maladie. L'inhibition de la succinylacétone a été décrite comme dépendante du temps pour la PBGS du rat [141] et a été plus récemment décrite comme une inactivation totale, qui est conservée par filtration de gel, mais qui est sensible à des conditions acides, sur la PBGS de *E. coli* (Zn^{2+} dépendante) et PBGS de pois (Mg^{2+} dépendante) [142].

Engeloch [143] a synthétisé une série de dérivés de la succinylacétone (46): les deux isomères cétoénamine de la succinylacétone méthylester (47, 48), les deux isomères méthylénoléthérocto de la succinylacétone méthylester (49, 50) et les deux conformations géométriques du dérivé chloroénone de la succinylacétone méthylester (51, 52) (Figure 44).

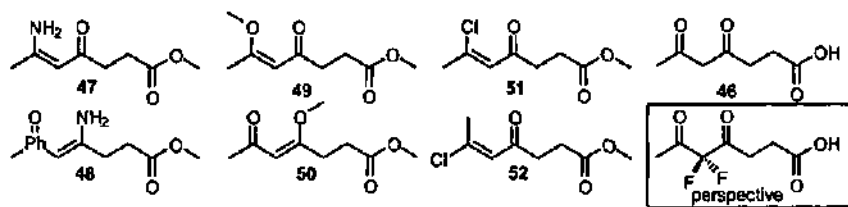


Figure 44 : Dérivés de la succinylacétone.

Nous devons signaler que malheureusement, sur toute la série seul le comportement d'inhibiteur de 48 a pu être établi comme *slow-binder*. Les autres composés ont posé, soit des problèmes d'interférence avec le réactif d'Ehrlich (51, 52), soit des problèmes d'hydrolyse (49, 50), soit une réaction avec δ -ALA pour 47. Engeloch [143] a proposé dans ses perspectives sur le sujet de tester l'acide 5,5-difluoro-4,6-heptanoïque.

1.2 But.

Le but de ce travail de thèse est l'étude du mécanisme de la porphobilinogène synthase (PBGS). L'approche utilisée dans ce travail est basée sur la synthèse de structures analogues du substrat, et d'intermédiaires potentiels des différents mécanismes postulés, ayant pour cible le site actif de la PBGS, l'étude cinétique du comportement de telles structures ayant pour but de déterminer leur affinité pour le site actif (K_i) et le site d'interaction (type d'inhibition).

Trois problèmes principaux sont abordés par ce travail : la détermination de la séquence de formation des liaisons entre les deux molécules de substrat, l'augmentation de la connaissance des interactions du site-A avec le substrat et le mécanisme d'inhibition de la succinylacétone.

Est introduit un concept, nouvellement appliqué à la porphobilinogène synthase, de substrats potentiels fluorés visant à bloquer la biosynthèse au niveau d'un intermédiaire et utilisant le fluor comme marqueur RMN. Dans ce contexte, est entreprise l'étude de l'impact d'un ou de plusieurs substituants fluoro introduits dans les positions 3 et 5 de l'acide 5-aminolévulinique (1) et d'un inhibiteur modèle : l'acide lévulinique (10).

Bien qu'il y ait des différences entre les PBGS en termes de métaux requis, de paramètres cinétiques, de dépendance de pH, d'inactivation par des inhibiteurs, de susceptibilité à

l'oxydation, etc., nous préconisons une unité dans le mécanisme biosynthétique de la PBGS et attribuons ces différences à des variations phylogénétiques. Cependant, la validité de l'interprétation de nos résultats porte sur la PBGS issue de *Escherichia coli* qui est une métallo-enzyme dépendant du zinc (II) et ayant un pH optimal de 8. Dans le cadre d'une collaboration avec le groupe du professeur Jahn (Freiburg), certains inhibiteurs sont testés actuellement sur une PBGS issue de *Pseudomonas aeruginosa* visant à établir le domaine de validité des résultats observés sur la PBGS de *Escherichia coli* et ses limitations.

1.3 Résultats.

1.3.1 Synthèses des analogues de substrat.

1.3.1.1 Synthèses des analogues fluorés de substrat.

1.3.1.1.1 Synthèses des analogues de substrat fluorés en position 5.

Nous avons dans un premier temps voulu déterminer l'influence d'un ou de plusieurs substituants fluoro positionnés sur le carbone 5 du substrat. Pour ce faire, nous avons introduit de un à trois substituants fluoro en position 5 de l'acide lévulinique (1).

L'ouverture du 4,5-époxyvalérate de benzyle (53) avec le fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) [144] ou le (triphenyl)difluorosilicate de tétrabutylammonium (TBAT) [145] dans le tétrahydrofurane entraîne la formation d'un mélange avec une perte de benzyle, soit par attaque directe du fluorure soit, plus probablement, par lactonisation à partir de l'alcoolate formé. L'époxyde 53 est obtenu par estérification de l'acide 4-penténoïque avec le benzyle alcool en présence de triéthylamine, après activation par le chlorure d'oxalyle catalysée par le diméthylformamide, dans le dichlorométhane de manière quantitative pour obtenir le 4-penténoate de benzyle (54). Ce dernier est ensuite époxydé par l'acide 3-chloroperbenzoïque (mCPBA), toujours dans le dichlorométhane, dans un rendement de 68%. La synthèse de l'acide 5-fluorolévulinique (14) a été réalisée directement à partir du 5-bromolévulinatate de méthyle (55) [146,147] en présence d'un excès de fluorure de potassium et d'une quantité catalytique d'éther couronne (18-crown-6) dans le benzène à reflux, par analogie avec Leroy [148], pour obtenir le 5-fluorolévulinatate de méthyle (56) avec un rendement de 50% suivie de l'hydrolyse du méthylester 56 par l'estérase de foie de porc (PLE) avec un rendement de 51% (Schéma 1). La molécule 14 avait déjà été synthétisée par Rando [149] et testée comme un bon inhibiteur compétitif de la porphobilinogène synthase par Ha [96,98]. L'époxyde 53 soumis 1 jour aux mêmes conditions que pour l'échange brome-fluore ne réagit pas.

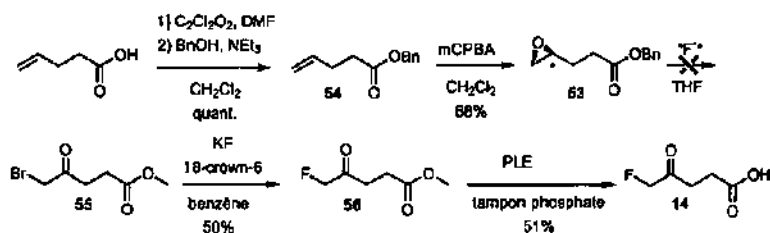


Schéma 1

L'acide 5,5-difluorolévulinique (57) a été synthétisé à partir du 5-bromo-5-fluorolévulinat de benzyle (58) dans les mêmes conditions que précédemment mais avec un temps de reflux de 5 h, du fait de la réactivité moindre de l' α -bromocétone fluorée vis-à-vis de la substitution nucléophile, et avec par conséquent beaucoup de décomposition. Le 5,5-fluorolévulinat de benzyle (59) n'a été isolé que dans un rendement de 20% et l'acide 57 est obtenu par hydrogénolyse, catalysée par le palladium, du benzylester 59 dans du tétrahydrofurane humide avec un rendement de 54%. Le 5-bromo-5-fluorolévulinat de benzyle (58) est synthétisé avec un rendement de 67% à partir du 5-diazolévulinat de benzyle (60) par traitement de ce dernier avec un excès de *N*-bromosuccinimide dans le HF-pyridine et le diéthyléther à -15°C , par analogie avec Olah [10]. La α -diazocétone 60 a été obtenue d'abord par ouverture selon Sharma *et al.* [150] de l'anhydride succinique dans le tétrahydrofurane à reflux pendant 15 h en présence de benzyle alcool et d'une quantité catalytique de 4-(*N,N*-diméthyl)aminopyridine (DMAP) pour donner le succinate de monobenzyle (61) dans un rendement de 89%. Puis ce dernier est activé sous forme de chlorure d'acide par traitement avec du chlorure d'oxalyle dans le dichlorométhane en présence d'une quantité catalytique de diméthylformamide et traité après évaporation par une solution de diazométhane dans le diéthyléther pour donner 60 dans un rendement de 89% (Schéma 2).

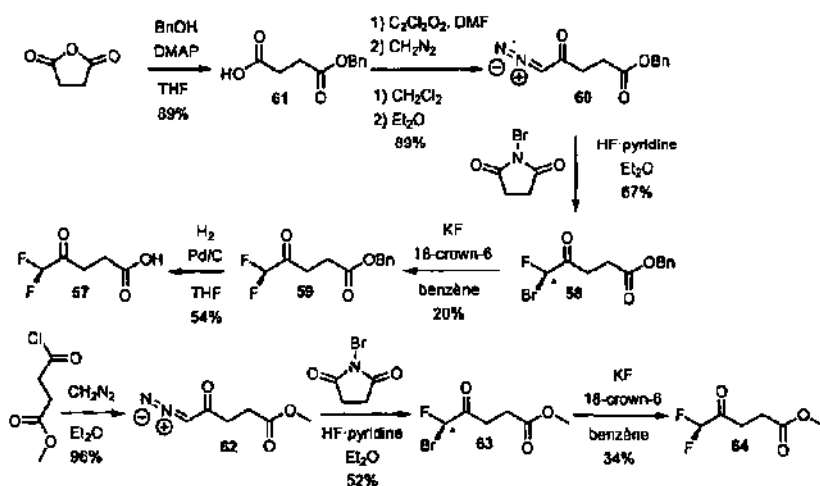


Schéma 2

L'acide 5,5,5-trifluorolévulinique (65) a été obtenu par hydrolyse de l'éthylester 66 grâce à l'estérase de foie de porc (PLE) avec un rendement de 51%. Le 5,5,5-trifluorolévulinat d'éthyle (66) a été synthétisé selon Ratier *et al.* [152] par saponification et décarboxylation du

2-(trifluoroacétyl)succinate d'éthyle (67) en présence d'acide borique en chauffant jusqu'à 170°C dans un rendement faible de 26%. Nous avons tenté une déprotection enzymatique sélective de l'éthyle en position 1 du dérivé succinate d'éthyle 67. La déprotection avec l'estérase de foie de porc (PLE) donne sélectivement, avec un rendement de 70%, l'acide 3-éthoxycarbonyl-5,5,5-trifluoroalévinique (68); le produit non désiré. L'hydrolyse avec l' α -chymotrypsine donne la même sélectivité. Le 2-(trifluoroacétyl)succinate d'éthyle (67) est synthétisé selon Brown *et al.* [153] à partir du diéthylsuccinate et du trifluoroacétate d'éthyle en présence d'éthanolate de sodium dans le diéthyléther à reflux pendant 16h avec un rendement de 74% (Schéma 3).

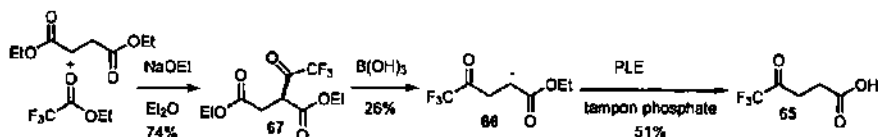


Schéma 3

Nous avons synthétisé la *N*-trifluoroacétylglycine (69) par traitement de la glycine avec l'anhydride trifluoroacétique [154] dans le tétrahydrofur avec un rendement en produit recristallisé de 36%. Nous avons également synthétisé l'analogue nitro de (14), le 1-fluoro-4-nitrobutan-2-one (70), par traitement avec le HF-pyridine du 1-diazo-4-nitrobutan-2-one (71) à -15°C dans le diéthyléther. Un rendement après colonne de 59% de produit avec 10% d'une impureté non séparée par flash-colonne chromatographique contenant un groupe éthyle est obtenu. Une synthèse dans le chloroforme évitant toutes sources d'éthyle également pendant la purification a permis d'obtenir, dans un rendement modeste de 19%, un produit parfaitement pur. La diazocétone 71 est obtenue dans un rendement de 87% par traitement avec le diazométhane dans le diéthyléther du chlorure de 3-nitropropionyle (72) [155]. Ce dernier est obtenu dans un rendement de 88% par traitement de l'acide 3-nitropropionique dans le dichlorométhane 4 h à T.a. avec le chlorure d'oxalyne en présence d'une quantité catalytique de diméthylformamide. L'analogue nitro de l'acide 65 n'a pu être isolé de la réaction du chlorure de 3-nitropropionyle en présence de trifluorométhyltriméthylsilane, de fluorure de potassium et d'éther couronne (*18-crown-6*) par analogie avec Prakash [156].

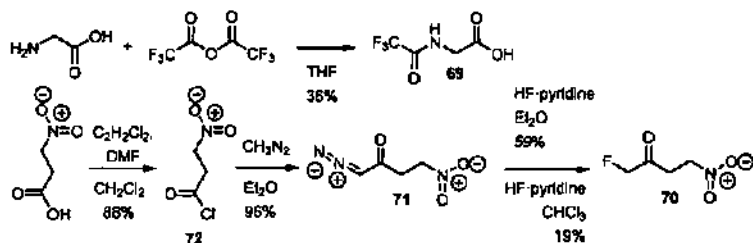


Schéma 4

Pour la synthèse de l'acide 5-amino-5-fluoroalévinique, deux stratégies ont été mises en oeuvre. La première basée sur le réarrangement de Neber [157] du *para*-toluènesulfonyloxime du 5-fluoroalévinate de méthyle (73). La seconde basée sur la réduction de 5-azido-5-fluoroalévinate de benzyle (74). Dans la première stratégie, la formation de l'azirine à partir du *para*-toluènesulfonyloxime 73 n'a pas pu être obtenue par déprotonation du dérivé α -

fluorooxime avec le *tert*-butanolate de potassium dans la pyridine. La déprotonation de 73 dans le tétrahydrofurane avec le butyle lithium laisse intacte le conformère majoritaire et ne permet d'isoler aucun produit fluoré. Dans la seconde stratégie, la réduction de l'oxime benzyle ester dans le tétrahydrofurane en présence d'acide chlorhydrique concentré a donné lieu à la formation du chlorhydrate de l'acide 5-aminolévulinique et donc à la perte du groupe fluoro (Schéma 5).

L'oxime du 5-fluorolévulinat de méthyle (75) est synthétisée à partir du 5-fluorolévulinat de méthyle (56) dans une solution aqueuse de chlorure d'hydroxylammonium traitée par adjonction d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium sur 1 h à T.a. avec un rendement de 59%. Le *para*-toluènesulfonyloxime 73 est obtenu par traitement de l'oxime 75 dans le dichlorométhane avec un léger excès du chlorure de *para*-toluènesulfonyl et de la base de Hünig dans un rendement de 74%. Le 5-azido-5-fluorolévulinat de benzyle 74 est obtenu par traitement du 5-bromo-5-fluorolévulinat de benzyle (58) par un excès d'azoture de sodium dans un mélange eau et tétrahydrofurane à T.a. pendant 4h, avec un rendement de 81% (Schéma 5).

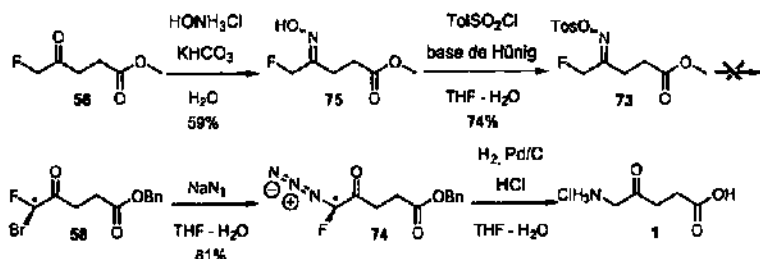


Schéma 5.

1.3.1.1.2 Synthèses des analogues de substrat fluorés en position 3.

Nous avons voulu, dans un premier temps, éprouver la praticabilité d'introduire un substituant fluoro en position 3 du substrat. Pour ce faire, nous avons planifié la synthèse de l'acide 3-fluorolévulinique (76). Une série de tentatives infructueuses a été réalisé. La première tentative a été d'appliquer, à partir du 3-bromolévulinat de méthyle [147,158], les mêmes conditions que celles pour l'obtention du 5-fluorolévulinat de méthyle (56). Il en a résulté le 4-oxo-2-penténoate de méthyle (77) qui avait été obtenu par Lüönd [100] à partir du même composé bromé et du 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène (DBU) dans un rendement de 69%. La réaction conduite avec une base moins forte, comme la triéthylamine, également dans le benzène donne le produit 77 dans un rendement de 90%. Le traitement du 3-hydroxylévulinat de méthyle (78) [100] avec le trifluorure de (diéthylamino)soufre (DAST) dans le dichlorométhane par analogie avec Yamauchi [159,160] ou du 4-(triméthylsilyloxy)-4-penténoate de méthyle (79) [147] avec le difluorure de xénon dans l'acétonitrile par analogie avec Tsushima [161] n'a pas donné lieu à la formation du produit désiré. Finalement, l'ouverture nucléophile dans le HF-pyridine et chloroforme du (*rac*)-(3*S*,4*S*)-3,4-époxy-1-butyronitrile (80), obtenu dans un rendement de 68% par époxydation du 3-penténonitrile avec l'acide 3-chloroperbenzoïque, ne permet d'isoler que le produit d'attaque sur le carbone 4 (fausse sélectivité), le (*rac*)-(3*S*,4*R*)-4-fluoro-3-hydroxyvaléronitrile (81) dans un rendement après purification de 39% (schéma 6).

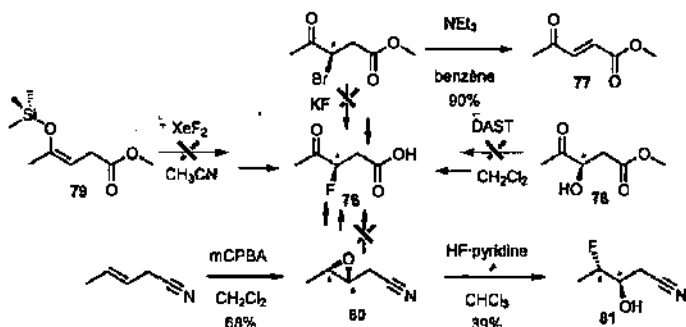


Schéma 6.

Nous avons réussi à synthétiser l'acide 3-fluorolévulinique (76) par hydrogénolys et décarboxylation spontanée du 2-acétyl-2-fluorosuccinate de benzyle (82) dans l'éthanol en présence de palladium comme catalyseur avec un rendement de 73%. La fluoration du 2-acétylsuccinate de benzyle (83) est accomplie avec un rendement de 65% par déprotonation avec de l'hydruure de sodium dans le tétrahydrofurane et adjonction d'une quantité équimolaire de bis(tétrafluoroborate) de 1-chlorométhyl-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octane (25) (selectfluor) dissoute dans le diméthylformamide. Le 2-acétylsuccinate de benzyle (83) est obtenu par déprotonation de l'acétoacétate de benzyle dans le tétrahydrofurane avec l'hydruure de sodium suivie de l'alkylation avec le bromoacétate de benzyle dans un rendement de 68% (Schéma 7).

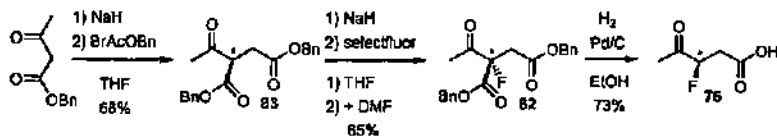


Schéma 7.

Nous avons donc décidé de synthétiser l'acide 5-amino-3-fluorolévulinique (84) en introduisant dans la synthèse présentée précédemment un groupe amino protégé sur la position 4 de l'acétoacétate de benzyle. Nous avons dans un premier temps introduit un groupe azido qui s'est avéré peu approprié du fait de la mauvaise stabilité de l'intermédiaire 4-azidoacétoacétate de benzyle (85), qui devient brun en quelques jours à T.a. et dont la déprotonation avec l'hydruure de sodium puis réaction avec le bromoacétate de benzyle donne un rendement très faible (11%).

L'introduction d'une protection *tert*-butyloxycarbonyl s'est avérée plus appropriée, même si elle ajoute une étape de déprotection. Nous avons donc synthétisé le 4-(*tert*-butyloxycarbonylamino)acétoacétate de benzyle (86) à partir du malonate de monobenzyle (87), obtenu dans un rendement de 79% par monodéprotection sélective avec l'estérase de foie de porc (PLE), qui est déprotoné dans le tétrahydrofurane avec un équivalent de *tert*-butanolate de potassium puis traité avec un équivalent de chlorure de magnésium 4 h à 50°C avant d'être finalement traité avec une solution dans le tétrahydrofurane de *N-tert*-butyloxycarbonylglycine activée par le 1,1'-diimidazolcarbonyl. La décarboxylation a lieu spontanément et le dérivé acétoacétate 86 est obtenu dans un rendement de 67% puis est

alkylé de la même manière que précédemment avec un rendement de 87% pour donner le 2-(*tert*-butyloxycarbonylaminoacétyl)succinate de benzyle (**88**). Ce dernier est fluoré, comme précédemment, pour donner le 2-(*tert*-butyloxycarbonylaminoacétyl)-2-fluorosuccinate de benzyle (**89**) dans un rendement de 76%. L'hydrogénation de ce composé dans les mêmes conditions que précédemment n'a pas permis d'isoler le produit souhaité et la majorité du mélange brut a perdu son substituant fluoro; seulement une très faible quantité d'acide 5-(*tert*-butyloxycarbonylamino)-3-fluorolévulinique (**90**) a été éventuellement identifiée par ^{19}F -RMN (schéma 8).

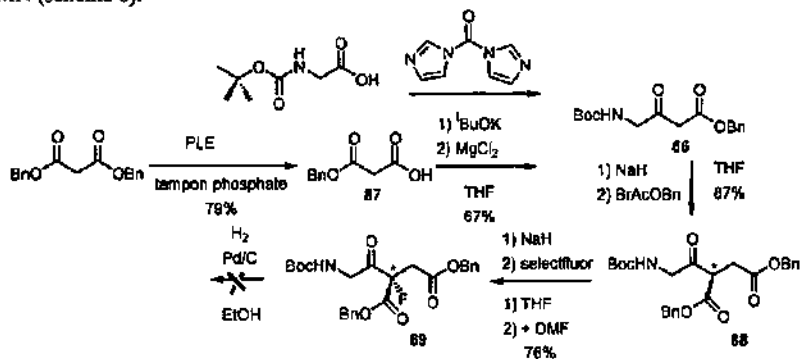


Schéma 8.

Nous avons décidé, comme alternative, d'introduire une étape de déprotection - décarboxylation catalysée par l'acide trifluoroacétique en ayant un *tert*-butylester en plus du groupe Boc sur la fonction amine. La synthèse conduite de manière analogue à celle du **89** permet d'obtenir le 5-(*tert*-butyloxycarbonylamino)-3-fluorolévulinique de méthyle (**91**) qui est déprotégé partiellement par traitement avec l'acide trifluoroacétique avant de se décomposer. Le traitement de **91** dans l'acide chlorhydrique conduit à une espèce déprotégée mais non décarboxylée qui est instable dans le diméthylsulfoxyde et sous chauffage dans le chloroforme ou le toluène.

L'introduction d'un second substituant fluoro sur la position 3 du substrat présente un intérêt indéniable et nous avons décidé de synthétiser, dans un premier temps, un analogues peut-être plus stable que l'acide 3,3-difluorolévulinique : l'acide 2,2,3,3-tétrafluorolévulinique (**92**). Pour ce faire, nous avons ouvert l'anhydride tétrafluorosuccinique avec le chlorure de méthyle magnésium avec un rendement de 39%. La synthèse de l'acide 5-amino-2,2,3,3-tétrafluorolévulinique (**93**) a été entreprise par ouverture de l'anhydride tétrafluorosuccinique par le benzyle alcool en présence de 4-(diméthylamino)pyridine (DMAP) dans le tétrahydrofurane à T.a. avec un rendement en tétrafluorosuccinate de monobenzyle (**94**) de 89%. Le monoacide **94** est activé avec le chlorure d'oxalyle et diméthylformamide puis traité avec le diazométhane dans le diéthyléther pour donner le 5-diazo-2,2,3,3-tétrafluorolévulinique de benzyle (**95**) avec un rendement de 38%. Le traitement dans le diéthyléther de la diazocétone **95** avec l'acide bromhydrique donne, dans un rendement de 95%, le 5-bromo-2,2,3,3-tétrafluorolévulinique de benzyle (**96**) brut d'une bonne pureté. La substitution avec l'azoture de sodium dans un mélange tétrahydrofurane - eau s'est avérée inefficace puisque après colonne a été obtenu dans un rendement de 29%. A partir de cette quantité impure de produit, nous n'avons pas accompli la dernière étape de déprotection par hydrogénolyse dû au manque (Schéma 9).

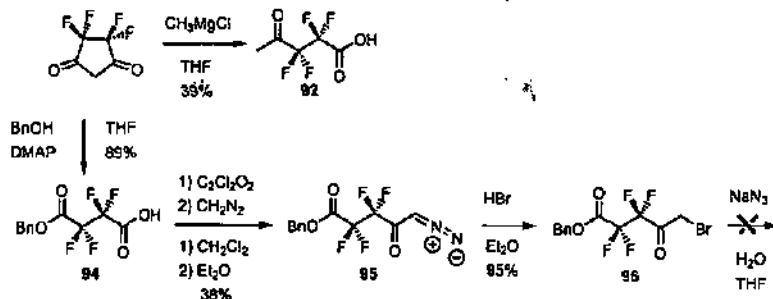


Schéma 9.

1.3.1.2 Synthèses des analogues dérivés de la succinylacétone.

1.3.1.2.1 Synthèses des dérivés de la 2,4-pentandione.

Nous avons synthétisé deux dérivés mono-substitués en position 3 de la 2,4-pentandione (44) : la 3-méthyl-2,4-pentandione (97) et la 3-fluoro-2,4-pentandione (45). La 3-méthyl-2,4-pentandione (97) a été synthétisée selon Johnson, Markham et Price [162] dans un système fermé (Schlenk) avec un excès de iodométhane, le 2,4-pentandione et un léger défaut de carbonate de potassium dans l'acétone à 50°C pendant 14 h. Le problème déjà reporté du produit secondaire diméthylé a également été rencontré. Par passage du produit en phase aqueuse fortement basique et extraction après acidification, le monométhyle 97 a pu être obtenu pur. Le 3-fluoro-2,4-pentandione (45) [163] a été synthétisé par analogie avec Banks *et al.* [113] dans l'acétonitrile en présence d'un équivalent de bis(tétrafluoroborate) de 1-chlorométhyl-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octane (25) (selectfluor) 24 h à T.a. dans un rendement modeste de 36% qui est dû, en partie, à la volatilité du produit (Schéma 10).

Nous avons également synthétisé deux dérivés disubstitués en position 3 de la 2,4-pentandione (44) : la 3,3-diméthyl-2,4-pentandione (98) et la 3-fluoro-3-méthyl-2,4-pentandione (99). La 3,3-diméthyl-2,4-pentandione (98) a été synthétisé à partir du 2,4-pentandione avec deux équivalents de carbonate de potassium et un excès de iodométhane dans l'acétone à reflux pendant 2 jours avec un rendement de 31% de produit complètement disubstitué pur. La 3-fluoro-3-méthyl-2,4-pentandione (99) a été synthétisée à partir de la 3-méthyl-2,4-pentandione (97) avec un rendement de 47% par traitement avec le selectfluor 25 comme précédemment (Schéma 10).

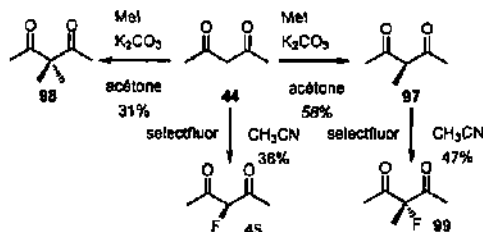


Schéma 10.

1.3.1.2.2 Synthèses des dérivés de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque (succinylacétone).

Nous avons synthétisé, comme dérivés monosubstitués en position 5 du type acide 4,6-dioxoheptanoïque (46), l'acide 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoïque (100) et le 5-fluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (101). L'acide 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoïque (100) est obtenu dans un rendement de 45% par hydrolyse avec l'estérase de foie de porc (*PLE*) du 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (102) qui est lui-même obtenu selon Aucken, Leeper et Battersby [164] dans un rendement de 33% par déprotonation de la 3-méthyl-2,4-pentandione (97) avec l'éthanolate de magnésium suivie du traitement avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans le diéthyléther puis traitement basique. Le 5-fluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (101) a été synthétisé à partir du 4,6-dioxoheptanoate de méthyle (103) [165] et du selectfluor 25 dans l'acétonitrile avec un rendement de 44% (Schéma 11).

Nous avons également synthétisé plusieurs dérivés disubstitués en position 5 de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque (46) : l'acide 5,5-diméthyl-4,6-dioxoheptanoïque (104), l'acide 5,5,7,7-tétraméthyl-4,6-dioxoheptanoïque (105), le 5-fluoro-5-méthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (106) et le 5,5-difluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (107). L'acide 5,5-diméthyl-4,6-dioxoheptanoïque (104) est obtenu dans un rendement de 64% par hydrolyse avec l'estérase de foie de porc (*PLE*) du 5,5-diméthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (108) qui est lui-même obtenu par déprotonation avec l'hydrure de sodium dans le tétrahydrofurane et alkylation de 102 avec l'iodométhane dans un rendement de 71%. L'acide 5,5,7,7-tétraméthyl-4,6-dioxoheptanoïque (105) est obtenu dans un rendement de 77% également par hydrolyse avec *PLE* du méthylester correspondant 109. Le 5,5,7,7-tétraméthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (109) est synthétisé par formation à -50°C de l'énolate de la diisopropylcétone avec le diisopropylamide de lithium dans le tétrahydrofurane et acylation à -80°C avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans un rendement de 77%. Le 5-fluoro-5-méthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (106) est obtenu dans un rendement de 64% par fluoration du 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (102) avec le selectfluor 25 dans l'acétonitrile. Le 5,5-difluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (107) est synthétisé dans un rendement de 53% par fluoration à T.a avec le selectfluor 25 dans le diméthylformamide de l'énolate [166] obtenu par traitement du 5-fluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (101) avec l'hydrure de sodium dans le tétrahydrofurane (Schéma 11).

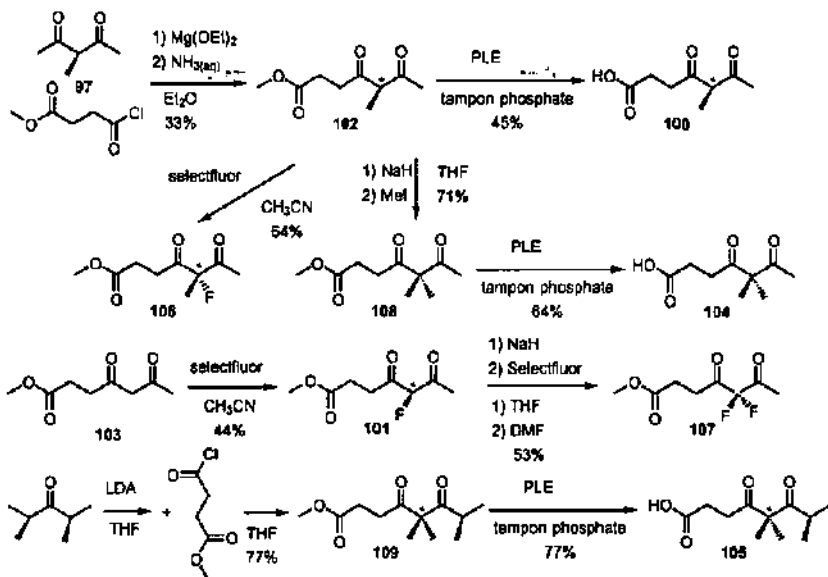


Schéma 11.

Nous avons synthétisé l'analogue nitro de la succinylacétone (46), la 6-nitro-2,4-hexandione (110) par acylation avec le chlorure de 3-nitropropionyle (72) à -90°C de l'énolate obtenu par traitement avec le méthyllithium du 2-(triméthylsilyloxy)propène. Le rendement de la réaction est seulement de 13 %, dû principalement à la mauvaise stabilité du produit sur la colonne chromatographique. Nous avons synthétisé également de manière similaire à Paul [167] le 5-acétyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (111) par traitement de la 2,4-pentandione (44) avec l'éthylate de magnésium dans le diéthyléther suivi de l'acylation avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle à T.a. dans un rendement de 37%.

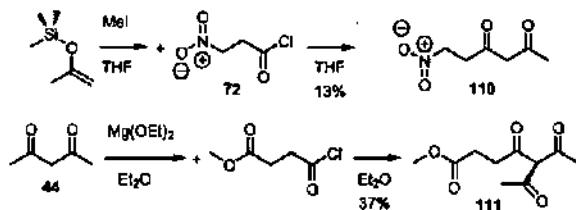


Schéma 12.

1.3.1.2.3 Synthèses des dérivés cycliques de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque.

Nous avons synthétisé des dérivés cycliques de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque (46) : l'acide 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrique (112), l'acide 4-(2-oxocycloheptyl)-4-oxobutyrique (113) et l'acide 4-(2-oxocyclooctyl)-4-oxobutyrique (114). L'acide 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrique (112) est obtenu dans un rendement de 71% par hydrolyse avec l'estérase de foie de porc (PLE) du 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (115) qui est synthétisé dans

un rendement de 52% de manière similaire à Hünig et Lücke [168] à partir du *N*-morpholine cyclohexène et du chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans le chloroforme (non stabilisé à l'éthanol) avec de la triéthylamine puis traitement acide. Hünig et Lücke ont rapporté que c'est l'acide qui est isolé et non pas le méthylester. Les acides 113 et 114 sont obtenus par hydrolyse, également avec l'estérase de foie de porc (PLE), du 4-(2-oxocycloheptyl)-4-oxobutyrate de méthyle (116) et du 4-(2-oxocyclooctyl)-4-oxobutyrate de méthyle (117) dans des rendements respectifs de 62% et 76%. Ces esters sont obtenus par formation de l'énolate par traitement de la cycloheptanone, respectivement de la cyclooctanone, à -60°C avec le diisopropylamidure de lithium dans le tétrahydrofuranc puis acylation à -80°C avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans des rendements de 47% respectivement 70%. L'analogue nitro de l'acide 112, le 2-(3-nitropropionyl)-cyclohexanone (118) a été synthétisé selon Seebach [169] dans un rendement de 28%, le composé étant stable seulement une fois purifié et à l'état solide (Schéma 13).

Deux dérivés non-énolisables de l'acide 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrique (112) ont été synthétisés : l'acide 4-(1-méthyl-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrique (119) et le 4-(1-fluoro-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (120). L'acide 4-(1-méthyl-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrique (119) est obtenu dans un rendement de 77% par hydrolyse avec l'estérase de foie de porc (PLE) du 4-(1-méthyl-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (121) obtenu dans un rendement de 84% par alkylation avec le iodométhane dans le tétrahydrofurane de l'énolate de sodium de 115. Ce dernier est traité avec le selectfluor 25 dans le diméthylformamide [166] pour donner le 4-(1-fluoro-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (120) dans un rendement de 62%, alors que le traitement de la dicétone 115 directement avec le selectfluor 25 dans l'acétonitrile donne un rendement de 90% (Schéma 13).

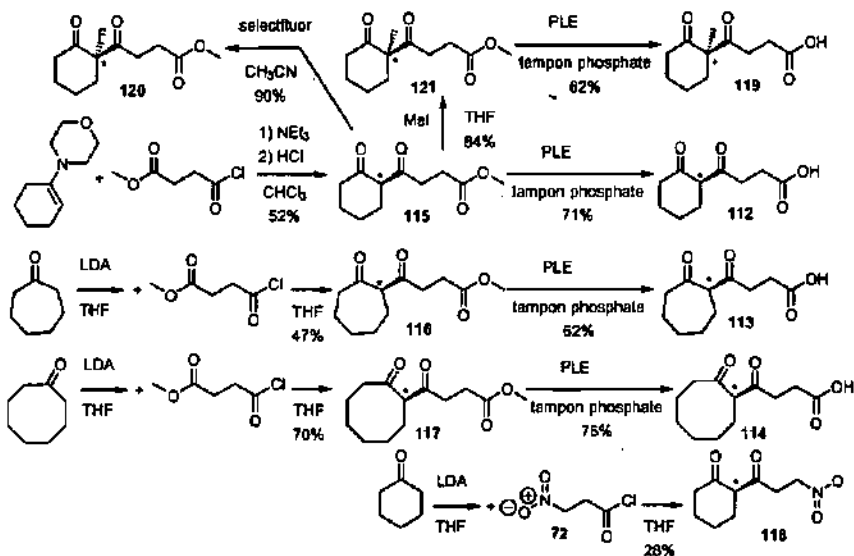


Schéma 13.

1.3.1.3 Synthèses des autres analogues de substrat.

1.3.1.3.1 Synthèses des substrats artificiels potentiels de la porphobilinogène synthase.

Nous avons développé différentes structures analogues au substrat potentiellement capables d'être reconnues comme substrats artificiels par la porphobilinogène synthase. Parmi celles-ci, nous avons substitué au groupe carboxylate le groupe nitro ou le groupe méthylester, introduit un méthyle sur le groupe amino ou encore introduit le groupe NH à la place du méthylène en position 5.

Nous avons synthétisé, avec un rendement de 73%, le chlorure de 4-nitro-2-oxobutylammonium (15) de façon indépendante [170] mais similaire à celle décrite par Ha et Leeper [96] (rendement 74%) par réduction catalysée par le palladium en présence d'acide chlorhydrique dans le méthanol à T.a. pendant 2 h 15 min du 1-azido-4-nitro-2-butanone (122), qui est lui-même obtenu par substitution sur le 1-bromo-4-nitro-2-butanone (123) avec un excès d'azoture de sodium, catalysée avec l'iodeure de potassium dans l'acétone 3 h 30 min à T.a. avec un rendement de 89% (Schéma 14). Ha et Leeper [96] ont obtenu 78% du composé azido 122 par traitement du 1-bromo-4-nitro-2-butanone (123) avec l'azoture de sodium dans le diméthylformamide à -24°C pendant 2 h 30 min. Ils ont obtenu le 1-bromo-4-nitro-2-butanone (123) par bromation selon Ha [146] de la 4-nitro-2-butanone (124) dans le méthanol avec un équivalent de brome et 45 min de reflux avec un rendement de 45%. La 4-nitro-2-butanone (124) est obtenue, dans ce cas [96], par traitement de la méthyle vinyle cétone dans le tétrahydrofurane et l'acide acétique en présence d'un équivalent de nitrite de sodium durant 2 h à T.a. suivie d'une distillation pour obtenir 60% de 4-nitro-2-butanone (124). Nous déconseillons de distiller la 4-nitro-2-butanone (124), étant donné que nous avons eu une explosion lors de la distillation de cette dernière au four à boules. Jarret [92] a obtenu la 4-nitro-2-butanone (124) par traitement de la méthyle vinyle cétone dans les mêmes conditions que précédemment mais pendant 14 h selon Miyakoshi [171]. Le produit obtenu quantitativement n'est pas purifié et est bromé, également dans les mêmes conditions que précédemment, mais cette fois 14 h à T.a. pour donner le 1-bromo-4-nitro-2-butanone (123) dans un rendement de 44%.

Nous avons mis en oeuvre la méthode développée par Jarret, mais nous avons également obtenu la 1-bromo-4-nitro-2-butanone (123) dans un rendement de 88% par traitement dans le diéthyléther de la diazocétone 71 avec 1.5 équivalent d'acide bromhydrique 5.7 M dans l'acide acétique (Schéma 14). La 1-bromo-4-nitro-2-butanone (123) est obtenue en trois étapes simples dans une très bonne pureté et dans un rendement total de 67%, à partir de l'acide 3-nitropropionique, alors qu'il est obtenu en deux étapes par Jarret dans un rendement de 44% et par Ha et Leeper dans un rendement de 27% à partir de la méthyle vinyle cétone.

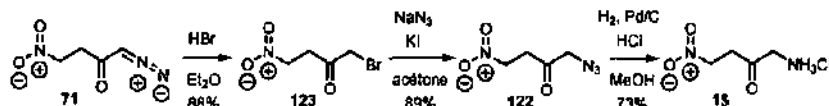


Schéma 14.

Nous avons synthétisé le 5-aminolévininate de méthyle sous forme de sel chlorhydrate (125) que nous avons purifié précautionneusement par cristallisation pour éliminer toute trace d'acide 5-aminolévininique (1) (Schéma 15). Le méthylester 125 avait été obtenu par

Zav'yalov et Zarvozin [172] par traitement avec le chlorure de thionyle et le méthanol. Cette procédure a été reprise dans notre groupe par Greppi [158] avec un rendement de 90% alors que nous avons obtenu un rendement quasi quantitatif (97%) en méthylester contaminé avec extrêmement peu d'acide libre par simple traitement avec le méthanol, une quantité catalytique d'acide chlorhydrique et le chloroforme comme solvant pour former l'azéotrope qui a été séché par passage du solvant condensé à travers un piège de tamis moléculaire pendant 2 h.

Nous avons également synthétisé le chlorure de *N*-(4-carboxy-2-oxobutyl)-*N*-méthylammonium (126) à partir du *N*-benzyl-*N*-méthyl-5-aminolévulinate de méthyle (127) dont nous avons déprotégé la fonction amine par hydrogénolyse catalysée avec le palladium dans l'éthanol suivie d'un traitement à l'acide chlorhydrique 6 M avec un rendement de 90%. L'amine 127 est obtenue par substitution du 5-bromolévulinate de méthyle (55) [146,147] avec deux équivalents de benzyle méthyle amine dans le tétrahydrofurane 21 h à T.a. avec un rendement de 76% (Schéma 15).

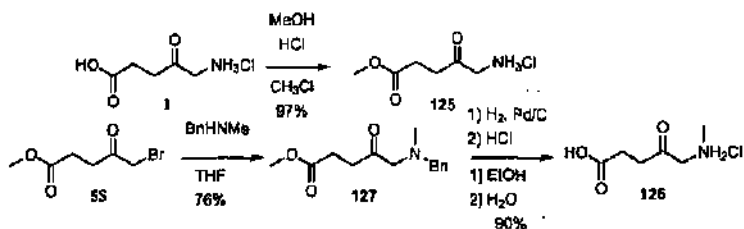


Schéma 15.

Finalement, nous avons synthétisé non pas le zwitterion obtenu par Feuer [173], mais le chlorure de *N*'-succinylhydrazinium (128) avec un rendement de 88% par traitement dans l'acide chlorhydrique 1 M pendant 6 h 30 min à T.a. de l'acide 4-(*N*'-tert-butylloxycarbonylhydrazino)-4-oxobutyrique (129) [174], qui est lui-même obtenu dans un rendement de 70% par traitement pendant 15 h à T.a. de l'anhydride succinique avec le *tert*-butylcarbазate dans le chloroforme. Nous avons également développé plusieurs variations dans les groupes de protection. Nous avons donc synthétisé le méthylester et le benzylester de 129. Le 4-(*N*'-tert-butylloxycarbonylhydrazino)-4-oxobutyrate de méthyle (130) est obtenu dans un rendement de 57% par traitement du chlorure de 3-méthylloxycarbonylpropionyle avec le *tert*-butylcarbазate dans le diéthyléther. De même, le 4-(*N*'-tert-butylloxycarbonylhydrazino)-4-oxobutyrate de benzyle (131) est obtenu dans un rendement de 84% par activation du succinate de monobenzyle (61) dans le dichlorométhane avec le chlorure d'oxalyle et une quantité catalytique de diméthylformamide, puis traitement avec le *tert*-butylcarbазate. Nous avons également échangé le groupe de protection sur la fonction amine en introduisant le groupe Z à la place du groupe Boc de façon similaire à la synthèse de 129 en utilisant le benzylcarbазate et l'acide 4-(*N*'-benzylloxycarbonylhydrazino)-4-oxobutyrique (132) est obtenu avec un rendement de 43% (Schéma 16).

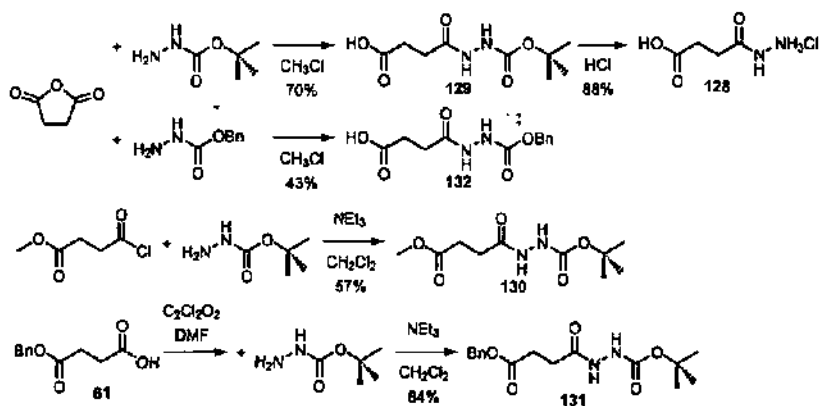


Schéma 16.

1.3.1.3.2 Synthèses des analogues de substrat avec modification(s) en position 1, 3, 4 ou/et 5.

Nous avons synthétisé toute une série d'analogues de substrat pour compléter les résultats d'inhibition déjà obtenus par Henz [99], et afin d'affiner nos connaissances principalement sur le site-A où sont reconnus les analogues de substrat montrant un comportement cinétique compétitif. Parmi les modifications du carboxylate, l'introduction d'une fonction amide n'avait pas été éprouvée, c'est pourquoi nous avons synthétisé le lévulinamide (133) [175] dans un rendement modeste de 32% par activation dans le dichlorométhane de l'acide lévulinique par la *N,N*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC) et acylation de l'ammoniaque en solution dans l'éthanol. Nous avons tenté de synthétiser l'analogue sulfonique de l'acide lévulinique par un mode opératoire analogue à celui appliqué par Lüönd [100] pour l'obtention de l'acide 4-amino-3-oxobutylsulfonique (134) sous sa forme hydrochlorure. Nous avons fait une addition de type Michael de l'acide thiobenzoïque sur la méthyle vinyle cétone dans le tétrahydrofurane pour obtenir le thiobenzoate de *S*-1-(3-oxobutyle) (135) [176] dans un rendement de 83%. Le traitement avec de l'eau oxygénée dans l'acide acétique s'est avérée trop agressive et a certainement attaqué la cétone selon une réaction de type Bayer-Williger ($^1\text{H-RMN}$ (d_6 -DMSO) 2.10 (s) trop faible, 3.42 (s)).

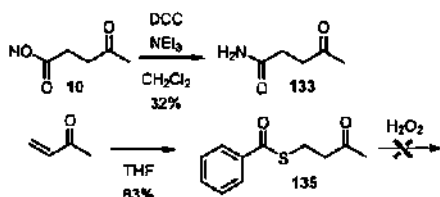


Schéma 17.

Nous nous sommes intéressés à l'impact du changement du méthylène en position 3 par un groupe NH. Confronté au comportement inexplicé de la glycylglycine (136) par rapport à l'acétylglycine (137) (voir chapitre 1.4.2.5), nous avons testé l'acide acétoxyacétique (138) et l'acide aminoacétoxyacétique (18). Nous avons donc synthétisé le chlorure de carboxyméthoxycarbonylméthylammonium (18) [177] dans un rendement de 66% partant du

tert-butoxycarbonylaminoacétyloxyacétate de benzyle (139) [178] par hydrogénolyse catalysée par le palladium suivie d'un traitement acide (Schéma 18). L'introduction de deux groupes protecteurs orthogonaux n'a pas de fondement synthétique et est simplement dû à la disponibilité dans le laboratoire de la *N-tert*-butyloxycarbonylglycine et du bromoacétate de benzyle qui ont été couplés en présence de base de Hünig dans le dichlorométhane avec un rendement de 77%. Lattes [179] a utilisé le benzyloxy et le groupe Z déprotégés par hydrogénolyse alors que Leeper [96] a utilisé le *tert*-butylester et le groupe boc déprotégés avec l'acide trifluoroacétique.

Le chlorure de 2-(1-méthoxycarbonyl-3-oxobutyl)-ammonium (140) [158] a été obtenu dans un rendement de 34% par hydrogénation catalysée par le palladium dans le méthanol en présence d'acide chlorhydrique du 3-azidolévulinate de méthyle (141) [147]. Le 3-azidolévulinate de méthyle (141) est obtenu dans un rendement de 84% par traitement du 3-bromolévulinate de méthyle (55) [147,158] par quatre équivalents d'azoture de sodium dans l'acétone avec l'iodure de potassium comme catalyseur. A partir du méthylester 141 Bertschy [147] a obtenu l'acide 3-azidolévulinique (142) par hydrolyse acide avec un rendement de 35%. Nous avons obtenu l'acide 142 dans un rendement de 73% par hydrolyse avec l'estérase de foie de porc (Schéma 18).

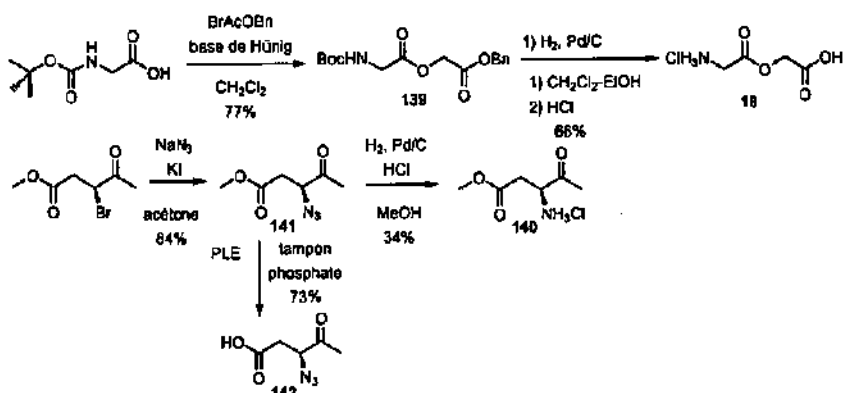


Schéma 18.

Nous avons synthétisé l'acide 3-méthylsulfinylpropionique (143) [180], le 4-thia analogue de l'acide lévulinique (10), par hydrolyse du 3-méthylsulfinylpropionate de méthyle (144) [148] dans une solution aqueuse 6 M d'acide chlorhydrique avec un rendement de 97% d'un solide contenant encore 5% de méthylester 144. Ce dernier est synthétisé avec un rendement de 42% par oxydation avec de l'acide 3-chloroperbenzoïque dans le dichlorométhane du 3-méthylthiopropionate de méthyle (145) [181] qui est lui-même obtenu dans un rendement de 78% par attaque nucléophile du méthanthiolate de sodium sur le bromopropionate de méthyle (Schéma 19).

L'ouverture du 4,5-époxyvalérate de benzyle (53) par une solution d'ammoniaque dans l'éthanol a donné après 5 jours à T.a. le 5-hydro-2-piperidinone (146) [182] dans un rendement de 47% (Schéma 19). Le traitement aqueux acide chlorhydrique de 146 [183] donne accès à

un intermédiaire de la synthèse de l'analogue d'intermédiaires 20 synthétisé par Leeper *et al.* [96].

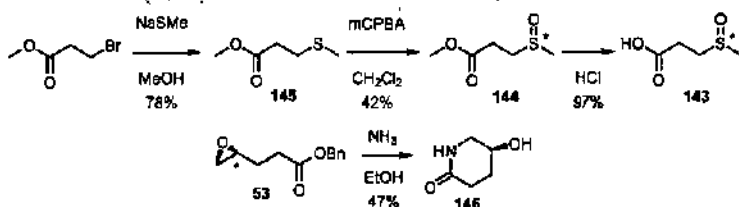


Schéma 19.

Nous avons synthétisé un analogue de l'acide lévulinique contenant un cycle, l'acide 2-oxocyclohexylacétique (147) [184], qui a été décrit de nombreuses fois, par hydrolyse avec l'estérase de foie de porc de l'éthylester 148 correspondant avec un rendement de 58%. Le 2-oxocyclohexylacétate d'éthyle (148) [185] est obtenu par déprotonation de la cyclohexanone avec le diisopropylamide de lithium comme décrit précédemment (voir chapitre 1.3.1.2.3) puis alkylation avec le bromoacétate d'éthyle dans un rendement de 62%. Nous avons synthétisé dans un rendement de 64% l'acide 3-méthyllévulinique (149) par hydrogénolyse et décarboxylation du 2-acétyl-2-méthylsuccinate de benzyle (150). Ce dernier est obtenu dans un rendement de 88% par alkylation avec le iodométhane du 2-acétylsuccinate de benzyle (83) déprotoné avec l'hydruure de sodium (Schéma 20).

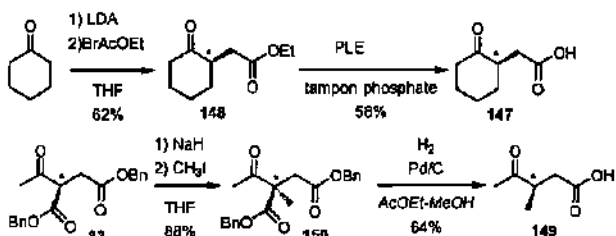


Schéma 20.

Nous avons synthétisé de la même manière que McCabe *et al.* [186] l'acide *N*-méthylsuccinamique (151) dans l'éthanol par traitement de l'anhydride succinique avec la méthylamine dans un rendement de 38%. Nous avons synthétisé le *N*-méthyl-3-nitropropionamide (152) avec un rendement de 77% par traitement du chlorure de 3-nitropropionyle (72) dans le dichlorométhane avec deux équivalents de méthylamine. Nous avons également synthétisé le 3-nitropropionamide (153) [187] dans un rendement de 77% par traitement cette fois avec une solution aqueuse d'ammoniac (Schéma 21).

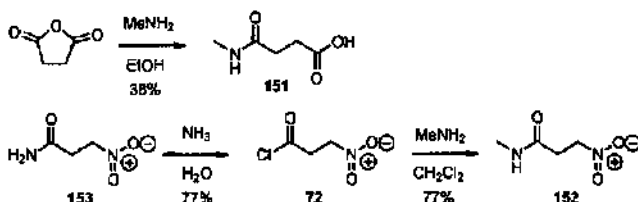


Schéma 21.

Nous avons synthétisé des analogues de l'acide *N*-méthyl-5-aminolévulinique (126) avec introduction d'un second groupe méthyle sur l'azote ou échange de l'azote par un autre hétéroatome (O, S). Nous avons synthétisé le chlorure de *N*-(4-carboxy-2-oxobutyl)-*N,N*-diméthylammonium (154) [12] avec un rendement de 84% par hydrolyse acide du 5-(*N,N*-diméthylamino)lévulinate de méthyle (155). Ce dernier est obtenu dans un rendement de 34% à partir du 5-bromolévulinate de méthyle (55) [146,147] dans le tétrahydrofurane et d'un excès de diméthylamine. Nous avons obtenu l'acide 5-méthylsulfonyllévulinique (156) dans un rendement de 78% à partir du 5-bromolévulinate de méthyle (55) par traitement 14 h à T.a. avec le méthanthiolate de sodium dans le méthanol pour obtenir le 5-méthylsulfonyllévulinate de méthyle (157) puis hydrolyse de ce dernier avec l'estérase de foie de porc. L'acide 5-méthoxylévulinique (158) est obtenu dans un rendement de 69% par hydrolyse avec l'estérase de foie de porc à partir du 5-méthoxylévulinate de méthyle (159) [188]. Le méthylester 159 est obtenu dans un rendement de 61% par traitement du 5-diazolévulinate de méthyle (62) dans le diéthyléther par dix équivalents de méthanol avec un quantité catalytique de trifluoroborate étherate par analogie avec la méthode de Newman et Beal [189] (Schéma 22).

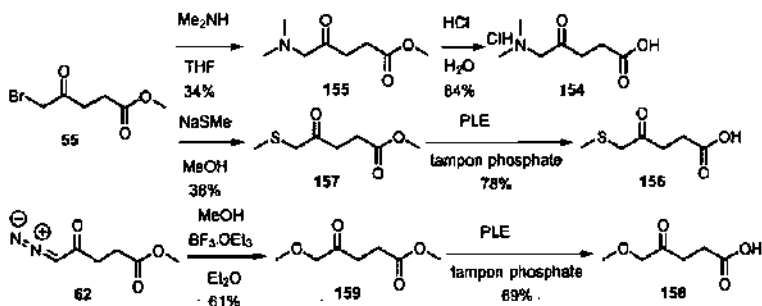


Schéma 22.

1.3.2 Synthèses des analogues d'intermédiaires postulés.

1.3.2.1 Synthèses des analogues d'intermédiaires postulés du mécanisme Jordan I.

1.3.2.1.1 Synthèses des analogues du type acyloxime et acylhydrazone.

Nous avons commencé notre projet de recherche sur les analogues d'intermédiaires du type Jordan I par la synthèse, dans un premier temps, des analogues d'un intermédiaire imino proposé initialement par Jordan [46]. Nous avons supprimé la fonction amine de la partie site-

A et introduit un hétéroatome soit oxygène, soit azote en position 5 de la partie site-P afin de stabiliser la double liaison C-N adjacente (Figure 45). Pour des raisons de simplification synthétique, nous avons produit des analogues méthylester et diméthylester.

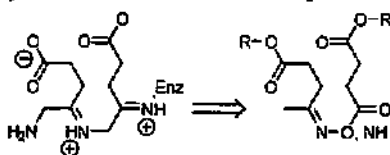


Figure 45 : Intermédiaire postulé du mécanisme Jordan I et analogue stabilisé par rapport à l'hydrolyse.

Nous avons synthétisé le 4-(3-méthoxycarbonylpropanoyloxyimido)-pentanoate de méthyle (160) dans un rendement de 57% en traitant l'oxime du lévulinate de méthyle (161) [190] avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans le dichlorométhane en présence de triéthylamine. L'oxime du lévulinate de méthyle (161) [190] est obtenue dans un rendement de 79% par traitement du lévulinate de méthyle dans une solution aqueuse de chlorure d'hydroxylammonium, traité par adjonction d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium. Nous avons également synthétisé, à partir de l'oxime (161) et de l'anhydride succinique dans le tétrahydrofurane avec une quantité catalytique de 4-(*N,N*-diméthyl)aminopyridine (DMAP) [150], l'acide 2-(4-(méthoxyoxycarbonylbutyl)imidoxycarbonyl)propionique (162) dans un rendement de 44%. L'autre monométhylester, l'acide 4-(3-(méthoxycarbonyl)propionyloxyimido)pentanoïque (163) a été synthétisé dans un rendement de 46% à partir du chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle, de la triéthylamine et de l'oxime de l'acide lévulinique (164) [191]. Cette dernière est obtenue dans un rendement de 82% à partir de l'acide lévulinique (10) et du chlorure d'hydroxylammonium (Schéma 23).

Nous avons synthétisé l'acide 3-(1-méthoxyoxycarbonylbut-3-ylidènehydrazinocarbonyl)propionique (165) dans un rendement de 85% à partir du chlorure de *N'*-succinylhydrazinium (128) déprotoné dans le méthanol avec le méthanolate de potassium puis chauffé à reflux 3 h avec le lévulinate de méthyle en présence de chloroforme et passage du solvant condensé à travers du tamis moléculaire (Schéma 23).

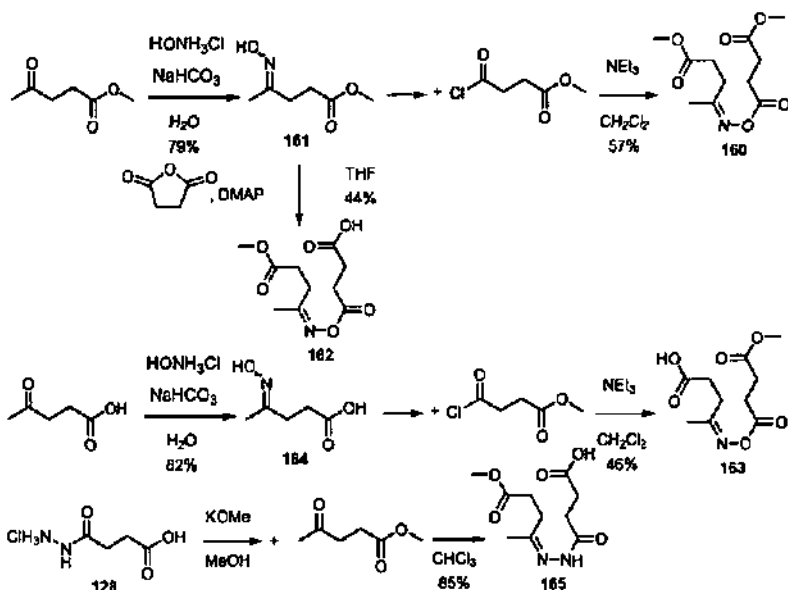


Schéma 23.

1.3.2.1.2 Synthèses des analogues d'intermédiaires avec une fonction carbonyle en position γ .

Compte tenu des problèmes de stabilité rencontrés avec les analogues acyloxime (160, 162 et 163) et acylhydrazone (165) (voir chapitre 1.4.1.2), nous nous sommes proposés d'appréhender le problème d'un autre point de vue, comme discuté plus loin (voir chapitre 1.4.1.3). Nous avons décidé de synthétiser des structures simplifiées imitant grossièrement, mais de manière plus générale les différentes structures intermédiaires postulées dans le mécanisme Jordan I. De telles structures sont composées d'un squelette linéaire à 10 atomes comportant une fonction acide carboxylique à chaque extrémité et une fonction carbonyle en position γ (Figure 46).

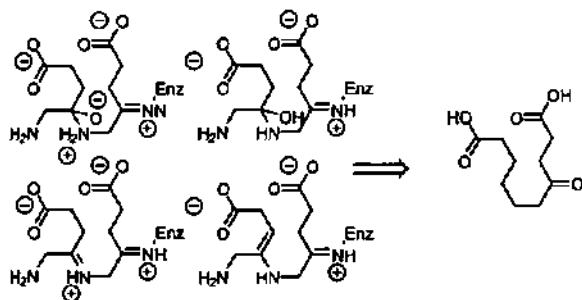


Figure 46 : Intermédiaires postulés du mécanisme Jordan I et analogue d'intermédiaires simplifié.

Deux structures évidentes que nous avons synthétisées dans ce contexte sont l'acide 4-oxodécandioïque (166) (acide γ -oxosébacique) [192] et l'acide 5-(3-carboxypropionylamino)pentanoïque (167). Le diacide 166 a été synthétisé dans un rendement de 72% de manière similaire à la procédure décrite par Hünig et Lücke [168] par traitement avec une solution 10 M d'hydroxyde de potassium bouillant du 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrates de méthyle (115) purifié. Le diacide 167 est obtenu dans un rendement de 77% par hydrogénolyse catalysée avec le palladium dans le dichlorométhane du 5-(3-(benzyloxycarbonyl)propionylamino)pentanoate de benzyle (168). Ce dernier est obtenu dans un rendement de 80% par couplage dans le dichlorométhane du *para*-toluènesulfonate de 4-(benzyloxycarbonyl)butylammonium (169) avec le succinate de monobenzyle (61), activé sous forme de chlorure d'acide comme précédemment, et deux équivalents de triéthylamine. Le *para*-toluènesulfonate 4-(benzyloxycarbonyl)butylammonium (169) [193,194] est obtenu dans un rendement de 90% par chauffage dans le toluène à reflux avec séparation azéotropique de l'acide 5-aminopentanoïque avec un équivalent d'acide *para*-toluènesulfonique et dix équivalents de benzyle alcool (Schéma 24).

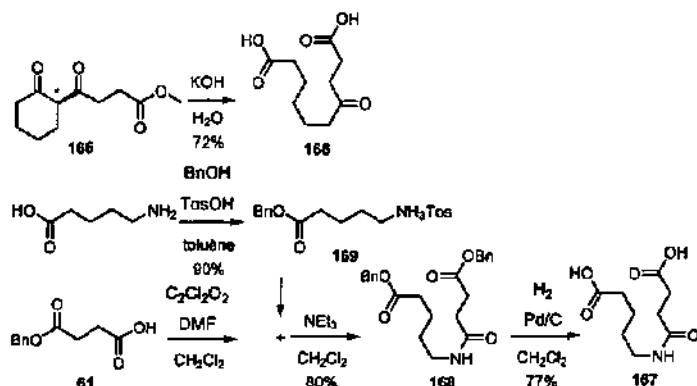


Schéma 24.

Partant de la structure de l'acide γ -oxosébacique (166) qui est la structure minimale définie pour imiter les intermédiaires de type Jordan I (voir chapitre 1.4.1.3), nous avons cherché à affiner la structure pour ressembler davantage au premier intermédiaire du type Jordan I qui est également la structure intermédiaire se rapprochant le plus de l'état de transition de l'attaque du groupe amino du premier substrat sur la cétone du second substrat. Nous avons envisagé de restaurer la présence de l'azote du premier substrat en synthétisant l'acide 6-aza-4-oxodécandioïque (170). L'attaque nucléophile du *para*-toluènesulfonate 4-(benzyloxycarbonyl)propylammonium sur le 5-bromoévalinate de méthyle (55), soit dans le diméthyle formamide, soit dans l'éthanol avec libération de la fonction amine par l'éthyl-diisopropylamine, n'a pas permis d'isoler le benzyle méthyle diester du produit cible (Schéma 25). Une autre forme protégée de ce dernier n'a pas pu être isolée par couplage catalysé avec le dirhodium tétraacétate monohydrate du 5-diazolévalinate de méthyle (62) avec la 2-pyrrolidinone dans le dichlorométhane [195].

Nous avons synthétisé l'acide 7-méthyl-4-oxodécandioïque (171) par hydrolyse du diméthylester 4 h à 80°C dans l'acide chlorhydrique 6 M avec un rendement de 74%. Le 7-

méthyl-4-oxodécandioate de méthyle (172) est obtenu par traitement du mélange diastéréoisomérique du 4-(4-méthyl-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (173) avec une solution concentré d'hydroxyde de potassium bouillant puis traitement avec du diazométhane dans un rendement de 64%. La 1,3-dicétoène 173 est obtenue dans un rendement de 60% par une procédure analogue à celle mise en œuvre pour la synthèse des composés 116 et 117 en partant de la 4-méthylcyclohexanone et sont obtenus les deux racémates diastéréoisomères dicétoènes et le racémate cétoénoïl en équilibre (Schéma 25).

Nous avons synthétisé l'acide 5-fluoro-4-oxodécandioïque (174) dans un rendement de 34% à partir du 4-(1-fluoro-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (120) (voir chapitre 1.3.1.2.3) par une hydrolyse douce dans un tampon phosphate 0.1 M à pH 8.2 pendant 4 jours (Schéma 25). Les fractions de la colonne chromatographique contenant le monométhylester ont été traitées avec une solution de diazométhane et purifiées à nouveau pour donner 13% par rapport au produit de départ de 5-fluoro-4-oxodécandioate de méthyle (175).

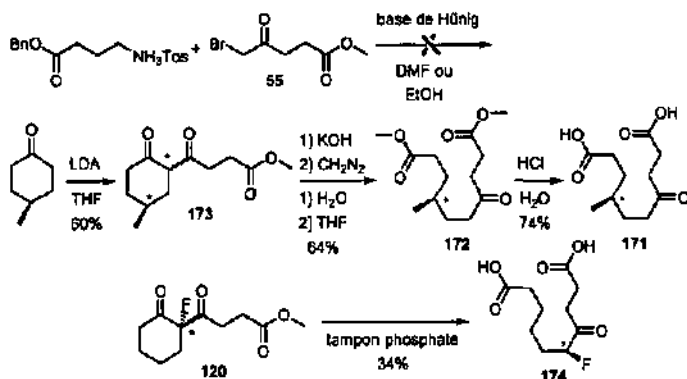


Schéma 25.

1.3.2.2 Synthèse de la série des γ -oxodiacides.

Les intermédiaires de type Jordan I possèdent en commun un squelette linéaire comprenant huit atomes entre les deux fonctions carbonyles. Les intermédiaires du type Jordan II ou Shemin possèdent, quant à eux, un squelette comprenant cinq atomes de carbone entre les deux fonctions carbonyles. La fonction cétoène impliquée dans la formation de la base de Schiff avec le groupe amino de la chaîne latérale de la lysine K_{247} est essentielle à une interaction efficace avec le site actif. Afin de pouvoir interpréter la différence remarquable du comportement d'inhibiteur entre l'acide 4-oxoheptandioïque (γ -oxopimélique) et l'acide 4-oxodécandioïque (γ -oxosébacique), nous avons synthétisé la série comprenant de six à dix atomes de carbone entre les deux fonctions carbonyles.

1.3.2.2.1 Synthèses des γ -oxodiacides linéaires.

Nous avons synthétisé l'acide 4-oxooctandioïque (γ -oxosubérique) (176) et l'acide 4-oxononandioïque (γ -oxoazélique) (177) par une procédure adaptée de Rike [196] basée sur la formation de l'organozinc et son couplage catalysé par deux équivalents de bromure de

lithium et un équivalent de cyanure de cuivre (I) (avéré de qualité douteuse) avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle. Une suspension de zinc activé est obtenue par traitement de lithium métallique dans le tétrahydrofurane avec un équivalent de naphthalène puis adjonction d'un demi équivalent de chlorure de zinc. Le zinc activé est traité avec le 4-bromobutyrate d'éthyle pour former l'organozinc qui est traité avec le bromure de lithium et le cyanure de cuivre (I) avant d'être finalement couplé avec le chlorure d'acide pour donner dans un meilleur rendement de 19% le 4-(3-(méthoxycarbonyl)propionyl)butyrate d'éthyle (178). La même procédure appliquée au 5-bromopentanoate de méthyle donne le 4-oxononandioate de diméthyle (179) dans un rendement tout aussi modeste de 18%. L'acide 4-oxooctandioïque (176) est obtenu dans un très faible rendement (17%) par hydrolyse basique dû à la difficulté d'extraire le diacide 176 de la phase aqueuse mais par contre l'hydrolyse 2 h à T.a. dans l'acide chlorhydrique 6 M suivie de l'évaporation du solvant donne le diacide 176 dans une pureté avec un rendement quasi quantitatif (98%). L'hydrolyse dans le méthanol avec une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium 10 M du diester 179 suivie de l'élimination du méthanol par coévaporation avec le chloroforme et extraction permet d'obtenir après cristallisation le diacide 177 dans un rendement de 64% (Schéma 26). Les diacides 176 [197] et 177 [198] ont été synthétisés et décrits à plusieurs reprises dans la littérature. Le diester 178 a été synthétisé par Rieke [199], à partir des mêmes composés de départ que nous, par une activation sous forme d'organocuivre avec un rendement (47%) supérieur au nôtre. Le diester 179 a été décrit et obtenu par Hesse [200] par méthanolyse acide de l'acide 3-(1-nitro-2-oxocyclohexyl)propionique.

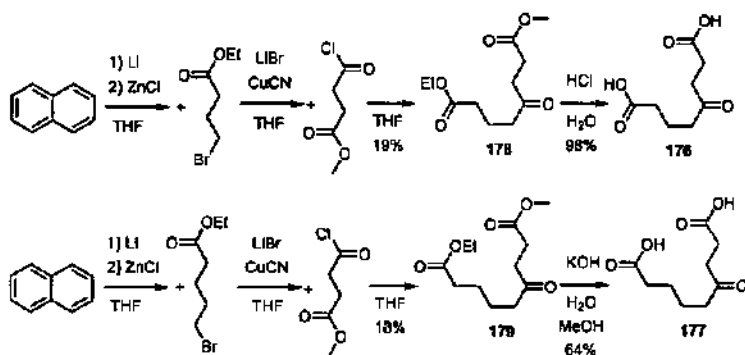


Schéma 26.

Nous avons synthétisé l'acide 4-oxodécandioïque (180) par hydrolyse acide du 10-méthoxycarbonyl-4-oxo-décanoate d'éthyle (181) dans un rendement de 87% et l'acide 4-oxododécandioïque (182) par hydrolyse acide du 11-méthoxycarbonyl-4-oxodécanoate d'éthyle (183) [201] dans un rendement de 74%. Le méthyle éthyle diester 181 est obtenu selon une procédure analogue à celle de Naora [202] avec un rendement de 80% dans l'éthanol par hydrogénolyse catalysée par le palladium du 3,3-di(benzyloxycarbonyl)-11-méthoxy-4,11-dioxodécanoate d'éthyle (184). Ce dernier est obtenu par déprotonation de l'éthoxycarbonylméthylmalonate de benzyle (185) par l'hydrure de sodium dans le benzène suivie de l'acylation avec le chlorure de 7-chlorocarbonylheptanoate de méthyle (186) dans un rendement de 48%. Le chlorure d'acide 186 [203,204] est obtenu dans un rendement de 91% par activation avec le chlorure d'oxalyle et un quantité catalytique de diméthylformamide dans le dichlorométhane du subérate de monométhyle (187) qui est lui-même obtenu dans un

rendement de 96% par monodéprotection sélective du substrat de diméthyle avec l'estérase de foie de porc (PLE). Le méthyle éthyle diester 183 est obtenu dans un rendement de 44% selon la même procédure que 181 à partir de l'éthoxycarbonylméthylmalonate de benzyle (185) et du 8-chlorocarbonyloctanate de méthyle (188) [205]. Ce dernier est obtenu comme précédemment à partir d'azélate de diméthyle avec un rendement de 85%. L'acide 4-oxodécandioïque (180) a été caractérisé par Finch [206] et l'acide 4-oxododécandioïque (182) a été isolé du mycélium de *Fusarium moniliforme* [207].

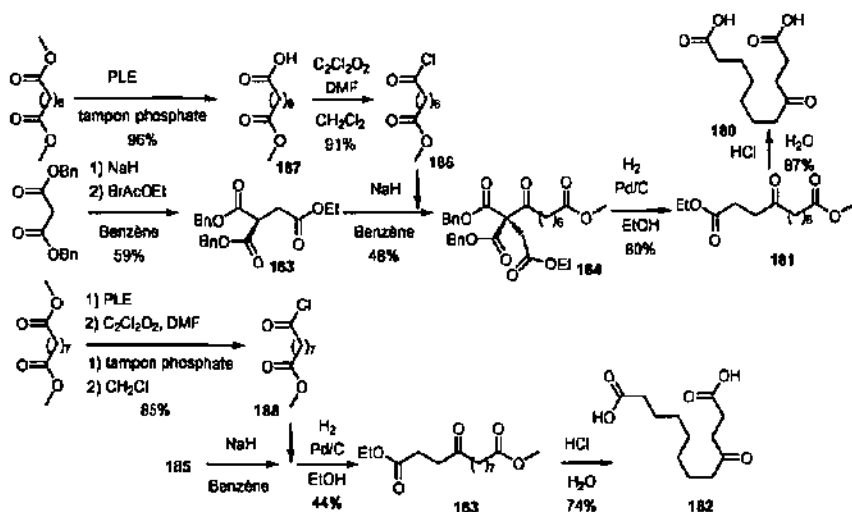


Schéma 27.

Nous avons essayé différents malonates que nous avons alkylé avec le bromoacétate d'éthyle. Nous avons envisagé comme cible synthétique modèle l'acide 4-oxopimélique. Nous avons donc dans un premier temps synthétisé selon Ranu et Bhar [208] à partir du malonate de diéthyle sur l'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) traité préalablement dans l'éthanol avec comme base l'éthanolate de sodium, le 2-éthoxycarbonylsuccinate d'éthyle (189) [209] qui est purifié par distillation avec un rendement de 44%. L'acylation de 189, qui est déprotoné dans le tétrahydrofurane avec l'hydruure de sodium, par le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle donne le 3,3-di(éthoxycarbonyl)-6-méthoxycarbonyl-4-oxohexanoate d'éthyle (190) dans un rendement de 52%. Le tétraester 190 est traité 1 h à reflux dans une solution aqueuse 6 M d'acide chlorhydrique et, au lieu d'avoir une double décarboxylation, c'est la liaison formée à l'étape précédente qui est cassée. Nous avons synthétisé l'(éthoxycarbonylméthyl)malonate de *tert*-butyle (191) [210] par la même méthode sur Al_2O_3 en présence d'éthanolate de sodium avec un rendement de seulement 19%. L'acylation de 191 comme précédemment donne le 3,3-di(*tert*-butoxycarbonyl)-7-méthoxy-4,7-dioxoheptanoate d'éthyle (192) dans un rendement de 38%. L'acide 4-oxopimélique est obtenu dans un rendement après recristallisation de 66% par traitement du tétraester 192 avec l'acide trifluoroacétique 1 h à T.a. puis évaporation et traitement 1 h à reflux avec une solution aqueuse 6 M d'acide chlorhydrique.

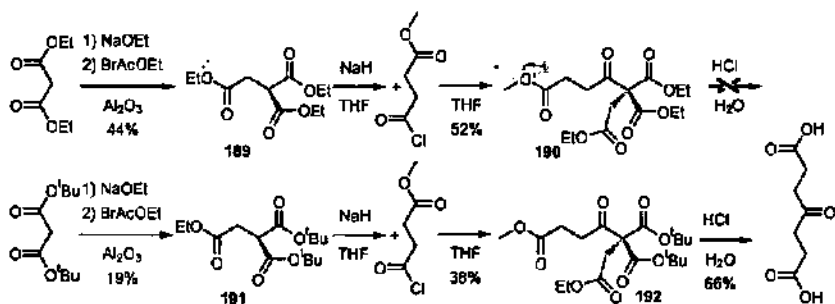


Schéma 28.

1.3.2.2.2 Synthèses des γ -oxodiacydes du type acide lévulinique substitué en position 3.

Tous les composés du type acide lévulinique substitué en position 3 ont été synthétisés sous forme racémique. Nous avons introduit, sur la position 3 de l'acide lévulinique, la seconde fonction carboxylique avec un espaceur alkyle contenant de un à quatre méthylènes; la structure minimale analogue de l'intermédiaire type Shemin étant celle avec un espaceur contenant 3 atomes de carbone.

Nous avons synthétisé l'acide 3-acétylglutarique (193) dans un rendement de 91% par hydrogénolyse catalysée par le palladium dans un mélange tétrahydrofurane - eau (9 : 1) et décarboxylation spontanée à partir du 3-acétyl-3-benzyloxycarbonylglutarate de benzyle (194) obtenu dans un rendement de 92% par traitement avec l'hydruure de sodium dans le tétrahydrofur du 2-acétylsuccinate de benzyle (83) déjà décrit au chapitre 1.3.1.1.2 et alkylation avec le bromoacétate de benzyle (Schéma 29).

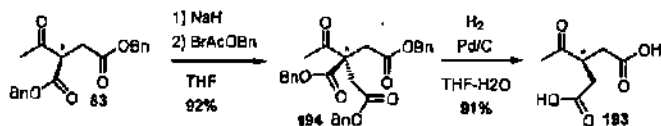


Schéma 29.

Nous avons synthétisé l'acide 3-acétyladipique (195), l'acide 3-acétylpimélique (196) et l'acide 3-acétylsubérique (197) selon un schéma de synthèse identique. Partant de l'acétoacétate de *tert*-butyle déprotoné dans le tétrahydrofurane par traitement avec l'hydruure de sodium puis alkylation avec le 3-bromopropionate de benzyle (198) à T.a. pendant 22 h, le 4-*tert*-butyloxycarbonyl-5-oxohexanoate de benzyle (199) est obtenu dans un rendement de 67%. La synthèse du 5-*tert*-butyloxycarbonyl-6-oxoheptanoate de benzyle (200) est effectuée dans le diméthylformamide avec le sel de sodium de l'acétoacétate de *tert*-butyle et le 4-bromobutyrate de benzyle (201) par chauffage 8 h à 80°C avec un rendement de 44%. De même le 6-*tert*-butyloxycarbonyl-7-oxooctanoate de benzyle (202) est obtenu avec le 5-bromopentanoate de benzyle (203) et un temps de chauffage deux fois plus long dans un rendement de 56%. Les trois diesters 199, 200 et 202 ont pu être purifiés par distillation, ce qui justifie l'introduction d'un *tert*-butyle au lieu d'un benzyle avec le désavantage d'une étape de déprotection supplémentaire. Le trois bromobenzyle esters 198 [211], 201 [212] et 203 [213] utilisés sont décrits dans la littérature et ont été synthétisés par activation catalysée par

le diméthylformamide dans le dichlorométhane avec le chlorure d'oxalyle et traitement avec un léger excès de benzyle alcool et un équivalent et demi de triéthylamine dans des rendements respectifs de 77%, 60% et 77%. Les diesters 199, 200 et 202 sont déprotonés dans le tétrahydrofurane avec l'hydrure de sodium puis alkylés avec le bromoacétate de benzyle pour donner le 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonyladipate de benzyle (204), le 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonylpimélate de benzyle (205) et le 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonylsubérate de benzyle (206) dans des rendements respectifs de 83%, 91% et 90%. Le traitement de ces derniers par l'acide trifluoroacétique de 1 h à 1 h 30 à T.a. donne le 3-acétyladipate de benzyle (207), le 3-acétylpimélate de benzyle (208) et le 3-acétylsubérate de benzyle (209) dans des rendements de, respectivement, 82%, 80% et 67%. Par hydrogénolyse catalysée par le palladium dans un mélange tétrahydrofurane - eau (9 : 1) des diesters 207, 208 et 209 sont obtenus respectivement les diacides 195, 196 et 197 dans des rendements respectifs de 81%, 93% et 67% (Schéma 30).

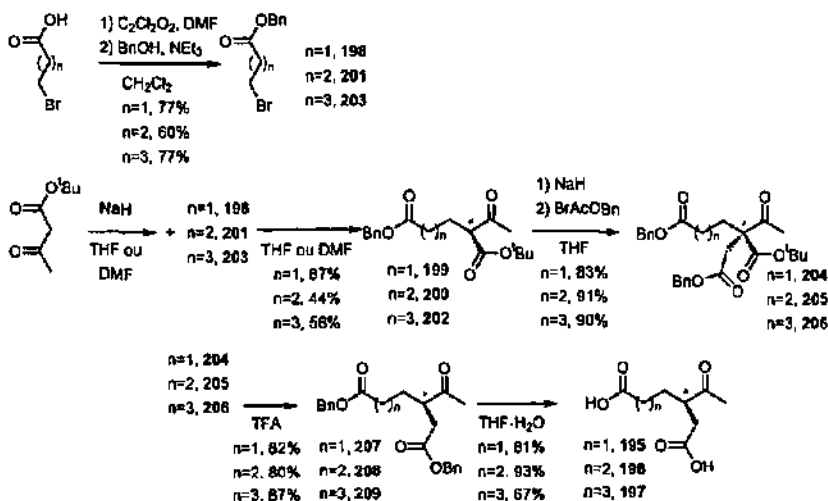


Schéma 30.

1.3.2.3 Synthèses des dérivés du type analogue d'intermédiaire ou de "bissubstrat".

1.3.2.3.1 Synthèses des analogues d'intermédiaires contenant deux fonctions carbonyles en position γ .

Nous avons synthétisé des structures contenant une fonction carbonyle en position γ de chaque fonction acide carboxylique. Nous discuterons plus loin l'interprétation du rôle de telles structures dans le site actif mais elles ont été synthétisées en tant qu'analogues d'intermédiaires du type Jordan I.

Nous avons synthétisé l'acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique (210) [214] dans un rendement de 61% par hydrogénolyse catalysée par le palladium dans le tétrahydrofurane du *N*-(3-benzyloxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinate de benzyle (211). Ce dernier est obtenu par acylation du *para*-toluènesulfonate de (4-benzyloxycarbonyl-2-oxobutylammonium) (212)

avec le succinate de monobenzylester (61), activé sous forme de chlorure d'acide, comme déjà décrit, avec un rendement de 66%. L'ester de δ -ALA 212 est obtenu dans un rendement de 49% par chauffage à reflux 14 h dans le benzène, avec une séparation azéotropique, d'un équivalent d'acide 5-aminolévulinique (1) sous forme hydrochlorure, d'un équivalent d'acide *para*-toluènesulfonique monohydrate et de 10 équivalents de benzyle alcool (Schéma 31).

Nous avons obtenu l'acide 4-(*N*-(3-carboxypropionyl)-hydrazino)-4-oxobutyrique (213) selon Feuer [173] dans un rendement de 75% par traitement de deux équivalents d'anhydride succinique avec un équivalent d'hydrazine dans l'éthanol. Nous avons synthétisé l'acide 4,7-dioxodécandioïque (4,7-dioxosébacique) (214) selon la procédure de Diels et Alder [215] par traitement du pyrrole avec l'anhydride maléique dans l'eau puis décarboxylation par traitement acide et nous avons obtenu un rendement de 24% après deux recristallisations nécessaires pour éliminer l'acide fumarique (Schéma 31). Une purification alternative a été mise en œuvre par méthylation des deux fonctions acide carboxylique, séparation et hydrolyse du 4,7-dioxodécandioate de méthyle (215) à 80°C pendant 12 h dans l'acide chlorhydrique 6 M (le traitement à T.a pendant 12 h dans l'acide chlorhydrique 6 M donne le dérivé furane).

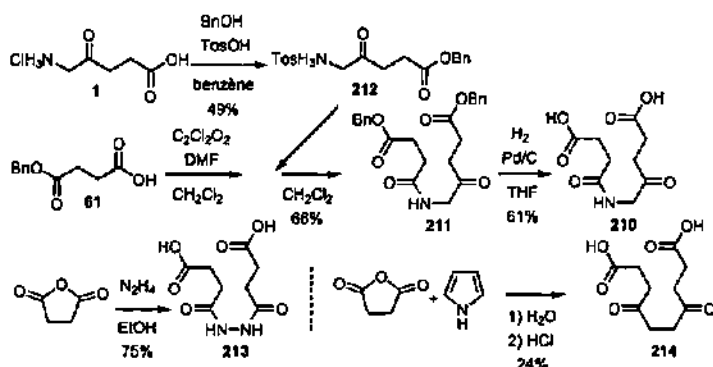


Schéma 31.

1.3.2.3.2 Synthèses des dérivés de l'acide lévulinique contenant une deuxième fonction cétone.

Nous avons synthétisé l'acide 4,7-dioxooctanoïque (216) [216] avec un rendement de 71% par traitement dans une solution aqueuse 6 M d'acide chlorhydrique du 6-*tert*-butyloxycarbonyl-4,7-dioxooctanoate de méthyle (217). Ce dernier est obtenu dans un rendement de 92% par alkylation dans le tétrahydrofurane de l'acétoacétate de *tert*-butyle déprotoné par l'hydruide de sodium et alkylation avec le 5-bromolévulinat de méthyle (55) [146,147] (Schéma 32).

L'acide 3-acétyllévulinique ayant déjà été obtenu par Henz, nous avons synthétisé l'acide 3-acétyl-5-oxohexanoïque (219) et l'acide 3-acétyl-6-oxoheptanoïque (220) [217]. Les acides 219 et 220 sont obtenus par hydrogénolyse catalysée par le palladium et décarboxylation spontanée dans le tétrahydrofurane humide du 2-acétyl-2-[1-(2-oxopropyl)]succinate de benzyle (221) et respectivement du 2-acétyl-2-[1-(3-oxobutyl)]succinate de benzyle (222) avec des rendements respectifs de 58% et 73%. Les dibenzylesters 221 et 222 sont obtenus par déprotonation du 2-acétyllévulinat de benzyle (223), respectivement du 2-acétyl-5-

oxohexanoate de benzyle (224), dans le tétrahydrofurane à 0°C pendant 1 h avec l'hydruide de sodium puis alkylation avec le bromoacétate de benzyle dans des rendements respectifs de 85% et 68%. Le 2-acétyllévinolate de benzyle (223) est synthétisé dans un rendement de 60% par déprotonation de l'acétoacétate de benzyle avec l'hydruide de sodium dans le tétrahydrofurane puis alkylation avec la chloroacétone 2 jours à T.a. et 4 h à reflux. Le 2-acétyl-5-oxohexanoate de benzyle (224) est obtenu par analogie avec une procédure de réaction de Michael en phase solide de Ranu *et al.* [218] (Schéma 32). L'acétoacétate de benzyle est déposé sur l'alumine neutre préalablement activée à 150°C puis traitée avec la méthyle vinyle étone. Un rendement de 46% a été obtenu pour cette réaction avec un temps de réaction de 1 h contre 38% pour 15 min de temps de réaction. Comme précédemment, le rendement utilisant l'alumine neutre pour chromatographie (ICN alumina N, act. I) n'est pas approprié parce qu'il est possible que cette alumine soit traitée de façon incompatible avec sa pleine efficacité comme catalyseur phase solide.

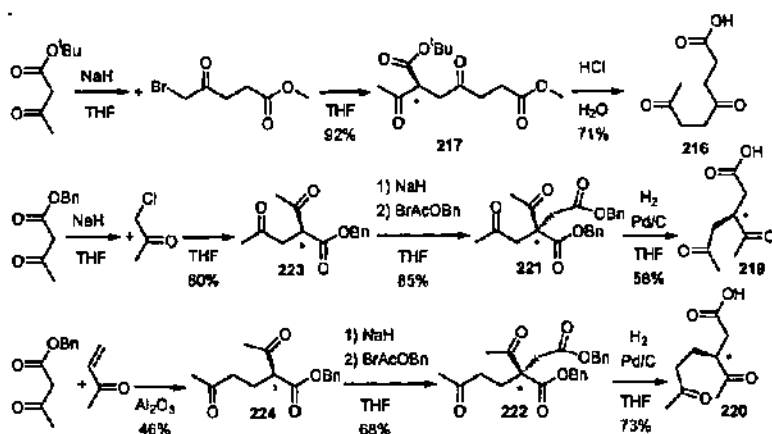


Schéma 32.

1.3.2.3.3 Synthèse d'un inhibiteur du type bisubstrat.

Nous avons synthétisé un analogue du type bisubstrat, l'acide 5-acétyl-4,7-dioxodécadioïque (225) en intégrant une partie succinylacétone pour le site-P et une partie acide lévulinique pour le site-A. Nous avons, dans un premier temps, synthétisé le diméthylester. Le 5-acétyl-4,7-dioxodécadioate de méthyle (226) est obtenu dans un rendement de 75% par alkylation du 4,6-dioxoheptanoate de méthyle (103) avec le bromolévinolate de méthyle (55), deux produits disponibles; le cétoénol étant obtenu par traitement avec l'hydruide de sodium dans le tétrahydrofurane. Il s'est avéré que la déprotection du diméthylester 226 est problématique car en conditions acides (HCl 6 M aqueux, 90 min à 60°C ou 5 h à 90°C) le produit majoritaire qui se forme est un furane (¹H-RMN (d₆-DMSO) : 6.49 ppm). L'hydrolyse basique (KOH_(t4) ~1M - MeOH, 1 h à T.a.) a donné principalement le diacide déacétylé 214. Nous avons imaginé une déprotection en deux étapes du 6-acétyl-10-méthoxy-4,7,10-trioxodécanoate de benzyle (227). Ce dernier est obtenu dans un rendement de 67% par acylation du 4,6-dioxoheptanoate de méthyle (103) avec le 5-bromolévinolate de benzyle (228) [158] qui est synthétisé dans un rendement de 92% par traitement du 5-diazoilévinolate de benzyle (60) avec l'acide bromhydrique. La monodéprotection du méthylester avec l'estérase de foie de porc s'est

avérée étonnamment non sélective et seulement 37% de monobenzyle monoacide ont été obtenus. Nous avons donc décidé de synthétiser le 4,6-dioxoheptanoate de benzyle (229) avec un rendement de 40% par acylation dans le tétrahydrofurane avec le succinate de monobenzyle (61), activé comme déjà décrit sous forme de chlorure d'acide, de l'anion obtenu par déprotonation avec l'hydruire de sodium de l'acétoacétate de *tert*-butyle puis traitement du produit obtenu par l'acide trifluoroacétique pour déprotéger le *tert*-butylester et décarboxyler l'acide libéré. Le 4,6-dioxoheptanoate de benzyle (229) est alkylé avec le 5-bromolévulinate de benzyle (228) pour donner dans un rendement de 87% le 5-acétyl-4,7-dioxodécandioate de benzyle (230) qui a été déprotégé avec un rendement de 85% par hydrogénéolyse catalysée par le palladium dans le tétrahydrofurane humide pour donner l'acide 5-acétyl-4,7-dioxodécandioïque (225) (Schéma 33).

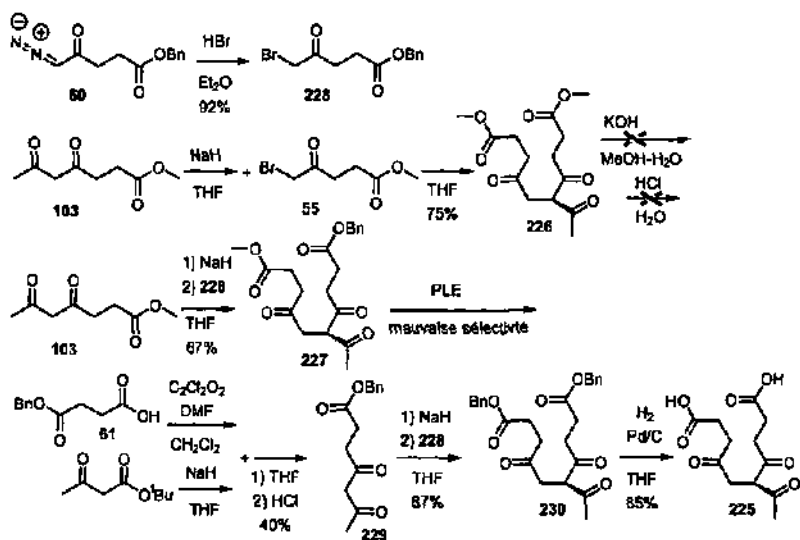


Schéma 33.

1.3.2.4 Synthèses de dérivés nitro et méthylester analogues des Intermédiaires Jordan I.

1.3.2.4.1 Synthèses des dérivés nitro et méthylester analogues d'intermédiaires contenant une fonction carbonyle en position γ .

Nous avons synthétisé un analogue nitro du diacide 166 : l'acide 9-nitro-4-oxononanoïque (231). L'acide 231 est obtenu par hydrolyse avec l'estérase de foie de porc (PLE) de l'éthylester dans un rendement de 58%. Le 9-nitro-4-oxononanoate d'éthyle (232) est synthétisé avec un rendement de 59% par substitution avec un excès de nitrite d'argent sur le 9-bromo-4-oxononanoate d'éthyle (233). Ce dernier est obtenu dans un rendement de 45% (~56%) par déprotonation avec l'hydruire de sodium et acylation avec le chlorure de 6-bromohexanoyle dans le tétrahydrofurane à partir de l'éthoxycarbonylméthylmalonate de benzyle (185), obtenu lui-même avec un rendement de 79% dans une pureté de ~80% par une alkylation du malonate de dibenzyle traité avec l'hydruire de sodium puis le bromoacétate de benzyle dans le tétrahydrofurane à reflux 1 h 30 min (Schéma 34).

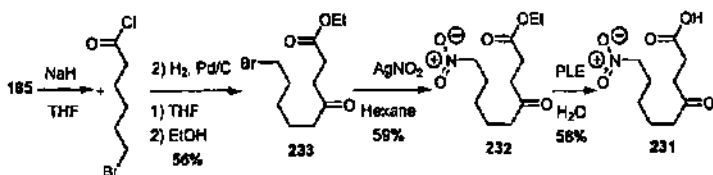


Schéma 34.

Nous avons synthétisé les dérivés monométhylester et diméthylester du diacide 167. L'acide 5-(3-méthoxycarbonylpropionylamino)-pentanoïque (234) est obtenu dans un rendement de 72% par hydrogénolyse catalysée par le palladium dans le dichlorométhane du 5-(3-méthoxycarbonylpropionylamino)-pentanoate de benzyle (235) qui est lui-même obtenu dans un rendement de 72% en acylant, dans le dichlorométhane, le *para*-toluènesulfonate de 4-(benzyloxycarbonyl)butylammonium (169) avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle en présence de deux équivalents de triéthylamine. L'acide 4-[(4-méthoxycarbonyl)butylamino]-4-oxobutyrique (236) est obtenu également par hydrogénolyse dans un rendement de 52% à partir du 5-(3-benzyloxycarbonylpropionyl)aminopentanoate de méthyle (237) qui est synthétisé dans un rendement de 70% comme l'ester 168 mais avec le *para*-toluènesulfonate de 4-(méthylxycarbonyl)butylammonium (238) [193]. Ce dernier est obtenu dans un rendement de 90% par traitement de l'acide 5-aminopentanoïque et de l'acide *para*-toluènesulfonique à reflux 6 h dans le méthanol et le chloroforme avec séparation azéotropique (Schéma 35).

Finalement un analogue nitro acide du diacide 167 a été synthétisé partant du chlorure de 3-nitropropionyle (72) synthétisé *in situ* et du *para*-toluènesulfonate de 4-(méthylxycarbonyl)butylammonium (238) dans le dichlorométhane en présence de deux équivalents de triéthylamine pour donner, avec un rendement de 64%, le 5-(3-nitropropionylamino)pentanoate de méthyle (239) qui est hydrolysé par l'estérase de foie de porc à pH 7.3 pour donner, avec un rendement de 72%, l'acide 5-(3-nitropropionylamino)pentanoïque (240) (Schéma 35).

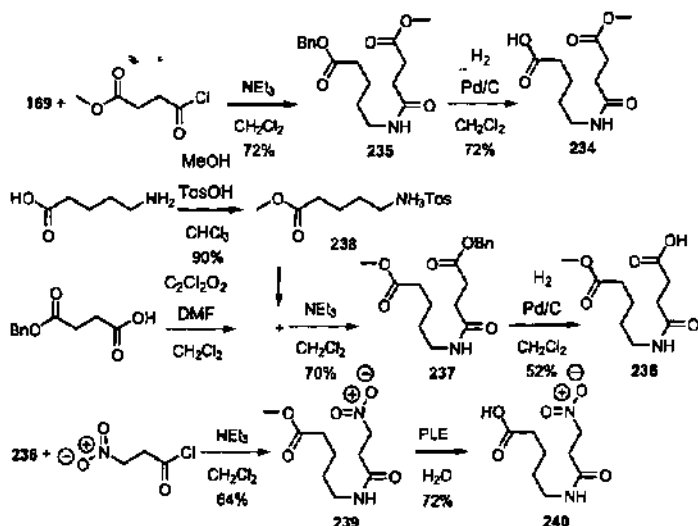


Schéma 35.

1.3.2.4.2 Synthèses des dérivés nitro et méthylester analogues d'intermédiaires contenant une deuxième fonction carbonyle en position γ .

Nous avons synthétisé des dérivés de l'acide *N*-succinyl-5-aminolévulinique (**210**) dont les fonctions acide carboxylique ont été remplacées par le groupe nitro ou le groupe méthyle ester. Ces modifications ont pour but de définir la spécificité du site-A et du site-P au niveau du site de reconnaissance de la fonction carboxylate du substrat et de corrélérer ainsi les résultats dans ce domaine obtenus avec d'autres classes d'inhibiteurs (voir chapitre 1.4).

Nous avons synthétisé avec un rendement de 80% l'acide 3-(4-méthoxycarbonyl-2-oxobutylcarbamoyl)propionique (**241**) par hydrogénolyse catalysée par le palladium dans le dichlorométhane du *N*-(3-benzoyloxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinate de méthyle (**242**) qui est lui-même obtenu dans un rendement de 45% par activation déjà décrite du succinate de monobenzyle (**61**) dans le dichlorométhane sous forme de chlorure d'acide puis acylation du 5-aminolévulinate de méthyle (**125**) sous forme hydrochlorure en présence de triéthylamine. L'autre monométhylester isomère, l'acide *N*-(3-méthylloxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinique (**243**), a été obtenu avec un rendement de 68%, également par hydrogénolyse catalysée par le palladium dans le dichlorométhane, à partir du *N*-(3-méthylloxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinate de benzyle (**244**). Ce dernier est obtenu avec un rendement de 46% dans le dichlorométhane par acylation avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle du 5-aminolévulinate de benzyle (**212**) sous forme du sel de l'acide *para*-toluènesulfonique en présence de deux équivalents de triéthylamine (Schéma 36).

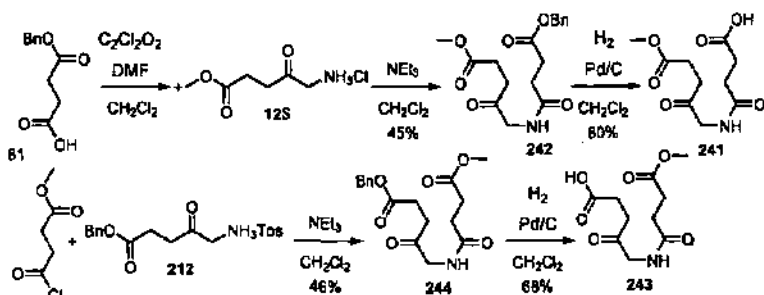


Schéma 36.

Nous avons synthétisé le 5-(3-nitropropionylamino)-4-oxopentanoate de méthyle (**245**) dans un rendement de 44% à partir du chlorure de 3-nitropropionyle (**72**) et du 5-aminolévulinate de méthyle (**125**) sous forme hydrochlorure. Le méthylester **245** est déprotégé en présence d'estérase de foie de porc de bonne pureté (PLE) dans l'eau maintenu à pH 7.2 pendant 9 h grâce à un pH-stat par adjonction d'une solution aqueuse 0.3 M d'hydroxyde de sodiuo pour donner l'acide 5-(3-nitropropionylamino)-4-oxopentanoïque (**246**) dans un rendement modeste de 29%. Le *N*-(4-nitro-2-oxobutyl)-3-nitropropionamide (**247**) est obtenu dans un rendement tout aussi modeste de 30% par acylation du 4-nitro-2-oxo-butylammonium (**15**) avec le chlorure de 3-nitropropionyle (**72**) dans le dichlorométhane en présence d'un large excès de triéthylamine. Finalement le nitro méthylester isomère de **245**, le *N*-(4-nitro-2-oxobutylcarbamoyl)-3-iminocarbonylpropionate de méthyle (**248**) a été obtenu dans un rendement de 37% par acylation du 4-nitro-2-oxo-butylammonium (**15**) avec le chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans le dichlorométhane en présence de deux équivalents de triéthylamine (Schéma 37).

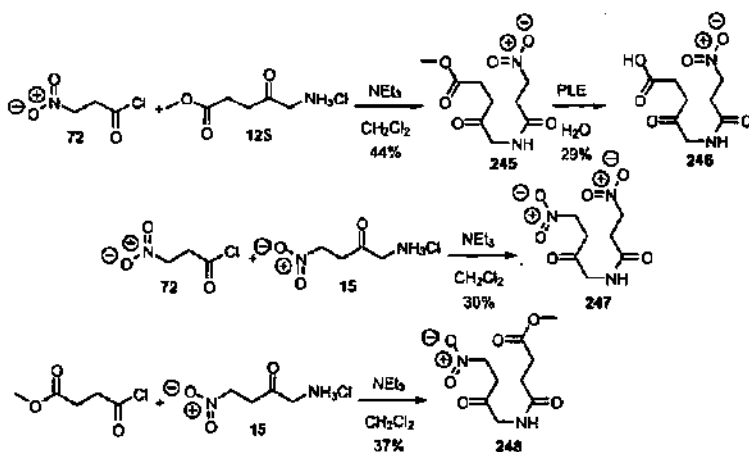


Schéma 37.

Nous avons synthétisé un isomère de l'acide **241**, avec l'azote positionné de l'autre côté du carbonyle de la fonction amide, l'acide *N*-(6-méthoxycarbonyl-4-oxohexanoyl)aminoacétique (**249**). L'acide **249** a été obtenu avec un rendement de 76% par hydrogénolyse catalysée par le

palladium dans le tétrahydrofurane du *N*-(6-méthoxycarbonyl-4-oxohexanoyl)aminoacétate de benzyle (250). Celui-ci est obtenu dans un rendement de 50% par couplage du 4-oxopimélate de monométhyle (251) [219], activé par l'hydrochlorure du *N*-(3-diméthylaminopropyl)-*N*-éthylcarbodiimide (EDC), et du sel de tosylate de la benzyle glycine (252) dans le diméthylformamide en présence de triéthylamine (Schéma 38).

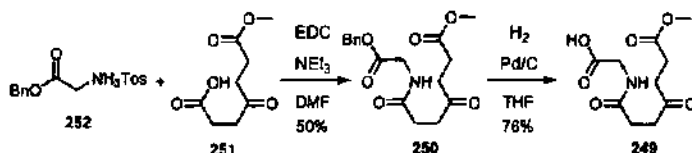


Schéma 38.

1.4 Discussion.

Nous allons discuter, dans ce chapitre, le comportement d'inhibiteur des molécules synthétisées comme inhibiteurs potentiels de la porphobilinogène synthase, pour celles qui ont été testées (Jarret [92] et Zizzari (non publié, thèse en cours)). Lorsque des données sur des structures analogues sont déjà connues par des travaux antérieurs dans notre groupe sur *E. coli* (Henz [99] ou Jarret [92]), nous allons les comparer. Les molécules qui n'ont pas été testées ou seulement dans des essais préalables seront discutées du point de vue de leur comportement hypothétique. Nous nous proposons également de discuter la signification du comportement cinétique des différents composés testés en interprétant leur inhibition selon le modèle cinétique proposé au chapitre 1.1.1.3.2. Pour les détails expérimentaux des tests et les constantes de Michaelis le lecteur est invité à se reporter à Henz [99] et Jarret [92]); les constantes d'inhibition K_i sont données, en italique si le résultat est préliminaire, ainsi que le type de comportement déduit du traitement graphique des données cinétiques : C (compétitif), U (incompétitif), SB (*slow-binder*), I (quasi irréversible), M (mixte) et N (non inhibiteur, $K_i > 0.1$ M). Nous voulons également, lorsque la réactivité des composés synthétisés le nécessite, discuter ces réactivités.

1.4.1 Les analogues d'intermédiaires postulés.

1.4.1.1 Les analogues d'intermédiaires postulés dans le mécanisme Jordan I et II.

Le mécanisme Jordan I propose la fixation du premier substrat dans le site-P du site actif par formation d'une base de Schiff avec la fonction amine de la chaîne latérale de la lysine K₂₄₇. Cette base de Schiff est postulée selon Jaffe comme étant un iminium de conformation E. La deuxième étape du mécanisme est la formation d'une liaison carbone azote entre la fonction amine du premier substrat et la fonction cétone du deuxième substrat dont résulte l'intermédiaire I (la charge négative sur l'oxygène est stabilisée par un acide de Lewis (Zn²⁺) ou un acide de Brønsted par l'enzyme). Formellement, suit la formation de l'intermédiaire II qui, par élimination d'une molécule d'eau, forme l'une des deux formes tautomères : l'intermédiaire imine III ou l'intermédiaire énamine IV, l'intermédiaire III étant converti en intermédiaire IV pour l'étape suivante de cyclisation par réaction de type aldol (Figure 47).

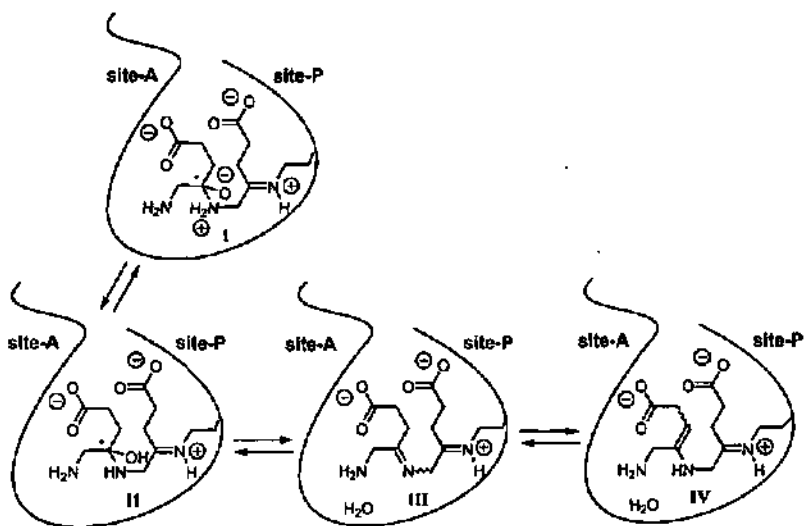


Figure 47 : Quatre intermédiaires clés dans le mécanisme Jordan I.

De telles structures intermédiaires sont caractéristiques du mécanisme Jordan I puisqu'elles impliquent une liaison entre l'azote du substrat site-P et le carbone de la position 4 du substrat site-A, alors que le carbone en position 4 du substrat site-P n'est pas lié au carbone de la position 3 du site-A. Les intermédiaires clés du mécanisme Jordan II se limitent réellement à l'intermédiaire V qui, dans le postulat original, est le seul intermédiaire lié de manière covalente à l'enzyme. Nous pouvons envisager une attaque de la fonction amine du substrat site-P sur la cétone du substrat site-A qui précède l'élimination du groupe amino de la lysine; l'intermédiaire cyclique VI se rapproche alors structurellement de l'intermédiaire VII qui est commun aux deux mécanismes (Figure 48).

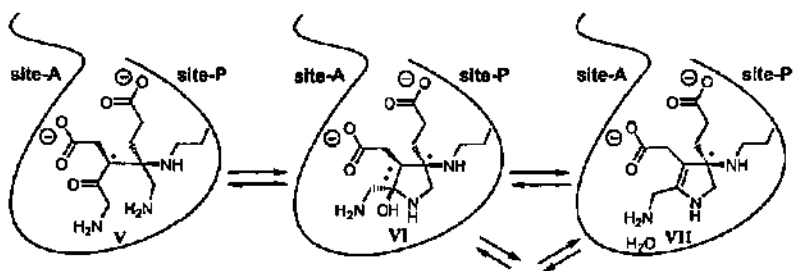


Figure 48 : Les intermédiaires du mécanisme Jordan II (*configuration arbitraire).

La distinction entre les intermédiaires du mécanisme Jordan I et Jordan II réside principalement dans le squelette séparant les deux fonctions carboxylates : huit atomes pour le mécanisme Jordan I et cinq pour le mécanisme Jordan II. Les différences entre les structures intermédiaires des deux mécanismes sont néanmoins ténues.

1.4.1.2 Stratégie des analogues d'intermédiaires postulés dans le mécanisme Jordan I.

Dans ce chapitre, la discussion peut être conduite en faisant abstraction de l'enzyme et de ses groupes fonctionnels. Nous voulons nous concentrer sur les structures des intermédiaires formés par les deux molécules de substrat, dans la mesure où nous n'avons pas d'information précise sur leur environnement engendré par le site actif. Notre approche consiste à générer synthétiquement des structures aussi proches que possible des intermédiaires postulés, puis de tester leur affinité pour le site actif. Une structure, analogue d'un intermédiaire, bien tolérée est un argument en faveur d'un postulat comprenant cet intermédiaire. Nous pouvons, dans le cas d'une telle structure, espérer cocristalliser l'analogue avec l'enzyme et ainsi définir sa surface complémentaire au sein du site actif. Pour reprendre l'image du modèle clé-serrure de Fischer, nous nous proposons, non pas d'analyser le complexe mécanisme de la serrure pour en déduire la forme de la clé qui l'ouvre, mais plutôt de tordre quelques trombones avec l'habileté du crocheteur.

Le point de départ de ce travail illustre particulièrement bien les problèmes liés à notre approche. Nous avons décidé de synthétiser des analogues de l'intermédiaire postulé III. Si nous considérons cet intermédiaire du point de vue de sa réactivité chimique, nous constatons la présence d'une base de Schiff qui est, a priori, sensible à l'hydrolyse. Nous effectuons les tests d'inhibition dans un tampon phosphate de sodium 0.1 M à pH 8. L'intermédiaire III a été imaginé comme un potentiel substrat de la PBGS, mais cette hypothèse est incompatible avec la cinétique observée. Cela est dû à l'équilibre très défavorable de cette molécule avec deux molécules d'acide lévulinique en solution aqueuse [34]. Cependant, l'établissement du caractère inhibiteur d'une molécule nécessite que celle-ci soit suffisamment stable. Nous avons donc focalisé notre choix sur deux structures impliquant une double liaison carbone azote stabilisée par rapport à une base de Schiff : une structure acyloxime (160, 162 et 163) et une structure acylhydrazone (165) (Figure 49). Pour des raisons de commodité synthétique, nous avons, dans un premier temps, introduit des méthylesters et supprimé la fonction amine du site-A qui a été décrite comme peu contributive à la reconnaissance et qui a également été supprimée dans des travaux antérieurs [100,147] visant à obtenir des analogues de l'intermédiaire clé du mécanisme de Shemin (voir 21).

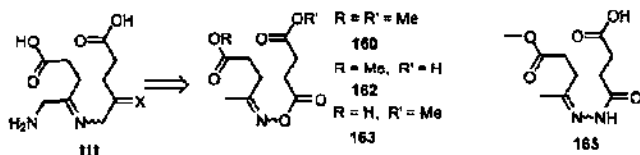


Figure 49 : Structures acyloximes et acylhydrazone.

Nous avons évalué la stabilité des composés 160, 162, 163 et 165 en fonction du temps par suivi ^1H -RMN dans un tampon phosphate pH 7-8 et nous avons constaté qu'ils étaient partiellement hydrolysés en solution (Figures 50-53). Les produits d'hydrolyse formés sont compatibles avec une hydrolyse de la partie ester des acyloximes et une hydrolyse de la double liaison carbone azote de la fonction acylhydrazone. Cette hydrolyse n'est pas trop importante, bien que plus marquée pour le dérivé acylhydrazone 165, mais présente le désavantage de former des espèces qui sont potentiellement des inhibiteurs comme l'oxime de l'acide lévulinique 164 ($K_i = 21'500 \mu\text{M}$, C) ou l'acide succinique ($K_i = 12'500 \mu\text{M}$, C) ainsi

que, pour l'hydrolyse de 165, un composé qui interfère avec le réactif d'Ehrlich : le *N*-(succinyl)hydrazine (128).

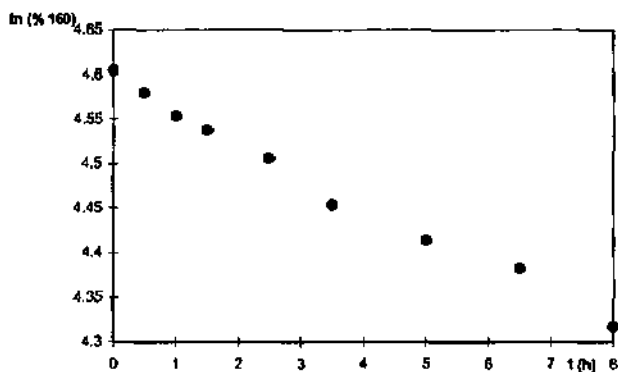


Figure 50 : Profil d'hydrolyse du composé 160 à pH 7.5-8, 40°C ($k = 0.035 \text{ h}^{-1}$).

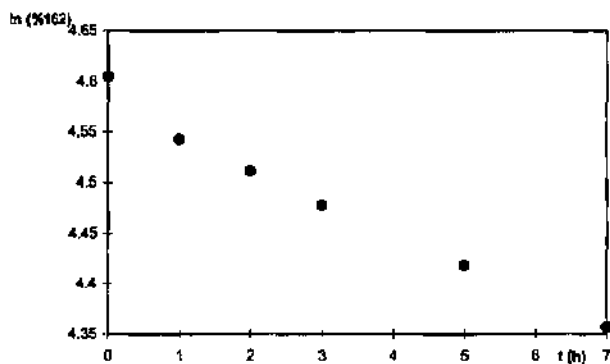


Figure 51 : Profil d'hydrolyse du composé 162 à pH 8, 40°C ($k = 0.031 \text{ h}^{-1}$).

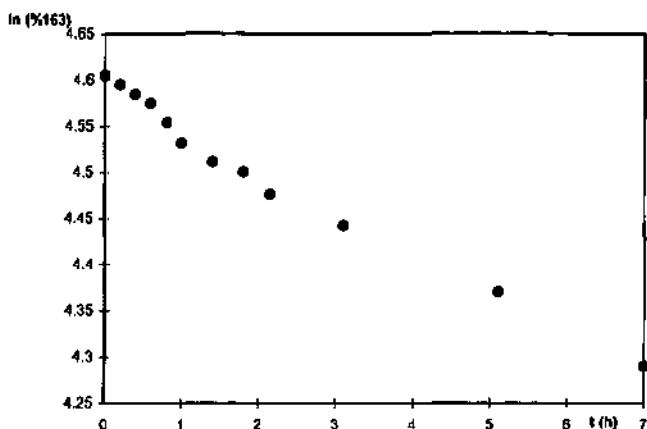


Figure 52 : Profil d'hydrolyse du composés 163 à pH 7, 40°C ($k = 0.0045 \text{ h}^{-1}$).

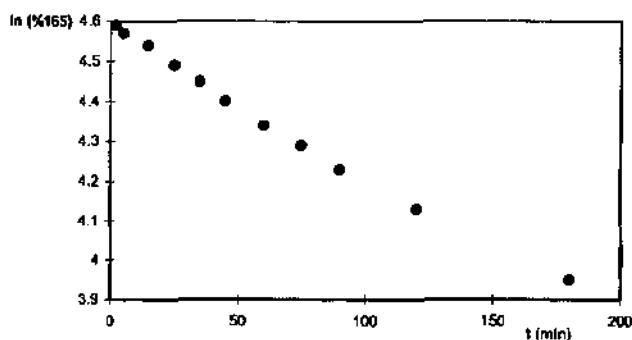


Figure 53 : Profil d'hydrolyse du composé 165 à pH 7.5, 25°C ($k = 0.22 \text{ h}^{-1}$).

Le deuxième problème de notre approche initiale réside dans le fait qu'elle est strictement structurale. C'est à dire qu'elle vise uniquement à générer des analogues "isostructuraux", mais ne tient pas compte de la réactivité requise pour interagir avec l'enzyme. Nous verrons par la suite l'importance de la capacité à former la base de Schiff avec la lysine K_{247} ; capacité que les dérivés acyloximes ou acylhydrazone n'ont a priori pas puisque leur fonction carbonyle est désactivée par la présence d'un hétéroatome. Rappelons que Leeper *et al.* [96] ont mis en évidence une attaque par la lysine seulement sur le thioester et à de fortes concentrations.

Reprenant notre stratégie du début, nous avons pris l'option d'une simplification extrême. Dépouillant le squelette des intermédiaires clés des mécanismes Jordan I et Jordan II, nous sommes arrivés à des analogues diacides avec un squelette hydrocarboné linéaire à dix et sept carbones respectivement : l'acide pimélique 253 et l'acide sébacique 254 (Figure 54)

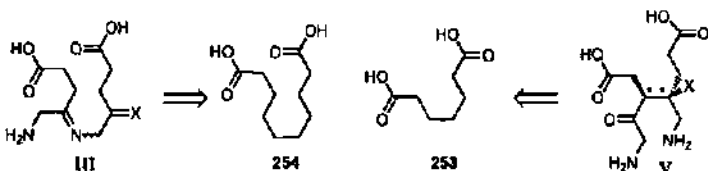


Figure 54 : Acides sébacique et pimélique comme squelette des intermédiaires clés Jordan I et Jordan II.

Nous pouvons d'emblée constater que l'acide sébacique (254) n'imité, grossièrement, pas seulement l'intermédiaire III mais les quatre intermédiaires clés I-IV du mécanisme Jordan I. Les deux structures sont néanmoins des inhibiteurs compétitifs faibles d'affinité comparable à l'acide pimélique (253) ($K_i = 12'400 \mu\text{M}$, C) et l'acide sébacique (254) ($K_i = 8'700 \mu\text{M}$, C). Le manque de sélectivité entre ces deux structures est symptomatique d'une sursimplification de nos structures analogues. Cependant, les valeurs d'inhibition mesurées sont une base qui établit le comportement d'une structure intégrant deux fonctions carboxylates avec un espaceur four permettant, sans nul doute, d'interagir dans les deux sites (site-A et site-P) de reconnaissance des fonctions carboxylates de chacun des deux substrats. Il n'est cependant pas établi qu'ils interagissent dans les deux sites, mais cela semble plausible et nous pouvons alors considérer ces diacides comme, formellement, des analogues de produit.

Il nous semble intéressant de revenir sur la série des diacides testés par Henz [99]. L'acide succinique (255) ($K_i = 12'500 \mu\text{M}$, C), l'acide fumarique (256) ($K_i = 10'700 \mu\text{M}$, C), l'acide maléique (257) ($K_i = 11'500 \mu\text{M}$, C) et l'acide phthalique (258) ($K_i = 12'500 \mu\text{M}$, C) présentent tous un comportement compétitif avec un pouvoir d'inhibition similaire. Ces inhibiteurs ont été décrits par Neier *et al.* [75] comme des analogues de substrat. Nous adressons ici la question de savoir si ces inhibiteurs sont réellement des analogues de substrat ou s'ils sont des analogues de produit. Leur comportement cinétique compétitif est compatible avec une contribution significative d'un seul type. Si nous comparons les valeurs de constante d'inhibition à celles observées pour des diacides à plus longue chaîne, elles sont similaires. Les arguments sont équivoques pour expliquer le comportement similaire de l'acide fumarique et de l'acide maléique. L'acide fumarique possède une géométrie rigide analogue à celle de l'acide 4-oxopenténoïque qui n'est pas un inhibiteur de la PBGS. Ceci devrait être en défaveur d'un comportement de type analogue de substrat pour l'acide fumarique alors que l'acide maléique pourrait avoir la bonne géométrie. D'un autre côté, les deux sites de reconnaissance des fonctions carboxylates sont relativement éloignés et, même si une certaine flexibilité dans le mode de reconnaissance par ponts-H a été démontrée pour le site-P [51], il peut paraître inconcevable que l'enzyme puisse s'accommoder de deux géométries rigides relativement différentes. Nous proposons donc de tester les monométhylesters respectifs qui, dans le cas d'un analogue de substrat, pourrait présenter une influence moindre que dans le cas d'un analogue de produit (Figure 55). Nous proposons de corréler cette expérience avec celle relative aux analogues de substrat nitro présentée plus loin (voir chapitre 1.4.2.6). Nous devons finalement prendre en considération le fait qu'une inhibition mettant en jeu l'interaction d'une fonction carboxylate dans le site de reconnaissance du site-A ou du site-P et une deuxième interaction atypique, et du substrat et du produit, ne peut pas être écartée. Une proposition purement hypothétique pourrait être dans le site-P une interaction du second carboxylate avec un des deux groupes amino des lysines K_{195} et K_{247} .

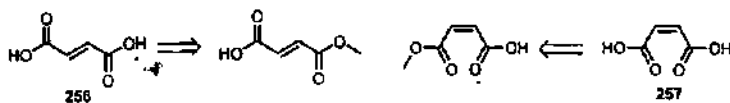


Figure 55 : Les monométhylesters des acides fumarique et maléique.

1.4.1.3 La série des γ -oxodiacides.

Suite aux résultats obtenus à partir des acides pimélique (253) et sébacique (254), nous avons décidé d'introduire un élément structural supplémentaire : un groupe carbonyle. Nous l'avons dans un premier temps introduit sous forme d'une fonction amide. Cette fonction est supposée introduire une troisième interaction de groupe fonctionnel avec l'enzyme. Nous avons synthétisé, dans un premier temps, un analogue d'intermédiaires de type Jordan I : l'acide 5-(3-carboxypropionylamino)pentanoïque (167) ($K_i = 22'600 \mu\text{M}$, C) qui est un relativement faible inhibiteur de la PBGS; le plus faible diacide qui ait été testé dans notre groupe. Cela peut éventuellement être imputé à une restriction de la flexibilité introduite par la fonction amide qui, préférant une conformation *s-trans*, favorise une forme linéaire. Cette constante d'inhibition relativement élevée est néanmoins plus faible que celle de l'amide analogue de substrat : l'acide *N*-méthylsuccinamique (151) ($K_i = 36'000 \mu\text{M}$, C). Suite à ce résultat, nous avons introduit ce carbonyle supplémentaire sous forme de cétone. Celle-ci, lorsque placée dans le site-P, est impliquée dans la formation de la base de Schiff avec la lysine K₂₄₇. Nous proposons donc les structures analogues 4-oxopimélique (259) et 4-oxosébacique (166) (Figure 56).

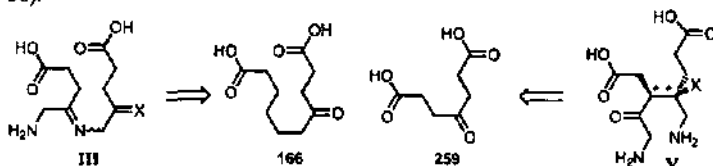


Figure 56 : Les acides 4-oxosébacique et 4-oxopimélique comme analogues d'intermédiaires clé des mécanismes Jordan I et II.

L'introduction d'une cétone en position 4 de l'acide pimélique (253) ne semble pas, à première vue, apporter à l'analogue une contribution à l'identité structurale à l'intermédiaire. Cependant, si nous considérons l'attaque de la cétone par la lysine, nous formons un hémiaminal qui possède une meilleure analogie de structure avec l'intermédiaire V. L'introduction d'une cétone nous semble être la meilleure alternative conduisant à un comportement réversible.

L'acide 4-oxopimélique (259) ($K_i = 8'600 \mu\text{M}$, C) avait déjà été testé comme analogue de l'intermédiaire de Shemin, possédant une structure identique à l'intermédiaire V, mais qui diffère de celui-ci par le site de fixation à l'enzyme. L'acide 4-oxosébacique (166) (I) présente une inhibition quasi-irréversible. Le changement total de type d'inhibition et d'affinité dû à l'introduction de la cétone en position 4 de l'acide sébacique (254) contraste avec le faible impact de l'introduction du groupe cétone sur l'acide pimélique (253) ($12'400 \mu\text{M} \rightarrow 8'600 \mu\text{M}$). Cette observation est un argument en faveur du mécanisme Jordan I.

Nous avons synthétisé l'analogue 5-fluoro-4-oxosébacique (174) pour tenter d'identifier sur l'enzyme même, grâce à la sonde ^{19}F -RMN, l'interaction d'une structure analogue à 166 avec la lysine K_{247} , si elle a réellement lieu. Nous pouvons observer dans le cas du diméthylester un déplacement significatif du signal du fluor lorsque l'oxime se forme ($\delta +7.8 / -4.1$ ppm) par rapport à la cétone.

Comme les analogues d'intermédiaires 166 et 259 imitent grossièrement les intermédiaires III et V, respectivement, nous avons proposé de tester toute la série des γ -oxodiacides linéaires jusqu'à une longueur de chaîne égale à douze carbons : acides 2-oxoglutarique 260 ($K_i = 8'450 \mu\text{M}$, C), 3-oxoadipique 261 ($K_i = 10'400 \mu\text{M}$, C), 4-oxopimélique 259 ($K_i = 8'600 \mu\text{M}$, C), 4-oxosébacique (176) ($K_i = 68 \mu\text{M}$, U), 4-oxoazélique (177) ($K_i = 403 \mu\text{M}$, U), 4-oxosébacique (166) (I), 4-oxoundécandioïque (180) (SB) et 4-oxodécandioïque (182) (SB). Ainsi pouvons-nous interpréter le résultat important du comportement irréversible de l'analogue d'intermédiaires 166 par rapport à l'évolution dans la série et non pas comme un résultat ponctuel.

Les dérivés à courte chaîne 260, 261 et 259 sont des inhibiteurs compétitifs avec des constantes d'inhibition identiques à celles observées pour les diacides à plus courte chaîne. Cependant, sans exclure un autre type d'interaction, nous pouvons raisonnablement postuler un comportement d'analogue de substrat pour de telles structures (Figure 57).

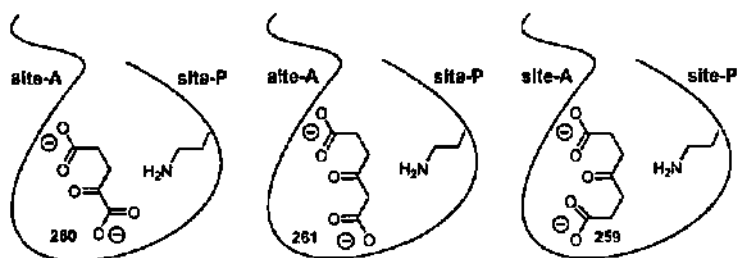


Figure 57 : Les acides 2-oxoglutarique, 3-oxoadipique et 4-oxopimélique comme analogues de substrat.

Les diacides 176 et 177 sont des inhibiteurs incompétitifs. Comme il a été discuté dans le chapitre traitant de la cinétique (voir chapitre 1.1.1.3.2), un tel comportement peut être interprété par la dualité des types d'interaction dans le site actif. Nous proposons donc, d'une part, un comportement comme analogue de substrat interagissant dans le site-A et, d'autre part, comme bisubstrat. La position relative des deux fonctions carboxylates ne semble pas être, pour ces longueurs de chaîne, idéale; ou, en d'autres mots, le *linker* n'est pas approprié, ce qui a pour effet de diminuer l'affinité de l'analogue bisubstrat (Figure 58).

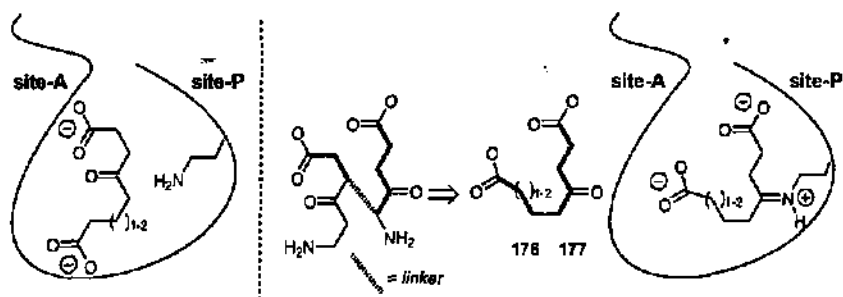


Figure 58 : Acides 4-oxosubérique et 4-oxoazélique comme analogues de substrat et analogues de bisubstrats.

L'acide 4-oxosébacique (166) présente une géométrie optimale dans la série des γ -oxydiacides linéaires. Il est si bien reconnu par le site actif que, même sous des conditions de dialyse pendant 70 heures, aucune activité significative (<10%) n'est rétablie pour la PBGS traitée par cet inhibiteur. Comme nous l'avons mentionné, l'acide 4-oxosébacique (166) est un analogue des intermédiaires clés postulés dans le mécanisme Jordan I. Cependant, il est également un analogue de bisubstrat (Figure 59).

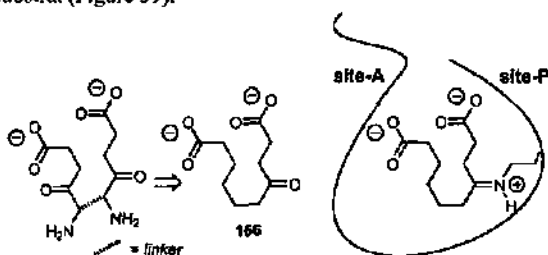


Figure 59 : Acide 4-oxosébacique comme un analogue d'intermédiaires mais également un analogue de bisubstrats.

Finalement, les dérivés à longue chaîne sont des inhibiteurs slow-binder. Ils démontrent une forte affinité pour le site actif, dépendant du temps. L'activité de l'enzyme traitée avec de tels inhibiteurs peut être, au moins partiellement, récupérée sous des conditions de dialyse. Les structures 180 et 182 démontrent donc un comportement compatible avec celui de l'acide 4-oxosébacique (166) puisqu'elles présentent la même disponibilité des groupes fonctionnels mais doivent, par contre, accommoder un squelette ou, respectivement, un linker trop long, ce qui handicape leur efficacité d'interaction dans le site actif.

En conclusion, nous pouvons définir le motif 4-oxosébacate comme la structure minimale analogue aux quatre intermédiaires clés postulés dans le mécanisme Jordan I. Le comportement d'inhibition remarquable de l'acide 4-oxosébacique (166) comparé à celui de l'acide 4-oxopimélique (259) est en faveur d'un mécanisme de type Jordan I et s'inscrit dans une progression logique, en fonction de la longueur de la chaîne carbonée, que nous avons interprétée.

1.4.1.4 Inhibition par des analogues d'intermédiaires ou par des analogues de bisubstrats ?

Parce que l'interprétation des résultats du chapitre précédent n'est pas univoque, nous devons pousser plus avant notre étude. Nous voulons développer, d'une part, des analogues d'intermédiaires plus élaborés ("décorés") et, d'autre part, des analogues de bisubstrat s'éloignant d'avantage des structures d'intermédiaires.

L'acide 4,7-dioxosébacique (214) (I) illustre parfaitement le problème de la dualité analogue d'intermédiaires - analogue de bisubstrats. En introduisant, dans le site-A, une seconde fonction céto dans le but de tenir compte de la capacité d'accepteur de pont-H de l'oxygène des intermédiaires I et II, ainsi que de rendre compte de l'hybridation sp^2 du carbone de la position 4 du substrat site-A dans les intermédiaires III et IV, nous augmentons également la ressemblance avec un bisubstrat (Figure 60).

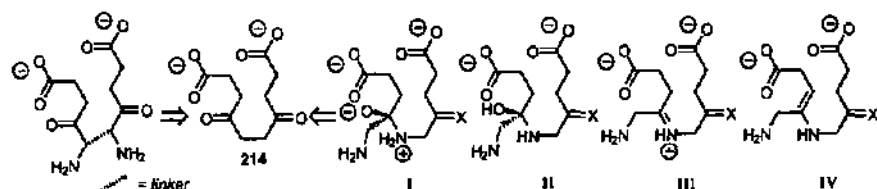


Figure 60 : L'acide 4,7-dioxosébacique comme analogue des intermédiaires clés de type Jordan I et comme analogue de bisubstrat.

L'acide 4,7-dioxosébacique (214) est sans surprise un inhibiteur quasi-irréversible avec une affinité pour le site actif accrue par rapport à l'acide 4-oxosébacique (166). Nous avons introduit ce carbonyle dans la partie site-A de l'analogue d'intermédiaires sous forme d'un amide en synthétisant l'acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique (210) (I). Cette structure, sous ses formes mésomères *s-cis* est une sorte d'hybride entre les structures des intermédiaires I et III (Figure 61). Par rapport à la structure 214, elle introduit une conjugaison π avec le carbone de la position 4 ainsi qu'une charge partielle positive sur l'azote et négative sur l'oxygène. Par rapport à 214, l'introduction d'un amide doit certainement diminuer le caractère d'analogue de bisubstrats de 210 puisque la fonction amide est moins bien reconnue (un ordre de grandeur sur le K_i) que la cétone pour les analogues de substrat dans le site-A.

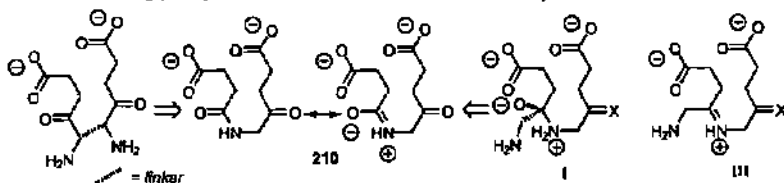


Figure 61 : Acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique comme analogue hybride d'intermédiaire de type Jordan I.

L'acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique (**210**) inactive plus efficacement la PBGS que l'acide 4-oxosébacique (**166**), mais moins efficacement que l'acide 4,7-dioxosébacique (**214**). L'inactivation est maintenue complètement après dialyse. Il faut noter que notre représentation de **210** dans le site actif rend compte de la conformation *s-cis* qui est la conformation minoritaire. La différence d'énergie entre les deux structures est de l'ordre de 2 à 3 kcal·M⁻¹ (calculée par MM2 *force field*, CS Chem3D Pro). La conformation minoritaire n'est pas identifiée par spectroscopie ¹H-RMN et nous postulons que les deux formes sont en interconversion dans les conditions de test (tampon phosphate pH 8, 37°C). L'acide 4-(*N*-(3-carboxypropionyl)-hydrazino)-4-oxobutyrique (**213**) (K_i = 8'300 μM, C), l'analogue aza de **210** est seulement un inhibiteur compétitif car il n'est pas en mesure de former un lien covalent avec la lysine K₂₄₇ de l'enzyme.

Nous avons synthétisé un analogue d'intermédiaire de type amide, mais plaçant l'azote en position 3 du substrat site-A : l'acide *N*-(6-méthoxycarbonyl-4-oxohexanoyl)aminoacétique (**249**). Cette structure imite l'intermédiaire IV (Figure 62). Ceci représente en soit un risque pour obtenir une reconnaissance comme analogue d'intermédiaire. En effet, pour arriver à cet intermédiaire, l'enzyme a dû catalyser la formation d'une, ou deux, bases de Schiff et procéder à la déprotonation qui semble être le ou un des facteurs limitant de la vitesse de réaction. Nous pouvons imaginer que l'enzyme est, à ce niveau du mécanisme, sous une forme assez différente de l'état initial et que l'enzyme, dans l'état initial, reconnaît un tel analogue d'intermédiaire plutôt comme un bissubstrat. Nous avons introduit un méthylester dans la partie site-P pour augmenter la sensibilité du test vis-à-vis de la modification introduite. Le méthylester est reconnu dans le site-P, mais avec une intensité d'interaction moindre (voir chapitre 1.4.3)

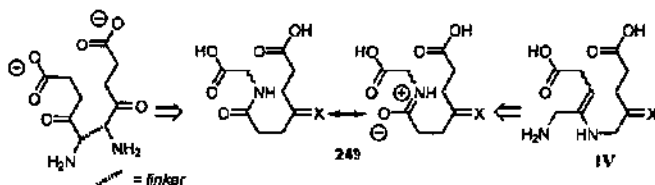


Figure 62 : Analogie d'un intermédiaire clé tardif dans le mécanisme Jordan I.

Nous proposons de privilégier une étude sur un intermédiaire précoce du mécanisme, soit les intermédiaires I et II. Nous voyons deux avantages à procéder de la sorte. Le premier avantage est que l'intermédiaire I est, pour ainsi dire, représentatif de l'état de transition de la réaction intervenant directement après la formation, dans le site-A, du deuxième complexe de Michaelis-Menten. Cela signifie aussi que nous pouvons envisager une affinité accrue pour nos structures, compte tenu que nous jouons sur la reconnaissance liée à un état de transition (pour autant que l'attaque de l'azote du premier substrat sur la cétone du second soit catalysée par l'enzyme). Le second avantage est que ces intermédiaires sont plus fonctionnalisés que les autres et permettent donc d'envisager une approche synthétique d'introduction et de suppression de ces groupes fonctionnels. Nous pouvons ainsi imaginer, comme perspective d'avenir pour les prochains travaux relatifs à ce problème, d'établir un profil de l'évolution du comportement d'inhibiteur en fonction de la présence ou de l'absence d'un groupe (Figure 63).

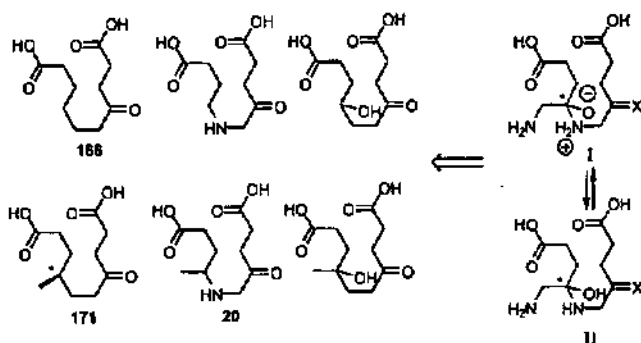


Figure 63 : Série d'inhibiteurs potentiels analogues des intermédiaires I et II du mécanisme Jordan I.

Nous avons synthétisé, pour notre part, les analogues 166 et 171 dans cette série; Leeper *et al.* [96] ont synthétisé l'analogue 20. Les autres structures ne sont pas, à notre connaissance, décrites dans la littérature. Il est préoccupant de constater que si la structure 166 est extrêmement bien reconnue, la structure 171 ne démontre pas un comportement dépendant du temps et semble (résultat à confirmer) relativement mal reconnue par l'enzyme de *E. coli*, alors que la structure 20 est également décrite comme un relativement faible inhibiteur sur PBGS bovine ($K_i = \sim 5000 \mu\text{M}$ comparé à l'acide lévulinique $K_i = 220 \mu\text{M}$) et non inhibiteur sur PBGS de *B. subtilis*. Une interprétation intermédiaire dans cette série semble être en défaveur d'une bonne reconnaissance pour les analogues d'intermédiaire I et II du mécanisme Jordan I. Si cette tendance se confirme, alors l'inhibiteur 166 serait un analogue de bissubstrat et non un analogue des intermédiaires I et II du mécanisme Jordan I. Notre conclusion provisoire d'une préférence pour un mécanisme de type Jordan I, découle du comportement de 166, serait par conséquent sérieusement remise en question.

Si nous tronquons la structure de l'acide 214, en supprimant la partie carboxylate supposée interagir dans le site-A, nous obtenons l'acide 4,7-dioxooctanoïque (216) (1) qui est un inhibiteur irréversible. Ce résultat suggère qu'une inhibition de type quasi-irréversible peut être obtenue avec interaction d'un motif lévulinique dans le site-P, impliquant la formation de la base de Schiff avec la lysine K_{247} , ainsi qu'un point de reconnaissance dans le site-A (Figure 64). L'acide 4,7-dioxosébacique (214) est un inhibiteur plus efficace que l'acide 4-oxosébacique (166). Nous constatons pour des mêmes concentrations en inhibiteur une désactivation plus importante après 30 min de préincubation pour le diacide 214 que pour le diacide 166. De plus, avec une moindre concentration d'acide 4,7-dioxosébacique (214) (4.24 mM) que d'acide 4-oxosébacique (166) (6.7 mM), aucune activité est récupérée après trois jours de dialyse alors que 6% d'activité est récupérée après dialyse de 166.

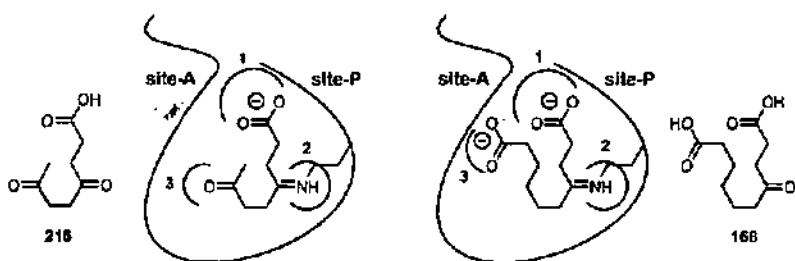


Figure 64 : Trois points de reconnaissance requis pour les inhibiteurs quasi-irréversibles.

Si nous parvenons à obtenir une troisième interaction et donc un comportement quasi-irréversible avec des structures du type acide lévulinique substitué en position 3, et contenant soit un acide soit une cétone supplémentaire, alors cela démontrerait la non-nécessité d'avoir un squelette de type intermédiaires Jordan I pour obtenir une forte reconnaissance dans le site actif. Notre argument en faveur du mécanisme Jordan I serait remis en cause par l'obtention d'un inhibiteur irréversible de ce type mais l'absence de comportement inhibiteur irréversible ne prouve pas cet argument. Nous synthétisons des composés racémiques, mais compte tenu que nous recherchons un comportement inhibiteur irréversible, une telle action par un seul énantiomère du mélange racémique ne sera pas gênée par la présence de l'autre et ne sera que deux fois moindre.

Nous avons donc entrepris la synthèse des dérivés de l'acide lévulinique substitué en position 3 que sont l'acide 3-acétyl-5-oxohexanoïque (219) et l'acide 3-acétyl-6-oxoheptanoïque (220); la première structure de cette série, l'acide 3-acétyllévulinique (262) ($K_i = 8'880 \mu\text{M}$, CM), a été synthétisée par Henz [99]. Le comportement compétitif de ce dernier est la seule donnée disponible à ce jour dans cette série.

Nous avons également entrepris la synthèse de la série des acides lévuliniques substitués en position 3 par une fonction carboxylate et, entre deux, un espaceur variant de un à quatre méthylènes : acides 3-acétylglutarique (193) ($K_i = 1'770 \mu\text{M}$, U), 3-acétyladipique (195) ($K_i = 1'300 \mu\text{M}$, U), 3-acétylpimélique (196) ($K_i = 470 \mu\text{M}$, U), 3-acétylsubérique (197) ($K_i = 6'300 \mu\text{M}$, C). Dans cette série, aucun des inhibiteurs ne montre une inhibition irréversible ou *slow-binder*, ce qui semble indiquer que ces structures ne sont pas de bons analogues de bissubstrats (problème stérique dû à la substitution sur la position 3 du substrat site-P ou mauvaise orientation du substituant?) (Figure 65).

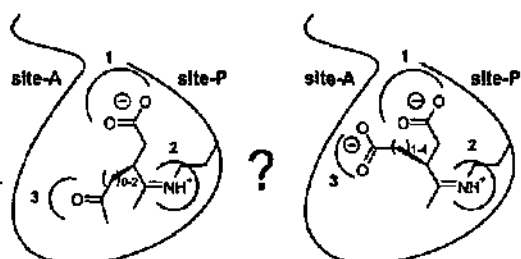


Figure 65 : Structures dérivées de l'acide lévulinique substitué en position 3 contenant trois groupes fonctionnels.

Nous pouvons finalement considérer la série des céto-diacydes 195-197 du point de vue du mécanisme selon Shemin. L'analogue 196 constitue la structure minimale pouvant imiter l'intermédiaire clé du mécanisme Shemin (Figure 66). L'inhibition incompétitive relativement bonne de cet inhibiteur n'est cependant pas en mesure, en comparaison de l'acide 4-oxosébacique (166), de remettre en cause les conclusions tirées des expériences de *pulse labeling* [45,46].

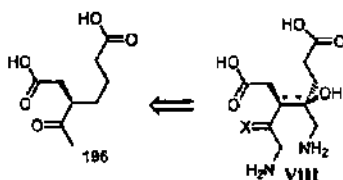


Figure 66 : Structure minimale analogue de l'intermédiaire clé du type Shemin.

Nous avons tenté de synthétiser des analogues ressemblant davantage aux intermédiaires. Imaginons la synthèse d'un analogue de bissubstrat ayant un potentiel inhibiteur accru par rapport à l'acide 4,7-dioxosébacique (214). Nous avons conservé, dans le site-A, la partie lévulinatate et nous avons introduit dans le site-P un motif succinylacétone qui est un motif se stabilisant avec la lysine K₂₄₇. Nous avons donc synthétisé l'acide 5-acétyl-4,7-dioxosébacique (225). Pour ce type de structure, la forme dicéto du système 1,3-dicéto est préférée (voir Tableau 2), ce qui pourrait diminuer l'efficacité d'inactivation de la structure. Les tests effectués ont montré que cette structure est bien un inhibiteur quasi-irréversible (Figure 67).

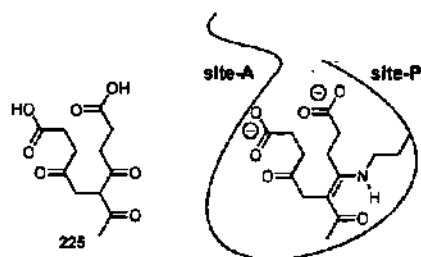


Figure 67 : Interaction de l'acide 5-acétyl-4,7-dioxosébacique dans le site actif.

1.4.2 Les analogues de substrat.

1.4.2.1 Les analogues de substrat fluorés.

L'introduction d'un substituant fluoro, voire deux, en position 3 de l'acide 5-amino- δ -aminolévulinique est d'un grand intérêt dans l'optique de l'étude de la séquence de formation des liaisons dans le mécanisme de la porphobilinogène synthase. Comme nous l'avons déjà mentionnée, l'introduction d'un tel substituant aura pour conséquence d'interrompre la voie biosynthétique à des étapes intermédiaires donnant lieu à des structures intermédiaires bloquées. Certaines d'entre elles sont caractéristiques de la voie biosynthétique empruntée (Figure 68).

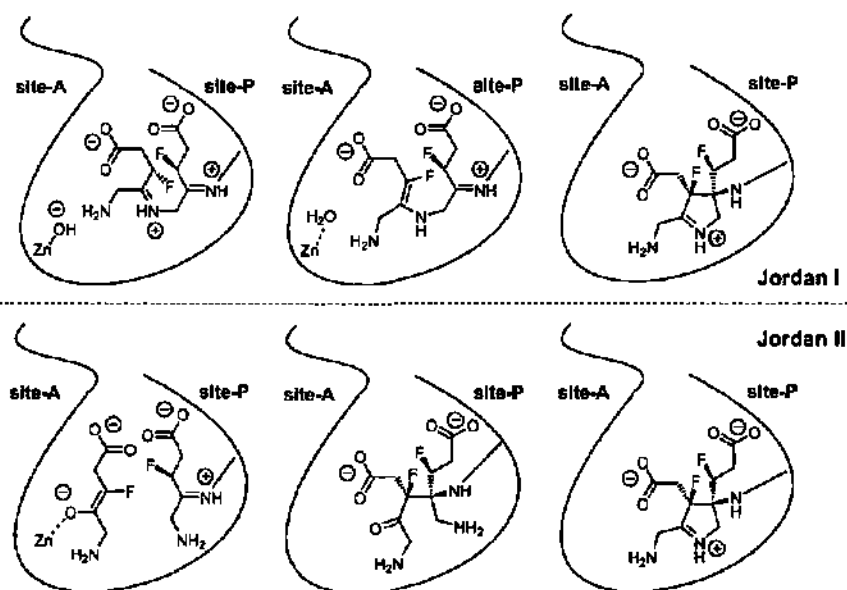


Figure 68 : Intermédiaires bloqués potentiels obtenus par métabolisation de l'acide (*R* ou *S*)-5-amino-3-fluoro- δ -aminolévulinique par la PBGS.

La métabolisation de l'acide 5-amino-3,3-difluorolévulinique (263) n'est possible que dans le cas du mécanisme Jordan I et seul le premier intermédiaire bloqué peut se former (manquent deux substituants fluoro sur le dessin). Pour le mécanisme Jordan II, l'acide 5-amino-3-fluorolévulinique peut, selon l'énantiomère, être énolisé ou non dans le site-A ou, éventuellement, l'énolate peut s'avérer être généré avec la mauvaise géométrie de la double liaison (voir effet *cis* chapitre 1.1.2.2). Le deuxième intermédiaire semble pouvoir réagir selon le mécanisme de la biosynthèse d'autant plus qu'un hypothétique positionnement *trans* du substituant fluoro par rapport à l'attaque du carbonyle activerait même la cyclisation (voir effet Anh-Eisenstein chapitre 1.1.2.2). Par contre, les réactions d'élimination et de déprotonation qui engendrent le cycle pyrrolique devraient, au stade du troisième intermédiaire, être bloquées par la présence du fluor. Ceci serait le cas, aussi bien dans le mécanisme Jordan II, que dans le mécanisme Jordan I. Cet intermédiaire final est obtenu, dans le mécanisme Jordan I, si l'énamine est générée dans le site-A avec une géométrie compatible avec le mécanisme et que la réaction de type aldol puisse avoir lieu. Si la déprotonation en position 3 du substrat site-A n'a pas lieu, ce qui devrait être le cas pour un des deux énantiomères, alors la réaction se bloque au niveau du premier intermédiaire.

Toutes ces considérations sont vraies seulement si l'acide (*R* ou *S*)-5-amino-3-fluorolévulinique (84) est métabolisé. Lepper et Rock ont synthétisé l'acide 5-amino-2-fluorolévulinique (19) dans l'optique de générer une inactivation de la PBGS basée sur le détournement de son mécanisme (formation de l'énol, élimination du fluorure avec formation d'un accepteur de Michael et éventuellement attaque d'un nucléophile appartenant à l'enzyme) [97]. Ils ont constaté que le PBG fluoré en position α du carboxylate du substituant propionique était un puissant inhibiteur compétitif de la porphobilinogène déaminase [220]. Cependant, l'acide 5-amino-2-fluorolévulinique est un bon inhibiteur de la PBGS de *Bacillus subtilis*, mais ne semble ni provoquer une inhibition irréversible, ni être métabolisé en PBG fluoré par l'action de la PBGS [96]. Il faut remarquer que l'inhibiteur est décrit comme instable dans les conditions de test (pH 9) et que si l'inactivation de la PBGS n'a pas lieu, cela peut être dû, soit à la non génération, au niveau du site actif, de l'accepteur de Michael, soit à l'absence de nucléophile adéquatement placé ou, finalement, au fait que l'élimination donne lieu à une double liaison *trans* qui est, dans le cas de l'analogue déamino, très mal reconnue dans le site actif puisque l'acide 4-oxopenténoïque n'est pas un inhibiteur. Ayant trait au même type de réactivité que celle escomptée pour l'acide 5-amino-2-fluorolévulinique, nous devons envisager la possibilité que le troisième intermédiaire bloqué subisse une élimination 1,4 du fluorure à travers l'iminium suite à la déprotonation de la position 5 du substrat site-P. Cette déprotonation est programmée dans la voie biosynthétique normale. L'intermédiaire formé resterait bloqué, mais nous n'aurions plus notre sonde fluor pour l'identifier.

Il est impossible de prévoir la réactivité de l'acide 5-amino-3-fluorolévulinique avec la PBGS qui est, comme nous le discuterons plus tard, très spécifique pour l'acide 5-aminolévulinique. De plus, les effets électroniques et stéréoélectroniques liés à l'introduction d'un ou deux substituants fluoro sont également extrêmement difficiles à prévoir et en particulier en l'absence de connaissances sur la configuration relative et absolue et sur les conformations des intermédiaires qui se forment. Cependant, nous avons déterminé par ¹H-RMN que l'analogue acide 3-fluorolévulinique est relativement bien stable dans un tampon phosphate à pH ~8. Cette molécule, en solution dans le chloroforme deutéré, montre un comportement semblable à l'acide lévulinique (pas de forme cyclique hémiacétal-ester). Une alternative que nous avons exploitée pour l'obtention de l'analogue avec deux substituants fluoro sur la position 3 est

d'introduire deux substituants fluoro supplémentaires sur la position 2, rendant la molécule stable vis-à-vis de l'élimination.

L'introduction d'un fluor en position 5 de l'acide 5-aminolévulinique est théoriquement intéressante, car elle permet de mettre en évidence les processus qui sont liés à la déprotonation de la position 2 du PBG (sélectivité) et, également, de sonder le caractère amine, iminium ou imine de l'azote adjacent. Cette introduction est délicate du point de vue synthétique à cause de l'instabilité du produit. Celui-ci élimine facilement HF grâce à la participation du doublet de l'azote. Des composés α -fluoro- α -aminocarbonyle ont été obtenus par réduction de composés α -fluoro- α -nitrocarbonyle : fluoroglycine éthylester [221]. La protonation du groupe amino doit défavoriser l'élimination de HF. Partant du 5-azido-5-fluorolévulinate de benzyle (74) qui est relativement bien stable, nous avons utilisé des conditions d'hydrogénéolyse THF contenant ~ 2 éq. de HCl pendant 26 h qui ne sont pas assez douces pour préserver le produit désiré qui est, cependant, certainement formé. L'élimination de HF est suivie d'une réduction de l'imine formée pour donner l'amine correspondante. Une étude de conditions alternatives plus douces peut être envisagée, en particulier si le groupe protecteur de l'ester est changé, mais la stabilité de l'acide 5-amino-5-fluorolévulinique (264) est en soi problématique et, en particulier, dans les conditions de test.

Quant au réarrangement de Neber, il ne semble pas permettre l'obtention de la fluoroazirine, et est certainement une voie synthétique sans issue. Cependant, nous avons établi, au cours de cette tentative, le déplacement chimique de la forme E et Z de l'oxime du 5-fluorolévulinate de méthyle (75). La forme majoritaire E (55%) présente un déplacement de 12.93 ppm par rapport à l'acide trifluoroacétique alors que la forme minoritaire (Z) présente un déplacement de - 3.30 ppm; le 5-fluorolévulinate de méthyle a un déplacement de 6.71 ppm très proche de celui de l'acide : 6.60. L'attribution de la forme E et Z est basée sur une analogie du déplacement du carbone portant le fluor avec l'oxime de la fluoroacétone [222] se basant elle-même sur la détermination des déplacements des carbones des méthyles de l'oxime de l'acétone [223]. La confirmation de la détermination de la géométrie (E) du premier complexe enzyme-substrat [49] ne semble plus être nécessaire depuis la parution des structures aux rayons-X de ce complexe [50-52].

Nous avons obtenu la série des analogues de l'acide lévulinique fluoré en position 5. L'acide 5-fluorolévulinique (14) ($K_i = 85 \mu\text{M}$, C), l'acide 5,5-difluorolévulinique (57) et l'acide 5,5,5-trifluorolévulinique (65) (SB). Les résultats d'inhibition montrent une évolution du comportement en fonction du nombre de substituants fluoro présents. Le monofluoro 14 est un inhibiteur compétitif alors que le trifluoro 65 est un inhibiteur *slow-binder*. Nous n'avons pas les données d'inhibitions du difluoro 57, mais nous attendons un comportement intermédiaire, soit compétitif (plus proche du monofluoro), soit incompétitif (intermédiaire), soit *slow-binder* (plus proche du trifluoro). Du point de vue de la réactivité, l'introduction d'un et de plusieurs substituants fluoro a pour conséquence d'activer le carbonyle de la fonction cété (inductif et effet Anh et Eisenstein). Il est particulièrement bien mis en évidence, dans le spectre $^1\text{H-RMN}$ du difluoro 57 dans le chloroforme deutéré, que la forme hémiacétalester est largement favorisée (85%). Le produit est présent exclusivement sous forme ouverte dans un tampon phosphate et probablement sous forme d'hydrate. Le même type de comportement est observé pour l'acide trifluorolévulinique (65). La présence d'une forme cyclique en équilibre avec l'acide monofluorolévulinique (14) n'est pas mise en évidence par $^1\text{H-RMN}$ dans le chloroforme deutéré. Nous avons testé la *N*-trifluoroacétylglycine (69) ($K_i = 18'800 \mu\text{M}$, C) pour déterminer l'influence du trifluorométhyle dans un cas où l'électrophilie du carbonyle est

désactivée. Il est très intéressant de constater que le comportement de cette dernière est identique à celui de la *N*-acétylglycine (137) ($K_i = 18'700 \mu\text{M}$, C). Ceci entraîne l'interprétation qu'un groupe trifluorométhyle en position 5 du substrat site-A n'a pas une influence différente de celle d'un méthyle du point de vue de la reconnaissance. Sachant que le groupe fluoro est sensiblement stériquement plus encombrant, nous pouvons éventuellement imaginer une compensation de l'encombrement par une interaction favorable d'un (ou plusieurs) groupe(s) fluoro avec l'enzyme. Le dérivé 3-éthoxycarbonyl de l'acide 5,5,5-trifluoroacétique (68) (SB) présente le même comportement slow-binder que 65. Ce résultat doit être mis en perspective avec l'analogue 3-éthoxycarbonyl de l'acide lévulinique ($K_i = 23'400 \mu\text{M}$, C) qui est un mauvais inhibiteur compétitif. Nous postulons a priori une interaction stabilisée avec la lysine K_{247} dans le site-P sans exclure la possibilité de la stabilisation dans le site-A d'une interaction covalente avec le groupe amino d'un premier substrat fixé dans le site-P. Nous adressons la question du rôle de la fonction carboxylique dans cette stabilisation (forme cyclique hémiaminalester?). Nous proposons donc de tester également le méthylester de 65, qui peut être obtenu très simplement par traitement avec une solution de diazométhane de l'acide trifluoroacétique (65) (Figure 69).

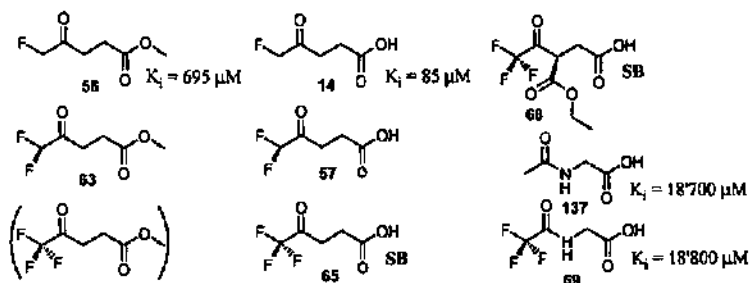


Figure 69 : Dérivés analogues du substrat fluoré sur la position 5.

En fait, une question réellement épineuse est de savoir si les inhibiteurs compétitifs, qui interagissent dans le site-A, sont sous la forme du complexe de Michaelis ou s'ils sont liés sous forme covalente à la fonction amine du premier substrat. Il semble évident que pour des composés dont le carbonyle est un amide, la formation d'une amidine n'est pas triviale malgré l'activation supposée du carbonyle. Mais, pour des inhibiteurs contenant une fonction cétone en position 4, il est tentant de postuler l'attaque de la fonction amine du premier substrat; en particulier si nous supportons un postulat mécanistique de type Jordan 1. Cette différence de comportement dans le site-A est une hypothèse permettant d'expliquer le meilleur comportement général des cétones comme inhibiteurs compétitifs par rapport aux amides et esters (voir 1.4.2.5).

La question soulevée au paragraphe précédent introduit la problématique du pyrrole mixte. Comme il a été évoqué dans le chapitre traitant de la cinétique, le pyrrole mixte avec l'acide lévulinique est, s'il est formé, un produit marginal dû à la faible affinité de l'acide lévulinique par rapport au substrat naturel pour le site-A. L'acide 5-fluorolévulinique (14) nous semble, du point de vue de l'affinité pour le site-A, être un bon candidat à la formation d'un pyrrole mixte. En effet, le K_i de l'acide 5-fluorolévulinique ($85 \mu\text{M}$) est du même ordre de grandeur que la deuxième constante de Michaelis K_{M2} ($50-70 \mu\text{M}$). Le pyrrole mixte devrait être identifié pour

autant que la constante de vitesse k_{cat} de la réaction catalysée par la PBGS soit du même ordre de grandeur pour la réaction entre deux molécules d'acide 5-aminolévulinique et pour celle entre une molécule d'acide 5-fluorolévulinique et une molécule d'acide 5-aminolévulinique. Il est tentant d'imaginer une expérience dans laquelle le premier complexe enzyme-substrat serait réduit, puis l'enzyme traitée avec l'acide 5-fluorolévulinique pour identifier un éventuel iminium ou énamine par ^{19}F -RMN; l'identification de l'intermédiaire sur l'enzyme catalytiquement active semble plus problématique à mettre en oeuvre.

Nous pouvons imaginer pour un dérivé comme le 5-bromo-5-fluorolévulinate de méthyle (58), ou l'acide libre correspondant, un rôle d'inhibiteur irréversible dirigé vers le site actif. Nous avons déjà mentionné l'acide 5-chlorolévulinique (9) comme un inhibiteur compétitif qui, sous certaines conditions, alkylait la PBGS de manière plus ou moins sélective. Une fonctionnalité α -bromo- α -fluorocarbonyle pourrait très bien remplir un tel rôle d'agent alkylant avec une réactivité suffisamment atténuée par rapport à un α -bromocarbonyle et permettant d'introduire un marqueur ^{19}F -RMN à l'endroit exact de l'alkylation, pour autant que le produit formé soit suffisamment stable (voir alkylation sur un azote); nous avons mis à l'épreuve la stabilité du composé 58 dans nos conditions de test et il est stable.

Finalement, le 5-fluorolévulinate de méthyle (56) ($K_i = 695 \mu M$, C) est un inhibiteur compétitif moyen. Si nous comparons le gain relatif obtenu par l'introduction d'un fluor en position 5 de l'acide lévulinique ($K_i = 2'220 \mu M$, C) et du lévulinate de méthyle (N), 25 fois et respectivement plus de 150 fois, nous constatons une non proportionnalité. Le lévulinate de méthyle n'est pas un inhibiteur de la PBGS. Nous devons prendre en compte que l'acide 3-fluorolévulinique (76) ($K_i = 1'000-4'000 \mu M$, C) est un inhibiteur compétitif comparable à l'acide lévulinique. L'effet inductif d'un substituant fluor en position 3 ou 5 peut être considéré comme d'intensité égale, ce qui n'est pas tout à fait vrai en ce qui concerne les effets stéréoelectroniques ; par exemple, l'effet Anh et Eisenstein (moindre mobilité sur la position 3). Cependant, nous pouvons postuler une interaction favorable, de type pont-H, qui est relativement plus importante pour le rothylester fluoré que pour l'acide fluoré par rapport aux autres interactions favorables de reconnaissance. Cela pourrait s'expliquer par le fait que comme nous avons une reconnaissance sur trois points, l'affaiblissement d'un point de reconnaissance permet un arrangement plus efficace sur les deux autres. L'analogie nitro de 14, le 1-fluoro-4-nitrobutan-2-one (70) n'a pas été testé et est attendu comme étant un très bon inhibiteur compétitif puisque le 4-nitrobutan-2-one (124) ($K_i = 28 \mu M$, C) est un très bon inhibiteur. Cependant, il ne faut pas attendre une très forte diminution du K_i par rapport à ce dernier, car comme dans la série du 5-hydroxylévulinate de méthyle (264) ($K_i = 5'800 \mu M$, C), de l'acide 5-hydroxylévulinique (265) ($K_i = 333 \mu M$, C) et du 1-hydroxy-4-nitrobutan-2-one (266) ($K_i = 17 \mu M$, C), le gain par rapport à l'inhibiteur parent non hydroxylé va en décroissant dans la série méthylester, acide et nitro (>17 fois, 7 fois et 1.5 fois) (Figure 70).

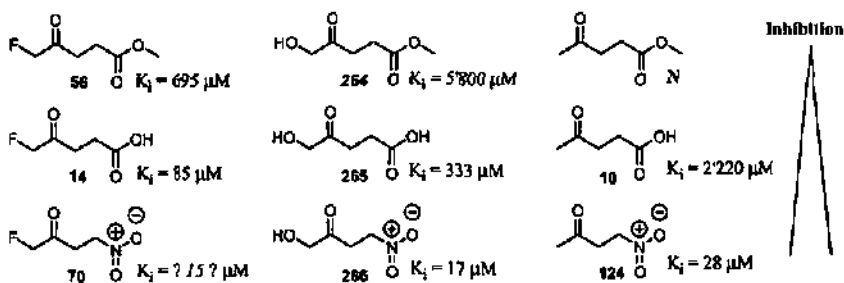


Figure 70 : Influence relative décroissante du substituant de la position 5 en fonction de l'accroissement du potentiel d'inhibition.

1.4.2.2 Forme cyclique du 5-diazolévinolate de méthyle.

Le diazolévinolate de méthyle (62) a déjà été synthétisé [224] mais n'a pas été, à notre connaissance, caractérisé par spectroscopie RMN. Lecer *et al.* ont décrit, pour l'éthylester, un élargissement des signaux du proton vicinal au diazo et de tous les carbones sauf ceux de l'éthyle et du carboxyle. Des dérivés amides rapportés par Padwa *et al.* présentent également un élargissement. Padwa a développé une méthodologie basée sur le δ -azidocarbonyle qui, en présence d'un catalyseur de rhodium, génère des 1,3-dipôles [225].

Nous avons, pour notre part, également observé un élargissement du signal du proton vicinal, et cela, de manière générale, pour le benzylester (60) et pour l'analogue nitro (71). Cependant, la présence d'élargissement de signaux n'est pas généralement reporté pour des structures analogues, suggérant que le phénomène est atypique ou qu'il a été éludé. Nous avons observé ce signal à différentes températures dans le chloroforme deutéré pour le composé 62. Nous observons, à basse température, deux formes distinctes dans un rapport (1 : 8) (Figure 17a). Les deux formes sont supposées être, d'une part la forme ouverte 62 A, et d'autre part la forme cyclique 62 B. Les deux signaux coalescent aux alentours de 20°C (Figure 17b).

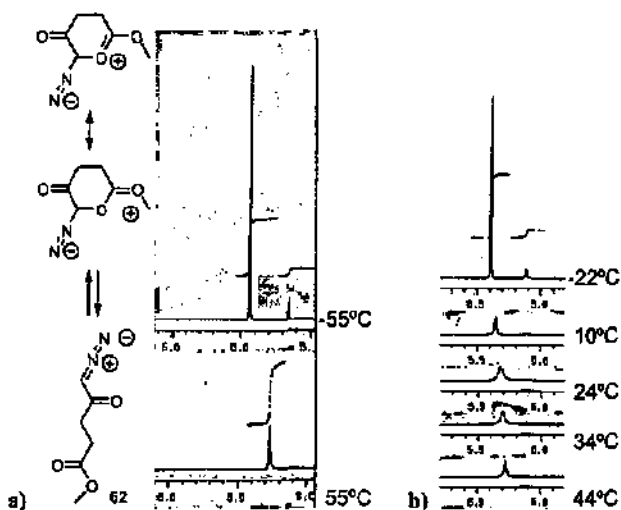


Figure 71 : Déplacement chimique du proton vicinal à la fonction diazo de 62 en fonction de la température.

Nous n'avons pas connaissance de rapport dans la littérature concernant l'équilibre que nous avons constaté et un approfondissement de l'étude de cet équilibre serait peut-être à envisager. En particulier définir si la forme majoritaire en solution à basse température est la forme ouverte ou si la forme cyclique peut être stabilisée par introduction d'un carbonyle plus riche en électron et éventuellement cristalliser une telle espèce. La formation de l'espèce cyclique B est certainement pas sans conséquence sur la réactivité de tels composés diazo (Figure 72). Lebedev *et al.* ont étudié la fragmentation du composé 62 en spectroscopie de masse EI et il a été établi que l'ion moléculaire M^{+} perdait extrêmement facilement l'azote pour former une structure cyclique oxonium.

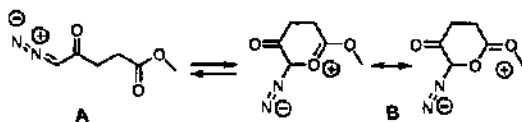


Figure 72 : Une forme ouverte et une forme cyclique postulée pour 62.

1.4.2.3 Les dérivés de la succinylacétone.

Nous avons synthétisé près d'une vingtaine de dérivés de la succinylacétone dans le but d'étudier l'interaction de cet inhibiteur puissant avec la porphobilinogène synthase. Nous avons tenté, entre autre, d'étudier l'influence de la forme cétoénol sur le pouvoir d'inhibition des systèmes 1,3-dicétones. Nous avons concentré notre attention sur ces systèmes parce qu'ils ont été décrits comme incompétitifs [99]. Ce type d'inhibition était suspect vis-à-vis de la stabilisation proposée. Celle-ci impliquait que la forme céto-imine formée par l'attaque, sur la

forme dicéto, par la lysine K_{247} était suivie d'une stabilisation sous une forme cétoénamine par déprotonation [99] (Figure 73). Une telle stabilisation, aussi efficace, ne nous a pas semblé compatible avec le type d'inhibition décrit, même si elle est très plausible. Dans un postulat mécanistique de type Jordan I, la fonction amine du substrat site-P doit être sous forme déprotonée, ce qui suggère la présence d'une basicité idéalement placée pour favoriser la déprotonation et d'une amplitude également compatible avec l'acidité d'un système 1,3-dicéto. Parce que cette stabilisation nous semblait plus compatible avec un comportement d'inhibition dépendant du temps, nous avons envisagé des modes d'interaction alternatifs.

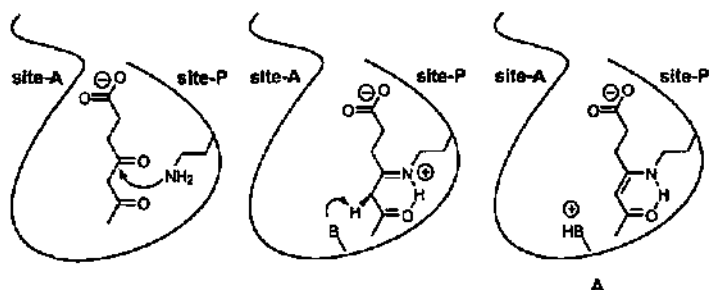


Figure 73 : Stabilisation de la succinylacétone dans le site-P sous forme cétoénamine.

Nous pouvons cependant postuler différents types de stabilisation pour la succinylacétone dans le site-P; l'inhibition incompétitive reportée indique que les 1,3-dicétones interagissent dans ce site en plus d'interagir dans le site-A comme analogue de substrat. En plus du mode d'interaction A, nous pouvons imaginer une stabilisation qui implique également une déprotonation mais où la cétone interagit en direction, ou dans, le site-A (mode B); ce mode d'interaction s'identifie à une interaction de type analogue de bisubstrat (voir l'acide 4,7-dioxooctanoïque (216)). Nous pouvons imaginer également les interactions soit dans le site-P (mode C) soit dans le site-P et dans le site-A (mode D) mais n'impliquant pas une déprotonation. Finalement nous pouvons postuler une stabilisation sous forme hémiaminale analogue de l'intermédiaire clé du mécanisme Jordan II (mode E) (Figure 74).

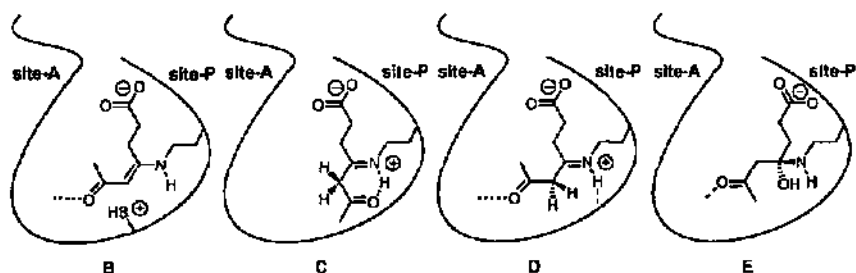


Figure 74 : Quatre modes supplémentaires possibles pour l'inhibition de la PBGS par les systèmes 1,3-dicétones.

Rappelons, avant de poursuivre, que la succinylacétone est un inhibiteur *slow-binder* comme Shoolingin-Jordan *et al.* [142] et Jarret [92] l'ont montré. La discussion sur le travail qui suit reste valable, bien que le comportement cinétique des 1,3-dicétones soit en accord avec une stabilisation forte impliquant une déprotonation. Nous avons synthétisé une série de dérivés de trois systèmes, la 2,4-pentandione, la succinylacétone et l'acide 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrique (112), introduisant un ou deux substituants afin de bloquer l'énolisation du système 1,3-dicétoné. Nous avons, dans l'optique d'introduire un minimum d'interactions stériques défavorables, opté pour des substituants peu volumineux comme le méthyle et le fluoro (Figure 75).

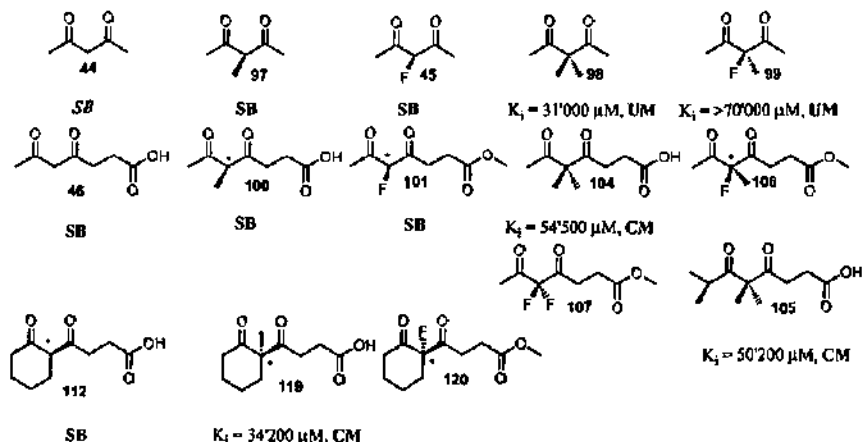


Figure 75 : Les 1,3-dicétones mono et disubstituées.

Il est difficile de comparer le potentiel d'inhibiteur des composés *slow-binder* entre eux, cependant le comportement d'inactivation en fonction du temps de ces derniers les différencie de façon incontestable des inhibiteurs compétitifs et incompétitifs. La tendance est clairement établie que les composés 1,3-dicétones, dont la position 2 n'est pas substituée ou monosubstituée, sont des inhibiteurs de type *slow-binder*. Les analogues disubstitués sont de mauvais inhibiteurs compétitifs ou incompétitifs (mixtes). Cette tendance, remarquée dans les trois séries, nous permet d'affirmer que la stabilisation de l'interaction avec le site actif des systèmes 1,3-dicétoné ne se fait pas sous une forme dicétoné.

Les composés nitro suivant font exception : le 6-nitro-2,4-hexandione (110) ($K_i = 15 \mu\text{M}$, UM) et le 2-(3-nitropropionyl)-cyclohexanone (118) ($K_i = 16 \mu\text{M}$, CM) ainsi que l'acide 3-acétylglutérique (262) ($K_i = 8'800 \mu\text{M}$, CM). Nous n'expliquons pas le comportement des inhibiteurs 110 et 118, dont le pouvoir d'inhibiteur observé est compatible avec la présence d'une partie β -nitrocétoné mais pas avec le système 1,3-dicétoné.

Signalons que le 5-acétyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (111) n'est pas très stable envers l'hydrolyse et perd un groupe acétyl lorsqu'il est traité dans un tampon phosphate pH 8. L'hydrolyse avec l'estérase de foie de porc (PLE) de ce composé pendant 9 h donne, après recristallisation, 60% de succinylacétone. Une même activation envers l'hydrolyse est observée pour le 4-(1-fluoro-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (120). Nous avons

suivi par ^{19}F -RMN et ^1H -RMN l'hydrolyse dans des conditions fortement basiques (NaOD 10%) à température ambiante des composés 120 et de son analogue non fluoré 115. Les temps de demie-vie dans ces conditions sont : inférieur à une minute pour le premier et 13 minutes pour le second. Nous avons également établi un profil d'hydrolyse du 5-fluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (101) par la détermination du pourcentage de formation du 5-fluorolévulinate de méthyle (56) dans le tampon phosphate pH 8 utilisé pour les tests cinétiques à 37°C (suivi par GC) (Figure 76).

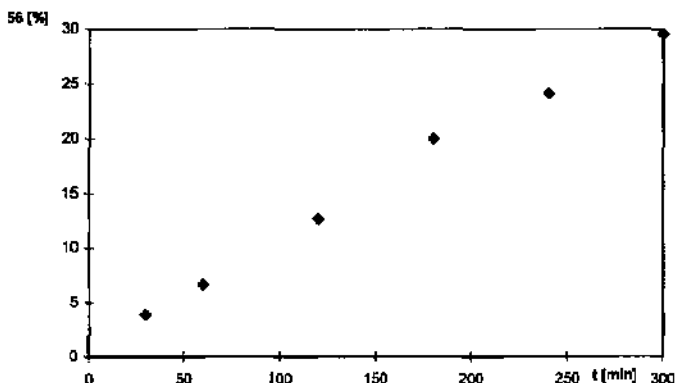


Figure 76 : Profil d'hydrolyse du 5-fluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle.

Puisque les composés 1,3-dicétones ionisables sont sous forme d'un mélange tautomère de la forme 1,3-dicétone et cétoénol, nous nous sommes posés la question de l'influence de la distribution des deux formes tautomères sur l'affinité avec le site actif. Il semble qu'une tendance se dessine avec une reconnaissance plus efficace des structures qui montre un plus grand taux d'énolisation. Nous avons standardisé la détermination du contenu de la forme cétoénol et dicétone déterminée par les intégrales respectives sur le spectre du proton dans le chloroforme deutéré qui nous semble être un modèle acceptable pour tenir compte du caractère hydrophobe du site actif de l'enzyme et donc de la structure formant le complexe de Michaelis avec le site-P (Tableau 2).

Composé nom	% dicéto	% cétoénol
44 2,4-pentandione	13	87
45 succinylacétone	25	75
97 3-méthyl-2,4-pentandione	65	35
45 3-fluoro-2,4-pentandione	> 90	< 10
100 acide 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoïque	71	29
101 acide 5-fluoro-4,6-dioxoheptanoïque	84	16
110 6-nitro-2,4-hexandione	18	82
118 2-(3-nitropropionyl)-cyclohexanone	3	97
111 5-acétyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle	14	54 + 32
226 5-acétyl-4,7-dioxodécandioate de méthyle	91	9
112 acide 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrique	11	89
113 acide 4-(2-oxocycloheptyl)-4-oxobutyrique	45	55
114 acide 4-(2-oxocyclooctyl)-4-oxobutyrique	23	77

Tableau 2 : Répartition des formes dicéto-cétoénol pour une série de 1,3-dicétones dans le chloroforme deutéré.

Nous avons planifié une expérience qui vise à mettre en évidence l'importance de la prédominance de la forme cétoénol dans l'équilibre tautomère pour favoriser l'inactivation de l'enzyme. Nous avons préparé les trois composés analogues 112, 113 et 114. Nous proposons de comparer la vitesse d'inactivation à une concentration constante d'inhibiteur. Nous avons trois facteurs à considérer dans ce système qui sont l'encombrement stérique, la surface de contact d'interactions hydrophobes et la proportion de la forme tautomère cétoénol. Nous avons une évolution croissante dans la série pour le premier facteur, une évolution décroissante pour le second et finalement nous avons un profil en V pour le troisième. Cette expérience n'est pas en mesure de fournir une preuve sans équivoque mais elle constitue une opportunité de vérifier cette tendance que nous n'interprétons pas de façon immédiate.

Finalement, il nous semble intéressant de revisiter l'inhibition de la 2-acétylcyclohexanone (267), décrite par Henz comme inhibiteur incompétitif, et de comparer son comportement avec la 1,3-cyclohexandione (268) afin de déterminer si la géométrie du système 1,3-dicéto joue un rôle dans la stabilisation (Figures 73 et 74) ou si ce n'est que la réactivité (acidité) qui intervient (Figure 77).

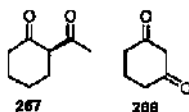


Figure 77 : Quelle relation entre la structure et l'inhibition ?

1.4.2.4 Les analogues de substrat modifié en position 5.

Si des pyrroles mixtes ne se forment pas entre l'acide 5-aminolévulinique (1) et des analogues de substrat compétitifs comme l'acide lévulinique, le groupe amino du substrat site-A doit être incriminé, compte tenu que c'est le seul groupe absent. Nous avons cherché à améliorer notre compréhension des phénomènes liés à la reconnaissance de ce groupe amino; reconnaissance

qui, rappelons le, a été décrite comme faiblement contributive comparée à celle du carboxylate ou de la fonction céto [100]. Signalons premièrement qu'aucune des modifications apportées en position 5 du substrat ne permet d'obtenir une affinité accrue pour le site-A par rapport à celle du substrat naturel. Les groupes suivants ont déjà été introduits : carboxylate (261) ($K_i = 10'400 \mu\text{M}$, C), hydrogène (10) ($K_i = 2'220 \mu\text{M}$, C), oxime (269) ($K_i = 1'050 \mu\text{M}$, C), nitro (270) ($K_i = 711 \mu\text{M}$, U), hydroxy (265) ($K_i = 333 \mu\text{M}$, C), cyano (271) ($K_i = 150 \mu\text{M}$, U). Nous avons synthétisé les dérivés *N*-méthyle (126) ($K_i = 3'500 \mu\text{M}$, C) et *N,N*-diméthyle analogues de l'acide 5-aminolévulinique (154) ($K_i = 17'200 \mu\text{M}$, C) qui sont tous deux inhibiteurs compétitifs, avec une affinité pour le site-A soixante fois moindre pour le monométhyle et trois cents fois pour le diméthyle par rapport au substrat. La présence de groupes méthyles sur la fonction amine a deux conséquences. La première est la suppression d'un, respectivement deux, hydrogènes donneurs de ponts-H. La seconde est une augmentation de l'encombrement stérique.

Dans l'optique d'étudier la question de la chélation possible du zinc dans le site-A par le deuxième substrat, nous avons synthétisé des analogues de l'acide *N*-méthyl-5-aminolévulinique (126) en introduisant un autre hétéroatome : l'acide 5-méthoxylévulinique (158) ($K_i = 2'100 \mu\text{M}$, C) et l'acide 5-méthylsulfanylévulinique (156) ($K_i = 5'200 \mu\text{M}$, C) (Figure 78). Les faibles différences observées ne permettent pas de tirer des conclusions, compte tenu que le zinc est un métal assez versatile du point de vue du type de ligands acceptés et que les variations des angles et des longueurs de liaisons permettraient à elles seules d'expliquer de si faibles variations. Nous proposons cependant qu'une chélation du zinc impliquant les fonctions cétone et amine ne opère pas.

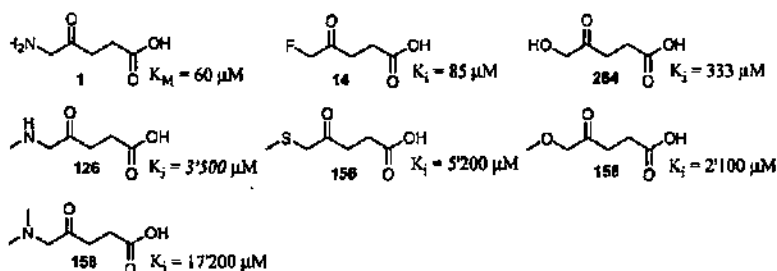


Figure 78 : Le substituant de la position 5 de l'acide lévulinique.

Il est intéressant de comparer les résultats obtenus avec ceux, d'une part, de l'acide 5-hydroxylévulinique et, d'autre part, avec l'acide 5-fluorolévulinique (14). Passant de l'hydroxy au méthoxy, un facteur de six est perdu sur l'affinité pour le site-A, alors que le passage du groupe amino au méthylamino entraîne une perte d'affinité dix fois supérieure. Le fluoro (14) a une affinité quasi comparable au substrat naturel alors que l'hydroxy est reconnu cinq fois moins bien. La première remarque que nous pouvons faire est que, si un inhibiteur avec un substituant chargé négativement a une faible affinité pour le site actif, il ne semble pas requis que le substituant de la position 5 soit chargé positivement, comme l'atteste le fait que l'acide 5-fluorolévulinique (14), ou même l'acide 5-chlorolévulinique, soit bien reconnu par le site-A. Cela serait en désaccord de l'hypothèse d'une interaction saline qui est, a priori, incompatible avec la faible interaction du groupe amino avec l'enzyme. Néanmoins, un facteur stérique

rentre clairement en ligne de compte. Ceci semble indiquer une proximité des résidus de l'enzyme par rapport au groupe amino du substrat.

Si nous considérons la possibilité d'un rôle accepteur d'un pont-H pour le substituant en position 5, alors le dérivé fluoro devrait être moins bien reconnu que le dérivé hydroxyle. Cependant, nous devons prendre en compte, dans le bilan énergétique des interactions avec l'enzyme, l'énergie de dessolvation du groupe précédant la formation d'un pont-H; les énergies de dessolvation et de formation d'un pont-H sont, en valeur absolue, plus grandes pour le dérivé hydroxyle. Une interaction par pont-H du groupe amino du second substrat serait compatible avec un rôle catalytique dans le transfert de proton et donc expliquerait son apparente nécessité. L'énergie de dessolvation du groupe amino est également à prendre en compte et une faible influence sur le potentiel d'inhibition n'implique pas forcément une faible reconnaissance!

1.4.2.5 Les analogues de substrat modifié en position 3.

Nous avons proposé à Greppi [158] d'introduire la glycyglycine (136) comme *synthon* analogue de δ -ALA pour la synthèse de peptide inhibiteur de la PBGS. Le comportement de non inhibiteur de la glycyglycine (136) ($K_i > 150'000 \mu\text{M}$, N) a été une surprise puisque la *N*-acétylglycine (137) est un inhibiteur compétitif faible. L'acide acétyloxyacétique ($K_i = 24'500 \mu\text{M}$, C) est également un inhibiteur faible, mais par contre, l'acide aminoacétoxyacétique (18) ($K_i = 18'200 \mu\text{M}$, C) est cette fois inhibiteur, faible mais, logiquement meilleur que l'acide acétoxyacétique (138).

Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer le comportement inattendu de la glycyglycine (136). La première, peu probable, implique un degré d'ionisation incompatible avec la fixation dans le site-A. Remarquons que Leeper *et al.* ont également observé le caractère non inhibiteur de la glycyglycine (136), mais à pH 9 [96] sur une autre source (*Bacillus subtilis*). La seconde hypothèse est liée à la conformation de la molécule. Il est évident qu'un tel amide possède préférentiellement une conformation *s-trans*; cela est également le cas pour l'acétylglycine. La différence fondamentale que nous pouvons souligner est le fait que le groupe amino, sous sa forme déprotonée, peut interagir avec le groupe NH de l'amide formant un pont-H qui défavoriserait l'isomérisation de la pseudo double liaison (Figure 79). Cette hypothèse est en accord avec le fait que l'acide 4-oxopenténoïque ne soit pas inhibiteur. La formation d'un pont-H intramoléculaire peut être postulée entre un proton du groupe amino et la fonction cétone mais ce pont-H est également présent dans le dérivé oxo 18, mais n'influence pas de manière dramatique le potentiel d'inhibition de ce composé.

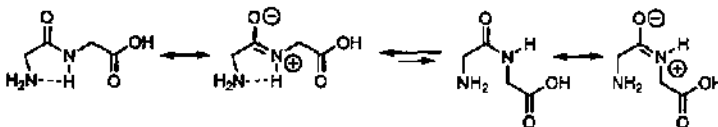


Figure 79 : Conformation *s-trans* autour de la liaison positions 3 et 4 dans le site-A.

1.4.2.6 Les autres modifications du substrat.

Nous avons synthétisé le lévulinamide (133) afin de définir le potentiel de la fonction amide comme remplaçante de la fonction carboxylate. Malheureusement, cette molécule interfère avec le réactif de Ehrlich, probablement sous une forme cyclique. Nous avons synthétisé l'acide 3-méthylsulfinylpropionique (143) afin d'évaluer le potentiel du sulfoxyde comme substituant de la fonction céto dans le site-A. Nous avons synthétisé l'acide 3-méthyllévulinique (149) ($K_i = 30'000 \mu\text{M}$, C) et l'acide 2-oxocyclohexylacétique (147) pour définir l'impact stérique d'un substituant en position 3 du substrat dans le site-A (Figure 80).

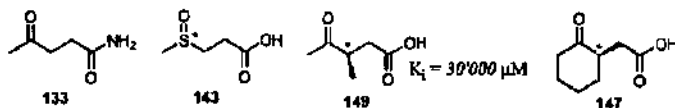


Figure 80 : Analogues de substrat.

En plus de l'analogue nitro de δ -ALA 15 ($K_i = 15 \mu\text{M}$, CM) dont nous reparlerons dans le chapitre 1.4.4, nous avons synthétisé quelques composés extrêmement simples, afin d'avoir un maximum de points de comparaison entre des inhibiteurs compétitifs de type acide et leur analogue nitro. Nous avons ainsi synthétisé l'acide *N*-méthylsuccinamique (151) et l'analogue *N*-méthyl-3-nitropropionamide (152). Nous avons également synthétisé le 3-nitropropionamide (153) (Figure 81).

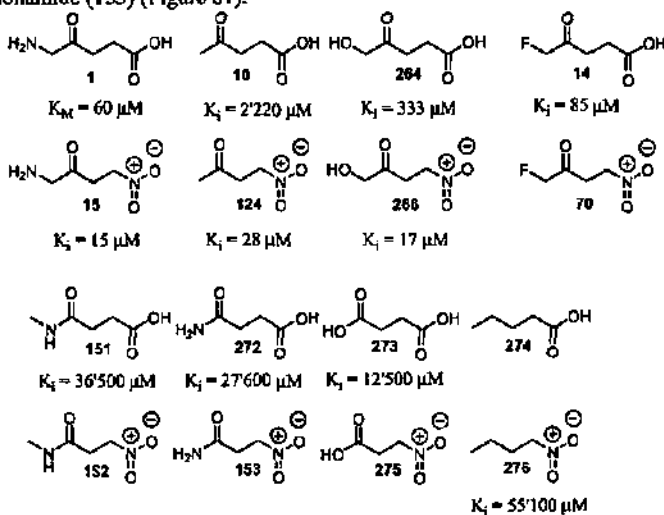


Figure 81 : Groupe nitro comme remplaçant de la fonction acide carboxylique.

1.4.3 L'inhibition sélective des deux sites de reconnaissance (site-A et site-P).

En se basant sur la structure de l'acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique (210) (I), nous avons développé un concept pour établir l'interaction des groupes méthylester et nitro dans les sites de reconnaissance des fonctions carboxylates dans le site-P et dans le site-A. Le diacide 210 est considéré comme un analogue de bissubstrats avec deux parties distinctes. Une partie lévulinique, côté L, qui favorise une interaction dans le site-P en ayant la possibilité de former la base de Schiff avec la lysine K₂₄₇ et une partie succinamique, côté S, qui est modestement, mais uniquement, reconnue que dans le site-A (Figure 82).

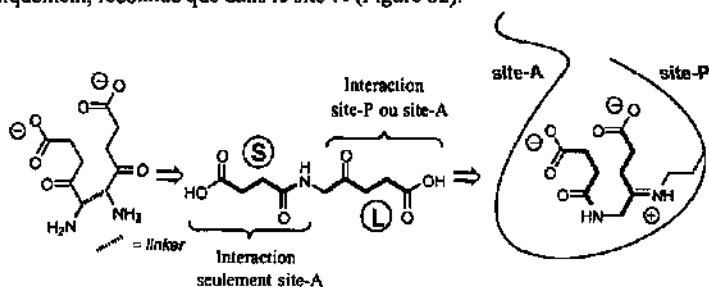


Figure 82 : L'acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique un analogue de bissubstrat au design non symétrique.

Nous avons synthétisé les composés suivants : l'acide 3-(4-méthoxycarbonyl-2-oxobutylcarbamoyl)propionique (241) (I), l'acide *N*-(3-méthoxyoxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinique (243) ($K_i = 243 \mu\text{M}$, U), le 5-(3-nitropropionylamino)-4-oxopentanoate de méthyle (245) (I), l'acide 5-(3-nitropropionylamino)-4-oxopentanoïque (246) (I), le *N*-(4-nitro-2-oxobutylcarbamoyl)-3-iminocarbonylpropionate de méthyle (248) ($K_i = 20 \mu\text{M}$, CM) et le *N*-(4-nitro-2-oxobutyl)-3-nitropropionamide (247) ($K_i = 20 \mu\text{M}$, CM). Pour simplifier la discussion de ces résultats, nous les rassemblons dans le tableau 3.

composé	inhibition	K_i [μM]	groupe côté S	groupe côté L	partie site-A	partie site-P
210	I	--	carboxylate	carboxylate	S	L
241	I	--	carboxylate	méthylester	S	L
246	I	--	nitro	carboxylate	S	L
245	I	--	nitro	méthylester	S	L
243	U	243	méthylester	carboxylate	S / L	L / --
248	CM	20	méthylester	nitro	L	--
247	CM	30	nitro	nitro	L	--

Tableau 3 : Récapitulatif du comportement des dérivés de l'acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique.

Nous constatons que le comportement quasi-irréversible est maintenu pour les inhibiteurs ayant une fonction acide carboxylique ou méthylester dans la partie lévulinique (côté L) reconnue dans le site-P, pour autant qu'une fonction carboxylate ou nitro soit reconnue dans le

site-A (210, 241, 246 et 245). Dans le cas où une fonction méthylester est présente dans la partie succinamique (côté S), bien qu'une fonction carboxylate soit dans la partie lévulinique (côté L), l'inhibiteur est incompétitif. C'est à dire que l'inhibiteur 243, n'a pas une affinité suffisante pour le site actif (site-A et site-P) en tant qu'analogue de bissubstrats et donc son inhibition dans le site-A comme analogue de substrat contribue significativement à son pouvoir inhibiteur. Finalement, si dans la partie lévulinique (côté L) une fonction nitro est placée, cette dernière, qui n'a pas d'affinité avec le site de reconnaissance de la fonction carboxylate dans le site-P, va interagir dans le site-A où elle a une affinité accrue par rapport au carboxylate (voir chapitre précédent). Il en résulte un comportement d'inhibiteur compétitif très bon et de l'ordre de grandeur des inhibiteurs type nitrocétone testés comme inhibiteurs compétitifs analogues de substrat. Pour résumer, nous pouvons dire que le site de reconnaissance de la fonction carboxylate dans le site-P tolère la présence du méthylester mais pas du nitro alors que le site de reconnaissance de la fonction carboxylate dans le site-P démontre une préférence pour le groupe nitro, mais reconnaît très mal le méthylester (Figure 83). Le manque d'affinité du groupe nitro pour le site-P s'explique par le mode de reconnaissance qui est exclusivement par trois ponts-H.

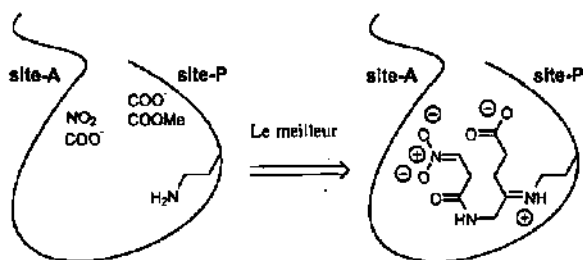


Figure 83 : Reconnaissance sélective des groupes méthylester et nitro dans le site-P et site-A respectivement.

En effet, le dérivé 246, qui interagit avec un groupe nitro dans le site-A et un groupe carboxylate dans le site-P, possède le pouvoir d'inhibition le plus grand. Nous avons représenté ce dérivé avec la fonction nitro sous sa forme déprotonée nitronate, mais cela plus comme une interrogation que comme une affirmation.

Nous avons synthétisé le dérivé nitro analogue au diacide 166 : l'acide 9-nitro-4-oxononanoïque (231). Puisque le carboxylate est bien reconnu dans le site-P, que la cétone est présente dans ce même site pour former la base de Schiff avec la lysine K₂₄₇ et que, enfin, un groupe nitro est présent pour interagir dans le site-A, cet inhibiteur semble tout désigné pour générer un comportement de type quasi-irréversible. A notre surprise, les résultats préliminaires ont montré un comportement non dépendant du temps et probablement compétitif avec une constante d'inhibition $K_i = 5'000 \mu\text{M}$. Nous avons synthétisé un analogue nitro acide du diacide 167, l'acide 5-(3-nitropropionylamino)pentanoïque (240) ($K_i = 18'200 \mu\text{M}$, C) ainsi que les deux acides méthylesters 234 et 236 analogue de 167 qui n'avaient pas lieu d'être testés puisque 167 est un inhibiteur compétitif faible ($K_i = 22'600 \mu\text{M}$, C). Nous pouvons remarquer que, dans le cas de 240, l'introduction du groupe nitro a une influence favorable minimale (1.2 fois mieux reconnu) pour un inhibiteur compétitif comparée à l'influence observée (un facteur de 80) pour le 4-nitro-2-butanone (124) ($K_i = 28 \mu\text{M}$, C),

l'analogue nitro de l'acide lévulinique. Dans le cas des dérivés nitro à longue chaîne 248 et 247, la reconnaissance est de l'ordre de grandeur de celle de 124.

Les résultats de 231 et 240 semblent donc en contradiction avec les conclusions de notre expérience d'inhibition sélective des sites de reconnaissance des fonctions carboxylates par, soit le groupe nitro (site-A), soit le groupe méthylester (site-P) (Figure 83).

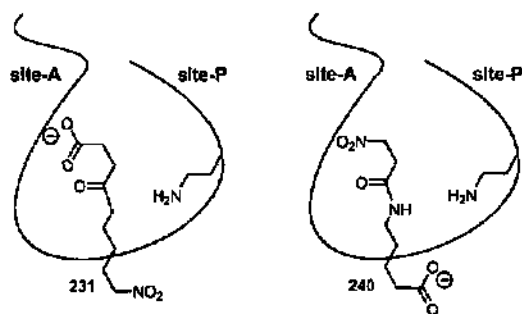


Figure 84 : Inhibition du site actif par les inhibiteurs 231 et 240.

Nous avons cherché une explication aux comportements non attendus de 231 et 240. Une première hypothèse, postulant une interaction du groupe nitro sous sa forme nitronate, est que l'ionisation du groupe nitro en solution à pH 8 est moindre pour un nitro positionné en β d'une cétone par rapport à un nitro positionné en β d'un amide et qu'un nitro sans groupe activateur à proximité est encore moins ionisé. Le pK_a de trois systèmes modèles a été déterminé selon une procédure standardisée : 1 mmol du dérivé nitro (4-nitro-2-butanone (124), *N*-méthyl-3-nitropropionamide (152) ou 1-nitrobutane (274)) est dissous dans 50 ml d'une solution 0.05 M de NaCl. La solution est titrée par adjonction de portions (0.5-1 ml) de NaOH 0.05 M, le pH est mesuré 5 minutes après l'adjonction. Les valeurs de pK_a suivant sont obtenues par traitement graphique classique de la courbe de titration (Figure 85) : pK_a (124) = 8.05, pK_a (152) = 8.68, pK_a (274) = 8.88.

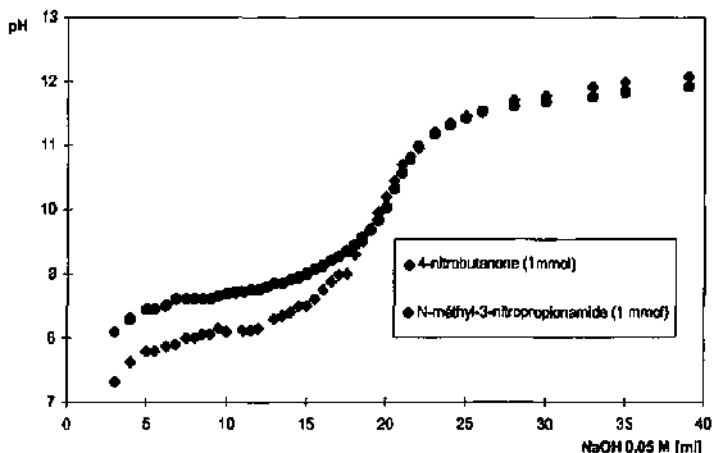


Figure 85 : Représentation graphique de la titration des dérivés nitro (124, 152).

Nous constatons que le composé contenant une fonctionnalité nitrocétone montre une acidité apparente plus grande d'une demie unité qu'une fonctionnalité nitroamide (peut être due, partiellement, à un phénomène cinétique). De même, l'absence du carbonyle défavorise la déprotonation par rapport au nitroamide mais, dans une moindre mesure puisque la diminution sur le pK_a n'est que de 0.2.

Nous pouvons corréler la tendance à l'affaiblissement de l'acidité de la fonction nitro avec la diminution du potentiel d'inhibition. Ce résultat nous a conduit à reconsidérer le potentiel inhibiteur de l'acide 9-nitro-4-oxononanoïque (231), non plus à pH 8, qui est le pH optimal pour la PBGS de *E. coli*, mais à pH 9 dans un tampon Tris. Il s'est avéré que 231, même dans ces conditions, n'inactive pas la PBGS en fonction du temps.

Si ce ne sont pas des facteurs acido-basiques extérieurs au site actif qui rentrent en ligne de compte, nous pouvons imaginer l'intervention d'un groupe basique dans le site actif même. Rappelons nous que classiquement, l'intervention d'une double basicité pour la déprotonation de la position 3 du substrat site-A est postulée. Nous pouvons imaginer que le groupe nitro détourne cette basicité pour générer une forme nitronate qui, elle, aurait une forte affinité pour le site de reconnaissance de la fonction carboxylate. Nous pouvons également postuler que la fixation de l'inhibiteur nitro, par la reconnaissance du carbonyle de la cétone, est prérequis pour qu'un processus, conduisant à une meilleure reconnaissance du nitro, ait lieu. Un affaiblissement de cette reconnaissance initiale (fonction amide) ou une absence (méthylène) aurait pour conséquence de diminuer l'efficacité de ce processus, voire de l'annihiler, ce qui expliquerait les comportements observés. Nous pouvons éventuellement postuler une combinaison des deux facteurs proposés dans ce paragraphe.

1.4.4 Les substrats artificiels potentiels de la porphobilinogène synthase.

Nous nous sommes intéressés à développer des substrats artificiels pour la porphobilinogène synthase pour deux raisons. La première est que, dans le cadre de l'étude cinétique du

mécanisme, un problème majeur réside dans le fait que la PBGS soit une enzyme à deux substrats identiques. Le développement de substrats artificiels spécifiques pour chacun des sites de reconnaissance permettrait une telle étude cinétique. La deuxième raison est orientée sur l'établissement des limites de validité des conclusions mécanistiques tirées par rapport aux résultats d'inhibition qui sont basés essentiellement sur les phénomènes de reconnaissance et non pas sur les phénomènes catalytiques.

Nous avons synthétisé avec grand espoir l'analogue nitro du substrat (15) ($K_i = 15 \mu\text{M}$, CM) qui devait, aux vues de la bonne reconnaissance du groupe nitro chez les inhibiteurs compétitifs, être reconnu dans le site actif et être métabolisé en analogue dinitro du PBG. L'incubation de l'enzyme avec le substrat artificiel potentiel 15 ne permet pas d'identifier la moindre trace de PBG-analogue. Comme nous l'avons discuté, la reconnaissance du groupe nitro est spécifique au site-A. Mais le fait reste que le groupe nitro, sous certaines conditions, remplace très avantageusement le groupe carboxylate dans le site-A. Une question demeure alors ouverte sur l'opportunité de former un pyrrole mixte avec le δ -ALA (Figure 86). Nous n'avons pas mis en oeuvre de techniques, comme par exemple l'HPLC-MS, pour identifier un pyrrole mixte éventuellement formé. Le composé nitro 15 a été décrit par Leeper *et al.* comme étant instable dans les conditions de test (pH 9). Pour notre part, nous avons constaté une forte évolution du spectre dans un tampon phosphate pH ~ 8 qui est probablement due en partie à la deutération de la molécule. L'apparition de signaux à champ plus bas peut être interprétée par la formation d'une forme nitronate ou par une rétro-Michael.

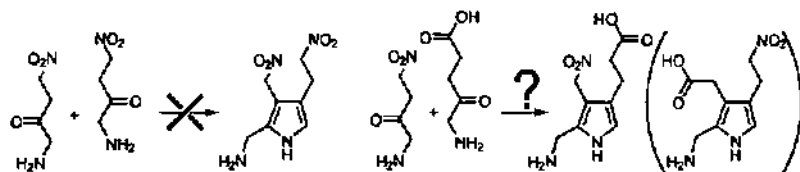


Figure 86 : Opportunité de formation du PBG-analogue et du PBG-analogue mixte avec 15.

Comme l'avait déjà signalé Granick et Mauzerall [34], le méthylester de δ -ALA (125), purifié soigneusement pour éliminer toute contamination de δ -ALA, est converti, mais avec une efficacité moindre que ce dernier, en PBG-diméthylester. Nous n'avons pas identifié sans équivoque ce diester mais l'absorbance mesurée après traitement avec le réactif de Ehrlich ne semble compatible qu'avec la formation de ce PBG-analogue si nous excluons l'hydrolyse de l'ester catalysée par l'enzyme.

Nous avons synthétisé un composé 4-aza analogue de δ -ALA, la *N*-succinylhydrazine (128) dont le comportement comme inhibiteur ou substrat artificiel n'a pas pu être établi compte tenu que cette molécule interférerait avec le réactif de Ehrlich. Nous pouvons néanmoins supposer que le carbonyle de l'hydrazide ne sera pas en mesure de former la base de Schiff dans le site-P avec la lysine K_{247} , ce qui hypothèque sérieusement ses chances d'être métabolisé.

Nous avons finalement imaginé l'introduction d'un groupe sur la fonction amine qui est formellement compatible avec la formation du PBG. Nous avons synthétisé l'analogue *N*-méthyle de δ -ALA (126) qui montre une très faible formation de PBG catalysée par l'enzyme.

L'introduction d'un substituant sur l'azote semble perturber la reconnaissance dans le site-A par effet d'encombrement stérique, mais la perturbation introduite dans le site-P est plus significative du point de vue mécanistique. La disubstitution sur l'azote est incompatible avec la formation du produit alors que la monosubstitution est incompatible avec un intermédiaire imine mais est compatible avec un intermédiaire iminium. Nous ne pouvons pas tirer de conclusion sur ce simple exemple, mais nous pouvons imaginer de tester d'autres dérivés de ce type. Nous pensons en particulier à des dérivés hydrazine 277 ou hydroxylamine 278 qui ne sont pas stériquement plus encombrés que l'analogue 126 et qui présentent une densité électronique contrastée sur l'azote (Figure 87).

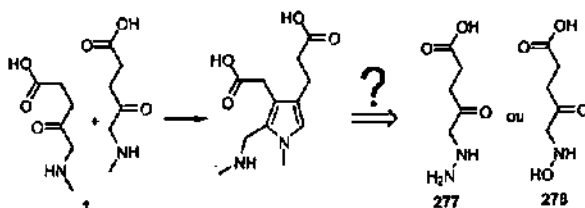


Figure 87 : Substrats artificiels potentiels avec un azote substitué.

Butler et Goerge [12] ont appliqué des conditions chimiques (NaOH 5 M) pour condenser le δ -ALA. Les mêmes conditions appliquées à un mélange de l'acide 5,5-diméthylaminolévulinique et δ -ALA leur ont permis d'isoler un pyrrole mixte se formant qu'ils ont identifié comme le *N,N*-diméthyle pseudo-PBG. Nous avons appliqué ces conditions chimiques à l'acide 5-méthylaminolévulinique (126) qui présente la caractéristique d'éviter, comme le *N,N*-diméthyle δ -ALA, la formation irréversible de la pyrazine à partir du dérivé dihydropyrazine mais qui, par contre, peut former un pyrrole. Nous avons identifié par chromatographie sur couche mince deux taches présentant une réponse au réactif de Ehrlich (R_f (AcOEt - MeOH - AcOH 5 : 3 : 1) 0,30 (violet) et 0,40 (rouge) compatible avec la formation des deux pyrroles : *N,N*-diméthyle PBG et *N,N*-diméthyle pseudo-PBG. Le spectre ^{13}C -RMN du mélange réactionnel partiellement évaporé et repris dans l'eau deutérée montre 6 signaux caractéristiques dans la région 110-130 ppm, dont deux ont une intensité plus grande (~ 2 fois). Une étude complémentaire est nécessaire, en particulier une séparation et analyse du milieu réactionnel par LC-MS pour identifier, de manière certaine, les espèces formées et d'en quantifier le rapport.

1.5 Conclusion.

Nous avons synthétisé un grand nombre d'inhibiteurs de la porphobilinogène synthase analogues du substrat, analogues d'intermédiaires clés postulés dans les différents mécanismes et analogues de bisubstrats. Tous les inhibiteurs que nous avons synthétisés n'ont pas été testés à ce jour.

Nous avons déterminé un minimum de fonctionnalités requis pour obtenir une interaction dans le site actif pour des structures analogues d'intermédiaires. La structure minimale imitant l'intermédiaire doit contenir le squelette linéaire, les deux groupes carboxylate et une fonction cétone pouvant intervenir de manière à former un lien covalent avec la lysine K₂₄₇ du site actif. Nous avons intégré dans une série de γ -oxodiacides les trois structures minimales des

intermédiaires clés des trois mécanismes postulés : Jordan II (259), Jordan I (166) et Shemin (196). Nous avons procédé de la sorte pour pouvoir non pas comparer trois résultats ponctuels, mais pour pouvoir suivre l'évolution du comportement des structures dans la série du point de vue de leur type d'inhibition et de leur pouvoir inhibiteur (Figure 88).

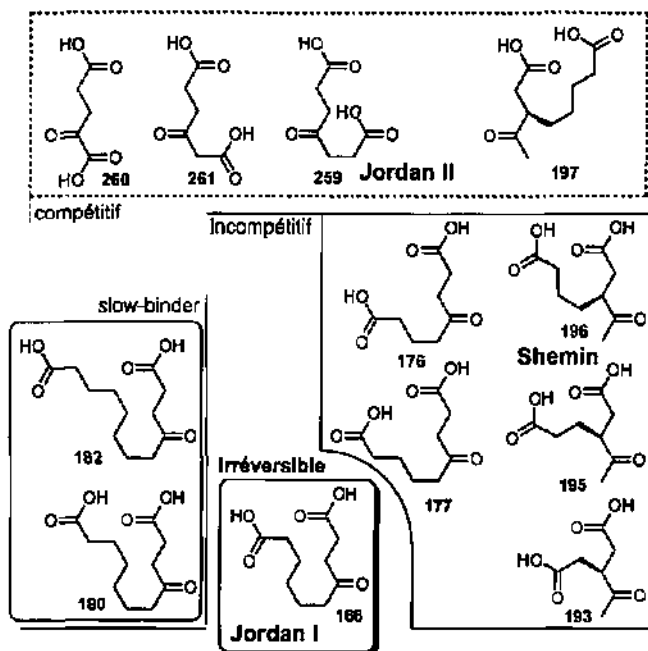


Figure 88 : Série des γ -oxodiacides.

Nous avons observé une affinité pour la PBGS de la structure minimale imitant les intermédiaires clés du mécanisme Jordan I indéniablement supérieure à celle observée pour les analogues d'intermédiaires des mécanismes Jordan II et Shemin. Nous concluons que cette expérience est en faveur d'une séquence de formation des liaisons entre les deux substrats impliquant une attaque de la fonction amine du premier substrat, fixé dans le site-P, sur la cétone du second substrat, dans le site-A, préalable à la réaction de type aldol formant la liaison carbone carbone entre la position 3 du second substrat et de la position 4 du premier substrat.

Nous avons tenté de valider ce résultat qui peut être remis en cause compte tenu que, d'une part l'hypothèse sur la reconnaissance des structures intermédiaires n'a pas de précédent connu par nous, et que d'autre part la structure minimale imitant les intermédiaires clés du mécanisme Jordan I est également un intermédiaire de bissubstrat (Figure 89).

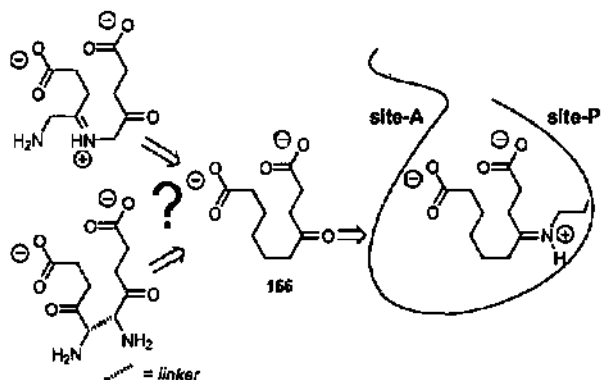


Figure 89 : L'acide 4-oxosuccinique : un analogue d'intermédiaires ou de bissubstrat?

Dans l'état actuel de nos connaissances, il n'est pas possible d'affirmer ou d'infirmer l'exactitude de la conclusion émanant de l'étude de la série des γ -oxodiacides. Cependant, le manque d'affinité pour le site actif de la structure 171 ressemblant davantage aux intermédiaires postulés est un signe défavorable, mais une série plus complète d'analogues d'intermédiaires doit être synthétisée et testée (voir Figure 63) pour définitivement disqualifier la reconnaissance, par le site actif, d'une structure analogue aux intermédiaires clés postulés dans le mécanisme Jordan I. Nous avons mis en évidence que les analogues de bissubstrats avec *linker* (une liaison) entre la position 5 de la partie substrat site-P et la position 5 de la partie substrat site-A sont bien reconnus par le site actif. Celui-ci est chélaté par de tels analogues de bissubstrat et une reconnaissance en trois points d'ancrage semble suffisante : le carboxylate et la cétone dans le site-P et un troisième dans le site-A (Figure 90).

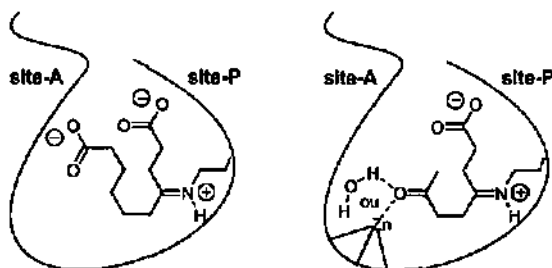


Figure 90 : Analogue de bissubstrat quasi-irréversible avec trois points d'ancrage.

Nous avons pu, grâce à une série de dérivés de l'analogue de bissubstrat *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique (210), déterminer la sélectivité des sites de reconnaissance des fonctions carboxylates du site-P et du site-A pour, respectivement, le groupe méthylester et le groupe nitro. Nous avons pu corréler ces résultats avec les observations faites pour les analogues de substrat et ainsi renforcer notre modèle cinétique. Les analogues de bissubstrat sont une superbe opportunité pour obtenir, grâce à leur cocrystallisation avec l'enzyme, de précieuses informations sur le site de reconnaissance de la fonction carboxylate dans le site-A ainsi que

sur l'interaction de la cétone avec soit le zinc catalytique, soit une molécule d'eau; la seconde alternative étant attendue par l'auteur.

Nous avons établi que le site de reconnaissance de la fonction amine du site-A est sensible à l'encombrement stérique et que des substituants de petite taille non chargés y sont bien reconnus. La capacité d'accepteur de ponts-H semble prédominer sur la capacité de donneur. Remarquons que les phénomènes liés à la dessolvation, voire à la déprotonation, du substrat peuvent masquer, à une investigation cinétique, une interaction du groupe amino relativement forte avec l'enzyme. Nous proposons que la fonction amine du second substrat pourrait être catalytiquement essentielle et pourrait jouer un rôle de stabilisation de l'iminium formé entre les deux substrats ou un rôle de donneur-accepteur de protons (voir rôle de la lysine K₁₉₃).

Nous avons établi que les inhibiteurs *slow-binder* de type 1,3-dicéto ne peuvent stabiliser leur interaction avec le site actif que sous une forme cétoénol ou analogue puisque les 1,3-dicétones dont l'énolisation est bloquée n'interagissent que faiblement avec l'enzyme. Une inhibition accrue en fonction du degré d'énolisation est à confirmer.

Nous avons obtenu un certain nombre de dérivés fluorés de l'acide lévulinique, nous permettant d'évaluer l'influence de l'introduction du substituant fluoro sur leur réactivité et sur leur potentiel d'interaction avec le site actif. Nous avons étudié certaines approches synthétiques pour l'obtention des dérivés monofluoré soit en position 3 soit en position 5 du substrat. Nous avons échoué dans la synthèse de ces dérivés qui sont problématiques du point de vue de leur réactivité, mais qui, nous n'en doutons pas, présentent un potentiel indéniable pour l'obtention d'informations déterminantes sur le mécanisme.

En l'absence de preuves expérimentales irréfutables sur la séquence de formation des liaisons entre les deux molécules de substrat, nous postulons, guidés par notre intime conviction, que le mécanisme implique une séquence de type Jordan I. Nous proposons que la basicité requise pour la déprotonation, limitante de la vitesse de réaction, est générée par une attaque préalable de la fonction amine du premier substrat, fixée de manière covalente dans le site-P, sur la cétone du second substrat dans le site-A. Ainsi, la basicité initialement portée par la lysine K₂₄₇ est propagée dans le site-A pour revenir par l'étape de cyclisation dans le site-P. Nous sommes en désaccord avec le postulat classique d'un intermédiaire de type énamine précédant l'étape de cyclisation par réaction de type aldol. Nous ne pouvons néanmoins formuler que des hypothèses sur des alternatives. Si l'enzyme a choisi la séquence Jordan I alors soit nous avons un intermédiaire énamine avec un système π contraint à avoir un recouvrement partiel des orbitales, soit l'enzyme utilise une voie permettant l'accès à un intermédiaire présentant au moins deux centres sp^3 sur les cinq mis en jeu dans la cyclisation.

A défaut d'avoir résolu la question mécanistique de la séquence selon laquelle la porphobilinogène synthase forme les deux liaisons entre les deux molécules de substrat, nous espérons avoir, par ce travail, contribué de manière significative à l'augmentation de la connaissance de la communauté scientifique sur la porphobilinogène synthase. L'élaboration d'une nouvelle classe d'inhibiteurs puissants de la PBGS, des analogues d'un bissubstrat, appliqué à la cocristallisation avec la PBGS, les questions soulevées par notre analyse, ainsi que le concept d'intermédiaires bloqués par l'introduction d'un fluor en position 3 permettrons, nous l'espérons, de guider nos successeurs sur la voie de l'élucidation du mécanisme de la PBGS.

2. Partie expérimentale.

2.1 Techniques et produits.

2.1.1 Techniques.

2.1.1.1 Chromatographie.

2.1.1.1.1 Chromatographie sur couche mince (CCM).

Sont utilisées des plaques de chromatographie sur couche mince (0.2 mm d'épaisseur) avec gel de silice 60 F₂₅₄ (indicateur de fluorescence) sur aluminium (Merck, Darmstadt). Après élution dans le solvant donné, les plaques sont révélées par une lampe UV (254 nm) puis, soit par le iode adsorbé sur silice, soit par l'atomisation d'une solution aqueuse basique de KMnO₄, d'une solution de réactif de Ehrlich ou d'une solution de ninhydrine et chauffage. Les chromatographies sur couche mince avec phase de polarité inverse sont effectuées avec un gel de silice RP-18 (0.25 mm d'épaisseur) sur le verre et révélées par une lampe UV (254 nm) puis par atomisation d'une des solutions révélatrices.

2.1.1.1.2 Flash-colonnes chromatographiques.

Les flash-colonnes chromatographiques ont été réalisées avec du gel de silice de granulométrie 0.04-0.063 mm (Fluka, Buchs) sous une surpression d'air de (0.2 à 0.5 atm) dans une colonne en verre. La longueur et le diamètre de la colonne de silice ainsi que le solvant d'élution sont donnés dans le mode opératoire respectivement pour chaque produit.

2.1.1.1.3 Chromatographie en phase gazeuse (GC).

Les analyses chromatographiques en phase gazeuse ont été effectuées sur un appareil Perkin Elmer SIGMA 3B, Dual FID Chromatograph équipé d'une colonne SE 54-DF-0.25 de Macherey Nagel de 25 m de longueur (ID = 0.32 mm; df = 0.25 µm). Les spectres sont enregistrés sur un intégrateur Perkin Elmer LCI-100. L'injecteur de type split est chauffé à 250°C et le détecteur FID à 280°C. Le flux d'hélium est réglé à 10 ml·min⁻¹. Le programme P1 débute à 70°C pendant 5 min puis la température est élevée jusqu'à 150°C à une vitesse de 8°Cmin⁻¹ et la température est maintenue 10 min; le programme P2 débute à 70°C pendant 5 min puis la température est élevée jusqu'à 180°C à une vitesse de 8°Cmin⁻¹ et la température est maintenue 10 min; le programme P3 débute à 50°C pendant 5 min puis la température est élevée jusqu'à 120°C à une vitesse de 7°Cmin⁻¹ et la température est maintenue 10 min; le programme P4 débute à 70°C avec élévation de la température jusqu'à 150°C à une vitesse de 5°Cmin⁻¹ et la température est maintenue 15 min; le programme P5 débute à 70°C pendant 5 min avec élévation de la température jusqu'à 150°C à une vitesse de 5°Cmin⁻¹ et la température est maintenue 10 min; le programme P6 débute à 100°C pendant 5 min puis la température est élevée jusqu'à 220°C à une vitesse de 8°Cmin⁻¹ et la température est maintenue 12 min; le programme P7 débute à 100°C pendant 5 min puis la température est élevée jusqu'à 220°C à une vitesse de 8°Cmin⁻¹ et la température est maintenue 12 min; le

programme P8 débute à 70°C pendant 5 min puis la température est élevée jusqu'à 200°C à une vitesse de 8°Cmin⁻¹ et la température est maintenue 10 min; le programme P9 débute à 100°C avec élévation de la température jusqu'à 250°C à une vitesse de 5°Cmin⁻¹.

2.1.1.2 Spectroscopie Infrarouge (IR).

Un spectromètre du type Perkin Elmer FT-IR 1720 X est utilisé pour l'obtention des spectres IR, avec une résolution de 2 cm⁻¹. Les composés cristallins sont analysés dans une pastille de KBr (puriss p.a., Fluka, Buchs) et les composés liquides sous forme de film entre deux plaques de KBr. Les bandes d'absorption sont données en longueur d'onde entre 4000 et 400 cm⁻¹ et catégorisées selon leur intensité (découpage en trois parties égales du spectre) avec les abréviations *vs* (pour la plus intense), *s* (pour forte), *m* (pour moyenne) et *w* (pour faible); l'abréviation *br* signifie que l'absorption est très large.

2.1.1.3 Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN).

Les mesures RMN pour les spectres ¹H à 200 MHz, ¹³C à 50 MHz et ¹⁹F à 188 MHz sont effectuées avec un spectromètre Gemini XL-200 de Varian et les spectres ¹H à 400 MHz, ¹³C à 100 MHz sont effectués avec un spectromètre Bruker AMX-400. Les mesures sont effectuées à 298 K et le solvant et la fréquence utilisés sont précisés pour chaque produit. Les déplacements chimiques sont donnés par rapport aux standards externes tétraméthylsilane ($\delta_H = 0.00$ ppm et $\delta_C = 0.0$ ppm) et acide trifluoroacétique ($\delta_F = 0.0$ ppm; δ_F (CFCl₃) = - 81.33 ppm). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm dans l'ordre croissant et les constantes de couplage sont données en Hz. La multiplicité des signaux est donnée avec les abréviations *s* (singulet), *d* (doublet), *t* (triplet), *q* (quartet), *qt* (quinuplet), *hept* (heptuplet), *m* (multiplet); l'abréviation *l* signifie que le signal est large; la multiplicité entre guillemets indique un défaut du système de couplage; la multiplicité donnée entre parenthèses après un multiplet *m* indique une multiplicité identifiable mais de trop faible résolution pour être décrite. Les expériences supplémentaires (HETCOR (*short range* si rien n'est spécifié), HETCOR SR, HETCOR LR, COSY, DEPT) sont notées entre parenthèses pour chaque composé pour lequel elles ont été effectuées afin d'interpréter les spectres. La numérotation des atomes de carbone est pour la chaîne principale celle définie par le nom systématique donné puis continue par les substituants liés par un atome de carbone en commençant par celui lié sur le carbone de plus petit nombre, sur le même carbone le substituant avec la plus longue chaîne carbonée prend la priorité, puis se termine par les substituants liés par un hétéroatome en commençant par celui lié sur le carbone de plus petit nombre; s'il y a un contre-ion celui-ci est numéroté finalement à la suite.

2.1.1.4 Spectroscopie de masse (MS).

Les mesures de spectroscopie de masse sont effectuées sur un spectromètre Nermag RC 30-10 pour l'ionisation à impact électronique (EI) avec une énergie de 70 eV et ionisation chimique (DCI) avec l'ammoniac. Les mesures par ionisation électro-spray (ESI) sont effectuées sur un appareil Finnigan LCQ. Les pics sont donnés en m/e et leur intensité en pour-cent du pic de base. Les spectres de masse haute résolution (HR-MS) sont effectués à l'université de Fribourg (Suisse) sur un spectromètre Bruker BioAPEX II Daltonics. Si la technique d'ionisation n'est pas spécifiée, elle est par électro-spray; la valeur donnée entre parenthèse est celle se rapprochant le plus de la valeur mesurée et correspond à la formule brute du ion mesuré.

2.1.1.5 Analyses élémentaires.

Les analyses élémentaires CHN sont effectuées par Ciba-Specialties SA (département *Kunststoffe und Additive*) à Marly (Suisse). Les pourcentages sont donnés pour chaque atome mesuré et la valeur calculée en fonction de la formule brute est indiquée entre parenthèses.

2.1.1.6 Point de fusion.

Les points de fusion sont mesurés dans un capillaire à point de fusion avec un appareil Büchi B 510 à bain d'huile et les valeurs ne sont pas corrigées.

2.1.1.7 Verreries, agitation, système de chauffage et de refroidissement et techniques.

Les réactions sont conduites sous une légère surpression d'azote et les réactions sous conditions anhydres sont réalisées dans une verrerie lavée à l'acétone et séchée dans une étuve à 130°C pendant au moins 2 h, montée à chaud et refroidie sous atmosphère d'azote. Les réactions sont agitées par des barreaux magnétiques recouverts de Téflon mus par un agitateur magnétique. Les réactions sont refroidies soit par un bain de glace soit par un bain d'acétone et azote liquide; la température est mesurée dans le bain. Les réactions sont chauffées par un bain de polyéthylène glycol jusqu'à une température de 190°C. Les hydrogénations sont conduites dans un appareillage intégrant une agitation mécanique et un réservoir maintenant la pression d'hydrogène constante (*Parr Hydrogenation Apparatus*). Le tube de Schlenk prévu pour réaction sous légère surpression est spécialement conçu en verre épais avec un robinet et un bouchon vissé en Téflon.

2.1.2 Produits.

2.1.2.1 Solvants standards.

Les solvants pour les chromatographies ainsi que pour les extractions sont de qualité technique et sont distillés sur un agent desiccant.

<u>Solvant</u>	<u>agent déshydratant</u>
Acétate d'éthyle (AcOEt)	K ₂ CO ₃
Chloroforme (CHCl ₃)	CaCl ₂
Dichlorométhane (CH ₂ Cl ₂)	CaCl ₂
Diéthyléther	CaCl ₂
Ethanol (EtOH)	CaO
Heptane	CaCl ₂
Hexane	CaCl ₂
Isopropanol	CaO
Méthanol (MeOH)	CaO
Pentane	CaCl ₂

Les solvants des réactions sont des solvants de qualité puriss (Fluka, Buchs) de même que les solvants de recristallisation sauf le tétrahydrofurane qui est de qualité purum (Fluka, Buchs) et est distillé sur potassium et benzophénone, le chloroforme sans éthanol qui est de qualité purum (Fluka, Buchs), le pentane qui est séché une seconde fois sur NaH et l'éther sur LiAlH₄.

2.1.2.2 Produits chimiques.

Produits chimiques	qualité	provenance
Acétoacétate de benzyle	pract.	Fluka
Acétoacétate de <i>tert</i> -butyle	purum	Fluka
Acide 5-aminovalérique	purum	Fluka
Acide borique	puriss p.a.	Fluka
Acide 4-bromobutyrique	purum	Fluka
Acide 3-bromopropionique	puriss	Fluka
Acide 5-bromovalérique	purum	Fluka
Acide chlorhydrique (HCl)	32%	Prochimie
Acide 3-chloroperbenzoïque	pract. ~70%	Fluka
Acide lévulinique	purum	Fluka
Acide 3-nitropropionique	purum	Fluka
Acide 4-penténoïque	97%	Aldrich
Acide sulfurique (H ₂ SO ₄)	96%	Prochimie
Acide thiobenzoïque	pract.	Fluka
Acide <i>para</i> -toluènesulfonique monohydrate	puriss	Fluka
Alcool benzylique	puriss p.a.	Fluka
Alumine neutre	ICN Biomedicals	
Ammoniac (NH ₃) gaz		Lonza
Ammoniac (NH ₃) (dans H ₂ O)	24%	Prochimie
Anhydride succinique	puriss	Fluka
Anhydride tétrafluorosuccinique	97%	Fluorochem
Anhydride trifluoroacétique	purum	Fluka
Azélate de diméthyle	pract.	Fluka
Azote (N ₂) 50	>99.999%	Carbagaz
Azoture de sodium	purum p.a.	Fluka
Benzophénone	purum	Fluka
Benzylcarbazate		Acros
Benzyle méthyle amine	purum	Fluka
Bromoacétate de benzyle	pract.	Fluka
Bromoacétate de méthyle	purum	Fluka
Bromoacétate d'éthyle	pract.	Fluka
4-Bromobutyrate d'éthyle	purum	Fluka
3-Bromopropionate de méthyle	purum	Fluka
α -Bromopropiophénone	puriss	Fluka
<i>N</i> -Bromosuccinimide	purum	Fluka
5-Bromovalérate de méthyle	purum	Fluka
Bromure de lithium (LiBr)	purum p.a.	Fluka
Bromure de phénacyle	puriss	Fluka
<i>tert</i> -Butanolate de potassium	pract.	Fluka
<i>tert</i> -Butylcarbazate	purum	Fluka
<i>n</i> -Butyllithium 1.6 M (hexane)	pract.	Fluka
<i>N</i> -(<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl)-glycine (BOC-glycine)	puriss	Fluka
Carbonate de potassium anhydre (K ₂ CO ₃)	puriss p.a.	Fluka
Chloroacétone	pract.	Fluka
Chlorure d'ammonium (NH ₄ Cl)	purum p.a.	Fluka

Chlorure de 6-bromohexanyle	purum	Fluka
Chlorure de calcium déshydraté (CaCl ₂) (<i>granulated</i>)	purum	Fluka
Chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle	purum	Fluka
Chlorure de sodium (NaCl)		Prochimie
Chlorure de magnésium anhydre	purum	Fluka
Chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle	puriss p.a.	Fluka
Chlorure de méthylmagnésium (3 M dans THF)	pract.	Fluka
Chlorure de <i>para</i> -toluènesulfonyle	puriss	Fluka
Chlorure de zinc (ZnCl ₂)	puriss p.a.	Fluka
Chlorure d'hydroxylammonium	purum p.a.	Fluka
Chlorure d'oxalyle	purum	Fluka
Cyanure de cuivre (I) (CuCN)	purum p.a.	Fluka
Cycloheptanone	purum	Fluka
Cyclohexanone	puriss p.a.	Fluka
Cyclooctanone	purum	Fluka
Dihydrogénophosphate de sodium (NaH ₂ PO ₄)	purum p.a.	Fluka
<i>N,N'</i> -Dicyclohexylcarbodiimide (DCC)	puriss	Fluka
1,1'-(Diimidazol)carbonyle	purum	Fluka
Diméthylamine 40% (H ₂ O)	purum	Fluka
4-(<i>N,N</i> -Diméthylamino)pyridine	purum	Fluka
Diisopropylamine	puriss	Fluka
Diisopropylcétone	purum	Fluka
Estérase de foie de truie (PLE)	130 U/mg 19 U/mg	Fluka Sigma
Ethanolate de sodium	pract.	Fluka
Éther couronne (<i>18-crown-6</i>)	purum	Fluka
Ethylate de magnésium	pract.	Fluka
<i>N</i> -Ethyl-diisopropylamine	purum	Fluka
Fluorure de potassium	puriss p.a.	Fluka
Fluorure d'hydrogène pyridine	70% / 30%	Fluka
Glycine	98%	Aldrich
Hexaméthylphosphoramide	purum	Fluka
Hydrogène (H ₂)	> 99.5	Carbagaz
Hydrogénocarbonate de potassium (KHCO ₃)	puriss p.a.	Fluka
Hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO ₃)	puriss p.a.	Fluka
Hydrogénophosphate de disodium (Na ₂ HPO ₄)	puriss p.a.	Fluka
Hydrogénosulfate de potassium (KHSO ₄)	purum p.a.	Fluka
Hydroxyde de potassium	87%	Prochimie
Hydroxyde de sodium	purum	Fluka
Hydruure de lithium et aluminium (LiAlH ₄)	purum	Fluka
Hydruure de sodium (NaH)	dispersion ~60% dans paraffine	Fluka
Iodométhane	puriss	Fluka
Iodure de potassium	purum p.a.	Fluka
Lévalinate de méthyle	purum	Fluka
Lithium (ribbon)	99.9	Aldrich
Malonate de benzyle	parct.	Fluka
Malonate de <i>tert</i> -butyle	purum	Fluka
Malonate d'éthyle	puriss	Fluka
Méthanthiolate de sodium	pract.	Fluka

Méthylamine 8.03 M (EtOH)	purum	Fluka
3-Méthylcyclohexanone	purum	Fluka
Méthyle vinyle cétone (3-butène-2-one)	purum	Fluka
Méthyllithium 1.6 M (diéthyléther)	purum	Fluka
<i>N</i> -Méthyl- <i>N</i> -nitroso- <i>para</i> -toluènesulfonamide (Diazald [®])	purum	Fluka
<i>N</i> -Morpholine cyclohexène	98%	Aldrich
Naphtalène	puriss	Fluka
Nitrite d'argent	purum p.a.	Fluka
Oxyde de calcium (fragments from roarble)		Fluka
Palladium sur charbon actif 10%	puriss	Fluka
Pentandione	pract.	Fluka
<i>trans</i> -3-Pentènonitrile	95%	Aldrich
Potassium	purum	Fluka
Potassium méthylate	pract.	Fluka
Subérate de diméthyle	99%	Aldrich
Succinate d'éthyle	purum	Fluka
Sulfate de magnésium 0.5 H ₂ O (MgSO ₄)		Sigfried
Tamis moléculaire Union Carbide (3 Å)		Fluka
<i>bis</i> (Tétrafluoroborate) de 1-Chlorométhyl-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octane (selectfluor)	purum	Fluka
Triéthylamine	puriss	Fluka
Trifluoroacétate d'éthyle	puriss	Fluka
Trifluoroborate éthérate	purum	Fluka
2-(Triméthylsilyloxy)propène	pract.	Fluka

Une solution de diazométhane (attention explosif! utiliser une verrerie appropriée) dans l'éther est préparé à partir d'une solution de 5 g (23 mmol) *N*-méthyl-*N*-nitroso-*para*-toluènesulfonamide dans 50 ml d'éther qui est coulée goutte à goutte au même débit que la distillation sur une solution chauffée à 65°C contenant 2.5 g (39 mmol) KOH 87%, 4 ml d'eau, 14 ml de 2-(2-éthoxyéthoxy)éthanol et 8 ml d'éther. Lorsque la solution est entièrement coulée, 15 ml de diéthyléther sont ajoutés goutte à goutte. La solution jaune de diazométhane dans l'éther est condensée et récupérée dans un ballon refroidi à -20°C. Elle est titrée par traitement de 1 mmol d'acide acétique dans 2 ml de diéthyléther jusqu'à ce que la couleur jaune persiste. Toutes les solutions contenant du diazométhane indésirable sont traitées à l'acide acétique.

L'hydruure de sodium 60 % dispersé dans l'huile (1-2 g) est placé dans un tube de Schlenk muni d'un septum sous azote et est lavé avec 3 fois 20 ml de pentane séché sur hydruure de sodium. Chaque fois la suspension est laissée décanter et un maximum de pentane est éliminé. L'hydruure de sodium est séché 10 min à la pompe à huile puis est stocké sous azote pas plus de 15 jours. L'hydruure excédentaire est détruit dans l'isopropanol sec par adjonction de très petites quantités et sous agitation.

Le chlorure de 4-carboxy-2-oxo-butylammonium (δ -ALA-HCl) est synthétisé par hydrolyse acide du 5-phthalimidolévulinate de méthyle qui est obtenu par substitution du 5-bromolévulinate de méthyle (55) en présence de phthalimide de potassium; le 5-bromolévulinate de méthyle (55) [146,147] est obtenu par bromation dans le méthanol de l'acide lévulinique (voir Greppi [158] pp. 141-148).

Le 3-hydroxylévulinate de méthyle (78) et le 4-(triméthylsilyloxy)-3-penténoate de méthyle (79) sont un don du Dr. Bobál, le 4,6-dioxoheptanoate de méthyle (103) est un don du Dr. Engeloeh et le sel de tosylate de la benzyle glycine (252) est un don de Mme Soldermann.

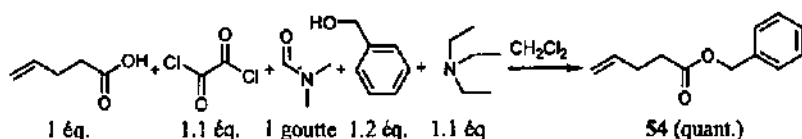
2.2 Synthèses.

2.2.1 Synthèses des analogues de substrats.

2.2.1.1 Synthèses des analogues fluorés de substrat.

2.2.1.1.1 Synthèses des analogues de substrat fluorés en position 5.

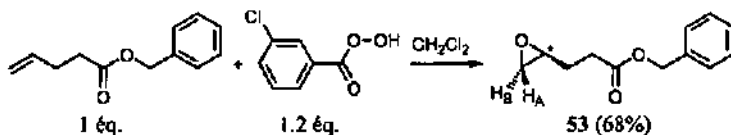
Synthèse du 4-penténoate de benzyle (54).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 2.8 g (28.5 mmol) d'acide 4-penténoïque, 30 ml de dichlorométhane et 1 goutte de diméthylformamide. Au mélange refroidi par un bain de glace sont ajoutés sur une durée de 30 min 4.0 g (31.4 mmol) de chlorure d'oxalyle. Après 3 h d'agitation à T.a., le mélange réactionnel est refroidi par un bain de glace et 3.7 g (34.3 mmol) d'alcool benzyle sont ajoutés puis, goutte à goutte, 3.2 g (31.4 mmol) de triéthylamine. La solution est agité 16 h à T.a. et un précipité blanc apparaît. Le mélange réactionnel est augmenté de 30 ml de dichlorométhane et est lavé avec 30 ml d'eau, 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl, 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO_3 puis 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le liquide incolore obtenu est séparé par flash colonne chromatographique (pentane - CH_2Cl_2 2 : 1, h = 25 cm, ϕ = 3 cm) pour obtenir 5.4 g (quant.) d'un liquide incolore.

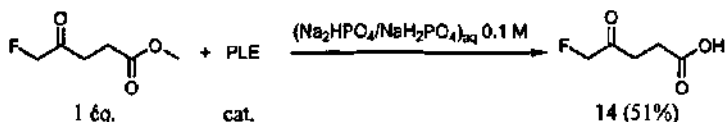
$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$ (190.24); R_f (pentane - CH_2Cl_2 2 : 1, KMnO_4) = 0.53; IR (film) : 3068w, 3035w, 2923m, 1737vs, 1642m, 1455m, 1383m, 1352m, 1259m, 1164s, 1102m, 1028m, 915m, 736m, 698m; $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3) : 2.34-5.3 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C}(2, 3)$); 5.01 (dd, $^3J_{5E,4} = 10.3$, $^2J_{5E,5Z} = 1.5$, 1H, $\text{H}_2\text{C}(5)$); 5.06 (dd, $^3J_{3Z,4} = 17.3$, $^2J_{3Z,3E} = 1.5$, 1H, $\text{HC}(5)$); 5.13 (s, 2H, $\text{H}_2\text{C}(6)$); 5.83 (ddt, $^3J_{4,5Z} = 16.8$, $^3J_{4,3E} = 10.2$, $^2J_{4,3} = 6.2$, 1H, $\text{HC}(4)$); 7.31-38 (m, 5H, $\text{HC}(8-12)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (50 MHz, CDCl_3) : 28.8, 33.5 C(2), C(3); 66.2 C(6); 115.5 C(5); 128.2, 128.5 C(8-12); 136.0, 136.5 C(4), C(7); 172.8 C(1).

Synthèse du 4,5-époxy-penténoate de benzyle (53).



131 (20), 117 (74, [M-CH₃O]⁺), 116 (14), 115 (83, [M-CH₂F]⁺), 100(42, [M-C₂H₅F]⁺), 99 (10), 87 (26, [M-C₂H₂FO]⁺), 61 (37, [C₂H₂FO]⁺), 59 (46), 55 (90).

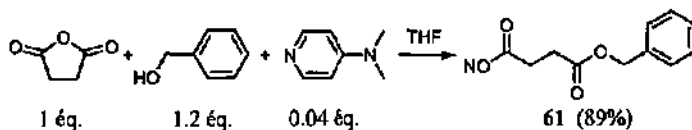
Synthèse de l'acide 5-fluorolévulinique (14).



Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 2.8 g (18.9 mmol) de 5-fluorolévulinate de méthyle (56), 50 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8 et 0.5 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 5 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.5 M. Après 30 h, le milieu réactionnel est amené à pH 9, extrait avec 25 ml de diéthyléther puis est acidifié à pH 1.5 par adjonction de HCl conc. La solution est saturée en NaCl, extraite avec 50 ml de diéthyléther et cela 5 fois puis 5 fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.22 g (89%) de produit brut qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 95 : 5, h = 20 cm, φ = 2 cm) pour donner 1.45 g (58%) de produit recristallisé dans le benzène chaud pour obtenir 1.28 g (51%) d'un solide blanc.

C₅H₇FO₃ (134.11) : C 44.73 (44.78), H 5.28 (5.26); R_f (AcOH - hexane 4 : 1, KMnO₄) = 0.19; p. f. = 58-59°C; IR (KBr) : 3700-2400_m(br) (3451), 2937_m, 1733_{vs}, 1399_m, 1213_m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO) : 2.48-2.54 (m, 2H, H₂C(2)); 2.65 (s(l), 2H, H₂C(3)); 5.06 (d, ²J_{S-F} = 47.1, 2H, H₂C(5)); 12.0-12.4 (s(l), 1H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : 27.2 C(2); 32.4 C(3); 85.0 (d, ¹J_{S-F} = 179, 1C, C(5)); 173.8 C(1); 205.0 (d, ²J_{A-F} = 16, 1C, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : 6.60 (t, ²J_{F5-H5} = 47.7, FC(5)); MS (DCI) : 153 (11), 152 (100, [M+NH₄]⁺), 134 (19, [M]⁺), 117 (18, [M-OH]⁺), 101 (5, [M-CH₂F]⁺), 100(5), 55 (25); MS (EI) : 117 (9, [M-OH]⁺), 101 (100, [M-CH₂F]⁺), 73 (33, [C₃H₅O₂]⁺), 61 (26, [C₂H₂FO]⁺), 56 (10), 55 (75).

Synthèse du succinate de monobenzyle (61).

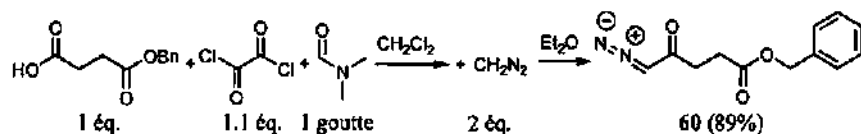


Selon le mode opératoire de Sharma, Miller et Payne [150] sont introduits dans un bicol de 100 ml 7.86 g (78.5 mmol) d'anhydride succinique, 400 mg (3.3 mmol) 4-(N,N-diméthylamino)pyridine, 60 ml de tétrahydrofurane et 10.19 g (94.2 mmol) de benzyle alcool. Le mélange réactionnel est chauffé 15 h à reflux puis refroidi à T.a. et acidifié avec une solution aqueuse 1M de HCl. La solution est partiellement évaporée, puis extraite avec 2 fois 50 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont extraites avec 4 fois 100 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃. Les phases aqueuses sont acidifiées avec HCl conc. et extraites avec 4 fois 100 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées sur

MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le résidu est précipité dans l'hexane et sont obtenus 13.4 g (89%) d'un solide blanc.

C₁₁H₁₂O₄ (192.21); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 10 : 1 : 1, UV₂₅₄) = 0.54; p.f. = 57-58°C (lit. [150] 56-57°C); IR (film) : 3700-2300m(br), 3093w, 3060m, 3026m, 2928m, 1737vs, 1728s, 1713s, 1692s, 1455m, 1426m, 1389m, 1360s, 1346m, 1260s, 1247s, 1178s, 1008m, 997m, 983m, 971m, 945m, 912m, 893m, 733s, 697s, 478m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 2.65-75 (m, 4H, H₂C(2, 3)); 5.16 (s, 2H, H₂C(5)); 7.32-40 (m, 5H, HC(7-11)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 28.8, 29.9 C(2), C(3); 66.6 C(5); 128.2, 128.5 C(7, 11), C(8, 10); 128.3 C(9); 135.6 C(6); 172.0 C(4); 178.5 C(1).

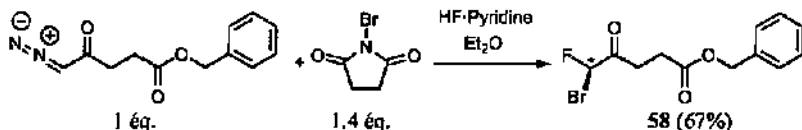
Synthèse du 5-diazolévulinate de benzyle (60).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 2.08 g (10 mmol) de succinate de monobenzyle (61), 50 ml de dichlorométhane et 1 goutte de diméthylformamide. La solution est refroidie par un bain de glace et 1.4 g (11 mmol) de chlorure d'oxalyle est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 30 min à 0°C et 3 h à T.a. puis est évaporé à sec grâce à une trompe à eau. Le résidu est repris dans 20 ml de diéthyléther et la solution est ajoutée sur 60 ml (20 mmol) d'une solution 0.33 M de diazométhane dans le diéthyléther refroidie par un bain de glace. Le milieu réactionnel est agité 1 h à 0°C et 15 h à T.a. puis est évaporé à sec. Sont obtenus 2.34 g (>100%) d'un liquide jaune qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 25 cm, φ = 3.5 cm) pour donner 2.07 g (89%) d'un liquide jaune.

C₁₂H₁₃N₂O₃ (233.25); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.48; IR (film) : 3099w, 3035w, 2953w, 2106vs, 1736s, 1645s, 1380s, 1351s, 1323m, 1260m, 1211m, 1159s, 1105m, 700m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.58-2.65 (m(l), 2H, H₂C(3)); 2.67-2.70 (m, 2H, H₂C(2)); 3.10 (s, 2H, H₂C(6)); 5.28 (s(l), 1H, HC(5)); 7.27-7.37 (m, 5H, HC(8-12)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 28.5 C(2); 34.7 C(3); 54.3 C(5); 66.2 C(6); 127.9, 128.3 C(8, 12), C(9, 11); 128.0 C(10); 135.6 C(7); 172.1 C(1); 192.5 C(4); MS (ESI(+)) : ms 255 [M+Na]⁺, ms-ms 227 [M+Na-N₂]⁺.

Synthèse du 5-bromo-5-fluorolévulinate de benzyle (58).

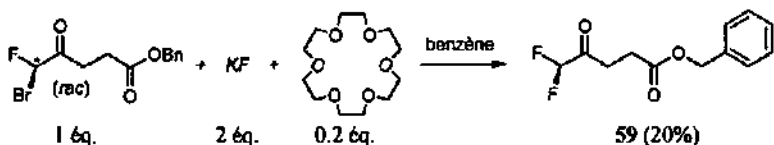


Dans un récipient de 100 ml en polyéthylène haute densité (HDPE) sont introduits 4.98 g (28 mmol) de N-bromosuccinimide et à -15°C, 25 ml de HF-pyridine. Sont ajoutés sur 15 min 4.67 g (20 mmol) de 5-diazolévulinate de benzyle (60) dans 20 ml de diéthyléther. Le milieu

réactionnel est agité 30 min à -15°C et 2 h à T.a. puis est versé sur 40 ml d'eau et augmenté de 50 ml de pentane. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 75 ml de pentane. Les phases organiques rassemblées sont traitées avec du KF anhydre, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 5.06 g (83%) d'un liquide orange qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3.5 cm) pour donner 4.08 g (67%) d'un liquide incolore.

$C_{12}H_{12}BrFO_3$ (303.13); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.77; IR (film) : 3066w, 3034w, 2955w, 1736vs, 1389m, 1353m, 1260m, 1191s, 1174m, 1106m, 1062m, 752m, 700m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.73 (dt, ²J_{2A-2B} = 17.5, ³J_{2A-3A} ≡ ³J_{2A-3B} ≡ 6.5, 1H, H_AC(2)); 2.78 (ddd, ²J_{2B-2A} = 17.6, ³J_{2B-3A} = 6.1, ³J_{2B-3B} = 7.3, 1H, H_BC(2)); 3.03 (ddd, ²J_{3A-3B} = 18.8, ³J_{3A-2A} ≡ ³J_{3A-2B} ≡ 6.2, ⁴J_{3A-F} = 2.4, 1H, H_AC(3)); 3.05-3.13 (m, 1H, H_BC(3)); 5.14 (s(l), 2H, H₂C(6)); 6.61 (d, ²J_{5-F} = 51.3, 1H, HC(5)); 7.32-7.44 (m, 5H, HC(8-12)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 27.5 C(2); 30.2 C(3); 66.7 C(6); 87.2 (d, ¹J_{5-F} = 268, 1C, C(5); 128.2, 128.5 C(8, 12), C(9, 11); 128.3 C(10); 135.5 C(7); 171.7 C(1); 198.2 (d, ²J_{4-F} = 24, 1C, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : - 74.90 (d, ²J_{F-5} = 51.3, 1F, FC(5)).

Synthèse du 5,5-difluorolévélinatate de benzyle (59).

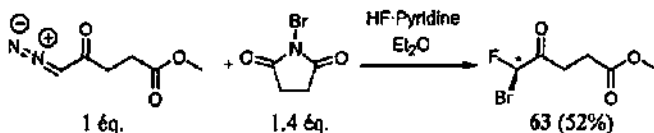


Dans un bicol de 10 ml sont introduits 232 mg (4 mmol) de fluorure de potassium, 106 mg (0.4 mmol) d'éther couronne 18-crown-6 et 3 ml de benzène. Après 15 min d'agitation, une solution de 606 mg (2 mmol) de 5-bromo-5-fluorolévélinatate de benzyle (58) dans 3 ml de benzène est ajoutée. La solution devient brune et est chauffée à reflux pendant 5 h. Le milieu réactionnel est versé sur 20 ml d'eau et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 30 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 440 mg (91%) d'un liquide brun qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, ϕ = 2.5 cm) pour donner 95 mg (20%) d'un liquide incolore (GC(P2) 87%, t_R = 16.9).

$C_{12}H_{12}F_2O_3$ (242.22) HR-MS [M+Na] 265.06477 (265.06467); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.59; IR (film) : 3068w, 3035w, 2955w, 1737vs, 1456m, 1413m, 1391m, 1350m, 1315m, 1261m, 1207s, 1175s, 1099s, 1030m, 1004m, 753m, 699m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.74 (t, ³J₂₋₃ = 6.4, 2H, H₂C(2)); 2.99 (m, ³J₃₋₂ ≡ 6.4, 2H, H₂C(3)); 5.13 (s, 3H, H₃C(6)); 5.76 (t, ²J_{5-F} = 53.8, 1H, HC(5)); 7.31-7.40 (m, 5H, HC(8-12)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 26.9 C(2); 31.0 C(3); 66.7 C(6); 109.6 (t, ¹J_{5-F} = 252, 1C, C(5); 128.2, 128.5 C(8, 12), C(9, 11); 128.3 C(10); 135.5 C(7); 171.6 C(1); 198.2 (t, ²J_{4-F} = 27, 1C, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : - 49.74 (d, ²J_{F-5} = 54.1, 2F, F₂C(5)).

$C_6H_9ND_3$ (156.14); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.38; IR (film) : 3098_m, 3000_w, 2955_m, 2850_w, 2109_s, 1739_s, 1651_{vs}, 1645_s, 1439_s, 1385_s, 1361_s, 1324_s, 1263_m, 1212_s, 1164_s, 1108_s, 1027_m, 990_m, 894_m, 844_m, 492_m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.54 (m, 4H, H₂C(2, 3)); 3.57 (s, 3H, H₃C(6)); 5.31 (s(l), 1H, HC(5)) (voir discussion); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 28.1 C(2); 34.7 C(3); 51.5 C(6); 54.3 C(5); 172.7 C(1); 192.6 C(4); MS (ESI(+)) : ms 179 [M+Na]⁺, 157 [M+1]⁺, 129 [M+1-N₂]⁺, ms-ms (157) 129 [M+1-N₂]⁺, ms-ms-ms (157, 129) 101 [M+1-N₂-CO]⁺, 97 [M+1-N₂-CH₄O]⁺, ms-ms-ms-ms (157, 129, 101) 59.

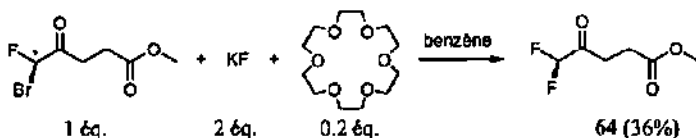
Synthèse du 5-bromo-5-fluorolévulinatate de méthyle (63).



Dans un r\u00e9cipient de 100 ml en poly\u00e9thyl\u00e8ne haute densit\u00e9 (HDPE) sont introduits 6.23 g (35 mmol) de *N*-bromosuccinimide et \u00e0 -15\u00b0C, 25 ml de HF-pyridine. Sont ajout\u00e9s sur 15 min 3.9 g (25 mmol) de 5-diazol\u00e9vulinatate de m\u00e9thyle (62) dans 50 ml de di\u00e9thyl\u00e8ther. Le milieu r\u00e9actionnel est agit\u00e9 30 min \u00e0 -15\u00b0C et 2 h \u00e0 T.a. puis est vers\u00e9 sur 40 ml d'eau et augment\u00e9 de 40 ml de pentane. La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 50 ml de chloroforme. Les phases organiques rassembl\u00e9es sont trait\u00e9es avec du KF anhydre, filtr\u00e9es et le solvant est \u00e9limin\u00e9 par \u00e9vaporation rotative. Sont obtenus 4.15 g (73%) d'un liquide orange qui sont s\u00e9par\u00e9s par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, \u03c6 = 3.5 cm) pour donner 2.95 g (52%) d'un liquide incolore.

$C_6H_8BrFO_3$ (227.03); HR-MS [M+Na] : 248.95344 (248.95330), 250.95113 (250.95125); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.57; IR (film) : 3004_w, 2956_m, 2852_w, 1735_{vs}, 1440_s, 1413_m, 1363_s, 1320_m, 1266_m, 1212_s, 1180_s, 1107_m, 1063_s, 1019_m, 989_m, 695_m, 667_m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.59-2.70 (m, 2H, H₂C(2)); 2.93-3.05 (m, 2H, H₂C(3)); 3.64 (m, 3H, H₃C(6)); 6.60 (d, ²J_{F,H} = 51.3, 1H, HC(5)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 27.1 C(2); 30.2 C(3); 51.9 C(6); 87.2 (d, ²J_{F,C} = 268, 1C, C(5)); 172.3 C(1); 198.1 (d, ²J_{F,C} = 24, 1C, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : - 74.98 (d, ²J_{F,C} = 51.3, 1F, FC(5)); MS (ESI(+)) : ms 229, 227 [M+1]⁺, 197, 195 [M+1-CH₄O]⁺ ms-ms (229, 227) 197, 195 [M+1-CH₄O]⁺ ms-ms-ms ((229, 227), (197, 195)) 177, 175 [M+1-CH₄O-HF]⁺, 169, 167 [M+1-CH₄O-CO]⁺, 149, 147 [M+1-CH₄O-HF-CO]⁺, 121, 119 [M+1-CH₄O-HF-CO-C₂H₄]⁺.

Synth\u00e8se du 5,5-difluorol\u00e9vulinatate de m\u00e9thyle (64).

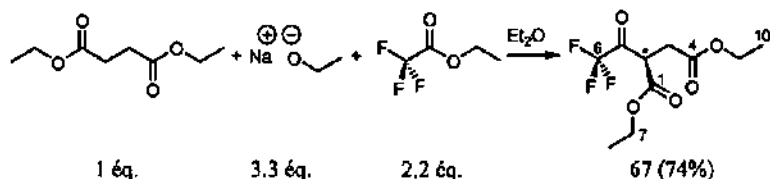


Dans un bicol de 10 ml sont introduits 581 mg (10 mmol) de fluorure de potassium, 529 mg (2 mmol) d'\u00e9ther couronne 18-crown-6 et 4 ml de benz\u00e8ne. Puis une solution de 1.14 g (5 mmol) de 5-bromo-5-fluorol\u00e9vulinatate de m\u00e9thyle (63) dans 4 ml de benz\u00e8ne est ajout\u00e9e goutte

à goutte. Le milieu réactionnel est chauffé à 80°C pendant 5 h puis est refroidi, versé sur 30 ml d'eau et augmenté de 40 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 40 ml de diéthyléther. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 700 mg (84%) d'un liquide brun qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 25 cm, φ = 2.5 cm) pour donner 300 mg (36%) d'un liquide incolore.

C₆H₈F₂O₃ (166.12); HR-MS [M+Na]⁺ : 189.03325 (189.03337); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.54; IR (film) : 3002_w, 2960_w, 2855_w, 1737_{vs}, 1441_s, 1416_m, 1401_m, 1368_m, 1322_m, 1218_s, 1180_s, 1100_s, 1068_s, 1024_m, 990_m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 2.69 (t, ³J₂₋₃ = 6.4, 2H, H₂C(2)); 2.94-3.02 (m, 2H, H₂C(3)); 3.70 (s, 3H, H₃C(6)); 5.78 (t, ³J_{5-F} = 53.8, 1H, HC(5)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 26.7 C(2); 31.1 C(3); 51.9 C(6); 109.6 (t, ¹J_{S-F} = 252, 1C, C(5)); 172.3 C(1); 198.2 (t, ²J_{4-F} = 26, 1C, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : -49.76 (d, ²J_{F-5} = 54.1, 2F, F₂C(5)); MS (ESI(+)) : ms 167 [M+1]⁺ ms-ms (167) 135 [M+1-CH₄O]⁺ ms-ms-ms (167, 135) 107 [M+1-CH₄O-CO]⁺.

Synthèse du 2-(trifluoroacétyl)succinate d'éthyle (67).

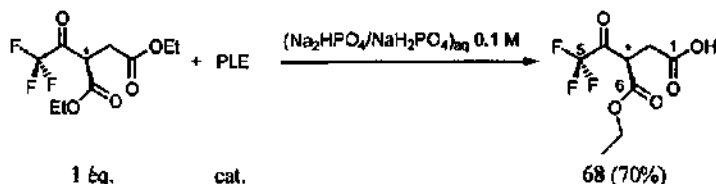


Selon le mode opératoire de Brown *et al.* [153] sont introduits, dans un tricol de 250 ml, 12.7 g (187 mmol) d'éthanolate de sodium, 100 ml de diéthyléther, 17.7 g (125 mmol) de trifluoroacétate d'éthyle et 9.7 g (56 mmol) d'éthyle succinate. La solution est chauffée à reflux pendant 16 h puis est versée sur 200 g de glace et acidifiée avec ~10 ml H₂SO₄ conc. Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite avec 2 fois 100 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 50 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 17 g (>100%) d'un liquide orangé distillé dans un Claisen avec colonne Vigreux (10 cm) à pression réduite. Sont obtenus 11.1 g (74%) d'un liquide incolore.

C₁₀H₁₃F₃O₅ (270.20); R_f (AcOEt - heptane 2 : 1, I₂) = 0.53; Eb.(0.5 mmHg) = 70-72°C (lit. [153] (0.2 mmHg) 70°C); IR (film) : 2988_w, 2944_w, 1771_m, 1741_s, 1449_m, 1418_m, 1378_m, 1348_m, 1268_s, 1161_{vs}, 1098_m, 1027_s, 969_m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 1.25 (t, ³J₈₋₇ ou 8-9 = 7.2, 3H, H₃C(8 ou 10)); 1.26 (t, ³J₁₀₋₉ ou 8-7 = 7.2, 3H, H₃C(10 ou 8)); 2.95 (dd, ²J_{3A-3B} = 17.8, ³J_{3A-2} = 5.4, 1H, H_AC(3)); 3.12 (dd, ²J_{3B-3A} = 17.6, ³J_{3B-2} = 9.6, 1H, H_BC(3)); 4.15 (q, ³J₉₋₁₀ = 7.3, 2H, H₂C(9)); 4.26 (q, ³J₇₋₈ = 7.3, 2H, H₂C(7)); 4.37 (dd, ²J_{2-3B} = 9.5, ³J_{2-3A} = 5.5, 1H, HC(2)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 13.7, 13.9 C(8), C(10); 32.5 C(3); 48.5 C(2); 61.6, 62.7 C(7), C(9); 115.1 (q, ²J_{C-F} = 291, 1C, C(6)); 166.1C(1); 170.0 C(4); 186.8 (q, ³J_{C-S-F} = 37, 1C, C(5)); ¹⁹F (188 MHz, CDCl₃) : -1.55 (s, 3F, F₃C(6)).

phosphate 0.1 M pH 8) : 2.02 (*t*, $^3J_{2,3} = 7.0$, 2H, H₂C(2)); 2.46 (*t*, $^1J_{3,2} = 7.0$, 2H, H₂C(3)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, D₂O (phosphate 0.1M pH 8)) : -10.10 (*s*, 3F, F₃C(5)). MS (EI) : 171 (3, [M+1]⁺), 153 (20, [M-OH]⁺); 126 (21, [M-CO₂]⁺), 101 (100; [C₄H₅O₃]⁺), 75 (11), 73 (42, [C₃H₅O₂]⁺), 69 (65, [CF₃]⁺), 57 (34), 56 (30), 55 (67).

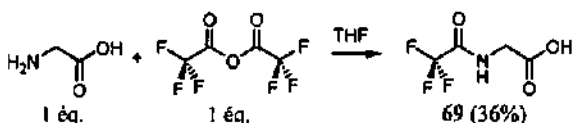
Synthèse de l'acide 3-éthoxycarbonyl-5,5,5-trifluorolévulinique (68).



Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 2.4 g (8.9 mmol) de 2-(trifluoroacétyl)succinate d'éthyle (67), 50 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8 et 0.5 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 5 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.5 M. Après 24 h, le milieu réactionnel est amené à pH 9, extrait avec 2 fois 20 ml de diéthyléther puis est acidifié à pH 1.5 par adjonction de HCl conc. La solution est saturée en NaCl, extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 6 fois. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le résidu sous forme d'une huile est distillé dans un four à boules à pression réduite. Sont obtenus 1.5 g (70%) d'un liquide incolore visqueux.

C₈H₉F₃O₅ (242.15) : C 39.69 (39.68), H 3.57 (3.75); R_f (AcOEt - hexane 4 : 1, KMnO₄) = 0.50; Eb. (0.04 mmHg) = 90-100°C; IR (film) : 3700-2400(*br*) (3350), 2992*m*, 1815*s*, 1740*s*, 1471*m*, 1449*m*, 1403*m*, 1380*s*, 1349*s*, 1264*s*, 1181*vs*, 1020*s*, 937*m*, 860*m*, 736*m*; ¹H-RMN (200 MHz, d₆-DMSO) : 1.22 (*t*, $^3J_{B-7A} = ^3J_{B-7B} = 7.1$, 3H, H₂C(8)); 2.95 (*dd*, $^2J_{2A-2B} = 18.3$, $^3J_{2A-3} = 9.7$, 1H, H_AC(2)); 3.19 (*dd*, $^2J_{2B-2A} = 18.2$, $^3J_{2B-3} = 8.2$, 1H, H_BC(2)); 3.83 (*dd*, $^3J_{3-2A} = 9.7$, $^3J_{3-2B} = 8.3$, 1H, HC(3)); 4.14 (*dq*, $^2J_{7A-7B} = 18.0$, $^3J_{7A-8} = 7.2$, 1H, H_AC(7)); 4.20 (*dq*, $^2J_{7B-7A} = 18.0$, $^3J_{7B-8} = 7.2$, 1H, H_BC(7)); ¹³C-RMN (50 MHz, d₆-DMSO) : 14.0 C(8); 30.7 C(2); 45.0 C(3); 61.4 C(7); 100.4 (*q*, $^2J_{4-F} = 35$, 1C, C(4)); 121.9 (*q*, $^1J_{5-F} = 286$, 1C, C(5)); 167.3 C(6); 172.3 C(1); ¹⁹F-RMN (188 MHz, d₆-DMSO) : -9.16; MS (EI) : 243 (62, [M+1]⁺), 226 (12), 225 (100, [M-HO]⁺), 197 (33, [M-C₂H₃O]⁺), 179 (13, [M-C₂H₇O₂]⁺), 169 (15, [M-C₃H₅O₂]⁺), 151 (23, [M-C₃H₇O₃]⁺), 145 (21, [M-C₂F₃O]⁺), 127 (11, [M-C₂H₂F₃O₂]⁺), 101 (24, [C₄H₅O₃]⁺), 99 (16), 73 (17), 69 (17, [CF₃]⁺), 55 (69).

Synthèse de la N-trifluoroacétylglycine (69).

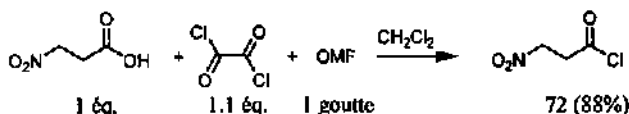


Dans un bicol de 100 ml est introduit 1.5 g (20 mmol) de glycine et 60 ml de tétrahydrofurane. Le milieu réactionnel est refroidi par un bain de glace et 4.2 mg (20 mmol) d'anhydride trifluoroacétique sont ajoutés sur 15 min. Après 1 h, le bain de glace est retiré et le milieu

réactionnel est agité 16 h à T.a. puis le solvant est éliminé par évaporation rotative et le résidu séché à la pompe à huile. Sont obtenus 3.35 g (98%) d'un solide blanc qui est recristallisé par dissolution dans le tétrahydrofurane puis adjonction biphasique de pentane pour donner 1.62 g (47%) puis à chaud dans le chloroforme pour donner 1.22 g (36%). Finalement un échantillon analytique est recristallisé à chaud dans le benzène.

$C_4H_4F_3NO_3$ (171.08); R_f (CH_2Cl_2 - AcOEt - MeOH 3 : 1 : 1, $KMnO_4$) = 0.39; p.f = 115-117°C (lit. [154] 117-118°C); IR (KBr): 3700-2500m(br) (3323), 2993w, 2950w, 1701vs, 1561m, 1409m, 1356m, 1273m, 1222s, 1188s, 1173s, 1018m, 741m, 698m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): 3.88 (d, $^3J_{2-HN}$ = 6.0, 2H, $H_2C(2)$); 9.79 (t(l), $^3J_{HN-2}$ = 5.2, 1H, HN); 12.5-13.3 (s(l), HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO): 40.9 C(2); 116.0 (q, $^4J_{4-F}$ = 288, 1C, C(4)); 156.8 (q, $^2J_{3-F}$ = 37, 1C, C(3)); 169.7 C(1); ^{19}F -RMN (188 MHz, $CDCl_3$): 0.72 (s, 3F, $F_3C(4)$); MS (ESI(-)): ms 170 [M-1], ms-ms (170) 126 [M-1-CO₂], 100 [M-1-HCF₃], 69 [CF₃].

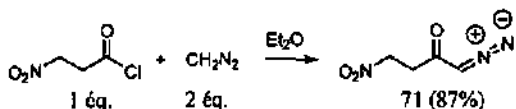
Synthèse du chlorure de 3-nitropropionyle (72).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 2.4 g (10 mmol) d'acide 3-nitropropionique, 40 ml de dichlorométhane et 1 goutte de diméthylformamide. La solution est refroidie par un bain de glace et 2.8 g (22 mmol) de chlorure d'oxalyle est ajouté sur 30 min. Le bain de glace est retiré et la réaction est agitée pendant 4 h à T.a. Le solvant est éliminé par l'action d'une trompe à eau avec piège d'azote liquide et le liquide orangé obtenu est distillé au four à boules sous pression réduite pour donner 2.35 g (88%) d'un liquide incolore.

$C_3H_4ClNO_3$ (137.52); Eb. (0.1 mmHg) = 60-70°C (lit. [155] (4 mmHg) 78°C); IR (film) : 3026m, 2979m, 2932m, 1788s, 1561vs, 1425s, 1378s, 1359s, 1246m, 1202m, 1070s, 1005s, 944s, 896m, 863s, 713s, 652m, 620m, 588m, 532m; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): 3.56 (t, $^3J_{2-3}$ = 5.9, 2H, $H_2C(2)$); 4.67 (t, $^3J_{3-2}$ = 5.9, 2H, $H_2C(3)$); ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): 42.6 C(2); 68.9 C(3); 170.9 C(1).

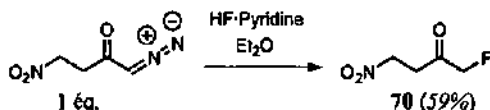
Synthèse de la 1-diazo-4-nitro-butanone (71).



Dans un bicol de 250 ml sont introduits 100 ml (30 mmol) d'une solution 0.3 M de diazométhane dans le diéthyléther et après refroidissement par un bain de glace, 2.06 g (15 mmol) de chlorure de 3-nitropropionyle (72) dans 15 ml de diéthyléther. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et 18 h à T.a. puis est évaporé à sec. Sont obtenus 2.2 g (>100%) d'un liquide jaune qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 3 : 1 → 5 : 2, h = 30 cm, ϕ = 3.5 cm) pour donner 1.88 g (87%) d'un liquide jaune qui est solide au réfrigérateur.

$C_4H_5N_3O_3$ (143.10); HR-MS [M+H]⁺ : 144.040383 (144.040365); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.37; p.f. < 20°C; IR (film) : 3109_w, 3028_w, 2971_w, 2924_w, 2113_{vs}, 1641_s, 1557_{vs}, 1421_m, 1392_s, 1341_m, 1322_s, 1143_m, 868_m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 2.94 (t), ³J_{3,4} ≅ 5.7, 2H, H₂C(3)); 4.65 (t, ³J_{4,5} = 6.0, 2H, H₂C(4)); 5.42 (s), 1H, HC(1)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 35.8 C(3); 55.4 (br) C(1); 69.2 C(4); 189.3 C(2); MS (ESI (+)) : 144 [M+1]⁺, 97 [M+1-HNO₂]⁺.

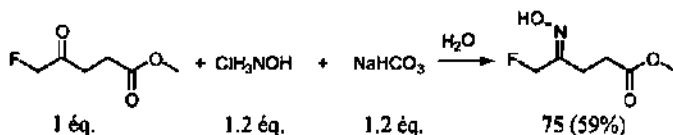
Synthèse du 1-fluoro-4-nitrobutan-2-one (70).



Dans un récipient de 50 ml en polyéthylène haute densité (HDPE) sont introduits à -15°C 10 ml de HF-pyridine. Est ajouté sur 30 min 1.43 g (10 mmol) de 1-diazo-4-nitrobutan-2-one (71) dans 15 ml de diéthyléther. Le milieu réactionnel est agité 2 h à T.a. puis est versé sur 20 ml d'eau et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont traitées avec du KF anhydre, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.4 g (>100%) d'un liquide orange qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 3 : 1, h = 30 cm, φ = 2.5 cm) pour donner 790 mg (59%) d'un liquide orangé qui n'est pur qu'à 89% molaire (¹H-RMN). Une synthèse alternative, évitant toute source d'éthyle, dans le chloroforme avec extraction de la phase aqueuse avec du chloroforme (6x50 ml) donne 610 mg (45%) de produit brut qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - CH₂Cl₂ 2 : 1, h = 30 cm, φ = 2.5 cm) pour donner 260 mg (19%) d'un liquide pur (GC (P1) >99%, t_R = 9.6).

$C_4H_6FNO_3$ (135.09); HR-MS [M+Na]⁺ : 158.02211 (158.02239); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.48; IR (film) : 3028_w, 2973_w, 2933_w, 1745_s, 1558_{vs}, 1427_m, 1398_m, 1378_s, 1082_m, 1045_m, 998_m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 3.25 (td, ³J_{3,4} = 5.9, ⁴J_{2,F} = 2.1, 2H, H₂C(3)); 4.72 (t, ³J_{4,5} = 6.0, 2H, H₂C(4)); 4.92 (d, ²J_{1,F} = 47.4, 2H, H₂C(1)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 34.4 C(3); 67.9 C(4); 84.7 (d, ¹J_{1,F} = 184, 1C, C(1)); 202.7 (d, ²J_{2,F} = 21, 1C, C(2)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : 8.16 (t, ²J_{F-HS} = 47.7, 1F, FC(5)); MS (ESI (+)) : 136 [M+1]⁺, 89 [M+1-HNO₂]⁺.

Synthèse du 5-fluoro-4-(hydroxylamino)-pentanoate de méthyle (75).

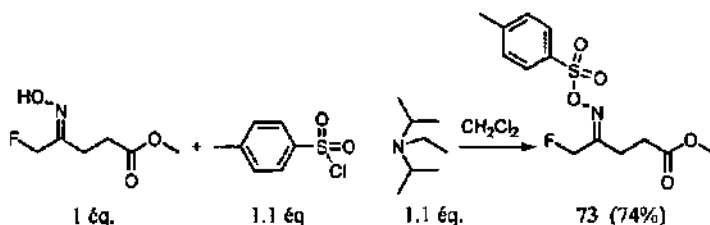


Dans un bicol de 100 ml sont introduits 2.9 g (19.6 mmol) de 5-fluorolévéulinate de méthyle (56), 30 ml d'eau et 1.63 g (23.5 mmol) de chlorure d'hydroxylammonium. Une solution de 1.97 g (23.5 mmol) de bicarbonate de sodium dans 40 ml d'eau est ajoutée sur 1 h. La solution est agitée pendant 1 h avant d'être saturée avec NaCl et extraite avec 5 fois 50 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées. Sont obtenus

3.13 g (98%) d'un liquide incolore dont 1.5 g du produit brut est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 1 : 1, h = 25 cm, ϕ = 1.5 cm). Sont obtenus 880 mg (59%) d'un liquide incolore.

$C_6H_{10}FO_3N$ (163.15) : C 44.20 (44.17), H 6.56 (6.18); R_f (AcOEt - heptane 4 : 1, $KMnO_4$) = 0.51; IR (KBr) : 3700-2600s(br) (3442), 2958m, 1739vs, 1441s, 1369m, 1315m, 1204s, 1175m, 1044m, 945m, 787m; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$, COSY) major. (E) (54%) : 2.64-2.68 (m, 2H, $H_2C(3)$); 2.72-2.76 (m, 2H, $H_2C(2)$); 3.69 (s, 3H, $H_3C(6)$); 4.91 (d, $^2J_{S,F} = 46.8$, 2H, $H_2C(5)$); 7.9-8.8 (s(l), 1H, HO); minor. (Z) (46%) : 2.57-2.61 (m, 2H, $H_2C(3)$); 2.67-2.71 (m, 2H, $H_2C(2)$); 3.68 (s, 3H, $H_3C(6)$); 5.30 (d, $^2J_{S,F} = 47.9$, 2H, $H_2C(5)$); 7.9-8.8 (s(l), 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$, DEPT, HETCOR) : major. 21.2 C(2); 29.5 C(3); 51.9 C(6); 82.8 (d, $^1J_{S,F} = 168$, C(5)); 155.7 (d, $^2J_{A,F} = 18$, C(4)); 173.1 C(1); minor. 24.8 (d, $^4J_{2,F} = 5$, C(2)); 30.0 (d, $^4J_{3,F} = 2$, C(3)); 51.8 C(6); 78.4 (d, $^1J_{S,F} = 168$, C(5)); 157.3 (d, $^2J_{A,F} = 22$, C(4)); 173.1 C(1); ^{19}F -RMN (188 MHz, $CDCl_3$) major. (E) 12.93 (t, $^2J_{F-H} = 46.7$, FC(5)); minor. (Z) -3.20 (t, $^2J_{F-H} = 48.1$, FC(5)); MS (EI) : 164 (76, $[M+1]^+$), 146 (72, $[M-OH]^+$), 144 (15), 143 (78, $[M-HF]^+$), 132 (98, $[M-CH_2O]^+$), 131 (68), 118 (22), 114 (56), 113 (100, $[C_5H_7NO_2]^+$), 112 (23), 104 (90, $[M-C_2H_2FN]^+$), 103 (36), 102 (32), 101 (34), 98 (28), 89 (24), 87 (42), 86 (88, $[C_4H_6O_2]^+$), 85 (47), 84 (54), 82 (41), 81 (87), 80 (30), 76 (29), 74 (19), 73 (62), 72 (22), 71 (87, $[C_3H_5O_2]^+$), 70 (23), 61 (16), 60 (36), 59 (97, $[FCH_2CN]^+$), 57 (33), 56 (30), 55 (81).

Synthèse du para-toluènesulfonyloxime du 5-fluorolévinolate de méthyle (73).

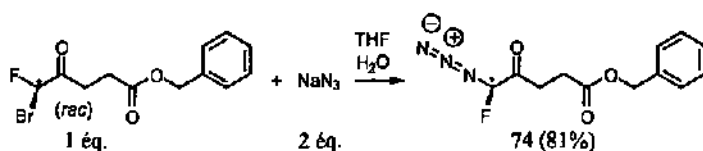


Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 1.63 g (10 mmol) de 5-fluoro-4-(hydroxyimino)-pentanoate de méthyle brute (75) et 20 ml de dichlorométhane. La solution est refroidie par un bain de glace et une solution de 2.1 g (11 mmol) de chlorure de para-toluènesulfonyle et une solution de 1.42 g (11 mmol) d'éthyl-diisopropylamine dans 10 ml de dichlorométhane est ajoutée sur 30 min. La solution est agitée pendant 14 h à T.a. Le milieu réactionnel augmenté de 10 ml de dichlorométhane est lavé avec 25 ml d'une solution 1 M de HCl, 25 ml d'une solution aqueuse 10% de $KHCO_3$ et finalement avec 25 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl puis est séché sur $MgSO_4$, filtré et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.86 g (90%) d'un liquide brun qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (heptane - AcOEt 2 : 1, h = 20 cm, ϕ = 1.5 cm) pour donner 2.36 g (74%) d'un liquide jaunâtre qui se solidifie au congélateur (mélange 2 : 1). Le produit recristallisé à chaud dans l'hexane se présente sous forme d'un mélange 10 : 1.

$C_{13}H_{16}FNO_3S$ (317.33) : C 49.16 (49.20), H 5.15 (5.08), N 4.50 (4.41); R_f (AcOEt - heptane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.47; p.f. = 71-72°C; IR (KBr) : 3075w, 3042w, 3002w, 2957m, 2934w, 2852w, 1743s, 1597m, 1441s, 1411m, 1366s, 1294m, 1262m, 1224s, 1211s, 1192s, 1176vs, 1122m, 1091m, 1068m, 1046s, 1017m, 869m, 833s, 815s, 768s, 663s, 595m, 564m, 551s,

532m, 498m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, COSY) major. (E) : 2.44 (s, 3H, H₃C(13)); 2.54 (t, 2H, ¹J₃₋₂ = 7.1, 2H, H₂C(3)); 2.73 (m, ³J₂₋₃ ≅ 7.5, 2H, H₂C(2)); 3.60 (s, 3H, H₃C(6)); 5.23 (d, ²J_{5-F} = 47.5, 2H, H₂C(5)); 7.32-7.35 (m, 2H, HC(9, 11)); 7.79-7.81 (m, 2H, HC(8, 120)); minor. (Z) : 2.44 (s, 3H, H₃C(13)); 2.62 (t, 2H, ³J₂₋₃ = 7.4, 2H, H₂C(3)); 2.75 (m, ³J₂₋₃ ≅ 7.7, 2H, H₂C(2)); 3.66 (s, 3H, H₃C(6)); 4.92 (d, ²J_{5-F} = 46.5, 2H, H₂C(5)); 7.32-7.35 (m, 2H, HC(9, 11)); 7.81-7.84 (m, 2H, HC(8, 12)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, OEP, HETCOR) : major. (E) 21.6 C(13); 25.0 (d, ⁴J_{2-F} = 6, C(2)); 28.9 (d, ⁴J_{3-F} = 3, C(3)); 51.8 C(6); 77.8 (d, ¹J_{5-F} = 174, C(5)); 128.9 C(8, 12); 129.6 C(9, 11); 131.9 C(7); 145.3 C(10); 165.8 (d, ²J_{4-F} = 23, C(4)); 172.0 C(1); minor. (Z) 21.6 C(13); 22.2 C(2); 29.5 C(3); 52.0 C(6); 81.4 (d, ¹J_{5-F} = 168, C(5)); 128.8 C(8, 12); 129.7 C(9, 11); 131.9 C(7); 145.5 C(10); 163.8 (d, ²J_{4-F} = 19, C(4)); 171.9 C(1); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) major. (E) 0.49 (t, ²J_{F-H5} = 47.7, FC(5)); minor. (Z) 10.35 (t, ²J_{F-H5} = 46.7, FC(5)); MS (EI) : 318 (1, [M+1]⁺), 286 (72, [M-CH₃O]⁺), 187 (7, [C₇H₉NO₃S]⁺), 162 (21, [M-C₇H₇O₂S]⁺), 157 (13), 156 (18), 155 (100, [C₇H₇O₂S]⁺), 143 (39, [M-C₇H₇FO₂S]⁺), 132 (15), 131 (15, [M-C₇H₈NO₃S]⁺), 117 (15), 116 (15), 115 (10), 114 (18), 113 (31), 105 (51), 92 (17), 91 (98, [M-C₇H₇]⁺), 89 (19), 88 (22), 87 (13), 86 (17), 82 (29), 77 (13), 73 (14), 65 (57), 63 (17), 61 (16), 60 (15), 59 (46), 57 (10), 56 (10), 55 (33).

Synthèse du 5-azido-5-fluorolévinolate de benzyle (74).

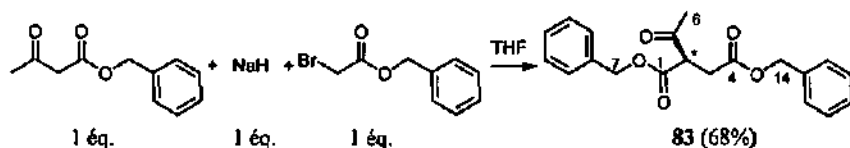


Dans un bicol de 50 ml sont introduits 1.30 g (20 mmol) d'azoture de sodium, 30 ml d'eau et 10 ml de tétrahydrofurane. Après refroidissement par un bain de glace est ajouté goutte à goutte une solution de 3.03 g (10 mmol) de 5-bromo-5-fluorolévinolate de benzyle dans 10 ml de tétrahydrofurane. Le milieu réactionnel est agité à T.a. pendant 4 h puis est extrait avec 3 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenu 2.5 g (94%) d'une huile jaune qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, φ = 3.5 cm) pour donner 2.14 g (81%) d'un liquide incolore.

C₁₂H₁₂FN₃O₃ (265.24); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.61; IR (film) : 3091w, 3067w, 3035w, 2955w, 2125s, 1736vs, 1412m, 1390m, 1353m, 1309m, 1240s, 1214s, 1173s, 1114m, 1003m, 752m, 699m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.71 (m, ³J₂₋₃ ≅ 6.2, 2H, H₂C(2)); 2.90-2.94 (m, 2H, H₂C(3)); 5.13 (s, 2H, H₂C(6)); 5.61 (d, ²J_{5-F} = 54.0, 1H, HC(5)); 7.27-7.40 (m, 5H, HC(8-12)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 27.2 C(2); 32.3 C(3); 66.5 C(6); 97.9 (d, ¹J_{5-F} = 225, 1C, C(5)); 128.2, 128.5 C(8, 12), C(9, 11); 128.3 C(10); 135.5 C(7); 171.7 C(1); 198.7 (d, ²J_{4-F} = 27, 1C, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : - 70.72 (d, ²J_{F-5} = 54.1, 1F, FC(5)).

1065_{vs}, 999_m, 868_m, 405_m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 1.40 (*dd*, ³J_{S-F} = 24.7, ²J_{S-4} = 6.3, 3H, H₃C(5)); 2.59 (*ddd*, ²J_{2A-2B} = 16.9, ³J_{2A-3} = 7.5, ⁴J_{2A-F} = 0.7, 1H, H_AC(2)); 2.70 (*ddd*, ²J_{2B-2A} = 16.9, ³J_{2B-3} = 4.2, ⁴J_{2B-F} = 1.2, 1H, H_BC(2)); 3.89-3.94 (*m*, 1H, HC(3)); 4.57 (*dqi*, ²J_{4-F} = 47.4, ³J₄₋₅ = ³J₄₋₃ = 6.2, 1H, HC(4)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 16.6 (*d*, ²J_{S-F} = 22, 1C, C(5)); 21.6 (*d*, ³J_{2-F} = 5, 1C, C(2)); 69.4 (*d*, ²J_{3-F} = 24, 1C, C(3)); 91.0 (*d*, ¹J_{4-F} = 172, 1C, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : -106.25 (*ddd*, ²J_{F-4} = 47.7, ³J_{F-5} = 24.7, ³J_{F-3} = 10.1, 1F, FC(4)); MS (ESI(+)) : 140 [M+Na]⁺.

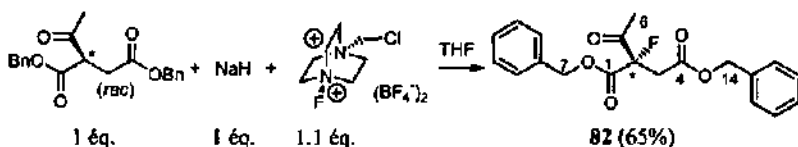
Synthèse du 2-acétylsuccinate de benzyle (83).



Dans un bicol de 100 ml est introduit 1.0 g (41.7 mmol) d'hydruide de sodium et 60 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 8.0 g (41.7 mmol) d'acétoacétate de benzyle sont ajoutés goutte à goutte. Après 30 min, sont ajoutés 9.54 g (41.7 mmol) de bromoacétate de benzyle. Le milieu réactionnel est agité 1 h à 0°C et encore 20 h à T.a. puis est versé sur 60 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 90 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 14.4 g (> 100%) d'une huile qui sont distillés en 3 parts au four à boules pour donner 9.61 g (68%) d'un liquide qui cristallise en un solide blanc.

C₂₀H₂₀O₅ (340.38) : C 70.73 (70.58), H 6.14 (5.92); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.59; p.f. = 48-51°C; Eb. (0.06 mmHg) = 180-190°C; IR (KBr) : 3089_w, 3064_w, 3029_w, 2969_w, 2937_w, 2884_w, 1743_s, 1725_{vs}, 1713_s, 1499_m, 1456_m, 1409_m, 1394_m, 1368_m, 1356_m, 1323_s, 1259_s, 1212_m, 1168_s, 1137_s, 1101_m, 1031_m, 1009_m, 1001_m, 989_m, 935_m, 877_m, 759_m, 735_s, 701_s, 597_m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.29 (*s*, 3H, H₃C(6)); 2.91 (*dd*, ²J_{3A-3B} = 17.6, ³J_{3A-2} = 6.4, 1H, H_AC(3)); 3.05 (*dd*, ²J_{3B-3A} = 17.6, ³J_{3B-2} = 8.1, 1H, H_BC(3)); 4.04 (*dd*, ³J_{2-3B} = 8.1, ³J_{2-3A} = 6.4, 1H, HC(2)); 5.09 (*s*, 2H, H₂C(14)); 5.15 (*d*, ²J_{7A-7B} = 12.2, 1H, H_AC(7)); 5.18 (*d*, ²J_{7B-7A} = 12.2, 1H, H_BC(7)); 7.28-7.39 (*m*, 10H, HC(9-13), HC(16-20)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 29.6 C(6); 32.3 C(3); 54.6 C(2); 66.8, 67.5 C(7), C(14); 128.2, 128.3, 128.5, 128.6 C(9, 13), C(10, 12), C(16, 20), C(17, 19); 128.3, 128.5 C(11), C(18); 135.0, 135.5 C(8), C(15); 168.1 C(1); 171.0 C(4); 201.3 C(5); MS (ESI(+)) : ms 363 [M+Na]⁺, ms-ms (363) 255 [M+Na-C₇H₈O]⁺, ms-ms-ms (363, 255) 227 [M+Na-C₇H₈O-CO]⁺.

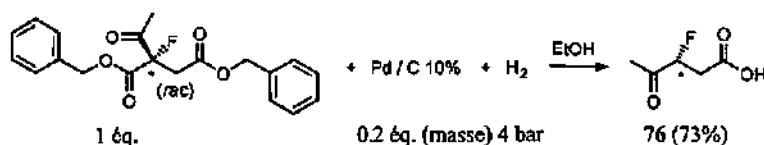
Synthèse du 2-acétyl-2-fluorosuccinate de benzyle (82).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 144 mg (6 mmol) d'hydruure de sodium et 15 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et une solution de 2.04 g (6 mmol) de 2-acétylsuccinate de benzyle (83) dans 10 ml de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte. Après 30 min, une solution de 2.34 g (6.6 mmol) de bis(tétrafluoroborate) de 1-chlorométhyl-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octane (25) (selectfluor) dans 5 ml de diméthylformamide est ajoutée goutte à goutte et le milieu réactionnel est agité 15 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M d'acide chlorhydrique et augmenté de 60 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.59 g (>100%) d'une huile qui est distillée au four à boules à pression réduite pour donner 1.76 g (81%) d'un liquide incolore qui est purifié d'avantage par flash-colonne chromatographique (hexane - AcDEt 5 : 1, h = 25 cm, ϕ = 2 cm) pour donner 1.41 g (65%) d'un liquide incolore.

C₂₀H₁₉FO₅ (358.37); R_f (AcDEt - hexane 2 : 1, UV+KMnD₄) = 0.61; Eb. (0.05 mmHg) = 200-210°C; IR (film): 3092w, 3067w, 3034w, 2953w, 1739vs, 1456m, 1386m, 1354m, 1286m, 1216s, 1145m, 1079m, 967m, 750m, 698s; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 2.36 (d, ⁴J_{6-F} = 5.4, 3H, H₃C(6)); 3.27 (dd, ³J_{3A-F} = 19.4, ²J_{3A-3B} = 17.5, 1H, H_AC(3)); 3.40 (dd, ³J_{3B-F} = 27.6, ²J_{3B-3A} = 17.5, 1H, H_BC(3)); 5.09 (s, 2H, H₂C(14)); 5.18 (d, ²J_{7A-7B} = 12.2, 1H, H_AC(7)); 5.22 (d, ²J_{7B-7A} = 12.2, 1H, H_BC(7)); 7.29-7.40 (m, 10H, HC(9-13), HC(16-20)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃): 25.5 C(6); 39.2 (d, ²J_{3-F} = 22, 1C, C(3)); 67.1, 68.4 C(7), C(14); 97.2 (d, ³J_{3-F} = 202, 1C, C(2)); 128.2, 128.3, 128.6, 128.7 C(9, 13), C(10, 12), C(16, 20), C(17, 19); 128.5, 128.7 C(11), C(18); 134.3, 134.9 C(8), C(15); 164.9 (d, ²J_{1-F} = 25, 1C, C(1)); 167.8 C(4); 201.7 (d, ²J_{4-F} = 29, 1C, C(5)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃): -88.49 (ddd, ³J_{F-3B} = 27.1, ³J_{F-3A} = 20.0, ⁴J_{F-6} = 5.0, 1F, FC(2)); MS (DCI): 376 (9, [M+NH₄]⁺), 359 (6, [M+1]⁺), 181 (15), 108 (23, [M-CH₂O]⁺), 107 (14), 91 (100, [C₇H₇]⁺), 90 (94).

Synthèse de l'acide 3-fluorolévulique (76).



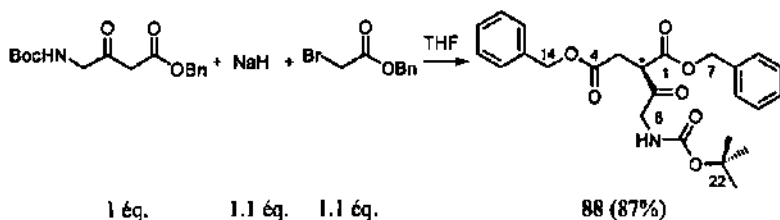
Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 405 mg (1.13 mmol) de 2-acétyl-2-fluorosuccinate de benzyle (82), 40 ml d'éthanol et 80 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 22 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé à l'éthanol puis le filtrat est évaporé. Sont obtenus 160 mg (>100%) d'un liquide incolore qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 9 : 1, h = 20 cm, ϕ = 1 cm) pour donner 110 mg (73%) d'un liquide incolore qui se solidifie au congélateur en un solide blanc fondant.

C₈H₇FO₃ (134.11); HR-MS(Cl) [M+1]: 135.04545 (135.04520); R_f (AcOEt - MeOH 7 : 3, KMnO₄) = 0.43; p.f. = 43°C; IR (film): 3700-2300s(br) (3208), 2944m, 1724vs, 1402m, 1364m, 1277m, 1177s, 1086m, 1048m, 1018m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃): 2.35 (d, ²J_{5-F} = 4.9, 3H, H₃C(5)); 2.97 (d" d", ³J_{2-F} = 24.7, ³J₂₋₃ = 5.1, 2H, H₂C(2)); 5.03 (dt, ²J_{3-F} = 47.7, ²J₂₋₃

bain de glace et 2.61 g (16.1 mmol) de 1,1'-diimidazolcarbonyl sont ajoutés en 5 portions puis le milieu réactionnel est agité pendant 1 h à T.a. avant d'être transféré par une canule dans le premier bicol. Le second bicol est lavé avec 5 ml de tétrahydrofurane. Le milieu réactionnel est agité 14 h à T.a. puis est évaporé à sec. Le résidu est repris dans 100 ml d'acétate d'éthyle et 50 ml d'une solution aqueuse 10% de KHSO₄. La phase aqueuse est extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et les phases organiques rassemblées sont lavées avec 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃ et 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 3.37 g (82%) d'un liquide qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, φ = 3.5 cm) pour donner 2.74 g (67%) d'un liquide incolore.

C₁₆H₂₁NO₅ (307.35); HR-MS [M+Na]⁺: 330.131151 (300.131187); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.69; IR (film): 3386w(l), 3066w, 3035w, 2979m, 2933w, 1718vs, 1510m, 1456m, 1407m, 1393m, 1368s, 1319m, 1275m, 1252s, 1165s; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 1.43 (s, 9H, H₃C(14-16)); 3.52 (s, 2H, H₂C(2)); 4.08 (d(l), ³J_{A,HN} = 3.4, 2H, H₂C(4)); 5.15 (s, 2H, H₂C(5)); 5.17-5.26 (s(l), 1H, HN); 7.29-7.38 (m, 5H, HC(7-11)); ¹³C-RMN (100 MHz, COCl₂, HETCOR): 28.2 C(14-16); 46.3 C(2); 50.5 C(4); 67.3 C(5); 80.0 C(13); 128.3, 128.6 C(7, 11), C(8, 10); 128.5 C(9); 135.0 C(6); 155.5 C(12); 166.4 C(1); 198.6 C(3); MS (ESI(+)): ms 330 [M+Na]⁺, ms-ms (330) 274 [M+Na-C₄H₈]⁺, 222 [M+Na-C₇H₈O]⁺, ms-ms-ms (330, 274) 230 [M+Na-C₇H₈O-CO₂]⁺, 166 [M+Na-C₄H₈-C₇H₈O]⁺, 122 [M+Na-C₄H₈-C₇H₈O-CO₂]⁺.

Synthèse du 2-(tert-butylloxycarbonylaminoacétyl)succinate de benzyle (88).

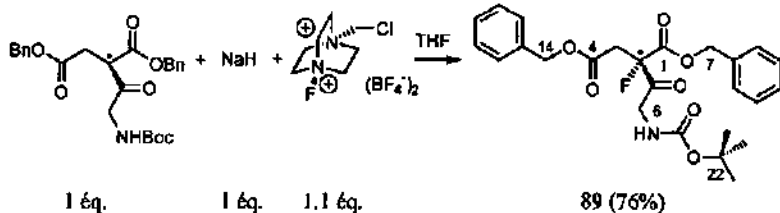


Dans un bicol de 50 ml sont introduits 222 mg (9.23 mmol) de NaH et 20 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et une solution de 2.58 g (8.4 mmol) de 4-(tert-butylloxycarbonylamino)acétoacétate de benzyle (86) dans 10 ml de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte. Après 30 min, 2.12 g (9.23 mmol) de bromoacétate de benzyle sont ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et 15 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmentée de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 4.12 g (>100%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 35 cm, φ = 3.5 cm) pour donner 3.31 g (87%) d'une huile incolore.

C₂₅H₂₉NO₇ (455.51); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.53; IR (film): 3424w, 3066w, 3035w, 2978w, 1729vs, 1500m, 1456m, 1391m, 1368m, 1251s, 1166s, 738m, 699m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 1.45 (s, 9H, H₃C(23-25)); 2.97 (dd, ²J_{3A,3B} = 17.7, ³J_{3A,2} = 6.0, 1H, H_AC(3)); 3.09 (dd, ²J_{3B,3A} = 17.7, ³J_{3B,2} = 8.4, 1H, H_BC(3)); 4.06 (dd, ²J_{2,3B} = 8.4, ³J_{2,3A} =

6.0, 1H, HC(2)); 4.16 (*dd*(*l*), $^2J_{6A-6B} = 19.6$, $^3J_{6A-HN} = 6.0$, 1H, H_AC(6)); 4.34 (*dd*(*l*), $^2J_{6B-6A} = 19.7$, $^3J_{6B-HN} = 4.7$, 1H, H_BC(6)); 5.07 (*d*, $^2J_{7A-7B}$ ou $^{14A-14B} = 12.2$, 1H, H_AC(7 ou 14)); 5.09 (*d*, $^2J_{7B-7A}$ ou $^{14B-14A} = 10.2$, 1H, H_BC(7 ou 14)); 5.14 (*d*, $^2J_{14A-14B}$ ou $^{7A-7B} = 12.7$, 1H, H_AC(14 ou 7)); 5.16 (*d*, $^2J_{14B-14A}$ ou $^{7B-7A} = 12.2$, 1H, H_BC(14 ou 7)); 7.25-7.27 (*m*(*l*), 1H, HN); 7.27-7.38 (*m*, 10H, HC(9-13), HC(16-20)); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 28.2 C(23-25); 32.3 C(3); 50.7 C(6); 51.1 C(2); 66.9, 67.7 C(7), C(14); 79.9 C(22); 128.2, 128.3, 128.4, 128.5, 128.6 C(9-13), C(16-20); 134.8, 135.3 C(8), C(15); 155.3 C(21); 167.3, 170.8 C(1), C(4); 200.0 C(5); MS (APCI(+)) : *m*s 456 [M+]⁺, 400 [M+1-C₄H₈]⁺, 356 [M+1-C₅H₈O]⁺, *m*s-*m*s (356) 338 [M+1-C₅H₈O-H₂O]⁺, 248 [M+1-C₅H₈O-C₄H₈]⁺, 230 [M+1-C₅H₈O-C₄H₈-H₂O]⁺, *m*s-*m*s-*m*s (356, 230) 187 [M+1-C₅H₈O-C₄H₈-H₂O-C₂H₃O]⁺, *m*s-*m*s-*m*s-*m*s (356, 230, 187) 169 [M+1-C₅H₈O-C₄H₈-2H₂O-C₂H₃O]⁺, *m*s-*m*s-*m*s-*m*s-*m*s (356, 230, 187, 169) 141 [M+1-C₅H₈O-C₄H₈-2H₂O-C₂H₃O]⁺, *m*s-*m*s-*m*s-*m*s-*m*s-*m*s (356, 230, 187, 169, 141) 141 [M+1-C₅H₈O-C₄H₈-2H₂O-C₂H₃O-CN]⁺.

Synthèse du 2-(tert-butylloxycarbonylaminoacétyl)-2-fluorosuccinate de benzyle (89).

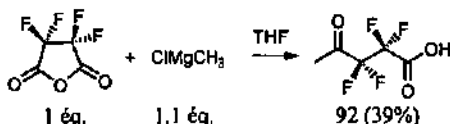


Dans un bicol de 75 ml sont introduits 158 mg (6.59 mmol) de NaH et 30 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et une solution de 3.0 g (6.59 mmol) de 2-(*tert*-butylloxycarbonylaminoacétyl)succinate de benzyle (88) dans 10 ml de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte. Après 1 h, une solution de 2.57 g (7.24 mmol) de selectfluor 25 dans 8 ml de diméthylformamide est ajoutée. Le milieu réactionnel est agité pendant 18 h à T.a. puis versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté 60 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite 2 fois avec 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le diméthylformamide restant est éliminé au four à boules. Sont obtenus 3.43 g (>100%) d'une huile visqueuse qui sont préabsorbés sur silice et séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1 → 7 : 2, h = 30 cm, φ = 3.5 cm) pour donner 2.36 g (76%) d'un huile incolore très visqueuse.

C₂₅H₂₈FNO₇ (473.50); HR-MS [M+Nb] : 496.17479 (496.17419); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.65; IR (film) : 3425_w, 3067_w, 3036_w, 2979_m, 1743_{vs}, 1718_s, 1500_m, 1456_m, 1393_m, 1368_m, 1355_m, 1278_s, 1216_s, 1167_s, 737_m, 699_m; 1H -RMN (400 MHz, CDCl₃) : 1.45 (*s*, 9H, H₃C(23-25)); 3.25 (*t*, $^2J_{3A-3B} = ^2J_{3A-F} = 17.5$, 1H, H_AC(3)); 3.48 (*dd*, $^2J_{3B-F} = 30.5$, $^2J_{3B-3A} = 17.7$, 1H, H_BC(3)); 4.36 (*dm*(*l*), $^2J_{6A-6B} = 20.5$, 1H, H_AC(6)); 4.45 (*dm*(*l*), $^2J_{6B-6A} = 20.3$, 1H, H_BC(6)); 4.99-5.07 (*m*(*l*), 1H, HN); 5.08 (*d*, $^2J_{14A-14B} = 12.2$, 1H, H_AC(14)); 5.10 (*d*, $^2J_{14B-14A} = 12.2$, 1H, H_BC(14)); 5.20 (*s*, 2H, H₂C(7)); 7.28-7.38 (*m*, 10H, HC(9-13), HC(16-20)); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR S & L) : 28.2 C(23-25); 39.5 (*d*, $^2J_{3-F} = 21$, 1C, C(3)); 47.4 C(6); 67.3 C(14); 68.7 C(7); 79.9 C(22); 97.2 (*d*, $^1J_{2-F} = 201$, 1C, C(2)); 128.2, 128.3, 128.5, 128.6, 128.7 C(9-13), C(16-20); 134.1, 134.8 C(8), C(15); 155.3 C(21); 164.1 (*d*, $^2J_{1-F} = 24$, 1C, C(1)); 167.5 C(4); 199.7 (*d*, $^2J_{5-F} = 29$, 1C, C(5)); ^{19}F -RMN (188 MHz, CDCl₃) : -93.52 (*dd*, $^3J_{F-3B} = 30.2$, $^3J_{F-3A} = 17.4$, F, FC(2)); MS (ESI(+))

: ms 496 [M+Na]⁺, ms-ms (496) 476 [M+Na-HF]⁺, 440 [M+Na-C₄H₈]⁺, 376 [M+Na-HF-C₃H₈O₂]⁺, ms-ms-ms (496, 476) 420 [M+Na-HF-C₄H₈]⁺, 376 [M+Na-HF-C₅H₈O₂]⁺, ms-ms-ms-ms (496, 476, 376) 268 [M+Na-HF-C₃H₈O₂-C₇H₈O]⁺, ms-ms-ms-ms-ms (496, 476, 376, 268) 240 [M+Na-HF-C₃H₈O₂-C₇H₈O-CO]⁺.

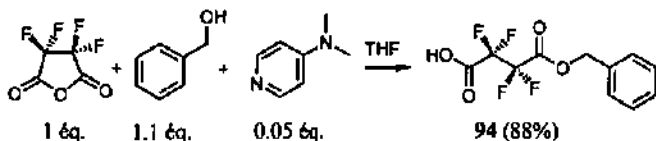
Synthèse de l'acide 2,2,3,3-tétrafluorolévinique (92).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 20 ml de tétrahydrofurane, 0.19 ml (1.77 mmol) d'anhydride tétrafluorosuccinique et la solution est refroidie à -25°C. Sur 30 min sont ajoutés 0.65 ml (1.95 mmol) d'une solution 3 M dans le tétrahydrofurane de chlorure de méthylmagnésium. Le milieu réactionnel est amené à 0°C sur 3 h puis est agité 3 h à T.a. avant d'être versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 20 ml d'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est saturée en NaCl et extraite avec 3 fois 40 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé partiellement par évaporation rotative. Sont obtenus 500 mg d'une solution qui sont séparés sur flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 96 : 4, h = 20 cm, φ = 1 cm) pour donner 130 mg (39%) d'un liquide incolore visqueux.

C₂H₂F₄O₃ (188.08); HR-MS [M+]: 189.016977 (189.016930); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 4 : 1, KMnO₄) = 0.19; IR (film) : 3700-2200m(br) (3476), 2938m, 1753vs, 1635s, 1423m, 1368m, 1269s, 1236s, 1149s, 1085s, 1026m, 996m, 955m, 916m, 588m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.45 (s, 3H, H₃C(5)); 8.68 (s(l), 1H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 24.9 C(5); 108.2 (u, ¹J_{FC} = 264, ²J_{FC} = 31, C(2 ou 3)); 109.0 (tt, ¹J_{FC} = 267, ²J_{FC} = 30, C(3 ou 2)); 162.0 (t, ²J_{F-1} = 28, C(1)); 193.7 (t, ²J_{F-4} = 25, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : -44.13, -43.24 (s(l), 2F, F₂C(2)), (s(l), 2F, F₂C(3)); MS (ESI nég.) : ms 187 [M-1], ms-ms (187) 143 [M-1-CO₂], 123 [C₄H₂F₃O], ms-ms-ms (187, 123) 103 [C₄HF₂O], ms-ms-ms-ms (187, 123, 103) 83 [C₄FO].

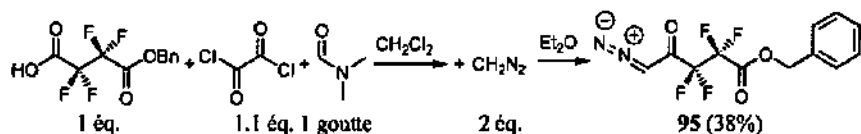
Synthèse du 2,2,3,3-tétrafluorosuccinate de monobenzyle (94).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 61 mg (0.5 mmol) de 4-diméthylaminopyridine, 20 ml de tétrahydrofurane, 1.19 g (11 mmol) de benzylalcool et après refroidissement par un bain de glace, 1.72 g (10 mmol) d'anhydride tétrafluorosuccinique. Le milieu réactionnel est agité 1 h à 0°C et 15 h à T.a. puis est évaporé à sec. Sont obtenus 3.57 g (>100%) d'un liquide brunâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 1 : 0 → 19 : 1, h = 25 cm, φ = 2.5 cm) pour donner 2.46 g (88%) d'un liquide incolore.

$C_{11}H_8F_4O$ (280.18); HR-MS [M+Na]: 303.02546 (303.02509); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH - AcOH 8 : 1 : 1, UV+KMnO₄) = 0.54; IR (film): 3700-2600w(br) (3220), 3095w, 3072w, 3039w, 2971w, 1777vs, 1458m, 1317s, 1241m, 1218m, 1177s, 1145s, 1108s, 998m, 751m, 698m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃): 5.40 (s, 2H, H₂C(5)); 7.40-7.44 (m, 5H, HC(7-11)); 11.11 (s, 1H, HO); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃): 70.0 C(5); 107.9 (t, ¹J_{2-F2} = 266, ¹J_{3-F3} = 266, ²J_{2-F3} = 32, ²J_{3-F2} = 32, 2C, C(2, 3)); 128.6, 128.8 C(7, 11), C(8, 10); 129.2 C(9); 133.1 C(6); 159.5 (t, ²J_{1-F2 ou 4-F3} = 30, 1C, C(1 ou 4)); 162.6 (t, ²J_{4-F3 ou 1-F2} = 30, 1C, C(4 ou 1)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃): - 42.49 (m, 2F, F₂C(2 ou 3)); - 42.13 (t, ²J_{F3-F2 ou F2-F3} = 4.1, 2F, F₂C(3 ou 2)); MS (ESI(-)): ms 279 [M-H]⁻, 235 [M-H-CO₂]⁻, ms-ms (279) 235 [M-H-CO₂]⁻, ms-ms-ms (279, 235) 195 [M-H-CO₂-2HF]⁻, 187 [M-H-CO₂-HF-CO]⁻, 167 [M-H-CO₂-2HF-CO]⁻, 125.

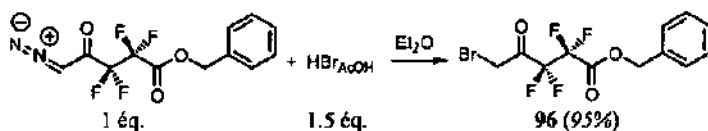
Synthèse du 5-diazo-2,2,3,3-tétrafluorolévinolate de benzyle (95).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 2.5 g (8.92 mmol) de tétrafluorosuccinate de benzyle (94), 25 ml de dichlorométhane et 1 goutte de diméthylformamide. Après refroidissement par un bain de glace est ajouté 1.25 g (9.82 mmol) de chlorure d'oxalyle goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 30 min à 0°C et 4 h à T.a. puis est évaporé par l'action d'une trompe à eau avec un piège d'azote liquide. Le résidu est repris dans 30 ml de diéthyléther et transféré par une canule dans un bicol de 250 ml refroidi par un bain de glace et contenant 67 ml (20 mmol) d'une solution 0.3 M de diazométhane dans le diéthyléther. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et 14 h à T.a. puis évaporé à sec. Sont obtenus 2.94 g (>100%) d'un liquide jaune qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1 → 4 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3.5 cm) pour donner 1.04 g (38%) d'un liquide incolore.

$C_{11}H_8F_4N_2O_3$ (304.20); HR-MS [M+Na]: 327.036316 (327.036320); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.63; IR (film): 3119w, 3071w, 3038w, 2968w, 2133s, 1777vs, 1651s, 1458m, 1386s, 1311s, 1248m, 1218m, 1173s, 1146s, 1051m, 966m, 839m, 793m, 750m, 699m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃): 5.36 (s(l), 2H, H₂C(6)); 5.78 (s(l), 1H, HC(5)); 7.35-7.43 (m, 5H, HC(8-12)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃): 56.8 C(5); 69.4 C(6); 108.2 (t, ¹J_{2-F2 ou 3-F3} = 264, ²J_{2-F3 ou 3-F2} = 31, 1C, C(2 ou 3)); 109.4 (t, ¹J_{3-F3 ou 2-F2} = 268, ²J_{3-F2 ou 2-F3} = 31, 1C, C(3 ou 2)); 128.4, 128.7 C(8, 12), C(9, 11); 128.9 C(10); 133.5 C(7); 159.1 (t, ²J_{1-F2} = 30, 1C, C(1)); 179.0 (t, ²J_{4-F3} = 27, 1C, C(4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, COCl₂): - 43.21 (t, ²J_{2-3 ou 3-2} = 4.1, 2F, F₂C(2 ou 3)); - 42.63 (t, ²J_{3-2 ou 2-3} = 4.1, 2F, F₂C(3 ou 2)); MS (ESI(+)): ms 327 [M+Na]⁺ faible, 277 [M+H-N₂]⁺, 259 [M+H-N₂-H₂O]⁺, ms-ms (277) 259 [M+H-N₂-H₂O]⁺.

Synthèse du 5-bromo-2,2,3,3-tétrafluorolévinolate de benzyle (96).



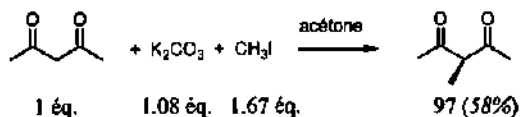
Dans un bicol de 25 ml sont introduits 820 mg (2.7 mmol) de 5-diazo-2,2,3,3-tétrafluorolévalinate de benzyle (95), 10 ml de diéthyléther et après refroidissement par un bain de glace, 0.7 ml (4.04 mmol) de HBr 5.7 M dans l'acide acétique. Après 5 min le bain est retiré et le milieu réactionnel est agité 15 min à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃ et augmenté de 30 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite 2 fois avec 30 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 915 mg (95%) d'un liquide transparent orangé assez pur.

C₁₂H₉BrF₄O₃ (357.10); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.65; IR (film) : 3069w, 3038w, 2949w, 1773vs, 1458m, 1390m, 1321s, 1265m, 1211m, 1173s, 1147s, 1046s, 938m, 753m, 698m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 4.29 (s(t), 2H, H₂C(5)); 5.35 (s, 2H, H₂C(6)); 7.36-7.45 (m, 5H, HC(8-12)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 29.3 C(5); 69.9 C(6); 108.1 (tt, ¹J_{2-F2} ou 3-F3 = 267, ²J_{2-F3} ou 3-F2 = 31, 1C, C(2 ou 3)); 108.9 (tt, ¹J_{3-F3} ou 2-F2 = 269, ²J_{3-F2} ou 2-F3 = 30, 1C, C(3 ou 2)); 128.6, 128.8 C(8, 12), C(9, 11); 129.3 C(10); 133.0 C(7); 159.2 (t, ²J_{4-F3} = 29, 1C, C(4)); 187.1 (t, ²J_{1-F2} = 27, 1C, C(1)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : - 41.92 (t, ³J₂₋₃ ou 3-2 = 4.4, 2F, F₂C(2 ou 3)); - 41.45 (t, ³J₃₋₂ ou 2-3 = 4.6, 2F, F₂C(3 ou 2)); MS (ESI(-)) : ms 355, 357 [M-1]⁻ faible, 279, 275 [M-1-HBr]⁻, 235, 184 [M-1-HBr-C₇H₇]⁻, ms-ms (184) 156 [M-1-HBr-C₇H₇-CO]⁻, 140 [M-1-HBr-C₇H₇-CO₂]⁻.

2.2.1.2 Synthèses des analogues dérivés de la succinylacétone.

2.2.1.2.1 Synthèses des dérivés de la 2,4-pentandione.

Synthèse du 3-méthyl-2,4-pentandione (97).

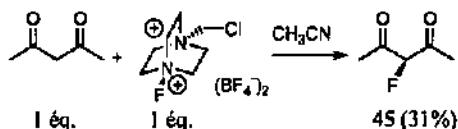


Dans un tube de schlenk de 500 ml, prévu pour réaction sous légère surpression, sont introduits 20.73 g (150 mmol) de carbonate de potassium, 35 ml d'acétone, 16.27 g (162.5 mmol) de 2,4-pentandione et 35.49 g (250 mmol) d'iodométhane. Le milieu réactionnel est chauffé à 50°C pendant 14 h puis est filtré, le solide est lavé avec 100 ml d'acétone et le filtrat est évaporé. Le résidu est distillé à pression ambiante avec une colonne Vigreux (10 cm) pour enlever les produits de départ non réagis puis est distillé à pression réduite (70 mmHg). Sont obtenus 10.75 g (58%) du produit contenant 1% de 2,4-pentandione (GC(P3), t_R = 2.9) et 5% de 3,3-diméthyl-2,4-pentandione.

Selon le même mode opératoire répété 2 fois et avec distillation sur colonne Widmer (16 cm) des produits bruts rassemblés sont obtenus 21.9 g d'un liquide contenant un mélange 3-méthyl-2,4-pentandione (GC(P3) 82%, t_R = 6.3) et de 3,3-diméthyl-2,4-pentandione (GC(P3) 18%, t_R = 6.7). Une flash-colonne chromatographique ne permet d'enrichir le mélange en produit que de 2%. La solution réside dans une reprise dans l'éther du produits et extraction avec NaOH 2 M (2 fois 1 équivalent de base) puis acidification de la solution aqueuse avec l'acide chlorhydrique 32% et extraction à l'acétate d'éthyle. Le produits brut obtenu est à nouveau distillé et le produit obtenu est cette fois pur.

$C_6H_{10}O_2$ (114.14); R_f (AcOEt - hexane 1 : 1, UV+KMnO₄) = 0.39; Eb. (85 mmHg) = 99°C; IR (film) : 2989w, 2942w, 1755m, 1724s, 1704vs, 1615m, 1426m, 1360m, 1277m, 1230m, 1189m, 1160m, 1127m, 1085m, 994m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : dicéto (65%) 1.31 (d, ³J_{6,3} = 7.0, 3H, H₃C(6)); 2.17 (s, 6H, H₃C(1, 5)); 3.65 (q, ³J_{3,4} = 7.1, 1H, HC(3)); cétoénoil (35%) 1.82 (s, 3H, H₃C(6)); 2.10 (s, 6H, H₃C(1, 5)); 16.42 (s(l), 1H, HO); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : dicéto 12.2 C(6); 28.4 C(1, 5); 61.4 C(3); 204.9 C(2, 4); cétoénoil 12.6 C(4); 23.1 C(1, 5); 104.6 C(3); 190.1 C(2, 4); MS (APCI) : ms 115 [M+1]⁺, ms-ms (115) 97 [M+1-H₂O]⁺, 73 [M+1-C₂H₂O]⁺.

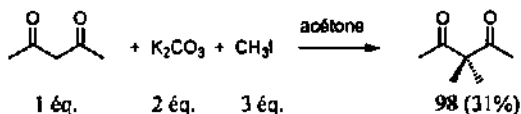
Synthèse du 3-fluoro-2,4-pentandione (45).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 3.72 g (10 mmol) de selectfluor 25, 40 ml d'acétonitrile et 1.0 g (10 mmol) de 2,4-pentandione. La suspension est agitée 24 h à T.a. puis le solvant est éliminé par distillation et le résidu est traité avec 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et 50 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 50 ml de dichlorométhane et les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative et le résidu est distillé au four à boules pour obtenir 370 mg (31%) d'un liquide incolore.

$C_5H_7FO_2$ (118.11); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.29; Eb. (20 mmHg) = 60-70°C; IR (film) : 3017w, 2928w, 1745s, 1723vs, 1422m, 1362s, 1325m, 1271m, 1211m, 1173m, 1096s; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 2.25 (d, ³J_{1,5-F} = 4.1, 6H, H₃C(1, 5)); 5.21 (d, ²J_{3-F} = 50.4, 1H, HC(3)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 26.1 C(1, 5); 98.3 (d, ¹J_{3-F} = 200, 1C, C(3)); 199.2 (d, ²J_{2,4-F} = 23, 1C, C(2, 4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : 81.79 (qhept, ³J_{F-6} = 22.0, ⁴J_{F-1,5} = 4.2, 1F, FC(3)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : -115.81 (dhept, ²J_{F-3} = 50.3, ⁴J_{F-1,5} = 4.0, 1F, FC(3)); MS (ESI(-)) : ms 117 [M-1]⁻, ms-ms (117) 75 [M+1-C₂H₂O]⁻.

Synthèse du 3,3-diméthyl-2,4-pentandione (98).

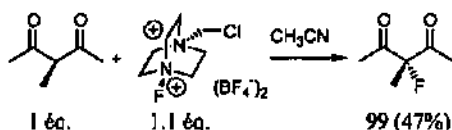


Dans un bicol de 100 ml sont introduits 13.82 (100 mmol) de carbonate de potassium anhydre, 30 ml d'acétone, 5.0 g (50 mmol) d'acétylacétone et 21.3 g (150 mmol) de iodométhane. La suspension est chauffée à reflux 24 h puis 7.1 g (50 mmol) de iodométhane sont ajoutés et le milieu réactionnel chauffé à reflux 24 h supplémentaire. Le solvant est partiellement évaporé à la trompe à eau pour éliminer l'excès de iodométhane et la suspension résultante est filtrée et le solide est abondamment lavé à l'acétone. Le filtrat est évaporé à sec et le résidu est repris dans 30 ml de diéthyléther puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de NaOH. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 30 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative.

Sont obtenus 2.42 g (38%) d'un liquide incolore distillé au four à boules pour donner 1.98 g (31%) d'un liquide incolore.

$C_7H_{12}D_2$ (128.17); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnD₄) = 0.45; Eb. (60 mmHg) = 90-100°C; IR (film) : 2982m, 2938m, 2879w, 1719s, 1701vs, 1467m, 1427m, 1388m, 1358s, 1255m, 1210m, 1140m, 1112s, 962m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 1.34 (s, 6H, H₃C(6, 7)); 2.12 (s, 6H, H₃C(1, 5)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 21.1 C(6, 7), 26.0 C(1, 5); 62.5 C(3); 207.7 C(2, 4); MS (APCI) : ms 129 [M+1]⁺, ms-ms (129) 111 [M+1-H₂O]⁺, 87 [M+1-C₂H₂O]⁺.

Synthèse du 3-fluoro-3-méthyl-2,4-pentandione (99).

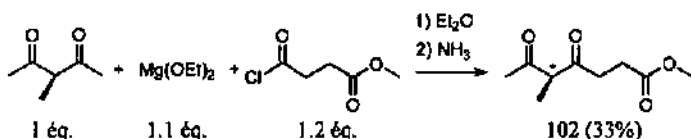


Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 3.41 g (9.64 mmol) de selectfluor 25, 1 g (8.76 mmol) de 3-méthyl-2,4-pentandione (97) et 40 ml d'acétonitrile. Le milieu réactionnel est agité 18 h à T.a. puis 4 h à reflux et l'acétonitrile est éliminé par distillation avec colonne vigreux (3 cm). Le résidu est repris dans 50 ml de dichlorométhane et versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le résidu liquide est distillé au four à boules à pression faiblement réduite. Sont obtenus 540 mg (47%) d'un liquide incolore.

$C_6H_9FO_2$ (132.13); R_f (AcDEt - hexane 2 : 1, KMnD₄) = 0.61; Eb. (60 mmHg) = 70-80°C; IR (film) : 3011w, 2996w, 2943w, 1748s, 1721vs, 1422s, 1360s, 1217m, 1140s, 1123s, 1106s, 963m, 905m, 601m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 1.62 (d, ³J_{6-F} = 22.0, 3H, H₃C(6)); 2.27 (d, ⁴J_{1,5-F} = 4.0, 6H, H₃C(1, 5)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃) : 19.9 (d, ²J_{6-F} = 23, 1C, C(6)); 25.3 C(1, 5); 103.7 (d, ¹J_{3-F} = 194, 1C, C(3)); 202.2 (d, ²J_{2,4-F} = 27, 1C, C(2, 4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : -81.79 (qhept., ³J_{F,6} = 22.0, ⁴J_{F,1,5} = 4.2, 1F, FC(3)); MS (EI) : 132 (6, M⁺), 88 (10, [M-C₂H₄O]⁺), 86 (54), 85 (10), 84 (86, [C₅H₈O]⁺), 83 (14), 77 (15), 69 (13), 41 (100).

2.2.1.2.2 Synthèses des dérivés de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque (succinylacétone).

Synthèse du 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (102).

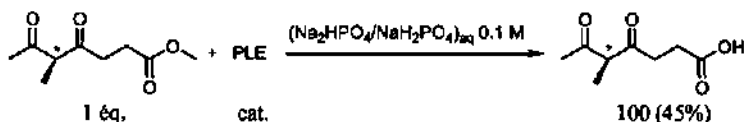


Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 6.30 g (55 mmol) d'éthylate de magnésium, 20 ml de diéthylique et 5.7 g (50 mmol) de 3-méthyl-2,4-pentandione (97). Après 3 h à T.a.,

le milieu réactionnel est chauffé à reflux 1 h puis est refroidi à -15°C et une solution de 9.03 g (60 mmol) de chlorure de 3-méthylcarbonylpropionyle dans 10 ml de diéthyléther est ajoutée. Le milieu réactionnel est laissé revenir à T.a. sur 20 h puis est acidifié à pH 1 par adjonction d'une solution aqueuse 2 M de H_2SO_4 . La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 30 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont agitées avec 50 ml d'une solution aqueuse 10% de NH_3 pendant 15 min, séparées, séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 7.44 g (80%) d'un liquide orange qui sont distillés dans un Claisen de 10 ml avec une colonne Vigreux (5 cm) à pression réduite pour donner 3.04 g (33%) d'un liquide incolore.

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_4$ (186.21); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, KMnO_4) = 0.52; Eb. (0.07 mmHg) = 83°C ; IR (film) : 3450w, 2990w, 2955m, 1737vs, 1703s, 1615m, 1439s, 1360s, 1321m, 1213s, 1171s, 1082m, 1019m, 987m; ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) : dicéto (67%) 1.23 (d, $^3J_{\text{H},\text{H}} = 7.1$, 3H, $\text{H}_3\text{C}(8)$); 2.09 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(7)$); 2.48-2.56 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.62-2.77 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.56 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(9)$); 3.64 (q, $^3J_{3,8} = 7.1$, 1H, HC(5)); cétoénoil (33%) 1.76 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(8)$); 1.98 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(7)$); 2.48-2.56 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.62-2.77 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.58 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(9)$); 16.08 (s, 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3 , HETCOR) : dicéto 12.3 C(8), 27.4 C(2); 28.3 C(7); 35.8 C(3); 51.5 C(9); 61.0 C(5); 172.6 C(1); 204.6, 205.3 C(4), C(6); cétoénoil 12.0 C(8); 21.6 C(7); 28.1 C(2); 31.5 C(3); 51.5 C(9); 104.2 C(5); 173.1 C(1); 184.8, 195 C(4); C(6); MS (EI) : 188 (18), 187 (52, $[\text{M}+1]^+$), 186 (23), 156 (64), 155 (97, $[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}]^+$), 154 (41), 146 (10), 145 (64), 144 (85, $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}]^+$), 143 (33), 140 (17), 139 (23), 130 (12), 129 (18), 128 (21), 127 (36), 126 (55, $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2]^+$), 125 (46), 124 (22), 117 (12), 116 (87), 115 (100, $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3]^+$), 114 (35), 113 (85), 112 (90, $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2]^+$), 111 (18), 101 (14), 99 (42, $[\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2]^+$), 87 (53, $[\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2]^+$), 84 (15), 83 (22), 71 (10, $[\text{C}_4\text{H}_7\text{O}]^+$), 59 (30), 57 (17), 56 (21), 55 (70).

Synthèse de l'acide 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoïque (100).

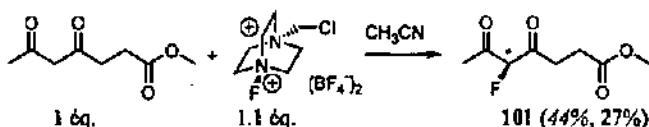


Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 410 mg (2.2 mmol) de 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (102), 50 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8 et 0.2 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 2 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.25 M. Après 4 h, le milieu réactionnel est acidifié à pH 1.5 par adjonction de HCl conc. La solution est saturée en NaCl et extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 4 fois. Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 420 mg (>100%) d'un liquide jaunâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH_2Cl_2 - MeOH 97 : 3, h = 25 cm, $\phi = 2$ cm) pour obtenir 280 mg (74%) d'un solide blanc qui sont recristallisés par dissolution dans le chloroforme et adjonction biphasique de tétrachlorométhane pour obtenir 170 mg (45%) d'un solide blanc.

$\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}_4$ (172.18) : C 55.64 (55.81), H 7.10 (7.02); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, UV+ KMnO_4) = 0.42; p.f. = 62°C ; IR (KBr) : 3700-2300m(br) (3041), 2950m, 2932m, 2774w, 2692w, 1705vs, 1615m, 1446m, 1397s, 1373m, 1356m, 1333m, 1304m, 1260m, 1245m, 1181m, 976m, 947m,

931m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) : dicétone (71%) 1.33 (*d*, $^3J_{\text{H-F}} = 7.1$, 3H, $\text{H}_3\text{C}(8)$); 2.17 (*s*, 3H, $\text{H}_3\text{C}(7)$); 2.62-2.71 (*m*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.68-2.84 (*m*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.71 (*q*, $^3J_{\text{H-F}} = 7.1$, 1H, $\text{HC}(5)$); 10.70-11.35 (*s(l)*, 1H, HO); cétoéno! (29%) 1.83 (*s*, 3H, $\text{H}_3\text{C}(8)$); 2.07 (*s*, 3H, $\text{H}_3\text{C}(7)$); 2.62-2.71 (*m*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.73-2.81 (*m*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 10.70-11.35 (*s(l)*, 1H, $\text{HOOC}(1)$); 16.15 (*s*, 1H, HO); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3 , HETCOR) : dicétone 12.5 C(8); 27.7 C(2); 28.5 C(7); 35.6 C(3); 61.3 C(5); 178.5 C(1); 205.1, 205.2 C(4), C(6); cétoéno! 12.2 C(8); 21.8 C(7); 28.3 C(2); 31.5 C(3); 104.4 C(5); 179.0 C(1); 184.7, 195.2 C(4), C(6); MS (ESI(-)) : ms 171 [M^-], ms-ms (171) 129 [$\text{M}^- - \text{C}_2\text{H}_2\text{O}$], 99 [$\text{C}_4\text{H}_3\text{O}_3$], ms-ms-ms (171, 99) 55 [$\text{C}_3\text{H}_3\text{O}$].

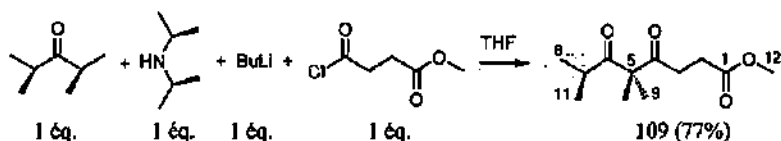
Synthèse du 5-fluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (101).



Dans un bicol de 100 ml sont introduits sous azote 3.9 g (11 mmol) de selectfluor 25, 1.72 g (10 mmol) de 4,6-dioxoheptanoate de méthyle (103) et 60 ml d'acétonitrile. Le milieu réactionnel est agité 24 h à T.a. et l'acétonitrile est éliminé par évaporation rotative. Le résidu est repris dans 50 ml de dichlorométhane et versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl. La phase aqueuse est extraite avec 4 fois 30 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.82 g (96%) d'un liquide incolore qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, $h = 25\text{ cm}$, $\phi = 2\text{ cm}$) pour obtenir 1.0 g (53%) d'un liquide incolore qui est distillé au four à boules sous pression réduite pour donner 830 mg (44%) d'un liquide incolore (GC(PI) 89%, $t_R = 12.6$) contenant du produit difluoro. Ce dernier peut être éliminé en extrayant le produit après colonne repris dans 10 ml éther avec 2 fois 10 ml d'une solution aqueuse 1 M de NaOH puis, après acidification avec HCl 32%, est réextrait dans l'acétate d'éthyle puis distillé. Sont alors obtenus 505 mg (27%) d'une huile incolore.

$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{FO}_4$ (190.17); HR-MS [$\text{M}+\text{H}$] : 191.07167 (191.07141); R_f (AcOEt - hexane 1 : 1, KMnO_4) = 0.36; Eb. (0.05 mmHg) = 70-80°C; IR (film) : 3005m, 2958s, 2852w, 1724vs, 1660m, 1605m, 1440s, 1417s, 1362s, 1324s, 1212s, 1180s, 1131s, 1090s, 1014s, 990m, 965m, 847m, 617m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) : dicéto (84%) 2.26 (*d*, $^4J_{\text{H-F}} = 3.9$, 3H, $\text{H}_3\text{C}(7)$); 2.53-2.67 (*m*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.75-2.93 (*m*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.61 (*s*, 3H, $\text{H}_3\text{C}(8)$); 5.27 (*d*, $^2J_{\text{H-F}} = 50.1$, 1H, $\text{HC}(5)$); cétoéno! (16%) 2.08 (*d*, $^4J_{\text{H-F}} = 3.9$, 3H, $\text{H}_3\text{C}(7)$); 2.53-2.67 (*m*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.75-2.93 (*m*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.63 (*s*, 3H, $\text{H}_3\text{C}(8)$); 12.51 (*s(l)*, 1H, HO); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) : dicéto 26.0 C(7), 27.1 C(d , $^4J_{\text{C-F}} = 2.1$, 1C, C(2)); 33.1 C(3); 51.8 C(8); 98.3 (*d*, $^1J_{\text{C-F}} = 200$, 1C, C(5)); 172.3 C(1); 198.8 (*d*, $^2J_{\text{C-F}} = 22$, 1C, C(4 ou 6)); 200.0 (*d*, $^2J_{\text{C-F}} = 23$, 1C, C(6 ou 4)); cétoéno! 17.8 C(7); 27.4 C(2); 29.1 C(3); 51.7 C(8); 143.3 (*d*, $^1J_{\text{C-F}} = 225$, 1C, C(5)); 172.6 C(1); 186.5 C(6 ou 4), manque un signal; $^{19}\text{F-RMN}$ (188 MHz, CDCl_3) : dicéto -118.36 (*d(m)*, $^2J_{\text{F-F}} = 50.2$, 1F, $\text{FC}(5)$); cétoéno! -99.33 (*s*, 1F, $\text{FC}(5)$); MS (EI) : 191 (20, [$\text{M}+\text{H}$] $^+$), 159 (21, [$\text{M}-\text{CH}_3\text{O}$] $^+$), 158 (11), 148 (11, [$\text{M}-\text{C}_2\text{H}_3\text{O}$] $^+$), 130 (11), 129 (13, [$\text{M}-\text{C}_2\text{H}_2\text{FO}$] $^+$), 117 (19), 116 (23), 115 (100, [$\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$] $^+$), 103 (18, [$\text{C}_4\text{H}_4\text{FO}_2$] $^+$), 87 (25, [$\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2$] $^+$).

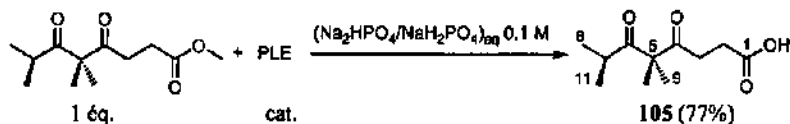
Synthèse du 5,5,7-triméthyl-4,6-dioxooctanoate de méthyle (109).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 10 ml de tétrahydrofurane, 607 mg (6 mmol) de diisopropylamine et après refroidissement par un bain de glace 4 ml (6 mmol) d'une solution 1.5 M dans l'hexane de butyllithium. Après 30 min d'agitation le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité 30 min à T.a. La solution est refroidie à -50°C et 685 mg (6 mmol) de diisopropylcétone sont ajoutés sur 10 min. Après 30 min, la solution est refroidie à -80°C et est ajoutée sur 15 min à une solution de 903 mg (6 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans 20 ml de tétrahydrofurane à la même température. Le milieu réactionnel est laissé revenir sur 1 h à -60°C puis est versé sur une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 30 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.37 g (100%) d'un liquide transparent qui est distillé au four à boules pour donner 1.05 g (77%) (GC(P4) >98%, $t_R = 11.1$) d'un liquide incolore.

$\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_4$ (228.29) HR-MS(Cl) [M+H]⁺: 229.1451 (229.1434); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO_4) = 0.62; Eb. (0.02 mmHg) = 80°C ; IR (film): 2977m, 2938m, 2877m, 1741s, 1720s, 1698vs, 1643m, 1470m, 1439m, 1412m, 1384m, 1369m, 1217m, 1174m, 1093m, 1039m, 1001m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): 1.00 (d, $^3J_{6,11-7} = 6.7$, 6H, $\text{H}_3\text{C}(8, 11)$); 1.34 (s, 6H, $\text{H}_3\text{C}(9, 10)$); 2.52 (t, $^3J_{2,3} = 6.5$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.71 (t, $^3J_{3,2} = 6.5$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 2.85 (hept., $^3J_{7,8,11} = 6.7$, 1H, HC(7)); 3.63 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(12)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3 , DEPT, HETCOR): 20.0 C(8, 11); 21.4 C(9, 10); 27.7 C(2); 33.3 C(3); 36.3 C(7); 51.7 C(12); 62.2 C(5); 172.9 C(1); 208.3, 214.3 C(4), C(6); MS (EI): 229 (3, [M+1]⁺), 158 (9, [M-C₄H₆O]⁺), 126 (18, [M-C₅H₁₀O₂]⁺), 115 (28, [C₅H₇O₃]⁺), 111 (11), 97 (9), 87 (16), 86 (14), 85 (10), 84 (13), 83 (12), 72 (38, [C₇H₁₄O]⁺), 60 (12), 59 (100), 58 (13), 56 (22).

Synthèse de l'acide 5,5,7-triméthyl-4,6-dioxooctanoïque (105).

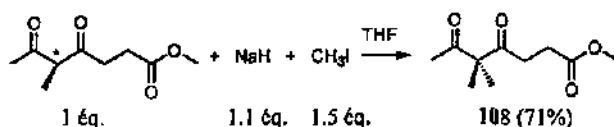


Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 507 mg (2 mmol) de 5,5,7-triméthyl-4,6-dioxooctanoate de méthyle (109), 40 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8 et 0.25 ml d'une solution de PLE (pig liver esterase, 2.5 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.25 M. Après 10 h, le milieu réactionnel est amené à pH 9.5 et est extrait avec 20 ml de diéthyléther puis est acidifié à pH 1.5 par adjonction de HCl conc. La solution est saturée en NaCl et extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 4 fois. Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 480 mg (>100%) d'un solide qui sont séparés par flash-colonne

chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 95 : 5, h = 20 cm, φ = 2 cm) pour obtenir 330 mg (77%) d'un solide blanc.

C₁₇H₁₈O₄ (214.26) : C 61.91 (61.66), H 8.69 (8.47); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 9 : 1, KMnO₄) = 0.35; p.f. = 47°C; IR (KBr) : 3650-2400m(br) (3042), 2940s, 2876m, 2770m, 2688m, 1693vs, 1469m, 1419s, 1409s, 1383m, 1344m, 1261s, 1241s, 1207m, 1088m, 1103s, 938s; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO) : 0.95 (d, ³J_{H, 11,7} = 6.7, 6H, H₃C(8, 11)); 1.31 (s, 6H, H₃C(9, 10)); 2.40 (t, ³J_{2,3} = 6.3, 2H, H₂C(2)); 2.74 (t, ³J_{3,2} = 6.3, 2H, H₂C(3)); 2.87 (hept., ³J_{7-8, 11} = 6.7, 1H, HC(7)); 12.0-12.25 (s(l), 1H, HD); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : 20.0 C(8, 11); 21.1 C(9, 10); 27.7 C(2) (f); 33.0 C(3) (f); 36.0 C(7); 61.5 C(5); 173.5 C(1) (f); 209.6, 214.2 C(4), C(6); MS (DCI) : 233 (16), 232 (78, [M+NH₄]⁺), 216 (11), 215 (100, [M+1]⁺), 197 (15, [M-HO]⁺), 144 (10, [C₈H₁₂O₃]⁺), 127 (16), 126 (30, [C₇H₁₀O₂]⁺), 99 (10), 98 (12), 97 (10), 88 (16), 87 (20, [C₄H₇O]⁺), 71 (21, [C₄H₇O]⁺), 70 (12), 58 (16), 55 (17).

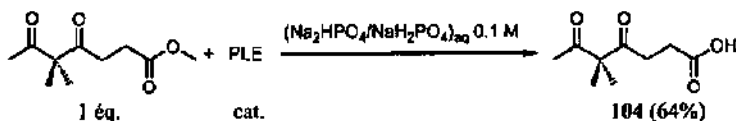
Synthèse du 5,5-diméthyl-4,6-dioxheptanoate de méthyle (108).



Dans une bicol de 25 ml sont introduits sous azote 112 mg (4.66 mmol) d'hydruure de sodium et 20 ml de tétrahydrofurane. Après refroidissement à -25°C sont ajoutés goutte à goutte 791 mg (4.25 mmol) de 5-méthyl-4,6-dioxheptanoate de méthyle (102). Le milieu réactionnel est maintenu à -10°C pendant 45 min puis refroidi à -30°C et 908 mg (6.4 mmol) de iodure de méthyle sont ajoutés. La milieu réactionnel est laissé revenir à 0°C sur 90 min puis agité 14 h à T.a. avant d'être augmenté de 75 ml de diéthyléther, lavé avec 25 ml d'eau, 2 fois 25 ml d'une solution aqueuse 1 M de NaOH et 25 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séché sur MgSO₄, filtré et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 750 mg (88%) d'un liquide orange qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 2 : 1, h = 25 cm, φ = 2 cm) pour obtenir 600 mg (71%) d'un liquide incolore.

C₁₀H₁₆O₄ (200.23) : C 59.81 (59.98), H 7.75 (8.05); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.58; Eb. (0.05 mmHg) = 70-80°C; IR (film) : 2981w, 2955w, 1739s, 1722s, 1700vs, 1467m, 1439m, 1387m, 1368m, 1358m, 1221m, 1173m, 1128m, 1081m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 1.35 (s, 6H, H₃C(8, 9)); 2.12 (s, 3H, H₃C(7)); 2.56 (m, ³J_{2,3} ≅ 6.2, 2H, H₂C(2)); 2.71 (m, ³J_{3,2} ≅ 6.5, 2H, H₂C(3)); 3.64 (s, 3H, H₃C(10)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 21.4 C(8, 9), 26.1 C(7); 27.6 C(2); 33.0 C(3); 51.7 C(10); 62.1 C(5); 172.9 C(1); 207.6, 208.1 C(4), C(6); MS (EI) : 201 (2, [M+1]⁺), 169 (8, [M-CH₃O]⁺), 158 (36, [M-C₂H₅O]⁺), 127 (34), 126 (52, [M-C₃H₇O]⁺), 115 (100, [C₅H₉O]⁺), 111 (38), 87 (22), 86 (21), 85 (13), 71 (26), 70 (18), 69 (13), 59 (38), 57 (11), 56 (10), 55 (72).

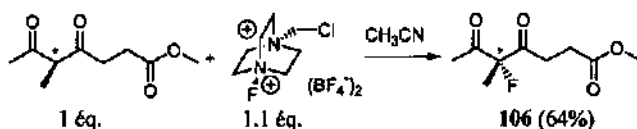
Synthèse de l'acide 5,5-diméthyl-4,6-dioxheptanoïque (104).



Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 580 mg (2.9 mmol) de 5,5-diméthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (108), 40 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8 et 0.3 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 3 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.25 M. Après 4 h, le milieu réactionnel est acidifié à pH 1.5 par adjonction de HCl conc. La solution est saturée en NaCl et extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 3 fois. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 550 mg (>100%) d'un liquide jaunâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 97 : 3, h = 25 cm, φ = 2 cm) pour obtenir 350 mg (64%) d'un solide blanc fondant.

C₉H₁₄O₄ (186.21); HR-MS [M+H]⁺: 187.09693 (187.09648); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 9 : 1, KMnO₄) = 0.47; IR (film): 3700-2400m(br), 2982m, 2938m, 1698vs, 1469m, 1401m, 1368m, 1359m, 1234m, 1167m, 1129m, 1079m, 968m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 1.35 (s, 6H, H₃C(8, 9)); 2.10 (s, 3H, H₃C(7)); 2.60-2.63 (m, 2H, H₂C(2)); 2.69-2.72 (m, 2H, H₂C(3)); 9.5-10.9 (s(β), 1H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR): 21.3 C(8, 9), 26.1 C(7); 27.7 C(2); 32.8 C(3); 62.1 C(5); 178.5 C(1); 207.7, 207.9 C(4), C(6); MS (DCI): 204 (15, [M+NH₄]⁺), 187 (10, [M+1]⁺), 170 (10), 169 (15, [M-HO]⁺), 128 (10), 127 (49, [M-C₂H₅O₂]⁺), 126 (43), 111 (13), 101 (12, [C₄H₅O₃]⁺), 87 (53), 86 (100, [C₇H₁₀O]⁺), 85 (82), 84 (12), 83 (10), 78 (10), 73 (15), 71 (17), 70 (38), 69 (28), 68 (10), 58 (23), 57 (20), 56 (62), 55 (56).

Synthèse du 5-fluoro-5-méthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (106).

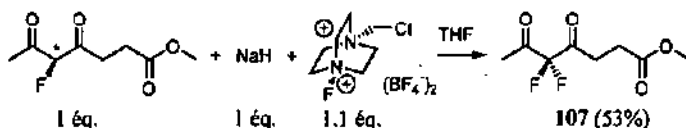


Dans un bicol de 50 ml sont introduits 1.95 g (5.5 mmol) de selectfluor 25, 931 mg (5 mmol) de 5-méthyl-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (102) et 40 ml d'acétonitrile. Le milieu réactionnel est agité pendant 40 h à T.a. puis 5 h à reflux et l'acétonitrile est éliminé par évaporation rotative. Le résidu est repris dans 50 ml de dichlorométhane et versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃. La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 30 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 971 mg (95%) d'un liquide légèrement jaunâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 25 cm, φ = 2 cm) pour obtenir 650 mg (64%) d'un liquide incolore (GC(P4) 97%, t_R = 10.5).

C₉H₁₃FO₄ (204.20); HR-MS [M+Na]⁺: 227.069072 (227.069002); R_f (AcOEt - hexane 1 : 1, KMnO₄) = 0.52; IR (film): 2999w, 2956w, 2855w, 1741vs, 1723s, 1440m, 1415m, 1360m, 1217m, 1171m, 1147m, 1108m, 1076m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 1.61 (d, ³J_{B-F} = 20.4, 3H, H₃C(8)); 2.24 (d, ⁴J_{F-P} = 4.1, 3H, H₃C(7)); 2.56 (ddd, ²J_{2A-2B} = 17.5, ³J_{2A-3B} = 6.9, ³J_{2A-3A} = 5.9, 1H, H_AC(2)); 2.62 (ddd, ²J_{2B-2A} = 17.5, ³J_{2B-3A} = 6.8, ³J_{2B-3B} = 5.7, 1H, H_BC(2)); 2.85 (dddd, ²J_{3A-3B} = 19.2, ³J_{3A-2B} = 6.8, ³J_{3A-2A} = 5.8, ⁴J_{3A-F} = 2.3, 1H, H_AC(3)); 2.91 (dddd, ²J_{3B-3A} = 19.2, ³J_{3B-2A} = 6.9, ³J_{3B-2B} = 5.7, ⁴J_{3B-F} = 2.6, 1H, H_BC(3)); 3.62 (s, 3H, HC(3)); ¹³C-RMN

(100 MHz, CDCl₃, DEPT) : 20.0 (*d*, ²J_{B-F} = 23, 1C, C(8)); 25.2 C(7); 27.1 (*d*, ⁴J_{2-F} = 2, 1C, C(2)); 32.3 (*d*, ³J_{3-F} = 2, 1C, C(3)); 51.8 C(9); 103.8 (*d*, ¹J_{S-F} = 194, 1C, C(5)); 172.4 C(1); 201.5 (*d*, ²J_{4-F} ou ^{6-F} = 27, 1C, C(4 ou 6)); 203.0 (*d*, ²J_{6-F} ou ^{4-F} = 27, 1C, C(6 ou 4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : - 84.21 (*q(m)*, ³J_{F-B} ≡ 21.3, 1F, FC(5)); MS (DCI) : 222 (38, [M+NH₄]⁺), 206 (16), 205 (62, [M+1]⁺), 173 (6, [M-CH₃O]⁺), 162 (31, [M-C₂H₂O]⁺), 131 (18), 130 (62, [M-C₃H₆O₂]⁺), 116 (15), 115 (100, [C₅H₇O₃]⁺), 88 (15), 87 (27), 86 (22), 74 (25), 73 (20), 61 (11), 60 (27), 59 (25), 56 (72), 55 (59).

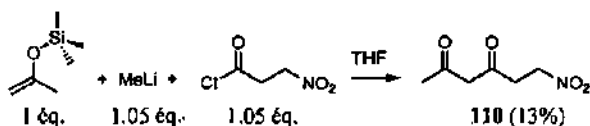
Synthèse du 5,5-difluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (107).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 50.4 mg (2.1 mmol) d'hydrure de sodium et 15 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et sont ajoutés 400 mg (2.1 mmol) de 5-fluoro-4,6-dioxoheptanoate de méthyle (101). Après 30 min est ajoutée une solution de 820 mg (2.3 mmol) de selectfluor 25 dans 5 ml de diméthylformamide. Le milieu réactionnel est agité 20 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'eau et augmenté de 60 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 20 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 3 fois 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 460 mg (>100%) d'un liquide qui sont distillés au four à boules à pression réduite pour obtenir 230 mg (53%) d'un liquide incolore (GC(P1) >99%, t_R = 9.8).

C₈H₁₀F₂O₄ (208.16); HR-MS [M+H]⁺ : 209.06167 (209.06199); R_f (AcDEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.56; Eb. (0.05 mmHg) = 60°C; IR (film) : 3002_w, 2959_m, 2855_w, 1746_{vs}, 1741_s, 1417_m, 1364_s, 1332_m, 1220_s, 1175_s, 1153_s, 1121_s, 1090_s, 1021_m, 992_m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.38 (*t*, ⁴J_{7-F} = 1.7, 3H, H₃C(7)); 2.67 (*t*, ³J₂₋₃ = 6.4, 2H, H₂C(2)); 2.99 (*m*, ³J₂₋₃ = 6.4, 2H, H₂C(3)); 3.67 (*s*, 3H, H₃C(8)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 24.9 C(7), 26.9 C(2); 32.4 C(3); 52.1 C(8); 109.8 (*t*, ¹J_{S-F} = 265, 1C, C(5)); 172.1 C(1); 196.1 (*t*, ²J_{4-F} ou ^{6-F} = 28, 1C, C(4 ou 6)); 197.4 (*t*, ²J_{6-F} ou ^{4-F} = 28, 1C, C(6 ou 4)); ¹⁹F-RMN (188 MHz, CDCl₃) : - 39.98 (*s*, 2F, F₂C(5)); MS (ESI(+)) : ms 209 [M+1]⁺, ms-ms (209) 195 [M+1-CH₂]⁺, 177 [M+1-CH₄O]⁺, 135 [C₅H₇F₂O₃]⁺.

Synthèse du 6-nitro-2,4-hexandione (110).

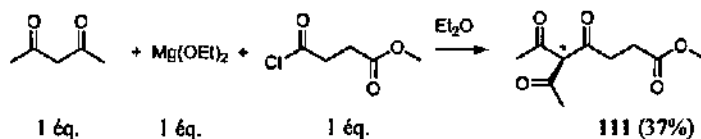


Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 10 ml de tétrahydrofurane et 1.24 g (9.5 mmol) de 2-triméthylsilyloxypropène. La solution est refroidie par un bain de glace et NaCl et 6.25 ml (10 mmol) d'une solution 1.6 M dans le diéthyléther de méthyllithium sont ajoutés goutte à goutte puis la solution est agitée 1 h à T.a. Le milieu réactionnel est refroidi à -90°C et est ajouté sur 15 min à une solution de 1.19 g (10 mmol) de chlorure de 3-nitropropyloyle

(72) dans 20 ml de tétrahydrofurane à la même température. Le milieu réactionnel est laissé revenir à -60°C sur 1 h puis est versée sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 60 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est traitée avec 2 fois 30 ml de dichlorométhane. Les phases organiques sont lavées avec 30 ml d'une solution aqueuse 0.5 % de KHCO_3 puis avec 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.3g (87%) d'une huile orange qui est séparé par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 1 : 1, h = 25 cm, $\phi = 2.5$ cm) pour obtenir 200 mg (13%) de solide orange fondant.

$\text{C}_6\text{H}_9\text{NO}_4$ (159.14); HR-MS(Cl) [M+H]⁺ : 160.06067 (160.06043); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, KMnO_4) = 0.51; p.f. < 25°C ; IR (film) : 3037w, 3010w, 2976w, 2920w, 1729s, 1708s, 1627s, 1556vs, 1423s, 1377s, 1303m, 1252m, 1212m, 1145m, 1011m, 956m, 921m, 887m, 870m, 793m, 490m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) : cétéoénol (82%) 2.04 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(1)$); 3.00 (t, $^3J_{5,6} = 6.3$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(5)$); 4.67 (t, $^3J_{6,5} = 6.3$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(6)$); 5.55 (s, 1H, HC(3)); 14.87 (s, 1H, HO); dicétoène (18%) 2.25 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(1)$); 3.17 (t, $^3J_{5,6} = 5.9$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(5)$); 3.69 (s, 2H, HC(3)) 4.64 (t, $^3J_{6,5} = 5.8$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(6)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3 , DEPT, HETCOR) : cétéoénol 23.2 C(1); 35.5 C(5); 69.5 C(6); 99.9 C(3); 186.6, 192.5 C(2), C(4); dicéto 30.9 C(1); 39.1 C(5); 57.5 C(3); 68.7 C(6); 199.5, 201.4 C(2), C(4); MS (ESI(+)) : 160 [M+1]⁺ faible, 144 [M+1- CH_4]⁺ faible, 130 [M+1- NO_2]⁺ faible, 117 [M+1- $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}$]⁺, 113 [M+1-H NO_2]⁺ faible, 60 [CH_2NO_2]⁺ faible, 59.

Synthèse du 5-acétyl-4,6-heptanoate de méthyle (111).



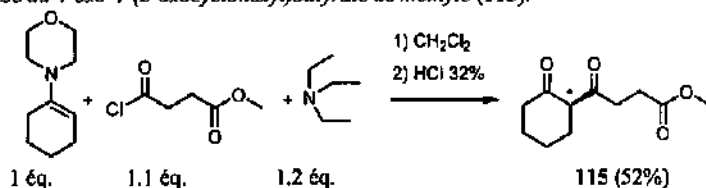
Selon Paul [167], sont introduits 5.72 g (50 mmol) d'éthylate de magnésium dans un bicol de 100 ml, 30 ml de diéthyléther et 1.8 ml d'éthanol. Sont ajoutés goutte à goutte de manière à garder un léger reflux 5 g (50 mmol) de 2,4-pentandione dans 10 ml d'éther puis la suspension est chauffée 6 h à reflux. Après 12 h d'agitation à T.a., une solution de 7.53 g (50 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans 10 ml de diéthyléther est ajoutée goutte à goutte. Après 6 h d'agitation à T.a., le milieu réactionnel est versé sur 80 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 100 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 50 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 10.14 g (95%) d'un liquide orange qui sont distillés dans un Claisen de 25 ml avec colonne Vigreux (5cm) pour donner 3.95 g (37%) d'un liquide incolore.

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_5$ (214.22); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+ KMnO_4) = 0.45; Eb. (0.4 mmHg) = 102-104 $^{\circ}\text{C}$ (lit. [167] (6 mmHg) 146-149 $^{\circ}\text{C}$); IR(film) : 3001m, 2956m, 2851w, 1733vs, 1682s, 1601s, 1437s, 1412s, 1361s, 1214s, 1168s, 1027s, 996s, 928m, 845m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3 , COSY) : dicétoénol (54%) (énol 6, 8) 2.16 (s, 6H, $\text{H}_3\text{C}(7, 9)$); 2.66 (t, $^3J_{2,3} = 6.2$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.93 (t, $^3J_{3,2} = 6.2$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.64 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(10)$); 16.96 (s, 1H, HO); dicétoénol (32%) (énol 4, 6) 2.16 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(7)$); 2.42 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(9)$); 2.61 (t, $^3J_{2,3} = 6.6$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.79 (t, $^3J_{3,2} = 6.7$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.63 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(10)$); 16.83 (s, 1H, HO); tricéto (14%) 2.22 (s, 6H, $\text{H}_3\text{C}(7, 9)$); 2.60 (t, $^3J_{2,3} = 6.6$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.77 (t, $^3J_{3,2} = 6.7$, 2H,

H₂C(3)); 3.62 (s, 3H, H₃C(10)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, DEPT, HETCDR) : dicétoénoI (énoI 6, 8) 24.4 C(7, 9); 28.1 C(2); 39.7 C(3); 51.7 C(10); 118.1 C(5); 172.9 C(1); 191.9 C(6, 8); 201.9 C(4); dicétoénoI (énoI 4, 6) 23.5 C(7); 28.3 C(2); 32.7 C(9); 32.8 C(3); 51.7 C(10); 118.6 C(5); 172.8 C(1); 188.4, 196.4 C(6), C(8); 200.9 C(4); tricéto (céto) 27.8 C(2); 30.2 C(7, 9); 37.6 C(3); 51.8 C(10); 80.5 C(5); 172.7 C(1); 198.9 C(6, 8); 199.8 C(4); MS (EI) : 215 (9, [M+1]⁺), 173 (45, [M+1-C₂H₂O]⁺), 155 (10, [M-C₂H₃O₂]⁺), 141 (43, [M+1-C₃H₅O₂]⁺), 140 (13), 139 (14), 127 (34, [M+1-C₄H₈O₂]⁺), 125 (17), 115 (55, [C₂H₃O₂]⁺), 99 (11), 97 (12), 88 (15), 87 (18), 86 (71), 85 (100, [C₄H₂O₂]⁺), 70 (16), 68 (12), 60 (13), 56 (47); MS (DCI) : 233 (11), 232 (91, [M+NH₄]⁺), 216 (12), 215 (83, [M+1]⁺), 214 (10), 190 (42, [M+NH₄-C₂H₂O]⁺), 187 (27, [M+1-CO]⁺), 174 (15), 173 (100, [M+1-C₂H₂O]⁺), 172 (10).

2.2.1.2.3 Synthèses des dérivés cycliques de l'acide 4,6-dioxoheptanoïque.

Synthèse du 4-oxo-4-(2-oxocyclohexyl)butyrate de méthyle (115).

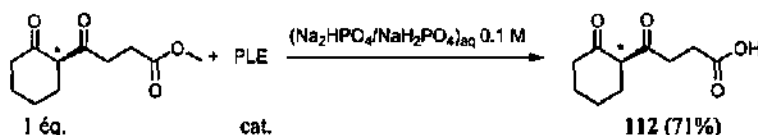


Selon Lücke et Hünig [168], 4.18 g (50 mmol) de *N*-morpholine cyclohexène, 50 ml de chloroforme (dépourvu d'éthanol) et 6.08 g (60 mmol) de triéthylamine sont introduits dans un bicol de 250 ml. Le milieu réactionnel est chauffé à 35°C et laissé agiter 30 min. Une solution de 8.28 g (55 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans 20 ml de chloroforme est ajoutée sur 10 min. Après 1 h à 35°C, la réaction est laissée agiter à T.a pendant 16 h puis 24 ml d'une solution aqueuse 20% de HCl sont introduits dans le milieu réactionnel qui est chauffé 6 h à 65°C. Après refroidissement, 80 ml d'eau sont ajoutés et les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 100 ml de chloroforme puis les phases organiques rassemblées sont lavées avec 2 fois 50 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 11.51 g (>100%) d'un liquide orange qui sont distillés sous pression réduite dans un Claisen de 25 ml avec colonne Vigreux (10 cm) pour obtenir 5.83 g (52%) d'un liquide incolore.

C₁₁H₁₆O₄ (212.25) : C 61.92 (62.25), H 7.75 (7.60); HR-MS [M+Na] : 235.094075 (235.094074); R_f (AcDEI - hexane 3 : 1, KMnO₄) = 0.58; Eb. (0.05 mmHg) = 99-100°C; IR (film) : 2941s, 2863s, 1733vs, 1615vs, 1417s, 1368s, 1213s, 1163vs, 1073m, 1027m, 991s, 964m, 922m, 878m, 848m, 825m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, COSY) : cétoénoI (89%) 1.62-1.67 (m, 4H, H₂C(8, 9)); 2.28-2.33 (m, 4H, H₂C(10, 7)); 2.61 (t, ³J_{2,3} = 6.6, 2H, H₂C(2)); 2.74 (t, ³J_{3,2} = 6.7, 2H, H₂C(3)); 3.67 (s, 3H, H₃C(11)); 15.36 (s, 1H, HO); dicétoénoI (11%) 3.52 (dd, ³J_{5-10A} = 9.1, ³J_{5-10B} = 5.8, 1H, HC(5)); 3.64 (s, 3H, H₃C(11)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃, DEPT, HETCDR) : cétoénoI 21.3, 22.5 C(8), C(9); 23.3 C(10); 27.6 C(2); 30.2 C(7); 32.1 C(3); 51.6 C(11); 106.5 C(5); 173.3 C(1); 178.9 C(4); 200.5 C(6); dicétoénoI (2 pics superposés avec le cétoénoI) 23.0, 26.9, 28.7; 37.0 C(3); 42.0 C(7); 63.3 C(5); 173.0 C(1); 205.5, 208.0 C(4), C(6); MS (EI) : 212 (32, M⁺), 181 (19), 180 (23, [M-CH₃OH]⁺), 152 (44,

[M-CH₂OH-CO]⁺, 125 (100, [M-C₄H₇O₂]⁺), 124 (28), 115 (30, [C₅H₉O₃]⁺), 97 (23, [C₆H₉O]⁺), 79 (33), 77 (28), 69 (34, [C₅H₉]⁺), 67 (28), 59 (34), 55 (73).

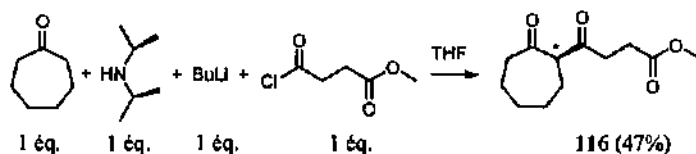
Synthèse de l'acide 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrique (112).



Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 1.2 g (5.65 mmol) de 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle, 50 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8 et 0.3 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 3 mg, 130U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse 0.5 M de NaOH. Après 5 h, le milieu réactionnel est acidifié à pH 1.5 par adjonction de HCl conc. La solution est saturée en NaCl et extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 4 fois. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative pour donner 1.1 g (98%) d'une solide jaunâtre mou qui est cristallisée par dissolution dans l'acétate d'éthyle et adjonction biphasique d'hexane. Sont obtenus 800 mg (71%) d'un solide légèrement rosé qui est recristallisé une seconde fois pour donner 675 mg (60%) d'un solide blanc pur.

C₁₀H₁₄O₄ (198.22); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 8 : 2, UV+KMnO₄) = 0.61; p.f. = 123-124°C (lit.[168] 121-123°C); IR (film): 3600-2400m(*br*) (3042), 2951m, 2936m, 2870m, 1708vs, 1624m, 1590m, 1438m, 1412m, 1396m, 1377m, 1353m, 1292m, 1255s, 1244s, 1206m, 1175m, 1131m, 928m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): cétoneol (89%) 1.68-1.77 (*m*, 4H, H₂C(8, 9)); 2.39 (*t*, ³J_{7,8} ou 10,9 = 5.7, 2H, H₂C(7 ou 10)); 2.41 (*m*, ³J_{10,9} ou 7,8 = 4.6, 2H, H₂C(10 ou 7)); 2.57 (*t*, ³J_{2,3} = 6.3, 2H, H₂C(2)); 2.81 (*t*, ³J_{3,2} = 6.4, 2H, H₂C(3)); 11.95-12.50 (*s*(*l*), 1H, HOOC); 15.51 (*s*, 1H, HO); dicétone (11%) 3.86 (*t*, ³J_{5,10A} ≡ ³J_{5,10B} ≡ 7.9, 1H, HC(5)); ¹³C-RMN (100 MHz, COCl₂): cétoneol 21.2, 22.2 C(8), C(9); 23.8 C(7 ou 10); 27.6 C(2); 29.9 C(10 ou 7); 32.3 C(3); 106.7 C(5); 173.9 C(1); 177.9 C(4); 202.1 C(6); dicétone 22.9, 26.7, 27.8, 28.5 C(2, 8, 9, 10); 37.2 C(3); 41.8 C(7); 62.4 C(5); 173.8 C(1); 206.9, 208.8 C(4), C(6); MS (EI): 198 (60, M⁺), 180 (30, [M-H₂O]⁺), 152 (36, [M-H₂O-CO]⁺), 151 (31), 125 (100, [M-C₃H₅O₂]⁺), 124 (31), 97 (30, [C₆H₉O]⁺), 96 (22), 91 (25), 83 (46, [C₅H₇O]⁺), 81 (22), 79 (45, [C₆H₇]⁺), 77 (37), 73 (28), 70 (35), 69 (44, [C₅H₉]⁺), 67 (27), 56 (45).

Synthèse du 4-(2-oxocycloheptyl)-4-oxobutyrate de méthyle (116).

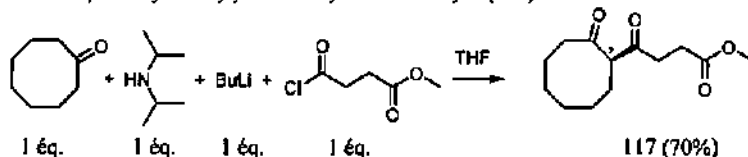


Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 10 ml de tétrahydrofur et 1.52 g (15 mmol) de diisopropylamine. Après refroidissement par un bain de glace, 10 ml (15 mmol) de butyllithium 1.5 M dans l'hexane sont ajoutés goutte à goutte et le milieu réactionnel est agité 30 min à cette température puis 30 min à T.a. La solution est refroidie à -60°C par un bain de

(86%) d'un solide légèrement rosé qui sont recristallisés une seconde fois pour donner 710 mg (62%) d'un solide blanc pur.

$C_{11}H_{16}O_4$ (212.25) : C 62.20 (62.25), H 7.63 (7.60); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, $KMnO_4$) = 0.40; p.f. = 87-88°C; IR(filin) : 3600-2300(*br*) (3033), 2971 \bar{m} , 2926 \bar{m} , 2866 \bar{m} , 2847 \bar{m} , 1714 \bar{vs} , 1585 \bar{s} , 1457 \bar{m} , 1412 \bar{s} , 1350 \bar{m} , 1333 \bar{m} , 1293 \bar{m} , 1250 \bar{s} , 1201 \bar{m} , 1183 \bar{s} , 983 \bar{m} , 966 \bar{m} , 943 \bar{m} ; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$, COSY) : céténoïl (55%) 1.52 (*qi*, $^3J_{10,9} \equiv ^3J_{10,11} \equiv 5.6$, 2H, $H_2C(10)$); 1.63 (*qi*, $^3J_{8,7} \equiv ^3J_{8,9} \equiv 5.5$, 2H, $H_2C(8)$); 1.72 (*qi*, $^3J_{9,8} \equiv ^3J_{9,10} \equiv 5.5$, 2H, $H_2C(9)$); 2.35-2.37 (*m*, 2H, $H_2C(11)$); 2.45-2.51 (*m*, 2H, $H_2C(7)$); 2.64 ("r", $^3J_{2,3} \equiv 7.3$, 2H, $H_2C(2)$); 2.75 ("r", $^3J_{3,2} \equiv 7.0$, 2H, $H_2C(3)$); 11.57 (*s*(β), 1H, HOOC); 16.37 (*s*, 1H, HOC); dicétone (45%) 1.27-1.37 (*m*, 1H, $H_A C(10)$); 1.35-1.47 (*m*, 1H, $H_A C(9)$); 1.46-1.56 (*m*, 1H, $H_A C(8)$); 1.88-1.96 (*m*, 3H, $H_B C(8)$, $H_B C(9)$, $H_A C(11)$); 1.88-1.96 (*m*, 1H, $H_B C(10)$); 1.99-2.05 (*m*, 1H, $H_B C(11)$); 2.53-2.68 (*m*, 4H, $H_2C(2)$, $H_2C(7)$); 2.59-2.68 (*m*, 1H, $H_A C(3)$); 2.79-2.88 (*m*, 1H, $H_B C(3)$); 3.67 (*dd*, $^2J_{5-11A} \text{ ou } 5-11B = 10.9$, $^3J_{5-11B} \text{ ou } 5-11A = 4.2$, 1H, HC(5)); 11.57 (*s*(β), 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$, HETCOR) : céténoïl 24.5 C(8); 25.9 C(11); 28.2 C(10); 28.9 C(2); 30.3 C(3); 31.6 C(9); 38.9 C(7); 111.4 C(5); 178.9 C(1); 190.2, 195.8 C(4), C(6); dicéto 24.8 C(8); 26.4 C(11); 27.7 C(10); 27.7 C(2); 29.8 C(9); 36.5 C(3); 43.0 C(7); 66.5 C(5); 172.6 C(1); 205.0, 210.5 C(4), C(6); MS (EI) : 212 (13, M^{++}), 194 (15, $[M-H_2O]^+$), 166 (23, $[M-H_2O-CO]^+$), 165 (10), 139 (48, $[M-C_3H_5O_2]^+$), 124 (10), 112 (11), 111 (18, $[C_7H_{11}O]^+$), 101 (14), 97 (12, $[C_6H_9O]^+$), 84 (13), 83 (17, $[C_5H_7O]^+$), 73 (12), 67 (12), 56 (11), 55 (100).

Synthèse du 4-(2-oxocyclooctyl)-4-oxobutyrat de méthyle (117).



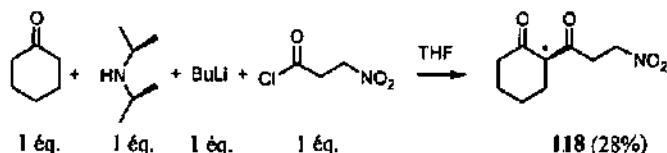
Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 10 ml de tétrahydrofurane et 1.52 g (15 mmol) de diisopropylamine. Après refroidissement par un bain de glace, 10 ml (15 mmol) de butyllithium 1.5 M dans l'hexane sont ajoutés goutte à goutte et le milieu réactionnel est agité 30 min à cette température puis 30 min à T.a. La solution est refroidie à -60°C et une solution de 1.89 g (15 mmol) de cyclooctanone dans 5 ml de tétrahydrofurane est ajoutée. Après 30 min, le milieu réactionnel est refroidi à -80°C et est ajouté goutte à goutte par une canule à une solution à la même température de 2.26 g (15 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans 10 ml de tétrahydrofurane. Le milieu réactionnel est laissé revenir à -50°C sur 1 h 30 min puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de NH_4Cl , augmenté de 70 ml de diéthyléther et la phase aqueuse est extraite avec 3 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 4.68 g (>100%) d'un liquide transparent qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, $\phi = 3.5$ cm) pour obtenir 2.52 g (70%) d'un liquide incolore pur. Le produit est distillé au four à boules pour donner 1.95 g (54%).

$C_{13}H_{20}O_4$ (240.30) : C 64.92 (64.98), H 8.57 (8.39); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.61; Eb. (0.02 mmHg) = 120°C; IR(filin) : 2927 \bar{s} , 2856 \bar{m} , 1741 \bar{vs} , 1694 \bar{m} , 1602 \bar{s} , 1473 \bar{m} , 1439 \bar{s} , 1413 \bar{m} , 1362 \bar{s} , 1334 \bar{m} , 1303 \bar{m} , 1220 \bar{s} , 1169 \bar{s} , 1144 \bar{m} , 1090 \bar{m} , 991 \bar{m} , 957 \bar{m} ; 1H -RMN

HC(5)); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3 , HETCOR) : cétoénoël 24.5 C(12); 25.8 C(10); 26.4 C(9); 28.4 C(2); 28.6 C(8); 30.1 C(11); 31.3 C(3); 34.2 C(7); 108.8 C(5); 179.0 C(1); 187.7, 196.7 C(4), C(6); dicéto 24.6, 25.9, 26.4 C(9), C(10), C(11); 26.8 C(8); 27.4 C(12); 27.7 C(2); 36.0 C(3); 40.8 C(7); 66.5 C(5); 178.5 C(1); 204.2, 213.2 C(4), C(6); MS (ESI(-)) : ms 225 [M-1], ms-ms (225) 207 [M-1-H₂O], 99 [C₄H₃O₃].

* interprétation incertaine

Synthèse du 2-(3-nitropropionyl)-cyclohexanone (118).



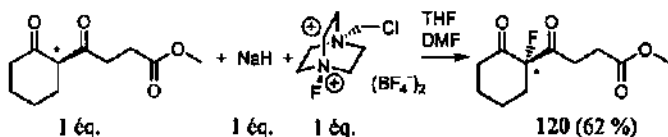
Selon Seebach [169], dans un bicol de 25 ml sont introduits 15 ml de tétrahydrofurane et 455 mg (4.5 mmol) de diisopropylamine. La solution est refroidie par un bain de glace et 3 ml (4.5 mmol) d'une solution 1.5 M de butyllithium dans l'hexane sont ajoutés goutte à goutte puis après 30 min le bain de glace est retiré et la solution est agitée 30 min à T.a. Le milieu réactionnel est refroidi à 80°C et 442 mg (4.5 mmol) de cyclohexanone sont ajoutés goutte à goutte. Après 30 min à cette température, le milieu réactionnel est refroidi à -90°C et est ajoutée sur 15 min à une solution de 10 ml de tétrahydrofurane et 536 mg (4.5 mmol) de chlorure de 3-nitropropionyle (72) à la même température dans un bicol de 50 ml par une canule. Le milieu réactionnel est laissé revenir à -60°C sur 1 h puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 60 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 30 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 940 mg (>100%) d'un liquide brun qui sont séparés par flash-colonne chromatographique ($\text{Et}_2\text{O} - \text{CCl}_4$ 3 : 1, h = 25 cm, $\phi = 2$ cm) pour obtenir 290 mg (32%) de solide orange. Une deuxième flash-colonne chromatographique ($\text{Et}_2\text{O} - \text{CCl}_4$ 5 : 2, h = 20 cm, $\phi = 1.5$ cm) donne 250 mg (28%) de solide orange qui est peu stable en solution. Le produit est recristallisé dans un mélange biphasique diéthyléther hexane pour donner 80 mg (9%) d'un solide rosé.

$\text{C}_9\text{H}_{13}\text{NO}_4$ (199.21); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, UV+ KMnO_4) = 0.59; p.f. = 48°C; IR(film) : 2941_m, 2923_m, 2855_w, 1622_{vs}, 1560_s, 1445_m, 1424_s, 1390_m, 1375_m, 1338_m, 1302_m, 1268_m, 1250_m, 1219_m, 1170_m, 871_m; ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) : cétoénoël 1.68-1.73 (m, 4H, H₂C(4), H₂C(5)); 2.33-2.37 (m, 4H, H₂C(3), H₂C(6)); 3.10 (t, $^3J_{8,9} = 6.2$, 2H, H₂C(8)); 4.70 (t, $^3J_{9,8} = 6.2$, 2H, H₂C(9)); 15.08 (s, 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3 , HETCOR) : cétoénoël 21.3, 22.5 C(4), C(5); 23.3 C(3); 30.3 C(6); 33.8 C(8); 69.1 C(9); 106.4 C(2); 180.2 C(7); 197.1 C(1).

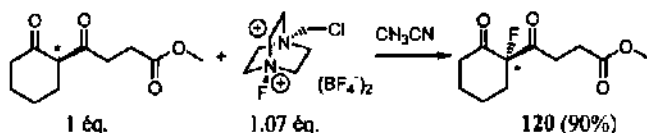
cm, $\phi = 2$ cm) pour obtenir 365 mg (77%) d'un solide blanc qui sont recristallisés par dissolution dans le chloroforme puis cristallisé par adjonction biphasique d'hexane pour donner 288 mg (61%).

$C_{11}H_{16}O_4$ (212.25) : C 62.04 (62.25), H 7.65 (7.60); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, UV+ $KMnO_4$) = 0.54; p.f. = 82°C; IR (film) : 3600-2400(*m*,br) (3041) 2950s, 2934s, 2866m, 1709s, 1693vs, 1455m, 1447m, 1434s, 1398s, 1365m, 1347m, 1293m, 1260s, 1224s, 1124m, 1078m, 1008m, 988m, 976m, 949m, 931m, 907m, 847m, 662m, 532m; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$, COSY) : 1.26 (s, 3H, $H_3C(11)$); 1.42-1.51 (m, 1H, $H_A C(10)$); 1.60-1.69 (m, 1H, $H_A C(9)$); 1.60-1.74 (m, 2H, $H_2 C(8)$); 1.93-2.02 (m, 1H, $H_B C(9)$); 2.32-2.41 (m, 1H, $H_A C(7)$); 2.42-2.54 (m, 2H, $H_B C(7)$, $H_B C(10)$); 2.56-2.70 (m, 3H, $H_2 C(2)$, $H_A C(3)$); 2.75-2.85 (m, 1H, $H_B C(3)$); 8.45-11.30 (s(l), 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$, HETCOR) : 21.2 C(11); 22.1 C(8); 27.2 C(9); 27.6 C(2); 32.4 C(3); 36.8 C(10); 41.2 C(7); 63.2 C(5); 178.5 C(1); 207.5, 210.5 C(4), C(6); MS (EI) : 212 (5, M^{+}), 194 (4, $[M-H_2O]^{+}$), 166 (6, $[M-CH_2O_2]^{+}$), 151 (13, $[M-C_2H_5O_2]^{+}$), 112 (78, $[C_6H_8O_2]^{+}$), 101 (29, $[C_4H_8O_3]^{+}$), 97 (53, $[C_3H_8O_2]^{+}$), 84 (18), 83 (26), 73 (16), 69 (22), 58 (20), 55 (100).

Synthèse du 4-(1-fluoro-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (120).



Dans un bicol de 75 ml sont introduits sous azote 48 mg (2 mmol) d'hydruure de sodium et 50 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie à -20°C et 425 mg (2 mmol) de 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (115) sont ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est laissé revenir à -10°C sur 45 min puis est ajoutée goutte à goutte une solution de 708 mg (2 mmol) de selectfluor 25 dans 3 ml de diméthylformamide. Le milieu réactionnel est agitée 72 h à T.a. puis est versé sur une solution aqueuse de 40 ml d'acide chlorhydrique et est augmenté de 150 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 2 fois 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 390 mg (85%) d'un liquide incolore qui est sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 2 : 1, h = 20 cm, $\phi = 1.5$ cm) pour obtenir 285 mg (62%) d'un liquide incolore.



Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 1.9 g (5.36 mmol) de selectfluor (25), 40 ml d'acétonitrile et 1.06 g (5 mmol) de 4-(2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (115). Un léger échauffement de la solution est constaté et après 3 h à T.a. la réaction est terminée (GC(P5), $t_R = 23.0$) et le solvant est évaporé par l'action d'une trompe à eau. Le résidu est repris dans 50 ml de dichlorométhane et la solution est lavée avec 3 fois 25 ml d'eau. La phase

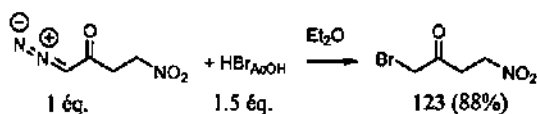
organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 1.08 g (94%) d'un liquide qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 2 : 1, h = 25 cm, ϕ = 2 cm) pour obtenir 1.03 g (90%) d'un liquide incolore.

$\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{FO}_4$ (230.24) : C 57.39 (57.39), H 6.74 (6.57); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO_4) = 0.62; IR (film) : 2954s, 2871m, 1737vs, 1719s, 1439s, 1421m, 1358s, 1316m, 1257m, 1212s, 1175s, 1136m, 1114s, 1071m, 1023m, 990m, 974m, 958m, 899m, 850m, 840m, 608m, 438m, 416m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3 , COSY) : 1.71-1.82 (m, 1H, $\text{H}_A\text{C}(8)$); 1.82-1.90 (m, 1H, $\text{H}_A\text{C}(9)$); 1.91-2.04 (m, 3H, $\text{H}_B\text{C}(8)$, $\text{H}_B\text{C}(9)$, $\text{H}_A\text{C}(10)$); 2.39-2.47 (m, 1H, $\text{H}_B\text{C}(10)$); 2.55 (ddd, $^2J_{2A-2B} = 17.4$, $^3J_{2A-3A} = 6.9$, $^3J_{2A-3B} = 5.4$, 1H, $\text{H}_A\text{C}(2)$); 2.64 (ddd, $^2J_{2B-2A} = 17.2$, $^3J_{2B-3B} = 8.1$, $^3J_{2B-3A} = 5.0$, 1H, $\text{H}_B\text{C}(2)$); 2.80 (dddd, $^2J_{3A-3B} = 19.4$, $^3J_{3A-2A} = 6.9$, $^3J_{3A-2B} = 5.0$, $^4J_{3A-F} = 2.9$, 1H, $\text{H}_A\text{C}(3)$); 2.05 (dddd, $^2J_{3B-3A} = 19.4$, $^3J_{3B-2B} = 8.0$, $^3J_{3B-2A} = 5.3$, $^4J_{3B-F} = 3.5$, 1H, $\text{H}_B\text{C}(3)$); 3.66 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(11)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3 , HETCOR) : 21.1 (d, $^3J_{9-F} = 8$, 1C, C(9)); 26.3 C(8); 27.0 (d, $^4J_{9-F} = 3$, 1C, C(9)); 32.8 C(3); 36.0 (d, $^2J_{10-F} = 20$, 1C, C(10)); 40.1 C(7); 101.7 (d, $^1J_{5-F} = 197$, 1C, C(5)); 172.6 C(1); 202.2 (d, $^2J_{4-F}$ ou $6-F = 18$, 1C, C(4 ou 6)); 204.7 (d, $^2J_{6-F}$ ou $4-F = 30$, 1C, C(6 ou 4)); MS (DCI) : 248 (6, $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$), 231 (36, $[\text{M}+1]^+$), 211 (16, $[\text{M}-\text{F}]^+$), 182 (10, $[\text{M}-\text{CHFO}]^+$), 150 (20, $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_3\text{FO}]^+$), 129 (11), 116 (31), 115 (100, $[\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_3]^+$), 88 (13), 87 (32), 86 (33, $[\text{C}_5\text{H}_7\text{F}]^+$), 73 (32), 72 (12), 65 (11), 60 (34), 59 (40), 57 (11), 56 (59), 55 (76).

2.2.1.3 Synthèses des autres analogues de substrats.

2.2.1.3.1 Synthèses des substrats artificiels potentiels de la porphobilinogène synthase.

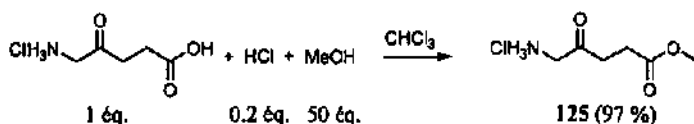
Synthèse du 1-bromo-4-nitro-2-butanone (123).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 355 mg (2.48 mmol) de 1-diazo-4-nitro-2-butanone (71) et 15 ml de diéthyléther. La solution est refroidie par un bain de glace et 0.65 ml (3.72 mmol) de HBr 5.7 M dans l'acide acétique est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est maintenu à 0°C pendant 15 min puis versé sur 15 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO_3 et augmenté de 30 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 30 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 420 mg (97%) d'une huile brune qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (diéthyléther, h = 20 cm, ϕ = 1 cm) pour donner 428 mg (88%) d'un solide orangé.

$\text{C}_4\text{H}_6\text{BrNO}_3$ (196.00); R_f (diéthyléther, UV+ KMnO_4) = 0.42; p.f. = 50-51°C; IR (KBr) : 3028w, 2999m, 2972w, 2951m, 2915w, 1733s, 1547vs, 1415s, 1379s, 1334m, 1215m, 1083m, 1030m, 956m, 880m, 695m, 584m, 492m, 483m; $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3) : 3.32 (t, $^3J_{3-4} = 5.9$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.99 (s, 2H, $\text{H}_2\text{C}(1)$); 4.68 (t, $^3J_{4-3} = 5.8$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(4)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (50 MHz, CDCl_3) : 33.4 C(3); 35.7 C(1); 68.9 C(4); 198.0 C(2).

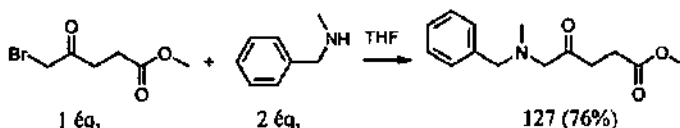
Synthèse du chlorure de 4-méthoxycarbonyl-2-oxo-1-butylammonium (125).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 838 mg (5 mmol) de chlorure de 4-carboxy-2-oxo-butylammonium (**1**), 100 µl d'une solution aqueuse 32% de HCl, 15 ml de méthanol et 10 ml de chloroforme. La réaction est portée à reflux à travers un piège de tamis moléculaire 3Å pendant 2 h. Le solvant est éliminé par évaporation rotative et le résidu solide jaune est dissous à chaud dans peu de méthanol et cristallisé par adjonction biphasique de diéthyléther pour donner 880 mg (97%) d'une solide blanc. Pour obtenir un produit complètement débarrassé d'acide non méthylé, le solide est dissous dans le méthanol et cristallisé par adjonction biphasique de diéthyléther pour donner 660 mg (73%) d'un solide blanc qui est recristallisé à chaud dans l'acétonitrile pour donner 410 mg (45%) d'un solide blanc pur.

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{ClNO}_3$ (181.62) : C 39.62 (39.68) H 6.82 (6.66) N 7.73 (7.71); R_f (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN} - \text{H}_2\text{O}$ 13 : 1, ninhydrine) = 0.56; p.f. = 124°C (lit. [172] 119-121°C; [158] 144-146°C); IR (KBr) : 3700-2400m(br), 2956s, 2909s, 2691w, 1722vs, 1593m, 1475s, 1450m, 1433s, 1420s, 1381m, 1326s, 1282m, 1201s, 1181m, 1143s, 1095m, 1061m, 997m, 978m, 855m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.55 (t, $^3J_{\text{H},3} = 6.5$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(4)$); 2.81 (t, $^3J_{\text{H},4} = 6.5$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.59 (s, 3H, $\text{H}_2\text{C}(6)$); 3.95 (q(l), $^3J_{\text{H},\text{HN}} \equiv 5.2$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(1)$); 8.34-8.58 (s(l), 3H, H_3N); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) : 27.0 C(4); 34.4 C(3); 46.6 C(1); 51.6 C(6); 172.6 C(5); 202.8 C(2); MS (DCI) : 146 (100, $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}_3]^+$), 114 (13, $[\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_2]^+$), 55 (15).

Synthèse du N-benzyl-N-méthyl-5-aminolévulinate de méthyle (127).

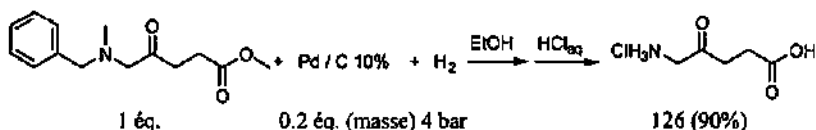


Dans un bicol de 75 ml sont introduits 40 ml de tétrahydrofurane et 3.0 g (14.35 mmol) de 5-bromolévulinate de méthyle (**55**). La solution est refroidie par un bain de glace et 3.48 g (28.7 mmol) de benzyle méthyle amine sont ajoutés sur 5 min. Le milieu réactionnel est agité 1 h 30 min à 0°C et 21 h à T.a. puis est versé sur 60 ml d'une solution aqueuse 1 M de NaOH et augmenté de 100 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 4 fois 75 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 5.1 g (>100%) d'un liquide qui sont distillés au four à boules pour donner 2.71 g (76%) d'un liquide incolore (GC(P6) 99%, $t_R = 17.1$).

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ (249.31); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+ KMnO_4) = 0.32; Eb. (0.25 mmHg) = 135°C; IR (film) : 3086w, 3063w, 3028w, 2951m, 2843m, 2792m, 1739vs, 1495m, 1454s, 1438s, 1409m, 1368s, 1314m, 1210s, 1174s, 1126m, 1027m, 1003m, 743s, 701m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) : 2.27 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(14)$); 2.56 (t, $^3J_{2,3} = 6.6$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.77 (t, $^3J_{3,2} = 6.6$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.18 (s, 2H, $\text{H}_2\text{C}(5)$); 3.56 (s, 2H, $\text{H}_2\text{C}(7)$); 3.63 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(6)$); 7.22-7.34

(*m*, 5H, HC(9-13)); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) : 27.4 C(2); 34.5 C(3); 42.8 C(14); 51.6 C(6); 62.0 C(7); 66.2 C(5); 127.2 C(11); 128.2, 128.9 C(9, 13), C(10, 12), 138.1 C(8); 173.0 C(1); 208.1 C(4); MS (EI) : 249 (4, $[\text{M}]^+$), 218 (6, $[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}]^+$), 135 (11), 134 (86, $[\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}]^+$), 92 (15), 91 (100, $[\text{C}_7\text{H}_7]^+$), 65 (26).

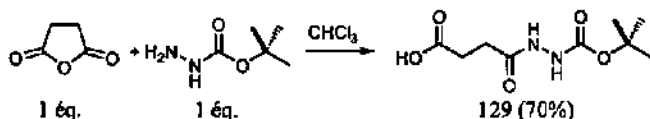
Synthèse du *N*-(4-carboxy-2-oxobutyl)-*N*-méthylammonium (126).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 1.02 g (4.1 mmol) de *N*-benzyl-*N*-méthyl-5-aminolévulinat de méthyle (127), 100 ml d'éthanol et 200 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 24 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé au méthanol. Le filtrat est évaporé à sec puis est traité avec 30 ml d'une solution aqueuse 6 M de HCl à reflux 2 h. Le milieu réactionnel est évaporé à sec puis coévaporé avec du chloroforme sec. Sont obtenus 790 mg (>100%) d'une huile brunâtre qui sont recristallisés dans le tétrahydrofurane par adjonction biphasique de diéthyléther pour donner 667 mg (90%) d'un solide blanc.

$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{ClNO}_3$ (181.62) : C 40.50 (39.68), H 6.72 (6.66), N 7.91 (7.71); R_f (RP-18, $\text{CH}_3\text{CN} - \text{H}_2\text{O}$ 13 : 1, KMnO_4) = 0.34; p.f. = 121°C; IR (KBr) : 3700-2300s(*br*), 2986s, 2867*m*, 2793s, 2710*m*, 2502*m*, 2423*m*, 1719vs, 1596*m*, 1467*m*, 1430s, 1400s, 1372s, 1337*m*, 1243*m*, 1208s, 1173s, 1122*m*, 1097*m*, 1053*m*, 1029*m*, 968*m*, 933*m*, 917*m*, 842*m*, 775*m*; ^1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.49 (*t*, $^3J_{4,3} = 6.4$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(4)$); 2.50 (*s*, 3H, $\text{H}_3\text{C}(6)$); 2.73 (*t*, $^2J_{3,4} = 6.5$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.60 (*s*, 2H, $\text{H}_2\text{C}(1)$); 9.15-9.40 (*s(l)*, 1H, HN); 12.1-12.6 (*s(l)*, 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, DEPT) : 27.4 C(4); 32.6 C(6); 34.7 C(3); 55.3 C(1); 173.4 C(5); 202.4 C(2); MS (ESI(+)) : ms 146 $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}_3]^+$, ms-ms (146) $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{NO}_2]^+$, ms-ms-ms (146, 128) 110 $[\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}]^+$, 100 $[\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}]^+$, ms-ms-ms-ms (146, 128, 100) 82 $[\text{C}_5\text{H}_9\text{N}]^+$.

Synthèse de l'acide 4-(*N*'-tert-butylloxycarbonyl-hydrazino)-4-oxobutyrique (129).

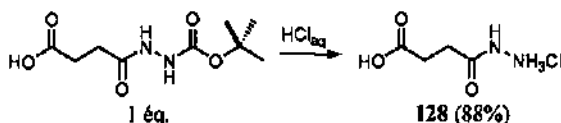


Dans un bicol de 100 ml sont introduits 2.0 g (20 mmol) d'anhydride succinique et 50 ml de chloroforme. La solution est agitée et refroidie à l'aide d'un bain de glace. Sont ajoutés sur 1 h 2.64 g (20 mmol) de *tert*-butylcarbamate dans 10 ml de chloroforme. Le milieu réactionnel est agité pendant 15 h à T.a. Le solvant est évaporé et le résidu sous forme d'une huile collante incolore (>100%) est séparé par flash-colonne chromatographique (AcOEt, $h = 25$ cm, $\phi = 3.5$ cm). Sont obtenus 3.26 g (70%) d'un "solide" collant qui avec le temps cristallise.

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ (232.24) : C 46.65 (46.55), H 7.00 (6.94), N 11.96 (12.06); R_f (AcOEt, I_2) = 0.29; IR (KBr) : 3700-2700*m*(*br*) (3316), 2948*m*, 2936*m*, 1724vs, 1506*m*, 1457*m*, 1396*m*, 1371*m*,

1251s, 1160s; $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, d_6 -DMSO) : 1.40 (s, 9H, $\text{H}_3\text{C}(7-9)$); 2.33-44 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C}(2, 3)$); 8.71 (s(l), 1H, HN ou HN'); 9.54 (s(l), 1H, HN' ou HN); $^{13}\text{C-RMN}$ (50 MHz, d_6 -DMSO) : 28.1 C(7-9), C(2 ou 3); 28.8 C(3 ou 2); 79.0 C(6); 155.3 C(5); 170.8, 173.6 C(1), C(4); MS (EI) : 176 (2, $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$), 159 (5, $[\text{M}-\text{OC}_4\text{H}_9]^+$), 141 (6, $[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_{11}\text{O}_2]^+$), 114 (5), 101 (4, $[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2]^+$), 73 (4), 59 (19), 57 (100, $[\text{C}_4\text{H}_9]^+$), 55 (16).

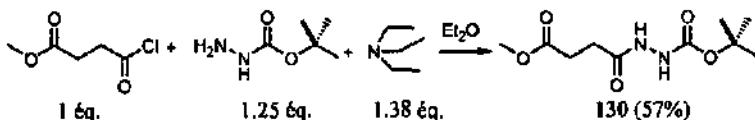
Synthèse du chlorure de *N'*-succinylhydrazinium (128).



Dans un ballon de 100 ml sont introduits 3.176 g (13.7 mmol) d'acide 4-(*N'*-tert-butylloxycarbonyl-hydrazino)-4-oxobutyrique (129) et 60 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl. La solution est agitée 6 h 30 min à T.a. L'eau est éliminée par évaporation rotative et le résidu est cristallisé dans éthanol et éther. Le solide blanc obtenu est recristallisé dans éthanol et éther, filtré, traité avec 2 fois 20 ml de chloroforme sec qui est évaporé. Sont obtenus 2.02 g (88%) d'un solide blanc.

$\text{C}_4\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}_3$ (168.58) C 28.52 (28.50), H 5.20 (5.38), N 16.77 (16.62); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH - AcOH 5 : 3 : 2, KMnO_4) = 0.42; p.f. = 158°C; IR (KBr) : 3700-2200s(br) (2984), 2683s, 1942w, 1698s, 1664vs, 1571m, 1536s, 1514s, 1423m, 1380m, 1342m, 1271s, 1254s, 1240s, 1216vs, 1187s, 1091m, 1033m, 991m, 949m, 855m, 837m, 656m, 611m, 558s, 523m; $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, d_6 -DMSO) : 2.41-2.46 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C}(2, 3)$); 9.8-11.0 (s(l), 3H, H_3N); 11.17 (s, 1H, HNNH_2); (200 MHz, D_2O) : 2.55-2.64, 2.65-2.74 (m(AA'), 2H, $\text{H}_2\text{C}(2$ ou 3)), (m(BB'), 2H, $\text{H}_2\text{C}(3$ ou 2)); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, d_6 -DMSO) : 27.8, 28.5 C(2), C(3); 170.8 C(1); 173.5 C(4); MS (DCI) : 133 (100, $[\text{C}_4\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_3]^+$), 115 (20, $[\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_2]^+$), 86 (3, $[\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2]^+$), 73 (4); 55 (9).

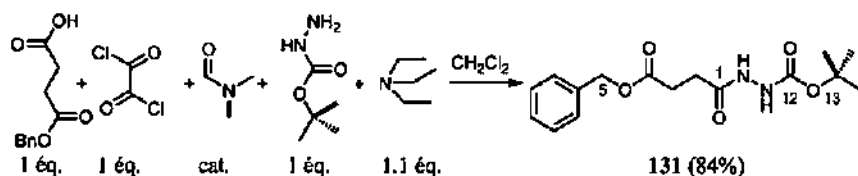
Synthèse du 4-(*N'*-tert-butylloxycarbonyl-hydrazino)-4-oxobutyrate de méthyle (130).



Dans un bicol de 100 ml sont introduits 2.64 g (20 mmol) de *tert*-butylcarbamate et 40 ml de diéthyléther. A la solution refroidie à -40°C, sont ajoutés 2.23 g (22 mmol) de triéthylamine puis 1.84 g (16 mmol) de chlorure 3-méthoxycarbonylpropionyle sur 1 h. La solution présente l'apparition d'un précipité blanc, elle est amenée sur 1 h à T.a. et agitée à cette température pendant 1 h. La solution est lavée avec 25 ml d'eau, 25 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl, 25 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO_3 puis 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchée sur MgSO_4 , filtrée et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le produit obtenu est purifié par filtration sur silice (CH_2Cl_2 - MeOH 1 : 0→94 : 6) et l'huile résultante est cristallisée dans le diéthyléther. Sont obtenus 2.25 g (57%) d'un solide blanc.

$C_{19}H_{18}N_2O_5$ (246.26) : C 49.02 (48.77), H 7.24 (7.37), N 10.95 (11.38); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, I_2) = 0.86; p.f. = 115-116°C; IR (KBr) : 3322s, 3251m, 2992w, 2975w, 2955w, 1745s, 1720s, 1672vs, 1516m, 1441m, 1408m, 1396m, 1367m, 1303m, 1271m, 1255m, 1241m, 1216m, 1157s; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO, COSY, NOESY) : conformère major. (>90%) 1.45 (s, 9H, HC(8-10)); 2.53 (t, $^3J_{2-3}$ ou $3-2$ = 6.8, 2H, H_2C (2 ou 3)); 2.69 (t, $^3J_{3-2}$ ou $2-3$ = 6.8, 2H, H_2C (3 ou 2)); 3.68 (s, 3H, H_3C (5)); 6.66 (s(l), 1H, HN); 7.94 (s(l), 1H, HN'); conformère minor. (<10%) 1.47 (s, 9H, HC(8-10)); 6.86 (s(l), 1H, HN); 7.29 (s(l), 1H, HN'); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, DEPT, HETCOR SR & LR.) : major. 28.1 C(8-10); 28.5, 28.8 C(2), C(3); 51.9 C(5); 81.7 C(7); 155.5 C(6); 171.2, 173.2 C(1), C(4); minor. 26.0, 26.3 C(2), C(3); 51.8 C(5); 77.2 C(7); MS (EI) : 190 (3, $[M-C_4H_8]^+$), 173 (3, $[M-C_4H_9O]^+$), 159 (7, $[M-C_5H_{11}O]^+$), 146 (5), 141 (8), 115 (16, $[C_5H_7O_3]^+$), 87 (5), 57 (100, $[C_4H_9]^+$), 55 (29).

Synthèse du 4-(N'-tert-butyloxycarbonyl-hydrazino)-4-oxobutyrat de benzyle (131).

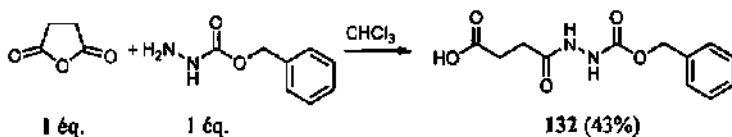


Dans un bicol de 50 ml sont introduits 1.92 g (10 mmol) de succinate de monobenzyle (61), 25 ml de dichlorométhane et 1 goutte de diméthylformamide. Le mélange réactionnel est refroidi par un bain de glace et 1.2 g (10 mmol) de chlorure d'oxalyle est ajouté goutte à goutte sur 30 min. La solution est agitée à T.a. pendant 3 h. Dans un bicol de 100 ml sont introduits 1.32 g (10 mmol) de *tert*-butylcarbamate, 25 ml de dichlorométhane et 1.11 g (11 mmol) de triéthylamine. Cette solution est refroidie à -60°C et la première solution est ajoutée goutte à goutte sur 1 h. Le mélange réactionnel est porté graduellement sur 1 h à 0°C puis est agité pendant 1 h à T.a. Le milieu réactionnel est lavé avec 25 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl, 25 ml d'une solution aqueuse 10% de $KHCO_3$, puis 25 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séché sur $MgSO_4$, filtré et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le résidu qui se solidifie est séparé par flash colonne chromatographique (AcOEt - heptane 1 : 1, h = 25 cm, ϕ = 3.5 cm). Sont obtenus 2.7 g (84%) d'un solide blanc.

$C_{16}H_{22}N_2O_5$ (322.36) : C 59.30 (59.62), H 6.80 (6.88), N 8.85 (8.69); R_f (AcOEt - heptane 2 : 1, UV+ $KMnO_4$) = 0.44; p.f. = 76°C; IR (film) : 3329s, 3281s, 3069w, 3033w, 2981w, 2941w, 1737s, 1713m, 1692m, 1672vs, 1503s, 1455m, 1410m, 1395m, 1369m, 1360m, 1299m, 1273m, 1258m, 1239m, 1221m, 1163s, 730m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : conformère major. (>90%) 1.39 (s, 9H, H_3C (14-16)); 2.40 (t, $^3J_{2-3}$ ou $3-2$ = 6.8, 2H, H_2C (2 ou 3)); 2.58 (t, $^3J_{3-2}$ ou $2-3$ = 6.9, 2H, H_2C (3 ou 2)); 5.09 (s, 2H, H_2C (5)); 7.30-7.39 (m, 5H, HC(7-11)); 8.70, 9.57 (s, 1H, HN), (s, 1H, HN'); conformaire minor. (<10%) : 1.41 (s, 9H, H_3C (14-16)); 2.45 (t, $^3J_{2-3}$ ou $3-2$ = 6.6, 2H, H_2C (2 ou 3)); 2.54 (t, $^3J_{3-2}$ ou $2-3$ = 6.7, 2H, H_2C (3 ou 2)); 7.30-7.39 (m, 5H, HC(7-11)); 9.00 (s, 1H, HN ou HN'); ^{13}C -RMN (100 MHz, $COCl_2$) : 27.9, 28.7 C(2), C(3); 28.1 C(14-16); 65.5 C(5); 79.1 C(13); 127.9, 128.5 C(7, 11), C(8, 10); 128.0 C(9); 136.3 C(6); 155.3 C(12); 170.5, 172.1 C(1), C(4); minor. 26.0 C (2 ou 3); 30.7 C(14-16); 65.4 C(5); 79.7 C(13); 127.8; 136.3 C(6); 172.3; manquent 5 signaux; MS (DCI) : 340 (4, $[M+NH_4]^+$), 323 (8, $[M+1]^+$), 284 (22, $[M+NH_4-C_4H_8]^+$), 267 (43, $[M+1-C_4H_8]^+$), 223 (46, $[C_{11}H_{15}N_2O_3]^+$), 208 (70, $[C_{11}H_{14}NO_3]^+$), 176 (53, $[C_5H_9N_2O_3]^+$), 118 (20), 108 (39,

[C₇H₈O]⁺), 104 (28), 102 (37), 100 (33), 92 (21), 91 (100, [C₇H₇]⁺), 89 (38), 86 (35), 84 (31), 79 (52), 74 (31), 73 (21), 70 (23), 58 (21), 57 (54, [C₆H₅]⁺), 56 (21).

Synthèse de l'acide 4-(N'-benzyloxycarbonylhydrazino)-4-oxobutyrique (132).

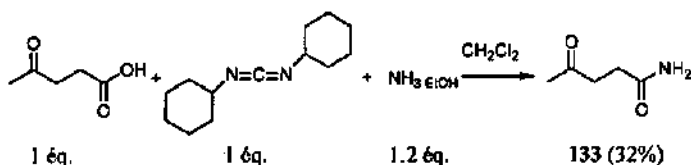


Dans un bicol de 100 ml sont introduits 2.0 g (20 mmol) d'anhydride succinique et 50 ml de chloroforme. La solution est refroidie par un bain de glace et une solution de 3.32 g (20 mmol) de benzyloxycarbonate dans 10 ml de chloroforme est ajouté sur 15 min. La solution est agitée 24 h à T.a. Le solide blanc formé est filtré et séché. Sont obtenus 2.3 g (43%) d'un solide blanc.

C₁₂H₁₄N₂O₅ (266.25) : C 54.15 (54.13), H 5.45 (5.30), N 10.64 (10.52); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.85; p.f. = 140°C; IR (KBr) : 3600-2400w(br), 3224s, 3039m, 2963w, 1713s, 1693s, 1625vs, 1482s, 1428m, 1271m, 1212m, 984m, 697m; ¹H-RMN (200 MHz, d₆-DMSO) : conformère major. (>85%) 2.30-2.55 (m, 4H, H₂C(2, 3)); 5.08 (s, 2H, H₂C(6)); 7.25-45 (m, 5H, HC(8-12)); 9.18, 9.72 (s, 1H, HN), (s, 1H, HN'); 12.14 (s, 1H, HOOC(1)); conformère minor. (<15%) 5.13 (s, 2H, H₂C(6)); 8.79, 9.55 (s, 1H, HN), (s, 1H, HN'); ¹³C-RMN (50 MHz, d₆-DMSO) : conformère major. 28.1, 28.8 C(2), C(3); 66.0 C(6); 128.0, 128.5 C(12-8); 136.8 C(7); 156.2 C(5); 171.0, 173.7 C(1), C(4); MS (ESI(-)) : ms 265 [M-], ms-ms 157 [M-1-C₇H₈O], ms-ms-ms 113 [M-1-C₇H₈O-CO₂].

2.2.1.3.2 Synthèses des analogues de substrat avec modification(s) en position 1, 3, 4 ou/et 5.

Synthèse du lévulinamide (133).

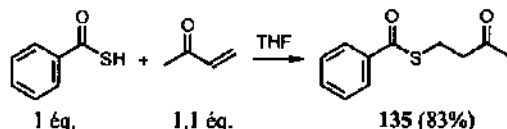


Dans un bicol de 50 ml sont introduits 1.16 g (10 mmol) d'acide lévulinique, 25 ml de dichlorométhane et 6 ml (12 mmol) d'une solution 2 M de NH₃ dans l'éthanol. A la solution, sont ajoutés 2.06 g (10 mmol) de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide puis la réaction est agitée à T.a. pendant 5 h. Le milieu réactionnel est filtré puis évaporé à sec et séparé par flash colonne chromatographique (CH₂Cl₂-MeOH 1 : 0→10 : 1, h = 15 cm, φ = 3.5 cm). Sont obtenus 370 mg (32%) d'un solide blanc.

C₅H₉NO₂ (115.13); R_f (CH₂Cl₂-MeOH 8 : 2, I₂) = 0.53; p.f. = 88°C (lit. [175] 84-85.5); IR (KBr) : 3373s, 3199s, 2957w, 2936m, 2918m, 2851w, 2798w, 1713s, 1660vs, 1641s, 1430s, 1408s, 1398s, 1368s, 1306s, 1237m, 1197m, 1166s, 1130m, 988m, 815m, 698m, 651s, 602m, 537m, 494m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO) : 2.08 (s, 3H, H₃C(5)); 2.25 (t, ³J_{2,3} = 6.8, 2H,

H₂C(2)); 2.60 (*t*, ³J_{3,2} = 6.8, 2H, H₂C(3); 6.72 (*s*), 1H, HN); 7.26 (*s*), 1H, HN); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, DEPT) : 28.8 C(2); 29.7 C(5); 37.9 (3); 173.3 C(1); 207.5 C(4); MS (EI) 115 (3, [M]⁺), 100 (55, [M-CH₃]⁺), 98 (15), 82 (7, [C₄H₃O₂]⁺), 73 (96, [M-C₂H₂O]⁺), 72 (58), 71 (14), 57 (23), 55 (32), 44 (64), 43 (95), 42 (18), 32 (71), 31 (100).

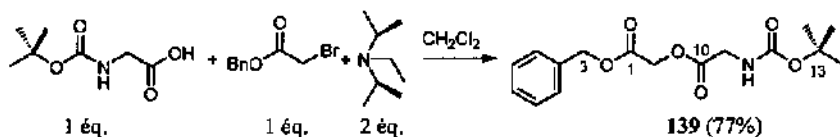
Synthèse du thiobenzoate de S-1-(3-oxobutyle) (135).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 2.24 g (32 mmol) de méthyle vinyle cétone et 15 ml de tétrahydrofurane. La solution est refroidie par un bain de glace et une solution de 3.94 g (29 mmol) d'acide thiobenzoïque dans 15 ml de tétrahydrofurane est ajoutée. Le milieu réactionnel est agité 15 min à 0°C et 3 h à T.a. puis est versé sur 40 ml d'eau et est augmenté de 100 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃ et avec 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenu 5.66 g (94%) d'un liquide jaunâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, φ = 3.5 cm) pour donner 5.02 g (83%) d'un liquide incolore.

C₁₁H₁₂SO₂ (208.27); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.60; IR (film) : 3062w, 3035w, 3002w, 2942w, 1718s, 1662ws, 1581m, 1449m, 1412m, 1364m, 1209s, 1176s, 1159m, 917s, 775m, 691s, 650m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.13 (*s*, 3H, H₃C(11)); 2.84 (*t*, ³J_{8,9} = 6.7, 2H, H₂C(8)); 3.22 (*t*, ³J_{9,8} = 6.8, 2H, H₂C(9)); 7.38-7.42 (*m*, 2H, HC(4, 6)); 7.51-7.55 (*m*, 1H, HC(5)); 7.90-7.93 (*m*, 2H, HC(3, 7)); ¹³C-RMN (100 MHz, COCl₂) : 22.6 C(8); 29.8 C(11); 43.2 C(9); 127.0, 128.5 C(3, 7), C(4, 6); 133.3 C(5); 136.7 C(2); 191.7 C(1); 206.3 C(10); MS (ESI (+)) : ms 209 [M+]⁺, ms-ms (209) 105 [C₇H₅O]⁺, 87 [C₇H₅SO]⁺.

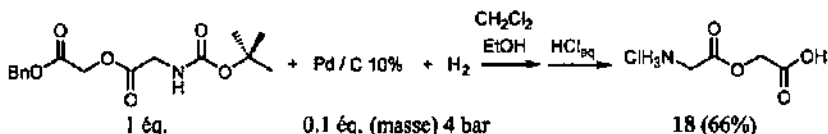
Synthèse du chlorure de carboxyméthoxycarbonylméthylammonium (18).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 2.23 g (15 mmol) de N-(tert-butyl)oxycarbonyl-glycine et 40 ml de dichlorométhane. La solution est refroidie par un bain de glace et sont ajoutés 3.88 g (30 mmol) d'éthyl-diisopropylamine puis 3.44 g (15 mmol) de 2-bromoacétate de benzyle. Après 1 h le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité 22 h à T.a. avant d'être versé sur 30 ml d'eau. La phase aqueuse est extraite avec 20 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 30 ml d'une solution saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 4.28 g (95%) d'un solide jaunâtre qui est recristallisé par dissolution dans le

dichlorométhane et adjonction biphasique d'hexane pour donner 3.45 g (77%) d'un solide blanc, le *tert*-butoxycarbonylaminoacétyloxyacétate de benzyle (139).

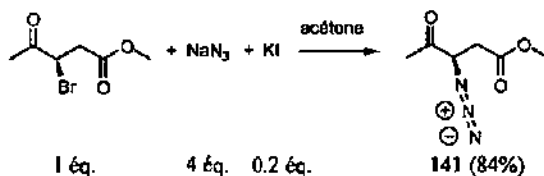
$C_{14}H_{21}NO_6$ (299.32); p.f. = 84 (lit. [178] 81-83°C); 1H -RMN (200 MHz, $CDCl_3$): 1.44 (s, 9H, $H_3C(14-16)$); 4.03 (d, $^3J_{11-HN} = 5.9$, 2H, $H_2C(2)$); 4.71 (s, 2H, $H_2C(2)$); 5.00-5.20 (s(f), 1H, HN); 5.19 (s, 2H, $H_2C(3)$); 7.30-7.39 (m, 5H, HC(5-9)); ^{13}C -RMN (50 MHz, $CDCl_3$): 28.2 C(14-16); 42.1 C(11); 61.0 C(3); 67.2 C(2); 80.1 C(13); 128.3, 128.6 C(5-9); 134.9 C(4); 155.6 C(12); 167.2, 167.9 C(1, 10).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 1.2 g (4 mmol) du *tert*-butoxycarbonylaminoacétyloxyacétate de benzyle (139), 40 ml de dichlorométhane, 5 ml d'éthanol et 120 mg de palladium sur charbon actif. Le milieu réactionnel est agité sous 4 bar d'hydrogène pendant 16 h puis est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 20 ml d'éthanol. Le filtrat est évaporé par un évaporateur rotatif. Est obtenu 1 g (>100%) d'une huile qui est traitée avec 20 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl pendant 6 h à T.a. Le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 700 mg (>100%) d'un solide verdâtre qui sont recristallisés par dissolution dans le méthanol et adjonction biphasique de diéthyléther pour donner 450 mg (66%) d'un solide blanc.

$C_4H_8ClNO_4$ (169.56); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH - AcOH - H_2O 5 : 2 : 1 : 1, $KMnO_4$) = 0.52; p.f = 210°C (déc.) (lit. [177] 200°C (déc.)); IR (KBr): 3700-2300m(br) (3098), 2995s, 2936s, 1765s, 1753s, 1589m, 1559m, 1499s, 1435s, 1422s, 1409s, 1287m, 1226s, 1198vs, 1113m, 1071s, 906m, 873m, 672m; 1H -RMN (200 MHz, d_6 -DMSO): 3.91 (s, 2H, $H_2C(1)$); 4.72 (s, 2H, HC(3)); 8.2-10.2 (s(f), HO+HN); ^{13}C -RMN (50 MHz, d_6 -DMSO): 39.4 C(1); 61.8 C(3); 167.5, 168.5 C(2), C(4); MS (DCI): 151 (4, [$C_4H_{11}N_2O_4$]⁺), 134 (28, [$C_4H_8NO_4$]⁺), 90 (100, [$C_3H_8NO_2$]⁺), 76 (5, [$C_2H_6NO_2$]⁺ ou [$C_2H_4O_3$]⁺).

Synthèse du 3-azidolévulinate de méthyle (141).



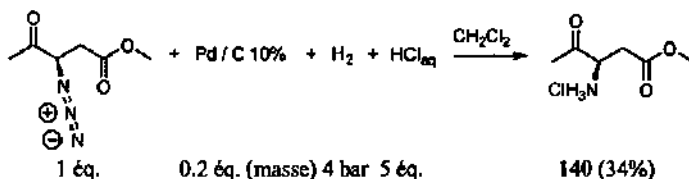
Dans un bicol de 250 ml sont introduits 166 mg (1 mmol) de iodure de potassium, 1.30g (20 mmol) d'azoture de sodium et 150 ml d'acétone. La suspension est refroidie par un bain de glace et 1.05 g (5 mmol) de 3-bromolévulinate de méthyle sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité 4 h à T.a. puis le solvant est éliminé par évaporation rotative et le résidu est repris dans 50 ml de diéthyléther, filtré, le solide est lavé avec 100 ml de diéthyléther et le filtrat est évaporé à sec par évaporation rotative. Sont obtenus 890 mg (>100%) d'un liquide orange qui

sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 2 : 1, h = 25 cm, ϕ = 2.5 cm) pour donner 723 mg (84%) d'un liquide orangé.

$C_6H_9N_3O_3$ (171.16); R_f (AcOEt - heptane, $KMnO_4$) = 0.45; IR (film) : 3007 w , 2957 w , 2853 w , 2104 s , 1728 vs , 1439 m , 1361 m , 1260 m , 1201 m , 1164 m ; 1H -RMN (200 MHz, $CDCl_3$) : 2.32 (s, 3H, $H_3C(5)$); 2.70 (dd, $^2J_{2A-2B}$ = 16.9, $^3J_{2A-3}$ = 7.4, 1H, $H_A C(2)$); 2.93 (dd, $^2J_{2B-2A}$ = 16.9, $^3J_{2B-3}$ = 5.5, 1H, $H_B C(2)$); 3.72 (s, 3H, $H_3C(6)$); 4.24 (dd, $^3J_{3-2A}$ = 7.2, $^3J_{3-2B}$ = 5.4, 1H, $HC(3)$); ^{13}C -RMN (50 MHz, $CDCl_3$) : 27.4 C(5); 35.1 C(2); 52.2 C(6); 64.3 C(3); 170.4 C(1); 203.5 C(4); MS (DCI) : 189 (18, $[M+NH_4]^+$), 172 (4, $[M+1]^+$), 44 (100).

Pour une synthèse alternative voir Bertschy [147] pp.116-117. Après hydrolyse standard à pH 7.8 par PLE et séparation par flash-colonne chromatographique (AcOEt - MeOH 19 : 1 \rightarrow 9 : 1) l'acide 3-azidolévulinique (142) est obtenu dans un rendement de 73% sous forme d'un solide jaune instable en solution (p.f. = 32°C et HR-MS (CI) : 158.05645 (158.05602) et identique à Bertschy [147] pp.196-197).

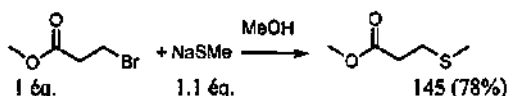
Synthèse du chlorure de 2-(1-méthoxycarbonyl-3-oxobutyl)-ammonium (140).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 1.0 g (5.8 mmol) de 3-azidolévulinat de méthyle, 50 ml de méthanol, 2.5 ml (25 mmol) d'acide chlorhydrique concentré et 200 mg de Pd/C 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 2 h 30 min. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur lavé au tétrahydrofurane puis le filtrat est évaporé à sec et coévaporé avec du chloroforme sec. Sont obtenus après séchage à la pompe à huile 970 mg (92%) d'une huile très visqueuse jaunâtre qui cristallise au congélateur. L'huile est cristallisée dans un mélange méthanol-chloroforme (1 : 5) au congélateur. Sont obtenus 361 mg (34%) d'un solide blanc d'une pureté acceptable pour être testé.

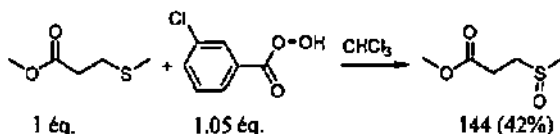
$C_6H_{12}ClNO_3$ (181.62) : C 38.62 (39.68), H 6.16 (6.66), N 7.62 (7.71); R_f (RP-18, CH_3CN - H_2O 10 : 1, $KMnO_4$) = 0.56; p.f. = 134°C (lit. [158] 134-135°C); IR (KBr) : 3700-2500 $s(br)$, 2986 s , 2917 m , 1731 vs , 1489 m , 1466 m , 1445 m , 1377 m , 1245 m , 1209 m , 1181 m , 1129 m , 1086 m , 1011 m ; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.25 (s, 3H, $H_3C(5)$); 3.08 (dd, $^2J_{2A-2B} \equiv 17.8$, $^3J_{2A-3} \equiv 4.9$, 1H, $H_A C(2)$); 3.14 (dd, $^2J_{2B-2A} \equiv 17.9$, $^3J_{2B-3} \equiv 5.8$, 1H, $H_B C(2)$); 3.64 (s, 3H, $H_3C(6)$); 4.28 (s(l), 1H, $HC(3)$); 8.51 (s(l), 3H, H_3N); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO) : 26.5 C(5); 33.5 C(2); 52.2 C(6); 54.9 C(3); 169.9 C(1); 202.5 C(4); MS (DCI) : 255 (10), 181 (12), 146 (74, $[C_6H_{12}NO_3]^+$), 114 (24, $[C_5H_{10}NO_2]^+$), 102 (100, $[C_4H_{10}NO_2]^+$), 72 (31, $[C_3H_6NO]^+$), 70 (43, $[C_3H_4NO]^+$), 60 (20).

Synthèse 3-méthylsulfanylpropionate de méthyle (144).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 1.4 g (20 mmol) de méthanthiolate de sodium et 20 ml de méthanol. Le milieu réactionnel est refroidi par un bain d'eau et 3.67 g (22 mmol) de 3-bromopropionate de méthyle sont ajoutés sur 5 min. Le milieu réactionnel est agité 16 h à T.a. puis est évaporé par l'action d'une trompe à eau avec piège d'azote liquide. Le résidu est repris dans 20 ml d'eau et 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.43 g (91%) d'un liquide incolore qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3.5 cm) pour donner 2.10 g (78%) d'un liquide incolore, le 3-méthylthiopropionate de méthyle (145).

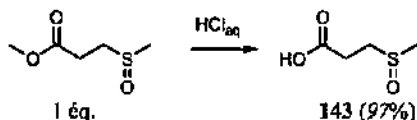
$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{SO}_2$ (134.19); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO_4) = 0.61; IR (film) : 2953m, 2919m, 2843w, 1739vs, 1436s, 1359s, 1322m, 1299m, 1284m, 1249s, 1219s, 1197s, 1173s, 1150s, 1020m, 985m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) : 2.10 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(5)$); 2.62 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.2, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.74 (t, $^3J_{3,2}$ = 7.3, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.68 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(4)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (50 MHz, CDCl_3) : 15.4 C(5); 29.0 C(3); 34.1 C(2); 51.7 C(4); 172.3 C(1).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 3.28 g (13.3 mmol) d'acide *mé*ta-chloroperoxybenzoïque 70% et 15 ml de dichlorométhane. La suspension est refroidie par un bain de glace et une solution de 1.7 g (12.7 mmol) de 3-méthylsulfanylpropionate de méthyle dans 5 ml de dichlorométhane est ajoutée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité (précipité dense nécessitant une forte agitation) à T.a. pendant 1 h puis filtré sur frité et le solide est lavé au dichlorométhane. Le filtrat est versé sur 40 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO_3 . La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 40 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.71 g (90%) d'un solide qui est préabsorbé sur silice et séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1 → 1 : 5, h = 30 cm, ϕ = 3.5 cm) pour donner 805 mg (42%) d'un solide blanc.

$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{SO}_3$ (150.19); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO_4) = 0.18; p.f. = 95°C; IR (KBr) : 3026m, 3016m, 2995w, 2950w, 2934w, 1727s, 1444s, 1435s, 1419m, 1377s, 1333s, 1311s, 1273s, 1261s, 1205s, 1181s, 1133vs, 1057m, 1006m, 989s, 972m, 899m, 788m, 775s, 750m, 513s, 505s, 442m; $^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3) : 2.87 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.3, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.94 (t, $^4J_{5,3}$ = 0.5, 3H, $\text{H}_3\text{C}(5)$); 3.35 (m, $^3J_{3,2}$ = 7.1, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.72 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(4)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (50 MHz, CDCl_3) : 27.0 C(2); 41.2 C(5); 49.9 C(3); 52.4 C(4); 170.8 C(1); MS (ESI(+)) : ms 151 $[\text{M}+1]^+$, 79 $[\text{C}_2\text{H}_7\text{OS}]^+$, 64 $[\text{CH}_4\text{OS}]^+$, ms-ms (151) 79 $[\text{C}_2\text{H}_7\text{OS}]^+$, ms-ms-ms (151, 79) 64 $[\text{CH}_4\text{OS}]^+$.

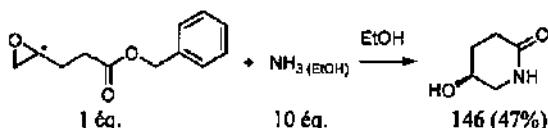
Synthèse de l'acide 3-méthylsulfinylpropionique (143).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 580 mg (3.86 mmol) de 3-méthylsulfinylpropanoate de méthyle et 10 ml d'une solution aqueuse 6 M de HCl. Le milieu réactionnel est chauffé à 60°C pendant 2 h puis est évaporé à sec. Sont obtenus 555 mg (>100%) d'un solide blanc recristallisé dans tétrahydrofurane-hexane pour donner 510 mg (97%) d'un solide blanc contenant 5% de méthyle ester.

$C_4H_8SO_3$ (136.16); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH - AcOH 8 : 1 : 1, $KMnO_4$) = 0.18; p.f. = 101-102°C; IR (KBr): 3700-2400(*br*) (3426), 3027*m*, 2950*m*, 2937*m*, 1694*s*, 1442*m*, 1417*m*, 1296*s*, 1281*s*, 1260*s*, 1210*m*, 1161*m*, 1139*s*, 1125*vs*, 958*m*, 921*m*, 810*m*, 515*m*, 505*m*, 466*m*; 1H -RMN (200 MHz, D_2O): 2.90 (*t*, $^3J_{2,3}$ = 7.1, 2H, $H_2C(2)$); 3.11 (*s*, 3H, $H_3C(4)$); 3.56 (*t*, $^3J_{3,2}$ = 7.0, 2H, $H_2C(3)$); ^{13}C -RMN (50 MHz, D_2O): 27.0 C(2); 40.1 C(4); 49.5 C(3); 174.5 C(1).

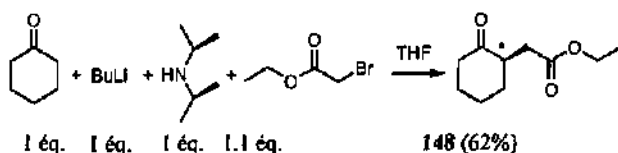
Synthèse du 5-hydro-2-piperidinone (146).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 2 ml d'éthanol, 500 mg (2.4 mmol) de 4,5-époxy-pentanoate de benzyle (53) et 12.1 ml (24.2 mmol) d'une solution 2 M d'ammoniaque dans l'éthanol. Après 5 jours d'agitation à T.a. le solvant est évaporé et le résidu est cristallisé dans un mélange méthanol-pentane-acétone au congélateur. Sont obtenus 150 mg (47%) d'un solide blanc.

$C_7H_9NO_2$ (115.13): C 52.30 (52.16), H 7.96 (7.88), N 11.97 (12.17); R_f (CH_2Cl_2 -MeOH 8 : 2, $KMnO_4$) = 0.33; p.f. = 145°C (lit. [182] 145-146°C); IR (film): 3600-2400(*br*) (3224), 2948*m*, 2915*m*, 1637*vs*, 1498*s*, 1456*m*, 1424*m*, 1409*m*, 1363*m*, 1341*s*, 1295*m*, 1264*m*, 1188*m*, 1121*m*, 1095*s*, 973*m*, 947*m*, 909*m*, 850*m*, 816*m*, 789*m*, 762*m*, 570*m*, 487*m*; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO, COSY): 1.63-1.72 (*m*, 1H, $H_A C(3)$); 1.74-1.81 (*m*, 1H, $H_B C(3)$); 2.08 (*dt*, $^2J_{2A,2B}$ = 17.5, $^3J_{2A,3A}$ = $^3J_{2A,3B}$ = 6.6, 1H, $H_A C(2)$); 2.23 (*ddd*, $^2J_{2B,2A}$ = 17.5, $^3J_{2B,3B}$ = 7.9, $^3J_{2B,3A}$ = 6.6, 1H, $H_B C(2)$); 2.92-2.98 (*dm*, $^2J_{5A,5B}$ = 12.1, 1H, $H_A C(5)$); 3.17-3.22 (*dt*, $^2J_{5B,5A}$ = 12.1, $^3J_{5B,4}$ = $^3J_{5B,HN}$ = 2.8, 1H, $H_B C(5)$); 3.83-3.88 (*m*, 1H, $H_C(4)$); 4.65-5.15 (*s(l)*, 1H, HO); 7.25 (*s(l)*, 1H, HN); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, DEPT, HETCOR): 27.8 C(3); 28.3 C(2); 48.2 C(5); 62.2 C(5); 170.0 C(1); MS (EI): 115 (34, $[M]^+$), 98 (13, $[M-OH]^+$), 86 (41, $[M-CHO]^+$), 59 (33), 58 (62), 57 (37), 56 (20), 55 (37), 44 (11), 43 (66), 42 (23), 41 (13), 32 (39), 31 (57), 30 (100).

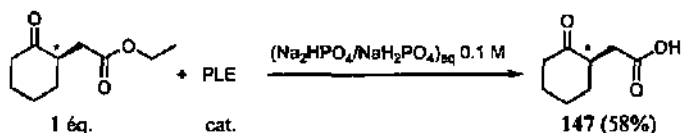
Synthèse du 2-oxocyclohexylacétate d'éthyle (148).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 20 ml de tétrahydrofurane et 2.02 g (20 mmol) de diisopropylamine. La solution est refroidie par un bain de glace et 12.5 ml (20 mmol) d'une solution de butyllithium 1.5 M dans hexane sont ajoutés goutte à goutte. Après 30 min à cette température, le milieu réactionnel est agité 30 min à T.a. puis est refroidi à -60°C et 1.96 g (20 mmol) de cyclohexanone est ajouté sur 10 min. Après 30 min à cette température, le milieu réactionnel est refroidi à -80°C et une solution de 3.67 g (22 mmol) de bromoacétate d'éthyle dans 4.2 ml (24 mmol) d'hexaméthylphosphoramide est ajoutée sur 15 min. Le milieu réactionnel est ramené sur 14 h à T.a. puis est versé sur 40 ml d'une solution aqueuse 10% de NH₄Cl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 2 fois 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 3.95 g (>100%) d'un liquide jaune qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, φ = 3.5 cm) pour donner 2.79 g (76%) d'un liquide incolore pur. Une distillation au four à boule donne 2.3 g (62%) d'un liquide incolore.

C₁₆H₁₆O₃ (184.23); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.56; Eb. (0.06 mmHg) = 70°C (lit. [185] (0.02 mmHg) 78-80°C); IR (film) : 2980_m, 2937_s, 2863_m, 1736_s, 1713_{vs}, 1465_m, 1450_s, 1430_m, 1394_m, 1369_s, 1348_s, 1339_s, 1311_m, 1278_s, 1254_s, 1232_s, 1213_s, 1173_s, 1132_s, 1097_m, 1076_m, 1031_s; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, COSY) : 1.19 (t, ²J₁₀₋₉ = 7.1, 3H, H₃C(9)); 1.36 (qd, ²J_{8A-8B} ≡ ³J_{8A-3} ≡ ³J_{8A-7A} ≡ 12.8, ³J_{8A-7B} = 3.8, 1H, H_AC(8)); 1.58 (gdd, ²J_{6A-6B} ≡ ³J_{6A-3} ≡ ³J_{6A-7A} ≡ 12.8, ³J_{6A-5} ou ³J_{6A-7B} = 5.2, ³J_{6A-7B} ou ³J_{6A-5} = 3.5, 1H, H_AC(6)); 1.67 (qt, ²J_{7A-7B} ≡ ³J_{7A-6A} ≡ ³J_{7A-8A} ≡ 12.6, ³J_{7A-6B} ≡ ³J_{7A-8B} ≡ 3.4, 1H, H_AC(7)); 1.80-1.86 (m, 1H, H_BC(7)); 2.04 (dq, ²J_{6B-6A} = 12, ³J_{6B-5} ≡ ³J_{6B-7A} ≡ ³J_{6B-7B} ≡ 3.0, 1H, H_C(6)); 2.05-2.11 (m, 1H, H_AC(8)); 2.08 (dd, ²J_{2A-2B} = 16.4, ³J_{2A-3} = 6.1, 1H, H_AC(2)); 2.05-2.11 (m, 1H, H_AC(8)); 2.04-2.12 (m, 1H, H_BC(8)); 2.26-2.38 (m, 2H, H₂C(5)); 2.70 (dd, ²J_{3-2A} = 16.4, ³J_{2B-3} = 7.2, 1H, H_BC(2)); 2.81 (dq, ²J_{3-8A} ou ²J_{3-8B} = 12.6, ³J_{3-2A} ≡ ³J_{3-2B} ≡ ³J_{3-8B} ou ³J_{3-8A} ≡ 6.3, 1H, H_C(3)); 4.01-4.12 (m, 2H, H₂C(9)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 14.0 C(10); 25.1 C(7); 27.6 C(6); 33.7 C(8); 34.3 C(2); 41.7 C(5); 47.0 C(3); 172.4 C(1); 210.8 C(4); MS (EI) : 184 (6, [M]⁺), 139 (41), 138 (51, [M-C₂H₆O]⁺), 121 (13), 113 (11), 100 (24, [M-C₃H₆O₂]⁺), 97 (42, [C₆H₉O]⁺), 93 (14), 88 (15), 83 (19), 82 (45), 81 (22), 79 (17), 73 (12), 70 (20), 69 (24), 68 (24), 67 (45), 61 (10), 56 (13), 55 (100).

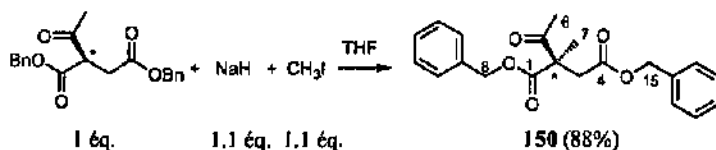
Synthèse de l'acide 2-oxocyclohexylacétique (147).



Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 1.0 g (5.43 mmol) de 2-oxocyclohexylacétate d'éthyle (148), 40 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8, 2 ml de méthanol et 0.4 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 4 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.5 M. Après 52 h, le milieu réactionnel est extrait avec 30 ml de diéthyléther et acidifié à pH 1.5 par adjonction de HCl conc. La solution est saturée en NaCl et extraite avec 40 ml d'acétate d'éthyle et cela 4 fois. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 815 mg (96%) d'un solide blanc qui sont recristallisés par dissolution dans l'acétate d'éthyle et adjonction biphasique d'hexane pour donner 490 mg (58%) d'un solide blanc.

C₈H₁₂O₃ (156.18); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 9 : 1, KMnO₄) = 0.35; p.f. = 76°C (lit. [184] 74-76°C); IR (KBr): 3600-2400m(br) (3024), 2960m, 2936m, 2910m, 2864m, 1707vs, 1453m, 1439m, 1429m, 1412m, 1351m, 1340m, 1314m, 1302m, 1289m, 1250m, 1184m, 1134m, 1078m, 956m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, COSY) : 1.41 (qd, ²J_{8A-3B} ≡ ³J_{8A-3} ≡ ³J_{8A-7A} ≡ 12.6, ³J_{8A-7B} = 3.7, 1H, H_AC(8)); 1.61 (qt, ²J_{6A-6B} ≡ ³J_{6A-5A} ≡ ³J_{6A-7A} ≡ 12.8, ³J_{6A-5B} ≡ ³J_{6A-7B} ≡ 4.0, 1H, H_AC(6)); 1.71 (qt, ²J_{7A-7B} ≡ ³J_{7A-6A} ≡ ³J_{7A-8A} ≡ 12.8, ³J_{7A-6B} ≡ ³J_{7A-8B} ≡ 3.3, 1H, H_AC(7)); 1.85-1.91 (m, 1H, H_BC(7)); 2.08-2.25 (m, 3H, H_BC(6), H_AC(2), H_BC(8)); 2.35 (td, ²J_{5A-5B} ≡ ³J_{5A-6A} ≡ 13.2, ³J_{5A-6A} = 5.9, 1H, H_AC(5)); 2.40-2.45 (m, 1H, H_BC(5)); 2.77-2.87 (m, 2H, H_BC(2), HC(3)); 8.7-9.7 (s(l), 1H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 25.1 C(7); 27.7 C(6); 33.8 C(8); 34.2 C(2); 41.7 C(5); 46.9 C(3); 178.3 C(1); 211.0 C(4); MS (EI) : 156 (2, [M]⁺), 138 (14, [M-H₂O]⁺), 110 (12, [M-CH₂O₂]⁺), 97 (10, [C₆H₅O]⁺), 85 (14), 84 (12), 83 (11), 82 (32), 70 (12), 69 (20), 68 (22), 67 (31), 56 (15), 55 (100).

Synthèse du 2-acétyl-2-méthylsuccinate de benzyle (150).



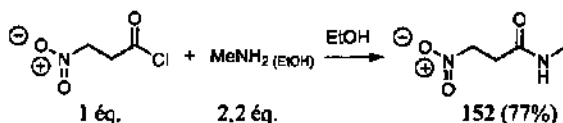
Dans un bicol de 50 ml sont introduits 156 mg (6.5 mmol) de sodium et 25 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et une solution de 2.0 g (5.88 mmol) de 2-acétylsuccinate de benzyle (83) dans 5 ml de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte. Après 30 min, 918 mg (6.47 mmol) de iodométhane sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 h à 0°C et 14 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃ et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite 2 fois avec 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.0 g (96%) d'une huile jaunâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 3 : 1, h = 25 cm, φ = 3 cm) pour donner 1.82 g (88%) d'un liquide incolore.

C₂₁H₂₁O₅ (354.40); HR-MS [M+Na] : 377.135999 (377.135838); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.66; IR (film) : 3091w, 3066m, 3034m, 2986m, 2947m, 2892w, 1736vs, 1718s, 1499s, 1456s, 1413m, 1385s, 1348m, 1288m, 1215s, 1156s, 1106s, 988m, 911s, 751s, 698s, 598m, 493m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 1.52 (s, 3H, H₃C(7)); 2.17 (s, 3H, H₃C(6));

chaud dans le tétrahydrofurane et cristallisé par adjonction biphasique d'éther pour donner 1.0 g (38%) d'un solide blanc.

$C_5H_9NO_3$ (131.13); R_f (CH_2Cl_2 -MeOH 9 : 1, $KMnO_4$) = 0.12; p.f. = 108°C (lit. [227] = 111°C); IR (film) : 3600-2400(*m/br*), 3356*vs*, 2981*m*, 2929*m*, 2732*m*, 2642*m*, 2546*m*, 1715*s*, 1635*s*, 1569*s*, 1455*m*, 1422*s*, 1413*s*, 1370*m*, 1337*m*, 1277*m*, 1239*s*, 1179*s*, 1163*s*, 1085*m*, 1028*m*, 986*m*, 960*m*, 939*m*, 839*m*, 703*m*, 556*m*; 1H -RMN (200 MHz, d_6 -DMSO) : 2.28 (*"r"*, $^3J_{3-2} \equiv 6.2$, 2H, $H_2C(3)$); 2.41 (*"r"*, $^3J_{2-3} \equiv 6.4$, 2H, $H_2C(2)$); 2.55 (*d*, $^3J_{5-HN} \equiv 4.8$, 3H, $H_3C(5)$); 7.76 (*m(l)*, 1H, HN); 12.06 (*s(l)*, 1H, HO); ^{13}C -RMN (50 MHz, d_6 -DMSO) : 25.5 C(5); 29.2, 30.0 C(2), C(3); 171.4, 174.0 C(1), C(4); MS (ESI(-)) : 130 [M-1]⁻, 112 [M-1-H₂O]⁻, 86 [M-1-CO₂]⁻.

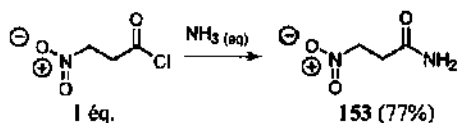
Synthèse du N-méthyl-3-nitropropionamide (152).



Dans un bicol de 10 ml sont introduits 1.1 ml (8.7 mmol) d'une solution 8 M de méthylamine dans l'éthanol. La solution est refroidie par un bain de glace et une solution de 543 mg (3.95 mmol) de chlorure de 3-nitropropionyle (72) dans 4 ml de dichlorométhane est ajoutée sur 20 min. Après 90 min le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité 2 h à T.a. puis est versé sur 20 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 30 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est saturée en NaCl et extraite avec 3 fois 30 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.46 g (>100%) d'une huile brunâtre qui est séparé par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 2 : 1, h = 30 cm, $\phi = 2.5$ cm) pour donner 401 mg (77%) d'un solide blanc.

$C_4H_8N_2O_3$ (132.12) : C 36.10 (36.36), H 6.15 (6.10), N 20.76 (21.20); R_f (CH_2Cl_2 - AcOEt - MeOH 10 : 1 : 1, $KMnO_4$) = 0.32; IR (film) : 3337*s*, 3305*s*, 3114*w*, 3022*w*, 2945*m*, 2924*m*, 2851*w*, 1674*s*, 1645*vs*, 1551*s*, 1416*s*, 1377*s*, 1340*m*, 1278*s*, 1248*m*, 1204*m*, 1165*m*, 1090*m*, 1030*m*, 952*m*, 874*m*, 738*m*, 581*m*, 492*m*; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$) : 2.78 (*d*, $^3J_{4-HN} = 4.8$, 3H, $H_3C(4)$); 2.81 (*t*, $^3J_{2-3} = 6.2$, 2H, $H_2C(2)$); 4.67 (*t*, $^3J_{3-2} = 6.1$, 2H, $H_2C(3)$); 6.34 (*s(l)*, 1H, HN); ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$, DEPT) : 26.3 C(4); 32.2 C(2); 70.2 C(3); 169.0 C(1); MS (ESI(+)) : 155 [M+Na]⁺, 133 [M+1]⁺.

Synthèse du 3-nitropropionamide (153).

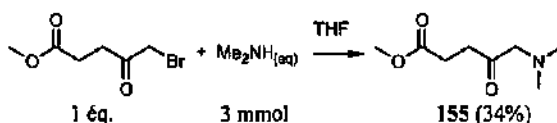


Dans un bicol de 25 sont introduits 10 ml d'une solution aqueuse 12% de NH_3 et après refroidissement par un bain d'eau et glace, 1.38 g (10 mmol) de chlorure de 3-nitropropionyle (72) est ajouté. Après 10 min, le milieu réactionnel est acidifié à pH 1 par adjonction d'une

solution aqueuse 32% de HCl, saturé en NaCl et extrait avec 8 fois 40 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.02 g (86%) d'un solide qui est préabsorbé sur silice et séparé par flash-colonne chromatographique (AcOEt, h = 20 cm, φ = 3.5 cm) pour donner 401 mg (77%) d'un solide blanc.

C₃H₆N₂O₃ (118.09); R_f (AcOEt, KMnO₄) = 0.14; IR (film) : 3394s, 3203m, 2973w, 2927w, 2855m, 2799m, 1710s, 1663s, 1630s, 1555vs, 1429s, 1402m, 1382m, 1310m, 1248m, 595m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 2.72 (t, ³J_{2,3} = 6.0, 2H, H₂C(2)); 4.66 (t, ³J_{3,2} = 6.0, 2H, H₂C(3)); 7.03 (s(l), 1H, HN); 7.51 (s(l), 1H, HN); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 16.4 C(6); 28.2 C(5); 36.5 C(2); 42.5 C(3); 178.2 C(1); 210.7 C(4).

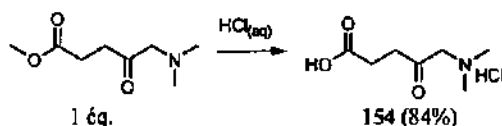
Synthèse du 5-(N,N-diméthylamino)tévalinate de méthyle (155).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 15 ml de tétrahydrofurane et 2.09 g (10 mmol) de 5-bromotévalinate de méthyle (55). Le milieu réactionnel est refroidi par un bain de glace et 4 ml (-30 mmol) d'une solution aqueuse 40% de diméthylamine sont ajoutés goutte à goutte. Après 15 min à cette température, le milieu réactionnel est agité pendant 1 h 30 min à T.a. puis est versé sur 20 ml d'une solution aqueuse 1 M de NaOH et augmenté de 50 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est saturée avec NaCl et extraite avec 30 ml de dichlorométhane 4 fois. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.2 g (70%) d'un liquide orange qui est purifié par distillation au four à boules pour donner 580 mg (34%) d'un liquide incolore.

C₈H₁₅NO₃ (173.21) : C 55.33 (55.47), H 8.75 (8.73), N 7.93 (8.09); R_f (RP-18, CH₃CN - H₂O 10 : 1, KMnO₄) = 0.44; Eb. (0.04 mmHg) = 70°C; IR (film) : 2952m, 2826w, 2777m, 1739vs, 1439m, 1411m, 1361m, 1268m, 1212m, 1179m, 1146m, 1045m, 492m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.19 (s, 6H, H₃C(7, 8)); 2.52 (t, ³J_{2,3} = 6.6, 2H, H₂C(2)); 2.66 (t, ³J_{3,2} = 6.5, 2H, H₂C(3)); 3.08 (s, 2H, H₂C(5)); 3.56 (s, 3H, H₃C(6)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.4 C(2); 34.5 C(3); 45.6 C(7, 8); 51.5 C(6); 68.7 C(5); 172.9 C(1); 207.0 C(4); MS (EI) : 173 (5, [M]⁺), 142 (7, [M-CH₃O]⁺), 115 (27, [C₅H₇O₃]⁺), 114 (10), 101 (39, [C₄H₅O₃]⁺), 87 (13, [C₄H₇O₃]⁺), 73 (22); 72 (32, [C₃H₄O₂]⁺); 70 (14); 59 (17), 58 (46, [C₃H₈N]⁺); 55 (19); 46 (18); 45 (12); 44 (100).

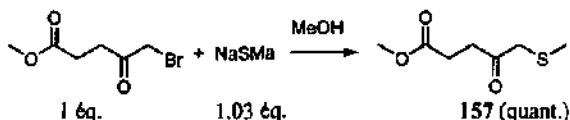
Synthèse du chlorure de N-(4-carboxy-2-oxobutyl)-N,N-diméthylammonium (154).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 280 mg (1.62 mmol) de 5-(*N,N*-diméthylamino)lévulinate de méthyle et 15 ml d'une solution aqueuse 6 M de HCl. Après 3 h d'agitation à T.a., le milieu réactionnel est évaporé à sec. Sont obtenus 320 mg (>100) d'un solide blanc qui sont cristallisés par dissolution dans l'éthanol et adjonction biphasique de diéthyléther pour donner 264 mg (84%) d'un solide blanc.

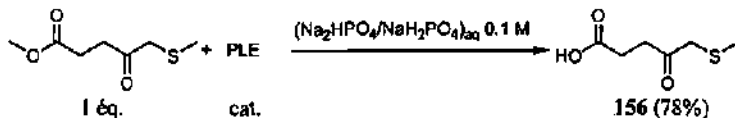
$C_7H_{14}ClNO_3$ (195.65) : C 43.01 (42.97), H 7.03 (7.21), N 7.15 (7.16); R_f (RP-18, acétonitrile- H_2O 10 : 1, $KMnO_4$) = 0.36; p.f. = 205°C (déc.); IR (KBr) : 3600-2300s(br) (2973), 2931s, 2803m, 2766m, 2733m, 2699m, 1728vs, 1481m, 1472m, 1449m, 1410m, 1382s, 1359s, 1270m, 1167s, 1100m, 983m, 857m, 618m; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$) : 2.50 (t, $^3J_{4-3}$ = 6.5, 2H, $H_2C(4)$); 2.69 (t, $^3J_{3-4}$ = 6.5, 2H, $H_2C(3)$); 2.76 (s, 6H, $H_3C(6, 7)$); 4.37 (s, 2H, $H_2C(1)$); 10.42 (s(l), 1H, HN); 12.20-12.55 (s(l), 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO) : 27.5 C(4); 34.8 C(3); 43.1 C(6, 7); 63.1 C(1); 173.5 C(5); 201.9 C(2); MS (ESI) : ms 160 $[C_7H_{14}NO_3]^+$, ms-ms (160) 142 $[C_7H_{12}NO_2]^+$, 114 $[C_6H_{12}NO]^+$, ms-ms-ms (160, 142) 114 $[C_6H_{10}N]^+$.

Synthèse de l'acide 5-méthylsulfanyllévulinique (156).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 856 mg (12.3 mmol) de méthanthiolate de sodium et 30 ml de méthanol. Le milieu réactionnel est refroidi par un bain de glace et 2.5 g (12 mmol) de 5-bromolévulinate de méthyle (55) sont ajoutés goutte à goutte. Après 1 h à cette température, le milieu réactionnel est agité 14 h à T.a. puis le solvant est éliminé sous pression réduite. Le résidu est repris dans 50 ml de dichlorométhane, lavé avec 30 ml d'une solution aqueuse 10% de $KHCO_3$ puis 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séché sur $MgSO_4$, filtré et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.1 g (quant.) d'un liquide jaunâtre (157).

$C_7H_{13}O_3S$ (176.23); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, $KMnO_4$) = 0.59; Eb. (0.03 mmHg) = 60°C; 1H -RMN (100 MHz, $CDCl_3$) : 2.07 (s, 3H, $H_3C(7)$); 2.62 (t, $^3J_{2-3}$ = 6.4, 2H, $H_2C(2)$); 2.95 (t, $^3J_{3-2}$ = 6.4, 2H, $H_2C(3)$); 3.23 (s, 2H, $H_2C(5)$); 3.67 (s, 3H, $H_3C(6)$); ^{13}C -RMN (50 MHz, $CDCl_3$) : 15.5 C(7); 27.8 C(2); 34.5 C(3); 42.8 C(5); 51.7 C(6); 173.0 C(1); 203.8 C(4).

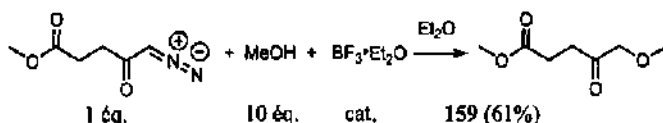


Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 630 mg (3.57 mmol) de 5-méthylsulfanyllévulinate de méthyle (157), 40 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8 et 0.3 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 3 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.3 M. Après 5 h, le milieu réactionnel est acidifié à pH 1.5 par adjonction d'une solution aqueuse 32% de HCl. La solution est saturée en NaCl et extraite

avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 4 fois . Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 555 mg (96%) d'un solide jaunâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (AcOEt - MeOH 98 : 2, h = 20 cm, ϕ = 2 cm) pour donner 455 mg (78%) d'un solide légèrement jaunâtre.

C₆H₁₀O₃S (162.20) : C 44.28 (44.43), H 6.18 (6.21), S 20.06 (19.77); R_f (AcOEt - MeOH 9 : 1, UV+KMnO₄) = 0.33; IR (film) : 3600-2300m(br) (3034), 2976m, 2920m, 2893m, 2768m, 2670m, 1707vs, 1428m, 1407s, 1373m, 1365m, 1344m, 1296m, 1257s, 1240s, 1194m, 1081m, 1035m, 993m, 972m, 944m, 862m, 505m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-OMSO) : 2.00 (s, 3H, H₃C(6)); 2.42 (t, ³J_{2,3} = 6.5, 2H, H₂C(2)); 2.81 (t, ³J_{3,2} = 6.5, 2H, H₂C(3)); 3.36 (s, 2H, H₂C(5)); 11.7-12.4 (s(l), 1H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO) : 15.1 C(6); 27.9 C(2); 34.9 C(3); 42.4 C(5); 173.8 C(1); 204.8 C(4).

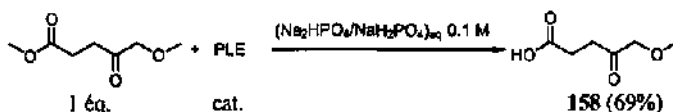
Synthèse du 5-méthoxylévulinate de méthyle (159).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 1.25 g (8 mmol) de 5-diazolévulinate de méthyle (62) et 40 ml de diéthyléther. Sont ajoutés 2.56 g (80 mmol) de méthanol et 50 µl de trifluoroborate étherate. Après 3 h d'agitation à T.a., le milieu réactionnel est évaporé à sec et le résidu est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 25 cm, ϕ = 2 cm) pour donner 780 mg (61%) d'un liquide incolore.

C₇H₁₂O₄ (160.17); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.40; IR (film) : 2992m, 2954w, 2827w, 1735vs, 1439m, 1365m, 1205m, 1176m, 1105m; ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 2.59-2.66 (m, 2H, H₂C(2)); 2.73-2.80 (m, 2H, H₂C(3)); 3.42 (s, 3H, H₃C(7)); 3.67 (s, 3H, H₃C(6)); 4.05 (s, 2H, H₂C(5)); ¹³C-RMN (100 MHz, COCl₂) : 27.1 C(2); 33.2 C(3); 51.6 C(7); 59.1 C(4); 77.3 C(5); 172.9 C(1); 206.9 C(4); MS (ESI(+)) : ms 159 [M-1]⁺ faible, 131 [M-1-CO], ms-ms (159) 127 [M-1-CH₂O], 83 [M-1-CH₂O-CO₂], ms-ms-ms (159, 127) 83 [M-1-CH₂O-CO₂].

Synthèse de l'acide 5-méthoxylévulinique (158).



Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 890 mg (5.56 mmol) de 5-méthoxylévulinate de méthyle(159), 50 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8 et 15 mg de PLE (pig liver esterase, 19 U/mg). Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 8.0 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 1 M. Après 72 h, le milieu réactionnel est acidifiée à pH 1.5 par adjonction de d'une solution aqueuse 32% de HCl. La solution est saturée en NaCl et extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 6 fois . Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenu 807 mg (99%) d'une

huile incolore qui sont cristallisés dans un mélange biphasique de tétrahydrofurane et d'hexane au congélateur pour donner 560 mg (69%) d'un solide blanc fondant.

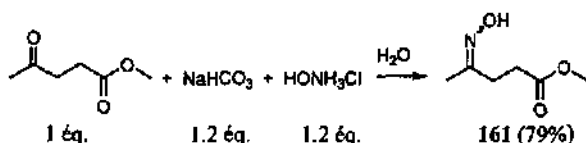
$C_6H_{10}O_4$ (146.14); HR-MS $[M+Na]^+$: 169.047173 (169.047124); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, $KMnO_4$) = 0.28; p.f. < 25°C; IR (film): 3700-2400 m (br), 2938 m , 2832 m , 1729 vs , 1402 m , 1203 m , 1173 m , 1134 m , 1098 m ; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): 2.61-2.64 (m , 2H, $H_2C(2)$); 2.69-2.72 (m , 2H, $H_2C(3)$); 3.40 (s , 3H, $H_3C(6)$); 4.02 (s , 2H, $H_2C(5)$); 10.5-10.9 (s), 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$): 27.1 C(2); 33.0 C(3); 59.2 C(6); 77.3 C(5); 178.1 C(1); 206.9 C(4); MS (ESI(+)): m_s 147 $[M+1]^+$, 129 $[M+1-H_2O]^+$, m_s - m_s (147) 129 $[M+1-H_2O]^+$, m_s - m_s - m_s 101 $[M+1-H_2O-CO]^+$.

2.2.2 Synthèses des analogues d'intermédiaires postulés.

2.2.2.1 Synthèses des analogues d'intermédiaires postulés du mécanisme Jordan 1.

2.2.2.1.1 Synthèses des analogues du type acyloxime et acylhydrazone.

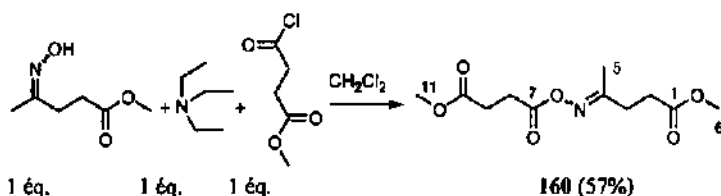
Synthèse de l'oxime du lévulinate de méthyle (161).



Dans un tricol de 500 ml sont introduits 8.34 g (0.12 mol) de chlorure d'hydroxylammonium, 150 ml d'eau et 13.0 g (0.1 mol) de lévulinate de méthyle. Sur 15 min est ajouté une solution de 10.1 g (0.12 mol) d'hydrogénocarbonate de sodium dans 200 ml d'eau. Après 75 min d'agitation à T.a., la solution est saturée avec NaCl et extraite avec 5 fois 150 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. L'huile obtenue est cristallisée au congélateur dans un mélange diéthyléther - hexane. Sont obtenus 11.5 g (79%) d'un solide blanc.

$C_6H_{11}NO_3$ (145.16); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.51; p.f. = 74-75°C (lit. [190] 115°C); IR (KBr): 3700-2700 m (br) (3371), 2997 w , 2954 m , 2926 m , 1736 vs , 1434 m , 1422 m , 1368 m , 1315 m , 1228 m , 1194 m , 1170 m , 1016 m , 961 m , 901 m , 626 m ; 1H -RMN (200 MHz, $CDCl_3$): major. (E) 1.88 (s , 3H, $H_3C(5)$); 2.53 (m , 4H, $H_2C(2, 3)$); 3.67 (s , 3H, $H_3C(6)$); 8.87 (s), 1H, HO); minor. (Z) 1.88 (s , 3H, $H_3C(5)$); 2.49-2.70 (m , 4H, $H_2C(2, 3)$); 3.67 (s , 3H, $H_3C(6)$); 8.87 (s), 1H, HO); ^{13}C -RMN (50 MHz, $CDCl_3$): major. (E) 14.0 C(5), 30.2, 30.9 C(2), C(3); 51.7 C(6); 156.5 C(4); 173.2 C(1); minor. (Z): 20.1 C(5); 24.3 C(3); 29.7 C(2); 157.1 C(4); 2 signaux manquants; MS (EI): 146 (4, $[M+1]^+$), 128 (4, $[M-OH]^+$), 114 (6, $[M-OCH_3]^+$), 89 (17, $[C_4H_9O_2]^+$), 73 (100, $[C_3H_5O_2]^+$).

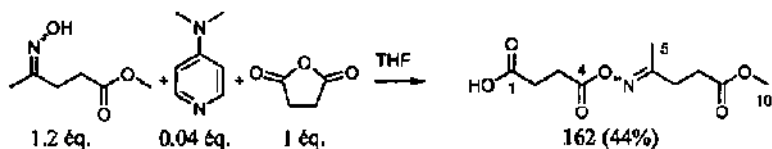
Synthèse du 4-(3-méthoxycarbonylpropanoyloximido)pentanoate de méthyle (160).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 1.5 g (10 mmol) de chlorure 3-méthoxycarbonylpropionyle et 15 ml de dichlorométhane. La solution est refroidie par un bain de glace et est ajoutée sur 30 min une solution de 1.45 g (10mmol) d'oxime du lévulinate de méthyle (161) et 1.01 g (10 mmol) de triéthylamine dans 5 ml de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 h à cette température, 2 h à T.a. puis est augmenté de 10 ml de dichlorométhane et est lavé avec 20 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl, 20 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO_3 et 15 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée puis le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.26 g (87%) d'un liquide jaune qui sont distillés au four à boules pour donner 1.47 g (57%) d'un liquide qui cristallise au congélateur en un solide blanc fondant.

$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ (259.26) : C 50.92 (50.96), H 6.71 (6.61), N 5.59 (5.40); R_f (AcOEt - heptane 2 : 1, UV, I_2) = 0.32; p.f. $<20^\circ\text{C}$; Eb.(0.04 mmHg) = 120°C ; IR (KBr) : 2997m, 2956m, 2849w, 1738vs, 1646m, 1439s, 1360s, 1318s, 1210s, 1170s, 1134s, 1058m, 1025m, 982m, 907m, 876m, 846m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3 , COSY) : major. (80%) (E) 1.96 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(5)$); 2.58-2.66 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C}(2, 3 \text{ ou } 8, 9)$); 2.63-2.74 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C}(8, 9 \text{ ou } 2, 3)$); 3.65 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(6 \text{ ou } 11)$); 3.66 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(11 \text{ ou } 6)$); minor. (20%) (Z) 2.02 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(5)$); 2.51-2.55 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.58-2.74 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C}(8, 9)$); 2.67-2.70 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 3.66 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(6 \text{ ou } 11)$); 3.67 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(11 \text{ ou } 6)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3 , DEPT, HETCOR) : major. (E) 16.0 C(5); 27.8 C(2 ou 3) ou C(8 ou 9); 28.6 C(3 ou 2) ou (9 ou 8); 29.8 C(8 ou 9) ou C(2 ou 3); 31.0 C(9 ou 8) ou C(3 ou 2); 51.7, 51.8 C(6), C(11); 164.7 C(4); 170.1 C(7); 172.4, 172.7 C(1), C(10); minor. (Z) 20.1 C(5); 25.8 C(3); 27.8, 28.6, 29.9 C(2), C(8), C(9); 51.8, 51.9 C(6, 11); 165.5 C(4); 169.7 C(7); 172.2, 172.3 C(1, 10); MS (EI) : 260 (14, $[\text{M}+1]^+$), 228 (9, $[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}]^+$), 128 (36, $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{NO}_2]^+$), 115 (100, $[\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_3]^+$), 114 (89, $[\text{C}_5\text{H}_6\text{NO}_2]^+$), 100 (27, $[\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_3]^+$), 87 (94, $[\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2]^+$), 68 (37), 59 (89), 55 (95).

Synthèse de l'acide 2-(4-(méthylloxycarbonylbutyl)imidoxycarbonyl)propionique (162).

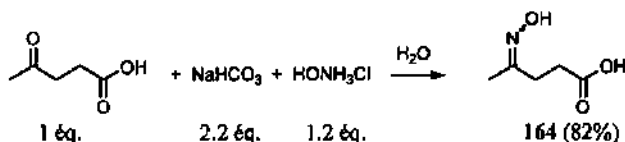


Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 2.9 g (20 mmol) d'oxime du lévulinate de méthyle (161), 1.56 g (16.5 mmol) d'anhydride succinique, 84 mg (0.7 mmol) de 3-diméthylaminopyridine et 20 ml de tétrahydrofurane. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 20 h puis le solvant est partiellement évaporé avant d'ajouter 50 ml d'acétate d'éthyle. La solution est lavée avec 50 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et la phase

aqueuse est extraite avec 3 fois 50 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 4.32 g (88%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 1 : 1, h = 25 cm, φ = 2.5 cm). Sont obtenus 2.15 g (44%) d'une huile qui cristallisent au congélateur. Une partie du produit est distillée au four à boules.

C₁₀H₁₅NO₆ (245.23) : C 48.79 (48.98), H 6.21 (6.17), N 5.46 (5.71); R_f (AcOEt - heptane 2 : 1, UV, I₂) = 0.22; Eb.(0.04 mmHg) = 140-150°C; p.f. = 58-59°C; IR (KBr) : 3700-2400m(br) (3033), 2934m, 1760s, 1735vs, 1718s, 1643m, 1437m, 1316m, 1298m, 1231m, 1218m, 1202s, 1169m, 923m, 893m, 644m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO) : major. (80%) (E) 1.96 (s, 3H, H₃C(5)); 2.52-2.55 (AA'm, 2H, H₂C(7 ou 8)); 2.60 (AA'BB''s", 4H, H₂C(2, 3)); 2.61-2.65 (BB'm, 2H, H₂C(8 ou 7)); 3.63 (s, 3H, H₃C(10)); 11.9-12.6 (s(l), 1H, HOOC); minor. (20%) (Z) 1.98 (s, 3H, H₃C(5)); 2.51-2.68 (2 x AA'BB'm, 8H, H₂C(2, 3, 7, 8)); 3.63 (s, 3H, H₃C(10)); 11.9-12.6 (s(l), 1H, HOOC); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : major. (E) 15.7 C(5); 27.7 C(7 ou 8); 28.6 C(8 ou 7); 29.3 C(2 ou 3); 30.5 C(3 ou 2); 165.4 C(6); 170.2 C(4); 172.4, 173.4 C(1), C(9); minor. (Z) 19.5 C(5); 25.4 C(3); 27.7, 28.8, ? C(2, 7, 8); 166.1 C(6); 169.9 C(4); 172.4, 173.4 C(1), C(9); 1 signal manquant; MS (EI) : 246 (2, [M+]⁺), 146 (7), 145 (8, [C₆H₁₁NO₃]⁺), 128 (83, [C₆H₁₀NO₂]⁺), 114 (71, [C₃H₈NO₂]⁺), 101 (44, [C₄H₅O₃]⁺), 96 (37, [C₅H₆NO]⁺), 88 (29), 87 (29), 86 (69, [C₄H₈NO]⁺), 85 (15), 84 (16), 73 (37, [C₃H₅O₂]⁺), 72 (12), 71 (11), 70 (15), 69 (14), 68 (62, [C₄H₆N]⁺), 59 (45), 58 (14), 57 (30), 56 (84), 55 (100).

Synthèse de l'oxime de l'acide lévulinique (164).

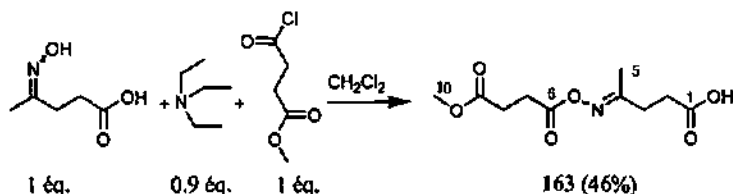


Dans un tricol de 250 ml sont introduits 9.28 g (80 mmol) d'acide lévulinique, 14.8 (176 mmol) d'hydrogénocarbonate de sodium et 200 ml d'eau. Sont ajoutés 6.67 g (96 mmol) de chlorure d'hydroxylammonium et le mélange réactionnel est agité pendant 100 min. La solution est acidifiée avec HCl conc. et saturée avec NaCl avant d'être extraite avec 5 fois 50 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le résidu est dissous dans peu d'acétate d'éthyle est additionné de diéthyléther et de beaucoup de pentane. Sont obtenus 4.28 g (82%) d'un solide blanc.

C₅H₉NO₃ (131.13); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 9 : 1, I₂) = 0.11; p.f. = 96-98°C (lit. [191] 95-96°C); IR (KBr) : 3300-2600m(br), 2958m, 2932m, 2861m, 2683m, 1729vs, 1471m, 1413m, 1395m, 1367m, 1312m, 1240m, 1213m, 1180s, 1145m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO) : major. (80%) (E) : 1.72 (s, 3H, H₃C(5)); 2.32-2.45 (m, 4H, H₂C(2, 3)); 10.15-10.60 (s(l), 1H, HON); 11.75-12.40 (s(l), 1H, HOC); minor. (20%) (Z) 1.76 (s, 3H, H₃C(5)); 2.32-2.45 (m, 4H, H₂C(2, 3)); 10.15-10.60 (s(l), 1H, HON); 11.75-12.40 (s(l), 1H, HOC); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : major. (E) 13.9 C(5); 30.3, 30.7 C(2), C(3); 154.0 C(4); 174.0 C(1); minor. (Z) 19.6 C(5); 24.0 C(3); 29.7 C(2); 154.8 C(4); 174.1 C(1); MS (EI) : 132 (12, [M+]⁺), 116 (12), 115 (13), 114 (61), 113 (83, [M-H₂O]⁺), 99 (16), 98 (12), 97 (16), 96 (36).

$[M+1-2H_2O]^+$, 88 (14), 87 (12), 86 (52, $[M-CHO_2]^+$), 85 (21), 84 (21), 73 (28, $[C_3H_5O_2]^+$), 71 (31), 69 (20), 68 (54), 67 (12), 60 (16), 59 (19), 58 (20), 57 (33), 56 (58), 55 (100).

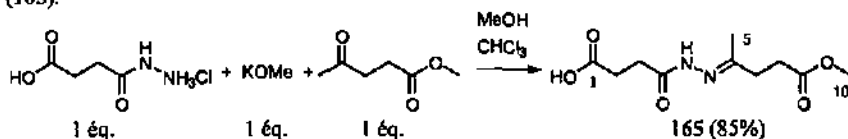
Synthèse de l'acide 4-(3-(méthoxycarbonyl)propionyloxymido)pentanoïque (163).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 1.31 g (10 mmol) d'oxime de l'acide lévulinique (164) et 30 ml de dichlorométhane. A la solution refroidie par un bain de glace est ajouté sur 45 min 1.51 g (10 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle puis sur 5 min 0.9 g (9 mmol) de triéthylamine. Après 1 h le bain de glace est retiré et le mélange réactionnel est agité encore 2 h avant d'être versé sur 50 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl. La phase aqueuse est extraite avec 4 fois 50 ml de dichlorométhane et 2 fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.46 g (100%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH_2Cl_2 - MeOH 98 : 2, h = 35 cm, ϕ = 3 cm) pour obtenir 1.12 g (46%) d'un liquide visqueux qui cristallise au congélateur.

$C_{10}H_{15}NO_6$ (245.23) : C 49.14 (48.98), H 6.18 (6.16), N 5.58 (5.71); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, $KMnO_4$) = 0.58; p.f. = 40-42°C; IR (KBr) : 3700-2400w(br), 2957w, 2942m, 1765s, 1734vs, 1715s, 1641m, 1439m, 1418m, 1370m, 1319m, 1226m, 1205m, 1180m, 1132s, 891m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO, COSY) : major. (80%) (E) 1.93 (s, 3H, $H_3C(5)$); 2.44-2.59 (m, 4H, $H_2C(2, 3)$); 2.58-2.70 (m, 4H, $H_2C(7, 8)$); 3.60 (s, 3H, $H_3C(10)$); 11.9-12.4 (s(l), 1H, HO); minor. (20%) (Z) 1.96 (s, 3H, $H_3C(5)$); 2.45-2.70 (m, 8H, $H_2C(2, 3, 7, 8)$); 3.60 (s, 3H, $H_3C(10)$); 11.9-12.4 (s(l), 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) : major. (E) 15.7 C(5); 27.7, 28.4 C(7), C(8); 29.7, 30.7 C(2), C(3); 51.6 C(10); 165.9 C(4); 170.1 C(6); 172.5, 173.5 C(1), C(9); minor. (Z) 19.5 C(5); 25.6 C(3); 29.7 C(2); 166.6 C(4); 169.8 C(6); 5 signaux manquant; MS (DCI) : 263 (29, $[M+NH_4]^+$), 246 (100, $[M+1]^+$), 228 (16, $[M-OH]^+$), 150 (42), 133 (37), 132 (65, $[C_5H_{10}NO_3]^+$), 116 (79), 115 (80, $[C_5H_7O_3]^+$), 114 (60), 100 (31, $[C_4H_4O_3]^+$), 98 (15)55 (53).

Synthèse de l'acide 3-(1-méthylloxycarbonylbut-3-ylidènehydrazinocarbonyl)propionique (165).



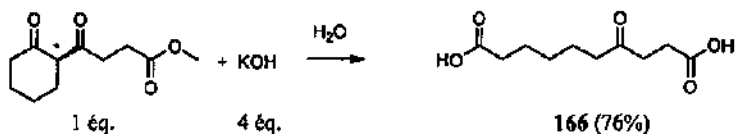
Dans un bicol de 50 ml équipé d'une ampoule à brome remplie de tamis moléculaire avec connexion de gaz surmontée d'un réfrigérant sont introduits 675 mg (4 mmol) de chlorure de N-succinylhydrazinium (128) et 10 ml de méthanol. La suspension est refroidie par un bain de glace et une solution de 280 mg (4 mmol) de méthanoate de potassium dans 10 ml de

méthanol est ajoutée. Puis une solution de 781 mg (6 mmol) de lévulinate de méthyle dans 10 ml de chloroforme est ajoutée et le milieu réactionnel est chauffé à reflux 3 h. Le solvant est éliminé et le résidu est dissous dans le tétrahydrofurane puis filtré et sont obtenus 830 mg (85%) d'un solide jaunâtre par adjonction biphasique d'hexane.

$C_{10}H_{16}N_2O_5$ (244.25) : C 49.11 (49.18), H 6.59 (6.60), N 11.33 (11.47); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 7 : 3, $KMnO_4$) = 0.53; p.f. = 145-146°C; IR (KBr) : 3600-2400m(br) (3052), 3197m, 3099m, 2964m, 2926m, 2855m, 1743s, 1703vs, 1646s, 1440s, 1428s, 1382m, 1360m, 1315s, 1255m, 1222m, 1192s, 1180m, 1163s, 1122m, 938m, 629m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : conformère major. (77%) 1.83 (s, 3H, $H_3C(5)$); 2.44 (t, $^3J_{2,3}$ = 6.7, 2H, $H_2C(2)$); 2.65 (t, $^3J_{3,2}$ = 6.7, 2H, $H_2C(3)$); 2.47-2.54 (m, 4H, $H_2C(7, 8)$); 3.57 (s, 3H, $H_3C(10)$); 10.11 (s, 1H, HN); 11.8-12.2 (s(l), 1H, HO); conformère (15%) 1.85 (s, 3H, $H_3C(5)$); 2.40-2.75 (m, 8H, $H_2C(2, 3, 7, 8)$); 3.57 (s, 3H, $H_3C(10)$); 10.02 (s, 1H, HN); 11.8-12.2 (s(l), 1H, HO); conformère (8%) 1.89 (s, 3H, $H_3C(5)$); 2.40-2.75 (m, 8H, $H_2C(2, 3, 7, 8)$); 3.57 (s, 3H, $H_3C(10)$); 10.20 (s, 1H, HN); 11.8-12.2 (s(l), 1H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) : conformère major. (77%) 16.5 C(5); 27.7 C(3); 28.3 C(2); 29.5, 32.8 C(7), C(8); 51.3 C(10); 150.4 C(6); 173.1, 173.7, 174.1 C(1); C(4); C(9); conformère (15%) 16.8 C(5); 28.9, 29.0, 29.8, 33.1 C(2), C(3), C(7), C(8); 51.4 C(10); 155.3 C(6); 167.6, 173.0, 174.0 C(1), C(4), C(9); MS (EI) : 245 (3, $[M+1]^+$), 229 (3, $[M-CH_3]^+$), 213 (3, $[M-CH_3O]^+$), 195 (7, $[M-CH_3O]^+$), 185 (8, $[M-C_2H_5O_2]^+$), 167 (22, $[M-C_2H_5O_3]^+$), 157 (91, $[M-C_4H_7O_2]^+$), 144 (8, $[M-C_4H_9O_3]^+$), 139 (25, $[M-C_4H_9O_3]^+$), 128 (8), 113 (41), 112 (44, $[M-C_5H_9O_4]^+$), 101 (26, $[C_4H_9O_3]^+$), 96 (14), 91 (10), 85 (10, $[C_4H_9O_2]^+$), 84 (24), 83 (17), 73 (33), 71 (12), 69(11), 68 (28), 59 (20), 57 (23), 56 (21), 55 (63).

2.2.2.1.2 Synthèses des analogues d'intermédiaires avec une fonction carbonyle en position γ .

Synthèse de l'acide 4-oxodécandioïque (4-oxosébacique) (166).

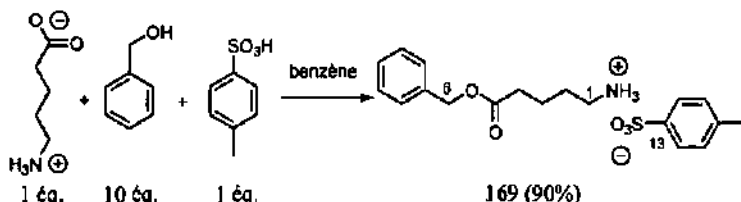


Selon Lücke et Hünig [168], 2.3 g (41.5 mmol) d'hydroxyde de potassium 87% et 2 ml d'eau sont introduits dans un bicol de 50 ml. La solution est chauffée à 100°C et 2.2 g (10.4 mmol) de 4-oxo-4-(2-oxocyclohexyl)butyrate de méthyle (II5) sont ajoutés sur la solution et une vigoureuse réaction a lieu. Après 3 min la solution est refroidie par un bain de glace, augmentée de 5 ml d'eau et acidifiée avec une solution aqueuse 32% de HCl (~5ml). Un solide blanc précipite. La suspension est placée au réfrigérateur 1 h puis est filtrée pour obtenir 1.85 g (83%) d'un solide blanc qui est dissous dans le tétrahydrofurane et cristallisé par adjonction biphasique d'hexane. Est obtenu 1.71 g (76%) d'un solide blanc.

$C_{10}H_{16}O_5$ (216.23); R_f (AcOEt - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.52; p.f. = 107°C (lit. [192] 108-110°C); IR (KBr) : 3650-2300m(br), 2938m, 1698vs, 1413m, 1295m, 1246m, 1216m, 1106m, 938m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO, COSY) : 1.18-1.26 (m, 2H, $H_2C(7)$); 1.45 (qi, $^3J_{6,5} \equiv ^3J_{6,7} \equiv 7.8$, 2H, $H_2C(6)$); 1.47 (qi, $^3J_{8,7} \equiv ^3J_{8,9} \equiv 7.6$, 2H, $H_2C(8)$); 2.18 (t, $^3J_{9,8} = 7.4$, 2H, $H_2C(9)$); 2.38 (t, $^3J_{2,3} = 6.4$, 2H, $H_2C(2)$); 2.41 (t, $^3J_{5,6} = 7.3$, 2H, $H_2C(5)$); 2.62 (t, $^3J_{3,2} = 6.5$, 2H, $H_2C(3)$); 12.02 (s(br), 2H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) :

23.0 C(6); 24.4 C(8); 27.8 C(2); 28.2 C(7); 33.6 C(9); 36.7 C(3); 41.7 C(5); 173.9, 174.6 C(1), C(10), 209.2 C(4); MS (EI): 217 (2, [M+]⁺), 199 (7, [M-OH]⁺), 181 (6, [M+1-2H₂O]⁺), 153 (7), 143 (8, [M-C₃H₅O₂]⁺), 125 (29, [M-C₃H₇O₃]⁺), 116 (47, [C₅H₉O₃]⁺), 101 (4), [C₅H₉O₂]⁺, 98 (95, [C₃H₆O₂]⁺), 97 (30), 73 (77, [C₃H₅O₂]⁺), 69 (100), 55 (55).

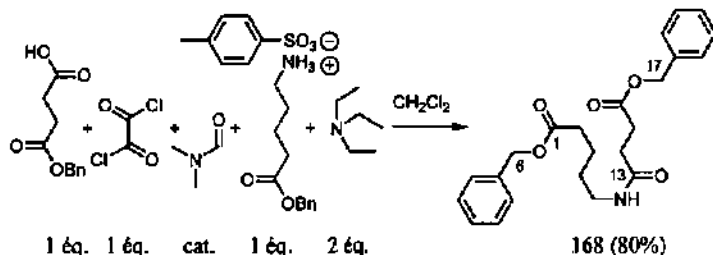
Synthèse du para-toluènesulfonate de 4-(benzyloxycarbonyl)butylammonium (169).



Dans un bicol de 100 ml sont introduits 2.34 g (20 mmol) d'acide 5-aminovalérique, 3.8 g (20 mmol) d'acide *para*-toluènesulfonique monohydrate, 70 ml de benzène et 21.6 g (200 mmol) d'alcool benzylique. Après 6 h à reflux avec séparation azéotropique (l'eau est piégée par du tamis moléculaire 3Å), la solution est évaporée et l'huile obtenue est précipitée dans 150 ml de diéthyléther pour obtenir 6.85 g (90%).

C₁₉H₂₅NO₅S (379.47); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 7 : 3, UV+KMnO₄) = 0.52; p.f. = 74°C (lit. [193] 98-99°C); IR (KBr): 3077m(br), 3034m, 3012m, 2948m, 2897w, 2872w, 1742s, 1632m, 1266m, 1243m, 1220s, 1169vs, 1142s, 1123s, 1031s, 1010m, 1000m, 890m, 817m, 751m, 743m, 698m, 688s, 574m, 567m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-OMSO): 1.51-1.62 (m, 4H, H₂C(2, 3)); 2.28 (s, 3H, H₃C(19)); 2.39 (t, ³J_{4,3} = 7.0, 2H, H₂C(4)); 2.78 (t, ²J_{1,2} = 7.1, 2H, H₂C(1)); 5.09 (s, 2H, H₂C(6)); AA'XX' [7.12 (2H, HC(15, 17), 7.49 (2H, HC(14, 18))]; 7.30-40 (m, 5H, HC(8-12)); 7.66 (s(l), 2-3H, H₃N); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO): 20.9 C(19); 21.4 C(3); 26.5 C(2); 33.0 C(4); 38.7 C(1); 65.6 C(6); 125.6 C(14, 18); 128.1, 128.4, 128.6 C(8, 12), C(9, 11), C(15, 17); 128.2 C(10); 136.3 C(7); 138.3 C(16); 145.1 C(13); 172.5 C(5); MS (EI): 208 (14), 207 (57, [C₁₂H₁₇NO₂]⁺), 191 (10, [C₁₂H₁₅O₂]⁺), 116 (44, [C₅H₁₀NO₂]⁺), 98 (34[C₅H₈NO]⁺), 91 (100, [C₇H₇]⁺), 56 (24), 55 (16).

Synthèse du 5-(3-(benzyloxycarbonyl)propionylamino)pentanoate de benzyle (168).

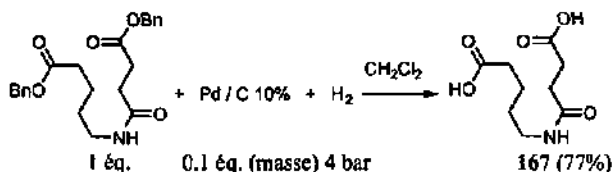


Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 1.92 g (10 mmol) de succinate de monobenzylole (61), 30 ml de dichlorométhane sec et 1 goutte de diméthylformamide. Le milieu réactionnel est refroidi par un bain de glace et 1.27 g (10 mmol) de chlorure d'oxalyle

est ajoutés sur 30 min. Après 30 min d'agitation le bain de glace est retiré et la solution est agitée 3h à T.a. Dans un bicol de 100 ml sont introduits 3.79 g (10 mmol) de *para*-toluènesulfonate de 4-benzyloxycarbonylbutanmonium (169) et 40 ml de dichlorométhane. Cette solution est refroidie par un bain de glace et la première y est ajoutée sur 5 min puis 2.02g (20 mmol) de triéthylamine sur 15 min. Après 1 h, le bain de glace est retiré et la réaction est agitée à T.a. pendant 3 h. Le milieu réactionnel est versé sur 40 ml d'une solution aqueuse 1M de HCl et additionné de 20 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite avec 40 ml de dichlorométhane puis les phases organiques rassemblées sont lavées avec 60 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃ puis 40 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative pour donner 3.32 g (84%) d'une huile qui cristallisent en un solide blanc. Le produit est séparé par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 2 : 1, h = 15 cm, ϕ = 3.5 cm) pour obtenir 3.16 g (80%).

C₂₃H₂₇NO₅ (397.47) : C 69.23 (69.50), H 6.85 (6.85), N 3.64 (3.52); R_f (AcOEt - hexane 4 : 1, KMnO₄) = 0.36; p.f. = 49°C; IR (KBr) : 3259m, 3079m, 3063m, 3033w, 2956m, 2933m, 2979m, 1732vs, 1656m, 1629s, 1558s, 1483m, 1456m, 1420m, 1402m, 1386m, 1358m, 1329m, 1272m, 1237m, 1216m, 1199m, 1164s, 1098m, 1083m, 964m, 746s, 698s; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 1.47-1.54 (m, 2H, H₂C(4)); 1.62-1.69 (m, 2H, H₂C(3)); 2.37 (t, ³J₂₋₃ = 7.3, 2H, H₂C(2)); 2.46 (t, ³J₁₄₋₁₅ = 6.8, 2H, H₂C(14)); 2.72 (t, ³J₁₅₋₁₄ = 6.8, 2H, H₂C(15)); 3.22 (td, ³J₅₋₄ = 6.8, ³J_{5-HN} = 5.9, 2H, H₂C(5)); 5.11, 5.12 (s, 2H, H₂C(6)), (s, 2H, H₂C(17)), 5.76 (s(l), 1H, HN); 7.29-7.37 (m, 10H, HC(8-12), HC(19-23)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 22.0 C(3); 28.9 C(4); 29.6 C(15); 31.0 C(14); 33.7 C(2); 39.1 C(5); 66.2, 66.5 C(6), C(17); 128.2, 128.2, 128.2, 128.5, 128.6 C(8-12), C(19-23); 135.7, 135.9 C(7), C(18); 171.3 C(13); 172.8, 173.2 C(1), C(16); MS (DCI) : 399 (25), 398 (99, [M+1]⁺), 307 (15, [M+1-C₇H₇]⁺), 291 (19), 290 (100, [M-C₇H₇O]⁺), 200 (7, [C₉H₁₄NO₄]⁺), 190 (9), 182 (16, [C₉H₁₂ND₃]⁺), 108 (15, [C₇H₈O]⁺), 100 (78, [C₄H₄O₃]⁺ ou [C₄H₆NO₂]⁺), 91 (63, [C₇H₇]⁺).

Synthèse de l'acide 5-(3-carboxypropionylamino)pentanoïque (167).

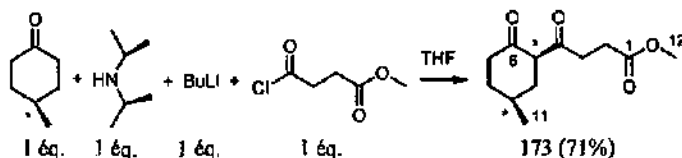


Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 3.05 g (7.7 mmol) de 5-(3-(benzyloxycarbonyl)propionylamino)pentanoate de benzyle (166), 120 ml de dichlorométhane et 300 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 20 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur lavé au tétrahydrofurane puis le filtrat est évaporé. Est obtenu 1.77 g (>100%) d'un solide blanc qui est dissous à chaud dans le tétrahydrofurane et cristallisé avec adjonction de 10% de diéthyléther pour donner 1.29 g (77%) d'un solide blanc.

C₉H₁₅NO₅ (217.22) : C 50.13 (49.76), H 7.02 (6.96), N 6.06 (6.45); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 8 : 1 : 1, KMnO₄) = 0.52; p.f. = 141°C; IR (KBr) : 3650-2300m(br), 3315s, 3070s.

2964s, 2882m, 1693vs, 1629s, 1552s, 1473m, 1463m, 1431s, 1321s, 1271m, 1203s, 927m, 680m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO): 1.33-1.41 (m, 2H, H₂C(4)); 1.43-1.51 (m, 2H, H₂C(3)); 2.18 (t, ³J_{2,3} = 7.3, 2H, H₂C(2)); 2.27 (t, ³J_{7,8} = 7.1, 2H, H₂C(7)); 2.38 (m, ³J_{8,7} ≅ 6.9, 2H, H₂C(8)); 3.01 (td, ³J_{5,4} ≅ 6.9, ³J_{5-HN} ≅ 5.5, 2H, H₂C(5)); 7.83 (t, ³J_{HN-5} = 5.5, 1H, HN); 10.8-11.9 (s(br), 2H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, DEPT, HETCOR): 22.1 C(3); 28.8 C(4); 29.6 C(8); 30.3 C(7); 33.6 C(2); 38.3 C(5); 171.0 C(6); 174.1, 174.6 C(1), C(9); MS (DCI): 218 (100, [M+1]⁺), 200 (50, [M-OH]⁺), 182 (23, [M+1-2H₂O]⁺), 174 (36, [M+1-CO₂]⁺), 118 (31, [C₄H₈NO₃]⁺), 100 (82, [C₄H₈NO₂]⁺).

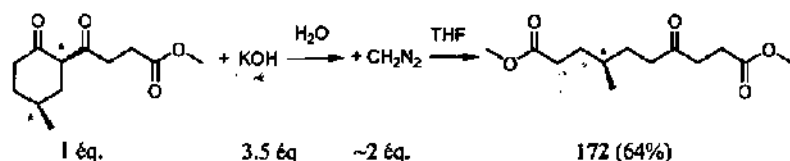
Synthèse du (dia)-4-(4-méthyl-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (173).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 15 ml de tétrahydrofurane, 2.02 g (20.0 mmol) de diisopropylamine. La solution est refroidie par un bain de glace et 2 ml (20.0 mmol) de butyllithium 10 M dans l'hexane sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité 30 min à cette température et 30 min à T.a. puis refroidie à -60°C et 2.24 g (20 mmol) de 4-méthylcyclohexanone sont ajoutés goutte à goutte. Après 30 min, le milieu réactionnel est refroidi à -80°C et est ajouté goutte à goutte par une canule à une solution à la même température de 3.01 g (20 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans 20 ml de tétrahydrofurane. Le milieu réactionnel est laissé revenir à -30°C sur 90 min puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de NH₄Cl, augmenté de 60 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 4.78 g (>100%) d'un liquide incolore qui sont séparées par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3.5 cm) pour obtenir 3.22 g (71%) d'un liquide incolore pur. Le produit est distillé au four à boules pour donner 2.71 g (60%) (>97% GC(P7), τ_R = 15.7).

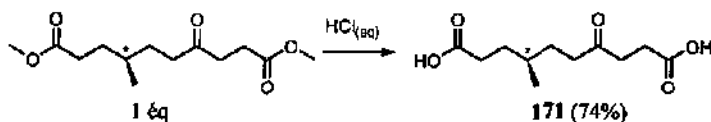
C₁₂H₁₈O₄ (226.27); HR-MS [M+H]⁺: 227.12781 (227.12778); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.64; Eb. (0.05 mmHg) = 110-120°C; IR (film): 2953m, 2928m, 2871m, 1741vs, 1703m, 1621s, 1588s, 1459m, 1438m, 1418m, 1359m, 1331m, 1304m, 1282m, 1240m, 1215m, 1156s; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, COSY): cétoénol (~80%) 1.00 (d, ³J_{11,9} = 6.5, 3H, H₃C(11)); 1.21-1.33 (m, 1H, H_AC(8)); 1.63-1.74 (m, 2H, H_BC(8), HC(9)); 1.89 (ddm, ²J_{10A-10B} = 14.9, ³J_{10A-9} = 10.1, 1H, H_AC(10)); 2.27-2.34 (m, 2H, H₂C(7)); 2.39 (dm, ²J_{10B-10A} ≅ 14.7, 1H, H_BC(10)); 2.59 (m, ³J_{2-3B} ≅ ³J_{2-3A} ≅ 6.6, 2H, H₂C(2)); 2.67 (dt, ²J_{3A-3B} = 18.0, ³J_{3A-2} = 6.1, 1H, H_AC(3)); 2.77 (dt, ²J_{3B-3A} = 18.0, ³J_{3B-2} = 6.8, 1H, H_BC(3)); 3.65 (s, 3H, H₃C(12)); 15.33 (s, 1H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, DEPT, HETCOR): cétoénol 21.4 C(11); 27.6 C(2); 28.8 C(9); 29.3 C(8); 30.1 C(7); 31.9 C(10); 32.2 C(3); 51.7 C(12); 106.5 C(5); 173.3 C(1); 178.5 C(4); 200.4 C(6); MS (ESI(-)): ms 225 [M-1]⁻, ms-ms (225) 193 [M-1-CH₄O]⁻.

Synthèse de l'acide 7-méthyl-4-oxodécandioïque (171).



Dans un bicol de 25 ml est introduits 1.98 g (30.8 mmol) d'hydroxyde de potassium dans 2 ml d'eau. La solution est portée à 100°C et 2.0 g (8.84 mmol) de 4-(5-méthyl-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (172) sont ajoutés. Après 3 min le milieu réactionnel est augmenté de 5 ml d'eau et refroidi par un bain de glace puis acidifié avec une solution aqueuse 32% d'acide chlorhydrique jusqu'à pH 1. La solution est extraite avec 40 ml d'acétate d'éthyle puis est saturée avec NaCl et est extraite avec 4 fois 40 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrée et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Une huile contenant des particules solides (1.94 g) est reprise dans du tétrahydrofurane et titrée avec environ 60 ml d'une solution 0.3 M de diazométhane dans le diéthylique puis évaporée à sec. Sont obtenus 2.09 g (92%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 30 cm, $\phi = 3.5$ cm) pour donner 1.46 g (64%) d'un liquide incolore qui est le 7-méthyl-4-oxodécandioate de méthyle (172).

C₁₃H₂₂O₅ (258.31); HR-MS [M+Na]⁺: 253.104646 (253.104638); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.53; IR (film) : 2955m, 2933m, 2874w, 1740vs, 1718s, 1438m, 1417m, 1365m, 1258m, 1202s, 1174s; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, COSY) : 0.80 (d, ³J_{1,7} = 6.1, 3H, H₃C(11)); 1.30-1.41 (m, 3H, H_AC(6), HC(7), H_AC(8)); 1.50-1.62 (m, 2H, H_BC(6), H_BC(8)); 2.17-2.29 (m, 2H, H₂C(9)); 2.31-2.46 (m, 2H, H₂C(5)); 2.50 (t, ³J_{2,3} = 6.5, 2H, H₂C(2)); 2.65 (t, ³J_{3,2} = 6.6, 2H, H₂C(3)); 3.58, 3.59 (s, 3H, H₃C(12)), (s, 3H, H₃C(13)); ¹³C-NMR (100 MHz, COCl₂, HETCOR) : 18.8 C(11); 27.5 C(2); 29.9 C(6); 31.3 C(8); 31.4 C(9); 31.7 C(7); 36.8 C(3); 40.0 C(5); 51.3, 51.5 C(12), C(13); 173.1, 174.0 C(1), C(10); 208.7 C(4); MS (ESI(+)) : 281 [M+1]⁺.

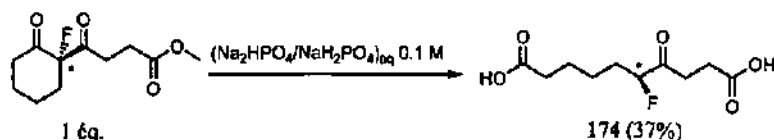


Dans un ballon de 25 ml est introduit 1.3 g (5.03 mmol) de 7-méthyl-4-oxodécandioate de méthyle et 10 ml d'une solution aqueuse 6 M de HCl. Le milieu réactionnel est chauffé 4 h à 80°C puis est évaporé à sec, séché à la pompe à huile et coévaporé avec deux fois 10 ml de chloroforme sec. Est obtenu 1.28 g (>100%) d'un solide dissous dans le tétrahydrofurane à chaud et cristallisé par adjonction biphasique de diéthylique pour donner 860 mg (74%) d'un solide blanc.

C₁₁H₁₈O₅ (230.26) : C 57.38 (57.76), H 7.88 (8.25); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.76; p.f. = 59-60°C; IR (KBr) : 3700-2400m(br) (3035), 2961m, 2938m, 2874m, 2763m, 2682m, 1711vs, 1415s, 1404s, 1382m, 1349m, 1296m, 1260m, 1232s, 1167m, 1127m, 1085m, 1076m, 952m, 907m; ¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO, COSY) : 0.81 (d, ³J_{1,7} = 6.1, 3H, H₃C(11)); 1.23-1.39 (m, 3H, H_AC(6), HC(7), H_AC(8)); 1.44-1.55 (m, 2H, H_BC(6),

$H_B C(8)$; 2.11-2.25 (*m*, 2H, $H_2C(9)$); 2.38 (*t*, $^3J_{2,3} = 6.4$, 2H, $H_2C(2)$); 2.40-2.47 (*m*, 2H, $H_2C(5)$); 2.63 (*t*, $^3J_{3,2} = 6.4$, 2H, $H_2C(3)$); 12.02 (*s*), 2H, HO); ^{13}C -NMR (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) : 19.1 C(11); 27.8 C(2); 30.0 C(6); 31.4, 31.5 C(7), C(9); 36.8 C(3); 39.5 C(5); 174.0, 174.8 C(1), C(10); 209.3 C(4); MS (ESI(-)) : *m*s 229 [M-1], *m*s-*m*s (229) 211 [M-1-H₂O], *m*s-*m*s-*m*s (229, 211) 193 [M-1-2H₂O], 167 [M-1-H₂O-CO₂], 149 [M-1-2H₂O-CO₂].

Synthèse de l'acide 5-fluoro-4-oxodécandioïque (174).



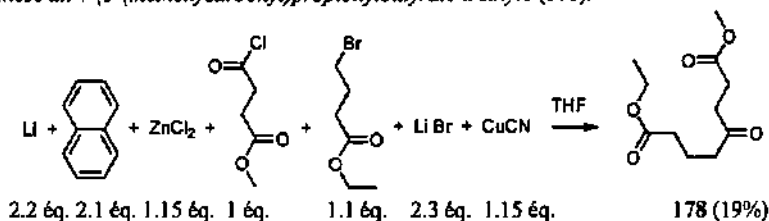
Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 900 mg (3.91 mmol) de 4-(1-fluoro-2-oxocyclohexyl)-4-oxobutyrate de méthyle (120) et 40 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 8.2 et le pH est maintenu à cette valeur pendant 4 jours grâce à un pH-stat par adjonction d'une solution aqueuse 1 M de NaOH. Le milieu réactionnel est ensuite acidifié à pH 1.5 par adjonction d'une solution aqueuse 32% de HCl puis saturé avec NaCl. La phase aqueuse est extraite avec 4 fois 50 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 845 mg (92%) d'un solide blanc qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 97 : 3 → 9 : 1, h = 15 cm, φ = 3 cm) pour donner 340 mg (37%) d'un solide blanc qui sont le produit désiré et 220 mg d'une fraction moins polaire contenant le monométhylester. Cette fraction est reprise dans 5 ml de diéthyléther et titrée avec 3 ml d'une solution 0.3 M de diazométhane dans le diéthyléther. Le milieu réactionnel est évaporé et séparé par flash colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 20 cm, φ = 1 cm) pour obtenir 135 mg (13%) de diméthylester 175.

C₁₁H₁₇FO₄ (248.25) : C 51.47 (51.28), H 6.67 (6.46); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.74; p.f. = 107°C; IR (KBr) : 3700-2300*m*(br) (3043), 2959*m*, 2943*m*, 2879*m*, 2665*w*, 1724*s*, 1703*vs*, 1466*m*, 1434*m*, 1411*m*, 1403*m*, 1291*m*, 1262*m*, 1243*s*, 1225*m*, 1203*m*, 1181*m*, 1075*m*, 1066*m*, 954*m*, 942*m*, 886*m*; 1H -NMR (400 MHz, d_6 -DMSO, COSY) : 1.29-1.42 (*m*, 2H, $H_2C(7)$); 1.44-1.58 (*m*, 2H, $H_2C(8)$); 1.64-1.88 (*m*, 2H, $H_2C(6)$); 2.21 (*t*, $^3J_{9,8} = 7.3$, 2H, $H_2C(9)$); 2.44 (*t*, $^3J_{2,3} = 6.4$, 2H, $H_2C(2)$); 2.76 (*tt*, $^3J_{3,2} = 6.3$, $^4J_{3,F} \cong 1.9$, 2H, $H_2C(3)$); 5.00 (*ddd*, $^2J_{5,F} = 49.4$, $^3J_{5,6A} = 7.9$, $^3J_{5,6B} = 4.1$, 1H, HC(5)); 11.6-12.5 (*s*), 2H, HO); ^{13}C -NMR (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) : 23.7 C(7); 24.3 C(8); 27.2 C(2); 30.7 (*d*, $^2J_{6,F} = 30$, 1C, C(6)); 32.8 C(3); 33.6 C(9); 95.3 (*d*, $^1J_{5,F} = 181$, 1C, C(5)); 173.7, 174.5 C(1), C(10); 207.7 (*d*, $^2J_{4,F} = 20$, 1C, C(4)); ^{19}F -NMR (188 MHz, d_6 -DMSO) : -113.36 (*dt*, $^2J_{F,5} \cong 48.6$, $^3J_{F,6} \cong 25.5$, 1F, FC(5)); MS (ESI(-)) : *m*s 233 [M-1], *m*s-*m*s (233) 213 [M-1-HF], *m*s-*m*s-*m*s (233, 213) 195 [M-1-HF-H₂O], 169 [M-1-HF-CO₂], 151 [M-1-HF-H₂O-CO₂], 99 [C₄H₃O₃].

2.2.2.2 Synthèse de la série des γ -oxodiacides.

2.2.2.2.1 Synthèses des γ -oxodiacides linéaires.

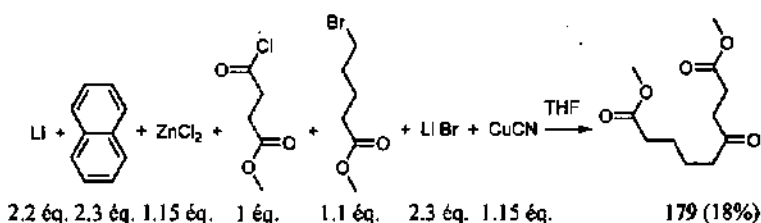
Synthèse du 4-(3-(méthoxycarbonyl)propionyl)butyrate d'éthyle (178).



D'après une procédure adaptée de Rike [196], dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 187 mg (26.9 mmol) de lithium métallique (lavé au pentane dans une fritte sous azote) et 14 ml (26 mmol) d'une solution 2 M de naphthalène (sublimé) dans le tétrahydrofurane. Après 10 h d'agitation à T.a., 14 ml d'une solution 1 M de ZnCl_2 (séché sous haut vide à son point de fusion dans un tube de Shlenk) dans le tétrahydrofurane sont ajoutés sur 15 min. Après 1 h, 2.62 g (13.5 mmol) de 5-bromobutyrate d'éthyle sont ajoutés et le milieu réactionnel est agité 3 h à T.a. puis est laissé reposer 3 h. La solution décantée est transférée par une canule dans un second bicol de 50 ml et après refroidissement à -20°C est augmentée d'une solution de 1.25 g (14 mmol) de CuCN et 2.43 g (28 mmol) de LiBr (séché sous haut vide à 100°C) dans 14 ml de tétrahydrofurane puis est réchauffé à 0°C sur 15 min et maintenue à cette température pendant encore 15 min. Le milieu réactionnel est refroidi à -25°C et 1.83 g (12.2 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle est ajouté et le milieu réactionnel est laissé remonté sur 1 h 30 à 0°C puis est versé sur 50 ml d'une solution aqueuse 10% de NH_4Cl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther et les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 4.8 g ($>100\%$) d'un solide verdâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1 \rightarrow 2 : 1, h = 35 cm, ϕ = 3.5 cm) pour obtenir 535 mg (19%) d'un liquide incolore.

$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_5$ (230.26); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO_4) = 0.55; IR (KBr) : 2983m, 2955m, 1734vs, 1439m, 1415m, 1371m, 1313m, 1251m, 1178s, 1102m, 1030m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) : 1.23 (t, $^3J_{10,9}$ = 7.1, 3H, $\text{H}_3\text{C}(10)$); 1.89 (qi, $^3J_{3,2}$ = $^3J_{3,4}$ = 7.2, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 2.30 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.3, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.52 (t, $^3J_{4,3}$ = 7.2, 2H, $\text{H}_2\text{C}(4)$); 2.57 (t, $^3J_{7,6}$ = 6.4, 2H, $\text{H}_2\text{C}(7)$); 2.70 (t, $^3J_{6,7}$ = 6.6, 2H, $\text{H}_2\text{C}(6)$); 3.65 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(11)$); 4.10 (q, $^3J_{9,10}$ = 7.1, 2H, $\text{H}_2\text{C}(9)$); $^{13}\text{C-RMN}$ (50 MHz, CDCl_3) : 14.2 C(10); 18.8 C(3); 27.6 C(7); 33.2 C(2); 37.0 C(6); 41.5 C(4); 51.7 C(11); 60.3 C(9); 173.1, 173.1 C(1), C(8); 208.0 C(5); MS (DCl) : 248 (9, $[\text{M}+18]^+$), 233 (13), 231 (100, $[\text{M}+1]^+$), 202 (11), 200 (10), 199 (70, $[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}]^+$), 185 (49, $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5\text{O}]^+$), 170 (12, $[\text{M}-\text{C}_3\text{H}_8\text{O}]^+$), 153 (21), 143 (20), 55 (15).

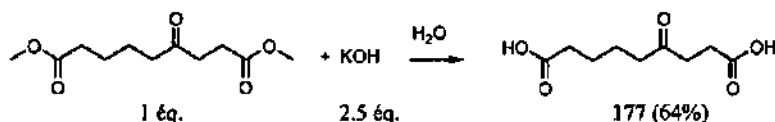
Synthèse du 4-oxononandioate de diméthyle (179).



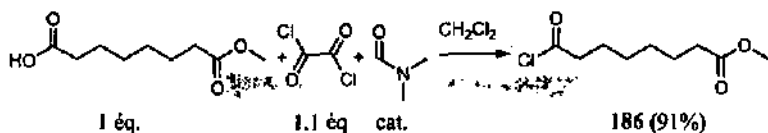
D'après une procédure adaptée de Rike [196], dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 175 mg (25.2 mmol) de lithium métallique (lavé au pentane dans une frite sous azote) et 13 ml (26 mmol) d'une solution 2 M de naphthalène (sublimé) dans le tétrahydrofurane. Après 10 h d'agitation à T.a., 13 ml (13 mmol) d'une solution 1 M de $ZnCl_2$ (séché sous haut vide à son point de fusion dans un tube de Schlenk) dans le tétrahydrofurane sont ajoutés sur 15 min. Après 1 h, 2.46 g (12.6 mmol) de 5-bromovalérate de méthyle sont ajoutés et le milieu réactionnel est agité 3 h à T.a. puis est laissé reposer 3 h. La solution décantée est transférée par une canule dans un second bicol de 50 ml et après refroidissement à $-20^\circ C$ est augmentée d'une solution de 1.16 g (13 mmol) de $CuCN$ et 2.26 g (26 mmol) de $LiBr$ (séché sous haut vide à $100^\circ C$) dans 10 ml de tétrahydrofurane puis est réchauffé à $0^\circ C$ sur 15 min et maintenue à cette température pendant encore 15 min. Le milieu réactionnel est refroidi à $-25^\circ C$ et 1.77 g (11.4 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle est ajouté et est laissé revenir sur 1 h à $0^\circ C$ puis est versé sur 50 ml d'une solution aqueuse 10% de NH_4Cl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther et les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 6.75 g (>100%) d'un solide verdâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - $AcOEt$ 5 : 1 \rightarrow 2 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3 cm) pour obtenir 520 mg (18%) d'un liquide incolore.

$C_{11}H_{18}O_5$ (230.26); R_f ($AcOEt$ - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.50; IR (KBr): 2954m, 1738vs, 1718s, 1438m, 1365m, 1205m, 1172m; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$): 1.57-1.66 (m, 4H, $H_2C(6, 7)$); 2.28-2.33 (m, 2H, $H_2C(5)$); 2.44-2.49 (m, 2H, $H_2C(5)$); 2.57 (m , $^3J_{2,3} \approx 6.5$, 2H, $H_2C(2)$); 2.70 (t, $^3J_{3,2} = 6.4$, 2H, $H_2C(3)$); 3.65, 3.66 (s, 3H, $H_3C(10)$), (s, 3H, $H_3C(11)$); ^{13}C -RMN (50 MHz, $CDCl_3$): 23.1, 24.4 C(6), C(7); 27.7 C(2); 33.8 C(8); 37.0 C(3); 42.3 C(5); 51.5, 51.8 C(10), C(11); 173.2, 173.8 C(1), C(9); 208.4 C(4); MS (DCI): 248 (47, $[M+18]^+$), 232 (13), 231 (100, $[M+1]^+$), 216 (18, $[M+1-CH_3]^+$), 199 (48, $[M-CH_3O]^+$), 184 (7, $[M-C_2H_6O]^+$), 167 (8, $[M-2CH_3O]^+$), 55 (14).

Synthèse de l'acide 4-oxononandioïque (4-oxoazélaïque) (177).



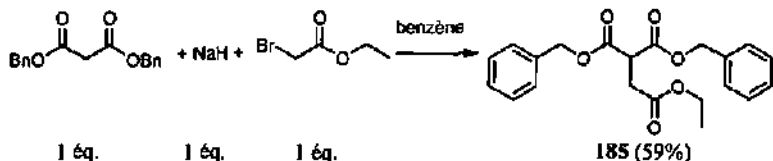
Dans un ballon de 25 ml sont introduits 285 mg (1.24 mmol) de 4-oxononandioate de méthyle (179), 3 ml de méthanol et une solution de 176 mg (3.13 mmol) de KOH 87% dans 3 ml



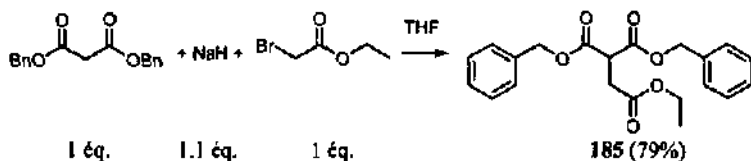
Dans un bicol de 100 ml sont introduits 6.1 g (32 mmol) de subérate de monométhyle, 60 ml de dichlorométhane et 2 gouttes de diméthylformamide. La solution est refroidie par un bain de glace et 4.5 g (36 mmol) de chlorure d'oxalyle sont ajoutés goutte à goutte puis le milieu réactionnel est agité 1 h à cette température puis 3 h à T.a. Le solvant est éliminé par l'action d'une trompe à eau et récupéré dans un piège refroidi à l'azote liquide. Le résidu filtré (7 g) est distillé au four à boules sous pression réduite pour obtenir 6.11 g (91%) d'un liquide incolore.

C₉H₁₅O₃Cl (206.67); Eb. (1 mmHg) = 100-110°C (lit. [203] 100°C (0.3 mmHg)); IR(film) : 2944m, 2862w, 1801s, 1738vs, 1438m, 1201m, 1174m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 1.31-1.42 (m, 4H, H₂C(4, 5)); 1.63 (qi, ³J_{4,3} = ³J_{4,5} = 7.4, 2H, H₂C(4)); 1.72 (qi, ³J_{6,5} = ³J_{6,7} = 7.3, 2H, H₂C(6)); 2.31 (t, ³J_{2,3} = 7.4, 2H, H₂C(2)); 2.88 (t, ³J_{7,6} = 7.3, 2H, H₂C(7)); 3.67 (s, 3H, H₃C(9)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 24.5, 24.7 C(3), C(6); 27.9, 28.4 C(4), C(5); 33.7 C(2); 46.8 C(7); 51.4 C(9); 173.6, 173.9 C(1), C(8).

Synthèse de l'(éthoxycarbonylméthyl)malonate de benzyle (185).



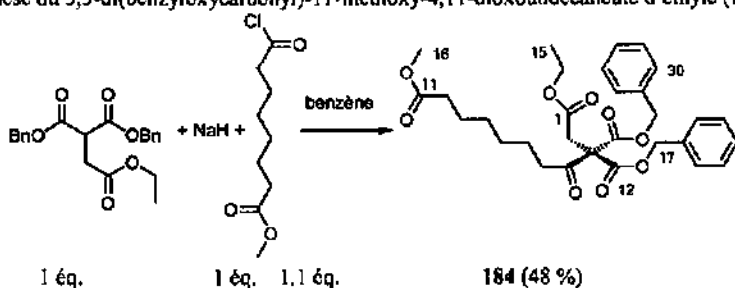
Par analogie avec Naora [202], 422 mg (17.5 mmol) d'hydrure de sodium et 40 ml de benzène sont introduits dans un bicol de 100 ml sous azote. Une solution de 5.0 g (17.5 mmol) de malonate de dibenzyle dans 10 ml de benzène est ajoutée à la suspension puis 20 ml de benzène et la réaction est chauffée jusqu'à reflux sur 25 min puis refroidie à 50°C. Une solution de 2.94 g (17.5 mmol) de 2-bromoacétate d'éthyle dans 10 ml de benzène est ajoutée. Après 90 min à reflux, le milieu réactionnel est refroidi et versé sur 40 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl puis séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 6.8 g (>100%) d'un liquide incolore qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 35 cm, φ = 5 cm) pour obtenir 3.82 g (59%) d'un liquide incolore d'une qualité moyenne.



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 279 mg (11.6 mmol) d'hydruure de sodium et 30 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 3.0 g (10.6 mmol) de malonate de dibenzyle sont ajoutés sur 10 min puis après 45 min, 1.76 g (10.6 mmol) de bromoacétate d'éthyle est ajouté sur 5 min. Après 1 h 30 min, le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité 16 h à T.a. avant d'être augmenté de 50 ml de diéthyléther et d'être versé sur 40 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl puis la phase aqueuse est extraite avec 2 fois 40 ml d'éther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 3.8 g (97%) d'un liquide incolore qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 35 cm, ϕ = 4.5 cm) pour obtenir 3.07 g (79%) d'un liquide incolore d'une qualité technique (~80%).

C₂₁H₂₂O₆ (370.40); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.70; IR(filn) : 3091_w, 3066_w, 3034_w, 2982_w, 2905_w, 1736_{vs}, 1456_m, 1413_m, 1377_m, 1333_m, 1270_m, 1214_m, 1159_s, 1027_m, 752_m, 698_m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, COSY) : 1.22 (t, ³J₂₁₋₂₀ = 7.1, 2H, H₂C(21)); 2.97 (d, ³J_{4,2} = 7.4, 2H, H₂C(4)); 3.98 (t, ³J_{2,4} = 7.4, 1H, H₂C(2)); 4.12 (q, ³J₂₀₋₂₁ = 7.1, 2H, H₂C(20)); 5.15 (d, ²J_{6A-6B} = ²J_{13A-13B} = 12.3, 1H, H_AC(6, 13)); 5.18 (d, ²J_{6B-6A} = ²J_{13B-13A} = 12.3, 1H, H_BC(6, 13)); 7.26-7.37 (m, 10H, HC(8-12, 15-19)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 14.0 C(21); 33.0 C(4); 47.8 C(2); 61.0 C(20); 67.4 C(6, 13); 128.1, 128.5 C(8, 12, 15, 19), C(9, 11, 16, 18); 128.3 C(10, 17); 135.0 C(7, 14); 168.0 C(1, 3); 170.5 C(5); MS (ESI(-)) : ms 369 [M-1]⁺, ms-ms (369, 232) 261 [M-1-C₇H₈O]⁺, 232 [M-1-C₈H₈O₂]⁺, 170 [M-1-C₁₄H₁₅O]⁺, ms-ms-ms (369, 232) 141 [M-1-C₈H₈O₂-C₇H₇]⁺, 97 [M-1-C₈H₈O₂-C₈H₇O₂]⁺, ms-ms-ms (369, 170), 141 [M-1-C₁₄H₁₅O-CHO]⁺, 126 [M-1-C₁₄H₁₅O-CO₂]⁺, ms-ms-ms-ms (369, 232, 141) 97 [M-1-C₈H₈O₂-C₇H₇-CO₂]⁺, ms-ms-ms-ms (369, 170, 141) 97 [M-1-C₁₄H₁₅O-CHO-CO₂]⁺.

Synthèse du 3,3-di(benzyloxycarbonyl)-11-méthoxy-4,11-dioxoundécanoate d'éthyle (184).

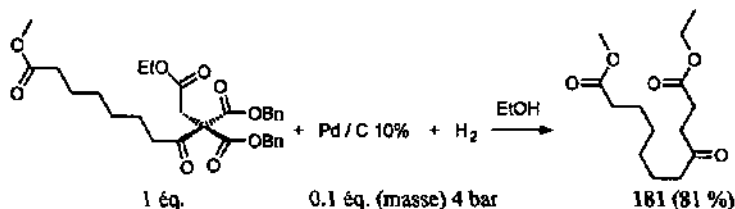


Par analogie avec Naora [202], 70 mg (2.92 mmol) d'hydruure de sodium et 20 ml de benzène sont introduits sous azote dans un bicol de 50 ml. A la suspension est ajoutée une solution de 982 mg (2.65 mmol) de (éthylloxycarbonylméthyl)malonate de benzyle (185) dans 10 ml de benzène. La suspension est chauffée à reflux lentement puis maintenue 30 min à cette température avant d'être ramenée à 50°C. Une solution de 603 mg (2.92 mmol) de chlorure de 7-méthoxycarbonylheptanoyle (186) dans 5 ml de benzène est ajoutée au milieu réactionnel qui est maintenu à reflux 2 h avant d'être refroidi, versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃ et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther puis les phases organiques rassemblées sont lavées avec 30 ml

d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 1.42 g (99%) d'un liquide incolore qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 30 cm, φ = 2.5 cm) pour obtenir 685 mg (48%) d'un liquide incolore.

C₃₀H₃₆O₉ (540.61); HR-MS [M+Na]⁺ : 563.2263 (563.2251); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.67; IR(film) : 3092w, 3066w, 3035m, 2942s, 2860m, 1734vs, 1499m, 1456s, 1439m, 1407m, 1374s, 1346s, 1276s, 1212s, 1097m, 1029s, 984m, 953m, 908m, 753m, 699s; ¹H-RMN (400 MHz, COCl₂, COSY) : 1.03-1.11 (m, 2H, H₂C(7)); 1.13-1.22 (m, 2H, H₂C(8)); 1.19 (t, ³J₁₅₋₁₄ = 7.1, 3H, H₂C(15)); 1.45 (qi, ³J₆₋₅ = ³J₆₋₇ = 7.5, 2H, H₂C(6)); 1.53 (qi, ³J₉₋₈ = ³J₉₋₁₀ = 7.6, 2H, H₂C(9)); 2.24 (t, ³J₁₀₋₉ = 7.6, 2H, H₂C(10)); 2.54 (t, ³J₅₋₆ = 7.3, 2H, H₂C(5)); 3.13 (s, 2H, H₃C(2)); 3.66 (s, 3H, H₃C(16)); 4.07 (q, ³J₁₄₋₁₅ = 7.1, 2H, H₂C(14)); 5.18 (d, ²J_{17A-17B} = ²J_{24A-24B} = 12.1, 2H, H_AC(17, 24)); 5.20 (d, ²J_{17B-17A} = ²J_{24B-24A} = 12.1, 2H, H_BC(17, 24)); 7.25-7.30 (m, 4H, HC(19, 23, 26, 30 ou 20, 22, 27, 29)); 7.31-7.35 (m, 6H, HC(21, 28), HC(20, 22, 27, 29 ou 19, 23, 26, 30)); ¹³C-RMN (100 MHz, COCl₂, HETCOR, DEPT) : 13.9 C(15); 23.3 C(6); 24.7 C(9); 28.3 C(7); 28.8 C(8); 33.9 C(10); 37.1 C(2); 40.5 C(5); 51.4 C(16); 61.0 C(14); 68.1 C(17, 24); 68.6 C(3); 128.5, 128.6 C(19, 23, 26, 30), C(20, 22, 27, 29); 128.6 C(21, 28); 134.6 C(18, 25); 166.6 C(12, 13); 170.0, 174.1 C(1), C(11); 200.2 C(4); MS (ESI(+)) : ms 563 [M+Na]⁺, 558 [M+NH₄]⁺, ms-ms(558) 541 [M+1]⁺, ms-ms-ms(558, 541) 495 [M+1-C₂H₆O]⁺, 432 [M-C₇H₈O]⁺.

Synthèse du 10-méthoxycarbonyl-4-oxo-décanoate d'éthyle (181).

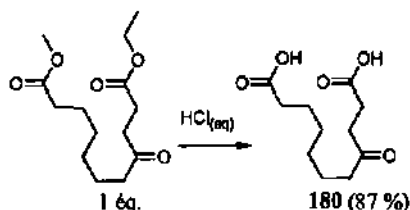


Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 650 mg (1.2 mmol) de 3,3-di(benzyloxycarbonyl)-11-méthoxy-4,11-dioxoundécanoate d'éthyle (184), 50 ml d'éthanol et 65 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 22 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé à l'éthanol puis le filtrat est évaporé. Sont obtenus 320 mg (98%) d'un liquide incolore qui sont distillés au four à boules à pression réduite pour obtenir 265 mg (81%) d'un liquide incolore (92% GC(P8), t_R = 22.9).

C₁₄H₂₄O₅ (272.34); HR-MS [M+Na]⁺ : 295.15138 (295.15159); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.58; Eb. (0.05 mmHg) = 140°C; IR(film) : 2936m, 2860w, 1737vs, 1438m, 1374m, 1177m, 1107m, 1032m; ¹H-RMN (400 MHz, COCl₂, COSY) : 1.23 (t, ³J₁₃₋₁₂ = 7.1, 3H, H₃C(13)); 1.26-1.34 (m, 4H, H₂C(7, 8)); 1.57 (qi, ³J₆₋₅ = ³J₆₋₇ = 7.4, 2H, H₂C(6)); 1.59 (qi, ³J₉₋₈ = ³J₉₋₁₀ = 7.4, 2H, H₂C(9)); 2.28 (t, ³J₁₀₋₉ = 7.5, 2H, H₂C(10)); 2.43 (t, ³J₅₋₆ = 7.4, 2H, H₂C(5)); 2.55 (m, ³J₂₋₃ = 6.5, 2H, H₂C(2)); 2.69 (t, ³J₃₋₂ = 6.6, 2H, H₂C(3)); 3.64 (s, 3H, H₃C(14)); 4.10 (q, ³J₁₂₋₁₃ = 7.1, 2H, H₂C(12)); ¹³C-RMN (100 MHz, COCl₂, HETCOR, OEPT) : 14.1 C(13); 23.5 C(6); 24.7 C(9); 27.9 C(2); 28.7, 28.8 C(7), C(8); 33.9 C(10); 37.0 C(3); 42.6 C(5); 51.4 C(14); 60.5 C(12); 172.8, 174.1 C(1), C(11); 209.0 C(4); MS (DCI) :

291 (20), 290 (81), $[M+NH_4]^+$, 289 (41), 274 (21), 273 (100, $[M+1]^+$), 272 (37), 244 (5, $[M+1-C_2H_5]^+$), 227 (54, $[M-OC_2H_5]^+$), 212 (5, $[M-C_3H_5O]^+$), 195 (10, $[M-C_3H_5O_2]^+$), 167 (3, $[M-C_6H_9O_3]^+$), 156 (3, $[C_8H_{17}O_3]^+$), 144 (15, $[C_7H_{17}O]^+$), 129 (3, $[C_6H_9O_3]^+$), 111 (3, $[C_6H_7O_2]^+$), 98 (5, $[C_5H_8O_2]^+$).

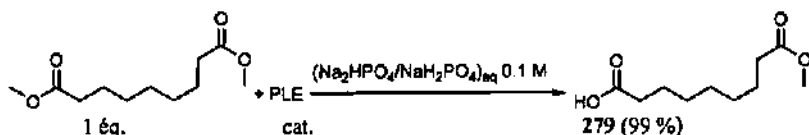
Synthèse de l'acide 4-oxoundécadioïque (180).



Dans un ballon de 50 ml sont introduits 225 mg (0.83 mmol) de 10-méthoxycarbonyl-4-oxodécanoate d'éthyle et 20 ml d'une solution aqueuse 6 M de HCl. Après 5 h d'agitation à 80°C, le milieu réactionnel est évaporé à sec et le résidu est séché à la pompe à huile pour obtenir 200 mg (>100%) d'une solide blanc qui sont recristallisés dans le tétrahydrofurane par adjonction biphasique d'hexane pour obtenir 165 mg (87%) d'un solide blanc.

$C_{11}H_{18}O_5$ (230.26); R_f (AcOEt - MeOH - AcOH 7 : 3 : 1, $KMnO_4$) = 0.78; p.f. = 109-110°C (lit. [206] 104°C); IR(film) : 3600-2400 μ (br) (3040), 2928 m , 2865 m , 1703 vs , 1417 m , 1249 m , 1237 m ; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO, COSY) : 1.17-1.29 (m , 4H, $H_2C(7, 8)$); 1.44 (qi , $^3J_{6,5} \equiv ^3J_{6,7} \equiv 7.3$, 2H, $H_2C(6)$); 1.47 (qi^* , $^3J_{9,8} \equiv ^3J_{9,10} \equiv 7.4$, 2H, $H_2C(9)$); 2.18 (t , $^3J_{10,9} = 7.4$, 2H, $H_2C(10)$); 2.38 (t , $^3J_{2,3} = 6.4$, 2H, $H_2C(2)$); 2.41 (t , $^3J_{5,6} = 7.3$, 2H, $H_2C(5)$); 2.62 (t , $^3J_{3,2} = 6.4$, 2H, $H_2C(3)$); 11.3-12.7 ($s(l)$, 2H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) : 23.2 C(6); 24.4 C(9); 27.8 C(2); 28.3, 28.4 C(7), C(8); 33.7 C(10); 36.7 C(3); 41.7 C(5); 173.9, 174.6 C(1), C(11); 209.2 C(4); MS (ESI $^-$) : m/z 229 $[M-1]$, m/z - m/z (229) 211 $[M-1-H_2O]$, m/z - m/z - m/z (229, 211) 193 $[M-1-2H_2O]$, m/z - m/z - m/z - m/z (229, 211, 193) 149 $[M-1-2H_2O-CO_2]$, m/z - m/z - m/z - m/z (229, 211, 193, 149) 131 $[M-1-3H_2O-CO_2]$.

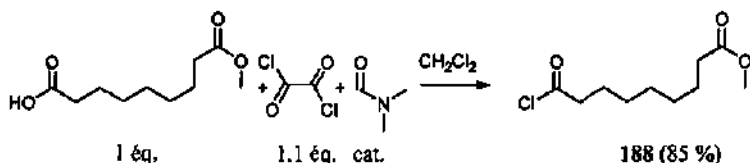
Synthèse du 8-chlorocarbonyloctanate de méthyle (188).



Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 6.49 g (24.7 mmol) d'azélate de diméthyle, 40 ml de tampon phosphate 0.1 M pH 7.8, 2 ml de méthanol et 0.3 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 3 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.8 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.5 M. Après 10 h, le milieu réactionnel est acidifié à pH 1.5 par adjonction d'une solution aqueuse 32% de HCl. La solution est saturée en NaCl et extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 4 fois. Les phases organiques sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé

par évaporation rotative pour donner 5.99 g (99%) d'azélate de monométhyle (279) sous forme d'un liquide incolore.

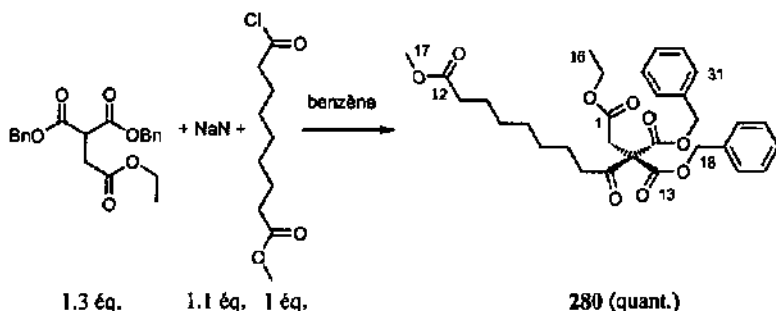
$C_{10}H_{18}O_4$ (202.25); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, $KMnO_4$) = 0.58; IR(film) : 3700-2300m(br), 2936s, 2859s, 1741s, 1709vs, 1438m, 1416m, 1365m, 1249m, 1201s, 1174m, 1098m; 1H -RMN (200 MHz, $CDCl_3$) : 1.21-1.49 (m, 6H, $H_2C(4-6)$); 1.50-1.68 (m, 4H, $H_2C(3, 7)$); 2.29 (q, $^3J_{2,3} = ^3J_{8,7} = 7.4$, 4H, $H_2C(2, 8)$); 3.63 (s, 3H, $H_3C(10)$); 10.94-11.20 (s(l), 1H, HO); ^{13}C -RMN (50 MHz, $CDCl_3$) : 24.4, 24.7 C(3), C(7); 28.7 C(4-6); 33.9 C(2, 8); 51.4 C(10); 174.3 C(9); 180.0 C(1); MS (EI) : 203 (54, $[M+1]^+$), 186 (12), 185 (100, $[M-OH]^+$), 171 (13, $[M-CH_3O]^+$), 152 (33, $[M-CH_6O_2]^+$), 143 (4, $[M-C_2H_5O_2]^+$), 125 (14, $[M-C_2H_5O_3]^+$), 124 (12), 97 (12, $[M-C_3H_5O_4]^+$), 87 (11), 84 (13), 83 (25, $[C_6H_{11}]^+$), 74 (40, $[C_3H_6O_2]^+$), 69 (15), 59 (20), 55 (46).



Dans un bicol de 100 ml sont introduits sous azote 5.3 g (26.2 mmol) d'azélate de monométhyle (FS 7.5), 50 ml de dichlorométhane et 2 gouttes de diméthylformamide. La solution est refroidie par un bain de glace et 3.66 g (28.8 mmol) de chlorure d'oxalyle sont ajoutés goutte à goutte puis le milieu réactionne est agité 1 h à cette température puis 3 h à T.a. Le solvant est éliminer par l'action d'une trompe à eau et récupéré dans un piège refroidi à l'azote liquide. Le résidu est distillé au four à boules sous pression réduite pour obtenir 4.88 g (85%) d'un liquide incolore.

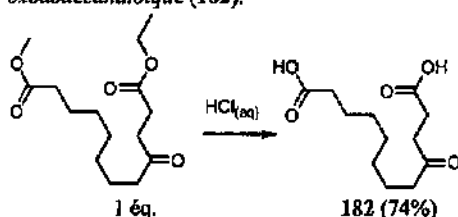
$C_{10}H_{17}ClO_3$ (220.70); Eb. (0.5 mmHg) = 90-100°C (lit. [205] 84°C (0.1 mmHg)); IR(film) : 2936s, 2860m, 1801s, 1739vs, 1462m, 1437m, 1404m, 1363m, 1249m, 1199s, 1173s, 1143m, 1101m, 1014m, 956m, 726m, 681m, 428m; 1H -RMN (200 MHz, $CDCl_3$) : 1.20-1.40 (m, 6H, $H_2C(4-6)$); 1.49-1.78 (m, 4H, $H_2C(3, 7)$); 2.27 (t, $^3J_{2,3} = 7.4$, 2H, $H_2C(2)$); 2.85 (t, $^3J_{8,7} = 7.2$, 2H, $H_2C(8)$); 3.63 (s, 3H, $H_3C(10)$); ^{13}C -RMN (50 MHz, $CDCl_3$) : 24.7, 24.9 C(3), C(7); 28.1, 28.6, 28.7 C(4), C(5), C(6); 33.8 C(2); 46.9 C(8); 51.4 C(10); 173.6, 174.0 C(9), C(1).

Synthèse du 11-méthoxycarbonyl-4-oxoundécanoate d'éthyle (183).



6.7, 2H, H₂C(2)); 2.67 (t, ³J₃₋₂ = 6.5, 2H, H₂C(3)); 3.62 (s, 3H, H₃C(15)); 4.09 (q, ³J₁₃₋₁₄ = 7.1, 2H, H₂C(13)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 14.1 C(14); 23.6 C(6); 24.7 C(10); 27.9 C(2); 28.8, 28.9, 28.9 C(7), C(8), C(9); 33.9 C(11); 36.9 C(3); 42.6 C(5); 51.3 C(15); 60.5 C(13); 172.7, 174.1 C(1), C(12); 208.9 C(4); MS (APCI(+)) : ms 287, [M+1]⁺, 255 [M+1-CH₂O]⁺, ms-ms (287) 241 [M+1-H₂O-CO]⁺, ms-ms-ms (287, 241) 227 [M+1-H₂O-CO-CH₂]⁺, 209 [M-2H₂O-CO-CH₂]⁺, ms-ms-ms-ms (287, 241, 209) 191 [M-3H₂O-CO-CH₂]⁺, 181 [M-2H₂O-2CO-CH₂]⁺, 163 [M-3H₂O-2CO-CH₂]⁺.

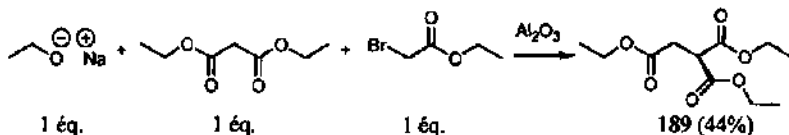
Synthèse de l'acide 4-oxodécandioïque (182).



Dans un ballon de 50 ml sont introduits 330 mg (1.15 mmol) de 11-méthoxycarbonyl-4-oxodécanoate d'éthyle (183) et 20 ml d'une solution aqueuse 6 M de HCl. Après 12 h d'agitation à 60°C, le milieu réactionnel est évaporé à 5 ml et le solide blanc qui cristallise est filtré sur büchner puis lavé avec 3 ml d'eau. Le solide est séché à la pompe à huile pour obtenir 210 mg (74%) d'une solide blanc pur qui sont recristallisés dans le tétrahydrofurane par adjonction biphasique de diéthyléther pour obtenir 150 mg (53%) d'un solide blanc.

C₁₂H₂₀O₅ (244.29); R_f (AcOEt - MeOH - AcOH 7 : 3 : 1, KMnO₄) = 0.74; p.f. = 108°C (lit. [207] 111-112.5°C); IR(film) : 3650-2400_{w(br)} (3043), 2929_s, 2853_m, 1704_{vs}, 1474_m, 1430_m, 1415_s, 1380_m, 1307_m, 1270_m, 1260_m, 1243_m, 1231_m, 1210_m, 1196_m, 1111_m, 933_m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO, COSY) : 1.15-1.29 (m, 6H, H₂C(7, 8, 9)); 1.41-1.49 (m, 4H, H₂C(6, 10)); 2.18 (t, ³J₁₁₋₁₀ = 7.4, 2H, H₂C(11)); 2.38 (t, ³J₂₋₃ = 6.4, 2H, H₂C(2)); 2.41 (t, ³J₅₋₆ = 7.3, 2H, H₂C(5)); 2.62 (t, ³J₃₋₂ = 6.4, 2H, H₂C(3)); 11.7-12.3 (s_{br}), 2H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : 23.3 C(6); 24.6 C(10); 27.8 C(2); 28.6, 28.6, 28.7 C(7), C(8), C(9); 33.8 C(11); 36.8 C(3); 41.8 C(5); 174.0, 174.7 C(1), C(12); 209.3 C(4); MS (ESI(-)) : ms 243 [M-1]⁻, ms-ms (243) 225 [M-1-H₂O]⁻, ms-ms-ms (243, 225) 207 [M-1-2H₂O]⁻, ms-ms-ms-ms (243, 225, 207) 163 [M-1-2H₂O-CO₂]⁻.

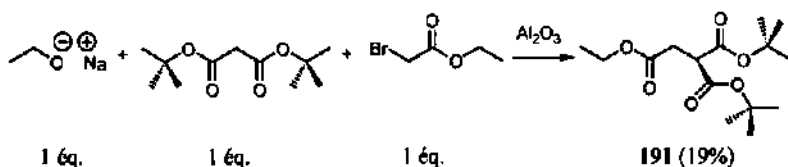
Synthèse du 2-éthoxycarbonylsuccinate d'éthyle (189).



Dans un ballon de 250 ml sont introduits 50 g d'alumine neutre qui sont activée à 175°C pendant 4 h sous vide. Après refroidissement, une solution de 2.23 g (31 mmol) d'éthanolate de sodium dans 50 ml d'éthanol est ajoutée, la suspension est agitée pendant 10 min puis le solvant est évaporé pour donner une poudre qui est traitée avec 5.0 g (31 mmol) de diéthylmalonate. Le milieu réactionnel est agité biomécaniquement pendant 30 min puis 5.21

g (31 mmol) de bromoacétate d'éthyle sont ajoutés et le milieu réactionnel est agité biomécaniquement pendant 5 h. Après 10 h au repos, le milieu réactionnel est versé sur un plot de silice et élué avec 500 ml de dichlorométhane. La solution organique est évaporée pour donner 7.4 g (96%) d'un liquide jaunâtre qui sont distillés dans un Claisen de 10 ml avec colonne Vigreux (5 cm). Sont obtenus 3.42 g (44%) d'un liquide incolore.

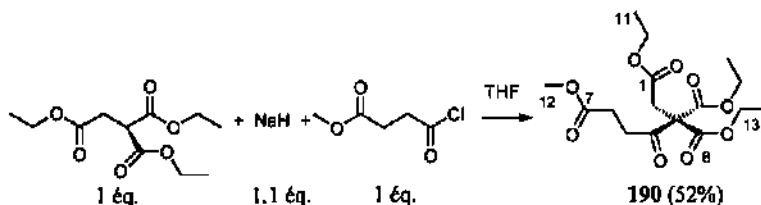
$C_{11}H_{18}O_6$ (246.26); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.72; Eb. (0.05 mmHg) = 88-90°C (lit. [209] (0.1 mmHg) 92-95°C); IR (film) : 2985s, 2941m, 2909m, 2877w, 1736s, 1467m, 1448m, 1413m, 1395m, 1372s, 1334s, 1273s, 1213s, 1162s, 1098m, 1033s, 860m; 1H -NMR (200 MHz, $CDCl_3$) : 1.19 (t, $^3J_{9,8} = 7.2$, 3H, $H_3C(9)$); 1.21 (t, $^3J_{7,6} = ^3J_{11,10} = 7.1$, 6H, $H_3C(7, 11)$); 2.85 (d, $^3J_{3,2} = 7.5$, 2H, $H_2C(3)$); 3.76 (t, $^3J_{2,3} = 7.4$, 1H, HC(2)); 4.09 (q, $^3J_{8,9} = 7.0$, 2H, $H_2C(8)$); 4.15 (q, $^3J_{6,7} = ^3J_{10,11} = 7.1$, 4H, $H_2C(6, 10)$); ^{13}C -NMR (50 MHz, $CDCl_3$) : 13.8 C(7, 11); 13.9 C(9); 33.0 C(3); 47.7 C(2); 60.8 C(8); 61.5 C(6, 10); 168.2 C(1, 5); 170.6 C(4); MS (EI) : 247 (54, $[M+1]^+$), 201 (75, $[M+1-C_2H_6O]^+$), 174 (17), 173 (100, $[M+1-C_3H_6O_2]^+$), 155 (13), 145 (17), 128 (28), 127 (45, $[M+1-C_3H_{12}O_3]^+$), 101 (14), 100 (26), 99 (25), 73 (18), 55 (37).



La synthèse de l'éthoxycarbonylméthylmalonate de *tert*-butyle (191) est obtenu de manière similaire en partant de 1.65 g (23.1 mmol) d'éthanolate de sodium, 5.0 g (23.1 mmol) de malonate de *tert*-butyle et 3.86 g (23.1 mmol) de bromoacétate d'éthyle. Le temps de réaction est de 3 h et est obtenu après distillation 1.33 g (19%) d'un liquide incolore.

$C_{15}H_{26}O_6$ (303.37); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.57; Eb. (0.04 mmHg) = 96°C (lit. [210] (0.05 mmHg) 99-101°C); IR (film) : 2981m, 2936w, 1738vs, 1394m, 1370s, 1341m, 1284m, 1256s, 1145s, 1030m, 848m; 1H -NMR (200 MHz, $CDCl_3$) : 1.24 (t, $^3J_{15,14} = 7.1$, 3H, $H_3C(15)$); 1.45 (s, 18H, $H_3C(7-9, 11-13)$); 2.81 (d, $^3J_{4,2} = 7.5$, 2H, $H_2C(4)$); 3.64 (t, $^3J_{2,3} = 7.5$, 1H, HC(2)); 4.14 (q, $^3J_{14,15} = 7.2$, 2H, $H_2C(14)$); ^{13}C -NMR (50 MHz, $CDCl_3$) : 14.0 C(15); 27.8 C(7-9, 11-13); 33.2 C(4); 49.8 C(2); 60.7 C(14); 81.8 C(6, 10); 167.6 C(1, 3); 170.9 C(5).

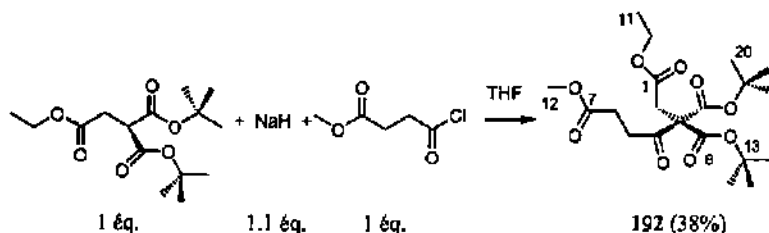
Synthèse du 3,3-di(éthoxycarbonyl)-7-méthoxy-4,7-dioxoheptanoate d'éthyle (190).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 79 mg (3.3 mmol) d'hydruure de sodium et 10 ml de tétrahydrofurane. Après refroidissement à -25°C, sont ajoutés sur 15 min 739 mg (3 mmol) de

2-éthoxycarbonylsuccinate d'éthyle (189). Après 30 min à cette température, la solution est refroidie à -60°C et transférée sur 10 min par une canule à une solution de 452 mg (3 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle dans 20 ml de tétrahydrofurane. Le bicol est rincé avec 5 ml de tétrahydrofurane. Le milieu réactionnel est laissé revenir à 0°C sur 2 h et est agité 1 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'eau et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite deux fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.05 g (97%) d'un liquide incolore qui est purifié par flash colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 25 cm, φ = 2 cm) pour obtenir 560 mg (52%) d'un liquide incolore.

C₁₆H₁₄O₉ (360.36); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.57; IR (film) : 2985s, 2942m, 2909m, 2877w, 1741vs, 1467m, 1440s, 1412m, 1396m, 1373s, 1347s, 1278s, 1212s, 1097s, 1066m, 1029s, 860m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.23 (t, ³J₁₁₋₁₀ = 7.1, 3H, H₃C(11)); 1.29 (t, ³J₁₄₋₁₃ = ³J₁₆₋₁₅ = 7.1, 6H, H₃C(14, 16)); 2.62 (t, ³J₆₋₅ = 6.8, 2H, H₂C(6)); 3.13 (t, ³J₅₋₆ = 6.8, 1H, HC(5)); 3.14 (s, 3H, H₃C(12)); 4.12 (q, ³J₁₀₋₁₁ = 7.2, 2H, H₂C(10)); 4.27 (q, ³J₁₃₋₁₄ = ³J₁₅₋₁₆ = 7.1, 4H, H₂C(13, 15)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) : 13.7 C(14, 16); 13.9 C(11); 28.1 C(6); 35.6 C(5); 36.9 C(2); 51.6 C(12); 60.8 C(10); 62.5 C(13, 15); 68.3 C(3); 166.4 C(8, 9); 170.0, 172.6 C(1), C(7); 199.3 C(4); MS (DCI) : 379 (20), 378 (100, [M+NH₄]⁺), 362 (11), 361 (64, [M+1]⁺), 329 (37, [M+1-CH₄O]⁺), 315 (33, [M+1-C₂H₆O]⁺), 247 (19), 132 (18), 115 (80, [C₅H₇O₃]⁺), 100 (29, [C₄H₄O₃]⁺), 55 (18).

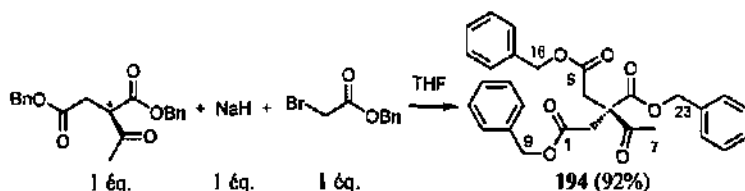


Le 3,3-di(*tert*-butoxycarbonyl)-7-méthoxyl-4,7-dioxoheptanoate d'éthyle (192) est synthétisé de manière similaire en partant de 53 mg (2.2 mmol) d'hydruide de sodium, 605 mg (2 mmol) d'(éthoxycarbonylméthyl)malonate de *tert*-butyle (191) et 301 mg (2 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle. Sont obtenus 775 mg (93%) d'un liquide incolore qui sont séparés par flash colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 25 cm, φ = 2 cm) pour obtenir 320 mg (38%) d'un liquide incolore.

C₂₀H₃₁O₉ (416.47); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.40; IR (film) : 2981s, 2956m, 2937m, 1732vs, 1478m, 1458m, 1439m, 1395s, 1372s, 1346s, 1293s, 1256s, 1196s, 1147s, 1098s, 1066m, 1032s, 843m; ¹H-NMR (400 MHz, COCl₃) : 1.24 (t, ³J₁₁₋₁₀ = 7.1, 3H, H₃C(10)); 1.49 (s, 18H, H₃C(14-16, 18-20)); 2.61 (t, ³J₆₋₅ = 7.0, 2H, H₂C(6)); 3.05 (s, 2H, H₂C(2)); 3.15 (t, ³J₅₋₆ = 7.0, 2H, H₂C(5)); 3.67 (s, 3H, H₃C(12)); 4.12 (t, ³J₁₀₋₁₁ = 7.1, 2H, H₂C(10)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) : 14.1 C(11); 27.7 C(14-16, 18-20); 28.3 C(6); 36.0, 37.4 C(2), C(5); 51.7 C(12); 60.8 C(10); 69.7 C(3); 83.6 C(13, 17); 165.5 C(8, 9); 170.3, 172.9 C(1), C(7); 200.2 C(4); MS (DCI) : 434 (5, [M+NH₄]⁺), 417 (5, [M+1]⁺), 361 (13, [M+1-C₄H₈]⁺), 317 (12, [M+1-C₅H₈O₂]⁺), 305 (11, [M+1-C₆H₁₆]⁺), 278 (18), 262 (13), 261 (100, [M+1-C₉H₁₈O₂]⁺), 243 (27, [M+1-C₉H₁₈O₃]⁺), 189 (20), 172 (10), 132 (23), 115 (49, [C₅H₇O₃]⁺), 100 (30, [C₄H₄O₃]⁺).

2.2.2.2.2 Synthèses des γ -oxodiacides du type acide lévulinique substitué en position 3.

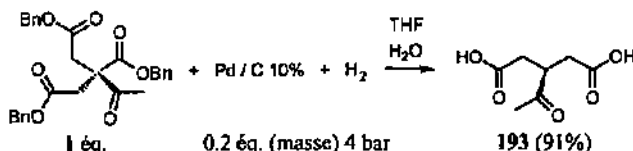
Synthèse du 3-acétyl-3-benzoyloxycarbonylglutarate de benzyle (194).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 177 mg (7.38 mmol) d'hydruure de sodium et 25 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et une solution de 2.5 g (7.34 mmol) de 2-acétylsuccinate de benzyle (83) dans 5 ml de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte. Après 30 min, est ajouté 1.7 g (7.38 mmol) de bromoacétate de benzyle sur 15 min. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et encore 16 h à T.a. puis est versé sur 20 ml d'une solution aqueuse 1 M de NaOH et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 3.57 g (99%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3 cm) pour donner 3.28 g (92%) d'une huile incolore.

C₂₅H₂₆O₇ (488.54); HR-MS [M+Na]⁺: 511.17223 (511.17272); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, UV+KMnO₄) = 0.68; IR (film) : 3090_w, 3065_w, 3034_m, 3010_w, 2957_w, 2894_w, 1736_{vs}, 1499_m, 1456_m, 1415_m, 1384_m, 1349_m, 1284_m, 1260_m, 1164_s, 1102_m, 1080_m, 1030_m, 976_m, 750_m, 698_m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.20 (s, 3H, H₃C(7)); 3.19 (d, ²J_{2A-2B} = ²J_{4A-4B} = 17.1, 2H, H_AC(2, 4)); 3.27 (d, ²J_{2B-2A} = ²J_{4B-4A} = 17.1, 2H, H_BC(2, 4)); 5.06 (s, 4H, H₂C(9, 16)); 5.11 (s, 2H, H₂C(23)); 7.27-7.37 (m, 15H, HC(11-15, 18-22), HC(25-29)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 26.6 C(7); 37.6 C(2, 4); 59.2 C(3); 66.6 C(9, 16); 67.8 C(23); 128.2, 128.3, 128.4, 128.5 C(11-15, 18-22), C(25-29); 134.8 C(24); 135.2 C(10, 17); 169.6 C(8); 170.3 C(1, 5); 202.0 C(6); MS (ESI(+)) : ms 511 [M+Na]⁺, ms-ms (511) 467 [M+Na-C₂H₄O]⁺, 376 [M+Na-C₂H₄O-C₇H₇]⁺, 285 [M+Na-C₂H₄O-2C₇H₇]⁺, 241 [M+Na-C₂H₄O-2C₇H₇-CO₂]⁺, ms-ms-ms (511, 467) 376 [M+Na-C₂H₄O-C₇H₇]⁺, 242.

Synthèse de l'acide 3-acétylglutarique (193).

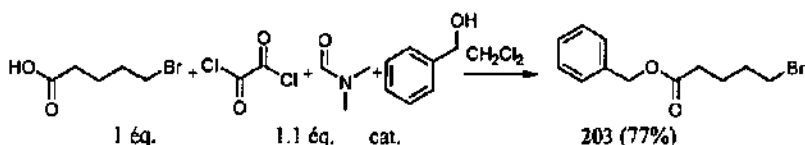


Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 2 g (4.09 mmol) de 3-acétyl-3-benzoyloxycarbonylglutarate de benzyle (194), 40 ml d'un mélange tétrahydrofurane-eau (9 : 1) et 400 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 24 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec un mélange tétrahydrofurane - eau

(9 : 1) puis le filtrat est évaporé. Sont obtenus 830 mg (>100%) d'un solide qui sont dissous à chaud dans le chloroforme et qui sont cristallisés par adjonction biphasique de tétrachlorure de carbone pour donner 648 mg (91%) d'un solide blanc.

$C_7H_{10}O_5$ (174.15); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH - AcOH 3 : 1, $KMnO_4$) = 0.62; IR (KBr) : 3700-2400m(br), 1714vs, 1412m, 1369m, 1217m, 1169m; 1H -NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.14 (s(l), 3H, $H_3C(7)$); 2.38 (dd, $^2J_{2A-2B} = ^2J_{4A-4B} = 16.8$, $^3J_{2A, 4A-3} = 6.0$, 2H, $H_A C(2, 4)$); 2.56 (dd, $^2J_{2B-2A} = ^2J_{4B-4A} = 16.8$, $^3J_{2B, 4B-3} = 7.5$, 2H, $H_B C(2, 4)$); 3.07 (m(l), 1H, HC(3)); ^{13}C -NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) : 28.7 C(7); 34.9 C(2, 4); 43.9 C(3); 173.1 C(1, 5); 209.0 C(6); MS (ESI(-)) : ms 173 [M-1], 129 [M-1-C₂H₄O ou M-1-CO₂], ms-ms (173) 129 [M-1-C₂H₄O ou M-1-CO₂], 111 [M-1-C₂H₄O-H₂O ou M-1-CO₂-H₂O], ms-ms-ms (173, 129) 111 [M-1-C₂H₄O-H₂O ou M-1-CO₂-H₂O], 85 [M-1-C₂H₄O-CO₂].

Synthèse du 5-bromopentanoate de benzyle (203).



Dans un bicol de 100 ml sont introduits 4.53 g (25 mmol) d'acide 5-bromopentanoïque, 50 ml de dichlorométhane et 1 goutte de diméthylformamide. La solution est refroidie par un bain de glace et 3.17 g (25 mmol) de chlorure d'oxalyle sont ajoutés sur 30 min. Le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité 3 h à T.a. puis refroidi à nouveau avec un bain de glace. Sont ajoutés goutte à goutte 2.97 g (27.5 mmol) de benzylalcool et sur 15 min 3.79 g (37.5 mmol) de triéthylamine. Le milieu réactionnel est agité 3 h à 0°C et 19 h à T.a. puis est versé sur 50 ml d'eau et augmenté de 60 ml de dichlorométhane. La phase organique est lavée avec 60 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl, 60 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃, 60 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchée sur MgSO₄, filtrée et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 6.8 g (>100%) d'une huile jaunç qui sont purifiés par distillation dans un Claisen de 10 ml avec colonne Vigreux (5cm) sous pression réduite pour obtenir 5.22 g (77%) d'un liquide incolore.

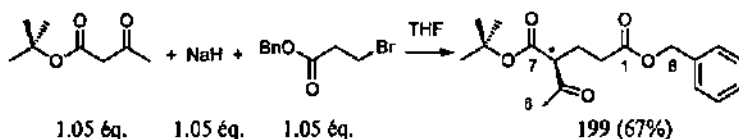
$C_{12}H_{15}BrO_2$ (271.15) : C 53.71 (53.16), H 5.74 (5.58); R_f (AcOEt - hexane 1 : 1, UV+ $KMnO_4$) = 0.61; Eb. (0.06 mmHg) = 108°C; IR (film) : 3067w, 3034w, 2953m, 1736vs, 1456m, 1257m, 1214m, 1168s, 1129m, 748m, 698m; 1H -RMN (400 MHz, $CDCl_3$) : 1.77-1.85 (m, 2H, $H_2C(3)$); 1.86-1.94 (m, 2H, $H_2C(4)$); 2.40 (t, $^3J_{2,3} = 7.2$, 2H, $H_2C(2)$); 3.40 (t, $^3J_{5,4} = 6.5$, 2H, $H_2C(5)$); 5.13 (s, 2H, $H_2C(6)$); 7.31-40 (m, 5H, HC(8-12)); ^{13}C -RMN (100 MHz, $CDCl_3$) : 23.4 C(3); 31.9 C(4); 32.9 C(5); 66.2 C(6); 128.2, 128.5 C(8, 12), C(9, 11); 128.2 C(10); 135.8 C(7); 172.9 C(1); MS (DCI) : 290 (61, [M+NH₄]⁺), 288 (100, [M+NH₄]⁺), 273 (14, [M+H]⁺), 271 (17, [M+H]⁺), 108 (40, [C₇H₅O]⁺), 91 (38, [C₇H₅]⁺).

De la même manière sont synthétisés le 3-bromopropionate de benzyle (198) et le 4-bromobutyrate de benzyle (201) partant respectivement de 5.0 g (32.7 mmol) d'acide 3-bromopropanoïque et de 5.07 g (30.4 mmol) d'acide 5-bromopentanoïque pour obtenir respectivement 6.76 g (85%) et 6.87 (89%) des produits bruts et après distillation respectivement 4.77 g (60%) et 5.22 g (77%) des produits liquides incolores.

$C_{10}H_{11}BrO_2$ (243.10); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.57; Eb. (0.8 mmHg) = 106-107°C (lit. [211] 110°C (0.15 mmHg)); ¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃): 2.97 (t, ³J_{2,3} = 6.9, 2H, H₂C(2)); 3.60 (t, ³J_{3,2} = 6.9, 2H, H₂C(3)); 5.18 (s, 2H, H₂C(4)); 7.35-38 (m, 5H, HC(6-10)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃): 25.7 C(2); 37.6 C(3); 66.6 C(4); 128.2, 128.5 C(6, 10), C(7, 9); 128.3 C(8); 135.4 C(5); 170.2 C(1).

$C_{11}H_{13}BrO_2$ (257.13); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.64; Eb. (0.1 mmHg) = 120-130°C; IR (film): 3090_w, 3066_w, 3033_m, 2961_m, 1736_{vs}, 1498_m, 1455_m, 1439_m, 1418_m, 1386_m, 1356_m, 1310_m, 1282_m, 1252_s, 1196_s, 1168_s, 1129_s, 1026_m, 1002_m, 751_m, 698_m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 2.20 (qt, ³J_{3,2} = ³J_{3,4} = 6.8, 2H, H₂C(3)); 2.56 (t, ³J_{2,3} = 7.2, 2H, H₂C(2)); 3.46 (t, ³J_{4,3} = 6.4, 2H, H₂C(4)); 5.13 (s, 2H, H₂C(5)); 7.31-43 (m, 5H, HC(7-11)); ¹³C-RMN (50 MHz, CDCl₃): 27.6 C(3); 32.4, 32.6 C(2), C(4); 66.3 C(5); 128.1, 128.5 C(7, 11), C(8, 10); 128.2 C(9); 135.1 C(6); 172.2 C(1).

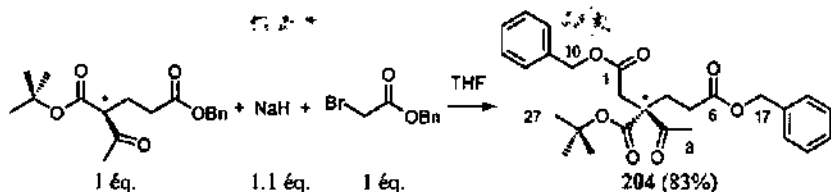
Synthèse du 4-tert-butylloxycarbonyl-5-oxohexanoate de benzyle (199).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 191 mg (7.96 mmol) d'hydruide de sodium et 30 ml de t\u00e9trahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 1.19 g (7.52 mmol) d'ac\u00e9toac\u00e9tate de *tert*-butyle est ajout\u00e9 goutte \u00e0 goutte. Apr\u00e8s 30 min, est ajout\u00e9 1.92 g (7.90 mmol) de bromopropionate de benzyle. Le milieu r\u00e9actionnel est agit\u00e9 2 h \u00e0 0°C, 22 h \u00e0 T.a. et encore 1 h \u00e0 60°C puis est vers\u00e9 sur 40 ml d'eau et augment\u00e9 de 50 ml de di\u00e9thyl\u00e9ther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de di\u00e9thyl\u00e9ther. Les phases organiques rassembl\u00e9es sont s\u00e9ch\u00e9es sur MgSD₄, filtr\u00e9es et le solvant est \u00e9limin\u00e9 par \u00e9vaporation rotative. Sont obtenus 2.39 g (99%) d'un liquide incolore qui sont distill\u00e9s au four \u00e0 boules pour donner 1.62 g (67%) d'un liquide incolore.

$C_{18}H_{24}D_5$ (320.38); HR-MS [M+Na]⁺: 343.15184 (343.15159); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, UV+KMnO₄) = 0.62; Eb. (0.05 mmHg) = 180-190°C; IR (film): 3092_w, 3067_w, 3036_w, 2980_w, 2938_w, 1737_{vs}, 1714_s, 1456_m, 1393_m, 1370_m, 1255_m, 1215_m, 1147_s, 1046_m, 1030_m, 424_m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 1.43 (s, 9H, H₃C(16-18)); 2.05-2.17 (m, 2H, H₂C(3)); 2.19 (s, 3H, H₃C(6)); 2.36-2.40 (m, 2H, H₂C(2)); 3.42 (t, ³J_{4,3} = 7.3, 1H, HC(4)); 5.09 (s, 2H, H₂C(8)); 7.27-7.36 (m, 5H, HC(10-14)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, DEPT): 22.7 C(3); 27.7 C(16-18); 28.9 C(6); 31.3 C(2); 59.1 C(4); 66.2 C(8); 82.0 C(15); 128.1, 128.4 C(10, 14), C(11, 13); 128.1 C(12); 135.7 C(9); 168.2, 172.3 C(1), C(7); 202.6 C(5); MS (DCI): 338 (16, [M+NH₄]⁺), 321 (12, [M+1]⁺), 282 (31, [M+NH₄-C₄H₈]⁺), 266 (18), 265 (62, [M+1-C₄H₈]⁺), 264 (15), 247 (20, [M+1-C₄H₁₀O]⁺), 108 (32, [C₇H₈O]⁺), 107 (31), 91 (93, [C₇H₇]⁺), 90 (100), 89 (52), 57 (22).

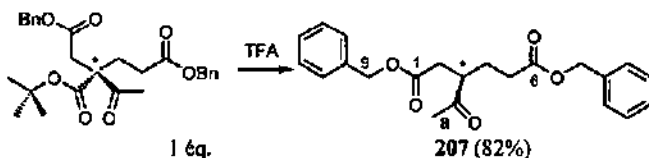
Synthèse du 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonyladipate de benzyle (204).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 106 mg (4.4 mmol) d'hydruure de sodium et 20 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie avec un bain de glace et 1.28 g (4 mmol) de 4-*tert*-butyloxycarbonyl-5-oxohexanoate de benzyle (199) est ajouté goutte à goutte. Après 1 h, 1.01 g (4.4 mmol) de bromoacétate de benzyle est ajouté. Le milieu réactionnel est agité 1 h à 0°C et 15 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO_3 et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques sont lavées avec 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl , séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.9 g (>100%) d'un liquide qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 25 cm, ϕ = 2 cm) pour donner 1.56 g (83%) d'un liquide incolore.

$\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_7$ (468.55); HR-MS [$\text{M}+\text{Na}$]: 491.20497 (491.20402); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+ KMnO_4) = 0.55; IR (film) : 3091w, 3066w, 3034w, 2978m, 1736vs, 1714s, 1499m, 1456m, 1420m, 1386m, 1370m, 1354m, 1258m, 1214m, 1153s, 1087m, 1029m, 1003m, 845m, 750m; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, COCl_2) : 1.42 (s, 9H, $\text{H}_3\text{C}(25-28)$); 2.22-2.39 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C}(4, 5)$); 2.25 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(8)$); 2.91 (s, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 5.04-5.21 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C}(10)$, $\text{H}_2\text{C}(17)$); 7.28-7.39 (m, 10H, HC(12-16), HC(19-23)); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, COCl_2 , HETCOR, DEPT) : 26.8 C(8); 27.6 C(25-27); 27.9, 29.3 C(4), C(5); 37.0 C(2); 61.1 C(3); 66.5, 66.6 C(10), C(17); 82.7 C(24); 128.2, 128.2, 128.3, 128.3, 128.5 C(12-16), C(19-23); 135.4, 135.6 C(11), C(18); 169.6, 170.5, 172.1 C(1), C(6), C(9); 204.1 C(7); MS (ESI(+)) : ms 491 [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, ms-ms (491) 435 [$\text{M}+\text{Na}-\text{C}_6\text{H}_5$] $^+$, 391 [$\text{M}+\text{Na}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$] $^+$.

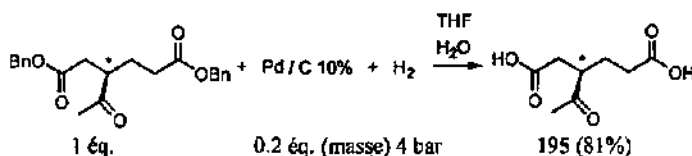
Synthèse du 3-acétyladipate de benzyle (207).



Dans un bicol de 25 ml est introduits 1.45 g (3.09 mmol) de 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonyladipate de benzyle (204) et 10 ml d'acide trifluoroacétique. Le milieu réactionnel est agité 1 h à T.a. puis est évaporé par l'action d'une trompe à eau et est finalement chauffé 30 min à 60°C. Est obtenu 1.52 g (>100%) d'une huile qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 35 cm, ϕ = 3 cm) pour donner 940 mg (82%) d'un liquide incolore.

$C_{22}H_{24}O_5$ (368.42) HR-MS [M+Na] : 391.15112 (391.15159); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.64; IR (film) : 3090_w, 3065_w, 3034_m, 2955_w, 1735_{vs}, 1715_s, 1456_m, 1386_m, 1355_m, 1261_m, 1214_m, 1162_s, 752_m, 699_m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.76 (dq, ²J_{4A-4B} = 14.4, ³J_{4A-3} ≡ ³J_{4A-5} ≡ 7.2, 1H, H_AC(4)); 1.98 (dq, ²J_{4B-4A} ≡ 14.4, ³J_{4B-3} ≡ ³J_{4A-5} ≡ 7.1, 1H, H_BC(4)); 2.21 (s, 3H, H₃C(8)); 2.36 (t, ³J_{5-4A} = ³J_{5-4B} = 7.7, 2H, H₂C(5)); 2.40 (dd, ²J_{2A-2B} = 17.0, ³J_{2A-3} = 4.6, 1H, H_AC(2)); 2.80 (dd, ²J_{2B-2A} = 16.9, ³J_{2B-3} = 9.6, 1H, H_BC(2)); 3.01-3.07 (m, 1H, HC(3)); 5.07 (d, ²J_{9A-9B} ou ^{16A-16B = 12.3, 1H, H_AC(9 ou 16)); 5.11 (d, ²J_{9B-9A} ou ^{16B-16A = 11, 1H, H_BC(9 ou 16)); 5.11 (d, ²J_{16A-16B} ou ^{9A-9B = 12.3, 1H, H_AC(16 ou 9)); 5.13 (d, ²J_{16B-16A} ou ^{9B-9A = 12.3, 1H, H_AC(16 ou 9)); 7.30-7.41 (m, 10H, HC(11-15), HC(18-22)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 25.8 C(4); 29.4 C(8); 31.1 C(5); 34.9 C(2); 46.6 C(3); 66.4, 66.5 C(9), C(16); 128.2, 128.2, 128.3, 128.5, 128.5 C(11-15), C(18-22); 135.5, 135.6 C(10), C(17); 171.7, 172.2 C(1), C(6); 209.9 C(7); MS (ESI(+)) : ms 391 [M+Na]⁺.}}}}

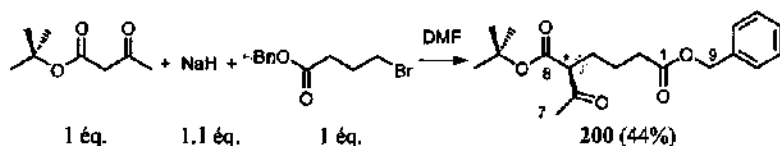
Synthèse de l'acide 3-acétyladipique (195).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 930 mg (2.52 mmol) de 3-acétyladipate de benzyle (207), 50 ml d'un mélange tétrahydrofurane - eau (9 : 1), 190 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 24 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 20 ml d'un mélange tétrahydrofurane - eau (1 : 1) puis le filtrat est évaporé à sec et coévaporé avec du chloroforme. Sont obtenus 520 mg (>100%) d'un solide qui sont recristallisés à chaud dans le chloroforme 385 mg (81%) d'un solide blanc.

$C_8H_{12}O_5$ (188.18); HR-MS [M+Na] : 211.05707 (211.05769); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.56; p.f. = 101°C; IR (film) : 3700-2400_{s(br)} (3212), 3030_m, 2972_m, 2944_m, 2930_m, 2796_m, 2762_m, 2682_m, 1731_{vs}, 1714_s, 1689_s, 1437_m, 1413_s, 1402_s, 1355_m, 1341_m, 1299_m, 1259_m, 1233_m, 1215_s, 1172_s, 905_m, 803_m, 706_m; ¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO, COSY) : 1.56 (dq, ²J_{4A-4B} = 14.4, ³J_{4A-3} ≡ ³J_{4A-5} ≡ 7.3, 1H, H_AC(4)); 1.78 (dq, ²J_{4B-4A} = 14.0, ³J_{4B-3} ≡ ³J_{4B-5} ≡ 7.1, 1H, H_BC(4)); 2.12 (s(l), 3H, H₃C(8)); 2.19 (t, ³J_{5-4A} = ³J_{5-4B} = 7.7, 2H, H₂C(5)); 2.35 (dd, ²J_{2A-2B} = 16.9, ³J_{2A-3} = 4.8, 1H, H_AC(2)); 2.51 (dd, ²J_{2B-2A} = 16.9, ³J_{2B-3} = 9.5, 1H, H_BC(2)); 2.80-2.86 (m(l), 1H, HC(3)); 11.90-12.40 (s(l), 2H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : 25.6 C(4); 29.0 C(8) (l); 31.2 C(5); 34.9 C(2); 46.8 C(3) (l); 173.6 C(1); 174.2 C(6); 210.3 C(7); MS (ESI(-)) : ms 187 [M-1], ms-ms (187) 169 [M-1-H₂O]⁻, 143 [M-1-CO₂ ou M-1-C₂H₄O]⁻, 125 [M-1-H₂O-CO₂ ou M-1-H₂O-C₂H₄O]⁻, 115 [M-1-CO-CO₂ ou M-1-CO-C₂H₄O]⁻.

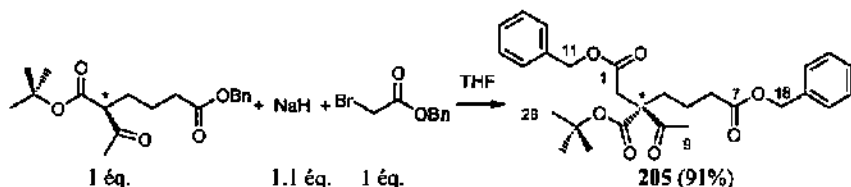
Synthèse du 5-*tert*-butyloxycarbonyl-6-oxoheptanoate de benzyle (**200**).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 185 mg (7.7 mmol) d'hydruide de sodium et 20 ml de diméthylformamide. Est ajouté sur 5 min 1.11 g (7 mmol) d'acétoacétate de *tert*-butyle. Le milieu réactionnel est agité 30 min à T.a. puis est chauffé sur 30 min à 50°C. Est ajouté 1.98 g (7.7 mmol) de bromobutyrate de benzyle (**201**). Le milieu réactionnel est chauffé à 80°C pendant 8 h puis est versé sur 30 ml d'eau et est augmenté de 100 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 30 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 3 fois 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.26 g (97%) d'un liquide incolore qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, $\phi = 3.5$ cm) pour donner 1.41 g (60%) d'un liquide qui est distillé au four à boules pour donner 1.03 g (44%) d'un liquide incolore.

C₁₉H₂₆O₅ (334.41); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.65; Eb. (0.05 mmHg) = 170°C; IR (film) : 3066_w, 3036_w, 2978_m, 2937_m, 1737_{vs}, 1714_s, 1456_m, 1422_m, 1393_m, 1369_s, 1252_s, 1147_s, 699_m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.43 (s, 9H, H₃C(17-19)); 1.56-1.67 (m, 2H, H₂C(3)); 1.75-1.83 (m, 2H, H₂C(4)); 2.18 (s, 3H, H₃C(7)); 2.36 (t, ³J₂₋₃ = 7.3, 2H, H₂C(2)); 3.30 (t, ³J₅₋₄ = 7.3, 1H, HC(5)); 5.09 (s, 2H, H₂C(9)); 7.27-7.35 (m, 5H, HC(11-15)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 22.4 C(3); 27.2 C(4); 27.7 C(17-19); 28.6 C(7); 33.7 C(2); 60.4 C(5); 66.1 C(9); 81.8 C(16); 128.1, 128.4 C(11-15); 135.8 C(10); 168.5, 172.7 C(1), C(8); 202.9 C(6); MS (ESI(+)) : ms 691 [2M+Na]⁺ faible, 357 [M+Na]⁺, ms-ms (357) 301 [M+Na-C₄H₈]⁺, 257 [M+Na-C₄H₈-CO₂]⁺; MS (ESI(-)) : 333 [M-1]⁻.

Synthèse du 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonylpimélate de benzyle (**205**).

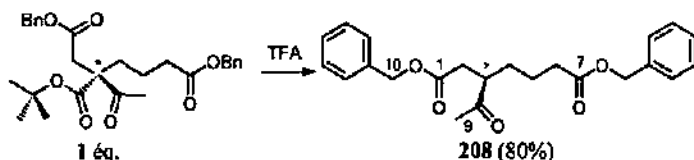


Dans un bicol de 50 ml sont introduits 118 mg (4.93 mmol) d'hydruide de sodium et 20 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 1.5 g (4.49 mmol) de 5-*tert*-butyloxycarbonyl-6-oxoheptanoate de benzyle (**200**) est ajouté goutte à goutte. Après 1 h, 1.13 g (4.93 mmol) de bromoacétate de benzyle est ajouté. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et 15 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃ et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques sont lavées avec 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont

obtenus 2.39 g (>100%) d'un liquide qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3 cm) pour donner 1.97 g (91%) d'un liquide incolore.

$C_{28}H_{34}O_7$ (482.57); HR-MS [M+Na]⁺ : 505.21928 (505.21967); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.63; IR (film) : 3066w, 3034w, 2977w, 1736vs, 1714s, 1456m, 1370m, 1353m, 1258m, 1214m, 1153s, 751m, 699m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.41 (s, 9H, H₃C(26-28)); 1.43-1.53 (m, 2H, H₂C(5)); 1.89-2.00 (m, 2H, H₂C(4)); 2.21 (s, 3H, H₃C(9)); 2.27-2.36 (m, 2H, H₂C(6)); 2.91-2.97 (m, 2H, H₂C(2)); 5.06-5.13 (m, 4H, H₂C(11), H₂C(18)); 7.30-7.38 (m, 10H, HC(13-17), HC(20-24)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 19.5 C(5); 26.5 C(9); 27.6 C(26-28); 32.2 C(4); 33.9 C(6); 36.6 C(2); 61.8 C(3); 66.2, 66.4 C(11), C(18); 82.4 C(25); 128.2, 128.2, 128.3, 128.4, 128.5 C(13-17), C(20-24); 135.5, 135.8 C(12), C(19); 169.8, 170.7, 172.5 C(1), C(7), C(10); 204.3 C(8); MS (ESI(+)) : ms 505 [M+Na]⁺, ms-ms (505) 449 [M+Na-C₄H₈]⁺, ms-ms-ms (505, 449) 405 [M+Na-C₄H₈-CO₂]⁺, ms-ms-ms-ms (505, 449, 405), 270 [M+Na-C₄H₈-CO₂-C₈H₁₆O₂]⁺.

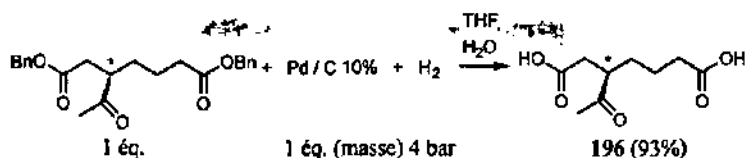
Synthèse du 3-acétylpalmitate de benzyle (208).



Dans un bicol de 25 ml est introduits 1.8 g (3.73 mmol) de 3-acétyl-3-tert-butylloxycarbonylpalmitate de benzyle (205) et 10 ml d'acide trifluoroacétique. Le milieu réactionnel est agité 1 h 30 min à T.a. puis est évaporé par l'action d'une trompe à eau et est finalement chauffé 30 min à 60°C. Sont obtenus 2.05 g (>100%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3 cm) pour donner 1.14 g (80%) d'un liquide incolore.

$C_{23}H_{26}O_5$ (382.46); HR-MS [M+Na]⁺ : 405.16701 (405.16724); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.62; IR (film) : 3066w, 3034w, 2950m, 1734vs, 1714s, 1456m, 1412m, 1384m, 1354m, 1255m, 1214s, 1162s, 1002m, 752m, 699m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.41-1.48 (m, 1H, H_AC(4)); 1.57-1.67 (m, 3H, H_BC(4), H₂C(5)); 2.19 (s, 3H, H₃C(9)); 2.33-2.37 (m, 2H, H₂C(6)); 2.40 (dd, ²J_{2A-2B} = 16.8, ³J_{2A-3} = 4.5, 1H, H_AC(2)); 2.80 (dd, ²J_{2B-2A} = 16.9, ³J_{2B-3} = 9.7, 1H, H_BC(2)); 2.96-3.01 (m, 1H, HC(3)); 5.07 (d, ²J_{10A-10B} = 12.3, 1H, H_AC(10)); 5.11 (d, ²J_{10B-10A} = 12.3, 1H, H_BC(10)); 5.11 (s, 2H, H₂C(17)); 7.30-7.39 (m, 10H, HC(12-16), HC(19-23)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 22.0 C(5); 29.3 C(9); 30.3 C(4); 33.8 C(6); 34.9 C(2); 47.5 C(3); 66.2 C(17); 66.4 C(10); 128.1, 128.2, 128.5, C(12-16), C(19-23); 135.6, 135.7 C(11), C(18); 172.0, 172.6 C(1), C(7); 210.2 C(8); MS (ESI(+)) : ms 405 [M+Na]⁺, ms-ms (405) 313 [M+Na-C₇H₈]⁺ faible, 270 [M+Na-C₈H₁₆O₂]⁺, 254 [M+Na-C₉H₁₈O₂]⁺, faible, 181 [C₁₄H₁₃]⁺ faible.

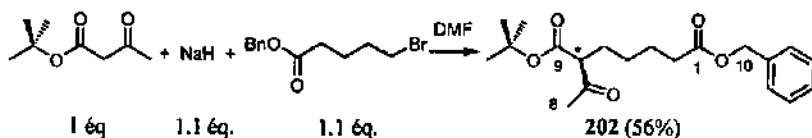
Synthèse de l'acide 3-acétylpimélique (196).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 1.0 g (2.61 mmol) de 3-acétylpimélate de benzyle, 50 ml d'un mélange tétrahydrofurane - eau (9 : 1), 100 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 24 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 20 ml de tétrahydrofurane puis le filtrat est évaporé à sec et coévaporé avec du chloroforme. Sont obtenus 745 mg (>100%) d'un solide qui sont préabsorbés sur silice et séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 1 : 0→93 : 7, h = 15 cm, φ = 2 cm) pour donner 490 mg (93%) d'un solide blanc.

C₉H₁₄O₅ (202,21); HR-MS [M+Na] : 225.07391 (225.07334); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, KMnO₄) = 0.56; p.f = 69-70°C; IR (film) : 3700-2300m(br) (3039), 2958m, 2926m, 2764m, 2662m, 2594m, 1717s, 1698vs, 1438m, 1408m, 1378m, 1359m, 1320m, 1293m, 1264s, 1235m, 1224m, 1197m, 1181m, 1167m, 941m; ¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO) : 1.32-1.40 (m, 1H, H_AC(4)); 1.42 ("qt", ³J₅₋₆ ≅ ³J₅₋₄ ≅ 7.2, 2H, H₂C(5)); 1.50-1.58 (m, 1H, H_BC(4)); 2.13 (s, 3H, H₃C(9)); 2.20 (t, ³J₆₋₅ = 6.9, 2H, H₂C(6)); 2.31 (dd, ²J_{2A-2B} = 16.9, ³J_{2A-3} = 4.7, 1H, H_AC(2)); 2.52 (dd, ²J_{2B-2A} = 16.8, ³J_{2B-3} = 9.4, 1H, H_BC(2)); 2.82-2.88 (m, 1H, HC(3)); 11.95-12.25 (s(l), 2H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : 22.0 C(4); 29.0 C(9); 30.0 C(5); 33.7 C(6); 35.0 C(2); 47.4 C(3); 173.6, 174.2 C(1), C(7); 210.5 C(8); MS (ESI(-)) : ms 201 [M-1], ms-ms (201) 183 [M-1-H₂O], 157 [M-1-CO₂ ou M-1-C₂H₄O], 139 [M-1-H₂O-CO₂ ou M-1-H₂O-C₂H₄O].

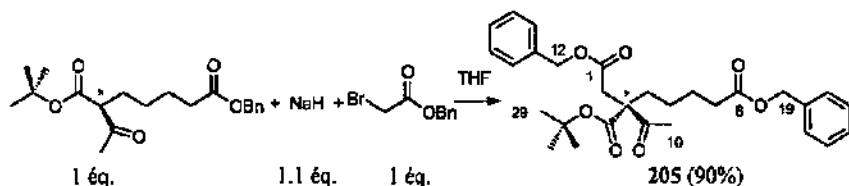
Synthèse du 6-tert-butylloxycarbonyl-7-oxooctanoate de benzyle (202).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 142 mg (5.9 mmol) d'hydruide de sodium et 20 ml de diméthylformamide. Sont ajoutés sur 5 min 845 mg (5.3 mmol) d'acétoacétate de tert-butyle. Le milieu réactionnel est agité 30 min à T.a. puis est chauffé sur 30 min à 50°C. Est ajouté 1.60 g (5.9 mmol) de bromopentanoate de benzyle (203). Le milieu réactionnel est chauffé à 80°C pendant 16 h puis est versé sur 30 ml d'eau et est augmenté de 100 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 30 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 3 fois 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.88 g (97%) d'un liquide incolore qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, φ = 3 cm) pour donner 1.26 g (67%) d'un liquide qui est distillé au four à boules pour donner 1.04 g (56%) d'un liquide incolore.

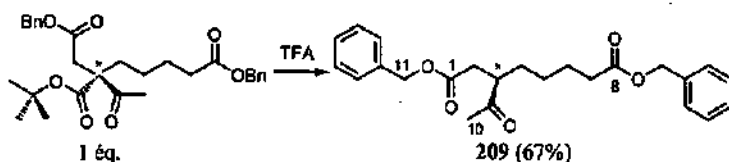
$C_{20}H_{28}O_5$ (348.44); HR-MS [M+Na] : 371.18233 (371.18289); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.57; Eb. (0.06 mmHg) = 180-190°C; IR (film) : 3067w, 3035w, 2937m, 2868w, 1739vs, 1714s, 1456m, 1393m, 1369s, 1255s, 1147s, 1083m, 752m, 699m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, COSY) : 1.24-1.33 (m, 2H, H₂C(4)); 1.43 (s, 9H, H₃C(18-20)); 1.64 (qi, ³J_{3,2} = ³J_{3,4} = 7.6, 2H, H₂C(3)); 1.75-1.81 (m, 2H, H₂C(5)); 2.18 (s, 3H, H₃C(8)); 2.34 (t, ³J_{2,3} = 7.5, 2H, H₂C(2)); 3.27 (t, ³J_{6,5} = 7.3, 1H, HC(6)); 5.08 (s, 2H, H₂C(10)); 7.27-7.36 (m, 5H, HC(12-16)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 24.5 C(3); 26.6 C(4); 27.5 C(5); 27.8 C(18-20); 28.6 C(8); 33.8 C(2); 60.5 C(6); 66.0 C(10); 81.7 C(17); 128.1, 128.4 C(12-16); 135.9 C(11); 168.8, 173.1 C(1), C(9); 203.2 C(7); MS (ESI(+)) : ms 371 [M+Na]⁺, ms-ms (371) 315 [M+Na-C₄H₈]⁺, 271 [M+Na-C₄H₈-CO₂]⁺, ms-ms-ms (371, 315) 271 (62, [M+Na-C₄H₈]⁺-CO₂).

Synthèse du 3-acétylsubérate de benzyle (209).



Le 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonylsubérate de benzyle (206) est synthétisé de la même manière que le 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonylpimélate de benzyle (205) partant de 1.92 g (5.5 mmol) de 7-oxo-6-*tert*-butyloxycarbonyloctanoate de benzyle (202). Sont obtenus après séparation sur silice 2.45 g (90%) d'un liquide incolore non pur.

$C_{29}H_{36}O_7$ (496.60); HR-MS [M+Na] 419.182827 (419.182888); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.69.



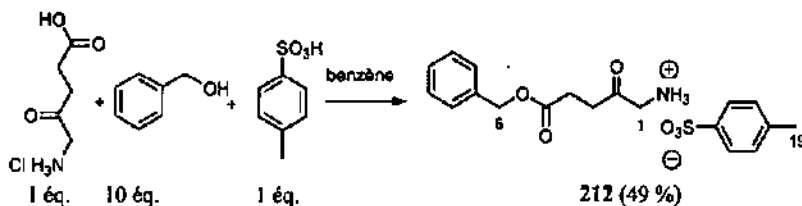
Dans un ballon de 25 ml sont introduits 2.34 g (4.71 mmol) de 3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonylsubérate de benzyle (206) et 10 ml d'acide trifluoroacétique. Le milieu réactionnel est agité 1 h à T.a. puis est évaporé par l'action d'une trompe à eau et est finalement chauffé 30 min à 60°C. Est obtenus 2.34 g (>100%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 25 cm, ϕ = 2.5 cm) pour donner 1.26 g (67%) d'un liquide incolore.

$C_{14}H_{18}O_5$ (396.48); HR-MS [M+Na] : 419.182827 (419.182888); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.67; IR (film) : 3065w, 3034w, 2942m, 2864w, 1734vs, 1714s, 1498m, 1456m, 1413m, 1384m, 1354s, 1257s, 1214s, 1163s, 1083m, 1003m, 752m, 699s; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, COSY) : 1.28 (qi, ³J_{5,4} \equiv ³J_{5,6} \equiv 7.7, 2H, H₂C(5)); 1.41 (dq, ²J_{4A,4B} \equiv 14.5,

2.2.2.3 Synthèses des dérivés du type analogue d'intermédiaire ou de "bissubstrat".

2.2.2.3.1 Synthèses des analogue d'intermédiaires contenant deux fonctions carbonyles en position γ .

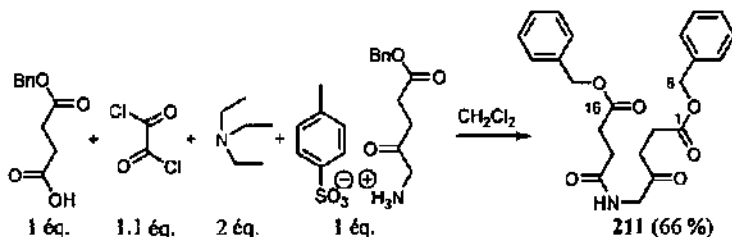
Synthèse du *para*-toluènesulfonate 4-(benzyloxycarbonyl)-2-oxobutylammonium (212).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 838 mg (5 mmol) de 5-aminolévulinique acide hydrochlorure, 951 mg (5 mmol) d'acide *para*-toluènesulfonique monohydrate, 40 ml de benzène et 5.4 g (50 mmol) d'alcool benzylique. Après 14 h à reflux avec séparation azéotropique (l'eau est piégée par du tamis moléculaire 3Å), la solution est décantée, évaporée et l'huile obtenue est précipitée dans 50 ml de diéthyléther, le solide est dissous dans le méthanol et recristallisé par adjonction biphasique de diéthyléther. Sont obtenus 960 mg (49%) d'un solide orangé.

$C_{19}H_{23}NO_6S$ (393.45) : C 57.67 (58.00), H 6.01 (5.89), N 3.29 (3.56); HR-MS [$C_{19}H_{23}NO_6$] : 222.112450 (222.112467); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH - AcOH 3 : 1 : 1, UV+ninhydrine) = 0.51; p.f. = 137-138°C; IR (KBr) : 3500-2700m(br) (3118), 3067m, 2952w, 2923w, 1744m, 1727s, 1486m, 1421m, 1307m, 1228m, 1212s, 1183s, 1168vs, 1141m, 1122m, 1099m, 1034m, 1010m, 857m, 688s, 570m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.29 (s, 3H, $H_3C(19)$); 2.63 (t, $J_{4,3} = 6.5$, 2H, $H_2C(4)$); 2.83 (t, $J_{3,2} = 6.5$, 2H, $H_2C(3)$); 3.98 (m, $J_{1,HN} = 4.7$, 2H, $H_2C(1)$); 5.10 (s, 2H, $H_2C(6)$); AA'XX' [7.11 (2H, HC(15, 17)), 7.47 (2H, HC(14, 18))]; 7.31-7.40 (m, 5H, HC(8-12)); 8.02 (s(l), 3H, H_3N); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO) : 20.9 C(19); 27.2 C(4); 34.3 C(3); 46.8 C(1); 65.7 C(6); 125.6 C(14, 18); 128.0, 128.5 C(8, 12), C(9, 11); 128.1 C(10), C(15, 17); 136.2 C(7); 137.7 C(16); 145.8 C(13); 172.1 C(5); 202.9 C(2); MS(ESI(+)) : ms 222 [$C_{12}H_{16}NO_3$] $^+$, ms-ms (222) 204 [$C_{12}H_{14}NO_2$] $^+$, 91 [C_7H_7] $^+$, ms-ms-ms (222, 204) 186 [$C_{12}H_{12}NO$] $^+$, 91 [C_7H_7] $^+$.

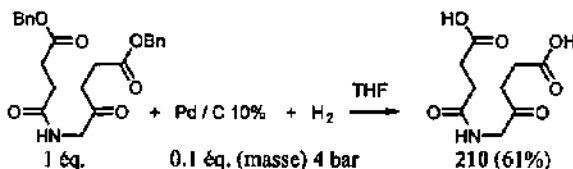
Synthèse du N-(3-benzyloxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinate de benzyle (211).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 476 mg (2.29 mmol) de succinate de monobenzyle (61), 15 ml de dichlorométhane et 1 goutte de diméthylformamide. La solution est refroidie à l'aide d'un bain de glace et 319 mg (2.52 mmol) de chlorure d'oxalyle sont ajoutés sur 15 min puis le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité pendant 4 h à T.a. La solution résultante est ajoutée sur 10 min à une suspension de 900 mg (2.29 mmol) de *para*-toluènesulfonate de 1-(4-benzoyloxycarbonyl-2-oxo)butylammonium (212) dans 20 ml de dichlorométhane refroidie par un bain de glace et placée dans un bicol de 50 ml. Sont ensuite ajoutés sur 30 min 463 mg (4.57 mmol) de triéthylamine puis après 2 h le bain est retiré et le milieu réactionnel est agité encore 1 h 30 min à T.a. avant d'être versé sur 50 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl. La phase aqueuse est extraite avec 50 ml de dichlorométhane et les phases organiques rassemblées sont lavées avec 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl, 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃ et avec 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 820 mg (87%) d'un solide qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 2 : 1, h = 25 cm, φ = 2 cm) pour obtenir 620 mg (66%) d'un solide blanc.

C₂₃H₂₅NO₆ (411.45) C 67.15 (67.14), H 6.10 (6.12), N 3.26 (3.40); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, UV+KMnO₄) = 0.23; p.f. = 87-88°C; IR (KBr) : 3313m, 3064w, 3032w, 2936w, 1742s, 1718vs, 1650s, 1549m, 1498m, 1453m, 1417m, 1405m, 1381m, 1357s, 1307m, 1234m, 1195m, 1171s, 1130m, 996m, 731m, 697m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, COSY) : 2.55 (t, ³J₂₋₃ = 6.8, 2H, H₂C(2)); 2.72 (t, ³J₃₋₂ = 6.7, 2H, H₂C(3)); 2.68-2.76 (m, 4H, H₂C(14, 15)); 4.17 (d, ³J_{5-HN} = 4.7, 2H, H₂C(5)); 5.11, 5.13 (s, 2H, H₂C(6)). (s, 2H, H₂C(17)); 6.33 ("r"/l), 1H, HN); 7.29-7.39 (m, 10H, HC(8-12), HC(19-23)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 27.8, 29.4, 30.6 C(2), C(14), C(15); 34.5 C(3); 49.2 C(5); 66.5, 66.7 C(6), C(17); 128.2, 128.3, 128.5, 128.6 C(8-12), C(19-23); 135.6, 135.8 C(7), C(18); 171.2 C(13), 172.1, 172.6 C(1), C(16); 203.6 C(4); MS (DCI) : 429 (1, [M+18]⁺), 412 (4, [M+1]⁺), 321 (8, [M+1-C₇H₇]⁺), 304 (6, [M-C₇H₇O]⁺), 126 (4), 108 (4), 106 (6), 91 (4, [C₇H₇]⁺), 53 (100).

Synthèse de l'acide *N*-(succinyl)-5-aminolévulinique (210).

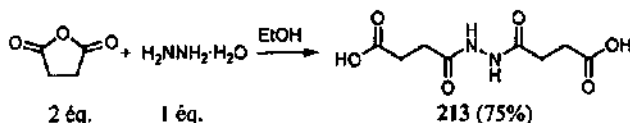


Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 300 mg (0.73 mmol) de *N*-(3-benzoyloxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinat de benzyle, 40 ml de tétrahydrofurane et 30 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécanique pendant 20 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec du tétrahydrofurane puis le filtrat est évaporé. Sont obtenus 160 mg (95%) d'un solide blanc qui sont recristallisés à chaud dans le tétrahydrofurane et cristallisés avec adjonction biphasique de diéthyléther pour donner 85 mg (61%) d'un solide blanc.

C₉H₁₃NO₆ (231.20) : C 46.79 (46.75), H 5.72 (5.67), N 5.67 (6.06); R_f (AcOEt - MeOH - AcOH 8 : 1 : 1, KMnO₄) = 0.51; p.f. = 160-161°C (lit. [214] 197-199°C); IR (KBr) : 3650-2300m(br) (3039), 3386m, 3341m, 2942m, 1724s, 1691vs, 1634s, 1530m, 1434m, 1410m,

1386m, 1305m, 1221m, 1195m, 630m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO) : 2.36-2.47 (m, 6H, H₂C(2, 7, 8)); 2.63 (t, ³J_{3,2} = 6.3, 2H, H₂C(3)); 3.91 (d, ³J_{5,HN} = 5.4, 2H, H₂C(5)); 8.19 (t, ³J_{HN,5} = 5.5, 1H, HN); 10.75-11.45 (s(br), 2H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, DEPT, HETCOR) : 27.6 C(2); 29.2, 29.8 C(7), C(8); 34.1 C(3); 48.5 C(5); 171.5 C(6); 173.8, 173.9 C(1), C(9); 205.9 C(4); MS (ESI(-)) : ms 230 [M-1]⁻, ms-ms (230) 212 [M-1-H₂O]⁻, ms-ms-ms (230, 212) 194 [M-1-2H₂O]⁻, ms-ms-ms-ms (230, 212, 194, 150) 150 [M-1-2H₂O-CO₂]⁻, ms-ms-ms-ms-ms (230, 212, 194, 150) 122 [M-1-2H₂O-CO₂-C₂H₄]⁻.

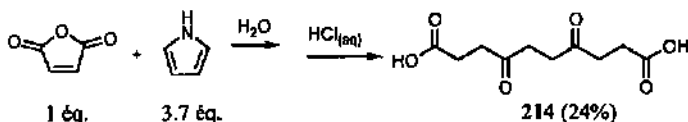
Synthèse de l'acide 4-(N'-(3-carboxypropionyl)-hydrazino)-4-oxobutyrique (213).



Selon Feuer *et al.* [173], dans un bicol de 100 ml, sont introduits 45 ml d'éthanol absolu qui sont chauffés à 60°C et 2.5 g (25 mmol) d'anhydride succinique y sont dissous. Une solution de 626 mg (12.5 mmol) d'hydrazine monohydrate est ajoutée goutte à goutte et la suspension est maintenue à la même température pendant 30 min puis est laissée agitée pendant 3 h à T.a. Le solide formé est filtré, lavé avec du méthanol et séché pour donner 2.22 g (82%) d'un solide blanc. Une fraction de 500 mg est recristallisée à chaud dans l'eau, le solide obtenu est séché par évaporation azeotropique avec du chloroforme puis à la pompe à huile pour donner 460 mg (75%) d'un solide blanc.

C₈H₁₂N₂O₅ (216.19); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 5 : 2 : 1, KMnO₄) = 0.54; p.f. = 215°C (lit. [173] 222.5°C); IR (KBr) : 3215s, 3051m, 2943m, 1698s, 1602vs, 1487s, 1407s, 1330m, 1253m, 1233m, 1179m, 986m, 951m, 678m; ¹H-RMN (400 MHz, d₆-DMSO) : maj (N,N' s-trans) (80%) 2.34 (t, 4H, H₂C(2, 7 ou 3, 6)); 2.43 (t, 4H, H₂C(3, 6 ou 2, 7)); 9.76 (s, 2H, HN); 12.10 (s, 2H, HO); min (N,N' s-cis, 20 %) 2.32-2.46 (m, 8H, H₂C(2, 3, 5, 6)); 8.98 (s, 1H, HN); 9.95 (s, 1H, HN*); 12.10 (s, 2H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : maj 28.1, 28.9 C(2, 7), C(3,6); 170.1 C(4, 5); 173.7 C(1, 8); min. 26.1, 28.7 C(2), C(3), C(6), C(7); 171.2, 173.9, 175.3 C(1), C(4), C(5), C(8); 3 signaux manquent.

Synthèse de l'acide 4,7-dioxodécandioïque (214).



Dans un bicol de 250 ml sont introduit 41.8g (424 mmol) d'anhydride maléique dans 100 ml d'eau qui sont dissous par un léger chauffage de la suspension puis sont ajoutés à T.a. 7.73g (115 mmol) de pyrrole et la solution est agitée pendant 1 h 30 min puis laissée reposer 16 h. Le milieu réactionnel est filtré et le filtrat est évaporé. Le résidu est traité avec 120 ml d'une solution aqueuse 10% de HCl pendant 2 h 30 min à 80°C. Un tiers du solvant est éliminé par évaporation rotative et le milieu réactionnel est laissé 24 h pour cristalliser. La suspension est filtrée et après séchage à la pompe à huile sont obtenus 12.52 g d'un solide beige contenant 20% d'acide fumarique qui sont recristallisés une première fois dans le méthanol à chaud puis

dissous dans le tétrahydrofurane et cristallisés par adjonction biphasique d'hexane pour donner 6.25 g (24%) de solide beige.

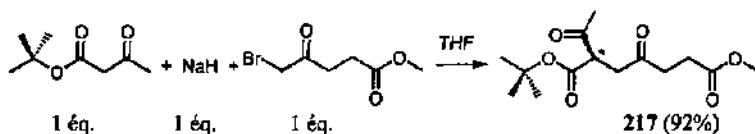
$C_{10}H_{14}O_6$ (230.21); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, UV+ $KMnO_4$) = 0.38; IR(KBr) : 3700-2300m(br) (3066), 2942m, 2912m, 2631w, 1693vs, 1447m, 1429m, 1408s, 1366m, 1326s, 1231m, 1098m, 1041m, 886m, 601m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.38 (t, $^3J_{2,3} = ^3J_{9,8} = 6.5$, 4H, $H_2C(2, 9)$); 2.64 (s, 4H, $H_2C(5, 6)$); 2.66 (t, $^3J_{3,2} = ^3J_{8,9} \equiv 6.5$, 2H, $H_2C(3, 8)$); 12.0-12.22 (s(l), 2H, HO); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) : 27.8 C(2, 9); 35.8 C(5, 6); 36.7 C(3, 8); 173.9 C(1, 10); 208.0 C(4, 7).

Diméthylester 215 est obtenu par traitement du produit brut dans le méthanol et chloroforme pendant 24 h à reflux avec un piège de tamis moléculaire sur le condenseur. Après évaporation à sec, le résidu est repris dans l'acétate d'éthyle et lavé 3 fois avec 30 ml d'une solution 10% de $KHCO_3$ et 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séché sur $MgSO_4$, filtré et le solvant est éliminé par évaporation rotative pour donner le produit brut qui est séparé par flash-colonne chromatographique pour donner 34% d'un produit jaunâtre.

$C_{12}H_{18}O_6$ (258.27); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.34; p.f. = 108-110°C; IR(KBr) : 3004w, 2959m, 2935w, 2913m, 2856w, 1730s, 1703vs, 1442s, 1431s, 1415s, 1383s, 1333s, 1278s, 1205s, 1185s, 1124m, 1100s, 1044m, 980s, 914m, 846m, 810s, 606m, 530m; 1H -RMN (200 MHz, $CDCl_3$) : 2.54 (t, $^3J_{2,3} = ^3J_{9,8} = 6.3$, 4H, $H_2C(2, 9)$); 2.74 (s, 4H, $H_2C(5, 6)$); 2.77 (t, $^3J_{3,2} = ^3J_{8,9} \equiv 6.1$, 2H, $H_2C(3, 8)$); ^{13}C -RMN (50 MHz, $CDCl_3$) : 27.7 C(2, 9); 36.0, 37.0 C(3, 8), C(5, 6); 51.8 C(11, 12); 207.3 C(4, 7); MS (ESI(-)) : 281 [M-1].

2.2.2.3.2 Synthèses des dérivés de l'acide lévulinique contenant une deuxième fonction cétone.

Synthèse de 6-tert-butylloxycarbonyl-4,7-dioxooctanoate de méthyle (217).

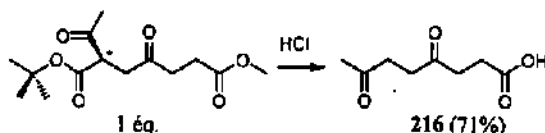


Dans un bicol de 50 ml sont introduits 120 mg (5 mmol) d'hydruide de sodium et 30 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 791 mg (5 mmol) d'acétoacétate de *tert*-butyle sont ajoutées goutte à goutte. Après 30 min, 1.05 g (5 mmol) de 5-bromolévulinate de méthyle (55) est ajouté sur 5 min. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et encore 14 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution 1 M de HCl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 1.46 g (>100%) d'un liquide qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 3 : 1) pour donner 1.32 g (92%) d'un liquide incolore.

$C_{14}H_{22}O_6$ (286.32); HR-MS [M+Na] : 309.13090 (309.13085); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, $KMnO_4$) = 0.59; IR (film) : 2980m, 2955m, 2935m, 1741s, 1718vs, 1439m, 1408m, 1396m, 1369s, 1259s, 1201s, 1175s, 1147s, 1105m, 846m; 1H -NMR (400 MHz, $COCl_3$) : 1.41 (s, 9H,

H₃C(12-14)); 2.29 (s, 3H, H₃C(8)); 2.45-2.64 (m, 2H, H₂C(2)); 2.68-2.81 (m, 2H, H₂C(3)); 2.88 (dd, ²J_{5A-5B} = 18.3, ³J_{5A-6} = 5.7, 1H, H_AC(5)); 3.07 (dd, ²J_{5B-5A} = 18.2, ³J_{5B-6} = 8.3, 1H, H_BC(5)); 3.63 (s, 3H, H₃C(10)); 3.92 (dd, ³J_{6-5B} = 8.3, ³J_{6-5A} = 5.7, 1H, HC(6)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.6 C(2); 27.7 C(12-14); 29.9 C(8); 36.8 C(3); 40.5 C(5); 51.7 C(10); 54.7 C(6); 82.3 C(11); 167.6 C(9); 172.9 C(1); 202.5 C(7), 206.1 C(4); MS (DCI) : 305 (17), 304 (100, [M+NH₄]⁺), 287 (23, [M+1]⁺), 248 (68, [M+NH₄-C₄H₈]⁺), 231 (45, [M+1-C₄H₈]⁺), 213 (21, [M+1-C₄H₈O]⁺), 187 (8, [M+1-C₃H₆O₂]⁺).

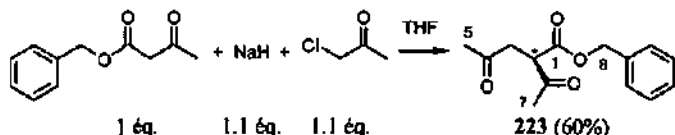
Synthèse de l'acide 4,7-dioxooctanoïque (216).



Dans un bicol de 25 ml est introduits 1.0 g (3.49 mmol) de 6-*tert*-butyloxycarbonyl-4,7-dioxooctanoate de méthyle (217) et 10 ml d'une solution aqueuse de HCl 6 M. Le milieu réactionnel est chauffé à 90°C pendant 90 min puis est évaporé à scc, coévaporé avec deux fois 30 ml de chloroforme sec et séché à la pompe à huile pour donner 630 mg (> 100%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 95 : 5). Sont obtenus 458 mg (76%) d'un solide blanc qui sont dissous dans l'acétate d'éthyle et cristallisé par adjonction biphasique d'hexane pour donner 425 mg (71%) de solide blanc.

C₈H₁₂O₄; R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 9 : 1, KMnO₄) = 0.40; p.f. = 76°C (lit. [216] 67-69°C); IR (KBr) : 3600-2200m(br) (3110), 2914m, 1693vs, 1426m, 1408s, 1364m, 1331m, 1236m, 1225m, 1106m, 904m, 886m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, CDSY) : 2.14 (s, 3H, H₃C(8)); 2.58 (t, ³J₂₋₃ = 6.5, 2H, HC(2)); 2.65-2.72 (m, 4H, H₂C(5, 6)); 2.74 (t, ³J₃₋₂ = 6.5, 2H, HC(3)); 10.40-10.80 (s(l), 1H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.6 C(2); 29.7 C(8); 35.8 C(5); 36.7 C(3); 36.8 C(6); 178.2 C(1); 207.3, 207.5 C(4), C(7); MS (DCI) : 191 (11), 190 (100, [M+NH₄]⁺), 173 (74, [M+1]⁺), 155 (73, [M-OH]⁺), 127 (6, [M-OH-CO]⁺), 99 (15), 98 (16, [C₃H₇O₂]⁺).

Synthèse du 2-acétyllévulinate de benzyle (223).

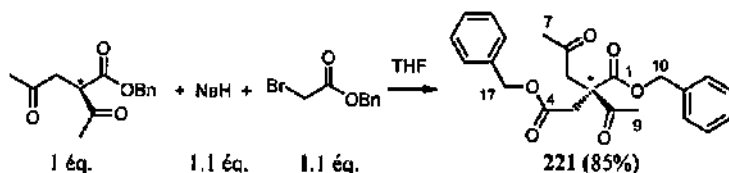


Dans un bicol de 50 ml sont introduits 393 mg (16.5 mmol) d'hydruide de sodium et 30 ml de tétrahydrofurane. Après refroidissement par un bain de glace de la suspension, 2.88 g (15 mmol) d'acétoacétate de benzyle sont ajoutés goutte à goutte. Après 30 min, 1.53 g (16.5 mmol) de chloroacétone est ajouté. Le milieu réactionnel est agité 48 h à T.a. et 4 h à reflux puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M d'acide chlorhydrique et est augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 3.38 g (91%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne

chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3.5 cm) pour donner 2.24 g (60%) d'un liquide incolore.

$C_{14}H_{16}O_4$ (248.28); HR-MS [M+Na]: 271.09386 (271.09407); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.53; IR (film) : 3066w, 3035w, 3005w, 2960w, 2923w, 1743s, 1714vs, 1456m, 1403m, 1360s, 1316m, 1264s, 1226s; 1189m, 1160s, 1047m, 752m, 700m; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : 2.18 (s, 3H, $H_3C(5)$); 2.31 (s, 3H, $H_3C(7)$); 2.95 (dd, $^2J_{3A-3B}$ = 18.4, $^3J_{3A-2}$ = 5.7, 1H, $H_A C(3)$); 3.16 (dd, $^2J_{3B-3A}$ = 18.4, $^3J_{3B-2}$ = 8.2, 1H, $H_B C(3)$); 4.06 (dd, $^3J_{2-3B}$ = 8.2, $^3J_{2-3A}$ = 5.7, 1H, HC(2)); 5.16 (s, 2H, $H_2C(8)$); 7.31-7.40 (m, 5H, HC(10-14)); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, HETCOR) : 29.4 C(5), 29.9 C(7); 41.3 C(3); 53.5 C(2); 67.2 C(8); 128.0, 128.5 C(10, 14), C(11, 13); 128.3 C(12); 134.9 C(9); 168.4 C(1); 201.7 C(6), 205.3 C(4); MS (ESI(+)) : ms 271 [M+Na] $^+$, 155, 91 [C $_7$ H $_7$] $^+$, ms-ms (271) 227 [M+Na-C $_2$ H $_4$ O] $^+$, 163 [M+Na-C $_7$ H $_6$ O] $^+$.

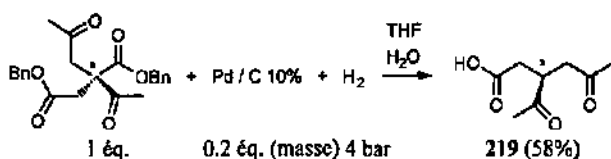
Synthèse du 2-acétyl-2-[1-(2-oxopropyl)]succinate de benzyle (221).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits 132 mg (5.5 mmol) d'hydruide de sodium et 25 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 1.24 g (5 mmol) de 2-acétyllévulinate de benzyle (223) est ajouté goutte à goutte. Après 1 h, est ajouté 1.26 g (5.5 mmol) de bromoacétate de benzyle goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et 15 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de $KHCO_3$ et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.06 g (>100%) d'un liquide qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 30 cm, ϕ = 3 cm) pour donner 1.69 g (85%) d'un liquide incolore.

$C_{23}H_{24}O_6$ (396.44); HR-MS [M+Na]: 419.14706 (419.14650); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+ $KMnO_4$) = 0.59; IR (film) : 3066w, 3034w, 3009w, 2956w, 1733vs, 1456m, 1416m, 1359m, 1281m, 1256m, 1168s, 1084m, 985m, 752m, 699m; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : 2.07 (s, 3H, $H_3C(7)$); 2.19 (s, 3H, $H_3C(9)$); 3.16 (d, $^2J_{2A-3B}$ = 16.7, 1H, $H_A C(2)$); 3.22 (d, $^2J_{2B-2A}$ = 16.8, 1H, $H_B C(2)$); 3.32 (s, 2H, $H_2C(5)$); 5.03 (d, $^2J_{10A-10B}$ = 12.2, 1H, $H_A C(10)$); 5.05 (d, $^2J_{10B-10A}$ = 12.2, 1H, $H_B C(10)$); 5.11 (s, 2H, $H_2C(17)$); 7.27-7.37 (m, 10H, HC(12-16), HC(19-23)); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, DEPT, HETCOR) : 26.6 C(9); 29.9 C(7); 37.5 C(2); 46.4 C(5); 59.5 C(3); 66.6 C(10); 67.8 C(17); 128.3, 128.4, 128.4, 128.5 C(12-16), C(19-23); 134.9, 135.3 C(11), C(18); 169.8, 170.6 C(1), C(4); 202.5 C(8), 205.6 C(6); MS (ESI(+)) : ms 419 [M+Na] $^+$, ms-ms (419) 375 [M+Na-C $_2$ H $_4$ O] $^+$, 241 [M+Na-C $_{10}$ H $_{10}$ O $_3$] $^+$, ms-ms-ms (419, 375) 284 [M+Na-C $_2$ H $_4$ O-C $_7$ H $_7$] $^+$, 267 [M+Na-C $_2$ H $_4$ O-C $_7$ H $_6$ O] $^+$, 241 [M+Na-C $_{10}$ H $_{10}$ O $_3$] $^+$.

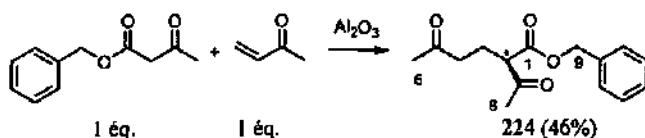
Synthèse de l'acide 3-acétyl-5-oxohexanoïque (219).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml est introduit 1.5 g (3.78 mmol) de 2-acétyl-2-[1-(2-oxopropyl)]succinate de benzyle (221), 50 ml de tétrahydrofurane, 1 ml d'eau et 300 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 24 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 30 ml de tétrahydrofurane puis le filtrat est évaporé à sec et coévaporé avec du chloroforme. Sont obtenus 880 mg (>100%) d'un solide qui sont préabsorbés sur silice et séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 97 : 3 → 95 : 5, h = 25 cm, φ = 2 cm) pour donner 380 mg (58%) d'un solide blanc.

C₈H₁₂O₄ (172.18); HR-MS [M+Na] : 195.06293 (195.06277); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 8 : 1 : 1, KMnO₄) = 0.28; p.f. = 41-42°C; IR (KBr) : 3700-2500m(br) (3064), 3029m, 2935m, 2902m, 1729vs, 1714s, 1686s, 1415s, 1400m, 1380m, 1360m, 1320m, 1286m, 1239s, 1207s, 1178s, 1161s, 1003m, 988m, 903m, 880m, 676m, 586m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.15, 2.26 (s, 3H, H₃C(6)), (s, 3H, H₃C(8)); 2.45 (dd, ²J_{2A-2B} = 16.9, ³J_{2A-3} = 6.5, 1H, H_AC(2)); 2.59 (dd, ²J_{4A-4B} = 18.3, ³J_{4A-3} = 5.6, 1H, H_AC(4)); 2.68 (dd, ²J_{2B-2A} = 16.9, ³J_{2B-3} = 7.1, 1H, H_BC(2)); 2.91 (dd, ²J_{4B-4A} = 18.3, ¹J_{4B-3} = 7.6, 1H, H_BC(4)); 3.35 ("qi", ³J_{3-2A} ≡ ³J_{3-2B} ≡ ³J_{3-4A} ≡ ³J_{3-4B} ≡ 6.7, 1H, HC(3)); 10.4-11.0 (s(?) , 1H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 29.1, 29.9 C(6), C(8); 34.9 C(2); 42.7 C(3); 44.3 C(4); 177.1 C(1); 206.3, 209.5 C(5), C(7); MS (ESI(-)) : ms 171 [M-1], ms-ms (171) 153 [M-1-H₂O].

Synthèse du 2-acétyl-5-oxohexanoate de benzyle (224).

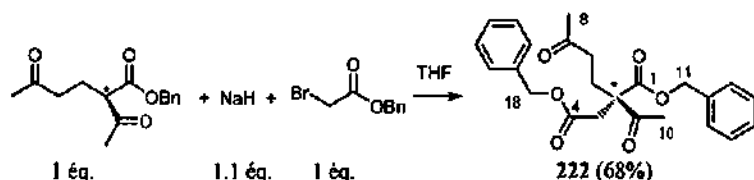


Dans un ballon de 100 ml sont introduits 10 g d'alumine neutre. Le ballon est placé 2 h dans une étuve à 150°C. Après refroidissement sous azote, est introduit 1.92 g (10 mmol) d'acétoacétate de benzyle. Le milieu réactionnel est agité biomécaniquement pendant 10 min puis sont ajoutés 701 mg (10 mmol) de méthylvinylcétone. Le milieu réactionnel est agité biomécaniquement pendant 1 h puis est versé sur un plot de silice (h = 2 cm) qui est élué avec 800 ml d'un mélange dichlorométhane et méthanol (98 : 2). Sont obtenus après élimination du solvant par évaporation rotative 2.54 g (97%) d'un liquide qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 30 cm, φ = 3 cm) pour donner 1.2 g (46%) d'un liquide incolore.

C₁₅H₁₈O₄ (262.30); HR-MS [M+Na] : 285.10957 (285.11028); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.54; IR (film) : 3066w, 3035w, 2948w, 1741s, 1714vs, 1360m, 1241m, 1215m,

1150m, 700m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.90-2.14 (m, 2H, H₂C(3)); 2.06 (s, 3H, H₃C(6)); 2.16 (s, 3H, H₃C(8)); 2.41-2.45 (m, 2H, H₂C(4)); 3.53 (dd, ³J_{2-3A} ou ³B = 7.6, ³J_{2-3B} ou ³A = 6.8, 1H, HC(2)); 5.15 (s, 2H, H₂C(9)); 7.28-7.37 (m, 5H, HC(11-15)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 21.5 C(3); 28.9 C(8); 29.8 C(5); 40.2 C(4); 58.0 C(2); 66.9 C(9); 128.3, 128.5 C(11, 15), C(12, 14); 128.4 C(13); 135.1 C(10); 169.2 C(1); 202.5 C(7), 207.3 C(5); MS (ESI(+)) : ms 285 [M+Na]⁺ faible, 91 [C₇H₇]⁺.

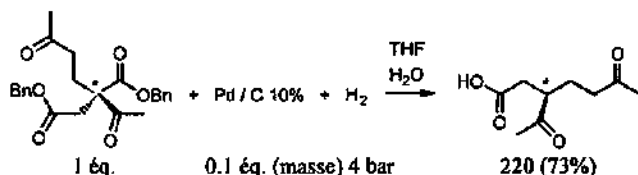
Synthèse du 2-acétyl-2-[1-(3-oxobutyl)]succinate de benzyle (222).



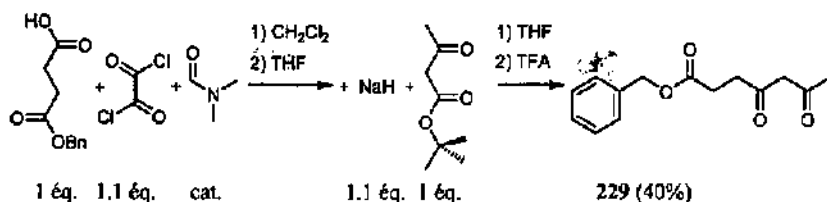
Dans un bicol de 25 ml sont introduits 79 mg (3.3 mmol) d'hydruide de sodium et 20 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 787 g (3 mmol) de 2-acétyl-5-oxohexanoate de benzyle (224) sont ajoutés goutte à goutte. Après 1 h, sont ajoutés 756 mg (3.3 mmol) de bromoacétate de benzyle goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et 15 h à T.a. puis est versé sur 20 ml d'eau et augmenté de 40 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 40 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.21 g (98%) d'un liquide qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 25 cm, φ = 2.5 cm) pour donner 840 mg (68%) d'un liquide incolore.

C₂₄H₂₆O₆ (410.47); HR-MS [M+Na] : 433.162182 (433.162152); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.62; IR (film) : 3092w, 3066w, 3035w, 2957w, 1733s, 1718vs, 1456m, 1418m, 1355m, 1265m, 1213m, 1169s, 752m, 700m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.01 (s, 3H, H₃C(10)); 2.15-2.33 (m, 4H, H₂C(5, 6)); 2.17 (s, 3H, H₃C(8)); 2.92 (d, ²J_{3A-3B} = 16.6, 1H, H_AC(3)); 2.96 (d, ²J_{3B-3A} = 16.7, 1H, H_BC(3)); 5.02 (s, 2H, H₂C(18)); 5.08 (d, ¹J_{11A-11B} = 12.1, 1H, H_AC(11)); 5.14 (d, ²J_{11B-11A} = 12.1, 1H, H_BC(11)); 7.24-7.36 (m, 10H, HC(13-17), HC(20-24)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, DEPT, HETCOR) : 26.7 C(5); 26.9 C(10); 29.7 C(8); 37.2 C(3); 37.9 C(6); 60.2 C(2); 66.6, 67.4 C(11), C(18); 128.3, 128.4, 128.4, 128.5 C(13-17), C(20-24); 134.8, 135.2 C(12), C(19); 170.2, 170.7 C(1), C(4); 203.8 C(9), 206.4 C(7); MS (ESI(+)) : ms 433 [M+Na]⁺, ms-ms (433) 389 [M+Na-C₂H₄O]⁺, 241 [M+Na-C₁₁H₁₂O₃]⁺.

Synthèse de l'acide 3-acétyl-6-oxoheptanoïque (220).



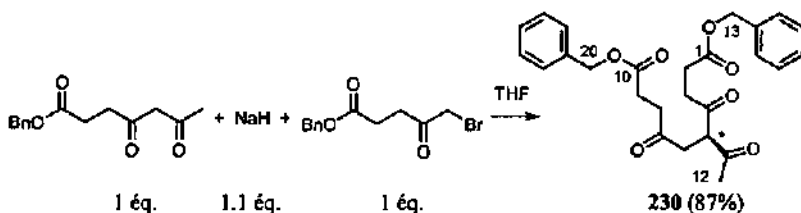
Synthèse de 4,6-dioxoheptanoate de benzyle (229).



Dans un bicol de 100 ml sont introduits 4.16 g (20 mmol) de succinate de monobenzyle (61), 60 ml de dichlorométhane et deux gouttes de diméthylformamide. La solution est refroidie par un bain de glace et 2.80 g (22 mmol) de chlorure d'oxalyle sont ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 30 min à 0°C et 3 h à T.a. puis est évaporé à sec et repris dans 20 ml de tétrahydrofurane. Dans un second bicol de 50 ml sont introduits 528 mg (22 mmol) d'hydruure de sodium, 20 ml de tétrahydrofurane et, après refroidissement par un bain de glace, 3.16 g (20 mmol) d'acétoacétate de *tert*-butyle, goutte à goutte. Après 30 min la première solution est transférée par une canule avec filtration dans le second bicol. Le milieu réactionnel est agité 1 h à T.a. et 16 h à T.a. puis est versé sur 40 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Les 7.72 g d'une huile rouge obtenus sont traités avec 20 ml d'acide trifluoroacétique 1 h à T.a. puis le milieu réactionnel est évaporé à sec par une trompe à eau. Le résidu est chauffé à 60°C pendant 30 min en maintenant un vide de 15 mmHg puis est séparé par flash colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1, h = 30 cm, φ = 4.5 cm) pour obtenir 2.0 g (40%) d'un liquide incolore.

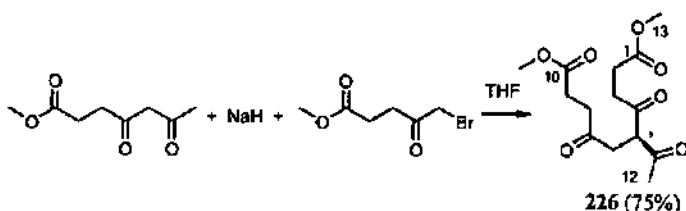
C₁₄H₁₆O₄ (248.28); HR-MS [M+Na]⁺: 271.09441 (271.09407); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnD₄) = 0.58; IR (film) : 3091w, 3066w, 3034w, 2956w, 1738vs, 1626s, 1498m, 1456m, 1418m, 1386m, 1358m, 1310m, 1212s, 1168s, 1137m, 1004m, 965m, 753m, 700m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : cétoneol (75%) 1.99 (s, 3H, H₃C(7)); 2.62-2.70 (m, 4H, H₂C(2, 3)); 5.12 (s, 2H, H₂C(8)); 5.50 (s, 1H, HC(5)); 7.25-7.39 (m, 5H, HC(10-14)); 15.20 (s(l), 1H, HO); dicétone (25%) 2.20 (s, 3H, H₃C(7)); 2.62-2.70 (m, 2H, H₂C(2)); 2.80 (t, ³J_{3,2} = 6.3, 2H, H₂C(3)); 3.59 (s, 2H, H₂C(5)); 5.10 (s, 2H, H₂C(8)); 7.25-7.39 (m, 5H, HC(10-14)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : cétoneol 23.5 C(7), 28.7 C(2); 33.3 C(3); 66.2 C(8); 99.6 C(5); 128.0, 128.3 C(10, 14), C(11, 13); 128.0 C(12); 135.6 C(9); 172.1 C(1); 187.4, 194.7 C(4), C(6); dicétone 27.7 C(2); 30.6 C(7); 37.7 C(3); 57.6 C(5); 66.3 C(8); 135.5 C(9); 201.7, 202.1 C(4), C(6); MS (ESI(+)) : 371 [M+1]⁺.

Synthèse du 5-acétyl-4,7-dioxodécandioate de benzyle (230).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 170 mg (7.09 mmol) d'hydruure de sodium et 15 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 1.6 g (6.44 mmol) de 4,6-dioxoheptanoate de benzylole (229) est ajouté goutte à goutte. Après 30 min, 2.02 g (7.09 mmol) de 5-bromolévulinate de benzylole (228) sont ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et 16 h à T.a. puis est versé sur 50 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite 2 fois avec 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 3.16 g (>100%) d'une huile orange qui sont séparés par flash colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1 → 3 : 1, h = 20 cm, φ = 1 cm) pour obtenir 2.55 g (87%) d'une huile incolore.

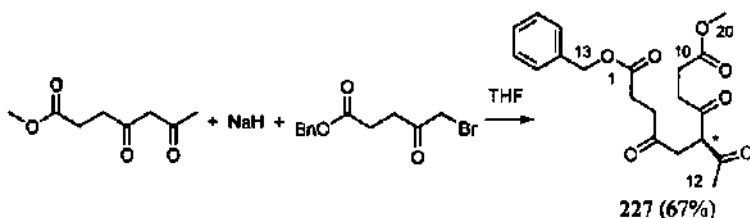
C₂₆H₃₈O₇ (452.50) HR-MS [M+H] 453.19005 (453.19077); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.48; IR (film) : 3065w, 3034w, 2917w, 1734vs, 1456m, 1408m, 1387m, 1355m, 1259m, 1169s, 1093m, 752m, 700m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, COSY) : dicéto 2.22 (s, 3H, H₃C(12)); 2.58-2.70 (m, 2H, H₂C(2)); 2.62 (t, ³J_{9,8} = 6.7, 2H, H₂C(9)); 2.71-2.78 (m, 2H, H₂C(8)); 2.85 (ddd, ²J_{3A,3B} = 18.5, ³J_{3A-2A ou 2B} = 6.6, ³J_{3A-2B ou A} = 5.4, 1H, H_AC(3)); 2.91 (ddd, ²J_{3B-3A} = 18.6, ³J_{3B-2B ou 2A} = 7.3, ³J_{3A-2A ou B} = 6.0, 1H, H_BC(3)); 3.00 (dd, ²J_{6A-6B} = 18.2, ³J_{6A,5} = 6.9, 1H, H_AC(6)); 3.06 (dd, ²J_{6B-6A} = 18.2, ³J_{6B,5} = 7.0, 1H, H_BC(6)); 4.20 (t, ³J_{5,6A} = 6.9, 1H, H_C(5)); 5.09, 5.10 (s, 2H, H₂C(13)), (s, 2H, H₂C(20)); 7.29-7.38 (m, 10H, HC(15-19), CH(22-26)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.7, 28.8 C(2), C(9); 29.5 C(2); 36.6, 37.1 C(3), C(8); 40.8 C(6); 61.4 C(5); 66.4, 66.5 C(13), C(20); 128.1, 128.1, 128.2, 128.4 C(15-19), C(22-26); 135.5, 135.6 C(14), C(21); 172.1, 172.2 C(1), C(10); 202.2, 203.5 C(4), C(11); 205.8 C(7); MS (ESI(-)) : ms 451 [M-1], ms-ms (451) 343 [M-1-C₇H₈O], ms-ms-ms (451, 343) 235 [M-1-2C₇H₈O], 191 [M-1-2C₇H₈O-CO₂], ms-ms-ms-ms (451, 343, 235) 191 [M-1-2C₇H₈O-CO₂], ms-ms-ms-ms-ms (451, 343, 235, 191) 173 [M-1-2C₇H₈O-CO₂-H₂O], 149 [M-1-2C₇H₈O-CO₂-C₂H₂O].



Le 5-acétyl-4,7-dioxodécandioate de méthyle (226) est obtenu de la même manière en partant avec 264 mg (11 mmol) d'hydruure de sodium, 1.72 mg (10 mmol) de 4,6-dioxoheptanoate de méthyle (103) et 2.16 g (11 mmol) de 5-bromolévulinate de méthyle (55). Sont obtenus 3.25 g (>100%) d'une huile jaune qui sont séparés par flash colonne chromatographique (hexane - AcOEt 2 : 1, h = 30 cm, φ = 3 cm) pour obtenir 2.25 g (75%) d'une huile incolore.

C₁₄H₂₆O₇ (300.31); HR-MS [M+Na] : 323.110168 (323.110116), [M+H] 301.1281760 (301.1281744); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.32; IR (film) : 3002w, 2955m, 2919w, 2851w, 1734vs, 1439s, 1408s, 1362s, 1207s, 1175s, 1095m, 1022m, 989m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, COSY) : dicéto 2.22 (s, 3H, H₃C(12)); 2.49-2.68 (m, 2H, H₂C(2)); 2.53 (t, ³J_{9,8} = 6.5, 2H, H₂C(9)); 2.73 (t, ²J_{8,9} = 6.6, 2H, H₂C(8)); 2.81 (dd, ²J_{3A,3B} = 18.6, ³J_{3A-2A ou 2B} = 6.6, ³J_{3A-2B ou 2A} = 5.5, 1H, H_AC(3)); 2.87 (dd, ²J_{3B-3A} = 18.5, ³J_{3B-2B ou 2A} =

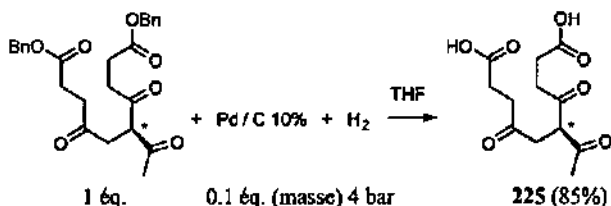
7.4, $^3J_{3A-2A}$ ou $2B = 5.9$, 1H, H_BC(3)); 2.99 (*dd*, $^2J_{6A-6B} = 18.2$, $^3J_{6A-5} = 6.9$, 1H, H_AC(6)); 3.05 (*dd*, $^2J_{6B-6A} = 18.1$, $^3J_{6B-5} = 6.9$, 1H, H_BC(6)); 3.61, 3.62 (*s*, 3H, H₃C(13)), (*s*, 3H, H₃C(14)); 4.19 (*t*, $^3J_{5-6} = 6.9$, 1H, HC(5)); cétoénol (9%) 16.58 (*s*, 1H, HO); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.5 C(2), 27.5 C(9); 29.5 C(12); 36.7 C(8); 37.1 C(3); 40.8 C(6); 51.7 C(13, 14); 61.5 C(5); 172.7, 172.8 C(1), C(10); 202.3, 203.6, 205.9 C(4), C(7), C(11); MS (ESI(+)) : ms 323 [M+Na]⁺, ms-ms (323) 305 [M+Na-H₂O]⁺, 263 [M+Na-CH₄O-CO]⁺.



Le 6-acétyl-10-méthoxy-4,7,10-trioxodécanoate de benzyle (227) est obtenu en partant avec 106 mg (4.4 mmol) d'hydruure de sodium, 689 mg (4 mmol) de 4,6-dioxoheptanoate de méthyle (103) et 1.25 g (4.4 mmol) de 5-bromolévulinat de benzyle. Est obtenu 1.52 g (>100%) d'une huile jaune qui est séparé par flash colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1 → 2 : 1, h = 30 cm, φ = 2.5 cm) pour obtenir 1.01 g (67%) d'une huile incolore.

C₂₀H₂₄O₇ (376.41); HR-MS [M+H]⁺ : 377.1594710 (377.1594744); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.45; IR (film) : 3066w, 3033w, 3003w, 2954w, 2919w, 2850w, 1734vs, 1456m, 1438m, 1408m, 1358s, 1212s, 1172s, 1095m, 701m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, COSY) : dicétone (~90%) 2.25 (*s*, 3H, H₃C(12)); 2.56 (*dt*, $^2J_{9A-9B} = 17.4$, $^3J_{9A-8A} = ^3J_{9A-8B} = 6.2$, 1H, H_AC(9)); 2.61-2.74 (*m*, 1H, H_BC(9)); 2.62 (*t*, $^3J_{2-3} = 6.2$, 2H, H₂C(2)); 2.77 (*t*, $^3J_{3-2} = 6.3$, 2H, H₂C(3)); 2.80-2.87 (*m*, 1H, H_AC(8)); 2.85-2.93 (*m*, 1H, H_BC(8)); 3.02 (*dd*, $^2J_{5A-5B} = 18.2$, $^3J_{5A-6} = 7.0$, 1H, H_AC(6)); 3.05 (*dd*, $^2J_{5B-5A} = 18.2$, $^3J_{5B-6} = 6.9$, 1H, H_BC(5)); 3.65 (*s*, 3H, H₃C(20)); 4.21 (*t*, $^3J_{5-5A} = ^3J_{5-5B} = 6.9$, 1H, HC(6)); 5.09 (*s*, 2H, H₂C(13)); 7.29-7.40 (*m*, 5H, HC(15-19)); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.4 C(9); 27.7 C(2); 29.4 C(12); 36.5 C(3); 37.0 C(8); 40.6 C(5); 51.6 C(20); 61.3 C(6); 66.2 C(13); 127.9, 128.0, 128.3 C(15-19); 172.0, 172.5 C(1), C(10); 202.1, 203.5, 205.7 C(4), C(7), C(11); MS (ESI(-)) : ms 375 [M-1]⁻, ms-ms (375) 267 [M-1-C₇H₈O]⁻, 191 [M-1-C₇H₈O-C₃H₈O₂]⁻, ms-ms-ms (375, 267) 235 [M-1-C₇H₈O-CH₄O]⁻, 191 [M-1-C₇H₈O-C₃H₈O₂]⁻.

Synthèse de l'acide 5-acétyl-4,7-dioxodécandioïque (225).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 2.4 g (5.30 mmol) de 5-acétyl-4,7-dioxodécandioate de benzyle, 50 ml de tétrahydrofurane humide et 240 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est agité sous une pression constante

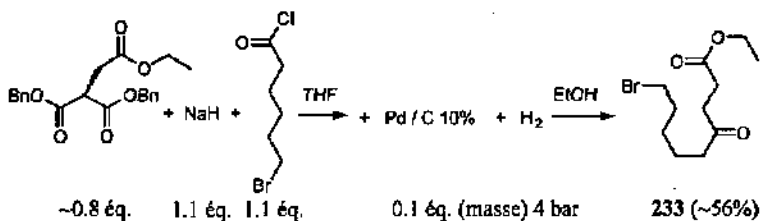
de 4 bar d'hydrogène pendant 36 h puis est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 50 ml de tétrahydrofurane. Le filtrat est évaporé par évaporation rotative puis séché par coévaporation avec le chloroforme et séché à la pompe à huile. Est obtenu 1.39 g (97%) d'un solide blanc qui est purifié par dissolution dans le tétrahydrofurane et cristallisé par adjonction biphasique d'hexane pour donner 1.23 g (85%) d'un solide blanc.

$C_{13}H_{16}O_7$ (272.25) : C 53.80 (52.94, (53.79 avec 0.25 THF)), H 6.23 (5.92, (6.25 avec 0.25 THF)); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.47; p.f. = 123°C; IR (KBr) : 3600-2400w(br) (3025), 2963w, 2922w, 2761w, 2685w, 2564w, 1729s, 1712vs, 1698s, 1432m, 1398m, 1369m, 1350m, 1259m, 1235m, 1175m; ¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO, COSY) : 2.16 (s, 3H, H₃C(12)); 2.37 (t, ³J₂₋₈ = 6.5, 2H, H₂C(9)); 2.40 (t, ³J₂₋₃ ≅ 6.2, 2H, H₂C(2)); 2.67 (t, ³J₈₋₉ = 6.5, 2H, H₂C(8)); 2.77 (dt, ²J_{3A-3B} = 18.7, ³J_{3A-2} = 6.1, 1H, H_AC(3)); 2.85 (dt, ²J_{3B-3A} = 18.7, ³J_{3B-2} = 6.6, 1H, H_BC(3)); 2.95 (dd, ²J_{6A-6B} = 18.5, ³J_{6A-5} = 6.8, 1H, H_AC(6)); 3.01 (dd, ²J_{6B-6A} = 18.5, ³J_{6B-5} = 7.5, 1H, H_BC(6)); 4.22 (t, ³J₅₋₆ = 6.9, 1H, H_C(5)); 11.8-12.45 (s(β), 2H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR) : 27.9 C(2, 9); 29.8 C(12); 36.7 C(8); 37.2 C(3); 40.4 C(6); 61.0 C(5); 173.8, 173.9 C(1), C(10); 203.2, 205.0, 207.0 C(4), C(7), C(11); MS (ESI(-)) : ms 271 [M-1], ms-ms (271) 253 [M-1-H₂O], ms-ms-ms (271, 253) 209 [M-H₂O-CO₂], ms-ms-ms-ms (271, 253, 209) 165 [M-H₂O-2CO₂], 123 [M-H₂O-2CO₂-C₂H₂O].

2.2.2.4 Synthèses de dérivés nitro et méthylester analogues des intermédiaires Jordan I.

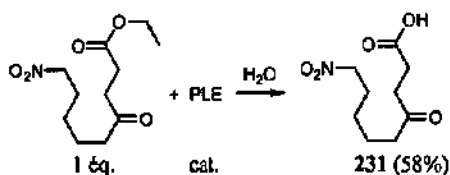
2.2.2.4.1 Synthèses des dérivés nitro et méthylester analogues d'intermédiaires contenant une fonction carbonyle en position γ.

Synthèse du 9-bromo-4-oxononanoate d'éthyle (233).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 196 mg (8.17 mmol) d'hydruure de sodium et 15 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 2.75 g (~5.94 mmol) de l'(\u00e9thoxycarbonylm\u00e9thyl)malonate de benzyle (185) (~80%) sont ajout\u00e9s sur 20 min puis apr\u00e8s 45 min la solution obtenue est transf\u00e9r\u00e9e sur 15 min \u00e0 l'aide d'une canule dans un bicol de 50 ml refroidi par un bain de glace et contenant 1.74 g (8.17 mmol) de chlorure de 6-bromohexanoyl et 20 ml de tétrahydrofurane. Le premier bicol est rinc\u00e9 avec 5 ml de tétrahydrofurane. Apr\u00e8s 1 h le bain est retir\u00e9 et le milieu réactionnel est agit\u00e9 14 h \u00e0 T.a. avant d'\u00eatre vers\u00e9 sur 30 ml d'une solution aqueuse 10% de K₂CO₃ et 50 ml de di\u00e9thyl\u00e8ther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de di\u00e9thyl\u00e8ther. Les phases organiques rassembl\u00e9es sont s\u00e9ch\u00e9es sur MgSO₄, filtr\u00e9es et le solvant est \u00e9limin\u00e9 par \u00e9vaporation rotative. Sont obtenus 3.95 g (>100%) d'un liquide transparent qui sont introduits dans un r\u00e9acteur pour r\u00e9action sous pression de 500 ml ainsi que 400 mg de palladium sur charbon actif 10% et 50 ml d'\u00e9thanol. Le milieu réactionnel est agit\u00e9 sous une pression constante de 4 bar d'hydrog\u00e8ne

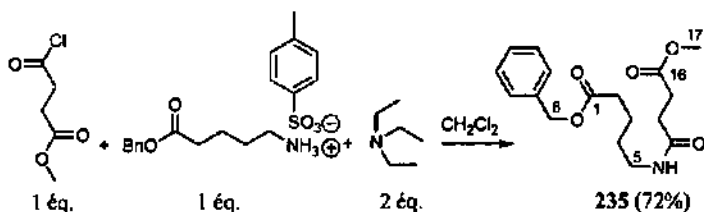
Synthèse de l'acide 9-nitro-4-oxononanoïque (231).



Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 360 mg (1.47 mmol) de 9-nitro-4-oxononanoate d'éthyle (233), 40 ml d'eau, 0.5 ml de méthanol et 20 mg PLE lyophilisée (*pig liver esterase*, 19U/mg). Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.2 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.2 M. Après 5 h, le milieu réactionnel est acidifié à pH 1 par adjonction d'une solution aqueuse 32% de HCl. La solution est saturée en NaCl et extraite avec 50 ml d'acétate d'éthyle et cela 6 fois. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative pour donner 320 mg (75%) d'un liquide légèrement brunâtre qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂ - MeOH 96 : 4, h = 25 cm, φ = 2 cm). Sont obtenus 186 mg (58%) d'un liquide incolore qui cristallise en un solide blanc au réfrigérateur.

C₉H₁₅NO₅ (217.22); C 50.39 (49.76), H 7.24 (6.96), N 6.25 (6.45); HR-MS [M+Na]⁺: 240.08442 (240.08424); R_f (CH₂Cl₂-MeOH 9 : 1, KMnO₄) = 0.26; p.f. = 62-63°C; IR (KBr): 3600-2400m(br) (3043), 2938m, 2893m, 2869m, 1722s, 1704s, 1551vs, 1474m, 1438m, 1411s, 1399s, 1389s, 1360m, 1336m, 1254m, 1233m, 1224vs, 1191m, 1152m, 1108m, 1075m, 911m, 633m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 1.36 ("qi", ³J_{7,6} ≅ ³J_{7,8} ≅ 7.8, 2H, H₂C(7)); 1.62 (tt, ³J_{6,7} = 7.8, ³J_{5,6} = 7.2, 2H, H₂C(6)); 1.99 (tt, ³J_{8,7} = 7.7, ³J_{8,9} = 7.0, 2H, H₂C(8)); 2.47 (t, ³J_{5,6} = 7.2, 2H, H₂C(5)); 2.59-2.62 (m, 2H, H₂C(2)); 2.67-2.70 (m, 2H, H₂C(3)); 4.36 (t, ³J_{2,3} = 7.0, 2H, H₂C(9)); 9.7-11.0 (s(l), 1H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): 22.7 C(6); 25.6 C(7); 27.0 C(8); 27.7 C(2); 36.7 C(3); 41.9 C(5); 75.3 C(9); 178.7 C(1); 208.3 C(4); MS (ESI(-)): ms 216 [M-1]⁻, ms-ms (216) 169 [M-1-HNO₂]⁻, ms-ms-ms (216, 169) 151 [M-1-HNO₂-H₂O]⁻, 125 [M-1-HNO₂-CO₂]⁻, 107 [M-1-HNO₂-H₂O-CO₂]⁻.

Synthèse du 5-(3-méthoxycarbonylpropylamino)-pentanoate de benzyle (235).

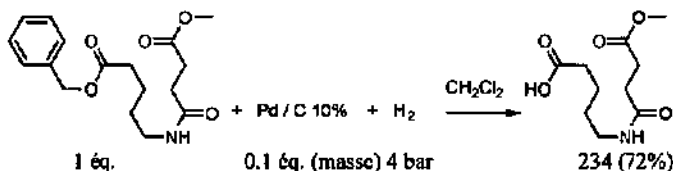


Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 759 mg (2 mmol) de *para*-toluènesulfonate de 4-benzoyloxycarbonylbutylammonium (169) et 15 ml de dichlorométhane. La solution est refroidie par un bain de glace et 230 mg (2 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle sont ajoutés puis sur 5 min 405 mg (4 mmol) de triéthylamine. Après 1 h, le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité 2 h 30 min à T.a. puis est versé sur 20 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 20 ml de dichlorométhane.

La phase aqueuse est extraite avec 20 ml de dichlorométhane et les phases organiques rassemblées sont lavées avec 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 560 mg (87%) d'un liquide transparent qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 2 : 1, h = 12 cm, ϕ = 2 cm). Sont obtenus 460 mg (72%) d'un liquide incolore qui cristallisent par la suite en un solide blanc.

C₁₇H₂₃NO₅ (321.37): C 63.38 (63.54), H 7.23 (7.21), N 4.22 (4.36); R_f (AcOEt - hexane 4 : 1, UV+KMnO₄) = 0.28; p.f. = 50-51°C; IR (KBr): 3318s, 3075w, 3034w, 2943m, 2889w, 2870w, 1736vs, 1667m, 1640s, 1552s, 1476m, 1456m, 1436m, 1416m, 1392m, 1380m, 1365m, 1343m, 1317s, 1262m, 1194m, 1161s, 1109m, 1092m, 1081m, 1062m, 982m, 968m, 750m, 697m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃, COSY): 1.46-1.53 (m, 2H, H₂C(4)); 1.60-1.67 (m, 2H, H₂C(3)); 2.35 (t, ³J_{2,3} = 7.3, 2H, H₂C(2)); 2.43 (t, ³J_{1,4-15} = 6.9, 2H, H₂C(14)); 2.63 (t, ³J₁₅₋₁₄ = 6.9, 2H, H₂C(15)); 3.20 (td, ³J_{3,4} = 6.8, ³J_{5-HN} = 5.9, 2H, H₂C(5)); 3.64 (s, 3H, H₃C(17)); 5.08 (s, 2H, H₂C(6)); 6.06 (s(β), 1H, HN); 7.27-7.36 (m, 5H, HC(8-12)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR): 21.9 C(3); 28.8 C(4); 29.2 C(15); 30.8 C(14); 33.6 C(2); 38.9 C(5); 51.7 C(17); 66.1 C(6); 128.0, 128.4 C(8, 12), C(9, 11); 128.1 C(10); 135.8 C(7); 171.3 C(13); 173.1, 173.4 C(1), C(16); MS (EI): 321 (3, [M]⁺), 290 (3, [M-OCH₃]⁺), 206 (10, [C₁₂H₁₆NO₂]⁺), 116 (16), 115 (53, [C₅H₇O₃]⁺), 100 (44, [C₄H₄O₃]⁺), 98 (12), 91 (100, [C₇H₇]⁺), 87 (11), 55 (26).

Synthèse de l'acide 5-(3-méthoxycarbonylpropionylamino)-pentanoïque (234).



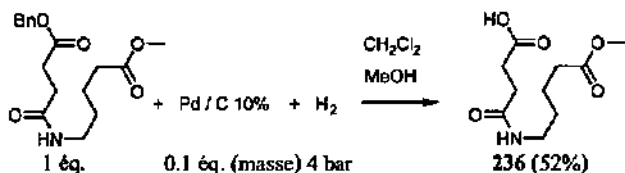
Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits sous azote 1.0 g (3.1 mmol) de 5-(3-méthoxycarbonylpropionylamino)-pentanoate de benzyle (235), 100 ml de dichlorométhane et 100 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est agité sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène pendant 18 h puis est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 50 ml de tétrahydrofurane. Le filtrat est évaporé à l'évaporateur rotatif et est obtenu 1.3 g (>100%) d'un solide qui est recristallisé par dissolution dans le tétrahydrofurane et adjonction biphasique de diéthyléther pour donner 520 mg (72%) d'un solide blanc.

C₁₀H₁₇NO₅ (231.25): C 52.06 (51.94), H 7.63 (7.41), N 5.84 (6.06); R_f (AcOEt - MeOH 8 : 2, KMnO₄) = 0.38; p.f. = 85-86°C; IR (KBr): 3600-2400m(br) (3056), 3299s, 2947m, 2879m, 1731s, 1691s, 1636vs, 1542s, 1440m, 1413m, 1326m, 1276m, 1255m, 1198m, 1174s; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 1.50-1.56 (m, 2H, H₂C(4)); 1.60-1.67 (m, 2H, H₂C(3)); 2.35 (t, ³J_{2,3} = 7.2, 2H, H₂C(2)); 2.47 (t, ³J_{7,8} = 6.8, 2H, H₂C(7)); 2.65 (t, ³J_{8,7} = 6.8, 2H, H₂C(8)); 3.24 (td, ³J_{3,4} = 6.7, ³J_{5-HN} = 6.0, 2H, H₂C(5)); 3.66 (s, 3H, H₃C(10)); 6.19 ("t(?)", 1H, HN); 8.90-10.30 (s(β), 1H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR): 21.8 C(3); 28.7 C(4); 29.3 C(8); 30.9 C(7); 33.4 C(2); 39.1 C(5); 51.8 C(10); 171.9 C(6); 173.6 C(9); 177.9 C(1); MS

aqueuse est extraite avec 2 fois 30 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 20 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO_3 , 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.21 g (94%), d'un liquide incolore qui est séparé par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 2 : 1, h = 12 cm, ϕ = 2 cm). Sont obtenus 900 mg (70%) d'un solide blanc.

$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ (321.37) : C 63.53 (63.54), H 7.33 (7.21), N 4.24 (4.36); R_f (AcOEt - hexane 4 : 1, UV+ KMnO_4) = 0.31; p.f. = 72°C; IR (KBr) : 3315m, 3069m, 3037w, 2952w, 2871w, 1732vs, 1670m, 1647s, 1554m, 1437m, 1426m, 1380m, 1321m, 1272m, 1197m, 1168s, 755m, 702m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, COCl_2) : 1.47-1.55 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(4)$); 1.60-1.68 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 2.33 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.2, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.47 (t, $^3J_{8,9}$ = 6.8, 2H, $\text{H}_2\text{C}(8)$); 2.73 (t, $^3J_{9,8}$ = 6.8, 2H, $\text{H}_2\text{C}(9)$); 3.24 (td, $^3J_{5,4}$ = 6.9, $^3J_{5-\text{HN}}$ = 5.9, 2H, $\text{H}_2\text{C}(5)$); 3.67 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(6)$); 5.12 (s, 2H, $\text{H}_2\text{C}(11)$); 5.74 (s(f), 1H, HN); 7.30-7.38 (m, 5H, HC(13-17)); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3) : 21.9 C(3); 28.8 C(4); 29.6 C(9); 30.8 C(8); 33.4 C(2); 39.1 C(5); 51.5 C(6); 66.5 C(11); 128.1, 128.5 C(13, 17), C(14, 16); 128.2 C(15); 135.7 C(12); 171.6 C(7); 172.7, 173.9 C(1), C(10); MS (DCI) : 323 (23), 322 (100, $[\text{M}+1]^+$), 214 (26, $[\text{M-OC}_7\text{H}_7]^+$), 130 (24, $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{NO}_2]^+$), 108 (18, $[\text{C}_7\text{H}_8\text{O}]^+$), 98 (13), 91 (63, $[\text{C}_7\text{H}_7]^+$).

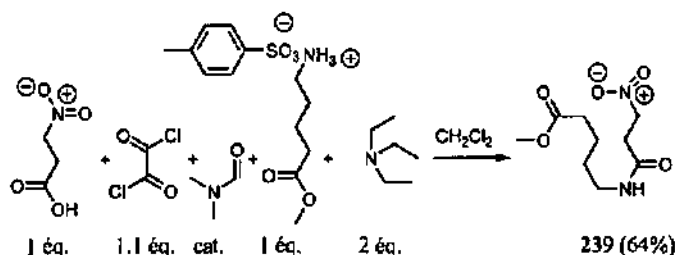
Synthèse de l'acide 4-[(4-méthoxycarbonyl)butylamino]-4-oxobutyrique (236).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 725 mg (2.26 mmol) de 5-(3-benzyloxycarbonylpropionyl)aminopentanoate de méthyle (237), 40 ml de dichlorométhane, 5 ml de méthanol et 75 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est agité sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène pendant 14 h puis est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 30 ml de tétrahydrofurane. Le filtrat est évaporé par évaporation rotative pour donner 720 mg (>100%) d'un solide qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH_2Cl_2 - MeOH 97 : 3 → 90 : 10, h = 20 cm, ϕ = 2 cm). Sont obtenus 270 mg (52%) d'un solide blanc.

$\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ (231.25) : C 51.88 (51.94), H 7.50 (7.41), N 6.38 (6.06); R_f (AcOEt - MeOH 8 : 2, KMnO_4) = 0.33; p.f. = 77-78°C; IR (KBr) : 3600-2400m(br) (3076), 3305s, 2948m, 2880m, 1737s, 1697s, 1633vs, 1551s, 1467m, 1434s, 1417m, 1382m, 1326m, 1281m, 1248m, 1207s, 1164s; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, d_6 -DMSO) : 1.34-1.42 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(4)$); 1.44-1.54 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 2.28 (t, $^3J_{8,9}$ = 7.0, 2H, $\text{H}_2\text{C}(8)$); 2.29 (t, $^3J_{2,3}$ = 7.3, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.40 (m, $^3J_{9,8}$ = 6.9, 2H, $\text{H}_2\text{C}(9)$); 3.01 (td, $^3J_{5,4}$ = 6.8, $^3J_{5-\text{HN}}$ = 5.8, 2H, $\text{H}_2\text{C}(5)$); 3.58 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(6)$); 7.82 (t, $^3J_{\text{HN},5}$ = 5.5, 1H, HN); 11.25-12.75 (s(f), 1H, HO); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3 , HETCOR) : 22.0 C(3); 28.6 C(4); 29.3 C(9); 30.1 C(8); 33.0 C(2); 38.1 C(5); 51.3 C(6); 170.9 C(7); 173.4, 174.0 C(1), C(10); MS (APCI(+)) : 232 $[\text{M}+1]^+$.

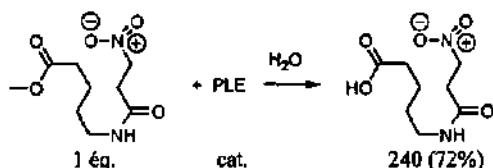
Synthèse du 5-(3-nitropropionylamino)pentanoate de méthyle (239).



Dans un bicol de 100 ml sont introduits sous azote 1.07 g (9 mmol) d'acide 3-nitropropionique, deux gouttes de diméthylformamide et 40 ml de dichlorométhane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 1.26 g (9.9 mmol) de chlorure d'oxalyle sont ajouté sur 5 min. Le bain de glace est retiré et la réaction est agitée 3 h à T.a. puis refroidie à nouveau par un bain de glace et une solution de 2.73 g (9 mmol) de *para*-toluènesulfonate de 4-méthoxycarbonylbutylammonium et 911 mg (9 mmol) de triéthylamine dans 25 ml de dichlorométhane est ajoutée goutte à goutte puis sur 15 min sont ajoutés encore 911 mg (9 mmol) de triéthylamine. Après 2h à la même température, le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité 1 h à T.a. puis est versé sur 60 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl. Les phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite avec 60 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 60 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO_3 , avec 60 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.55 g (74%) d'une huile qui est séparé par flash-colonne chromatographique (CH_2Cl_2 - MeOH 99 : 1 → 96 : 4, h = 30 cm, ϕ = 3 cm) pour obtenir 1.33 g (64%) d'un liquide qui se solidifie au réfrigérateur.

$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5$ (232.24) : C 46.72 (46.55), H 7.18 (6.94), N 12.35 (12.06); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, KMnO_4) = 0.62; p.f. = 50-51°C; IR (KBr) : 3302m, 3105w, 3031w, 2957w, 2924m, 2854w, 1733s, 1646s, 1552vs, 1446m, 1413m, 1370m, 1226m, 1202m, 1165m; ^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3) : 1.49-1.56 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(4)$); 1.60-1.67 (m, 2H, $\text{H}_2\text{C}(3)$); 2.32 (t, $^3J_{2,3} = 7.2$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 2.80 (t, $^3J_{7,8} = 6.2$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(7)$); 3.25 (td, $^3J_{5,4} \cong 6.6$, $^3J_{5,3\text{H}} \cong 5.6$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(5)$); 4.69 (t, $^3J_{8,7} = 6.2$, 2H, $\text{H}_2\text{C}(8)$); 6.22 (s(br), 1H, HN); ^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3 , HETCOR) : 21.8 C(3); 28.7 C(4); 32.5 C(7); 33.3 C(2); 39.2 C(5); 51.5 C(9); 70.2 C(8); 168.3 C(6); 173.9 C(1); MS (DCI) : 250 (29, $[\text{M}+18]^+$), 233 (100, $[\text{M}+1]^+$), 201 (8, $[\text{M}-\text{CH}_3\text{O}]^+$), 100 (15, $[\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NO}]^+$).

Synthèse de l'acide 5-(3-nitropropionylamino)pentanoïque (240).

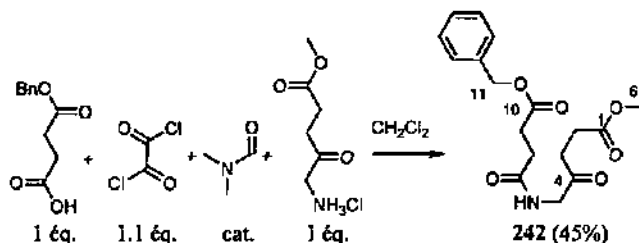


Dans un erlenmeyer de 100 ml sont introduits 1.2 g (5.17 mmol) de 5-(3-nitropropionylamino)pentanoate de méthyle, 50 ml d'eau et 0.3 ml d'une solution de PLE (*pig liver esterase*, 3 mg, 130 U/mg) dans un tampon sulfate d'ammonium 3 M. Le pH est maintenu par un pH-stat aux environs de 7.3 par adjonction d'une solution aqueuse de NaOH 0.5 M. Après 4h, la solution est acidifiée par adjonction d'une solution aqueuse 32% de HCl et saturée en NaCl puis extraite avec 4 fois 50 ml d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ anhydre, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative pour donner 1.01 g (89%) d'un solide orangé qui est dissous dans le tétrahydrofurane et cristallisé par adjonction biphasique de diéther. Sont obtenus 810 mg (72%) d'un solide blanc.

C₈H₁₄N₂O₅ (218.21) C 44.24 (44.03), H 6.53 (6.47), N 12.67 (12.84); R_f (AcOEt - MeOH 2 : 1, KMnO₄) = 0.52; p.f. = 82°C; IR (KBr): 3600-2400m(br), 3298s, 3071m, 2948m, 2878m, 1692s, 1638s, 1551vs, 1477m, 1464m, 1416m, 1377m, 1334m, 1280m, 1218m, 1192m, 924m, 872m, 681m; ¹H-RMN (400 MHz, d₈-DMSO): 1.35-1.42 (m, 2H, H₂C(4)); 1.45-1.52 (m, 2H, H₂C(3)); 2.20 (t, ³J₂₋₃ = 7.3, 2H, H₂C(2)); 2.73 (t, ³J₇₋₈ = 6.0, 2H, H₂C(7)); 3.04 (td, ³J₅₋₄ = 7.0, ²J_{5-HN} = 5.3, 2H, H₂C(5)); 4.68 (t, ³J₆₋₇ = 6.0, 2H, H₂C(8)); 8.04 (t, ³J_{HN-5} = 5.3, 1H, HN); 12.00 (s, 1H, HO); ¹³C-RMN (100 MHz, d₈-DMSO, HETCOR): 21.9 C(3); 28.5 C(4); 31.4 C(7); 33.2 C(2); 38.2 C(5); 70.7 C(8); 168.3 C(6); 174.4 C(1); MS (DCI): 236 (50, [M+18]⁺), 239 (100, [M+1]⁺), 201 (10, [M-OH]⁺), 187 (15), 172 (21, [M-NO₂]⁺), 101 (15).

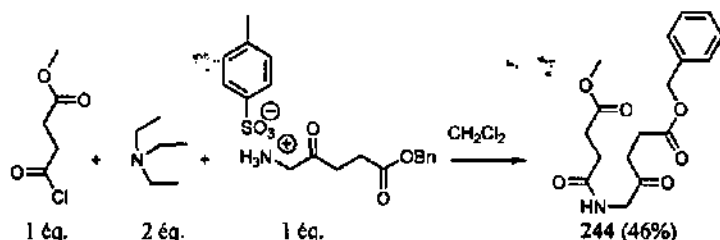
2.2.2.4.2 Synthèses des dérivés nitro et méthylester analogues d'intermédiaires contenant une deuxième fonction carbonyle en position γ.

Synthèse du N-(3-benzoyloxycarbonylpropionyl)-5-aminoléulinate de méthyle (242).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits sous azote 833 mg (4 mmol) de succinate de monobenzyle (61), 1 goutte de diméthylformamide et 10 ml de dichlorométhane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 559 mg (4.4 mmol) de chlorure d'oxalyde sont ajoutés goutte à goutte. Le bain de glace est retiré et le milieu réactionnel est agité 3 h à T.a. puis la solution est transférée par une canule sur 5 min dans une solution refroidie par un bain de glace de 727 mg (4 mmol) de chlorure de 1-(4-méthoxycarbonyl-2-oxo)butylammonium (125) et 20 ml de dichlorométhane. Ensuite est ajouté sur 15 min 1.01 g (10 mmol) de triéthylamine. Après 2 h à cette température, le milieu réactionnel est agité 1 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 20 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite avec 40 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 20 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl, 20 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCO₃, 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl puis sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.13 g (84%)

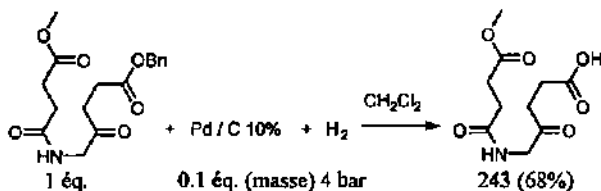
Synthèse du *N*-(3-méthoxyoxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinate de benzyle (244).



Dans un bicol de 25 ml sont introduits 165 mg (0.42 mmol) de *para*-toluènesulfonate de 1-(4-benzyloxyoxycarbonyl-2-oxo)butylammonium et 20 ml de dichlorométhane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 63 mg (0.42 mmol) de chlorure de 3-méthoxyoxycarbonylpropionyle sont ajoutés goutte à goutte puis sur 15 min 85 mg (0.84 mmol) de triéthylamine. Le milieu réactionnel est agité 2 h à cette température puis 1 h à T.a avant d'être versé sur 20 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 20 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 20 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 135 mg (95%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 3 : 1, h = 17,5 cm, ϕ = 1,5 cm) pour obtenir 65 mg (46%) d'un solide blanc pur qui sont recristallisés par dissolution dans le tétrahydrofurane et adjonction biphasique de diéthyléther.

C₁₇H₂₁NO₆ (335.36); HR-MS [M+Na]⁺: 358.12603 (358.12610); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, UV+KMnO₄) = 0.25; p.f. = 63°C; IR (KBr): 3281m, 3083w, 3029w, 3005w, 2961w, 2908w, 2855w, 2831w, 1728vs, 1645s, 1556m, 1440m, 1421m, 1378m, 1363m, 1312m, 1235m, 1220m, 1174s, 1114m, 964m, 748m, 699m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 2.55 (t, ³J₁₄₋₁₅ = 6.8, 2H, H₂C(14)); 2.67 (t, ³J₁₅₋₁₄ = 6.9, 2H, H₂C(15)); 2.69-2.77 (m, 4H, H₂C(2, 3)); 3.69 (s, 3H, H₃C(17)); 4.19 (d, ³J_{5-HN} = 4.7, 2H, H₂C(5)); 5.11 (s, 2H, H₂C(6)); 6.34 (s(l), 1H, HN); 7.30-7.40 (m, 5H, HC(8-12)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃, HETCOR): 27.8 C(2); 29.1 C(15); 30.6 C(14); 34.5 C(3); 49.3 C(5); 51.8 C(17); 66.7 C(6); 128.2, 128.6 C(8, 12), C(9, 11); 128.3 C(10); 135.6 C(7); 171.3 C(13); 172.1, 173.2 C(1), C(16); 203.6 C(4); MS (DCI): 353 (5, [M+18]⁺), 336 (100, [M+1]⁺), 321 (5, [M+1-CH₃]⁺), 304 (14, [M-CH₃O]⁺), 228 (10, [M-C₇H₇]⁺), 196 (3, [M-C₈H₁₁O]⁺), 132 (31, [C₅H₁₀NO₃]⁺), 115 (34, [C₃H₇O₃]⁺), 108 (9, [C₇H₈O]⁺), 100 (14, [C₄H₄O₃]⁺), 91 (32, [C₇H₇]⁺).

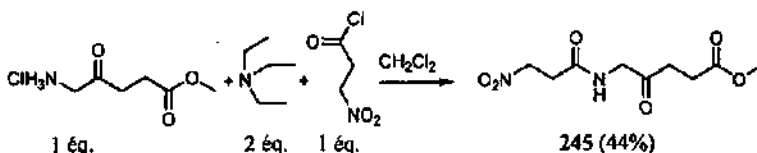
Synthèse de l'acide *N*-(3-méthoxyoxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulique (243).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 335 mg (1 mmol) de *N*-(3-méthoxyoxycarbonylpropionyl)-5-aminolévulinate de benzyle (244), 40 ml de dichlorométhane et 35 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécanique pendant 16 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 20 ml de tétrahydrofurane puis le filtrat est évaporé. Sont obtenus 260 mg (>100%) d'un solide blanc qui sont traités à chaud dans le tétrahydrofurane et cristallisés avec adjonction biphasique d'hexane. Sont obtenus 166 mg (68%) d'un solide blanc.

$C_{10}H_{15}NO_6$ (245.23) : C 48.78 (48.98), H 6.27 (6.16), N 5.82 (5.71); HR-MS [M+1] : 246.09720 (246.09721); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 9 : 1, KMnO₄) = 0.22; p.f. = 103-104°C; IR (KBr) : 3500-2500w(br) (3027), 3344m, 2958w, 2938w, 1733s, 1695s, 1641vs, 1521m, 1437m, 1411m, 1376m, 1354m, 1310m, 1196m, 1173m, 1140m, 631m, 493m; ¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO) : 2.40 (t, ³J_{2,3} = 6.4, 2H, H₂C(2)); 2.43 (t'', ³J_{7,8} ou 8-7 = 6.1, 2H, H₂C(7 ou 8)); 2.50 (t', ³J_{6,7} ou 7-8 = 6.6, 2H, H₂C(8 ou 7)); 2.62 (t, ³J_{3,2} = 6.4, 2H, H₂C(3)); 3.57 (s, 3H, H₃C(10)); 3.92 (d, ³J_{5,HN} = 5.6, 2H, H₂C(5)); 8.22 (t, ¹J_{HN,5} = 5.5, 1H, HN); 11.2-13.0 (s(l), 1H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, d₆-DMSO) : 27.6 C(2); 28.8, 29.7 C(7), C(8); 34.7 C(3); 48.5 C(5); 51.5 C(10); 171.3 C(6); 172.9 C(9); 173.8 C(1); 205.8 C(4); MS (ESI(-)) : ms 244 [M-1], 212 [M-1-CH₃OH], ms-ms (244) 212 [M-1-CH₃OH], ms-ms-ms (244, 212) 194 [M-1-CH₃OH-H₂O], ms-ms-ms-ms (244, 212, 194) 150 [M-1-CH₃OH-H₂O-CO₂], ms-ms-ms-ms-ms (244, 212, 194, 150) 122 [M-1-CH₃OH-H₂O-CO₂-(CO ou C₂H₄)].

Synthèse du 5-(3-nitropropionylamino)-4-oxopentanoate de méthyle (245).



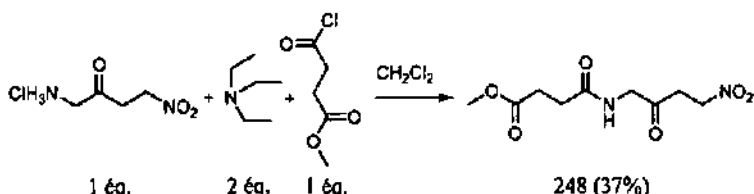
Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 1.10 g (6 mmol) de chlorure de 1-(4-méthoxycarbonyl-2-oxo)butylammonium (125) et 50 ml de dichlorométhane. La suspension est refroidie par un bain de glace et sont ajoutés 808 mg (6 mmol) de chlorure de 3-nitropropionyle (72) goutte à goutte puis sur 30 min 1.23 g (12 mmol) de triéthylamine. Après 1 h le bain de glace est retiré et le mélange réactionnel est agité 1 h supplémentaire à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl et augmenté de 30 ml de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite avec 3 fois 50 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative pour obtenir 990 mg (66%) d'un solide jaune qui sont recristallisés à chaud dans l'acétate d'éthyle pour donner 657 mg (44%) d'une solide blanc.

$C_9H_{14}N_2O_6$ (246.22) : C 43.84 (43.90), H 5.54 (5.73), N 11.25 (11.38); R_f (CH₂Cl₂ - MeOH 9 : 1, KMnO₄) = 0.51; p.f. = 103°C; IR (KBr) : 3650-2800w(br), 3300s, 3104w, 3027w, 2984w, 2955w, 2921w, 2854w, 1744s, 1727s, 1650s, 1573m, 1552vs, 1442m, 1411m, 1403m, 1377m, 1366m, 1348m, 1282m, 1213m, 1181m, 1097m, 1031m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.63-2.67 (m, 2H, H₂C(2)); 2.72-2.76 (m, 2H, H₂C(3)); 2.90 (t, ³J_{R,9} = 6.2, 2H, H₂C(8)); 3.66 (s, 3H, H₃C(6)); 4.21 (d, ³J_{5,HN} = 4.7, 2H, H₂C(5)); 4.69 (t, ³J_{9,8} = 6.2, 2H, H₂C(8)); 6.58 (s(l), 1H, HN); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 27.5 C(2); 32.1 C(8); 34.5 C(3);

chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1, h = 30 cm, ϕ = 2.5 cm) pour obtenir 41 mg (30%) d'un solide blanc.

$C_9H_{17}N_2O_6$ (232.19) : C 36.09 (36.06), H 4.86 (4.75), N 17.70 (18.02); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, $KMnO_4$) = 0.56; p.f. = 129-130°C; IR (KBr) : 3700-2800m(br), 3293s, 3103w, 2973w, 2917w, 1732s, 1683m, 1651s, 1561s, 1541vs, 1426s, 1409m, 1398m, 1376s, 1357m, 1278m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.85 (t, $^3J_{2,3}$ = 5.9, 2H, $H_2C(2)$); 3.12 (t, $^3J_{6,7}$ = 5.7, 2H, $H_2C(6)$); 4.04 (d, $^3J_{4-HN}$ = 5.6, 2H, $H_2C(4)$); 4.70 (t, $^3J_{2,2\text{ ou }7-6}$ = 5.9, 2H, $H_2C(3\text{ ou }7)$); 4.71 (t, $^3J_{7-6\text{ ou }3-2}$ = 5.8, 2H, $H_2C(7\text{ ou }3)$); 8.45 (t, $^3J_{HN-4}$ = 5.4, 1H, HN); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO) : 31.2, 35.6 C(2), C(6); 48.4 C(4); 69.4, 70.6 C(3), C(7); 169.2 C(1); 203.6 C(3); MS (ESI(+)) : 256 [M+Na] $^+$, 251 [M+NH $_4$] $^+$, 234 [M+1] $^+$, ms-ms (234) 187 [M+1-HNO $_2$] $^+$, ms-ms-ms (234, 187) 140 [M+1-2HNO $_2$] $^+$ ms-ms-ms-ms (234, 187, 140) 122 [M+1-2HNO $_2$ -H $_2O$] $^+$.

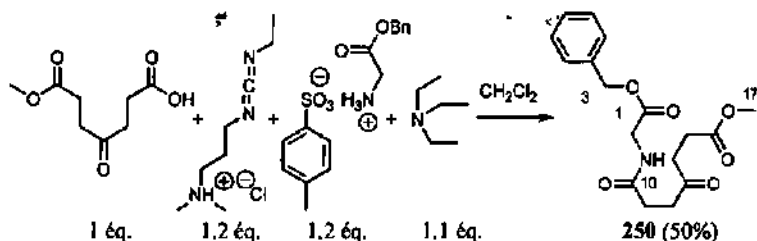
Synthèse du N-(4-nitro-2-oxobutylcarbamoyl)-3-iminocarbonylpropionate de méthyle (248).



Dans un bicol de 50 ml sont introduits sous azote 460 mg (2.74 mmol) de chlorure de 1-(4-nitro-2-oxo)butylammonium (15) et 30 ml de dichlorométhane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 412 mg (2.74 mmol) de chlorure de 3-méthoxycarbonylpropionyle sont ajoutés rapidement puis sur 30 min 554 mg (5.48 mmol) de triéthylamine. Le milieu réactionnel est agité 1 h avec le bain de glace puis 2 h à T.a. puis est augmenté de 10 ml de dichlorométhane et versé sur 40 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl. La phase aqueuse est extraite avec 4 fois 40 ml de dichlorométhane puis les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 640 mg (84%) d'un solide qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, h = 25 cm, ϕ = 2 cm) pour obtenir 410 mg (66%) d'un solide qui sont recristallisés à chaud dans l'acétate d'éthyle pour donner 280 mg (37%) d'un solide blanc.

$C_9H_{14}N_2O_6$ (246.22) : C 44.14 (43.90), H 5.79 (5.73), N 11.30 (11.38); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 9 : 1, $KMnO_4$) = 0.52; p.f. = 106-107°C; IR (KBr) : 3700-2800w(br), 3284s, 3107m, 2951w, 2925m, 1737vs, 1641s, 1573s, 1551s, 1433s, 1419s, 1390s, 1356m, 1341m, 1277m, 1252m, 1193s, 1176s, 1104m, 1066m, 1035m, 1016m, 981m; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.43-2.47 (m, 2H, $H_2C(2)$); 2.50-2.54 (m, 2H, $H_2C(3)$); 3.11 (t, $^3J_{6,9}$ = 5.8, 2H, $H_2C(8)$); 3.58 (s, 3H, $H_3C(5)$); 3.99 (d, $^3J_{6-HN}$ = 5.7, 2H, $H_2C(6)$); 4.70 (t, $^3J_{9,8}$ = 5.8, 2H, $H_2C(8)$); 8.27 (t, $^3J_{6-HN}$ = 5.4, 1H, HN); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) : 28.8 C(3); 29.6 C(2); 35.6 C(8); 48.4 C(6); 51.4 C(5); 69.4 C(9); 171.4 C(4); 172.9 C(1); 204.0 C(7); MS (DCI) : 247 (10, [M+1] $^+$), 232 (5, [M+1-CH $_3$] $^+$), 215 (2, [M-OCH $_3$] $^+$), 201 (12), 200 (100, [M-NO $_2$] $^+$), 168 (13, [M-NO $_2$ -CH $_3OH$] $^+$), 132 (11, [C $_5$ H $_{10}$ NO $_3$] $^+$), 115 (8, [C $_3$ H $_7$ O $_3$] $^+$), 100 (5, [C $_4$ H $_4$ O $_3$] $^+$), 55 (8).

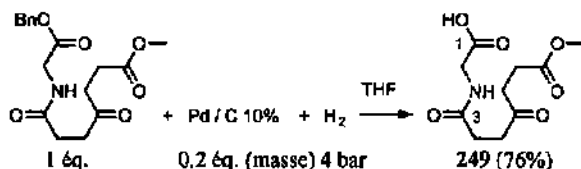
Synthèse du N-(6-méthoxycarbonyl-4-oxohexanoyl)aminoacétate de benzyle (250).



Dans un bicol de 50 ml, refroidi par un bain de glace sont introduits 753 mg (4 mmol) de 4-oxopimélate de monométhyle (251) (p.f. = 52°C [lit. [219] 62-63°C), obtenus à partir du diméthyle ester par hydrolyse sélective avec PLE comme 186), 920 mg (4.8 mmol) de *N*-(3-diméthylaminopropyl)-*N'*-éthylcarbodiimide (EDC) et 20 ml de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité 1 h puis une solution de 1.62 g (4.8 mmol) de *para*-toluènesulfonate de benzoyloxycarbonylméthylammonium et 445 mg (4.4 mmol) de triéthylamine dans 20 ml de dichlorométhane est ajoutée sur 15 min. Après 14 h d'agitation à T.a., le milieu réactionnel est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse 1 M de HCl. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 30 ml de dichlorométhane et les phases organiques rassemblées sont lavées avec 30 ml d'une solution aqueuse 10% de KHCD₃, 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl, séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.1 g (82%) d'un solide qui est préabsorbé sur silice et séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 1 : 1 → 3 : 2, h = 30 cm, φ = 2.5 cm) pour obtenir 665 mg (50%) d'un solide blanc.

C₁₇H₂₁NO₆ (335.36) : C 61.20 (60.89), H 6.31 (6.56) N 4.01 (4.18); R_f (AcOEt, UV+KMnO₄) = 0.38; p.f. = 80-81°C; IR (KBr) : 3330_m, 1738_{vs}, 1705_m, 1650_s, 1543_m, 1429_m, 1398_m, 1360_m, 1236_m, 1218_m, 1170_m, 1398_m, 1376_s, 1357_m, 1278_m; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) : 2.53 (t, ³J₁₁₋₁₂ ou ₁₅₋₁₄ = 6.3, 2H, H₂C(11 ou 15)); 2.59 (t, ³J₁₅₋₁₄ ou ₁₁₋₁₂ = 7.1, 2H, H₂C(15 ou 11)); 2.76 (t, ³J₁₄₋₁₅ ou ₁₂₋₁₁ = 7.0, 2H, H₂C(14 ou 12)); 2.79 (t, ³J₁₂₋₁₁ ou ₁₄₋₁₅ = 6.4, 2H, H₂C(12 ou 14)); 3.66 (s, 3H, H₃C(17)); 4.05 (d, ³J_{2-HN} = 5.3, 2H, H₂C(2)); 5.17 (s, 2H, H₂C(3)); 6.18 (m(l), 1H, HN); 7.31-7.37 (m, 5H, HC(5-9)); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) : 27.7, 29.5 C(11), C(15); 37.0, 37.5 C(12), C(14); 41.4 C(2); 51.8 C(17); 67.2 C(3); 128.4, 128.6 C(5, 9), C(6, 8); 128.5 C(7); 135.1 C(4); 169.8, 172.0, 173.2 C(1), C(10), C(16); 207.8 C(13); MS (ESI(+)) : 358 [M+Na]⁺, ms-ms (258) 267 [M+Na-C₇H₇]⁺, 250 [M+Na-C₇H₈O]⁺, 211.

Synthèse de l'acide N-(6-méthoxycarbonyl-4-oxohexanoyl)aminoacétique (249).



Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 650 mg (1.94 mmol) de *N*-(6-méthoxycarbonyl-4-oxohexanoyl)aminoacétate de benzyle (250), 50 ml de tétrahydrofurane, quelques gouttes d'eau et 130 mg de palladium sur charbon actif 10%. Le

milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 24 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé avec 20 ml de tétrahydrofurane puis le filtrat est évaporé. Sont obtenus 680 mg (>100%) d'un solide blanc qui sont dissous dans le tétrahydrofurane et cristallisés avec adjonction biphasique de diéthyléther. Sont obtenus 360 mg (76%) d'un solide blanc.

$C_{10}H_{15}NO_6$ (245.23) : C 49.14 (48.97), H 6.27 (6.12), N 5.52 (5.73); R_f (AcOEt - MeOH - AcOH 7 : 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.28; p.f. = 82-83°C; IR (KBr) : 3600-2400 m (br) (3208), 3070 m , 2984 m , 2955 m , 2919 m , 1733 s , 1703 vs , 1648 s , 1549 m , 1438 m , 1408 m , 1392 m , 1370 m , 1274 m , 1228 s , 1202 m , 1182 m ; 1H -RMN (400 MHz, d_6 -DMSO) : 2.36 (t , $^3J_{4-5}$ ou $6-7$ = 7.0, 2H, $H_2C(4$ ou $8)$); 2.46 (t , $^3J_{8-7}$ ou $4-5$ = 6.5, 2H, $H_2C(8$ ou $4)$); 2.64 (t , $^3J_{5-4}$ ou $7-8$ = 7.0, 2H, $H_2C(5$ ou $7)$); 2.71 (t , $^3J_{7-8}$ ou $5-4$ = 6.5, 2H, $H_2C(7$ ou $5)$); 3.56 (s , 3H, $H_3C(10)$); 3.71 (d , $^3J_{2-HN}$ = 5.9, 2H, $H_2C(2)$); 8.16 (t , $^3J_{HN-2}$ = 5.8, 1H, HN); ^{13}C -RMN (100 MHz, d_6 -DMSO, HETCOR) : 27.6 C(8 ou 4); 28.9 C(4 ou 8); 36.7 C(7 ou 5); 37.1 C(5 ou 7); 40.8 C(2); 51.6 C(10); 171.6, 171.8, 172.0 C(1), C(3), C(9); 208.1 C(6); MS (ESI(-)) : 244 [M-1], ms-ms (244) 212 [M-1-CH₄O], ms-ms-ms (244, 212) 168 [M-1-CH₄O-CO₂ ou M-1-CH₄O-C₂H₄O], ms-ms-ms-ms (244, 212, 168) 124 [M-1-CH₄O-C₂H₄O-CO₂].

3. Annexes.

3.1 Nouvelle synthèse de dérivés 3-acétyl-2-hydroxyfurane substitué en position 5 et de 2-méthylfuranes substitués en positions 3 et 5.

La synthèse de furanes à partir de systèmes de type 1,4-dicéto catalysée par un acide est connue depuis plus d'un siècle sous le nom de méthode de Paal-Knorr (1884). La synthèse d'un furane à partir d'un β -cétoster et d'une α -halogénocétone en milieu basique est connue sous le nom de réaction de Feist-Benary (1902). La première étape de cette réaction est une réaction de type aldol [228]. Une régiosélectivité inverse est observée lorsque l'alkylation du système β -cétoster déprotonée précède la cyclisation sous catalyse acide [229] (Figure A1).

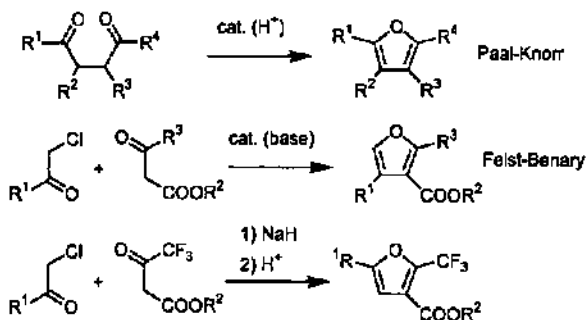


Figure A1 : Synthèses classiques de furanes.

Le 2-hydroxyfurane est une forme tautomère défavorisée du point de vue énergétique par rapport à celle γ -crotonolactone [230]. Cependant, dans le cas où l'hydroxyle est situé en position β d'une cétone, une stabilisation par ponts-H de la forme furane s'opère. Quelques exemples de telles structures sont répertoriés dans la littérature [231,232]. Nous avons étudié une méthode versatile d'obtention de 3-acétyl-2-hydroxyfuranes mono- ou disubstitués en deux étapes (1) basique, 2) acide). Une extension de cette méthodologie nous conduit à synthétiser en trois étapes des furanes trissubstitués. Les conditions réactionnelles sont douces et permettent l'obtention de furanes riches en électron.

La monoalkylation de l'acétoacétate de *tert*-butyle (A1) par des α -bromo ou α -chlorocétones A2 permet l'obtention d'une série de produits intermédiaires A3 qui sont les substrats pour la formation par traitement avec l'acide trifluoroacétique de 3-acétyl-2-hydroxyfuranes substitués en position 5 par le groupe R et en position 4 par le groupe R' A4 (schéma A1).

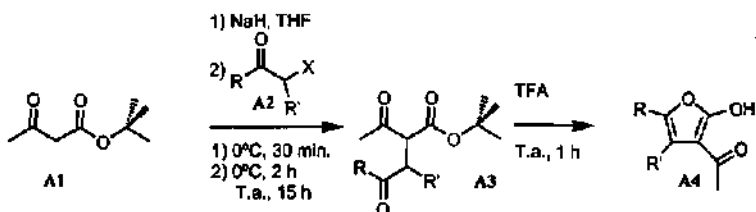


Schéma A1

Les intermédiaires A3 peuvent être alkylés une seconde fois sur le même carbone par un bromoalcane pour donner l'intermédiaire A5 qui est converti, par traitement avec l'acide trifluoroacétique (9% dans le dichlorométhane), en 2-méthyl-5-R-3-R'-furane A6 (schéma A2).

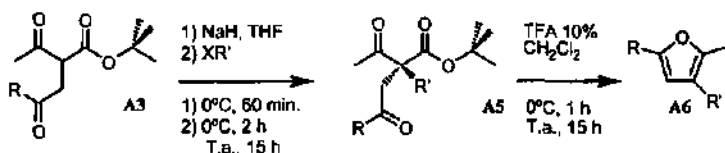


Schéma A2

Nous avons utilisé comme réactif d'alkylation A2 le 5-bromolévulinate de méthyle (A2a = 55), le bromure de phénacyle (A2b), la chloroacétone (A2c) et l' α -bromopropiophénone (A2d). La déprotonation de l'acétate de *tert*-butyle se fait facilement à 0°C dans le THF avec l'hydruure de sodium débarrassé de son huile de dispersion. L'adjonction de l'halogénure se fait à 0°C et la réaction a lieu assez rapidement pour les α -bromoacétone alors qu'elle est notablement plus lente avec la chloroacétone. Les intermédiaires A3a-d sont obtenus avec des rendements de respectivement 92, 95, 60 et 94% après purification. Le traitement des intermédiaires A3a-d par l'acide trifluoroacétique 97% à T.a. pendant 1 h donne une solution brune qui est évaporée à sec pour donner les furanes bruts trissubstitués A4a-c (R' = H) et tétrassubstitué A4d (R' = CH₃). Ces derniers sont préabsorbés sur silice et purifiés par flash-colonne chromatographique pour donner le 3-[2-(4-acétyl-5-hydroxyfuranyl)]propionate de méthyle (A4a), le 1-[3-(2-hydroxy-5-phényl)furanyl]éthanone (A4b), le 1-[3-(2-hydroxy-5-méthyl)furanyl]éthanone (A4c) et le 1-[3-(2-hydroxy-4-méthyl-5-phényl)furanyl]éthanone (A4d), dans des rendements respectifs de 87, 67, 77 et 75%. Le traitement de l'intermédiaire A3c par une solution d'acide trifluoroacétique 9% dans le dichlorométhane 1 h à 0°C et 15 h à T.a. donne le produit A4c dans un rendement presque équivalent (73%) à celui obtenu précédemment avec l'acide trifluoroacétique 97% et est généralisable.

L'alkylation de l'intermédiaire A3a par le bromure de benzyle (plus lente) et des intermédiaires A3b-c par le bromoacétate de méthyle en maintenant, cette fois, la solution 1 h à 0°C lors de la déprotonation donne les intermédiaires A5a-c avec des rendements respectifs de 56, 89 et 88% après purification par flash-colonne chromatographique. Le traitement des intermédiaires A5a-d par 10% d'acide trifluoroacétique (97%) dans le dichlorométhane 1 h à 0°C puis 15 h à T.a. donne les furanes trissubstitués bruts A6a-c. Ceux-ci sont purifiés par flash-colonne chromatographique pour donner le 3-[2-(4-benzyl-5-méthyl)furanyl]propionate de méthyle (A6a), le 3-(2-méthyl-5-phényl)furanylacétate de méthyle (A6b) et le 3-(2,5-diméthyl)furanylacétate de méthyle (A6c) dans des rendements respectifs de 71, 67 et 71%.

3.1.1 Discussion des Mécanismes.

Nous avons démontré que l'analoge benzylester A7 de A3c est transformé en furane A4c par hydrogénolyse (10% masse Pd/C 10%, 4 bar H₂) pendant 15 h à T.a. dans le dichlorométhane contenant 9% d'acide trifluoroacétique avec un rendement de 73% après chromatographie. Ce même analogue traité dans les mêmes conditions en substituant l'acide trifluoroacétique par le méthanol conduit exclusivement à la 2,5-hexandione. Nous en concluons que l'acide trifluoroacétique catalyse les deux étapes, soit la déprotection du carboxylate et la formation du furane. L'acide généré attaque la cétone en position γ plus rapidement qu'il n'est décarboxylé et nous supposons que le système β -cétoster s'énolise préalablement à l'élimination d'eau (Figure A2).

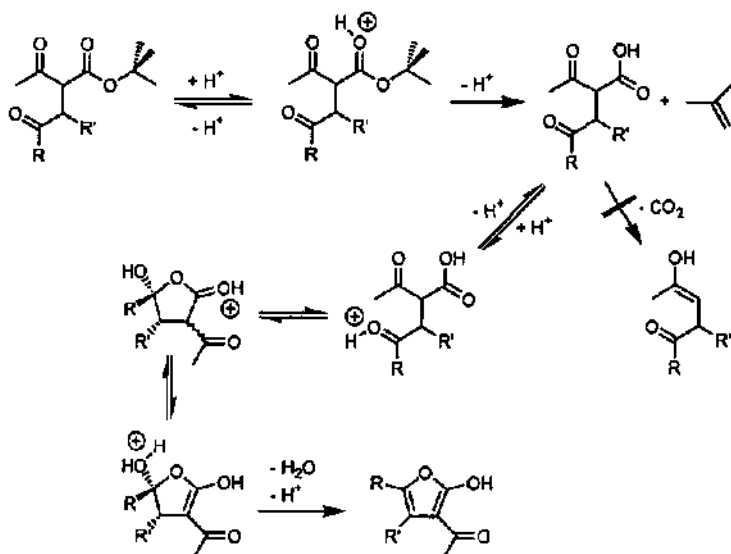


Figure A2 : Double catalyse de l'acide trifluoroacétique .

L'alkylation de l'acétoacétate de *tert*-butyle par le bromoacétate de méthyle dans les conditions standards appliquées précédemment donne le 3-*tert*-butyloxy-carbonyllévulinate de méthyle (A8) qui n'est pas transformé en furane par le traitement avec l'acide trifluoroacétique mais est déprotégé et en partie décarboxylé. Ce qui indique que l'acide carboxylique généré par la déprotection du *tert*-butyle ester n'est pas en mesure d'attaquer le groupement carbonyle du méthylester qui est légèrement plus susceptible de se protonner que la cétone puisque plus basique mais dont l'électrophilie du carbone est amoindrie par l'effet mésomère donneur du second oxygène. Cependant, un phényle cétone comme A3b ou A3d est parfaitement attaquée même si le phényle a une aptitude à stabiliser le carbonyle protonné par effet mésomère. L'alkylation du malonate de *tert*-butyle et méthyle par le bromure de phénacyle (A2b), dans les mêmes conditions que décrites précédemment, donne le 2-méthoxycarbonyl-4-oxo-4-phénylbutyrate de *tert*-butyle (A9) qui n'est pas transformé en furane par traitement

avec l'acide trifluoroacétique 97%, ou 9% dans le dichlorométhane, mais est uniquement déprotégé pour générer l'acide 2-méthoxycarbonyl-4-oxo-4-phénylbutyrique (A10). Cela indique que l'acidité réduite du système 1,3-diester par rapport à celui 1,3-cétoester l'empêche de s'énoliser et donc d'induire le départ d'une molécule d'eau avec obtention de l'aromatisation. Si nous nous trouvons effectivement dans ce cas de figure, cela confirme notre hypothèse que l'énolisation prend place avant la déshydratation.

La disubstitution du système β -cétoester conduit à un changement de réactivité. L'acide carboxylique généré par la déprotection du *tert*-butylester reste a priori en mesure d'attaquer le carbonyle de la γ -cétone, mais n'est plus en mesure de s'énoliser. Il en résulte un retour à la forme acide qui se décarboxyle. La décarboxylation assistée par la β -cétone génère un énol. Nous nous sommes posés la question de savoir si cet énol devait être piégé par la γ -cétone pour conduire au furane, compte tenu que, dans les mêmes conditions réactionnelles, des 1,4-dicétones comme la 2,5-hexandione ou le 4,7-dioxosébaçate de méthyle ne sont pas transformés en furanes. Nous avons donc synthétisé, comme précédemment, l'analogue benzyle ester A11 de A5c qui conduit par hydrogénolyse (10% masse Pd/C 10%, 4 bars H₂) pendant 15 h à T.a. dans le dichlorométhane contenant 9% d'acide trifluoroacétique à la formation minoritaire du furane A6c. Le remplacement de l'acide trifluoroacétique par le méthanol donne le produit de décarboxylation attendu A12. Cependant, ce dernier est transformé en furane A6c par traitement pendant 15 h dans le dichlorométhane contenant 9% d'acide trifluoroacétique. Il en résulte donc que le groupement R' différent de H joue un rôle crucial au moins dans ce dernier cas. Comme précédemment, les deux étapes de déprotection du *tert*-butylester et de formation du furane sont catalysées par l'acide trifluoroacétique (Figure A3).

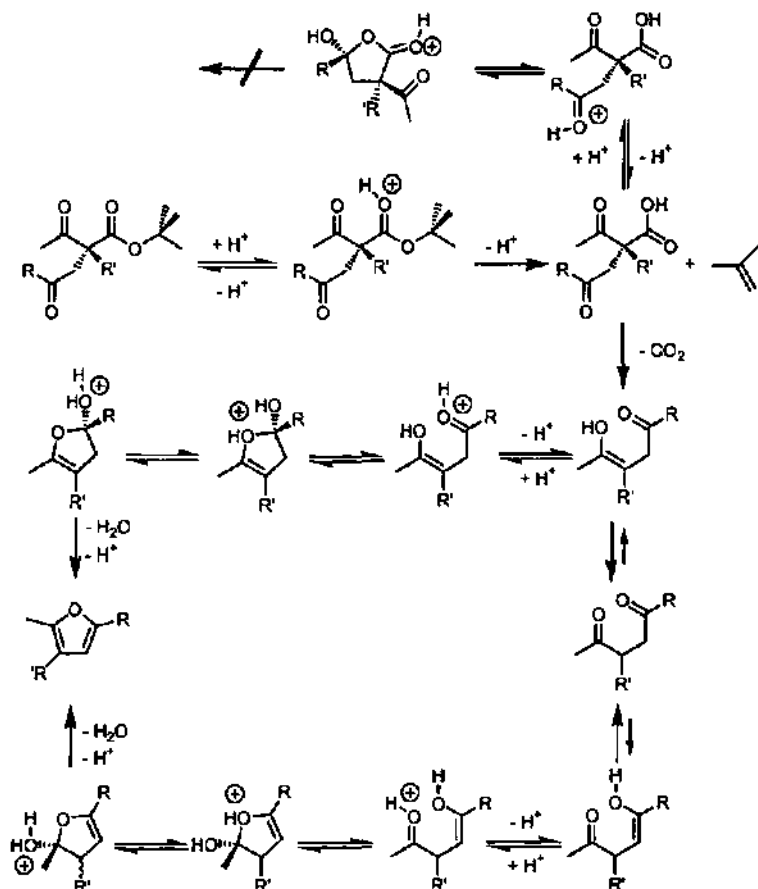


Figure A3.

Le 3-[2-(4-acétyl-5-hydroxyfuranyl)]propionate de méthyle (A4a) est non réactif vis-à-vis du *N*-phénylmaléimide et a été méthylé en présence de DBU avec un rendement de 91% pour donner le 3-[2-(4-acétyl-5-méthoxyfuranyl)]propionate de méthyle (A13) qui est toujours non réactif du fait du caractère électroattracteur du substituant acétyle. La réduction par un grand excès de borehydruure de sodium n'a pas lieu sur la cétone mais au niveau de l'ester et donne avec, un rendement de 67%, le 1-[3-[5-(3-hydroxypropyl)-2-méthoxyfuranyl]]éthanone (A14).

3.1.2 Partie expérimentale.

Synthèse des intermédiaires A3.

Dans un bicol de 50 ml sont introduits 1.1 éq. d'hydruure de sodium et 30 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 5 à 10 mmol d'acétoacétate de *tert*-butyle sont ajoutées goutte à goutte. Après 30 min, 1.1 éq. de α -

halogénocétone A2 (A2a : 5-bromolévulinate de méthyle; A2b : bromure de phénacyle; A2c : chloroacétone; A2d : α -bromopropiophénone) est ajouté sur 5 min. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et encore 14 h à T.a. (48 h pour la chloroacétone) puis est versé sur 30 ml d'une solution 1 M de HCl et augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le produit brut est purifié par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1 à 3 : 1).

6-*tert*-butyloxycarbonyl-4,7-dioxooctanoate de méthyle (A3a) : liquide incolore (92%); C₁₄H₂₂O₆ (286.32); HR-MS [M+Na]⁺ : 309.13090 (309.13085); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, KMnO₄) = 0.59; IR (film) : 2980m, 2955m, 2935m, 1741s, 1718vs, 1439m, 1408m, 1396m, 1369s, 1259s, 1201s, 1175s, 1147s, 1105m, 846m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.41 (s, 9H, H₃C(12-14)); 2.29 (s, 3H, H₃C(8)); 2.45-2.64 (m, 2H, H₂C(2)); 2.68-2.81 (m, 2H, H₂C(3)); 2.88 (dd, ²J_{5A-5B} = 18.3, ³J_{5A-6} = 5.7, 1H, H_AC(5)); 3.07 (dd, ²J_{5B-5A} = 18.2, ³J_{5B-6} = 8.3, 1H, H_BC(5)); 3.63 (s, 3H, H₃C(10)); 3.92 (dd, ³J_{6-5B} = 8.3, ³J_{6-5A} = 5.7, 1H, H_C(6)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.6 C(2); 27.7 C(12-14); 29.9 C(8); 36.8 C(3); 40.5 C(5); 51.7 C(10); 54.7 C(6); 82.3 C(11); 167.6 C(9); 172.9 C(1); 202.5 C(7), 206.1 C(4); MS (DCI) : 305 (17), 304 (100, [M+18]⁺), 287 (23, [M+1]⁺), 248 (68, [M+18-C₄H₈]⁺), 231 (45, [M+1-C₄H₈]⁺), 213 (21, [M+1-C₄H₁₀O]⁺), 187 (8, [M+1-C₅H₈O₂]⁺).

2-acétyl-4-oxo-4-phénylbutyrate de *tert*-butyle (A3b) : solide blanc (95%); C₁₆H₂₀O₄ (276.33) : C 69.71 (69.55), H 7.56 (7.30); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.61; IR (KBr) : 3006w, 2987m, 2919w, 1729vs, 1708s, 1648s, 1451m, 1421m, 1401m, 1369m, 1356m, 1333m, 1314m, 1283s, 1260m, 1210m, 1168s, 1136s, 844m, 756s, 691m; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) : 1.46 (s, 9H, H₃C(14-16)); 2.42 (s, 3H, H₃C(6)); 3.46 (dd, ²J_{3A-3B} = 18.4, ³J_{3A-2} = 5.1, 1H, H_AC(3)); 3.64 (dd, ²J_{3B-3A} = 18.4, ³J_{3B-2} = 8.2, 1H, H_BC(3)); 4.13 (dd, ³J_{2-3B} = 8.2, ³J_{2-3A} = 5.6, 1H, H_C(2)); 7.42-7.46 (m, 2H, H_C(9, 11)); 7.53-7.57 (m, 1H, H_C(10)); 7.95-7.98 (m, 2H, H_C(8, 12)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, DEPT) : 27.8 C(14-16); 30.2 C(6); 37.3 C(3); 54.9 C(2); 82.4 C(13); 128.1, 128.6 C(8, 12), C(9, 11); 133.3 C(10); 136.1 C(7); 167.9 C(1); 197.3, 202.9 C(4), C(5); MS (ESI(-)) : ms 275 [M-1]⁻, ms-ms (275) 201 [M-1-C₄H₁₀O]⁻, ms-ms-ms (275, 201) 173 [M-1-C₄H₁₀O-CO]⁻, 159 [M-1-C₄H₁₀O-C₂H₂O]⁻, 157, 131 [M-1-C₄H₁₀O-C₂H₂O-CO]⁻.

2-acétyllévulinate de *tert*-butyle (A3c) [233] : liquide incolore (60%); C₁₁H₁₈O₄ (214.26); R_f (AcOEt - hexane 1 : 1, KMnO₄) = 0.46; IR (film) : 3004w, 2980m, 2935w, 1739s, 1718vs, 1396m, 1370s, 1316m, 1259m, 1148s; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.38 (s, 9H, H₃C(9-11)); 2.11 (s, 3H, H₃C(5)); 2.27 (s, 3H, H₃C(7)); 2.83 (dd, ²J_{3A-3B} = 18.5, ³J_{3A-2} = 5.7, 1H, H_AC(3)); 3.01 (dd, ²J_{3B-3A} = 18.4, ³J_{3B-2} = 8.4, 1H, H_BC(3)); 3.86 (dd, ²J_{2-3B} = 8.1, ²J_{2-3A} = 5.8, 1H, H_C(2)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.7 C(9-11); 29.5, 29.9 C(5), C(7); 41.4 C(3); 54.7 C(2); 82.2 C(8); 167.7 C(1); 202.5 C(6), 205.7 C(4); MS (DCI) : 232 (36, [M+18]⁺), 215 (60, [M+1]⁺), 176 (86, [M+18-C₄H₈]⁺), 159 (100, [M+1-C₄H₈]⁺).

2-acétyl-3-benzoyl-butyrat de *tert*-butyle (A3d) : liquide incolore (94%, mélange de diastéréoisomères 61 : 39); C₁₇H₂₂O₄ (290.36) : C 70.60 (70.32), H 7.93 (7.64); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.65; IR (KBr) : minor. 3093w, 3066w, 3045w, 3031w, 3005m, 2982m, 2960w, 2936w, 2888w, 1732vs, 1716s, 1682vs, 1596m, 1579m, 1459m, 1451m, 1417m, 1394m, 1381m, 1366m, 1357m, 1279vs, 1235m, 1201m, 1157s, 1142s, 978s, 842m, 782m, 708s, 685m, 658m, 566m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : major. (61%) 1.17 (d, ³J_{4,3} = 7.2, 3H, H₃C(4)); 1.49 (s, 9H, H₃C(15-17)); 2.26 (s, 3H, H₃C(6)); 4.04 (d, ³J_{2,3} = 10.6, 1H,

HC(2)); 4.16 (*dq*, $^3J_{3,2} = 10.6$, $^3J_{3,4} = 7.1$, 1H, HC(3)); 7.42-7.47 (*m*, 2H, HC(10, 12)); 7.52-7.54 (*m*, 1H, HC(11)); 7.95-8.00 (*m*, 2H, HC(9, 13)); minor. (39%) 1.08 (*d*, $^3J_{4,3} = 7.1$, 3H, H₃C(4)); 1.30 (*s*, 9H, H₃C(15-17)); 2.36 (*d*, $^4J_{6,2} = 0.2$, 3H, H₃C(6)); 4.08 (*d*, $^3J_{2,3} = 10.7$, 1H, HC(2)); 4.21 (*dq*, $^3J_{3,2} = 10.7$; $^3J_{3,4} = 7.1$, 1H, HC(3)); 7.42-7.47 (*m*, 2H, HC(10, 12)); 7.52-7.54 (*m*, 1H, HC(11)); 7.95-8.00 (*m*, 2H, HC(9, 13)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR SR & LR) : major. 15.7 C(4); 27.7 C(15-17); 29.2 C(6); 40.3 C(3); 63.8 C(2); 82.3 C(14); 128.4, 128.5 C(9, 13), C(10, 12); 133.0 C(11); 135.5 C(8); 167.5 C(1); 201.7 C(5); 202.2 C(7); minor. 15.8 C(4); 27.5 C(15-17); 31.1 C(6); 39.8 C(3); 62.9 C(2); 82.1 C(14); 128.5, 128.5 C(9, 13), C(10, 12); 133.0 C(11); 135.6 C(8); 167.0 C(1); 202.0 C(7); 203.0 C(5); MS (ESI(-)) : ms 289 [M-1]⁺, ms-ms (289) 215 [M-1-C₄H₁₀O]⁺, ms-ms-ms (289, 215) 187 [M-1-C₄H₁₀O-CO]⁺, 173 [M-1-C₄H₁₀O-C₂H₂O]⁺, 145 [M-1-C₄H₁₀O-CO-C₂H₂O]⁺.

Synthèse des furane A4.

Dans un ballon de 25 ml sont introduits de 2.5 à 7 mmol de l'intermédiaire A3 et 5 à 10 ml d'acide trifluoroacétique 97%. La solution est agitée 1 h à T.a. puis est évaporée à sec et le résidu brun est préabsorbé sur silice et séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1 à 1 : 1). Une synthèse alternative est achevée utilisant les conditions de synthèse des furanes A6 avec des rendement similaire.

3-[2-(4-acétyl-5-hydroxyfuranyl)]propionate de méthyle (A4a) : solide blanc (87%); C₁₀H₁₂O₅ (212.20); HR-MS [M+H]⁺ : 213.07581 (213.07575); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, KMnO₄) = 0.35; IR (KBr) : 3600-2200m(br), 3119m, 3031m, 2957m, 2928m, 2624m, 1728vs, 1697s, 1679vs, 1616m, 1590s, 1467m, 1440s, 1393m, 1362m, 1322s, 1286s, 1237s, 1200s, 1167s, 1089s, 992m, 951m, 928m, 895m, 853m, 787m, 744m, 568m, 478m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.53 (*s*, 3H, H₃C(9)); 2.64 (*t*, $^3J_{2,3} = 7.6$, 2H, H₂C(2)); 2.90 (*t*, $^3J_{3,2} = 7.6$, 2H, H₂C(3)); 3.68 (*s*, 3H, H₃C(10)); 6.29 (*s*, 1H, HC(5)); 10.8-12.4 (*s*/?), 1H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 13.8 C(9); 23.0 C(3); 32.1 C(2); 51.8 C(10); 106.2 C(5); 113.3 C(6); 152.3 C(4); 159.7 C(8); 169.9 C(7); 172.7 C(1); MS (EI) : 212 (23, [M]⁺), 195 (3, [M-OH]⁺), 181 (2, [M-CH₃O]⁺), 152 (66, [M-C₂H₄O₂]⁺), 140 (11), 139 (100, [M-C₃H₅O₂]⁺), 121 (29, [M-C₃H₇O₃]⁺), 107 (10), 106 (12), 93 (11), 92 (18), 91 (26), 90 (14), 88 (19), 87 (15), 79 (20), 78 (12), 77 (12), 76 (10), 73 (20), 70 (49), 69 (15), 65 (10), 61 (66), 59 (12), 55 (22).

1-[3-(2-hydroxy-5-phényl)furanyl]éthanone (A4b) : solide blanc (67%); C₁₂H₁₀O₃ (202.21); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, KMnO₄) = 0.49; p.f. = 176°C (lit. [234] 111°C); IR (KBr) : 3400-2200m(br), 3058m, 3038m, 2863m, 2619m, 1685vs, 1615s, 1605m, 1587m, 1563m, 1491m, 1471m, 1446m, 1312m, 1296m, 1275m, 1238m, 1104m, 1027m, 944m, 929m, 777m, 758s, 714m, 687m, 660m, 577m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.69 (*s*, 3H, H₃C(2)); 6.93 (*s*, 1H, HC(5)); 7.27-7.31 (*m*, 1H, HC(10)); 7.37-7.42 (*m*, 2H, HC(9, 11)); 7.64-7.67 (*m*, 2H, HC(8, 12)); 9.5-11.3 (*s*/?), 1H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 14.0 C(2); 105.4 C(5); 114.7 C(4); 123.7 C(8, 12); 127.7 C(10); 128.7 C(9, 11); 129.8 C(7); 152.1 C(6); 160.3 C(1); 169.9 C(3); MS (ESI(-)) : ms 201 (23, [M-1]⁺) ms-ms (201) 157 [M-1-CO₂]⁺.

1-[3-(2-hydroxy-5-méthyl)furanyl]éthanone (A4c) : solide blanc (77%); C₇H₈O₃ (140.14); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, KMnO₄) = 0.50; IR (KBr) : 3400-2100m(br), 3130m, 3036m, 2954m, 2925m, 2714m, 2637m, 1685vs, 1619m, 1586s, 1437s, 1389m, 1365m, 1304s, 1239s, 1220s, 1134m, 1087s, 1004m, 983m, 928s, 829m, 784s, 717m, 555m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.25 (*d*, $^4J_{2,5} = 0.5$, 3H, H₃C(7)); 2.55 (*s*, 3H, H₃C(2)); 6.24 (*d*, $^4J_{5,7} = 1.0$, 1H, HC(5)); 10.8-

12.2 (s(l), 1H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 13.1 C(7); 13.8 C(5); 106.3 C(5); 113.4 C(4); 150.3 C(6); 159.4 C(1); 170.3 C(3); MS (EI) : 141 (10), 140 (100, [M]⁺), 125 (10, [M-CH₃]⁺), 123 (20), 122 (27, [M-H₂O]⁺), 121 (17), 97 (10), 96 (13), 95 (27, [C₆H₇O]⁺), 81 (10), 80 (11), 74 (11), 72 (11), 71 (17), 70 (26), 68 (12), 67 (11), 66 (14), 62 (47), 61 (10), 58 (13), 56 (19).

1-[3-(2-hydroxy-4-méthyl-5-phényl)furanyl]éthanone (A4d) : solide blanc (75%); C₁₃H₁₂O₃ (216.24) : C 72.30 (72.21), H 5.59 (5.72); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.54; IR (KBr) : 3300-2100m(br), 2966m, 2920m, 2870m, 2678m, 2613m, 2555m, 1677vs, 1612m, 1578m, 1562m, 1496m, 1464m, 1447s, 1378m, 1324m, 1312m, 1255m, 1118s, 1072m, 1016m, 939m, 764s, 694m, 669m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.30 (s, 3H, H₃C(7)); 2.55 (s, 3H, H₃C(2)); 7.20-7.33 (m, 1H, HC(11)); 7.42-7.46 (m, 2H, HC(10, 12)); 7.54-7.66 (m, 2H, HC(9, 13)); 12.62 (s, 1H, HO); ¹³C-NMR (100 MHz, d₆-DMSO, HETCOR SR & LR) : 10.8 C(7); 14.3 C(2); 115.7 C(4); 117.0 C(5); 125.8 C(9, 13); 127.5 C(11); 128.9 C(10, 12); 130.5 C(8); 147.1 C(6); 158.0 C(1); 165.5 C(3); MS (ESI(-)) : ms 215 [M-H]⁻, ms-ms (215) 171 [M-H-CO₂]⁻, ms-ms-ms (215, 171) 156 [M-H-CO₂-CH₃]⁻.

Synthèse alternative du 1-[3-(2-hydroxy-5-méthyl)furanyl]éthanone (A4c).

Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 500 mg (2.01 mmol) de benzyloxyester A7, 40 ml de dichlorométhane, 50 mg de palladium sur charbon actif 10% et 4 ml d'acide trifluoroacétique 97%. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécaniquement pendant 15 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé au dichlorométhane puis le filtrat est évaporé à sec, le résidu est préabsorbé sur silice et séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 2 : 1). Sont obtenus 205 mg (73%) d'un solide orangé.

Synthèse du 6-benzyle-6-*tert*-butyloxycarbonyl-4,7-dioxooctanoate de méthyle (A5a).

Dans un bicol de 50 ml sont introduits 106 mg (4.4 mmol) d'hydruure de sodium et 30 ml de tétrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 1.15 g (4 nmol) de 6-*tert*-butyloxycarbonyl-4,7-dioxooctanoate de méthyle (A3a) sont ajoutés goutte à goutte. Après 1 h, 753 mg (4.4 mmol) de bromure de benzyle sont ajoutés sur 5 min. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et encore 15 h à T.a. puis est porté 2 h à reflux avant d'être versé sur 30 ml d'eau et être augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le produit brut est purifié par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1) pour donner 840 mg (56%) d'un liquide incolore.

C₂₁H₂₈O₆ (376.45); HR-MS [M+Na]⁺ : 399.17799 (399.17780); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.58; IR (film) : 3088w, 3064w, 3030w, 3978m, 2953w, 2932w, 1739s, 1714vs, 1455m, 1438m, 1407m, 1395m, 1369s, 1277m, 1252m, 1208m, 1149s, 1101m, 1081m, 849m, 704m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.44 (s, 9H, H₃C(19-21)); 2.37 (s, 3H, H₃C(8)); 2.51-2.57 (m, 2H, H₂C(2)); 2.59-2.69 (m, 2H, H₂C(3)); 2.90 (d, ²J_{3A-5B} = 18.6, 1H, H_AC(5)); 2.97 (d, ²J_{5B-5A} = 18.6, 1H, H_BC(5)); 3.22 (d, ²J_{9A-9B} = 13.9, 1H, H_AC(9)); 3.43 (d, ²J_{9B-9A} = 13.9, 1H, H_BC(9)); 3.67 (s, 3H, H₃C(17)); 6.99-7.02 (m, 2H, HC(11, 15)); 7.21-7.29 (m, 3H, HC(12-14)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 27.1 C(8); 27.4 C(2); 27.6 C(19-21); 36.9 C(3); 38.8 C(9); 45.0 C(5); 51.7 C(17); 62.7 C(6); 127.0 C(13); 128.4 C(12,14); 129.8 C(11,15); 136.2 C(10); 169.9 C(16); 172.8 C(1); 205.0 C(7), 206.3 C(4); MS (ESI(+)) : ms

399 $[M+Na]^+$, ms-ms (399) 243 $[M+Na-C_4H_8]^+$, ms-ms-ms (399, 343) 299 $[M+Na-C_4H_8-CO_2]^+$.

Synthèse des intermédiaires A5b, c.

Dans un bicol de 25 ml est introduit 1.1 éq. d'hydruure de sodium et 20 ml de tetrahydrofurane. La suspension est refroidie par un bain de glace et 3.5 à 4.5 mmol de l'intermédiaire A3 sont ajoutés goutte à goutte. Après 1 h, 1.1 éq. de bromoacétate de méthyle est ajouté sur 5 min. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et encore 15 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'eau et est augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Le produit brut est purifié par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1 à 3 : 1)

3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonyl-5-oxo-5-phénylpentanoate de méthyle (A5b) : liquide incolore (89%); $C_{19}H_{24}O_6$ (348.40); HR-MS $[M+Na]$: 371.146597 (371.146502); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+ $KMnO_4$) = 0.65; IR (film) : 3062m, 2979s, 2954m, 1733vs, 1687s, 1598m, 1450s, 1438s, 1413m, 1395s, 1370s, 1354s, 1319s, 1289s, 1219s, 1153s, 1100m, 1076m, 1043m, 1004m, 847s, 756s, 691s; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : 1.39 (s, 9H, $H_3C(17-19)$); 2.29 (s, 3H, $H_3C(7)$); 3.13 (d, $^2J_{2A-2B} = 16.9$, 1H, $H_A C(2)$); 3.23 (d, $^2J_{2B-2A} = 16.9$, 1H, $H_B C(2)$); 3.59 (s, 3H, $H_3C(15)$); 3.79 (d, $^2J_{4A-4B} = 18.6$, 1H, $H_A C(4)$); 3.86 (d, $^2J_{4B-4A} = 18.6$, 1H, $H_B C(4)$); 7.40-7.45 (m, 2H, HC(11, 13)); 7.52-7.56 (m, 1H, HC(12)); 7.92-7.95 (m, 2H, HC(10, 14)); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, HETCOR) : 26.0 C(7); 27.1 C(17-19); 37.0 C(2); 41.7 C(4); 51.3 C(15); 59.6 C(3); 127.7 C(10, 14); 128.2 C(11, 13); 133.0 C(12); 136.0 C(9); 168.5 C(8); 171.2 C(1); 196.8 C(5); 202.8 C(6); MS (ESI(-)) : ms 347 $[M-1]$, 275 $[M-C_4H_9O]$, msms (347) 273 $[M-1-C_4H_{10}O]$, ms-ms (347, 273) 241 $[M-1-C_4H_{10}O-CH_4O]$, ms-ms-ms (347, 273, 241) 197 $[M-1-C_4H_{10}O-CH_4O-C_2H_4O]$.

3-acétyl-3-*tert*-butyloxycarbonyl-5-oxo-hexanoate de méthyle (A5c) : liquide incolore (88%); $C_{14}H_{22}O_6$ (286.32); HR-MS $[M+Na]$: 309.13076 (309.13085); R_f (AcOEt - hexane 1 : 1, $KMnO_4$) = 0.43; IR (film) : 2980s, 2955s, 2935m, 1737s, 1718vs, 1438s, 1438m, 1369s, 1317s, 1288s, 1251s, 1156s, 1106s, 1088s, 1046m, 1019s, 895m, 847s, 508s, 493s, 418s; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : 1.40 (s, 9H, $H_3C(12-14)$); 2.12 (s, 3H, $H_3C(6)$); 2.22 (s, 3H, $H_3C(8)$); 3.01 (d, $^2J_{2A-2B} = 16.7$, 1H, $H_A C(2)$); 3.07 (d, $^2J_{2B-2A} = 16.6$, 1H, $H_B C(2)$); 3.19 (d, $^2J_{4A-4B} = 18.6$, 1H, $H_A C(4)$); 3.25 (d, $^2J_{4B-4A} = 18.6$, 1H, $H_B C(4)$); 3.61 (s, 3H, $H_3C(10)$); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, HETCOR) : 26.5 C(8); 27.5 C(12-14); 30.0 C(6); 37.4 C(2); 46.4 C(4); 51.7 C(10); 59.7 C(3); 82.6 C(11); 168.8 C(9); 171.4 C(1); 203.3 C(7); 205.7 C(5); MS (EI) : 304 (46, $[M+18]^+$), 287 (48, $[M+1]^+$), 248 (86, $[M+18-C_4H_8]^+$), 231 (100, $[M+1-C_4H_8]^+$), 213 (43, $[M-C_4H_9O]^+$), 187 (28, $[M+1-C_5H_8O_2]^+$), 171 (11), 170 (96, $[C_9H_{14}O_3]^+$), 169 (56), 155 (22, $[C_8H_{11}O_3]^+$), 142 (21), 138 (11), 127 (56, $[C_7H_{11}O_2]^+$), 112 (11), 111 (18), 110 (23), 59 (10), 58 (25), 57 (78), 56 (17), 55 (15).

Synthèse des furanes A6.

Dans un bicol de 25 ml sont introduits 2 à 3.5 mmol d'intermédiaire A5 et 10 ml de dichlorométhane. Après refroidissement de la solution par un bain de glace, 1 ml d'acide trifluoroacétique 97% est ajouté et le milieu réactionnel est agité 1 h à cette température et 15h à T.a. puis est évaporé à sec et le résidu brun liquide obtenu est séparé par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 5 : 1).

3-[2-(4-benzyl-5-méthyl)furanyl]propionate de méthyle (A6a) : liquide orange (71%); $C_{16}H_{18}O_3$ (258.32); HR-MS [M+H] : 259.13294 (259.13287); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.65; IR (film) : 3085w, 3063w, 3028w, 2952w, 2921m, 2852w, 1741vs, 1580m, 1495m, 1454m, 1438s, 1367m, 1202s, 1172s, 1101m, 1072m, 1030m, 994m, 729m, 701m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.25 (s, 3H, H₃C(15)); 2.66 (t, ³J₂₋₃ = 7.7, 2H, H₂C(2)); 2.91 (t, ³J₃₋₂ = 7.6, 2H, H₂C(3)); 3.67 (s, 3H, H₃C(8)); 3.71 (s, 3H, H₃C(16)); 5.80 (s, 1H, HC(5)); 7.19-7.24 (m, 3H, HC(10, 14), C(12)); 7.28-7.39 (m, 2H, HC(11, 13)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR SR + LR) : 11.4 C(15); 23.4 C(3); 31.1 C(8); 32.6 C(2); 51.7 C(16); 107.6 C(5); 118.2 C(6); 125.9 C(12); 128.3, 128.3 C(11, 13), C(10, 14); 140.9 C(9); 146.2 C(7), 151.2 C(4); 173.6 C(1).

3-(2-méthyl-5-phényl)furanylacétate de méthyle (A6b) : liquide orange (67%); $C_{14}H_{14}O_3$ (230.26); HR-MS (EI) [M] : 230.0933 (230.0937); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+KMnO₄) = 0.62; IR (film) : 3060w, 3030w, 2997w, 2952m, 2920w, 2847w, 1741vs, 1602m, 1556m, 1488m, 1436m, 1336m, 1267m, 1231m, 1196s, 1164s, 1104m, 1012m, 932m, 761s, 693m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 2.33 (s, 3H, H₃C(7)); 3.41 (s, 2H, H₂C(2)); 3.72 (s, 3H, H₃C(14)); 6.61 (s, 1H, HC(5)); 7.23 (m, ³J_{11-10, 12} = 7.4, 1H, HC(11)); 7.37 (t, ³J₁₀₋₉ = ³J₁₂₋₁₁ = ³J_{10, 12-11} = 7.7, 2H, HC(10, 12)); 7.65 (d, ³J_{9, 10} = ³J₁₃₋₁₂ = 7.6, 2H, H₂C(9, 13)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 11.4 C(7); 30.7 C(12); 51.8 C(14); 107.3 C(5); 113.7 C(4); 123.1 C(9, 13); 126.7 C(11); 128.4 C(10, 12); 130.7 C(8); 148.5, 151.3 C(3), C(6); 171.6 C(1).

3-(2,5-diméthyl)furanylacétate de méthyle (A6c) : liquide orange (71%); $C_9H_{12}O_3$ (168.19); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, KMnO₄) = 0.65; IR (film) : 2953m, 2925s, 2856m, 1742vs, 1586m, 1437s, 1333m, 1271s, 1229s, 1174s, 1100m, 1009s, 933m, 927m, 799m; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) : 2.19, 2.22 (s, 3H, H₃C(7)), (s, 3H, H₃C(8)); 3.30 (s, 2H, H₂C(2)); 3.69 (s, 3H, H₃C(9)); 5.87 (s, 1H, HC(5)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) : 11.3, 13.3 C(7), C(8); 30.9 C(2); 51.9 C(9); 107.7 C(5); 112.0 C(4); 146.8, 149.5 C(3), C(6); 172.1 C(1).

Hydrolyse PLE dans tampon phosphate 0.1 M, pH 7.8 donne l'acide 3-(2,5-diméthyl)furanylacétique après flash-colonne chromatographique (CH₂Cl₂-MeOH 95 : 5) [235] : liquide verdâtre (55%); ¹H-NMR (200 MHz, COCl₂) : 2.19, 2.22 (s, 3H, H₃C(7)), (s, 3H, H₃C(8)); 3.34 (s, 2H, H₂C(2)); 5.88 (s, 1H, HC(5)).

Synthèse du 2-acétyllévalinate de benzyle (A7) (voir 223 = A7).

Synthèse du 3-*tert*-butyloxy-carbonyllévalinate de méthyle (A8).

Dans un bicol de 25 ml sont introduits 264 mg (11 mmol) d'hydruure de sodium et 20 ml de tétrahydrofurane. Après refroidissement par un bain de glace de la suspension, 1.58 g (10 mmol) d'acétoacétate de *tert*-butyle est ajouté goutte à goutte. Après 30 min, 1.68 g (11 mmol) de bromoacétate de méthyle est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 1 h à 0°C et encore 14 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'eau et est augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 2.37 g (>100%) d'une huile qui est séparée par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 4 : 1) pour donner 1.59 g (69%) d'un liquide incolore.

$C_{11}H_{18}O_5$ (230.26); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, KMnO₄) = 0.60; Eb. (0.05 mmHg) = 80-90°C; IR (film) : 2981s, 2956m, 1747s, 1738s, 1733vs, 1717s, 1479m, 1456m, 1439s, 1411m,

1395m, 1371s, 1323s, 1259s, 1148s, 1029m, 1005m, 846m; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : 1.39 (s, 9H, $\text{H}_3\text{C}(9-11)$); 2.27 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(5)$); 2.71 (dd, $^2J_{2\text{A}-2\text{B}} = 17.5$, $^3J_{2\text{A}-3} = 6.5$, 1H, $\text{H}_\text{A}\text{C}(2)$); 2.83 (dd, $^2J_{2\text{B}-2\text{A}} = 17.5$, $^3J_{2\text{B}-3} = 8.1$, 1H, $\text{H}_\text{B}\text{C}(2)$); 3.59 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(7)$); 3.83 (dd, $^3J_{3,2\text{B}} = 8.0$, $^2J_{3-2\text{A}} = 6.5$, 1H, $\text{HC}(3)$); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , DEPT) : 27.6 C(9-11); 29.7 C(5); 31.9 C(2); 51.7 C(7); 55.5 C(3); 82.4 C(8); 167.2 C(6); 171.8 C(1); 201.9 C(4); MS (ESI(+)) : ms 253 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, ms-ms (253) $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$.

Synthèse du 2-méthoxycarbonyl-4-oxo-4-phénylbutyrate de *tert*-butyle (A9).

Dans un bicol de 50 ml sont introduits 4.1 g (30 mmol) de chloroformylacétate de méthyle et 40 ml dichlorométhane. La solution est refroidie par un bain de glace et 2.45 g (33 mmol) de *tert*-butanol sont ajoutés puis sur 30 min 3.34 g (33 mmol) de triéthylamine. Le milieu réactionnel est agité 1 h à 0°C et 15 h à T.a. puis versé sur 40 ml d'une solution aqueuse 1 M d'acide chlorhydrique. La phase aqueuse est extraite avec 40 ml de dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec 30 ml d'une solution aqueuse 1 M d'acide chlorhydrique, séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 4.86 g (93%) d'un liquide brun qui est purifié par distillation au four à boules pour donner 4.25 g (81%) de malonate de *tert*-butyle et méthyle sous forme d'un liquide incolore. $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) : 1.44 (s, 9H, $\text{H}_3\text{C}(5-7)$); 3.27 (s, 2H, $\text{H}_2\text{C}(2)$); 3.71 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(8)$); $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) 27.8 C(5-7); 42.6 C(2); 52.3 C(8); 82.0 C(4); 165.7 C(1); 167.4 C(3).

Dans un bicol de 50 ml sont introduits 264 mg (11 mmol) d'hydruure de sodium et 25 ml de tétrahydrofurane. Après refroidissement par un bain de glace de la suspension, 1.74 g (10 mmol) de malonate de *tert*-butyle et méthyle est ajouté goutte à goutte. Après 30 min, 2.19 g (11 mmol) de bromure de phénacyle sont ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et encore 15 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'eau et est augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 3.0 g (>100%) d'un liquide qui est séparée par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1) pour donner 2.16 g (74%) d'un liquide incolore.

$\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_5$ (292.33); HR-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$: 293.13805 (293.13835); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, UV+ KMnO_4) = 0.61; IR (film) : 3062w, 2980m, 2954w, 2934w, 1748s, 1732vs, 1688s, 1450m, 1437m, 1395m, 1370s, 1343m, 1285s, 1255s, 1219m, 1148s, 846m, 762m, 691m; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) : 1.40 (s, 9H, $\text{H}_3\text{C}(13-15)$); 3.48 (dd, $^2J_{3\text{A}-3\text{B}} = 18.2$, $^3J_{3\text{A}-2} = 7.3$, 1H, $\text{H}_\text{A}\text{C}(3)$); 3.53 (dd, $^2J_{3\text{B}-3\text{A}} = 18.1$, $^3J_{3\text{B}-2} = 7.0$, 1H, $\text{H}_\text{B}\text{C}(3)$); 3.68 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C}(16)$); 3.92 (t, $^3J_{2-3\text{B}} \equiv ^3J_{2-3\text{A}} = 7.1$, 1H, $\text{HC}(2)$); 7.33-7.40 (m, 2H, $\text{HC}(8, 10)$); 7.46-7.50 (m, 1H, $\text{HC}(9)$); 7.88-7.91 (m, 2H, $\text{HC}(7, 11)$); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , DEPT) : 27.5 C(13-15); 37.5 C(3); 47.7 C(2); 52.2 C(16); 81.8 C(12); 127.8 C(7, 11); 128.3 C(8, 10); 133.1 C(9); 135.8 C(6); 167.6 C(1); 169.5 C(5); 196.2 C(4); MS (ESI) : ms 315 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, ms-ms (315) 259 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$, ms-ms (315, 259) 215 $[\text{M}+\text{Na}-\text{C}_4\text{H}_8-\text{CO}_2]^+$.

Synthèse de l'acide 2-méthoxycarbonyl-4-oxo-4-phénylbutyrique (A10).

Dans un bicol de 25 ml est introduit 1.46 g (5 mmol) d'intermédiaire A9 et 10 ml de dichlorométhane. Après refroidissement de la solution par un bain de glace, 1 ml d'acide trifluoroacétique 97% est ajouté et le milieu réactionnel est agité 1 h à cette température et 15h à T.a. puis est évaporé à sec. Est obtenu 1.36 g (>100%) du résidu brun qui est séparé par flash-colonne chromatographique (AcOEt - hexane 5 : 1) pour donner 960 mg (81%) d'un solide blanc.

$C_{12}H_{12}O_5$ (236.22); R_f (CH_2Cl_2 - MeOH 8 : 2, UV+ $KMnO_4$) = 0.37; p.f. = 100°C; IR (KBr) : 3700-2300(*m*), 3059*m*, 3027*m*, 2959*m*, 2936*m*, 2753*m*, 2649*m*, 2594*m*, 1743*vs*, 1704*vs*, 1686*vs*, 1598*m*, 1581*m*, 1450*s*, 1435*s*, 1409*m*, 1362*m*, 1336*s*, 1317*m*, 1268*s*, 1221*s*, 1203*s*, 1183*s*, 1175*s*, 1098*m*, 1001*m*, 980*m*, 956*m*, 910*m*, 758*s*, 685*s*, 659*m*, 553*m*; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : 3.64 (*dd*, $^2J_{3A-3B}$ = 18.3, $^3J_{3A-2}$ = 6.9, 1H, H_A (3)); 3.70 (*dd*, $^2J_{3B-3A}$ = 18.3, $^3J_{3B-2}$ = 6.8, 1H, H_B (3)); 3.79 (*s*, 3H, H_3 (12)); 4.09 (*t*, $^2J_{2-3A}$ = $^2J_{2-3B}$ = 6.9, 1H, HC(2)); 7.41-7.49 (*m*, 2H, HC(8, 10)); 7.53-7.60 (*m*, 1H, HC(9)); 7.94-7.98 (*m*, 2H, HC(7, 11)); 10.4-10.8 (*s*(*l*), 1H, HO); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, DEPT) : 37.7 C(3); 46.6 C(2); 53.0 C(12); 128.1 C(7, 11); 128.7 C(8, 10); 133.7 C(9); 135.7 C(6); 169.3 C(5); 174.0 C(1); 196.3 C(4); MS (ESI(-)) : *m*s 235 [M-1]⁻ faible, 191 [M-1-CO₂]⁻, *m*s-*m*s (235) 203 [M-1-CH₃O]⁻, *m*s-*m*s (191) 159 [M-1-CH₃O-CO₂]⁻, *m*s-*m*s-*m*s (235, 203) 159 [M-1-CH₃O-CO₂]⁻, *m*s-*m*s-*m*s (191, 159) 131 [M-1-CH₃O-CO₂-CO]⁻.

Synthèse du 3-acétyl-3-benzoyloxycarbonyl-5-oxohexanoate de méthyle (A11).

Dans un bicol de 25 ml sont introduits 128 mg (5.32 mmol) d'hydrure de sodium et 20 ml de tétrahydrofurane. Après refroidissement par un bain de glace de la suspension, 1.2 g (4.83 mmol) de 2-acétyllévulinate de benzyle (A7) est ajouté goutte à goutte. Après 1 h, 813 mg (5.32 mmol) de bromoacétate de méthyle sont ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C et encore 15 h à T.a. puis est versé sur 20 ml d'une solution aqueuse 10% de $KHCO_3$ et est augmenté de 50 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec 2 fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Est obtenu 1.44 g (98%) d'un liquide qui est séparé par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 5 : 1) pour donner 930g (60%) d'un liquide incolore.

$C_{17}H_{20}O_6$ (320.35); HR-MS [M+Na]⁺ : 343.1150 (343.1152); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.52; IR (film) : 3066*w*, 3034*w*, 3004*w*, 2955*m*, 2849*w*, 1733*vs*, 1456*m*, 1438*m*, 1417*m*, 1360*s*, 1282*s*, 1246*s*, 1201*s*, 1170*s*, 1102*m*, 1087*m*, 1047*m*, 1003*m*, 754*m*, 700*m*; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : 2.11 (*s*, 3H, H_3 (6)); 2.18 (*s*, 3H, H_3 (8)); 3.09 (*d*, $^2J_{2A-2B}$ = 16.8, 1H, H_A (2)); 3.16 (*d*, $^2J_{2B-2A}$ = 16.8, 1H, H_B (2)); 3.28 (*d*, $^2J_{4A-4B}$ = 18.7, 1H, H_A (4)); 3.33 (*d*, $^2J_{4B-4A}$ = 18.5, 1H, H_B (4)); 3.57 (*s*, 3H, H_3 (10)); 5.11 (*d*, $^2J_{11A-11B}$ = 16.3, 1H, H_A (11)); 5.14 (*d*, $^2J_{11B-11A}$ = 16.3, 1H, H_B (11)); 7.26-7.36 (*m*, 5H, HC(13-17)); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, HETCOR) : 26.6 C(8); 29.9 C(6); 37.3 C(2); 46.3 C(4); 51.8 C(10); 59.0 C(3); 67.7 C(11); 128.3, 128.5 C(13, 17), C(14, 16); 128.3 C(15); 134.9 C(12); 169.8 C(9); 171.2 C(1); 202.5 C(7); 205.6 C(5); MS (ESI(-)) : *m*s 319 [M-1]⁻, *m*s-*m*s (319) 211 [M-1-C₇H₅O]⁻, *m*s-*m*s-*m*s (319, 211) 179 [M-1-C₇H₅O-CH₃O]⁻, *m*s-*m*s-*m*s-*m*s (319, 211, 179) 151 [M-1-C₇H₅O-CH₃O-CO]⁻.

Synthèse du 3-acétyl-5-oxohexanoate de méthyle (A12).

Dans un réacteur pour réaction sous pression de 500 ml sont introduits 304 mg (1 mmol) de benzyle ester A11, 20 ml de dichlorométhane, 30 mg de palladium sur charbon actif 10% et 2 ml de méthanol. Le milieu réactionnel est placé sous une pression constante de 4 bar d'hydrogène et agité mécanique pendant 24 h. Le milieu réactionnel est filtré sur célite et le catalyseur est lavé au dichlorométhane puis le filtrat est évaporé à sec. Sont obtenus 290 mg (>100%) d'un liquide qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 3 : 1) pour donner 143 mg (77%) d'un liquide incolore.

$C_9H_{14}O_4$ (186.20); R_f (AcOEt - hexane 2 : 1, $KMnO_4$) = 0.35; IR (film) : 3003w, 2956m, 2922w, 2853w, 1738s, 1713vs, 1439s, 1363s, 1271m, 1210s, 1162s, 1013m; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : 2.09, 2.21 (s, 3H, $H_3C(6)$), (s, 3H, $H_3C(8)$); 2.35 (dd, $^2J_{2A-2B} = 16.5$, $^3J_{2A-3} = 6.7$, 1H, $H_A(2)$); 2.51 (dd, $^2J_{4A-4B} = 18.2$, $^3J_{4A-3} = 5.4$, 1H, $H_A(4)$); 2.58 (dd, $^2J_{2B-2A} = 16.5$, $^3J_{2B-3} = 7.1$, 1H, $H_B(2)$); 3H, $H_3C(12)$); 2.85 (dd, $^2J_{4B-4A} = 18.2$, $^3J_{4B-3} = 8.0$, 1H, $H_B(4)$); 3.27-3.42 (m, 1H, HC(3)); 3.61 (s, 3H, $H_3C(9)$); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, HETCOR) : 29.1, 29.7 C(8), C(6); 34.9 C(2); 42.8 C(3); 44.3 C(4); 128.7 C(8, 10); 133.7 C(9); 135.7 C(6); 169.3 C(5); 174.0 C(1); 196.3 C(4); MS (ESI(-)) : ms 235 [M-1] faible, 191 [M-1-CO₂], ms-ms (235) 203 [M-1-CH₄O], ms-ms (191) 159 [M-1-CH₄O-CO₂], ms-ms-ms (235, 203) 159 [M-1-CH₄O-CO₂], ms-ms-ms (191, 159) 131 [M-1-CH₄O-CO₂-CO], ms-ms-ms-ms (235, 203, 159) 131 [M-1-CH₄O-CO₂-CO].

3-[2-(4-acétyl-5-méthoxyfuranyl)]proionate de méthyle (A13).

Dans un bicol de 50 ml sont introduits 120 mg (5.0 mmol) d'hydrure de sodium et 15 ml de tétrahydrofurane. Après refroidissement par un bain de glace, une solution de 970 mg (4.57 mmol) de furane A4a dans 15 ml de tétrahydrofurane est ajoutée goutte à goutte. Après 15 min, 4.5 ml de 1,3-diméthyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinone sont ajoutés. Après 15 min, 2.14 g (15 mmol) de iodométhane sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité 2 h à 0°C est 3 h à T.a. puis est versé sur 30 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl et augmenté de 75 ml de diéthyléther. La phase aqueuse est extraite avec deux fois 50 ml de diéthyléther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur $MgSO_4$, filtrées et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 3.77 g d'une huile qui est séparée par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 2 : 1) pour donner 940 mg (91%) d'un liquide incolore qui cristallise en un solide blanc.

$C_{11}H_{14}O_5$ (226.23); R_f (AcOEt - hexane 3 : 1, $KMnO_4$) = 0.65; p.f. = 34°C; IR (film) : 3114m, 2956m, 2921m, 2856w, 1725vs, 1719s, 1614m, 1586s, 1439s, 1417m, 1386m, 1328m, 1264s, 1226s, 1208s, 1190m, 1162s, 1080s, 997m, 946m, 898m, 842m, 816m, 782m, 459m; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : 2.49 (s, 3H, $H_3C(9)$); 2.60 (t, $^2J_{2-3} = 7.6$, 2H, $H_2C(2)$); 2.87 (t, $^2J_{3-2} = 7.5$, 2H, $H_2C(3)$); 3.66 (s, 3H, $H_3C(10)$); 3.76 (s, 3H, $H_3C(11)$); 6.23 (s, 1H, HC(5)); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$, HETCOR) : 13.5 C(9); 23.0 C(3); 32.1 C(2); 51.1 C(11); 51.7 C(10); 106.0 C(5); 113.6 C(6); 151.9 C(4); 158.1 C(8); 164.5 C(7); 172.6 C(1); MS (DCI) : 245 (17), 244 (100, [M+18]⁺), 227 (49, [M+1]⁺), 226 (18), 195 (18, [M-CH₃O]⁺), 56 (16), 55 (23).

1-{3-[5-(3-hydroxypropyl)-2-méthoxyfuranyl]}éthanone (A14).

Dans un bicol de 25 ml sont introduits 200 mg (0.88 mmol) du furane A13 et 10 ml de méthanol. Le milieu réactionnel est refroidi par un bain de glace et 67 mg (1.77 mmol) de

sodium borohydride sont ajoutés puis après 2 h, 67 mg (1.77 mol) supplémentaire et après 2 h encore 201 mg (5.31 mmol). Le milieu réactionnel est agité 18 h à T.a. et le solvant est évaporé. Le résidu est repris dans 50 ml de dichlorométhane, lavé avec 20 ml d'eau, 20 ml d'une solution aqueuse 1 M d'acide chlorhydrique et 20 ml d'une solution aqueuse saturée de NaCl. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et le solvant est éliminé par évaporation rotative. Sont obtenus 174 mg (99%) d'une huile qui sont séparés par flash-colonne chromatographique (hexane - AcOEt 2 : 1) pour donner 136 mg (78%) d'un liquide incolore.

C₁₈H₂₄O₄ (198.22); HR-MS [M+Na]⁺ : 221.0756 (221.0784); R_t (AcOEt - hexane 3 : 1, UV+KMnO₄) = 0.33; IR (film) : 3700-2900m(br) (3423), 2952m, 2878w, 1718vs, 1620m, 1587m, 1443s, 1398m, 1371m, 1293m, 1272m, 1231s, 1131m, 1089s, 779m; ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) : 1.86 (t, ³J_{8,7} = 7.4, ³J_{8,9} = 6.4, 2H, H₂C(8)); 2.50 (s, 3H, H₃C(2)); 2.65 (t, ³J_{7,8} = 7.5, 2H, H₂C(7)); 3.66 (t, ³J_{9,8} = 6.3, 2H, H₂C(9)); 3.78 (s, 3H, H₃C(10)); 6.22 (s, 1H, HC(5)); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, HETCOR) : 13.6 C(2); 23.9 C(7); 30.6 C(8); 51.2 C(10); 105.7 C(5); 113.5 C(4); 153.5 C(6); 157.9 C(1); 164.7 C(3); MS (ESI(+)) : ms 199 [M+1]⁺, 197 ms-ms (199) 167 [M+1-CH₄O]⁺, ms-ms-ms (199, 167) 139 [M+1-CH₄O-CO]⁺, ms-ms-ms-ms (199, 167, 139) 121 [M+1-CH₄O-CO-H₂O]⁺, 111 [M+1-CH₄O-2CO]⁺.

3.2 Synthèse de l'acide 3-(diméthyl-4-méthoxycarbonylméthyl)phénylsilylpropionique (N9) à partir de l'acide 3-(diméthyl-4-hydroxyméthylphénylsilyl)propionique (N1).

La transformation que nous avons eu à effectuer impliquait l'ajout d'un atome de carbone pour passer d'un dérivé *para*-substitué du benzyle alcool N1 à un dérivé *para*-substitué du phénylacétate de méthyle N9 (schéma A3) partant d'une masse de 20 g de produit de départ pour obtenir 5 g de composé cible soit un rendement minimum de 21%.

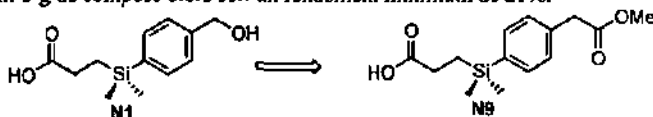
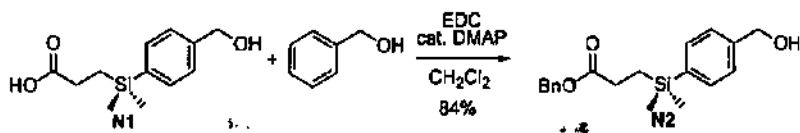


Schéma A3

Protection de la fonction acide carboxylique.

Le substrat possède une fonction acide carboxylique qui est conservée sur le produit cible. Nous avons envisagé deux groupes protecteurs qui sont clivés par hydrogénéolyse. Le groupe diphenylméthyle et le groupe benzyle.

La protection diphenylméthyle est effectuée à partir du diazodiphenylméthane dans le tétrahydrofurane avec un rendement de 62% et dans le benzène avec un rendement de 49%. La protection benzyle est effectuée avec 20 équivalents de benzyle alcool, 1.2 équivalents d'hydrochlorure de *N*-(3-diméthylaminopropyl)-*N'*-éthylcarbodiimide (EDC) et 0.1 éq. de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) dans le dichlorométhane avec un rendement de 84% (schéma A4).



Shéma A4

Formation de la liaison carbone-carbone.

L'activation de l'électrophilie du carbone benzylique est préférée à celle de la nucléophilie compte tenu de la présence de la fonction ester. Nous avons opté pour une oxydation de Swern de l'alcool N2 en aldéhyde N3 (schéma A5).

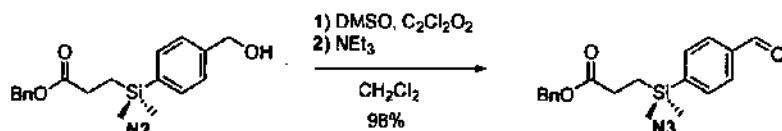


Schéma A5

Nous avons envisagé une réaction de Wittig pour introduire le carbone supplémentaire en formant un méthyloléther. L'oxydation d'un méthyloléther par le pyridinium chlorochromate (PCC) pour former le méthylester a été rapportée [236]. Cette réaction n'est pas opérante sur le système modèle méthylstyryléther. Nous avons envisagé l'hydrolyse du méthyléther dans le THF avec l'acide trifluoroacétique aqueux 20% qui est effective mais qui n'est pas compatible avec le benzyloxy. Nous avons finalement opté pour une condensation de la fonction aldéhyde avec le nitrométhane (schéma 4).

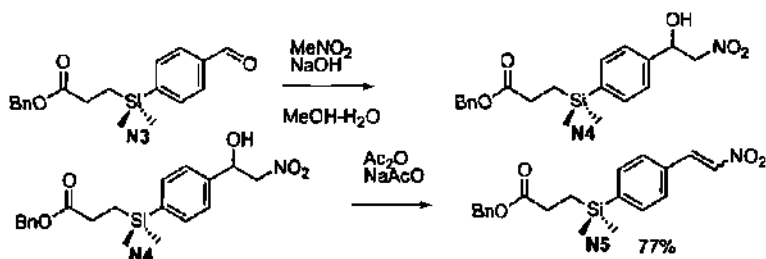


Schéma A6.

Cette réaction en deux étapes s'est avérée non reproductible. Le rendement de 77% en produit N5 n'a pu être reproduit dû au fait que la première étape n'ait été que partielle. Les mélanges de l'aldéhyde et, respectivement, du dérivé hydroxynitro N4 ou du dérivé nitrostyrène N5 n'ont pu être séparés par chromatographie. La présence de l'aldéhyde est incompatible avec le bon déroulement de la réduction du nitrostyrène N5 par le borohydrure de sodium dans l'acide acétique (schéma A7).

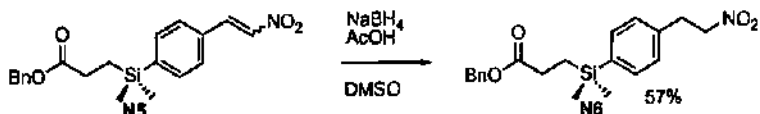


Schéma A7.

Le dérivé nitro N6, obtenu par réduction, est converti en acide par traitement avec du nitrite de sodium dans le diméthylsulfoxyde en présence d'acide selon la procédure de Mioskowski [237] puis l'acide N7 est méthyli par traitement au diazométhane (schéma A8).

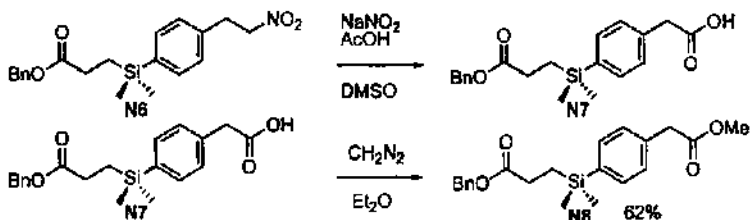


Schéma A8.

Le composé cible N9 est obtenu par hydrogénolyse et purifié par flash-colonne chromatographique (schéma A9).

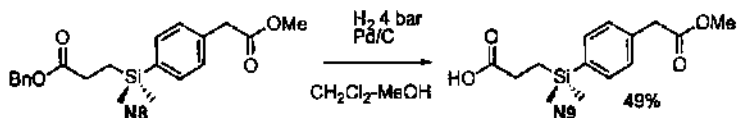


Schéma A9.

Nous avons donc obtenu le composé cible une seule fois avec un rendement total de 11%. La réaction convertissant le composé N3 en N4 n'étant pas reproductible, la voie de synthèse développée est inadaptée au but poursuivi.

Identifications spectroscopiques des composés synthétisés.

Acide 3-(diméthyl-4-hydroxyméthylphénylsilyl)propionique (N1).

¹H-RMN (200 MHz, CDCl₃) : 0.30 (*s*, 6H, H₃CSi); 1.04-1.12 (*m*, 2H, H₂CSi); 2.26-2.34 (*m*, 2H, H₂CCOOH); 4.68 (*s*, 2H, H₂COH); 7.33-7.38, 7.48-7.52 (*m*, 4H, HC(aromatiques)); ¹³C-RMN (50 MHz, COCl₂) : -3.4 CH₃Si; 10.6 CH₂Si; 28.6 CH₂COOH; 65.2 CH₂OH; 126.5, 133.8 CH(aromatiques); 137.3, 141.7 C(aromatiques); 180.6 COOH.

3-(diméthyl-4-hydroxyméthylphénylsilyl)propionate de benzyle (N2).

¹H-RMN (200 MHz, COCl₂) : 0.29 (*s*, 6H, H₃CSi); 1.07-1.15 (*m*, 2H, H₂CSi); 1.79 (*s*, 1H, HO); 2.28-2.37 (*m*, 2H, H₂CCOOBn); 4.69 (*s*, 2H, H₂COH); 5.07 (*s*, 2H, H₂COCO); 7.27-7.34 (*m*, 7H, HC(aromatiques)); 7.48-7.52 (*m*, 2H, HC(aromatiques)); ¹³C-RMN (50 MHz,

COCl_2): -3.3 CH_3Si ; 10.8 CH_2Si ; 28.8 CH_2COO ; 65.2 CH_2OH ; 66.3 CH_2COC ; 126.5, 128.2, 128.5, 133.8 $\text{CH}(\text{aromatiques})$; 135.9, 137.4, 141.8 $\text{C}(\text{aromatiques})$; 174.7 COO .

3-(diméthyl-4-formylphénylsilyl)propionate de benzyle (N3).

$^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3): 0.32 (s, 6H, H_3CSi); 1.10-1.18 (m, 2H, H_2CSi); 2.28-2.37 (m, 2H, H_2CCOObn); 5.06 (s, 2H, H_2COCO); 7.29-7.35 (m, 5H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.64-7.68 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.82-7.86 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 10.02 (s, 1H, HCO); $^{13}\text{C-RMN}$ (50 MHz, COCl_2): -3.6 CH_3Si ; 10.3 CH_2Si ; 28.5 CH_2COObn ; 66.2 CH_2COC ; 128.1, 128.4, 128.6, 134.0 $\text{CH}(\text{aromatiques})$; 135.8, 136.5, 146.6 $\text{C}(\text{aromatiques})$; 174.2 COO ; 192.4 CHO .

3-(diméthyl-4-(2(nitroéthényl)phényl)silyl)propionate de benzyle (N5).

$^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3): 0.31 (s, 6H, H_3CSi); 1.08-1.17 (m, 2H, H_2CSi); 2.28-2.36 (m, 2H, H_2CCOObn); 5.06 (s, 2H, H_2COCO); 7.34-7.36 (m, 5H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.48-7.59 (m, 4H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.59 (d, $^3J = 13.6$, 1H, $\text{HC}=\text{}$); 7.99 (d, $^3J = 13.9$, 1H, $\text{HC}=\text{}$).

3-(diméthyl-4-(2(nitroéthyl)phényl)silyl)propionate de benzyle (N6).

$^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3): 0.27 (s, 6H, H_3CSi); 1.05-1.13 (m, 2H, H_2CSi); 2.27-2.35 (m, 2H, H_2CCOObn); 3.31 (t, $^3J = 7.3$, 2H, $\text{H}_2\text{CCH}_2\text{NO}_2$); 4.60 (t, $^3J = 7.5$, 2H, H_2CNO_2); 5.07 (s, 2H, H_2COCO); 7.17-7.21 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.30-7.36 (m, 5H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.43-7.47 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$).

Acide 4-(2-benzyloxycarbonyléthyl)diméthylsilyl)phénylacétique (N7).

$^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3): 0.29 (s, 6H, H_3CSi); 1.08-1.16 (m, 2H, H_2CSi); 2.30-2.39 (m, 2H, H_2CCOObn); 3.67 (s, 2H, H_2COOH); 5.09 (s, 2H, H_2COCO); 7.28-7.32 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.36 (m, 5H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.47-7.51 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$).

3-(diméthyl-4(méthoxycarbonylméthyl)phénylsilyl)propionate de benzyle (N8).

$^1\text{H-RMN}$ (200 MHz, CDCl_3): 0.31 (s, 6H, H_3CSi); 1.10-1.18 (m, 2H, H_2CSi); 2.32-2.41 (m, 2H, H_2CCOObn); 3.66 (s, 2H, H_2CCOOMe); 3.72 (s, 3H, H_3CO); 5.11 (s, 2H, H_2COCO); 7.28-7.33 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.38-7.41 (m, 5H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.47-7.52 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); $^{13}\text{C-RMN}$ (50 MHz, CDCl_3): -3.4 CH_3Si ; 10.7 CH_2Si ; 28.8 CH_2COObn ; 41.1 CH_2COOMe ; 51.9 CH_3 ; 66.2 CH_2COC ; 128.1, 128.2, 128.5, 128.7, 133.8 $\text{CH}(\text{aromatiques})$; 134.8, 135.9, 136.6 $\text{C}(\text{aromatiques})$; 171.8 COOMe ; 174.6 COObn .

acide 3-(diméthyl-4-méthoxycarbonylméthyl)phénylsilyl)propionique (N9)

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{SiO}_4$ (280.40); R_f ($\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}$) = 0.62; $\text{IR}(\text{film})$: 3700-2400m(br), 3071m, 3022m, 2934m, 1740vs, 1708vs, 1436m, 1416m, 1398m, 1326m, 1300m, 1251s, 1194m, 1159m, 1108m, 1017m, 840s, 824s, 804m, 784m, 759m; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.29 (s, 6H, H_3CSi); 1.07-1.11 (m, 2H, H_2CSi); 2.29-2.34 (m, 2H, H_2CCOOH); 3.63 (s, 2H, H_2CCOOMe); 3.70 (s, 3H, H_3CO); 7.28-7.30 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 7.46-7.48 (m, 2H, $\text{HC}(\text{aromatiques})$); 10.0-10.9 (s(l), 1H, HO); $^{13}\text{C-RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): -3.4 CH_3Si ; 10.6 CH_2Si ; 28.6 CH_2COObn ; 41.1 CH_2COOMe ; 52.0 CH_3O ; 128.7, 133.8 $\text{CH}(\text{aromatiques})$; 134.9, 136.5 $\text{C}(\text{aromatiques})$; 171.9 COOMe ; 181.2 COOH ; $\text{MS}(\text{ESI}(-))$: ms 279 $[\text{M}-1]$, ms-

ms(279) 149 [C₉H₉O₂]⁺, 129 [C₅H₉O₂Si]⁺, ms-ms-ms(279, 149) 117 [C₈H₃O]⁺, ms-ms-ms(279, 129) 101 [C₄H₉OSi]⁺, 93, 75.

4. Littérature.

- [1] Daub, G.H.; Leon, A.A.; Silverman, I.R.; Daub, G.W.; Walker, S.B. *Aldrichim.Acta* 1984, 17, 13-23.
- [2] Neier, R. In *Advances in Nitrogen Heterocycles*; JAI Press Inc.: Greenwich, Connecticut, 1996; pp 35-146.
- [3] Dobson, C.M.; Sali, A.; Karplus, M. *Angew.Chem.Int.Ed.* 1998, 37, 868-893.
- [4] Fischer, E. *Ber.Deut.Chem.Ges.* 1894, 27, 2985.
- [5] Ehrlich, P. *Studies on Immunity*; Wiley: New York, 1900.
- [6] Zheng, Y.J.; Merz, K.M. *J.Am.Chem.Soc.* 1992, 114, 10498-10507.
- [7] Jordan, P.M. In *Biosynthesis of Tetrapyrroles*; Jordan, P.M., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 1991; pp 1-66.
- [8] Jaffe, E.K. *J.Bioenerg.Biomembr.* 1995, 27, 169-179.
- [9] Cookson, G.H.; Rimington, C. *Nature (London)* 1953, 171, 875-876.
- [10] Granick, S.; Bogorad, L. *J.Am.Chem.Soc.* 1953, 75, 3610-3610.
- [11] Franck, B.; Stratmann, H. *Heterocycles* 1981, 15, 919-923.
- [12] Butler, A.R.; George, S. *Tetrahedron* 1992, 48, 7879-7886.
- [13] Scott, I.A.; Townsend, C.A.; Dkada, K.; Kajiwaru, M. *Trans.N.Y.Acad.Sci.* 1973, 35, 72-79.
- [14] Massey, R.J.; Powell, M.J.; Titmas, R.C. *WO 90/02192*; PCT: US/89/03696.
- [15] Bogorad, L.; Granick, S. *Proc.Nat.Acad.Sci.USA* 1953, 39, 1176-1188.
- [16] Bogorad, L. *Science* 1955, 121, 878-879.
- [17] Petrovich, R.M.; Litwin, S.; Jaffe, E.K. *J.Biol.Chem.* 1996, 271, 8692-8699.
- [18] Shemin, D.; Russell, C.; Abramsky, T. *J.Biol.Chem.* 1955, 215, 613-626.
- [19] Beale, S.I.; Castelfranco, P.A. *Plant Physiol.* 1974, 53, 297-303.
- [20] Leeper, F.J. *Nat.Prod.Rep.* 1989, 171-203.
- [21] Jordan, P.M. In *Biosynthesis of Heme and Chlorophylls*; Dailey, H.A., Ed.; McGraw-Hill Publishing Company: New York, 1990; pp 55-122.
- [22] Kannangara, C.G.; Andersen, R.V.; Pontoppidan, B.; Willows, R.; von Wettstein, D. In *The Biosynthesis of the tetrapyrrole pigments. Ciba Foundation Symposium 180*; John Wiley & sons: Chichester, 1994; pp 3-25.
- [23] Weinstein, J.D.; Beale, S.I. *J.Biol.Chem.* 1983, 258, 6799-6807.
- [24] Oh-Hama, T.; Seto, H.; Miyachi, S. *Arch.Biochem.Biophys.* 1986, 246, 192-198.
- [25] Ksander, G.; Bold, G.; Lattmann, R.; Lehmann, C.; Früh, T.; Xiang, Y.B.; Inomata, K.; Buser, H.P.; Schreiber, J.; Zass, E.; Eschenmoser, A. *Helv.Chim.Acta* 1987, 70, 1115-1172.
- [26] Shemin, D.; Rittenberg, D. *J.Biol.Chem.* 1946, 166, 627-636.
- [27] Shemin, D.; Russell, C.S. *J.Am.Chem.Soc.* 1953, 75, 4873-4874.
- [28] Westall, R.G. *Nature (London)* 1952, 170, 614-616.
- [29] Falk, J.E.; Dresel, E.I.B.; Rimington, C. *Nature (London)* 1953, 172, 292-294.
- [30] Gibson, K.D.; Neuberger, A.; Scott, J.J. *Biochem.J.* 1954, 58, xli.
- [31] Gibson, K.D.; Neuberger, A.; Scott, J.J. *Biochem.J.* 1955, 61, 618-629.
- [32] Schmid, R.; Shemin, D. *J.Am.Chem.Soc.* 1955, 77, 506-507.
- [33] Granick, S. *Science* 1954, 120, 1105-1106.
- [34] Mauzerall, D.; Granick, S. *J.Biol.Chem.* 1958, 232, 1119-1140.
- [35] Nandi, D.L.; Baker-Cohen, K.F.; Shemin, D. *J.Biol.Chem.* 1968, 243, 1224-1230.
- [36] Nandi, D.L.; Shemin, D. *J.Biol.Chem.* 1968, 243, 1231-1235.

- [37] Nandi, D.L.; Shemin, D. *J.Biol.Chem.* 1968, 243, 1236-1242.
- [38] Cheh, A. University of California: Berkeley, 1973.
- [39] Seydoux, F.; Malhotra, D.P.; Bernhard, S.A. *CRC Crit.Revs.Biochem.* 1974, 2, 227.
- [40] Shemin, D. *Philos.Trans.R.Soc.London Ser. B* 1976, 273, 109-115.
- [41] Shemin, D. In *The Enzymes*; Boyer, P.D., Ed.; Academic Press: New York, 1972; pp 323-337.
- [42] Zaman, Z.; Jordan, P.M.; Akhtar, M. *Biochem.J.* 1973, 135, 257-263.
- [43] Abboud, M.M.; Akhtar, M. *J.Chem.Soc.,Chem.Comm.* 1976, 1007-1008.
- [44] Cheh, A.M.; Ncilands, J.B. In *Bonding and Structure*; Springer: Berlin, 1976; pp 123-129.
- [45] Jordan, P.M.; Seehra, J.S. *FEBS Lett.* 1980, 114, 283-286.
- [46] Jordan, P.M.; Seehra, J.S. *J.Chem.Soc.,Chem.Comm.* 1980, 240-242.
- [47] Jaffe, E.K.; Markham, G.D. *Biochemistry* 1987, 26, 4258-4264.
- [48] Jaffe, E.K.; Markham, G.D. *Biochemistry* 1988, 27, 4475-4481.
- [49] Jaffe, E.K.; Markham, G.D.; Rajagopalan, J.S. *Biochemistry* 1990, 29, 8345-8350.
- [50] Erskine, P.T.; Norton, E.; Cooper, J.B.; Lambert, R.; Coker, A.; Lewis, G.; Spencer, P.; Sarwar, M.; Wood, S.P.; Warren, M.J.; Shoolingin-Jordan, P.M. *Biochemistry* 1999, 38, 4266-4276.
- [51] Erskine, P.T.; Newbold, R.; Roper, J.; Coker, A.; Warren, M.J.; Shoolingin-Jordan, P.M.; Wood, S.P.; Cooper, J.B. *Protein Sci.* 1999, 8, 1250-1256.
- [52] Frankenberg, N.; Erskine, P.T.; Cooper, J.B.; Shoolingin-Jordan, P.M.; Jahn, D.; Heinz, D.W. *J.Mol.Biol.* 1999, 289, 591-602.
- [53] Jaffe, E.K.; Hanes, D. *J.Biol.Chem.* 1986, 261, 9348-9353.
- [54] Bevan, D.R.; Bodlaender, P.; Shemin, D. *J.Biol.Chem.* 1980, 255, 2030-2035.
- [55] Hasnain, S.S.; Wardell, E.M.; Garner, C.D.; Schlösser, M.; Beyersmann, D. *Biochem.J.* 1985, 230, 625-633.
- [56] Seehra, J.S.; Jordan, P.M. *Eur.J.Biochem.* 1981, 113, 435-446.
- [57] Mitchell, L.W.; Jaffe, E.K. *Arch.Biochem.Biophys.* 1993, 300, 169-177.
- [58] Petrovich, R.M.; Jaffe, E.K. *Biochemistry* 1997, 36, 13421-13427.
- [59] Erskine, P.T.; Senior, N.; Awan, S.; Lambert, R.; Lewis, G.; Tickle, L.J.; Sarwar, M.; Spencer, P.; Thomas, P.; Warren, M.J.; Shoolingin-Jordan, P.M.; Wood, S.P.; Cooper, J.B. *Nature Struct.Biol.* 1997, 4, 1025-1031.
- [60] Jaffe, E.K.; Abrams, W.R.; Kaempfen, H.; Harris, K.A. *Biochemistry* 1992, 31, 2113-2123.
- [61] Spencer, P.; Jordan, P.M. In *The biosynthesis of the Tetrapyrrole pigments. Ciba Foundation Symposium 180*; John Wiley & sons: Chichester, 1994; pp 50-69.
- [62] Jaffe, E.K.; Volin, M.; Myers, C.B. *Biochemistry* 1994, 33, 11554-11562.
- [63] Jaffe, E.K.; Ali, S.; Mitchell, L.W.; Taylor, K.M.; Volin, M.; Markham, G.D. *Biochemistry* 1995, 34, 244-251.
- [64] Frankenberg, N.; Jahn, D.; Jaffe, E.K. *Biochemistry* 1999, 38, 13976-13982.
- [65] Jaffe, E.K. *Acta Crystallogr., Sect D* 2000, 56, 115-128.
- [66] Wu, W.H.; Shemin, D.; Richards, K.; Williams, R.C. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 1974, 71, 1767-1770.
- [67] Liedgens, W.; Lütz, C.; Schneider, H.A.W. *Eur.J.Biochem.* 1983, 135, 75-79.
- [68] Pilz, I.; Schwarz, E.; Vuga, M.; Beyersmann, D. *Biol.Chem.Hoppe-Seyler* 1988, 369, 1099-1103.
- [69] Carrell, H.L.; Glusker, J.P.; Shimini, L.; Keefe, L.J.; Afshar, C.; Volin, M.; Jaffe, E.K. *Acta Crystallogr., Sect D* 1996, 52, 419-421.

- [70] Erskine, P.T.; Senior, N.; Maignan, S.; Cooper, J.; Lambert, R.; Lewis, G.; Spencer, P.; Awan, S.; Warren, M.; Tickle, I.J.; Thomas, P.; Wood, S.P.; Shoolingin-Jordan, P.M. *Protein Sci.* 1997, 6, 1774-1776.
- [71] Shimoni-Livny, L.; Carrell, H.L.; Wagner, T.; Kaufman, K.; Afshar, C.; Mitchell, L.W.; Volin, M.; Jaffe, E.K.; Glusker, J.P. *Acta Crystallogr., Sect D* 1998, 438-440.
- [72] Simons, T.J.B. *Eur. J. Biochem.* 1995, 234, 178-183.
- [73] Tsukamoto, I.; Yoshinaga, T.; Sano, S. *Biochem. Biophys. Reseach Com.* 1973, 67, 294-300.
- [74] Mitchell, L.W.; Volin, M.; Jaffe, E.K. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 24054-24059.
- [75] Jarret, C.; Stauffer, F.; Henz, M.E.; Marty, M.; Lüönd, R.M.; Bobál'ova, J.; Schürman, P.; Neier, R. *Chem. Biol.* 2000, 7, 185-196.
- [76] Lüönd, R.M.; Neier, R. *Biochem. Biophys. Acta* 1996, 1289, 83-86.
- [77] Appleton, D.; Leeper, F.J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996, 6, 1191-1194.
- [78] Warren, M.J.; Cooper, J.B.; Wood, S.P.; Shoolingin-Jordan, P.M. *Reviews* 1998, 23, 217-221.
- [79] Chauhan, S.; D'Brian, M.R. *J. Biol. Chem.* 1995, 270, 19823-19827.
- [80] Gefflaut, T.; Blonski, C.; Perie, J.; Willson, M. *Prog. Biophys. molec. Biol.* 1995, 63, 301-340.
- [81] Rose, I.A.; D'Connell, E.L.; Mehler, A.H. *J. Biol. Chem.* 1965, 240, 1758-1765.
- [82] Lüthy, J. *Diss. Nr 4764: Synthese und Nachweis chiraler Methylgruppen*; ETHZ: Zürich, 1972.
- [83] Keck, R.; Haas, H.; Rétey, J. *FEBS Lett.* 1980, 114, 287-290.
- [84] Bürgi, H.B.; Dunitz, J.D.; Lehn, J.M.; Wipff, G. *Tetrahedron* 1974, 30, 1563-1572.
- [85] Baldwin, J.E. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1976, 738-741.
- [86] Baldwin, J.E. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1976, 734-736.
- [87] Fabiano, E.; Golding, B.T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1991, 3371-3375.
- [88] Lüönd, R.M.; Walker, J.; Neier, R. *J. Org. Chem.* 1992, 57, 5005-5013.
- [89] Pauling, L. *Chem. Eng. News* 1946, 24, 1375-1377.
- [90] Wolfender, R.; Frick, L. *Enzyme mechanisms*; The Royal Society of Chemistry: London, 1987, pp 97-122.
- [91] Wolfender, R. *Nature (London)* 1969, 223, 704-705.
- [92] Jarret, C. *Etude de la porphobilinogène synthase d'Escherichia coli: inhibitions selectives des deux sites actifs*; Université de Neuchâtel: Neuchâtel, 1999.
- [93] Hanessian, S.; Lu, P.P.; Sancéau, J.Y.; Chemla, P.; Gohda, K.; Fonne-Pfister, R.; Prade, L.; Cowan-Jacob, S.W. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999, 38, 3160-3162.
- [94] Appleton, D.; Leeper, F.J. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1996, 303-304.
- [95] Chaperon, A. *Eine kurze synthese von porphobilinogen (PBGs)-Basierend auf einem Biomimetischen Konzept*; Université Neuchâtel: Neuchâtel, 1996.
- [96] Appleton, D.; Duguid, A.B.; Lee, S.K.L.; Ha, Y.J.; Ha, H.J.; Leeper, F.J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans I* 1998, 89-101.
- [97] Leeper, F.J.; Rock, M. *J. Fluorine Chem.* 1991, 51, 381-396.
- [98] Ha, H.J.; Park, J.W.; Oh, S.J.; Lee, J.C.; Song, C.E. *Bull. Korean Chem. Soc.* 1993, 14, 652-654.
- [99] Henz, M. *Inhibitionsstudien zum Mechanismus der Porphobilinogen Synthase isoliert aus Escherichia coli CR 261*; Université de Neuchâtel: Neuchâtel, 1997.

- [100] Lüönd, R.M. *Untersuchungen zum Enzymmechanismus der β -Aminolävulinsäure-Dehydratase aus Rhodospseudomonas spheroides*; Universität Freiburg (Schweiz): Fribourg, 1991.
- [101] Olah, G.A.; Welch, J.T.; Vankar, Y.D.; Nojima, M.; Kerekes, I.; Olah, J.A. *J.Org.Chem.* 1979, 44, 3872-3877.
- [102] Wilkinson, J.A. *Chem.Rev.* 1992, 92, 505-519.
- [103] Rozen, S. *Chem.Rev.* 1996, 96, 1717-1736.
- [104] Banks, R.E.; Williamson, G.E. *Chem.Ind.London* 1964, 1864-1865.
- [105] Lal, G.S.; Pez, G.P.; Syvret, R.G. *Chem.Rev.* 1996, 96, 1737-1755.
- [106] Schack, C.J.; Christe, K.O. *J.Fluorine Chem.* 1980, 18, 363-373.
- [107] Singh, S.; DesMarteau, D.D.; Zuberi, S.S.; Huang, H.N. *J.Am.Chem.Soc.* 1987, 109, 7194-7196.
- [108] Umemoto, T.; Fukami, S.; Tomizawa, G.; Harasawa, K.; Kawada, K.; Tomita, K. *J.Am.Chem.Soc.* 1990, 112, 8563-8575.
- [109] Gilcinski, A.G.; Pez, G.P.; Syvret, R.G.; Shankar, L. *J.Fluorine Chem.* 1992, 59, 157-162.
- [110] Davis, F.A.; Han; Murphy, C. *J.Org.Chem.* 1995, 60, 4730-4737.
- [111] Barnette, W.E. *J.Am.Chem.Soc.* 1984, 106, 452-454.
- [112] Lal, G.S. *J.Org.Chem.* 1993, 58, 2791-2796.
- [113] Banks, R.E.; Lawrence, N.J.; Popplewell, A.L. *J.Chem.Soc.,Chem.Commun.* 1994, 343-344.
- [114] Seebach, D. *Angew.Chem.* 1990, 102, 1363-1409.
- [115] Dasaradhi, L.; O'Hagan, D.; Petty, M.C.; Pearson, C. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 2* 1995, 221-225.
- [116] Streitwieser, A.; Heathcock, C.H.; Kosower, E.M. *Introduction to Organic Chemistry*; MacMillan Publishing Company: New York, 1992.
- [117] Schlosser, M. *Angew.Chem.Int.Ed.* 1998, 110, 1496-1513.
- [118] Howard, J.A.K.; Hoy, V.J.; O'Hagan, D.; Smith, G.T. *Tetrahedron* 1996, 52, 12613-12622.
- [119] Amos, R.D.; Handy, N.C.; Jones, P.G.; Kirby, A.J.; Parker, J.K.; Percy, J.M.; Der, S. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 2* 1992, 549-558.
- [120] Craig, N.; Entemann, E.A. *J.Am.Chem.Soc.* 1961, 83, 3047-3050.
- [121] Epiotis, N.D.; Cherry, W. *J.Chem.Soc.,Chem.Commun.* 1973, 278-279.
- [122] Bingham, R.C. *J.Am.Chem.Soc.* 1976, 98, 535-540.
- [123] Fanshier, D.W.; Gottwald, L.K.; Kun, E. *J.Biol.Chem.* 1964, 239, 425-434.
- [124] O'Hagan, D.; Rzepa, H.S. *J.Chem.Soc.,Chem.Commun.* 1997, 645-652.
- [125] Ahn, N.T.; Eisenstein, O. *Nouv.J.Chem.* 1977, 1, 61-70.
- [126] O'Hagan, D.; Harper, D.B. *J.Fluorine Chem.* 1999, 100, 127-133.
- [127] Hamilton, J.T.G.; Amin, M.R.; Harper, D.B.; O'Hagan, D. *J.Chem.Soc.,Chem.Commun.* 1997, 797-798.
- [128] Nieschalk, J.; Hailton, J.T.G.; Murphy, C.D.; Harper, D.B.; O'Hagan, D. *J.Chem.Soc.,Chem.Commun.* 1997, 799-800.
- [129] Lauble, H.; Kennedy, M.C.; Emptage, M.H.; Beinert, H.; Stout, C.D. *Proc.Nat.Acad.Sci.USA* 1996, 93, 13699-13703.
- [130] Silverman, R.B. *Mechanism-Based Enzyme Inactivation: Chemistry and Enzymology*; CRC Press Inc.: Boca Raton, 1988.
- [131] Lippert, B.; Metcalf, B.W.; Resvick, R.J. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 1982, 108, 146-152.

- [132] Bordwell, F.G.; Bartmess, J.E. *J.Org.Chem.* **1978**, *43*, 3101-3107.
- [133] Turnbull, D.; Maron, S.H. *J.Am.Chem.Soc.* **1943**, *65*, 212-218.
- [134] Seebach, D.; Knochel, P. *Helv.Chim.Acta* **1984**, *67*, 261-283.
- [135] Heman, L.W.; ApSimon, J.W. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 1423-1424.
- [136] Bernasconi, C.F.; Panda, M.; Stronach, M.W. *J.Am.Chem.Soc.* **1995**, *117*, 9206-9212.
- [137] Schwarzenbach, G.; Suter, H.; Lutz, K. *Helv.Chim.Acta* **1940**, *23*, 1191-1197.
- [138] Purrington, S.T.; Bumgardner, C.L.; Lazaridis, N.V.; Singh, P. *J.Org.Chem.* **1987**, *52*, 4307-4310.
- [139] Chambers, R.D.; Greenhall, M.P.; Hurchinson, J. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 1-8.
- [140] Lindblad, B.; Lindstedt, S.; Steen, G. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* **1997**, *74*, 4641-4645.
- [141] Tschudy, D.P.; Hess, R.A.; Frykholm, B.C. *J.Biol.Chem.* **1981**, *256*, 9915-9923.
- [142] Cheung, K.M.; Spencer, P.; Timko, M.P.; Shoolingin-Jordan, P.M. *Biochemistry* **1997**, *36*, 1148-1156.
- [143] Engeloch, T. *Biomimetische und biosynthetische studien zum mechanismus der porphobilinogen-synthase*; Université de Neuchâtel: Neuchâtel, 1998.
- [144] Kabat, M.M. *J.Fluorine Chem.* **1990**, *49*, 207-215.
- [145] Pilcher, A.S.; Ammon, H.L.; DeShong, P. *J.Am.Chem.Soc.* **1995**, *117*, 5166-5167.
- [146] Ha, H.J.; Lee, S.K.L.; Ha, Y.J.; Park, J.W. *Synth.Commun.* **1994**, *24*, 2557-2562.
- [147] Bertschy, H. *Pyrrrole über die Gekreuzte Aldolreaktion*; Universität Freiburg (Schweiz): Fribourg, 1991.
- [148] Leroy, J. *J.Org.Chem.* **1981**, *46*, 206-209.
- [149] Kuo, D.; Rando, R.R. *Biochemistry* **1981**, *20*, 506-511.
- [150] Sharma, S.K.; Müller, M.; Payne, S.M. *J.Med.Chem.* **1989**, *32*, 357-367.
- [151] Hnevsova, V.; Smely, V.; Ernest, I. *Collect.Czech.Chem.C.* **1956**, *21*, 1459-1466.
- [152] Raticr, M.; Pereyre, M.; Davis, A.G.; Sutcliffe, R. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 2* **1984**, 1907-1915.
- [153] Brown, P.; Burdon, J.; Smith, T.J.; Tatlow, J.C. *Tetrahedron Lett.* **1960**, *10*, 164-170.
- [154] Gani, D.; Young, D.W. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* **1985**, 1355-1362.
- [155] Seebach, D.; Hoekstra, M.S.; Protschuk, G. *Angew.Chem.* **1977**, *89*, 334-335.
- [156] Krishnamurti, R.; Bellew, D.R.; Prakash, G.K.S. *J.Org.Chem.* **1991**, *56*, 984-989.
- [157] Cram, D.J.; Hatch, M.J. *J.Am.Chem.Soc.* **1953**, *75*, 33-44.
- [158] Greppi, A. *Synthèse de dérivés de l'acide 5-aminolévulinique. Applications en synthèse de peptides sur phase solide et en thérapie photodynamique*; Université de Neuchâtel: Neuchâtel, 1999.
- [159] Yamauchi, T.; Hattori, K.; Ikeda, S.I.; Tamaki, K. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* **1990**, 1683-1685.
- [160] Liu, A.; Carlson, K.E.; Katzenellenbogen, J.A. *J.Med.Chem.* **1992**, *35*, 2113-2129.
- [161] Tsushima, T.; Kawada, K.; Tsuji, T. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 1165-1168.
- [162] Johnson, A.W.; Markham, E.; Price, R. *Organic Syntheses*; John Wiley & Sons, Inc.: New-York, 1973; pp 786
- [163] Bumgardner, C.L.; Sloop, J.C. *J.Fluorine Chem.* **1992**, *56*, 141-146.
- [164] Aucken, C.J.; Leeper, F.J.; Battersby, A.R. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* **1997**, 2099-2109.
- [165] Sankar Lal, G. *J.Org.Chem.* **1993**, *58*, 2791-2796.
- [166] Sankar, L. *J.Org.Chem.* **1993**, *58*, 2791-2796.
- [167] Heinz, P. *J.Prakt.Chem.* **1963**, *21*, 186-197.
- [168] Hünig, S.; Lücke, E. *Chem.Ber.* **1959**, *92*, 652-662.

- [169] Seebach, D.; Weller, T.; Protschuk, G.; Bech, A.K.; Hockstra, M.S. *Helv.Chim.Acta* 1981, 64, 716-735.
- [170] Stauffer, F.; Jarret, C.; Bobál, P.; Neier, R. *Chimia* 1997, 51, 420-420.
- [171] Miyakoshi, T.; Saito, S.; Kumamoto, J. *Chem.Lett.* 1981, 1667-1678.
- [172] Zav; Zavozi, A.G. *Bull.Acad.Sci.USSR Div.Chem.Sci.* 1987, 36, 1663-1666.
- [173] Feuer, H.; Bachman, G.E.; White, E.H. *J.Am.Chem.Soc.* 1951, 73, 4716-4719.
- [174] Dietzgen, R.G.; Sander, E.; Christner, J.; Jung, G. *Z.Naturforsch.B.* 1987, 42, 441-453.
- [175] Hawkins *J.Chem.Soc.* 1965, C, 2678-2679.
- [176] Barrett, G.C.; Eggers, S.H.; Emerson, T.R.; Lowe, G. *J.Chem.Soc.* 1964, 788-792.
- [177] Micheau, J.C.; Lattes, A. *Bull.Soc.Chim.Fr.* 1970, 4018-4023.
- [178] Gibian, H.; Lübke, K. *Justus Liebig's Ann.Chem.* 1961, 644, 130-141.
- [179] Micheau, J.C.; Lattes, A. *Bull.Soc.Chim.Fr.* 1970, 4018-4023.
- [180] Crouch, N.P.; Adlington, R.M.; Baldwin, J.E.; Lee, M.H.; MacKinnon, H. *Tetrahedron* 1997, 53, 6993-7010.
- [181] Bernardi, A.; Cardani, S.; Colombo, L.; Poli, G.; Schimperna, G.; Scolastico, C. *J.Org.Chem.* 1887, 52, 888-891.
- [182] Battersby, A.R.; Hunt, E.; McDonald, E.; Moron, J. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* 1973, 2917-2922.
- [183] Hrcdeis, C. *Synthesis* 1986, 0, 232-233.
- [184] House, H.O.; Carlson, R.G.; Müller, H.; Noltes, A.W.; Slater, C.D. *J.Am.Chem.Soc.* 1962, 84, 2614-2620.
- [185] Bailey, A.S.; Scott, P.W.; Vandrevala, M.H. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* 1980, 97-101.
- [186] McCabe, P.H.; Milne, N.J.; Sim, G.A. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 2* 1989, 1459-1462.
- [187] Carter *J.Soc.Chem.Ind.London* 1943, 62, 238.
- [188] Ochiai, M.; Takaoka, Y.; Masaki, Y.; Inenaga, M.; Nagao, Y. *Tetrahedron Lett.* 1989, 30, 6701-6704.
- [189] Newman, M.S.; Beal, P.F. *J.Am.Chem.Soc.* 1950, 72, 5161.
- [190] Mitchell, S.; Schwarzwald, K.; Simpson, G.K. *J.Chem.Soc.* 1941, 604.
- [191] Müller *Chem.Ber.* 1883, 16, 1618.
- [192] Zürcher, A.; Hesse, M. *Helv.Chim.Acta* 1987, 70, 1937-1943.
- [193] Goodacre, J.; Jeffries, L.; Nayler, J.H.C.; Ponsford, R.J.; Stirling, I. *J.Med.Chem.* 1977, 20, 1445-1448.
- [194] Bourzat, J.D.; Vuilhorgne, M.; Rivory, L.P.; Robert, J.; Commerçon, A. *Tetrahedron Lett.* 1996, 37, 6327-6330.
- [195] Bagley, M.C.; Buck, R.T.; Hind, S.L.; Moody, C.J. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* 1998, 591-600.
- [196] Zhu, L.; Wehmeyer, R.M.; Rieke, R.D. *J.Org.Chem.* 1991, 56, 1445-1453.
- [197] Heller, J.; Yogev, A.; Dreiding, A.S. *Helv.Chim.Acta* 1972, 55, 1003-1025.
- [198] Kostova, K.; Hesse, M. *Helv.Chim.Acta* 1984, 67, 1725-1728.
- [199] Rieke, R.D.; Wehmeyer, R.M.; Wu, T.C.; Ebert, G.W. *Tetrahedron* 1989, 45, 443-454.
- [200] Zürcher, A.; Hesse, M. *Helv.Chim.Acta* 1987, 70, 1937-1943.
- [201] Sharma, K.K.; Torssell, K.B.G. *Tetrahedron* 1984, 40, 1085-1089.
- [202] Naora, H.; Ohnuki, T.; Nakamura, A. *Bull.Chem.Soc.Jpn.* 1988, 61, 993-994.
- [203] Zantour, H.; Pousse, A.; Brini, M. *Bull.Soc.Chim.Fr.* 1972, 4715-4722.
- [204] Sorrell, T.N. *Tetrahedron* 1989, 45, 3-68.
- [205] Peltier, A.; Ward, R.S.; Whalley, J.L. *Synthesis* 1998, 1793-1802.

- [206] Finch, N.; Fitt, J.J.; Hsu, I.H.C. *J.Org.Chem.* 1971, 36, 3191-3196.
- [207] Serbryakov, E.P.; Simolin, A.V.; Kucherov, V.F.; Rozynov, B.V. *Tetrahedron* 1970, 26, 5215-5223.
- [208] Ranu, B.C.; Bhar, S. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* 1992, 365-368.
- [209] Schank, K.; Lorig, W. *Liebigs Ann.Chem.* 1983, 112-136.
- [210] Pichard, L.; Herbert, M. *Bull.Soc.Chim.Fr.* 1957, 673-675.
- [211] McCabe, P.H.; Milne, N.J.; Sim, G.A. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 2* 1989, 1459-1462.
- [212] Baba, A.; Kawamura, N.; Makino, H.; Ohta, Y.; Taketomi, S.; Sohda, T. *J.Med.Chem.* 1996, 39, 5176-5182.
- [213] Hiromitsu, S.; Takeo, K.; Takeru, H. *J.Pharm.Sci.* 1988, 77, 855-860.
- [214] Neuberger, A.; Scott, J.J. *J.Chem.Soc.* 1954, 1820-1825.
- [215] Diels, O.; Alder, K. *Justus Liebigs Ann.Chem.* 1931, 486, 211-225.
- [216] Pendarvis, R.O.; Hampton, K.G. *J.Org.Chem.* 1974, 39, 2289-2291.
- [217] Harries; Nercsheimer *Chem.Zentralbl.* 1916, 87, 993.
- [218] Ranu, B.C.; Bhar, S.; Sarkar, D.C. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 2811-2812.
- [219] Gardner, P.D.; Rand, L.; Haynes, G.R. *J.Am.Chem.Soc.* 1956, 78, 3425-0.
- [220] Leeper, F.J.; Rock, M. *J.Chem.Soc.,Perkin Trans 1* 1996, 2643-2649.
- [221] Takeuchi, Y.; Takagi, K.; Nagata, K.; Koizumi, T. *Chem.Pharm.Bull.* 1991, 39, 3120-3122.
- [222] Olivato, P.R.; Ribeiro, D.S.; Rittner, R.; Hase, Y.; del Pra, D.; Bombieri, G. *Spectrochim.Acta A* 1995, 51, 1479-1495.
- [223] Levy, G.C.; Gordon, L.N. *J.Am.Chem.Soc.* 1972, 94, 4897-4091.
- [224] Lebedev, A.T.; Kazaryan, A.G.; Sharbatyan, P.A.; Sipyagin, A.M.; Kartsev, V.G.; Petrosyan, V.S. *J.Org.Chem.USSR* 1988, 24, 1254-1259.
- [225] Padwa, A.; Price, A.; Zhi, L. *J.Org.Chem.* 1996, 61, 2283-2292.
- [226] Fritsch, W. *Justus Liebigs Ann.Chem.* 1966, 699, 195-205.
- [227] Flitsch, W. *Chem.Ber.* 1964, 97, 1542-1547.
- [228] Friedrichsen, W. In *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Katritzky, A.R., Rees, C.W., Scriven, E.F.V., Eds.; Pergamon: Oxford, 1996; pp 352-368.
- [229] Bambury, R.E.; Yaktin, H.K.; Wyckoff, K.K. *J.Heterocycl.Chem.* 1968, 5, 95-100.
- [230] Bodor, N.; Dewar, M.J.S.; Harget, A.J. *J.Am.Chem.Soc.* 1970, 92, 2929-2936.
- [231] Blount, J.F. *J.Org.Chem.* 1978, 43, 3821-3824.
- [232] Hartke, K.; Matusch, R. *Chem.Ber.* 1972, 105, 2584-2593.
- [233] Treibs, A.; Hintermeier, K. *Chem.Ber.* 1954, 87, 1163-1165.
- [234] Hartke, K.; Matusch, R. *Chem.Ber.* 1972, 105, 2584-2593.
- [235] Mackay, D.; Neeland, E.G.; Taylor, N.J. *J.Org.Chem.* 1986, 51, 2351-2361.
- [236] Piancatelli, G.; Settri, A.; D'Auria, M. *Tetrahedron Lett.* 1977, 39, 3483-3484.
- [237] Matt, C.; Wagner, A.; Mioskowski, C. *J.Org.Chem.* 1997, 62, 234-235.