



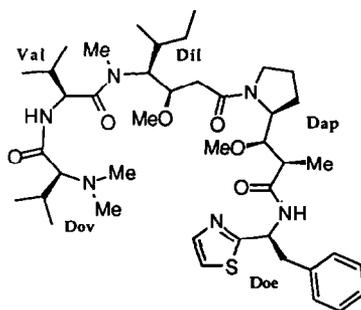
## Synthèse de la Dolastatine 10 et de la [R-Doe]-Dolastatine 10

Florence Roux, Isabelle Maugras, Joël Poncet\*, Gilles Niel et Patrick Jouin

Laboratoire des Mécanismes Moléculaires des Communications Cellulaires (UPR 9023 CNRS)  
Centre CNRS-INSERM, rue de la Cardonille, 34094 Montpellier Cedex 5 France.

**Abstract :** A stepwise synthesis of dolastatin 10 starting from the dolaphenine residue is described. The chiral dola isoleuine and dolaproine residues were obtained by 5-step procedures from the corresponding *N*-Boc amino acid. The key steps are respectively the NaBH<sub>4</sub> reduction of an allylic ketone and the addition of an achiral *Z*-crotylboronate on the *N*-Boc-L-prolinal. Peptidic couplings were efficiently realised with reagents developed in the laboratory.

*Dolabella auricularia* est un mollusque marin de l'Océan Indien connu depuis l'Antiquité pour la toxicité de ses extraits<sup>1</sup>. C'est au groupe de Pettit de l'Université d'Arizona que l'on doit l'isolement et la caractérisation d'une série de pseudopeptides cytotoxiques originaux constituant la famille des dolastatines<sup>2</sup>. Parmi ceux-ci, la dolastatine 10 (1) présente l'activité antinéoplasique la plus puissante. Des études menées



1

sur son mécanisme d'action ont montré que ce composé possède un site de fixation sur la sous-unité  $\beta$  de la tubuline et est capable d'inhiber sa polymérisation<sup>3</sup>. Cependant, les premières relations structure-activité semblent montrer qu'il n'y a pas de corrélation entre ce dernier résultat et l'activité cytotoxique<sup>4</sup>. Les potentialités biologiques de ce composé<sup>5</sup> associées à la difficulté de disposer de quantités appréciables par extraction du milieu naturel rendent son accès par synthèse chimique indispensable, et plusieurs groupes ont déjà publié des travaux dans ce domaine<sup>6</sup>. Notre laboratoire est impliqué depuis plusieurs années dans l'étude

de pseudopeptides d'origine marine<sup>7</sup>. Après des travaux publiés récemment sur la synthèse de la dolastatine 15<sup>8</sup>, un autre pseudopeptide apparenté, nous décrivons ici une nouvelle synthèse de la dolastatine 10 (**1**).

La dolastatine 10 est constituée de 5 résidus reliés par des liaisons amidiques. D'un point de vue stratégique, nous avons opté pour une synthèse récurrente partant de la dolaphénine (Doe) et impliquant le couplage successif des 4 autres résidus. L'essentiel des difficultés réside dans la mise au point de synthèses stéréosélectives pour les résidus Dil et Dap.

La préparation de Dil a été abordée, d'une part, par condensation aldolique, et d'autre part, par réduction du  $\beta$ -cétoester correspondant<sup>6</sup>. L'étape délicate dans ce dernier cas est la méthylation des fonctions amine et alcool. Nous avons fait le choix de la réduction et de la méthylation du précurseur allylique **3** suivant le schéma de synthèse décrit précédemment pour l'analogue de Dil possédant un groupement *i*Pr en C-4<sup>9</sup>. A partir de Boc-L-Ile, le même processus réactionnel conduit en 5 étapes à Boc-Dil (**8**) avec un rendement global de 48% et une diastéréosélectivité supérieure à 98% (schéma 1).

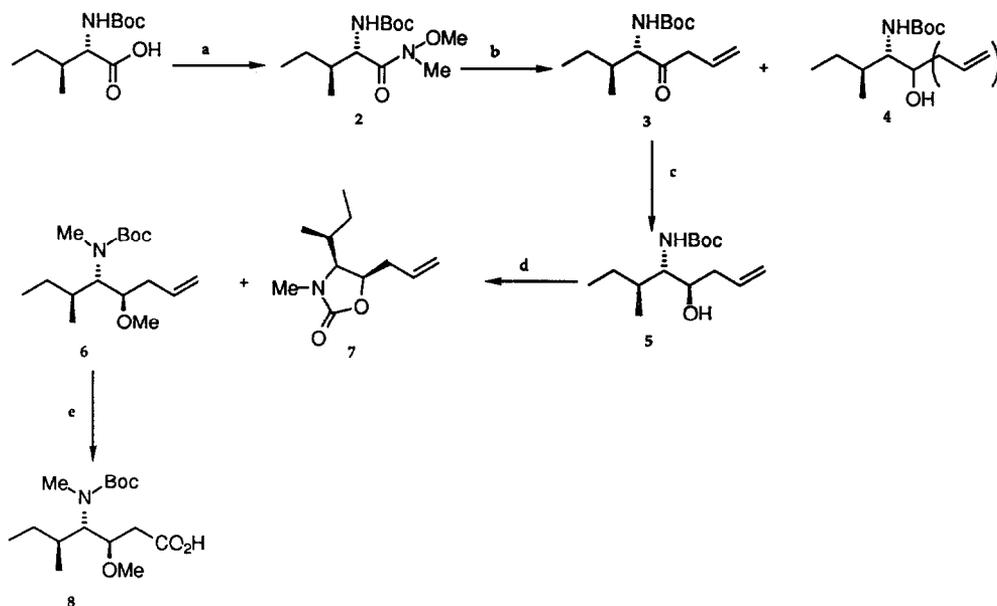


Schéma 1. a : MeNH-OMe, PyBOP, DIEA, 90%; b : AllylMgBr, Et<sub>2</sub>O; c : NaBH<sub>4</sub>, MeOH, 74% pour deux étapes; d : NaH, MeI, THF, 85%; e : NaIO<sub>4</sub>, RuO<sub>2</sub>, CCl<sub>4</sub>, MeCN, H<sub>2</sub>O, 85%.

Pour le résidu Dap, il faut contrôler la stéréochimie d'un centre chiral supplémentaire en C-2. Les équipes de Pettit<sup>6a</sup> et de Shioiri<sup>6c</sup> ont effectué ce contrôle grâce à l'utilisation d'auxiliaires chiraux. Par contre, le groupe de Koga<sup>6b</sup> a décrit la condensation d'un *Z*-boroénolate achiral sur le Boc-prolinal qui fournit l'isomère attendu (2R,3R,2'S) avec un rendement de 64% accompagné des isomères (2S,3S,2'S) (10%) et (2R,3S,2'S) (1%). Par analogie avec la synthèse de Dil, nous avons envisagé la rétrosynthèse décrite dans le

schéma 2. L'accès à l'alcool  $\beta$ -homoallylique **13a**, peut être obtenu par condensation du prolinal avec un Z-crotylboronate. Hoffmann a, en effet, démontré que ces réactifs génèrent des alcools  $\beta$ -homoallyliques de configuration 1',2'-syn<sup>10</sup>.

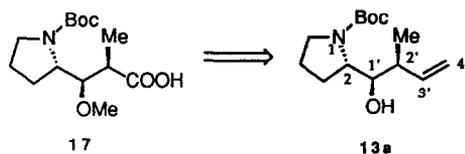


Schéma 2

Le boronate **10** présente l'avantage d'être achiral ainsi que celui de permettre la réaction de condensation à température ambiante<sup>11</sup> Ce réactif est préparé en suivant la méthode de Roush et coll.<sup>12</sup> par transesterification du complexe cristallin **9** obtenu en trois étapes à partir de  $B(O-iPr)_3$  (Schéma 3). La condensation de ce boronate sur Boc-Pro-H (**12**), préparé selon Fehrentz et Castro<sup>13</sup>, conduit après 72 h à tem

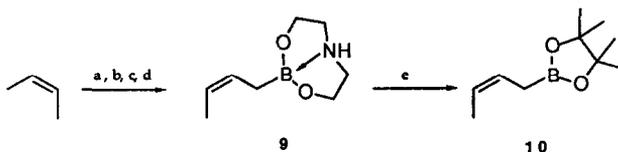


Schéma 3. a : tBuOK, nBuLi, THF; b :  $B(O-iPr)_3$ ; c : HCl 1N; d : diethanolamine, 51% pour 4 étapes; e : pinacol, THF/saumure, 50/50, 100%

pérature ambiante dans le THF aux 4 diastéréoisomères possibles (2S,1'R,2'S), (2S,1'S,2'R), (2S,1'R,2'R) et (2S,1'S,2'S) dans le rapport 84-9-5-2 avec un rendement global de 85% (schéma 4). L'alcool majoritaire **13a**, précurseur de la dolaproïne, est isolé avec un rendement de 72%. L'attribution des configurations absolues en C-1' des autres isomères a été effectuée par mesure de la constante de couplage  $J_{4-5}$  sur les oxazolidinones correspondantes obtenues par cyclisation à l'hydruure de sodium dans le THF (schéma 4). Nous avons ainsi vérifié que pour l'oxazolidinone **14a** obtenue à partir de **13a**, cette constante est de 6,9 Hz ce qui correspond bien à la stéréochimie *cis* attendue<sup>14</sup>. Une valeur comparable (6.8 Hz) est obtenue pour **14c**, ce qui permet d'attribuer la structure (2S,1'R,2'R) à **13c**. Pour **14b** et **14d** cette constante est de 4,5 Hz ce qui correspond à une stéréochimie *trans* mais ne permet pas de conclure sur la configuration de C-2' dans **13b** ou **13d**. L'attribution complète a été effectuée en transformant **13b** en **15** par la séquence suivante : méthylation (NaH, MeI), oxydation ( $RuO_4$ ), esterification ( $CH_2N_2$ ), déprotection (TFA) et cyclisation ( $K_2CO_3$ ). La constante de couplage  $J_{1-2}$  est de 1,3 Hz, alors que  $J_{1-8}$  est de 5,1 Hz ce qui est en accord avec un enchaînement de type éclipsé pour H-8 H-1 et anticlinal pour H-1 H-2. La configuration de **13b** est donc (2S,1'S,2'R) et par voie de conséquence (2S,1'S,2'S) pour **13d**. On peut remarquer que, conformément aux prédictions d'Hoffmann la réaction du Z-crotylboronate **10** sur le Boc-prolinal fournit majoritairement les composés 1'-2' syn **13a** et **13b** avec une diastéréosélectivité globale de 86%. De plus, l'obtention majoritaire des composés de configuration

1'-2 anti est en accord avec les résultats obtenus par d'autres auteurs sur des aldéhydes possédant un centre chiral en  $\alpha$ <sup>15</sup>. Une étude plus complète évaluant l'influence de centres chiraux sur le boronate mais également comparant boronates et boranes est en préparation<sup>16</sup>.

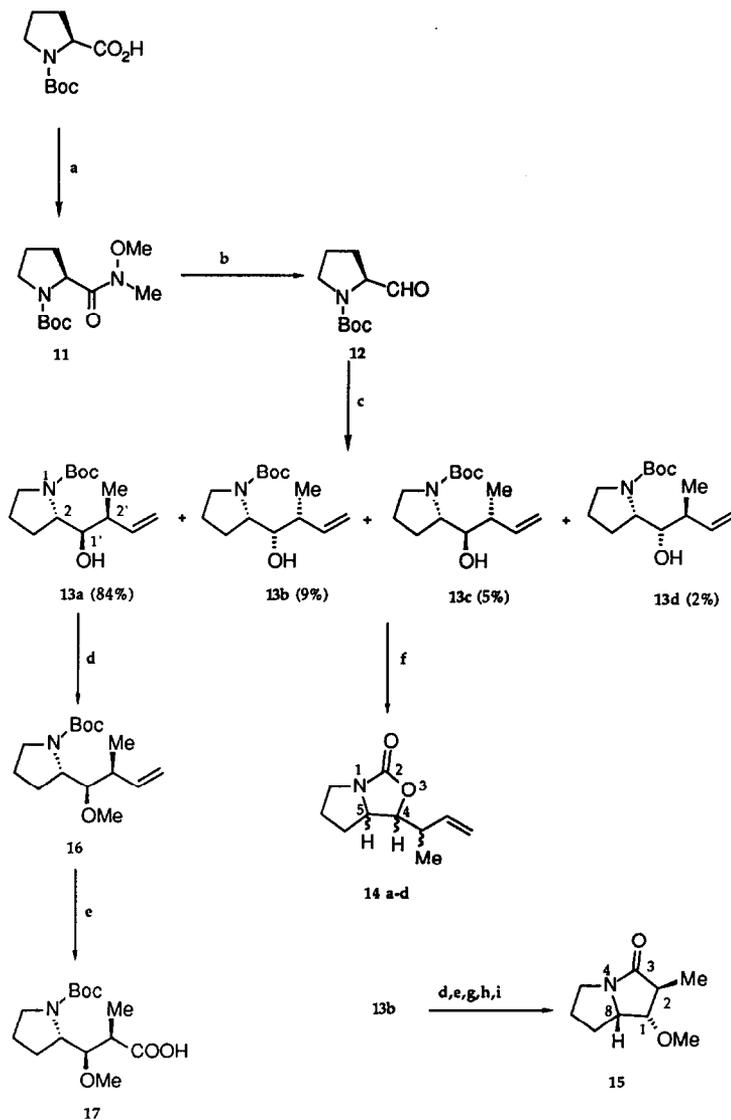


Schéma 4. a : MeNH-OMe, BOP, DIEA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 82%; b, AlLiH<sub>4</sub>, THF, 89%; c, 10, THF, 64%; d : NaH, MeI, DMF, 90%; e : RuO<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub>, MeCN, H<sub>2</sub>O, 81%; f : NaH, THF; g : CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, Et<sub>2</sub>O, 100%; h : TFA, 90%; i : K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, H<sub>2</sub>O, 55%.

L'alcool majoritaire **13a** est transformé en **16** par méthylation à l'iodure de méthyle dans le DMF avec un rendement de 90%. Dans ce solvant la formation d'oxazolidine n'est pas détectée. L'éther homoallylique **16** peut alors être oxydé à l'aide de  $\text{RuO}_4$  dans les conditions décrites par Sharpless<sup>17</sup> pour conduire après 48h à la dolaproïne **17** avec un rendement de 81%. Ce résultat n'est reproductible que pour des quantités de l'ordre de la mmole. Par contre, pour des quantités plus importantes, si on constate effectivement la disparition de l'alcène **16**, il est très difficile de consommer complètement l'aldéhyde intermédiaire malgré l'ajout de réactifs supplémentaires et des temps de réaction plus longs, et les rendements excèdent alors difficilement 50%. Il est alors préférable d'opérer en deux étapes. Dans un premier temps, l'alcène **16** est oxydé dans les conditions précédentes jusqu'à disparition (environ 6h). Le brut réactionnel, après lavage, est remis en réaction dans les conditions d'oxydation de Masamune ( $\text{KMnO}_4$ ,  $t\text{BuOH}$ )<sup>18</sup>, ce qui conduit à **17** isolé avec un rendement de 84%. Cette méthode a permis de traiter des lots de 10-20 mmoles de façon très reproductible. La dolaproïne est ainsi préparée en 5 étapes à partir de Boc-Pro avec un rendement global de 27-30% et ce sur des quantités de plusieurs grammes.

Les diverses voies d'accès à la dolaphénine ont été récemment examinées par Shioiri et coll<sup>19</sup>. Nous avons nous mêmes envisagé les deux voies qui partent de Z-L-Phe et dont les étapes clés sont soit l'oxydation de la thiazolidine par  $\text{MnO}_2$ , soit la réaction de Hantzsch entre le bromacétaldéhyde et le thioamide (Schéma 5). Dans le premier cas, si la formation de la thiazolidine est évidente, nous avons été confrontés aux mêmes

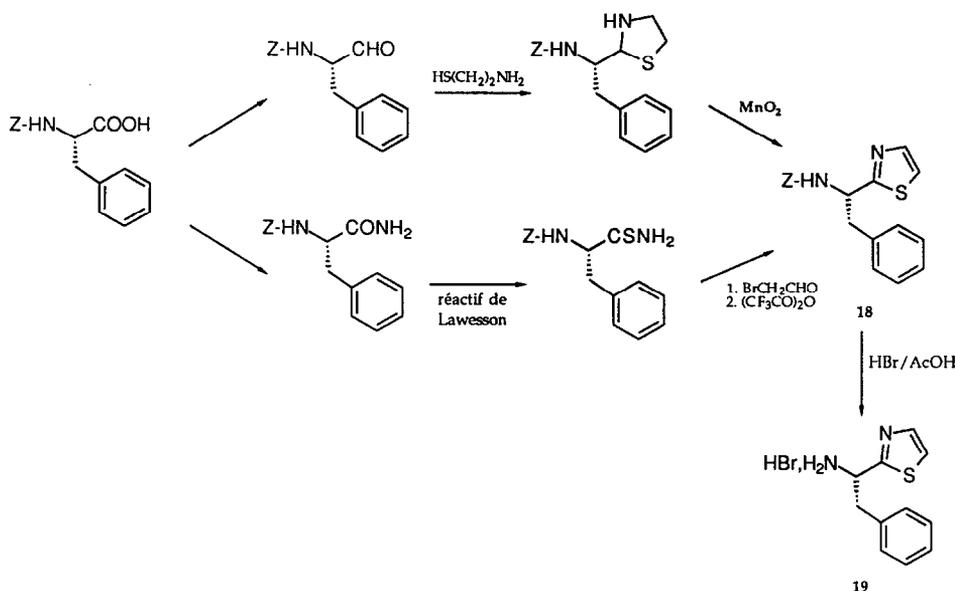


Schéma 5

difficultés pour l'oxyder que les autres équipes et n'avons pu obtenir la dolaphénine avec un rendement meilleur que 11%. La voie utilisant la méthode de Hantzsch présente l'avantage de donner de bons rendements mais conduit à un composé totalement racémisé. La modification de cette méthode décrite par Schmidt qui

consiste à effectuer cette réaction en deux étapes successives, condensation du bromoacétaldéhyde et déshydratation de la 4-hydroxythiazoline résultante<sup>20</sup>, a également fournit un produit complètement racémisé bien que Shioiri annonce par ce procédé un excès énantiomérique de 53%. Une analyse du mécanisme de cette réaction a été faite récemment par Bredenkamp et coll. qui propose le remplacement du DMF par un solvant aprotique tel que le DME<sup>21</sup>. Dans ces conditions, les essais que nous avons effectués ont également conduit à des lots de dolaphénine partiellement racémisée (ee 50%). Compte tenu des études de structure-activité que nous avons entreprises nous avons utilisé des lots racémisés synthétisés par la méthode de Schmidt, dans la mesure où les deux énantiomères peuvent être séparés très facilement après couplage au résidu Dap.

La construction de la dolastatine 10 (**1**) et de l'épimère **23** ((*R*)-Doe au lieu de (*S*)-Doe) a été effectué comme indiqué dans le schéma 6. Le couplage de Boc-Dap (**17**) et de ( $\pm$ ) HBr,Doe (**19**) est réalisé à l'aide du

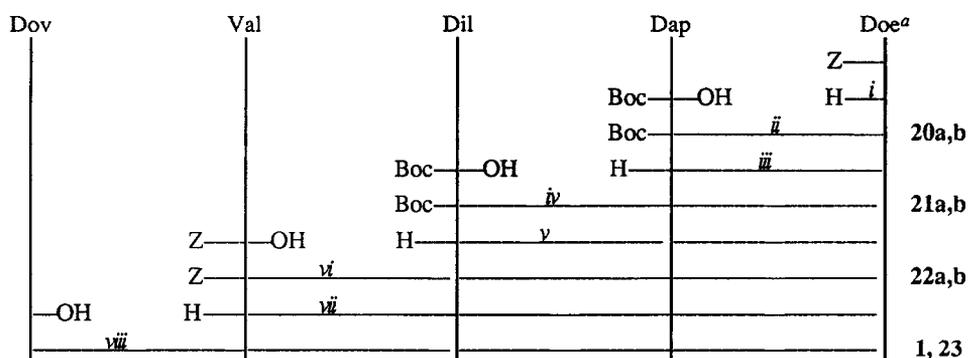


Schéma 6: i) HBr/AcOH, 99%; ii) BOP, DIEA, 88%; iii) TFA, 99%; iv) BOP, DIEA, 82% pour a et 96% pour b; v) TFA, 99%; vi) BroP, DIEA, 75% pour a et 70% pour b; vii) HBr/ AcOH, 94%; viii) COMMOD, 53% pour **1** et 51% pour **23** après purification par CLHP.

a) Avec (*S*)-Doe, composés de la série a; avec (*R*)-Doe, composés de la série b.

BOP<sup>22</sup> et conduit avec un rendement global de 88% au mélange des deux épimères **20a,b** que l'on sépare par chromatographie sur gel de silice. L'isomère Boc-Dap-(*S*)-Doe a été identifié par comparaison du pouvoir rotatoire avec celui du composé identique précédemment synthétisé par Shioiri.<sup>6c</sup> Le produit de déprotection (TFA) de **20a** est couplé à Boc-Dil (**7**) en utilisant également le BOP pour conduire à Boc-Dil-Dap-Doe (**21a**) (82%). Pour l'introduction de la valine nous avons utilisé le réactif BroP qui est mieux adapté au couplage des N-méthyl-amino acides<sup>23</sup> et une protection par un groupement Z puisqu'il a été montré que le groupement Boc favorise la formation de N-carboxyanhydride au détriment du rendement en peptide<sup>24</sup>. De plus, la déprotection de **20a** doit être effectuée par HCl plutôt qu'au TFA, ce dernier pouvant être activé dans ces conditions et donc acyler l'amine<sup>25</sup>. Dans ces conditions **22a** est isolé avec un rendement de 75%. Enfin, Dov est introduit par activation à l'aide du COMMOD<sup>26</sup>. Nous avons en effet noté que les réactifs de type phosphonium (BOP, PyBOP, BroP, PyCloP) provoquent une décomposition de ce résidu. Le produit **1** ainsi obtenu (53%, après purification par CLHP) présente les mêmes caractéristiques physicochimiques que la

dolastatine 10. Parallèlement, l'analogue **23** a été synthétisé par la même séquence de réactions à partir de (*R*)-Doe.

La stratégie de synthèse mise au point lors de ce travail nous a permis de synthétiser efficacement, outre la dolastatine 10 et l'épimère **23**, une série d'analogues dont les caractéristiques structurales et les activités biologiques sont en cours d'évaluation.

## PARTIE EXPERIMENTALE

Les séparations sur colonnes chromatographiques ont été réalisées sur gel de silice (63-200 mm) et les analyses CCM sur silice couchée sur aluminium. Les spectres <sup>1</sup>H-RMN ont été acquis à 360 MHz. Les analyses de spectrométrie de masse ont été effectuées par le Service d'Analyse de L'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, et les analyses centésimales par le Service de Microanalyse du CNRS. Les analyses CLHP ont été réalisées sur colonne C8 Ultrabase 5μ (Shandon) 4,6x150 mm à un débit de 1,5 ml/mn en utilisant comme éluant des gradients constitués de mélanges croissants de B (acétonitrile - 0,1% TFA) dans A (eau - 0,1% TFA), la détection se faisant à l'aide d'un détecteur UV à barette de diodes.

***N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)-L-isoleucine *N'*-méthoxy-*N'*-méthylamide (**2**).** On applique la procédure décrite par Fehrentz et Castro<sup>13</sup>. A une solution de Boc-Ile-OH (14,42 g, 60 mmol) dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (120 ml) sont ajoutés successivement H-N(OMe)Me.HCl (7,02 g, 72 mmol), DIEA (180 mmol, 31,55 ml) et PyBOP (31,2 g, 60 mmol). Après 1,5 h d'agitation à température ambiante, le solvant est éliminé et le résidu repris à AcOEt (200 ml). La solution est lavée successivement avec KHSO<sub>4</sub> 5%, H<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub> 5% et une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée puis concentrée sous pression réduite. Le résidu est purifié sur gel de silice (AcOEt/Hexane, 3:7) et conduit à **2** sous forme d'huile (15,37 g, 90%); R<sub>f</sub> = 0,38 (AcOEt/Hexane, 3:7); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -23 (c = 1, MeOH); FABMS *m/e* (int. rel.) 275 (MH<sup>+</sup>, 70), 219 (MH<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>, 100), 86 (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>N<sup>+</sup>, 58).

**(4*R*,5*S*,6*S*)-5-(*tert*-Butoxycarbonylamino)-6-méthyl-1-octen-4-ol (**5**).** En suivant le procédé décrit dans un travail antérieur<sup>9</sup>, **2** (14,18 g, 51,75 mmol) conduit par action du bromure d'allylmagnésium à un mélange sous forme d'huile (13 g) de **3** et **4** non séparés en CCM (R<sub>f</sub> = 0,44 (AcOEt/Hexane, 2:8)). Ce mélange est traité par NaBH<sub>4</sub> comme déjà décrit<sup>9</sup> pour fournir après séparation sur colonne de silice (AcOEt/Hexane, 1:9): **4** (2,38 g) et **5** (8,82 g, 74% depuis **2**).

**4**: R<sub>f</sub> = 0,44 (AcOEt/Hexane, 2:8); <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0,80-0,86 (massif, 6 H, 6-Me + 8-H<sub>3</sub>), 1,38 (s, 9 H, tBu), 1,73-1,87 (m, 2 H, 7-H<sub>2</sub>), 2,05-2,27 (massif, 5 H, 1'-H<sub>2</sub> + 3-H<sub>2</sub> + 6-H), 3,30 (dd, J<sub>1</sub> = 1,9 J<sub>2</sub> = 10,4 Hz, 1 H, 5-H), 4,26 (s, 1 H, OH), 4,98-5,08 (m, 4 H, 1-H<sub>2</sub> + 3'-H<sub>2</sub>), 5,73-5,84 (m, 2 H, 2-H + 2'H), 5,93 (d, J = 10,4 Hz, 1 H, NH); FABMS *m/e* (int. rel.): 298 (MH<sup>+</sup>, 15), 242 (MH<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>, 22), 86 (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>N<sup>+</sup>, 37), 57 (tBu<sup>+</sup>, 100).

**5**: R<sub>f</sub> = 0,33 (AcOEt/Hexane, 2:8); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +12 (c = 1, MeOH); <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0,74-0,82 (massif, 6 H, 6-Me + 8-H<sub>3</sub>), 0,85-0,98 (m, 1 H, 7-H), 1,32-1,50 (m, 1H, 7-H'), 1,36 (s, 9 H, tBu), 1,68-1,79 (m, 1 H, 6-H), 1,93-2,04 (m, 1 H, 3-H), 2,15-2,24 (m, 1 H, 3-H'), 3,23-3,32 (m, 1 H, 5-H), 3,40-3,48 (m, 1 H, 4-H), 4,47

(d,  $J = 6,6$  Hz, 1 H, OH), 4,94-5,04 (m, 2 H, 1-H<sub>2</sub>), 5,79-5,90 (m, 1 H, 2-H), 6,37 (d,  $J = 6,4$  Hz, 1H, NH); FABMS *m/e* (int. rel.) 258 (MH<sup>+</sup>, 36), 202 (100), 158 (MH<sup>+</sup>-Boc, 38), 86 (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>N<sup>+</sup>, 64); Anal. Calc. pour C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>3</sub>: C 65,3; H 10,6; N 5,4. Trouvé: C 65,2; H 10,6; N 5,6.

**(3*S*,4*S*,5*R*)-*N*-Méthyl-*N*-(*tert*-butoxycarbonyl)-(3-méthyl-5-méthoxy-7-octen-4-yl)amine (6).** Par traitement à l'iode de méthyle en suivant le procédé décrit dans un travail antérieur<sup>9</sup>, à partir de **5** (7,00 g, 27,2 mmol) on obtient après chromatographie sur gel de silice (AcOEt/Hexane, 1:9), l'éther attendu **6** (5,95 g, 85%), ainsi que l'oxazolidin-2-one correspondante **7** (0,64 g, 12%). Rf = 0,65 (AcOEt/Hexane, 2:8);  $[\alpha]^{20}_D$  -18 (c = 1, MeOH); <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) (2 conformères 55:45): δ 0,80-0,91 (massif, 6 H, 3-Me + 1-H<sub>3</sub>), 1,39 (s, 4 H, tBu min.), 1,38 (s, 5 H, tBu maj.), 0,92-1,06 (m, 1 H, 2-H), 1,33-1,46 (m, 1 H, 2-H'), 1,70-1,84 (m, 1 H, 3-H), 2,02-2,12 (m, 1 H, 6-H), 2,28-2,37 (m, 1 H, 6-H'), 2,63 (s, 1,7 H, NMe maj.), 2,60 (s, 1,3 H, NMe min.), 3,27 (s, 1,7 H, OMe maj.), 3,26 (s, 1,3 H, OMe min.), 3,35-3,47 (m, 1 H, 5-H), 3,75-3,95 (m, 1H, 4-H), 4,96-5,10 (m, 2H, 8-H<sub>2</sub>), 5,73-5,88 (m, 1H, 7-H); FABMS *m/e* (int. rel.) 286 (MH<sup>+</sup>, 23), 230 (MH<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>, 46), 186 (MH<sup>+</sup>-Boc, 80), 144 (100); Anal. Calc. pour C<sub>16</sub>H<sub>31</sub>NO<sub>3</sub>: C 67,3; H 11,0; N 4,9. Trouvé: C 67,0; H 11,3; N 5,1.

**(1*S*,4*S*,5*R*)-3-Méthyl-5-allyl-4-*sec*-butyl-1,3-oxazolidin-2-one (7).** Rf = 0,11 (AcOEt/Hexane, 2/8);  $[\alpha]^{20}_D$  -8 (c = 1, MeOH); <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0,89-0,93 (m, 3 H, 3-H<sub>3</sub> (sBu)), 0,99 (d,  $J = 7,1$  Hz, 3 H, 1-Me (sBu)), 1,03-1,17 (m, 1 H, 2-H (sBu)), 1,35-1,48 (m, 1 H, 2-H' (sBu)), 1,64-1,75 (m, 1 H, 1-H (sBu)), 2,34-2,53 (m, 2 H, 1-H<sub>2</sub> (allyle)), 2,80 (s, 3 H, NMe), 3,64 (dd,  $J_1 = 2,3$   $J_2 = 7,9$  Hz, 1 H, 4-H), 4,51-4,57 (m, 1 H, 5-H), 5,09-5,19 (m, 2 H, 3-H<sub>2</sub> (allyle)), 5,75-5,86 (m, 1 H, 2-H (allyle)); FABMS *m/e* (int. rel.) 395 (M<sub>2</sub>H<sup>+</sup>, 20), 198 (MH<sup>+</sup>, 100).

**Acide (3*R*,4*S*,5*S*)-4-(*tert*-butoxycarbonylamino)-3-méthoxy-5-méthyl-heptanoïque (8).** Ce composé est préparé par oxydation de **6** (5,7 g, 20 mmol) à l'aide de RuO<sub>4</sub> comme décrit dans la ref 9. On obtient **8** sous forme d'huile (5,17 g, 85%) après chromatographie sur gel de silice (éluant : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 95:5). Rf = 0,53 (AcOEt/Hexane/AcOH, 50:50:1);  $[\alpha]^{20}_D$  -1° (c = 1, MeOH) (lit.: -10,5 (c = 0,97, MeOH)<sup>6c</sup>); <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) (2 conformères 47:53) δ 0,81-0,89 (massif, 6 H, 7-H<sub>3</sub> + 5-Me), 0,89-0,95 (m, 1 H, 6-H), 1,34-1,43 (m, 1 H, 6-H'), 1,39 (s, 9 H, tBu), 1,70-1,82 (m, 1 H, 5-H), 2,22-2,29 (m, 1 H, 2-H), 2,42-2,49 (m, 1 H, 2-H'), 2,6 (s, 3 H, N-Me), 3,25 (s, 1,41 H, OMe min.), 3,28 (s, 1,59 H, OMe maj.), 3,73-3,81 (m, 1 H, 3-H), 3,83-4,03 (m, 1 H, 4-H), 12,28 (s, 1 H, CO<sub>2</sub>H); FABMS *m/e* (int. rel.): 304 (MH<sup>+</sup>, 20), 248 (MH<sup>+</sup>-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>, 42), 204 (MH<sup>+</sup>-Boc, 80), 57 (100, tBu<sup>+</sup>). Anal. Calc. pour C<sub>15</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>5</sub>: C 59,4; H 9,6; N 4,6. Trouvé: C 58,9; H 9,9; N 4,7.

**2-[(*Z*)-2-butényl]-4,4,5,5-tétraméthyl-1,3,2-dioxaborolane (10).** Le pinacol (7,9 g, 66,6 mmol) est dissous dans un mélange 50:50 (420 ml) de THF et d'eau saturée en NaCl. Le 2-[(*Z*)-2-butényl]-1,3,6,2-perhydrodioxazaborocine (7,50 g, 44,4 mmol) préparé selon Roush et coll.<sup>12</sup>, est ensuite ajouté à température ambiante. Le mélange réactionnel est placé sous agitation magnétique vigoureuse pendant 18h. La phase

aqueuse est extraite plusieurs fois à Et<sub>2</sub>O. Les phases organiques jointes sont ensuite séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées à sec sous pression réduite, pour donner **10** sous forme d'une huile jaune (11,2 g, 92%).

**N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-proline N'-méthoxy-N'-méthyllamide (11)**. En suivant la procédure décrite pour la préparation de **2**, à partir de Boc-Pro-OH (14,00 g, 65,0 mmol), on obtient **11** sous forme d'une huile jaune (14,1 g, 82%) après chromatographie sur colonne de silice (300 g, AcOEt/Pentane, 50:50). R<sub>f</sub> = 0,33 (AcOEt/ Pentane: 50:50); [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -40 (c=1, MeOH); <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) (2 conformères 52:48) δ 1,39 (s, 4,7 H, tBu maj.), 1,44 (s, 4,3 H, tBu min.), 1,73-2,02 (m, 3 H, Hβ +H<sub>2</sub>γ), 2,07-2,24 (m, 1 H, Hβ), 3,16 (s, 3 H, NMe), 3,34-3,60 (m, 2 H, H<sub>2</sub>δ), 3,69 (s, 1,44 H, OMe min.), 3,86 (s, 1,56 H, OMe maj.), 4,57 (dd, J<sub>1</sub> = 8,4 J<sub>2</sub> = 3,6 Hz, 0,48 H, Hα min.), 4,68 (dd, J<sub>1</sub> = 8,4 J<sub>2</sub> = 3,6 Hz, 1 H, Hα maj.); FABMS *m/e* (int. rel.) 517 (M<sub>2</sub>H<sup>+</sup>, 9), 417 (M<sub>2</sub>H<sup>+</sup>-Boc, 4) 259 (MH<sup>+</sup>, 20), 159 (MH<sup>+</sup> Boc, 71), 57 (tBu<sup>+</sup>, 35).

**N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-prolinal (12)**. On utilise la procédure décrite par Fehrentz et Castro<sup>13</sup>. Sous atmosphère d'argon, Boc-Pro-N(OMe)Me (**11**) (13,8 g, 53,5 mmol) est dissous dans du THF anhydre (300 ml). La solution est refroidie à 0°C et on ajoute ALiH<sub>4</sub> par portions (2,55 g, 67 mmol). Après 1h d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est à nouveau refroidi à 0°C pour être hydrolysé par une solution de KHSO<sub>4</sub> 5%. La phase aqueuse est extraite plusieurs fois à Et<sub>2</sub>O. Les phases organiques sont ensuite lavées successivement avec NaHCO<sub>3</sub> 5% et H<sub>2</sub>O saturée en NaCl, puis séchées sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrées et concentrées à sec sous pression réduite. On récupère l'aldéhyde **12** (9,5 g, 89%) sous forme d'une huile incolore et homogène en CCM. R<sub>f</sub> = 0,65 (AcOEt/pentane: 30:70). Ce composé est immédiatement remis en réaction.

**(2S)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-2-(1'-hydroxy-2'-méthyl-3'-butényl)-pyrrolidines (13)**

A une solution refroidie à -5 °C de Boc-prolinal (**12**) (8,00 g, 40,4 mmol) dans du THF (250 ml) est ajoutée une solution de **10** (11,2 g) dans du THF (200 ml). Après l'addition, le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 3 jours à température ambiante. La solution est alors concentrée sous pression réduite et le brut (17 g) chromatographié 2 fois successivement sur colonne de gel de silice (500 g, AcOEt/Pentane 5:95 à 20:80). On obtient **13d** (0,19 g), **13b** (0,76 g), **13c** (0,44 g) et le produit attendu **13a** (7,45 g, 72%). L'analyse CLHP du brut (gradient de 20 à 30% de B en 5 mn, de 30 à 40% en 25 mn et de 40 à 60% en 10 mn) donne: TR = 26,6 min, **13c** (4,7%); TR = 27,3 min, **13a** (84,1%); TR = 32,4 min, **13b** (9,0%); TR = 34,4 min, **13d** (2,2%).

**13a**: R<sub>f</sub> = 0,24 (AcOEt/Pentane 20:80); PF = 67-68°C; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -71 (c=1, MeOH); <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 1,00 (d, J = 6,7 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1,39 (s, 9H, Boc), 1,57 à 1,72 (m, 2 H, 4 -H et 4-H'), 1,71 à 1,94 (m, 2 H, 3-H et 3-H'), 2,00 à 2,50 (m, 1 H, 2'-H), 3,08 à 3,26 (m, 1 H, 5-H), 3,30 à 3,39 (m, 1 H, 5-H'), 3,54 à 3,65 (m, 1 H, 1'-H), 3,71 à 3,73 (m, 1 H, 2-H), 4,60 à 4,62 (m, 0,4 H, OH), 4,70 (d, J = 4,4 Hz, 0,6 H, OH), 4,94 (dd, J<sub>1</sub> = 10,0 J<sub>2</sub> = 2,0 Hz, 1 H, 4'-H), 5,00 (dd, J<sub>1</sub> = 17,2 J<sub>2</sub> = 2,0 Hz, 1 H, 4'-H'), 5,61 à 5,78 (m, 1 H, 3'-H); FABMS *m/e* (int. rel.) 256 (MH<sup>+</sup>, 28), 200 (MH<sup>+</sup>- isobutène, 65), 156 (MH<sup>+</sup>- Boc, 24), 114 (HCO<sub>2</sub>-pyrrolinium, 70 (pyrrolinium, 100)); Anal. calc. pour C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>: C, 65,9; H, 9,9; N, 5,5. Trouvé C, 66,1; H, 10,1; N, 5,1.

**13b**: Rf = 0,52 (AcOEt/Pentane 20:80); huile  $[\alpha]^{20}_D -72$  (c=1, MeOH);  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ) 0,96 (d, J = 6,7 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1,39 (s, 9H, Boc), 1,64 à 1,87 (m, 4 H, 4 -H<sub>2</sub> et 3-H<sub>2</sub>), 2,15 à 2,24 (m, 1 H, 2'-H), 3,05 à 3,15 (m, 1 H, 5-H), 3,28 à 3,37 (m, 1 H, 5-H'), 3,40 à 3,47 (m, 1 H, 1'-H), 3,82 à 3,87 (m, 1 H, 2-H), 4,40 à 4,80 (large, 1 H, OH), 4,86 (dd, J<sub>1</sub> = 10,5 J<sub>2</sub> = 2,0 Hz, 1 H, 4'-H<sub>Z</sub>), 4,96 (d, J = 17,3 Hz, 1 H, 4'-H<sub>E</sub>), 5,78 (h, J<sub>1</sub> = 10,5 J<sub>2</sub> = 17,3 J<sub>3</sub> = 7,8 Hz, 1 H, 3'-H).

**13c**: Rf = 0,30 (AcOEt/Pentane 20:80); PF = 61-62°C;  $[\alpha]^{20}_D -77$  (c=1,09, MeOH);  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ) 0,94 (d, J = 6,8 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1,39 (s, 9H, Boc), 1,56 à 1,96 (m, 4 H, 4 -H<sub>2</sub> et 3-H<sub>2</sub>), 2,08 à 2,17 (m, 1 H, 2'-H), 3,10 à 3,20 (m, 1 H, 5-H), 3,30 à 3,38 (m, 1 H, 5-H'), 3,60 à 3,67 (m, 1 H, 1'-H), 3,72 à 3,80 (m, 1 H, 2-H), 4,59 (large, 1 H, OH), 4,92 (d, J = 10,5 Hz, 1 H, 4'-H<sub>Z</sub>), 4,98 (d, J = 17,6 Hz, 1 H, 4'-H<sub>E</sub>), 5,89 (h, J<sub>1</sub> = 10,5 J<sub>2</sub> = 17,6 J<sub>3</sub> = 7,4 Hz, 1 H, 3'-H).

**13d**: Rf = 0,60 (AcOEt/Pentane 20:80); huile;  $[\alpha]^{20}_D -39$  (c=1,03, MeOH);  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ) 1,01 (d, J = 6,8 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1,40 (s, 9H, Boc), 1,60 à 1,86 (m, 4 H, 4 -H<sub>2</sub> et 3-H<sub>2</sub>), 2,19 à 2,29 (m, 1 H, 2'-H), 3,13 à 3,23 (m, 1 H, 5-H), 3,25 à 3,32 (m, 1 H, 1'-H), 3,37 à 3,45 (m, 1 H, 5-H'), 3,75 à 3,85 (m, 1 H, 2-H), 4,81 (large, 1 H, OH), 4,98 (d, J = 9,7 Hz, 1 H, 4'-H<sub>Z</sub>), 4,99 (d, J = 18,0 Hz, 1 H, 4'-H<sub>E</sub>), 5,88 (h, J<sub>1</sub> = 9,7 J<sub>2</sub> = 18,0 J<sub>3</sub> = 8,6 Hz, 1 H, 3'-H).

#### 4-(1-méthyl-2-propényl)-3,1-oxazabicyclo[3.3.0]octan-2-ones (14a-d)

A une solution refroidie à -5 °C de **12** dans du THF anhydre, on ajoute par portions NaH (dispersion à 60% dans l'huile, 2 eq) et laisse agiter pendant 16h à température ambiante. Après hydrolyse à l'aide de KHSO<sub>4</sub> 5%, le milieu est dilué à l'éther, lavé à NaHCO<sub>3</sub> 5% puis NaCl saturé, séché et concentré sous vide.

**14a**:  $^1\text{H-RMN}$  (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H5}}$  3.73 ppm, J<sub>4-5</sub> 6.9 Hz

**14b**:  $^1\text{H-RMN}$  (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H5}}$  3.60 ppm, J<sub>4-5</sub> 4.5 Hz

**14c**:  $^1\text{H-RMN}$  (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H5}}$  3.74 ppm, J<sub>4-5</sub> 6.9 Hz

**14d**:  $^1\text{H-RMN}$  (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta_{\text{H5}}$  3.60 ppm, J<sub>4-5</sub> 4.5 Hz

#### (1S, 2S,, 8S)-1-méthoxy-2-méthyl-pyrrolizidin-3-one (15)

A une solution refroidie à -5°C de **13b** (215 mg, 0,84 mmol) et MeI (0,43 ml, 6,9 mmol) dans du DMF anhydre (6 ml), on ajoute par portion NaH (40 mg, 0,95 mmol). On laisse agiter à température ambiante pendant 24h. Après ajout de H<sub>2</sub>O (1 ml), le DMF est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris à AcOEt (15 ml) et lavé successivement par KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5%, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 10%, et une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> filtrée et évaporée à sec. Après chromatographie sur gel de silice (35 g, AcOEt/Pentane 15:85), on récupère l'éther méthylique sous forme d'une huile incolore (192 mg, 85%)  $[\alpha]^{20}_D -74$  (c = 1,00, MeOH). Ce composé est mis en solution dans un mélange CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/CCl<sub>4</sub> (1:1,5:1, 3,5 ml) auquel on ajoute NaIO<sub>4</sub> (0,61 g, 2,9 mmol) et RuO<sub>2</sub> (3 mg). On agite vigoureusement pendant 48 h. Après évaporation du solvant le brut est repris dans AcOEt (10 ml) et lavé successivement par Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 10% et H<sub>2</sub>O saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et évaporée à sec. L'huile obtenue (122 mg) est dissoute dans 1 ml d'éther et traitée par une solution de diazométhane dans l'éther jusqu'à persistance de la couleur jaune. Après évaporation du solvant on dissout le résidu dans 0,5 ml de TFA et laisse au repos pendant 15 min. Le solvant est éliminé et l'huile résultante

solubilisée dans un mélange MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1, 2 ml). On ajoute à température ambiante K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (69 mg, 0,5 mmol). Après 1h d'agitation, on reprend par AcOEt (10 ml), lave par H<sub>2</sub>O et concentre. On obtient **15** sous forme d'une huile incolore (40 mg, 33% pour 4 étapes). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,23 (d, J = 7,8 Hz, 3 H, 2-Me), 1,65 à 1,74 (m, 1 H, 7-H), 1,80 à 2,07 (m, 3 H, 7-H' + 6-H<sub>2</sub>), 2,55 (qd, J<sub>1</sub> = 7,8 J<sub>2</sub> = 1,3 Hz, 1 H, 2-H), 2,96 (ddd, J<sub>1</sub> = 4,3 J<sub>2</sub> = 8,2 J<sub>3</sub> = 12,6 Hz, 1 H, 5-H), 3,24 (s, 3 H, OMe), 3,45 à 3,52 (m, 2 H, 1-H + 5-H'), 3,98 (ddd, J<sub>1</sub> = 6,6 J<sub>2</sub> = 8,8 J<sub>3</sub> = 5,1 Hz, 1 H, 8-H). Anal. Calc. pour C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>: C 63,9; H 8,9; N 8,3. Trouvé: C 64,1; H 9,1; N 8,0.

**(2S,1'R,2'S)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-2-(1'-méthoxy-2'-méthyl-3'-butényl)-pyrrolidine (16)**

A une solution refroidie à -5°C de **13a** (5,2 g, 20,4 mmol) et MeI (9,8 ml, 15,7 mmol) dans du DMF anhydre (150 ml), on ajoute par portion NaH (0,94 g, 23,5 mmol). On laisse agiter à température ambiante pendant 24 h. Après ajout de H<sub>2</sub>O (10 ml) le DMF est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris à AcOEt (150 ml) et lavé successivement par KHSO<sub>4</sub> 5%, NaHCO<sub>3</sub> 5%, Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 10%, et une solution saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et évaporée à sec. Après chromatographie sur gel de silice (200 g, AcOEt/Pentane 5:95), on récupère le produit **16** sous forme d'une huile jaune (4,9 g, 90%). Rf = 0,42 (AcOEt/Pentane: 5:95); <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 1,02 (d, J = 6,6 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub>), 1,41 (s, 9H, Boc), 1,61 à 1,66 (m, 2 H, 4-H et 4-H'), 1,81 à 1,86 (m, 2 H, 3-H et 3-H'), 2,09 à 2,16 (m, 1 H, 2'-H), 3,06 à 3,18 (m, 1 H, 5-H), 3,29 à 3,39 (m, 1 H, 5-H'), 3,32 (s, 3 H, OMe), 3,50 à 3,62 (m, 1 H, 1'-H), 3,72 à 3,75 (m, 1 H, 2-H), 4,94 (dd, J<sub>1</sub> = 10,2 J<sub>2</sub> = 2,0 Hz, 1 H, 4'-H), 5,03 (dd, J<sub>1</sub> = 17,2 J<sub>2</sub> = 2,0 Hz, 1 H, 4'-H'), 5,67 à 5,72 (m, 1 H, 3'-H); FABMS *m/e* (int. rel.) 269 (MH<sup>+</sup>, 28), 170 (MH<sup>+</sup>- Boc, 60), 114 (HCO<sub>2</sub>-pyrrolinium, 80), 70 (pyrrolinium, 60), 57 (tBu<sup>+</sup>, 100).

**Acide (2R,3R,2'S)-3-[N-(tert-butoxycarbonyl)-pyrrolidin-2-yl]-2-méthyl-3-méthoxy-propanoïque: Boc-Dolaproine (17)**

*Oxydation en une étape selon la méthode décrite par Sharpless*<sup>17</sup>: l'alcène **16** (0,76 g, 2,80 mmol) est dissous dans le système CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/CCl<sub>4</sub> (5:7,5:5 ml). Il est alors ajouté, successivement, à température ambiante, NaIO<sub>4</sub> (2,5 g, 11,6 mmol) et RuO<sub>2</sub> (15,6 mg, 2,5 %). Le mélange réactionnel est agité vigoureusement pendant 48 h. Après évaporation du solvant sous pression réduite, le brut est repris à AcOEt (100 ml) et lavé successivement par Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 10% et H<sub>2</sub>O saturée en NaCl. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> filtrée et évaporée à sec. Après chromatographie sur gel de silice (70 g, AcOEt/Pentane/AcOH: 30:70:1), on récupère **17** sous forme d'une huile jaune (0,65 g, 81%).

*Oxydation du groupement allyle en deux étapes*: dans un premier temps on utilise les conditions précédentes: l'alcène **16** (3,80 g, 14,1 mmol) est dissous dans le système CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O/CCl<sub>4</sub> (40:60:40 ml). Il est alors ajouté successivement à cette solution, à température ambiante NaIO<sub>4</sub> (24,8 g, 116 mmol) et RuO<sub>2</sub> en solution aqueuse (60%) (79 mg, 0,3 mmol). Le mélange réactionnel est laissé sous agitation magnétique jusqu'à la consommation totale (6h) de **16** suivie en CCM (Rf (RCHCH<sub>2</sub>) = 0,74; Rf (RCHO) = 0,41; Rf (RCOOH) = 0,12; AcOEt/Pentane: 10:90). La réaction est traitée comme il est décrit au-dessus. Le brut obtenu est immédiatement remis en réaction en suivant la procédure mise au point par le groupe de Masamune<sup>18</sup>. Après solubilisation dans un mélange 1:1 de tBuOH et de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,25 M (180 ml) et ajustement du pH entre 6 et 7

à l'aide de NaOH 1N, on ajoute une solution de  $\text{KMnO}_4$  1M (90 ml) et on laisse sous agitation vigoureuse pendant 15 min. Le mélange est lavé plusieurs fois par une solution saturée de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  et par une solution de  $\text{KHSO}_4$  5% jusqu'à pH 3. Les phases aqueuses sont réextraites plusieurs fois à AcOEt, puis l'ensemble des phases organiques sont lavées par une solution saturée en NaCl, séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrée et évaporée à sec sous pression réduite. Après chromatographie sur colonne de gel de silice (200 g, AcOEt/Pentane/AcOH: 30:70:1), on récupère la dolaproïne (**17**) sous forme d'une huile jaune (3,37 g, 84%). Rf = 0,33 (AcOEt/Pentane/AcOH: 30:70:1);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}}$  -61 (c=1, MeOH);  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1,11 (d, J = 6,8 Hz, 3 H, 2-CH<sub>3</sub>), 1,40 (s, 9H, Boc), 1,64 à 1,77 (m, 1 H, 4'-H), 1,75 à 1,89 (m, 3 H, 3'-H, 3'-H' et 4'-H'), 2,28 à 2,36 (m, 1 H, 2-H), 3,04 à 3,16 (m, 1 H, 5'-H); 3,32 (s, 3 H, OMe), 3,30 à 3,43 (m, 1 H, 5'-H'), 3,67 à 3,78 (m, 2 H, 3-H et 2'-H), 12,11 (s, 1 H, COOH); FABMS *m/e* (int. rel.) 288 (MH<sup>+</sup>, 31), 188 (MH<sup>+</sup>- Boc, 41), 114 (HCO<sub>2</sub>-pyrrolinium, 100); Anal. calc. pour C<sub>14</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>5</sub>: C, 58,5; H, 8,8; N, 4,9. Trouvé C, 58,0; H, 8,9; N, 4,9.

**(1'S)-2-[1'-((Benzyloxycarbonyl)amino)-2'-phényléthyl]-1,3-thiazole (Z-dolaphénine) (18)**. En suivant la procédure décrite par Irako et coll.<sup>19</sup>, à partir de Z-L-Phe-OH (15,0 g, 50 mmol) on obtient **18** qui est cristallisé dans Et<sub>2</sub>O/Hexane (10,6 g, 63%). Pf = 92-93°C;  $[\alpha]^{20}_{\text{D}}$  -2 (c=1, MeOH).

**Bromure de (1'R,S)-1'H-2-(1'-amino-2'-phényléthyl)-1,3-thiazolium (19)**. A une solution refroidie à 0 °C de **18** (2,00 g, 6,00 mmol) dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml), on ajoute une solution à 33% de HBr dans AcOH (50 ml). Après 2 h d'agitation à cette température **17** est précipité par addition de Et<sub>2</sub>O (150 ml) et récupéré par essorage (1,8 g, 99%). Une analyse HPLC (gradient de 40 à 70% de B en 10 mn) après dérivatisation par le réactif de Marfey<sup>27</sup>, montre la présence de 2 pics à 7,12 et 7,87 mn dans le rapport 48:52 correspondant aux deux énantiomères de **19**.

**Couplages peptidiques. Procédure générale.** A une solution de P-Aaa-OH (1 équiv.) et de sel d'ammonium de H<sub>2</sub>N-Bbb-P' (1 équiv.) dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> filtré sur alumine (2 ml/mmol) sont successivement ajoutés la DIEA (3,5 équiv.) et l'agent de couplage (1,5 équiv.). Après 1h d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite, repris par AcOEt (20 ml/mmol) et la phase organique est lavée par des solutions de  $\text{KHSO}_4$  5% (3 x 5 ml/mmol),  $\text{NaHCO}_3$  5% (3 x 5 ml/mmol), et avec une solution saturée en NaCl jusqu'à pH neutre. La phase organique est alors séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtrée et concentrée à sec (toute modification de ce mode expérimental est mentionnée pour les produits concernés).

**Boc-Dap-Doe (20a)**. A partir de **17** (2,1 g, 7,3 mmol) et **19** (1,90 g, 10,1 mmol), en utilisant le BOP<sup>22</sup> comme agent de couplage on obtient après chromatographie sur colonne de silice (250 g, AcOEt/Pentane 35:65) **20a** (1,51 g, 42%) et **20b** (1,65 g, 46%).

**20a**: Rf = 0,23 (AcOEt/Pentane 35:65); TR = 7,33 mn (gradient de 40 à 90% de B en 15 min); PF = 125-128°C (litt 131-132°C<sup>6c</sup>);  $[\alpha]^{20}_{\text{D}}$  -80 (c=1, MeOH) (litt -76,5<sup>6c</sup>);  $^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1,05 (d, J = 6,7 Hz, 3 H, CH<sub>3</sub> Dap), 1,35 (s, 9 H, Boc), 1,38 à 1,49 (m, 1 H, 4'-H Dap), 1,53 à 1,69 (m, 3 H, 4'-H' et 3'-H<sub>2</sub> Dap), 2,18 (qd, J<sub>1</sub> = 9,6 J<sub>2</sub> = 6,7 Hz, 1 H, 2-H Dap), 2,98 (t, élargi 1 H, J = 13,5 Hz, 2'-H Doe), 3,04 à 3,16 (m, 1 H, 5'-H Dap); 3,23 (s, 3 H, OMe Dap); 3,30 à 3,39 (m, 1 H, 5'-H' Dap), 3,43 (dd, J<sub>1</sub> = 3,8 J<sub>2</sub> = 14,0 Hz, 1 H, 2'-H'

Doe), 3,48 à 3,52 (m, 1 H, 3-H Dap); 3,67 à 3,74 (signal large, 1 H, 2'-H Dap) 5,37 à 5,43 (m, 1 H, 1'-H Doe), 7,14 à 7,30 (m, 5 H, Ar Doe), 7,73 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1 H, 4-H Doe), 7,77 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1 H, 5-H Doe), 8,63 (d,  $J = 8,5$  Hz, 1 H, NH Doe); FABMS *m/e* (int. rel.) 474 ( $MH^+$ , 28), 374 ( $MH^+$ - Boc, 9), 205 ( $H_2Doe^+$ , 12), 188 ((Doe-NH)<sup>+</sup>, 55), 170 (HDap<sup>+</sup>, 27), 138 (HDap<sup>+</sup>-MeOH, 32), 57 (tBu<sup>+</sup>, 100). Anal. calc. pour C<sub>25</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S: C, 63,4; H, 7,5; N, 8,9. Trouvé: C, 62,9; H, 7,9; N, 8,8.

**20b**: Rf = 0,32 (AcOEt/Pentane 35:65); TR = 7,93 mn: PF = 70-72°C;  $[\alpha]^{20}_D -24$  (c=1, MeOH); <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0,84 (d,  $J = 6,5$  Hz, 3 H, CH<sub>3</sub> Dap), 1,33 (s, 9 H, Boc), 1,53 à 1,66 (m, 1 H, 3'-H Dap), 1,76 à 1,90 (m, 3 H, 3'-H' et 4'-H<sub>2</sub> Dap), 2,16 à 2,24 (m, 1 H, 2-H Dap), 2,99 (dd, 1 H,  $J_1 = 10,8$   $J_2 = 13,9$  Hz, 2'-H Doe), 3,03 à 3,12 (m, 1 H, 5'-H Dap); 3,27 (s, 3 H, OMe Dap); 3,34 à 3,43 (m, 1 H, 5'-H' Dap), 3,43 (dd,  $J_1 = 4,6$   $J_2 = 13,9$  Hz, 1 H, 2'-H' Doe), 3,55 à 3,66 (m, 1 H, 3-H Dap); 3,76 à 3,82 (m, 1 H, 2'-H Dap) 5,31 à 5,38 (m, 1 H, 1'-H Doe), 7,15 à 7,29 (m, 5 H, Ar Doe), 7,63 (d,  $J = 3,2$  Hz, 1 H, 4-H Doe), 7,76 (d,  $J = 3,2$  Hz, 1 H, 5-H Doe), 8,61 (d,  $J = 8,7$  Hz, 1 H, NH Doe); FABMS *m/e* (int. rel.) 474 ( $MH^+$ , 43), 374 ( $MH^+$ - Boc, 29), 188 ((Doe-NH)<sup>+</sup>, 100), 170 (HDap<sup>+</sup>, 54), 138 (HDap<sup>+</sup>-MeOH, 53), 57 (tBu<sup>+</sup>, 51). Anal. calc. pour C<sub>25</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S: C, 63,4; H, 7,5; N, 8,9. Trouvé: C, 61,5; H, 7,7; N, 8,4.

**Boc-Dil-Dap-Doe (21a)**. **20a** (1,00 g, 2,10 mmol) est déprotégé par traitement pendant 30 mn dans du TFA (10 ml). Après élimination du solvant, on récupère le sel de TFA sous forme d'une huile jaune (1,04 g, 99%). Ce dernier est couplé à **8** (0,77 g, 2,50 mmol) en utilisant le BOP comme agent de couplage pour conduire après chromatographie (50 g, AcOEt/Pentane 85:35) à **21a** qui cristallise dans AcOEt/Pentane (1,10 g, 82%). Rf = 0,47 (AcOEt/ Pentane 80:20); PF = 98-100°C (litt 58°C<sup>6c</sup>);  $[\alpha]^{20}_D -58$  (c=1, MeOH) (litt -71°<sup>6c</sup>); FABMS *m/e* (int. rel.) 659 ( $MH^+$ , 10), 559 ( $MH^+$ - Boc, 9), 374 ( $H_2DapDoe^+$ , 3), 205 ( $H_2Doe^+$ , 7), 188 ((Doe-NH)<sup>+</sup>, 30), 186 (HDil<sup>+</sup>, 22), 170 (HDap<sup>+</sup>, 26), 154 (HDil<sup>+</sup>-MeOH, 28), 138 (HDap<sup>+</sup>-MeOH, 27), 70 (pyrrolinium, 52), 57 (tBu<sup>+</sup>, 100).

**Z-Val-Dil-Dap-Doe (22a)**. **21a** (1,1 g, 1,67 mmol) est déprotégé par traitement pendant 30 mn dans du TFA (5 ml). Après élimination du solvant, le résidu obtenu est repris à AcOEt et lavé plusieurs fois avec des solutions de NaHCO<sub>3</sub> 5%. La phase organique est ensuite séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentré sous vide pour récupérer l'amine libre sous forme d'une huile jaune (0,92 g, 99%). Cette dernière est couplé à Z-Val-OH (1,75g, 3 mmol) en utilisant le BroP (1,17 g, 3 mmol) comme agent de couplage pour conduire après chromatographie (60 g, AcOEt/Pentane 70:30) à **22a** qui cristallise dans Et<sub>2</sub>O (0,89 g, 75%). Rf = 0,36 (AcOEt/ Pentane 70:30); PF = 75-80°C;  $[\alpha]^{20}_D -48$  (c=1, CHCl<sub>3</sub>); FABMS *m/e* (int. rel.) 792 ( $MH^+$ , 15), 658 ( $MH^+$ - Z, 3), 205 ( $H_2Doe^+$ , 8), 188 ((Doe-NH)<sup>+</sup>, 18), 186 (HDil<sup>+</sup>, 32), 170 (HDap<sup>+</sup>, 10), 154 (HDil<sup>+</sup>-MeOH, 15), 138 (HDap<sup>+</sup>-MeOH, 10), 100 (H-Val<sup>+</sup>, 25), 91 (tropilium, 100). Anal. calc. pour C<sub>43</sub>H<sub>61</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S: C, 65,2; H, 7,8; N, 8,8. Trouvé: C, 65,2; H, 7,8; N, 8,8.

**Dov-Val-Dil-Dap-Doe (Dolastatine 10) (1)**. A une solution de **22a** (1,02 g, 1,29 mmol) dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml) refroidie à 0°C, on ajoute HBr 33% dans AcOH (10 ml) et on laisse agiter à cette température pendant 2h. Le bromhydrate est précipité par addition d'Et<sub>2</sub>O (80 ml) et récupéré par essorage (0,89 g, 94%). A une solution refroidie (0 °C) de Me<sub>2</sub>Val-OH (Dov) (0,81 g, 2,70 mmol), préparé selon Bowman et Stroub<sup>28</sup>, dans du THF

(8 ml), on ajoute de la TEA (0,035 ml, 0,24 mmol) puis du COMODD (0,63 g, 2,41 mmol) et on laisse agiter à cette température pendant 3h. Le bromhydrate préparé précédemment est ajouté au mélange réactionnel ainsi que de la TEA (0,35 ml, 2,4 mmol) et on laisse agiter à température ambiante pendant 24h. Après évaporation du solvant sous pression réduite, le brut obtenu est repris par AcOEt. La phase organique est lavée par NaHCO<sub>3</sub> 5% puis une solution saturée en NaCl jusqu'à pH neutre, séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrée et concentrée à sec. Une aliquote (120 mg) de l'huile obtenue (1,10g) est purifiée par HPLC préparative (Colonne C8 ultrabase Shandon 25 x 500 mm, 10 mm, débit 9 ml/ min. Eluant: B= CH<sub>3</sub>CN / A= H<sub>2</sub>O. Méthode: gradient de 20 à 80% de B en 90 min et isocratique à 80% de B pendant 30 min) pour obtenir **1** qui cristallise dans AcOEt/Pentane (80 mg, 53%). TR = 6,10 mn (gradient de 10 à 70% de B en 10 mn). PF = 109-111°C (litt. 102-106°C<sup>6a</sup>, 104-107°C<sup>6c</sup>, 107-108°C<sup>6b</sup>); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -76 (c = 0,25, MeOH) (litt -57 (c = 0,026, MeOH)<sup>6a</sup>, -68,8 (c = 0,032, MeOH)<sup>6b</sup>, -59,8 (c = 0,035, MeOH)<sup>6c</sup>, -78,4 (c = 0,88, MeOH)<sup>6c</sup>); FABMS *m/e* (int. rel.), 785 (MH<sup>+</sup>, 100), 188 ((Doe-NH)<sup>+</sup>, 30), 186 (HDil<sup>+</sup>, 12), 170 (HDap<sup>+</sup>, 12), 154 (HDil<sup>+</sup>-MeOH, 18), 138 (HDap<sup>+</sup>-MeOH, 14), 100 (H-Val<sup>+</sup>, 100). Anal. Calc. pour C<sub>42</sub>H<sub>68</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S: C, 64,3; H, 8,7; N, 10,7. Trouvé: C, 63,9; H, 8,5; N, 10,6. Les caractéristiques RMN (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C) sont identiques aux données de la littérature <sup>6a</sup>.

**Boc-Dil-Dap-(R)-Doe (21b).** En suivant la procédure décrite pour **21a** et en partant de **20b** (0,99 g, 2,10 mmol), on obtient **20b** sous forme d'une gomme blanche (0,80 g, 96%); Rf = 0,48 (AcOEt/ Pentane: 70/30); [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -23 (c = 1, MeOH); FABMS *m/e* (int. rel.) 659 (MH<sup>+</sup>, 11), 559 (MH<sup>+</sup>- Boc, 9), 374 (H<sub>2</sub>DapDoe<sup>+</sup>, 2), 205 (H<sub>2</sub>Doe<sup>+</sup>, 7), 188 ((Doe-NH)<sup>+</sup>, 29), 186 (HDil<sup>+</sup>, 23), 170 (HDap<sup>+</sup>, 27), 154 (HDil<sup>+</sup>-MeOH, 28), 138 (HDap<sup>+</sup>-MeOH, 26), 70 (pyrrolinium, 53), 57 (tBu<sup>+</sup>, 100). Anal. calc. pour C<sub>35</sub>H<sub>54</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S: C, 62,8; H, 8,3; N, 8,5. Trouvé C, 62,8; H, 8,5; N 8,2.

#### Z- Val- Dil- Dap-(R)- Doe (22b)

En suivant la procédure décrite pour **22a** et en partant de **21b** (0,70 g, 1,06 mmol), on obtient **22b** qui est cristallisée dans Et<sub>2</sub>O (0,56 g, 70%); Rf = 0,26 (AcOEt/Pentane 80:20); PF = 74-76°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -32 (c=1, MeOH); FABMS *m/e* (int. rel.) 792 (MH<sup>+</sup>, 22), 658 (MH<sup>+</sup>- Z, 10), 188 ((Doe-NH)<sup>+</sup>, 28), 186 (HDil<sup>+</sup>, 30), 170 (HDap<sup>+</sup>, 15), 154 (HDil<sup>+</sup>-MeOH, 22), 138 (HDap<sup>+</sup>-MeOH, 14), 100 (H-Val<sup>+</sup>, 28), 91 (tropilium, 100). Anal. calc. pour C<sub>43</sub>H<sub>61</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>S: C, 65,2; H, 7,8; N, 8,8; O. Trouvé: C, 65,0; H, 8,0; N, 8,6.

**Dov-Val- Dil- Dap-(R)-Doe (23b).** En suivant la procédure décrite pour **1** et en partant de **22b** (0,23 g, 0,31 mmol), on obtient **23** qui est cristallisée dans Et<sub>2</sub>O (0,12 g, 51%); PF = 119-121°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -60 (c=0,1, MeOH); TR= 7,0 min (gradient de 10 à 70% de B en 10 min); FABMS *m/e* (int. rel.), 785 (MH<sup>+</sup>, 100), 188 ((Doc-NH)<sup>+</sup>, 47), 186 (HDil<sup>+</sup>, 25), 170 (HDap<sup>+</sup>, 25), 154 (HDil<sup>+</sup>-MeOH, 34), 138 (HDap<sup>+</sup>-MeOH, 29), 100 (H-Val<sup>+</sup>, 100). Anal. Calc. pour C<sub>42</sub>H<sub>68</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S: C, 64,3; H, 8,7 N, 10,7. Trouvé: C, 64,3; H, 9,0; N, 10,4.

Table: caractéristiques  $^1\text{H-RMN}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ) de 23b

Protons <sup>a</sup>	Conformère 1		Conformère 2	
	$\delta$ (ppm)	J (Hz)	$\delta$ (ppm)	J (Hz)
4	7,72	3,3	7,74	3,3
5	7,26	3,3	7,28	3,3
6	5,68		5,58	
6a	3,43	14,2 et 6,5	3,43	
6a'	3,24	14,2 et 8,2	3,21	
7	7,19		6,31	8,1
9	2,28		2,15	
9a	1,17	7,0	1,11	7,0
10	3,90	8,4 et 2,1	3,48	9,5 et 1,6
10a	3,32 et 3,28		3,36 et 3,20	
11	3,84		3,91	
12	1,61		1,60	
12'	1,86		1,83	
13	1,68		1,69	
13'	1,94		1,95	
14	3,40		3,69	
14'	3,36		3,25	
17	2,42		2,42	
17'	2,36		2,42	
18	4,11		4,05	
18a	3,29 et 3,32		3,20 et 3,36	
19	4,71		4,78	
19a	1,73		1,79	
19b	1,02		-	
19b'	1,37		1,35	
19c	0,82		0,85	
19d	0,98		0,94	
20a	3,00		2,99	
22	4,75		4,77	
22a	1,99		1,96	
22c	0,93		0,86	
23	6,82		6,85	
25	2,46		2,47	
26	2,06		2,10	
27	0,96		0,98	
28	0,90		0,91	
25b.c	2,28		2,28	

a : numérotation définie par Pettit (ref 6a)

## REFERENCES

1. Pline l'Ancien, *Historia Naturalis*, Lib. IX-72, Lib. XXXII-3.
2. Pettit, G. R.; Kamano, Y.; Herald, C. L.; Fujii, Y.; Kizu, H.; Boyd, M. R.; Boettner, F. E.; Doubek, D. L.; Schmidt, J. M.; Chapuis, J.-C.; Michel, C. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 9151-9170.
3. Bai, R.; Pettit, G. R.; Hamel, E. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 17141-17149.
4. Bai, R.; Roach, M. C.; Jayaram, S. K.; Barkoczy, J.; Pettit, G. R.; Ludueña, R. F.; Hamel, E.; *Biochem. Pharmacol.* **1993**, *45*, 1503-1515.

5. (a) Steube, K.G.; Grunicke, D.; Pietsch, T.; Gignac, S. M.; Pettit, G. R.; Drexler, H. G. *Leukemia* **1992**, *6*, 1048-1053; (b) Beckwith, M.; Urba, W. J.; Longo, D. L. *J. Natl. Cancer Inst.* **1993**, *85*, 483-488; (c) Hu, Z.; Gignac, S. M.; Quentmeier, H.; Pettit, G.; Drexler, H. G. *Leukemia Res.* **1993**, *17*, 333-339.
6. (a) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Hogan, F.; Lloyd, P.; Herald, D. L.; Burkett, D. D.; Clewlow, P. J. *Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5463-5465; (b) Tomioka, K.; Kanai, M.; Koga, K. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2395-2398; (c) Shioiri, T.; Hayashi, K.; Hamada, Y. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 1913-1924.
7. Jouin, P.; Poncet, J.; Dufour, M.-N.; Pantaloni, A.; Castro, B. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 617-627.
8. Patino, N.; Frérot, E.; Galeotti, N.; Poncet, J.; Dufour, M. N.; Jouin, P. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 4115-4122.
9. Maugras, I.; Poncet, J.; Jouin, P. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 2807-2816.
10. Hoffmann, R. W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 555-566.
11. Hoffmann, R. W.; Zeiß, H. J. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1309-1314.
12. Roush, W. R.; Ando, K.; Powers, D. B.; Palkowitz, A. D.; Halterman, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6339-6348.
13. Fehrentz, J.-A.; Castro, B. *Synthesis* **1983**, 676-678.
14. (a) Rich, D. H.; Sun, E. T. O.; Ulm, E. *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 27-33; (b) Dufour, M.-N.; Jouin, P.; Poncet, J.; Pantaloni, A.; Castro, B. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 1895-1899; (c) Ibuka, T.; Habashita, H.; Otaka, A.; Fujii, N.; Oguchi, Y.; Uyehara, T.; Yamamoto, Y.; *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 4370-4382.
15. (a) Hoffmann, R. W.; Weidmann, U. *Chem. Ber.* **1985**, *118*, 3966-3979; (b) Roush, W. R.; Adam, M. A.; Walts, A. E.; Harris, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3422-3434.
16. Roux, F.; Maisonnasse, Y.; Maugras, I.; Poncet, J.; Niel, G.; Jouin, P. : soumis pour publication.
17. Carlsen, P. H. J.; Katsuki, T.; Martin, V. S.; Sharpless, K. B. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 3936-3938.
18. Abiko, A.; Roberts, J. C.; Takemasa, T.; Masamune, S. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4537-4540.
19. Irako, N.; Hamada, Y.; Shioiri, T. *Tetrahedron* **1992**, *48* 7251-7264.
20. Schmidt, U.; Gleich, P.; Greisser, H.; Utz, R. *Synthesis* **1986**, 992-998.
21. Bredenkamp, M. W.; Holzapfel, C. W.; Snyman, R. M.; van Zyl, W. J. *Synth. Commun.* **1992**, *22*, 3029-3039.
22. Castro, B.; Dormoy, J.-R.; Evin, G.; Selve, C. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *31*, 1219-1222.
23. Coste, J.; Frérot, E.; Jouin, P.; Castro, B. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 1967-1970.
24. Frérot, E.; Coste, J.; Poncet, J.; Jouin, P.; Castro, B. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2815-2816.
25. Pour la même réaction Shioiri ne décrit pas l'acylation par le TFA et donne un rendement de 91% (voir ref 6c).
26. Grenouillat, D.; Senet, J.-P.; Sennyey, G. *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 5827-5830.
27. Marfey, P. *Carlsberg Res. Commun.* **1984**, *49*, 591-596.
28. Bowman, R. E.; Stroub, H. H. *J. Chem. Soc.* **1950**, 1342-1345.

(Received in Belgium 6 January 1994; accepted 7 February 1994)