



HAL
open science

Synthèse et évaluation biologique d'hétérocycles à cinq chaînons, inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase

Damien Bosc

► **To cite this version:**

Damien Bosc. Synthèse et évaluation biologique d'hétérocycles à cinq chaînons, inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase. Autre. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT : 2011PA112200 . tel-00769930

HAL Id: tel-00769930

<https://theses.hal.science/tel-00769930>

Submitted on 4 Jan 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



ORSAY

N° d'ordre :

UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD XI

U.F.R.SCIENTIFIQUE D'ORSAY

THÈSE

présentée

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR EN SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ PARIS XI ORSAY**

Spécialité : Chimie Organique

par

Damien BOSC

**Synthèse et évaluation biologique d'hétérocycles à cinq chaînons,
inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase**

Soutenue le 14 Octobre 2011

Membres du jury :	M.	Gilbert KIRSCH	Rapporteur
	M.	Régis MILLET	Rapporteur
	Mme	Delphine JOSEPH-PRIM	Examinatrice
	M.	Michel PEREZ	Examineur
	M.	David AITKEN	Examineur
	Mme	Joëlle DUBOIS	Directrice de thèse



ORSAY

N° d'ordre :

UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD XI

U.F.R.SCIENTIFIQUE D'ORSAY

THÈSE

présentée

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR EN SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ PARIS XI ORSAY**

Spécialité : Chimie Organique

par

Damien BOSC

**Synthèse et évaluation biologique d'hétérocycles à cinq chaînons,
inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase**

Soutenue le 14 Octobre 2011

Membres du jury :	M.	Gilbert KIRSCH	Rapporteur
	M.	Régis MILLET	Rapporteur
	Mme	Delphine JOSEPH-PRIM	Examinatrice
	M.	Michel PEREZ	Examineur
	M.	David AITKEN	Examineur
	Mme	Joëlle DUBOIS	Directrice de thèse

Remerciements

Ces travaux de thèse ont été effectués au sein de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN, Gif-sur-Yvette). Je tiens à remercier les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué au bon déroulement de ce travail de thèse de doctorat et qui ont rendu la vie à l'ICSN si agréable.

Je remercie le Pr Jean-Yves Lallemand, ancien directeur de l'ICSN, de m'avoir permis d'effectuer ce travail grâce au financement qu'il m'a accordé. Je tiens à remercier aussi, le Pr David Crich, directeur de l'ICSN de m'avoir permis de réaliser cette thèse dans de bonnes conditions.

J'exprime mes profonds remerciements à ma directrice de thèse, le Dr Joëlle Dubois, Directrice de Recherche à l'ICSN, qui m'a fait confiance en m'accueillant dans son équipe il y a trois ans. Son savoir, sa gentillesse, son aide et son soutien sont des qualités importantes sur lesquels j'ai pu compter. J'ai beaucoup appris à ses côtés et ce fut un réel plaisir de passer ces trois années grâce à son humanité et sa souplesse. Merci pour tout.

Je remercie vivement les membres du jury. Je suis très reconnaissant envers le Pr Gilbert Kirsch, Professeur au LIMBP (Metz) et envers le Dr Régis Millet, Maître de Conférences à l'ICPAL (Lille) d'avoir accepté le rôle de rapporteur et d'avoir accordé un temps précieux à ce manuscrit. Ma gratitude s'adresse aussi au Pr Delphine Joseph, Professeur à l'unité BioCis (Châtenay-Malabry), au Dr Michel Perez, Directeur de Recherche au sein du département de Chimie Médicinale de Pierre Fabre (Castres) et au Pr David Aitken, Professeur à l'ICMMO (Orsay) pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'accepter de juger ce travail.

Je souhaite aussi exprimer ma gratitude aux Dr Hélène Dorizon, Katell Sénéchal-David et Sébastien Sorgues pour m'avoir confié une part de leur enseignement lors de mon monitorat. Je remercie également les différents élèves rencontrés lors de ces années d'enseignement remplies de plaisirs et de partages réciproques. Ce fut une expérience excitante et agréable que je n'oublierai pas.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance aux différents services de l'ICSN, piliers discrets de cet Institut, sans qui les différentes analyses n'auraient pu se faire. Je tiens à remercier Jean-François Gallard pour la RMN, Olinda Gimello, Sylvain Ravier et Nicolas Elie du service de masse, Marie-Françoise Bricot pour les analyses élémentaires, tous les informaticiens du service informatique, Jocelyne Brunet à la documentation et Geneviève Aubert pour les tests de cytotoxicité. Je souhaite ajouter une mention spéciale à mes collègues de couloir du service HPLC : Odile Thoison, la randonneuse, la sympathique Nathalie Hue, la pétillante Suzanna Ramos et Franck Pélissier et son accent cher à mon cœur.

Je remercie également le Pr Philippe Grellier qui a collaboré au projet et effectué les tests sur parasites au MNHN (Paris).

Bien entendu, je souhaite faire un remerciement appuyé à l'équipe 48. Tout particulièrement à Sylviane Thoret, « mère d'adoption », avec qui j'ai passé trois années excellentes. Plus qu'une collègue, c'est une amie que j'ai découvert. On a partagé de nombreuses choses, des fous rires, des proverbes en tout genre, des discussions sur tout et n'importe quoi et philosophé sur la vie. Merci pour tous les bons conseils et tous ces bons moments passés. Merci aussi à Déborah qui a transmis sa bonne humeur antillaise tous les jours et qui croque la vie à pleine dents. Si elle n'existait pas, il faudrait l'inventer car c'est un vrai remède contre la morosité. Merci à Guillaume pour avoir rajouté de la testostérone dans l'équipe même s'il n'est pas vraiment désagréable d'être chouchouté par autant de femmes ! Je souhaiterais aussi remercier les anciens membres de l'équipe ou ceux de passage dont le globetrotter Sébastien que je n'ai connu qu'un an mais avec qui je me suis immédiatement très bien entendu grâce à ses conseils de qualité, ses blagues et sa musique bien kitch. Merci aussi à Maryon, Clément, Hélène, Rebecca, Aymeric, Murali et Elodie pour les quelques instants partagés.

Je tiens à remercier aussi chaleureusement les membres externes à l'équipe 48 du « team Café » : Fanny Roussi, Vincent Dumontet et Olivier Pamard pour leur sympathie et leur contribution à la convivialité de ce moment nécessaire au bon déroulement de la journée.

Je souhaite saluer les occupants du niveau 1 (ou appelé à tort « sous-sol » ou « cave ») pour leurs sourires, leurs bonjours et les petits mots agréables de tous les jours. Merci à l'équipe Badet et plus particulièrement au chambreur Dr Philippe Durand pour ses blagues et ses conseils avisés, à l'équipe Bakala, à Laurent et Didier du magasin et Bernard, le bricoleur.

Un merci spécial aux membres du CEI dans lequel je me suis fait de vrais amis. J'ai donc une pensée émue à ma colloc' adorée Leslie qui fut d'un soutien extraordinaire, qui a toujours le sourire, une pêche incroyable et le cœur sur la main, à ma petite Cécile pour sa gentillesse et l'énorme confiance que je lui accorde, au fabuleux et bienveillant Totor, grand seigneur chinois aux double-sens équivoques, à Nono le citadin rigolo avec qui j'ai parcouru l'Essonne et partagé de nombreux fous rires. Un grand merci aussi à mon colloc' Ronan et sa cool-attitude, au voyageur passionné Pierre-Marie, aux révolutionnaires Julie et Camille. Merci aussi à Mathilde (et son salon des vins), à Guillaume et à Delphine.

Je tiens à remercier aussi tous les gens que j'ai pu côtoyer au sein de l'Institut durant ces trois années de thèse. Il est toujours agréable de recevoir un sourire, un bonjour, un signe aimable. Merci notamment à mes partenaires de table où la solidarité des équipes 48, 54 et 45 régnait grâce à l'énergique Claire, la mystérieuse Dalia, Jérém' le punk corrosif au cœur tendre, l'encyclo-Médhi, Mélanie-blonde la picarde, Cécile et ses délicieux muffins, Olga et son téléphone, la jeune Erell, la toute aussi jeune Vivi, Mélanie-brune Bardot, Laurent, Xavier et tous les autres.

Un gigantesque merci à mes amis de toujours qui ont une place importante dans mon cœur : Roby, Sandra, Geoffroy, Céline, Matthieu, Doriane et toute la troupe de St Fé qui m'ont permis de m'évader et de partager des moments de détente et de décompression indispensables pour trouver une stabilité physique et morale. Longue vie à l'amitié !

Merci infiniment Marion d'avoir partagé les bons et mauvais moments (il faut me supporter !) de cette dernière année si intense. Ces merveilleux instants passés ensemble, ces voyages inoubliables ont su être des échappatoires indispensables à mon équilibre lors de cette thèse. Ce soutien moral et cet amour débordant donnés au quotidien m'ont procuré, me procure et me procureront un bonheur immense.

Enfin, je ne peux pas terminer cette page sans remercier ma famille : Maman et Papa qui m'ont forgé et poussé à suivre mes choix même si le monde de la chimie reste toujours aussi obscur pour eux. Merci pour m'avoir transmis des valeurs de courage, de persévérance et de rigueur et d'avoir été d'un soutien irréprochable. Merci d'être toujours là près de moi. Merci aussi à Jérémy et Mathilde, fratrie irréprochable pleine d'amour, de joie et de réconfort qui se rapproche de plus en plus à ma grande satisfaction.

Merci à vous tous d'être là...

« -Voyez-vous, pour qu'il y ait passion, c'est-à-dire réaction explosive, il faut que l'union soit brutale, que l'un des corps soit très avide de ce dont il est privé et que l'autre en possède en très grande quantité.

- Mon cher jeune homme, dit Aglaé en souriant, j'ai été professeur de chimie et je vous ferai remarquer qu'il peut y avoir des réactions en chaîne, qui partent très doucement et, s'alimentant elles-mêmes, peuvent se terminer de façon violente.

- Mes principes constituaient un solide ensemble d'anticatalyseurs, dit Wolf en souriant à son tour.
Pas de réaction en chaîne non plus dans ce cas-là.

- Alors pas de passion ? dit Héloïse, visiblement déçue. »

Extrait de L'herbe rouge, Boris Vian

« - Tu connais le dicton: "C'est une perte de temps de réfléchir quand on ne sait pas penser".

- C'est bien dit, ça.

- En effet, c'est plein de sens.

- Il y a aussi: "Tâche que les tasses de thé tachetées que tu as achetées soient attachées et tassées."

- Qu'est ce que c'est que ça?

- Une phrase difficile à dire, je l'ai inventée.

- Et, as-tu une raison particulière de la lancer maintenant?

- Aucune, j'avais juste envie de la dire. »

Extrait de Kafka sur le rivage, Haruki Murakami

Sommaire

Remerciements	5
Sommaire	9
Abréviations utilisées	15
Introduction générale.....	21
Partie bibliographique.....	25
Chapitre I : Généralités.....	27
I. Les modifications post-traductionnelles	27
II. La prénylation et les protéines prényltransférases.....	28
II.1. Les CaaX prényltransférases.....	29
II.2. La Rab GGTase	31
Chapitre II : La protéine farnésyltransférase.....	33
I. La structure de la FTase.....	33
II. Le mécanisme catalytique de la FTase	34
III. Le rôle des métaux	37
III. 1. Le zinc	37
III.2. Le magnésium.....	39
IV. Quelques exemples de protéines farnésylées	40
IV.1. Les protéines Ras.....	40
IV.2. Les protéines centromériques CENP-E et CENP-F.....	41
IV.3. Les lamines A.....	42
Chapitre III : La FTase comme cible thérapeutique.....	44
I. La FTase : cible pour la thérapie anticancéreuse	44
II. La FTase : cible pour la thérapie antiparasitaire	46
II.1. Les maladies parasitaires.....	46
II.1.a. Le paludisme	46
II.1.b. La maladie du sommeil.....	50
II.1.c. La maladie de Chagas.....	53
II.1.d. La leishmaniose	54
II.2. Les FTIs comme agents antiparasitaires.....	56

III. La FTase, cible pour le traitement du syndrome progéroïde d'Hutchinson-Gilford	58
Chapitre IV : Les inhibiteurs de la FTase.....	59
I. Les inhibiteurs compétitifs du FPP	59
I.1. Approche rationnelle.....	59
I.2. Approche par criblage	61
II. Les inhibiteurs compétitifs du motif CaaX.....	62
II.1. Approche rationnelle.....	62
II.2. Approche par criblage	68
III. Les inhibiteurs de type bisubstrat	70
III.1. Approche rationnelle.....	70
III.2. Approche par criblage	72
Conclusion	73
Projet de recherche	75
Description du projet	77
Approche rationnelle : De l'imidazole au triazole.....	78
Approche par criblage : un nouveau motif inhibiteur de la FTase, le thiophène.....	80
Approche rationnelle : synthèse et évaluation biologique d'analogues triazoles.....	83
Chapitre I. Les triazoles biologiquement actifs	85
Chapitre II : Synthèse du 1,2,3-triazole	89
I. Formation du 1,2,3-triazole.....	89
II. Le triazole 1,4-disubstitué	90
III. Le triazole 1,5-disubstitué	92
Chapitre III : Synthèse des analogues et évaluation biologique	95
I. Synthèse des précurseurs.....	95
II. Synthèse des triazoles	98
II.1. Le triazole 1,4-disubstitué	98
II.2. Le triazole 1,5-disubstitué	98
II.2.a. Applications avec le groupement triméthylsilyle	99
II.2.b. Applications avec les catalyseurs au ruthénium	100
III : Évaluation biologique	102

Chapitre IV : Méthodologie vers la synthèse monotope de triazoles 1,5-disubstitués à partir d'amines primaires	104
I. Rappels bibliographiques	104
II. Formation de l'azoture	107
III. Formation du triazole	110
IV. Formation monotope du triazole	111
Conclusion	115
Approche par criblage : Synthèse et évaluation biologique d'analogues thiophènes.....	117
Chapitre I : Les composés thiophènes biologiquement actifs.....	119
Chapitre II : Synthèse du thiophène	123
I. Rappels sur la formation du noyau thiophène	123
II. Voie A : synthèse à partir du malononitrile.....	126
III. Voie B : synthèse à partir de la cétone aromatique	127
III.1. Rétrosynthèse envisagée.....	127
III.2. Synthèse réalisée.....	128
Chapitre III : Synthèse des analogues de type 3-arylthiophène.....	133
I. Modification de l'hétérocycle central	133
I.1. Synthèse	133
I.2. Évaluation biologique	139
II. Modification de la fonction aryle	140
II.1. Rappels des travaux antérieurs effectués au laboratoire	140
II.2. Synthèse à partir de la voie A.....	141
II.3. Synthèse à partir de la voie B	145
II.3.a. Introduction des groupements polyoxygénés.....	145
II.3.b. Introduction du groupement nitrile	147
II. 4. Évaluation biologique	149
II.4.a. Résultats sur la FTase de <i>T. brucei</i> et humaine	149
II.4.b. Résultats sur les parasites <i>P. falciparum</i> et <i>T. brucei</i>	152
III. Modification de la fonction thio- <i>i</i> -propyle	154
III.1. Contexte	154
III.2. Synthèse de Gewald	155

III.3. Introduction du groupement imidazole	159
III.3.a. Le motif imidazole méthanimine.....	159
III.3.b. Le motif imidazole éthanamine.....	166
III.3.c. Le motif imidazole acétamide.....	167
III.4. Introduction du groupement azoture	168
III. 5. Évaluation biologique	170
III.5.a. Résultats sur la FTase de <i>T. brucei</i> et humaine	170
III.5.b. Résultats sur les parasites <i>P. falciparum</i> et <i>T. brucei</i>	174
IV. Modification autour de la méthionine	176
IV.1. Remplacement par des acides aminés.....	176
IV.2. Remplacement par des pseudo-acides aminés.....	178
IV.2.a. Remplacement par un thioacide aminé	178
IV.2.b. Remplacement par un acide aminé N-méthylé	181
IV.2.c. Remplacement par un acide aminé aza- β 3	182
IV.2.d. Saponification des analogues pseudo-méthionines	186
IV.3. Remplacement par des groupements hydrophobes	187
IV. 4. Évaluation biologique.....	188
IV.4.a. Résultats sur la FTase de <i>T. brucei</i> et humaine	188
IV.4.b. Résultats sur les parasites <i>P. falciparum</i> et <i>T. brucei</i>	190
V. Modifications combinées autour du noyau thiophène.....	192
V.1. Couplage peptidique	192
V.2. Saponification des analogues.....	194
V. 3. Évaluation biologique.....	196
V.3.a. Résultats sur la FTase de <i>T. brucei</i> et humaine	196
V.3.b. Résultats sur les parasites <i>P. falciparum</i> et <i>T. brucei</i>	198
Conclusion	200
Conclusion générale	203
Partie expérimentale.....	211
Chapitre I : Généralités.....	213
I. Solvants et réactifs	213
II. Appareil micro-ondes	213

III. Chromatographies	213
III.1. Sur couche mince, épaisse et flash.....	213
III.2. Chromatographie liquide à ultra-haute pression (UPLC)	214
IV. Appareils d'analyse	214
IV.1. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	214
IV.2. Infrarouge (IR)	215
IV.3. Spectrométrie de masse (SM)	215
IV.4. Analyse élémentaire (AE)	215
IV.5. Pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$)	215
V. Tests biologiques.....	216
V.1. Test enzymatique des FTases.....	216
V.1.a. Principe du test enzymatique.....	216
V.1.b. Protocole du test enzymatique	217
V.2. Test d'inhibition de la croissance de <i>P. falciparum</i>	218
V.2.a. Culture du parasite.....	218
V.2.b. Évaluation <i>in cellulo</i> de l'activité antipaludique	219
V.3. Test d'inhibition <i>in cellulo</i> de la croissance de <i>T. brucei</i>	219
V.4. Cytotoxicité	220
Chapitre II : Produits synthétisés.....	222
I. Approche rationnelle.....	222
II. Approche par criblage	250
Annexe.....	401
Rappels de cinétique enzymatique	403
I. Équation de Michaelis Menten	403
II. Inhibition réversible (linéaire)	403
Bibliographie.....	407

ABRÉVIATIONS UTILISÉES

- A** ABA : acide aminobenzoïque
Ac : acétate
ACT : combinaison thérapeutique à base d'artémisinine
ADN : acide désoxyribonucléique
AdoHcy : S-adénosyl-L-homocystéine
AdoMet : S-adénosylméthionine
AE : analyse élémentaire
AIM : alanine-isoleucine-méthionine
Ala : alanine
AMBA : acide aminométhylbenzoïque
AMPA : acide aminométhylphosphonique
Ar : aryle
ARNm : acide ribonucléique messenger
Asp : acide aspartique
AZD : Astra Zeneca
- B** BMS : Bristol-Myers Squibb
Bn : benzyle
Boc : *tert*-butoxycarbonyle
Bu : butyle
BV : orbitale la plus basse vacante
- C** Cat : catalyseur
CCM : chromatographie sur couche mince
CENP : protéine centromère
Cl₅₀ : concentration de produit inhibant 50 % de l'activité de l'enzyme considérée
COD : cyclooctadiényle
COSY : Correlation Spectroscopy
Cp* : pentaméthylcyclopentadiényle
Cys : cystéine
- D** d : doublet
Da : dalton
DCC : dicyclohexylcarbodiimide
DCE : dichloroéthane
DEPT : Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIEA : diisopropyléthylamine
DMAP : *p*-diméthylaminopyridine
DMEM : Dulbecco's modified Eagle's medium
DMF : diméthylformamide
DMSO : diméthylsulfoxyde
DTT : dithiothéitol
- E** EDCI : 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide

- em : émission
éq : équivalent
ESI : ionisation par électrospray
Et : éthyle
exc : excitation
- F** FPP : pyrophosphate de farnésyle
FTase : protéine farnésyltransférase
FTI : inhibiteur de la protéine farnésyltransférase
- G** GAP : protéine activatrice de GTPases
GDP : guanosine diphosphate
GEF : facteur d'échange du nucléotide guanine
GGPP : pyrophosphate de géranylgeranyle
GGTase : protéine géranylgeranyltransférase
Gln : glutamine
Gly : glycine
GPI : glycosylphosphatidylinositol
GTP : guanosine triphosphate
GTPase : guanosine triphosphatase
- H** H-Ras : Harvey Ras
Hal : halogène
HBTU : hexafluorophosphate de 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium
h : heptuplet
HFP : α -hydroxyfarnésylphosphonique
hFTase : protéine farnésyltransférase humaine
HGPS : syndrome progéroïde d'Hutchinson Gilford
His : histidine
HMBC : Heteronuclear Multiple Bond Coherence
HMDS : hexaméthylidisilazane
HMQC : Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HO : orbitale la plus haute occupée
HOBT : N-hydroxybenzotriazole
Hz : hertz
- I** *i* : iso
ICSN : Institut de Chimie des Substances Naturelles
IE : impact électronique
Ig : immunoglobine
Ile : isoleucine
Im : imidazole
IR : infrarouge
- J** *J* : constante de couplage

- K** K-Ras : Kirsten Ras
K_i : constante d'inhibition pour laquelle la moitié des sites enzymatiques sont occupés
- L** L : ligand
LC : leishmaniose cutanée
LCM : leishmaniose cutanéomuqueuse
LDA : diisopropylamide de lithium
Leu : leucine
LiHMDS : bis(triméthylsilyl)amide de lithium
LRR : Leucine-Rich Repeat
LV : leishmaniose viscérale
- M** m : multiplet
m : *méta*
*m*CPBA : acide *m*-chloroperbenzoïque
Me : méthyle
Met : méthionine
MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle
MO : micro-ondes
MTS : méthaneethiosulfonate
- N** N-Ras : Neuroblastoma Ras
NBS : N-bromosuccinimide
NMM : N-méthylmorpholine
- O** *o* : *ortho*
OGP : *n*-octyl-β-D-glucopyranoside
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- P** *p* : *para*
P. : *Plasmodium*
PBS : tampon phosphate salin
PD : Parke Davis
Pf : *Plasmodium falciparum*
Ph : phényle
Phe : phénylalanine
PPi : pyrophosphate
ppm : partie par million
PPTase : protéine prényltransférase
Pr : propyle
PyBroP : hexafluorophosphate de bromo-tris-pyrrolidinophosphonium
- Q** q : quadruplet
Quant. : quantitatif
- R** RB : réactif de Belleau
RD : réactif de Davy

- rdt : rendement
REP : Rab Escort Protein
Rheb : Ras homolog enriched in brain
RhoB : Ras homolog gene family, member B
RJ : réactif japonais
RL : réactif de Lawesson
RMN : résonance magnétique nucléaire
RPR : Rhône-Poulenc Rorer
RSA : Relations Structure-Activité
- S** s : singulet
s : *sec*
SCH : Schering-Plough
Ser : sérine
SM : spectrométrie de masse
S_N2 : substitution nucléophile de type 2
S_NAr : substitution nucléophile aromatique
- T** t : temps
t : triplet
t : *tert*
T. : *Trypanosoma*
T° : température
TA : température ambiante
TBAB : bromure de tétrabutylammonium
Tb : *Trypanosoma brucei*
*Tb*FTase : protéine farnésyltransférase de *Trypanosoma brucei*
Tf : triflate
TFA : acide trifluoroacétique
THF : tétrahydrofurane
TMS : triméthylsilyle
Ts : tosyle
Tr : trityle
Tris : 2-amino-2-hydroxyméthyl-1,3-propanediol
- U** UPLC : chromatographie liquide à ultra-haute performance
UV : ultraviolet
- V** Val : valine
VFM : valine-phénylalanine-méthionine
VIA : valine-isoleucine-alanine
VLL : valine-leucine-leucine
VLS : valine-leucine-sérine
- W** W : watt

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les maladies parasitaires causées par les helminthes (parasites intestinaux) et les protozoaires (groupes d'animaux unicellulaires) sont une des causes majeures de la misère humaine dans la plupart des pays tropicaux. Elles infectent des milliards de gens et en tuent des millions chaque année tout en infligeant des blessures indélébiles comme la cécité ou la défiguration à des millions de personnes supplémentaires.

Combattre ces parasites et l'apparition des phénomènes de résistance aux médicaments sont devenues une priorité. La nécessité d'améliorer les thérapies existantes ouvre la voie de recherches innovantes pour trouver de nouvelles molécules bioactives. Deux stratégies peuvent être mises en place pour atteindre ce but.

Tester des molécules naturelles ou appartenant à des chimiothèques sur une panoplie de cibles cellulaires constitue la première voie, appelée approche par criblage. Elle permet d'obtenir des structures complexes sur lesquelles des études de relations structure-activité sont entreprises pour améliorer l'activité.

La seconde voie est basée exclusivement sur une cible biologique. Cette démarche rationnelle peut être pratiquée grâce aux considérables avancées effectuées dans le domaine de la biochimie et de la biologie structurale. Ainsi, sont imaginées des molécules, fruits d'études de relations structure-activité dirigées, capables d'interagir avec la cible.

La protéine farnésyltransférase, présente chez certains parasites, a suscité l'intérêt des chercheurs et représente une nouvelle cible médicinale pour le traitement des maladies dues aux protozoaires parasites, confrontées au manque de médicaments efficaces.

Dans ce contexte, l'inhibition de cette enzyme a été étudiée selon les deux voies d'approche, lors de cette thèse, afin d'aboutir à la détermination et à la synthèse de nouveaux inhibiteurs pour la thérapie antiparasitaire.

La première partie de ce manuscrit résumera les données bibliographiques concernant la protéine farnésyltransférase. Elle traitera de sa place parmi les enzymes impliquées dans les modifications post-traductionnelles, de sa structure, de son mécanisme catalytique, de son rôle en tant que cible thérapeutique et finalement de ses différents types d'inhibiteurs.

Le reste du manuscrit traitera des résultats obtenus lors de ce travail de thèse. Il exposera la synthèse et l'évaluation biologique des composés principaux et sera divisée en deux sections correspondant aux deux démarches engagées pour l'élaboration de ces inhibiteurs.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités

I. Les modifications post-traductionnelles

Les protéines subissent de nombreuses modifications post-traductionnelles covalentes permettant un fonctionnement intracellulaire optimal. Il en existe plus d'une centaine et vont de la simple protéolyse à l'ajout covalent de divers groupements sur leurs chaînes latérales ou leur squelette.¹

Ces modifications catalysées par des enzymes peuvent servir à :

- la régulation de l'activité des protéines ;
- les marquer pour qu'elles soient reconnues par des partenaires métaboliques ou par des systèmes de dégradation ;
- l'ancrage membranaire ;
- les faire participer à des cascades de signalisation ;
- les guider vers l'endroit adéquat dans la cellule ;
- la définition d'une identité immunologique.

Parmi ces modifications, la lipidation permet d'ajouter une chaîne lipidique sur une protéine. Non seulement elle procure à la protéine modifiée assez d'hydrophobicité pour s'associer à la membrane cellulaire mais module aussi les interactions protéine-protéine, stabilise la structure et régule son activité.² À ce jour, quatre types de lipidations post-traductionnelles ont été recensées (Figure 1) :

- la myristoylation : acylation d'une glycine N-terminale par l'acide myristique ;³
- la palmitoylation : acylation d'une cystéine interne par l'acide palmitique ;⁴
- la prénylation : addition au niveau d'une cystéine C-terminale de groupements isoprénoïdes à 15 et 20 carbones, les groupements farnésyle et géranylgeranyle respectivement *via* une liaison thioéther ;^{5,6}
- la glypiation : addition d'un groupement glycoposphatidylinositol ou GPI composée d'un groupement phosphatidylinositol fixé à un glycane (résidus mannose et N-acétylglucosamine) lui-même lié au groupement phosphoryle de la phosphoéthanolamine.⁷

¹ Walsh, C. T.; Garneau-Tsodikova, S. and Gatto, G. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7342-7372.

² Hurwitz, H. I.; Casey, P. J.; Sidney, A. S. and Thomas, J. M. *Current Topics in Membranes*, Academic Press. **2002**, *Volume 52*, 531-550.

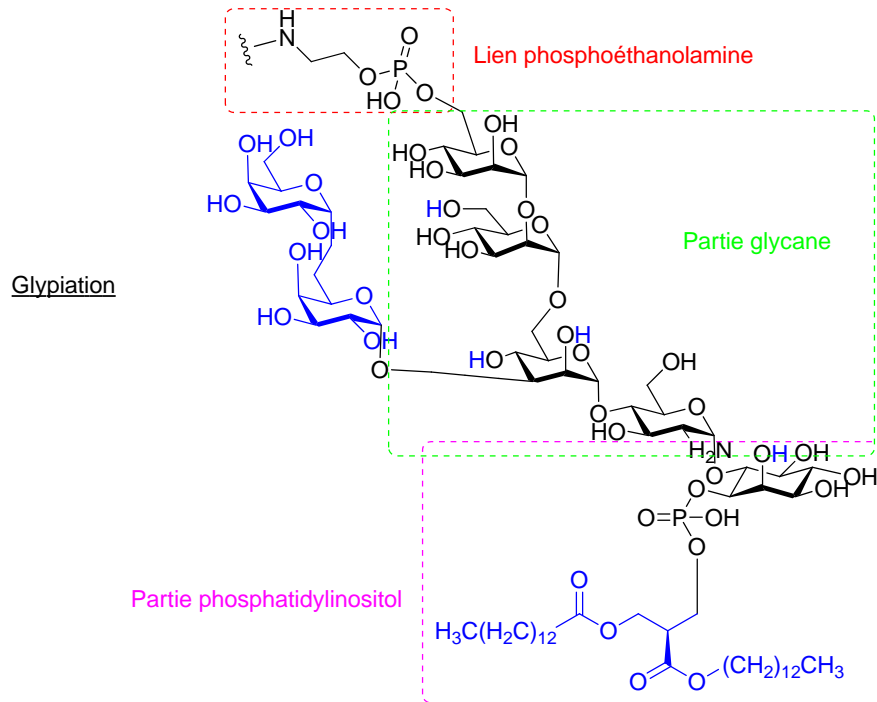
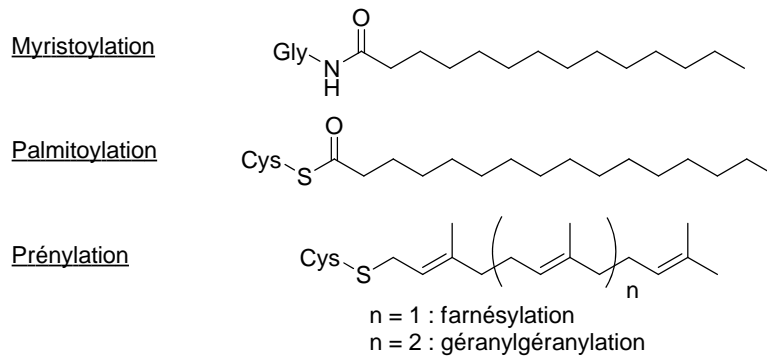
³ Boutin, J. A. *Cell. Signal.* **1997**, *9*, 15-35.

⁴ Dunphy, J. T. and Linder, M. E. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lip.* **1998**, *1436*, 245-261.

⁵ Sinensky, M. *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1484*, 93 - 106.

⁶ Zhang, F. L. and Casey, P. J. *Ann. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 241-269.

⁷ Takeda, J. and Kinoshita, T. *Trends Biochem. Sc.* **1995**, *20*, 367-371.



GPI de *Trypanosoma brucei*
(en bleu : parties variables des GPI selon l'espèce)

Figure 1 : Structures des protéines après modifications lipidiques post-traductionnelles

La protéine farnésyltransférase (FTase) étudiée dans ce mémoire catalyse la farnésylation, modification covalente appartenant à la famille des prénylations.

II. La prénylation et les protéines prényltransférases

Les isoprénoïdes sont des lipides dérivant d'unités isoprènes à cinq carbones et constituent une des classes majeures des produits naturels. Appartenant à cette classe, les groupements prénylés sont retrouvés dans de nombreuses substances biologiques incluant les protéines (protéines G, lamines,...).⁸ Issues de la prénylation, elles pourront s'ancrer plus facilement à la

⁸ Gelb, M. H.; Brunsveld, L.; Hrycyna, C. A.; Michaelis, S.; Tamanoi, F.; Van Voorhis, W. C. and Waldmann, H. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, 2, 518-528.

membrane cellulaire et interagir avec d'autres protéines.⁶ Cette modification post-traductionnelle importante engendre l'ajout d'une chaîne lipidique constituée d'unités isoprényles entre le C₁ du groupement hydrophobe et un résidu cystéine proche du carbone C-terminal par une liaison thioéther (Schéma 1).

Seules trois enzymes catalysant cette réaction ont été isolées et caractérisées :

- la protéine farnésyltransférase (FTase) qui transfère une chaîne farnésyle (C₁₅) à partir du substrat, le pyrophosphate de farnésyle (FPP) ;
- la protéine géranylgéranyltransférase de type I (GGTase I) qui transfère une chaîne géranylgéranyle (C₂₀) à partir du substrat, le pyrophosphate de géranylgéranyle (GGPP) ;
- la protéine géranylgéranyltransférase de type II (GGTase II) ou Rab GGTase qui transfère deux chaînes géranylgéranyles à partir du GGPP sur deux cystéines adjacentes ou séparées d'un acide aminé.

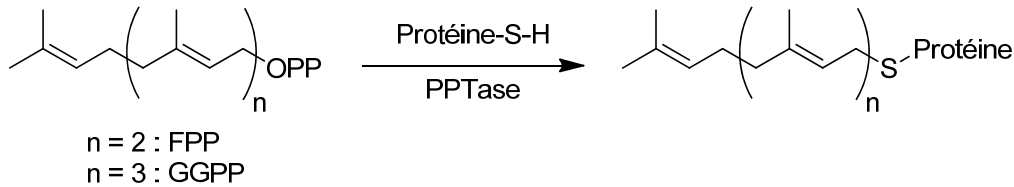


Schéma 1 : Prénylation du soufre d'une cystéine

Ces protéines prényltransférases (PPTase) existent chez la plupart, voire tous les organismes eucaryotes incluant animaux, plantes, levures, champignons et protozoaires parasites mais n'ont pas été observées chez les procaryotes.⁹ Malgré certaines homologies structurales ces enzymes sont divisées en deux classes. La FTase et la GGTase I représentent la première famille nommée CaaX prényltransférases alors que la GGTase II constitue la deuxième classe.

II.1. Les CaaX prényltransférases

La FTase et la GGTase I sont des métalloenzymes hétérodimériques relativement proches contenant un atome de zinc par dimère situé au sein du site actif entre les deux sous-unités. Les sous-unités α de ces enzymes sont identiques et codés par le même gène. Leurs sous-unités β ne possèdent, quant à elle, que 30 % d'homologies.¹⁰

Les deux enzymes transfèrent leurs chaînes lipidiques sur le résidu cystéine d'un motif CaaX C-terminal, d'où le nom de cette famille. Ce motif appelé « boîte CaaX » est un térapeptide où :

- C représente la cystéine prénylée ;
- a est un acide aminé aliphatique ;

⁹ Zhang, H. *Handbook of metalloproteins* **2004**, 3, 37-48.

¹⁰ Seabra, M. C.; Reiss, Y.; Casey, P. J.; Brown, M. S. and Goldstein, J. L. *Cell* **1991**, 65, 429-434.

- X est un acide aminé responsable de manière significative de la sélectivité FTase/GGTase I. Lorsque l'acide aminé X est une sérine, une méthionine, une glutamine ou une alanine, la protéine est sélectivement reconnue par la FTase alors que la GGTase I catalyse préférentiellement les réactions sur les protéines ayant une leucine en position X.¹¹

Les CaaX prényltransférases reconnaissent la protéine substrat dans sa globalité mais sont aussi capables de ne reconnaître que le motif CaaX. Ainsi, la protéine substrat peut être remplacée par des petits peptides portant le motif CaaX nécessaire et suffisant à la prénylation.¹² C'est pourquoi la protéine substrat a été substituée par des térapeptides comme CAIM ou CVLS lors des tests biologiques effectués au laboratoire.

Après prénylation et ancrage à la membrane cellulaire, le résidu aaX est ensuite clivé par une endoprotéase puis le groupement carboxyle nouvellement modifié subit une méthylation par une méthyltransférase spécifique.¹³ Ces deux dernières modifications post-traductionnelles permettent de renforcer l'hydrophobie de la protéine prénylée et favorisent les interactions lipide-lipide (Schéma 2).

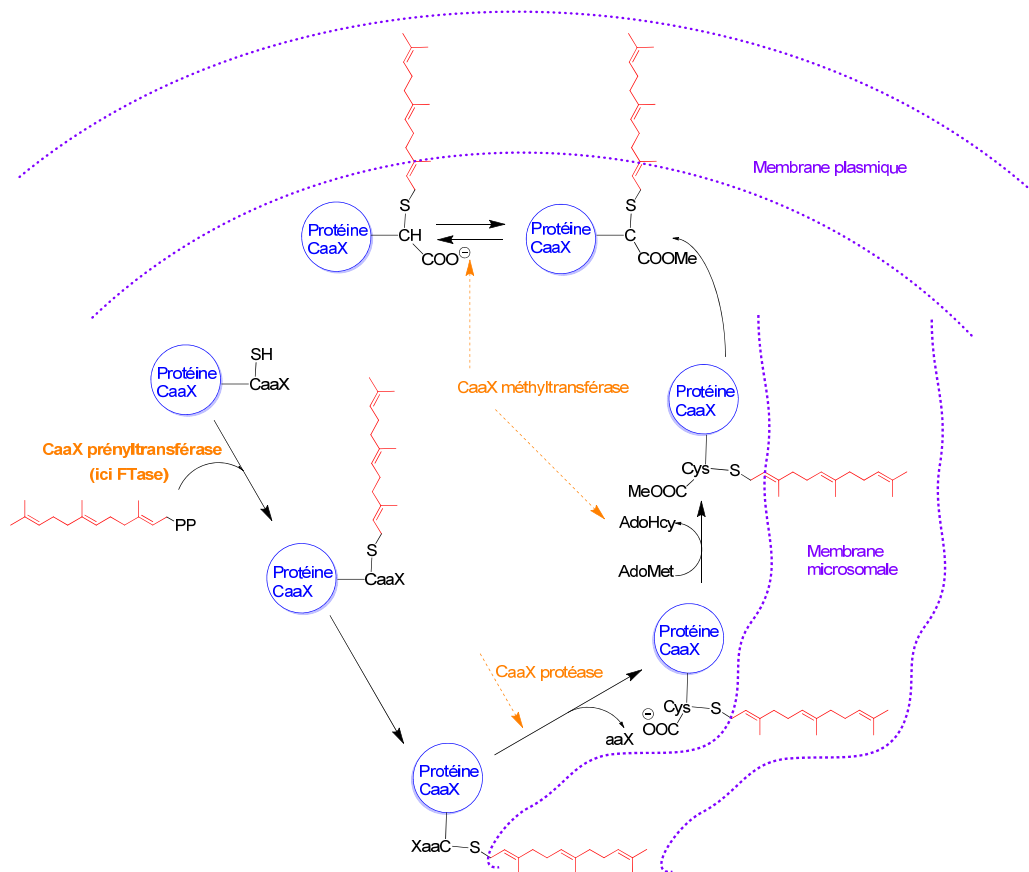


Schéma 2 : Maturation des protéines prénylées par FTase ou GGTase I⁶

¹¹ Lane, K. T. and Beese, L. S. *J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 681-699.

¹² Casey, P. J. and Seabra, M. C. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 5289-5292.

¹³ Trueblood, C. E.; Boyartchuk, V. L.; Picologlou, E. A.; Rozema, D.; Poulter, C. D. and Rine, J. *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 4381-4392.

II.2. La Rab GGTase

La GGTase II est appelée également Rab GGTase car elle modifie exclusivement la famille des protéines Rab qui sont de petites protéines G impliquées dans la régulation du trafic des vésicules intracellulaires.⁹ Cette enzyme transfère deux unités géranylgeranyles sur deux cystéines C-terminales (-CC, -CCX, -CXC ou -CCXX) des protéines Rab selon un processus mécanistique différent de celui des CaaX prényltransférases.¹⁴

Structuralement, cette enzyme est aussi différente de la FTase et de la GGTase I. Bien que ces trois enzymes soient des hétérodimères composés de sous-unités α et β , la sous-unité α de la GGTase est beaucoup plus grande que celle des deux autres enzymes. Ceci est dû à deux domaines additionnels « Immunoglobulin (Ig)-like » et « Leucine-Rich Repeat (LRR) ». La fonction de ces domaines est encore méconnue. La sous-unité β forme un tonneau qui contient la plupart des résidus du site actif (Figure 2).¹⁵

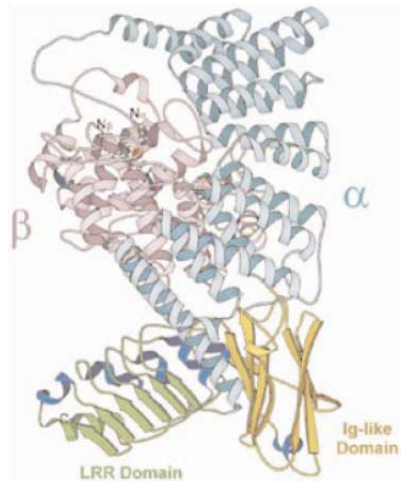


Figure 2 : Structure cristallographique de la Rab GGTase¹⁵

Mécanistiquement, la Rab GGTase nécessite un cofacteur indispensable à son activité appelé REP pour Rab Escort Protein. Il permet la catalyse enzymatique et facilite également l'incorporation des protéines Rab géranylgeranylées dans la membrane cellulaire (Schéma 3).¹⁶

Le mécanisme de reconnaissance de la Rab GGTase diffère de celui des CaaX prényltransférases car elle ne reconnaît que la protéine entière et non une partie spécifique. La protéine substrat ne peut donc pas être remplacée par de petits peptides, notamment lors d'études cristallographiques.

¹⁴ Leung, K. F.; Baron, R. and Seabra, M. C. J. *Lipid Res.* **2006**, *47*, 467-475.

¹⁵ Zhang, H.; Seabra, M. C. and Deisenhofer, J. *Structure* **2000**, *8*, 241-251.

¹⁶ Guo, Z.; Wu, Y.-W.; Das, D.; Delon, C.; Cramer, J.; Yu, S.; Thuns, S.; Lupilova, N.; Waldmann, H.; Brunsveld, L.; Goody, R. S.; Alexandrov, K. and Blankenfeldt, W. *EMBO J* **2008**, *27*, 2444-2456.

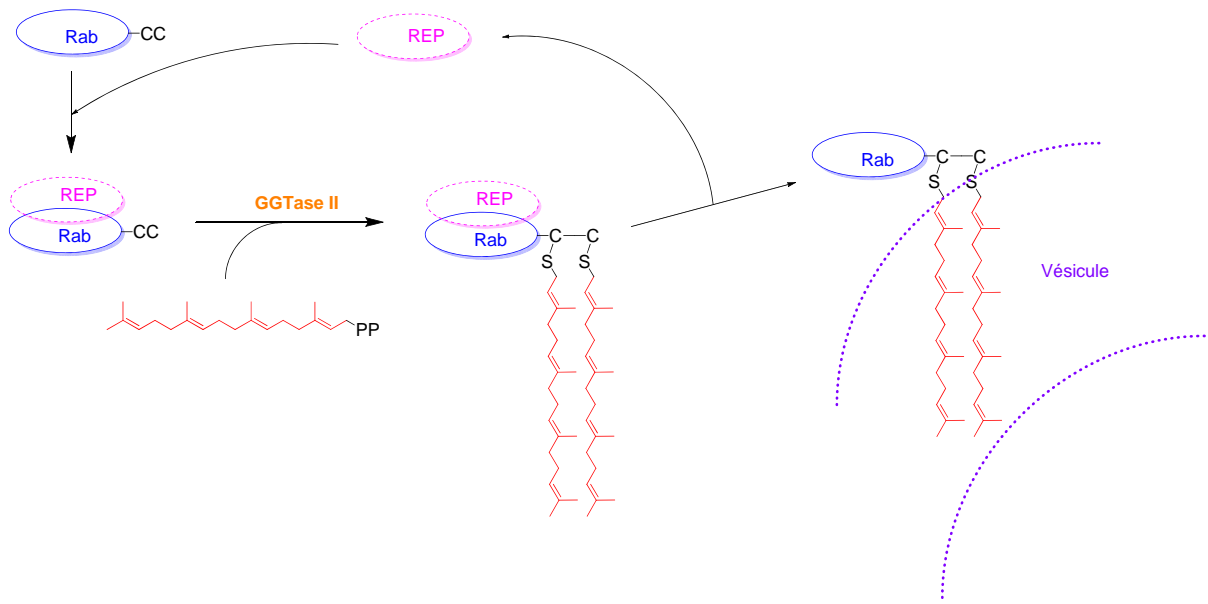


Schéma 3 : Maturation des protéines prénylées par GGTase II⁶

Chapitre II : La protéine farnésyltransférase

I. La structure de la FTase

La structure de la FTase varie selon les espèces mais certaines caractéristiques restent identiques quels que soient les individus. L'enzyme de rat mais aussi celle de l'Homme a été cristallisée avec ou sans substrats délivrant de nombreuses informations sur sa structure tridimensionnelle. Elle est constituée de deux sous-unités. La sous-unité α (48 kDa chez les mammifères, 65 kDa chez les parasites) est composée de quinze hélices α , de quatre hélices 3_{10} et d'un feuillet β , le tout organisé en forme de croissant enveloppant partiellement la sous-unité β . Cette dernière (46 kDa chez les mammifères, 61 kDa chez les parasites) structurée par quatorze hélices α organisées en forme de tonneau α - α , sept petites hélices 3_{10} et trois feuillets β . Le site actif de l'enzyme situé à la jonction des deux sous-unités comporte un atome de zinc indispensable à l'activité enzymatique (Figure 3).¹⁷

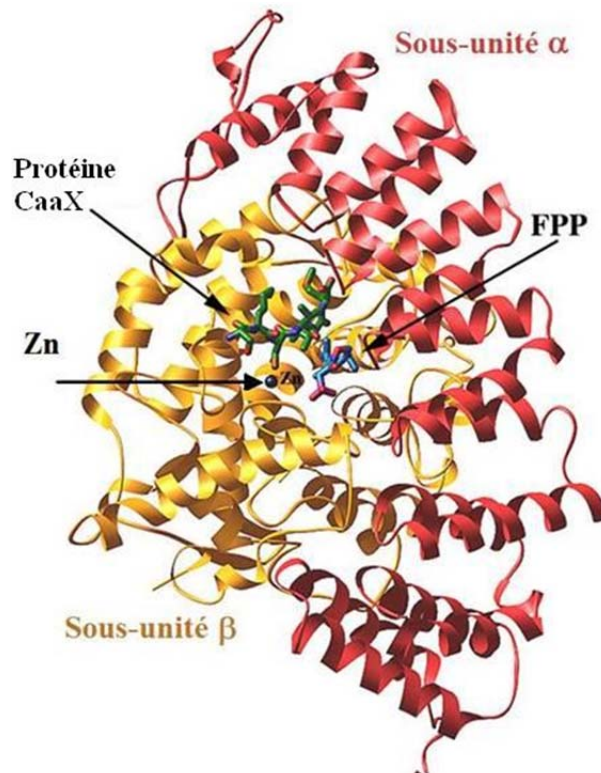


Figure 3 : Structure de la FTase¹⁸

¹⁷ Park, H. W. and Beese, L. S. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, 7, 873-880.

¹⁸ Long, S. B.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Structure* **2000**, 8, 209-222.

Plusieurs études mécanistiques et cristallographiques à haute résolution sur la FTase complexées avec différents substrats, produits et inhibiteurs ont été réalisées dans le but de comprendre le mécanisme catalytique de cette enzyme.^{19,20,21} Ces études ont montré que l'enzyme de rat et de l'Homme possède 97 % d'homologies. Ainsi, les données obtenues à partir de la FTase de rat peuvent être extrapolées à l'enzyme humaine.²²

Les enzymes de parasites tels que *Trypanosoma brucei* (maladie du sommeil), *Plasmodium falciparum* (paludisme) ou *Leishmania major* (leishmaniose) plus volumineuses que celles des mammifères ont montré certaines différences.²³ Dans la séquence linéaire, il a été remarqué des insertions d'acides aminés entraînant des changements conformationnels ayant peu voire pas d'influence sur l'activité catalytique de l'enzyme. Au niveau du site actif, les acides aminés qui constituent la poche hydrophobe dans laquelle se positionne le FPP ainsi que ceux qui entourent le motif Caa du motif CaaX sont identiques chez le rat et le parasite. Cependant, il existe quelques changements dans la séquence qui entoure le site de positionnement de X augmentant entre autre l'hydrophobicité. Ainsi, alors que la FTase de mammifères reconnaît les protéines qui contiennent une sérine, une alanine, une méthionine ou une glutamine, l'enzyme de parasite n'identifie que celles possédant une méthionine ou une glutamine préférentiellement. La différence structurale de ces FTases permet donc d'envisager favorablement le développement d'inhibiteurs de la FTase sélectifs du parasite.

II. Le mécanisme catalytique de la FTase

La farnésylation fait intervenir deux substrats qui sont le pyrophosphate de farnésyle (FPP), donneur de l'unité farnésyle et le motif CaaX subissant la farnésylation (Schéma 4).²⁴

Il est maintenant clairement accepté que le mécanisme est fonctionnellement ordonné :

- le FPP se lie à l'enzyme E pour former le complexe binaire E-FPP (1) ;
- le substrat CaaX est reconnu et peut se fixer dans le site actif pour former le complexe ternaire réactif (2) ;
- le soufre de la cystéine va se lier au carbone C₁ du FPP formant le produit farnésylé (3) et libérant une molécule de pyrophosphate (PPi) ;
- le produit farnésylé est déplacé par une nouvelle molécule de FPP vers une poche de sortie (4). Cette libération constitue l'étape limitante de cette catalyse enzymatique ;

¹⁹ Long, S. B.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Biochemistry* **1998**, *37*, 9612-9618.

²⁰ Strickland, C. L.; Windsor, W. T.; Syto, R.; Wang, L.; Bond, R.; Wu, Z.; Schwartz, J.; Le, H.; Beese, L. and Weber, P. C. *Biochemistry* **1998**, *37*, 16601-16611.

²¹ Park, H.-W.; Boduluri, S. R.; Moomaw, J. F.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Science* **1997**, *275*, 1800-1805.

²² Long, S. B.; Hancock, P. J.; Kral, A. M.; Hellinga, H. W. and Beese, L. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 12948-12953.

²³ Buckner, F. S.; Yokoyama, K.; Nguyen, L.; Grewal, A.; Erdjument-Bromage, H.; Tempst, P.; Strickland, C. L.; Xiao, L.; Van Voorhis, W. C. and Gelb, M. H. *J Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21870-21876.

²⁴ Long, S. B.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Nature* **2002**, *419*, 645 - 650.

- après la sortie du produit farnésylé, le complexe binaire (1) existe en équilibre avec la FTase seule (0).

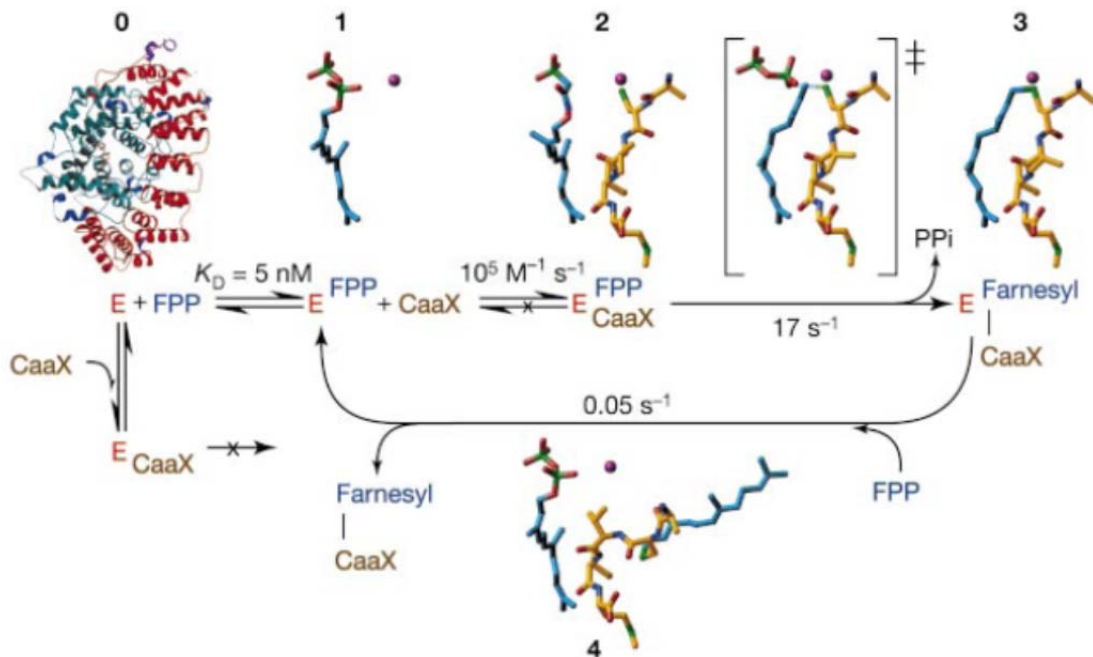


Schéma 4 : Structures au cours de la cinétique de la FTase²⁴

0 : enzyme seule, 1 : enzyme liée au FPP (en bleu), 2 : enzyme liée au FPP et au motif CaaX (en jaune), 3 : enzyme contenant le peptide farnésylé dans le site actif, 4 : relargage du produit farnésylé

Au cours de la catalyse enzymatique, certaines caractéristiques de la FTase varient légèrement. La structure secondaire de la FTase reste inchangée mais il existe en revanche des différences conformationnelles entre l'enzyme non liée et l'enzyme liée aux deux substrats dans le complexe ternaire.²⁰ La sous-unité β reste majoritairement inchangée alors que la sous-unité α subit la plupart des altérations conformationnelles.

Plusieurs structures cristallines de la FTase ont été décrites en présence de petits peptides substrats CaaX et d'analogues du FPP permettant de mettre en évidence deux poches de nature très différente correspondant aux sites de liaison des deux substrats.^{19,20} Ces lieux de fixation se rencontrent au niveau du site actif de l'enzyme où est localisé l'atome de zinc. Ainsi, les études ont montré que le site de liaison de la queue prényle de l'unité farnésyle se trouve sur la sous-unité β au centre de la région hydrophobe. Sa tête diphosphate se lie avec une poche chargée positivement proche de l'interface des deux sous-unités. La protéine CaaX, quant à elle, adopte une conformation allongée dans sa partie C-terminale lors de la formation du complexe ternaire et s'étend dans la cavité du site actif. Elle interagit à la jonction des deux sous-unités α et β avec l'enzyme et avec la chaîne isoprényle du FPP²⁵.

²⁵ Bowers, K. E. and Fierke, C. A. *Biochemistry* **2004**, *43*, 5256-5265.

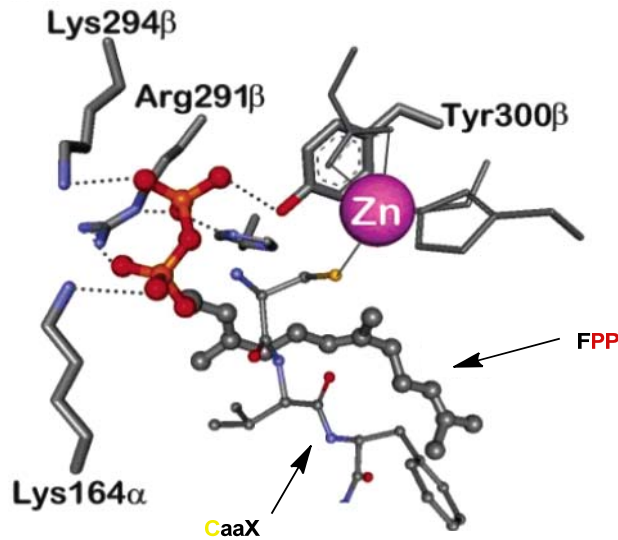


Figure 4 : Liaisons du FPP avec l'enzyme en présence du motif CaaX²⁵

Ces considérations structurales et mécanistiques sont maintenant acceptées mais d'autres aspects sont encore discutés.²⁶

Premièrement, dans le complexe ternaire E-analogue FPP-peptide, il a été observé que la distance entre le soufre de la cystéine et le carbone du pyrophosphate est de 7,3 Å.²⁰ Cette distance, trop importante pour que le soufre puisse être alkylé, laisse penser qu'elle doit être réduite au cours de la réaction enzymatique par un déplacement d'au moins un des deux substrats.

Trois hypothèses ont été envisagées et consistent à :

- un réarrangement conformationnel de l'enzyme. Cette hypothèse est peu fiable étant donné que les seuls réarrangements observés sont très localisés ;
- une dissociation du peptide de l'atome de zinc permettant au motif CaaX de s'approcher du FPP ;
- une rotation entre les deux dernières unités isoprényles qui permettrait de rapprocher le carbone C₁ du FPP près du soufre de la cystéine pour atteindre une distance de 2,4 Å (Schéma 5).

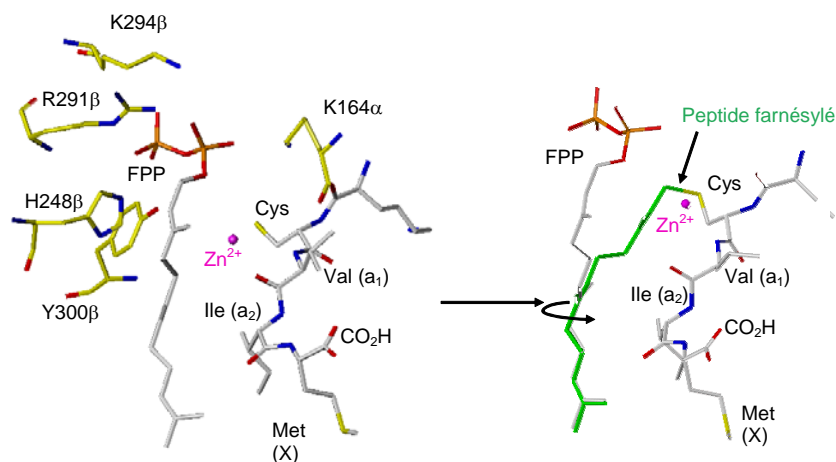


Schéma 5 : Rotation des deux dernières unités isoprényles du FPP pour la farnésylation²⁴

²⁶ Sousa, S. F.; Fernandes, P. A. and Ramos, M. J. J. *Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 3-10

Un autre point de controverse concerne la nature de la réaction chimique entre le soufre de la cystéine et le carbone C₁ du FPP. Deux hypothèses sont confrontées. La première est un mécanisme électrophile (S_N1 ou dissociatif) où un carbocation se formerait au niveau du C₁ du FPP. La deuxième hypothèse est un mécanisme nucléophile (S_N2 ou associatif) où le thiolate de la cystéine attaquerait directement le C₁ du FPP. Pour le moment aucune étude n'a clairement démontré la suprématie de l'une de ces théories car il existe des arguments en faveur de l'une ou l'autre de ces hypothèses. Une interprétation unifiée existe dans laquelle des charges partielles interviendraient. On parle de mécanisme associatif à caractère dissociatif.^{27,28}

III. Le rôle des métaux

Pour permettre une catalyse enzymatique optimale, deux atomes métalliques interviennent au sein du site actif de la FTase.

III. 1. Le zinc

La FTase est une métalloenzyme ne contenant qu'un seul atome de zinc par hétérodimère. Il est situé à l'extrémité du tonneau formé par la sous-unité β, proche de l'interface avec la sous-unité α marquant le site catalytique.¹⁷

Cet ion métallique est coordonné à la sous-unité β par trois autres acides aminés : Asp 297 β, Cys 299 β et His 362 β.²⁹ Étant toujours tétracoordiné, une quatrième liaison a été recherchée au zinc mais reste discutée à l'heure actuelle. Il s'agirait d'une liaison Zn-O mais deux liaisons sont mises en concurrence (Figure 5a) : soit une liaison avec une molécule d'eau (Zn-O : 2,74 Å), soit une liaison avec le deuxième oxygène de l'acide Asp 297 β (Zn-O : 2,56 Å).

Lorsque le motif CaaX vient former le complexe ternaire, la dernière liaison non déterminée va se déplacer au profit de la formation d'une liaison entre le zinc et l'atome de soufre de la cystéine du motif CaaX (Figure 5b).¹¹

²⁷ Sousa, S. F.; Fernandes, P. A. and Ramos, M. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3369-3378.

²⁸ Sousa, S. F.; Fernandes, P. A. and Ramos, M. J. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 4243-4247.

²⁹ Tobin, D. A.; Pickett, J. S.; Hartman, H. L.; Fierke, C. A. and Penner-Hahn, J. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9962-9969.

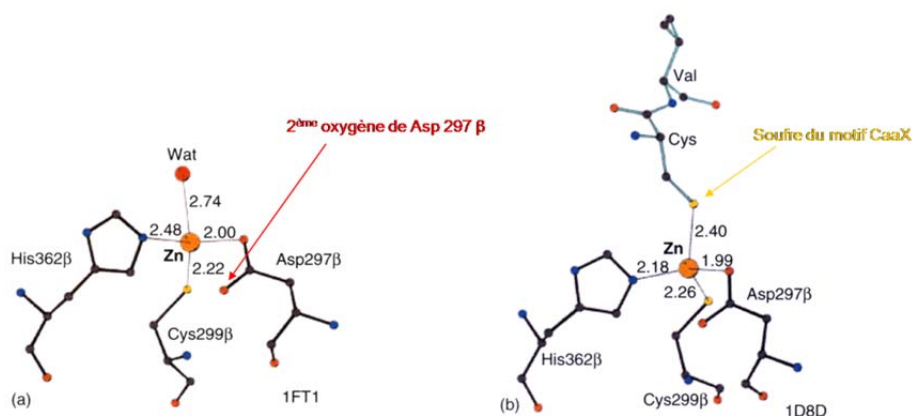


Figure 5 : Coordination du zinc (a) dans l'enzyme seule, (b) en présence du motif CaaX⁹

Une seconde hypothèse où le zinc serait pentacoordiné en présence de la protéine substrat a été proposée (Figure 6).^{11,30} La sphère de coordination du zinc comprendrait deux interactions bidentée avec Asp 297 β, une avec Cys 299 β, une avec His 362 β et la dernière interaction concerne celle avec le soufre de la cystéine du motif CaaX.

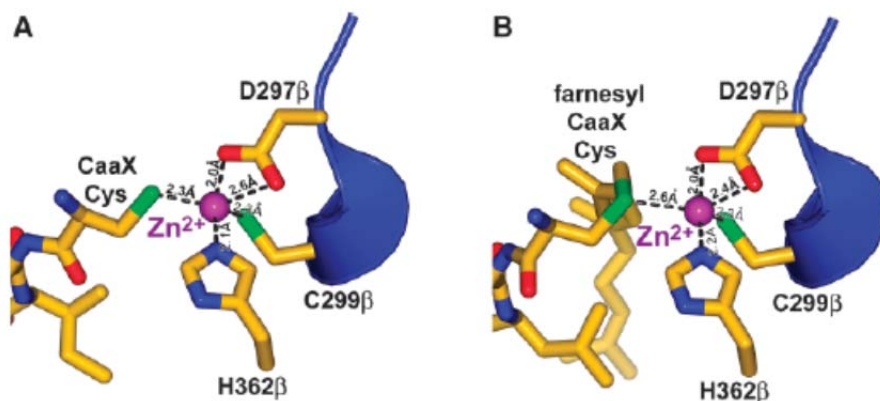


Figure 6 : Coordination du zinc (en violet) avec le motif CaaX (A) et avec le produit farnésylé (B)¹¹

On pourrait dans ce cas imaginer qu'à l'état inactif le zinc de la FTase pourrait aussi être pentacoordiné, lié au deuxième oxygène de Asp 297 β et à une molécule d'eau. Cette liaison serait remplacée par celle du zinc avec le soufre de la cystéine lors de la catalyse. À l'heure actuelle, il est impossible de privilégier une hypothèse.

La présence de cet atome de zinc au sein du site actif est cruciale car il participe activement à l'activité catalytique étant donné que, sans cet atome, elle est totalement perdue.^{31,32} Cet atome peut cependant être remplacé par un ion cobalt ou cadmium pour faciliter les études spectroscopiques. Ne participant pas à la fixation du FPP, le zinc est par contre indispensable à la fixation du motif CaaX. Lié au soufre de la cystéine qui subit l'alkylation, il abaisse le pKa de la fonction thiol qui passe de 8,3 à 6,3^{33,34} facilitant grandement l'attaque sur le C₁ du FPP pour conduire à la protéine farnésylée.

³⁰ Terry, K. L.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Biochemistry* **2006**, *45*, 9746-9755.

³¹ Reiss, Y.; Brown, M. S. and Goldstein, J. L. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 6403-6408.

³² Huang, C.-C.; Casey, P. J. and Fierke, C. A. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 20-23.

³³ Hightower, K. E.; Huang, C. c.; Casey, P. J. and Fierke, C. A. *Biochemistry* **1998**, *37*, 15555-15562.

III.2. Le magnésium

Contrairement au zinc, le magnésium n'est pas indispensable à la catalyse ou à la liaison du substrat à la FTase mais sa présence, à une concentration millimolaire, accélère *in vitro* la réaction enzymatique d'un facteur 700.

Son rôle n'est pas encore entièrement élucidé. Plusieurs propositions ont été avancées. Il a été montré, premièrement, que cet ion interviendrait après la formation du complexe ternaire et avant ou pendant la réaction chimique.³³ De plus, il a été démontré que le magnésium se lie plus fortement au PPI seul qu'au pyrophosphate alkylé du FPP. Ainsi l'ion métallique stabiliserait le PPI lors de son élimination facilitant la réaction de farnésylation (Schéma 6). Cette conclusion est confortée par l'étude de Bowers et Fierke qui a montré que les acides aminés Asp 297 β et Asp 352 β formaient une poche électro négative au moment de l'état de transition, pouvant lier l'ion Mg^{2+} et le placer ainsi près du pyrophosphate.

Des travaux de dynamique moléculaire³⁵ ont permis de supposer qu'il existerait une liaison hydrogène formée entre une molécule d'eau liée à l'ion magnésium et le soufre de la cystéine du motif CaaX. Elle permet de faire un pont entre les deux centres métalliques et de réduire la distance d'équilibre entre les atomes réactifs, le C₁ du FPP et le soufre de la cystéine. De plus, les calculs d'énergie libre ont montré que ces deux atomes se rapprochent l'un de l'autre plus facilement en présence du magnésium.

Ces études de dynamique moléculaire ont également permis de proposer l'emplacement préférentiel du magnésium. Cet atome adopterait une conformation octaédrique formée avec un atome d'oxygène de l' α - et du β -diphosphate, un oxygène du carboxylate de Asp 352 β et trois molécules d'eau (Figure 7).³⁵

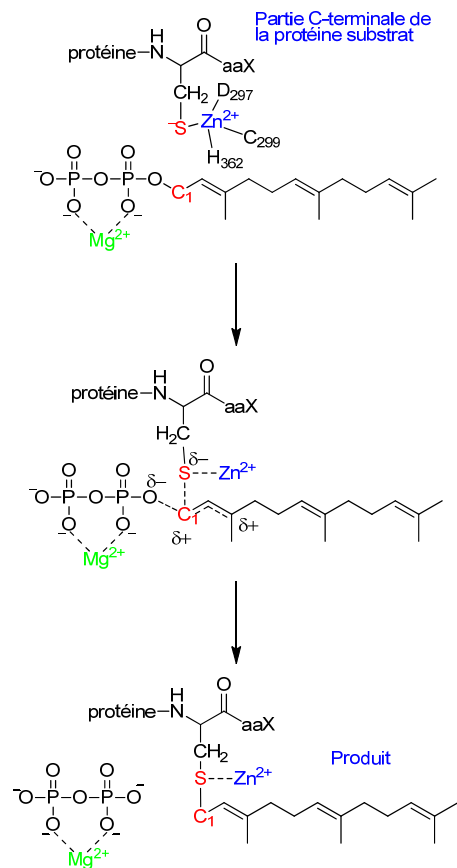


Schéma 6 : Interactions du zinc et du magnésium avec les substrats lors de la réaction de farnésylation

³⁴ Huang, C. c.; Hightower, K. E. and Fierke, C. A. *Biochemistry* **2000**, *39*, 2593-2602.

³⁵ Yang, Y.; Chakravorty, D. K. and Merz, K. M. *Biochemistry* **2010**, *49*, 9658-9666.

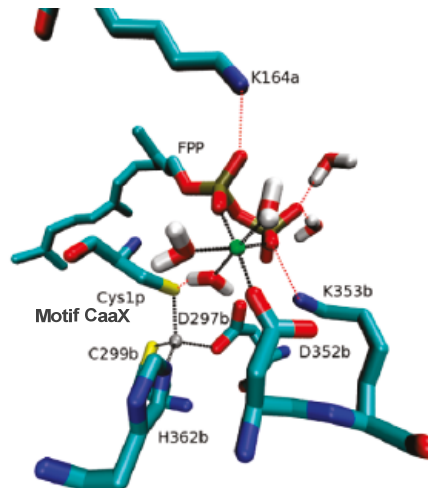


Figure 7 : Coordination du magnésium dans le site actif de la FTase³⁵
(Mg²⁺ en vert et Zn²⁺ en gris, liaisons hydrogène en pointillés rouges)

IV. Quelques exemples de protéines farnésylées

De nombreuses protéines subissent la modification post-traductionnelle de farnésylation. Elles possèdent différents rôles au sein du fonctionnement cellulaire. Parmi celles-ci on peut citer les protéines Ras, les protéines centromériques CENP-E et CENP-F et les lamines.

IV.I. Les protéines Ras

Ces protéines font partie de la famille des petites protéines G³⁶ et fonctionnent à travers l'activation de plusieurs cascades enzymatiques comme des interrupteurs régulant différentes fonctions cellulaires comme la prolifération, la différenciation ou encore la survie de la cellule. Les H-Ras (Harvey Ras), N-Ras (Neuroblastoma Ras) et K-Ras (Kristen-Ras) forment les trois types de protéines au sein de cette famille. Elles présentent environ 85 % d'homologies entre leurs chaînes d'acides aminés et se localisent dans la plupart des cellules de mammifères.

Dans le cytosol, les protéines Ras sont en équilibre entre leur forme activée, lorsqu'elles sont liées au GTP, et leur forme inactive, lorsqu'elles portent un groupement GDP. Cet équilibre est régulé par un facteur d'échange de nucléotides guanidiques (GEF) qui permet de passer de la forme inactive à la forme active mais aussi par des protéines d'activation de GTPase (GAP) qui catalysent la réaction inverse.

L'ajout d'une chaîne farnésyle permet aux protéines Ras de s'ancrer correctement à la membrane cellulaire où elles seront reconnues par les facteurs GEF et GAP (Figure 8).³⁷ Cette addition est donc une condition indispensable à la maturation des protéines Ras.

³⁶ Pour une revue sur les protéines G, voir : Gilman, A. G. *Ann. Rev. Biochem.* **1987**, 56, 615-649.

³⁷ Wright, L. P. and Philips, M. R. *J. Lipid Res.* **2006**, 47, 883-891.

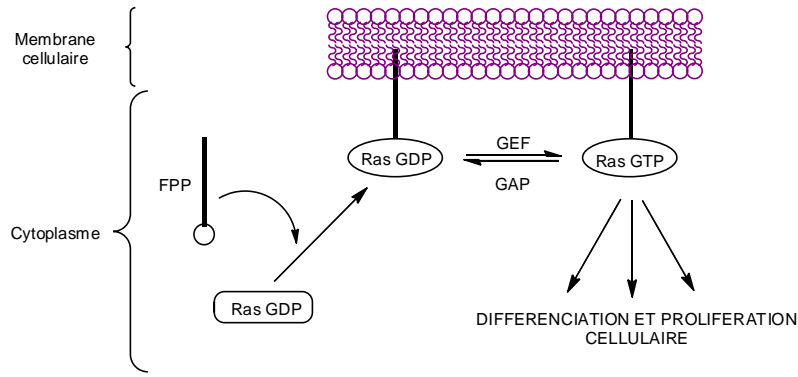


Figure 8 : Cycle d'activation/désactivation des protéines Ras

Après activation, la protéine Ras peut jouer son rôle de régulateur cellulaire et revenir à un état de repos.

Les protéines Ras ne sont pas les seules protéines G farnésylées. Il en existe beaucoup d'autres appartenant à cette famille comme les protéines Rho ou Rheb impliquées dans de nombreux processus comme la survie cellulaire.

IV.2. Les protéines centromériques CENP-E et CENP-F

La réplication cellulaire suit un cycle constitué de plusieurs phases notées G_0 , G_1 , G_2 et M (Figure 9, gauche).

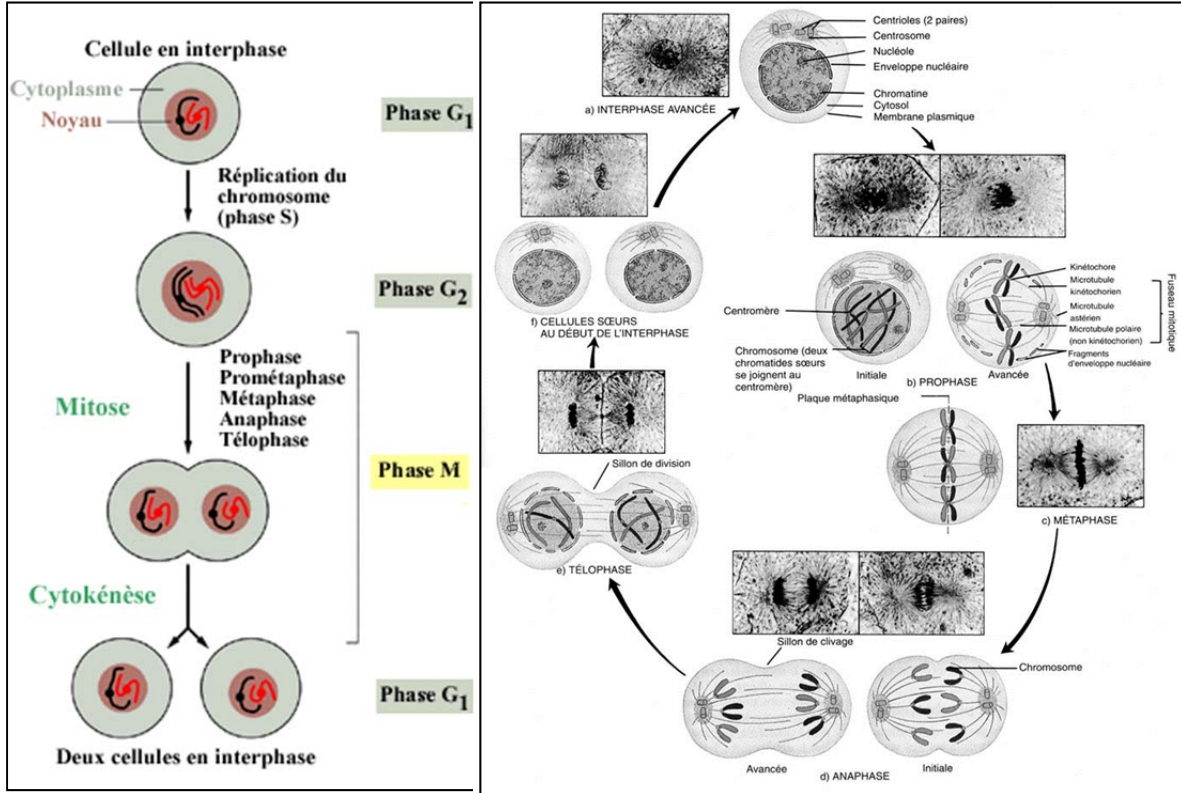


Figure 9 : Cycle cellulaire³⁸ (à gauche) et cycle mitotique³⁹ (à droite)

³⁸ http://virologie.free.fr/documents/virologie/11-Cycle_cellulaire/Cycle_cellulaire.htm

Dans une cellule normale (Figure 9, droite) l'ADN se condense pour former des chromosomes (prophase) qui s'alignent sur le plan équatorial de la cellule (métaphase). Au même moment, le fuseau mitotique se met en place et se fixe au centre de chaque chromosome pour séparer les deux chromatides et les entraîner à chacun des pôles de la cellule (anaphase). Enfin, les deux cellules filles s'individualisent (télophase).

Lors de la métaphase, la fixation des chromosomes au fuseau mitotique requiert un complexe macromoléculaire appelé kinétochore. Il est composé d'une centaine de protéines ayant des fonctions de structuration ou de régulation du fonctionnement.

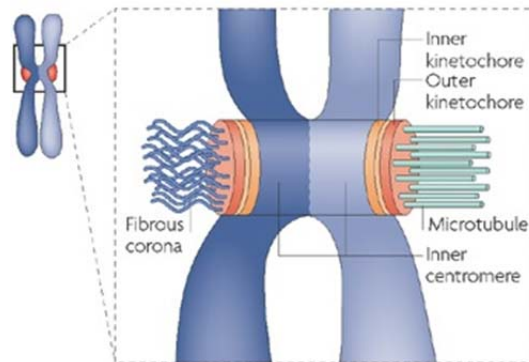


Figure 10 : Complexe chromosome-kinétochore⁴⁰

Parmi ces protéines de régulation, on compte les protéines CENP-E et CENP-F. Même si le mécanisme d'action de ces deux protéines n'est pas totalement compris, il est admis aujourd'hui qu'elles sont substrats de la FTase et jouent un rôle important dans la mitose. La farnésylation de ces molécules ne semble pas intervenir dans leur localisation dans le kinétochore mais pourrait avoir un rôle dans l'interaction avec d'autres protéines.

IV.3. Les lamines A

Les lamines appartiennent à la grande famille des protéines filamenteuses intermédiaires et sont localisées dans le noyau des cellules des organismes multicellulaires. Elles exercent diverses fonctions fondamentales dont celle de participer activement à l'architecture de l'enveloppe nucléaire en lui donnant sa forme ou sa force.⁴¹ Elles sont aussi impliquées dans la réplication de l'ADN et la transcription de l'ARNm.

Deux types de lamines existent chez les mammifères. Les lamines de type A ne sont exprimées que dans les cellules différenciées alors que les lamines de type B sont exprimées dans toutes les cellules et sont indispensables à la vie.

Le gène LMNA qui code pour les lamines A va d'abord être traduit en un précurseur des lamines A appelé prélamine A. Cette prélamine A contient un motif CaaX en position C-terminale qui

³⁹ <http://stl-bgb.blogspot.com/2009/04/td-biochimie-300409.html>

⁴⁰ Cheeseman, I. M. and Desai, A. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 33-46.

⁴¹ Broers, J. L. V.; Peeters, E. A. G.; Kuijpers, H. J. H.; Endert, J.; Bouten, C. V. C.; Oomens, C. W. J.; Baaijens, F. P. T. and Ramaekers, F. C. S. *Hum. Mol. Genet.* **2004**, *13*, 2567-2580.

va subir une séquence de maturation en quatre étapes (Figure 11) pour conduire aux lamines A. La première étape est une étape de farnésylation par la FTase. Suivent ensuite le clivage du motif aaX par l'endoprotéase Zmpste 24 ou Rce1, la méthylation de la fonction carboxylate et enfin le relargage de la lamine A.^{42,43,44}

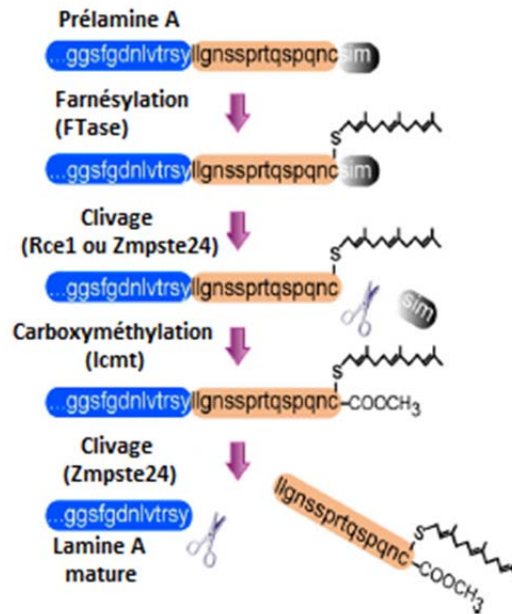


Figure 11 : Voie de maturation des prélamines A⁴⁵

Dans ce processus, la farnésylation permet l'ancrage des prélamines A à la membrane nucléaire interne où elles peuvent ensuite subir les différentes modifications structurales évoquées. Il s'agit donc d'une étape indispensable au bon fonctionnement cellulaire.

⁴² Sinensky, M.; Fantle, K.; Trujillo, M.; McLain, T.; Kupfer, A. and Dalton, M. *J. Cell Sci.* **1994**, *107*, 61-67.

⁴³ Rusiñol, A. E. and Sinensky, M. *S. J. Cell Sci.* **2006**, *119*, 3265-3272.

⁴⁴ Hennekam, R. C. M. *Am. J. Med. Genet. Part A* **2006**, *140A*, 2603-2624.

⁴⁵ Meshorer, E. and Gruenbaum, Y. *J. Cell Biol.* **2008**, *181*, 9-13.

Chapitre III : La FTase comme cible thérapeutique

Depuis quelques décennies, le domaine médical a connu des progrès considérables dans le traitement de nombreuses maladies. La lutte contre le cancer reste de nos jours une priorité pharmaceutique. La poursuite des recherches sur les cibles thérapeutiques classiques telles que l'ADN et le fuseau mitotique dans les laboratoires de pharmacologie tumorale est indispensable. Cependant, la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques est primordiale pour espérer augmenter le taux de guérison des cancers.

La découverte de la FTase et de son implication dans les processus de fonctionnement intracellulaire s'est avérée être une alternative aux méthodes existantes. De par ses propriétés cellulaires, cette enzyme a d'abord été étudiée dans le cadre de la lutte contre le cancer. Plus récemment, les inhibiteurs de la FTase (FTIs) ont montré un intérêt croissant dans certaines thérapies antiparasitaires ou dans le traitement de la progeria.

I. La FTase : cible pour la thérapie anticancéreuse

La découverte de la présence de protéines Ras mutées dans les cellules tumorales est à l'origine de l'intérêt porté à la FTase en tant que cible anticancéreuse.⁴⁶ Ne subissant plus la dissociation du GTP, ces protéines Ras modifiées restent actives. Ceci cause une réplication anarchique des cellules et la formation de tumeurs. Il a été constaté que la proportion de protéines Ras anormales dans les cancers était en moyenne de 30 % et pouvait même atteindre 90 % dans le cas du cancer du pancréas.⁴⁷ Par conséquent, ces données sont apparues extrêmement intéressantes dans la conception de nouvelles thérapies anticancéreuses ciblant sélectivement ces protéines Ras mutées.⁴⁸ L'inhibition de la FTase empêcherait la farnésylation de ces protéines normalement localisées à la membrane et les obligerait à rester cytosoliques.

Dans ce but, de nombreux FTIs ont été synthétisés et étudiés cinétiquement, structuralement et cliniquement. Ainsi depuis 2000, plus de cent brevets ont été déposés concernant les FTIs et quelques composés sont actuellement en études cliniques à des stades plus ou moins avancés.

Certains FTIs ont démontré qu'ils étaient capables d'inhiber de manière très efficace la croissance de lignées cellulaires *in vitro* et *in vivo*.⁴⁹ Combinés avec un second inhibiteur du signal de

⁴⁶ Oliff, A. *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer* **1999**, 1423, C19-C30.

⁴⁷ Leonard, D. M. *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 2971-2990.

⁴⁸ Downward, J. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, 3, 11-22.

⁴⁹ Liu, M.; Bryant, M. S.; Chen, J.; Lee, S.; Yaremko, B.; Lipari, P.; Malkowski, M.; Ferrari, E.; Nielsen, L.; Prioli, N.; Dell, J.; Sinha, D.; Syed, J.; Korfmacher, W. A.; Nomeir, A. A.; Lin, C. C.; Wang, L.; Taveras, A. G.; Doll, R. J.; Njoroge, F. G.; Mallams, A. K.; Remiszewski, S.; Catino, J. J.; Girijavallabhan, V. M.; Kirschmeier, P. and Bishop, W. R. *Cancer Res.* **1998**, 58, 4947-4956.

transduction, ils peuvent même conduire les cellules tumorales en apoptose. De plus, un de leur avantage majeur est le fait qu'elles sont faiblement toxiques vis-à-vis des cellules saines.

À l'origine, ces molécules avaient été synthétisées afin d'inhiber les protéines Ras mutées. La théorie selon laquelle les propriétés antitumorales des FTIs suivraient un tel mécanisme au sein de la cellule a été mise à mal par la découverte d'une géranylgeranylation de remplacement par la GGTase I. En effet, dans les cellules traitées par les FTIs, il a été prouvé que les protéines K-Ras et N-Ras se trouvent géranylgeranylées.⁵⁰ Elles conservent ainsi leurs propriétés tandis que H-Ras qui ne subit aucune prénylation, se retrouve en solution dans le cytoplasme et perd son activité. Malheureusement, K-Ras et N-Ras sont les protéines les plus souvent mutées dans les cancers.

Ainsi, le mécanisme d'action des FTIs est beaucoup plus complexe qu'initialement imaginé. On peut alors se demander la nature des cibles visées. Des études avancent que les FTIs agiraient sur d'autres protéines farnésylées comme les protéines centromériques CENP-E et CENP-F.⁵¹ En effet, lors d'études du cycle cellulaire sur des cellules sensibles aux FTIs, une accumulation de cellules en phase G₀/G₁ ou G₂/M, selon le type de cellules incriminées, a été observée. En présence de FTIs, la formation du fuseau mitotique est perturbée empêchant l'alignement, la séparation et la migration des chromosomes. Il semblerait que cet effet soit la conséquence de l'inhibition de la farnésylation des protéines du centromère qui ne subissent pas de prénylation alternative.

Cependant ces protéines ne sont pas les seules à être farnésylées et les activités antitumorales observées pourraient résulter de l'action des FTIs sur plusieurs protéines comme les autres protéines G (Rho, Rheb,...).

Il faut aussi souligner que les FTIs peuvent avoir d'autres conséquences que celles impliquant les protéines farnésylées. Par exemple, l'accumulation de FPP dans la cellule lorsque la FTase est inhibée serait susceptible d'altérer le niveau d'autres isoprénoïdes impliqués dans la biosynthèse de molécules vitales pour la cellule comme le squalène. Il faut aussi prendre en considération la réponse cellulaire de l'accumulation du complexe FTI/FTase qui peut engendrer un phénomène de stress dans la cellule.⁵²

Les cibles potentielles étant multiples, le mécanisme anticancéreux des FTIs reste encore mal compris à l'heure actuelle. Cependant, ces molécules ont démontré leur intérêt en oncologie et restent à ce titre des molécules à fort potentiel thérapeutique.

⁵⁰ Whyte, D. B.; Kirschmeier, P.; Hockenberry, T. N.; Nunez-Oliva, I.; James, L.; Catino, J. J.; Bishop, W. R. and Pai, J.-K. *J Biol. Chem.* **1997**, *272*, 14459-14464.

⁵¹ Ashar, H. R.; James, L.; Gray, K.; Carr, D.; Black, S.; Armstrong, L.; Bishop, W. R. and Kirschmeier, P. *J Biol Chem* **2000**, *275*, 30451 - 30457.

⁵² Tamanoi, F.; Gau, C. L.; Jiang, C.; Edamatsu, H. and Kato-Stankiewicz, J. *Cell. Mol. Life Sci.* **2001**, *58*, 1636 - 1649.

II. La FTase : cible pour la thérapie antiparasitaire

Cet axe de recherche constitue aujourd'hui la thématique privilégiée de notre laboratoire. De récentes études ont illustré le fort potentiel des FTIs dans le traitement des infections causées par des microorganismes pathogènes comme *Plasmodium falciparum* (agent responsable du paludisme), *Trypanosoma brucei* (maladie du sommeil), *Trypanosoma cruzi* (maladie de Chagas), *Leishmania mexicana* et *Leishmania major* (leishmaniose). L'intérêt grandissant pour les FTIs en tant qu'agents anticancéreux a permis le développement de nombreux FTIs de structures diverses. Cette ressource a pu être utilisée dans le développement de composés pour le traitement des maladies dues aux protozoaires parasites, un domaine pauvre en médicaments.

II.1. Les maladies parasitaires

Les infections causées par les protozoaires parasites sont responsables de lourdes pertes socio-économiques particulièrement dans les pays sous-développés. Des avancées ont été concluantes ces dernières années dans le blocage de la transmission de ces maladies mais des solutions curatives plus efficaces sont nécessaires, surtout depuis le développement des phénomènes de résistance.

II.1.a. Le paludisme

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le paludisme contaminait près de 225 millions de personnes en 2010 (soit 7,5 % des populations à risque) et est à l'origine de près d'un million de décès par an. Plus de 90 % de ces décès ont lieu en Afrique et 85 % concernent les enfants de moins de cinq ans. L'Asie et l'Amérique du Sud sont les autres régions mondiales touchées.

L'agent infectieux responsable est un parasite du genre *Plasmodium*. Plusieurs espèces peuvent infecter l'homme :

- *Plasmodium falciparum* : essentiellement présent en Afrique subdésertique, c'est le plus dangereux des parasites de ce genre puisqu'il représente 80 % des infections paludiques et 90 % des décès ;
- *Plasmodium vivax* : rarement mortel, il constitue l'origine la plus fréquente de fièvres tierces bénignes (accès de fièvres tous les trois jours) dont les crises sont récurrentes ;
- *Plasmodium ovale* : il provoque aussi la malaria tierce. Endémique principalement en Afrique de l'Ouest, aux Philippines, en Indonésie orientale et en Papouasie-Nouvelle-Guinée, on le rencontre moins fréquemment.

- *Plasmodium malariae* : réparti sur toute la planète, il est le seul à provoquer des fièvres quatraines (tous les quatre jours). Les infections sont bénignes mais peuvent durer parfois toute une vie.
- *Plasmodium knowlesi* : il est connu chez le singe mais n'a été découvert que très récemment chez l'Homme en Malaisie. Mal diagnostiqué, il était confondu avec *P. malariae*.

Très majoritairement, la transmission de tels parasites à l'Homme se fait par piqûre d'un moustique. Dans certains cas, les parasites sont transmis par voie placentaire entre la mère et le fœtus, partage d'une seringue souillée ou transfusion sanguine.

Le cycle évolutif de *Plasmodium* est assez complexe et se divise en deux étapes principales nécessitant chacune un hôte spécifique (Figure 12).

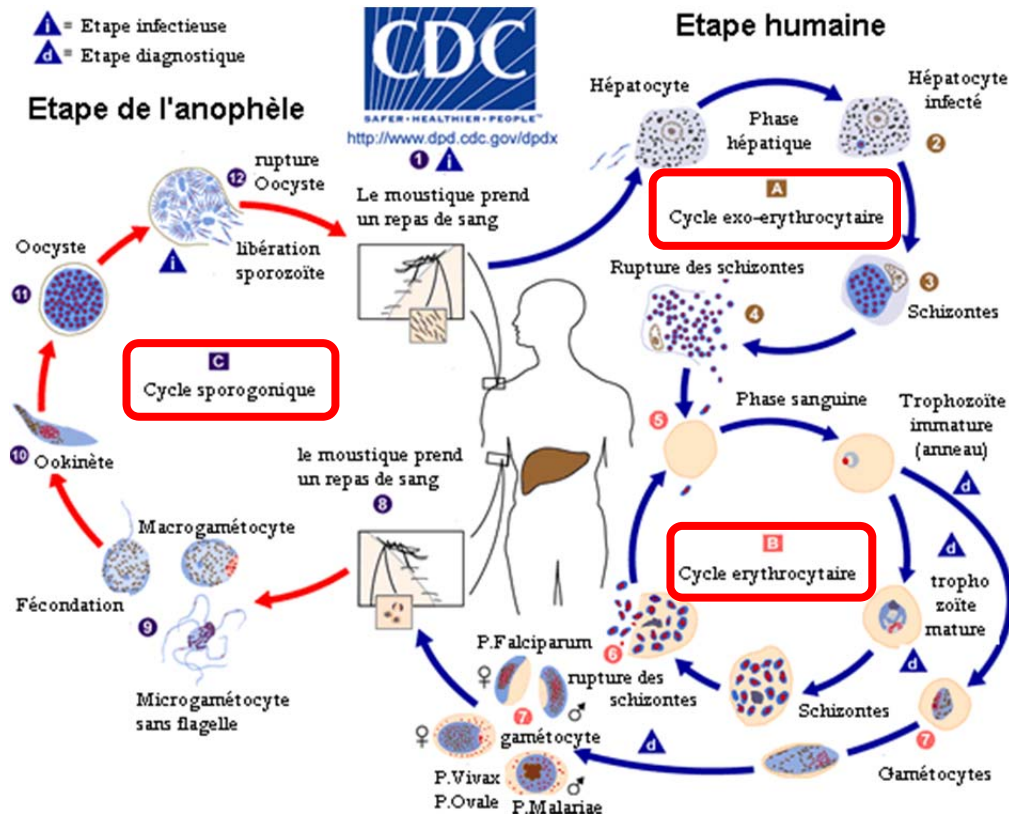


Figure 12 : Cycle de vie des parasites du genre *Plasmodium*⁵³

La première étape est une phase sexuée ou sporogonique (Figure 12, cycle C). Elle se déroule chez un moustique particulier, l'anophèle femelle, qui constitue à la fois l'hôte intermédiaire et le vecteur du parasite. Les moustiques ingèrent les gamétocytes du *Plasmodium* après s'être nourri du sang d'un humain infecté⁸. Après passage dans le sang à partir de l'épithélium salivaire, ces gamétocytes vont poursuivre leur développement et se différencier en gamètes mâles et femelles⁹. Dans l'estomac du moustique, la fécondation entraîne la formation de l'ookinète¹⁰, œuf mobile qui

⁵³ http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/ImageLibrary/malaria_LifeCycle.GIF

traverse ensuite la paroi stomacale pour devenir un oocyste¹¹. À l'intérieur vont se développer les sporozoïtes, qui seront relargués après éclatement de l'oocyste¹² et migreront jusqu'au glandes salivaires de l'insecte. La durée de ce cycle (entre 10 et 40 jours) est étroitement liée à la température. Pour *P. falciparum*, il n'y a pas de développement si la température est inférieure à 18°C ou supérieure à 45°C, la température optimale étant 24°C.

La deuxième étape est une phase asexuée ou schizogonique. Elle se déroule chez l'Homme (qui constitue l'hôte définitif) après piqûre par le moustique infecté¹ et s'effectue en trois temps. Le premier temps est appelé phase hépatique (Figure 12, cycle exo-érythrocytaire^A) où le parasite, sous forme de sporozoïte, circule dans le sang pour atteindre le foie en 30 minutes et pénètre, grâce à des récepteurs spécifiques, dans un hépatocyte (cellule du foie)². Le sporozoïte s'arrondit et évolue en élément uninucléé qui se développe directement jusqu'à maturité ou bien reste sous forme dormante appelée hypnozoïte (chez *P. vivax* et *P. ovale*, l'hypnozoïte peut rester à l'état dormant durant des mois voire des années et même toute une vie chez *P. malariae*). Lorsqu'il se développe, le trophozoïte évolue pendant une à trois semaines en schizonte mature³, cellule volumineuse (40 à 100 µm) contenant jusqu'à 20 000 mérozoïtes. Ce schizonte va alors bourgeonner de manière à libérer des vésicules contenant les mérozoïtes⁴. Le deuxième temps est la phase de transfert. Suivant une technique semblable à celle du « Cheval de Troie », les vésicules passent dans les sinusoides hépatiques, capillaires effectuant la jonction entre le foie et le réseau sanguin, et libèrent ensuite les jeunes mérozoïtes dans la circulation sanguine⁵. Le troisième temps ou phase sanguine (Figure 12, cycle érythrocytaire^B) où rapidement détruits par le système immunitaire, les mérozoïtes (1,2 à 1,5 µm) disposent d'une durée de 10 à 15 minutes pour envahir l'hématie hôte. Après pénétration, le mérozoïte migre vers le centre du globule puis se transforme en trophozoïte (2 à 3 µm) qui lui-même évolue en schizonte (corps en rosace) contenant de nouveaux mérozoïtes érythrocytaires. Après hémolyse (éclatement de l'hématie)⁶, ces mérozoïtes libres peuvent alors réinfecter de nouveaux érythrocytes. La durée du cycle érythrocytaire varie en fonction de l'espèce plasmodiale : environ 48 heures pour *P. falciparum*, *P. ovale* et *P. vivax* et environ 72 heures pour *P. malariae*. Après une succession de cycles de ce type, il va se mettre en place des cycles dits « gamogoniques » où les mérozoïtes vont évoluer en gamétocytes mâles et femelles, demeurant en attente dans le sang⁷. De tels parasites n'ont aucune chance de survie dans le corps humain. Ils restent en vie une vingtaine de jours puis meurent à moins qu'un anophèle ne pique la personne infectée, absorbant les gamétocytes qui pourront alors recommencer un cycle sexué chez le moustique. En piquant de nouveau une personne humaine, l'insecte permettra alors de perpétuer le cycle de vie de ce parasite.

Les signes de l'infection n'apparaissent qu'au cours de la multiplication des parasites dans les hématies. Les premiers symptômes, appelés « attaques primaires », sont atypiques et peuvent ressembler à n'importe quelle maladie fébrile : maux de tête, nausées... Puis survient une montée progressive de la température associée aux symptômes digestifs courants comme les nausées, céphalées, douleurs abdominales et légères torpeurs. Ces manifestations cliniques sont dues à

l'activité des parasites qui, en éclatant les globules rouges, vont libérer dans le sang des substances toxiques. La mort peut survenir lorsque les hématies éclatées viennent obstruer les capillaires irriguant le cerveau ou tout autre organe vital.

Pour se prémunir de cette infection, la meilleure protection reste d'éviter la piqûre d'anophèle par l'utilisation de répulsifs ou d'une moustiquaire durant les périodes de sommeil. Lors de voyages dans les pays concernés, la protection contre le paludisme passe également par des traitements préventifs (Figure 13) tels que la prise de méfloquine (Lariam®) ou d'une association atovaquone-proguanil (Malarone®).

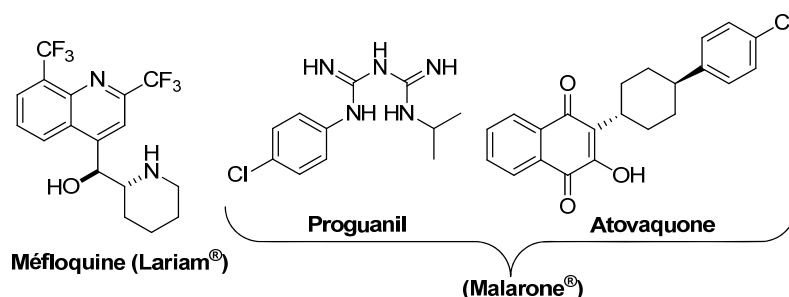


Figure 13 : Traitements préventifs du paludisme

Malgré les précautions prises, si une personne se trouve contaminée, certaines thérapies existent. Pendant plusieurs décennies, la chloroquine (Nivaquine®), la quinine (Quinine Lafran®) ou encore la sulfadoxine-pyriméthamine (SP, Fandisar®) ont été les thérapies de choix (Figure 14). Malheureusement, des cas fréquents de résistance ont été recensés et il a donc fallu trouver de nouvelles stratégies pour combattre le parasite.

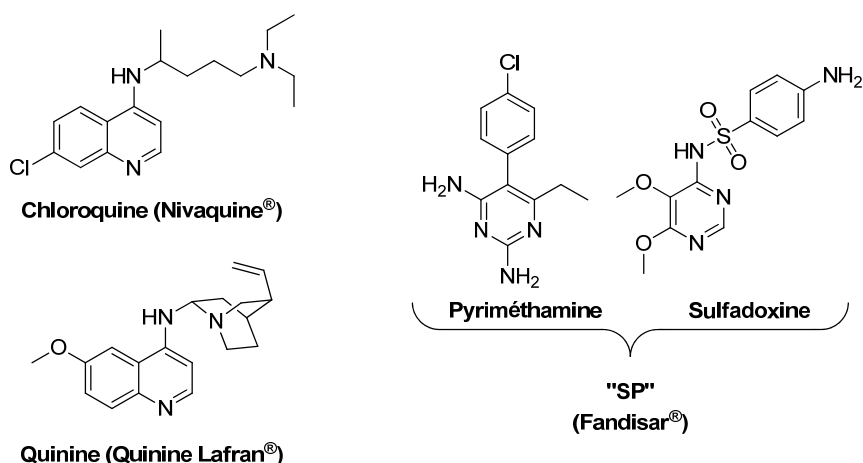


Figure 14 : Structure de divers antipaludéens

Aujourd'hui, il n'existe véritablement qu'un seul traitement efficace, les ACT (de l'anglais Artemisinin-based Combination Therapy: thérapie par combinaisons médicamenteuses à base d'artémisinine). Utilisée seule, l'artémisinine (Figure 15) s'est en effet avérée très efficace contre le parasite mais l'apparition de résistances a conduit à l'élaboration de médicaments combinant cette

molécule avec d'autres antipaludiques de classe thérapeutique différente. Cette association permet d'éliminer complètement la parasitémie résistante à l'artémisinine par l'utilisation d'un deuxième antipaludéen d'action plus durable.

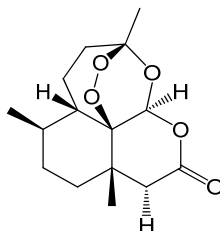


Figure 15 : Structure chimique de l'artémisinine

Le prix élevé de ces ACT (pour des pays aux moyens limités) ainsi que la possible apparition prochaine de résistance amènent à continuer la recherche sur de nouvelles cibles thérapeutiques pour lutter contre l'agent *Plasmodium*. Dans ce cadre, l'utilisation de FTIs s'avère prometteuse.

II.1.b. La maladie du sommeil

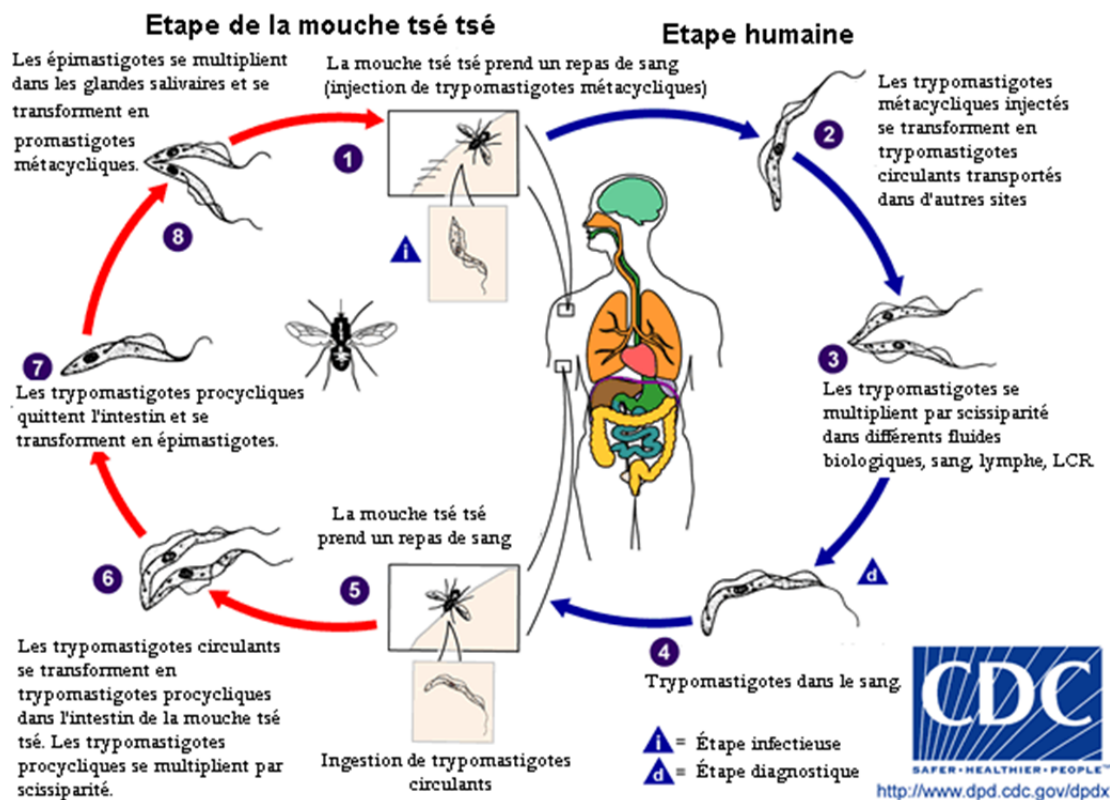
Cette infection parasitaire, aussi appelée trypanosomiase africaine car endémique des régions subsahariennes, concerne 300 000 à 500 000 personnes par an selon l'OMS. En l'absence de traitement, l'issue se révèle toujours fatale.

L'agent infectieux responsable de la maladie est un parasite du genre *Trypanosoma brucei* qui peut se rencontrer sous deux formes :

- *Trypanosoma brucei gambiense* : il se trouve en Afrique centrale et occidentale et provoque une atteinte chronique qui peut rester à l'état passif pendant des mois voire des années. Plus de 90 % des cas sont dus à cette espèce du parasite ;
- *Trypanosoma brucei rhodesiense* : on le croise dans les régions d'Afrique orientale et méridionale. Il représente moins de 10 % des cas signalés. Avec ce parasite, la maladie se déclenche beaucoup plus rapidement que précédemment (quelques semaines).

Dans la plupart des cas, la transmission des parasites à l'Homme se fait par la piqûre d'une glossine appelée plus couramment mouche tsé-tsé. Dans certaines situations, la contamination peut être due à une seringue souillée ou être transmise au fœtus lors de la grossesse par passage de la barrière placentaire.

Comme pour le genre *Plasmodium*, *Trypanosoma brucei* nécessite deux hôtes indispensables à sa survie, un hôte intermédiaire et vecteur représenté ici par la mouche tsé-tsé et un hôte définitif, l'Homme. Le cycle de vie d'un tel parasite (Figure 16) comporte deux étapes.

Figure 16 : Cycle de vie des parasites du genre *Trypanosoma brucei*⁵⁴

La première étape est localisée au sein de la mouche tsé-tsé et dure entre 18 et 25 jours. Après un repas de sang chez un mammifère infecté comme l'Homme pour *T. brucei gambiense* et les animaux sauvages ainsi que le bétail pour *T. brucei rhodesiense*, le parasite infecte la glossine⁵. Ce trypanosome passe alors dans l'intestin de la mouche, s'y multiplie⁶ et remonte ensuite dans les glandes salivaires où se poursuit la multiplication^{7,8}.

Dans l'étape humaine, l'Homme, piqué par une mouche porteuse du parasite, va être contaminé à son tour¹. Deux périodes de développement du parasite vont être distinguées. Premièrement, les trypanosomes vont se multiplier dans les tissus sous-cutanés ainsi que dans les systèmes sanguin et lymphatique^{2,3}. Cette période lymphatico-sanguine est caractérisée par des poussées de fièvre, des céphalées, des douleurs articulaires ou encore des démangeaisons. Le franchissement de la barrière hémato-encéphalique constitue la deuxième phase d'invasion du parasite. Lorsque celui-ci envahit le système nerveux central, différents symptômes caractéristiques apparaissent comme un état confusionnel, des troubles sensoriels et de coordination ainsi que des troubles du sommeil, origine du nom de la maladie, qui sont caractéristiques de la deuxième phase.

Suivant le stade de l'infection et la nature du parasite, il existe quatre différents traitements intraveineux. Les produits utilisés dans le cadre du traitement de la première période sont moins toxiques, plus faciles à administrer et plus efficaces que ceux de la deuxième période qui doivent

⁵⁴ http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/TrypanosomiasisAfrican_il.htm

passer la barrière hémato-encéphalique. Ainsi, plus le diagnostic est précoce et plus les chances de guérison sont élevées.

Les traitements de la première période (Figure 17) sont la pentamidine pour *T. b. gambiense*, généralement bien tolérée, et la suramine pour *T. b. rhodesiense*, qui provoque des effets indésirables au niveau des voies urinaires et des allergies.

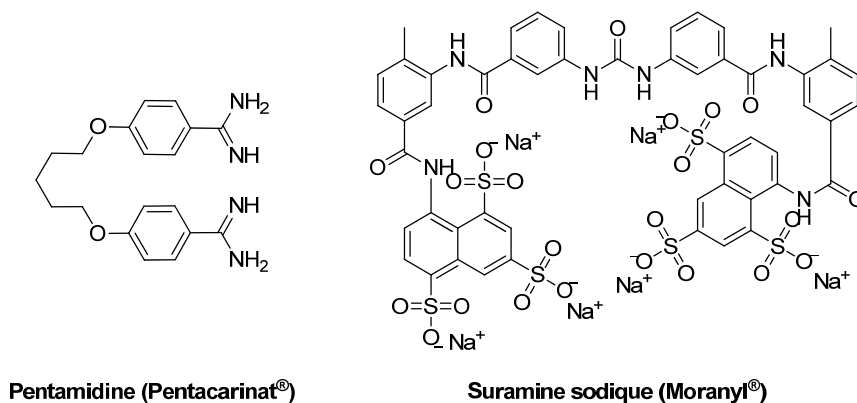


Figure 17 : Traitements de la première période de la maladie du sommeil

Il existe également deux traitements pour soigner la maladie entrée dans la deuxième période (Figure 18). Le premier consiste à utiliser le Mélarsoprol, traitement applicable aux deux types de parasites. Ce dérivé d'arsenic est hautement toxique et peut provoquer comme grave effet secondaire des encéphalopathies et conduire à la mort du patient (entre 3 et 10 % des cas). L'Éflornithine, non toxique, constitue une alternative mais ne peut être employée que dans le cas d'une infection à *T. b. gambiense*.

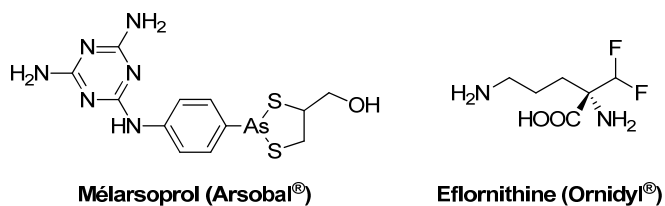


Figure 18 : Traitements de la deuxième période de la maladie du sommeil

Des cas de résistance au Mélarsoprol ont été rapportés et l'absence d'autres traitements dans le cas d'une infection par *T. b. rhodesiense* entrée dans la deuxième phase de la maladie impose la nécessité de trouver de nouvelles thérapies parmi lesquelles pourrait faire partie l'inhibition de la FTase.

II.1.c. La maladie de Chagas

Parfois nommée trypanosomiase américaine, cette infection porte le nom du médecin brésilien (Carlos Chagas) qui fut le premier à décrire la maladie en 1909. L'infection, endémique des régions tropicales d'Amérique latine (du sud des États-Unis au sud de l'Argentine), contamine à l'heure actuelle entre 16 et 18 millions de personnes (300 000 nouveaux cas par an) et entraîne environ 50 000 décès par an.

Le parasite en cause est un trypanosome appelé *Trypanosoma cruzi* qui est majoritairement transmis à l'Homme par un insecte vecteur, le réduve (sorte de punaise). Comme pour le paludisme et la maladie du sommeil, une infection par transfusion sanguine, transplantation d'organe, seringue souillée ou encore par transmission materno-fœtale est possible mais rare.

Le cycle de vie de ce parasite (Figure 19) ressemble fortement à celui de *Trypanosoma brucei*.

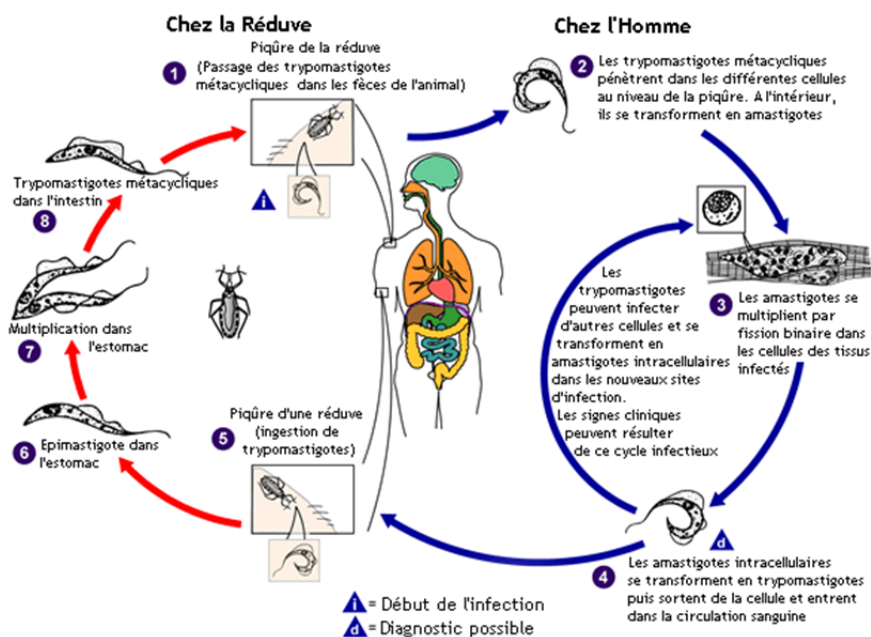


Figure 19 : Cycle de vie des parasites du genre *Trypanosoma cruzi*⁵⁵

Comme précédemment, le cycle débute par l'infection de l'insecte vecteur après un repas de sang chez un mammifère contaminé⁵. Une fois dans l'estomac⁶ le parasite va se multiplier⁷ puis migrer d'abord dans l'intestin⁸ avant de rejoindre les fèces de l'animal. Le cycle du parasite chez l'insecte dure environ trois semaines et rend le réduve contaminant toute sa vie.

Lorsque ce genre de punaise pique l'être humain¹, elle émet en même temps des fèces contenant *T. cruzi*. La victime va elle-même se contaminer en se grattant car elle va mettre en

⁵⁵ http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/TrypanosomiasisAmerican_il.htm

contact la plaie avec les fèces infectées permettant aux parasites d'entrer dans le corps humain. À l'intérieur de l'hôte, les parasites sous forme de trypanomastigotes envahissent les cellules où ils se différencient en forme d'amastigotes² pour se reproduire³. Ces amastigotes sortent ensuite de la cellule, passent dans la circulation sanguine et se différencient en trypanomastigotes qui peuvent aller infecter de nouvelles cellules⁴. Il faut noter que les formes trypanomastigotes circulantes ne se divisent pas (contrairement à *T. brucei*). La réplication n'a lieu qu'après pénétration dans une nouvelle cellule ou ingestion par un nouveau vecteur.

La maladie humaine peut être considérée comme une véritable bombe à retardement qui commence après une à deux semaines d'incubation et se développe en deux phases. La phase aiguë, le plus souvent asymptomatique, peut néanmoins induire des fièvres, des malaises, des céphalées et un nodule cutané appelé « chagome » qui peut apparaître au point d'inoculation. La deuxième phase est la phase chronique qui commence par une période asymptomatique (70 % des formes chroniques) et qui dure de 10 à 30 ans ou parfois toute la vie. Il s'en suit une phase symptomatique (30 % des cas) où l'on observe des complications graves comme des atteintes digestives ou encore une cardiopathie chronique irréversible qui entraîne des risques de mort subite et des insuffisances cardiaques.

Pour soigner cette maladie, il existe deux traitements de référence (Figure 20) qui sont le benznidazole (Radanil[®]) et le nifurtimox (Lampit[®]), dont certains rapports font apparaître des phénomènes de résistance. Très toxiques, ils présentent de nombreux effets indésirables et doivent donc être administrés sous surveillance médicale. En outre, ils ne sont efficaces que si leur utilisation s'effectue durant la phase aiguë de la maladie.

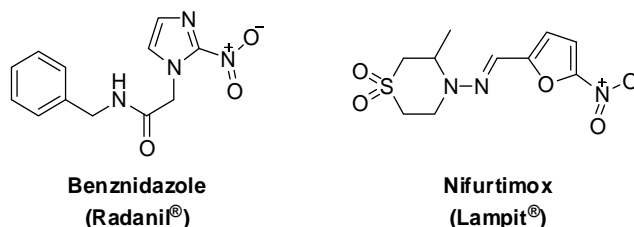


Figure 20 : Traitements de la maladie de Chagas

II.1.d. La leishmaniose

Cette maladie est une parasitose que l'on trouve majoritairement dans les pays tropicaux et subtropicaux mais pas de façon exclusive puisqu'on la retrouve également autour du bassin méditerranéen et au Moyen-Orient. On estime que 350 millions d'individus sont exposés à cette infection et environ 2 millions sont contaminés par an.

Cette infection est due à un parasite appartenant au genre *Leishmania* qui peut infecter toutes sortes de mammifères comme l'Homme de la même façon que pour les autres parasitoses.

Comme pour les maladies protozoaires évoquées précédemment, le cycle de vie de cet agent infectieux (Figure 21) comporte deux hôtes, un hôte définitif correspondant à l'être humain qui aura été infesté après piqûre par un insecte vecteur et hôte intermédiaire, qui est dans ce cas un phlébotome femelle.

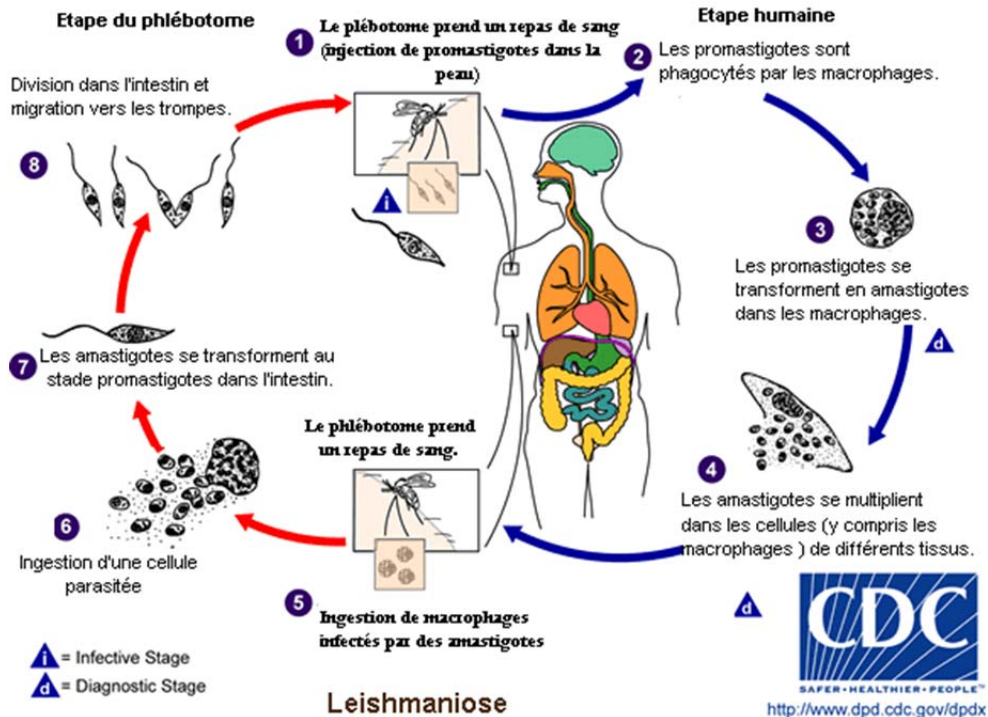


Figure 21 : Cycle de vie des parasites du genre *Leishmania*⁵⁶

Le cycle démarre quand, après un repas de sang, le phlébotome ingurgite des macrophages contenant les parasites sous forme d'amastigotes⁵. Après éclatement du macrophage les amastigotes sont libérés dans l'intestin⁶ où ils se différencient en promastigotes⁷ qui vont rejoindre la trompe de l'insecte⁸.

Lors de la piqûre, les promastigotes sont libérés dans l'organisme humain¹ où ils vont être phagocytés par les macrophages². À l'intérieur, ils se transforment en amastigotes³ et se multiplient avant de rejoindre différentes cellules tissulaires⁴ selon l'espèce *Leishmania* impliquée.

On rencontre la leishmaniose sous trois formes cliniques : la leishmaniose cutanée (LC), la leishmaniose cutanéomuqueuse (LCM) et enfin la leishmaniose viscérale (LV, appelée aussi Kala Azar), la plus dangereuse. Selon le type d'infection, les symptômes de la leishmaniose vont être différents. Pour la LC, les symptômes sont des lésions cutanées qui vont laisser des cicatrices parfois importantes. Pour la LCM, la maladie se traduit par une destruction des muqueuses du visage (bouche, nez, gorge) qui peut s'avérer extrêmement défigurante. Pour la LV, la maladie se manifeste par des fièvres, une faiblesse généralisée, une anémie ou encore une rate volumineuse. Cette dernière forme est toujours létale en l'absence de traitement.

⁵⁶ http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Leishmaniasis_il.htm

Pour lutter contre ce type d'infection, il existe plusieurs traitements. Le premier fait intervenir des molécules à base d'antimoine (Figure 22) telles que l'antimoniote de méglumine (Glucantime®) ou le stibogluconate de sodium (Pentostam®).

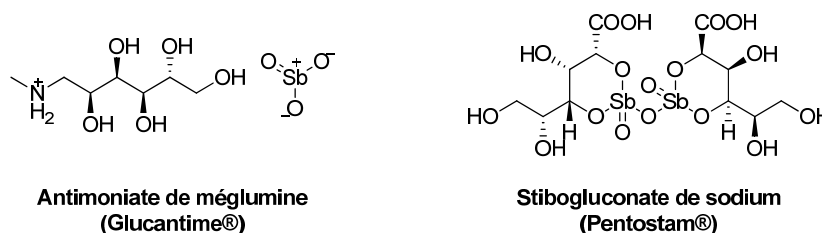


Figure 22 : Traitements des leishmanioses par des molécules à base d'antimoine

Face aux phénomènes émergents de résistance à l'antimoine, il a fallu trouver d'autres armes thérapeutiques (Figure 23) comme l'amphotéricine B (AmBisome®), qui présente cependant de nombreux effets secondaires comme l'hypertension, et la miltefosine (Impavido®).

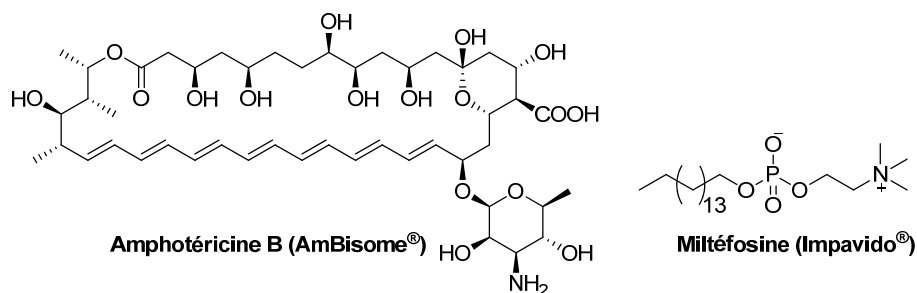


Figure 23 : Traitements récents des leishmanioses

II.2. Les FTIs comme agents antiparasitaires

Le développement de nouvelles thérapies luttant contre les maladies parasitaires devient urgent à cause des phénomènes de résistance. La découverte de nouvelles cibles est alors devenue une nécessité dans la lutte contre de telles pathologies.

La prénylation des protéines impliquée dans les signaux de transduction cellulaire régulant l'apoptose ou la prolifération a été observée chez un bon nombre de protozoaires pathogéniques comme *T. brucei*,^{57,58} *T. cruzi*,⁵⁹ *Leishmania*,⁵⁹ *P. falciparum*^{60,61} et *Toxoplasma gondii*.⁶²

⁵⁷ Field, H.; Blench, I.; Croft, S. and Field, M. C. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1996**, *82*, 67-80.

⁵⁸ Yokoyama, K.; Lin, Y.; Stuart, K. D. and Gelb, M. H. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1997**, *87*, 61-69.

⁵⁹ Buckner, F. S.; Eastman, R. T.; Nepomuceno-Silva, J. L.; Speelman, E. C.; Myler, P. J.; Van Voorhis, W. C. and Yokoyama, K. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2002**, *122*, 181-188.

⁶⁰ Chakrabarti, D.; Azam, T.; DelVecchio, C.; Qiu, L.; Park, Y.-i. and Allen, C. M. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1998**, *94*, 175-184.

⁶¹ Chakrabarti, D.; Da Silva, T.; Barger, J.; Paquette, S.; Patel, H.; Patterson, S. and Allen, C. M. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 42066-42073.

⁶² Ibrahim, M.; Azzouz, N.; Gerold, P. and Schwarz, R. T. *Int. J. Parasitol.* **2001**, *31*, 1489-1497.

La découverte d'activité de farnésylation chez les parasites argumente l'intérêt porté à la FTase comme cible antiparasitaire. À la suite de l'engouement dans le développement de FTIs comme agents anticancéreux, une large gamme d'inhibiteurs structuralement variés a été reportée dans la littérature ou déposée dans de nombreux brevets. Ainsi, cette ressource a pu être utilisée pour le développement de composés permettant de traiter ces maladies parasitaires, maladies pauvres en médicaments. De plus, bien que la plupart de ces composés aient été développés dans le but d'inhiber la FTase humaine, les molécules possédant une capacité similaire d'inhiber à la fois les FTase de mammifères et de parasites ont montré de plus grandes cytotoxicités contre les cultures de parasites par rapport aux cellules humaines.⁶³

Les mécanismes d'action sont encore méconnus et les raisons pour lesquelles les FTIs sont parfois plus toxiques pour le parasite que pour l'Homme restent incertaines. Deux hypothèses ont été émises. La première serait que les parasites ne possèdent pas d'activité GGTase I, voie de substitution à l'ajout d'un groupement hydrophobe chez les mammifères. Cette supposition a été réfutée par la démonstration de l'existence de cette enzyme chez *P. falciparum*⁶⁰ et *T. brucei*⁵⁸. La sélectivité FTase/GGTase I serait alors plus grande chez le parasite. La deuxième hypothèse avancée ferait intervenir la concentration de l'inhibiteur. La farnésylation des protéines du parasite pourraient être bloquée à des concentrations plus faibles que celles nécessaires pour inhiber la farnésylation chez les mammifères. Le mécanisme de cytotoxicité est encore incompris car très peu d'informations sur la nature des protéines prénylées chez les protozoaires pathogènes sont connues.

Les chercheurs se sont aussi interrogés sur le fait de savoir si la FTase était bien la cible de ces composés. Chez *P. falciparum*, l'implication de la FTase a été démontrée par le fait que l'utilisation des FTIs avait conduit à la formation de FTases mutées résistantes dans des cellules traitées qui retrouvent alors leur capacité de prolifération.⁶⁴ Cependant, ce phénomène de résistance ne réduit pas à néant l'utilisation de FTIs pour le traitement potentiel du paludisme. Ces inhibiteurs, comme beaucoup d'agents antiparasitaires, devront être combinés à d'autres agents pour atteindre une guérison totale et diminuer les possibilités de résistance médicamenteuse.

Les FTIs s'avèrent des candidats réellement attractifs dans le cadre du traitement des infections parasitaires car les études chimiques, pharmacocinétiques ou toxicologiques ont déjà été établies chez les humains. De plus la différence de la structure primaire entre la FTase de parasites et celle de mammifères induit une sélectivité différente au niveau des acides aminés X du motif CaaX. La conception d'inhibiteurs spécifiques de la FTase par modification des FTIs déjà existants est par conséquent une voie thérapeutique à prendre en considération pour les thérapies antiparasitaires.^{8,65}

⁶³ Eastman, R. T.; Buckner, F. S.; Yokoyama, K.; Gelb, M. H. and Van Voorhis, W. C. *J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 233-240.

⁶⁴ Eastman, R. T.; White, J.; Hucke, O.; Bauer, K.; Yokoyama, K.; Nallan, L.; Chakrabarti, D.; Verlinde, C. L. M. J.; Gelb, M. H.; Rathod, P. K. and Van Voorhis, W. C. *J Biol. Chem.* **2005**, *280*, 13554-13559.

⁶⁵ Nallan, L.; Bauer, K. D.; Bendale, P.; Rivas, K.; Yokoyama, K.; Hornéy, C. P.; Pendyala, P. R.; Floyd, D.; Lombardo, L. J.; Williams, D. K.; Hamilton, A.; Sebti, S.; Windsor, W. T.; Weber, P. C.; Buckner, F. S.; Chakrabarti, D.; Gelb, M. H. and Van Voorhis, W. C. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3704-3713.

III. La FTase, cible pour le traitement du syndrome progéroïde d'Hutchinson-Gilford

Cette maladie rare dite « du vieillissement » fut premièrement décrite par Hutchinson en 1886⁶⁶ puis par Gilford en 1897.⁶⁷ Ce syndrome, appelé aussi progeria, mime les caractéristiques cliniques et moléculaires de la vieillesse. Les symptômes apparaissent entre 18 et 24 mois. Ils se traduisent par un vieillissement accéléré de la peau, une croissance retardée (taille inférieure à 110 cm pour un poids maximal de 15 kg), de l'alopecie, de l'athérosclérose, des troubles cardiovasculaires et musculaires.⁴⁴ Les personnes atteintes de cette maladie meurent vers l'âge de 13 ans, souvent par infarctus du myocarde.

Récemment, deux équipes américaine⁶⁸ et française⁶⁹ ont prouvé simultanément que des mutations sur le gène LMNA codant pour les lamines A étaient responsables de l'apparition de ce syndrome. Cette altération induit la formation de prélamines A tronquées, appelée progérines, où manquent une cinquantaine d'acides aminés du côté C-terminal. Cette absence d'acides aminés se traduit par une modification structurale qui empêche le clivage du groupement farnésyle, étape de maturation indispensable à la formation des lamines A.⁷⁰ L'accumulation de progérines farnésylées est toxique pour la cellule et cause des anomalies au niveau de l'enveloppe nucléaire.

Il a été montré^{71,72} que le phénotype de ces cellules a pu être amélioré par l'utilisation de FTIs qui bloquent voire renversent l'évolution clinique de la maladie. Ces effets sont dus à une inhibition plus forte de la farnésylation des progérines par rapport à celle des prélamines A normales et au fait que seule une faible quantité de lamine A mature permet l'assemblage correct de l'enveloppe nucléaire. Même s'il n'existe pour le moment aucune thérapie dans le traitement de ce syndrome, l'utilisation de FTIs semble très prometteuse et pourrait aboutir dans les années à venir à l'élaboration d'une thérapie efficace.⁷³

⁶⁶ Hutchinson, J. *Trans. Med. Chir. Soc. Edinburgh* **1886**, *69*, 473-477.

⁶⁷ Gilford, H. *Med. Chir. Trans.* **1897**, *80*, 17-45.

⁶⁸ Eriksson, M.; Brown, W. T.; Gordon, L. B.; Glynn, M. W.; Singer, J.; Scott, L.; Erdos, M. R.; Robbins, C. M.; Moses, T. Y.; Berglund, P.; Dutra, A.; Pak, E.; Durkin, S.; Csoka, A. B.; Boehnke, M.; Glover, T. W. and Collins, F. S. *Nature* **2003**, *423*, 293-298.

⁶⁹ De Sandre-Giovannoli, A.; Bernard, R.; Cau, P.; Navarro, C.; Amiel, J.; Boccaccio, I.; Lyonnet, S.; Stewart, C. L.; Munnich, A.; Le Merrer, M. and Lévy, N. *Science* **2003**, *300*, 2055-2055.

⁷⁰ Glynn, M. W. and Glover, T. W. *Hum. Mol. Genet.* **2005**, *14*, 2959-2969.

⁷¹ Fong, L. G.; Frost, D.; Meta, M.; Qiao, X.; Yang, S. H.; Coffinier, C. and Young, S. G. *Science* **2006**, *311*, 1621-1623.

⁷² Yang, S. H.; Chang, S. Y.; Andres, D. A.; Spielmann, H. P.; Young, S. G. and Fong, L. G. *J. Lipid Res.* **2010**, *51*, 400-405.

⁷³ Meta, M.; Yang, S. H.; Bergo, M. O.; Fong, L. G. and Young, S. G. *Trends Mol. Med.* **2006**, *12*, 480-487.

Chapitre IV : Les inhibiteurs de la FTase

Après la découverte dans les années 1990 de la protéine farnésyltransférase de nombreux inhibiteurs sélectifs de cette enzyme ont été rapidement identifiés.^{74,75} Deux stratégies différentes ont été utilisées. D'une part, des analogues des substrats de l'enzyme, le motif CaaX et le FPP, ont été imaginés de façon rationnelle. D'autre part, des criblages à haut débit de chimiothèques de produits synthétiques et de produits naturels ont été effectués.

Trois grandes classes de FTIs ont été identifiées selon leurs mécanismes d'action : les composés compétitifs du FPP, les composés compétitifs du motif CaaX et les inhibiteurs à caractère bisubstrat.

I. Les inhibiteurs compétitifs du FPP

Les analogues du FPP sont les premiers composés développés en tant qu'inhibiteurs de la FTase mais aucun n'a vu son développement chez l'Homme. Substrat d'autres enzymes comme la squalène synthase, le FPP ne semble pas être une cible idéale. Son inhibition pourrait bloquer la biosynthèse de molécules essentielles et provoquer d'importants effets secondaires.

I.1. Approche rationnelle

Afin de supprimer le caractère substrat du FPP au profit d'un caractère inhibiteur, le groupement pyrophosphate du FPP a été remplacé par des groupements non hydrolysables. Les études de relations structure-activité d'une série de molécules analogues du FPP indiquent que les inhibiteurs les plus efficaces sont ceux possédant la chaîne farnésyle hydrophobe et une unité chargée négativement mimant le diphosphate.⁷⁶

Dans un premier temps, les laboratoires Merck ont travaillé sur le remplacement de la tête pyrophosphate par divers groupements. Le meilleur analogue s'est révélé être le E,E,E-HFP **1** (acide E,E,E- α -hydroxyfarnésylphosphonique) portant un groupement monophosphonate et ayant une Cl_{50} de 5,2 nM sur FTase de bovin.⁷⁷ Cet analogue s'est révélé être sélectif de l'enzyme bovine étant donné que la Cl_{50} sur FTase de *P. falciparum* est vingt fois moins bonne. La stéréochimie de la chaîne farnésyle est importante puisque si la première oléfine possède une stéréochimie Z (composé **2**), l'inhibition sur la FTase de ce composé n'est que de 60 % à une concentration de 10 μ M (Figure 24).

⁷⁴ End, D. W.; Mevellec, L. and Angibaud, P. *Cancer*. R. H. Bradbury, Springer Berlin Heidelberg. **2007**, *1*, 133-168-168.

⁷⁵ Appels, N. M. G. M.; Beijnen, J. H. and Schellens, J. H. M. *The Oncologist* **2005**, *10*, 565-578.

⁷⁶ Patel, D. V.; Schmidt, R. J.; Biller, S. A.; Gordon, E. M.; Robinson, S. S. and Manne, V. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2906-2921.

⁷⁷ Pompliano, D. L.; Rands, E.; Schaber, M. D.; Mosser, S. D.; Anthony, N. J. and Gibbs, J. B. *Biochemistry* **1992**, *31*, 3800-3807.

Selon la même approche, les laboratoires Bristol-Myers Squibb⁷⁸ (BMS) et les laboratoires Pierre Fabre⁷⁹ ont synthétisé trois analogues du FPP, les composés **3**, **4** et **5** (Figure 24) où le groupe pyrophosphate est remplacé par un acide carboxylique et un acide phosphonique. Leurs activités se situent entre 50 et 80 nM sur la FTase de mammifère.

Basés sur les études de Dolence et Poulter⁸⁰, différents inhibiteurs possédant une substitution différente en C₃ du FPP ont été synthétisés.⁸¹ Les tests effectués ont montré que les analogues **6** et **7** portant un groupe isoprényle et isopropyle respectivement possèdent de très bonnes activités (Figure 24).

Enfin, les laboratoires Abbott, en modifiant la structure d'inhibiteurs de la squalène synthase ont découvert le composé A-176120 (**8**) qui est le plus puissant inhibiteur de la FTase compétitif du FPP avec une Cl₅₀ de 1,2 nM sur la FTase bovine (Figure 24).⁸²

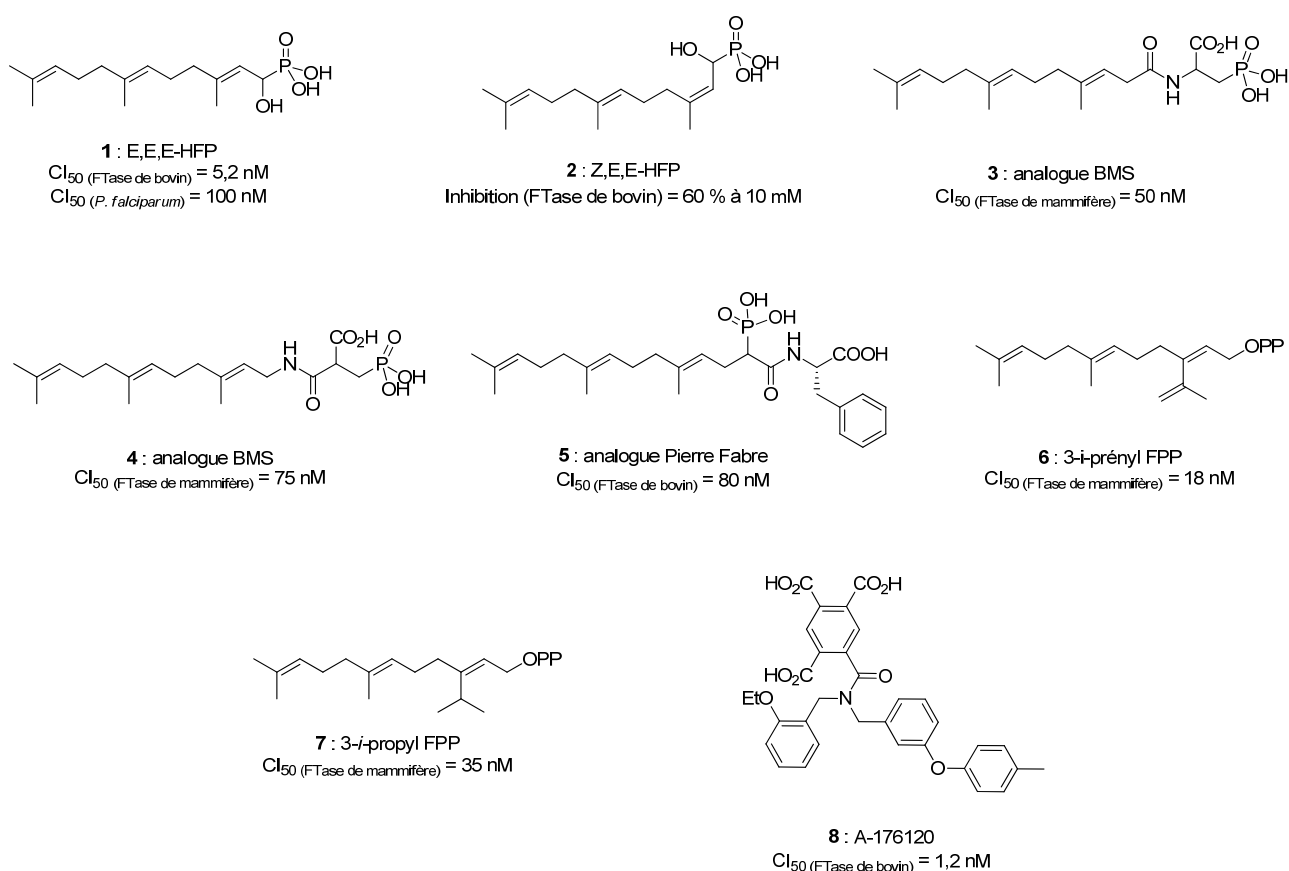


Figure 24 : Analogues du FPP

⁷⁸ Patel, D. V.; Gordon, E. M.; Schmidt, R. J.; Weller, H. N.; Young, M. G.; Zahler, R.; Barbacid, M.; Carboni, J. M.; Gullo-Brown, J. L.; Hunihan, L.; Ricca, C.; Robinson, S.; Seizinger, B. R.; Tuomari, A. V. and Manne, V. J. *Med. Chem.* **1995**, *38*, 435-442.

⁷⁹ Lamothe, M.; Perrin, D.; Blotières, D.; Leborgne, M.; Gras, S.; Bonnet, D.; Hill, B. T. and Halazy, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1291-1296.

⁸⁰ Dolence, J. M. and Poulter, C. D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 5008-5011.

⁸¹ Zahn, T. J.; Weinbaum, C. and Gibbs, R. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1763-1766.

⁸² Tahir, S. K.; Gu, W. Z.; Zhang, H. C.; Leal, J.; Lee, J. Y.; Kovar, P.; Saeed, B.; Cherian, S. P.; Devine, E.; Cohen, J.; Warner, R.; Wang, Y. C.; Stout, D.; Arendsen, D. L.; Rosenberg, S. and Ng, S. C. *Eur. J. Cancer* **2000**, *36*, 1161-1170.

I.2. Approche par criblage

Le criblage de milieux de culture de microorganismes a conduit à l'identification de structures originales et complexes. Huit classes de produits naturels inhibiteurs compétitifs du FPP ont été identifiées par les laboratoires Merck (Figure 25) :

- les acides chaétomelliques, isolés du champignon *Chaetomella acutiseta* et dont le type A (**9**) a montré la plus grande activité sur la FTase humaine ($Cl_{50} = 55$ nM);⁸³
- les acides actinoplaniques, isolés d'organismes unicellulaires *Actinoplanes*, pour lesquels le produit le plus actif de cette famille est l'acide actinoplanique B **10** avec une Cl_{50} égale à 50 nM sur la FTase humaine recombinante ;⁸⁴
- les acides zaragosiques découverts à partir d'une large variété de champignons. L'acide zaragosique A **11** constitue le produit naturel qui présente la meilleure activité mais son analogue synthétique **12** s'est révélé un inhibiteur encore plus puissant avec une Cl_{50} égale à 12 nM ;⁸⁵
- l'acide oréganique **13** isolé des champignons *Berberis oregana* est un produit naturel parmi les plus actifs sur la FTase avec une Cl_{50} de 14 nM.⁸⁶

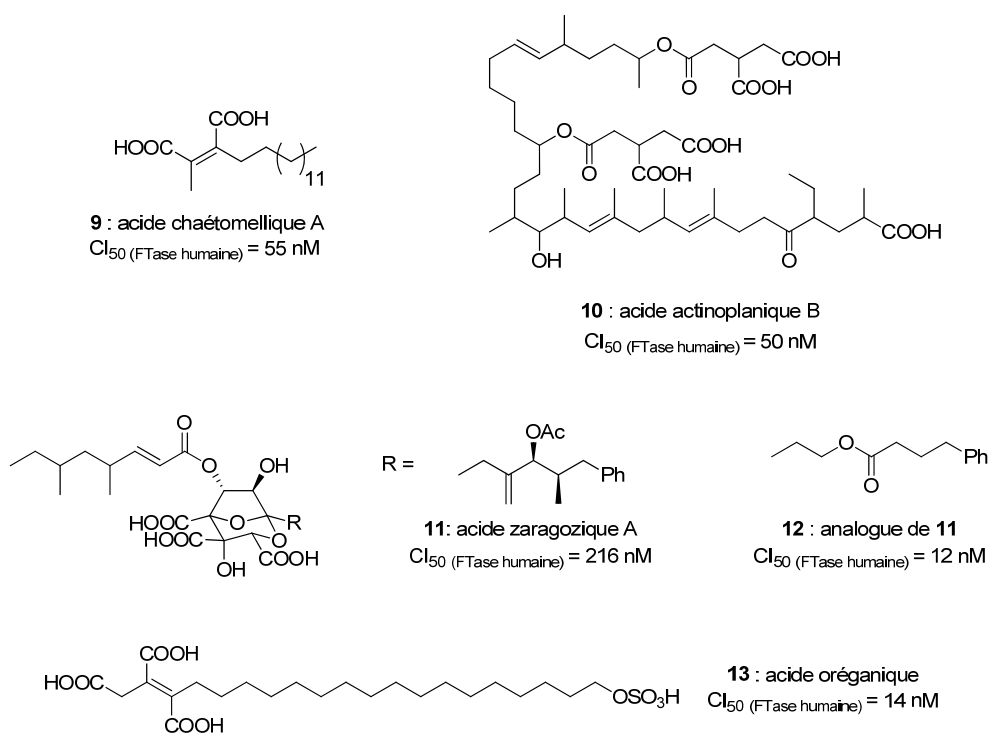


Figure 25 : Structures des produits naturels inhibiteurs compétitifs du FPP

⁸³ Singh, S. B.; Zink, D. L.; Liesch, J. M.; Goetz, M. A.; Jenkins, R. G.; Nallin-Omstead, M.; Silverman, K. C.; Bills, G. F.; Mosley, R. T.; Gibbs, J. B.; Albers-Schonberg, G. and Lingham, R. B. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 5917-5926.

⁸⁴ Singh, S. B.; Liesch, J. M.; Lingham, R. B.; Silverman, K. C.; Sigmund, J. M. and Goetz, M. A. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7896-7901.

⁸⁵ Gibbs, J. B.; Pompliano, D. L.; Mosser, S. D.; Rands, E.; Lingham, R. B.; Singh, S. B.; Scolnick, E. M.; Kohl, N. E. and Oliff, A. *J Biol. Chem.* **1993**, *268*, 7617-7620.

⁸⁶ Silverman, K. C.; Jayasuriya, H.; Cascales, C.; Vilella, D.; Bills, G. F.; Jenkins, R. G.; Singh, S. B. and Lingham, R. B. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1997**, *232*, 478-481.

Quatre autres types de molécules (viridofungine, CP-225917, manumycine A et triterpènes) sont également actives mais présentent des CI_{50} de l'ordre du micromolaire.

D'une manière générale, il apparaît que la structure de ces inhibiteurs compétitifs du FPP est toujours la même : un groupement acide, mime du pyrophosphate, et une chaîne alkyle hydrophobe, mime du farnésyle.

Le groupe Parke Davis⁴⁷ a mis en évidence lors d'un criblage de sa chimiothèque sur la FTase humaine un composé original (PD 083176 **14**) de structure peptidique inhibiteur compétitif du FPP avec une activité égale à 10 nM. Des études complémentaires ont abouti au composé PD 169451 **15** possédant une meilleure perméabilité cellulaire et une CI_{50} sur la FTase humaine de 4 nM.

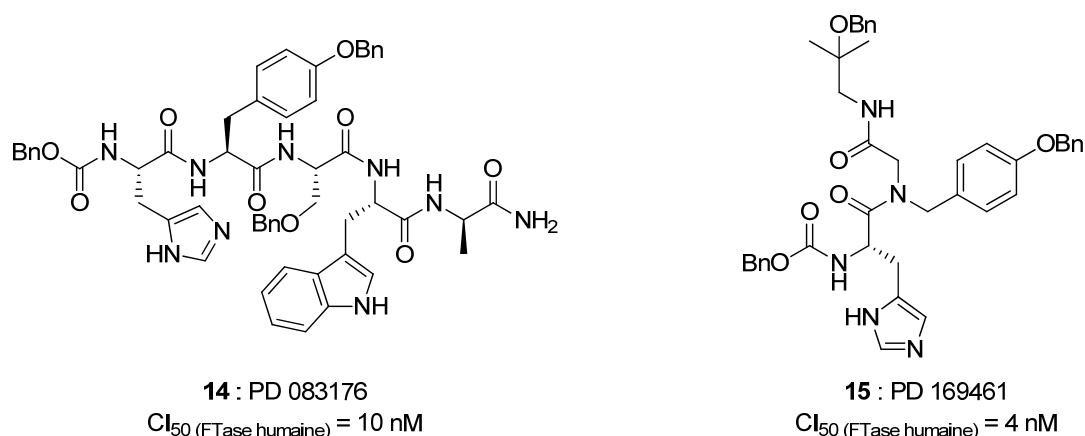


Figure 26 : Inhibiteurs compétitifs du FPP des laboratoires Parke Davis

Les inhibiteurs compétitifs du FPP présentent, en général, une activité *in vitro* plus faible que les inhibiteurs du substrat CaaX. Aucune activité *in vivo* n'a pu être démontrée jusqu'à présent.⁸⁷

II. Les inhibiteurs compétitifs du motif CaaX

C'est la catégorie qui regroupe le plus grand nombre de composés. De même que les inhibiteurs compétitifs du FPP, ces inhibiteurs peuvent être regroupés en deux sous-classes selon leur obtention.

II.1. Approche rationnelle

Comme mentionné précédemment, seuls quatre acides aminés sont suffisants pour mimer le motif CaaX et pénétrer dans le site actif de la FTase. Ainsi de nombreux analogues du motif CaaX de

⁸⁷ Ayral-Kaloustian, S. and Salaski, E. J. *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9, 1003-1032.

type peptidique ont été synthétisés et évalués. Parmi ces derniers, le tétrapeptide CVFM⁸⁸ **16** (Figure 27) s'est révélé le plus puissant avec une CI_{50} de 45 nM sur la FTase de mammifère.⁸⁹

Même si ce type de produits s'avère efficace *in vitro*, la nature peptidique de sa structure est un désavantage à son développement *in vivo* puisqu'il sera sensible aux nombreuses endopeptidases de l'organisme. De plus à cause de sa structure, ces composés sont sujets au manque de perméabilité cellulaire. Les chimistes se sont alors concentrés sur l'élaboration de composés supprimant ce caractère peptidique.

Les laboratoires Merck ont substitué la liaison peptidique centrale par une liaison éther, formant la molécule L-739,750⁹⁰ **17** (Figure 27) plus difficilement substrat de protéases. Celle-ci a montré une excellente activité sur la FTase humaine avec une CI_{50} de l'ordre du nanomolaire.

Ensuite, les deux acides aminés centraux ont été remplacés par un espaceur hydrophobe, l'acide 3-aminométhylbenzoïque (3-AMBA) pour donner le composé **18** ou l'acide 4-aminobenzoïque (4-ABA) donnant l'inhibiteur **19** (Figure 27).⁹¹ Cette substitution permet de conserver la distance entre la cystéine et la méthionine tout en supprimant des liaisons peptidiques. Les composés synthétisés ont montré une forte inhibition sur la FTase mais légèrement inférieure à celle du CVFM. La réduction d'une liaison amide du composé **19** conduit au composé FTI-249 **20** qui, comparé au CVFM, suggère que l'inhibition peut être augmentée par l'hydrophobie du connecteur central. Ainsi, en remplaçant le groupement phényle par un groupement biphenyle (FTI-276, **21**), les chercheurs ont réussi à multiplier par 100 l'activité sur la FTase. La prodrogue sous forme d'ester (FTI-277, **22**) a également montré une bonne activité (Figure 27).⁹²

Suivant ce procédé, Rhône-Poulenc Rorer a conçu la molécule RPR113829 **23** (Figure 27) qui possède un noyau naphthalène comme lien entre la cystéine et la méthionine ce qui lui confère également une CI_{50} de l'ordre du nanomolaire.⁹³

⁸⁸ Reiss, Y.; Stradley, S. J.; Gierasch, L. M.; Brown, M. S. and Goldstein, J. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 732-736.

⁸⁹ Kral, A. M.; Diehl, R. E.; deSolms, S. J.; Williams, T. M.; Kohl, N. E. and Omer, C. A. *J Biol. Chem.* **1997**, *272*, 27319-27323.

⁹⁰ Kohl, N. E.; Wilson, F. R.; Mosser, S. D.; Giuliani, E.; deSolms, S. J.; Conner, M. W.; Anthony, N. J.; Holtz, W. J.; Gomez, R. P. and Lee, T. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 9141-9145.

⁹¹ Nigam, M.; Seong, C. M.; Qian, Y.; Hamilton, A. D. and Sebt, S. M. *J Biol. Chem.* **1993**, *268*, 20695-20698.

⁹² Qian, Y.; Marugan, J. J.; Fossum, R. D.; Vogt, A.; Sebt, S. M. and Hamilton, A. D. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 3011-3024.

⁹³ Burns, C. J.; Guitton, J.-D.; Baudoin, B.; Lelièvre, Y.; Duchesne, M.; Parker, F.; Fromage, N. and Commerçon, A. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1763-1767.

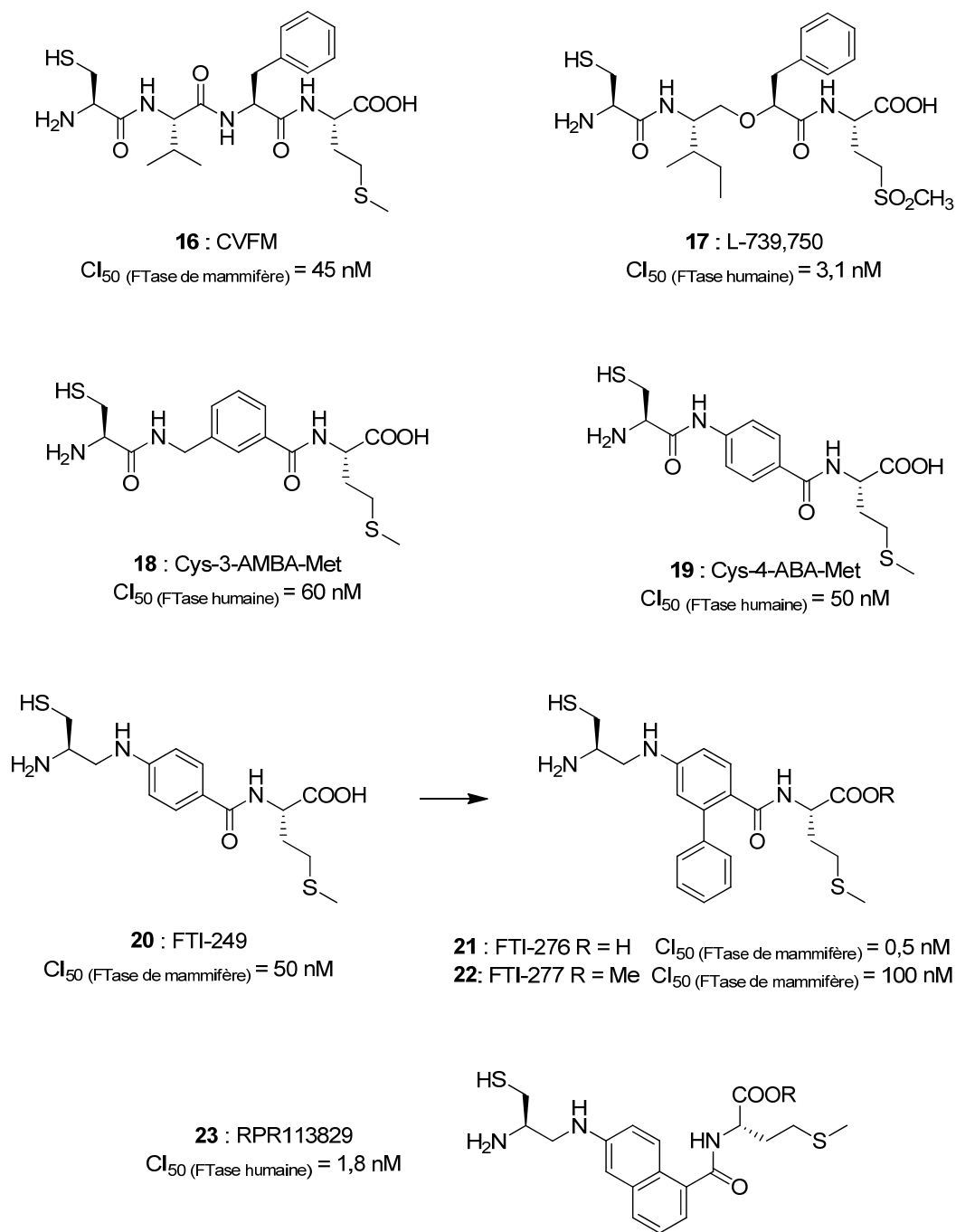


Figure 27 : Tétrapeptide CVFM et ses analogues modifiés au niveau de l'espaceur central

En plus de ces changements, une autre modification importante a été de remplacer la fonction thiol de la cystéine (Figure 28), trop fragile et oxydable, par un noyau imidazole, connu pour bien complexer l'atome de zinc.

De ces recherches sont nées des molécules aux pouvoirs inhibiteurs très intéressants comme le BMS-193269 **24** sorti des laboratoires Bristol-Myers Squibb⁹⁴ où la phénylalanine du tétrapeptide a

⁹⁴ Hunt, J. T.; Lee, V. G.; Leftheris, K.; Seizinger, B.; Carboni, J.; Mabus, J.; Ricca, C.; Yan, N. and Manne, V. J. *Med. Chem.* **1996**, *39*, 353-358.

aussi été changée en acide 1,2,3,4-tétrahydro-3-isoquinolinecarboxylique ou le FTI-2148 **25** très actif sur les enzymes humaine et de parasite.⁹⁵

Le produit AZD3409 **26**, testé en phase clinique I contre les cancers à tumeurs solides,⁹⁶ possède un mime de la fonction cystéine tout à fait original puisqu'il s'agit d'une pyrrolidine substituée par un thioester. Il agit comme une double prodrogue où la fonction thiol est libérée dans le plasma par des estérases. Après pénétration dans la cellule, l'acide carboxylique est formé sous l'action d'estérases intracellulaires.

D'autres équipes ont remplacé cette cystéine par un groupement 1-(4-cyanobenzyl)imidazole comme le composé **27** qui possède une activité picomolaire.⁹⁷ La fonctionnalisation de l'imidazole permet de créer de nouvelles interactions entre l'inhibiteur et le site actif de l'enzyme.

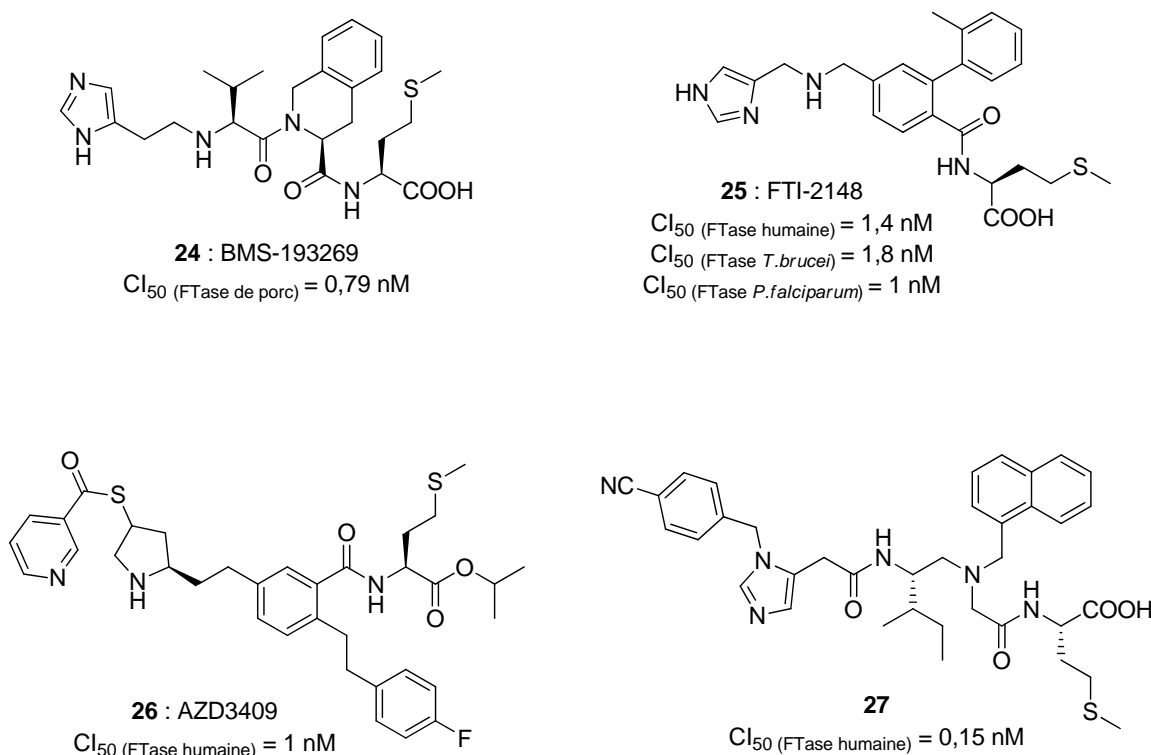


Figure 28 : Analogues du motif CaaX modifiés au niveau de l'espaceur central et de la cystéine

Le développement de tels analogues ne pouvait pas se faire sans une étude sur le rôle de la méthionine (Figure 29). Les laboratoires Merck ont démontré que la fonction acide carboxylique du

⁹⁵ Ohkanda, J.; Buckner, F. S.; Lockman, J. W.; Yokoyama, K.; Carrico, D.; Eastman, R.; de Luca-Fradley, K.; Davies, W.; Croft, S. L.; Van Voorhis, W. C.; Gelb, M. H.; Sebt, S. M. and Hamilton, A. D. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 432-445.

⁹⁶ Appels, N. M. G. M.; Bolijn, M. J.; Chan, K.; Stephens, T. C.; Hochtin-Boes, G.; Middleton, M.; Beijnen, J. H.; de Bono, J. S.; Harris, A. L. and Schellens, J. H. M. *Br. J. Cancer* **2008**, *98*, 1951-1958.

⁹⁷ Anthony, N. J.; Gomez, R. P.; Schaber, M. D.; Mosser, S. D.; Hamilton, K. A.; O'Neil, T. J.; Koblan, K. S.; Graham, S. L.; Hartman, G. D.; Shah, D.; Rands, E.; Kohl, N. E.; Gibbs, J. B. and Oliff, A. I. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3356-3368.

résidu méthionine n'était pas indispensable à l'activité.⁹⁸ Ils ont ainsi remplacé cet acide aminé par des groupements phényles substitués (molécules **28** à **30**) qui ont présenté de bonnes activités sur la FTase de bovin. L'ajout d'une contrainte stérique par formation d'un noyau pipérazine (**29** et **30**) a entraîné une amélioration de l'activité.⁹⁹

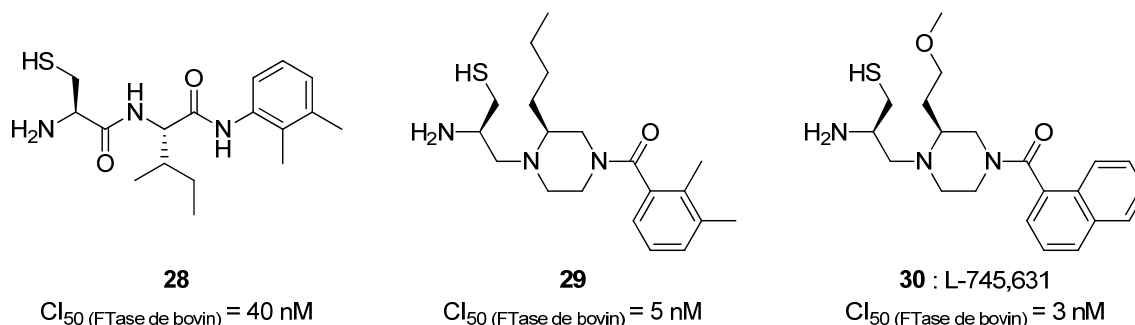


Figure 29 : Analogues du motif CaaX modifiés au niveau de la méthionine sous formes libre et contrainte

Ainsi, toutes ces modifications par rapport à l'inhibiteur initial CVFM ont conduit à la synthèse de composés totalement différents du térapeptide. Les laboratoires Servier ont ainsi intégré les trois modifications (cystéine, espaceur $\alpha_1\alpha_2$ du motif $Ca_1\alpha_2X$ et méthionine) dans leurs inhibiteurs de la FTase et synthétisé les composés **31** à **34**^{100,101} où le connecteur central est une 3-aminoazépin-2-one (Figure 30). Le groupement 1-(4-cyanobenzyl)imidazole a aussi été introduit avec succès par les chercheurs des laboratoires Pierre Fabre sur un motif aminophénylpipérazine donnant des composés (**35** et **36**)¹⁰² aux activités nanomolaires. Ce groupement a aussi été repris par les laboratoires Merck pour créer, d'après l'inhibiteur L-745,631 **30**, le composé L-778,123 **37** qui s'est révélé être sélectif de la FTase vis-à-vis de la GGTase I.¹⁰³ Des études en phase clinique I ont été engagées pour cette molécule administrée par voie intraveineuse mais en raison de sa toxicité hématologique et cardiaque, son développement a été arrêté.

⁹⁸ deSolms, S. J.; Deana, A. A.; Giuliani, E. A.; Graham, S. L.; Kohl, N. E.; Mosser, S. D.; Oliff, A. I.; Pompliano, D. L. and Rands, E. J. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3967-3971.

⁹⁹ Williams, T. M.; Ciccarone, T. M.; MacTough, S. C.; Bock, R. L.; Conner, M. W.; Davide, J. P.; Hamilton, K.; Koblan, K. S.; Kohl, N. E.; Kral, A. M.; Mosser, S. D.; Omer, C. A.; Pompliano, D. L.; Rands, E.; Schaber, M. D.; Shah, D.; Wilson, F. R.; Gibbs, J. B.; Graham, S. L.; Hartman, G. D.; Oliff, A. I. and Smith, R. L. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1345-1348.

¹⁰⁰ Le Diguarher, T.; Ortuno, J.-C.; Shanks, D.; Guilbaud, N.; Pierré, A.; Raimbaud, E.; Fauchère, J.-L.; Hickman, J. A.; Tucker, G. C. and Casara, P. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 767-771.

¹⁰¹ Le Diguarher, T.; Ortuno, J.-C.; Dorey, G.; Shanks, D.; Guilbaud, N.; Pierré, A.; Fauchère, J.-L.; Hickman, J. A.; Tucker, G. C. and Casara, P. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3193-3204.

¹⁰² Perez, M.; Maraval, C.; Dumond, S.; Lamothe, M.; Schambel, P.; Etiévant, C. and Hill, B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1455-1458.

¹⁰³ Williams, T. M.; Bergman, J. M.; Brashear, K.; Breslin, M. J.; Dinsmore, C. J.; Hutchinson, J. H.; MacTough, S. C.; Stump, C. A.; Wei, D. D.; Zartman, C. B.; Bogusky, M. J.; Culberson, J. C.; Buser-Doepner, C.; Davide, J.; Greenberg, I. B.; Hamilton, K. A.; Koblan, K. S.; Kohl, N. E.; Liu, D.; Lobell, R. B.; Mosser, S. D.; O'Neill, T. J.; Rands, E.; Schaber, M. D.; Wilson, F.; Senderak, E.; Motzel, S. L.; Gibbs, J. B.; Graham, S. L.; Heimbrook, D. C.; Hartman, G. D.; Oliff, A. I. and Huff, J. R. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3779-3784.

De manière similaire, R. Millet *et coll.*¹⁰⁴ a synthétisé des FTIs possédant comme châssis le motif 1,4-diazépane qui s'est montré être une plateforme efficace dans l'élaboration de nouveaux inhibiteurs. En effet, le composé **38** possède une activité inhibitrice de 5 nM sur la FTase humaine et l'addition convenablement située d'un groupement phényle sur l'hétérocycle (composé **39**) a permis d'augmenter la lipophilie de la molécule et l'activité cellulaire sans perdre l'inhibition de la FTase.

De la même façon, les équipes de Johnson & Johnson ont constitué une série de composés où le choix crucial de l'hétérocycle substituant la cystéine est mis en évidence.¹⁰⁵ En effet un cycle imidazole (composé **40**) ou tétrazole (composé **41**) sera beaucoup moins actif voire inactif qu'un cycle 1,2,4-triazole (composé **42**) surtout s'il porte un méthyle en position 5 (composé **43**).

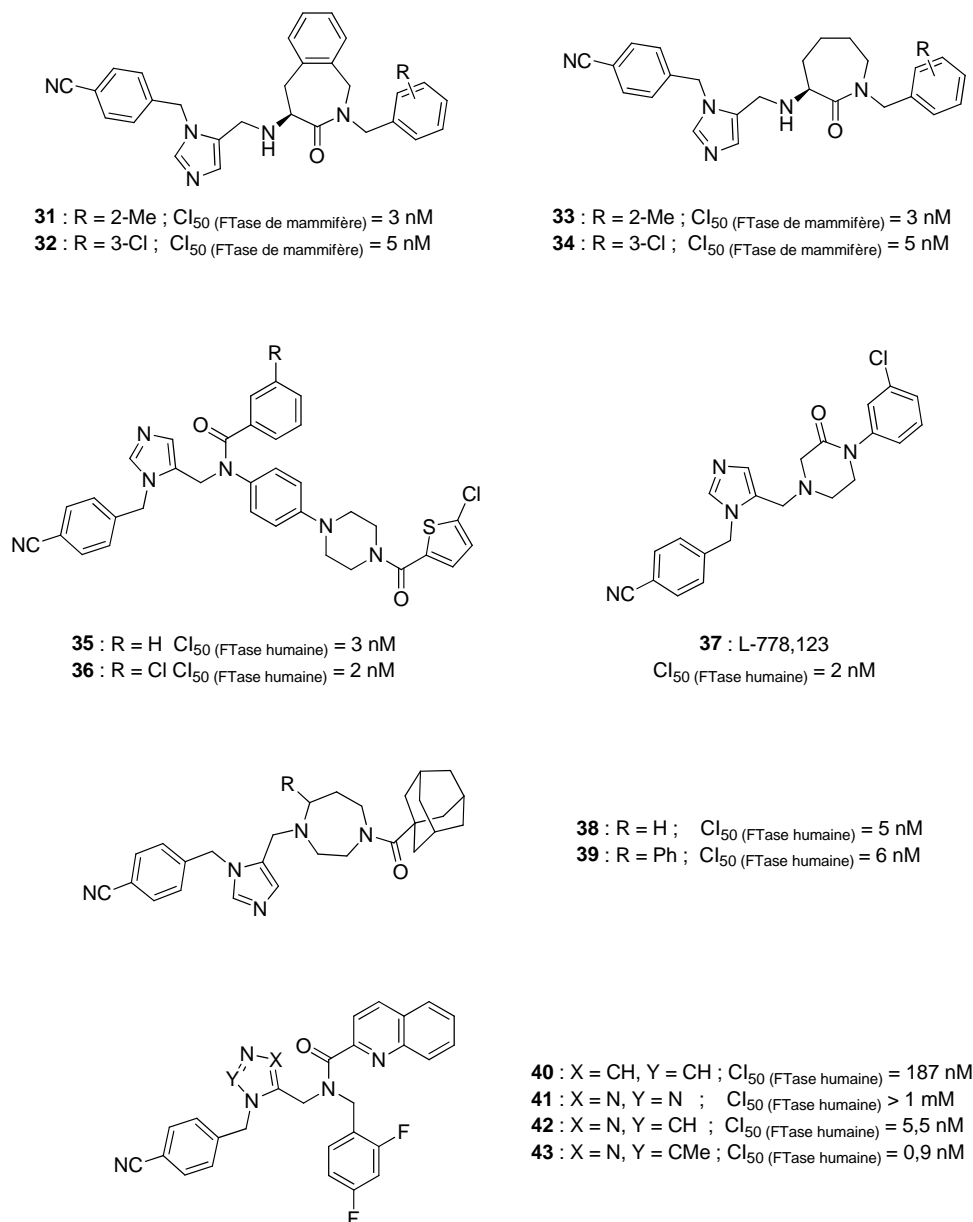


Figure 30 : Inhibiteurs de la FTase modifiés au niveau de la cystéine, de l'espaceur a_1a_2 et de la méthionine

¹⁰⁴ Włodarczyk, N.; Le Broc-Ryckewaert, D.; Gilleron, P.; Lemoine, A.; Farce, A.; Chavatte, P.; Dubois, J.; Pommery, N.; Hélichart, J.-P.; Furman, C. and Millet, R. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1178-1190.

¹⁰⁵ Saha, A. K.; Liu, L.; Simoneaux, R.; DeCorte, B.; Meyer, C.; Skrzat, S.; Breslin, H. J.; Kukla, M. J. and End, D. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5407-5411.

Les laboratoires Bristol-Myers Squibb ont développé un composé dérivé du CaaX, le BMS-214662 **44**, comportant un squelette tétrahydrobenzodiazépine associé à un noyau imidazole qui lui procure de très bonnes propriétés inhibitrices sur la FTase humaine et sur celles des parasites de *P. falciparum* et de *T. brucei* (Figure 31).¹⁰⁶ Disposant d'une bonne biodisponibilité orale, cette molécule a fait l'objet de dix études en phase I en monothérapie et cinq en association avec le paclitaxel et/ou des dérivés de platine (cisplatine et carboplatine). Il a été étudié en phase II aux États-Unis dans le cadre de traitements de cancers du pancréas, du poumon ou colorectal.

Des analogues possédant le squelette tétrahydroquinoline inspirés de la série tétrahydrobenzodiazépine ont été synthétisés. Ainsi le composé BMS-316810 **45** (Figure 31) s'est révélé un véritable « chef de file » possédant une CI_{50} de 0,7 nM.¹⁰⁷ Les composés de cette famille ont été criblés sur les FTase de parasites et ont montré un fort potentiel inhibiteur, c'est pourquoi ils forment aujourd'hui une classe de molécules parmi les plus étudiées pour la thérapie antiparasitaire.

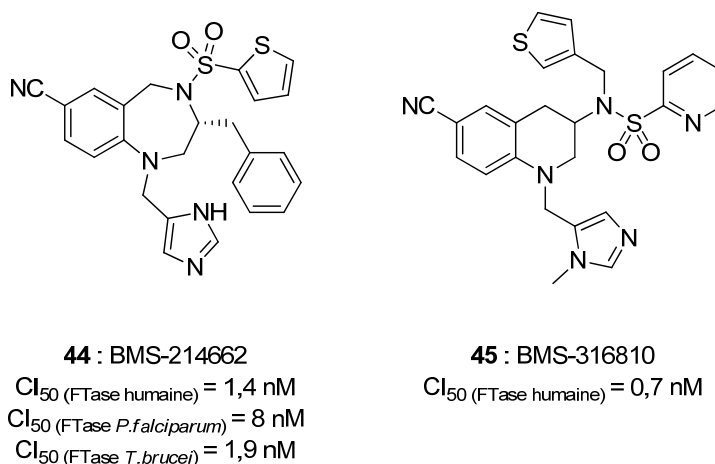


Figure 31 : Composés 44 et 45 inhibiteurs des laboratoires Bristol-Myers Squibb

II.2. Approche par criblage

Deux molécules se sont particulièrement révélées intéressantes dans l'inhibition de la FTase après le criblage de plusieurs chimiothèques suivies d'études RSA plus approfondies, Lonafarnib **46** et Tipifarnib **47** (Figure 32). Ces deux composés présentent des activités nanomolaires et sont aujourd'hui en évaluation clinique chez l'Homme.

¹⁰⁶ Hunt, J. T.; Ding, C. Z.; Batorsky, R.; Bednarz, M.; Bhide, R.; Cho, Y.; Chong, S.; Chao, S.; Gullo-Brown, J.; Guo, P.; Kim, S. H.; Lee, F. Y. F.; Leftheris, K.; Miller, A.; Mitt, T.; Patel, M.; Penhallow, B. A.; Ricca, C.; Rose, W. C.; Schmidt, R.; Slusarchyk, W. A.; Vite, G. and Manne, V. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3587-3595.

¹⁰⁷ Lombardo, L. J.; Camuso, A.; Clark, J.; Fager, K.; Gullo-Brown, J.; Hunt, J. T.; Inigo, I.; Kan, D.; Koplowitz, B.; Lee, F.; McGlinchey, K.; Qian, L.; Ricca, C.; Rovnyak, G.; Traeger, S.; Tokarski, J.; Williams, D. K.; Wu, L. I.; Zhao, Y.; Manne, V. and Bhide, R. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1895-1899.

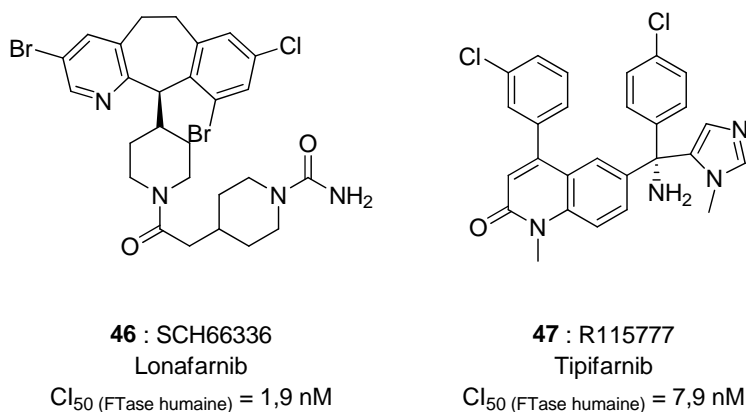


Figure 32 : Structure des composés Lonafarnib et Tipifarnib

SCH66336 appelé Lonafarnib (Sarasar®) **46** est un composé tricyclique, dérivé d'un antihistaminique identifié par criblage des chimiothèques des laboratoires Schering-Plough.¹⁰⁸ Il possède une activité de 1,9 nM sur FTase humaine et n'affecte pas la GGTase I.

Ce composé SCH66336 est l'un des tout premiers inhibiteurs de la FTase à avoir montré une activité *in vivo* intéressante lors d'essais cliniques de phase I sur des patients atteints de cancers à tumeurs solides.¹⁰⁹ Administré par voie orale, il a fait l'objet de six études cliniques en phase I et six en phase II en monothérapie. Il est actuellement en phase I pour le cancer du sein et les tumeurs solides et en phase II pour le traitement du syndrome myélodysplasique, de leucémies myéloïdes et du syndrome progeria. Cependant, même si certains patients répondent positivement à ce traitement, des nausées, diarrhées et surtout une toxicité gastro-intestinale et/ou hématologique sont souvent constatées.¹¹⁰

Des études de phase I et II sont également menées en association avec d'autres antitumoraux comme le paclitaxel (Taxol®), le docetaxel (Taxotère®) ou l'imatinib (Glivec®) pour le traitement de différents cancers.

R115777 appelé Tipifarnib (Zanestra®) **47** a été mis au point par les laboratoires Janssen – Johnson & Johnson. Après modulation d'un composé à structure méthylquinolone, ce composé **47** a montré qu'il inhibait les FTases avec de très bonnes activités : Cl_{50} de 7,9 nM sur la FTase humaine,

¹⁰⁸ Njoroge, F. G.; Taveras, A. G.; Kelly, J.; Remiszewski, S.; Mallams, A. K.; Wolin, R.; Afonso, A.; Cooper, A. B.; Rane, D. F.; Liu, Y.-T.; Wong, J.; Vibulbhan, B.; Pinto, P.; Deskus, J.; Alvarez, C. S.; del Rosario, J.; Connolly, M.; Wang, J.; Desai, J.; Rossman, R. R.; Bishop, W. R.; Patton, R.; Wang, L.; Kirschmeier, P.; Bryant, M. S.; Nomeir, A. A.; Lin, C. C.; Liu, M.; McPhail, A. T.; Doll, R. J.; Girijavallabhan, V. M. and Ganguly, A. K. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4890-4902.

¹⁰⁹ Adjei, A. A.; Erlichman, C.; Davis, J. N.; Cutler, D. L.; Sloan, J. A.; Marks, R. S.; Hanson, L. J.; Svingen, P. A.; Atherton, P.; Bishop, W. R.; Kirschmeier, P. and Kaufmann, S. H. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 1871-1877.

¹¹⁰ Feldman, E. J.; Cortes, J.; DeAngelo, D. J.; Holyoake, T.; Simonsson, B.; O'Brien, S. G.; Reiffers, J.; Turner, A. R.; Roboz, G. J.; Lipton, J. H.; Maloisel, F.; Colombat, P.; Martinelli, G.; Nielsen, J. L.; Petersdorf, S.; Guilhot, F.; Barker, J.; Kirschmeier, P.; Frank, E.; Statkevich, P.; Zhu, Y.; Loechner, S. and List, A. *Leukemia* **2008**, *22*, 1707-1711.

17 nM sur la FTase de *P. falciparum*, 75 nM sur celle de *T. cruzi* et 4 nM sur les cultures de *T. cruzi*.¹¹¹ Absorbé oralement, il s'agit du composé le plus avancé de la classe des FTIs en phase clinique.

Le Tipifarnib a fait l'objet de nombreuses études en phase I et II seul ou associé à d'autres composés à visée thérapeutique comme la gemcitabine, l'étoposide, le docetaxel, le tamixofen, le létrozole... Des études en phase clinique III ont été menées dans le traitement des leucémies myéloïdes¹¹² ou du cancer colorectal¹¹³ en monothérapie. Associé à la gemcitabine, il a été étudié en phase III sur le cancer du pancréas chez des patients n'ayant pas suivi de chimiothérapie ni aucun autre traitement. Les résultats n'ont cependant pas montré de différence significative avec la gemcitabine utilisée seule.¹¹⁴

III. Les inhibiteurs de type bisubstrat

Cette classe ne comprend pas beaucoup de molécules. Elles sont conçues de sorte à être compétitives des deux substrats de la FTase. Ces structures sont donc capables de se lier à la fois au site de liaison du FPP et au site du substrat peptidique CaaX.

III.1. Approche rationnelle

Les chercheurs de Bristol-Myers Squibb ont conçu deux molécules, BMS-186511 **48** et BMS-184467 **49** (Figure 33). Ce sont des hybrides des deux substrats de l'enzyme réunis en une seule entité chimiquement et biologiquement stable. Ils se composent d'une chaîne farnésyle reliée à un tripeptide VVM par l'intermédiaire d'un groupement phosphonique ou phosphinique.

Ces composés ont révélé de très bonnes activités *in vitro* sur la FTase mais, du fait de leurs charges, ils sont incapables de pénétrer dans les cellules et sont donc inactifs *in vivo*. Leurs prodrogues sous forme d'esters méthyliques ont été testés mais ne sont que faiblement actifs (75 % d'inhibition à 100 μ M).⁷⁸

Ces molécules ont été nommées bisubstrats par leurs auteurs car elles possèdent les deux substrats de l'enzyme dans leurs structures. Néanmoins, aucune étude cinétique de compétition entre ces molécules et les substrats (FPP et peptide) de la FTase n'a été menée jusqu'à présent.

¹¹¹ Hucke, O.; Gelb, M. H.; Verlinde, C. L. M. J. and Buckner, F. S. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5415-5418.

¹¹² Harousseau, J.-L.; Martinelli, G.; Jedrzejczak, W. W.; Brandwein, J. M.; Bordessoule, D.; Masszi, T.; Ossenkoppele, G. J.; Alexeeva, J. A.; Beutel, G.; Maertens, J.; Vidriales, M.-B.; Dombret, H.; Thomas, X.; Burnett, A. K.; Robak, T.; Khuageva, N. K.; Golenkov, A. K.; Tothova, E.; Mollgard, L.; Park, Y. C.; Bessems, A.; De Porre, P.; Howes, A. J. and for the, F.-A. M. L. I. *Blood* **2009**, *114*, 1166-1173.

¹¹³ Rao, S.; Cunningham, D.; de Gramont, A.; Scheithauer, W.; Smakal, M.; Humblet, Y.; Kourteva, G.; Iveson, T.; Andre, T.; Dostalova, J.; Illes, A.; Belly, R.; Perez-Ruixo, J. J.; Park, Y. C. and Palmer, P. A. *J. Clin. Oncol.* **2004**, *22*, 3950-3957.

¹¹⁴ Van Cutsem, E.; van de Velde, H.; Karasek, P.; Oettle, H.; Vervenne, W. L.; Szawlowski, A.; Schoffski, P.; Post, S.; Verslype, C.; Neumann, H.; Safran, H.; Humblet, Y.; Perez Ruixo, J.; Ma, Y. and Von Hoff, D. *J. Clin. Oncol.* **2004**, *22*, 1430-1438.

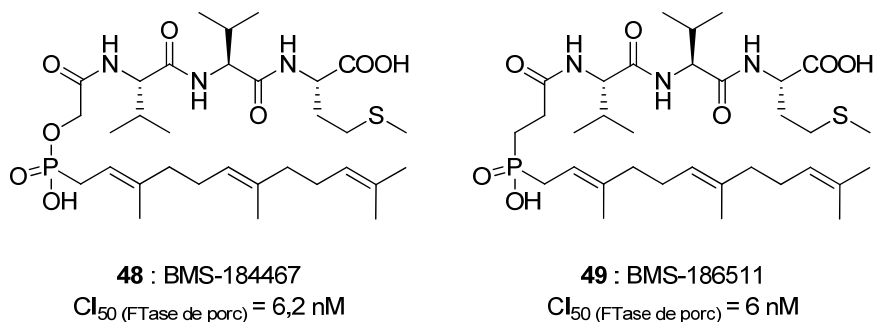


Figure 33 : Inhibiteurs bisubstrats proposés par Bristol-Myers Squibb

Les laboratoires Pierre Fabre ont également synthétisé un FTI de type bisubstrat **50**¹¹⁵ qui possède une Cl_{50} de 6 nM sur FTase de bovin mais son activité sur lignée cellulaire n'atteint que l'ordre du micromolaire (Figure 34). Ce composé est appelé bisubstrat par ses auteurs car ils ont observé une variation de la Cl_{50} en fonction de la concentration de FPP ou de peptide introduit dans le test enzymatique. Cependant, cette molécule n'a jamais fait l'objet d'étude cinétique de compétition.

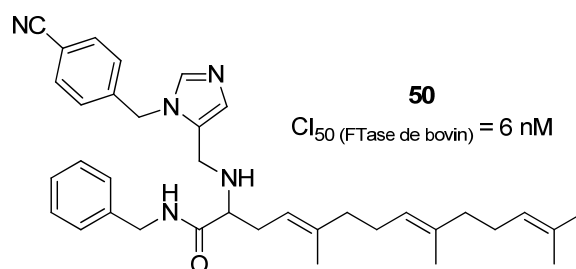


Figure 34 : Inhibiteur bisubstrat proposé par les laboratoires Pierre Fabre

Récemment, il a été montré que des inhibiteurs basés sur le motif éthylènediamine occupaient à la fois le site de liaison du FPP et celui du peptide substrat. (Figure 35, B).¹¹⁶ Cette assertion a pu être démontrée grâce à la cocrystallisation de ces molécules avec l'enzyme.

Après des études de relations structure-activité, la molécule **51** (Figure 35, A) s'est montrée très intéressante sur *P. falciparum* avec un Cl_{50} de 3 nM et une sélectivité mille fois plus grande pour la FTase de *P. falciparum* par rapport à l'enzyme humaine. Ce résultat semble très prometteur pour envisager des traitements antiparasitaires. Contrairement aux autres molécules, des tests cinétiques de compétition ont pu démontrer le caractère bisubstrat de cette molécule.

¹¹⁵ Lannuzel, M.; Lamothe, M.; Schambel, P.; Etievant, C.; Hill, B. and Perez, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1459-1462.

¹¹⁶ Hast, M. A.; Fletcher, S.; Cummings, C. G.; Pusateri, E. E.; Blaskovich, M. A.; Rivas, K.; Gelb, M. H.; Van Voorhis, W. C.; Sebti, S. M.; Hamilton, A. D. and Beese, L. S. *Chem. Biol.* **2009**, *16*, 181-192.

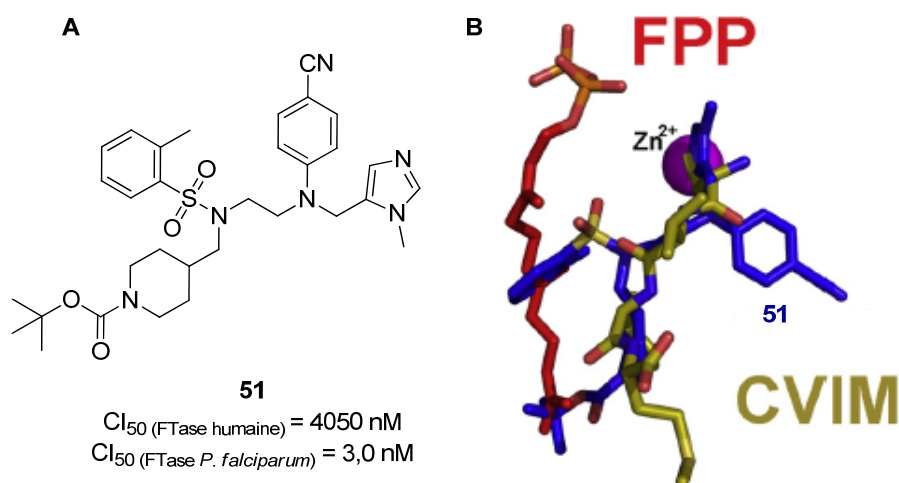
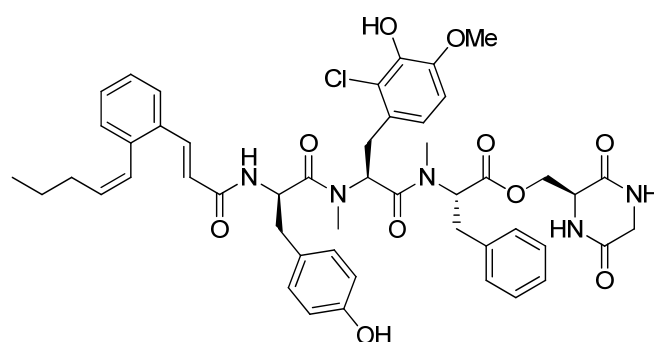


Figure 35 : (A) Structure de 51, (B) Superposition de 51 (bleu) avec le FPP (rouge) et CVIM (jaune) illustrant le mode de liaison bisubstrat

III.2. Approche par criblage

La famille de produits naturels des pepticinnamines A-F, isolée de souches bactériennes de type *Streptomyces*, s'est révélée être la seule source de molécules naturelles criblées inhibitrices de la FTase. Trois analogues de cette famille, les pepticinnamines B, C et E ont démontré un pouvoir inhibiteur intéressant.¹¹⁷

La pepticinnamine C est le composé le plus actif de la famille avec une Cl_{50} de 100 nM mais sa structure reste indéterminée. La structure de la pepticinnamine E **52** (Figure 36) a, quant à elle, été élucidée par l'équipe de Waldmann¹¹⁸ qui en a réalisée également la première synthèse totale. Cette molécule s'est révélée être trois fois moins active que l'analogue C mais les études cinétiques ont confirmé le caractère bisubstrat de ce produit naturel.



52

Cl_{50} (FTase humaine) = 300 nM

Figure 36 : Pepticinnamine E

¹¹⁷ Omura, S.; Van der Pyl, D.; Inokoshi, J.; Takahashi, Y. and Takeshima, H. *J. Antibiot.* **1993**, 46, 222-228.

¹¹⁸ Hinterding, K.; Hagenbuch, P.; Rétey, J. and Waldmann, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 1236-1239.

Conclusion

Le développement clinique des FTIs est un véritable challenge. En effet, la FTase est devenue une cible thérapeutique de choix dans le traitement de certaines pathologies.

Initialement conçus pour inhiber la farnésylation des protéines Ras mutées dans certains cancers, les FTIs ont montré de bonnes activités en oncologie dans le traitement de certaines hémopathies. Si ces inhibiteurs n'ont pas trouvé d'utilité en thérapie des tumeurs solides, ils démontrent cependant un bon potentiel dans ce domaine en association avec d'autres agents antitumoraux. Les dernières études *in vitro* et *in vivo* ont démontré que l'inhibition de la prolifération cellulaire tumorale par les FTIs n'est pas forcément liée à une mutation des protéines Ras. Ainsi, des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'activité complexe des FTIs et identifier les protéines fonctionnalisées.

En thérapie antiparasitaire, de nouveaux médicaments à bas coût sont nécessaires pour remplacer les traitements déjà existants qui montrent de nos jours des problèmes de toxicité, d'efficacité limitée ou de résistance. Plusieurs groupes de recherche ont montré que le processus de farnésylation a aussi lieu chez les parasites protozoaires et que les FTIs bien tolérés chez l'Homme pouvaient être toxiques chez le parasite. Ainsi, il semble judicieux d'utiliser les nombreuses connaissances pharmacologiques et de relations structure-activité capitalisées lors de la recherche de FTIs anticancéreux pour accélérer le développement des traitements des maladies parasitaires. Cependant, des problèmes de résistance sont déjà apparus vis-à-vis de certains composés mais ceux-ci pourront être utilisés en combinaison avec d'autres agents antiparasitaires existants.

PROJET DE RECHERCHE

Description du projet

Ce travail de thèse s'inscrit pleinement dans un contexte de chimie médicinale où les approches rationnelle et par criblage sont abordées.

Concernant l'approche rationnelle, l'objectif a été d'utiliser des analogues triazoles basés sur un modèle imidazole précédemment synthétisé au laboratoire pour pouvoir étudier l'influence, le rôle et la nature de chaque substituant. Après avoir formé les précurseurs alcyne et azoture, la synthèse de l'hétérocycle a été envisagée selon différentes méthodes. Le domaine de la chimie médicinale exige une synthèse des candidats médicaments rapide, efficace et peu coûteuse. Ainsi, une partie supplémentaire porte sur le développement d'une méthodologie vers la synthèse monotopie de 1,2,3-triazole 1,5-disubstitués à partir d'amines primaires.

L'approche par criblage correspond à l'étude des relations structure-activité de thiophènes tétrasubstitués sur différentes FTases. Une chimie spécifique à ces hétérocycles a été utilisée afin de pouvoir moduler de manière efficace la molécule issue du criblage. L'élaboration de ces nouveaux analogues est divisée en plusieurs parties qui dépendent de la position sur laquelle la variation a eu lieu.

Pour ces deux approches, les différents analogues obtenus ont été évalués biologiquement *in vitro* sur les enzymes de FTase humaine, de levure et de *T. brucei* à l'ICSN. Ces composés ont aussi été testés *in cellulo* sur parasites *P. falciparum* et *T. brucei* au Muséum National d'Histoire Naturelle.

En chimie médicinale, la conception d'analogues et l'évaluation biologique sont indissociables. En effet, cette dernière conditionne la première par l'identification des groupements clefs nécessaires à l'activité sur la FTase. Les optimisations effectuées se sont donc faites en accord avec les résultats provenant des tests biologiques.

Approche rationnelle : De l'imidazole au triazole

Comme exposé précédemment, peu de composés à caractère bisubstrat ont été décrits jusqu'à aujourd'hui. Or de tels dérivés pourraient avoir un pouvoir inhibiteur plus puissant car ils se lient à deux sites différents dans l'enzyme permettant d'augmenter ainsi de manière conséquente leur affinité mais également leur spécificité pour la FTase étudiée.

Au laboratoire, des travaux ayant pour but la synthèse d'analogues de type bisubstrat ont été envisagés. La FTase a pour substrats une protéine possédant un motif CaaX C-terminal et le FPP. Notre objectif est par conséquent de synthétiser des molécules capables d'occuper le site de liaison de la protéine ainsi que celui du FPP. Le modèle des composés synthétisés (Figure 37) par les Dr R. Marcia de Figueiredo,¹¹⁹ L. Coudray¹²⁰ et S. Duez¹²¹ peut se diviser en trois parties distinctes :

- **une chaîne farnésyle** mimant le FPP qui va se fixer dans la poche hydrophobe de l'enzyme ;
- **une tête acide** conduisant à des interactions hydrophiles mimant celles du groupement pyrophosphate ;
- **un noyau imidazole** permettant de se coordiner à l'atome de zinc et portant **un tripeptide** mimant le motif CaaX.

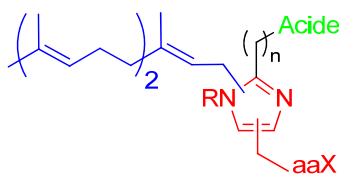


Figure 37 : Modèle général des inhibiteurs bisubstrats conçus au laboratoire

Les évaluations de l'influence de la présence d'une tête acide, de la nature du tripeptide et de la longueur de la chaîne lipophile ont orienté les travaux antérieurs.

Deux molécules **53** et **55** ont montré des activités submicromolaires sur la FTase humaine (Figure 38). Le composé **54** a même révélé une inhibition intéressante *in cellulo* sur les cultures de *P. falciparum*.

¹¹⁹ Marcia de Figueiredo, R. « Synthèse de nouveaux composés conçus pour mimer l'état de transition de la protéine farnésyltransférase » *Université Paris-Sud XI*, **2005**, Gif-sur-Yvette.

¹²⁰ Coudray, L. « Synthèse d'inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase de type bisubstrat » *Université Paris-Sud XI*, **2005**, Châtenay-Malabry.

¹²¹ Duez, S. « Synthèse et évaluation biologique de nouveaux inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase » *Université Paris-Sud XI*, **2008**, Gif-sur-Yvette.

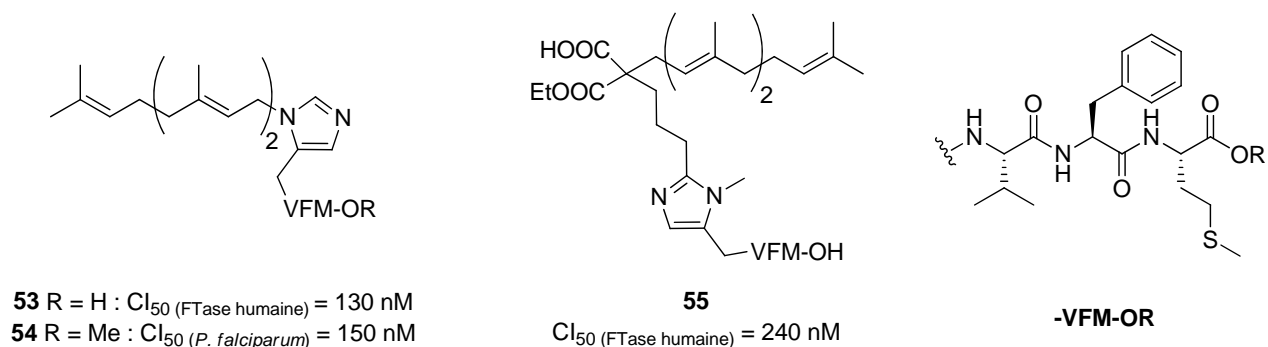


Figure 38 : Inhibiteurs bisubstrats proposés au laboratoire

Les études cinétiques de compétitivité de ces deux molécules ont néanmoins révélé qu'elles n'étaient pas des inhibiteurs bisubstrats mais des inhibiteurs compétitifs du motif CaaX pour le composé **53** ou du FPP pour le composé **55**.

Au regard des différentes évaluations biologiques, il a donc été mis en évidence que certains éléments étaient favorables à l'augmentation de l'activité sur la FTase comme :

- la présence d'une chaîne farnésyle et d'une chaîne peptidique ;
- le positionnement de la chaîne farnésyle sur un azote de l'imidazole dans le cas des composés possédant une chaîne farnésyle et peptidique ;
- le placement de la chaîne peptidique sur la position C-5 de l'imidazole.

De plus, il a été déterminé que la nature du tripeptide est importante car le tripeptide VFM présentait de meilleures aptitudes à se fixer dans le site actif de l'enzyme que VIA, VLL et AIM. Par ailleurs, ces études ont aussi permis de montrer que la fonction malonique était un bon mime du groupement pyrophosphate du FPP.

Cependant, le travail de fonctionnalisation du noyau imidazole peut encore être approfondi. La synthèse de ces molécules s'est révélée fastidieuse vue la réactivité particulière du noyau imidazole. C'est pourquoi, une partie du projet de recherche présenté dans ce mémoire a consisté à concevoir des inhibiteurs bisubstrats basés sur le modèle des molécules précédentes en remplaçant le noyau imidazole par un noyau 1,2,3-triazole (Figure 39). La méthode de synthèse, plus simple, par chimie « click », permettra de moduler plus facilement la nature du tripeptide et celle de la chaîne hydrophobe. Ce triazole sera 1,5-disubstitué étant donné que l'activité de l'imidazole 1,5-disubstitué sur la FTase est cent fois meilleure que son homologue 1,4-disubstitué.

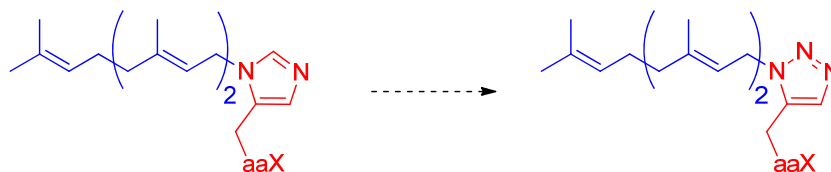


Figure 39 : Analogues imidazole et 1,2,3-triazole

Approche par criblage : un nouveau motif inhibiteur de la FTase, le thiophène

L'approche par criblage est particulièrement intéressante puisqu'elle permet d'aboutir à des composés présentant des structures inédites qui ouvrent la voie à de nouvelles familles d'inhibiteurs. Ainsi, dans le but de découvrir des structures originales potentiellement actives, les composés présents dans la chimiothèque de l'ICSN (actuellement 4500 produits) sont régulièrement criblés sur les différents tests enzymatiques disponibles.

Le criblage, réalisé en 2006 sur la FTase de levure, a permis de faire apparaître une nouvelle famille d'inhibiteurs. Parmi les composés interagissant avec la FTase, deux composés **56** et **57** ont montré de très bonnes activités sur notre enzyme. Ces composés présentent une structure tout à fait originale pour l'inhibition de la FTase puisqu'à ce jour, aucun thiophène tétrasubstitué n'avait manifesté une quelconque activité sur cette enzyme.

Ils sont constitués d'un noyau thiophène central tétrasubstitué (Figure 40) avec :

- en position 2, une fonction acide carboxylique ;
- en position 3, un groupement *p*-chlorophényle ;
- en position 4, un groupement nitrile ;
- en position 5, une fonction thioéthyle ou thioisopropyle.

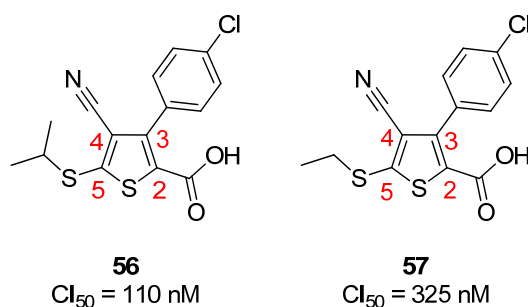


Figure 40 : Structures des composés actifs 56 et 57

Les Dr S. Lethu et M. Ginisty ont amorcé les études de relation structure-activité avec la synthèse d'une centaine d'analogues sur les FTases de levure et de *T. brucei*.¹²² Après avoir mis au point une voie de synthèse efficace, la position 2 du thiophène central a été modifiée. La position 5 a aussi été transformée par des réactions de substitution nucléophile aromatique et des couplages

¹²² Lethu, S. « Études de relations structure-activité des 3-arylthiophènes, une nouvelle classe d'inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase ». *Université Paris-Sud XI*, **2009**, Gif-sur-Yvette.

organométalliques de Liebeskind-Srogl.¹²³ Enfin grâce aux couplages pallado-catalysés de Buchwald-Hartwig et de Suzuki-Miyaura, réalisés à la fois en phase liquide et sur support solide, la nature de la position 3 a été évaluée.

Les différents résultats ont révélé que sur FTase de levure, le motif 4-cyanothiophène est nécessaire à l'activité. Par rapport au composé chef de file **56**, des améliorations ont été apportées en substituant le thioéther par une pyrrolidine **58** et en remplaçant le chlore présent sur le groupement phényle par une fonction carboxyméthyle **59**. Ces deux molécules ont permis d'obtenir des Cl_{50} inférieures à 100 nM. L'activité peut être améliorée par couplage à un acide aminé comme la méthionine (Figure 41) pour former un composé **60** qui mime sûrement mieux le motif CaaX avec une Cl_{50} de 7,5 nM. De plus, des études de compétition cinétique ont montré que ce composé est compétitif du motif CaaX.

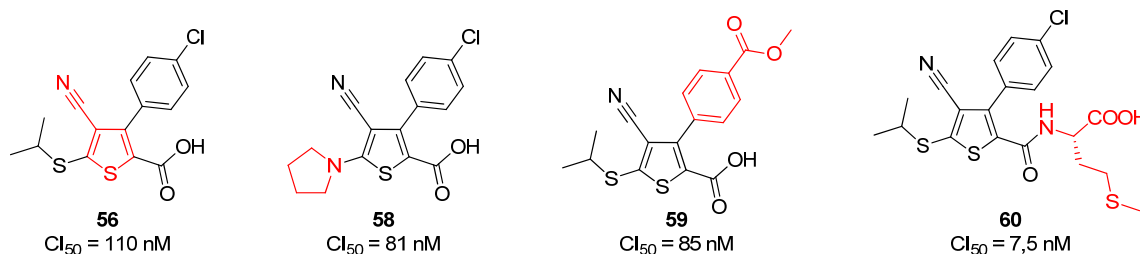


Figure 41 : Composés les plus actifs sur la FTase de levure

Sur l'enzyme de parasite, les seules améliorations constatées ont été provoquées par la substitution du noyau phényle par un groupement aromatique très encombré stériquement comme un groupement biphenyle **61** ou dibenzofurane **62**. Le composé **60** possédant le groupement méthionine a présenté la meilleure activité avec une Cl_{50} submicromolaire (Figure 42).

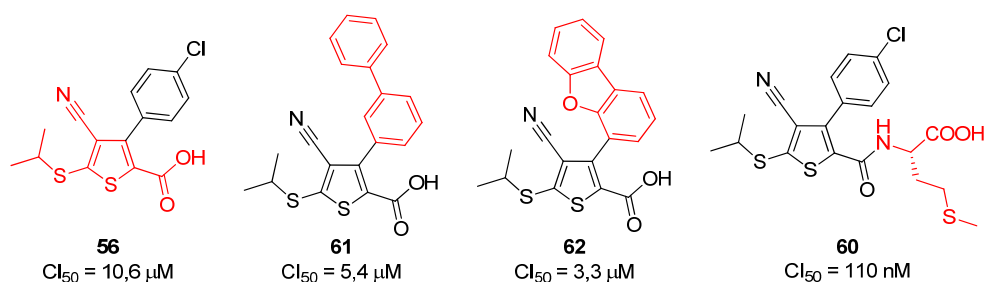
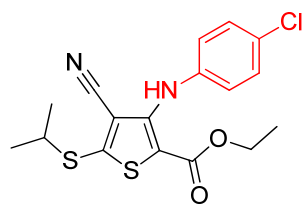


Figure 42 : Composés les plus actifs sur la FTase de *T. brucei*

Certaines de ces molécules ont également fait l'objet de tests *in cellulo* sur les parasites *P. falciparum* et *T. brucei*. Le composé homologué d'un atome d'azote **63** entre les deux cycles aromatiques s'est avéré intéressant (Figure 43).

¹²³ Lethu, S. and Dubois, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 3920-3931.



63

Cl_{50} (*P. falciparum*) = 2,3 μ M

Cl_{50} (*T. brucei*) = 3,6 μ M

Figure 43 : Composés le plus actif sur *P. falciparum* et *T. brucei*

C'est pourquoi la deuxième partie du projet de recherche de ces travaux de thèse a consisté à étoffer cette bibliothèque d'analogues en nous basant sur les résultats antérieurs. L'élaboration de celle-ci pourrait nous permettre d'améliorer l'activité sur la FTase de cette famille de composés, les thiophènes tétrasubstitués, rarement impliqués dans la structure de molécules d'intérêt thérapeutique.

**APPROCHE RATIONNELLE : SYNTHÈSE
ET ÉVALUATION BIOLOGIQUE
D'ANALOGUES TRIAZOLES**

Chapitre I. Les triazoles biologiquement actifs

En chimie médicinale, l'objectif principal est de synthétiser une librairie de composés pendant la phase de découverte de médicament ou d'optimisation du « chef de file ». Pour cette raison, ce domaine est particulièrement attiré par des méthodologies de synthèse qui permettent de construire rapidement ces molécules. L'identification de ces stratégies puissantes permettrait au chimiste de produire un grand nombre de produits chimiques biologiquement actifs en une courte durée. Les réactions de chimie « click » rentrent totalement dans ce cadre de méthodologie efficace.

La réaction la plus populaire qui a été adaptée pour remplir ces critères de rapidité, d'efficacité et de sélectivité est la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azoture pour former le groupement 1,2,3-triazole 1,4- ou 1,5-disubstitué (par la suite le groupement 1,2,3-triazole sera appelé triazole pour plus de simplicité).

Le noyau triazole possède de nombreux avantages pour la chimie médicinale.¹²⁴ Démontrant une grande stabilité aromatique, il est résistant aux hydrolyses acides et basiques, aux conditions réductrices et oxydatives et aux dégradations métaboliques. De plus, il peut participer activement à la formation de liaisons hydrogènes et à des interactions de type dipôle – dipôle et de π -stacking.¹²⁵

Cet hétérocycle est considéré comme un bioisostère de la liaison amide (Figure 44) dans sa conformation cis ou trans. Le régioisomère 1,4-disubstitué montre des similarités avec la liaison amide de conformation trans alors que le 1,5-disubstitué mime plutôt la liaison amide de conformation cis.^{126,127}

¹²⁴Tron, G. C.; Pirali, T.; Billington, R. A.; Canonico, P. L.; Sorba, G. and Genazzani, A. A. *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278-308. et références incluses.

¹²⁵ Whiting, M.; Muldoon, J.; Lin, Y.-C.; Silverman, S. M.; Lindstrom, W.; Olson, A. J.; Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; Elder, J. H. and Fokin, V. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1435-1439.

¹²⁶ Brik, A.; Alexandratos, J.; Lin, Y.-C.; Elder, J. H.; Olson, A. J.; Wlodawer, A.; Goodsell, D. S. and Wong, C.-H. *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1167-1169.

¹²⁷ Tam, A.; Arnold, U.; Soellner, M. B. and Raines, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12670-12671.

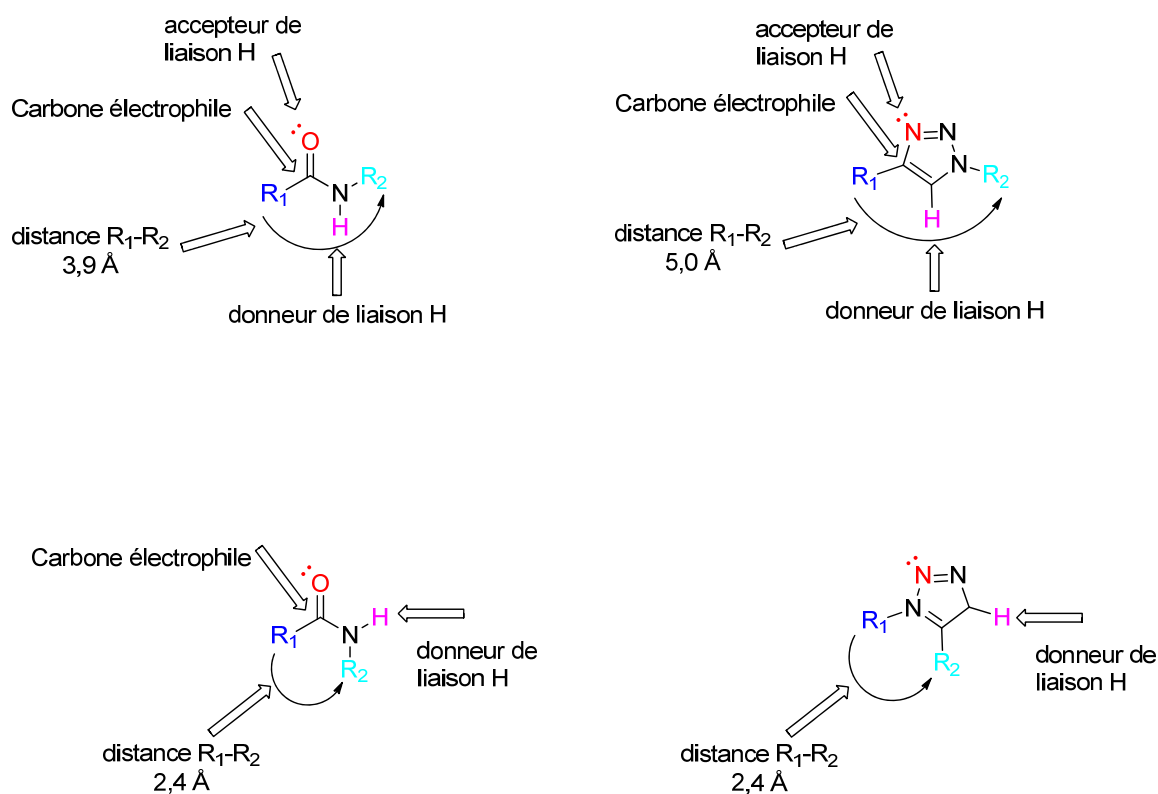


Figure 44 : Hypothèses de l'action des triazoles comme bioisostères d'amides¹²⁴

Ainsi, le noyau triazole peut être incorporé en chimie médicinale pour former de nouveaux analogues biologiquement actifs.

Parmi les structures les plus connues, (Figure 45) on peut citer le tazobactam **64**,¹²⁸ inhibiteur de la β -lactamase, commercialisé en combinaison avec la pipéracilline, antibiotique à spectre large. Dans le domaine des antibiotiques, les triazoles ont aussi été utilisés pour améliorer les propriétés pharmacocinétiques de certains médicaments. Par exemple, la céfatrizine **65**¹²⁹ dotée d'une bonne disponibilité orale a été obtenue en liant un triazole avec un motif céphalosporine.

Des analogues de nucléosides pyrimidiques ont été étudiés comme agents antiviraux et un noyau triazole a été utilisé pour remplacer la pyrimidine donnant des composés (par exemple **66**)¹³⁰ avec de bonnes propriétés antivirales et cytotoxiques. Des analogues similaires (par exemple **67**),¹³¹ portant un bon groupement partant, ont été synthétisés en tant qu'agents alkylants utilisés en chimiothérapie cancéreuse.

¹²⁸ Bennett, I.; Broom, N.; Bruton, G.; Calvert, S.; Clarke, B.; Coleman, K.; Edmondson, R.; Edwards, P.; Jones, D.; Osborne, N. and Walker, G. *J. Antibiotics* **1991**, *44*, 331-337.

¹²⁹ Kume, M.; Kubota, T.; Kimura, Y.; Nakashimizu, K.; Motokawa, M. and Nakano, M. *J. Antibiotics* **1993**, *46*, 177-192.

¹³⁰ Makabe, O.; Suzuki, H. and Umezawa, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1977**, *50*, 2689-2693.

¹³¹ Alonso, R.; Camarasa, M. J.; Alonso, G. and De Las Heras, F. G. *Eur. J. Med. Chem.* **1980**, *15*, 105-109.

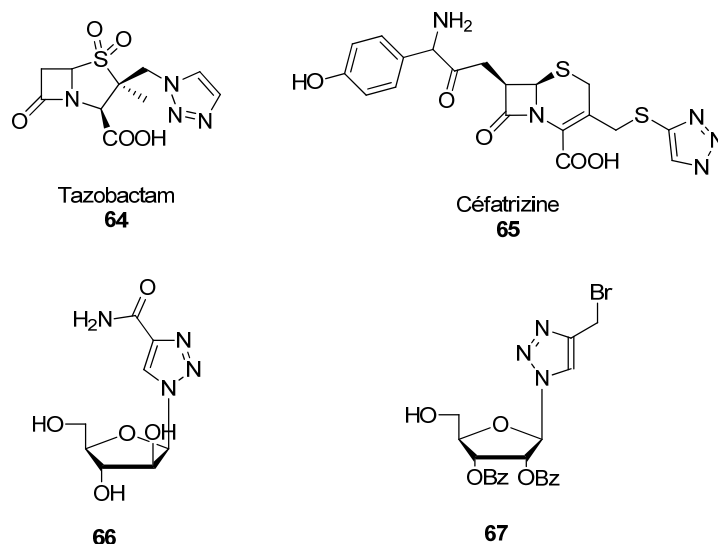


Figure 45 : Triazoles 1,4-disubstitués biologiquement actifs

La simplicité de la réaction permettant d'obtenir le triazole 1,4 *via* une catalyse au cuivre (I) entre un azoture et un alcyne a été exploitée pour lier deux ou plusieurs entités moléculaires. Cette réaction peut donc servir à générer des dimères ou des chimères par exemple. Le noyau triazole peut être vu, dans ce cas, comme un coupleur ou un espaceur inactif.

Le coupleur triazole peut aussi être utilisé pour former des inhibiteurs bidentés où la molécule interagit avec deux sites de liaison de la même cible. Cette méthode a été utilisée (Figure 46) pour identifier des inhibiteurs de la protéine tyrosine phosphatase¹³² dont le composé **68** montrant une activité micromolaire et une bonne sélectivité envers un sous-type de tyrosine phosphatase.

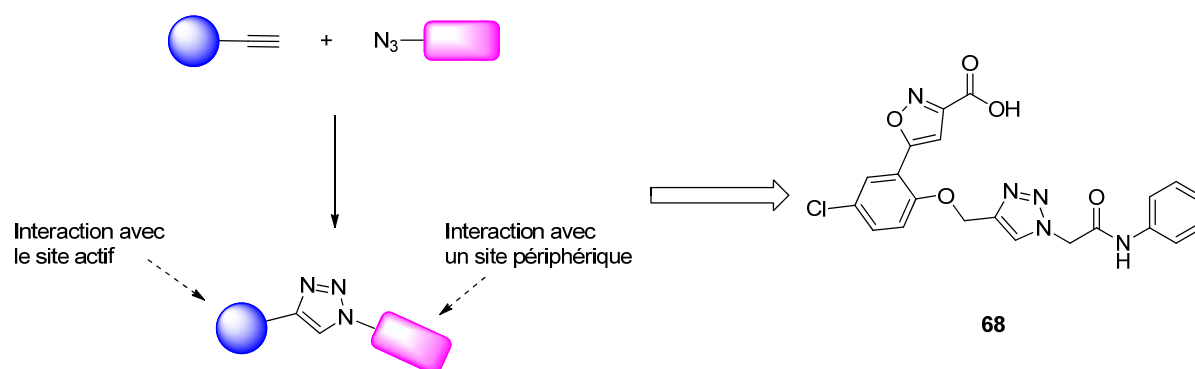


Figure 46 : Concept de triazole coupleur et exemple avec la structure de 68

Les molécules biologiquement actives présentées dans ce paragraphe ne représentent qu'une partie infime des composés appartenant à cette catégorie. Il est à noter que la grande majorité de ces composés possède le motif triazole 1,4-disubstitué car sa méthode d'obtention est

¹³² Srinivasan, R.; Uttamchandani, M. and Yao, S. Q. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 713-716.

plus accessible que celle de son régioisomère 1,5. Rarement, ce dernier a été utilisé pour obtenir des candidats médicaments. Quelques exemples peuvent cependant être cités (Figure 47).

L'équipe de Hansen¹³³ a utilisé le motif triazole 1,5-disubstitué pour former des analogues de l'agent anticancéreux combretastatine A-4 **69** possédant une configuration *cis*. Ce dernier a pour désavantage d'être peu soluble dans l'eau et de s'isomériser en configuration *trans* moins active. Le motif triazole 1,5-disubstitué a permis de mimer la configuration *cis* présente dans la combretastatine et d'obtenir un analogue **70** possédant une cytotoxicité de l'ordre du nanomolaire et inhibant la polymérisation de la tubuline (CI₅₀ de 4,8 μM).

Également dans le but d'obtenir des agents anticancéreux, ce motif a été utilisé pour inhiber des anhydrases carboniques. Le composé **71**¹³⁴ a montré de meilleures activités d'inhibition sur l'anhydrase carbonique humaine de type I que son homologue 1,4-disubstitué avec un K_i de 9 nM.

Enfin, les triazoles 1,5-disubstitués ont permis de fournir des inhibiteurs de caspase-3 pouvant être utiles pour vaincre des maladies telles qu'hépatites, maladies cérébrales et neurodégénératives. De par son caractère résistant aux dégradations métaboliques, ce motif a été lié à un dérivé d'isatine connu pour ses capacités d'inhibition sur les caspases-3 (CI₅₀ de 120 nM). Après introduction d'un groupement triazole 1,5-disubstitué, le composé **72** s'est alors révélé être un bon inhibiteur augmentant l'efficacité d'inhibition avec un CI₅₀ de 9 nM.¹³⁵

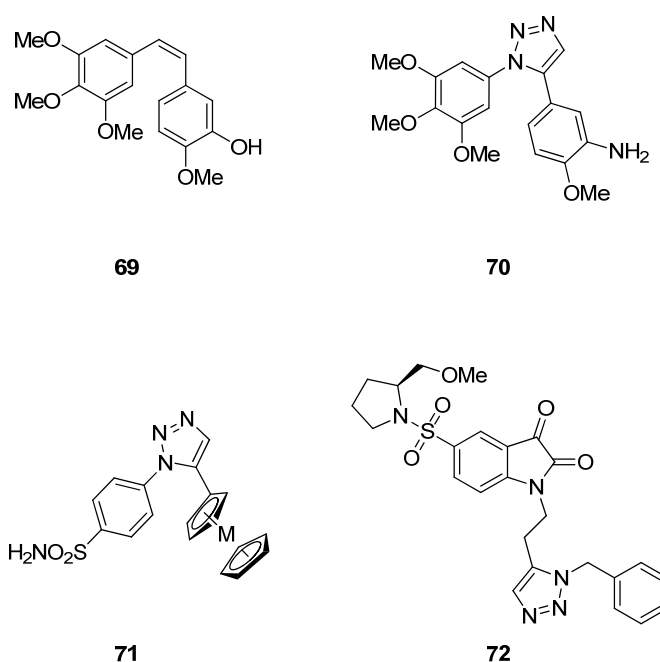


Figure 47 : Exemples de triazoles 1,5-disubstitués biologiquement actifs

¹³³ Odlo, K.; Hentzen, J.; dit Chabert, J. F.; Ducki, S.; Gani, O. A. B. S. M.; Sylte, I.; Skrede, M.; Flørenes, V. A. and Hansen, T. V. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4829-4838.

¹³⁴ Salmon, A. J.; Williams, M. L.; Innocenti, A.; Vullo, D.; Supuran, C. T. and Poulsen, S.-A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5032-5035.

¹³⁵ Jiang, Y. and Hansen, T. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 1626-1629.

Chapitre II : Synthèse du 1,2,3-triazole

I. Formation du 1,2,3-triazole

Les cycloadditions 1,3-dipolaires de Huisgen¹³⁶ sont vues comme des processus de fusion exergoniques unissant deux réactifs insaturés. Elles fournissent un accès rapide à une grande variété d'hétérocycles à cinq chaînons. Parmi ces réactions, la cycloaddition entre un azoture et un alcyne donnant le noyau triazole est probablement la plus utile en raison de ses nombreuses applications dans divers domaines comme celui des matériaux¹³⁷ ou de la chimie médicinale.¹²⁴

La réaction fondamentale thermique impliquant un alcyne terminal ou interne avec un azoture organique est connue depuis plus d'un siècle puisqu'en 1893 le premier triazole a été synthétisé par A. Michael.¹³⁸ Cette réaction a été étudiée en détail par Rolf Huisgen lors des années 1950 à 1970. Elle est fortement favorisée thermodynamiquement grâce au haut potentiel d'énergie des réactifs mais possède une haute barrière énergétique rendant la réaction très lente, même à des températures élevées, lorsque les réactifs sont désactivés. Cependant, même si la cycloaddition a été effectuée, un mélange de régioisomères 1,4 et 1,5 (Schéma 7) est souvent observé à cause de la faible différence des valeurs d'énergie de la HO et de la BV du dipôle (l'azoture) et du dipolarophile (l'alcyne).

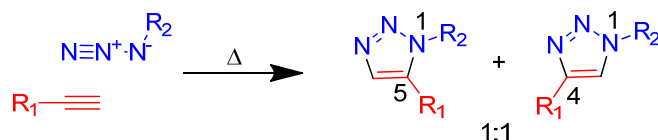


Schéma 7 : Cycloaddition thermique entre un azoture et un alcyne

Afin d'éviter ce désagrément, des efforts ont été entrepris pour trouver de nouvelles méthodologies permettant de former sélectivement un régioisomère par rapport à un autre. Ces nouvelles méthodes rentrent parfaitement dans le concept de la chimie « click » proposé par Sharpless.¹³⁹ Elle est définie comme une approche efficace à la synthèse de divers composés basés sur une poignée de réactions « quasi-parfaites » formant des liaisons carbone-hétéroatome. Ces réactions ont pour caractéristiques d'avoir de hautes sélectivités, de hauts rendements, d'être facilement modulables et applicables à haute échelle. La cycloaddition entre un alcyne et un azoture est considérée comme la « crème de la crème » des réactions « click » malgré le manque de réactivité des composés. Son énorme potentiel n'a été mis en exergue qu'après la découverte de la cycloaddition catalysée par le cuivre (I) permettant de former des triazoles 1,4-disubstitués.

¹³⁶ Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565-598.

¹³⁷ Juricek, M.; Kouwer, P. H. J. and Rowan, A. E. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 8740-8749.

¹³⁸ Michael, A. J. *Prakt. Chem.* **1893**, *48*, 94-95.

¹³⁹ Kolb, H. C.; Finn, M. G. and Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.

II. Le triazole 1,4-disubstitué

De manière indépendante, les équipes de Sharpless¹⁴⁰ et Meldal,¹⁴¹ ont développé une méthodologie permettant de former des triazoles 1,4-disubstitués. Cette catalyse au cuivre (I) permet d'accélérer de manière spectaculaire la réaction d'un azoture avec un alcyne terminal (Schéma 8).

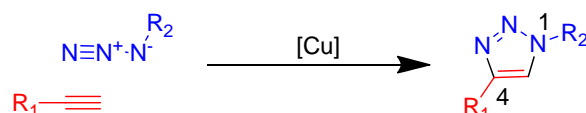


Schéma 8 : Formation d'un triazole 1,4-disubstitué par catalyse au cuivre (I)

Ces réactions ont pour avantages :

- de ne pas être affectées de manière significative par les effets stériques et électroniques des substituants liés aux centres réactifs de l'azoture ou de l'alcyne ;
- de ne pas être sensibles à l'eau, ni à la plupart des groupements organiques et inorganiques permettant d'éviter l'introduction de groupements protecteurs ;
- d'avoir une constante de vitesse d'environ 10^7 fois plus grande que celle de la version non catalysée permettant de réaliser de manière efficace les réactions à température ambiante.

La force catalytique unique du cuivre (I) peut être expliquée par la combinaison fortuite de sa capacité à engager l'alcyne terminal dans des interactions σ et π et l'échange rapide avec d'autres ligands dans sa sphère de coordination.¹⁴² Or, le cuivre (I) est l'espèce la moins stable thermodynamiquement et peut être facilement oxydé en cuivre (II), espèce catalytique inactive. C'est pourquoi, quand un catalyseur au cuivre (I) est utilisé directement, la réaction doit s'effectuer sous atmosphère inerte. Comme alternative à ces conditions sans oxygène, un agent réducteur sacrificiel peut être utilisé comme, par exemple, l'ascorbate. La combinaison d'ascorbate de sodium avec un sel de cuivre (II), comme le sulfate de cuivre (II) pentahydraté ou l'acétate de cuivre (II), est une solution économique et efficace et en fait la méthode de choix pour synthétiser des triazoles 1,4-disubstitués. Par ailleurs, l'eau apparaît comme un solvant idéal avec ces catalyseurs. Ainsi, la procédure « aqueuse à l'ascorbate » fournit des triazoles avec des rendements quasi-quantitatifs et des puretés supérieures à 90 %.¹⁴⁰

¹⁴⁰ Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V. and Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.

¹⁴¹ Tornøe, C. W.; Christensen, C. and Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.

¹⁴² Hein, J. E. and Fokin, V. V. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1302-1315.

Mécanistiquement (Schéma 9)¹⁴³, la formation de l'acétylure (étape A) a été calculée comme étant exothermique. Ceci est en accord avec la facilité connue de cette réaction qui passe probablement par un intermédiaire d'un complexe π alcyne-cuivre. D'après les calculs, la cycloaddition 1,3-dipolaire concertée de l'azoture sur l'acétylure de cuivre possède une haute barrière d'énergie potentielle, le métal jouant donc un autre rôle. Dans le mécanisme proposé, l'azoture est activé par coordination au cuivre (étape B). La formation clef de la liaison a lieu lors de l'étape C où l'intermédiaire est converti en métallacycle de cuivre à six chaînons. La réaction catalysée au cuivre n'est donc pas vraiment une réaction concertée et sa régiospécificité est expliquée par la formation des liaisons de l'azoture et de l'alcyne au cuivre avant la formation de la liaison C-N. La contraction du métallacycle (étape D) menant au dérivé cuivre-triazole a ensuite lieu. Enfin, la protéolyse de l'intermédiaire (étape E) permet de libérer le triazole et de régénérer le catalyseur.

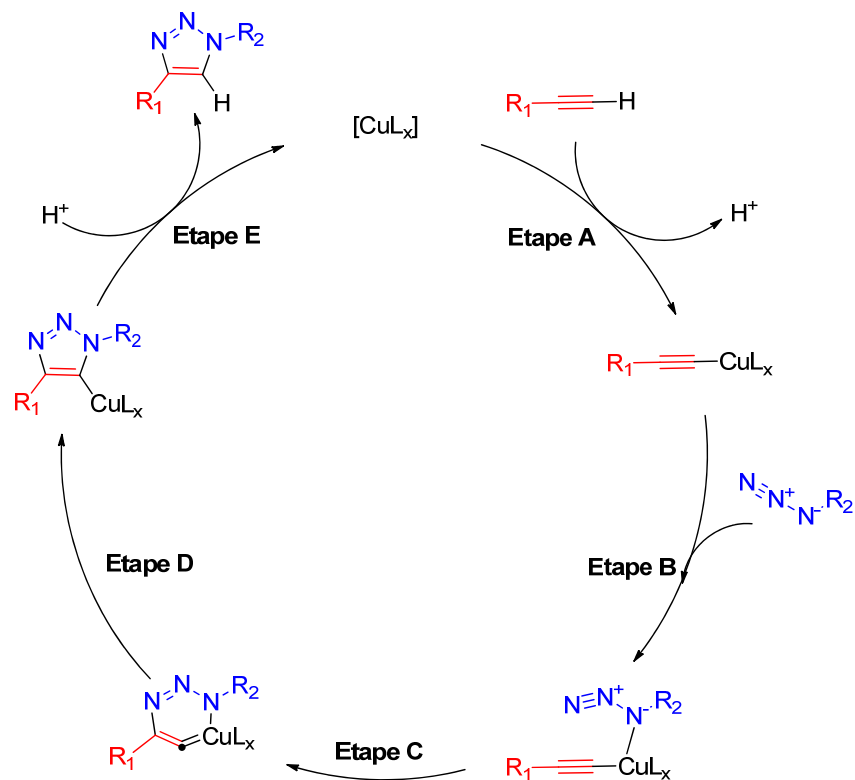


Schéma 9 : Cycle catalytique proposé pour la formation de triazole 1,4-disubstitué catalysée au cuivre (I)

Ainsi, cette réaction de chimie « click » de cycloaddition 1,3-dipolaire entre un azoture et un alcyne donne exclusivement des triazoles 1,4-disubstitués. De nombreux efforts ont été effectués afin d'élargir l'application de cette réaction en développant une cycloaddition orthogonale permettant de fournir les homologues 1,5-disubstitués.

¹⁴³ Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B. and Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216.

III. Le triazole 1,5-disubstitué

Quelques publications sont apparues ces dernières années stipulant la formation préférentielle de triazoles 1,5-disubstitués.

Il a été reporté, par exemple, que ce régioisomère pouvait être préparé par réaction d'un bromure d'acétylène magnésium avec un azoture organique.¹⁴⁴ Cependant, la transformation du groupement alcyne en magnésien avec les réactifs de Grignard est altérée pour certains substrats fonctionnalisés (esters, substrats énolisables, alcools) et mène malheureusement à un manque de polyvalence, atout caractéristique des réactions « click ».

Le contrôle de la régiosélectivité par des acétylènes substitués par un groupement triméthylsilyle pour donner les régioisomères 1,5 a aussi été reporté dans la littérature (Schéma 11).¹⁴⁵ Le groupement triméthylsilyle contrôle probablement la sélectivité par la combinaison de deux facteurs : la capacité de stabiliser la charge positive sur la position β -carbonée de l'acétylène dans l'état de transition et l'effet stérique qui empêche l'orientation inverse. Cependant, les conditions de réaction n'étant pas simples à mettre en place, cette réaction a été peu utilisée¹⁴⁶ et ne répond pas aux propriétés des réactions de chimie « click ».

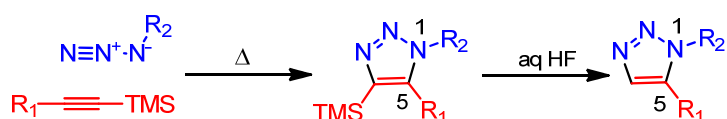


Schéma 10 : Formation d'un triazole 1,5-disubstitué par l'introduction d'un groupement TMS

En 2005, des complexes de cyclopentadiényle ruthénium ont été rapportés comme catalyseurs de la formation de triazoles 1,5-disubstitués (Schéma 11).¹⁴⁷

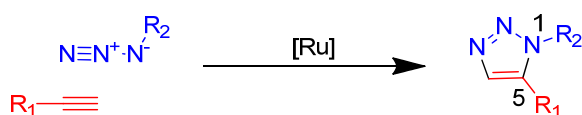


Schéma 11 : Formation d'un triazole 1,5-disubstitué par catalyse au ruthénium (II)

Contrairement à la cycloaddition catalysée au cuivre (I), cette réaction a l'avantage de faire réagir des alcynes aussi bien terminaux qu'internes. Après une investigation minutieuse des activités catalytiques d'une série de complexes de ruthénium,¹⁴⁸ les composés

¹⁴⁴ Krasinski, A.; Fokin, V. V. and Sharpless, K. B. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1237-1240.

¹⁴⁵ Hlasta, D. J. and Ackerman, J. H. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6184-6189.

¹⁴⁶ Coats, S. J.; Link, J. S.; Gauthier, D. and Hlasta, D. J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1469-1472.

¹⁴⁷ Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. and Jia, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999.

¹⁴⁸ Boren, B. C.; Narayan, S.; Rasmussen, L. K.; Zhang, L.; Zhao, H.; Lin, Z.; Jia, G. and Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8923-8930.

chloropentaméthylcyclopentadiényle de ruthénium [Cp**RuCl*] se sont révélés être les catalyseurs les plus efficaces et régiosélectifs. En présence de Cp**RuCl*(PPh₃)₂, stable, à l'air ambiant, une grande variété d'azotures peuvent réagir avec des alcynes terminaux pouvant contenir une multitude de groupements fonctionnels pour donner, généralement à température élevée, des triazoles 1,5-disubstitués. Le catalyseur Cp**RuCl*(COD) a montré de plus grandes activités et est particulièrement applicable pour des cycloadditions à température ambiante impliquant des alcynes internes, des azotures aromatiques et également des réactifs thermolabiles. De plus, ces deux catalyseurs ont montré d'excellents résultats aussi bien en termes de chimiosélectivité que de régiosélectivité.

Bien que l'application et la compatibilité avec de nombreux groupements fonctionnels soient excellentes,^{148,149,150} la réaction catalysée au ruthénium est plus sensible aux solvants employés (l'utilisation de solvants aprotiques est préférée) et à la demande stérique des substituants de l'azoture que la réaction catalysée au cuivre (I). Du fait de la découverte encore récente de ces catalyseurs, peu d'applications ont été effectuées.

Cette cycloaddition catalysée au ruthénium est totalement distincte de la réaction catalysée au cuivre (I) présentée précédemment, bien que l'activation de l'alcyne apparaisse être fondamentalement similaire. La nucléophilie du système π de ce dernier est augmentée par la rétrodonation provenant du centre métallique. Mécanistiquement (Schéma 12),¹⁴⁸ le déplacement de ligands spectateurs (étape A) permet de former un complexe activé qui est converti en ruthénacycle *via* un couplage oxydant de l'alcyne et de l'azoture (étape B). Cette étape contrôle la régiosélectivité de tout le processus. La nouvelle liaison C-N est formée par le carbone le plus électronégatif et le moins encombré de l'alcyne et l'azote terminal de l'azoture. Le métallacycle intermédiaire subit ensuite une élimination réductrice (étape C) libérant le produit aromatique triazole et régénérant le catalyseur (étape D).

¹⁴⁹ Rasmussen, L. K.; Boren, B. C. and Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5337-5339.

¹⁵⁰ Majireck, M. M. and Weinreb, S. M. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8680-8683.

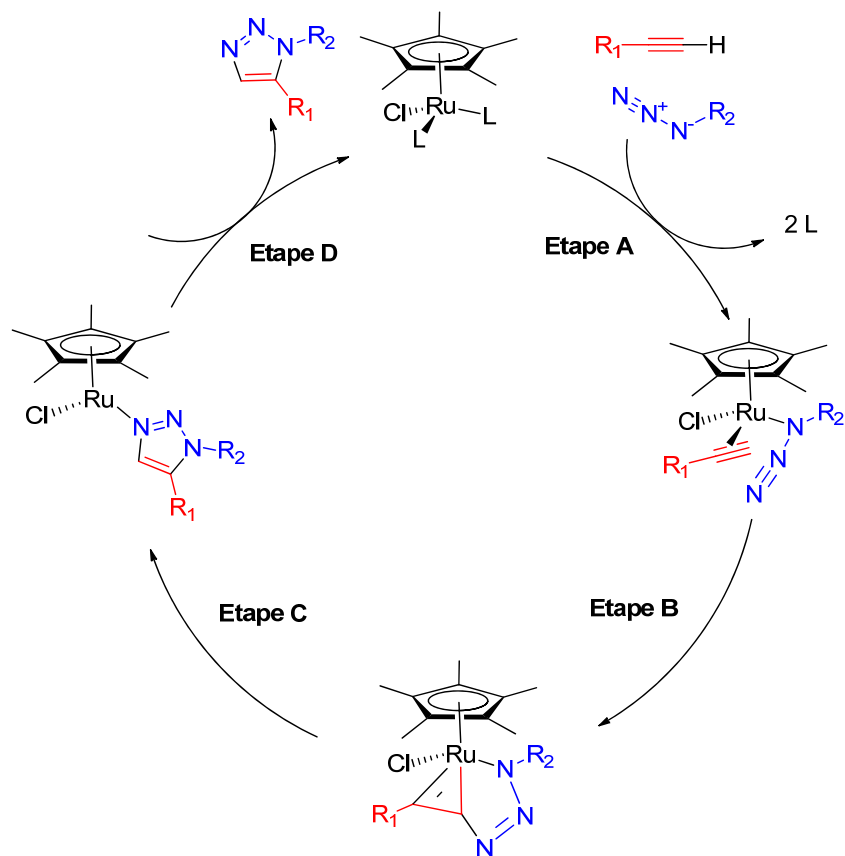


Schéma 12 : Cycle catalytique proposé pour la formation de triazole 1,5-disubstitué catalysée au ruthénium (II)

Le mode opératoire de cette réaction répond totalement aux propriétés de la chimie « click » définie par Sharpless. Pour cette raison, ces catalyseurs au ruthénium seront utilisés par la suite.

Chapitre III : Synthèse des analogues et évaluation biologique

I. Synthèse des précurseurs

Le noyau triazole est issu d'une réaction 1,3-dipolaire entre un dipôle (l'azoture) et un dipolarophile (l'alcyne). Dans notre cas, afin de mimer l'imidazole **54**, nous avons pour objectif de synthétiser l'analogue triazole **86**. Celui-ci serait formé à partir de l'azoture de farnésyle **73** et du tripeptide N-propargyle VFM **76** (Schéma 13).

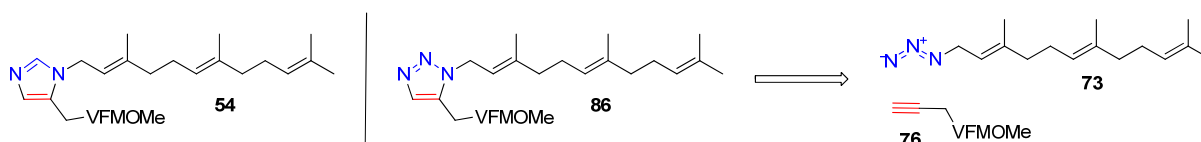


Schéma 13 : Rétrosynthèse de l'analogue triazole **86**

Afin de synthétiser l'azoture, une S_N2 a été envisagée. Le bromure de farnésyle a été mis en présence d'azoture de sodium pour former l'azoture de farnésyle **73** avec un rendement quantitatif. Cependant, il est à noter que les azotures de farnésyle de configuration E,E,E et Z,E,E dans un rapport (2/1) ont été formés (Schéma 14) et ne sont pas séparables lors de cette étape.

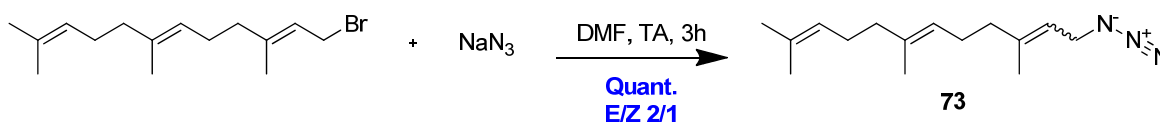


Schéma 14 : Formation de l'azoture de farnésyle **73**

Cette isomérisation avec la chaîne farnésyle a déjà été reportée dans la littérature.¹⁵¹ Elle provient d'un réarrangement de l'azoture allylique,^{152,153,154} procédé dynamique concerté d'équilibre sigmatropique [3,3] (Schéma 15). Malheureusement, il n'existe pas de méthode à ce jour permettant d'éviter ce réarrangement.

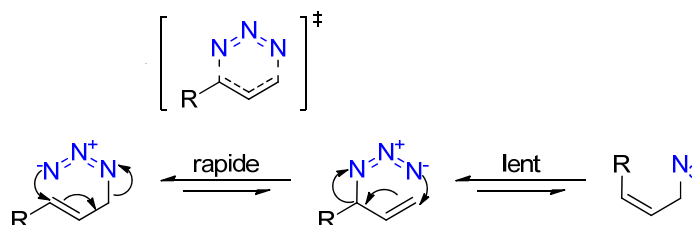


Schéma 15 : Réarrangement d'azotures allyliques

¹⁵¹ Praud-Tabaries, A.; Dombrowsky, L.; Bottzek, O.; Briand, J.-F. and Blache, Y. *Tet. Lett.* **2009**, 50, 1645-1648.

¹⁵² Feldman, A. K.; Colasson, B.; Sharpless, K. B. and Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13444-13445.

¹⁵³ Padwa, A. and Sá, M. M. *Tet. Lett.* **1997**, 38, 5087-5090.

¹⁵⁴ Gagneux, A.; Winstein, S. and Young, W. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82, 5956-5957.

La synthèse du tripeptide VFM **75** a été réalisée dans les conditions de couplage peptidique classique (Schéma 16) avec du 1-(3-(diméthylamino)propyl)-3-éthylcarbodiimide (EDCI) et du 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) comme agents de couplage et avec de la N-méthylmorpholine (NMM) comme base dans le dichlorométhane.

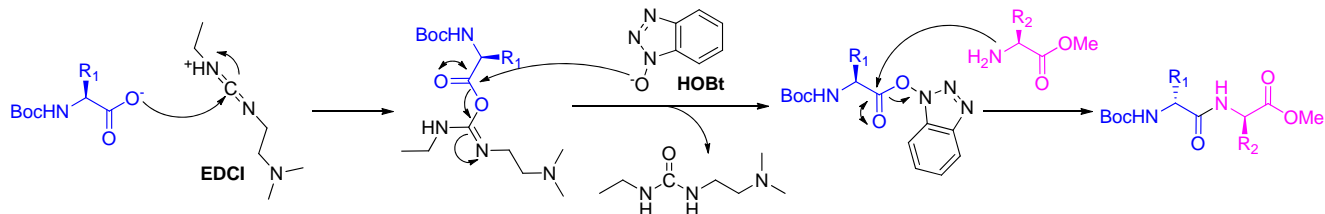


Schéma 16 : Mécanisme d'un couplage peptidique en présence des agents de couplage

Ces couplages peptidiques (Schéma 17) ont été effectués avec de bons rendements de 76 % en deux étapes.

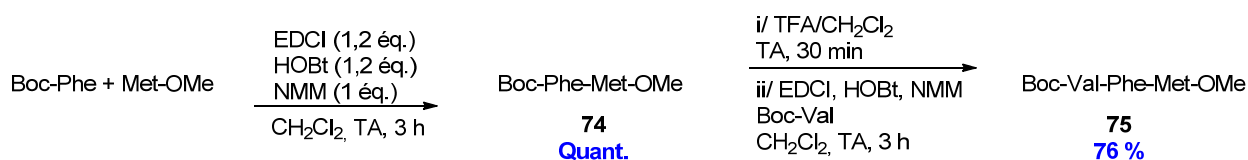


Schéma 17 : Synthèse du tripeptide VFM **75**

Afin d'introduire le groupement propargyle, nous pouvons envisager une réaction d'amination réductrice. Cependant, cette stratégie paraît limitée en raison de possibles dialkylations.¹⁵⁵ Les méthodes traditionnelles utilisent donc des groupements protecteurs qui ont le désavantage d'allonger la synthèse et de ne pas être économes en atomes.

Ainsi, la synthèse de l'alcyne s'inspire des travaux de Kim¹⁵⁶ permettant de synthétiser des α -amino-acides ou dipeptides ester N-monoalkylés en présence de lithine. En effet, selon les auteurs, cette dernière permet de produire exclusivement les produits de monoalkylation. Ceci peut être expliqué (Figure 48)¹⁵⁷ par le fait que les protons de l'amine du complexe **i** devraient être suffisamment acides pour être captés par des bases. D'autre part, l'encombrement stérique du sel quaternaire **ii** est supérieur à celui du complexe **i**. L'accès des bases aux protons disponibles est donc minimisé ce qui inhibe l'alkylation des amines secondaires.

¹⁵⁵ Szardenings, A. K.; Burkoth, T. S.; Look, G. C. and Campbell, D. A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6720-6722.

¹⁵⁶ Cho, J. H. and Kim, B. M. *Tet. Lett.* **2002**, *43*, 1273-1276.

¹⁵⁷ Salvatore, R. N.; Nagle, A. S.; Schmidt, S. E. and Jung, K. W. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1893-1896.

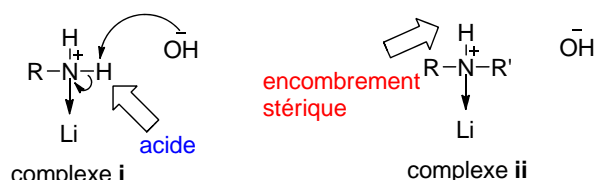


Figure 48 : Hypothèse des causes de la monoalkylation par la lithine

Nous avons tenté de reproduire cette méthode (Schéma 18) sur le tripeptide VFM **75** pour former le VFM monopropargylé **76** mais le rendement obtenu avec le bromure de propargyle est modeste. Nous pouvons nous attendre à ce résultat car l'équipe de Kim observe une baisse de rendement lors de la monoalkylation d'un dipeptide (82 %) par rapport à celle d'un acide aminé (90 %). De plus, la formation de produits de dialkylation **77** a été observée à hauteur de 7 %.

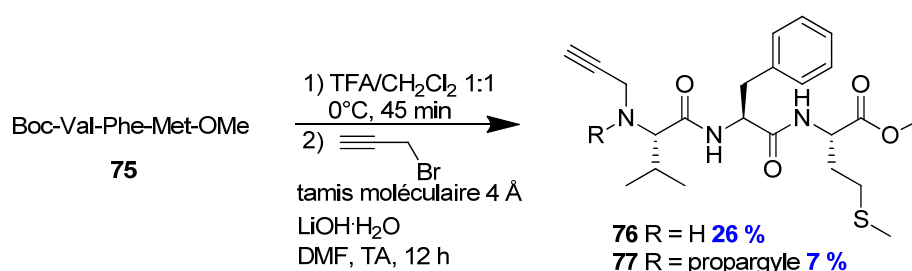


Schéma 18 : Propargylation des tripeptides selon la méthode de Kim

Une autre méthode de synthèse (Schéma 19) a été envisagée. La valine a tout d'abord été propargylée en présence de bromure de propargyle et de lithine avec un bon rendement de 74 % sans trace de substrat dialkylé. La valine monopropargylée **78** est ensuite saponifiée pour être couplée avec l'ester méthylique du dipeptide phénylalanine-méthionine **74**. Malheureusement, le rendement du couplage reste médiocre.

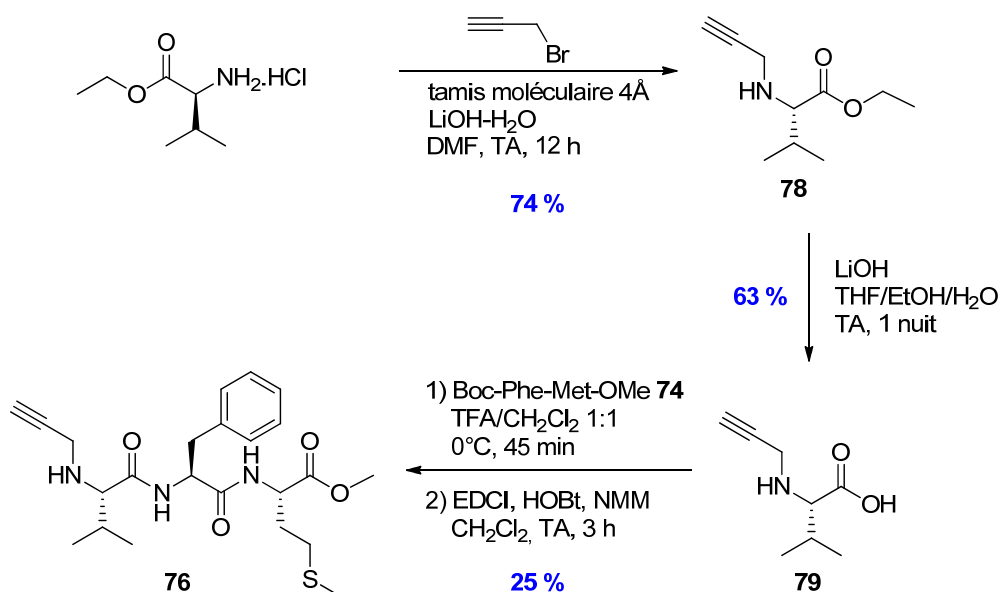


Schéma 19 : Formation du VFM monopropargylé 76

Cependant, notre objectif étant de comparer l'activité du triazole avec celle de l'imidazole, le produit obtenu a été engagé dans la suite de la synthèse sans optimisation préalable de la réaction de propargylation.

II. Synthèse des triazoles

II.1. Le triazole 1,4-disubstitué

Afin de tester si nos substrats **73** et **76** étaient réactifs vis-à-vis de la cycloaddition nous avons tout d'abord effectué la cycloaddition catalysée au cuivre (Schéma 20). De plus, le composé obtenu permettra d'étudier l'influence régioisomérique 1,4 et 1,5 sur l'activité biologique de la FTase. Cette réaction a été effectuée selon les conditions classiques avec du sulfate de cuivre (II) pentahydraté et de l'ascorbate de sodium en tant que réducteur sacrificiel.¹⁵¹ Le triazole 1,4 **80** a été obtenu avec un rendement de 70 %. La configuration 1,4 de ce triazole a été confirmée par NOESY indiquant une corrélation entre le C₁ de la chaîne farnésyle et le proton en position 5 du triazole.

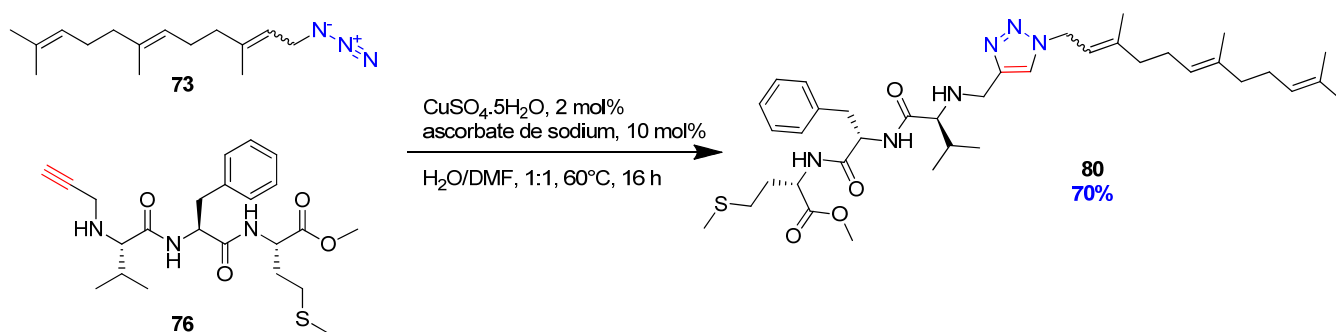


Schéma 20 : Synthèse du triazole 1,4-disubstitué **80**

Les isomères E et Z n'ont pas été séparés et sont en mélange dans un rapport 2/1 respectivement. La cyclisation qui forme le triazole 1,4-disubstitué fonctionnant avec un bon rendement, nous pouvons nous intéresser à la synthèse de son régioisomère 1,5-disubstitué **86**.

II.2. Le triazole 1,5-disubstitué

Les deux principales voies de synthèse des triazoles 1,5-disubstitués ont été évaluées lors de ces travaux de thèse.

II.2.a. Applications avec le groupement triméthylsilyle

Cette méthode délicate à mettre en place et peu décrite a tout d'abord été testée avec un modèle remplaçant le tripeptide VFM propargylé par du bromure de propargyle. Premièrement, cet halogénure a été silylé en présence de *n*BuLi dans du THF (Schéma 21)¹⁵⁸ avec un bon rendement conduisant au composé **81**.

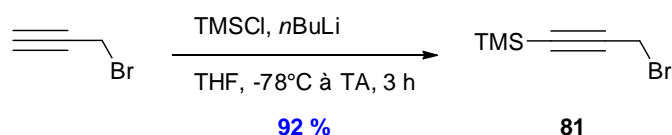
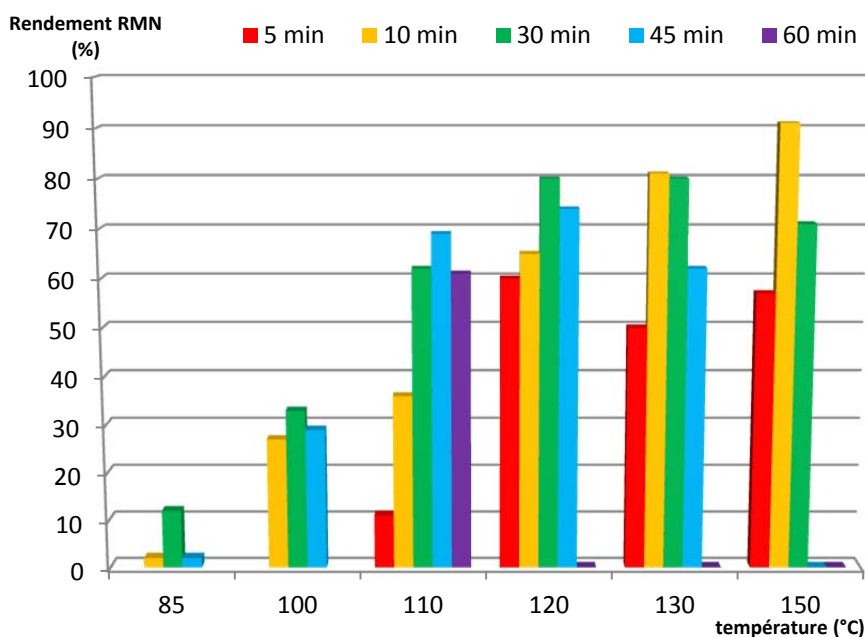


Schéma 21 : Formation du bromure de triméthylsilylpropargyle **81**

Cet alcyne a été engagé avec l'azoture de farnésyle pour réaliser la cycloaddition 1,3-dipolaire régiosélective formant le triazole **82**. La conversion étant quasi-nulle après 18 heures de chauffage à reflux dans le toluène nous sommes passés par une synthèse par chauffage micro-ondes. Différentes conditions opératoires ont été utilisées (Graphique 1). Il a été remarqué qu'il est nécessaire de chauffer à plus de 110°C pour avoir une bonne conversion mais pas plus de 30 minutes afin d'éviter toute formation de produits de dégradation.



Graphique 1 : Conditions opératoires utilisées pour la formation de **82**

Le meilleur résultat a été obtenu avec un chauffage micro-ondes à 150°C pendant 10 min pour obtenir le triazole **82** avec un rendement de 91 %.

¹⁵⁸ Hoogboom, J. and Swager, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15058-15059.

Pour nous rapprocher de la cible **86**, deux voies sont envisageables.

Lors de la première voie de synthèse, nous avons monoalkylé l'ester méthylique de la valine avec le triazole **82** (Schéma 22) mais un rendement de 16 % seulement a été obtenu ne présageant rien de bon pour l'alkylation du tripeptide **75**. Cette alkylation n'a donc pas été tentée.

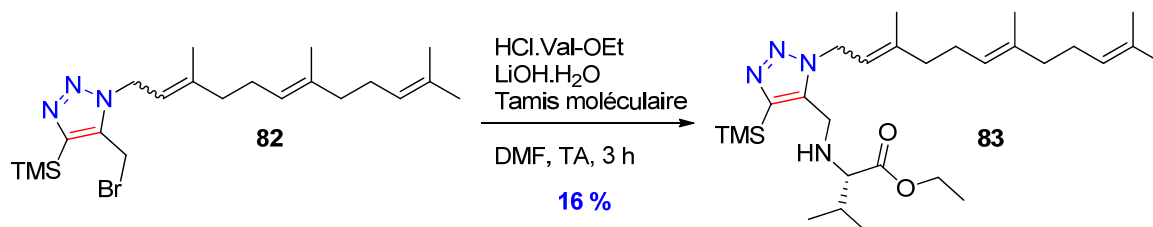


Schéma 22 : Monoalkylation du triazole **82** sur la valine

Une deuxième stratégie a donc été envisagée où la monoalkylation du tripeptide **75** par le bromure de triméthylsilylpropargyle a aussi été effectuée pour conduire au composé **84** (Schéma 23) avec un rendement de 27 %. Par manque de matière, la cyclisation n'a pas pu être effectuée. De plus, le faible rendement de l'alkylation nous a incité à abandonner cette voie.

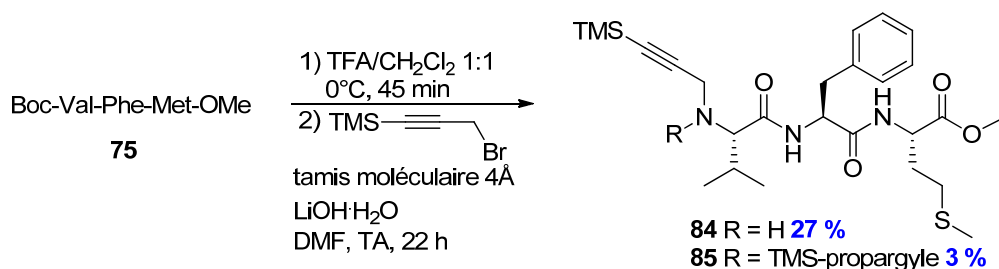


Schéma 23 : Triméthylsilylpropargylation de **75**

Cette voie de synthèse montre donc de nombreuses limitations comme de bas rendements et une faible économie d'atomes en raison de l'introduction d'un groupement TMS permettant la sélectivité.

Une approche catalytique avec des complexes au ruthénium comme précédemment décrite posséderait de plus grands atouts et répondrait plus amplement aux critères de chimie verte.

II.2.b. Applications avec les catalyseurs au ruthénium

Lors de cette approche, deux catalyseurs (Figure 49) ont été utilisés, le chloro(pentaméthylcyclopentadiényl)(cyclooctadiène) de ruthénium(II) ($Cp^*RuCl(COD)$) et le chlorure de pentaméthylcyclopentadiénylbis(triphénylphosphine) de ruthénium(II) ($Cp^*RuCl(PPh_3)_2$). Ces catalyseurs ont pour avantage d'être performants et stables à l'air.

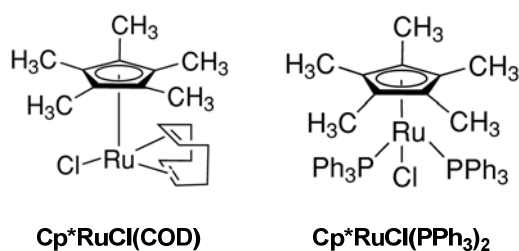


Figure 49 : Catalyseurs au ruthénium (II) utilisés pour la formation de triazoles 1,5-disubstitués

Cette voie plus « économe » en atome n'a malheureusement pas aboutie avec le premier catalyseur quelles que soient les conditions utilisées (solvant, température, chauffage classique ou micro-ondes, nombre d'équivalents de ruthénium). Ce complexe est connu pour réagir avec des conditions plus douces mais est souvent utilisé pour faire réagir des alcynes internes avec des azotures aromatiques.

Le deuxième catalyseur, Cp*RuCl(PPh₃)₂ est le catalyseur de choix pour des alcynes terminaux et le plus utilisé dans la littérature. Dans notre cas, il a montré un meilleur comportement que le catalyseur Cp*RuCl(COD) et nous a permis d'obtenir le triazole 1,5 après mise au point des conditions (Schéma 24). Les réactions par chauffage thermique classique ne permettant pas une conversion satisfaisante, nous sommes passés par un chauffage micro-ondes. Bien que la littérature possède peu d'exemples^{149,159} concernant ce type d'activation en présence de ces catalyseurs, la réaction entre le peptide propargylé **76** et l'azoture de farnésyle **73** a permis d'obtenir par chauffage micro-ondes le triazole **86** avec un rendement de 52 %.

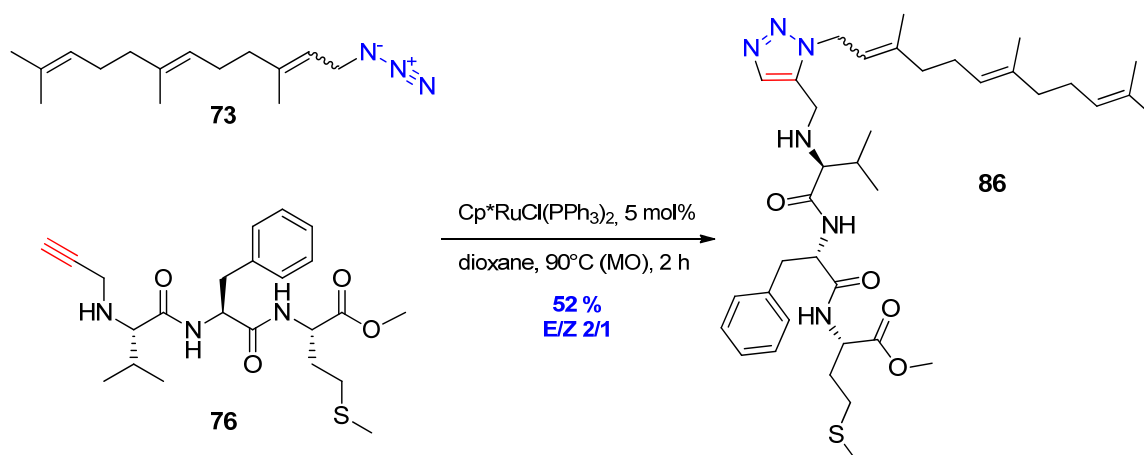


Schéma 24 : Formation du triazole **86**

Afin d'obtenir les acides carboxyliques **87** et **88**, plus actifs que l'ester lors des tests enzymatiques, les composés **80** et **86** ont ensuite été saponifiés en présence de lithine (Schéma 25).

¹⁵⁹ Montagu, A.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G. and Agrofoglio, L. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 778-786.

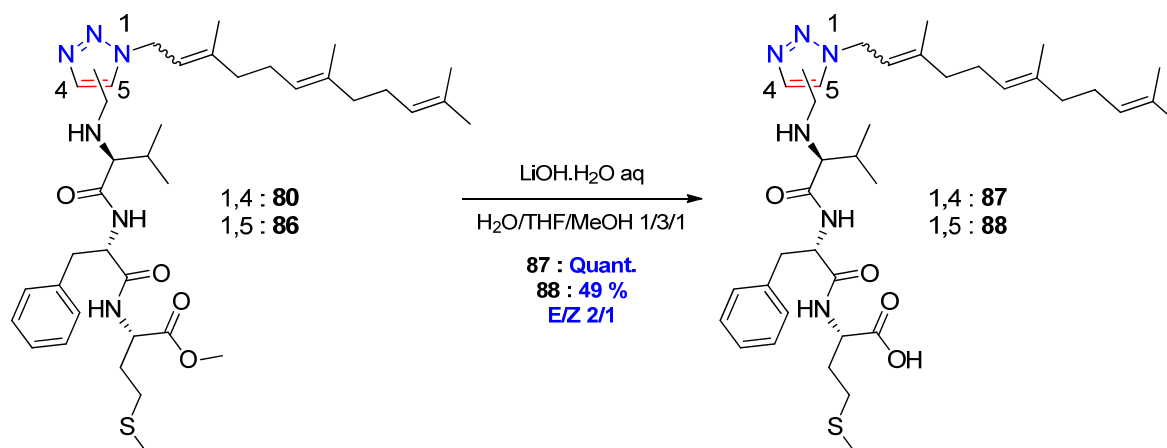


Schéma 25 : Saponification des composés 80 et 86

III : Évaluation biologique

Les triazoles synthétisés ont été évalués biologiquement *in vitro* sur FTase humaine et *in cellulo* sur *T. brucei* et *P. falciparum*. Les résultats obtenus (Tableau 1) ont été comparés à ceux des imidazoles de référence acides 1,5-disubstitué **53** et 1,4-disubstitué **89** et des esters correspondants **54** et **90**. Les formes acides ont été évaluées lors des tests enzymatiques alors que leurs prodrogues esters, ayant vraisemblablement une meilleure pénétration cellulaire, ont été évaluées lors des tests antiparasitaires.

 Y = C, N XX						
Entrée	Cycle aromatique	R = H		R = Me		
		XX	Cl ₅₀ <i>h</i> FTase (μM)	XX	Cl ₅₀ <i>Tb</i> (μM)	Cl ₅₀ <i>Pf</i> (μM)
1	imidazole 1,5	53	0,13 ± 0,02	54	0,53	0,15
2	imidazole 1,4	89	13 ± 1,7	90	1,3	2,0
3	(E+Z)-triazole 1,5	88	1,8 ± 0,2	86	2,2	6,8
4	(E+Z)-triazole 1,4	87	non déterminée	80	3,3	6,4

Tableau 1 : Évaluations biologiques sur FTase humaine (*h*FTase), FTase de *T. brucei* (*Tb*FTase), *T. brucei* (*Tb*) et *P. falciparum* (*Pf*)

La comparaison des résultats obtenus selon la nature du noyau aromatique indique une nette différence de comportement. En effet, alors que le noyau imidazole se révèle relativement efficace avec des activités submicromolaires sur FTase humaine ou sur *P. falciparum*, les composés possédant le noyau triazole n'ont que des Cl₅₀ situées entre 1 μM et 10 μM. Bien que certaines

études ont montré que le noyau triazole pouvait se coordonner au zinc,^{160,161} une plus grande affinité de ce métal avec le noyau imidazole peut expliquer cette différence d'activité. De plus, on peut remarquer une différence de sélectivité du parasite car le noyau imidazole est beaucoup plus actif sur *P. falciparum* alors que le noyau triazole est sensiblement plus actif sur *T. brucei*.

D'après les résultats (entrées 2 à 4), la configuration de la chaîne farnésyle ainsi que la substitution du noyau triazole en position 4 ou 5 n'ont vraisemblablement pas d'influence sur l'activité inhibitrice des parasites.

Les activités biologiques de ces produits sont malheureusement moins bonnes que celles de leurs homologues imidazoles. Ils ont cependant une activité inhibitrice sur FTase. Grâce à la relative simplicité de synthèse des noyaux triazoles par rapport aux imidazoles, ces hétérocycles peuvent cependant être utilisés pour étudier l'influence des différents groupements portés par le noyau central. La création rapide et efficace d'une librairie nécessite des stratégies de synthèse performantes. C'est pourquoi, en parallèle de nos travaux de chimie médicinale, nous avons envisagé de mettre en place une nouvelle réaction monotope de triazole 1,5-disubstitués permettant d'obtenir facilement ces hétérocycles à partir d'amines primaires.

¹⁶⁰ Zink, D. M.; Baumann, T.; Nieger, M. and Bräse, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011, 1432-1437.

¹⁶¹ Bastero, A.; Font, D. and Pericàs, M. A. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 2460-2468.

Chapitre IV : Méthodologie vers la synthèse monotope de triazoles 1,5-disubstitués à partir d'amines primaires

I. Rappels bibliographiques

La perpétuelle demande de nouveaux composés biologiquement actifs à visée thérapeutique et le lourd processus de découverte d'un « chef de file » et d'optimisation ont conduit à la recherche continue de méthodes de synthèse simples et efficaces pour générer des chimiothèques. La chimie « click » s'est révélée comme étant une approche rapide pour synthétiser des composés nouveaux avec les fonctions désirées. Comme évoquée précédemment, la formation de triazoles par cycloaddition 1,3-dipolaire est la plus puissante de ces réactions « click ». La découverte des réactions catalysées au cuivre (I) ou au ruthénium (II) permettant de synthétiser sélectivement un régioisomère a considérablement augmenté l'intérêt de ces synthèses.

Un des désavantages de ces réactions impliquant des azotures est le nombre réduit d'azotures alkyles ou aromatiques commercialement disponibles. De plus, les azotures organiques de bas poids moléculaire, en particulier ceux possédant un faible ratio carbone/azote, sont considérés comme hautement énergétiques et potentiellement explosifs.¹⁶² Sharpless et Folkin ont décrit cette réticence des organiciens modernes à s'engager dans la chimie des azotures comme de « l'azidophobie ».¹⁴⁰

C'est pourquoi, pour résoudre ces problèmes, des réactions monotopes permettant de générer l'azoture *in situ* ont été mises en place.

En ce qui concerne la formation monotope des triazoles 1,4-disubstitués par catalyse au cuivre (I), deux stratégies ont été envisagées. Premièrement, l'azoture est formé par substitution nucléophile d'un halogénure avec l'azoture de sodium.^{163,164,165} Cependant, cette approche a pour désavantage de n'être efficace que dans le cas où les halogénures sont activés (benzylique ou en position anomérique). La présence de cuivre (I) permet ensuite de réaliser la cycloaddition (Schéma 26).

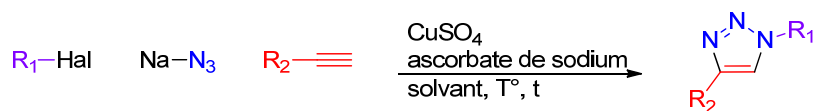


Schéma 26 : Synthèse monotope de triazoles 1,4-disubstitués à partir d'halogénures

¹⁶² Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K. and Zimmermann, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5188-5240.

¹⁶³ Appukkuttan, P.; Dehaen, W.; Fokin, V. V. and Van der Eycken, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223-4225.

¹⁶⁴ Feldman, A. K.; Colasson, B. and Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3897-3899.

¹⁶⁵ Chittaboina, S.; Xie, F. and Wang, Q. *Tet. Lett.* **2005**, *46*, 2331-2336.

Cette stratégie est une réaction monotope en une étape contrairement à la deuxième stratégie qui se fait en deux étapes. Elle consiste à utiliser la réaction de transfert de diazo catalysée par le cuivre (II) à partir d'amines primaires avec l'azoture de trifluorométhanesulfonyle (TfN₃, **91**).^{166,167} Le chlorure de zinc (II) peut aussi être utilisé comme catalyseur mais la transformation est moins rapide qu'avec le cuivre (II). De plus, cette réaction a pour avantage de ne pas être restreinte à une seule catégorie d'amines primaires contrairement aux halogénures et une grande variété d'entre elles sont commerciales.

Le mécanisme de cette réaction est encore inconnu. Fischer et Anselme ont proposé un intermédiaire dianionique tétrazène stabilisé par des ions sodium.^{168,169} Le mécanisme proposé par Wong *et al.*¹⁶⁷ (Schéma 27) est extrapolé de celui proposé par Anselme et Fischer et incorpore un ion métallique divalent. La complexation de l'amine au catalyseur métallique (zincique, ici) sous conditions basiques, peut mener à l'intermédiaire **A**. En raison de la forte électrophilie de TfN₃, l'attaque nucléophile de l'amine du complexe **A** sur le TfN₃ suivie d'une déprotonation peut former le tétrazène **B** stabilisé par le métal. La rupture de **B**, probablement causée par une *rétro*-cycloaddition 1,3-dipolaire pourrait produire l'azoture et le complexe imido zinc-triflyle **C** qui peut être en équilibre avec **D**. À partir de là, deux voies sont possibles. La complexation de l'amine suivie d'un transfert de proton pourrait donner **C** avec un ligand triflamide. L'autre mécanisme plausible est la transimination du complexe **E** donnant le complexe imido-zincique **D**. Ce dernier peut être engagé dans une cycloaddition 1,3-dipolaire avec le TfN₃ pour fournir le complexe **B**. Des investigations sur le mécanisme exact sont cependant toujours en cours.

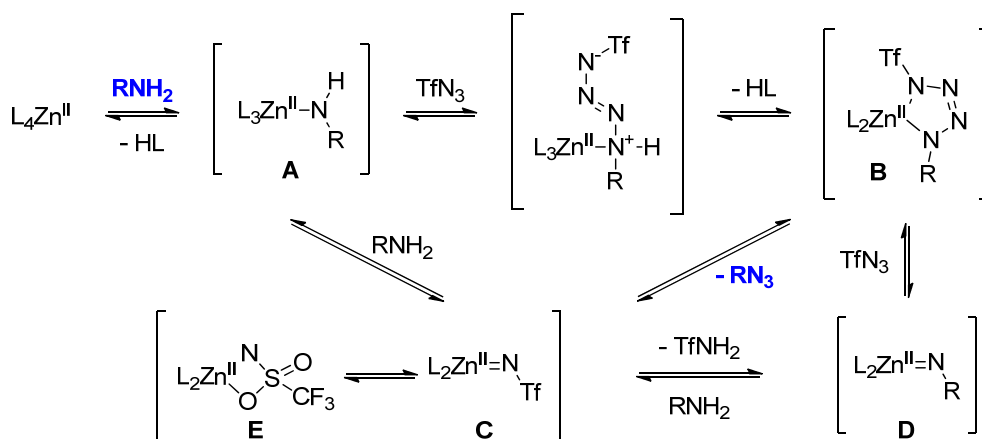


Schéma 27 : Mécanisme possible de la réaction de transfert de diazo métallocatalysée

Cette réaction a été popularisée par l'équipe de Wong¹⁷⁰ mais le TfN₃ a pour inconvénients d'avoir une courte durée de vie, d'être explosif et d'avoir une préparation coûteuse et aléatoire. Ainsi d'autres agents de transferts de diazo (Figure 50) plus stables et moins dangereux ont été

¹⁶⁶ Cavender, C. J. and Shiner, V. J. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3567-3569.

¹⁶⁷ Nyffeler, P. T.; Liang, C.-H.; Koeller, K. M. and Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10773-10778.

¹⁶⁸ Anselme, J. P. and Fischer, W. *Tetrahedron* **1969**, *25*, 855-859.

¹⁶⁹ Fischer, W. and Anselme, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5284-5285.

¹⁷⁰ Alper, P. B.; Hung, S.-C. and Wong, C.-H. *Tet. Lett.* **1996**, *37*, 6029-6032.

développés récemment comme l'azoture d'imidazole-1-sulfonyle **92** sous sa forme chlorhydrate,¹⁷¹ l'azoture de nonafluorobutanesulfonyle **93**,¹⁷² l'azoture de benzotriazol-1-yl-sulfonyle **94**,¹⁷³ ou le 2-azido-1,3-diméthylimidazolium hexafluorophosphate **95**.¹⁷⁴

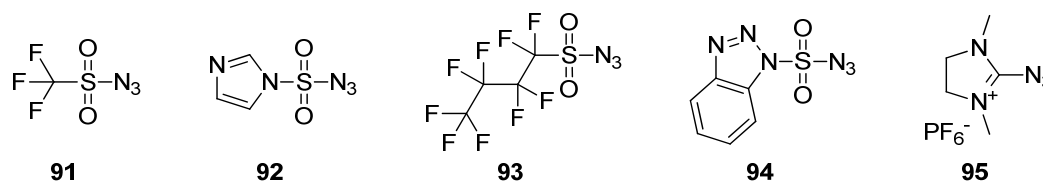


Figure 50 : Agents de transfert de diazo

Certains de ces agent de transfert (TfN₃^{175,176,177} **91** et l'azoture d'imidazole-1-sulfonyle^{178,179} **92**) ont été utilisés pour former des triazoles 1,4-disubstitués. Les modes opératoires se déroulent en deux étapes et font intervenir le sulfate de cuivre (II). La clef de cette réaction monotope réside sur le potentiel de ce réactif. Lors de la première étape, le sulfate de cuivre (II) va catalyser la génération *in situ* de l'azoture. Ensuite, lors de la deuxième étape, après ajout d'ascorbate de sodium, le sulfate de cuivre (II) est réduit en cuivre (I) qui peut catalyser la formation du triazole en présence d'un alcyne (Schéma 28).

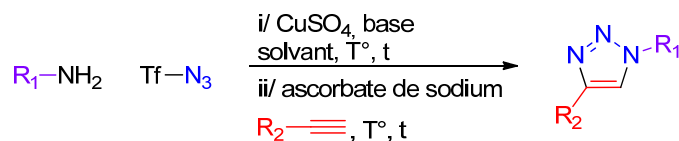


Schéma 28 : Formation monotope de triazoles 1,4-disubstitués à partir d'amines primaires

Seule une publication,¹⁸⁰ parue récemment, traite de la formation de triazoles 1,5-disubstitués *via* une réaction monotope. Celle-ci s'effectue à partir d'halogénures d'alkyle et du complexe de ruthénium Cp*RuCl(PPh₃)₂. Ainsi, aucune réaction monotope à partir d'amines primaires n'a été décrite jusqu'à ce jour. Dans le contexte de ces travaux de thèse impliquant la

¹⁷¹ Goddard-Borger, E. D. and Stick, R. V. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3797-3800.

¹⁷² Suárez, J. R.; Trastoy, B.; Pérez-Ojeda, M. E.; Marín-Barrios, R. and Chiara, J. L. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 2515-2520.

¹⁷³ Katritzky, A. R.; El Khatib, M.; Bol'shakov, O.; Khelashvili, L. and Steel, P. J. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 6532-6539.

¹⁷⁴ Kitamura, M.; Yano, M.; Tashiro, N.; Miyagawa, S.; Sando, M. and Okauchi, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 458-462.

¹⁷⁵ Beckmann, H. S. G. and Wittmann, V. *Org. Lett.* **2006**, *9*, 1-4.

¹⁷⁶ Angelo, N. G. and Arora, P. S. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7963-7967.

¹⁷⁷ Lee, C.-T.; Huang, S. and Lipshutz, B. H. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 3139-3142.

¹⁷⁸ Smith, N. M.; Greaves, M. J.; Jewell, R.; Perry, M. W. D.; Stocks, M. J. and Stonehouse, J. P. *Synlett* **2009**, 1391-1394.

¹⁷⁹ Maisonneuve, S. and Xie, J. *Synlett* **2009**, 2977-2981.

¹⁸⁰ Johansson, J. R.; Lincoln, P.; Nordén, B. and Kann, N. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2355-2359.

formation rapide et efficace d'une chimiothèque d'analogues 1,5-triazoles nous nous proposons de mettre au point une méthodologie permettant d'atteindre ce but (Schéma 29).

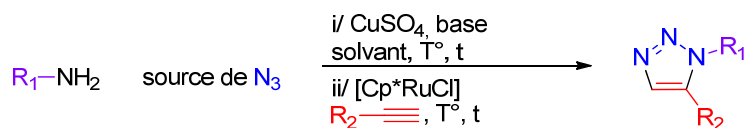


Schéma 29 : Formation monotope de triazoles 1,5-disubstitués à partir d'amines primaires

II. Formation de l'azoture

Pour la formation d'azotures à partir d'amines primaires, l'azoture d'imidazole-1-sulfonyle **92** a été choisi en tant qu'agent de transfert de diazo en partie pour des raisons de simplicité d'obtention. Le fait que de nombreuses publications rapportent l'utilisation de ce réactif sur divers substrats et que des triazoles 1,4-disubstitués ont pu être synthétisés grâce à ce réactif *via* des réactions monotopes nous a aussi poussé à choisir ce composé.

L'utilisation quasi-systématique du méthanol en tant que solvant constitue un des inconvénients majeurs de l'imidazole **92**. En effet, avec les catalyseurs au ruthénium, réaliser la cycloaddition dans des solvants protiques diminue les rendements et cause la formation de produits secondaires.¹⁴⁸ Cependant, avant d'étudier l'influence du solvant, nous avons tenté de reproduire certains résultats publiés avec différentes amines et différents sels métalliques (Tableau 2).

$ R-NH_2 \xrightarrow[\text{MeOH, TA, 16 h}]{\text{sel métallique, base, } 92} R-N_3 $					
Entrée	R-N ₃	Amine	Base	Sel métallique	Rendement [lit] ¹⁷¹
1	96	<i>n</i> -butylamine	K ₂ CO ₃	CuSO ₄ ·5H ₂ O	38 %
2	97	<i>n</i> -heptylamine	K ₂ CO ₃	CuSO ₄ ·5H ₂ O	25 %
3	98	valineOMe	K ₂ CO ₃	CuSO ₄ ·5H ₂ O	75 % [85]
4	98	valineOMe	Et ₃ N	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0 %
5	98	valineOMe	K ₂ CO ₃	ZnCl ₂	89 %
6	99	<i>p</i> -anisidine	K ₂ CO ₃	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0 % [78]
7	100	phénylalanine	K ₂ CO ₃	CuSO ₄ ·5H ₂ O	72 %
8	100	phénylalanine	K ₂ CO ₃	ZnCl ₂	57 %

Tableau 2 : Formation d'azotures à partir de différentes sources d'amines primaires

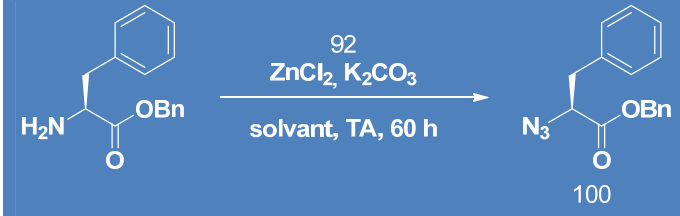
Les résultats obtenus nous indiquent que les amines aliphatiques linéaires ne sont pas très réactives vis-à-vis de cette réaction (entrées 1 et 2). En présence de carbonate de potassium, les

azotures dérivant des acides aminés valine et phénylalanine ont pu être synthétisés avec de bon rendement quel que soit le sel métallique employé (entrées 3, 5, 7 et 8). Contrairement à ce qui a été reporté, la *p*-anisidine s'est révélée dans notre cas inerte (entrée 6).

De plus, deux bases ont été testées, la base inorganique carbonate de potassium et la base organique triéthylamine. Celles-ci ont été utilisées avec succès dans la littérature pour ce type de réaction. Cependant, alors que le K_2CO_3 a donné de bons résultats, la triéthylamine¹⁷⁸ n'a pas permis d'obtenir l'azoture souhaité. La base inorganique a donc été choisie pour la poursuite de l'optimisation.

Étant donné que la valine et son dérivé azoture ne sont pas facilement observables par CCM, cet acide aminé a été abandonné. Pour des raisons pratiques, l'optimisation de cette réaction a donc été effectuée avec l'ester benzylique de la phénylalanine.

Comme évoqué précédemment, le méthanol doit être remplacé par un autre solvant ou son utilisation minimisée. Des essais ont donc été effectués avec un mélange dioxane/méthanol (4:1). Alors que l'utilisation du sulfate de cuivre pentahydraté n'a pas permis d'obtenir le composé **100**, le chlorure de zinc, autre métal pouvant être utilisé pour ce type de réaction, donne l'azoture souhaité de manière quantitative. Ce dernier catalyseur métallique a par conséquent été choisi pour déterminer le solvant optimal de la réaction. Ainsi, plusieurs solvants aprotiques ayant fait leurs preuves lors de réactions de formation de triazoles catalysées par le ruthénium ont été examinés. Les résultats de ce criblage sont présentés dans le Tableau 3.

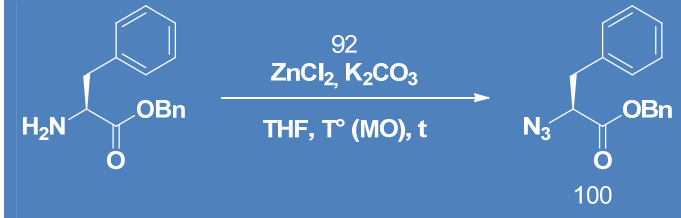


Entrée	Solvant	N ₃ /NH ₂	Rendement
1	dioxane	74/26	74 %
2	CH ₂ Cl ₂	78/22	64 %
3	THF	88/12	88 %
4	DCE	84/16	84 %
5	DMF	/	0 %
6	toluène	72/28	68 %

Tableau 3 : Variation du solvant dans la réaction de formation de l'azoture 100

Les différents essais nous montrent que, mis à part le DMF donnant des produits de dégradation, les solvants aprotiques présentent un bon comportement dans l'obtention de l'azoture **100** avec des rendements compris entre 64 % et 88 %. Pour la suite de l'optimisation, nous avons opté pour le meilleur solvant, le THF, qui permet d'obtenir proprement l'azoture avec un rendement de 88 % (entrée 3).

Afin de réduire le temps de réaction de 60 heures à température ambiante, des essais avec un chauffage micro-ondes ont été effectués (Tableau 4).



Entrée	Température	temps	Rendement
1	90°C	60 min	dégradation
2	90°C	30 min	dégradation
3	90°C	10 min	dégradation
4	75°C	60 min	dégradation
5	75°C	30 min	dégradation
6	60°C	60 min	dégradation
7	60°C	30 min	81 %

Tableau 4 : Variation de la température et du temps du réaction pour la formation de l'azoture 100

Seul un chauffage micro-ondes de 60°C pendant 30 minutes a permis d'obtenir l'azoture avec un bon rendement de 81 %. A une durée ou à des températures supérieures, des produits de dégradation ont seulement été obtenus.

Des essais ont aussi été effectués concernant la dilution de l'amine primaire. En effet, dans la littérature les réactions de formation d'azotures à partir d'amines avec l'imidazole **92** s'opèrent généralement à des dilutions de 0,25 M alors que les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire de formation de triazoles 1,5-disubstitués se font à une dilution d'environ 0,1 M. Cependant, avec cette dernière concentration, l'azoture **100** n'a pas été produit avec les paramètres précédemment déterminés. Du solvant pourra éventuellement être ajouté lors de la deuxième étape de la réaction.

Pour la mise au point de la formation monotope de triazoles à partir d'amines, nous avons préféré utiliser des substrats possédant une réactivité bien connue lors des réactions engagées. Ces substrats sont la benzylamine et le phénylacétylène. Les conditions opératoires optimales déterminées avec les acides aminés précédents ont été appliquées à la benzylamine et ont permis d'obtenir l'azoture de benzyle avec un rendement quantitatif. Il est à noter que l'utilisation du sulfate de cuivre pentahydraté à la place du chlorure de zinc a donné le même résultat (Schéma 30).

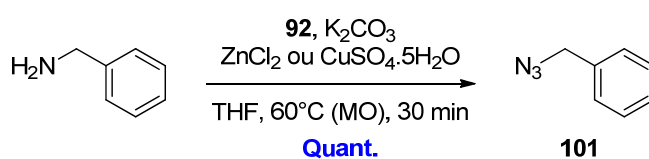


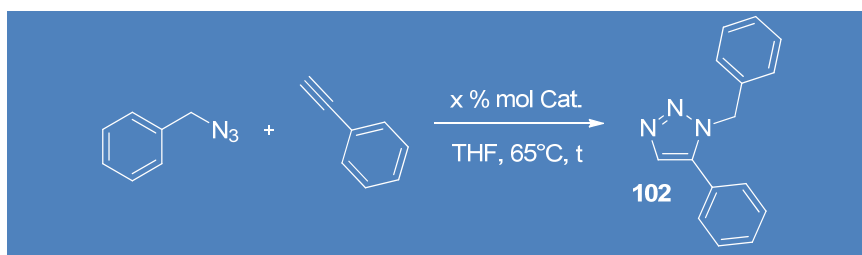
Schéma 30 : Formation de l'azoture de benzyle à partir de la benzylamine

Les conditions de la formation de l'azoture paraissent donc optimales pour envisager la suite de l'optimisation de la formation monotope du triazole **102**.

III. Formation du triazole

Comme vu précédemment, la cycloaddition 1,3-dipolaire doit être effectuée dans le THF. Peu d'exemples dans la littérature rapportent cette réaction entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène dans ce solvant. Zhang et al.¹⁴⁷ annonce un rendement de 74 % alors qu'un rendement corrigé de 93 % (90 % de conversion) est obtenu selon Rasmussen et al.¹⁴⁹ Malheureusement, lorsque nous avons reproduit les cycloadditions dans ces deux conditions, les rendements étaient inférieurs à ceux décrits précédemment. Il nous a alors fallu optimiser la réaction. Pour pouvoir quantifier les améliorations obtenues, les rendements ont été déterminés par RMN ¹H grâce à un étalon interne, le malononitrile.

Les différents essais effectués pour obtenir le triazole **102** sont présentés dans le Tableau 5. Un équivalent d'azoture et d'alcyne ont été mis en réaction avec le catalyseur au ruthénium dans du THF à 65°C.



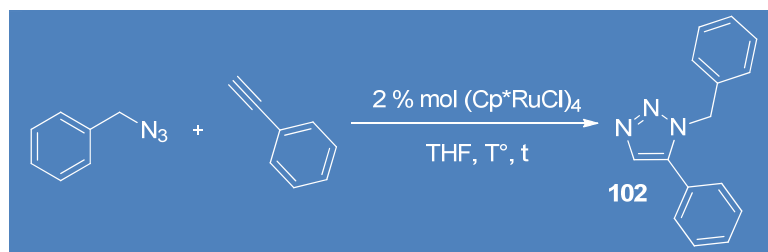
Entrée	Catalyseur	x	[Réactif]	Temps	Rendement
1	Cp*RuCl(PPh ₃) ₂	6 % mol	0,1 M	30 min	30 %
2	(Cp*RuCl) ₄	6 % mol	0,1 M	30 min	20 %
3	Cp*RuCl(COD)	6 % mol	0,1 M	30 min	10 %
4	Cp*RuCl(PPh ₃) ₂	2 % mol	0,2 M	120 min	50 %
5	(Cp*RuCl) ₄	2 % mol	0,2 M	120 min	60 %
6	(Cp*RuCl) ₄	4 % mol	0,2 M	120 min	40 %
7	(Cp*RuCl) ₄	3 % mol	0,2 M	120 min	50 %
8	(Cp*RuCl) ₄	1 % mol	0,2 M	120 min	20 %

Tableau 5 : Optimisation de la réaction de cycloaddition

Ces résultats indiquent premièrement que les catalyseurs Cp*RuCl(PPh₃)₂ et (Cp*RuCl)₄ sont plus performants que Cp*RuCl(COD) (entrées 1 à 3). Pour les meilleurs catalyseurs, l'augmentation du temps et de la concentration en réactifs et la diminution de la charge catalytique ont permis d'améliorer le rendement (entrées 4 et 5). Les bruts réactionnels étant plus propres avec (Cp*RuCl)₄,

ce catalyseur a été gardé pour la suite de l'optimisation. L'influence de la charge catalytique a ensuite été étudiée. Les entrées 5 à 8 montrent que la charge optimale est de 2 % molaire.

Le meilleur catalyseur déterminé, quelques ajustements ont été effectués pour tenter d'améliorer le rendement de la réaction (Tableau 6).



Entrée	N ₃	Température	Temps	Rendement RMN
1	1 éq.	65°C	120 min	60 %
2	1,1 éq.	65°C	120 min	70 %
3	1,1 éq.	100°C (MO)	20 min	60 %

Tableau 6 : Optimisation de la réaction de cycloaddition

Mettre en léger excès l'azoture par rapport à l'alcyne nous a permis d'augmenter le rendement à 70 %. Un essai a aussi été effectué par chauffage micro-ondes. Bien que dans ce dernier cas le rendement diminue (60 %), ces conditions sont intéressantes étant donné que le temps de réaction est divisé par six.

Les conditions réactionnelles optimales ont ainsi été déterminées et ont permis d'obtenir le triazole **102** avec un rendement de 70 % par chauffage classique et 60 % par chauffage micro-ondes. Même si ces rendements sont perfectibles, ces conditions ont été utilisées pour mettre en place la réaction monotope et estimer la validité de la stratégie.

IV. Formation monotope du triazole

Les conditions de la réaction de la formation de l'azoture et de la cycloaddition ont donc été optimisées dans le THF avec un chauffage micro-ondes. Nous avons ensuite effectué la réaction monotope avec ces paramètres. Cependant, le triazole 1,5 disubstitué **102** attendu n'a pas été formé et, contre toute attente, du régioisomère 1,4-disubstitué **103** a été obtenu en faible quantité (Schéma 31).

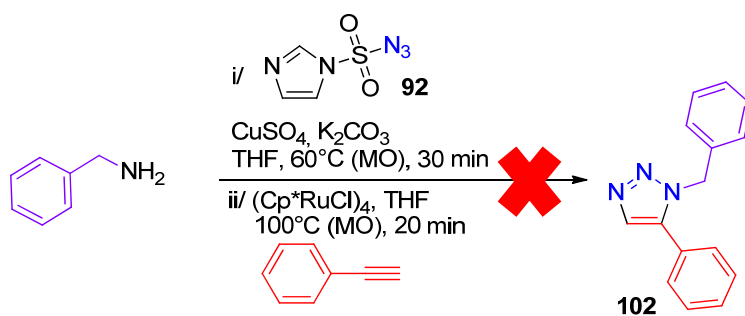
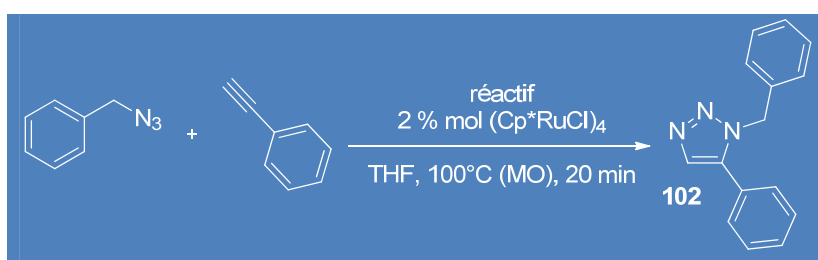


Schéma 31 : Réaction monotope avec l'agent de transfert **92**

Afin, de pouvoir expliquer ce phénomène, quelques investigations ont été menées.

Premièrement, si le triazole 1,5-disubstitué ne se forme pas, le catalyseur au ruthénium doit être empoisonné. Pour en trouver la cause, nous avons réalisé la cycloaddition entre l'azoture de benzyle et le phénylacétylène catalysée par $(Cp^*RuCl)_4$ en présence d'un des réactifs présents dans la réaction de transfert de diazo (Tableau 7).



Entrée	réactif	éq.	Rendement RMN
1	ZnCl ₂	0,5	0 %
2	CuSO ₄	0,5	40 %
3	K ₂ CO ₃	3	37 %
4	92	1	0 %
5	benzylamine	1	0 %

Tableau 7 : Influence de l'ajout d'un réactif de la réaction de transfert de diazo sur la cycloaddition

Lors de ces expériences, aucun triazole 1,4-disubstitué n'a été formé, ce qui implique que la formation du triazole **103** est due à la combinaison de plusieurs réactifs de la réaction de transfert de diazo. Ces résultats permettent de montrer que la présence du carbonate de potassium et du sulfate de cuivre inhibe légèrement la formation du triazole 1,5-disubstitué avec un rendement d'environ 40 % (entrées 3 et 4). Par contre, l'introduction du chlorure de zinc, de l'imidazole **92** ou de la benzylamine ne permet pas d'obtenir le triazole **102** (entrées 1, 4 et 5). L'amine primaire pourrait désactiver le catalyseur par coordination mais des réactions catalysées au ruthénium (II) avec ces substrats existent dans la littérature.^{181,182} Pour appuyer la possible incompatibilité des amines

¹⁸¹ Cho, C. S. *Catal. Comm.* **2006**, 7, 1012-1014.

¹⁸² Marsella, J. A. *J. Organomet. Chem.* **1991**, 407, 97-105.

primaires pour cette réaction, il faut noter que la littérature recense la formation de seulement un triazole 1,5-disubstitué *via* une catalyse au ruthénium à partir d'un substrat contenant une amine primaire.¹⁴⁸ Pour effectuer la réaction monotope, il faut donc que la conversion de la première étape soit totale et que l'imidazole-1-sulfonamide issu du transfert de diazo soit dégradé.

Nous avons ensuite effectué la cycloaddition en présence de sulfate de cuivre et de carbonate de potassium avec ou sans la présence d'un des réactifs gênant la cyclisation (Tableau 8).

Entrée	92	BnNH ₂	Rendement 102 (1,5)	Rendement 103 (1,4)
1	non	non	36 %	0 %
2	non	oui	dégradation	dégradation
3	oui	non	0 %	21 %

Tableau 8 : Influence de la benzylamine ou de 92 sur la cycloaddition

Les résultats indiquent qu'en présence simultanée de carbonate de potassium et de sulfate de cuivre, le triazole 1,5-disubstitué **102** est formé avec un rendement d'environ 40 %. Avec ces réactifs additionnés de la benzylamine, seuls des produits de dégradation sont obtenus révélant de nouveau une certaine incompatibilité entre l'amine et la réaction de cyclisation. Enfin, la présence de l'imidazole **92**, de sulfate de cuivre et de carbonate de potassium avec les réactifs de la cycloaddition catalysée au ruthénium conduit à la formation de 21 % de triazole 1,4-disubstitué **103** sans trace du régioisomère **102**. L'agent de transfert de diazo **92** est donc en parti responsable de la formation du composé **103**. De plus, la formation du triazole 1,4-disubstitué implique la présence de cuivre (I), cependant le mécanisme de réduction comprenant ces réactifs nous paraît obscur étant donné qu'aucun agent réducteur n'est présent dans le milieu réactionnel.

Enfin, nous avons réalisé la synthèse monotope sans le catalyseur au ruthénium (Schéma 32). Cette réaction a mené exclusivement à la formation du triazole 1,4-disubstitué **103**, signe de la présence de cuivre (I).

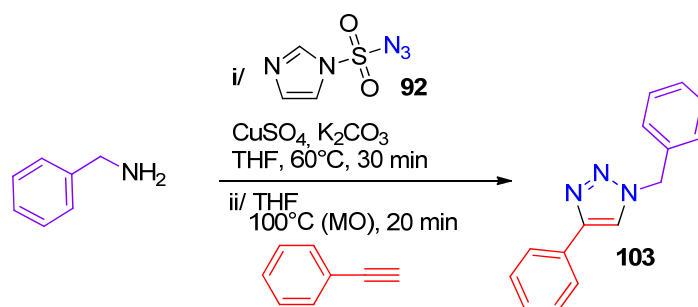


Schéma 32 : Synthèse monotope sans ruthénium

Ainsi, l'utilisation de l'agent de transfert **92** pour réaliser la synthèse monotope de triazole 1,5-disubstitué paraît compromise. À cette fin, il faut s'affranchir du métal étant donné que le sulfate de cuivre cause la formation de triazoles 1,4-disubstitués et que le chlorure de zinc désactive le catalyseur. L'agent de transfert 2-azido-1,3-diméthylimidazolium hexafluorophosphate **95** paraît être un bon candidat pour résoudre ce problème puisqu'il n'a pas besoin de métal pour former l'azoture à partir d'une amine primaire.¹⁷⁴ Des essais sont en cours au laboratoire pour mener à bien ce projet.

Conclusion

Dans le contexte de la synthèse d'analogues triazoles en vue de remplacer le noyau imidazole des inhibiteurs **53** et **54** synthétisés au laboratoire (Figure 51), la molécule cible **87** a pu être synthétisée après 5 étapes. Cette molécule est issue de la saponification du triazole 1,5-disubstitué formé par cycloaddition catalysée au ruthénium mettant en jeu l'ester méthylique du tripeptide VFM N-propargylé **76** et l'azoture de farnésyle **73**. Le rendement global de cette synthèse convergente est de 15 %. À cause du phénomène de réarrangement de l'azoture allylique, deux isomères ont été obtenus mais n'ont pas été séparés lors de la dernière étape.

Via une réaction catalysée au cuivre (I), l'analogue triazole 1,4-disubstitué **80** a aussi pu être formé.

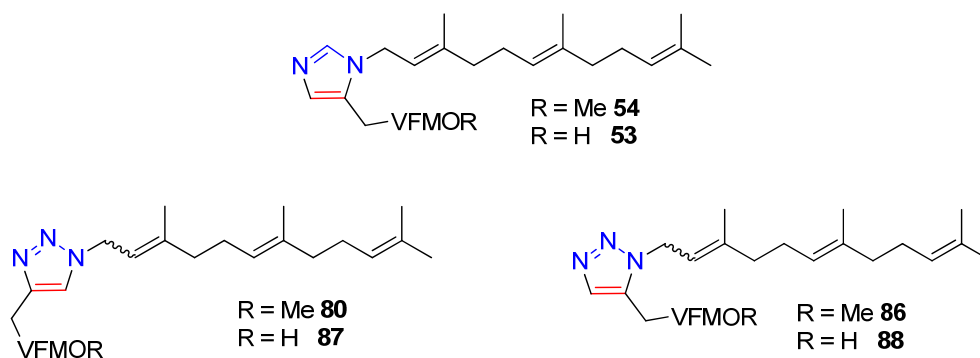


Figure 51 : Analogues triazoles, mimes de l'analogue imidazole

Les activités biologiques de ces composés sont malheureusement moins bonnes que celles de leurs analogues imidazoles. En effet, avec des CI_{50} comprises entre 1 μM et 10 μM sur FTase humaine ou sur culture de parasites (*P. falciparum* et *T. brucei*), les analogues triazoles n'égalent pas les activités submicromolaires obtenues avec le meilleur analogue imidazole. Cependant, le noyau imidazole revêt une réactivité particulière qui limite la synthèse de nombreux analogues. La simplicité de la formation du noyau triazole *via* des réactions métallocatalysées permettraient de fournir facilement une librairie de molécules. Celle-ci aiderait à déterminer l'influence des différents substituants branchés sur le noyau azoté central.

Pour obtenir cette chimiothèque d'une manière plus efficace, une stratégie de synthèse monotopie a été envisagée. Pour cela, nous nous sommes inspirés des synthèses monotopes de triazoles 1,4-disubstitués en présence de sulfate de cuivre permettant de former l'azoture *in situ* à partir d'une amine primaire et de réaliser la cycloaddition avec l'ajout d'un agent réducteur. Pour la formation des triazoles 1,5-disubstitués, les conditions opératoires de la formation de l'azoture avec l'azoture d'imidazole-1-sulfonyle **92** ont dû être optimisées afin d'être compatibles avec la cycloaddition. Prenant en compte les paramètres déterminés, le protocole de la cycloaddition a dû être amélioré. Les réactions ont été effectuées dans le THF, solvant déterminé comme étant le

meilleur solvant pour cette réaction monotope. Cependant, la formation de traces de cuivre (I) lors de la génération de l'azoture *in situ* n'a pas permis d'obtenir le triazole 1,5-disubstitué souhaité mais son régioisomère 1,4-disubstitué en faible quantité (Schéma 33).

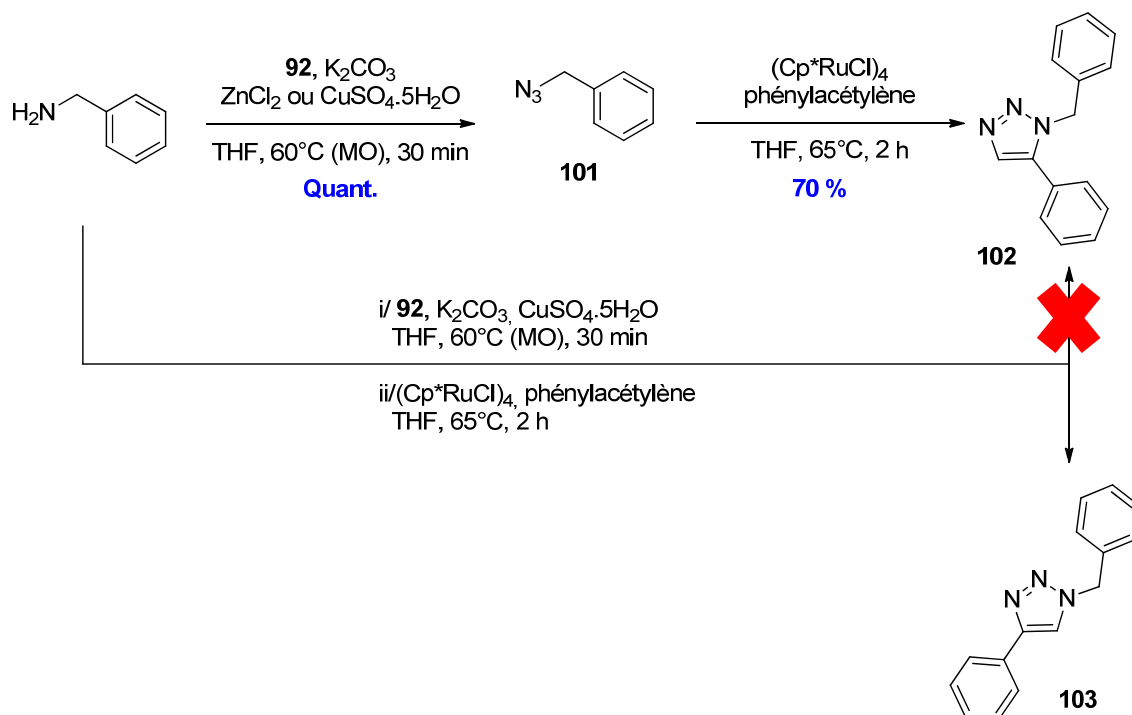


Schéma 33 : Résumé

Par conséquent, la présence de métal est à éviter. L'agent de transfert de diazo **95** peut donc être envisagé car il n'a pas besoin de métal pour former un azoture à partir d'une amine primaire. C'est pourquoi, l'utilisation du composé **95** nous paraît prometteuse pour effectuer la réaction monotope.

APPROCHE PAR CRIBLAGE :
SYNTHÈSE ET ÉVALUATION
BIOLOGIQUE D'ANALOGUES
THIOPHÈNES

Chapitre I : Les composés thiophènes biologiquement actifs

Le noyau thiophène est considéré comme l'un des bioisostères du groupement phényle retrouvé par exemple dans l'acide aminé phénylalanine. C'est pourquoi il est usuel de remplacer le noyau benzénique par cet hétérocycle aromatique en chimie médicinale afin de synthétiser de nouveaux produits potentiellement actifs.

Cette famille de composés est très présente dans différentes molécules biologiquement active mais le degré de substitution du noyau thiophène varie.

Parmi les thiophènes monosubstitués, on peut citer :

- le nocodazole **104** qui interfère avec la polymérisation des microtubules¹⁸³ et pourrait avoir un impact dans la lutte contre le cancer ;
- le thiényltrifluoroacétone **105** qui est un agent chélatant bloquant la respiration cellulaire par ligation à l'ubisemiquinone,¹⁸⁴
- la tilétamine **106** (Telazol® si combiné avec le zolazepam, tous deux sous forme chlorhydrate) qui est un anesthésiant utilisé en médecine vétérinaire pour les chiens et les chats ;
- l'éprosartan **107** (Teveten®) qui est un antagoniste des récepteurs de l'angiotensine II¹⁸⁵ utilisé dans le traitement de l'hypertension artérielle.

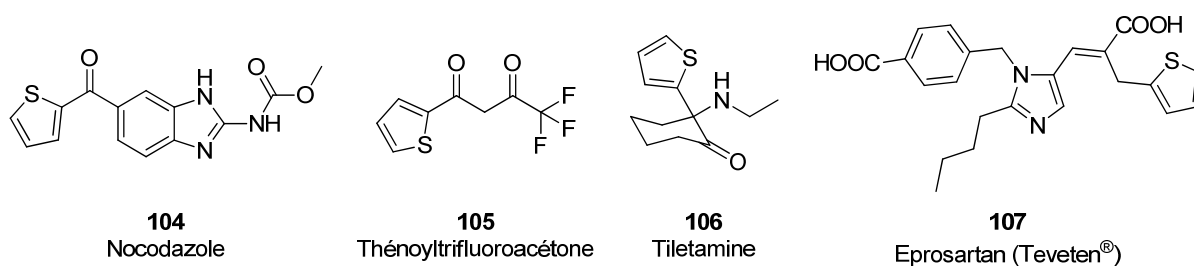


Figure 52 : Thiophènes monosubstitués possédant une activité biologique

Le noyau thiophène existe également dans certaines structures de médicaments où il va être disubstitué (Figure 53). Parmi ces principes actifs disponibles sur le marché, on peut énumérer :

- l'acide tiaprofénique **108** (Surgam®), un anti-inflammatoire non stéroïdien ;

¹⁸³ De Brabander, M. J.; Van de Velre, R. M. L.; Aerts, F. E. M.; Borgers, M. and Janssen, P. A. J. *Cancer Res.* **1976**, *36*, 905-916.

¹⁸⁴ Ingledew, W. J. and Ohnishi, T. *Biochem. J.* **1977**, *164*, 617-620.

¹⁸⁵ Edwards, R. M.; Aiyar, N.; Ohlstein, E. H.; Weidley, E. F.; Griffin, E.; Ezekiel, M.; Keenan, R. M.; Ruffolo, R. R. and Weinstock, J. J. *Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, *260*, 175-181.

- la ticlopidine **109** (Ticlid®), antiagrégant plaquettaire utilisé en prévention des complications artérielles après un accident vasculaire cérébral, en prévention des accidents coronariens chez les patients souffrant d'arthrites des membres inférieurs ou en prévention des thromboses ;
- le kétotifène **110** (Zaditen®), un antihistaminique utilisé dans le traitement préventif de l'asthme bronchique allergique ;
- le pizotifène **111** (Sanmigran®), un dérivé antisérotoninergique prescrit dans le traitement de fond de la migraine, analogue non carbonylé du kétotifène ;
- le raltitrexed **112** (Tomudex®), inhibiteur de la thymidylate synthase utilisé en chimiothérapie pour traiter la progression métastatique des cancers colorectaux.

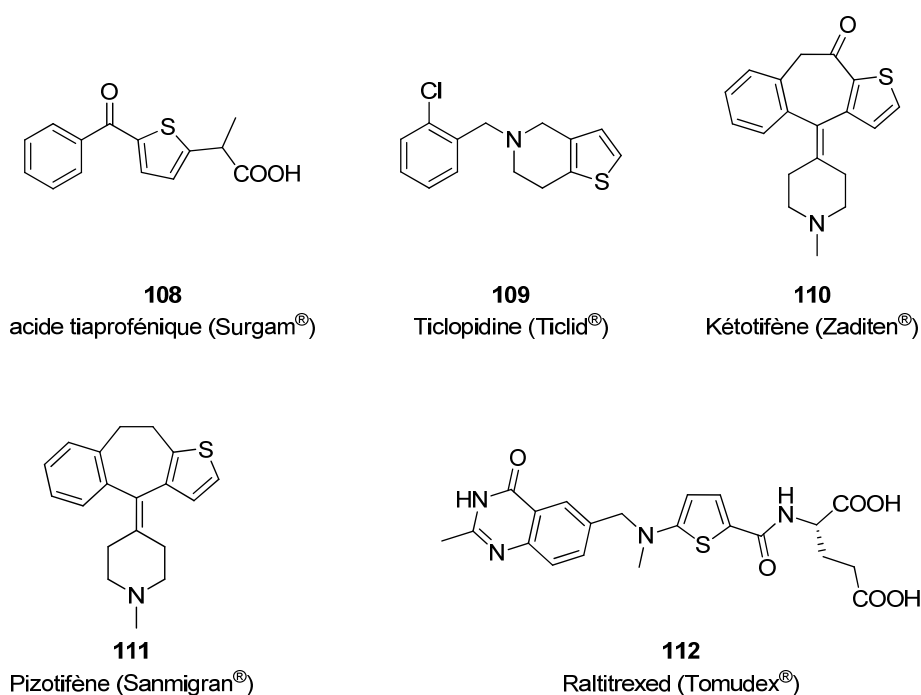


Figure 53 : Thiophènes disubstitués en pharmaceutique

D'autres médicaments contenant un noyau thiophène trisubstitué (Figure 54) ont reçu l'autorisation de mise sur le marché, parmi lesquels on peut nommer :

- l'articaïne **113** (Articadent®), anesthésique local fréquemment utilisé en odontologie, commercialement disponible sous sa forme chlorhydrate;
- le lornoxicam **114** (Xefo®), anti-inflammatoire non stéroïdien aux propriétés analgésiques ;
- le dorzolamide **115** (Trusopt®), inhibiteur de l'anhydrase carbonique ophtalmique, prescrit dans le traitement des glaucomes ;
- l'olanzapine **116** (Zyprexa®), un des antipsychotiques les plus utilisés actuellement dans le traitement de la schizophrénie et des délires maniaques des troubles bipolaires.

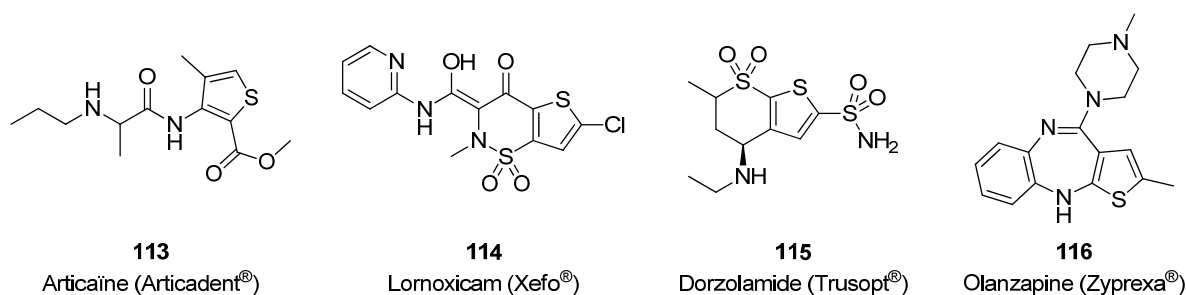


Figure 54 : Thiophènes trisubstitués en pharmaceutique

Les molécules biologiquement actives présentées dans ce paragraphe ne représentent qu'une partie des composés existants qui forment en réalité une liste beaucoup plus exhaustive.

En revanche, aucun thiophène tétrasubstitué ne fait partie de la structure de médicaments mis sur le marché à l'heure actuelle même si certains composés ont révélé de bonnes activités biologiques.

Par exemple, certaines molécules ont présenté des activités anti-inflammatoires intéressantes.¹⁸⁶ Ces thiophènes sont assez différents de nos analogues puisque le composé le plus actif **117** dans cette série est un noyau thiophène lié à deux cycles aromatiques (Figure 55) : un groupement phénylamino en position 2 et un substituant *p*-méthoxybenzyle en position 5. Il comporte une fonction acide carboxylique en position 3 et un méthyle en 4.

Les équipes d'Eli Lilly ont rapporté des thiophènes très proches de nos produits actifs qui se comporteraient comme des modulateurs allostériques des récepteurs AMPA.¹⁸⁷ Le composé **118** le plus actif dans ce domaine s'est révélé être l'acide 3-(4-*t*-butylphényl)-4-cyano-5-éthylthiophène-2-carboxylique. Il ne diffère de notre chef de file que par la chaîne éthyle en position 5 et par le substituant du noyau phényle.

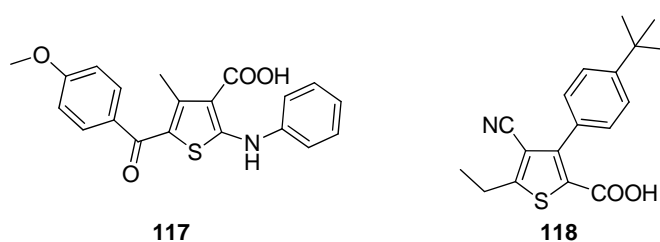


Figure 55 : Thiophènes tétrasubstitués biologiquement actifs

¹⁸⁶ Molvi, K. I.; Vasu, K. K.; Yerande, S. G.; Sudarsanam, V. and Haque, N. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 1049-1058.

¹⁸⁷ Fernandez, M.-C.; Castaño, A.; Dominguez, E.; Escribano, A.; Jiang, D.; Jimenez, A.; Hong, E.; Hornback, W. J.; Nisenbaum, E. S.; Rankl, N.; Tromiczak, E.; Vaught, G.; Zarrinmayeh, H. and Zimmerman, D. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5057-5061.

Comme nous l'avons vu, les thiophènes sont présents dans de nombreux composés d'intérêt thérapeutique, soit comme médicaments déjà mis sur le marché ou en tant que produits encore à l'étude. En revanche, les thiophènes tétrasubstitués ne représentent qu'une faible proportion de ces molécules. De telles structures n'ont jamais été reportées comme pouvant être actives sur la FTase, ce qui en fait des structures originales pour l'inhibition de notre enzyme.

Chapitre II : Synthèse du thiophène

La synthèse de nos composés repose sur des méthodes efficaces consistant à former le cycle thiophène correctement fonctionnalisé pour accéder aux analogues désirés. Quelques rappels sur la formation de ces cycles aromatiques semblent nécessaires.

I. Rappels sur la formation du noyau thiophène

Plusieurs méthodes de choix sont utilisées dans la création de tels cycles parmi lesquelles les réactions de Paal, Gewald ou encore Fiesselmann.

Décrite pour la première fois en 1885 par Paal,¹⁸⁸ la condensation de dérivés 1,4-dicarbonylés avec une source de soufre procède en quatre étapes (Schéma 34). La formation du composé thiocarbonylé **B1** a lieu par thionation du composé dicarbonylé initial **A1** à l'aide de P₄S₁₀ ou du réactif de Lawesson,¹⁸⁹ puis s'ensuit une tautomérisation pour former l'énethiol **C1** qui peut cycliser. Le dihydrothiophène **D1** formé peut enfin s'aromatiser en thiophène **E1** par perte de H₂O ou H₂S. C'est une réaction également très utile pour former les noyaux furane (synthèse de Paal)¹⁹⁰ et pyrrole (synthèse de Paal-Knorr).¹⁹¹

Malheureusement, cette réaction est peu décrite pour la formation de thiophènes tétrasubstitués, particulièrement quand ces derniers portent des groupements attracteurs. De plus, la présence d'un cétoester (pour former le composé thiophène possédant une fonction ester en position R₁ ou R₄) risquerait de perturber la cyclisation à cause de l'introduction d'un troisième groupement carbonyle. Ainsi cette méthode ne semblait pas optimale pour la synthèse de nos composés.

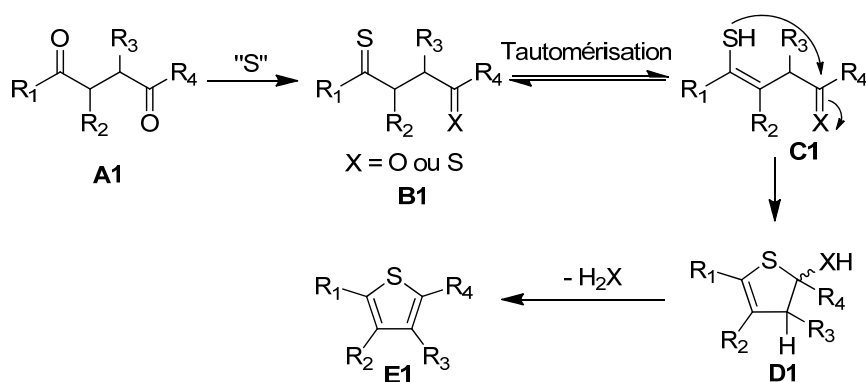


Schéma 34 : Réaction de Paal

¹⁸⁸ Paal, C. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 367-371.

¹⁸⁹ Ozturk, T.; Ertas, E. and Mert, O. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5210-5278.

¹⁹⁰ Paal, C. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 2756-2767.

¹⁹¹ Knorr, L. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 299-311.

La réaction de Gewald,¹⁹² qui consiste en la condensation d'un acide avec un dérivé nitrile activé pour former l'ènénitrile **A2** qui, en présence de soufre élémentaire et d'une base, permet l'obtention de 2-aminothiophènes **E2** (Schéma 35).¹⁹³

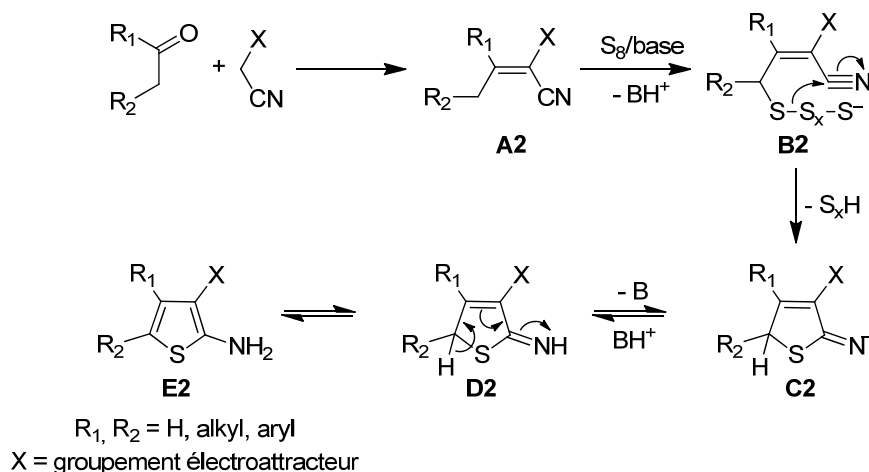


Schéma 35 : Réaction de Gewald

Cette réaction faisant intervenir une fonction amine s'est révélé être intéressante dans le but d'obtenir des analogues aminothiophènes du composé actif afin de remplacer la fonction thioisopropyle par une fonction amine.

La réaction de Fiesselmann¹⁹⁴ fait initialement intervenir des dérivés de l'acide thioglycolique avec l'ester α,β -acétylénique pour former en présence de base les acides 3-hydroxy-2-thiophénecarboxyliques **G3**. Le mécanisme de cette réaction (Schéma 36) débute par l'addition de deux thiolates en position β par rapport au carbonyle pour former le composé **D3**. Puis, en milieu basique il se forme un énolate **E3** qui peut cycliser et former d'abord le tétrahydrothiophène **G3** qui, par élimination de thioglycolate de méthyle puis tautomérie, conduit au noyau thiophène.

¹⁹² Gewald, K.; Schinke, E. and Böttcher, H. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 94-100.

¹⁹³ Sabnis, R. W.; Rangnekar, D. W. and Sonawane, N. D. *J. Het. Chem.* **1999**, *36*, 333-345.

¹⁹⁴ Fiesselmann, H.; Schipprak, P. and Zeitler, L. *Chem. Ber.* **1954**, *87*, 841-848.

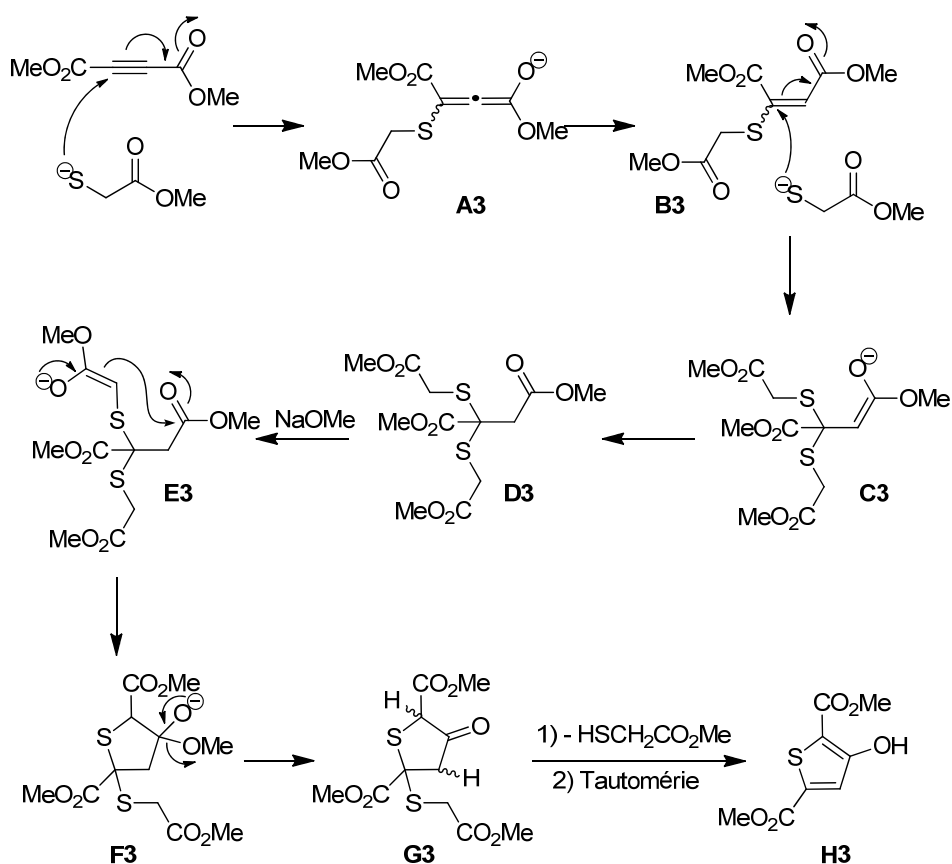


Schéma 36 : Réaction de Fiessemann

Beaucoup de variantes de la réaction de Fiessemann ont été mises au point.¹⁹⁵ Parmi ces dernières, les synthèses utilisant des β -halovinylnitriles ou des β -halovinylcétones en tant que partenaires de couplage du thioglycolate de méthyle (Schéma 37) sont très intéressantes. Elles permettent d'obtenir des thiophènes tétrasubstitués portant une fonction ester en position 2 et tolèrent de nombreux groupements sur les autres positions du cycle aromatique.

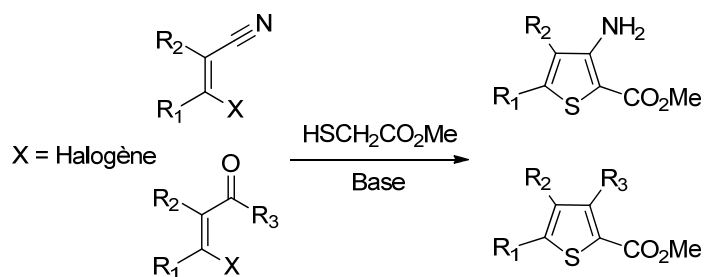


Schéma 37 : Réaction de Fiessemann utilisant des β -halovinylnitriles ou des β -halovinylcétones

Ces deux variantes ont été utilisées pour la synthèse du composé actif **56**. Nous avons alors envisagé deux approches différentes pour parvenir à sa synthèse : soit à partir du malononitrile, soit à partir de la *p*-chloroacétophénone.

¹⁹⁵ Li J.-J. in *Name Reactions in Heterocyclic Chemistry* Ed. Wiley-Interscience, **2005**, p 184-192.

II. Voie A : synthèse à partir du malononitrile

Au laboratoire, S. Lethu a développé lors de ses travaux de thèse¹²² une méthode efficace pour synthétiser le composé **56** en cinq étapes avec un rendement global de 59 %.

La première étape consiste à former, à partir du malononitrile commercial, le cétène dithioacétal¹⁹⁶ **119** qui cyclise selon une variante de la réaction de Fiessemann avec le thioglycolate d'éthyle.^{197,198} Le 3-aminothiophène tétrasubstitué **120** obtenu est ensuite engagé dans une réaction modifiée de Sandmeyer¹⁹⁹ remplaçant la fonction amine par un brome. La création de la liaison bisaromatique entre le thiophène **121** et le dérivé phényle a été effectuée par couplage organopalladié de Suzuki-Miyaura.^{200,201} Enfin la dernière étape reposait sur une saponification de la fonction ester **122** par la soude pour former l'acide désiré **56** (Schéma 38).

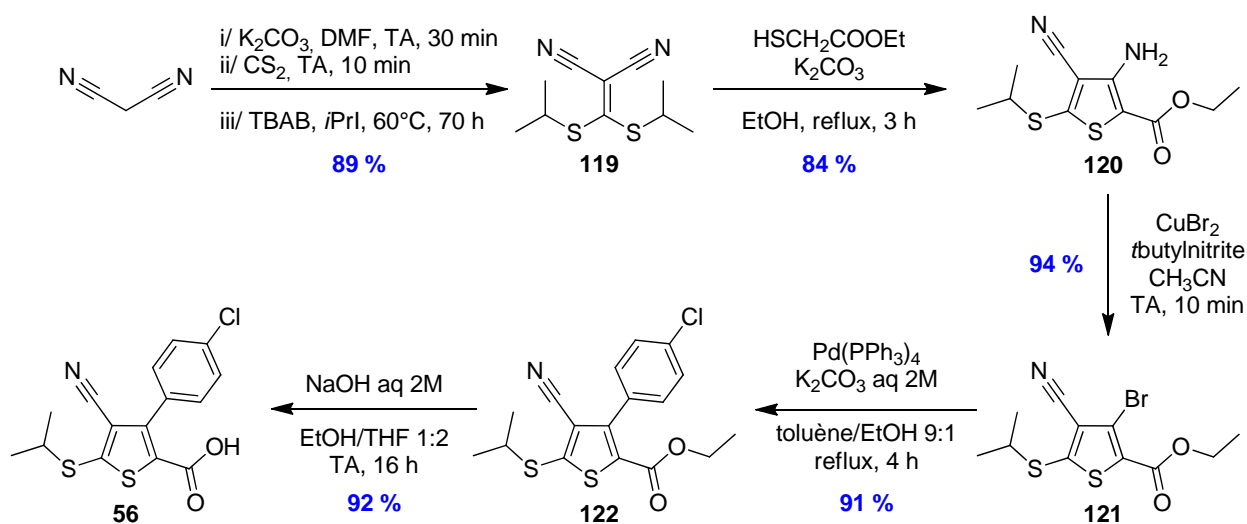


Schéma 38 : Synthèse totale du thiophène **56** à partir du malononitrile

Cette synthèse très efficace a donné lieu à la conception d'une bibliothèque d'analogues. L'utilisation de nombreux acides phénylboroniques commerciaux a permis d'obtenir différents thiophènes en position 3. Cette position a aussi pu être modulée grâce à d'autres réactions métallocatalysées. La fonction acide 2 a pu être modifiée en d'autres groupements fonctionnels grâce à sa réactivité. Enfin, le thioéther en position 5, qui se trouve sur un cycle appauvri en électrons peut être substitué sous sa forme oxydée ou non (Schéma 39).¹²³

¹⁹⁶ Baraldi, P. G.; Fruttarolo, F.; Tabrizi, M. A.; Preti, D.; Romagnoli, R.; El-Kashef, H.; Moorman, A.; Varani, K.; Gessi, S.; Merighi, S. and Borea, P. A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1229-1241.

¹⁹⁷ Sommen, G.; Comel, A. and Kirsch, G. *Synthesis* **2003**, 735-741.

¹⁹⁸ Tominaga, Y.; Luo, J.-K. and Castle, R. N. *J. Het. Chem.* **1994**, *31*, 771-773.

¹⁹⁹ Doyle, M. P.; Siegfried, B. and Dellaria, J. F. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 2426-2431.

²⁰⁰ Miyaura, N. and Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.

²⁰¹ Kotha, S.; Lahiri, K. and Kashinath, D. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9633-9695.

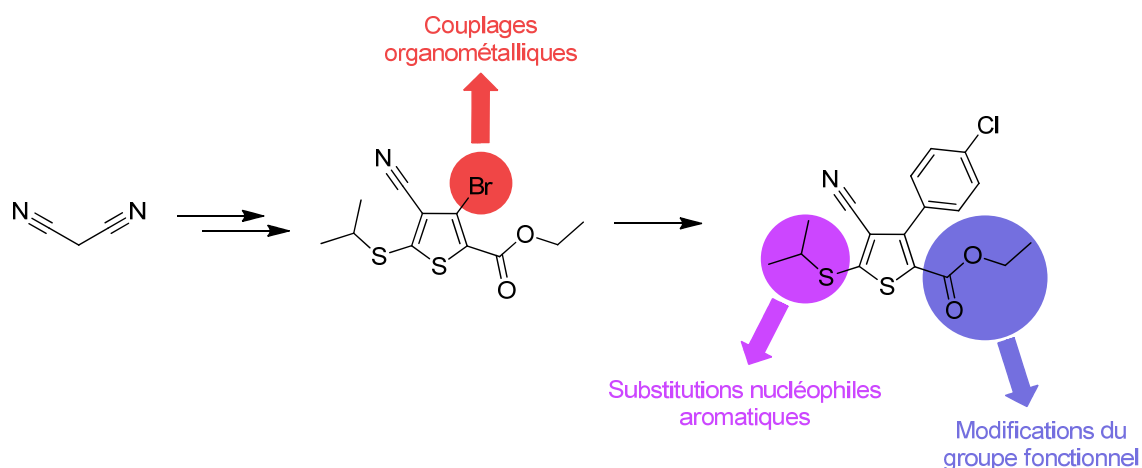


Schéma 39 : Points de modulation pour la synthèse d'analogues à partir de la voie A

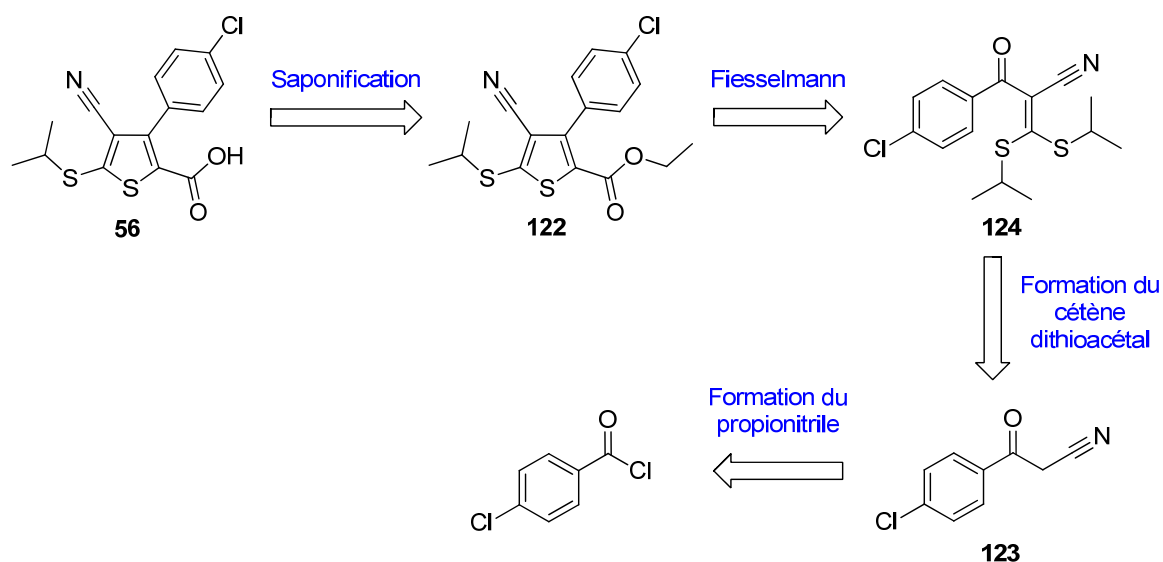
Cette voie de synthèse permet de modifier trois des quatre substituants du cycle thiophène mais ne permet ni d'exploiter l'influence du groupement nitrile, ni de modifier la nature du groupement aromatique central. De plus certaines fonctions n'ont pas pu être introduites lors des couplages de Suzuki-Miyaura. Nous avons alors imaginé une autre voie de synthèse où ces modifications seraient possibles.

III. Voie B : synthèse à partir de la cétone aromatique

III.I. Rétrosynthèse envisagée

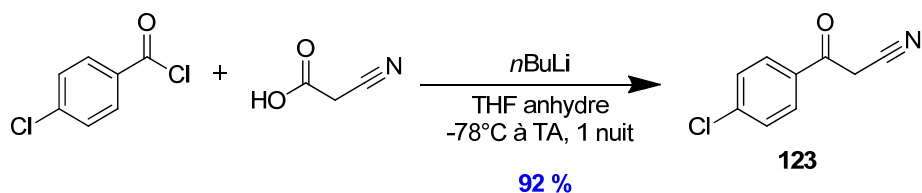
La rétrosynthèse de l'acide **56** (Schéma 40) envisageait d'obtenir, avant la saponification, l'ester **122** formé par réaction de Fiessemann mettant en jeu le cétène dithioacétal **124**. Ce composé provient de la déprotonation du *p*-chlorobenzoylpropionitrile **123** résultant de la substitution du chlorure de *p*-chlorobenzoyle.

Chacune de ces étapes a fait l'objet de précédents travaux décrits dans la littérature permettant de mettre en place une synthèse efficace pour la synthèse de ce composé et celle d'analogues.



III.2. Synthèse réalisée

La première étape consiste à former le propionitrile **123** (Schéma 41) correspondant par déprotonation de l'acide 2-cyanoacétique par du *n*-butyllithium puis attaque nucléophile sur le chlorure de *p*-chlorobenzoyl suivie du départ du chlore.¹⁸⁷



La deuxième étape de la synthèse permet de former le cétène dithioacétal à partir de **123**. Suivant les travaux pionniers de Dalgaard²⁰² et Nilsson²⁰³ cette réaction procède par étapes (Schéma 42). Premièrement, un des protons acides du propionitrile **123** est arraché en milieu basique, l'anion formé s'additionnant sur le disulfure de carbone. Ensuite, un deuxième équivalent de base permet de déprotoner la fonction thiol. Le dithiolate est piégé par un électrophile tel que l'iodure d'isopropyle pour donner le cétène dithioacétal **124** avec un bon rendement de 82 %.

²⁰² Dalgaard, L.; Kolind-Andersen, H. and Lawesson, S. O. *Tetrahedron* **1973**, *29*, 2077-2085.

²⁰³ Nilsson, N. H. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 3181-3184.

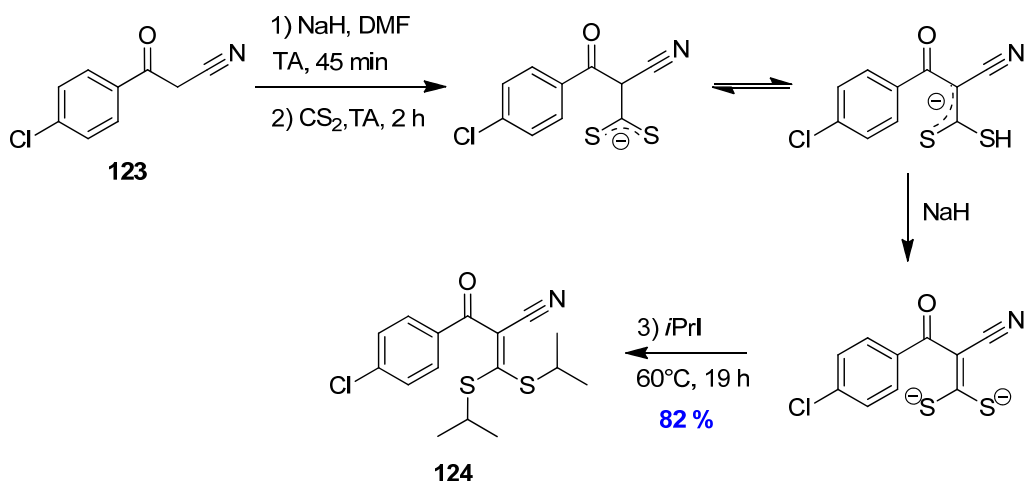


Schéma 42 : Mécanisme de la synthèse du cétène dithioacétal **124**

Peu de travaux mentionnent la cyclisation de β -vinylnitriles présentant un groupement partant thioalkyle. En règle générale, un atome halogéné joue ce rôle lors de la substitution par le thioglycolate d'éthyle.^{204,205,206} Cependant, ces réactions sont réalisables en milieu basique avec de bons rendements (Schéma 43).^{197,198} Dans ces conditions, le thiolate formé substitue d'abord des groupements thio-*i*-propyles de **124** puis le proton en α du carbonyle est arraché. S'ensuit alors la cyclisation avec le groupement carbonyle pour former l'alcoolate. Enfin, l'aromaticité du cycle thiophène est instaurée par perte d'une molécule d'eau.

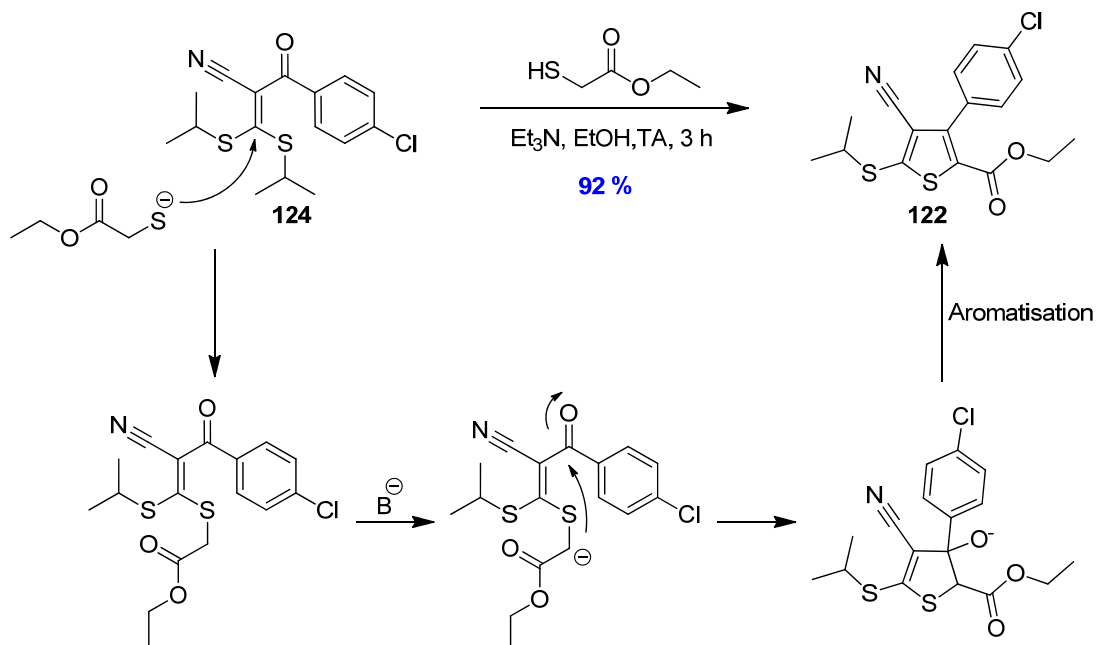


Schéma 43 : Cyclisation du cétène dithioacétal **124** en thiophène **122**

²⁰⁴ Hu, S.; Huang, Y.; Poss, M. A. and Gentles, R. G. *J. Het. Chem.* **2005**, *42*, 661-667.

²⁰⁵ Andersen, H. S.; Olsen, O. H.; Iversen, L. F.; Sørensen, A. L. P.; Mortensen, S. B.; Christensen, M. S.; Branner, S.; Hansen, T. K.; Lau, J. F.; Jeppesen, L.; Moran, E. J.; Su, J.; Bakir, F.; Judge, L.; Shahbaz, M.; Collins, T.; Vo, T.; Newman, M. J.; Ripka, W. C. and Møller, N. P. H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4443-4459.

²⁰⁶ Thomae, D.; Kirsch, G. and Seck, P. *Synthesis* **2007**, 1027-1032.

Comme peut le montrer le très bon rendement de cette réaction, la cyclisation est favorisée du côté de la cétone mais jamais du côté de la fonction nitrile, moins réactive.²⁰⁷ En aucun cas, l'aminothiophène **125** n'a été isolé. La réactivité réduite du groupement nitrile (Schéma 44) par rapport au groupement carbonyle est corroborée par la présence du composé **126** comme produit secondaire, issu d'une double substitution par le thioglycolate d'éthyle des groupements thio-*i*-propyle de **124** ou de la substitution de thio-*i*-propyle de **122**,^{197,208} alors que le thiéno[2,3-*b*]thiophène **127** n'a jamais été observé. Afin de minimiser la formation de **126**, qui a pu être obtenu à hauteur de 24 % maximum, il est nécessaire d'effectuer la réaction de cyclisation à température ambiante pendant trois heures maximum. Le thiophène **122** a été obtenu après optimisation des conditions avec un très bon rendement de 92 %.

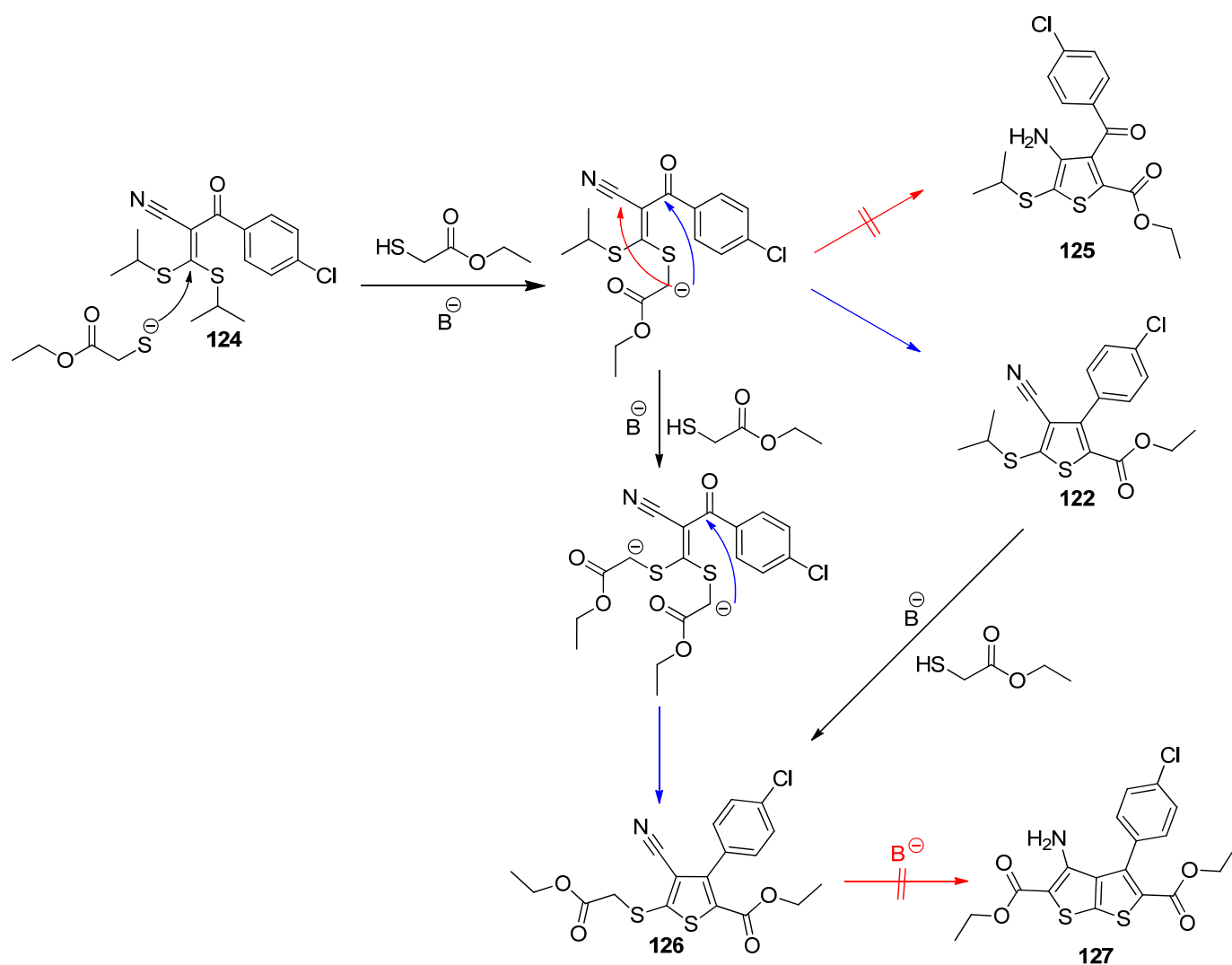


Schéma 44 : Réactivité de la fonction nitrile

²⁰⁷ Augustin, M.; Rudolf, W. D. and Schmidt, U. *Tetrahedron* **1976**, 32, 3055-3061.

²⁰⁸ Comel, A. and Kirsch, G. *J. Het. Chem.* **2001**, 38, 1167-1171.

La dernière étape est identique à celle de la voie A. Elle consiste à saponifier (Schéma 45) la fonction ester par la soude pour former l'acide désiré **56**. Cette réaction ne pose aucun problème et achève la synthèse avec un très bon rendement.

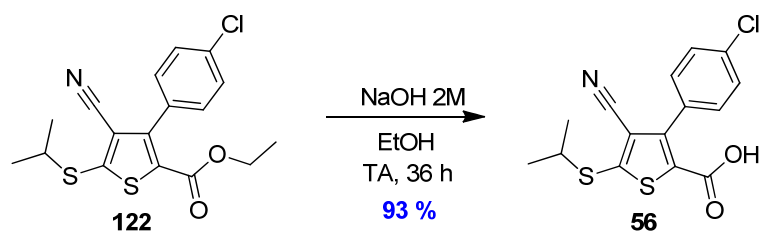


Schéma 45 : Saponification de l'ester **122**

Finalement, nous avons mis au point une synthèse du composé **56** en quatre étapes avec un rendement global de 65 % (Schéma 46).

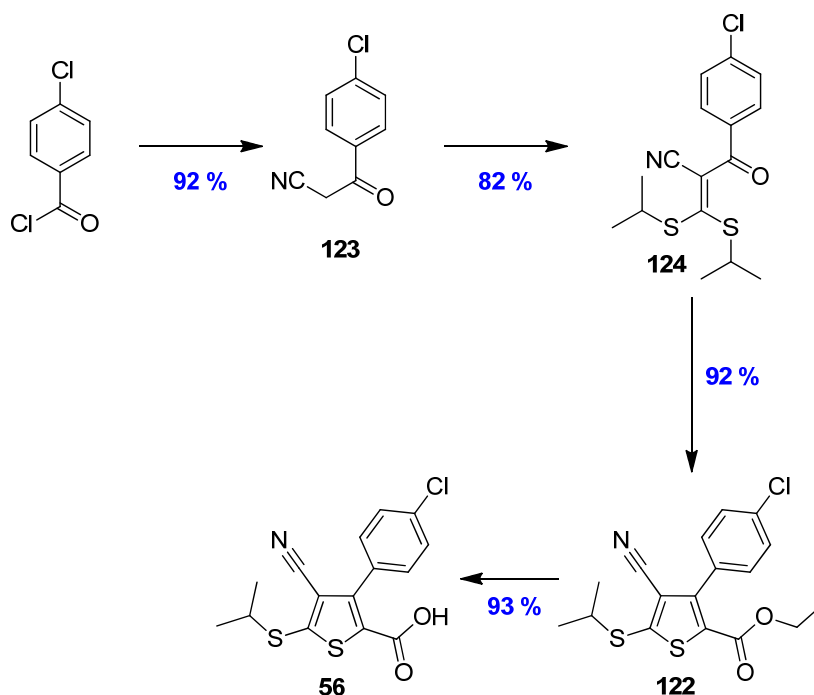


Schéma 46 : Synthèse totale de l'acide **56** à partir du chlorure de *p*-chlorobenzyle

Cette synthèse courte et efficace permet d'étoffer la bibliothèque d'analogues déjà construite à partir de la voie A. Cette dernière est celle qui présente le plus d'étapes clés nécessaires à la création d'une chimiothèque la plus large possible. Cependant, cette voie B est complémentaire de la voie A²⁰⁹ et permet de moduler certaines fonctions inaccessibles par l'autre voie (Schéma 47) :

- des groupements fonctionnels comme des groupements nitriles ou polyoxygénés ont pu être introduits sur le phényle situé en position 3.

²⁰⁹ Huang, Q.; Richardson, P. F.; Sach, N. W.; Zhu, J.; Liu, K. K. C.; Smith, G. L. and Bowles, D. M. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 556-564.

- l'influence de la fonction nitrile a été étudiée en synthétisant le noyau thiazole ou le thiophène possédant un hydrogène en position 4.
- nous avons ainsi analysé l'importance de la nature du cycle aromatique central en remplaçant le thiophène par un pyrrole ou un furane.

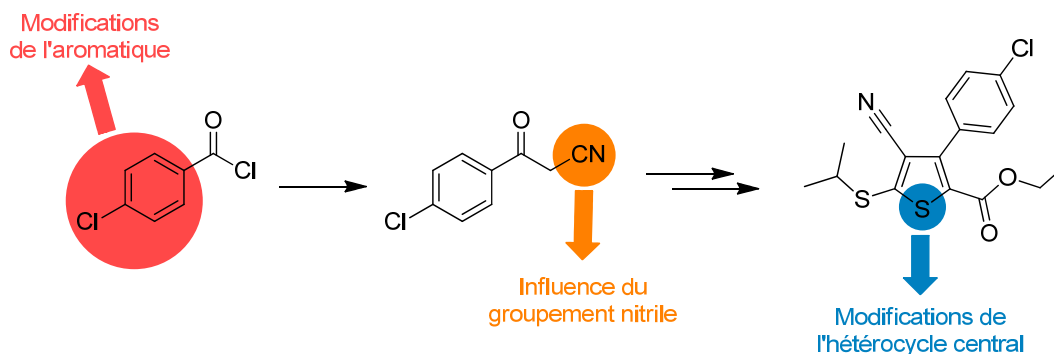


Schéma 47 : Points de modulation pour la synthèse d'analogues à partir de la voie B

Dans un contexte de chimie médicinale, l'objectif majeur reste de fournir une quantité suffisante de produit pour les analyses et les évaluations biologiques. Aussi, dans les synthèses qui vont suivre, les réactions n'ont pas toutes été optimisées. Dans un souci de produire un maximum de composés pour nos études de relations structure-activité, certaines étapes présentant un rendement modeste n'ont pas été améliorées.

Chapitre III : Synthèse des analogues de type 3-arylthiophène

I. Modification de l'hétérocycle central

I.1. Synthèse

Afin d'étudier l'importance de la nature de l'hétérocycle central, le protocole de la voie B a été modifié lors de l'étape de cyclisation. Alors que le noyau thiophène est obtenu par cyclocondensation de **124** avec le thioglycolate d'éthyle, le noyau N-méthylpyrrole **128** est obtenu avec l'ester éthylique de sarcosine et le furane **129** avec le bromoacétate d'éthyle (Schéma 48) avec des rendements modestes de 46 % et 34 % respectivement.^{187,210}

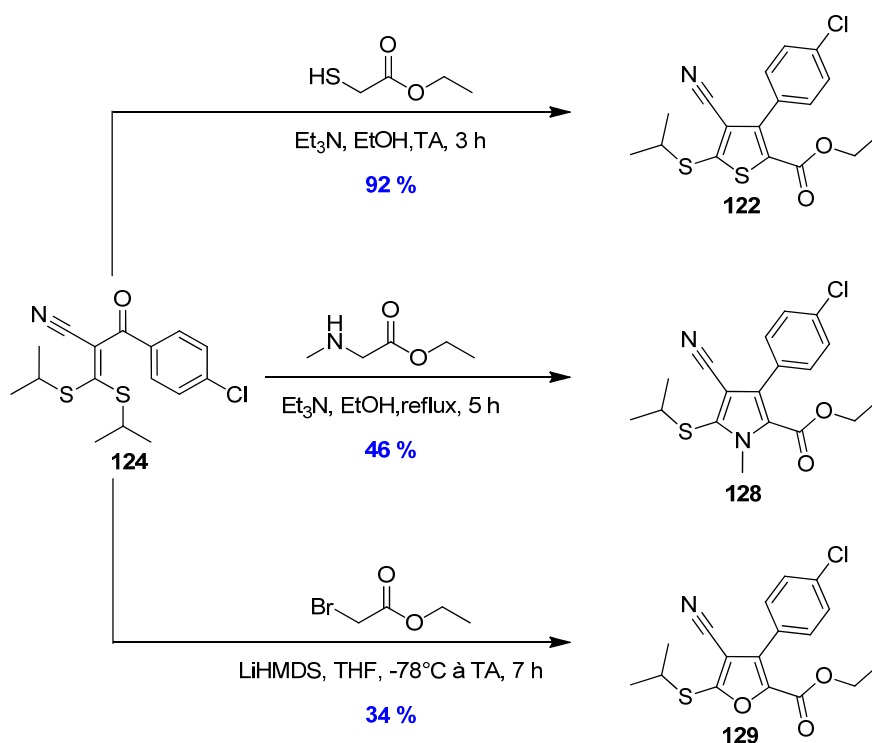
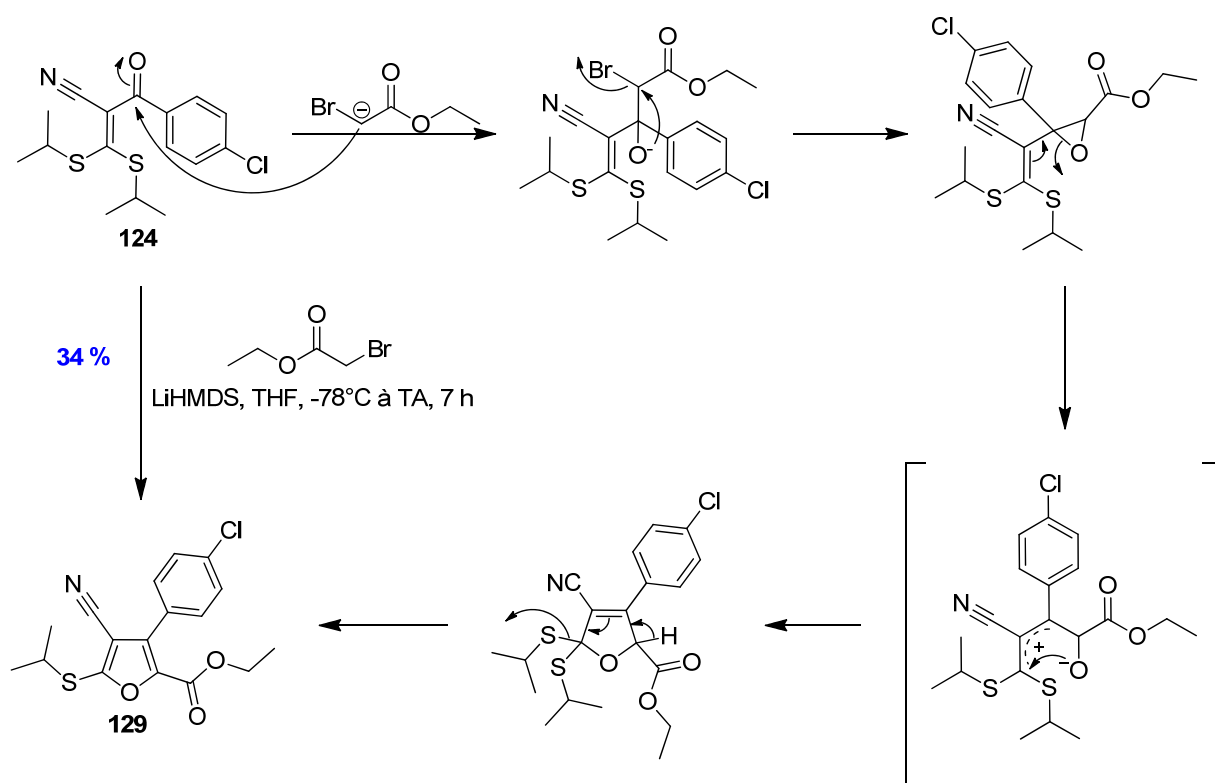


Schéma 48 : Synthèse des analogues thiophène, N-méthylpyrrole et furane

Le mécanisme concernant la formation du N-méthylpyrrole **128** est comparable à celui de la formation du thiophène **122**.

²¹⁰ Lethu, S.; Ginisty, M.; Bosc, D. and Dubois, J. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 6205-6208.

Quant à la formation du furane **129**, elle repose sur une réaction de Darzens (Schéma 49). Cette réaction fait intervenir le carbanion d'un α -halogénoester obtenu par réaction entre le bromoacétate d'éthyle et une base comme le LiHMDS.²¹¹ Ce carbanion est stabilisé par la présence de la fonction ester adjacente. Son addition sur le composé carbonylé **124** fournit un alcoolate α -bromé. Une cyclisation par substitution nucléophile intramoléculaire peut avoir lieu pour donner un époxyester. L'époxyde est ensuite converti en dihydrofurane *via* l'intermédiaire zwitterionique possédant un ion carbonium allylique tertiaire hautement stabilisé par la présence des deux groupements thioéthers.²¹² L'élimination d'un groupement thioéthyle permet l'aromatisation du cycle fournissant le noyau furane.



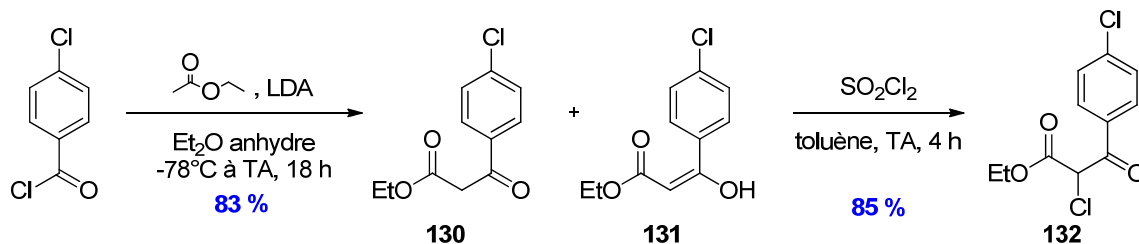
Afin de déterminer l'influence de la fonction nitrile située en position 3 du thiophène **56**, la formation du thiazole **135** a aussi été envisagée comme autre hétérocycle. La synthèse classique de Hantzsch impliquant une halocétone et une thiourée a été utilisée pour former l'analogue **135**. Premièrement, pour cette synthèse, le β -cétoester **130** a été préparé par acylation de l'énolate de l'acétate d'éthyle avec le chlorure de *p*-chlorobenzoyl.²¹³ Le composé **130** a été obtenu avec un bon rendement de 83 % en équilibre avec sa forme énol **131**. Le mélange est ensuite chloré

²¹¹ Datta, A.; Pooranchand, D.; Ila, H. and Junjappa, H. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 7631-7640.

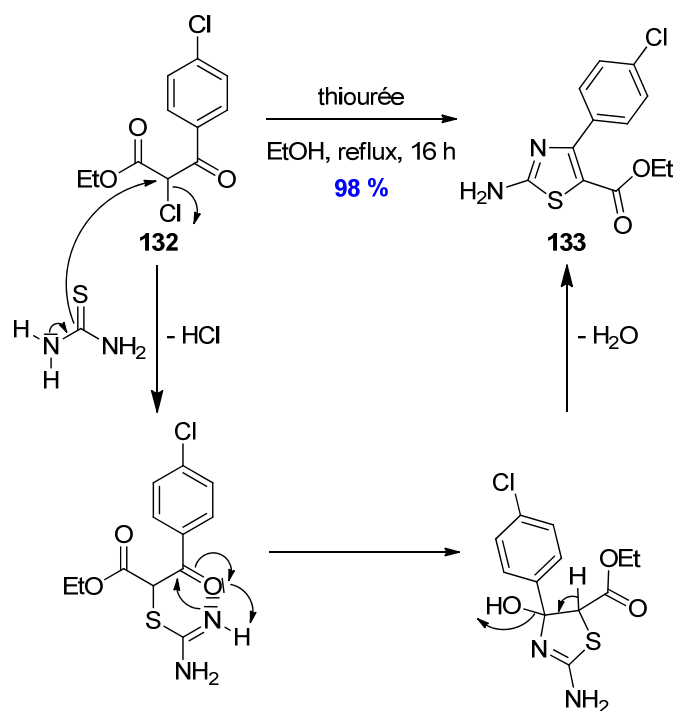
²¹² Okazaki, R.; Negishi, Y. and Inamoto, N. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3819-3824.

²¹³ Hornback, J. M.; Poundstone, M. L.; Vadlamani, B.; Graham, S. M.; Gabay, J. and Patton, S. T. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5597-5601.

en présence de chlorure de sulfuryle selon les conditions standard de réaction pour donner le produit **132** (Schéma 50).



L'ester **132** est engagé dans une réaction de condensation de Hantzsch²¹⁴ avec de la thiourée pour former le thiazole **133**. Le mécanisme s'effectue selon une S_N2 puis une fermeture de cycle. Une réaction d'élimination finale permet de former le noyau thiazole. Cette réaction s'effectue avec un très bon rendement de 98 % (Schéma 51).



Le thiazole **133** formé est ensuite engagé dans une réaction de Sandmeyer afin de remplacer la fonction amine par un atome de brome.

Dans les conditions initiales de Sandmeyer,^{215,216} l'arylamine réagit d'abord avec l'ion nitroso (formé par action de l'acide chlorhydrique sur l'acide nitreux) pour former le sel de diazonium

²¹⁴ Hantzsch, A. and Weber, J. H. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1887**, *20*, 3118-3132.

²¹⁵ Sandmeyer, T. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 1633-1635.

²¹⁶ Sandmeyer, T. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 2650-2653.

correspondant (Schéma 52, (1)). Le dérivé de Cu(I) réduit ensuite le diazonium par un départ d'azote accompagné de la formation d'un radical aromatique et d'un sel de Cu(II). Le radical réagit avec le Cu(II) pour s'halogéner et reformer l'espèce de Cu(I) (Schéma 52, (2)).

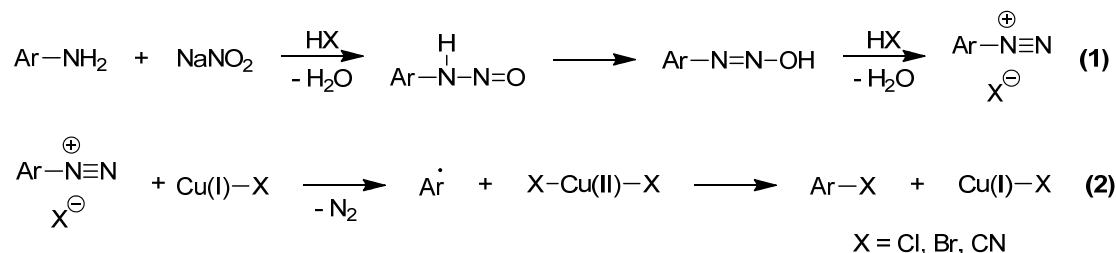
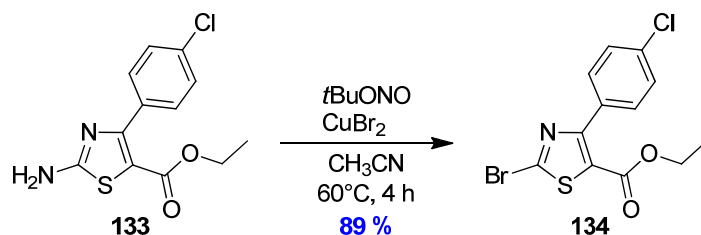
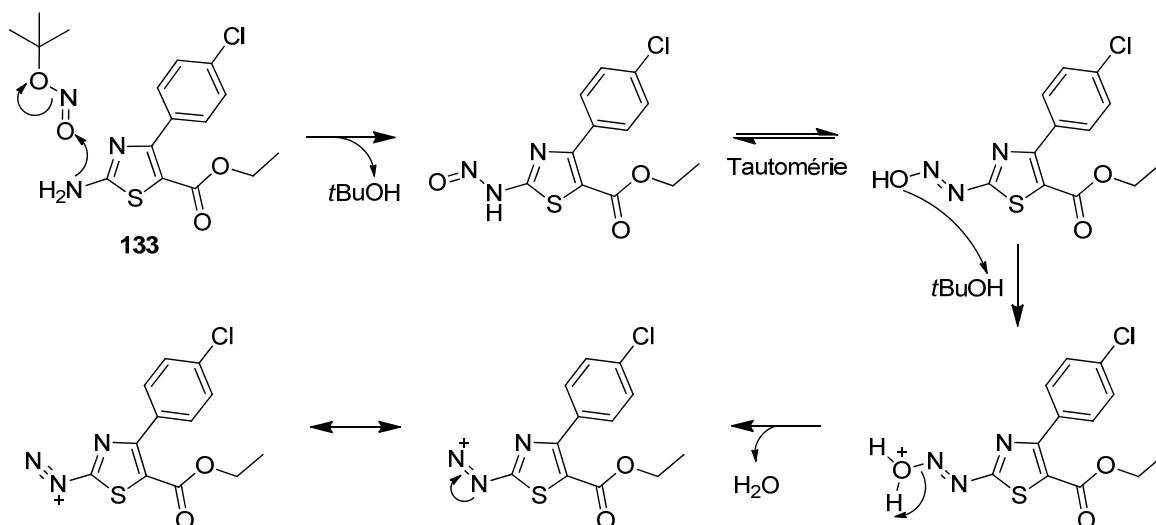


Schéma 52 : Mécanisme de la réaction de Sandmeyer

Le cuivre tient un rôle majeur puisqu'il sert de réducteur du sel de diazonium et de donneur de ligand. Dans notre cas, la réaction donnant le 2-bromothiazole **134** est légèrement modifiée par rapport à la réaction originelle. En effet, sont utilisés un dérivé de Cu(II), le CuBr₂, et comme source d'ion nitroso le *t*-butylnitrite (Schéma 53).¹⁹⁹



Le mécanisme de cette variante n'est pas clairement expliqué mais, comme précédemment, la première étape passe probablement par la formation du sel de diazonium (Schéma 54).



La deuxième étape suscite de nombreuses interrogations car les sels de cuivre (II) ne peuvent pas fournir d'électron comme précédemment et les sels de cuivre (I) sont inertes dans cette réaction. Galli a proposé le passage par un diazohydroxyle (Schéma 55, A), précurseur d'un diazoanhydride (Schéma 55, B) dont la rupture homolytique fournirait le radical aryle.²¹⁷ De cette manière, le Cu (II) ne servirait que de donneur de ligand pour le radical. Ce métal pourrait aussi servir d'acide de Lewis favorisant la nitrosation.

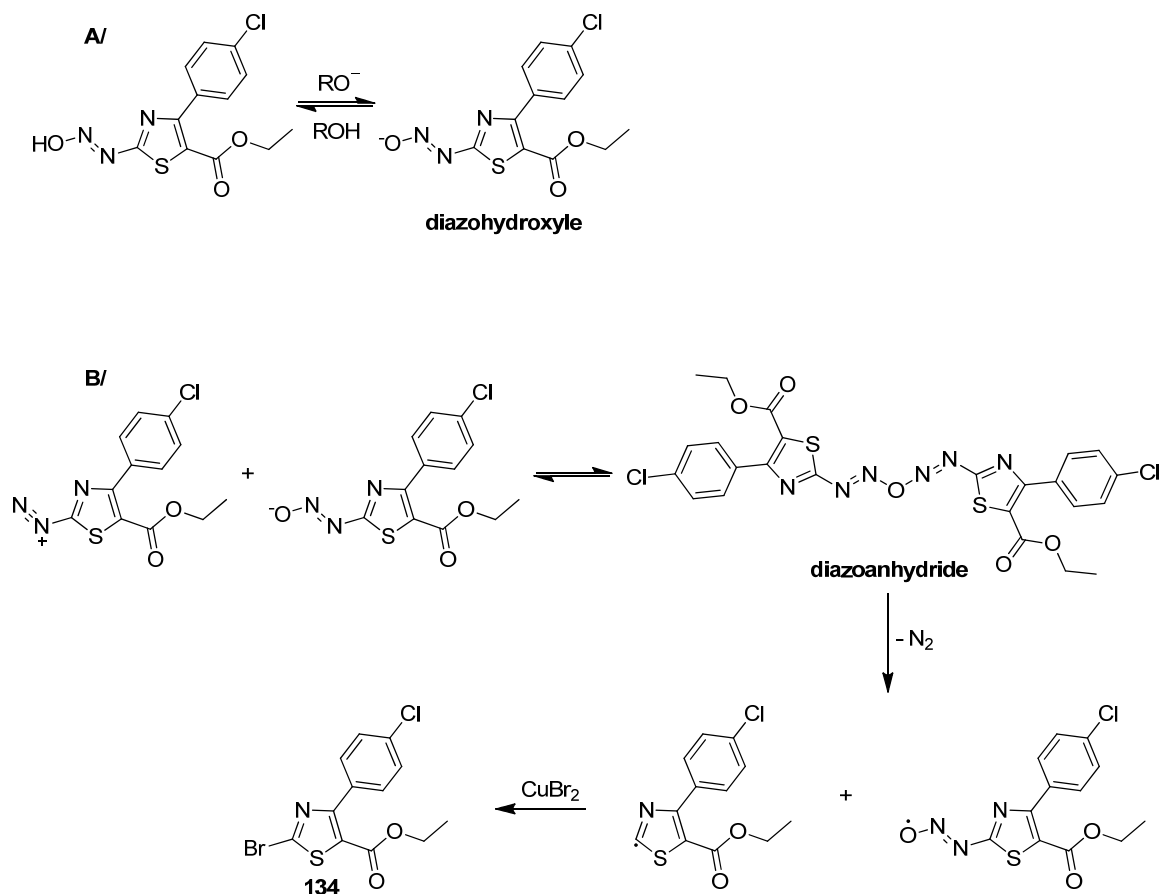


Schéma 55 : Formation du dérivé bromé **134** avec le Cu (II) selon Galli

Enfin le composé **134** subit une substitution nucléophile aromatique où le brome est substitué par un groupement *i*-propylthiol permettant l'introduction du thioéther. Le chlore du groupement *p*-chlorophényle n'a pas été touché lors de la réaction du fait de sa plus faible réactivité. En effet, le thiazole est plus réactif que le noyau phényle car il est beaucoup plus appauvri en électrons à cause des différents groupements électroattracteurs présents sur le cycle (groupements ester et *p*-chlorophényle). Ainsi, le composé **134** mis en présence d'*i*-propylthiol et de tertio-butylate de potassium (Schéma 56) fournit le composé **135** avec un bon rendement de 76 %.

²¹⁷ Galli, C. *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 765-792.

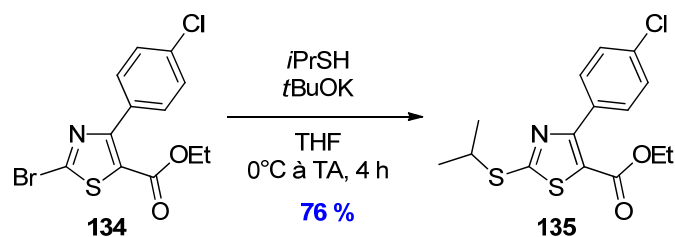


Schéma 56 : Substitution nucléophile aromatique sur le composé **134**

Cet hétérocycle thiazole permet d'évaluer l'importance de la fonction nitrile du composé thiophène **56**.

Afin de répondre à ce même objectif le thiophène ne possédant pas de nitrile en position 4 a été synthétisé. La formation de ce composé **137** est explicitée dans ce chapitre, étant donné qu'elle constitue la seule transformation notable à cette position. En effet, de nombreux essais ont été effectués au laboratoire par le Dr Ginisty pour modifier cette fonction qui s'est révélée peu réactive. De plus, les évaluations biologiques des quelques composés synthétisés n'ont pas montré d'amélioration significative de l'activité inhibitrice sur la FTase. C'est pourquoi les synthèses portant sur la modulation de cette position ne seront pas présentées dans ce mémoire.

Au laboratoire, S. Lethu a synthétisé le composé **137** (Schéma 57)²¹⁰ en utilisant la voie de synthèse B. Elle compte une étape de moins que celle mise au point lors de ces travaux de thèse et précédemment décrite car le dithioacétal **136** est directement formé à partir de la *p*-chloroacétophénone commerciale.

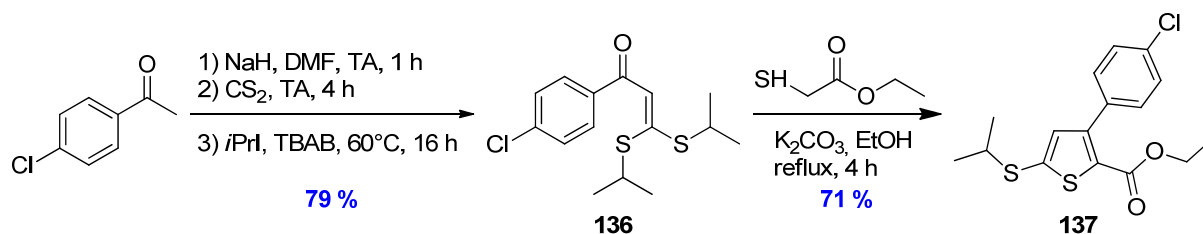
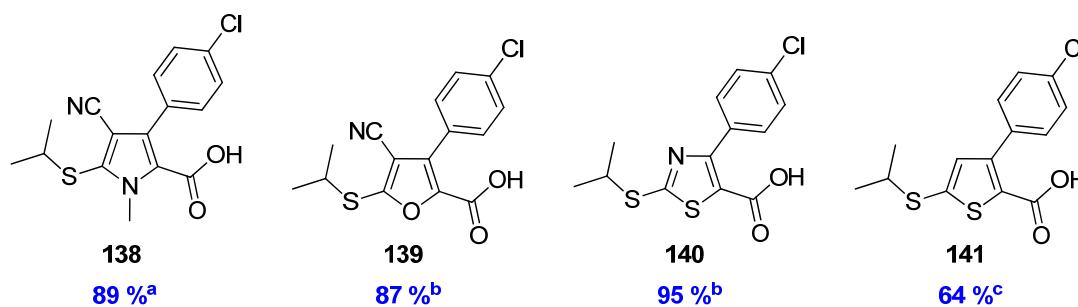


Schéma 57 : Formation de **137** via la voie B

Ces différents hétérocycles ont ensuite été saponifiés (Schéma 58) de manière efficace avec de la soude ou de la lithine selon des méthodes décrites dans la littérature. Ces saponifications permettent de donner le N-méthylpyrrole **138** et le furane **139** avec des rendements globaux de 31 % et 22 % respectivement après quatre étapes, le thiazole **140** avec un très bon rendement global de 44 % après six étapes et le 4-H-thiophène **141** avec un rendement global de 36 %.



Conditions : a/ LiOH aq 2M, THF/MeOH, 60°C, 3 h ;
 b/ NaOH aq 2M, EtOH, TA, 48 h ;
 c/ NaOH aq 2M, THF/EtOH, TA, 16 h

Schéma 58 : Saponification des différents hétérocycles

I.2. Évaluation biologique

Afin d'étudier l'influence du noyau thiophène sur l'activité biologique, trois autres hétérocycles à cinq chaînons ont été synthétisés : les noyaux furane, pyrrole et thiazole. Ce dernier permet également d'examiner l'influence de la fonction nitrile située en position 4 du thiophène **56**. L'importance de ce groupement a aussi été déterminée par la synthèse du 4-H-thiophène correspondant.

L'évaluation biologique de ces différents hétérocycles a été réalisée sur FTase de *T. brucei* (Tableau 9) et a montré que le thiophène **56** est le meilleur hétérocycle avec son homologue furane **139** avec des activités d'environ 10 μ M. Par contre, le N-méthylpyrrole **138** et le thiazole **140** sont de faibles inhibiteurs de FTase, probablement à cause de la fonction méthyle sur la position 1 du pyrrole qui peut gêner la fixation sur la FTase et l'absence de la fonction nitrile pour le thiazole, qui semble indispensable pour avoir une bonne activité. Cette dernière affirmation est étayée par la faible activité montrée par le 4-H-thiophène **141** où le nitrile a été remplacé par un hydrogène.

N° composé	Hétérocycle	CI ₅₀ TbFTase (μ M)
56	thiophène	11 \pm 2,0
138	N-méthylpyrrole	> 50
139	furane	9,9 \pm 1,6
140	thiazole	> 50
141	4-H-thiophène	> 50

Tableau 9: Évaluation biologique des analogues hétérocycles sur FTase de *T. brucei* (TbFTase)

Au vu de ces résultats, nous avons décidé de poursuivre nos études de RSA autour du noyau thiophène. Nous aurions pu choisir le noyau furane, aussi actif que le thiophène mais sa synthèse est moins efficace. D'autre part, il nous était plus facile de comparer l'effet des modulations sur le thiophène **56** avec les travaux déjà réalisés au laboratoire sur cet hétérocycle.

II. Modification de la fonction aryle

II.1. Rappels des travaux antérieurs effectués au laboratoire

Lors des travaux de thèse du Dr S. Lethu, de nombreux analogues ont été synthétisés et les évaluations biologiques ont montré l'importance cruciale de la nature de l'aromatique situé en position 3 du thiophène central. Les évaluations sur la FTase de *T. brucei* ont permis de constater que ces travaux amélioreraient d'un facteur 3 l'activité du thiophène de départ **56** en substituant le noyau *p*-chlorophényle par un groupement aromatique très encombrant stériquement comme un groupement biphenyle **61** ou dibenzofurane **62**. D'autre part, le composé **60** possédant le groupement méthionine a présenté la meilleure activité avec une Cl_{50} submicromolaire permettant de gagner un facteur 100 par rapport au composé **56**. Il serait donc intéressant de coupler des thiophènes acides possédant de bonnes activités biologiques comme les composés **61** et **62** avec la méthionine (Figure 42) afin de voir si un effet synergique entre le groupement en position 3 du thiophène et l'acide aminé en position 2 a lieu.

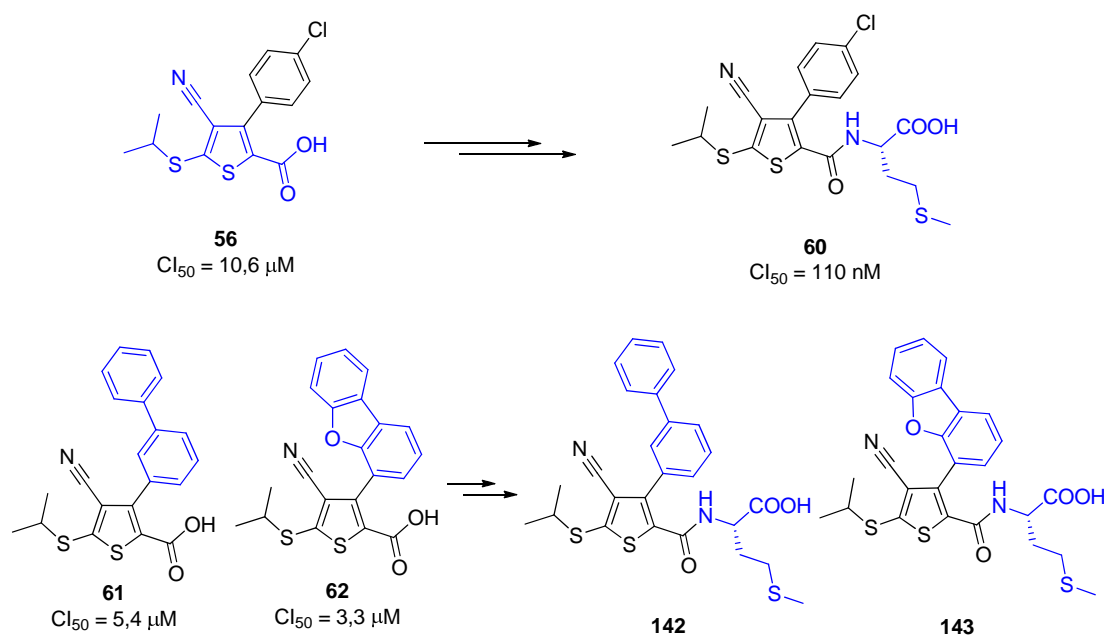


Figure 56 : Structure des molécules visées 142 et 143

Pendant ces travaux antérieurs, les analogues **61** et **62** ont été synthétisés par couplage de Suzuki-Miyaura en phase solide. Bien que cette méthode soit efficace, leurs homologues esters n'ont pas été synthétisés et, de ce fait, n'ont pas pu être évalués *in cellulo* sur parasites. Pour y remédier, les couplages organopalladiés doivent donc être effectués en phase liquide.

Par ailleurs, il n'a pas été possible de coupler des noyaux aromatiques portant des groupements électroattracteurs par couplage de Suzuki-Miyaura dont le groupement nitrile. Il a aussi été impossible d'incorporer les groupements hydroxyles. Soucieux d'intégrer ces fonctions dans nos études RSA, nous avons songé à d'autres méthodes :

- des composés mono-méthoxylés ayant pu être synthétisés par cette voie, la fonction hydroxyle peut être formée par déméthylation de ces composés. Cette stratégie a été tentée pour fournir les composés mono-hydroxylés.
- au regard des couplages de Suzuki s'annonçant difficiles, cette réaction n'a pas été envisagée pour introduire les fonctions polyméthoxyphényles et cyanophényles. S'affranchissant de couplages organométalliques, la voie B paraissait une bonne méthode pour réaliser cet objectif en introduisant les groupements aromatiques désirés dès le début de la synthèse.

II.2. Synthèse à partir de la voie A

Afin d'introduire les groupements biphenyle et dibenzofurane, le couplage de Suzuki-Miyaura s'est révélé particulièrement intéressant. La présence d'une base est indispensable à cette réaction puisqu'elle fournit un anion qui active l'acide boronique (Schéma 59). La nucléophilie du groupement aromatique est accrue par la formation d'un ate-complexe, après réaction du bore et de la base ce qui facilite la transmétallation. Il est donc nécessaire que le milieu contienne un alcool ou de l'eau pour former cet ate-complexe.

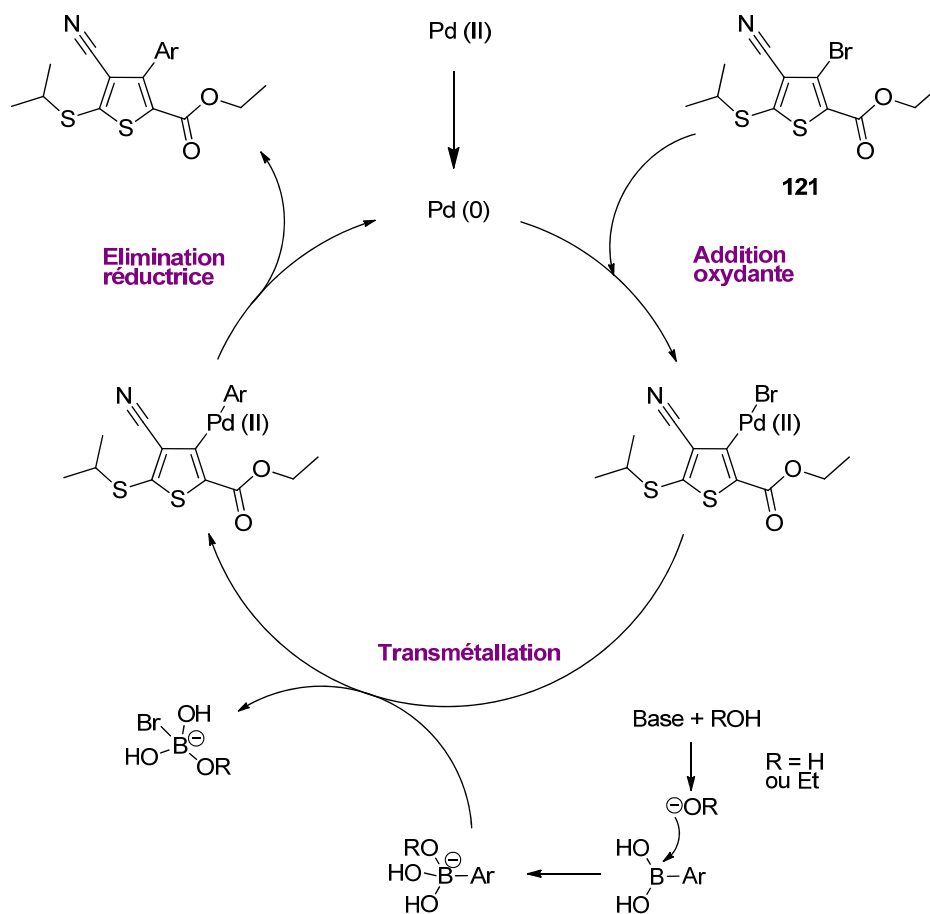
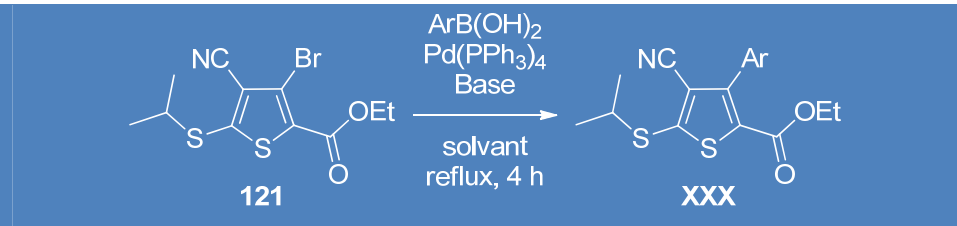


Schéma 59 : Mécanisme du couplage de Suzuki-Miyaura

De plus, nous savions que les acides boroniques relatifs à nos analogues seraient réactifs vis-à-vis de ce couplage étant donné qu'ils réagissaient correctement en phase solide selon les travaux du Dr S. Lethu. En nous appuyant sur ces travaux et en optimisant le mode opératoire de ces couplages notamment au niveau du choix de la base et du solvant, nous avons pu obtenir de manière satisfaisante (Tableau 10) les analogues biphenyle **144**, dibenzofurane **145**, 4-méthoxyphényle **146**, 3-méthoxyphényle **147** et 2-méthoxyphényle **148** souhaités à partir du 3-bromothiophène **121** et des réactifs boroniques respectifs. Le tétrakis(triphénylphosphine)palladium Pd(PPh₃)₄ a été utilisé comme catalyseur car il s'est révélé comme étant un premier choix naturel au vu de la littérature,^{218,219} se montrant efficace sur des structures semblables aux nôtres et performant en phase solide.



XXX	Ar	Solvant	Base	Rendement (ϕ solide)
144	Biphényle	dioxane	Cs ₂ CO ₃	61 % (76 %)
145	Dibenzofurane	EtOH/Toluène 9:1	K ₂ CO ₃	74 % (64 %)
146	4-méthoxyphényle	EtOH/Toluène 9:1	K ₂ CO ₃	50 % (73 %)
147	3-méthoxyphényle	EtOH/Toluène 9:1	K ₂ CO ₃	41 % (68 %)
148	2-méthoxyphényle	dioxane	Cs ₂ CO ₃	68 % (49 %)

Tableau 10 : Couplage de Suzuki-Miyaura sur **121** par des acides boroniques

Les rendements sont dans l'ensemble satisfaisants (41 – 71 %) et sont meilleurs que ceux en phase solide pour les groupements dibenzofurane et 2-méthoxyphényle.

Ces analogues sont ensuite saponifiés sans problème pour fournir de manière quantitative les acides correspondant **61**, **62** et **149** à **151** qui pourront être couplés potentiellement à la méthionine.

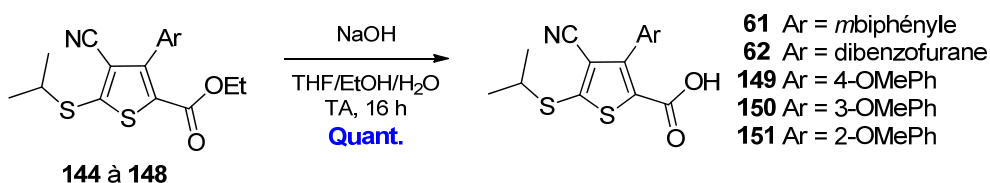


Schéma 60 : Saponification des analogues **144** à **148**

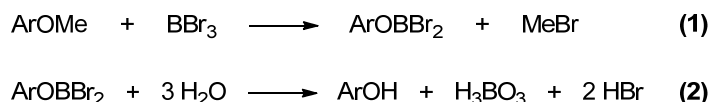
²¹⁸ González, I. C.; Davis, L. N. and Smith li, C. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4037-4043.

²¹⁹ Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Pavani, M. G.; Tabrizi, M. A.; Preti, D.; Fruttarolo, F.; Piccagli, L.; Jung, M. K.; Hamel, E.; Borgatti, M. and Gambari, R. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3906-3915.

Une déméthylation est nécessaire afin d'obtenir les analogues hydroxyphényles des composés méthoxyphényles esters **146** à **148** et acides **149** à **151**. Le groupement méthyle est un groupement protecteur bien connu des phénols. La déméthylation des éthers méthyliques aromatiques peut être effectuée par une grande variété de réactifs selon des méthodes nucléophiles (éthanethiolate de sodium,²²⁰ iodure de lithium²²¹), par l'utilisation d'acides de Lewis (iodotriméthylsilane,²²² tribromure de bore²²³) ou d'acides de Brønsted (chlorhydrate de pyridine,²²⁴ acide bromhydrique²²⁵). L'emploi quasi-systématique de hautes températures avec ces méthodes constitue un inconvénient majeur de ce groupement protecteur. En effet, les groupements benzyle, trityle et *tert*-butyle peuvent être déprotégés selon des conditions moins drastiques. Lors de ces travaux nous avons tenté plusieurs réactifs de déméthylation.

L'utilisation d'acide bromhydrique à 48 % dans l'acide acétique n'a pas donné de produit de déméthylation mais de la dégradation après agitation à reflux pendant seize heures. Ainsi, les méthodes utilisant des conditions plus dures ont été écartées comme l'utilisation de nucléophiles.

L'emploi d'acides de Lewis a alors été envisagé. L'iodotriméthylsilane (TMSI) a d'abord été employé, mais en raison de son instabilité, il a été généré *in situ* à partir du chlorotriméthylsilane et de l'iodure de sodium.²²⁶ Ce réactif nous a permis d'obtenir quelques substrats déméthylés avec des rendements corrects allant de 58 % à 76 % selon les conditions et les composés traités. Cependant, le tribromure de bore (BBr₃) fut préféré à ce réactif en raison de ses conditions opératoires plus douces. En effet, alors que les réactions avec le TMSI s'effectuent à reflux, les réactions avec BBr₃ se font de 0°C à température ambiante diminuant donc fortement les risques de dégradation. De plus, il a été reporté que BBr₃ est plus efficace que TMSI pour cliver des éthers méthyliques aromatiques.²²⁷ En effet, nos réactions effectuées avec le tribromure de bore se sont révélées plus efficaces en termes de temps, de rendements et de propreté de réaction comparées à celles utilisant l'iodotriméthylsilane. Au niveau mécanistique, de manière analogue au TMSI, l'acide de Lewis BBr₃ se coordine à l'oxygène de la fonction éther et favorise le clivage (Équation 1 (1)) de la liaison C-O en bromure d'alkyle et en alkoxyborane qui est hydrolysé (Équation 1 (2)) en alcool lors du traitement de la réaction.



Équation 1 : Mécanisme de BBr₃ lors de la déméthylation d'un alcool aromatique

²²⁰ Feutrill, G. I. and Mirrington, R. N. *Tet. Lett.* **1970**, *11*, 1327-1328.

²²¹ Harrison, I. T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1969**, 616-616.

²²² Jung, M. E. and Lyster, M. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3761-3764.

²²³ Felix, A. M. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1427-1429.

²²⁴ Baldwin, L. J.; Pakray, S.; Castle, R. N. and Lee, M. L. *J. Het. Chem.* **1985**, *22*, 1667-1669.

²²⁵ Kawasaki, I.; Matsuda, K. and Kaneko, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1971**, *44*, 1986-1987.

²²⁶ Olah, G. A.; Narang, S. C.; Gupta, B. G. B. and Malhotra, R. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1247-1251.

²²⁷ Vickery, E. H.; Pahler, L. F. and Eisenbraun, E. J. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4444-4446.

Pour un clivage complet, une mole de BBr_3 est requise par groupement éther et par groupe fonctionnel base de Lewis présents dans la molécule. Pour un groupement catéchol seule une mole de BBr_3 est nécessaire pour les deux fonctions éthers car un intermédiaire borate cyclique est formé.²²⁸ Cependant, dans notre cas, étant donné le manque de réactivité du cycle aromatique, huit équivalents de tribromure de bore ont été utilisés.

Les analogues **146** à **148** ont donc pu être déméthylés à l'aide de BBr_3 pour donner les analogues **152** à **154** avec des rendements allant de 37 % à 64 % où la position 3 du noyau phényle s'est montrée la plus réactive (Schéma 61).

Deux possibilités sont envisageables pour synthétiser les analogues déméthylés possédant une fonction acide en position 2 : saponifier les esters **152** à **154** ou déméthyle les acides **149** à **151**. Concernant la première stratégie, un essai de saponification sur l'ester **152** ne s'est pas révélé concluant à cause d'un problème d'isolement dû à la dégradation du composé lors de la réaction. En revanche, la deuxième stratégie de synthèse s'est montrée pertinente par l'obtention des analogues **155** à **157** sans dégradation notable avec des rendements de 35 % à 90 %.

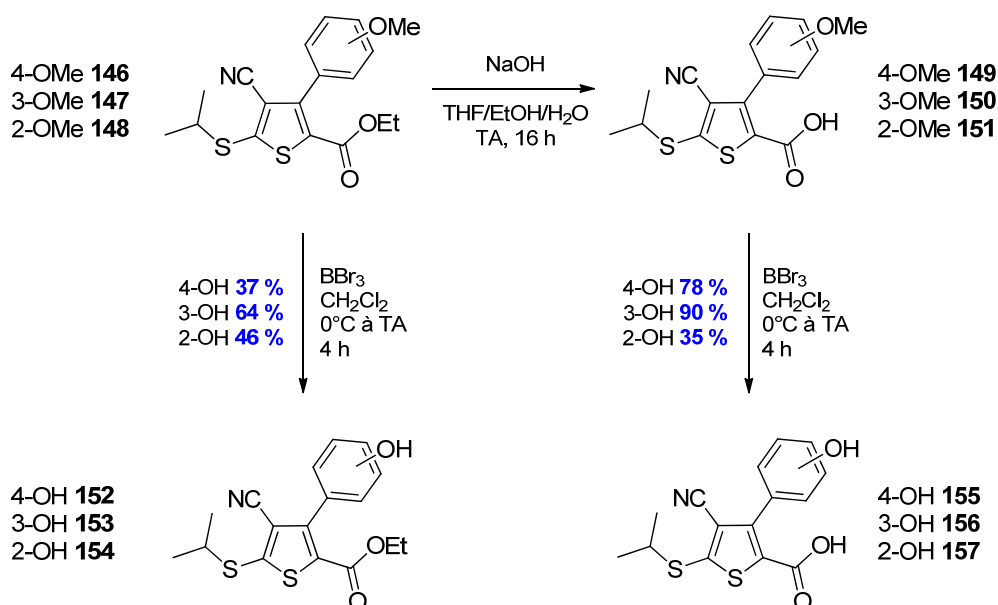


Schéma 61 : Déméthylation par BBr_3

Les thiophènes possédant en position 3 un groupement monohydroxyphényle et en position 2 un groupement ester ou acide carboxylique ont donc été synthétisés par la voie A *via* un couplage de Suzuki-Miyaura suivi d'une déméthylation par le tribromure de bore. Ces composés pourront donc être testés biologiquement sur enzymes et sur parasites. Les analogues possédant les meilleures activités pourront éventuellement être couplés à la méthionine.

Les molécules comportant un groupement polyméthoxyphényle ont, quant à elles, été synthétisées *via* la voie B s'affranchissant du couplage organopalladié aux rendements non-prometteurs et de l'utilisation d'acides boroniques peu disponibles et relativement chers.

²²⁸ McOmie, J. F. W.; Watts, M. L. and West, D. E. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2289-2292.

II.3. Synthèse à partir de la voie B

II.3.a. Introduction des groupements polyoxygénés

Les groupements introduits lors de ces synthèses sont les groupements 2,4-, 3,4-, 3,5-diméthoxyphényle et 3,4,5-triméthoxyphényle.

Une des étapes clefs de la voie B consiste en la condensation du disulfure du carbone sur un oxo(phényl)acétonitrile. Cependant, la synthèse de ce composé à partir de l'acide cyanoacétique et du chlorure d'acide correspondant n'a pas fonctionné pour nos molécules polyméthoxyphényles. Toutefois, d'autres méthodes efficaces sont décrites dans la littérature pour synthétiser ce type de composés. Nous avons donc appliqué l'une d'entre elles consistant en une estérification (**158** à **161**)²²⁹ à partir des acides carboxyliques correspondants suivie d'une addition nucléophile par l'acétonitrile en présence de *n*-butyllithium²³⁰ qui a permis de synthétiser les analogues polyméthoxybenzoylpropionitriles (**162** à **165**). Les réactions de condensation avec le disulfure de carbone (**166** à **169**) et de cyclisation avec le thioglycolate d'éthyle ont permis de fournir les thiophènes esters (**170** à **173**) qui ont été ensuite saponifiés pour donner de manière quantitative les composés **174** à **177** (Schéma 62).

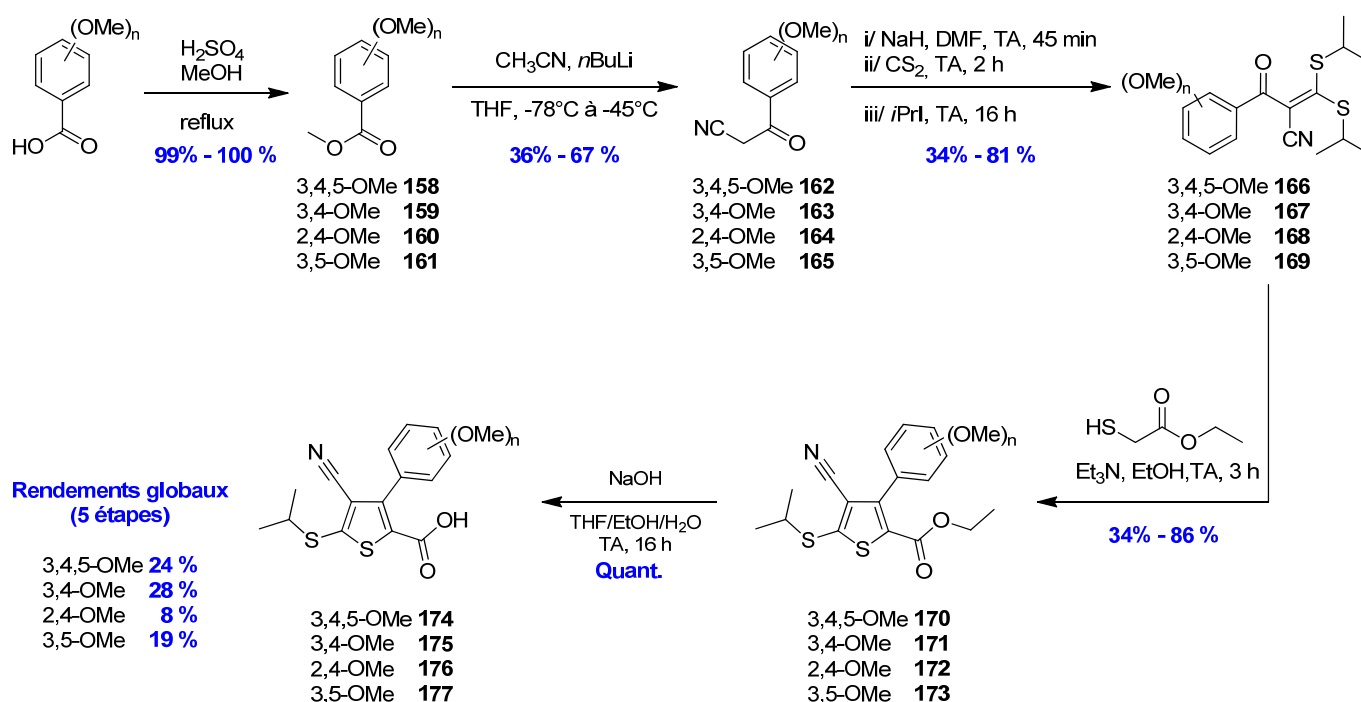


Schéma 62 : Synthèse des thiophènes **174** à **177** à partir de la voie B

²²⁹ Bringmann, G.; Hinrichs, J.; Henschel, P.; Kraus, J.; Peters, K. and Peters, E.-M. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2002, 1096-1106.

²³⁰ Fang, Z.; Song, Y.; Sarkar, T.; Hamel, E.; Fogler, W. E.; Agoston, G. E.; Fanwick, P. E. and Cushman, M. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 4241-4244.

Comme précédemment, afin d'obtenir les formes hydroxylées les composés esters (**170** à **173**) et acides (**174**, **175** et **177**) ont été déméthylés avec du tribromure de bore avec des rendements modestes à bons (Schéma 63). Par ailleurs, des essais ont aussi été effectués avec l'iodotriméthylsilane généré *in situ* sur les composés **170** et **171** permettant aussi d'obtenir les composés **178** et **179**. Cependant, comme pour les dérivés monométhoxy, les rendements obtenus sont plus faibles qu'avec le tribromure de bore en tant qu'agent de déméthylation.

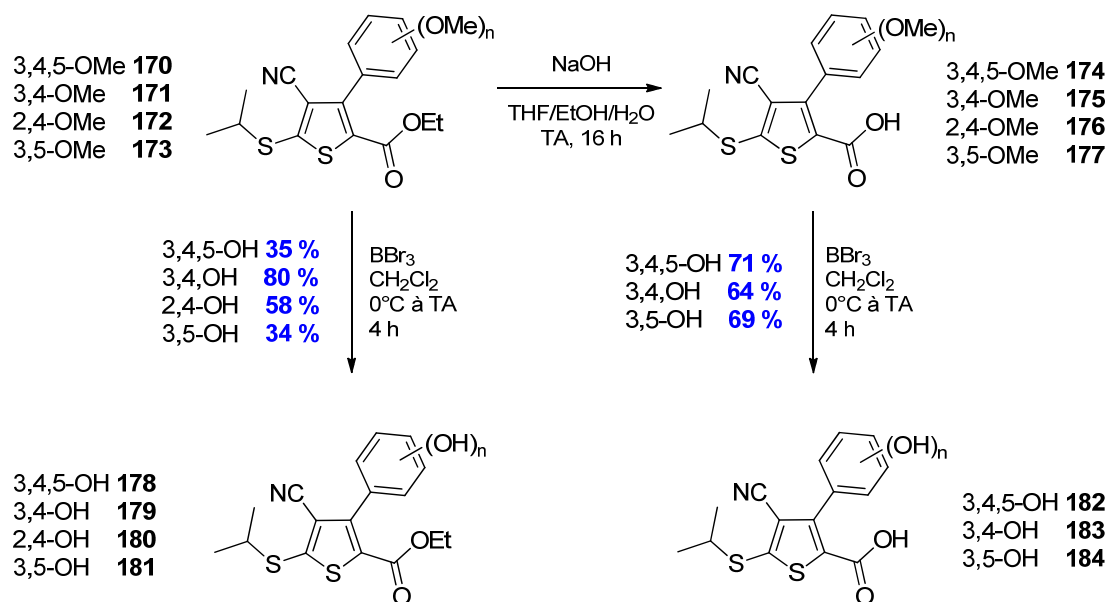


Schéma 63 : Déméthylation par BBr₃

Seul le composé 2,4-diméthoxyphényle **176** s'est montré résistant aux conditions opératoires de déméthylation au tribromure de bore. Aucun produit n'a malheureusement pu être isolé correctement probablement à cause de réactions secondaires prévisibles avec ce composé (Schéma 64).

Premièrement, la présence d'un groupement carbonyle peut faciliter la déprotection sélective de composés polyméthoxyaromatiques menant seulement au composé **185** monohydroxylé.²³¹ Deuxièmement, le composé déméthylé peut subir une réaction de lactonisation formant un tricycle²³² hautement conjugué **186** qui a été observé par RMN ¹H et en spectrométrie de masse mais qui n'a pas pu être isolé. De plus, si la double déméthylation espérée avait fonctionné correctement pour fournir le composé **187**, une lactonisation aurait pu être effectuée pour former par la suite le tricycle thiéno[2,3-c]coumarine **188** non désiré. On peut noter que le faible rendement (35 %) observé pour la déméthylation du composé 2-méthoxyphényle **151** peut aussi être expliqué par la possible formation d'un tricycle qui n'a cependant pas été isolé.

²³¹ Schäfer, W. and Franck, B. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 160-164.

²³² Túng, Đ. T.; Tuân, Đ. T.; Rasool, N.; Villinger, A.; Reinke, H.; Fischer, C. and Langer, P. *Adv. Synth. Cat.* **2009**, *351*, 1595-1609.

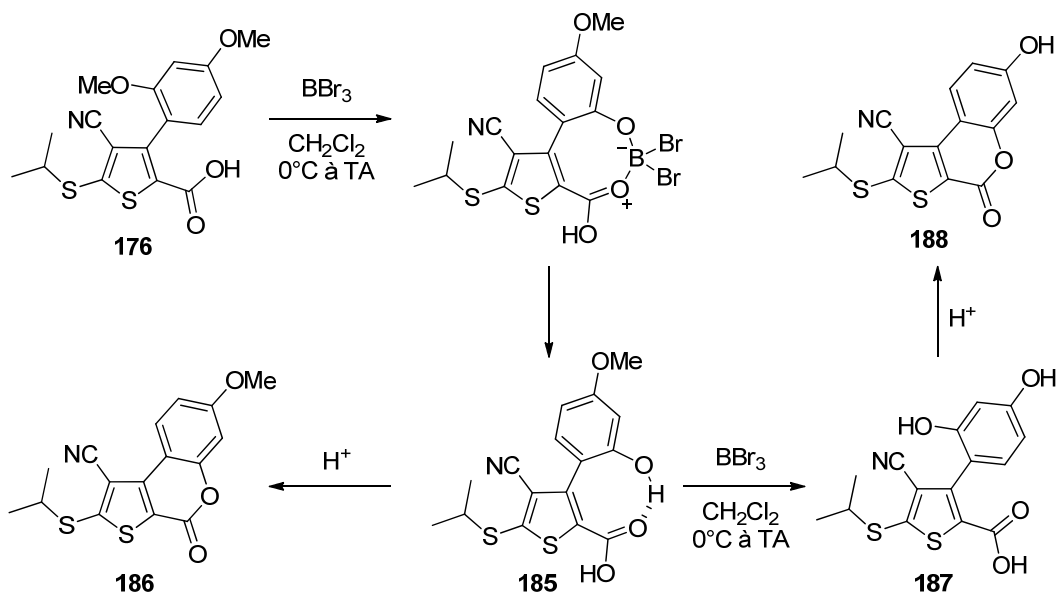


Schéma 64 : Réactions secondaires pouvant se produire lors de la déméthylation de 176

II.3.b. Introduction du groupement nitrile

Du fait du pouvoir électroattracteur du nitrile, le groupement cyanophényle n'a pas pu être introduit par couplage de Suzuki. La voie B a donc été envisagée pour fournir les analogues souhaités avec un groupement nitrile en position 4 (**197**) et 3 (**198**) du phényle.

Les dérivés oxo(phényl)acétonitriles ont été synthétisés par une voie alternative aux deux autres voies présentées car ces dernières n'ont pas donné de résultats satisfaisants. La synthèse²³³ débute à partir des acétophénone commerciales réagissant avec le réactif de bromation N-bromosuccinimide (NBS) en présence d'acide *p*-toluènesulfonique (TsOH) dans l'acétonitrile pour donner les α -bromoacétophénone correspondantes (**189** et **190**) avec de bons rendements (Schéma 65).²³⁴ Les produits secondaires possibles de dibromation sur le méthyle et de bromation directe sur le cycle aromatique n'ont pas été observés.

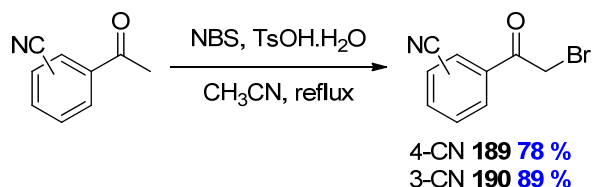


Schéma 65 : Formation des α -bromoacétophénone 189 et 190

²³³ Kamila, S.; Koh, B. and Biehl, E. R. *J. Het. Chem.* **2006**, *43*, 1609-1612.

²³⁴ Lee, J. C.; Bae, Y. H. and Chang, S.-K. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2004**, *24*, 407-408.

Classiquement, selon la réaction de Wohl-Ziegler,²³⁵ le NBS est utilisé pour l' α -bromation de cétones par un processus radicalaire en présence d'initiateurs de radicaux, comme l'AIBN, dans le tétrachlorure de carbone. En présence d'acides protiques le mécanisme est différent. En effet, lors de cette réaction la formation d' α -bromoacétophénones peut être expliquée par l'activation du NBS par TsOH *via* la protonation de l'oxygène du carbonyle du NBS (Schéma 66) permettant de faciliter l'addition électrophile sur la forme énol de l'acétophénone fournissant les composés **189** et **190**.^{236,237}

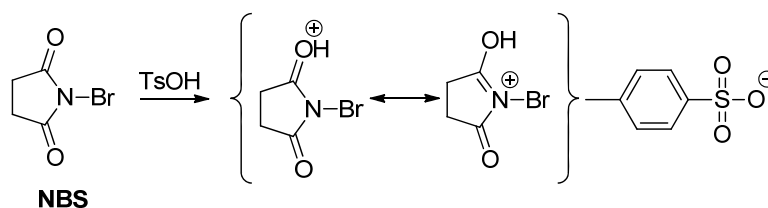


Schéma 66 : Formation de l'espèce électrophile

Les α -bromoacétophénones sont ensuite soumises à une réaction de substitution nucléophile avec du cyanure de sodium²³⁸ pour donner les α -cyanoacétophénones correspondantes (**191** et **192**) avec des rendements corrects situés aux alentours de 60 %.

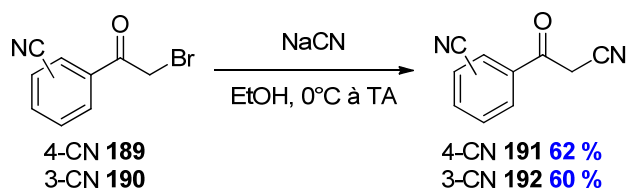


Schéma 67 : Formation des α -cyanoacétophénones **191** et **192**

Les thiophènes **197** et **198** sont ensuite obtenus *via* la voie B dont les réactions ont déjà été décrites précédemment.

²³⁵ Ziegler, K.; Schenck, G.; Krockow, E. W.; Siebert, A.; Wenz, A. and Weber, H. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1942**, 551, 1-79.

²³⁶ Lambert, F. L.; Ellis, W. D. and Parry, R. J. *J. Org. Chem.* **1965**, 30, 304-306.

²³⁷ Olah, G. A.; Wang, Q.; Sandford, G. and Surya Prakash, G. K. *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 3194-3195.

²³⁸ Ridge, D. N.; Hanifin, J. W.; Harten, L. A.; Johnson, B. D.; Menschik, J.; Nicolau, G.; Sloboda, A. E. and Watts, D. E. *J. Med. Chem.* **1979**, 22, 1385-1389.

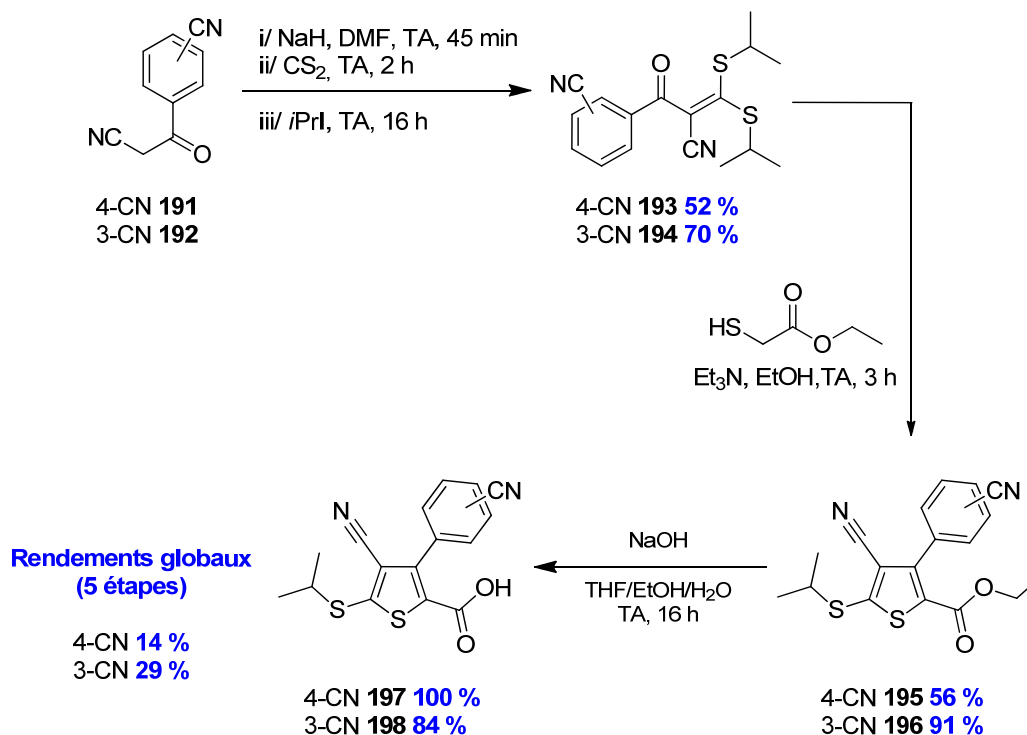


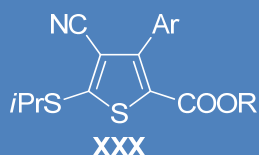
Schéma 68 : Formation des analogues 197 et 198

Cette synthèse a donc permis de former les analogues **197** et **198** portant un groupement nitrile en position 4 ou 3 sur le noyau phényle avec des rendement globaux de 14 % et 29 % respectivement après cinq étapes.

II. 4. Évaluation biologique

II.4.a. Résultats sur la FTase de *T. brucei* et humaine

Les modifications de la nature du noyau aromatique en position 3 du thiophène central ont permis de synthétiser 18 analogues esters et 17 thiophènes acides. Les nouveaux analogues concernent l'introduction de groupements électroattracteurs en faisant varier la nature (groupements méthoxy, hydroxyle ou nitrile) et la position (*ortho*, *méta* et/ou *para*) de ces groupements. Ces analogues ont été testés *in vitro* et leurs Cl₅₀ sur les enzymes humaine et de *T. brucei* sont présentés dans le Tableau 11.



Entrée	Ar	R = H			R = Et		
		XXX	Cl ₅₀ hFTase (μM)	Cl ₅₀ TbFTase (μM)	XXX	Cl ₅₀ hFTase (μM)	Cl ₅₀ TbFTase (μM)
1	4-ClPh	56	16 ± 2	11 ± 2	122	> 50	> 50
2	<i>m</i> -biphényle	61	3,3 ± 0,2	5,4 ± 0,9	144	inactif	inactif
3	dibenzofurane	62	15 ± 1	3,3 ± 0,4	145	> 50	> 50
4	4-OMePh	149	39 ± 4	8,6 ± 1,1	146	> 50	> 50
5	3-OMePh	150	29 ± 4	18 ± 4	147	> 50	> 50
6	2-OMePh	151	> 50	37 ± 7	148	inactif	inactif
7	4-OHPh	155	19 ± 4	8,4 ± 1,2	152	9,9 ± 0,6	24 ± 3
8	3-OHPh	156	25 ± 3	11 ± 1	153	9,2 ± 2,0	4,2 ± 0,6
9	2-OHPh	157	29 ± 7	42 ± 12	154	> 50	> 50
10	3,4,5-OMePh	174	> 50	> 50	170	36 ± 6	10 ± 1
11	3,4-OMePh	175	> 50	10 ± 1	171	18 ± 4	20 ± 4
12	2,4-OMePh	176	> 50	> 50	172	> 50	inactif
13	3,5-OMePh	177	> 50	> 50	173	34 ± 4	> 50
14	3,4,5-OHPh	182	11 ± 2	43 ± 4	178	3,9 ± 0,5	3,9 ± 0,3
15	3,4-OHPh	183	5,0 ± 0,2	5,2 ± 1,4	179	2,7 ± 0,2	7,2 ± 0,4
16	2,4-OHPh	/	/	/	180	7,7 ± 0,7	9,1 ± 0,5
17	3,5-OHPh	184	40 ± 3	12 ± 2,5	181	5,9 ± 0,9	7,8 ± 1,1
18	4-CNPh	197	25 ± 2	14 ± 4	195	8,3 ± 0,6	> 50
19	3-CNPh	198	14 ± 2	15 ± 2	196	7,8 ± 0,8	> 50

Tableau 11 : Évaluations biologiques sur hFTase et TbFTase des composés modifiés en position 3 du thiophène central
 Référence FTI-276 : Cl₅₀ hFTase = 0,015 μM et Cl₅₀ TbFTase = 0,010 μM

Les résultats des évaluations biologiques *in vitro* montrent que les groupements aromatiques encombrants tels que le *m*-biphényle et le dibenzofuranyle (entrées 2 et 3) possèdent de bonnes activités sur l'enzyme de *T. brucei* comme mentionné lors des travaux de thèse de S. Lethu mais aussi sur l'enzyme humaine pour l'analogue **61**. Pour ces groupements, les analogues esters ne possèdent pas de bons résultats d'inhibition de la FTase comme le composé de référence **122** possédant un groupement *p*-chlorophényle. Cette assertion est aussi valide pour les molécules possédant un seul groupement méthoxy sur le noyau phényle sur FTase de *T. brucei* principalement pour le composé **149** (entrées 4 à 6). Ces analogues devraient donc être compétitifs du motif CaaX comme le composé **122** et la fonction acide permettraient de mimer au mieux la fonction terminale du résidu X de ce motif, rôle que ne peut pas assurer la fonction ester.

De manière complètement inattendue et plus particulièrement pour l'enzyme humaine, cette tendance s'est inversée pour les groupements polyméthoxy, hydroxyle et nitrile (entrées 7 à 19). Pour ce dernier, cette observation est seulement vraie pour la FTase humaine, montrant ainsi une différence de sélectivité entre les deux enzymes.

Le fait que les esters soient plus actifs que leurs analogues acides pourrait être dû à l'introduction de groupements éthers, alcools ou nitriles qui peuvent participer à d'autres interactions telles que des liaisons hydrogènes avec des acides aminés ou des molécules d'eau au sein du site actif de l'enzyme. Il est probable que ces composés adoptent une position différente dans le site actif. En effet, pour les molécules dont les activités inhibitrices sont plus importantes dans leur forme acide plutôt qu'ester, une liaison de type CaaX paraît plus vraisemblable. Lorsque ce n'est pas le cas, comme pour les composés précédents, un autre mode de liaison peut être envisagé. Pour étayer cette hypothèse, des études de compétition sur le composé **178** ont été réalisées et ont montré que cette molécule était compétitive du motif CaaX et non compétitive du FPP. Cette observation tend à infirmer la fixation de l'inhibiteur sur un autre site de liaison que celui du motif CaaX. Les fonctions carboxyliques ou esters des molécules possédant une fonction polyméthoxy, hydroxyle ou nitrile sur le phényle situé en position 3 du thiophène doivent donc se positionner différemment des autres analogues dans ce site d'interaction.

La réaction de déméthylation s'est révélée positive pour les activités biologiques. En effet, les activités inhibitrices de ces molécules sur FTase sont soit équivalentes, soit meilleures que les analogues méthylés (entrées 4 à 17). Ceci peut s'expliquer par l'implication de nouvelles interactions de type liaison hydrogène grâce à l'introduction du groupement alcool. En général, dès qu'une molécule possède une fonction alcool en position *mé*ta ou *para*, celle-ci possède une bonne activité inférieure à 10 μ M. Inversement, l'introduction d'un groupement hydroxyle ou méthoxy en position *ortho* paraît diminuer le comportement inhibiteur de l'analogue.

Le groupement nitrile n'a pas permis d'obtenir une nette amélioration de l'activité inhibitrice par rapport aux composés de référence quelle que soit sa position sur le groupement phényle (entrées 18 et 19).

Certaines molécules ont montré des sélectivités vis-à-vis des enzymes humaines et de *T. brucei*. Les composés **149** et **62** sont plus actifs sur FTase de *T. brucei* que sur FTase humaine d'un facteur trois et cinq respectivement. La préférence du composé **175** pour la FTase de *T. brucei* est encore supérieure. Inversement le composé **182** s'est révélé être quatre fois plus actif sur FTase humaine que sur FTase de *T. brucei*. Cependant, ces sélectivités ne sont pas encore assez significatives pour être exploitables.

Pour la FTase humaine, les meilleurs composés sont le composé **61** avec le groupement *m*-biphényle (Cl_{50} = 3,3 μ M) et le composé **183** avec le groupement 3,4-dihydroxyphényle (Cl_{50} = 5,0 μ M). Son homologue ester **179** (Cl_{50} = 2,7 μ M) et le composé **178** possédant une fonction 3,4,5-trihydroxyphényle (Cl_{50} = 3,9 μ M) font aussi partie des meilleurs inhibiteurs.

Pour la FTase de *T. brucei*, les analogues acides possédant les groupements encombrants se sont révélés être les meilleurs inhibiteurs. Le composé **61** portant le groupement *m*-biphényle a une activité de 5,4 μM et le composé **62** avec un groupement dibenzofurane détient une Cl_{50} de 3,3 μM . Les composés **153** (3-hydroxyphényle, Cl_{50} = 4,2 μM) et **182** (3,4,5-trihydroxyphényle, Cl_{50} = 3,9 μM) sont les meilleures molécules possédant une fonction ester en position 2 du thiophène central.

Ces analogues ont donc permis de gagner un facteur six sur l'activité inhibitrice de la FTase humaine et un facteur trois sur la FTase de *T. brucei* par rapport à la molécule « hit » **56**.

II.4.b. Résultats sur les parasites *P. falciparum* et *T. brucei*

Les analogues esters ont été évalués *in cellulo* sur parasites au MNHN. Les résultats sont reportés dans le Tableau 12.

NC
Ar
iPrS
S
COOEt
XXX

Entrée	Ar	XXX	Cl_{50} Pf (μM)	Cl_{50} Tb (μM)	Entrée	Ar	XXX	Cl_{50} Pf (μM)	Cl_{50} Tb (μM)
1	4-CIPh	122	39 \pm 2	14 \pm 1					
2	<i>m</i> -biphényle	144	30 \pm 0,9	15 \pm 0,2	11	4-CNPh	195	31 \pm 1,7	13 \pm 1,7
3	dibenzofurane	145	15 \pm 0,9	11 \pm 0,9	12	3-CNPh	196	14 \pm 1,1	7,4 \pm 0,3
4	4-OMePh	146	27 \pm 0,7	7,0 \pm 0,2	13	4-OHPh	152	23 \pm 1,4	10 \pm 2,1
5	3-OMePh	147	12 \pm 1,1	8,1 \pm 0,4	14	3-OHPh	153	35 \pm 1,9	30 \pm 0,6
6	2-OMePh	148	13 \pm 0,7	16 \pm 0,3	15	2-OHPh	154	> 50	> 50
7	3,4,5-OMePh	170	26	8,3	16	3,4,5-OHPh	178	29	0,12
8	3,4-OMePh	171	34	9,6	17	3,4-OHPh	179	10	0,26
9	2,4-OMePh	172	20	11	18	2,4-OHPh	180	> 50	17
10	3,5-OMePh	173	28	4,4	19	3,5-OHPh	181	> 50	15

Tableau 12 : Évaluations biologiques sur *P. falciparum* et *T. brucei* des analogues modifiés en position 3
Références : chloroquine : Cl_{50} Pf = 0,072 μM et pentamidine Cl_{50} Tb = 0,011 μM

De manière générale, les Cl_{50} obtenus sont modestes sur *P. falciparum* et *T. brucei*. La grande majorité des molécules possèdent des activités situées entre 10 μM et 30 μM sur *P. falciparum* et entre 7 μM et 15 μM sur *T. brucei*.

Seuls deux composés (**178** et **179**) se démarquent largement des autres avec des activités submicromolaires très intéressantes (0,12 μM et 0,26 μM respectivement). Ces activités prometteuses (entrées 16 et 17) peuvent être dues à la présence des groupements hydroxyles placés en position *mé*ta et *para*. Ces fonctions permettent vraisemblablement d'augmenter la solubilité et/ou la pénétration cellulaire. Pour vérifier que cette activité n'est pas due à une cytotoxicité générale, ces molécules ont subi des tests de cytotoxicité par Geneviève Aubert à l'ICSN sur deux lignées cellulaires, une cancéreuse (KB) et une non cancéreuse (MRC5). Les deux composés évalués ne sont pas cytotoxiques pour les deux lignées à une concentration de 10^{-5} M. Ceci est un net avantage pour le développement de molécules antiparasitaires.

De plus, au moins deux fonctions hydroxyles sont nécessaires à l'activité car les composés possédant une fonction hydroxyle en position *mé*ta ou en position *para* (entrées 13 et 14) sont moins bons que leurs homologues possédant plusieurs fonctions hydroxyles (entrées 16 et 17). De plus, il est à noter que la déméthylation des composés monométhoxylés a pour conséquence une baisse de l'activité (entrées 4 à 6 et 13 à 15) alors que sur les composés polyméthoxylés (entrées 7 à 10 et 16 à 19), les effets de cette réaction dépendent de la substitution sans qu'une tendance n'apparaisse vraiment. On peut aussi remarquer que les substitutions du noyau phényle par un groupement hydroxyle en position *ortho* sont néfastes à l'activité inhibitrice (entrées 15 et 18).

La fonction nitrile a permis d'améliorer légèrement l'activité par rapport au composé de référence (entrées 11 et 12). La substitution en *para* donne une activité similaire au composé de référence **122** comportant un chlore à la même position. La substitution en position *mé*ta permet d'augmenter d'un facteur deux les inhibitions.

Les groupements encombrants *m*-biphényle et dibenzofurane ne permettent pas non plus d'améliorer de manière significative les Cl_{50} (entrées 2 et 3).

Les résultats relativement modestes peuvent être expliqués en partie par la possible difficulté de nos molécules à traverser la paroi cellulaire des parasites. Chez *P. falciparum* un autre obstacle peut intervenir. En effet, le composé doit traverser deux parois, premièrement, celle de l'hématie hôte du parasite et deuxièmement, celle du parasite. Étant donné que, dans l'ensemble, nos composés ont de meilleurs résultats sur *T. brucei* qui ne sont pas dans une hématie hôte lors des tests biologiques, cette première paroi est une entrave possible pour nos molécules. De plus, mis à part pour les composés **178** et **179**, aucune corrélation franche n'est retrouvée entre les résultats sur parasites et sur enzymes isolées. Ce manque de corrélation est particulièrement flagrant pour le composé **173** possédant une Cl_{50} supérieure à 50 μM sur FTase de *T. brucei* et une Cl_{50} de 4,4 μM sur culture de *T. brucei*. Ainsi, nous pouvons nous demander si nos composés arrivent à pénétrer à l'intérieur du parasite et, si c'est le cas, si la FTase est bien la cible de nos composés.

III. Modification de la fonction thio-*i*-propyle

III.1. Contexte

Le remplacement par des bioisostères est une démarche communément utilisée en chimie médicinale dans une approche rationnelle.^{239,240} Les thiophènes sont fréquemment utilisés comme bioisostère potentiel du noyau phényle dû en grande partie à leurs similarités dans leur aromaticité et leur forme tout en maintenant assez de différences structurales pour apporter de nouvelles propriétés physicochimiques et biologiques.

Avant ces travaux de thèse, le composé le plus actif biologiquement était le composé **60** possédant une fonction méthionine en position 2 du thiophène central. Celui-ci a été comparé à des inhibiteurs de la FTase connus afin de voir si certaines homologues apparaissaient entre ces différentes molécules. Lorsque l'on considère que le noyau thiophène est un bioisostère usuel du groupement phényle, nous pouvons remarquer (Figure 57) que notre composé **60** se rapproche structurellement des inhibiteurs FTI-276 **21** et FTI-2148 **25**. Ces molécules possèdent une méthionine et un noyau phényle central possédant en position para de l'acide aminé un groupement coordinant le zinc de la FTase (cystéine ou imidazole), métal indispensable à l'activité catalytique au sein de l'enzyme.

Dans ce contexte, nous nous proposons de synthétiser la molécule **199** afin de mimer la partie gauche des inhibiteurs **21** et **25** pouvant se coordiner à l'atome de zinc. La fonction thiol de la cystéine peut être facilement oxydable. C'est pourquoi, pour des raisons de stabilité, nous nous sommes intéressés à l'introduction du noyau imidazole en position 5 du thiophène (Figure 57).

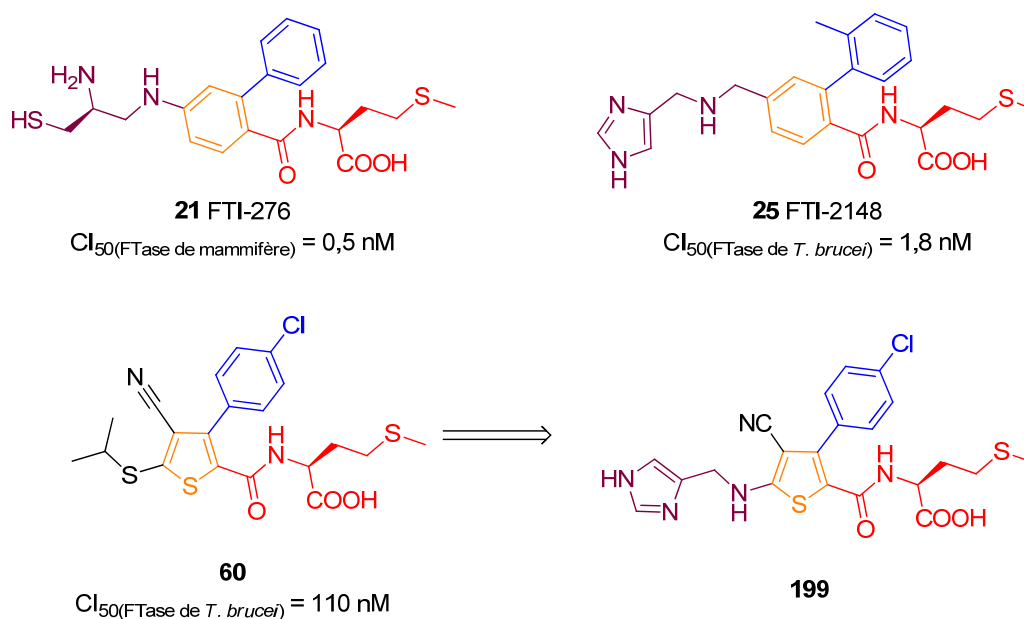


Figure 57 : Comparaison de **60** avec des inhibiteurs connus de la FTase

²³⁹ Patani, G. A. and LaVoie, E. J. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3147-3176.

²⁴⁰ Meanwell, N. A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2529-2591.

Le composé **199** serait issu d'un couplage peptidique entre la méthionine ester et le thiophène **200** suivi d'une saponification. Le composé **200** proviendrait d'une amination réductrice entre un 1H-imidazole-4-carbaldéhyde et un 5-aminothiophène **204** et d'une saponification. Ce dernier résulterait de la réaction de Gewald faisant interagir le cétoester **130** déjà présenté condensé avec le malononitrile commercial en présence de soufre élémentaire.

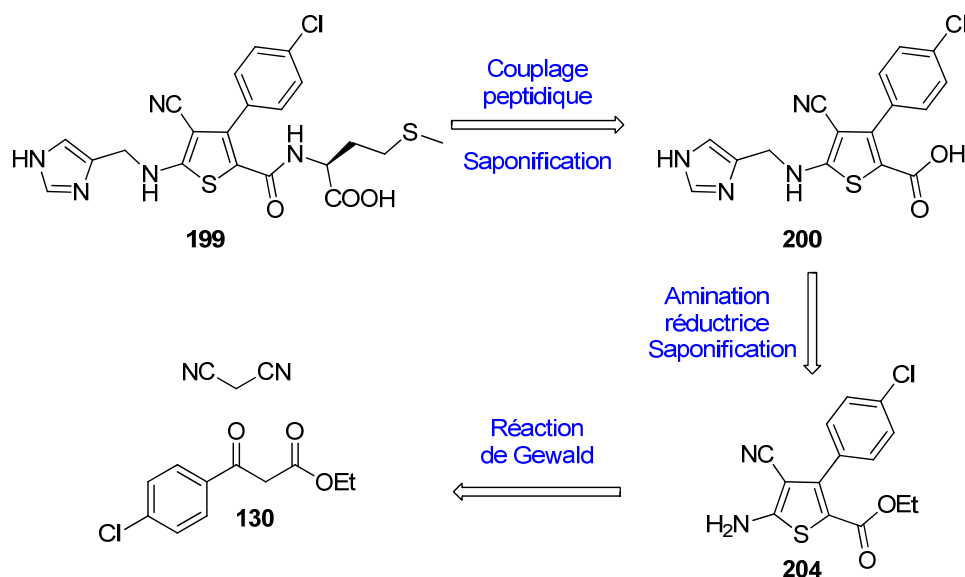


Schéma 69 : Rétrosynthèse du composé 199

De plus, comme indiqué précédemment dans la partie bibliographique de nombreux inhibiteurs de la FTase possède un noyau 1-(4-cyanobenzyl)imidazole pour interagir avec d'autres sites de l'enzyme. Notre démarche de synthèse d'analogues a donc intégré cette observation en couplant par une amination réductrice divers imidazoles benzylés avec le 5-aminothiophène.

III.2. Synthèse de Gewald

Dans notre cas, la réaction de Gewald s'effectue en deux étapes. Un nitrile α,β -insaturé est préparé par une condensation de Cope-Knoevenagel²⁴¹ qui est ensuite traité avec du soufre élémentaire et une base pour donner l'aminothiophène souhaité. Cette version est préférable pour notre synthèse, car il a été reporté¹⁹³ que les alkyles aryles cétones ne conduisent pas aux thiophènes par les méthodes monotopes mais donnent des rendements corrects lors des préparations en deux étapes (Schéma 70).

²⁴¹ Cope, A. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, 59, 2327-2330.

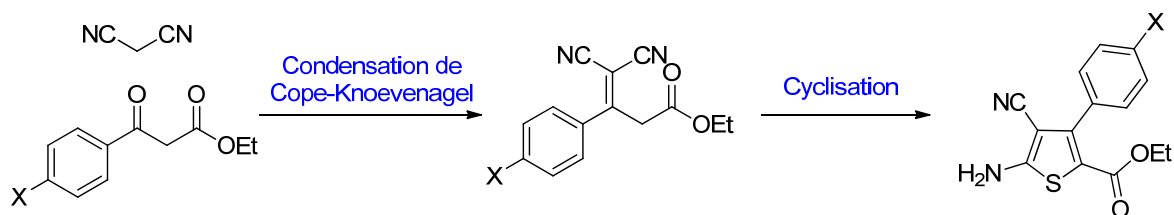


Schéma 70 : Stratégie de synthèse pour la réaction de Gewald

Cette stratégie a premièrement été mise au point avec le benzoyl acétate d'éthyle commercial pour plus de commodité. Tout d'abord, la condensation de Cope-Knoevenagel a été mise en place. Les premières tentatives consistaient à s'inspirer des conditions standards²⁴² mettant en réaction le malononitrile avec le benzoyl acétate d'éthyle en présence d'acétate d'ammonium et d'acide acétique dans le toluène.

Le mécanisme de la réaction implique trois étapes (Schéma 71). La première étape consiste en la déprotonation du malononitrile. La deuxième étape est l'addition du dicyanométhanide sur le composé carbonyle suivie par une déshydratation constituant la troisième étape. L'acétate d'ammonium permet de fournir à la fois la base (l'ion acétate) pour catalyser la déprotonation du malononitrile et l'acide (l'ion ammonium) pour catalyser la troisième étape. L'acide acétique a été choisi comme solvant ionisant qui catalyse la première étape et qui par distillation azéotropique permet de retirer continuellement l'eau grâce à un appareil de Dean-Stark.

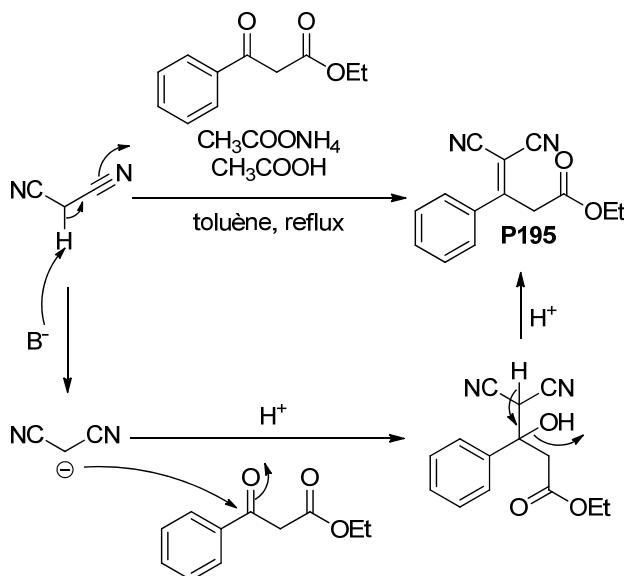


Schéma 71 : Mécanisme de la réaction de Cope-Knoevenagel

²⁴² Milart, P.; Wilamowski, J. and Sepiol, J. J. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 15643-15656. et références incluses.

L'utilisation de ces conditions n'a pas donné de bons résultats. En effet, malgré un chauffage à reflux de 22 heures, seulement 50 % du produit a été converti et de la dégradation a été observée.

D'autres conditions ont donc été testées.²⁴³ Celles-ci impliquent tout particulièrement de l'hexaméthylidisilazane (HMDS) qui permet de générer *in situ* en présence d'acide acétique de l'acétate d'ammonium, catalysant la réaction comme expliquée précédemment, mais aussi de l'acétate de triméthylsilyle.²⁴⁴ Ce dernier est un desséchant organique permettant de retirer l'eau pour tirer l'équilibre vers la formation de l'ylidène malononitrile. Cette méthode a permis d'obtenir le produit substrat de la réaction de Gewald **201** avec un rendement correct de 64 %.

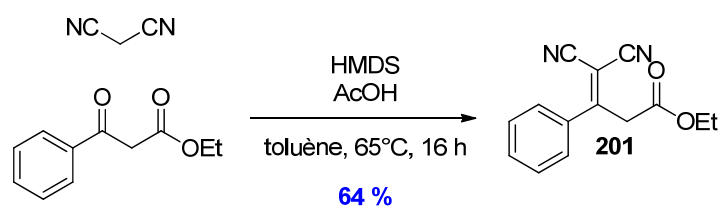


Schéma 72 : Réaction de Cope-Knoevenagel formant **201**

Classiquement, les conditions de la synthèse de Gewald impliquent l'ylidène malononitrile **201** avec du soufre élémentaire en présence d'une base. Afin d'optimiser cette réaction de cyclisation, nous avons fait varier la nature de la base et du solvant ainsi que la durée et la température de réaction (Tableau 13).

Entrée	Base	Solvant	Temps	Température	Rendement
1	<i>i</i> Pr ₂ NH	EtOH	2 h	55°C	40 %
2	<i>i</i> Pr ₂ NH	EtOH	7 h	60°C	59 %
3	Et ₃ N	EtOH	7 h	60°C	100 %
4	NaHCO ₃ aq	THF	1 h	35°C	25 %
5	NaHCO ₃ aq	THF	7 h	60°C	45 %

Tableau 13 : Essais de réactions de Gewald

²⁴³ Barnes, D. M.; Haight, A. R.; Hameury, T.; McLaughlin, M. A.; Mei, J.; Tedrow, J. S. and Riva Toma, J. D. *Tetrahedron* **2006**, 62, 11311-11319.

²⁴⁴ Bassindale, A. R. and Stout, T. *Tet. Lett.* **1985**, 26, 3403-3406.

Ces résultats (Tableau 13) indiquent que les bases organiques comme la diisopropylamine²⁴⁵ (entrée 2) ou la triéthylamine²⁴⁶ (entrée 3) sont plus efficaces qu'une base inorganique comme le bicarbonate de soude²⁴³ (entrée 6). Les températures et les temps de réaction sont déterminants car plus ces paramètres sont élevés, plus les rendements sont importants. Les conditions idéales ont été trouvées en faisant réagir le composé **201** avec du sulfure élémentaire en présence de triéthylamine dans l'éthanol en chauffant à 60°C pendant 7 heures (entrée 3).

Le choix de la base s'est montré prépondérant car celle-ci est impliquée dans le mécanisme²⁴⁷ (Schéma 73) permettant de former le carbanion du composé **201**. Cet intermédiaire réagit ensuite avec le soufre pour produire une espèce sulfurée qui peut se décomposer en thiolate. Celui-ci attaque ensuite le groupement nitrile pour mener à un intermédiaire qui après réarrangement prototropique produit le composé **202**.

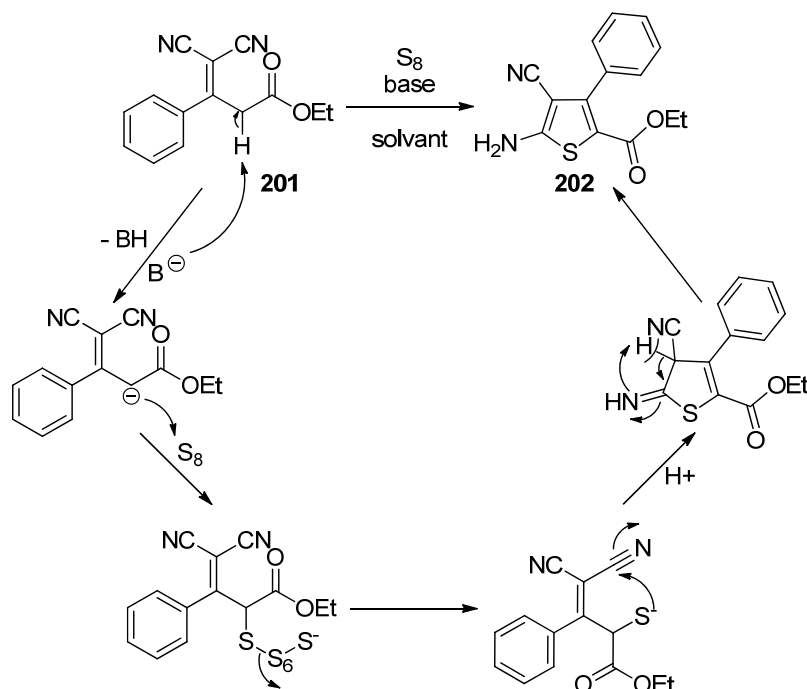


Schéma 73 : Mécanisme de la réaction de Gewald

Une fois les conditions optimisées, nous pouvons synthétiser le 5-aminothiophène **204** souhaité possédant en position 3 le groupement *p*-chlorophényle. Celui-ci a été obtenu à partir du composé **130** dont la synthèse a été décrite auparavant. À partir des conditions optimales (Schéma 74) le produit **203** provenant de la condensation de Cope-Knoevenagel a été fourni avec un rendement de 57 % et la cyclisation de Gewald a été effectuée avec un bon rendement de 85 %.

²⁴⁵ Rosowsky, A.; Chen, K. K. N. and Lin, M. J. *Med. Chem.* **1973**, *16*, 191-194.

²⁴⁶ Abdelrazek, F. M.; Salah El-Din, A. M. and Mekky, A. E. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1813-1817.

²⁴⁷ Peet, N. P.; Sunder, S.; Barbuch, R. J. and Vinogradoff, A. P. *J. Het. Chem.* **1986**, *23*, 129-134.

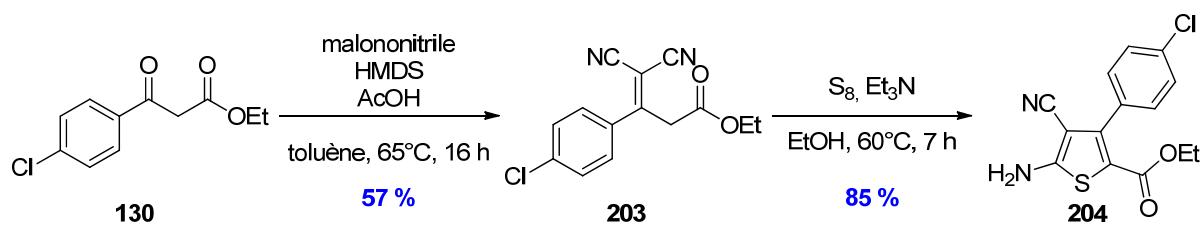


Schéma 74 : Formation du thiophène 204 par réaction de Gewald

III.3. Introduction du groupement imidazole

III.3.a. Le motif imidazole méthanamine

L'introduction du motif imidazole en position 5 du thiophène est une étape clef dans la stratégie de synthèse de nos analogues. Cet hétérocycle azoté peut être alkylé ou non. De nombreux inhibiteurs connus de la FTase possèdent un noyau 1-(4-cyanobenzyl)imidazole branché en position 5 de l'imidazole. Pour nos analogues nous avons donc décidé de synthétiser des molécules possédant ce groupement ainsi que son régioisomère 1,4-disubstitué. Le groupement 4-nitrobenzyle sera aussi introduit dans un but d'étude de relations structure-activité. Avant d'effectuer nos aminations réductrices sur l'aminothiophène **204**, l'imidazolecarbaldéhyde doit être fonctionnalisé. Il est impératif d'effectuer cette réaction en amont pour éviter la N-alkylation de l'amine formée après l'amination réductrice.

Les N-alkylations d'imidazoles peuvent s'effectuer de diverses façons et amener ainsi à différentes régiosélectivités. En effet, l'alkylation d'imidazoles substitués en position 4 ou 5 peut varier selon les conditions de réaction.²⁴⁸ La configuration du produit dépend non seulement du mécanisme mais aussi de plusieurs facteurs comme la nature du substituant et les effets électroniques et stériques. De plus, la tautomérie de l'imidazole ne doit pas être négligée.

En milieu basique, le mécanisme de substitution électrophile S_E2 (Schéma 75) implique l'anion et les deux produits alkylés possibles sont obtenus selon un ratio qui reflètent les effets électroniques et stériques du substituant du groupement R porté par l'imidazole et ceux du réactif alkylant. Un groupement R encombrant tend à diriger l'alkylation vers l'azote le plus disponible pour donner un imidazole 1,4-disubstitué. Un groupement R électroattracteur comme l'aldéhyde réduit la nature basique de l'azote adjacent plus fortement que celle de l'azote le plus disponible et donne ainsi la même orientation que précédemment. Inversement, un groupement R électrodonneur mène préférentiellement à un imidazole 1,5-disubstitué. Cependant, malgré ces remarques, les prédictions de régiosélectivité restent délicates.

²⁴⁸ Grimmett, M. R. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. R. K. Alan and W. R. Charles. Oxford, Pergamon. **1984**, 373-456.

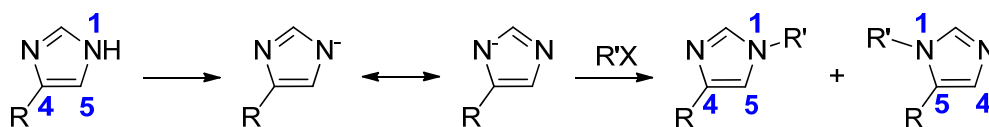
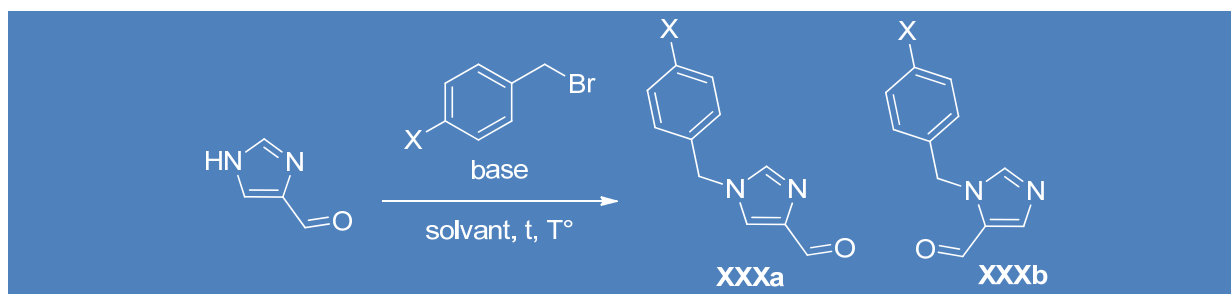


Schéma 75 : Attaque électrophile en milieu basique sur un azote d'un imidazole

En milieu neutre la régiosélectivité est plus complexe à cause des effets de tautomérie qui sont superposés aux effets électroniques et stériques. Le mécanisme se fait selon une S_E2' .

Pour synthétiser nos analogues deux méthodes ont été utilisées (Tableau 14) pour faire réagir l'électrophile bromure de benzyle avec l'imidazole. La première méthode emploie du carbonate de potassium,²⁴⁹ base faible, pour piéger le bromure d'hydrogène généré lors de la substitution. La deuxième méthode est basée sur un catalyseur par transfert de phase, le bromure de tétrabutyle ammonium, qui permet de former préférentiellement des imidazoles carbaldéhydes 1,5-disubstitués.²⁵⁰



XXX	Entrée	X	Base	Solvant	Temps	Température	Rendement	Sélectivité 1,4/1,5 XXXa/XXXb
205	1	CN	NaOH	toluène/ <i>n</i> Bu ₄ NBr	3,5 h	TA	45 %	1/9
	2		/	DMF	72 h	TA	9 %	1/1
	3		K ₂ CO ₃	DMF	7,5 h	TA	77 %	1/1
	4		K ₂ CO ₃	DMF	0,15 h	100°C (MO)	25 %	1/1
	5		K ₂ CO ₃	DMF	2 h	100°C	34 %	1/1
	6		K ₂ CO ₃	DMF	2,5 h	100°C	51 %	1/1
206	7	NO ₂	K ₂ CO ₃	DMF	3,5 h	100°C	34 %	1/2
	8		K ₂ CO ₃	DMF	7 h	TA	62 %	1/1,2

Tableau 14 : Essais d'alkylation de l'imidazolecarbaldéhyde

Les résultats obtenus nous indiquent qu'une base est nécessaire pour activer efficacement l'alkylation (entrées 1 à 3). Le catalyseur par transfert de phase permet bien d'obtenir préférentiellement le régioisomère 1,5-disubstitué avec une très bonne sélectivité de 9/1 (entrée 1).

²⁴⁹ Pierce, M. E.; Carini, D. J.; Huhn, G. F.; Wells, G. J. and Arnett, J. F. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4642-4645.

²⁵⁰ Sonogawa, M.; Yokota, M.; Tomiyama, H. and Tomiyama, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 706-710.

Le rendement est cependant moyen. Étant donné que nous souhaitons avoir les deux régioisomères pour évaluer l'influence de la substitution sur l'activité enzymatique, cette méthode a été écartée. Le temps et la température de réaction sont des paramètres importants pour obtenir des rendements satisfaisants. Plus ils sont élevés, plus les rendements sont bons (entrées 3 et 5 à 8). Un chauffage micro-ondes peut être effectué (entrée 4) mais des produits de dégradation ont été observés. Étrangement une sélectivité a été remarquée avec le groupement *p*-nitrobenzyle lorsque la réaction est chauffée à 100°C mais n'est pas nettement observée lorsque la réaction s'effectue à température ambiante (entrées 7 et 8). Les meilleurs rendements obtenus sont de 77 % pour le groupement *p*-cyanobenzyle et de 62 % pour le groupement *p*-nitrobenzyle fournissant les composés **205 (a et b)** et **206 (a et b)** respectivement. Ces régioisomères sont facilement séparables à cette étape et pourront être engagés dans les réactions d'amination réductrice avec l'aminothiophène **204**.

Dans notre cas, l'amination réductrice fait intervenir un imidazolecarbaldéhyde et une amine aromatique. De nombreux exemples de telles réactions sont présents dans la littérature. La réaction implique la formation initiale d'une hydroxylamine intermédiaire qui se déshydrate pour former une imine. Sous les conditions de réaction, usuellement faiblement acides ou neutres, l'imine est protonée en ion iminium. Enfin, la réduction de cette espèce permet de produire l'amine alkylée. En général, l'agent réducteur de choix est le cyanoborohydrure de sodium (NaBH₃CN) mais celui-ci a montré quelques limites avec les amines faiblement basiques.²⁵¹

Or, l'aminothiophène **204** contient de nombreux substituants électroattracteurs rendant l'amine à la fois peu nucléophile et faiblement basique. L'attaque nucléophile initiale sur le carbonyle va donc être freinée et les réactions seront plus lentes. De plus, si la première étape n'est pas complète, le groupement carbonyle de l'aldéhyde va pouvoir rivaliser avec l'intermédiaire imine moins basique pour la réaction de protonation et par la suite pour le transfert d'hydrures dans l'étape de réduction. Ces conséquences peuvent donc mener à la réduction de l'aldéhyde, à la consommation du composé carbonylé et de l'agent réducteur et à de faibles rendements d'amination réductrice.

L'emploi du réducteur triacétoxyborohydrure de sodium (NaBH(OAc)₃) est par conséquent préféré pour ce genre d'amines et a été utilisé sur des molécules proches de nos substrats.^{252,253,254} De plus certaines publications rapportent l'usage des acides de Lewis pour promouvoir la formation de l'imine.⁹⁵

Cependant, malgré l'application de ces nombreux protocoles et le changement de différents paramètres comme le solvant (DCE, CH₂Cl₂, MeOH, CH₂Cl₂/MeOH), le nombre d'équivalent de 1H-

²⁵¹ Abdel-Magid, A. F.; Carson, K. G.; Harris, B. D.; Maryanoff, C. A. and Shah, R. D. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3849-3862.

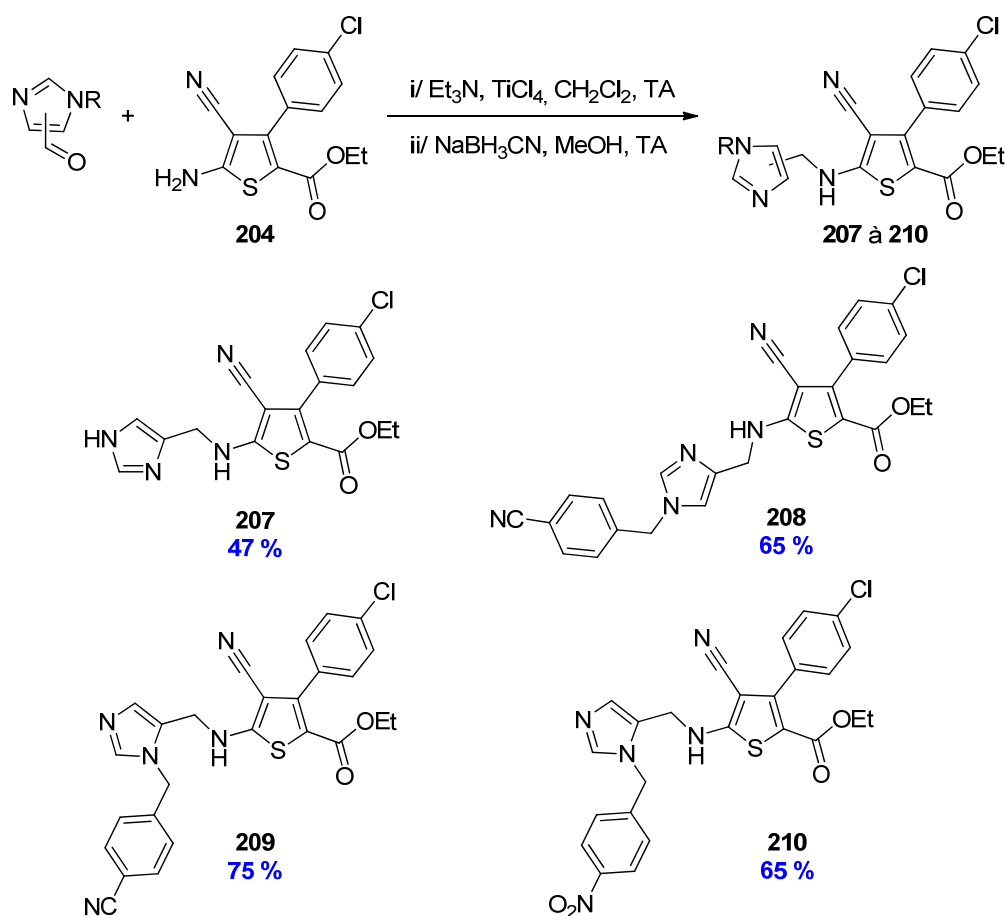
²⁵² Ohkanda, J.; Lockman, J. W.; Kothare, M. A.; Qian, Y.; Blaskovich, M. A.; Sebt, S. M. and Hamilton, A. D. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 177-188.

²⁵³ Green, N.; Hu, Y.; Janz, K.; Li, H.-Q.; Kaila, N.; Guler, S.; Thomason, J.; Joseph-McCarthy, D.; Tam, S. Y.; Hotchandani, R.; Wu, J.; Huang, A.; Wang, Q.; Leung, L.; Pelker, J.; Marusic, S.; Hsu, S.; Telliez, J.-B.; Hall, J. P.; Cuozzo, J. W. and Lin, L.-L. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4728-4745.

²⁵⁴ Curtin, M. L.; Florjancic, A. S.; Cohen, J.; Gu, W.-Z.; Frost, D. J.; Muchmore, S. W. and Sham, H. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1367-1371.

imidazole-4-carbaldéhyde ou du composé **205a** (1 éq. à 1,9 éq.), l'agent réducteur (NaB(OAc)_3 ou NaBH_3CN), la présence de tamis moléculaire 4 Å en poudre, la présence d'acide de Lewis (ZnCl_2 ou TiCl(OiPr)_3 ,²⁵⁵ 1 éq. à 3 éq.), la présence d'acide acétique (quelques gouttes à 5,5 éq.), la température (température ambiante à 60°C) et le temps (2 heures à 8 jours), la formation de l'amine n'a jamais été observée. En effet, seuls les produits de départ ont été retrouvés.

L'amine primaire du composé **204** n'est donc pas réactive vis-à-vis de cette synthèse notamment lors de la formation de l'imine. Par conséquent, cette fonction a besoin d'être activée. Or, le tétrachlorure de titane (TiCl_4) a été décrit comme étant un très bon piègeur d'eau mais aussi comme étant un bon acide de Lewis permettant de polariser la liaison carbonyle avec la coordination du titane sur l'oxygène.²⁵⁶ Ces deux caractéristiques permettent au TiCl_4 de catalyser efficacement la formation de l'intermédiaire imine bien que plusieurs équivalents d'amine soient requis. Lorsque une cétone et une amine sont traitées avec du TiCl_4 dans du dichlorométhane et de la triéthylamine qui permet de substituer l'excès d'amine requis, la formation d'une imine a été observée.²⁵⁷ Forts de ce constat, nous avons engagé nos aldéhydes et l'amine **204** selon ces conditions opératoires (Schéma 76). Après traitement au cyanoborohydrure de sodium, les produits de couplage correspondants **207** à **210** ont été obtenus avec des rendements acceptables de 47 % à 75 %.



²⁵⁵ Gutierrez, C. D.; Bavetsias, V. and McDonald, E. *Tet. Lett.* **2005**, 46, 3595-3597.

²⁵⁶ White, W. A. and Weingarten, H. *J. Org. Chem.* **1967**, 32, 213-214.

²⁵⁷ Barney, C. L.; Huber, E. V. and R. McCarthy, J. *Tet. Lett.* **1990**, 31, 5547-5550.

Afin d'être évalués biologiquement sur les FTases et couplés éventuellement à la méthionine, ces analogues doivent être saponifiés. Malheureusement, malgré tous nos efforts les thiophènes acides correspondant n'ont pas été obtenus (Schéma 77). Cette résistance à la saponification reste inexpliquée. Les différentes méthodes de saponification employées ont été les suivantes :

- NaOH²⁵⁸ (10 éq. ou 30 éq.), THF/EtOH/H₂O, TA ou 78°C, 24 h ou 72 h ;
- KOH²⁵⁹ (10 éq.), EtOH ou dioxane, TA ou reflux, 7 j ou 11 j ;
- tBuOK (16 éq.), DMSO, TA, 11 j ;
- LiOH dans H₂O₂²⁶⁰ (2 éq.), THF, TA, 5 h ou 24 h ;
- TMSOK²⁶¹ (2 éq. ou 10 éq.), MTBE/THF ou THF, TA ou 50°C ou 60°C(MO), 0,2 h à 24 h.

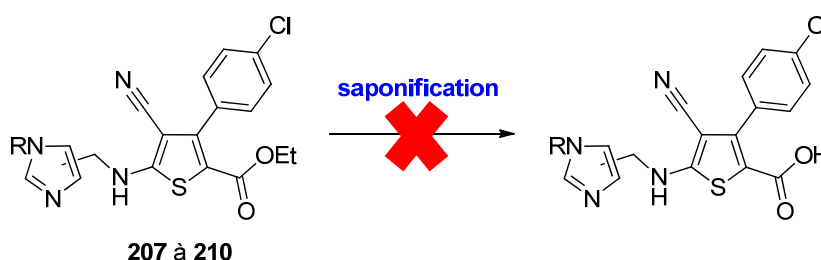


Schéma 77 : Tentative de saponification des composés 207 à 210

On peut noter que le Dr S. Lethu a été confronté au même problème lors de la saponification de thiophène-2-carboxylates possédant une fonction amine secondaire (isopropylamine ou cyclopentanamine) en position 5 malgré les différentes conditions réactionnelles utilisées (AlCl₃ dans EtSH ou TMSCl, NaI dans CH₃CN, MgI₂ dans le toluène ou LiOH dans CH₃CN ou dans THF/EtOH).

De plus, dans la littérature, une seule réaction de saponification de ce type de composés 5-(alkylamino)thiophène-2-carboxylate (le 5-hexadécylamino-2-thiophénecarboxylate d'éthyle) a été reportée. Celle-ci a été effectuée en présence de potasse à reflux²⁵⁹ mais n'a pas fonctionné pour nos molécules. Afin de contrer ce problème, il serait envisageable de former le thiophène ester méthylique ou *tert*-butylique car ces alkyles sont plus facilement clivables que le groupement éthylique.

La saponification de thiophènes possédant des amines tertiaires ne posant pas de problème, nous avons donc décidé de protéger l'amine et de procéder ensuite à la saponification. Notre choix s'est posé sur le groupement *N-tert*-butoxycarbonyle (Boc) de par sa stabilité et son extrême résistance envers la réaction de saponification. Une procédure de protection par le groupement Boc catalysée par le perchlorate de lithium a été utilisée car elle est reportée comme étant efficace pour

²⁵⁸ Hussein, H. A. R. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* **2007**, *182*, 2069-2085.

²⁵⁹ Albright, J. D.; DeVries, V. G.; Du, M. T.; Largis, E. E.; Miner, T. G.; Reich, M. F. and Shepherd, R. G. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 1393-1411.

²⁶⁰ Boger, D. L.; Yohannes, D.; Zhou, J. and Patane, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3420-3430.

²⁶¹ Fettes, A. and Carreira, E. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9274-9283.

les amines aromatiques électrodéficientes,²⁶² telles que sont celles des composés **208** à **210**. Les rendements obtenus (Schéma 78) sont compris entre 63 % et 83 %. Le produit issu de la protection du substrat **207** portant un imidazole non substitué n'a pas pu être isolé. En effet, un mélange de produits simplement ou doublement protégés sur l'azote de l'amine ou de l'imidazole a été obtenu.

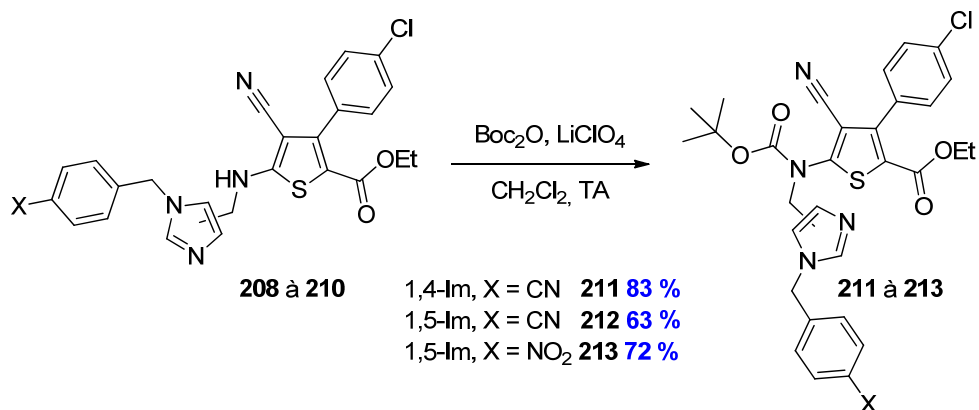


Schéma 78 : Protection de l'amine des composés **208** à **210**

Les aminothiophènes protégés peuvent ensuite subir une saponification par la soude, qui cette fois-ci a pu livrer les formes acides des composés **211** à **213** (Schéma 79). Le mélange de produits protégés du composé **207** a été soumis au même protocole mais malgré tous nos efforts aucune forme acide n'a été isolée.

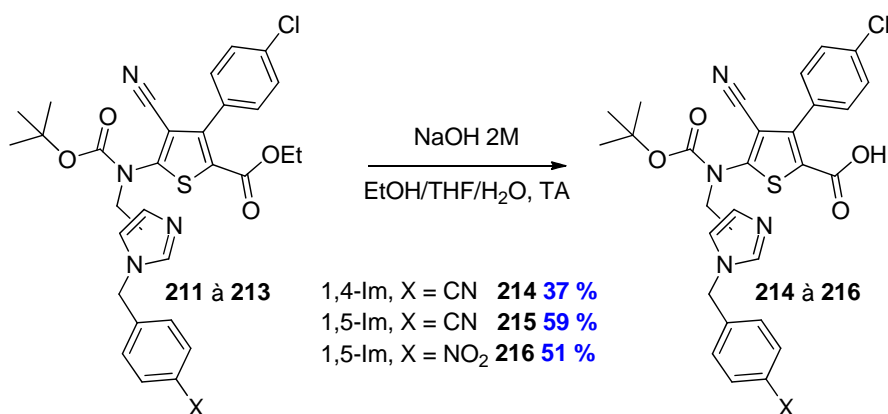


Schéma 79 : Saponification des composés **211** à **213**

Une fois les thiophènes **214** à **216** saponifiés, la dernière étape de la stratégie d'obtention de nos analogues acides consiste à déprotéger l'amine. La déprotection d'un groupement Boc s'effectue classiquement à l'aide d'acide trifluoroacétique (TFA) dans du dichlorométhane. Dans ces conditions, les analogues **217** à **219** déprotégés n'ont malheureusement pas pu être obtenus contre toute attente. Sans que nous ayons pu mettre en évidence les facteurs précis influençant cette réactivité, nous pouvons affirmer que ces analogues ont été non seulement déprotégés mais aussi décarboxylés

²⁶² Heydari, A. and Hosseini, S. E. *Adv. Synth. Cat.* **2005**, 347, 1929-1932.

pour produire les analogues **220** à **222** (Schéma 80). Une déprotection plus douce utilisant un système HCl/dioxane²⁶³ a été utilisée mais les résultats sont restés identiques.

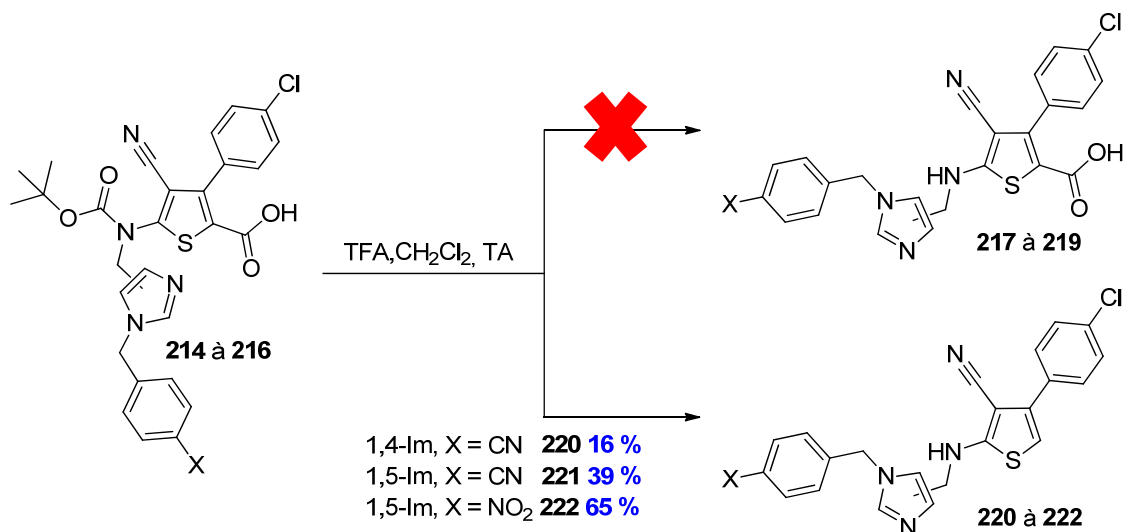


Schéma 80 : Décarboxylation et déprotection du groupement Boc des analogues **214** à **216**

Afin d'expliquer cette réactivité, le composé « hit » **56** possédant une fonction thio-*i*-propyle en position 5 a aussi été soumis à l'action d'acide trifluoroacétique mais celui-ci n'a pas été décarboxylé. Ceci permet de dire que l'amine en position 5 du thiophène a une influence sur cette réaction parasite mais son rôle précis n'a pas pu être déterminé.

Par manque de temps et de matière, nous n'avons pas pu élaborer d'autres stratégies pour atteindre les composés **217** à **219**. D'autres méthodes de déprotection du groupement Boc plus douces ou d'autres groupements protecteurs pourraient être employés pour contrer les différents problèmes rencontrés.

D'autres modifications ont été effectuées sur nos composés comme le branchement d'un deuxième groupement 1-(4-cyanobenzyl)imidazole sur l'aminothiophène **209**. Les conditions d'amination réductrice utilisant le TiCl₄ pour catalyser l'imine et du NaBH₃CN pour réduire cette dernière ont été utilisées pour fournir le composé **223** avec un rendement de 26 %. Ce faible rendement peut être expliqué par l'amine fortement désactivée et encombrée. Le thiophène est ensuite saponifié par la soude donnant l'acide **224** avec un rendement quantitatif (Schéma 81).

²⁶³ Han, G.; Tamaki, M. and Hruby, V. J. *J. Peptide Res.* **2001**, *58*, 338-341.

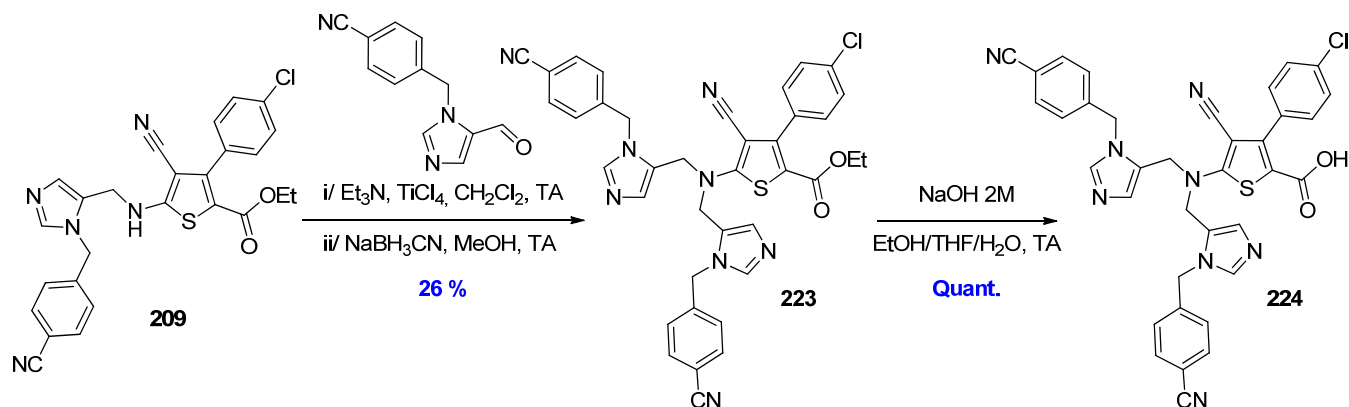


Schéma 81 : Obtention du composé 224 par amination réductrice puis saponification

III.3.b. Le motif imidazole éthanamine

Pour mieux connaître l'influence de la longueur de la liaison entre le noyau thiophène et l'imidazole, nous avons tenté d'homologuer la liaison à un atome en conservant une réaction d'amination réductrice pour lier les deux synthons, l'aminothiophène **204** et l'imidazoleacétaldéhyde. La synthèse de ce dernier s'effectue à partir de l'imidazolecarbaldéhyde protégé par un groupement trityle **225** formé quantitativement à partir de l'imidazolecarbaldéhyde et de chlorure de trityle (Schéma 82).²⁵³ À cause de l'encombrement stérique important de ce dernier, l'imidazole est substitué en positions 1 et 4 exclusivement.

Une réaction de Wittig impliquant le composé **225** et le chlorure de (méthoxyméthyl)triphenylphosphonium permet de synthétiser le composé **226** après optimisation de la réaction notamment au niveau de la base choisie (*t*BuOK, NaH, PhLi). En effet, seul le phényllithium a permis de fournir le composé **226** avec un rendement moyen de 49 % (Schéma 82).

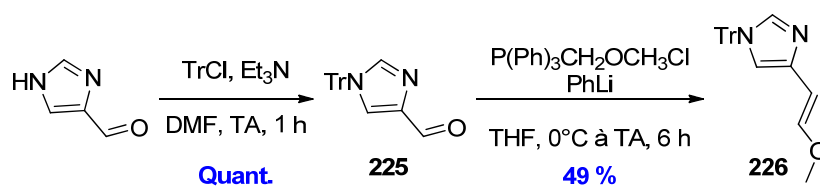


Schéma 82 : Protection de l'imidazolecarbaldéhyde et réaction de Wittig

Enfin, afin d'obtenir l'acétaldéhyde **227**, une déméthylation de l'éther est nécessaire. Cependant, même si les exemples de la littérature semblaient indiquer que cette réaction était aisée, celle-ci n'a jamais donné le résultat escompté. Tous les essais de déméthylation (HCl 1N ou 12N dans l'acétone ou le THF, BBr₃ dans CH₂Cl₂ ou TMSCl/NaI dans CH₃CN) ont donné des produits de dégradation (Schéma 83).

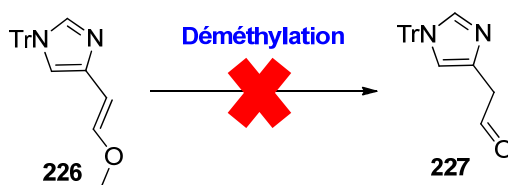


Schéma 83 : Tentative de déméthylation de 226

Étant donné les problèmes de synthèse du composé **227** et les faibles rendements d'amination réductrice, le motif imidazole éthanamine a été abandonné au profit du motif imidazole acétamide dont la stratégie de synthèse paraissait plus efficace. De plus ce motif est rencontré dans certains inhibiteurs de protéine farnésyltransférase.⁹⁷

III.3.c. Le motif imidazole acétamide

Ce motif peut être introduit à partir de l'acide 2-(1H-imidazol-4-yl)acétique **228** de deux manières,²⁶⁴ par acylation ou par couplage peptidique.

La première méthode a été effectuée grâce à un agent de chloration, le chlorure de thionyle permettant de produire le chlorure d'acide de l'imidazole **228**. Ce dernier, traité avec de la pyridine et l'amine **204**, ne permet pas d'obtenir le composé **229** souhaité (Schéma 84). En effet, seuls les produits de départ sont récupérés.

La deuxième stratégie a donc été envisagée. Contrairement au cas précédent, les composés **228** et **204** soumis aux conditions de couplage peptidique impliquant les agents de couplage EDCI/HOBt avec une base idoine telle que la triéthylamine réagissent pour donner l'amide **229** avec un rendement de 30 % (Schéma 84). L'introduction du groupement imidazole acétamide s'est donc révélée plus aisée que celle du groupement imidazole éthanamine grâce à la simplicité de la réaction de couplage peptidique.

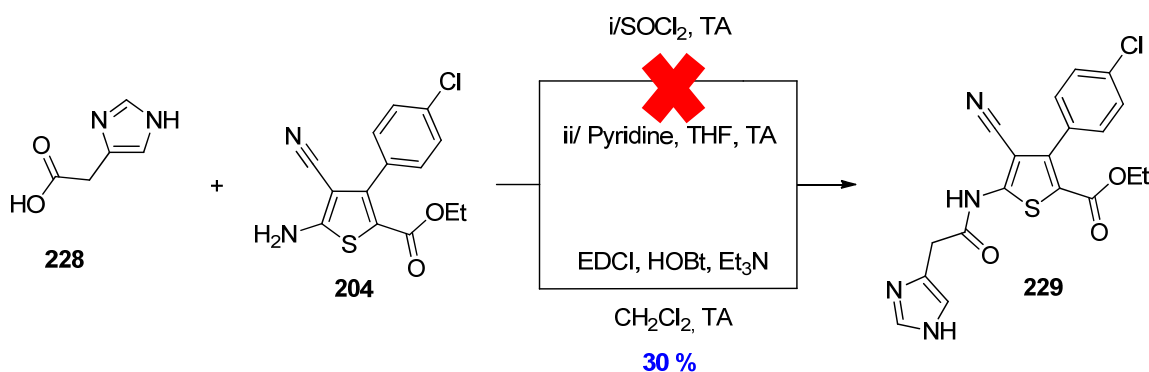


Schéma 84 : Formation du composé 229

²⁶⁴ Evans, B. E.; Lundell, G. F.; Gilbert, K. F.; Bock, M. G.; Rittle, K. E.; Carroll, L. A.; Williams, P. D.; Pawluczyk, J. M. and Leighton, J. L. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3993-4005.

La saponification de cette molécule a permis de donner l'analogue acide **230** de manière quantitative (Schéma 85). Ainsi, contrairement à son homologue **209** portant une amine secondaire en position 5, le composé **229** portant une fonction amide à cette position n'a présenté aucun problème lors de la réaction de saponification.

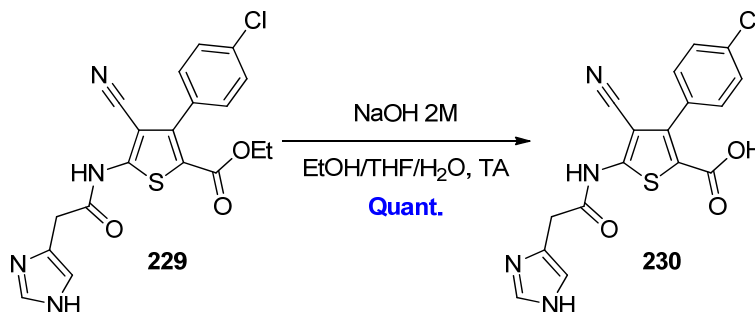


Schéma 85 : Saponification du composé 229

III.4. Introduction du groupement azoture

Les évaluations biologiques de certains de nos composés nous laissent penser qu'un problème de pénétration cellulaire serait la cause des différences d'activités entre l'enzyme isolée et le parasite. Afin de mieux comprendre ce problème, certaines études peuvent être menées. L'une d'entre elles consisterait à lier un fluorophore situé à l'intérieur de la cellule avec l'analogue évalué si celui-ci est capable de traverser la membrane. Pour cela, une réaction de chimie « click » peut être envisagée. Ainsi, il est nécessaire d'introduire un groupement azoture sur nos analogues en position 5 du thiophène.

Les azotures organiques peuvent être préparés à travers cinq méthodes différentes¹⁶² (Figure 58) :

- a/ insertion d'un groupement N₃ (substitution ou addition) ;
- b/ insertion d'un groupement N₂ (transfert de diazo) ;
- c/ insertion d'un atome d'azote (diazotation) ;
- d/ clivage de triazines et de composés analogues ;
- e/ réarrangement d'azotures.

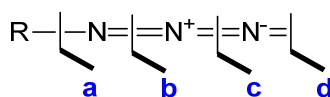


Figure 58 : Méthodes de préparations d'azotures organiques

Comme nous avons pu l'évoquer dans le chapitre concernant les analogues triazoles, la fonction amine peut être convertie en fonction azoture grâce à des agents de transfert de diazo. Cette fonction azoture peut, ensuite, être mise en réaction pour former de nouveaux analogues

possédant un triazole en position 5 du thiophène ou peut être utilisée pour d'éventuels tests biologiques permettant d'évaluer la pénétration cellulaire.

Afin d'installer cette fonction, nous avons tenté d'utiliser l'azoture d'imidazole-1-sulfonyle **92** sous sa forme chlorhydrate, agent de transfert de diazo présenté précédemment. Cependant, ce réactif ne nous a pas permis d'obtenir l'azoture souhaité (Schéma 86) par manque de réactivité du produit de départ **204**.

Pour ne pas employer du TfN_3 , l'équipe de Moses²⁶⁵ a mis en place une synthèse moins dangereuse et plus pratique d'azotures aromatiques à partir de leurs amines primaires correspondantes. Cette réaction de diazotation utilise comme réactifs le nitrite de *tert*-butyle (*t*-BuONO) et l'azidotriméthylsilane (TMSN_3) qui ont pour avantage d'être stables et non explosifs. Bien que cette méthode soit décrite pour des amines aromatiques possédant potentiellement des groupements électroattracteurs, dans notre cas, l'azoture souhaité **231** n'a pas pu être synthétisé (Schéma 86).

Dans la littérature, des aminothiophènes ont été transformés en azidothiophènes *via* une diazotation à l'acide sulfurique²⁶⁶ suivie d'un traitement à l'azoture de sodium.²⁶⁷ Cette stratégie a été utilisée avec le composé **204** pour donner l'azoture **231** avec un rendement, cependant faible, de 25 % (Schéma 86).

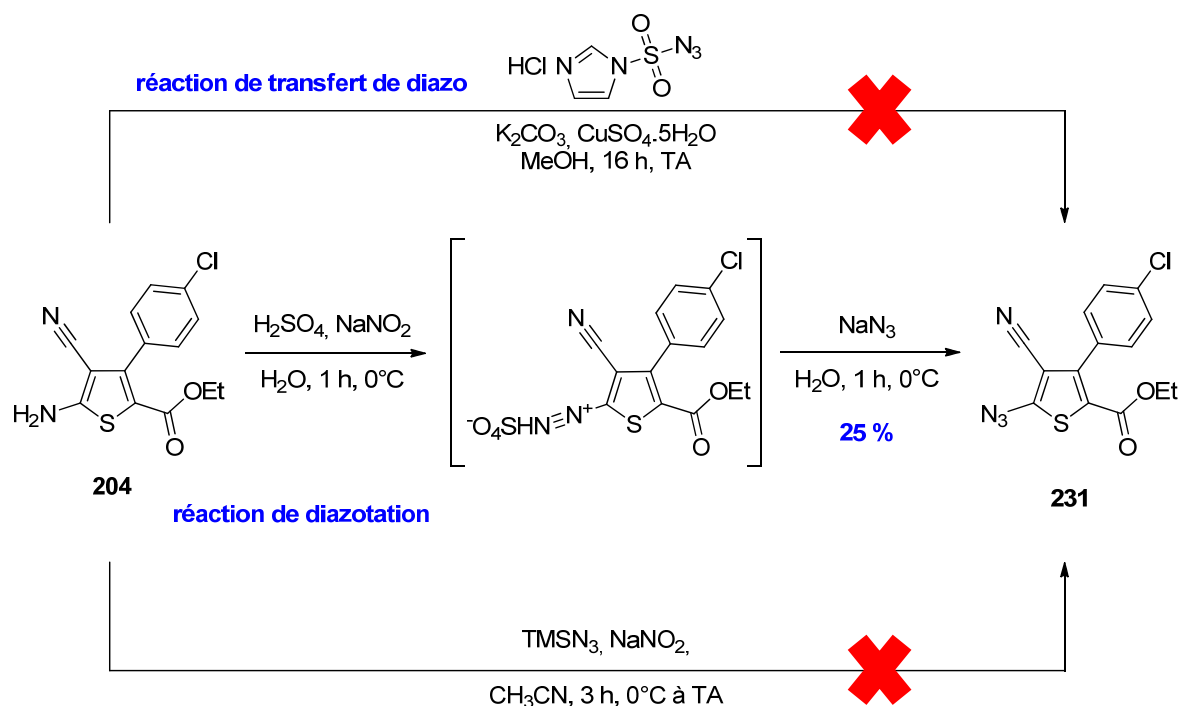


Schéma 86 : Stratégie de formation du composé 231

²⁶⁵ Barral, K.; Moorhouse, A. D. and Moses, J. E. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809-1811.

²⁶⁶ Maradiya, H. R. and Patel, V. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2002**, *38*, 1324-1330-1330.

²⁶⁷ Pokhodylo, N. T.; Matiychuk, V. S. and Obushak, M. D. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 2678-2683.

Insatisfaits de ce rendement et vu la difficulté apparente d'obtenir le sel de diazonium pour les deux dernières méthodes, nous avons alors utilisé pour synthétiser l'azidothiophène **231** en grande quantité, la stratégie mise en place lors des travaux de thèse du Dr S. Lethu.¹²³ Cette méthode moins élégante mais néanmoins plus efficace s'effectue à partir du composé **122**. Pour cela, la fonction thio *isopropyle* du thiophène **122** est activée sous sa forme oxydée sulfone **232** grâce à un oxydant doux tel que l'acide *m*-chloroperbenzoïque (*m*CPBA). La sulfone peut subir une réaction de substitution nucléophile aromatique en présence d'azoture de sodium pour fournir le composé **231** avec un rendement quantitatif. La saponification de l'ester en présence de soude permet d'obtenir l'azidothiophène acide **233** (Schéma 87) qui pourra être converti potentiellement en divers analogues.

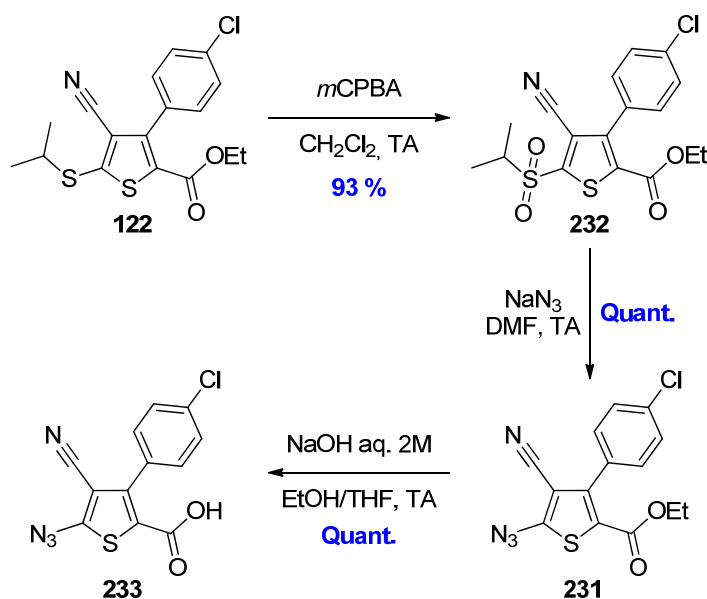
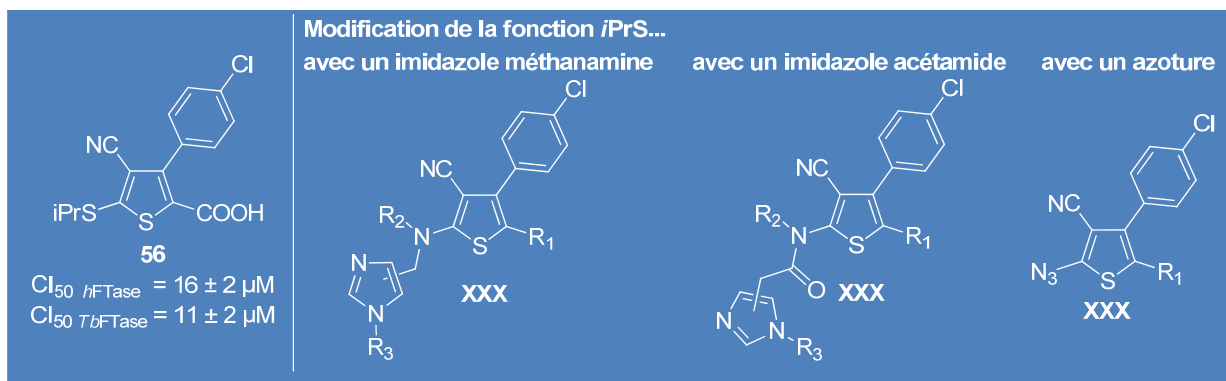


Schéma 87 : Formation de l'azoture 231 à partir du composé 122

III. 5. Évaluation biologique

III.5.a. Résultats sur la FTase de *T. brucei* et humaine

Une fois synthétisés, les différents analogues modifiés en position 5 ont été évalués biologiquement sur FTase humaine et de *T. brucei*. Les résultats obtenus ont été retranscrits dans le Tableau 15.



Motif imidazole méthanamine (Cl_{50} en μM)								
Entrée	R ₁	R ₂	Subst. Im.	R ₃	XXX	$Cl_{50} \text{ } hFTase$	$Cl_{50} \text{ } TbFTase$	
1	CO ₂ Et	H	1,4	H	207	21 ± 2	31 ± 1	
2			1,4	<i>p</i> -CNBn	207	35 ± 8	inactif	
3			1,5	<i>p</i> -CNBn	209	0,13 ± 0,02	> 50	
4			1,5	<i>p</i> -NO ₂ Bn	210	0,19 ± 0,03	7,4 ± 0,5	
5		CH ₂ -1,5Im(CNBn)	1,5	<i>p</i> -CNBn	223	0,013 ± 0,003	> 50	
6		Boc	H	1,4	<i>p</i> -CNBn	211	0,33 ± 0,04	inactif
7				1,5	<i>p</i> -CNBn	212	0,29 ± 0,05	> 50
8				1,5	<i>p</i> -NO ₂ Bn	213	2,1 ± 0,4	> 50
9				1,4	<i>p</i> -CNBn	214	0,38 ± 0,03	36 ± 2,5
10		CO ₂ H	Boc	1,5	<i>p</i> -CNBn	215	0,64 ± 0,08	> 50
11				1,5	<i>p</i> -NO ₂ Bn	216	0,98 ± 0,13	13 ± 1,4
12				CH ₂ -1,5Im(CNBn)	1,5	<i>p</i> -CNBn	224	0,97 ± 0,3
13		H	H	1,4	<i>p</i> -CNBn	220	5,1 ± 1,0	> 50
14				1,5	<i>p</i> -CNBn	221	0,37 ± 0,09	18 ± 1
15				1,5	<i>p</i> -NO ₂ Bn	222	0,010 ± 0,001	10 ± 1
Motif imidazole acétamide (Cl_{50} en μM)								
Entrée	R ₁	R ₂	Subst. Im.	R ₃	XXX	$Cl_{50} \text{ } hFTase$	$Cl_{50} \text{ } TbFTase$	
16	CO ₂ Et	H	1,4	H	229	> 50	15 ± 3	
17	CO ₂ H	H	1,4	H	230	22 ± 0,9	13 ± 1	
Motif azoture (Cl_{50} en μM)								
Entrée	R ₁				XXX	$Cl_{50} \text{ } hFTase$	$Cl_{50} \text{ } TbFTase$	
18	CO ₂ Et				231	1,2 ± 0,2	1,0 ± 0,08	
19	CO ₂ H				233	1,2 ± 0,2	0,94 ± 0,1	

Tableau 15 : Évaluations biologiques sur *hFTase* et *TbFTase* des composés modifiés en position 5 du thiophène central
 Référence FTI-276 : $Cl_{50} \text{ } hFTase = 0,015 \mu M$ et $Cl_{50} \text{ } TbFTase = 0,010 \mu M$

Ces résultats montrent une nette sélectivité de nos analogues modifiés en position 5 en faveur de la FTase humaine.

Pour l'enzyme de *T. brucei*, les activités obtenues sont médiocres et moins bonnes que notre composé référence **56** ($CI_{50} = 11 \mu M$) sauf pour le thiophène ester **210** possédant un groupement 1-(4-nitrobenzyl)imidazole méthanimine ($CI_{50} = 7,4 \mu M$) et les azotures **231** ($CI_{50} = 1,0 \mu M$) et **233** ($CI_{50} = 0,94 \mu M$). Contrairement à nos attentes, le motif imidazole méthanimine n'est pas efficace sur la FTase de *T. brucei*. Toutefois, l'alkylation du noyau imidazole avec un groupement *p*-nitrobenzyle a un effet positif sur l'inhibition de l'enzyme de parasite (entrées 4, 11 et 15). De plus, les résultats des activités des composés **207** et **229** (entrées 1 et 16) laissent penser que le motif imidazole acétamide a une meilleure interaction que le motif homologue au sein de l'enzyme. La double alkylation de l'amine en position 5 du thiophène central n'a eu aucun effet positif sur l'activité (entrées 3, 5 et 12). La fonction azoture a, quant à elle, donné le meilleur résultat sur cette enzyme (entrée 18) avec un gain d'un facteur dix par rapport au produit de référence **56**.

Sur l'enzyme humaine, les meilleures activités ont été obtenues avec le motif imidazole méthanimine. En effet, avec le motif imidazole acétamide, on observe une grande perte de l'activité inhibitrice (entrées 1 et 16). Les interactions mises en jeu dans les deux types d'enzyme sont donc différentes puisque l'inverse est constaté sur l'enzyme de *T. brucei*. L'ajout d'une fonction carbonyle supplémentaire entre l'amine du thiophène et le groupement imidazole permet éventuellement de mieux adhérer à la poche de sortie de l'enzyme de parasite. Cette cavité est une des différences notoires entre les deux enzymes qui permet de jouer sur la sélectivité des divers analogues (Figure 59).¹¹⁶

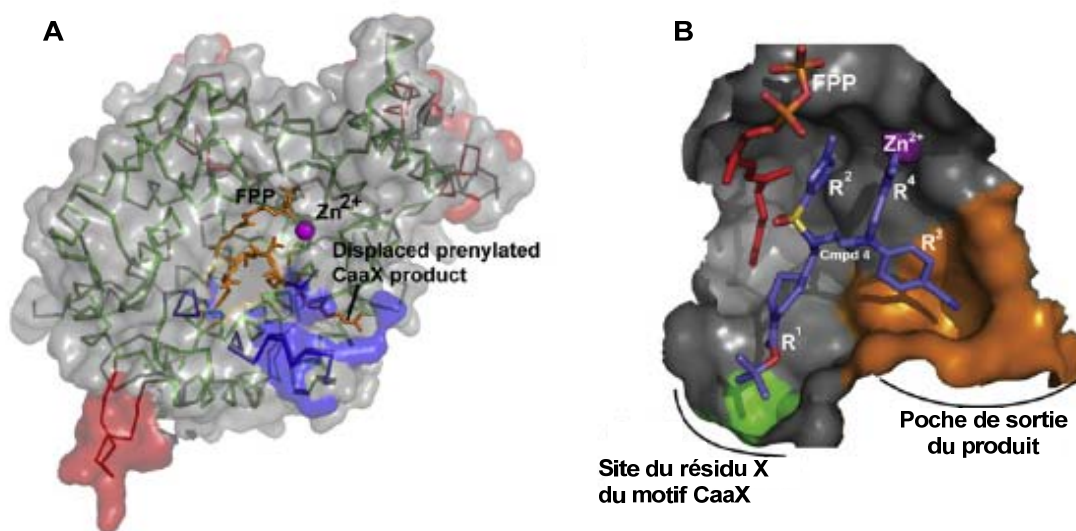


Figure 59 : (A) : Homologie d'un modèle de sous-unité β de la FTase de *P. falciparum* (en gris et rouge) superposé à la sous-unité β de la FTase humaine. La partie bleue représente les aires de divergence entre les 2 sous-unités β présentées en (C) en orange et en vert.¹¹⁶

La modification du groupement isopropyle en motif imidazole méthanimine a permis d'obtenir onze composés aux activités submicromolaires sur FTase humaine dont les meilleures activités sont de 13 nM et de 10 nM obtenues respectivement pour les composés **223** et **222** (entrées

5 et 15). Il est à noter que ces molécules n'ont pas d'activité cytotoxique sur les lignées cellulaires KB et MRC5 à 10^{-6} M.

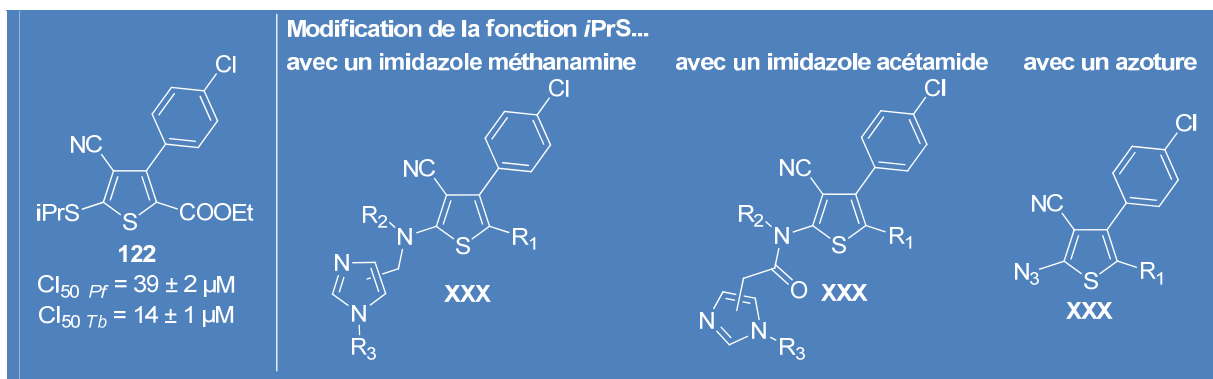
L'introduction des groupements Boc a un effet différent selon le type d'alkylation sur l'imidazole. En effet, pour les composés possédant la fonction ester en position 2, les imidazoles substitués en positions 1 et 5 possèdent les meilleures activités (entrées 2 à 4). Dès qu'un groupement Boc est introduit, la Cl_{50} du composé possédant un imidazole 1,4-disubstitué est cent fois meilleure (entrée 6) alors que pour les deux autres composés elle est sensiblement équivalente (entrée 7) voire dix fois inférieure (entrée 8). Le groupement Boc permettrait donc de favoriser certaines interactions que la substitution en position 4 ne peut pas accomplir au sein de l'enzyme.

Comme pour certains analogues modifiés en position 3, la saponification des composés n'améliorent pas de manière significative les activités inhibitrices contrairement à ce qui a pu être observé lors de travaux antérieurs (entrées 5 à 12). On peut remarquer, au passage, qu'elle n'a aussi aucun effet lorsque la fonction azoture est située en position 5 du thiophène (entrées 18 et 19). L'inversion de ce phénomène est particulièrement flagrante pour l'amine doublement substituée par un groupement imidazole. En effet, alors que le composé acide possède une Cl_{50} de 970 nM, l'homologue ester possède une activité de 13 nM (entrées 5 et 12). De plus, similairement à la FTase de *T. brucei*, la fonction carbonyle n'est pas ici nécessaire pour ce type de composé puisqu'une activité de 10 nM a été obtenue pour le composé **222** (entrée 15) qui est décarboxylé.

De manière générale les substitutions de l'imidazole en position 1 et 5 sont plus bénéfiques que celles en positions 1 et 4. Ces résultats ont déjà été reportés dans la littérature (entrées 1 à 15).^{95,97} La nature du substituant a aussi une grande influence. Bien que les groupements cyano et nitro soient tous les deux des groupements électroattracteurs, ce dernier possède en général de meilleures activités jusqu'à atteindre une activité de 10 nM pour le composé **222** (entrée 15). Un effet stérique est donc plus probablement la cause de ces différences d'activité. La présence de deux groupements 1-(4-cyanobenzyl)imidazole permettrait de favoriser efficacement certaines interactions sans qu'une gêne stérique n'ait apparemment lieu.

Cette modification au niveau de la position 5 du thiophène s'est donc révélée particulièrement décevante sur enzyme de *T. brucei* en comparaison des activités de l'inhibiteur FTI-276. Par contre, cette approche s'est avérée relativement positive pour la FTase humaine montrant, de nouveau une différence de comportement entre les deux enzymes.

III.5.b. Résultats sur les parasites *P. falciparum* et *T. brucei*



Motif imidazole méthanamine (Cl_{50} en μM)								
Entrée	R ₁	R ₂	Subst. Im.	R ₃	XXX	$Cl_{50} Pf$	$Cl_{50} Tb$	
1	CO ₂ Et	H	1,4	H	207	29 ± 2	26 ± 1	
2			1,4	<i>p</i> -CNBn	208	37 ± 10	12 ± 1	
3			1,5	<i>p</i> -CNBn	209	24 ± 9	6,4 ± 0,5	
4			1,5	<i>p</i> -NO ₂ Bn	210	4,8 ± 0,4	3 ± 0,2	
5		CH ₂ -1,5Im(CNBn)	1,5	<i>p</i> -CNBn	223	0,41 ± 0,08	2,8 ± 0,4	
6		Boc	Boc	1,4	<i>p</i> -CNBn	211	10 ± 0,8	2,9 ± 0,3
7				1,5	<i>p</i> -CNBn	212	1,9 ± 1,1	0,56 ± 0,03
8				1,5	<i>p</i> -NO ₂ Bn	213	1,3 ± 0,2	0,44 ± 0,03
9		CO ₂ H	Boc	1,4	<i>p</i> -CNBn	214	30 ± 2,8	> 50
10				1,5	<i>p</i> -CNBn	215	3,6 ± 0,2	> 50
11				1,5	<i>p</i> -NO ₂ Bn	216	4,4 ± 1,1	> 50
12				CH ₂ -1,5Im(CNBn)	1,5	<i>p</i> -CNBn	224	25
13		H	H	1,4	<i>p</i> -CNBn	220	26 ± 1,1	10 ± 1,5
14				1,5	<i>p</i> -CNBn	221	13 ± 0,4	25 ± 3
15				1,5	<i>p</i> -NO ₂ Bn	222	4,1 ± 1,8	5 ± 0,8
Motif imidazole acétamide (Cl_{50} en μM)								
Entrée	R ₁	R ₂	Subst. Im.	R ₃	XXX	$Cl_{50} Pf$	$Cl_{50} Tb$	
16	CO ₂ Et	H	1,4	H	229	35 ± 1	17 ± 2	
17	CO ₂ H	H	1,4	H	230	> 50	> 50	
Motif azoture (Cl_{50} en μM)								
Entrée	R ₁				XXX	$Cl_{50} Pf$	$Cl_{50} Tb$	
18	CO ₂ Et				231	25	1,8 ± 0,1	
19	CO ₂ H				233	n.d.	n.d.	

Tableau 16 : Évaluations biologiques sur *P. falciparum* et *T. brucei* des analogues modifiés en position 5

Vraisemblablement pour des problèmes de pénétration cellulaire, les thiophènes possédant des fonctions acides ont de mauvaises activités (entrées 9 à 12 et 17). L'ajout d'un groupement Boc protégeant l'amine secondaire polaire des thiophènes **208** à **210** permet pour des raisons probablement similaires d'augmenter sensiblement l'inhibition du développement des parasites (entrées 6 et 8).

Alors que l'introduction d'un motif imidazole méthanamine ou azoture à la place du motif isopropyle donne de meilleurs résultats sur parasites, l'introduction d'un motif imidazole acétamide n'a pas permis d'augmenter l'activité inhibitrice.

Concernant le motif imidazole méthanamine, les mêmes conclusions données pour la FTase peuvent être appliquées pour les parasites. En effet, bien que la substitution du noyau imidazole ait un effet bénéfique, la substitution en position 5 est meilleure que celle en position 4 (entrées 1 à 4). De plus, le groupement nitro paraît être préférable au groupement cyano.

Ainsi, les résultats des évaluations biologiques des composés modifiés en position 5 sur *P. falciparum* et *T. brucei* (Tableau 16) montrent peu de corrélations avec les résultats sur enzymes isolées. Nous pouvons donc légitimement nous demander si la FTase est bien la cible de nos composés lors de ces tests.

Mis à part pour les composés **215** et **216**, étonnamment beaucoup plus actifs sur *P. falciparum* que sur *T. brucei*, les CI_{50} de tous les autres composés corrélaient. Néanmoins, les activités restent modestes et les meilleures d'entre elles sont en général de l'ordre du micromolaire. Seules deux molécules se démarquent, **212** et **213**, avec des activités submicromolaires sur *T. brucei* et une molécule (**223**) avec une CI_{50} de 0,41 μ M sur *P. falciparum*.

IV. Modification autour de la méthionine

IV.1. Remplacement par des acides aminés

Lors des évaluations biologiques préliminaires sur les thiophènes portant une fonction acide en position 2, nous avons observé un comportement équivalent lorsqu'au niveau de la position 5 était greffée une chaîne thio-*isopropyle* ou une chaîne thio-*sec-butyle*. Nous avons donc voulu comparer l'influence de ces deux groupements thioalkyles avec la méthionine mais aussi avec la glutamine. En effet, comme expliqué précédemment, ces deux acides aminés couplés en position 2 du thiophène pourraient mimer le X du motif CaaX de la protéine substrat de la FTase.

La synthèse de ces composés est effectuée efficacement selon la voie A. Le cétène dithioacétal (**119** ou **234**) formé par déprotonation du malononitrile puis condensation avec le disulfure de carbone et traitement à l'iodure d'alkyle subit une cyclisation en présence de carbonate de potassium et de thioglycolate d'éthyle pour former le thiophène **120** ou **235**. Une réaction de Sandmeyer (**121** ou **236**) et un couplage de Suzuki avec l'acide *p*-chlorophénylboronique permet de fournir le 3-arylthiophène souhaité (**122** ou **237**) qui est ensuite saponifié par la soude (**56** ou **238**) puis couplé avec la méthionine ou la glutamine selon les conditions classiques de couplage peptidique pour fournir les analogues **239**, **240** ou **241**. Le groupement protecteur ester méthylique de la méthionine est clivé par saponification avec de la soude donnant le composé **60** et **242** alors que le groupement protecteur ester *tert*-butyle est clivé par traitement à l'acide trifluoroacétique pour donner le composé **243** (Schéma 88).

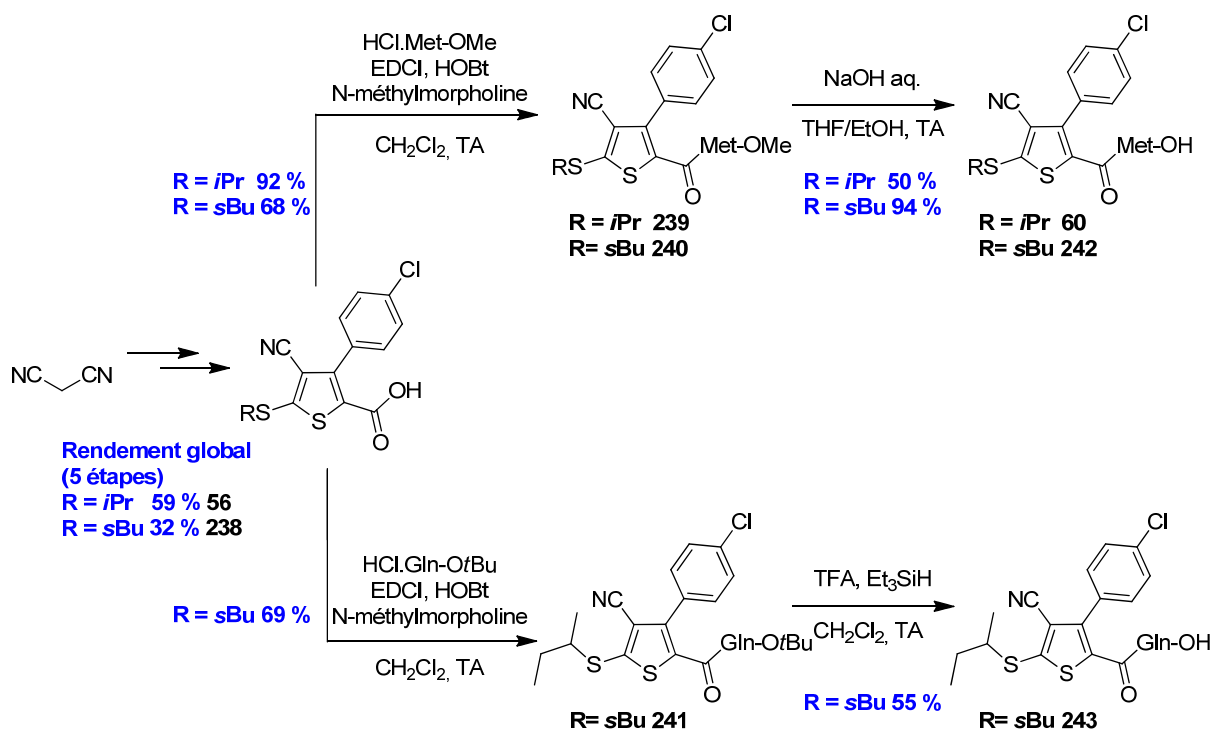


Schéma 88 : Synthèse des analogues possédant une méthionine ou une glutamine en position 2

Afin de vérifier si la méthionine du composé **60** mime bien le X du motif Ca_1a_2X et non l'acide aminé a_2 du motif Ca_1a_2X , nous avons couplé le dipeptide Ile-Met-OMe au thiophène **56**. Cette séquence a été choisie car elle mime convenablement le motif C-terminal de peptides substrats de la FTase. En effet, la méthionine fait partie des quatre acides aminés reconnus en tant que X du motif CaaX et l'isoleucine est retrouvée par exemple en tant que a_2 de la protéine K-Ras4B (CVIM) et de la lamine B (CAIM), substrats de la FTase et de la protéine Rap2b (CVIL) substrats de la GGTase (Figure 60).¹¹

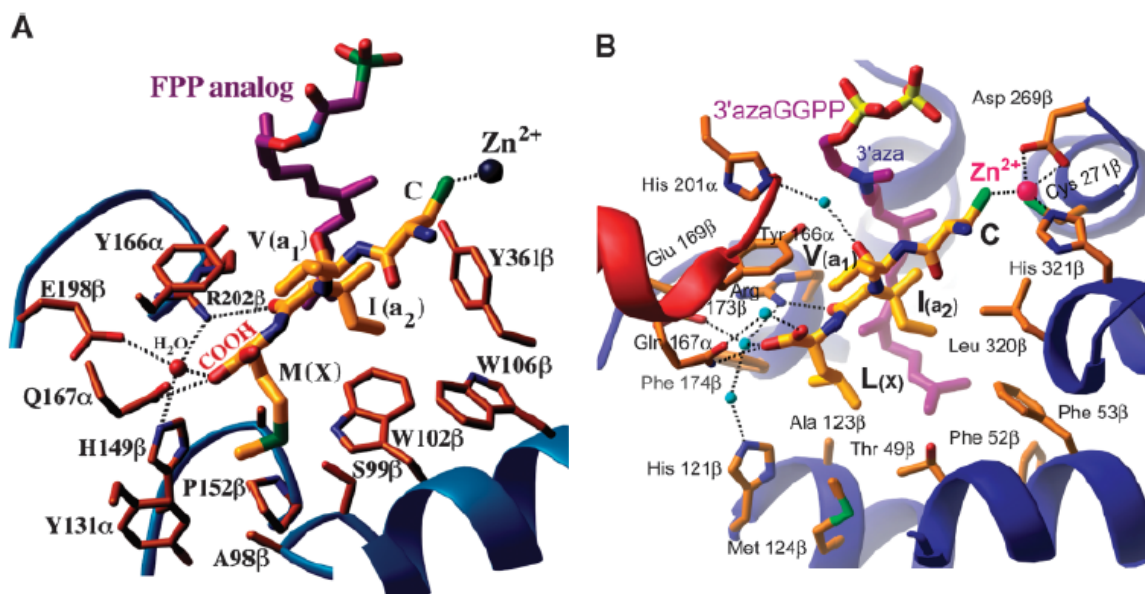


Figure 60 : Substrats du motif CaaX de la FTase (A) et de la GGTase (B) portant une Ile en tant que a_2 du motif Ca_1a_2X ¹¹

La synthèse de cet analogue (Schéma 89) s'effectue selon deux couplages peptidiques avec les agents de couplage EDCI et HOBt en présence de N-méthylmorpholine. Le premier couplage permettant de former le dipeptide Boc-Ile-Met-OMe **244** s'effectue avec un bon rendement de 93 %. Le deuxième couplage mettant en jeu le composé **244** déprotégé à l'aide de TFA et le thiophène **56** fournit le composé **245** avec un rendement de 70 %. En comparaison des autres couplages peptidiques présentés précédemment, ce rendement est moins bon. Ceci peut être expliqué par une moindre solubilité du dipeptide constatée dans le dichlorométhane. La saponification quantitative de **245** permet d'obtenir l'analogue acide **246**.

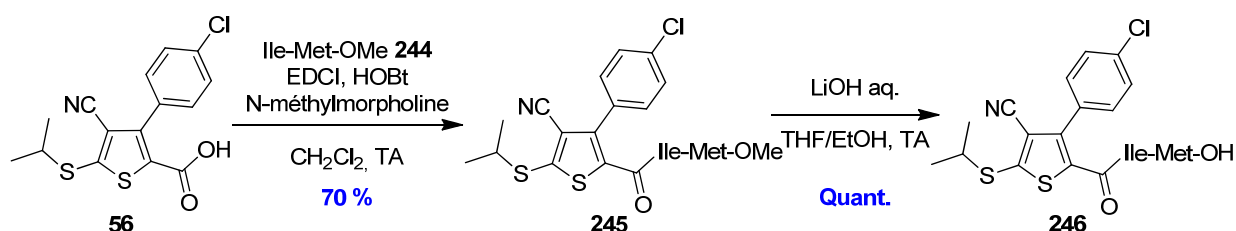


Schéma 89 : Synthèse de l'analogue 246

Ensuite, l'influence de la configuration de la méthionine a été testée en synthétisant (Schéma 90) les analogues ester **247** et acide **248** possédant la (D)-méthionine. Ces composés sont obtenus sans problème de manière similaire à la synthèse de leurs homologues **239** et **60** contenant l'acide aminé naturel, c'est-à-dire de configuration L.

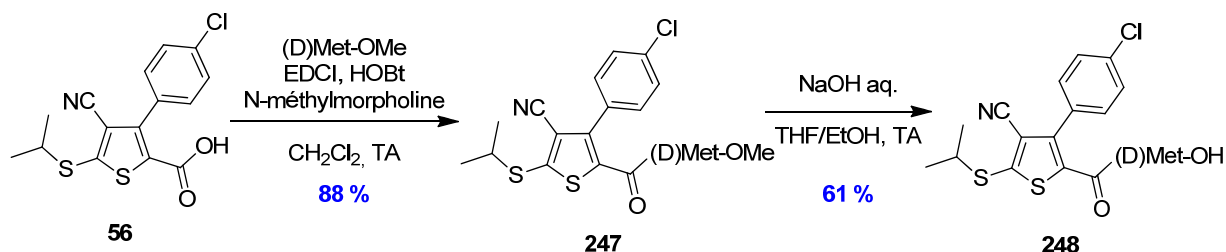


Schéma 90 : Analogues possédant la (D)-méthionine en position 2 du thiophène

IV.2. Remplacement par des pseudo-acides aminés

Lors des évaluations biologiques, le thiophène **60** et son homologue ester **239** ont présenté des résultats qui ne concordaient pas. En effet, alors que le composé **60** possède une bonne Cl_{50} *in vitro* égale à 0,11 μ M sur FTase de *T. brucei*, son homologue ester **239** possède seulement une Cl_{50} *in cellulo* de 13 μ M sur le parasite *T. brucei*. Cette dernière activité est comparable à celle du composé **122** qui ne contient pas la fonction méthionine. Ainsi la nette différence entre les activités *in vitro* sur enzymes et *in cellulo* sur parasites pourrait être due à des peptidases qui clivent, au sein de l'enzyme, la fonction méthionine apparemment bénéfique à l'activité. Pour contrer ces peptidases hypothétiques, des pseudo-acides aminés,²⁶⁸ inertes face à ces enzymes, sont introduits pour mimer la méthionine. En effet, la modification du squelette peptidique permet d'obtenir des analogues possédant une stabilité plus grande vis-à-vis des hydrolyses enzymatiques mais aussi une plus grande affinité envers certains récepteurs biologiques. Lors de ces travaux de thèse, les transformations effectuées sont la thioamidation ou la N-méthylation de la méthionine et la synthèse d'une méthionine aza- β 3.

IV.2.a. Remplacement par un thioacide aminé

Le remplacement par un thioamide Ψ [CSNH], où l'atome d'oxygène de l'amide est substitué par un atome de soufre, constitue un exemple de modification assez minime et subtile. Il a été montré que le thioamide adopte préférentiellement une configuration *trans* planaire comme la fonction amide. Cependant, ces deux groupements fonctionnels possèdent différentes propriétés physico-chimiques pouvant mener à des changements de configuration dans le but d'augmenter leur stabilité envers les protéases et améliorer leurs activités biologiques (Figure 61). De plus, la capacité

²⁶⁸ Vagner, J.; Qu, H. and Hruby, V. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 292-296.

du groupement thioamide à former des liaisons H est très importante,²⁶⁹ ce qui permet d'avoir de meilleures interactions avec certains récepteurs biologiques.

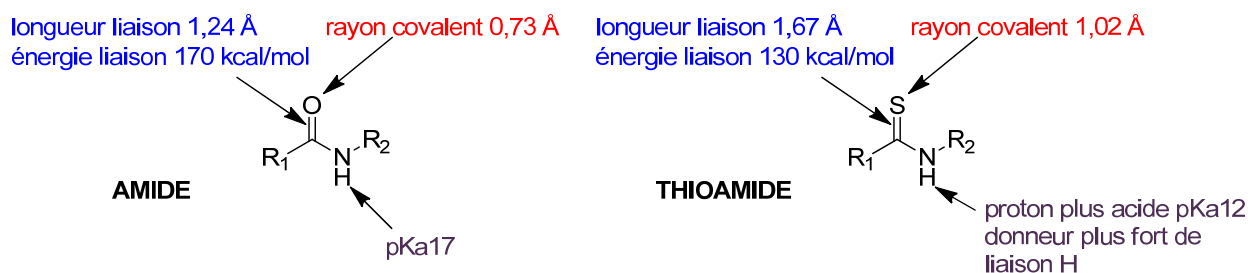


Figure 61 : Comparaison entre la fonction amide et thioamide

Depuis la première synthèse de thiopeptides en 1926 avec P_4S_{10} ,²⁷⁰ d'importants développements dans le domaine de la thionation ont été réalisés. Une avancée considérable a été effectuée avec l'introduction en 1978 du 2,4-disulfure de 2,4-bis(méthylthio)-1,2,3,4-dithiadiphosphétane communément appelé réactif de Lawesson,²⁷¹ agent de thionation sans racémisation.

Le mécanisme (Schéma 91) fait intervenir l'équilibre du réactif de Lawesson avec un yltre de dithiophosphine hautement réactif qui peut s'écrire selon deux formes mésomères. Ces dernières peuvent réagir avec un composé carbonylé pour former un thioxaphosphétane, qui se décompose en thiocétone correspondante de manière analogue à la réaction de Wittig. Un facteur important de ce mécanisme est la stabilité thermodynamique des produits d'arrivée. En effet, la liaison P–O étant beaucoup plus forte que la liaison P–S, la formation du produit de thionation est soutenue par l'échange du soufre pour l'oxygène.²⁷² On peut remarquer qu'un équivalent de réactif de Lawesson permet d'effectuer quatre thionations.

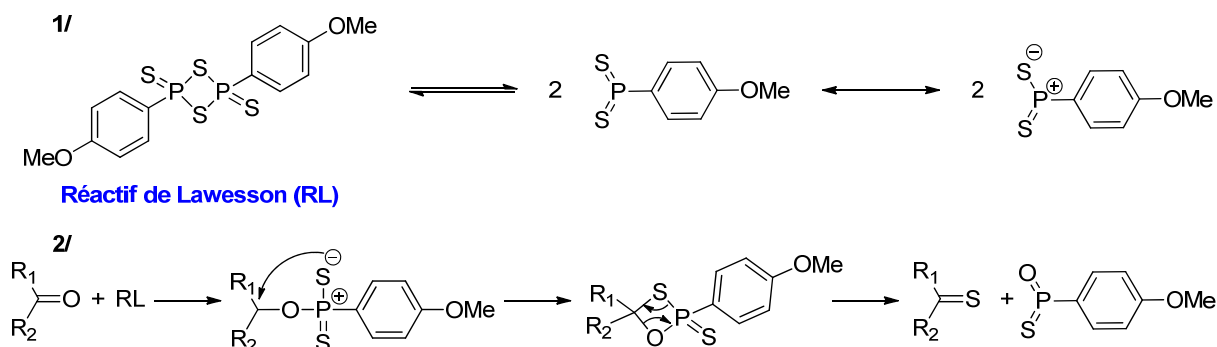


Schéma 91 : Mécanisme de la réaction de thionation en présence du réactif de Lawesson

²⁶⁹ Sifferlen, T.; Rueping, M.; Gademann, K.; Jaun, B. and Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 2067-2093.

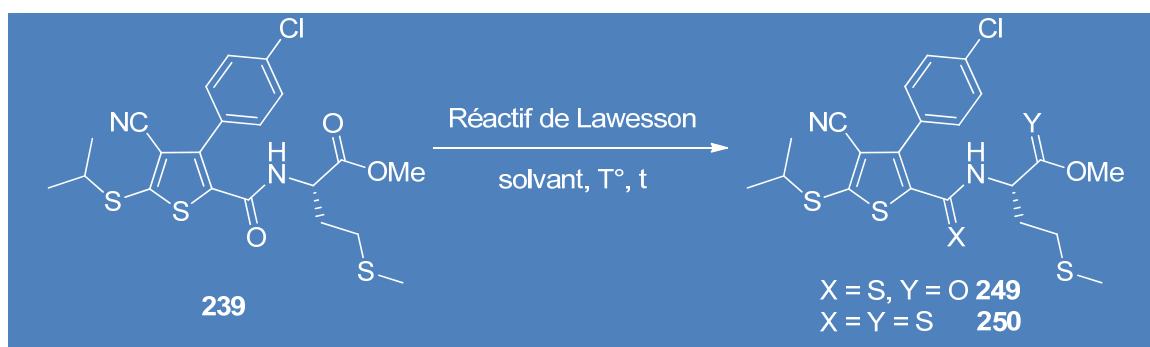
²⁷⁰ Gatewood, E. S. and Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1926**, *48*, 2900-2905.

²⁷¹ Clausen, K.; Thorsen, M. and Lawesson, S. O. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 3635-3639.

²⁷² Jesberger, M.; Davis, T. P. and Barner, L. *Synthesis* **2003**, 1929-1958. et références incluses.

Le réactif de Lawesson est un des meilleurs réactifs pour la thionation des peptides et des acides aminés grâce à sa haute sélectivité basée sur les températures de réaction. Généralement, le réactif de Lawesson réagit avec les lactames et les lactones à 80°C, avec les cétones et les uréthanes à 110°C et avec les esters acycliques à 130°C.²⁷² De plus, le réactif de Lawesson a prouvé être un des réactifs de thionation les plus intéressants grâce à ses conditions opératoires relativement douces. Cependant, dans la plupart des cas, les rendements de formation de thioamides dépendent des conditions de réaction, spécifiques au substrat. Il est à noter que la nature du solvant constitue souvent un facteur crucial.²⁷³

Ainsi, afin de créer notre analogue possédant une thio-méthionine, le composé **239** a été mis en présence du réactif de Lawesson selon différentes conditions opératoires (Tableau 17).



Entrée	Solvant	Réactif de Lawesson	Temps	Température	Rendement
1	THF	1 éq.	100 h	25°C	10 % (249)
2	THF	0,3 éq.	140 h	50°C	0 %
3	THF	0,3 éq.	24 h	70°C	0 %
4	toluène	1 éq.	140 h	40°C	55 % (249)
5	toluène	1,1 éq.	2 h	110°C	29 % (249 + 250)

Tableau 17 : Essais de réactions de thionation de **239** avec le réactif de Lawesson

Ces résultats montrent effectivement l'influence importante du choix du solvant. Avec le THF, les rendements sont faibles (entrées 1 à 3) malgré des temps de réaction de plusieurs jours et des températures pouvant monter jusqu'à 70°C. Ces résultats montrent la mauvaise réactivité de la fonction amide du composé **239** car de nombreux exemples dans la littérature rapportent la thionation d'amide à température ambiante dans ce solvant.²⁷² La réaction a aussi été effectuée dans le toluène où de meilleurs rendements ont été observés (entrée 4 et 5). Cependant, une température trop élevée fournit un mélange de produits de thionation **249** et de dithionation **250** inséparables lors de la purification. Le produit de dithionation indique donc que la fonction ester a aussi été

²⁷³ Cava, M. P. and Levinson, M. I. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5061-5087.

touchée bien qu'elle soit en principe beaucoup moins réactive que la fonction amide.²⁷⁴ L'encombrement stérique du carbonyle de l'amide peut expliquer la mauvaise réactivité et la sélectivité moins bonne du réactif de Lawesson étant donné que le carbonyle de l'ester est beaucoup plus disponible. Le meilleur rendement obtenu est de 55 % où le composé **239** est traité avec le réactif de Lawesson dans du toluène pendant 140 heures à 40°C.

Le réactif de Lawesson a donc montré ses limites au niveau de la réactivité et de la sélectivité lors de la thionation du composé **239**. Afin d'optimiser les rendements de cette réaction, d'autres agents de thionation pourraient être envisagés. En effet, les réactifs de Davy,²⁷⁵ de Belleau²⁷⁶ et le réactif japonais²⁷⁷ (Figure 62) sont connus pour être plus efficaces et plus sélectifs lors de certaines thionations d'amides. Par manque de temps, ces essais n'ont pas pu être effectués.

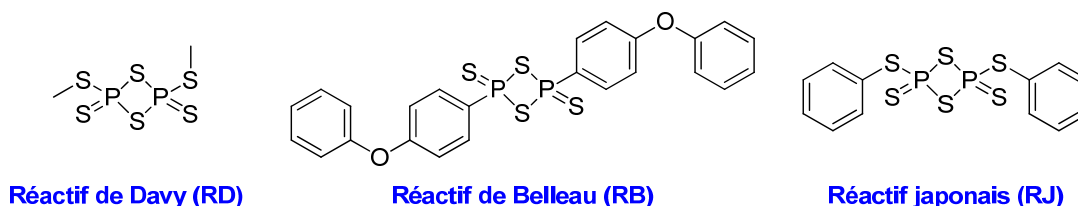


Figure 62 : Structures de divers agents de thionation

IV.2.b. Remplacement par un acide aminé N-méthylé

Les études sur les peptides contenant des acides aminés N-méthylés ont montré que ces résidus permettaient à la molécule d'augmenter sa stabilité vis-à-vis des protéolyses, d'augmenter sa perméabilité membranaire (lipophilie) et de changer les caractéristiques conformationnelles et les propriétés des liaisons amide.

Plusieurs méthodes de N-méthylations d'acides aminés existent²⁷⁸ comme la N-alkylation, l'amination réductrice ou le passage par un intermédiaire 5-oxazolidinone. Cependant, peu d'exemples ont été rapportés sur la N-méthylation de méthionines estérifiées comme en possède notre analogue **239**. Parmi ceux-ci, Benoiton *et al.*^{279,280} ont utilisé la capacité de l'hydruide de sodium à capter le proton de l'azote de l'amide monosubstitué pour synthétiser de nombreux acides aminés N-méthylés estérifiés par alkylation avec de l'iodure de méthyle. Cette méthode est l'une des plus utilisées pour former des acides aminés N-méthylés.

²⁷⁴ Nishio, T. and Ori, M. *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 2347-2354.

²⁷⁵ Davy, H. *J. Chem. Soc.* **1982**, 457-458.

²⁷⁶ Lajoie, G.; Lépine, F.; Maziak, L. and Belleau, B. *Tet. Lett.* **1983**, *24*, 3815-3818.

²⁷⁷ Yokoyama, M.; Hasegawa, Y.; Hatanaka, H.; Kawazoe, Y. and Imamoto, T. *Synthesis* **1984**, 827-829.

²⁷⁸ Aurelio, L.; Brownlee, R. T. C. and Hughes, A. B. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 5823-5846. et références incluses.

²⁷⁹ McDermott, J. R. and Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 1915-1919.

²⁸⁰ Coggins, J. R. and Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 1968-1971.

S'inspirant de ces conditions opératoires, nous avons pu synthétiser l'analogue **251** possédant la méthionine N-méthylée avec un rendement modeste de 53 % (Schéma 92). Il est à noter qu'au lieu d'introduire huit équivalents d'iodure de méthyle comme pour la plupart des acides aminés, seulement un équivalent est introduit pour la méthionine. En effet, avec un excès d'iodure de méthyle, la méthylation pourrait fournir un produit hydrosoluble, probablement un dérivé d'iodure de diméthylsulfonium **252**, non isolé.^{279,281}

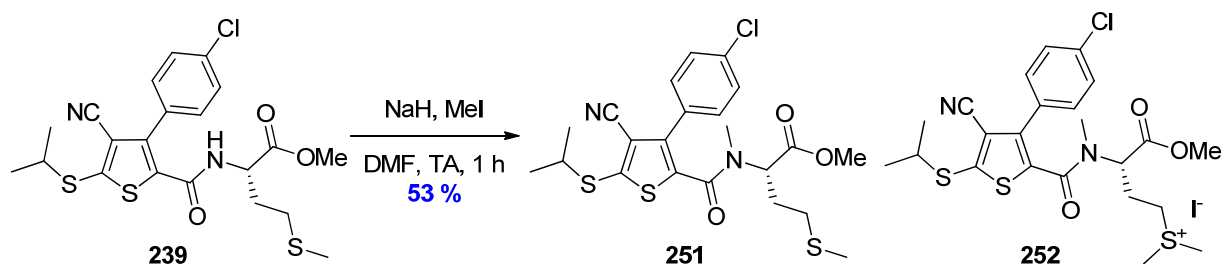


Schéma 92 : N-méthylation de l'analogue 239

IV.2.c. Remplacement par un acide aminé aza-β3

Les acides aminés aza-β3 se sont récemment révélés comme étant une nouvelle classe prometteuse²⁸² de composés qui favorisent la formation de liaisons hydrogène et permettent d'augmenter l'activité biologique de certains peptides. L'incorporation de ce motif (Figure 63) augmenterait la stabilité métabolique, la biodisponibilité et l'absorption biologique des futurs médicaments.²⁸³

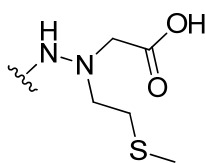


Figure 63 : Motif Aza-β3-Met-OH

Plusieurs stratégies permettent d'introduire un groupement aza-β3 mimant la méthionine (Schéma 93).

²⁸¹ Marino, G.; Valente, L.; Johnstone, R. A. W.; Mohammadi-Tabrizi, F. and Sodini, G. C. *J. Chem. Soc.* **1972**, 357-358.

²⁸² Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173-180.

²⁸³ Laurencin, M.; Bauchat, P. and Baudy-Floc'h, M. *Synthesis* **2009**, 1007-1013.

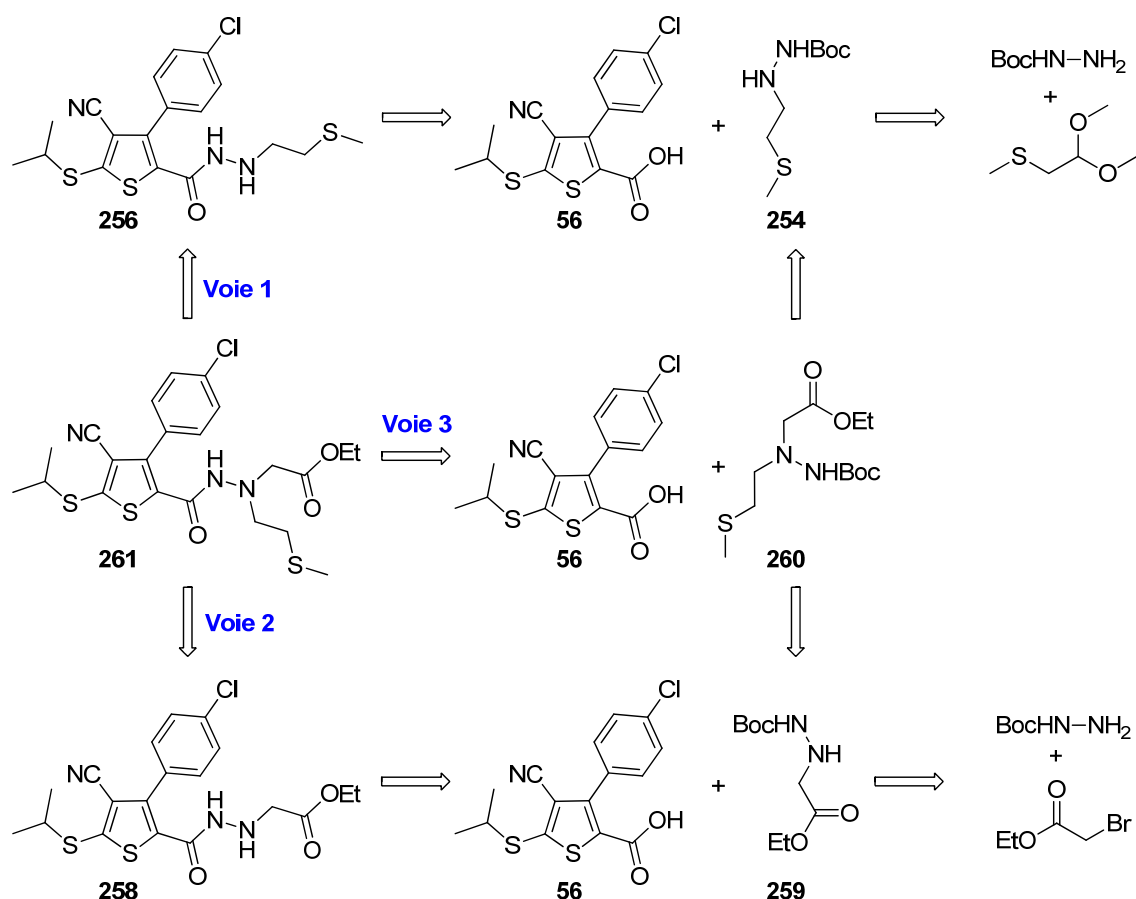


Schéma 93 : Voies rétrosynthétiques de la formation de 261

Concernant les voies 1 et 2, le composé **261** peut provenir de l'alkylation ou d'une amination réductrice de la fonction adéquate sur un thiophène déjà fonctionnalisé portant une des chaînes éthyle(méthyl)sulfane (**256**) ou acétate d'éthyle (**258**). Ces composés **256** et **258** seraient issus d'une réaction d'acylation entre le thiophène **56** et les hydrazines déprotégées **254** et **259** respectivement résultant elles-mêmes d'une amination réductrice ou d'une alkylation des produits commerciaux appropriés avec la Boc-hydrazine.

La troisième voie consiste à coupler directement le thiophène **56** avec l'acide aminé aza- β 3 **260** déjà fonctionnalisé. Ce composé, dont la synthèse s'inspire des travaux décrits par Le Grel *et al.*,^{284,285} proviendrait soit de **254**, soit de **259**.

Tout d'abord, la voie 1 a été envisagée. Afin de créer le composé **254**, l'acétal (2,2-diméthoxyéthyl)(méthyl)sulfane commercial est déprotégé avec de l'acide chlorhydrique à reflux²⁸⁶ pour donner l'aldéhyde **253** qui est soumis sans purification aux conditions classiques de réaction d'amination réductrice avec la Boc-hydrazine (Schéma 94).

²⁸⁴ Cheguillaume, A.; Doubli-Bounoua, I.; Baudy-Floc'h, M. and Le Grel, P. *Synlett* **2000**, 331-334.

²⁸⁵ Cheguillaume, A.; Salaün, A.; Sinbandhit, S.; Potel, M.; Gall, P.; Baudy-Floc'h, M. and Le Grel, P. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4923-4929.

²⁸⁶ Gassman, P. G.; Van Bergen, T. J.; Gilbert, D. P. and Cue, B. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 5495-5508.

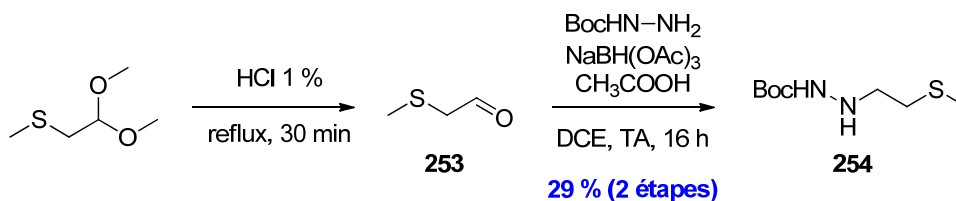


Schéma 94 : Formation du composé 254

Ce composé est ensuite couplé avec le thiophène **56** après déprotection de **254**. Comme, une tentative de couplage passant par le chlorure d'acyle de **56** n'a pas fonctionné, nous avons opté pour un couplage pseudo-peptidique avec l'agent de couplage HBTU. Dans certains cas, cet agent est connu pour être plus efficace que l'EDCI. Cependant, de manière totalement inexpiquée le composé **255** a été obtenu préférentiellement avec un faible rendement de 17 % par rapport au composé **256**, obtenu avec seulement 10 % (Schéma 95).

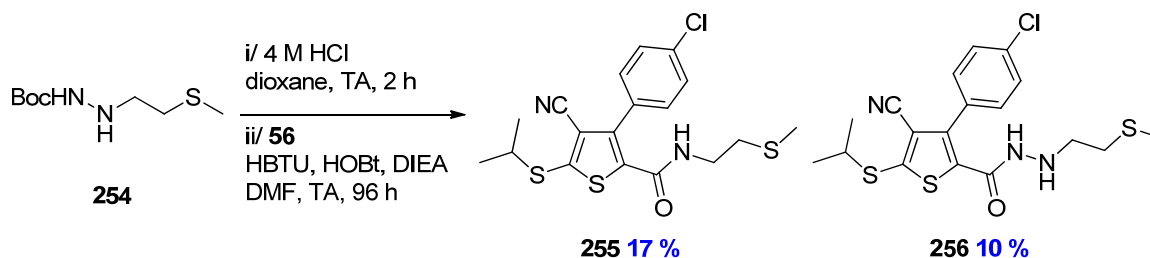


Schéma 95 : Formation des produits de couplage 255 et 256

Prenant à notre avantage la création de ce nouvel analogue amide, **255** a été traité avec du bromure d'acétate d'éthyle et de la DIEA. Le composé **257** (Schéma 96) a alors été formé grâce au soufre nucléophile. Ce composé peut permettre d'évaluer l'influence de la fonction ester et de la longueur de la chaîne portant ce groupement.

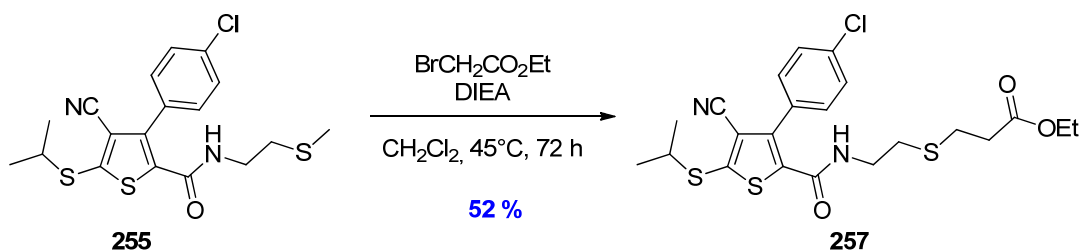


Schéma 96 : Formation du composé 257

Par manque de matière, le composé **256** n'a pas pu être traité avec du bromoacétate d'éthyle. De plus, étant donné que le résultat de la réaction de couplage de cette voie était au-dessous de nos espérances, cette stratégie a été abandonnée. Ajoutons que comme le chemin réactionnel de la voie 2 est similaire à celui de la voie 1, le couplage du thiophène **258** avec l'hydrazine fonctionnalisée **259** n'a pas été expérimenté. Cette dernière a, cependant, été

synthétisée par substitution nucléophile de la Boc-hydrazine sur le bromoacétate d'éthyle avec un rendement de 54 % (Schéma 97).

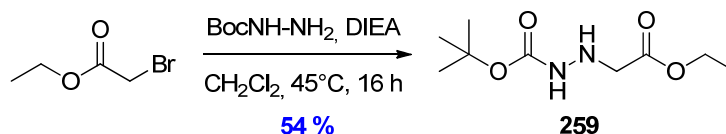


Schéma 97 : Formation du composé 259

La voie 3 a donc dû être mise en place. Comme le composé **254**, en présence de carbonate de potassium et de bromoacétate d'éthyle, ne nous a pas fourni la méthionine aza-β3 **260**, nous avons commencé la synthèse à partir du composé **259**. L'optimisation de cette réaction d'alkylation (Tableau 18) s'est appuyée sur le choix de la base (Et₃N, DIPEA, K₂CO₃), du solvant (CH₂Cl₂, toluène), de la concentration en **259** et du type de chauffage (classique ou micro-ondes).

Entrée	Solvant	Thioéther	Base	[259]	Temps	Température	Rendement
1	CH ₂ Cl ₂	1 éq.	1 éq. DIPEA	0,3 N	16 h	45°C	0 %
2	CH ₂ Cl ₂	10 éq.	10 éq. DIPEA	0,3 N	160 h	45°C	0 %
3	CH ₂ Cl ₂	10 éq.	10 éq. K ₂ CO ₃	0,3 N	160 h	45°C	0 %
4	CH ₂ Cl ₂	1 éq.	1 éq. DIPEA	1,4 N	36 h	45°C	5 %
5	toluène	1 éq.	1 éq. DIPEA	0,3 N	160 h	110°C	5 %
6	toluène	1 éq.	1 éq. K ₂ CO ₃	0,3 N	160 h	110°C	0 %
7	toluène	1 éq.	1 éq. DIPEA	1,4 N	48 h	110°C	20 %
8	/	1 éq.	1 éq. DIPEA	/	2 h	150°C (MO)	6 %
9	/	1 éq.	1 éq. DIPEA	/	2 × 0,5 h	150°C (MO)	21 %

Tableau 18 : Essais d'optimisation de la réaction d'obtention de 260

Les résultats de ce tableau montrent qu'il est préférable d'utiliser une base organique telle que DIPEA plutôt que la base inorganique K₂CO₃ (entrées 2, 3, 5 et 6). De plus, cette réaction a besoin d'être activée thermiquement. En effet, un chauffage à reflux (45°C) dans le dichlorométhane ne donne pas ou très peu de produit (entrées 1 à 4) alors qu'un chauffage à reflux (110°C) dans le toluène permet d'obtenir le produit avec, cependant, des rendements faibles (entrées 5 à 7). Les augmentations du nombre d'équivalents de thioéther, pouvant réagir sur lui-même, et de base n'ont eu aucun effet (entrées 1 et 2). Par contre, la concentration du réactif dans le milieu réactionnel s'est avérée déterminante lors de cette synthèse car en milieu dilué, le produit ne s'est pas formé alors qu'en milieu plus concentré, un rendement de 20 % a été observé.

Comme la réaction demande une activation thermique forte et un milieu réactionnel concentré, nous avons envisagé d'utiliser un chauffage micro-ondes sans solvant (entrées 8 et 9). Un chauffage de deux heures résulte en des produits de dégradation mais lorsque les produits sont chauffés deux fois une demi-heure, un rendement de 21 % a été obtenu. Nous nous sommes contentés de ce rendement étant donné que nous avons assez de matière pour poursuivre la synthèse. Cependant, afin d'optimiser ce rendement et de minimiser le phénomène de dégradation, nous pourrions songer à ajouter un solvant tel que le toluène tout en restant en milieu concentré.

Le groupement protecteur Boc du composé **260** a ensuite été clivé avec de l'acide trifluoroacétique. **260**, ainsi déprotégé, a pu être couplé sans problème avec **56** par les agents de couplage peptidique EDCI/HOBt (Schéma 98).

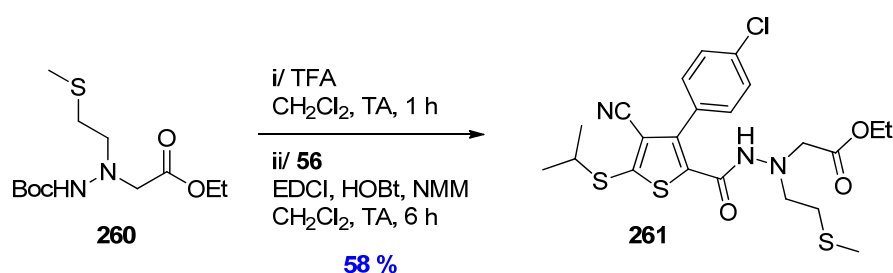
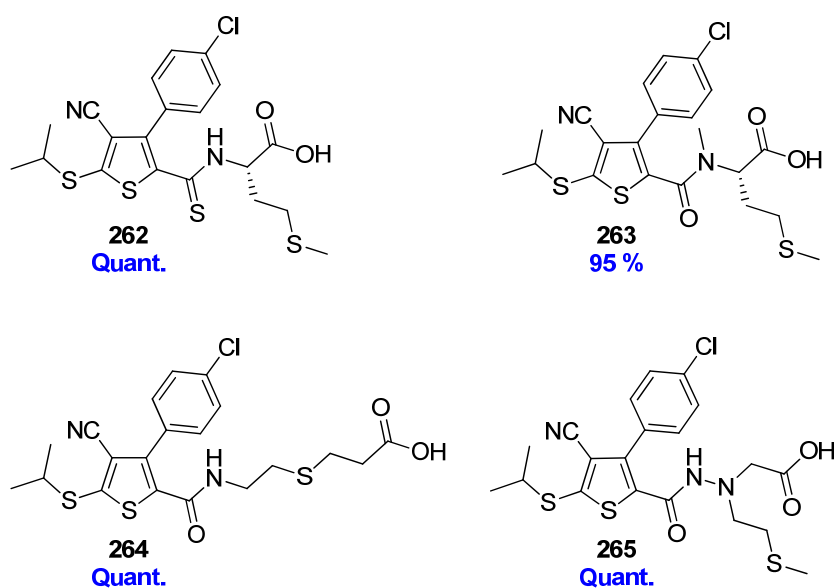


Schéma 98 : Couplage pseudo-peptidique pour obtenir 261

IV.2.d. Saponification des analogues pseudo-méthionines

Afin d'effectuer les évaluations biologiques sur les FTases, nous avons saponifié les différents analogues **249**, **251**, **257** et **261** en présence de lithine pour obtenir respectivement les acides **262**, **263**, **264** et **265** (Figure 64). Ces réactions se sont réalisées sans problème avec des rendements excellents. De plus, aucune racémisation n'a été observée pour les composés **262** et **263**.



Conditions : LiOH aq 2M, THF/EtOH, TA, 16 h

Figure 64 : Acides issus de la saponification des analogues pseudo-méthionines

IV.3. Remplacement par des groupements hydrophobes

Une des interactions clés pour la conception d'analogues inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase est celle partagée avec la cavité hydrophobe définie par les résidus Trp102 β , Trp106 β et Tyr361 β appelée aussi site de liaison de l'acide aminé a₂ du motif Ca₁a₂X.⁹² Cette poche hydrophobe a souvent été considérée comme étant un facteur essentiel dans la reconnaissance de l'inhibiteur par l'enzyme.²⁸⁷

La méthionine de l'analogue **60** pourrait participer à cette interaction. Comme l'atome de soufre s'oxyde facilement en sulfone et que le groupement acide carboxylique affaiblit la perméabilité à la membrane cellulaire, d'autres groupements hydrophobes pourraient être introduits tels que les groupements adamantyle et naphthalényle.¹⁰⁴

Ces groupements seront introduits par couplage avec le thiophène **56** et l'adamantanamine ou la naphthalénamine. Afin de connaître l'influence de la longueur de la liaison entre le thiophène et ces groupements, nous avons aussi couplé les groupements naphthalénylméthanamine et adamantanylméthanamine qui permettent d'ajouter un atome de carbone par rapport à leurs homologues.

Les essais de couplages pseudo-peptidiques avec les agents de couplage EDCl/HOBt n'étant pas concluants, nous avons effectué des réactions d'acylation. L'intermédiaire chlorure d'acyle a été synthétisé à partir du thiophène **56** avec du chlorure de thionyle et a ensuite été engagé sans purification préalable (Schéma 99). Les rendements des réactions de couplage sont modestes (27 % pour **266**) à très bons (91 % pour **269**). De plus, on peut noter qu'ils sont meilleurs pour les produits possédant un carbone supplémentaire entre l'azote et le groupement hydrophobe.

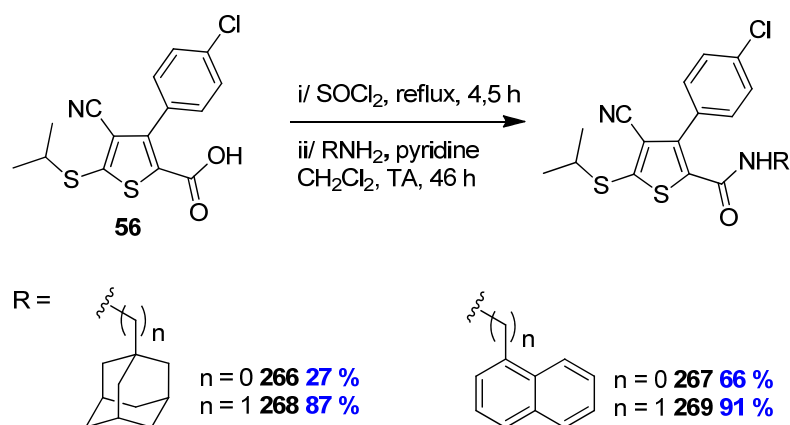


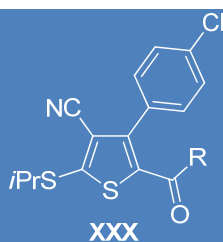
Schéma 99 : Introduction de groupements hydrophobes à la place de la méthionine

²⁸⁷ Millet, R.; Domarkas, J.; Houssin, R.; Gilleron, P.; Goossens, J.-F.; Chavatte, P.; Logé, C.; Pommery, N.; Pommery, J. and Hénichart, J.-P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6812-6820. et références incluses

IV. 4. Évaluation biologique

IV.4.a. Résultats sur la FTase de *T. brucei* et humaine

Afin d'augmenter l'affinité de nos molécules au sein de l'enzyme, la méthionine a été introduite en position 2 pour mimer le X du motif CaaX. Des analogues dérivant de cet acide aminé ont été synthétisés. Des groupements hydrophobes ont aussi été introduits pour envisager une interaction avec la cavité hydrophobe du site de liaison de l'acide aminé a₂ du motif Ca₁a₂X. Ces molécules ont, ensuite, été testées biologiquement sur FTase humaine et de *T. brucei* (Tableau 19).



Entrée	R	R' = H			R' = Me		
		XXX	Cl ₅₀ <i>h</i> FTase	Cl ₅₀ <i>Tb</i> FTase	XXX	Cl ₅₀ <i>h</i> FTase	Cl ₅₀ <i>Tb</i> FTase
1	Met-OR'	60	0,077 ± 0,006	0,12 ± 0,02	239	inactif	inactif
Dérivés de la méthionine (Cl₅₀ en μM)							
Entrée	R	R' = H			R' = Me		
		XXX	Cl ₅₀ <i>h</i> FTase	Cl ₅₀ <i>Tb</i> FTase	XXX	Cl ₅₀ <i>h</i> FTase	Cl ₅₀ <i>Tb</i> FTase
2	Met-OR'*	242	0,067 ± 0,005	0,079 ± 0,003	240	> 50	> 50
3	Gln-OR'*	243	0,076 ± 0,006	1,2 ± 0,07	241**	10,4 ± 0,6	29 ± 13
4	Ile-Met-OR'	246	1,9 ± 0,3	2,2 ± 0,06	245	> 50	> 50
5	(D)-Met-OR'	248	0,45 ± 0,02	1,4 ± 0,1	247	> 50	2,8 ± 0,5
6	Ψ[CSNH]Met-OR'	262	1,7 ± 0,1	0,23 ± 0,02	249	0,46 ± 0,08	8,2 ± 1
7	Ψ[CONMe]Met-OR'	263	1,8 ± 0,05	3,3 ± 1	251	inactif	inactif
8	-NH-(CH ₂) ₂ -SMe	/	/	/	255	24 ± 6	> 50
9	-(NH) ₂ -(CH ₂) ₂ -SMe	/	/	/	256	1,9 ± 0,1	> 50
10	-NH-(CH ₂) ₂ -S-(CH ₂) ₂ -CO ₂ R'	264	3,7 ± 0,3	8,9 ± 0,8	257	9,3 ± 0,6	22 ± 2
11	aza-β3-Met-OR'	265	1,1 ± 0,1	0,53 ± 0,03	261	> 50	> 50
Groupements hydrophobes (Cl₅₀ en μM)							
Entrée	R	XXX	Cl ₅₀ <i>h</i> FTase	Cl ₅₀ <i>Tb</i> FTase			
12	-NH-1-adamantyle	266	> 50	> 50			
13	-NH-CH ₂ -1-adamantyle	268	inactif	> 50			
14	-NH-1-naphtyle	267	21,6 ± 1,6	> 50			
15	-NH-CH ₂ -1-naphtyle	269	inactif	> 50			

Tableau 19 : Évaluations biologiques sur *h*FTase et *Tb*FTase des composés modifiés en position 2 du thiophène central (* sBu au lieu de *i*PrS ; ** *t*Bu au lieu de Me)

La modification en position 2 du composé **56** avec des dérivés de la méthionine permet d'augmenter les Cl_{50} d'un facteur 4 (entrée 10) à 240 (entrée 2) sur FTase humaine et d'un facteur 1,2 (entrée 10) à 130 (entrée 2) sur FTase de *T. brucei*.

L'ajout d'un groupement méthionine (entrées 1 et 2) est la meilleure transformation pour permettre l'inhibition des deux enzymes avec des activités inférieures à 100 nM. Cet acide aminé reconnu en tant que X du motif CaaX de l'enzyme a donc un rôle déterminant pour nos composés.

La stéréochimie de la méthionine est un paramètre important sur les deux enzymes. En effet, l'analogue acide **248** dont la méthionine est de configuration (D) possède des Cl_{50} six à dix fois inférieures à l'analogue **60** (entrées 1 et 5). Cependant contrairement à son homologue **239** de configuration (L), l'analogue ester **247** est actif avec une Cl_{50} de l'ordre du micromolaire. Des interactions stériques et/ou électroniques doivent donc être impliquées.

La nature du thioalkyle en position 5 n'a pas de grande influence sur l'inhibition de l'enzyme étant donné que les Cl_{50} obtenues pour les composés **60** et **242** sont du même ordre de grandeur.

L'introduction d'un acide aminé espaceur entre le thiophène et la méthionine tel que l'isoleucine pouvant mimer l'acide aminé a_2 du motif Ca_2a_2X a diminué l'activité.

Deux sélectivités enzymatiques intéressantes apparaissent dans ce tableau. En effet, alors que la méthionine et la glutamine sont reconnues en tant que X du motif CaaX des enzymes humaine et de *T. brucei*, le premier acide aminé paraît plus affiné que le second sur l'enzyme de *T. brucei*. De plus, la glutamine est vraisemblablement plus compatible avec l'enzyme humaine qu'avec l'enzyme de parasite (entrée 3).

Inversement, la thio-méthionine est sept fois plus active sur l'enzyme de *T. brucei* que sur l'enzyme humaine (entrée 6). Étrangement, la sélectivité change avec son analogue ester qui possède une activité inhibitrice submicromolaire. L'arrangement spatial de la chaîne de la méthionine doit donc être différent en présence de l'ester et permet des interactions favorables supplémentaires. Passer d'un composé inactif avec une fonction carbonyle (entrée 1) à un composé aussi actif avec un groupement thiocarbonyle (entrée 6) paraît cependant surprenant. De plus, les activités des esters **249** et **241** sur les deux enzymes et celui de l'ester **247** sur FTase de *T. brucei* peuvent faire penser à celles des analogues esters possédant un groupement polyhydroxyphényle. Ainsi, pour ces analogues l'introduction d'un ester doit modifier le positionnement de l'inhibiteur au sein du site actif (entrées 3, 5 et 6).

Dans une moindre mesure, le composé possédant un groupement aza- β 3, est plus actif sur enzyme de *T. brucei* que sur enzyme humaine et conserve le même comportement au niveau de la forme ester que le composé **60** (entrée 11).

Malgré ces sélectivités notoires, l'introduction de groupements dérivés de la méthionine n'a pas permis d'améliorer de manière significative l'activité du composé **60**. De plus, les composés possédant la méthionine N-méthylée (entrée 7) ou de longues chaînes soufrées (entrées 8 à 10) ne détiennent que des activités de l'ordre du micromolaire.

Enfin, les groupements hydrophobes introduits pour fixer potentiellement la cavité hydrophobe du résidu a₂ du motif Ca₁a₂X diminue fortement l'activité inhibitrice (entrées 12 à 15). Ces résultats pourraient avoir deux causes : soit la méthionine du composé **60** n'occupe pas le site de liaison du a₂, soit les autres substituants situés autour du thiophène n'ont peut-être pas favorisé une bonne configuration pour que les groupements adamantyle et naphthyle interagissent avec cette cavité.

IV.4.b. Résultats sur les parasites *P. falciparum* et *T. brucei*

XXX

Entrée	R	XXX	Cl ₅₀ Pf	Cl ₅₀ Tb
1	Met-OMe	239	35 ± 1,7	13 ± 2
Dérivés de la méthionine (Cl₅₀ en μM)				
Entrée	R	XXX	Cl ₅₀ Pf	Cl ₅₀ Tb
2	Met-OMe*	240	20 ± 0,7	11 ± 0,3
3	Gln-OtBu**	241**	32 ± 0,5	8,5 ± 0,2
4	Ile-Met-OMe	245	21 ± 5,5	4 ± 0,3
5	(D)-Met-OMe	247	36 ± 3,3	15 ± 0,3
6	Ψ[CSNH]Met-OMe	249	34 ± 5	11 ± 3,6
7	Ψ[CONMe]Met-OMe	251	28 ± 0,9	8,1 ± 0,4
8	-NH-(CH ₂) ₂ -SMe	255	25	1,5 ± 0,2
9	-(NH) ₂ -(CH ₂) ₂ -SMe	256	25	2,8 ± 0,2
10	-NH-(CH ₂) ₂ -S-(CH ₂) ₂ -CO ₂ Me	257	23 ± 2	0,8 ± 0,1
11	aza-β3-Met-OMe	261	10 ± 1,2	3,4 ± 0,3
Groupements hydrophobes (Cl₅₀ en μM)				
	R	XXX	Cl ₅₀ Pf	Cl ₅₀ Tb
12	-NH-1-adamantyle	266	> 50	8,3 ± 0,5
13	-NH-CH ₂ -1-adamantyle	268	27 ± 6,5	6,4 ± 0,5
14	-NH-1-naphtyle	267	> 50	> 50
15	-NH-CH ₂ -1-naphtyle	269	18 ± 1,6	4,4 ± 0,1

Tableau 20 : Évaluations biologiques sur *P. falciparum* et *T. brucei* des analogues modifiés en position 2 (* sBu au lieu de iPrS ; ** tBu au lieu de Me)

Les résultats obtenus après l'évaluation biologique des analogues *in cellulo* (Tableau 20) diffèrent de ceux obtenus lors des tests sur enzymes isolées.

Les analogues comportant l'ester méthylique de la méthionine possèdent des CI_{50} sur les deux parasites similaires au composé **122**, qui porte une fonction ester au lieu de l'acide aminé (entrées 1 et 2). Cette observation soulève le problème de la présence possible de carboxypeptidases au sein du parasite qui pourraient cliver la méthionine, rendant la molécule moins active. Cette hypothèse peut être soutenue par le fait que les molécules possédant d'autres acides aminés comme la glutamine (entrée 3) ou le dipeptide Ile-Met (entrée 4) possèdent des activités équivalentes aux thiophènes **122** et **239**. L'instabilité métabolique des liaisons peptidiques pourrait être une cause et demeure un inconvénient pour nos analogues.

Ainsi, pour contrer ce processus, le squelette de la méthionine a été légèrement modifié. Cependant, malgré la thionation (entrée 6), la N-méthylation (entrée 7) ou, dans une moindre mesure, la formation d'un motif aza- β 3 (entrée 11) de la méthionine, aucune activité intéressante n'est ressortie de ces modifications. Le même résultat est observé lors de l'introduction de la méthionine de configuration (D) (entrée 5). L'hypothèse de peptidases n'est donc pas confirmée par ces résultats. Un problème de pénétration cellulaire ou de solubilité de nos composés serait par conséquent plus vraisemblable.

Les composés sans fonction ester mimant la chaîne soufrée de la méthionine (entrées 8 et 9) possèdent de meilleures activités. L'ajout d'une amine, groupement polaire, diminue légèrement l'activité. Enfin, le composé **257** (entrée 10) possède la plus grande activité inhibitrice qui est de l'ordre du submicromolaire. Il est possible que la plus grande lipophilie de cette molécule donnée par la longue chaîne carbonée permette une meilleure pénétration cellulaire.

Alors que les analogues possédant des groupements hydrophobes aliphatique ou aromatique encombrants ne sont pas actifs sur FTase, ceux-ci présentent des activités inférieures à 10 μ M sur *T. brucei* (entrées 12, 13 et 15) lors des tests *in cellulo*. La FTase n'est donc peut-être pas la cible de ces molécules. Pour le groupement naphthalène, la longueur de chaîne est déterminante car l'activité sur *T. brucei* passe d'une valeur supérieure à 50 μ M à une valeur de 4 μ M lorsqu'un carbone est ajouté.

Ainsi, les modifications effectuées au niveau de la méthionine du composé **60** n'ont pas permis d'améliorer de manière significative les activités inhibitrices sur les parasites pour la majorité des produits. Un gain d'activité d'un facteur 15 a cependant été obtenu avec le thiophène **257** sur *T. brucei*. L'action de peptidases au sein de l'enzyme n'est pas confirmée au vu des résultats obtenus avec les groupements pseudo-peptidiques. De plus, le comportement des différents analogues entre les tests sur enzymes isolées et sur parasites révèlent encore des problèmes de pénétration cellulaire et/ou de cible.

V. Modifications combinées autour du noyau thiophène

V.1. Couplage peptidique

Lors des évaluations biologiques sur la FTase de *T. brucei* ou sur parasites, certains analogues modifiés en position 3 ou 5 du thiophène central se sont révélés particulièrement intéressants. Ainsi, les composés ayant les meilleures activités ont subi une double modification grâce au couplage de la méthionine en position 2 de l'hétérocycle soufré sur ces molécules.

Les analogues modifiés en position 3 avec un groupement *m*-biphényle **61**, dibenzofurane **62**, 3,4,5-trihydroxyphényle **178** et 3,4-dihydroxyphényle **179** possèdent des activités prometteuses. Ainsi, les deux premières molécules (**61** et **62**) et les acides correspondants aux deux derniers composés (**182** et **183** respectivement) ont été couplés à la méthionine (Figure 65). Cet acide aminé a aussi été greffé, sans optimisation, au thiophène **270**. Ce composé synthétisé par S. Lethu par possède un noyau phényle en tant qu'aromatique en position 3. Cette réaction a été effectuée dans le but de d'étudier l'influence du chlore du composé de référence **60**.

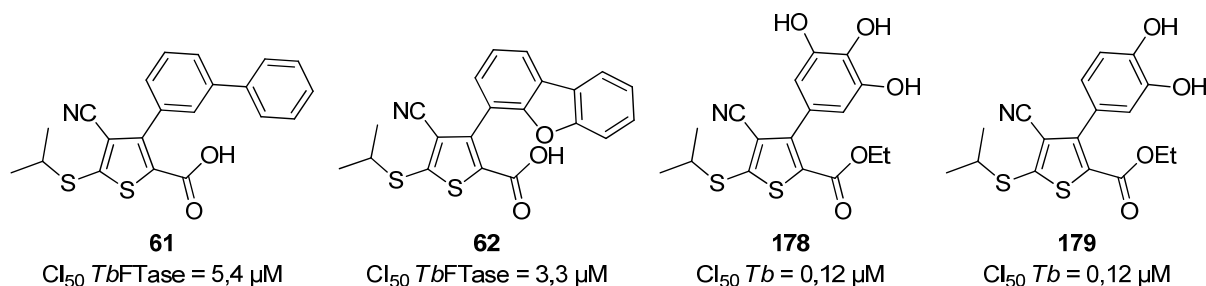


Figure 65 : Molécules sélectionnées

Ces couplages peptidiques ont été testés à l'aide de plusieurs agents d'activation de diverses natures (Figure 66) comme l'EDCI (carbodiimide), PyBroP (sel de phosphonium) et HBTU (sel d'uronium). L'agent de couplage HOBt a, quant à lui, été ajouté pour minimiser une possible racémisation lors de la réaction.

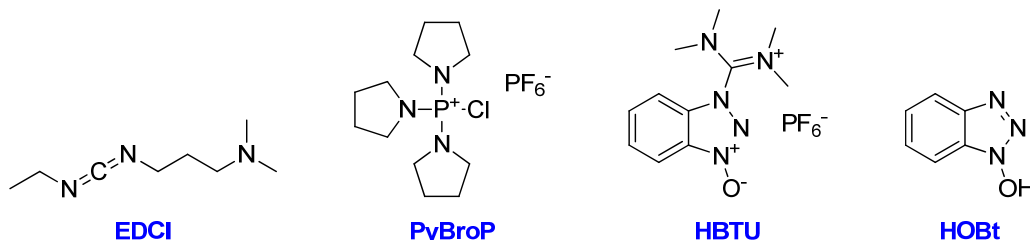


Figure 66 : Agents de couplage peptidique utilisés

Les meilleurs agents de couplage se sont révélés être l'EDCI et le HBTU. L'encombrement stérique dû aux noyaux biphényle et dibenzofurane n'a pas affecté le couplage peptidique. Par

contre, en présence des groupements phénoliques, les réactions ont donné de moins bons résultats quels que soient les agents de couplage. Ainsi, les rendements obtenus (Tableau 21) sont modestes et sont compris entre 33 % (**274**) et 64 % (**271**).

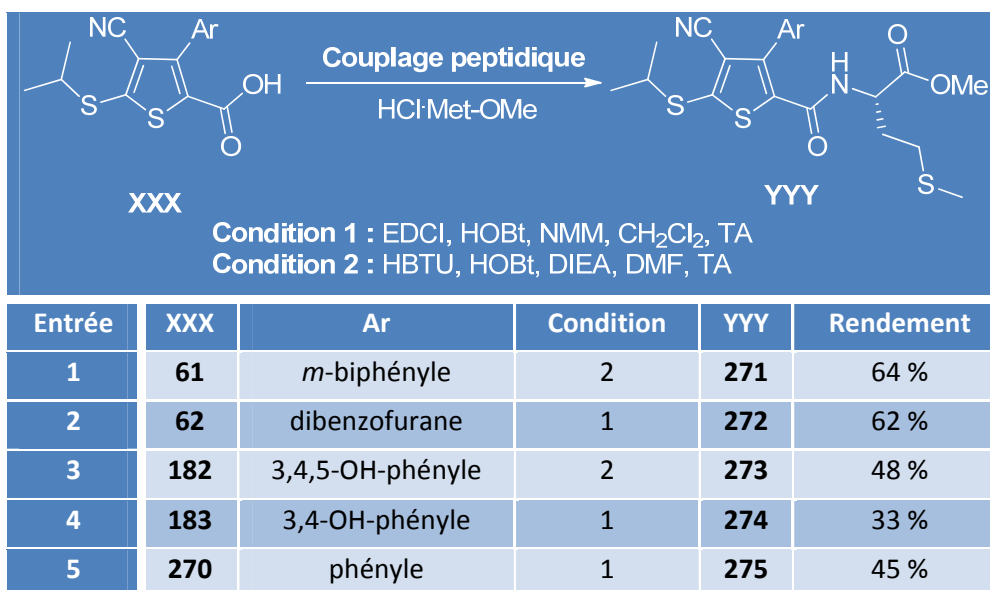


Tableau 21 : Couplage de la méthionine aux analogues modifiés en position 3 du thiophène central

Concernant les couplages de la méthionine sur les analogues modifiés en position 5, seuls 2 d'entre eux ont été mis en réaction, les analogues **215** et **233**. Le premier analogue est couplé dans le but de se rapprocher de l'analogue inspiré de la structure de FTI-2148 **25**. Le couplage de la méthionine avec le deuxième analogue a été réalisé dans le but d'effectuer des tests de pénétration cellulaire et d'étudier l'influence du groupement azoture à cette position.

L'EDCI a montré les meilleurs résultats (Tableau 22) lors des couplages peptidiques des analogues **215** (94 %) et **233** (17 %). Le faible rendement observé pour ce dernier peut être expliqué par une dégradation du composé lors de la purification sur colonne de silice à cause de sa fonction azoture.

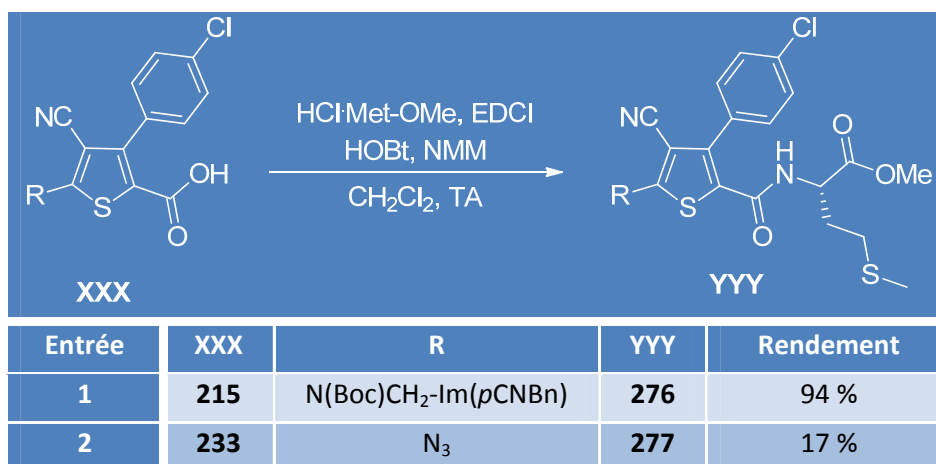


Tableau 22 : Couplage de la méthionine aux analogues modifiés en position 5 du thiophène central

Le composé **276** possède un groupement Boc qui doit ensuite être clivé pour obtenir l'analogue ester **279** qui s'apparente à l'inhibiteur FTI-2148 **25**. Un traitement à l'acide trifluoroacétique a permis de réaliser cette opération de manière quantitative (Schéma 100).

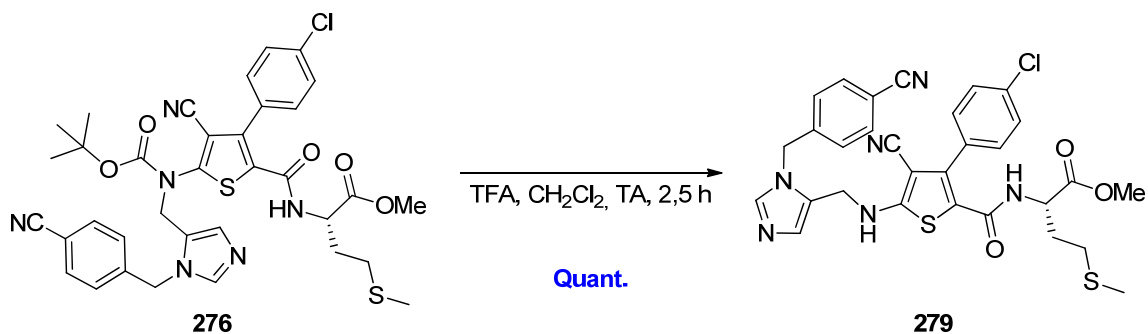


Schéma 100 : Déprotection de l'analogue 276

Afin d'étudier l'influence de la fonction nitrile en position 4 en présence de la méthionine en position 2 du thiophène central, l'analogue **141** a été soumis aux conditions de couplage peptidique. Un rendement de 43 % a été obtenu grâce à l'agent de couplage EDCI (Schéma 101).

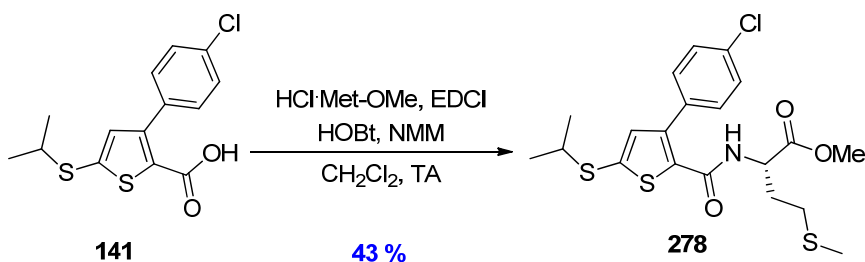
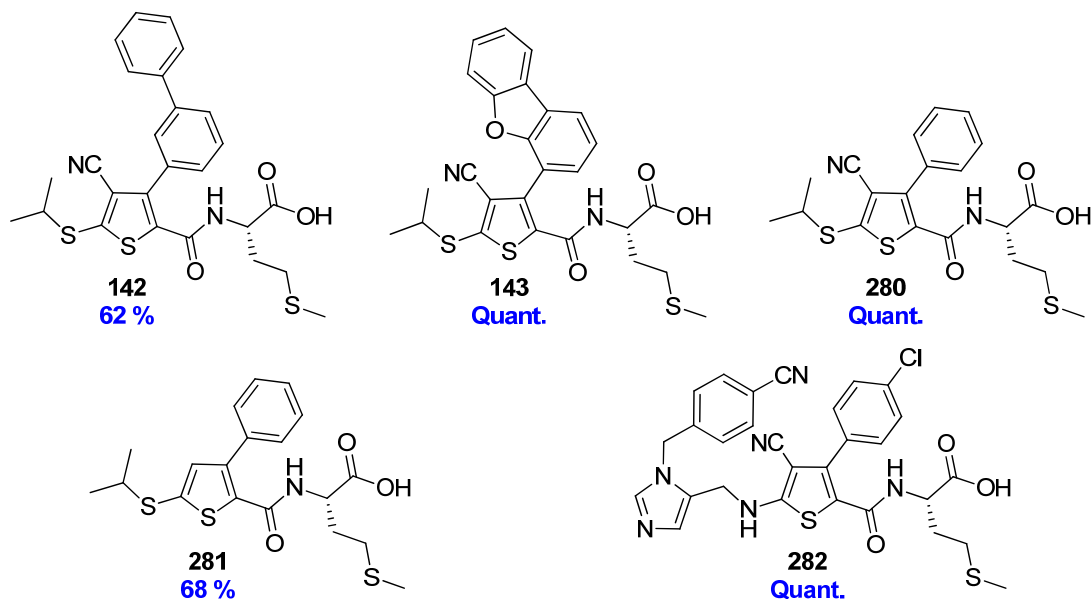


Schéma 101 : Couplage de la méthionine avec l'analogue 141

V.2. Saponification des analogues

Les analogues couplés à la méthionine ont besoin d'être ensuite saponifiés afin d'être évalués biologiquement sur les enzymes de FTase présentes au laboratoire. Tous ces analogues ont pu être hydrolysés hormis les analogues **274** et **277**, pour des raisons de manque de matière. Les saponifications classiques par la soude ont été effectuées sur les esters **271**, **272**, **275**, **278** et **279** et ont permis d'obtenir respectivement les analogues acides **142**, **143**, **280**, **281** et **282** avec de bons voire d'excellents rendements (Figure 67).



Conditions : NaOH aq 2M, THF/EtOH, TA

Figure 67 : Acides obtenus après saponification des analogues esters

Seul le composé **273** portant le noyau 3,4,5-trihydroxyphényle en position 3 du thiophène s'est montré résistant à ces conditions de saponification. Ce phénomène a déjà été décrit précédemment pour les thiophènes possédant un groupement hydroxyphényle en position 3 et une fonction ester en position 2. Nous devons donc changer les conditions opératoires. Afin d'atteindre notre but, nous nous sommes inspirés d'une procédure d'hydrolyse employant de l'alumine dopée au fluorure de potassium et un chauffage micro-ondes.²⁸⁸ L'adaptation de ce protocole pour la saponification de notre composé nous a permis d'obtenir l'analogue acide **283** avec un rendement de 23 % (Schéma 102).

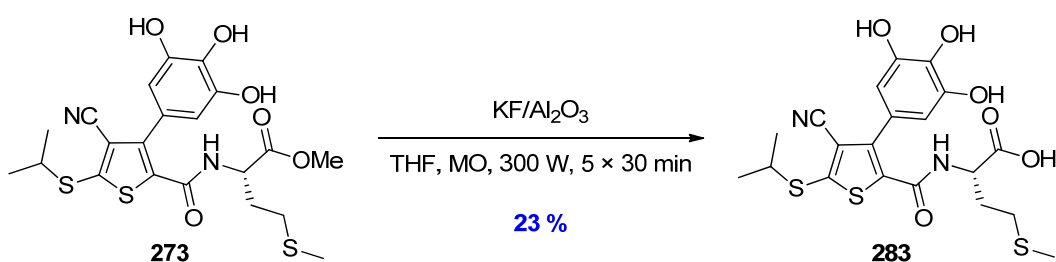


Schéma 102 : Saponification de 273 à l'aide de $\text{KF}/\text{Al}_2\text{O}_3$

Nos différents acides synthétisés ont donc été modulés sur deux positions du thiophène par rapport au composé **56**. Ainsi, chacun de ces analogues possède deux groupements ayant montré des activités intéressantes lors de ces travaux de thèse. Les évaluations biologiques de ces nouveaux analogues ont permis de tester la portée de ces modifications combinées.

²⁸⁸ Kabalka, G. W.; Wang, L. and Pagni, R. M. *Green. Chem.* **2001**, 3, 261-262.

V. 3. Évaluation biologique

V.3.a. Résultats sur la FTase de *T. brucei* et humaine

Analogues modifiés en position 2 et...

...3

XXX

...4

XXX

...5

XXX

Entrée	R	R' = H			R' = Me		
		XXX	Cl ₅₀ <i>h</i> FTase	Cl ₅₀ <i>Tb</i> FTase	XXX	Cl ₅₀ <i>h</i> FTase	Cl ₅₀ <i>Tb</i> FTase
Modification en position 3 (Cl₅₀ en μM)							
1	4-ClPh	60	0,077 ± 0,006	0,12 ± 0,02	239	inactif	inactif
2	Ph	280	0,070 ± 0,003	0,46 ± 0,07	275	32 ± 6	36 ± 9
3	<i>m</i> -biphényle	142	0,042 ± 0,003	0,042 ± 0,001	271	23 ± 6	19 ± 4
4	dibenzofurane	143	0,14 ± 0,009	0,19 ± 0,01	272	> 50	> 50
5	3,4,5-OH-phényle	283	8,7 ± 1,5	4,8 ± 0,2	273	5,6 ± 0,4	3,6 ± 0,2
6	3,4-OH-phényle	/			274	4,7 ± 0,4	5,3 ± 0,5
Modification en position 4							
7	H	281	47 ± 6	37 ± 7	278	inactif	inactif
Modification en position 5							
8	N(Boc)CH ₂ Im(<i>p</i> CNBn)	/			276	0,68 ± 0,21	inactif
9	N(H)CH ₂ Im(<i>p</i> CNBn)	282	3,6 ± 0,5	40 ± 9	279	0,15 ± 0,02	15 ± 2
10	N ₃	/			277	4,6 ± 0,3	1,7 ± 0,3

Tableau 23 : Évaluations biologiques sur *h*FTase et *Tb*FTase des composés issus de modifications combinées

Tout d'abord, les résultats présentés dans le Tableau 23 nous indiquent qu'avec la méthionine la présence du chlore n'est pas indispensable pour la FTase humaine mais donne une meilleure activité pour la FTase de *T. brucei* (entrées 1 et 2). La présence de la fonction nitrile en position 4 est, quant à elle, toujours essentielle à l'activité, que la fonction portée en position 2 soit un acide ou une méthionine. Ceci reflète des interactions spécifiques au sein de l'enzyme avec cette fonction nitrile. En effet, en l'absence de ce groupement, les activités sur les deux enzymes chutent brutalement (entrée 7).

La combinaison des meilleurs groupements fonctionnels situés en position 3 ou 5 avec la méthionine localisée sur la position 2 du thiophène central a des conséquences différentes.

Cette transformation est bénéfique pour les groupements aromatiques encombrants situés en position 3 puisque, grâce à la méthionine, les activités sont environ cent fois meilleures (entrées 3 et 4). Les interactions au sein de l'enzyme de ces molécules doivent, donc, être similaires à celles de la molécule **60**.

La combinaison de la méthionine avec les groupements aromatiques polyhydroxyphényles n'a pas d'influence sur les valeurs d'inhibition par rapport aux composés ne possédant pas l'acide aminé (entrées 5 et 6). Ce résultat indique que le mode d'interaction de ces analogues doit être différent de celui du composé **60** comme précédemment supposé. Ceci est aussi étayé par le fait que les molécules esters sont aussi actives sur les deux FTases avec des activités de l'ordre du micromolaire contrairement au composé **239** inactif.

Similairement, l'introduction de la méthionine avec le motif 1-(4-cyanobenzyl)imidazole méthanamine ou le groupement azoture n'a pas permis d'améliorer l'activité inhibitrice de nos composés (entrées 8 à 10).

En conclusion, le couplage de la méthionine a donc eu des résultats bénéfiques pour les composés portant des groupements aromatiques encombrants. Il a aussi permis de montrer que le mode de liaison des thiophènes portant des groupements polyhydroxyphényles est différent des autres analogues. Les meilleures activités obtenues sont égales à 42 nM pour les deux enzymes grâce au composé **142**.

V.3.b. Résultats sur les parasites *P. falciparum* et *T. brucei*

Analogues modifiés en position 2 et...							
...3		...4			...5		
XXX		XXX			XXX		
Entrée	R	R' = OEt			R' = Met-OMe		
		XXX	Cl ₅₀ Pf	Cl ₅₀ Tb	XXX	Cl ₅₀ Pf	Cl ₅₀ Tb
Modification en position 3 (Cl ₅₀ en μM)							
1	4-ClPh	122	39 ± 2,2	14 ± 0,9	239	35 ± 1,7	13 ± 2
2	Ph	284	14	70 % à 10 μM	275	50 ± 11	17 ± 0,2
3	<i>m</i> -biphényle	144	30 ± 0,9	15 ± 0,2	271	23 ± 4	5,8 ± 2
4	dibenzofurane	145	15 ± 0,9	11 ± 0,9	272	20 ± 6	15 ± 0,8
5	3,4,5-OH-phényle	178	29	0,12	273	> 50	14 ± 1,3
6	3,4-OH-phényle	179	10	0,26	274	11 ± 2,6	1,5 ± 0,1
Modification en position 4 (Cl ₅₀ en μM)							
7	H	137	/	/	278	47 ± 6	37 ± 7
Modification en position 5 (Cl ₅₀ en μM)							
8	N(Boc)CH ₂ Im(<i>p</i> CNBn)	212	1,9 ± 1,1	0,56 ± 0,03	276	1,6 ± 0,1	0,86 ± 0,06
9	N(H)CH ₂ Im(<i>p</i> CNBn)	209	24 ± 9	6,4 ± 0,5	279	3,8 ± 0,2	2,8 ± 0,3
10	N ₃	231	25	1,8 ± 0,1	277	25	7,0 ± 0,6

Tableau 24 : Évaluations biologiques sur *P. falciparum* et *T. brucei* des analogues issus de modifications combinées

Comme pour le composé **239**, l'introduction de la méthionine sur les composés possédant des groupements encombrants n'a pas d'influence sur l'inhibition de la croissance des parasites (entrées 3 et 4). Ce phénomène montre que cet acide aminé n'est pas impliqué dans le processus d'inhibition du parasite et peut indiquer que la FTase n'est donc pas la cible de ces analogues lors des tests *in cellulo*.

L'introduction de la méthionine pour les thiophènes contenant les groupements polyhydroxyphényles s'est révélée décevante étant donné la perte d'activité d'un facteur six (entrée 6) voire cent (entrée 5) sur *Trypanosoma brucei*. Dans une moindre mesure, cette transformation s'est aussi révélée négative pour le composé possédant une fonction azoture en position 5 du thiophène (entrée 10).

Néanmoins, la présence de la méthionine a un effet légèrement positif sur le composé possédant le motif 1-(4-cyanobenzyl)imidazole méthanamine permettant d'obtenir des CI_{50} de l'ordre du micromolaire (entrée 9).

Des problèmes de pénétration cellulaire ou de cible sont encore apparents d'après les résultats présentés dans le Tableau 24. Alors que les composés possédant une méthionine et un groupement aromatique encombrant ont des CI_{50} inférieures à 100 nM lors des tests *in vitro*, ceux-ci ont des CI_{50} supérieures à 10 μ M sur les deux parasites (entrées 3 et 4).

Conclusion

La synthèse d'une centaine d'analogues du composé **56** inhibiteurs de la FTase humaine et de parasites a été présentée dans cette partie. L'objectif de ces travaux consistait à améliorer les activités inhibitrices des molécules vis-à-vis de la FTase et d'obtenir une sélectivité satisfaisante en faveur de l'enzyme de parasite et au détriment de l'enzyme humaine.

Les interactions clés visées au sein de l'enzyme étaient notamment celles impliquant l'atome de zinc de l'enzyme, la poche de sortie du produit, la cavité hydrophobe du site de liaison de l'acide aminé a₂ du motif Ca₁a₂X et le site de résidu X. Dans ce contexte, trois stratégies basées sur des variantes des réactions de Fiesselmann et de Gewald ont été développées (Schéma 103).

La première méthode (voie A) débutant avec le malononitrile a permis de moduler efficacement la position 3 du thiophène par des couplages de Suzuki-Miyaura. La deuxième stratégie (voie B) partant d'une cétone aromatique a donné l'opportunité de faire varier la nature du noyau central à cinq chaînons et d'étudier l'influence du groupement nitrile en position 4. De plus, cette voie de synthèse a permis d'introduire des groupements aromatiques en position 3 résistants à la première méthode.

Une fois le noyau thiophène formé, il a été possible d'effectuer des substitutions nucléophiles aromatiques en position 5 et diverses modifications en position 2 principalement *via* diverses amidations.

La troisième voie de synthèse, inspirée de la réaction de Gewald, a permis de moduler la position 5 du thiophène par l'introduction d'une amine primaire à cet emplacement. Des réactions d'amination réductrice et d'amidations ont permis d'introduire différents substituants sur l'amine.

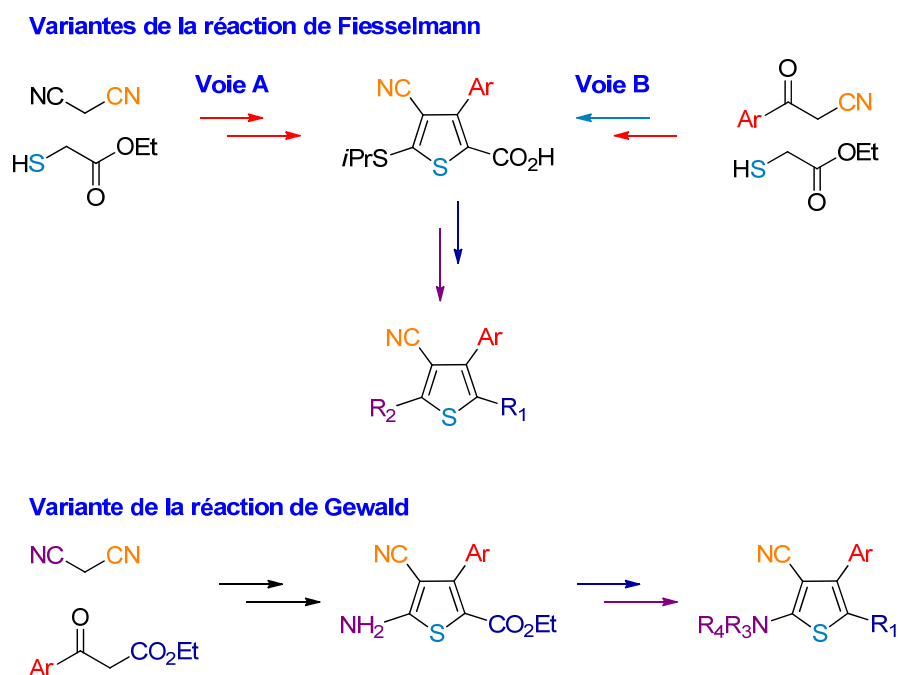


Schéma 103 : Stratégies de synthèse pour les analogues 3-arylthiophènes

Ces différentes stratégies nous ont donné l'opportunité d'introduire (Figure 68) :

- en position 2, divers acides aminés ou pseudo-acides aminés pouvant potentiellement se localiser au niveau du site de reconnaissance du X du motif CaaX. De plus, l'éventuelle occupation de la cavité hydrophobe du site de liaison de l'acide aminé a₂ du motif Ca₁a₂X a été envisagée par l'introduction de groupements carbonés encombrés ;
- en position 3, des groupements aromatiques de différentes natures (encombrés, méthoxylés, hydroxylés, portant un groupement nitrile) pouvant éventuellement interagir avec la poche de sortie du produit ;
- en position 4, un hydrogène ou un nitrile permettant d'étudier l'influence de ce dernier sur l'inhibition de la FTase ;
- en position 5, des groupements pouvant se coordonner avec l'atome de zinc comme des thioéthers ou des noyaux imidazoles ;
- divers groupements aromatiques centraux (thiophène, furane, pyrrole). Le noyau thiazole a aussi été synthétisé afin d'étudier l'influence du nitrile du thiophène **56**.

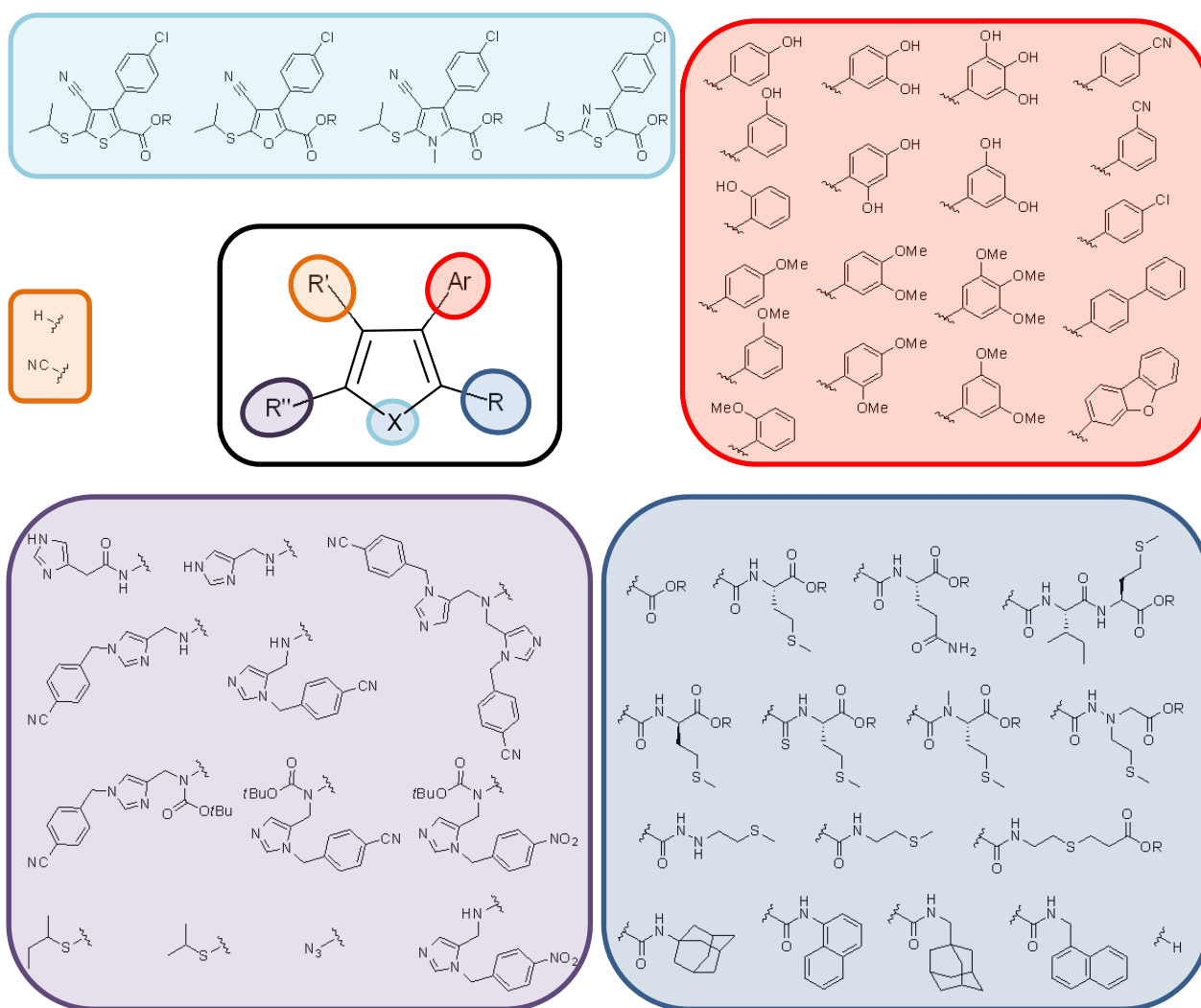


Figure 68 : Groupements introduits lors de la création d'analogues de l'inhibiteur 56

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans le cadre de ces travaux de thèse portés sur l'inhibition de la FTase, notre étude s'est orientée selon deux axes constitués des deux approches possibles pour l'élaboration d'inhibiteurs.

L'approche rationnelle a eu pour but la création d'analogues bisubstrats triazoles mimant une molécule comportant un noyau imidazole **53** synthétisée au laboratoire. Une synthèse efficace a permis d'obtenir par chimie « click » les deux régioisomères par cycloaddition catalysée au cuivre et au ruthénium donnant respectivement les triazoles 1,4- et 1,5-disubstitués. Ces molécules, moins actives que leur analogue imidazole (Figure 69) peuvent cependant être utilisées pour déterminer l'influence des différents substituants situés sur l'hétérocycle central.

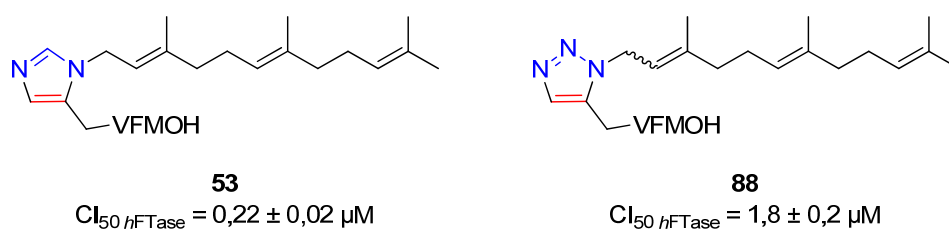


Figure 69 : Analogues triazole et imidazole

Dans ce but, une méthodologie originale permettant de synthétiser des triazoles 1,5-disubstitués à partir d'amines primaires a été initiée (Schéma 104).

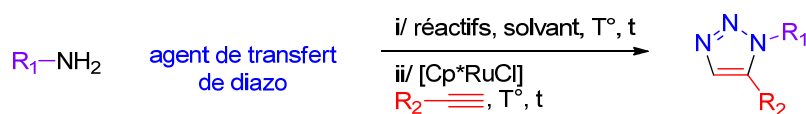


Schéma 104 : Réaction monotope de formation de triazoles 1,5-disubstitués

L'azoture d'imidazole-1-sulfonyle **92** a été choisi comme agent de transfert de diazo permettant de former l'azoture *in situ*. Le THF a été déterminé comme étant le meilleur solvant et les deux étapes constituant cette réaction ont été optimisées séparément. Cependant, avec les conditions réunies, la réaction monotope permet d'obtenir uniquement le triazole 1,4-disubstitué impliquant donc la formation inexplicquée de cuivre (I). Il est alors indispensable de s'affranchir de ce métal. Étant donné que le chlorure de zinc empoisonne le catalyseur au ruthénium, il serait plus intéressant de changer la nature de l'agent de transfert de diazo plutôt que celle du métal. En perspective, l'utilisation du 2-azido-1,3-diméthylimidazolium hexafluorophosphate **95** pourrait être étudiée puisque ce composé n'a pas besoin de métal pour catalyser la formation d'azotures.

Il serait aussi utile de remplacer le noyau 1,2,3-triazole par un noyau 1,2,4-triazole (Figure 70) pour étudier l'influence du positionnement des groupements branchés sur l'hétérocycle azoté et créer de nouvelles interactions avec l'enzyme.



Figure 70 : Noyau 1,2,4-triazole

L'approche par criblage a consisté à synthétiser de nouveaux analogues du composé **56** (Figure 71), thiophène tétrasubstitué inhibiteur compétitif du motif CaaX de la protéine farnésyltransférase.

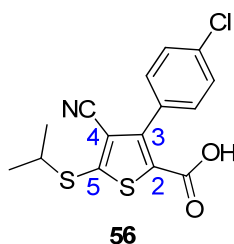


Figure 71 : Chef de file des analogues thiophènes

De par sa structure originale dans l'inhibition de cette enzyme, une librairie de composés appartenant à cette famille a été développée où les différents substituants et la nature de l'hétérocycle a été étudiée.

Afin de mener à bien cet objectif, trois voies de synthèse performantes ont été mises au point dont la première a permis d'évaluer l'influence du groupement aromatique situé en position 3 du thiophène. Cependant, certains de ces noyaux aromatiques n'ont pas pu être introduits par cette méthode.

Ce problème a pu être résolu grâce à la deuxième stratégie qui offre aussi l'opportunité de modifier la nature de l'hétérocycle central.

Une fois le noyau thiophène formé, nous avons effectué des substitutions nucléophiles aromatiques en position 5 et modifié la position 2 généralement par des réactions d'amidations pour introduire divers acides aminés ou pseudo-acides aminés.

La troisième voie, inspirée de la réaction de Gewald, a permis de synthétiser des aminothiophènes. Un groupement imidazole, pouvant se coordiner à l'atome de zinc de l'enzyme, a pu être mis en place en position 5 par des réactions d'amination réductrice ou d'amidation selon la longueur et la nature de la chaîne. Des interactions supplémentaires au sein de l'enzyme ont été évaluées par différentes substitutions sur le noyau imidazole.

Enfin, d'après les évaluations biologiques, certaines modifications se sont révélées intéressantes. Ainsi, les composés possédant les meilleures activités d'inhibition sur l'enzyme isolée ou sur les parasites ont été sélectionnés pour subir une double modification combinant les groupements prometteurs.

Certains problèmes de synthèse sont à résoudre comme la saponification des thiophènes possédant une amine secondaire ou primaire en position 5. D'autres méthodes de saponification ou d'autres groupements protecteurs peuvent être testés. De plus, il serait intéressant de changer le groupement éthylique en un groupement moins résistant à la saponification ou clivable par d'autres méthodes que par une base forte.

L'étude des analogues du thiophène **56** a abouti à la synthèse d'une centaine de composés qui ont été évalués sur enzymes humaine et de *T. brucei*.

Pour la FTase de *T. brucei*, la fonction azoture située en position 5 a permis d'obtenir de bonnes activités autour de 1 μM . De plus, nous avons déterminé le bon comportement de 3-arylthiophènes dont l'aromatique localisé en position 3 est encombré (dibenzofurane, m-biphényle). Sur ces substrats, l'activité peut être améliorée grâce à un couplage de la méthionine ou de la $\Psi[\text{CSNH}]$ -méthionine en position 2. Cet acide aminé permettrait de mimer plus efficacement le motif CaaX. Des valeurs de CI_{50} autour de 100 nM ont ainsi été obtenues (Figure 72).

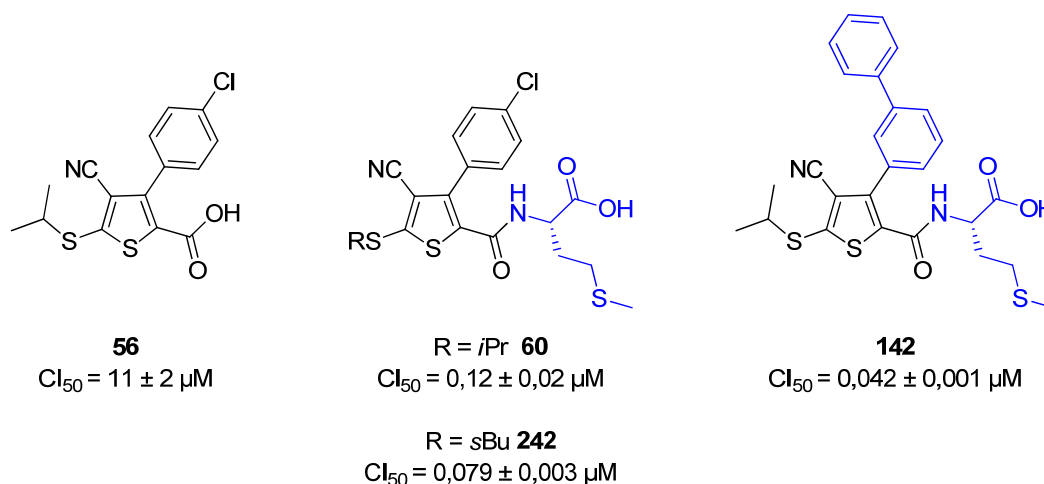


Figure 72 : Composés les plus actifs sur FTase de *T. brucei*

Pour l'enzyme humaine (Figure 73), une faible amélioration a été obtenue en remplaçant le groupement *p*-chlorophényle par un groupement plus encombré ou un groupement polyhydroxyphényle. La localisation de ce dernier groupement aromatique au sein de l'enzyme différerait de celle du premier étant donné leur changement de comportement inhibiteur si une fonction acide ou ester est située en position 2. En position 5, le motif imidazole méthanamine s'est révélé meilleur que le motif imidazole acétamide. Ces motifs devraient se coordonner au zinc de l'enzyme, nécessaire à l'activité catalytique. De plus, la substitution 1,5 de l'imidazole avec un groupement benzyle en position 1 a été bénéfique sur cette enzyme et permet d'avoir une sélectivité vis-à-vis de l'enzyme de *T. brucei*. Des interactions supplémentaires sont donc mises en jeu. Grâce à ces groupements, des activités de l'ordre de 10 nM ont été obtenues. Comme pour la FTase de *T. brucei*, l'introduction de la méthionine ou de la glutamine s'est révélée être positive sur l'inhibition de l'activité enzymatique pour les molécules possédant des groupements aromatiques encombrés en position 3.

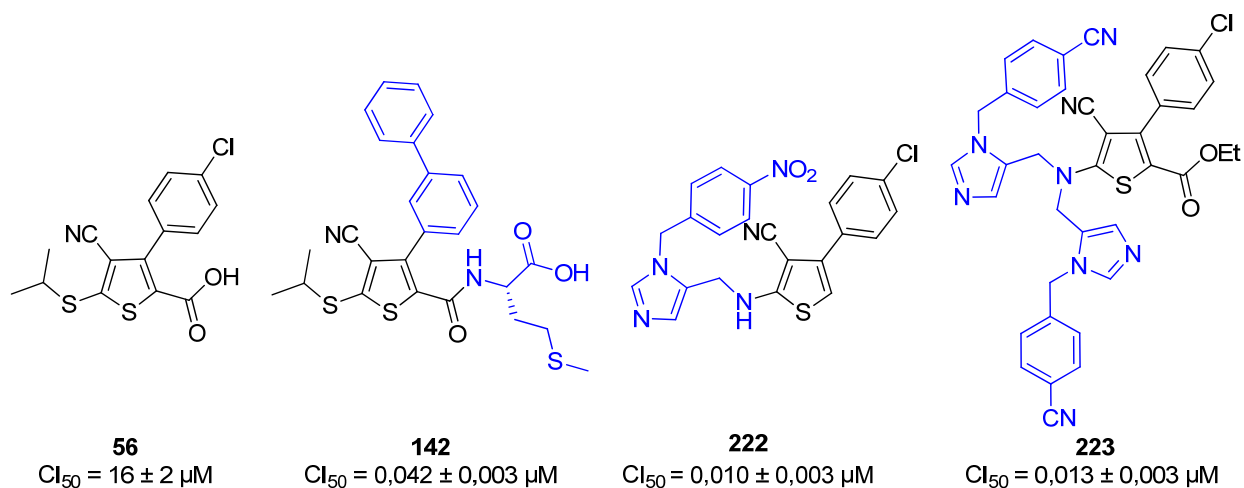
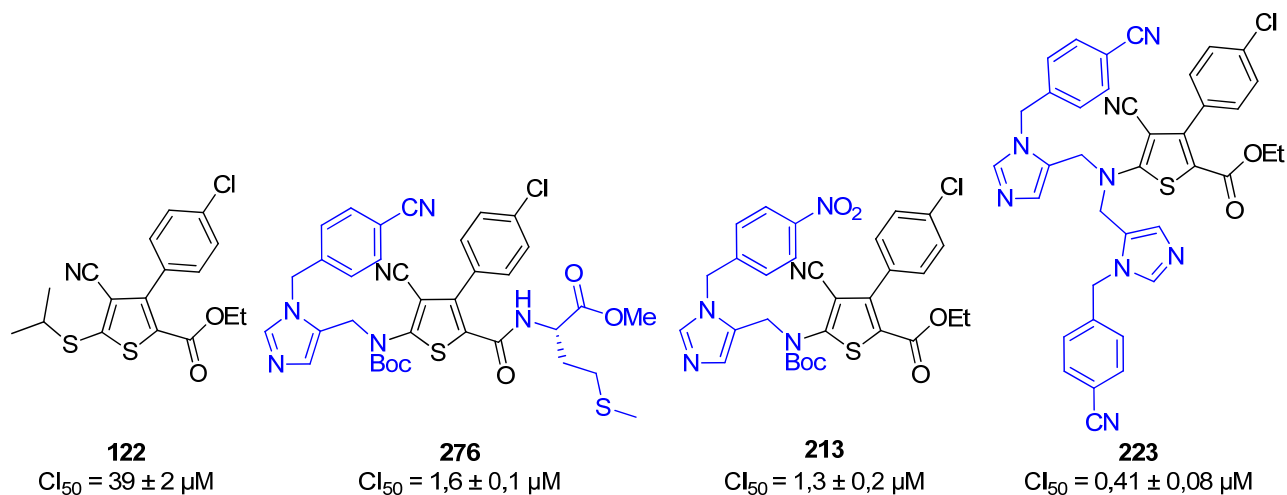


Figure 73 : Composés les plus actifs sur FTase humaine

Pour le parasite *P. falciparum* les tests *in cellulo* ont permis de dégager certaines tendances. Les groupements aromatiques possédant des fonctions hydroxyle ou méthoxy positionnées correctement ont permis d'obtenir des Cl_{50} égales à $10 \mu\text{M}$. Les modifications les plus bénéfiques sont situées en position 5 du thiophène central avec l'introduction des groupements 1-(4-cyano- ou nitrobenzyl)imidazol-5-yl méthanamines. Une double substitution de l'amine rendant la molécule moins polaire est encore plus avantageuse. Malheureusement, l'ajout de l'acide aminé n'a pas augmenté les activités. Les meilleures d'entre elles recensées sur ce parasite sont de l'ordre du micromolaire (Figure 74).

Figure 74 : Composés les plus actifs sur *P. falciparum*

Pour le parasite *T. brucei* (Figure 75), la présence d'un groupement 3,4,5-trihydroxy ou 3,4-dihydroxyphényle a permis d'obtenir des Cl_{50} submicromolaires prometteuses. Comme pour *P. falciparum*, le motif 1-(4-cyano- ou nitrobenzyl)imidazol-5-yl méthanimine s'est révélé intéressant

avec des activités de l'ordre du micromolaire. Ces activités ont aussi été obtenues lorsque de longues chaînes linéaires ont été introduites en position 2. L'ajout de la méthionine sur les composés les plus actifs sur enzyme isolée n'a malheureusement pas permis d'augmenter de manière significative les Cl_{50} .

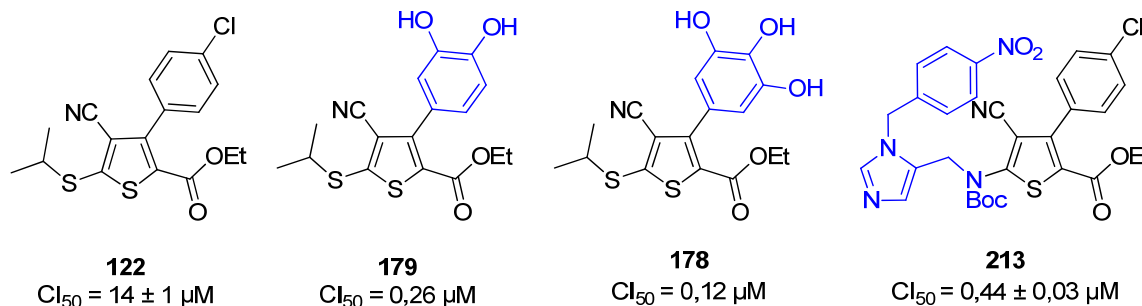


Figure 75 : Composés les plus actifs sur *T. brucei*

Concernant le parasite *T. brucei*, les activités sur enzyme isolée et sur parasite ne corrèlent pas. Il est donc légitime de se demander si la FTase est bien la cible réelle de nos composés ou si ces derniers pénètrent correctement au sein de la cellule. Des tests de pénétration cellulaire seraient donc à effectuer afin de connaître le devenir de nos molécules lors des tests *in cellulo*. À cette fin, le composé **277** pourrait être utilisé. En effet, un test de fluorescence pourrait être mis en place. Si le composé **277** pénètre dans la cellule, celui-ci pourrait se lier par une réaction de chimie « click » avec un fluorophore possédant une fonction alcyne.²⁸⁹ Cette réaction aurait pour conséquence un changement de la longueur d'onde d'émission. S'il s'avère que le composé peut rentrer dans la cellule, il serait intéressant de savoir si la FTase est bien la cible de notre composé en regardant s'il bloque la farnésylation de certains substrats et entraîne la mort du parasite. Enfin, cette étude permettrait de savoir si l'inhibition de la farnésylation est effectivement cause de la mort du parasite.

Introduire un groupement benzyle sur le motif imidazole acétamide serait également désirable étant donné que ce groupement a permis d'obtenir des activités prometteuses. De plus, il faudrait trouver une voie de synthèse performante pouvant introduire le groupement imidazole éthanamine en position 5 du thiophène.

Les groupements polyhydroxyphényles se sont montrés particulièrement prometteurs dans l'inhibition de *T. brucei*. Modifier les différents substituants du thiophène en gardant ce groupement en position 3 pourrait être une piste dans la création de nouveaux inhibiteurs.

Combiner la méthionine avec les groupements possédant de bonnes activités n'a pas eu les espoirs escomptés. Ainsi, la découverte de molécules de plus forte activité sur les parasites devra passer par la synthèse de nouveaux analogues modifiés au niveau des quatre positions du thiophène. Une molécule combinant toutes les améliorations apportées sur l'enzyme pourrait être synthétisée afin de voir s'il existe une synergie des effets inhibiteurs des différents substituants.

²⁸⁹ Dommerholt, J.; Schmidt, S.; Temming, R.; Hendriks, L. J. A.; Rutjes, F. P. J. T.; van Hest, J. C. M.; Lefeber, D. J.; Friedl, P. and van Delft, F. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9422-9425.

Des études de modélisation moléculaire pourraient également être d'une grande utilité pour connaître les différentes interactions impliquées au sein du site actif de l'enzyme. Cependant, à l'heure actuelle, ces études ne pourront se faire qu'à partir de l'enzyme de mammifère, seule enzyme dont la structure tridimensionnelle exacte est connue. La séquence des acides aminés de la FTase de *T. brucei* étant connue, il serait possible de modéliser le site actif de l'enzyme. Cependant, ces résultats seraient moins fiables que ceux donnés par une structure basée sur une cristallisation.

Les évaluations biologiques nous ayant montré une différence notable de sélectivité entre les enzymes humaine et de *T. brucei*, il serait donc discutable d'effectuer ces études sur l'enzyme humaine et de les extrapoler sur l'enzyme de parasite. Dans ce cas, il serait intéressant d'effectuer des travaux de cristallisation de l'enzyme de *T. brucei* afin de pouvoir modifier les inhibiteurs synthétisés lors de ces travaux selon une approche rationnelle. Cette tâche paraît, cependant, difficile étant donné que la protéine farnésyltransférase de *T. brucei* a été isolée depuis une dizaine d'années mais qu'aucune cristallisation n'a été reportée jusqu'à ce jour.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chapitre I : Généralités

I. Solvants et réactifs

Les réactifs commerciaux sont utilisés sans purification préalable.

Les solvants THF, CH_2Cl_2 , toluène et acétonitrile sont fraîchement distillés. Le THF est distillé sous argon sur sodium/benzophénone, le CH_2Cl_2 sur P_2O_5 , l'acétonitrile et le toluène sur hydrure de calcium. Le méthanol, l'éthanol et l'*i*-propanol sont distillés sur magnésium avec une pointe d'iode puis conservés sur tamis moléculaire 4 Å à l'abri de la lumière. Le DME et le DMF sont distillés sous pression réduite puis conservés à l'abri de la lumière sur tamis moléculaire.

II. Appareil micro-ondes

L'appareillage micro-ondes qui a été utilisé est le Discover (Cem Microwaves) commercialisé par la société CEM. Il s'agit d'un appareil constitué d'un réacteur monomode à ondes focalisées par un guide d'ondes. Toutes les réactions ont été réalisées dans des récipients en pyrex scellés. Le récipient contenant le mélange réactionnel est introduit dans le réacteur monomode. La puissance, la température et le temps de réaction sont programmés à l'aide d'un ordinateur. Ce dernier permet l'asservissement de la puissance ou de la température ainsi que l'enregistrement des courbes de température et de puissance en fonction du temps pendant les expériences.

III. Chromatographies

III.1. Sur couche mince, épaisse et flash

Les réactions sont suivies par CCM (gel de silice 60 F₂₅₄ Merck, 0,15 mm d'épaisseur) au moyen d'une lampe UV ($\lambda = 254$ et 366 nm).

L'isatine sulfurique (pour les thiophènes), le molybdate sulfurique éthanolique (pour plusieurs fonctions), le réactif de Dragendorff (pour les dérivés imidazoles) et le permanganate de potassium (pour les composés avec double(s) liaison(s)) sont utilisés comme agents révélateurs.

Les chromatographies sur couche épaisse sont effectuées sur des plaques préparatives d'épaisseurs variables (0,5, 1 et 2 mm) selon la quantité à purifier.

Les chromatographies flash (sur colonne) sont réalisées à l'aide d'un appareil de purification Combiflash Companion® commercialisé par la société Serlabo fonctionnant avec des colonnes de silice prépackée Redisep (taille : 4 à 120 g).

III.2. Chromatographie liquide à ultra-haute pression (UPLC)

Les données UPLC sont obtenues à partir de l'appareil Waters Acquity UPLC® équipé d'un détecteur TQD. Les produits contenus dans les échantillons sont analysés après passage sur une colonne Waters HSS C₁₈ de 1,8 µm de dimension 2,1 x 50 mm par un détecteur de masse de type triple quadripôle (où une tension de cône de 20 et 40 V est appliquée). Cet appareil enregistre les rapports m/z compris entre 50 et 1000 et possède un détecteur UV à barrettes de diodes qui permet de visualiser les composés répondant à l'UV entre 200 et 400 nm.

La méthode fait intervenir deux mélanges de solvant : H₂O + 0,1 % d'acide formique (solvant 1) et CH₃CN + 0,1 % d'acide formique (solvant 2). La procédure utilisée comporte trois phases :

- une élution isocratique d'un mélange solvant 1/solvant 2 : 95:5 pendant 5 min ;
- une élution par un gradient solvant 1/solvant 2 de 95:5 à 0:100 en 3,5 min ;
- une élution du solvant 2 pendant 1 min.

IV. Appareils d'analyse

IV.1. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de RMN ¹H et ¹³C sont obtenus sur les appareils Brüker Avance 300® (300 MHz pour le proton, 75 MHz pour le carbone) ou Brüker Avance 500® (500 MHz pour le proton, 125 MHz pour le carbone).

Le chloroforme deutéré (CDCl₃), le méthanol deutéré (CD₃OD) et l'acétone deutérée (CD₃COCD₃) sont employés comme solvants. Les déplacements chimiques δ sont exprimés en parties par million (ppm) par rapport au chloroforme (7,26 ppm pour les spectres ¹H et 77,2 ppm pour les spectres ¹³C), au méthanol (3,34 ppm pour les spectres ¹H et 49,9 ppm pour les spectres ¹³C) ou à l'acétone (2,05 ppm pour les spectres ¹H et 29,9 ppm pour les spectres ¹³C). Les constantes de couplage *J* sont exprimées en Hertz (Hz).

Les abréviations suivantes sont utilisées : s (singulet), sl (singulet large), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), h (heptuplet) et m (multiplet).

L'attribution précise des signaux des protons et carbones a été accomplie par analyse des spectres DEPT, COSY, HMQC et HMBC sur le logiciel NMRnotebook®. Néanmoins, il n'est pas toujours possible d'assigner précisément un déplacement chimique à un proton ou un carbone aromatique. C'est pourquoi, dans ces situations, l'attribution sera désignée **Har** s'il s'agit d'un proton et **Char** ou **Car** s'il s'agit respectivement d'un carbone tertiaire ou d'un carbone quaternaire.

Pour certains composés, malgré des temps d'acquisition et de relaxation importants, les signaux en RMN ¹³C ne sont pas visibles. Dans ces cas précis, seuls seront indiqués les signaux visibles.

IV.2. Infrarouge (IR)

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés sur un spectromètre Perkin-Elmer Spectrum BX. Les produits sont déposés purs sur la cellule de détection. Les valeurs des bandes d'absorption sont exprimées en cm^{-1} .

IV.3. Spectrométrie de masse (SM)

Les spectres de masse basse et haute résolution par électrospray (ESI : Electro Spray Ionisation) sont effectués sur un appareil Thermoquest AQA Navigator® avec un détecteur à temps de vol.

Les spectres de masse basse résolution en impact électronique (IE) sont réalisés au moyen d'un appareil Automass® de ThermoFinnigan avec un détecteur quadripôle.

IV.4. Analyse élémentaire (AE)

La proportion des atomes C, H, N et S dans les molécules est mesurée par un appareil vario MICRO cube® commercialisé par la société Elementar. Le carbone, l'hydrogène et l'azote sont dosés par catharométrie alors que le soufre est détecté par IR.

La proportion des atomes d'oxygène est déduite après pyrolyse sur charbon et détection par catharométrie grâce à un appareil Vario EL III® de la société Elementar.

IV.5. Pouvoir rotatoire ($[\alpha]_D$)

Les pouvoirs rotatoires ont été déterminés sur un polarimètre MCP 300 Anton Paar. La source lumineuse est une lampe halogène à filament de tungstène. Les mesures réalisées à 20°C et 589 nm, non corrigées, sont suivies du solvant utilisé et de la concentration de l'échantillon.

V. Tests biologiques

V.1. Test enzymatique des FTases

V.1.a. Principe du test enzymatique

L'évaluation biologique menée au laboratoire consiste à mesurer le pourcentage d'inhibition à différentes concentrations des composés synthétisés sur la protéine farnésyltransférase. Les enzymes disponibles au laboratoire sont l'enzyme recombinante de levure, l'enzyme recombinante humaine et l'enzyme recombinante de *Trypanosoma brucei*. Cette dernière a été exprimée chez *Escherichia coli*, isolée et purifiée par l'équipe du Pr Philippe Grellier (MNHN). La CI_{50} a été déterminée quand l'activité inhibitrice était supérieure à 50 % à 50 μ M.

Mis au point par le Dr Joëlle Dubois à partir des données de la littérature^{290,291}, un test robotisé de fluorescence sur plaques multi-puits a permis de mener à bien les évaluations biologiques au sein de l'ICSN.

Le principe du test est basé sur le groupement dansyle (Figure 76) greffé sur le peptide substrat. Ce dernier varie en fonction de l'origine de la FTase étudiée. Si la FTase de levure ou la FTase humaine est utilisée, le polypeptide a pour séquence DansylGly-Cys-Val-Leu-Ser séquence C-terminale des protéines H-Ras. En revanche dans le cas où nos composés sont testés sur la FTase de *T. brucei*, le polypeptide comporte la séquence DansylGly-Cys-Ala-Ile-Met séquence C-terminale des protéines lamines B. En effet, comme nous l'avons évoqué précédemment, la sérine n'est pas reconnue en tant qu'acide aminé terminal X (du motif CaaX) chez les parasites.

Le groupement dansyle greffé offre des caractéristiques de fluorescence (longueur d'onde de fluorescence maximale, intensité de fluorescence) différentes en fonction de l'hydrophobicité de son environnement.

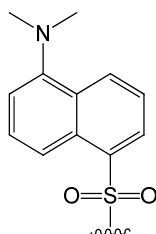


Figure 76 : Le groupement dansyle

²⁹⁰ Pompliano, D. L.; Gomez, R. P. and Anthony, N. J. *J Am Chem Soc* **1992**, *114*, 7946-7946.

²⁹¹ Cassidy, P. B.; Dolence, J. M. and Poulter, C. D. *Methods Enzym.* **1995**, *250*, 30-43.

Au cours de la réaction enzymatique, l'addition du groupement farnésyle sur le soufre de la cystéine induit un changement de l'environnement du groupement dansyle qui devient alors plus hydrophobe.

Cette différence d'hydrophobicité autour du groupement dansyle s'accompagne d'un changement de la longueur d'onde maximale d'émission de fluorescence qui passe de 565 nm (courbe bleue) pour le peptide dansylé non farnésylé à 515 nm (courbe violette) pour le peptide dansylé farnésylé (Figure 77). L'intensité de fluorescence est mesurée à 490 nm, intensité maximale de fluorescence du peptide farnésylé pour laquelle la fluorescence du peptide non farnésylé est minimale.

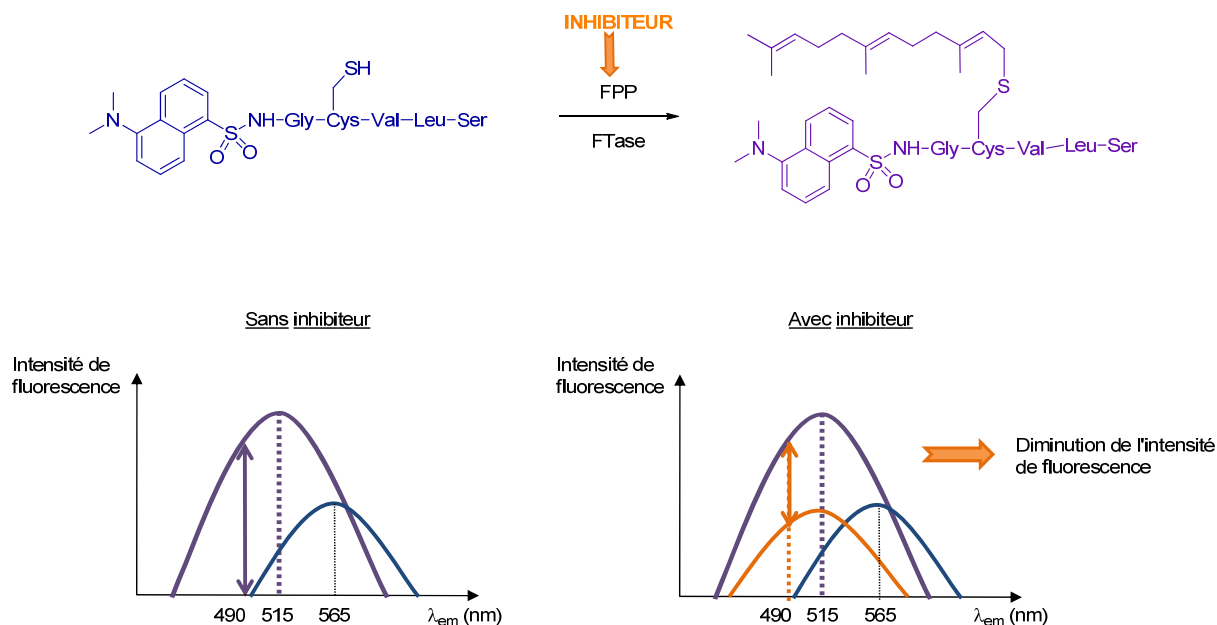


Figure 77 : Principe du test de fluorescence pour les FTases

Lorsqu'une molécule inhibe le processus de farnésylation, l'intensité de fluorescence diminue (passage de la courbe violette à la courbe orange) car la proportion de peptide farnésylé est plus faible. Ainsi, plus la molécule testée est active vis-à-vis de la FTase, plus l'intensité de fluorescence à cette longueur d'onde diminue. Selon ce principe on peut donc mesurer l'effet inhibiteur d'un composé qui sera exprimé par sa CI_{50} , concentration d'inhibiteur pour laquelle l'activité enzymatique est réduite à 50 % de son activité initiale.

V.1.b. Protocole du test enzymatique

Les tests enzymatiques sont réalisés sur des plaques 96 puits au moyen d'une lecture par le fluorimètre Wallac Victor® de Perkin-Elmer. Deux robots (Biomek NKMC® et Biomek 3000® de Beckman Coulter) sont utilisés pour remplir ces plaques.

Chaque puits contient :

- 178 μL d'une solution (pH = 7,5) composée de 0,3 mL d'enzyme FTase humaine recombinante ou de *T. brucei* recombinante partiellement purifiée et de 14,0 mL de peptide (2,5 μM) dansyl-GCVLS (pour l'enzyme humaine) ou dansyl-GCAIM (pour l'enzyme de *T. brucei*) en solution dans un tampon contenant 52 mM de Tris, 5,6 mM de DTT, 5,6 mM de MgCl_2 , 11,7 μM de ZnCl_2 et 0,2 % w/v du détergent OGP ;
- 2 μL de DMSO pour la référence ou 2 μL de la molécule à tester dans le DMSO.

La plaque ainsi préparée est d'abord incubée 5 min à 30°C puis la réaction enzymatique est initiée par l'ajout de 20 μL de FPP (9,94 μM). La plaque est alors placée dans le lecteur de fluorescence à 30°C dont le filtre d'excitation est à 340 nm et la lecture est réalisée à 486 nm.

Les pourcentages d'inhibition sont mesurés en du- ou triplicate par rapport à la valeur obtenue pour la référence. La CI_{50} est calculée à partir des courbes d'inhibition en fonction de la concentration.

V.2. Test d'inhibition de la croissance de *P. falciparum*

V.2.a. Culture du parasite

La souche de *P. falciparum* utilisée est de type FcB1, provenant de Colombie et résistante à la chloroquine. Selon la méthode de Trager et Jensen, elle est cultivée sur des hématies O^+ à un hématoците de 4 %, sous une atmosphère composée de 91 % de N_2 , 3 % de CO_2 et 6 % d' O_2 à 37°C. Les hématies sont lavées deux fois dans du milieu de culture RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) sans sérum juste avant utilisation. Si nécessaire, 100 UI/mL de pénicilline et 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de streptomycine sont ajoutés au milieu. Enfin 5 à 8 % (v/v) de sérum humain décomplémenté (30 min à 56°C) est additionné, le tout est filtré en condition stérile et peut être conservé une à deux semaines à 4°C. Pour les faibles parasitémies, le milieu est changé quotidiennement par aspiration et plusieurs fois par jour dans le cas de parasitémies plus importantes (> 5 %). Les cultures à parasitémie élevée sont diluées avec de nouvelles hématies, préalablement lavées par centrifugation avec le milieu de culture. La parasitémie est estimée sur frottis sanguins colorés au Diff Quick® par comptage d'au moins 1000 hématies. Cette coloration repose sur l'action complémentaire de deux colorants neutres et sur l'affinité des éléments cellulaires pour les colorants acides ou basiques. L'éosine (colorant acide) va se fixer sur les éléments cellulaires basiques ou éosinophiles (cytoplasme des hématies et du parasite coloré en rose) tandis que le bleu de méthylène (colorant basique) va se fixer sur les éléments cellulaires acides tel que l'ADN. Les hématies de mammifères étant anucléées, la coloration au bleu de méthylène se concentre sur le parasite au sein des hématies infectées.

V.2.b. Évaluation *in cellulo* de l'activité antipaludique

L'évaluation est basée sur la technique de microdilution semi-automatique de Desjardins.²⁹² Elle utilise comme précurseur radioactif l'hypoxanthine tritiée, un intermédiaire de synthèse des acides nucléiques du parasite. Les hématies humaines étant dépourvues de noyau et de la machinerie de synthèse d'ADN, l'incorporation d'hypoxanthine tritiée dans les cultures parasitées est le reflet du développement parasitaire.²⁹³

L'inhibition de la croissance parasitaire pour chaque concentration de produit est déterminée par comparaison entre la radioactivité incorporée dans une culture traitée et celle incorporée dans une culture non traitée (contrôle) contenant la même quantité de DMSO et maintenue sur une même plaque. La CI_{50} est calculée à partir de la moyenne des courbes dose-réponse obtenues pour plusieurs expériences indépendantes.

Une culture asynchrone de *P. falciparum* est mise en présence de concentrations successives décroissantes de la drogue testée dans une plaque 96 puits. Le volume total de chaque puits est de 200 μ L : 100 μ L de la molécule diluée dans le milieu de culture (à une concentration deux fois supérieure à la concentration finale désirée) et 100 μ L de suspension d'hématies parasitées dans du milieu de culture (1 % de parasitémie, 2 % d'hématocrite). La chloroquine a également été testée et constitue la molécule de référence. La plaque est incubée 24 h à 37°C sous une atmosphère appauvrie en oxygène puis 25 μ L d'hypoxanthine tritiée (0,5 μ Ci) sont distribués dans chaque puits. La plaque est une nouvelle fois incubée dans les mêmes conditions pendant 24 h puis congelée à -80°C pour lyser les cellules. Après décongélation, le lysat cellulaire est aspiré sur papier en fibre de verre afin de récupérer l'ADN parasite. Le filtre est lavé, séché et imbibé de liquide scintillant. La radioactivité est alors mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre Wallac 1450 MicroBeta® Trilux.

V.3. Test d'inhibition *in cellulo* de la croissance de *T. brucei*

Le test effectué sur *T. brucei brucei* (de bovin) est réalisé sur la souche 427, lignée 90-13 pour les formes sanguines. La prolifération des parasites est mesurée à l'aide d'une molécule fluorescente, l'AlamarBlue®. Il s'agit d'un réactif pro-fluorescent qui permet une mesure quantitative de la prolifération de nombreuses lignées cellulaires.^{294,295} Ce réactif est un indicateur de croissance basé sur la détection de l'activité métabolique par réduction de la résazurine, bleue et non fluorescente, en résorufine, rose et fluorescente (Figure 78).

²⁹² Desjardins, R. E.; Canfield, C. J.; Haynes, J. D. and Chulay, J. D. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1979**, *16*, 710-718.

²⁹³ Guillon, J.; Grellier, P.; Labaied, M.; Sonnet, P.; Léger, J.-M.; Déprez-Poulain, R.; Forfar-Bares, I.; Dallemagne, P.; Lemaître, N.; Péhourcq, F.; Rochette, J.; Sergheraert, C. and Jarry, C. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1997-2009.

²⁹⁴ O'Brien, J.; Wilson, I.; Orton, T. and Pognan, F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 5421-5426.

²⁹⁵ Bastos, I. M. D.; Motta, F. N.; Charneau, S.; Santana, J. M.; Dubost, L.; Augustyns, K. and Grellier, P. *Infect.* **2010**, *12*, 457-466.

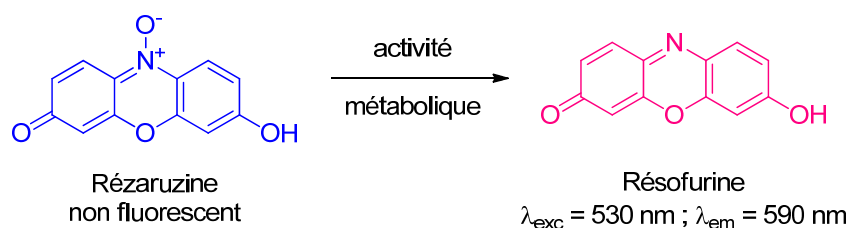


Figure 78 : Test à l'AlamarBlue®

La fluorescence de ce produit, proportionnelle au nombre de cellules, change en réponse à la réduction chimique du milieu de culture lors de la croissance cellulaire. L'AlamarBlue® (solution commerciale) est donc ajouté à raison de 100 μL par puits et laissé au moins 3 h jusqu'à ce qu'une fluorescence soit mesurable sans ambiguïté dans les témoins. La fluorescence est mesurée aux longueurs d'onde d'excitation de 530-560 nm et d'émission 590-630 nm. L'intensité du signal de fluorescence mesurée est proportionnelle au nombre de cellules vivantes dans le milieu. Le pourcentage d'inhibition est calculé par rapport à la fluorescence des puits de contrôle et soustraction du bruit de fond (puits négatifs).

Le test est effectué dans des plaques 24 puits. Dans chaque puits, 1 mL de suspension est déposé ainsi que 10 μL d'inhibiteur potentiel dans le DMSO. Les cellules croissent 3 jours à 37°C sous une atmosphère contenant 5 % de CO_2 puis la fluorescence est lue grâce à un spectrophotomètre Bio-Tek FL600 Microplate Fluorescence Reader et permet de déterminer le pourcentage d'inhibition d'un produit en fonction de la fluorescence des témoins.

V.4. Cytotoxicité

Les cellules cancéreuses humaines KB (carcinome buccal) sont entretenues dans des flacons de culture de 75 cm^2 en milieu DMEM contenant 10 % de sérum de veau fœtal, des antibiotiques (pénicilline et streptomycine), un antifongique (fungizone) et cultivées à 37°C dans un incubateur à 95 % d'air et 5 % de CO_2 en atmosphère humide.

Les repiquages se font deux fois par semaine, afin d'entretenir le stock et de préparer les plaques de criblage. Les cellules adhérentes sont isolées par utilisation de trypsine (enzyme permettant de décoller et de dissocier les cellules). Après élimination du milieu de culture et rinçage du tapis cellulaire au PBS (tampon phosphate isotonique de pH = 7), 2 mL de trypsine sont déposés sur les cellules et la digestion est réalisée pendant 10 min à l'étuve : les cellules sont alors récupérées et centrifugées (1000 tours/minute). Le culot cellulaire est repris dans 2 mL de milieu de culture et les cellules sont comptées en utilisant le Vi-Cell XR (Beckman Coulter).

Les cellules peuvent ainsi être distribuées dans les plaques 96 puits à une densité convenable, 500 à 800 cellules/puits/200 μL de milieu. Les produits à tester ou leurs différentes dilutions pour les CI_{50} sont déposés après 24 h dans les puits (si les produits sont en solution dans du DMSO, on doit tenir compte de la toxicité de ce solvant qui ne doit pas dépasser 1 % dans le milieu de culture). Au

bout de 72 h de contact, la prolifération cellulaire en présence des molécules à tester est évaluée par rapport aux cultures témoins non traitées (recevant le même volume de DMSO). Pour cela, on ajoute 40 μ L de MTS (réactif Proméga) qui se fixe sur les mitochondries des cellules vivantes et est réduit en un dérivé formazan coloré qui absorbe à 490 nm. Après 2 h d'incubation, la densité optique de chaque puits est mesurée au spectrophotomètre. Le pourcentage de cellules vivantes est calculé par rapport au contrôle et les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance cellulaire.

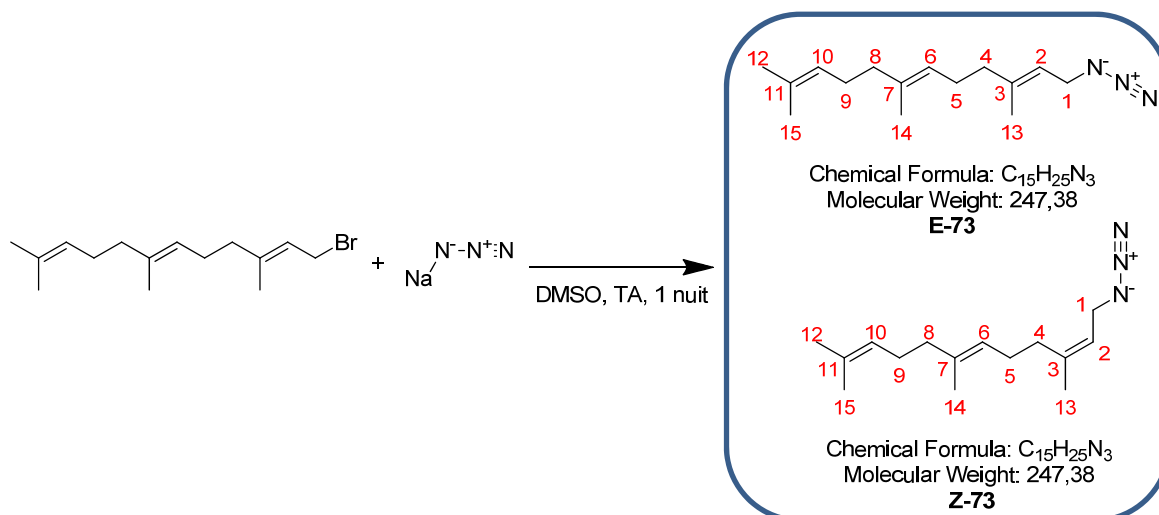
Le même protocole est appliqué pour les lignées MRC5 (non cancéreuses) avec 2000 cellules/puits.

Chapitre II : Produits synthétisés

I. Approche rationnelle

(2E,6E)-1-azido-3,7,11-triméthylododéca-2,6,10-triène E-73

(2Z,6E)-1-azido-3,7,11-triméthylododéca-2,6,10-triène Z-73



L'azoture de sodium (0,527 g, 8,11 mmol, 1,1 éq.) est mis en suspension dans 16 mL de DMSO. Après 3 heures d'agitation à température ambiante et totale solubilisation de l'azoture de sodium, le bromure de *trans, trans*-farnésyle (2,0 mL, 2,10 g, 7,38 mmol, 1 éq.) est additionné au milieu réactionnel qui est agité à température ambiante pendant une nuit.

De l'eau est additionnée au mélange réactionnel formant une réaction exothermique. Après retour à température ambiante la phase aqueuse est extraite trois fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir un liquide orange, le composé **73** (1,80 g, 98 % de rendement) avec ses configurations (2E,6E) et (2Z,6E) dans un rapport 2/1.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

(2E,6E)-1-azido-3,7,11-triméthylododéca-2,6,10-triène :

δ (ppm) : 1,53 (s, 6H, **H14** et **H15**) ; 1,60 (s, 3H, **H12**) ; 1,63 (s, 3H, **H13**) ; 1,91 (m, 2H, **H8**) ; 1,93 (m, 2H, **H4**) ; 2,04 à 2,07 (m, 4H, **H5** et **H9**) ; 3,67 (m, 2H, **H1**) ; 4,99 à 5,04 (m, 2H, **H6** et **H10**) ; 5,26 (m, 1H, **H2**).

(2Z,6E)-1-azido-3,7,11-triméthylododéca-2,6,10-triène :

δ (ppm) : 1,53 (s, 6H, **H14** et **H15**) ; 1,60 (s, 3H, **H12**) ; 1,72 (s, 3H, **H13**) ; 1,91 (m, 2H, **H8**) ; 1,96 (m, 2H, **H4**) ; 2,04 à 2,07 (m, 4H, **H5** et **H9**) ; 3,67 (m, 2H, **H1**) ; 4,99 à 5,04 (m, 2H, **H6** et **H10**) ; 5,26 (m, 1H, **H2**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

(2E,6E)-1-azido-3,7,11-triméthylododéca-2,6,10-triène :

δ (ppm) : 16,0 (C14) ; 16,0 (C13) ; 17,6 (C15) ; 25,7 (C12) ; 26,3 (C9) ; 26,7 (C5) ; 39,5 (C4) ; 39,7 (C8) ; 48,0 (C1) ; 117,1 (C2) ; 123,4 (C6) ; 124,3 (C10) ; 131,3 (C11) ; 131,3 (C7) ; 143,0 (C3).

(2Z,6E)-1-azido-3,7,11-triméthylododéca-2,6,10-triène :

δ (ppm) : 15,9 (C14) ; 17,6 (C15) ; 23,3 (C13) ; 25,7 (C12) ; 26,6 (C9) ; 26,7 (C5) ; 32,1 (C4) ; 39,7 (C8) ; 47,9 (C1) ; 117,9 (C2) ; 123,3 (C6) ; 124,3 (C10) ; 135,5 (C11) ; 135,9 (C7) ; 143,1 (C3).

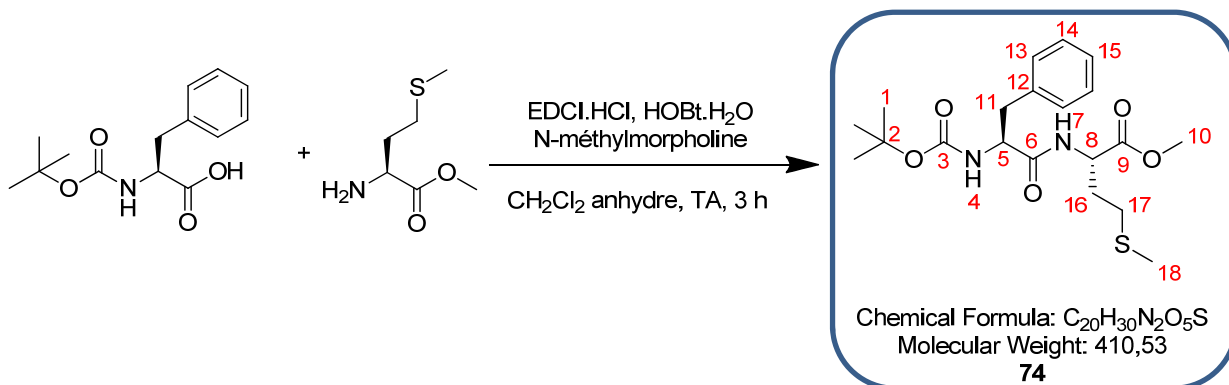
SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 220,2 [M-N₂+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₅H₂₆N⁺ [M-N₂+H]⁺ : 220,2065 trouvée : 220,2061.

IR :

ν (cm⁻¹) : 2967 et 2917 et 2880 (CH st), 2093 (-N⁺≡N st), 1665 et 1614 (C=C st), 1445 (CH δ ip), 1376 (CH₃ δ sy), 1249 et 1199 (CH₃ γ), 1098, 986, 899, 878 et 833 (=CH δ oop), 744, 668.

(5S,8S)- 8-benzyl-12,12-diméthyl-7,10-dioxo-11-oxa-2-thia-6,9-diazatridecane-5-carboxylate de méthyle
74



Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés la phénylalanine protégée par un groupement Boc (3,00 g, 11,3 mmol, 1 éq.), la méthionine méthylée (2,26 g, 11,3 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (2,60 g, 13,6 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole monohydraté (2,08 g, 13,6 mmol, 1,2 éq.), la N-méthylmorpholine (1,14 g, 11,3 mmol, 1 éq.) et 30 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures.

De l'eau est additionnée au milieu réactionnel qui est ensuite extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide blanc obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane/AcOEt 9:1 (v/v) à heptane/AcOEt 4:6 (v/v) en 60 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **74** (4,65 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,40 (s, 9H, **H1**) ; 1,93 (m, 1H, **H16**) ; 2,04 (s, 3H, **H18**) ; 2,10 (m, 1H, **H16**) ; 2,41 (m, 2H, **H17**) ; 3,06 (m, 2H, **H11**) ; 3,69 (s, 3H, **H10**) ; 4,37 (m, 1H, **H5**) ; 4,66 (m, 1H, **H8**) ; 5,14 (m, 1H, **H4**) ; 6,74 (m, 1H, **H7**) ; 7,23 à 7,22 (m, 5H, **H_{ar}**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 15,3 (**C18**) ; 28,3 (**C1**) ; 29,7 (**C17**) ; 31,6 (**C16**) ; 38,1 (**C11**) ; 51,5 (**C8**) ; 52,5 (**C10**) ; 55,7 (**C5**) ; 80,2 (**C2**) ; 126,9 (**C15**) ; 128,6 (**C13**) ; 129,3 (**C14**) ; 136,5 (**C12**) ; 155,4 (**C3**) ; 171,2 (**C6**) ; 171,8 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 433,2 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₀H₃₀N₂O₅SNa⁺ [M+Na]⁺ : 433,1773, trouvée : 433,1783.

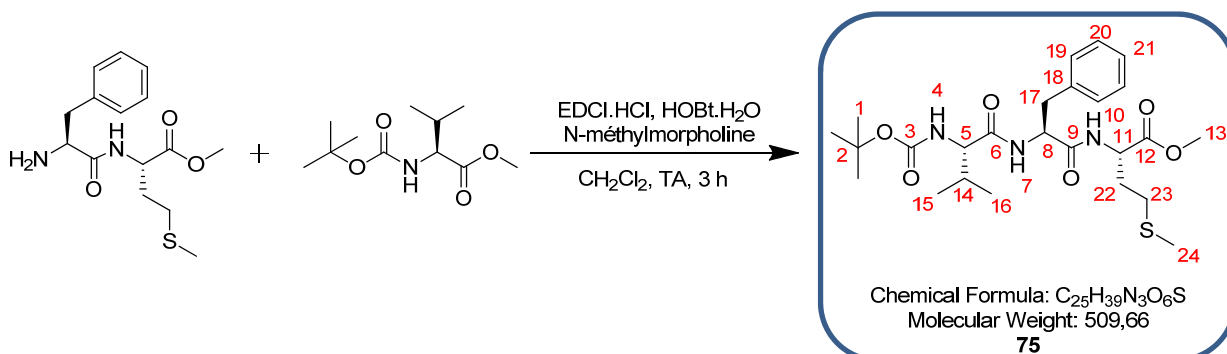
IR :

ν (cm⁻¹) : 3353 (**NH st**), 3295 (**NH st**), 3084 et 3040 (**arCH st**), 2964 et 2934 (**CH st**), 1734 (**C=O_{ester} st**), 1706, 1686 (**C=O_{amide} st**), 1671, 1650 (**C=O_{amide} st**), 1548, 1385, 1366, 1235, 1149 (**CN st**), 1046, 985, 864, 794, 750, 700 (**C-S st**).

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -17,4° (MeOH, 0,86).

(5S,8S,11S)- 8-benzyl-11-isopropyl-15,15-diméthyl-7,10,13-trioxo-14-oxa-2-thia-6,9,12-triazahexadécane-5-carboxylate-11-oxa-2-thia-6,9-diazatridécane-5-carboxylate de méthyle **75**



Le dipeptide **74** (2,34 g, 7,54 mmol, 1 éq.) est solubilisé à 0°C dans 15 mL d'acide trifluoroacétique et 15 mL de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité 40 minutes. De l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide, le dipeptide déprotégé.

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le dipeptide déprotégé, la valine protégée par un groupement Boc (1,64 g, 7,54 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (1,73 g, 9,05 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (1,39 g, 9,05 mmol, 1,2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,763 g, 7,54 mmol, 1 éq.) et 20 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel jusqu'à avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. Le solide blanc obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 9:1 (v/v) en 60 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **75** (2,92 g, 76 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,74 (d, 3H, **H15** ou **H16**, *J* = 6,6 Hz) ; 0,85 (d, 3H, **H15** ou **H16**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,35 (s, 9H, **H1**) ; 1,90 (m, 1H, **H22**) ; 1,98 (s, 3H, **H24**) ; 2,12 (m, 2H, **H22** et **H14**) ; 2,32 (t, 2H, **H23**, *J* = 7,2 Hz) ; 3,04 (m, 2H, **H17**) ; 3,64 (s, 3H, **H13**) ; 3,83 (m, 1H, **H5**) ; 4,52 (m, 1H, **H11**) ; 4,63 (m, 1H, **H8**) ; 4,79 (m, 1H, **H4**) ; 6,45 (m, 1H, **H7**) ; 6,52 (m, 1H, **H10**) ; 7,13 à 7,23 (m, 5H, **H_{ar}**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 15,3 (**C24**) ; 17,3 (**C15** ou **C16**) ; 19,2 (**C15** ou **C16**) ; 28,3 (**C1**) ; 29,9 (**C23**) ; 30,4 (**C14**) ; 31,4 (**C22**) ; 37,8 (**C17**) ; 51,7 (**C11**) ; 52,6 (**C13**) ; 57,7 (**C8**) ; 60,3 (**C5**) ; 78,2 (**C2**) ; 127,0 (**C21**) ; 128,9 (**C19**) ; 129,4 (**C20**) ; 136,2 (**C18**) ; 155,9 (**C3**) ; 170,4 (**C6**) ; 171,4 (**C9**) ; 171,5 (**C12**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 532,2 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₅H₃₉N₃O₆SNa⁺ [M+Na]⁺ : 532,2457, trouvée : 532,2458.

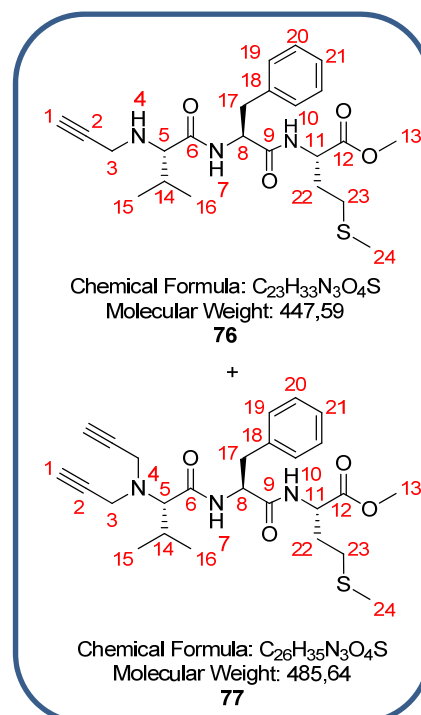
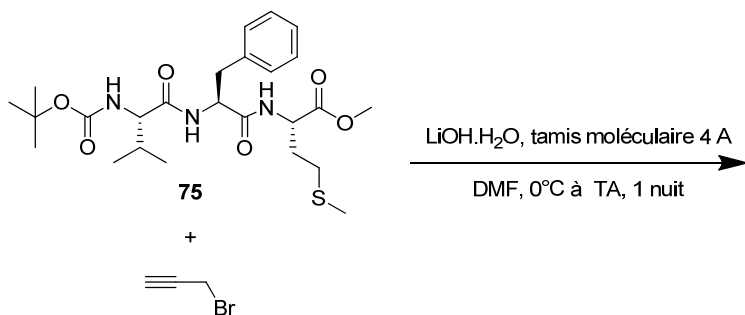
IR :

ν (cm⁻¹) : 3300 (**NH** st), 3080 (**arCH** st), 2966 (**CH** st), 1731 (**C=O_{ester}** st), 1686 et 1643 (**C=O_{amide}** st), 1525, 1448, 1438, 1388, 1271, 1234 1171 et 1151 (**CN** st), 1045, 927, 876, 794, 781, 748, 702, 680.

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -47,9° (MeOH, 0,94).

(5S,8S,11S)-8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle **76**
 (5S,8S,11S)- 8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-12-(prop-2-ynyl)-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle **77**



Le tripeptide **75** (1,42 g, 2,79 mmol, 1 éq.) est solubilisé à 0°C dans 15 mL d'acide trifluoroacétique et 5 mL de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité 40 minutes. De l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide, le tripeptide déprotégé.

3,4 g de tamis moléculaire 4Å et de l'hydroxyde de lithium monohydraté (0,251 g, 5,99 mmol, 2,15 éq.) dans 14 mL de diméthylformamide sont mélangés à 0°C pendant 30 minutes sous argon. Le tripeptide **75** déprotégé solubilisé dans 10 mL de diméthylformamide est ajouté au milieu réactionnel. Après 45 minutes d'agitation à 0°C, le bromure de propargyle (0,331 g, 2,79 mmol, 1 éq.) est additionné goutte-à-goutte sur une période de 30 minutes.

Après une nuit d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite® et lavé avec de l'acétate d'éthyle. Le filtrat additionné d'eau est ensuite extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune purifiée, par la suite, par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 40 minutes) pour donner deux solides blancs, le composé dialkylé **77** (0,093 g, 7 % de rendement) et le composé **76** (0,322 g, 26 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

(5R,8R,11R)-8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

δ (ppm) : 0,68 (d, 3H, **H15** ou **H16**, *J* = 7,0 Hz) ; 0,88 (d, 3H, **H15** ou **H16**, *J* = 7,0 Hz) ; 1,98 (m, 1H, **H22**) ; 2,08 (s, 3H, **H24**) ; 2,12 (m, 2H, **H22** et **H14**) ; 2,21 (s, 1H, **H1**) ; 2,44 (t, 2H, **H23**, *J* = 7,5 Hz) ; 3,05 à 3,19 (m, 5H, **H3**, **H4**, **H5** et **H17**) ; 3,47 (m, 1H, **H3**) ; 3,74 (s, 3H, **H13**) ; 4,63 à 4,70 (m, 2H, **H8** et **H11**) ; 6,85 (m, 1H, **H10**) ; 7,23 à 7,31 (m, 5H, **H_{ar}**) ; 7,56 (m, 1H, **H7**).

(5R,8R,11R)- 8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-12-(prop-2-ynyl)-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

δ (ppm) : 0,68 (d, 3H, **H15** ou **H16**, $J = 7,0$ Hz) ; 0,96 (d, 3H, **H15** ou **H16**, $J = 7,0$ Hz) ; 1,95 (m, 1H, **H22**) ; 2,06 à 2,15 (m, 5H, **H14** et **H22** et **H24**) ; 2,24 (s, 2H, **H1**) ; 2,44 (t, 2H, **H23**, $J = 7,5$ Hz) ; 2,97 (d, 1H, **H5**, $J = 6,0$ Hz) ; 3,05 à 3,21 (m, 2H, **H17**) ; 3,32 à 3,36 (m, 2H, **H3**) ; 3,45 à 3,49 (m, 2H, **H3**) ; 3,74 (s, 3H, **H13**) ; 4,65 à 4,72 (m, 2H, **H8** et **H11**) ; 6,62 (m, 1H, **H10**) ; 6,78 (m, 1H, **H7**) ; 7,24 à 7,33 (m, 5H, **H_{ar}**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

(5R,8R,11R)-8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

δ (ppm) : 15,4 (**C24**) ; 17,4 (**C15** ou **C16**) ; 19,3 (**C15** ou **C16**) ; 29,8 (**C23**) ; 31,0 (**C22**) ; 31,4 (**C14**) ; 37,4 (**C3** et **C17**) ; 51,6 (**C11**) ; 52,5 (**C13**) ; 54,2 (**C8**) ; 66,5 (**C5**) ; 72,0 (**C2**) ; 81,2 (**C1**) ; 127,0 (**C21**) ; 128,7 (**C19**) ; 129,2 (**C20**) ; 136,6 (**C18**) ; 170,9 (**C9**) ; 171,7 (**C6**) ; 173,6 (**C12**).

(5R,8R,11R)- 8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-12-(prop-2-ynyl)-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

δ (ppm) : 15,4 (**C24**) ; 17,4 (**C15** ou **C16**) ; 20,0 (**C15** ou **C16**) ; 27,2 (**C14**) ; 29,9 (**C23**) ; 31,6 (**C22**) ; 37,7 (**C17**) ; 39,9 (**C3**) ; 51,6 (**C11**) ; 52,5 (**C13**) ; 54,4 (**C8**) ; 70,4 (**C5**) ; 73,3 (**C2**) ; 78,9 (**C1**) ; 127,1 (**C21**) ; 128,8 (**C19**) ; 129,2 (**C20**) ; 136,4 (**C18**) ; 170,7 (**C9**) ; 170,9 (**C6**) ; 171,7 (**C12**).

SM

(5R,8R,11R)-8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

(ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 448,2 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₃H₃₄N₃O₄S⁺ [M+H]⁺ : 448,2270, trouvée : 448,2270.

(5R,8R,11R)- 8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-12-(prop-2-ynyl)-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

(ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 508,2 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₆H₃₅N₃O₄SN⁺ [M+Na]⁺ : 508,2246, trouvée : 508,2239.

IR :

(5R,8R,11R)-8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

ν (cm⁻¹) : 3292 (**NH** st), 3064 (**C≡CH** st), 2959 et 2920 (**CH** st), 2359 (**C≡C**), 1738 (**C=O_{ester}** st), 1686 et 1635 (**C=O_{amide}** st), 1538 (**NH** δ), 1435, 1386, 1366, 1300, 1271, 1233, 1211, 1169 (**CN** st), 1114, 1018, 927, 876, 792, 739, 698, 654.

(5R,8R,11R)- 8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-12-(prop-2-ynyl)-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

ν (cm⁻¹) : 3283 (**NH** st), 3062 (**C≡CH** st), 2960 et 2920 (**CH** st), 2358 (**C≡C**), 1739 (**C=O_{ester}** st), 1639 (**C=O_{amide}** st), 1537 (**NH** δ), 1435, 1369, 1271, 1209, 1164 (**CN** st), 1111, 985, 914, 792, 739, 698, 643.

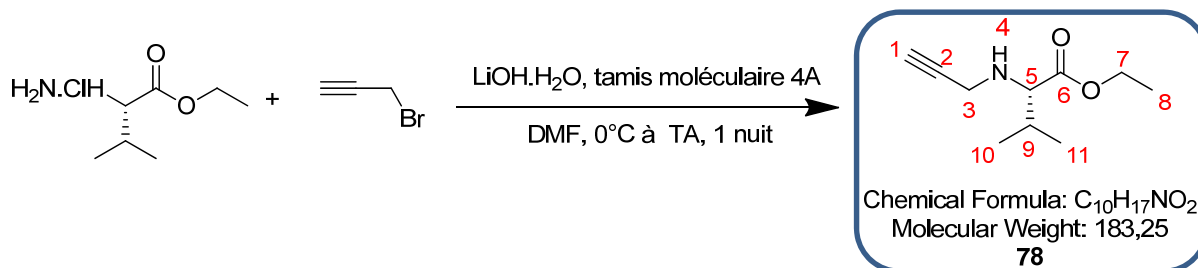
Pouvoir rotatoire :

(5R,8R,11R)-8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

$[\alpha]_D^{20} = -58,5^\circ$ (MeOH, 0,94).

(5R,8R,11R)- 8-benzyl-11-isopropyl-7,10-dioxo-12-(prop-2-ynyl)-2-thia-6,9,12-triazapentadéc-14-yne-5-carboxylate de méthyle :

$[\alpha]_D^{20} = -75,6^\circ$ (MeOH, 0,86).

(S)-3-méthyl-2-(prop-2-yn-1-ylamino)butanoate de méthyle **78**

3 g de tamis moléculaire 4Å et de l'hydroxyde de lithium monohydraté (0,497 g, 11,8 mmol, 2,15 éq.) dans 20 mL de diméthylformamide sont mélangés à 0°C pendant 25 minutes sous argon. La valine (1,000 g, 5,50 mmol, 1 éq.) est ajoutée au milieu réactionnel. Après 45 minutes d'agitation à 0°C, le bromure de propargyle (0,655 g, 5,50 mmol, 1 éq.) est additionné.

Après une nuit d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite® et lavé avec de l'acétate d'éthyle. Le filtrat additionné d'eau est ensuite extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont lavées deux fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune purifiée, par la suite, par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 40 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **78** (0,746 g, 74 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,96 (dd 6H, **H10** et **H11**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,31 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,74 (s, 1H, **H4**) ; 1,97 (hd, 1H, **H9**, *J* = 6,9 Hz et *J* = 5,4 Hz) ; 2,20 (t, 1H, **H1**, *J* = 2,4 Hz) ; 3,18 (d, 1H, **H5**, *J* = 5,4 Hz) ; 3,41 (m, 2H, **H3**) ; 4,21 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,3 (**C8**) ; 18,3 (**C10** ou **C11**) ; 19,1 (**C10** ou **C11**) ; 31,6 (**C9**) ; 37,5 (**C3**) ; 60,5 (**C7**) ; 65,9 (**C5**) ; 71,4 (**C1**) ; 81,7 (**C2**) ; 174,5 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 184,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₀H₁₈NO₂⁺ [M+H]⁺ : 184,1338, trouvée : 184,1342.

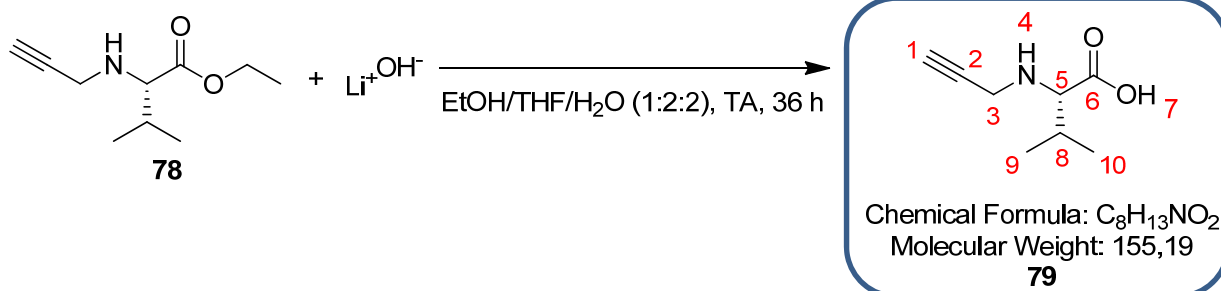
AE :

Théorique %C = 65,54 ; %H = 9,35 ; %N = 7,64.

Trouvée %C = 65,19 ; %H = 9,31 ; %N = 7,64.

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -16,7° (MeOH, 0,30).

acide (S)-3-méthyl-2-(prop-2-yn-1-ylamino)butanoïque **79**

Une solution aqueuse de lithine 2M (6,6 mL, 0,554 g, 13,2 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **79** (0,242 g, 1,32 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (9,9 mL).

Après agitation pendant 16 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (13,0 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **79** (0,129 g, 63 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,83 (d, 3H, **H9** ou **H10**, $J = 6,9$ Hz) ; 0,86 (d, 3H, **H9** ou **H10**, $J = 6,9$ Hz) ; 2,1 (hd, 1H, **H8**, $J = 6,9$ Hz et $J = 5,4$ Hz) ; 2,60 (s, 1H, **H1**) ; 3,48 (m, 2H, **H3**) ; 3,71 (d, 1H, **H5**, $J = 5,4$ Hz).

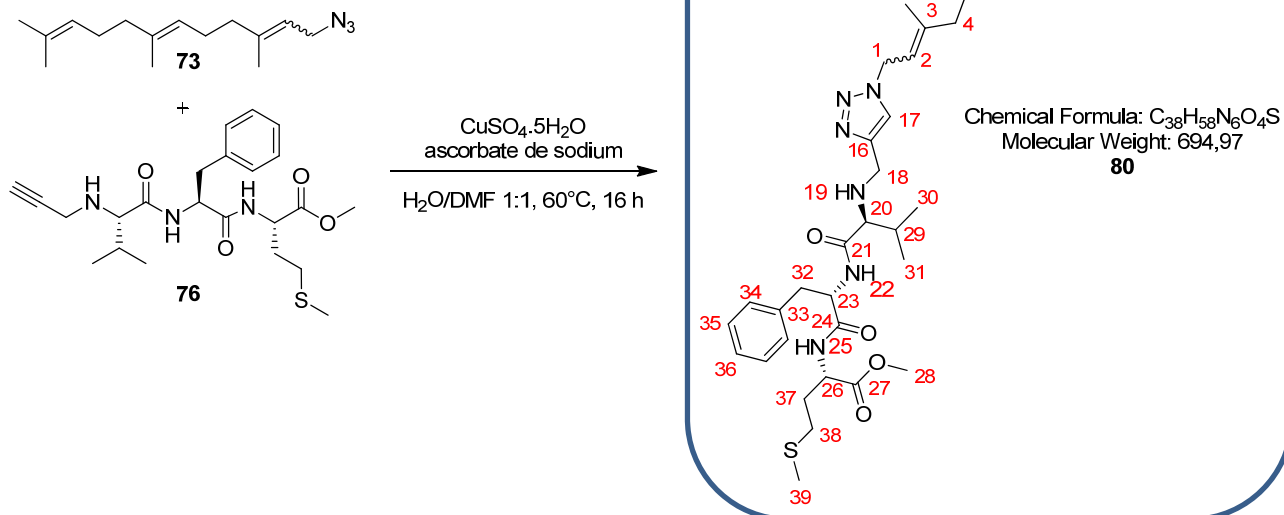
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 17,9 (**C10** et **C11**) ; 29,4 (**C8**) ; 38,7 (**C3**) ; 67,3 (**C5**) ; 73,3 (**C1**) ; 82,7 (**C2**) ; 173,9 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 178,1 [M+Na]⁺.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹⁷¹

(S)-2-((S)-2-((S)-3-méthyl-2-(((1-(3,7,11-triméthylodéca-2,6,10-trién-1-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl)amino)butanamido)-3-phénylpropanamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **80**



À une solution contenant le tripeptide propargylé **76** (0,043 g, 0,09 mmol, 1 éq.) et l'azoture de farnésyle **73** (0,023 g, 0,09 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange H₂O/DMF 1:1 (v/v) (3,6 mL) sont ajoutés l'ascorbate de sodium 1N dans l'eau (0,009 mL, 0,002 g, 0,009 mmol, 0,1 éq.) et le sulfate de cuivre pentahydraté (0,0005 g dans 0,01 mL H₂O, 0,002 mmol, 0,02 éq.). Le milieu réactionnel est chauffé à 60°C et agité pendant une nuit.

Une solution saturée de bicarbonate de sodium est additionnée au mélange réactionnel, qui est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile orange, le composé **80** (0,044 g, 70 % de rendement) avec ses configurations (2E,6E) et (2Z,6E) dans un rapport 2/1.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,66 (d, 3H, **H30** ou **H31**, $J = 6,9$ Hz) ; 0,78 (d, 3H, **H30** ou **H31**, $J = 6,9$ Hz) ; 1,61 (s, 3H, **H14**) ; 1,63 (s, 3H, **H15**) ; 1,69 (s, 3H, **H12**) ; 1,82 (E) et 1,83 (Z) (s, 3H, **H13**) ; 1,92 à 2,22 (m, 15H, **H4**, **H5**, **H8**, **H9**, **H19**, **H29**, **H37** et **H39**) ; 2,44 (t, 2H, **H38**, $J = 7,5$ Hz) ; 2,94 (d, 1H, **H20**, $J = 4,5$ Hz) ; 3,13 (m, 2H, **H32**) ; 3,72 (s, 3H, **H28**) ; 3,76 (m, 2H, **H18**) ; 4,65 à 4,75 (m, 2H, **H23** et **H26**) ; 4,95 (m, 2H, **H1**) ; 5,10 à 5,14 (m, 2H, **H6** et **H10**) ; 5,45 (m, 1H, **H2**) ; 7,01 (m, 1H, **H25**) ; 7,21 à 7,30 (m, 5H, **H34**, **H35** et **H36**) ; 7,45 (s, 1H, **H17**) ; 7,90 (m, 1H, **H22**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 15,3 (C39) ; 16,0 (C14) ; 16,6 (C13-E) ; 17,5 (C30 ou C31) ; 17,7 (C15) ; 19,3 (C30 ou C31) ; 23,3 (C13-Z) ; 26,2 (C12) ; 26,4 (C9) ; 26,7 (C5) ; 29,8 (C38) ; 31,2 (C37) ; 31,4 (C29) ; 32,2 (C4-Z) ; 37,7 (C32) ; 39,5 (C4-E) ; 39,7 (C8) ; 39,7 (C18) ; 47,7 (C1-Z) ; 47,9 (C1-E) ; 51,5 (C26) ; 52,4 (C28) ; 54,3 (C23) ; 67,5 (C20) ; 117,0 (C2-E) ; 117,8 (C2-Z) ; 121,4 (C17) ; 123,0 (C6-Z) ; 123,3 (C6-E) ; 124,1 (C10-Z) ; 124,2 (C10-E) ; 126,9 (C36) ; 128,6 (C34) ; 129,2 (C35) ; 131,4 (C11) ; 135,8 (C7-E) ; 136,3 (C7-Z) ; 136,7 (C33) ; 143,1 (C3) ; 145,6 (C16) ; 171,2 (C24) ; 171,9 (C27) ; 173,9 (C21).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 695,5 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₃₈H₅₉N₆O₄S⁺ [M+H]⁺ : 695,4319 trouvée : 695,4325.

IR :

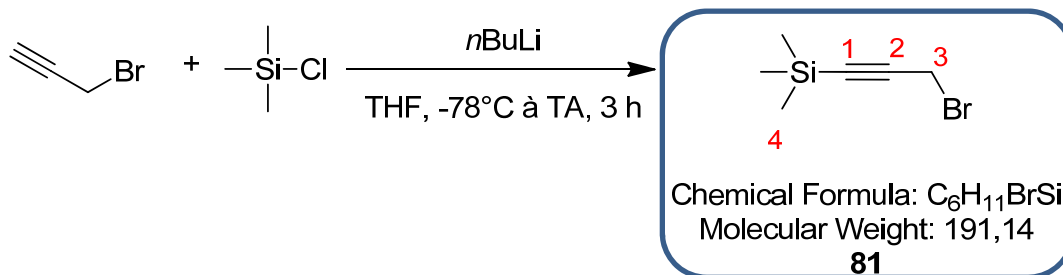
ν (cm⁻¹) : 3282, 2958 et 2918 (CH st), 1748 (C=O st), 1638 (C=O st), 1537, 1440 (CH δ ip), 1381, 1271, 1212, 1166, 1051, 698.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,32 min, 86 %.

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -32,6° (MeOH, 0,92).

(3-bromoprop-1-yn-1-yl)triméthylsilane **81**

A une solution de bromure de propargyle (2,0 mL, 0,051 g, 1,60 mmol, 1 éq.) dilué dans 4,8 mL de THF refroidie à -78°C est ajouté goutte à goutte une solution de *n*-butyllithium 1,6 M dans le THF (1,0 mL, 1,60 mmol, 1 éq.). Après 10 minutes d'agitation, du chlorure de triméthylsilyle (0,20 mL, 0,174 g, 1,60 mmol, 1 éq.) est additionné au milieu réactionnel qui est ensuite agité 5 minutes à -78°C, 2 heures à 0°C et 1 heure à température ambiante.

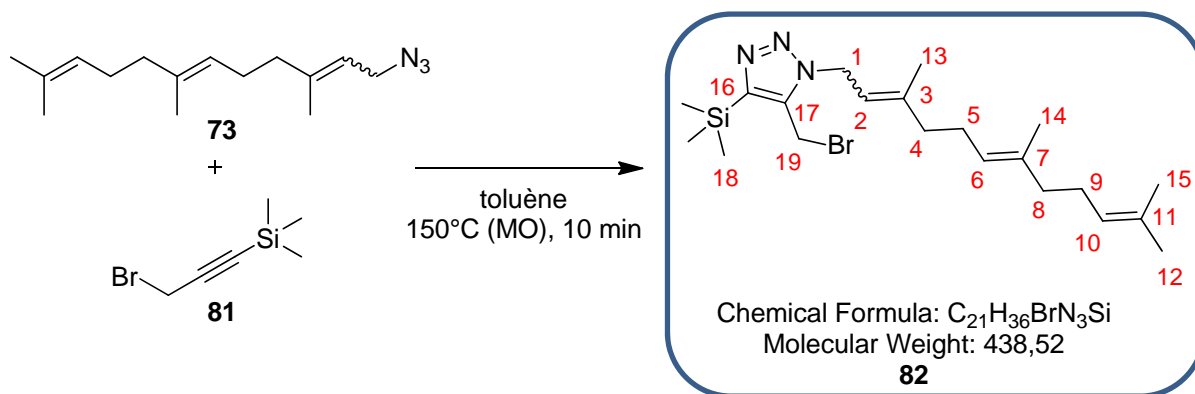
Une solution de chlorure d'ammonium est ensuite ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner une huile jaune, le composé **81** (0,275 g, 92 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,18 (s, 9H, **H4**) ; 3,92 (s, 2H, **H3**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,0 (**C4**) ; 15,0 (**C3**) ; 92,6 (**C2**) ; 100,3 (**C1**).

5-(bromométhyl)-1-(3,7,11-triméthylDodéca-2,6,10-trién-1-yl)-4-(triméthylsilyl)-1H-1,2,3-triazole **82**

Une solution contenant l'alcyne **81** (0,068 g, 0,36 mmol, 1 éq.) et l'azoture de farnésyle **73** (0,088 g, 0,36 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du toluène (0,3 mL) est chauffée sous irradiation micro-ondes à 150°C pendant 10 minutes ($P_{\max} = 200$ W). Le milieu réactionnel est ensuite évaporé à sec sous pression réduite pour obtenir un résidu contenant le composé **82** (91 % de rendement selon RMN 1H).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 0,40 (s, 9H, **H18**) ; 1,60 (s, 3H, **H14**) ; 1,62 (s, 3H, **H15**) ; 1,69 (s, 3H, **H12**) ; 1,80 (s, 3H, **H13**) ; 1,97 à 2,14 (m, 8H, **H4**, **H5**, **H8** et **H9**) ; 4,41 (s, 2H, **H19**) ; 5,09 (m, 4H, **H1**, **H6** et **H10**) ; 5,36 (m, 1H, **H2**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 0,0 (**C18**) ; 17,2 (**C14**) ; 17,8 (**C13-E**) ; 18,8 (**C15**) ; 19,2 (**C19**) ; 24,5 (**C13-Z**) ; 26,8 (**C12**) ; 27,1 (**C9**) ; 27,8 (**C5**) ; 33,4 (**C4-Z**) ; 40,5 (**C4-E**) ; 40,8 (**C8**) ; 47,4 (**C1-Z**) ; 47,6 (**C1-E**) ; 118,6 (**C2-E**) ; 119,3 (**C2-Z**) ; 124,2 (**C6-Z**) ; 124,4 (**C6-E**) ; 125,3 (**C10-Z**) ; 125,4 (**C10-E**) ; 132,5 (**C11**) ; 136,9 (**C7-E**) ; 137,4 (**C7-Z**) ; 138,8 (**C16**) ; 143,1 (**C3**) ; 147,2 (**C16**).

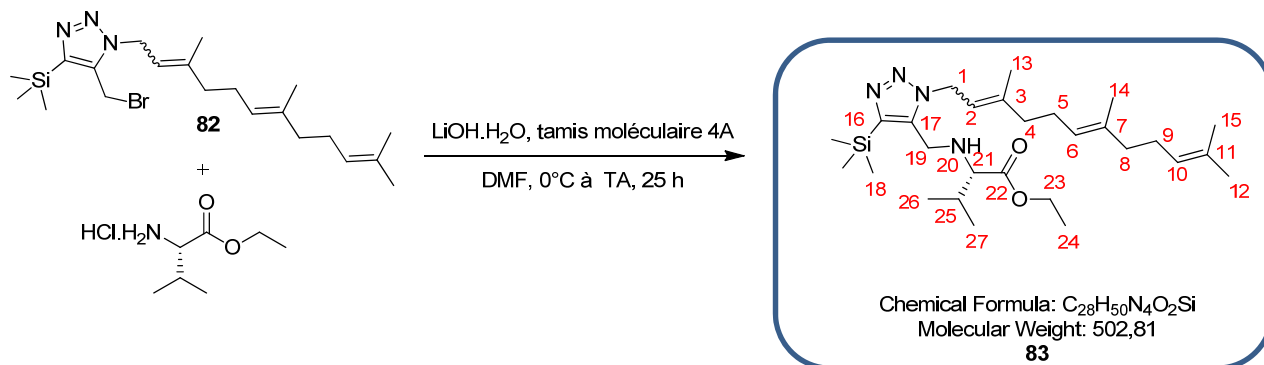
SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 460,2 [$M+H$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{36}^{79}BrN_3SiNa^+$ [$M+Na$] $^+$: 460,1760 trouvée : 460,1755.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3353, 2972 et 2935 (**CH** st), 1714 (**C=C** st), 1449 (**CH** δ ip), 1375 (**CH₃** δ sy), 1253 (**CH₃** γ), 1050, 845 (**(Si-)CH₃** γ), 735.

((S)-3-méthyl-2-(((1-(3,7,11-triméthylodéca-2,6,10-trién-1-yl)-4-(triméthylsilyl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)méthyl)amino)butanoate d'éthyle **83**



0,1 g de tamis moléculaire 4Å et de l'hydroxyde de lithium monohydraté (0,009 g, 0,22 mmol, 2,15 éq.) dans 0,4 mL de diméthylformamide sont mélangés à 0°C pendant 25 minutes sous argon. La valine (0,018 g, 0,10 mmol, 1 éq.) est ajoutée au milieu réactionnel. Après 45 minutes d'agitation à 0°C, le triazole **82** (0,044 g, 0,10 mmol, 1 éq.) est additionné.

Après 24 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite® et lavé avec de l'acétate d'éthyle. Le filtrat additionné d'eau est ensuite extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont lavées deux fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune purifiée, par la suite, par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 40 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **83** (0,008 g, 16 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,40 (s, 9H, **H18**) ; 0,93 (d, 6H, **H26** et **H27**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,28 (t, 3H, **H24**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,62 (s, 3H, **H14**) ; 1,70 (s, 3H, **H15**) ; 1,77 (s, 3H, **H12**) ; 1,81 (s, 3H, **H13**) ; 1,94 à 2,35 (m, 10H, **H4**, **H5**, **H8**, **H9**, **H20** et **H25**) ; 2,96 (d, 1H, **H21**, *J* = 4,5 Hz) ; 3,76 (m, 2H, **H19**) ; 4,23 (t, 3H, **H23**, *J* = 7,2 Hz) ; 5,06 à 5,20 (m, 4H, **H1**, **H6** et **H10**) ; 5,36 (m, 1H, **H2**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 525,4 [M+Na]⁺.

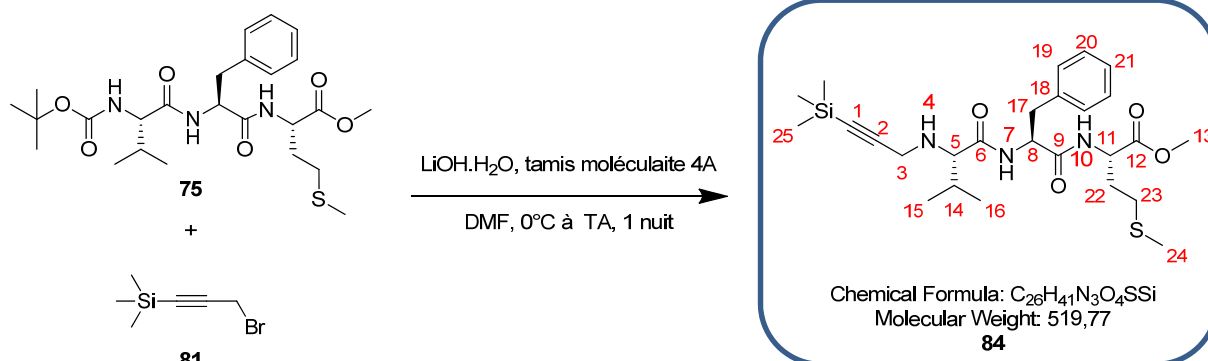
Haute résolution calculée pour C₂₈H₅₀N₄O₂SiNa⁺ [M+Na]⁺ : 525,3601, trouvée : 525,3579.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3374, 2967 et 2926 (**CH** st), 1727 (**C=O** st), 1445 (**CH** δ ip), 1376 (**CH₃** δ sy), 1249 (**CH₃** γ), 1087, 842 (**(Si)-CH₃** γ), 760.

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -12,5° (MeOH, 0,40).

(7S,10S,13S)-10-benzyl-7-isopropyl-2,2-diméthyl-13-(2-(méthylthio)éthyl)-8,11-dioxo-6,9,12-triaza-2-silatetradec-3-yn-14-oate de méthyle **84**

Le tripeptide **75** (0,650 g, 1,28 mmol, 1 éq.) est solubilisé à 0°C dans 7,8 mL d'acide trifluoroacétique et 2,8 mL de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité 50 minutes. De l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide, le tripeptide déprotégé.

1,6 g de tamis moléculaire 4Å et de l'hydroxyde de lithium monohydraté (0,115 g, 2,74 mmol, 2,15 éq.) dans 6 mL de diméthylformamide sont mélangés à 0°C pendant 30 minutes sous argon. Le tripeptide **75** déprotégé solubilisé dans 3 mL de diméthylformamide est ajouté au milieu réactionnel. Après 45 minutes d'agitation à 0°C, le bromure de propargyle **81** (0,244 g, 1,28 mmol, 1 éq.) est additionné goutte-à-goutte sur une période de 20 minutes.

Après une nuit d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite® et lavé avec de l'acétate d'éthyle. Le filtrat additionné d'eau est ensuite extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune purifiée, par la suite, par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner deux solides blancs, le composé dialkylé **85** (0,023 g, 3 % de rendement) et le composé **84** (0,180 g, 27 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,00 (s, 9H, **H25**) ; 0,49 (d, 3H, **H15** ou **H16**, $J = 6,9$ Hz) ; 0,73 (d, 3H, **H15** ou **H16**, $J = 6,9$ Hz) ; 1,89 (m, 1H, **H22**) ; 1,91 (s, 3H, **H24**) ; 1,99 (m, 2H, **H22** et **H14**) ; 2,28 (t, 2H, **H23**, $J = 7,5$ Hz) ; 2,92 à 3,02 (m, 5H, **H3**, **H4**, **H5** et **H17**) ; 3,29 (m, 2H, **H3**) ; 3,57 (s, 3H, **H13**) ; 4,42 à 4,58 (m, 2H, **H8** et **H11**) ; 6,87 (m, 1H, **H10**) ; 7,07 à 7,13 (m, 5H, **H_{ar}**) ; 7,54 (m, 1H, **H7**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : -0,01 (**C25**) ; 15,6 (**C24**) ; 17,3 (**C15** ou **C16**) ; 19,5 (**C15** ou **C16**) ; 30,0 (**C23**) ; 31,0 (**C22**) ; 31,5 (**C14**) ; 37,5 (**C17**) ; 38,5 (**C3**) ; 51,7 (**C11**) ; 52,5 (**C13**) ; 54,4 (**C8**) ; 66,4 (**C5**) ; 88,5 (**C2**) ; 103,8 (**C1**) ; 127,0 (**C21**) ; 128,7 (**C19**) ; 129,2 (**C20**) ; 136,8 (**C18**) ; 171,1 (**C9**) ; 171,9 (**C6**) ; 173,9 (**C12**).

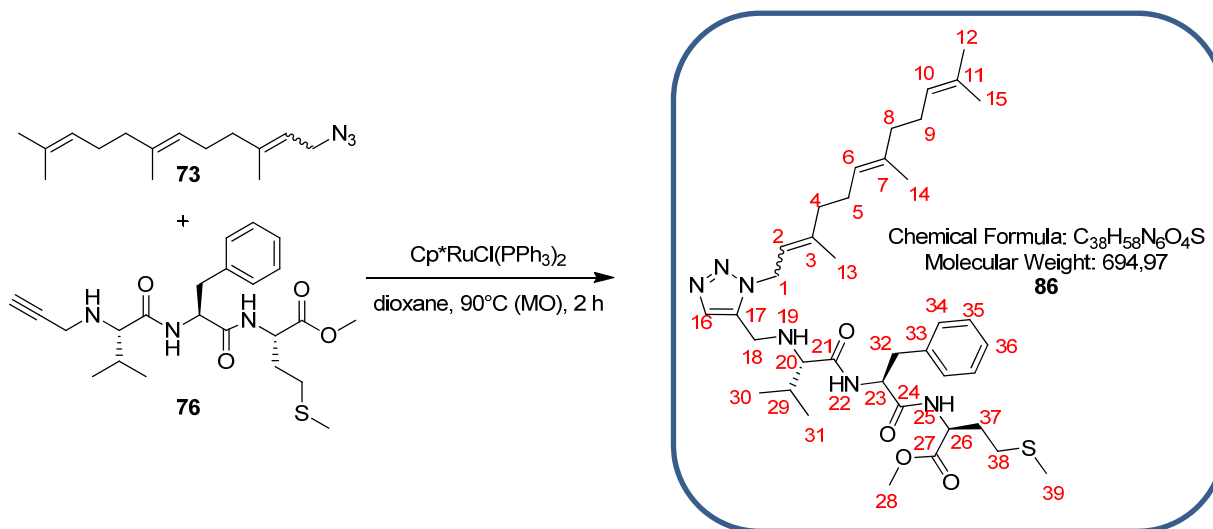
SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 542,2 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour $C_{26}H_{41}N_3O_4SSiNa^+$ [M+Na]⁺ : 542,2485, trouvée : 542,2490.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -71,4^\circ$ (MeOH, 1,40).

(S)-2-((S)-2-((S)-3-méthyl-2-(((1-(3,7,11-triméthylodéca-2,6,10-trién-1-yl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)méthyl)amino)butanamido)-3-phénylpropanamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **86**



Dans un tube micro-ondes sec, à une solution contenant le tripeptide propargylé **76** (0,103 g, 0,23 mmol, 1 éq.) et l'azoture de farnésyle **73** (0,057 g, 0,23 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du dioxane (1,5 mL) est ajouté le chlorure de pentaméthylcyclopentadiénylbis(triphénylphosphine)ruthénium(II) (0,009 g, 0,01 mmol, 0,05 éq.). Le milieu réactionnel est chauffé sous irradiation micro-ondes à 90°C pendant 2 heures ($P_{\max} = 200$ W).

Le mélange est ensuite évaporé à sec sous pression réduite puis purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 2:8 (v/v) en 40 minutes) pour donner un solide marron, le composé **86** (0,055 g, 52 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 0,79 (d, 3H, **H30** ou **H31**, $J = 6,9$ Hz) ; 0,82 (d, 3H, **H30** ou **H31**, $J = 6,9$ Hz) ; 1,59 (s, 3H, **H14**) ; 1,61 (s, 3H, **H15**) ; 1,68 (s, 3H, **H12**) ; 1,82 (s, 3H, **H13**) ; 1,94 à 2,18 (m, 15H, **H4**, **H5**, **H8**, **H9**, **H19**, **H29**, **H37** et **H39**) ; 2,43 (t, 2H, **H38**, $J = 7,5$ Hz) ; 2,73 (d, 1H, **H20**, $J = 4,5$ Hz) ; 3,14 (m, 2H, **H32**) ; 3,50 (m, 2H, **H18**) ; 3,74 (s, 3H, **H28**) ; 4,63 à 4,78 (m, 2H, **H23** et **H26**) ; 4,99 (m, 2H, **H1**) ; 5,04 à 5,09 (m, 2H, **H6** et **H10**) ; 5,32 (m, 1H, **H2**) ; 6,70 (m, 1H, **H25**) ; 7,25 à 7,35 (m, 6H, **H22**, **H34**, **H35** et **H36**) ; 7,37 (s, 1H, **H16**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,4 (**C39**) ; 16,0 (**C14**) ; 16,7 (**C13-E**) ; 17,7 (**C30** ou **C31**) ; 18,1 (**C15**) ; 19,4 (**C30** ou **C31**) ; 23,4 (**C13-Z**) ; 25,7 (**C12**) ; 26,2 (**C9**) ; 26,7 (**C5**) ; 29,8 (**C38**) ; 31,4 (**C37**) ; 31,6 (**C29**) ; 32,3 (**C4-Z**) ; 38,0 (**C32**) ; 39,4 (**C4-E**) ; 39,7 (**C8**) ; 40,6 (**C18**) ; 46,2 (**C1-Z**) ; 46,5 (**C1-E**) ; 51,7 (**C26**) ; 52,5 (**C28**) ; 54,1 (**C23**) ; 67,5 (**C20**) ; 117,8 (**C2-E**) ; 118,6 (**C2-Z**) ; 123,1 (**C6-Z**) ; 123,3 (**C6-E**) ; 124,2 (**C10-Z**) ; 124,2 (**C10-E**) ; 127,1 (**C36**) ; 128,8 (**C34**) ; 129,1 (**C35**) ; 131,4 (**C11**) ; 133,5 (**C16**) ; 134,1 (**C7**) ; 135,7 (**C3**) ; 136,5 (**C33**) ; 141,7 (**C17**) ; 170,7 (**C24**) ; 171,8 (**C27**) ; 173,5 (**C21**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 717,3 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₃₈H₅₈N₆O₄SNa⁺ [M+Na]⁺ : 717,4138 trouvée : 717,4120.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3285, 2961 et 2917 (**CH** st), 1743 et 1642 (**C=O** st), 1541, 1437, 1227, 1210, 1173, 1119, 811, 723, 697.

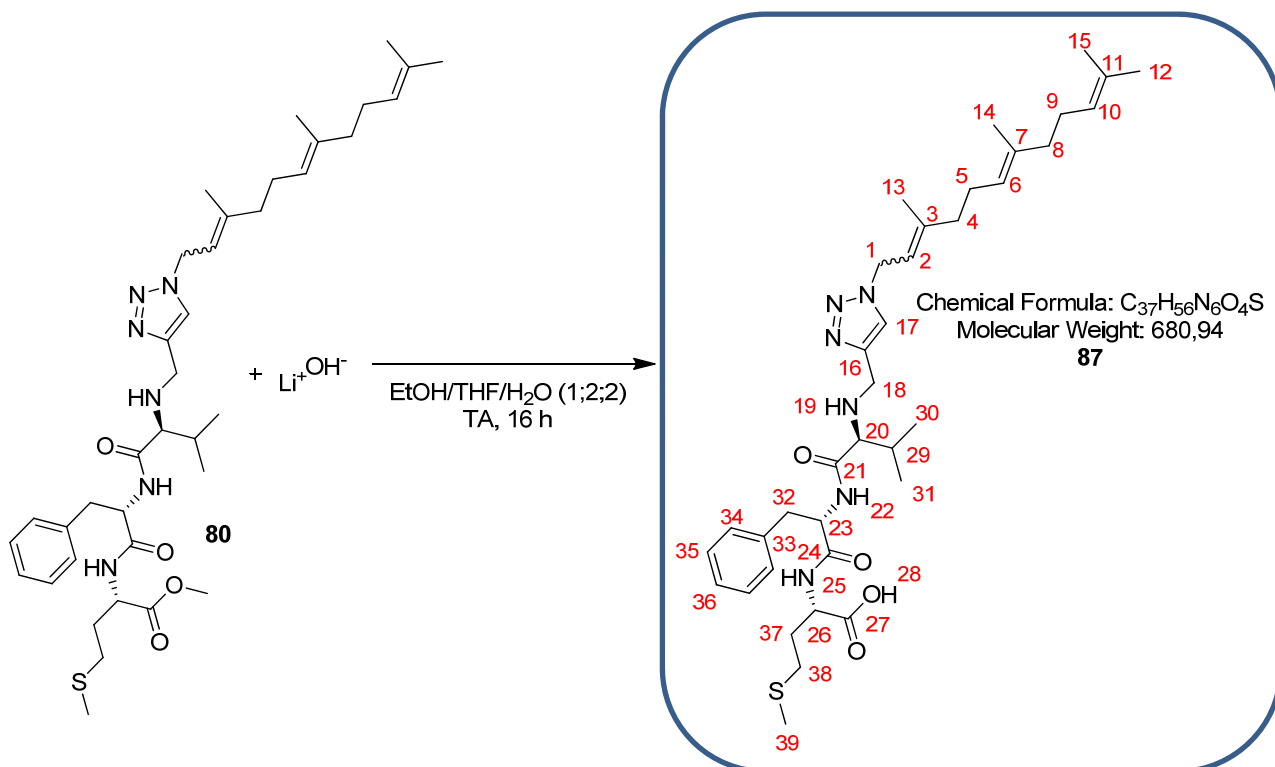
UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 6,46 min, 60 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -25,0^\circ$ (MeOH, 0,40).

acide (S)-2-((S)-2-((S)-3-méthyl-2-(((1-(3,7,11-triméthylodéca-2,6,10-trién-1-yl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)méthyl)amino)butanamido)-3-phénylpropanamido)-4-(méthylthio)butanoïque **87**



Une solution aqueuse de lithine 2,0 M (0,2 mL, 0,010 g, 0,43 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **80** (0,030 g, 0,04 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,3 mL).

Après agitation pendant 16 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5-6 avec de l'Amberlyte IRC-50. La solution est ensuite filtrée, l'Amberlyte IRC-50 lavé au méthanol puis le filtrat concentré sous pression réduite. Le solide blanc obtenu est purifié par plaque préparative (éluant $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v)) pour donner un solide blanc, le composé **87** (0,030 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 0,76 (d, 3H, **H30** ou **H31**, $J = 6,9$ Hz) ; 0,78 (d, 3H, **H30** ou **H31**, $J = 6,9$ Hz) ; 1,59 (s, 3H, **H14**) ; 1,60 (s, 3H, **H15**) ; 1,66 (s, 3H, **H12**) ; 1,82 (E) et 1,84 (Z) (s, 3H, **H13**) ; 1,96 à 2,15 (m, 15H, **H4**, **H5**, **H8**, **H9**, **H19**, **H29**, **H37** et **H39**) ; 2,48 (t, 2H, **H38**, $J = 7,5$ Hz) ; 2,88 (d, 1H, **H20**, $J = 4,5$ Hz) ; 3,24 (m, 2H, **H32**) ; 3,66 (m, 2H, **H18**) ; 4,76 à 4,80 (m, 2H, **H23** et **H26**) ; 4,99 (m, 2H, **H1**) ; 5,07 à 5,13 (m, 2H, **H6** et **H10**) ; 5,46 (m, 1H, **H2**) ; 7,23 à 7,29 (m, 5H, **H34**, **H35** et **H36**) ; 7,72 (s, 1H, **H17**).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 15,3 (**C39**) ; 16,2 (**C14**) ; 16,6 (**C13-E**) ; 17,8 (**C30** ou **C31**) ; 18,9 (**C15**) ; 19,7 (**C30** ou **C31**) ; 23,7 (**C13-Z**) ; 26,0 (**C12**) ; 27,2 (**C9**) ; 27,8 (**C5**) ; 31,2 (**C38**) ; 32,5 (**C37**) ; 33,0 (**C29**) ; 33,7 (**C4-Z**) ; 38,9 (**C32**) ; 40,5 (**C4-E**) ; 40,9 (**C8**) ; 40,9 (**C18**) ; 43,8 (**C1-Z**) ; 48,8 (**C1-E**) ; 53,7 (**C26**) ; 55,8 (**C23**) ; 68,8 (**C20**) ; 118,9 (**C2-E**) ; 119,7 (**C2-Z**) ; 123,9 (**C17**) ; 124,7 (**C6-Z**) ; 124,8 (**C6-E**) ; 125,4 (**C10-Z**) ; 125,4

(C10-E) ; 127,8 (C36) ; 129,5 (C34) ; 130,5 (C35) ; 132,9 (C11) ; 135,8 (C7-E) ; 136,6 (C7-Z) ; 138,7 (C33) ; 143,8 (C3) ; 144,1 (C16) ; 171,2 (C24) ; 172,8 (C27) ; 177,1 (C21).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 679,3 [M-H]⁻.

Haute résolution calculée pour C₃₇H₅₅N₆O₄S⁻ [M-H]⁻ : 679,4006 trouvée : 679,40018.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3355, 3246, 2973 et 2919 (CH st), 1644 et 1620 (C=O st), 1571, 1443, 1396, 1305, 1248, 1202, 1181, 1108, 1049, 747, 696.

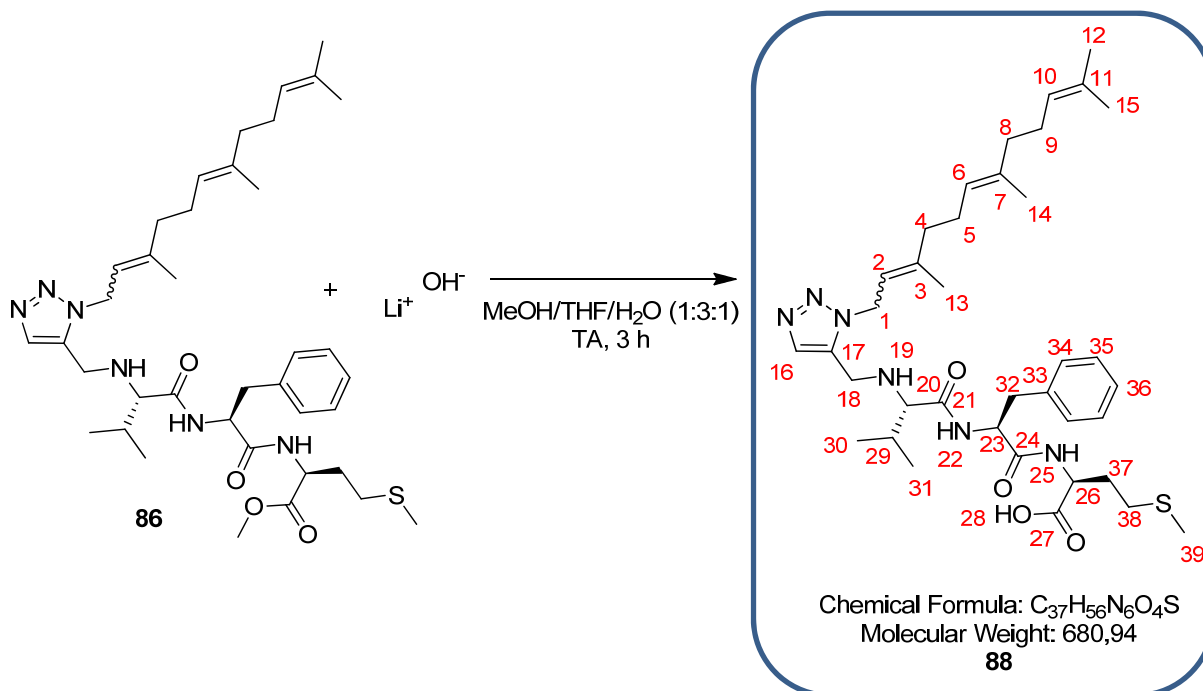
UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,32 min, 85 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -9,80^\circ$ (MeOH, 1,02).

acide (S)-2-((S)-2-((S)-3-méthyl-2-(((1-(3,7,11-triméthylodéca-2,6,10-trién-1-yl)-1H-1,2,3-triazol-5-yl)méthyl)amino)butanamido)-3-phénylpropanamido)-4-(méthylthio)butanoïque **88**



Une solution aqueuse de lithine 1,4 M (0,77 mL, 0,0044 g, 0,10 mmol, 1,5 éq.) est ajoutée au composé **86** (0,048 g, 0,07 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange méthanol/THF 1:3 (v/v) (3,0 mL).

Après agitation pendant 3 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5-6 avec de l'Amberlyte IRC-50. La solution est ensuite filtrée, l'Amberlyte IRC-50 lavé au méthanol puis le filtrat concentré sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par plaque préparative (éluant CH₂Cl₂/MeOH 95:5 (v/v)) pour donner un solide blanc, le composé **88** (0,023 g, 49 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 0,81 (d, 3H, **H30** ou **H31**, *J* = 6,9 Hz) ; 0,87 (d, 3H, **H30** ou **H31**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,59 (s, 3H, **H14**) ; 1,60 (s, 3H, **H15**) ; 1,67 (s, 3H, **H12**) ; 1,83 (s, 3H, **H13**) ; 1,54 à 2,18 (m, 15H, **H4**, **H5**, **H8**, **H9**, **H19**, **H29**, **H37** et **H39**) ; 2,52 (t, 2H, **H38**, *J* = 7,5 Hz) ; 2,69 (d, 1H, **H20**, *J* = 4,5 Hz) ; 2,93 (m, 2H, **H32**) ; 3,48 (m, 2H, **H18**) ; 4,67 (m, 1H, **H23**) ; 4,91 (m, 1H, **H26**) ; 5,02 (m, 2H, **H1**) ; 5,06 à 5,13 (m, 2H, **H6** et **H10**) ; 5,32 (m, 1H, **H2**) ; 7,17 à 7,33 (m, 5H, **H34**, **H35** et **H36**) ; 7,34 (s, 1H, **H16**) ; 7,57 (m, 1H, **H25**) ; 7,66 (m, 1H, **H22**).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 15,3 (**C39**) ; 16,1 (**C14**) ; 16,8 (**C13-E**) ; 17,7 (**C30** ou **C31**) ; 17,8 (**C15**) ; 19,2 (**C30** ou **C31**) ; 20,1 (**C13-Z**) ; 26,0 (**C12**) ; 27,0 (**C9**) ; 27,4 (**C5**) ; 28,6 (**C38**) ; 32,0 (**C37**) ; 32,4 (**C29**) ; 32,8 (**C4-Z**) ; 38,8 (**C32**) ; 40,1 (**C4-E**) ; 40,5 (**C8**) ; 40,5 (**C18**) ; 46,5 (**C1-Z**) ; 46,8 (**C1-E**) ; 52,0 (**C26**) ; 54,6 (**C23**) ; 68,2 (**C20**) ; 119,7 (**C2-E**) ; 119,9 (**C2-Z**) ; 120,4 (**C17**) ; 124,6 (**C6-Z**) ; 124,6 (**C6-E**) ; 125,2 (**C10**) ; 127,3

(C36) ; 130,3 (C34) ; 131,7 (C35) ; 132,0 (C11) ; 135,6 (C7-E) ; 135,9 (C7-Z) ; 138,8 (C33) ; 141,4 (C3) ; 141,6 (C16) ; 170,2 (C24) ; 172,1 (C27) ; 174,2 (C21).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 681,4 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₃₇H₅₇N₆O₄S⁺ [M+H]⁺ : 681,4162 trouvée : 681,4179.

IR :

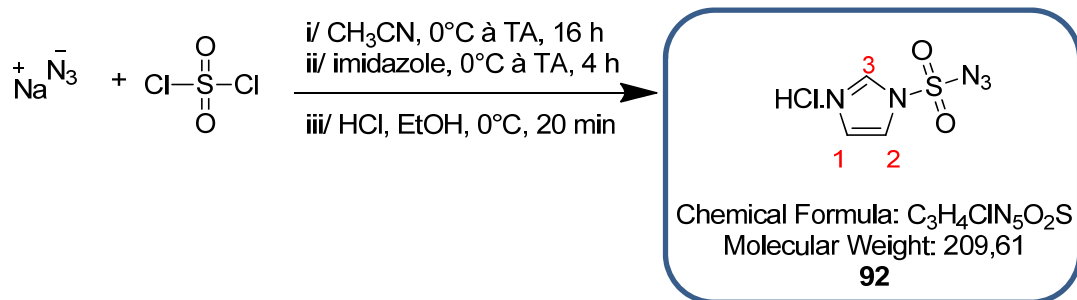
ν (cm⁻¹) : 3276, 2967 et 2917 (CH st), 1639 et 1617 (C=O st), 1523, 1445, 1404, 1226, 1107, 697.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,90 min, 100 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -28,6^\circ$ (MeOH, 0,70).

chlorhydrate d'azoture d'1H-imidazole-1-sulfonyle **92**

Du chlorure de sulfuryle (6,23 mL, 10,4 g, 76,9 mmol, 1 éq.) est additionné goutte à goutte à une solution d'azoture de sodium (5,00 g, 76,9 mmol, 1 éq.) solubilisé dans de l'acétonitrile (77 mL). Après 16 heures d'agitation à température ambiante, l'imidazole (9,95 g, 146 mmol, 1,9 éq.), est ajouté par portions à 0°C. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 4 heures. Le N-hydroxybenzotriazole monohydraté (2,08 g, 13,6 mmol, 1,2 éq.), la N-méthylmorpholine (1,14 g, 11,3 mmol, 1 éq.) et 30 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures.

De l'acétate d'éthyle (155 mL) est additionnée au milieu réactionnel qui est ensuite lavé deux fois avec 155 mL d'eau puis deux fois avec 155 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis filtrée. Une solution préparée à partir de chlorure d'éthanoyle (8,2 mL) versé sur de l'éthanol sec (22 mL) est versée goutte à goutte sur le filtrat tout en maintenant une agitation. Le mélange est refroidi à 0°C pendant 20 minutes, ce qui permet de former un précipité qui est ensuite filtré. Le gâteau est lavé trois fois avec de l'acétate d'éthyle puis séché sous vide. Le solide blanc obtenu est le composé **92** (10,4 g, 64 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, D₂O) :

δ (ppm) : 7,54 (s, 1H, **H3**) ; 7,96 (s, 1H, **H1**) ; 9,24 (s, 1H, **H2**).

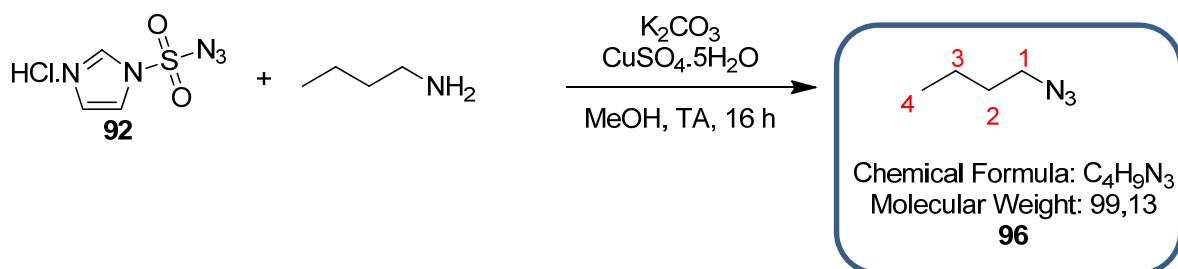
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 119,9 (**C1**) ; 124,1 (**C3**) ; 137,7 (**C2**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 174,0 [M-Cl]⁺.

Haute résolution calculée pour $\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_5\text{O}_2\text{S}^+$ [M-Cl]⁺ : 174,0086, trouvée : 174,0091.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹⁷¹

1-azidobutane **96**

Sous argon, l'imidazole **92** (0,860 g, 4,1 mmol, 1 éq.) est additionné à une solution contenant du carbonate de potassium (1,98 g, 14,4 mmol, 3,5 éq.), du sulfate de cuivre pentahydraté (0,512 g, 2,05 mmol, 0,5 éq.) et de la butylamine (0,41 mL, 0,300 g, 4,1 mmol, 1 éq.) solubilisés dans du méthanol (16 mL).

Après 16 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu est dilué avec 15 mL d'eau, acidifié avec de l'acide chlorhydrique concentré et extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune purifiée, par la suite, par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile marron, le composé **96** (0,156 g, 38 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 0,94 (m, 3H, **H4**) ; 1,40 (m, 2H, **H3**) ; 1,53 (m, 2H, **H2**) ; 3,02 (m, 2H, **H1**).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) :

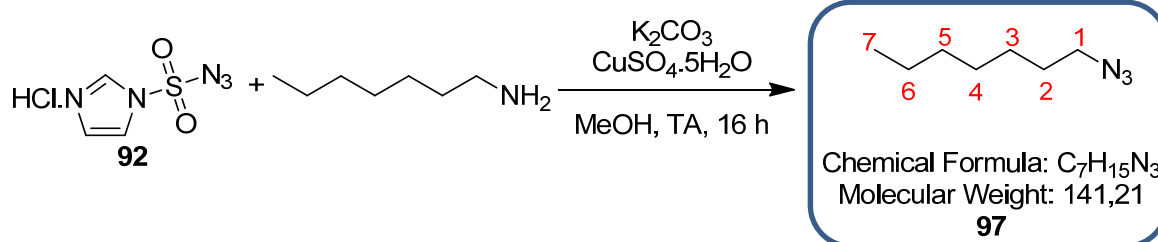
δ (ppm) : 14,2 (**C4**) ; 20,9 (**C3**) ; 32,4 (**C2**) ; 56,8 (**C1**).

IR :

ν (cm⁻¹) : 2925 (**CH st**), 2099 (**N₃**), 1730, 1382.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.²⁹⁶

²⁹⁶ Li, J.; Cao, J.-j.; Wei, J.-f.; Shi, X.-y.; Zhang, L.-h.; Feng, J.-j. and Chen, Z.-g. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 229-233.

1-azidoheptane **97**

Sous argon, l'imidazole **92** (0,291 g, 1,41 mmol, 1 éq.) est additionné à une solution contenant du carbonate de potassium (0,680 g, 4,92 mmol, 3,5 éq.), du sulfate de cuivre pentahydraté (0,176 g, 0,70 mmol, 0,5 éq.) et de l'heptylamine (0,21 mL, 0,162 g, 1,41 mmol, 1 éq.) solubilisés dans du méthanol (5,5 mL).

Après 16 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu est dilué avec 4 mL d'eau, acidifié avec de l'acide chlorhydrique concentré et extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune purifiée, par la suite, par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **97** (0,050 g, 25 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 0,91 (m, 3H, **H7**) ; 1,32 (m, 6H, **H5**, **H4**, **H3**) ; 1,57 (m, 2H, **H6**) ; 1,67 (m, 2H, **H2**) ; 3,02 (m, 2H, **H1**).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) :

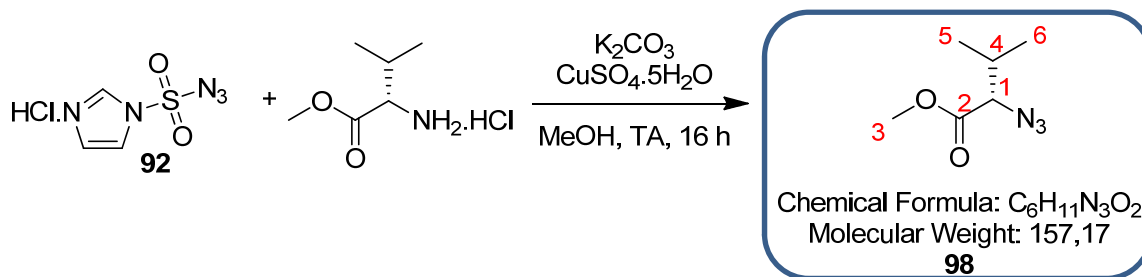
δ (ppm) : 14,0 (**C7**) ; 22,5 (**C6**) ; 26,6 (**C3**) ; 28,8 (**C4**) ; 29,4 (**C2**) ; 31,6 (**C5**) ; 56,8 (**C1**).

IR :

ν (cm⁻¹) : 3053 (**CH st**), 2060 (**N₃**), 1477, 1460, 1277, 1052.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.²⁹⁷

²⁹⁷ Díez-González, S.; Correa, A.; Cavallo, L. and Nolan, S. P. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7558-7564.

(S)-2-azido-3-méthylbutanoate de méthyle **98**

Sous argon, l'imidazole **92** (0,205 g, 0,98 mmol, 1 éq.) est additionné à une solution contenant du carbonate de potassium (0,474 g, 3,43 mmol, 3,5 éq.), du sulfate de cuivre pentahydraté (0,121 g, 0,49 mmol, 0,5 éq.) et de l'ester méthylique de la valine (0,164 g, 0,98 mmol, 1 éq.) solubilisés dans du méthanol (4,9 mL).

Après 16 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu est dilué avec 4 mL d'eau, acidifié avec de l'acide chlorhydrique concentré et extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune purifiée, par la suite, par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **98** (0,120 g, 75 % de rendement).

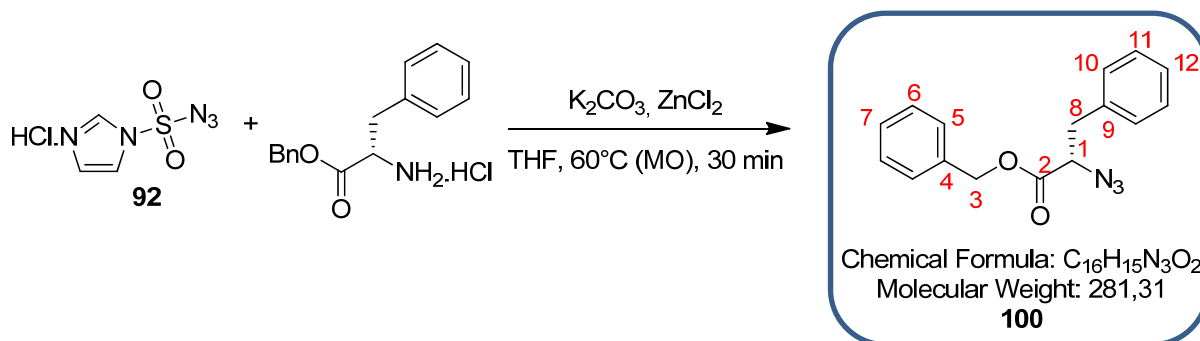
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,01 (d, 6H, **H5** et **H6**, $J = 6,9$ Hz) ; 2,21 (qd, 1H, **H4**, $J = 6,3$ Hz et $J = 6,9$ Hz) ; 3,69 (d, 1H, **H1**, $J = 6,3$ Hz) ; 3,75 (s, 3H, **H3**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 17,4 (**C5** et **C6**) ; 31,1 (**C4**) ; 52,7 (**C3**) ; 56,9 (**C1**) ; 173,5 (**C2**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹⁷¹

(S)-2-azido-3-phénylpropanoate de benzyle **100**

Sous argon, l'imidazole **92** (0,016 g, 0,08 mmol, 1 éq.) est additionné à une solution contenant du carbonate de potassium (0,037 g, 0,27 mmol, 3,5 éq.), du chlorure de zinc (0,005 g, 0,04 mmol, 0,5 éq.) et de l'ester benzyle de la phénylalanine (0,022 g, 0,08 mmol, 1 éq.) solubilisés dans du tétrahydrofurane (0,3 mL). Le milieu réactionnel est chauffé sous irradiation micro-ondes à 60°C pendant 30 minutes ($P_{\max} = 200$ W).

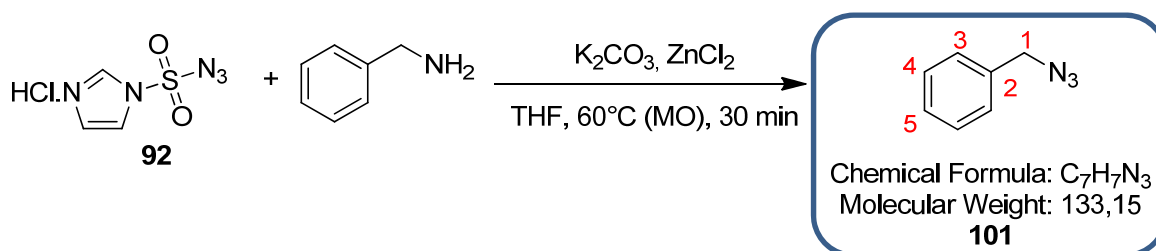
Le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu est dilué avec de l'eau, acidifié avec de l'acide chlorhydrique concentré et extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune, le composé **100** (0,017 g, 81 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,00 à 3,23 (m, 2H, **H1** et **H8**) ; 4,11 (m, 1H, **H8**) ; 5,21 (s, 2H, **H3**) ; 7,16 à 7,41 (m, 10H, **H5**, **H6**, **H7**, **H10**, **H11** et **H12**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.²⁹⁸

²⁹⁸ Evans, D. A.; Britton, T. C.; Ellman, J. A. and Dorow, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4011-4030.

(S)-2-azido-3-méthylbutanoate de méthyle **101**

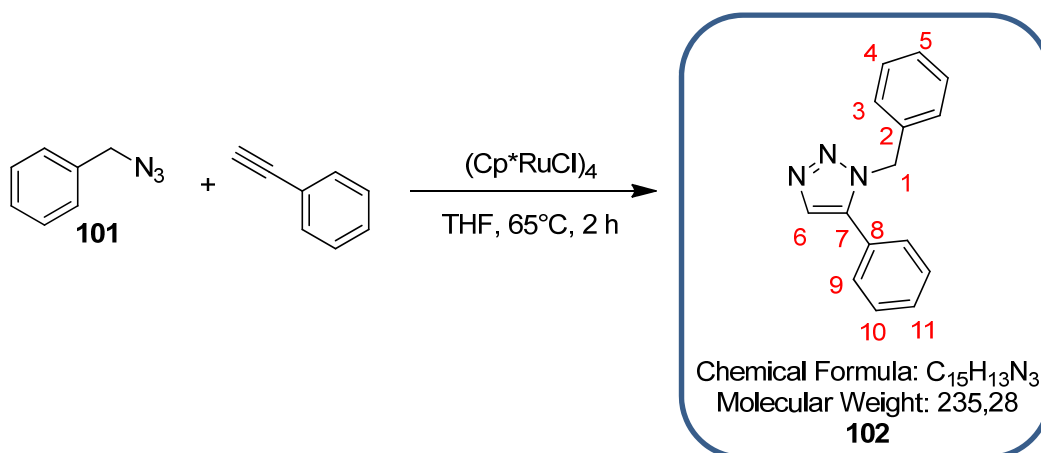
Sous argon, l'imidazole **92** (0,178 g, 0,85 mmol, 1 éq.) est additionné à une solution contenant du carbonate de potassium (0,411 g, 2,97 mmol, 3,5 éq.), du chlorure de zinc (0,058 g, 0,42 mmol, 0,5 éq.) et de la benzylamine (0,093 mL, 0,091 g, 0,85 mmol, 1 éq.) solubilisés dans du tétrahydrofurane (3,40 mL).

Le mélange réactionnel est concentré sous pression réduite. Le résidu obtenu est dilué avec de l'eau, acidifié avec de l'acide chlorhydrique concentré et extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour fournir une huile jaune, le composé **101** (0,115 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 4,37 (s, 2H, **H1**) ; 7,34 à 7,43 (m, 5H, **H3**, **H4** et **H5**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹⁷²

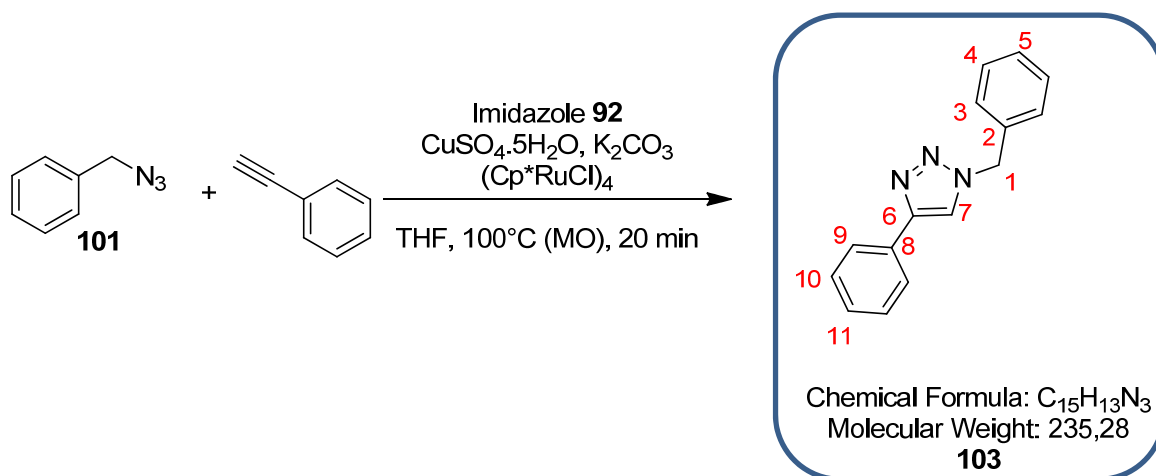
1-benzyl-5-phényl-1H-1,2,3-triazole **102**

Sous argon, le tétramère de chloro(pentaméthylcyclopentadiényl)ruthénium(II) (0,023 g, 0,02 mmol, 0,02 éq.) est additionné à une solution contenant l'azoture **101** (0,117 mL, 0,109 g, 1,06 mmol, 1 éq.) et le phénylacétylène (0,133 mL, 0,141 g, 1,06 mmol, 1 éq.) dilués dans du tétrahydrofurane (6 mL). Le mélange réactionnel est agité pendant deux heures à 65°C puis concentré sous pression réduite pour obtenir un résidu contenant le composé **102** (70 % de rendement selon RMN ¹H).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 5,56 (s, 2H, **H1**) ; 7,07 à 7,32 (m, 8H, **H3**, **H4**, **H5**, **H10** et **H11**) ; 7,39 à 7,46 (m, 2H, **H9**) ; 7,75 (s, 1H, **H6**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹⁴⁷

1-benzyl-4-phényl-1H-1,2,3-triazole **103**

Sous argon, le tétramère de chloro(pentaméthylcyclopentadiényl)ruthénium(II) (0,011 g, 0,01 mmol, 0,02 éq.) est additionné à une solution contenant l'azoture **101** (0,055 mL, 0,051 g, 0,50 mmol, 1 éq.), le phénylacétylène (0,062 mL, 0,066 g, 0,50 mmol, 1 éq.), l'imidazole **92** (0,157 g, 0,75 mmol, 1,5 éq.), le carbonate de potassium (0,207 g, 1,50 mmol, 3 éq.) et le sulfate de cuivre pentahydraté (0,062 g, 0,25 mmol, 0,5 éq.) solubilisés dans du tétrahydrofurane (3 mL). Le mélange réactionnel est agité pendant deux heures à 65°C puis concentré sous pression réduite.

Le résidu obtenu est purifié par plaque préparative (éluant heptane/AcOEt 7:3 (v/v)) pour donner un solide blanc, le composé **103** (0,025 g, 21 % de rendement).

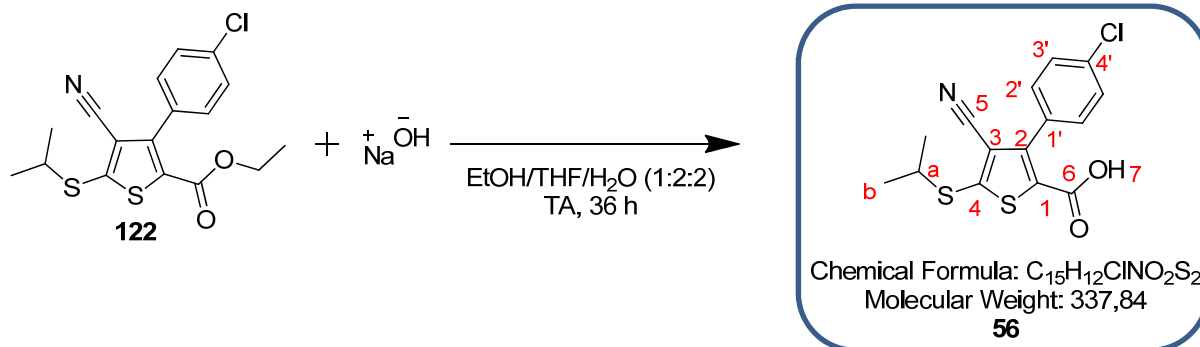
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) :

δ (ppm) : 5,60 (s, 2H, **H1**) ; 7,28 à 7,43 (m, 8H, **H3**, **H4**, **H5**, **H10** et **H11**) ; 7,68 (s, 1H, **H7**) ; 7,81 à 7,83 (m, 2H, **H9**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹⁴⁷

II. Approche par criblage

acide 3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **56**



Une solution aqueuse de soude 2M (5,7 mL, 0,452 g, 11,3 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **122** (0,452 g, 1,13 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (8,5 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (12,0 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **56** (0,382 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

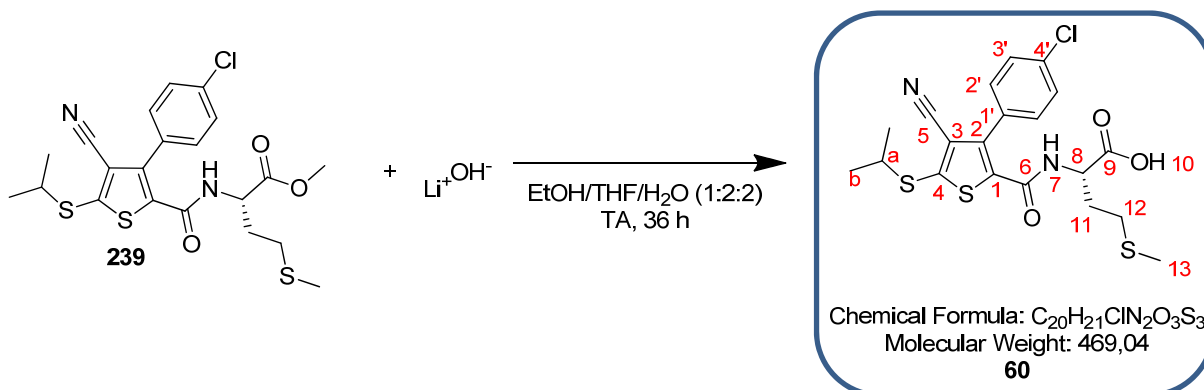
δ (ppm) : 1,49 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,65 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,34 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,42 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 42,4 (**Ca**) ; 113,2 (**C3**) ; 115,2 (**C5**) ; 127,2 (**C2'**) ; 128,8 et 130,3 (**C4'** et **C1'**) ; 130,9 (**C3'**) ; 135,9 (**C1**) ; 149,8 (**C2**) ; 156,1 (**C4**) ; 164,5 (**C5**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

acide (2S)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **60**



Une solution aqueuse de lithine 2M (1,6 mL, 0,074 g, 3,11 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **239** (0,150 g, 0,31 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (2,3 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (3,4 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide orange, le composé **60** (0,146 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,38 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,79 (m, 1H, **H11**) ; 1,95 (s, 3H, **H13**) ; 2,00 (m, 1H, **H11**) ; 2,20 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,55 (m, 1H, **H8**) ; 6,11 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,45 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,55 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,4 (**C13**) ; 23,2 (**Cb**) ; 29,7 (**C12**) ; 30,6 (**C11**) ; 42,4 (**Ca**) ; 52,2 (**C8**) ; 113,3 (**C3**) ; 115,2 (**C5**) ; 129,8 (**C4'**) ; 129,9 (**C2'**) ; 130,8 (**C3'**) ; 135,6 (**C1**) ; 136,5 (**C1'**) ; 142,1 (**C2**) ; 152,8 (**C4**) ; 160,1 (**C6**) ; 174,8 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 467,0 $[M-H]^-$.

Haute résolution calculée pour $C_{20}H_{20}^{35}ClN_2O_3S_3^- [M-H]^-$: 467,0325, trouvée : 467,0330.

IR :

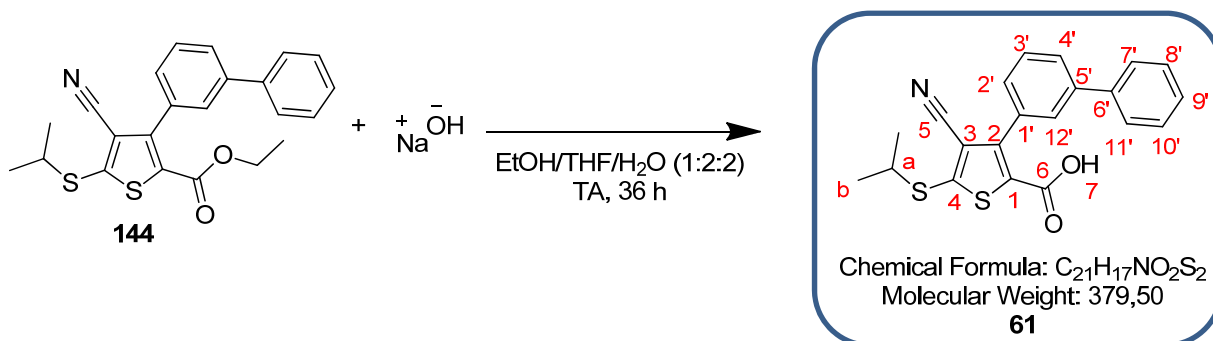
ν (cm^{-1}) : 3066, 2920 et 2849 (**CH** st), 2223 (**C \equiv N** st), 1728 (**C=O_{ester}** st), 1633 (**C=O_{amide}** st), 1530 (**NH** δ), 1510.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,58 min, 98 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -25,0^\circ$ (MeOH, 0,20).

acide 3-(biphényl-3-yl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **61**

Une solution aqueuse de soude 2M (1,6 mL, 0,130 g, 3,24 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **144** (0,132 g, 0,32 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (2,4 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (3,2 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **61** (0,123 g, rendement quantitatif).

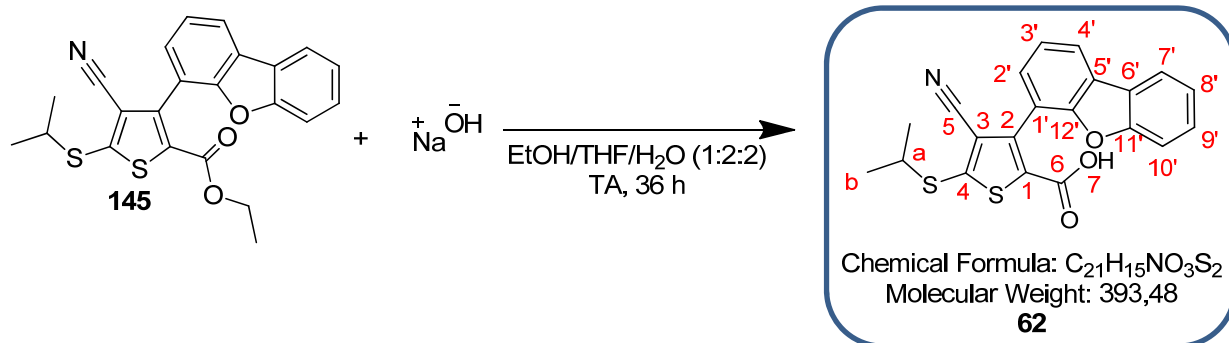
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,41 (d, 6H, **H_b**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,53 (h, 1H, **H_a**, $J = 6,9$ Hz) ; 7,32 à 7,48 (m, 9H, **H_{ar}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,4 (**C_b**) ; 42,3 (**C_a**) ; 113,8 (**C₃**) ; 115,7 (**C₅**) ; 127,1 (**CH_{ar}**) ; 127,6 (**CH_{ar}**) ; 127,8 (**CH_{ar}**) ; 128,2 (**CH_{ar}**) ; 128,3 (**CH_{ar}**) ; 128,7 (**CH_{ar}**) ; 129,0 (**CH_{ar}**) ; 129,3 (**C_{ar}**) ; 132,8 (**C₁**) ; 140,4 (**C_{ar}**) ; 141,3 (**C_{ar}**) ; 141,5 (**C₂**) ; 153,7 (**C₄**) ; 164,2 (**C₆**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

acide 4-cyano-3-(dibenzo[b,d]furan-4-yl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **62**

Une solution aqueuse de soude 2M (3,2 mL, 0,260 g, 6,50 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **145** (0,274 g, 0,65 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (4,9 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (6,4 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **62** (0,256 g, rendement quantitatif).

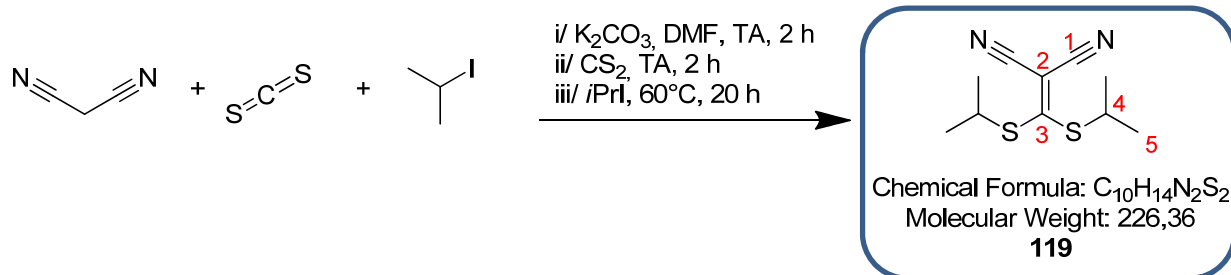
RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,47 (d, 6H, **H_b**, $J = 6,5$ Hz) ; 3,61 (h, 1H, **H_a**, $J = 6,5$ Hz) ; 7,31 à 7,44 (m, 5H, **H_{ar}**) ; 7,92 (m, 2H, **H_{ar}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,4 (**C_b**) ; 42,5 (**C_a**) ; 112,0 (**CH_{ar}**) ; 113,4 (**C_{ar}**) ; 116,0 (**C₃**) ; 116,9 (**C₅**) ; 121,0 (**CH_{ar}**) ; 122,1 (**CH_{ar}**) ; 122,7 (**CH_{ar}**) ; 123,2 (**CH_{ar}**) ; 124,1 (**C_{ar}**) ; 124,8 (**C_{ar}**) ; 127,7 (**CH_{ar}**) ; 127,9 (**CH_{ar}**) ; 131,5 (**C₁**) ; 143,8 (**C₂**) ; 153,5 (**C₄**) ; 154,3 (**C_{ar}**) ; 156,2 (**C_{ar}**) ; 164,3 (**C₆**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

2-(bis(isopropylthio)méthylène)malononitrile **119**

Le malononitrile (3,51 mL, 3,68 g, 55,7 mmol, 1 éq.) est ajouté à 67 mL de DMF à température ambiante. La solution passe de la couleur orange à violette. Après ajout du carbonate de potassium (8,47 g, 61,3 mmol, 1,1 éq.), la solution devient fuchsia jusqu'à devenir grise après 2 heures d'agitation à température ambiante, où le disulfure de carbone (10,0 mL, 12,7 g, 167 mmol, 3 éq.) est ensuite additionné goutte-à-goutte à 0°C. Le mélange réactionnel jaune est ensuite agité pendant 2 heures à température ambiante. L'iodure d'isopropyle (11,8 mL, 18,9 g, 111 mmol, 2 éq.) est ajouté goutte-à-goutte à 0°C. Le milieu réactionnel est agité à 60°C pendant 20 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le milieu est évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans 70 mL d'eau. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique (4 × 80 mL). Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 8:2 (v/v) en 45 minutes) pour donner le composé **119** (11,2 g, 89 % de rendement) sous forme d'un solide jaune.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,41 (d, 12H, **H5**, $J = 6,5$ Hz) ; 3,99 (h, 2H, **H4**, $J = 6,5$ Hz).

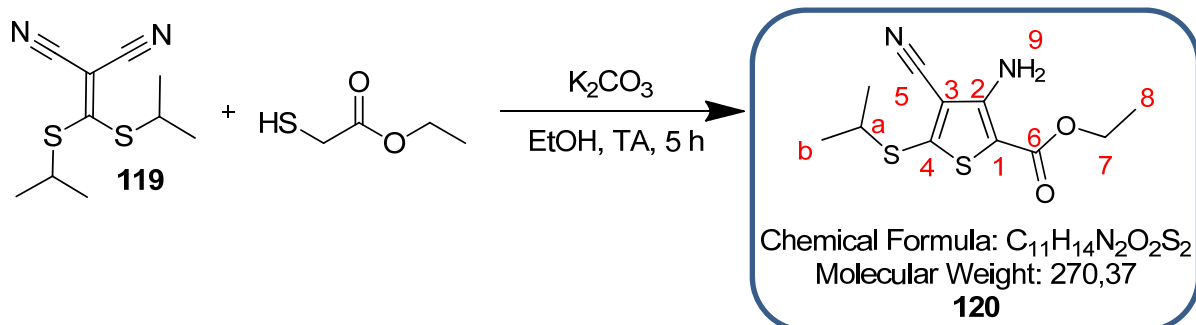
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 23,2 (**C5**) ; 42,7 (**C4**) ; 80,6 (**C2**) ; 113,1 (**C1**) ; 180,1 (**C3**).

SM (ESI, MeOH) : m/z 227,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₀H₁₅N₂S₂⁺ [M+H]⁺ : 227,0677, trouvée : 227,0670.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

3-amino-5-(isopropylthio)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **120**

Au cétène dithioacétal **119** (2,94 g, 13,0 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 55 mL d'éthanol sont additionnés le carbonate de potassium (2,15 g, 15,6 mmol, 1,2 éq.) et le 2-mercaptoacétate d'éthyle (1,50 mL, 1,64 g, 13,6 mmol, 1,05 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 5 heures.

Après évaporation du solvant, de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 6:4 (v/v) en 45 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **120** (3,04 g, 87 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,32 (t, 3H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 1,39 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,5$ Hz) ; 3,54 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,5$ Hz) ; 4,27 (q, 2H, **H7**, $J = 7,0$ Hz) ; 5,74 (s, 2H, **H9**).

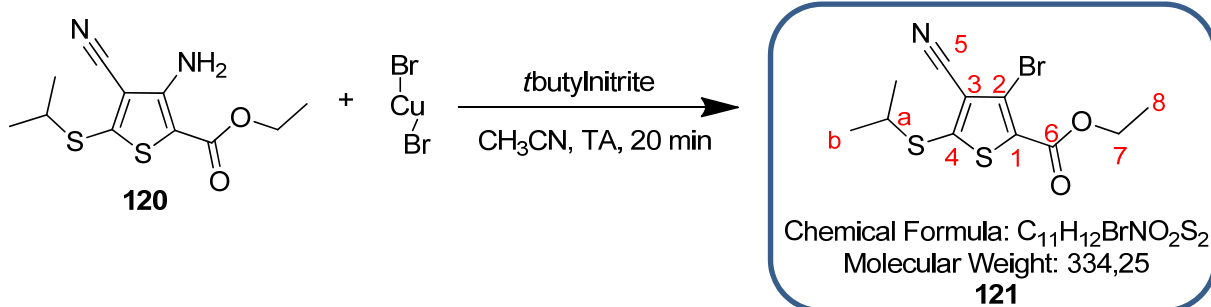
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,6 (**C8**) ; 23,3 (**Cb**) ; 42,0 (**Ca**) ; 60,9 (**C7**) ; 101,5 (**C3**) ; 103,8 (**C5**) ; 112,9 (**C1**) ; 153,2 (**C2**) ; 153,6 (**C4**) ; 162,9 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 293,0 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₁H₁₄N₂O₂S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 293,0394, trouvée : 293,0401.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

3-bromo-5-(sec-butylthio)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **121**

A une solution du composé **120** (3,67 g, 13,6 mmol, 1 éq.) dans 60 mL de THF anhydre est additionné le bromure de cuivre (II) (6,07 g, 27,2 mmol, 2 éq.) dans un ballon sec sous argon. Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, est additionnée doucement une solution de *tert*-butylnitrite (2,36 mL, 2,10 g, 20,4 mmol, 1,5 éq.) dans 12 mL de THF anhydre.

Après 20 minutes d'agitation à température ambiante, 73 mL d'acide chlorhydrique 20 % sont ajoutés au milieu réactionnel qui est ensuite extrait quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 6:4 (v/v) en 45 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **121** (4,01 g, 88 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,39 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,43 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,61 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 4,38 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

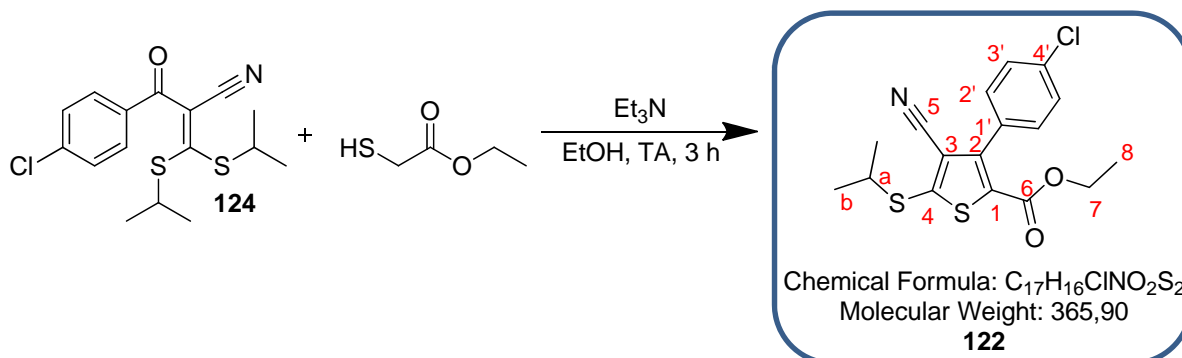
δ (ppm) : 14,4 (**C8**) ; 23,3 (**Cb**) ; 42,7 (**Ca**) ; 62,4 (**C7**) ; 112,8 (**C3**) ; 117,9 (**C5**) ; 118,2 (**C2**) ; 129,1 (**C1**) ; 154,1 (**C4**) ; 159,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 355,9 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₁H₁₂⁷⁹BrNO₂S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 355,9391, trouvée : 355,9384 ;

C₁₁H₁₂⁸¹BrNO₂S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 357,9370, trouvée : 357,9380.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **122**

Au composé **124** (0,903 g, 2,66 mmol, 1 éq.) solubilisé dans l'éthanol (11,5 mL) est ajouté le thioglycolate d'éthyle (0,257 mL, 0,282 g, 2,66 mmol, 1 éq.) puis la triéthylamine (0,407 mL, 0,296 g, 2,92 mmol, 1,1 éq.) goutte-à-goutte.

Après 3 heures d'agitation à température ambiante de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **122** (0,898 g, 92 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,26 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,46 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,65 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 4,23 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,36 (d, 2H, **H3'**, *J* = 7,5 Hz) ; 7,45 (d, 2H, **H2'**, *J* = 7,5 Hz).

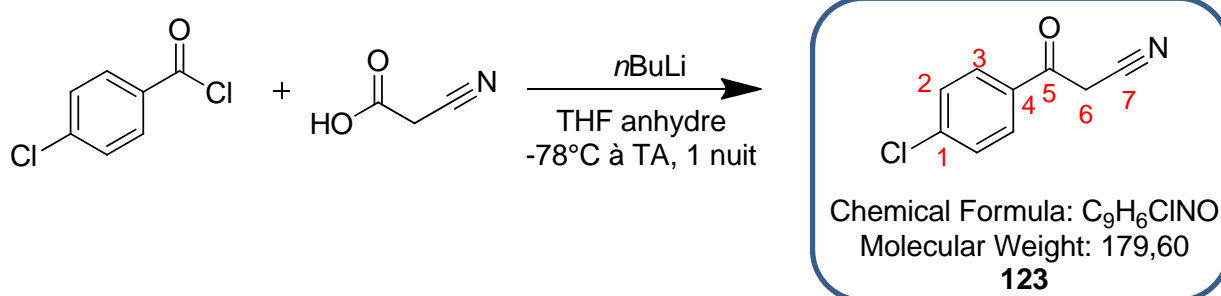
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,3 (**Ca**) ; 61,8 (**C7**) ; 113,5 (**C3**) ; 115,4 (**C5**) ; 128,5 (**C2'**) ; 128,9 (**C4'**) ; 129,3 (**C1'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 135,4 (**C1**) ; 147,8 (**C2**) ; 153,4 (**C4**) ; 160,0 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 388,0 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₆³⁵ClNO₂S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 388,0209, trouvée : 388,0204.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

3-(4-chlorophényl)-3-oxopropanenitrile **123**

L'acide 2-cyanoacétique (3,16 g, 37,1 mmol, 2 éq.) est préalablement lavé trois fois avec du toluène puis séché à la pompe à vide. Il est ensuite solubilisé dans 115 mL de THF et refroidi sous argon à -78°C . Le *n*-butyllithium, 1,6M dans l'hexane (46,4 mL, 74,2 mmol, 4 éq.) est ajouté goutte-à-goutte afin que la température n'excède pas -60°C . Le mélange est agité pendant 1 heure à -78°C puis une solution de chlorure de 4-chlorobenzoyl (2,38 mL, 3,25 g, 18,6 mmol, 1 éq.) dans 24 mL de THF est ajoutée goutte-à-goutte afin que la température n'excède pas -60°C . La réaction est laissée sous agitation pendant 1 heure à -78°C puis à température ambiante pendant une nuit.

La solution est ensuite traitée avec 180 mL d'acide chlorhydrique 1N pour donner un mélange hétérogène jaune. La solution est agitée pendant 2 heures à température ambiante. La phase aqueuse est extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Puis, les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) et permet d'isoler un solide blanc, le produit **123** (3,06 g, 92 % de rendement).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) :

δ (ppm) : 4,07 (s, 2H, **H6**) ; 7,54 (d, 2H, **H2**, $J = 8,7$ Hz) ; 7,90 (d, 2H, **H3**, $J = 8,7$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) :

δ (ppm) : 29,5 (**C6**) ; 113,6 (**C7**) ; 129,6 (**C2**) ; 129,9 (**C3**) ; 132,6 (**C4**) ; 141,5 (**C1**) ; 186,2 (**C5**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 202,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_9H_6^{35}\text{ClNONa}^+ [\text{M}+\text{Na}]^+$: 202,0036, trouvée : 202,0039.

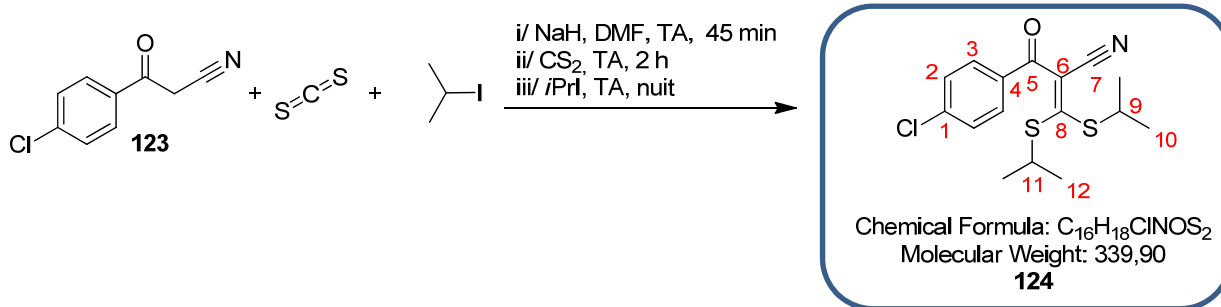
IR :

ν (cm^{-1}) : 2950 et 2918 (**C-H** st), 2251 (**C \equiv N** st), 1931, 1685 (**C=O** st), 1587 et 1567 (**arC-C**), 1487, 1399, 1324, 1217, 1207, 1092, 1003, 930, 827 et 819 et 804 (**arC-H** δ), 720.

AE :

Théorique %C = 60,19 ; %H = 3,37 ; %N = 7,80 ; %O = 8,91.

Trouvée %C = 60,28 ; %H = 3,24 ; %N = 7,80 ; %O = 8,62.

2-(4-chlorobenzoyl)-3,3-bis(isopropylthio)acrylonitrile **124**

L'hydruure de sodium à 60 % dans de l'huile (1,08 g, 26,9 mmol, 2,5 éq.) est ajouté au 3-(4-chlorophényl)-3-oxopropanenitrile **123** (1,93 g, 10,8 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le DMF (20 mL) à température ambiante. Le milieu réactionnel orange est agité pendant 45 minutes à température ambiante. Le disulfure de carbone (0,647 mL, 0,819 g, 10,8 mmol, 1 éq.) est ensuite additionné goutte-à-goutte à température ambiante. Le mélange réactionnel devenu rouge foncé est agité pendant 2 heures à température ambiante. L'iodure d'isopropyle (2,26 mL, 3,84 g, 22,6 mmol, 2,1 éq.) est ajouté goutte-à-goutte à température ambiante. Le milieu réactionnel est agité à 60°C pendant 19 heures.

Le milieu est ensuite évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'eau. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution à 5 % de thiosulfate de sodium puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner le composé **124** (3,00 g, 82 % de rendement) sous forme d'une huile jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,32 (d, 6H, **H10** ou **H12**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,46 (d, 6H, **H10** ou **H12**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,77 (h, 1H, **H9** ou **H11**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,96 (h, 1H, **H9** ou **H11**, *J* = 6,9 Hz) ; 7,47 (d, 2H, **H2**, *J* = 8,5 Hz) ; 7,86 (d, 2H, **H3**, *J* = 8,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 22,9 (**C10** ou **C12**) ; 23,0 (**C10** ou **C12**) ; 40,9 (**C9** ou **C11**) ; 42,5 (**C9** ou **C11**) ; 110,8 (**C6**) ; 117,1 (**C7**) ; 129,0 (**C2**) ; 130,7 (**C3**) ; 134,6 (**C4**) ; 140,1 (**C1**) ; 172,4 (**C8**) ; 186,1 (**C5**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 340,1 [M+H]⁺ ; 362,0 [M+Na]⁺ ; 394,1 [M+Na+MeOH]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₆H₁₈³⁵ClNOS₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 362,0416, trouvée : 362,0414.

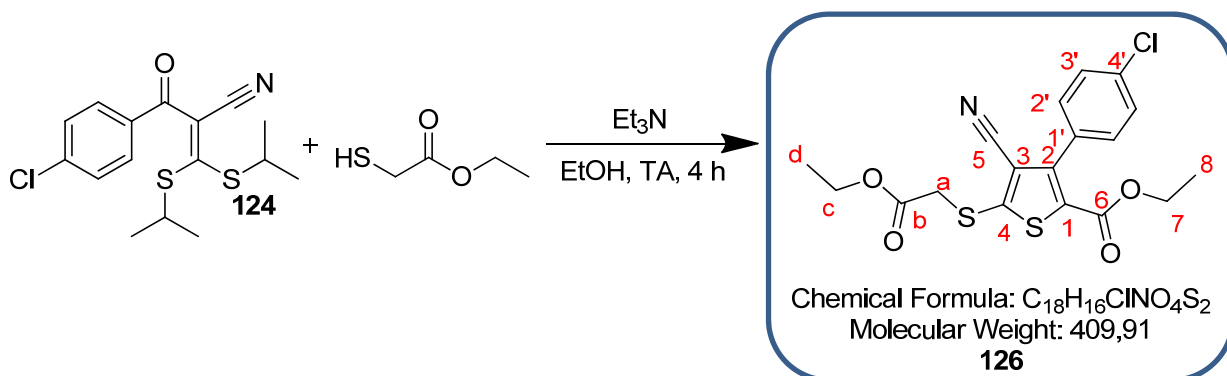
IR :

ν (cm⁻¹) : 3089 (arCH st), 2966 et 2925 (CH st), 2203 (C≡N st), 1672, 1651 (C=O st), 1585, 1565, 1485 (arC-C), 1399, 1385, 1302, 1174, 1153, 1088, 1051, 987, 844 et 778 (arC-H δ), 752, 628.

AE :

Théorique %C = 56,54 ; %H = 5,34 ; %N = 4,12.

Trouvée %C = 56,52 ; %H = 5,43 ; %N = 4,19.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-((2-éthoxy-2-oxoéthyl)thio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **126**

Au composé **124** (0,143 g, 0,42 mmol, 1 éq.) solubilisé dans l'éthanol (1,8 mL) est ajouté le thioglycolate d'éthyle (0,041 mL, 0,045 g, 0,42 mmol, 1 éq.) puis la triéthylamine (0,065 mL, 0,047 g, 0,46 mmol, 1,1 éq.) en une fois.

Après 4 heures d'agitation à température ambiante de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **122** (0,084 g, 55 % de rendement) et le composé **126** (0,042 g, 24 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,25 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,33 (t, 3H, **Hd**, *J* = 7,2 Hz) ; 3,86 (s, 2H, **Ha**) ; 4,25 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 4,30 (q, 2H, **Hc**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,36 (d, 2H, **H3'**, *J* = 7,5 Hz) ; 7,46 (d, 2H, **H2'**, *J* = 7,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 14,1 (**Cd**) ; 38,3 (**Ca**) ; 62,0 (**C7**) ; 62,5 (**Cc**) ; 113,0 (**C3**) ; 116,1 (**C5**) ; 128,5 (**C2'**) ; 130,2 (**C4'**) ; 130,3 (**C1'**) ; 130,7 (**C3'**) ; 135,6 (**C1**) ; 147,8 (**C2**) ; 151,2 (**C4**) ; 159,8 (**C6**) ; 167,6 (**Cb**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 432,0 [M+Na]⁺.

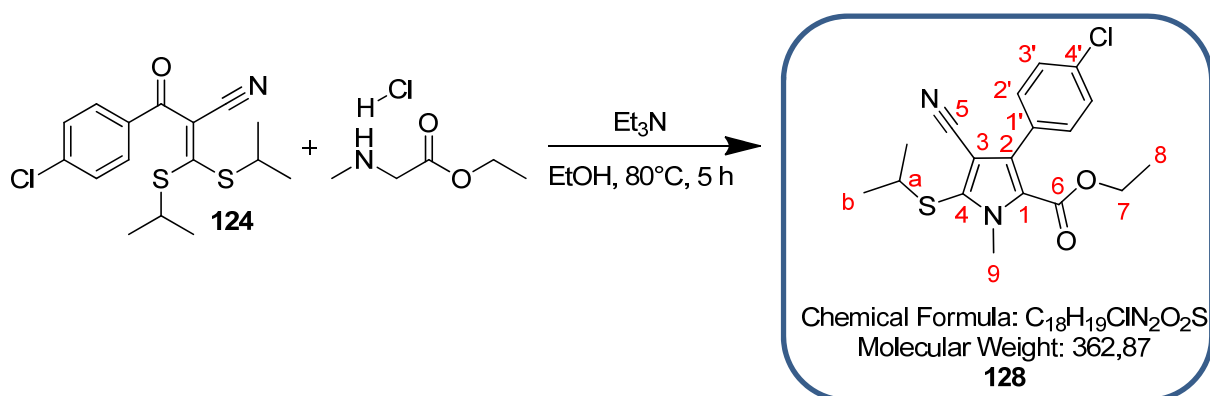
Haute résolution calculée pour C₁₈H₁₆³⁵ClNO₄S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 432,0107, trouvée : 432,0109.

IR :

ν (cm⁻¹) : 2983 et 2932 (**CH** st), 2219 (**C≡N** st), 1736 (**C=O** st), 1715 (**C=O** st), 1486 (**arC-C**), 1365, 1272, 1189, 1156, 1085, 1018, 845, 825 et 762 (**arC-H** δ), 668.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 6,00 min, 96 %.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-1-méthyl-1H-pyrrole-2-carboxylate d'éthyle **128**

Au composé **124** (1,23 g, 3,60 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 21 mL d'éthanol sont additionnés le chlorhydrate de l'ester méthylique de la sarcosine (0,609 g, 3,96 mmol, 1,1 éq.) et la triéthylamine (1,51 mL, 1,10 g, 10,8 mmol, 3 éq.). Le milieu réactionnel orange est chauffé à reflux pendant 5 heures.

De l'eau est ensuite ajoutée sur le milieu réactionnel, extrait par la suite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois avec de l'eau, une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 8:2 (v/v) en 40 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **128** (0,606 g, 46 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,07 (t, 3H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 1,34 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,5$ Hz) ; 3,45 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,5$ Hz) ; 4,06 (s, 3H, **H9**) ; 4,15 (q, 2H, **H7**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,32 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,5$ Hz) ; 7,86 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,5$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 13,7 (**C8**) ; 23,3 (**Cb**) ; 35,0 (**C9**) ; 41,8 (**Ca**) ; 60,9 (**C7**) ; 103,2 (**C3**) ; 115,0 (**C5**) ; 123,2 (**C1**) ; 128,1 (**C2'**) ; 131,0 (**C3'**) ; 131,0 (**C1'**) ; 133,8 (**C2**) ; 134,1 (**C4'**) ; 136,1 (**C4**) ; 160,3 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 385,1 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{18}H_{19}^{35}ClN_2O_2SNa^+$ $[M+Na]^+$: 385,0753, trouvée : 385,0753.

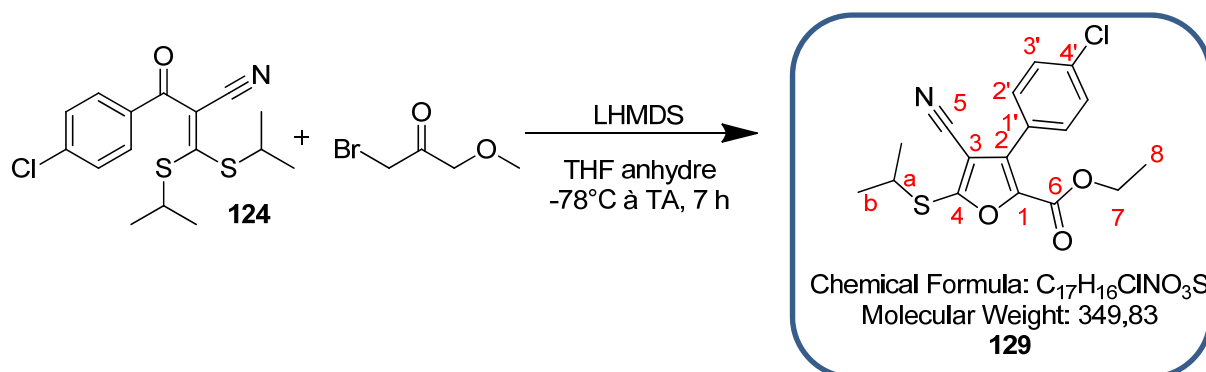
IR :

ν (cm^{-1}) : 2966 et 2929 et 2868 (**CH** st), 2224 (**C \equiv N** st), 1701 (**C=O** st), 1531 et 1487 (**arC-C**), 1435, 1410, 1384, 1368, 1268, 1245, 1208, 1153, 1125, 1088, 1051, 1011, 931, 874, 827 et 776 (**arC-H** δ), 746, 719, 708, 687, 661, 614.

AE :

Théorique %C = 59,58 ; %H = 5,28 ; %N = 7,72 ; %O = 8,82 ; %S = 8,84.

Trouvée %C = 59,52 ; %H = 5,24 ; %N = 7,70 ; %O = 8,63 ; %S = 8,54.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)furan-2-carboxylate d'éthyle **129**

A une solution de bis(triméthylsilyl)amidure de lithium (1M, 10,7 mL, 1,79 g, 10,7 mmol, 2,7 éq.) dans le THF refroidi à -78°C est additionné goutte-à-goutte une solution de bromoacétate d'éthyle (1,10 mL, 1,65 g, 9,88 mmol, 2,5 éq.) dans 6,5 mL de THF. Le milieu réactionnel est agité pendant 10 minutes puis traité goutte-à-goutte avec une solution de composé **124** (1,34 g, 3,95 mmol, 1 éq.) en solution dans 1,3 mL de THF. Le milieu est agité 45 minutes à -78°C puis 6 heures à TA.

20 mL de solution saturée de chlorure d'ammonium sont ensuite versés sur le milieu réactionnel. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées trois fois avec de l'eau, une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 8:2 (v/v) en 40 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **129** (0,469 g, 34 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,20 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,39 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,78 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,9 Hz) ; 4,22 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,37 (d, 2H, **H3'**, *J* = 7,5 Hz) ; 7,40 (d, 2H, **H2'**, *J* = 7,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 23,7 (**Cb**) ; 40,3 (**Ca**) ; 61,6 (**C7**) ; 103,0 (**C3**) ; 112,0 (**C5**) ; 126,5 (**C2**) ; 128,6 (**C2'**) ; 130,9 (**C3'**) ; 134,0 (**C1'**) ; 135,8 (**C4'**) ; 141,2 (**C1**) ; 157,3 (**C4**) ; 160,5 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 350,1 [M+H]⁺ ; 372,1 [M+Na]⁺ ; 404,1 [M+Na+MeOH]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₆³⁵ClNO₃SNa⁺ [M+Na]⁺ : 372,0437, trouvée : 372,0435 ;
C₁₇H₁₆³⁷ClNO₃SNa⁺ [M+Na]⁺ : 374,0408, trouvée : 374,0448.

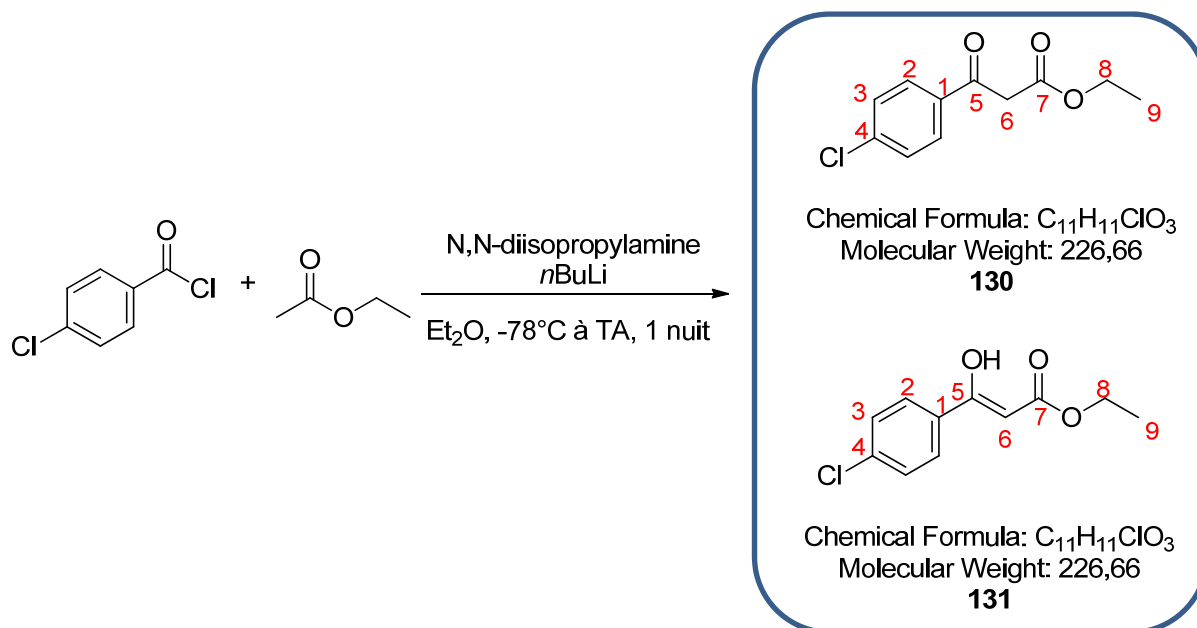
IR :

ν (cm⁻¹) : 2963 et 2924 (**CH** st), 2239 (**C≡N** st), 1726 (**C=O** st), 1604, 1581 et 1488 (**arC-C**), 1562, 1508, 1435, 1450, 1406, 1380, 1304, 1270 (**C-O** st), 1240 (**CO-O** st), 1228, 1174, 1142, 1114, 1092, 1058, 1024, 1014, 978, 932, 872, 850, 824 et 772 (**arC-H** δ), 741, 724, 678, 648, 622, 611.

AE :

Théorique %C = 58,37 ; %H = 4,61 ; %N = 4,00 ; %O = 13,72 ; %S = 9,17.

Trouvée %C = 58,13 ; %H = 4,78 ; %N = 3,95 ; %O = 13,51 ; %S = 9,09.

3-(4-chlorophényl)-3-oxopropanoate d'éthyle **130**3-(4-chlorophényl)-3-hydroxyacrylate d'éthyle **131**

Sous argon, de la N,N-diisopropylamine (8,79 mL, 6,31 g, 62,4 mmol, 2 éq.) est additionnée à une solution de *n*-butyllithium 1,6M dans l'hexane (37,0 mL, 59,3 mmol, 1,9 éq.) diluée dans 88 mL d'éther diéthylique anhydre refroidie à -78°C. Le milieu réactionnel est agité 20 minutes à 0°C. Après retour à -78°C, une solution d'acétate d'éthyle (3,05 mL, 2,75 g, 31,2 mmol, 1 éq.) dans 16 mL d'éther diéthylique anhydre est ajoutée goutte-à-goutte. Après 45 minutes d'agitation, une solution de chlorure de 4-chlorobenzoyl (4,00 mL, 5,46 g, 31,2 mmol, 1 éq.) dans 16 mL d'éther diéthylique est additionnée goutte-à-goutte. La solution rouge foncé est agitée une nuit à température ambiante.

Le milieu réactionnel est versé dans un mélange de glace (260 g) et d'acide sulfurique concentré (19 mL). Après 15 minutes d'agitation, le milieu est extrait trois fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le liquide orange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 90 minutes) pour donner un liquide orange, le composé **130** et sa forme énol **131** dans un rapport 2/1 (5,994 g, 85 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

3-(4-chlorophényl)-3-oxopropanoate d'éthyle :

δ (ppm) : 1,24 (t, 3H, **H9**, $J = 7,0$ Hz) ; 3,95 (s, 2H, **H6**) ; 4,20 (q, 2H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,43 (d, 2H, **H3**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,87 (d, 2H, **H2**, $J = 7,0$ Hz).

3-(4-chlorophényl)-3-hydroxyacrylate d'éthyle :

δ (ppm) : 1,32 (t, 3H, **H9**, $J = 7,5$ Hz) ; 4,20 (q, 2H, **H8**, $J = 7,5$ Hz) ; 5,62 (s, 1H, **H6**) ; 7,37 (d, 2H, **H3**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,69 (d, 2H, **H2**, $J = 7,0$ Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

3-(4-chlorophényl)-3-oxopropanoate d'éthyle :

δ (ppm) : 13,0 (C9) ; 44,8 (C6) ; 60,4 (C8) ; 128,0 (C3) ; 128,9 (C2) ; 133,3 (C1) ; 139,1 (C4) ; 166,2 (C7) ; 190,3 (C5).

3-(4-chlorophényl)-3-hydroxyacrylate d'éthyle :

δ (ppm) : 13,2 (C9) ; 59,4 (C8) ; 86,6 (C6) ; 126,3 (C3) ; 127,7 (C2) ; 130,8 (C1) ; 136,2 (C4) ; 168,9 (C5) ; 172,0 (C7).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 249,0 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₁H₁₁³⁵ClO₃Na⁺ [M+Na]⁺ : 249,0294, trouvée : 249,0300.

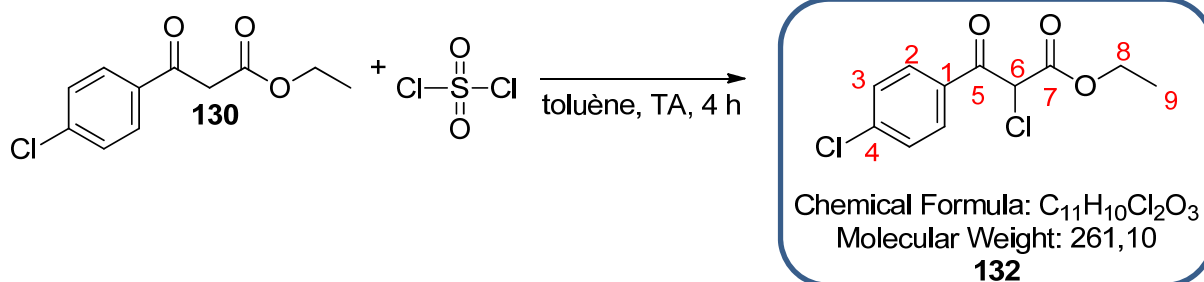
IR :

ν (cm⁻¹) : 2981 et 2941 et 2908 (CH st), 1737 (C=O st ester), 1686 (C=O st cétone), 1642, 1621, 1588 et 1489 (arC-C), 1569, 1423, 1399, 1383, 1367, 1323, 1261 (CO-O st), 1194, 1146, 1110, 1090, 1030, 1011, 996, 943, 896, 841 et 800 (arC-H δ), 748, 734, 711, 659, 628, 614.

AE :

Théorique %C = 58,29 ; %H = 4,89 ; %O = 21,18.

Trouvée %C = 58,43 ; %H = 5,00 ; %O = 21,06.

2-chloro-3-(4-chlorophényl)-3-oxopropanoate d'éthyle **132**

L'oxopropanoate d'éthyle **130** et sa forme énol **131** (5,86 g, 25,8 mmol, 1 éq.) sont mis en solution dans 40 mL de toluène. Une solution de chlorure de sulfuryle (2,08 mL, 3,49 g, 25,8 mmol, 1 éq.) est ajoutée lentement goutte-à-goutte au milieu réactionnel.

Après 4 heures d'agitation à température ambiante, de l'eau est additionnée doucement puis le milieu réactionnel est basifié avec une solution saturée de bicarbonate de sodium et extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le liquide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/ CH_2Cl_2 1:1 (v/v) en 100 minutes) pour donner sous forme d'huile incolore, le composé **132** (5,72 g, 85 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,26 (t, 3H, **H9**, $J = 7,2$ Hz) ; 4,30 (q, 2H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 5,56 (s, 1H, **H6**) ; 7,49 (d, 2H, **H3**, $J = 6,9$ Hz) ; 7,95 (d, 2H, **H2**, $J = 6,9$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 13,9 (**C9**) ; 58,0 (**C8**) ; 63,3 (**C6**) ; 129,3 (**C3**) ; 130,7 (**C2**) ; 131,6 (**C1**) ; 141,0 (**C4**) ; 165,0 (**C7**) ; 187,2 (**C5**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 283,0 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{11}H_{10}^{35}Cl_2O_3Na^+$ $[M+Na]^+$: 282,9905, trouvée : 282,9908 ;

$C_{11}H_{10}^{37}Cl_2O_3Na^+$ $[M+Na]^+$: 284,9875, trouvée : 284,9890.

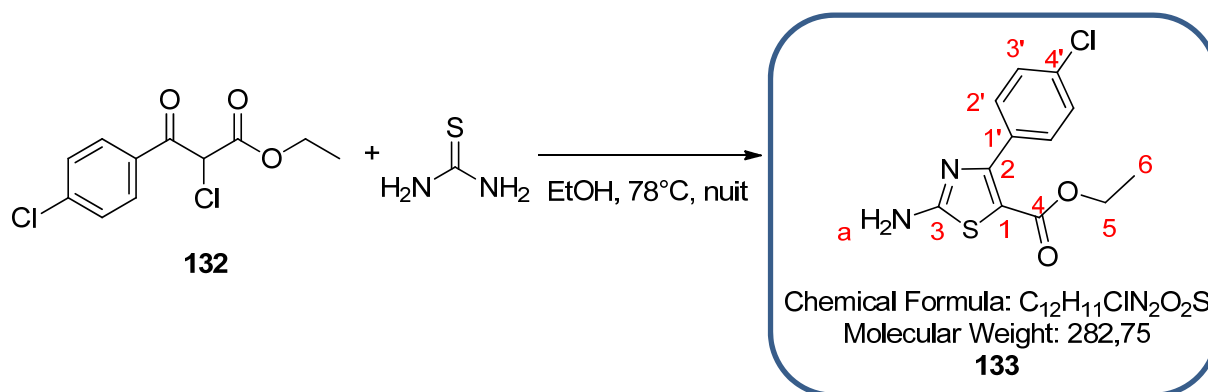
IR :

ν (cm^{-1}) : 2983 (**CH** st), 1760 (**C=O** st ester), 1741, 1688 (**C=O** st cétone), 1588 et 1488 (**arC-C**), 1570, 1466, 1445, 1401, 1368, 1280, 1262 (**CO-O** st), 1177, 1091, 1024, 1000, 948, 875, 844 (**arC-H** δ), 752, 718, 656, 627.

AE :

Théorique %C = 50,60 ; %H = 3,86 ; %O = 18,38.

Trouvée %C = 50,56 ; %H = 4,09 ; %O = 18,18.

2-amino-4-(4-chlorophényl)thiazole-5-carboxylate d'éthyle **133**

La thiourée (1,29 g, 16,9 mmol, 1 éq.) est ajoutée à une solution d'oxopropanoate d'éthyle monochloré **132** (4,41 g, 16,9 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 50 mL d'éthanol. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant une nuit.

Après refroidissement, le mélange est concentré sous pression réduite puis neutralisé avec une solution d'ammoniaque 28 %. Le milieu est ensuite extrait quatre fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite pour fournir un solide blanc, le composé **133** (4,69 g, 98 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) :

δ (ppm) : 1,15 (t, 3H, **H6**, *J* = 7,2 Hz) ; 4,09 (q, 2H, **H5**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,43 (d, 2H, **H2'**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,66 (d, 2H, **H3'**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,89 (s, 2H, **Ha**).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) :

δ (ppm) : 14,0 (**C6**) ; 60,1 (**C5**) ; 108,7 (**C1**) ; 127,3 (**C2'**) ; 131,4 (**C3'**) ; 133,3 (**C1'**) ; 133,3 (**C4'**) ; 157,2 (**C2**) ; 161,0 (**C4**) ; 169,9 (**C3**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 283,0 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₂H₁₂³⁵ClN₂O₂S⁺ [M+H]⁺ : 283,0308, trouvée : 283,0306.

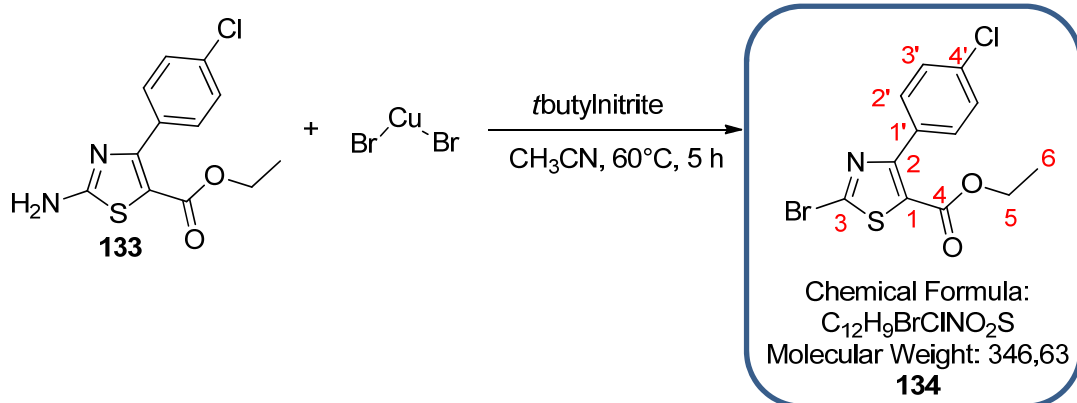
IR :

ν (cm⁻¹) : 3406 et 3282 (**NH₂** st), 3094 (**arCH** st), 2989 et 2943 (**CH** st), 2713, 1660, 1638 (**C=O** st), 1597, 1518 et 1474 (**arC-C**), 1365, 1342, 1300 et 1270 (**C-O** st), 1168 (**CO-O** st as), 1085, 1015, 964, 904, 835 et 818 (**arC-H** δ), 754, 717 et 701 (**NH₂** δ), 649, 624.

AE :

Théorique %C = 50,97 ; %H = 3,92 ; %N = 9,91 ; %O = 11,32 ; %S = 11,34.

Trouvée %C = 50,86 ; %H = 3,88 ; %N = 9,96 ; %O = 11,23 ; %S = 11,13.

2-bromo-4-(4-chlorophényl)thiazole-5-carboxylate d'éthyle **134**

A une solution de couleur marron foncé de bromure de cuivre (II) (4,74 g, 21,2 mmol, 3 éq.) dans 28 mL d'acétonitrile est additionné doucement du *tert*-butylnitrite (1,26 mL, 1,09 g, 10,6 mmol, 1,5 éq.) à température ambiante. Le mélange est chauffé à 60°C puis une suspension d'aminothiazole **133** (2,00 g, 7,07 mmol, 1 éq.) dans 48 mL d'acétonitrile est ajoutée goutte-à-goutte. Le milieu réactionnel est chauffé à 60°C pendant 5 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le milieu réactionnel est versé dans 110 mL de soude 1M et extrait trois fois avec l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **134** (2,18 g, 89 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,33 (t, 3H, **H6**, $J = 7,0$ Hz) ; 4,31 (q, 2H, **H5**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,43 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,5$ Hz) ; 7,75 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,5$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,1 (**C6**) ; 62,1 (**C5**) ; 126,5 (**C1**) ; 128,1 (**C2'**) ; 131,0 (**C4'**) ; 131,3 (**C3'**) ; 135,8 (**C1'**) ; 140,1 (**C3**) ; 158,6 (**C2**) ; 160,1 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 347,9 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{12}H_{10}^{81}Br^{35}ClNO_2S^+$ $[M+H]^+$: 347,9284, trouvée : 347,9290.

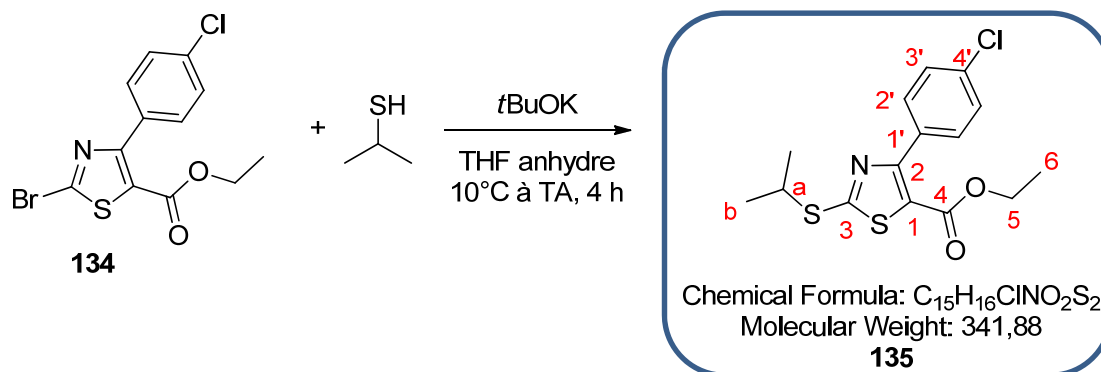
IR :

ν (cm^{-1}) : 2977 (**CH** st), 1904, 1718 (**C=O** st), 1594, 1570, 1519 et 1474 (**arC-C**), 1400, 1386, 1364, 1315 et 1300 (**C-O** st), 1271, 1235 (**CO-O** st as), 1181, 1131, 1075, 1015 (**C-Br** st), 958, 895, 843, 829 et 763 (**arC-H** δ), 730, 717, 691, 668, 626.

AE :

Théorique %C = 41,58 ; %H = 2,62 ; %N = 4,04 ; %O = 9,23 ; %S = 9,25.

Trouvée %C = 41,59 ; %H = 2,59 ; %N = 4,02 ; %O = 9,20 ; %S = 8,89.

4-(4-chlorophényl)-2-(isopropylthio)thiazole-5-carboxylate d'éthyle **135**

Le propane-2-thiol (1,77 mL, 0,144 g, 1,89 mmol, 1,1 éq.) et le *tert*-butoxyde de potassium (0,213 g, 1,89 mmol, 1,1 éq.) sont ajoutés à une solution de thiazole bromé **134** (0,600 g, 1,74 mmol, 1 éq.) dans 18 mL de THF anhydre à 10°C. Le milieu réactionnel est agité pendant 4 heures à température ambiante.

Le milieu réactionnel est dilué dans de l'eau et de l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est ensuite extraite deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 7:3 (v/v) en 25 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **135** (0,450 g, 76 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,31 (t, 3H, **H6**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,50 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,97 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 4,28 (q, 2H, **H5**, $J = 7,2$ Hz) ; 7,41 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,76 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,2 (**C6**) ; 23,1 (**Cb**) ; 39,8 (**Ca**) ; 61,5 (**C7**) ; 121,8 (**C1**) ; 127,9 (**C2'**) ; 131,4 (**C3'**) ; 132,2 (**C4'**) ; 135,3 (**C1'**) ; 158,7 (**C2**) ; 161,0 (**C4**) ; 169,4 (**C3**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 342,1 $[M+H]^+$ et 364,0 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{15}H_{17}^{35}ClNO_2S_2^+$ $[M+H]^+$: 342,0389, trouvée : 342,0389 ;

$C_{15}H_{16}^{35}ClNO_2S_2^+$ $[M+Na]^+$: 364,0209, trouvée : 364,0211.

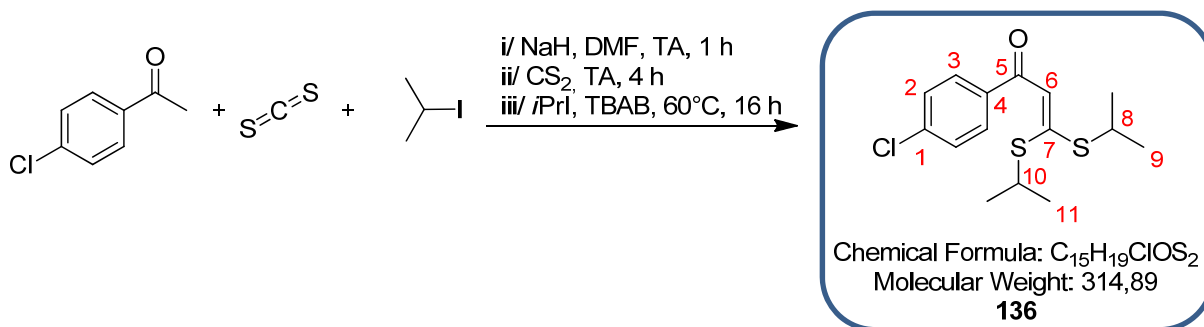
IR :

ν (cm^{-1}) : 2974 et 2933 et 2862 (**CH st**), 1912, 1711 (**C=O st**), 1593, 1514 et 1477 (**arC-C**), 1470, 1440, 1272, 1233 (**CO-O st as**), 1181, 1094, 1073, 1015, 961, 880, 835 et 761 (**arC-H δ**), 730, 632.

AE :

Théorique %C = 52,70 ; %H = 4,72 ; %N = 4,10 ; %O = 9,36 ; %S = 18,76.

Trouvée %C = 52,64 ; %H = 4,77 ; %N = 4,12 ; %O = 9,58 ; %S = 18,40.

1-(4-chlorophényl)-3,3-bis(isopropylthio)prop-2-èn-1-one **136**

L'hydrure de sodium à 60 % dans de l'huile (0,272 g, 6,78 mmol, 3 éq.) est ajouté au 1-(4-chlorophényl)éthanone (0,294 mL, 0,350 g, 2,26 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le DMF (4 mL) à température ambiante. Le milieu réactionnel orange est agité pendant 1 heure à température ambiante. Le disulfure de carbone (0,150 mL, 0,190 g, 2,49 mmol, 1,1 éq.) est ensuite additionné goutte-à-goutte à température ambiante. Le mélange réactionnel devenu rouge foncé est agité pendant 4 heures à température ambiante. L'iodure d'isopropyle (0,678 mL, 1,16 g, 6,78 mmol, 3 éq.) et le TBAB (0,146 g, 0,46 mmol, 0,45 éq.) sont ajoutés goutte-à-goutte à température ambiante. Le milieu réactionnel est agité à 60°C pendant 16 heures.

Le milieu est ensuite évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'eau. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/CH₂Cl₂ 1:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner le composé **136** (0,529 g, 74 % de rendement) sous forme d'une huile jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

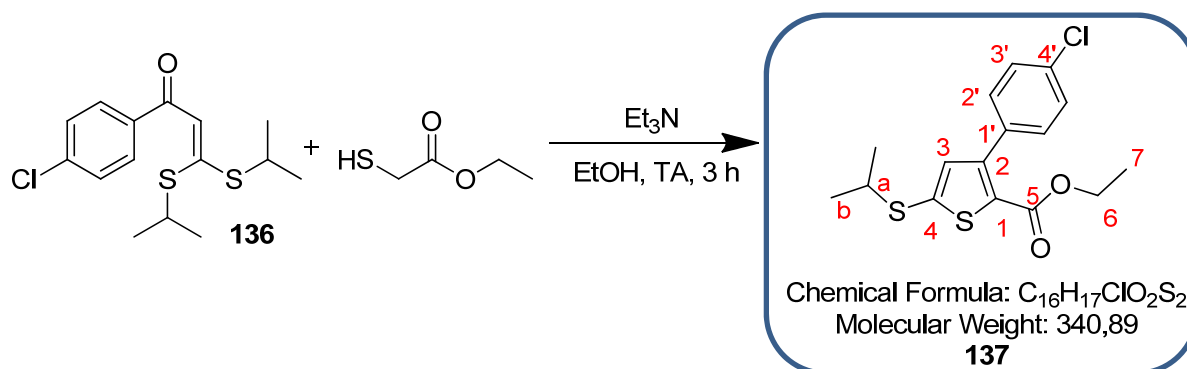
δ (ppm) : 1,42 (d, 6H, **H9** ou **H11**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,48 (d, 6H, **H9** ou **H11**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,25 (h, 1H, **H8** ou **H10**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,86 (h, 1H, **H8** ou **H10**, *J* = 6,9 Hz) ; 6,87 (s, 1H, **H6**) ; 7,45 (d, 2H, **H2**, *J* = 8,5 Hz) ; 7,90 (d, 2H, **H3**, *J* = 8,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 22,4 (**C9** ou **C11**) ; 23,5 (**C9** ou **C11**) ; 36,2 (**C8** ou **C10**) ; 42,5 (**C8** ou **C10**) ; 112,4 (**C6**) ; 128,9 (**C2**) ; 129,4 (**C3**) ; 137,9 (**C4**) ; 138,2 (**C1**) ; 163,9 (**C7**) ; 184,6 (**C5**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 337,1 [M+Na]⁺.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

3-(4-chlorophényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **137**

Au composé **136** (0,529 g, 1,65 mmol, 1 éq.) solubilisé dans l'éthanol (10 mL) sont ajoutés le thioglycolate d'éthyle (0,187 mL, 0,205 g, 1,73 mmol, 1,05 éq.) puis le carbonate de potassium (0,249 g, 1,82 mmol, 1,1 éq.).

Après 3 heures d'agitation à reflux de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **137** (0,135 g, 24 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

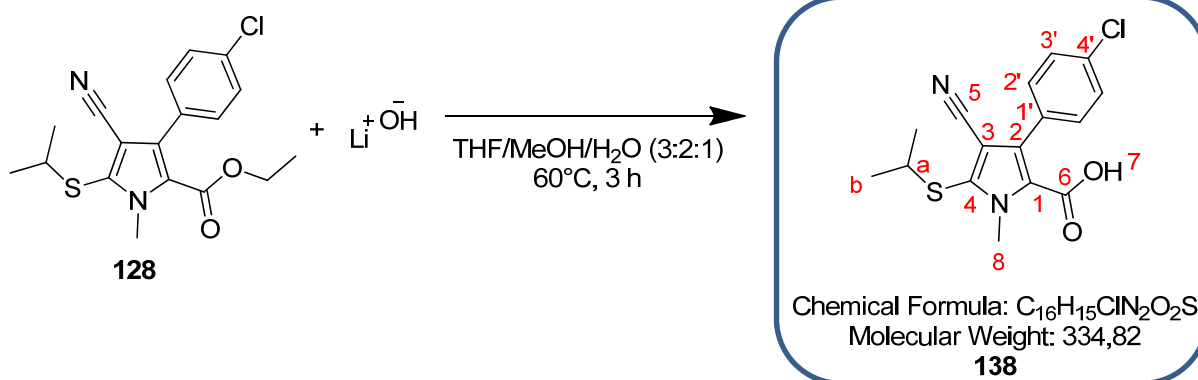
δ (ppm) : 1,26 (t, 3H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,36 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,35 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,24 (q, 2H, **H6**, $J = 7,2$ Hz) ; 7,01 (s, 1H, **H3**) ; 7,39 (m, 4H, **H2'** et **H3'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,4 (**C7**) ; 23,5 (**Cb**) ; 41,9 (**Ca**) ; 61,4 (**C6**) ; 128,5 (**C2'**) ; 129,4 (**C1**) ; 130,8 (**C3'**) ; 134,1 (**C4'**) ; 134,3 (**C1'**) ; 136,5 (**C3**) ; 141,4 (**C4**) ; 147,8 (**C2**) ; 161,0 (**C5**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 363,0 [M+Na]⁺.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

acide 3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-1-méthyl-1H-pyrrole-2-carboxylique **138**

De l'hydroxyde de lithium monohydraté (0,073 g, 3,06 mmol, 3 équ.) est ajouté au composé **128** (0,370 g, 1,02 mmol, 1 équ.) solubilisé dans un mélange THF/MeOH/H₂O (3,8 mL, 3:2:1, (v/v)). Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à 60°C.

Après 3 heures, le milieu réactionnel est refroidi à température ambiante et 3 mL d'acide chlorhydrique 1N y sont versés. Le milieu est extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **138** (0,302 g, 89 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,35 (d, 6H, **Hb**, *J* = 7,0 Hz) ; 3,50 (h, 1H, **Ha**, *J* = 7,0 Hz) ; 4,06 (s, 3H, **H8**) ; 7,36 (d, 2H, **H3'**, *J* = 6,5 Hz) ; 7,41 (d, 2H, **H2'**, *J* = 6,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 35,5 (**C8**) ; 41,8 (**Ca**) ; 103,8 (**C3**) ; 114,6 (**C5**) ; 121,4 (**C1**) ; 128,4 (**C2'**) ; 131,0 (**C1'**) ; 131,1 (**C3'**) ; 134,5 (**C4'**) ; 136,2 (**C2**) ; 137,9 (**C4**) ; 164,3 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 289,0 [M-CO₂-H]⁻ ; 333,0 [M-H]⁻.

Haute résolution calculée pour C₁₆H₁₄³⁵ClN₂O₂S⁻ [M-H]⁻ : 333,0465, trouvée : 333,0464.

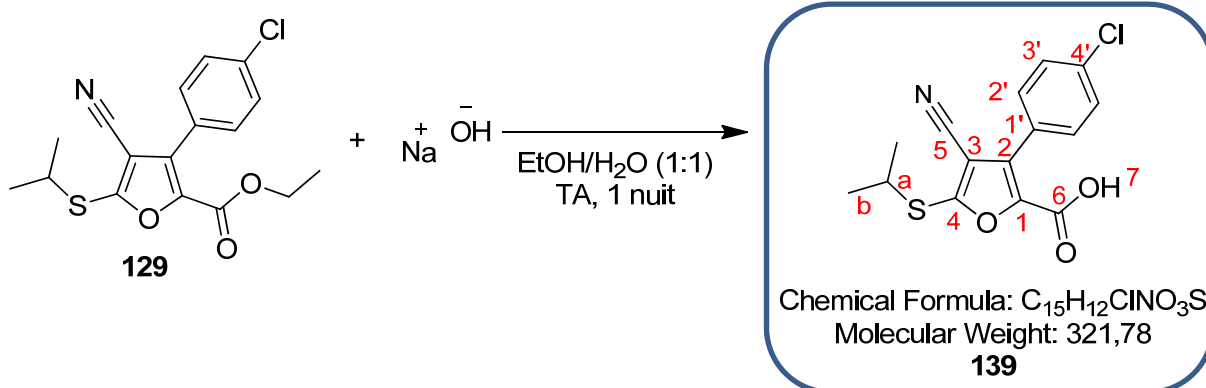
IR :

ν (cm⁻¹) : 2966 et 2929 et 2859 (**CH** st), 2619 et 2545 et 2495 (**O-H** st), 2225 (**C≡N** st), 1659 (**C=O** st), 1650, 1603, 1569, 1538 et 1490 (**arC-C**), 1468, 1446, 1426, 1403, 1366, 1283, 1250, 1218, 1150, 1128, 1089, 1052, 1038, 1012, 947, 921 (**O-H** δ oop), 868, 821 et 738 (**arC-H** δ), 793, 781, 719, 708, 688, 660, 624, 610.

AE :

Théorique %C = 57,40 ; %H = 4,52 ; %N = 8,37 ; %O = 9,56 ; %S = 9,58.

Trouvée %C = 57,46 ; %H = 4,74 ; %N = 8,25 ; %O = 9,48 ; %S = 9,25.

acide 3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)furan-2-carboxylique **139**

Une solution aqueuse de soude 2M (1,6 mL, 0,130 g, 3,24 mmol, 5 éq.) est ajoutée au composé **129** (0,227 g, 0,65 mmol, 1 éq.) solubilisé dans l'éthanol (1,6 mL).

Après agitation pendant une nuit à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (3,4 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide rosé, le composé **139** (0,181 g, 87 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,40 (d, 6H, **Hb**, *J* = 7,0 Hz) ; 3,80 (h, 1H, **Ha**, *J* = 7,0 Hz) ; 7,30 (d, 2H, **H3'**, *J* = 6,5 Hz) ; 7,37 (d, 2H, **H2'**, *J* = 6,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 23,7 (**Cb**) ; 40,2 (**Ca**) ; 102,2 (**C3**) ; 111,6 (**C5**) ; 125,9 (**C2**) ; 128,8 (**C2'**) ; 130,9 (**C3'**) ; 136,1 (**C1'**) ; 136,5 (**C4'**) ; 139,7 (**C1**) ; 161,8 (**C4**) ; 162,3 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 233,0 [M-CO₂-iPr-H]⁻ ; 276,0 [M-CO₂-H]⁻ ; 320,0 [M-H]⁻.

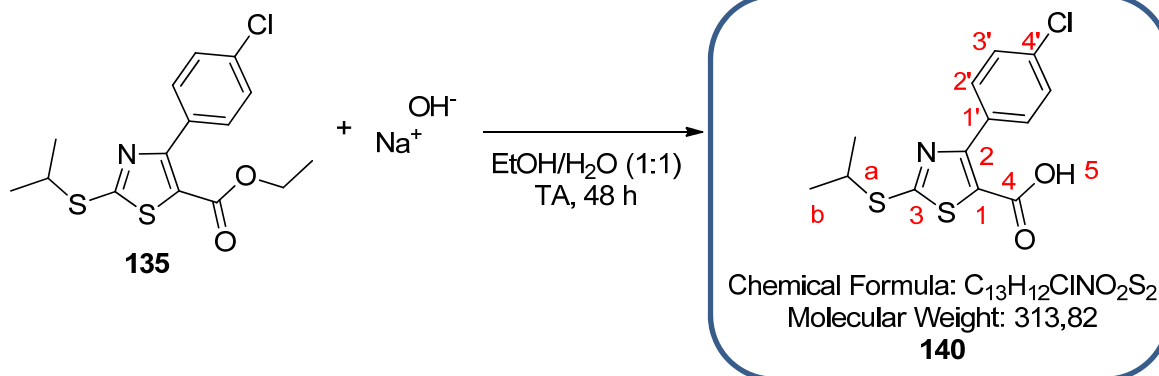
Haute résolution calculée pour C₁₅H₁₁³⁵Cl O₃S⁻ [M-H]⁻ : 320,0148, trouvée : 320,0152.

IR :

ν (cm⁻¹) : 2970 et 2925 et 2868 (**CH** st), 2585 (**O-H** st), 2228 (**C≡N** st), 1672 (**C=O** st), 1604, 1578, 1562, 1495 et 1478 (**arC-C**), 1433, 1401, 1365, 1310, 1258, 1243, 1199, 1161, 1107, 1094, 1061, 1016, 975, 942, 926 (**O-H** δ oop), 880, 834 (**arC-H** δ), 802, 768, 738, 726, 681, 649, 617.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 3,46 min, 92 %.

acide 4-(4-chlorophényl)-2-(isopropylthio)thiazole-5-carboxylique **140**

Une solution de soude 2M (1,1 mL, 0,088 g, 2,19 mmol, 5 éq.) est ajoutée à une solution de thiazole **135** (0,600 g, 1,74 mmol, 1 éq.) dans 1,1 mL d'éthanol.

Après 48 heures d'agitation à température ambiante, 2,2 mL d'acide chlorhydrique 1N sont ajoutés au milieu réactionnel entraînant la formation d'un précipité blanc. Le milieu réactionnel est agité pendant 1h30 puis filtré sur fritté. Le précipité est lavé avec de l'eau et récupéré en le solubilisant dans du dichlorométhane. La solution est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite pour donner le composé **140** (0,131 g, 95 % de rendement) sous forme d'un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,42 (d, 6H, **H_b**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,88 (h, 1H, **H_a**, *J* = 6,9 Hz) ; 7,30 (d, 2H, **H_{3'}**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,63 (d, 2H, **H_{2'}**, *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 23,1 (**C_b**) ; 39,9 (**C_a**) ; 120,7 (**C_{1'}**) ; 128,1 (**C_{2'}**) ; 131,5 (**C_{3'}**) ; 131,8 (**C_{4'}**) ; 135,6 (**C₁**) ; 160,2 (**C₂**) ; 166,2 (**C₃**) ; 171,4 (**C₄**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 268,0 [M-CO₂-H]⁻ ; 312,0 [M-H]⁻.

Haute résolution calculée pour C₁₃H₁₁³⁵ClNO₂S₂⁻ [M-H]⁻ : 311,9920, trouvée : 311,9928.

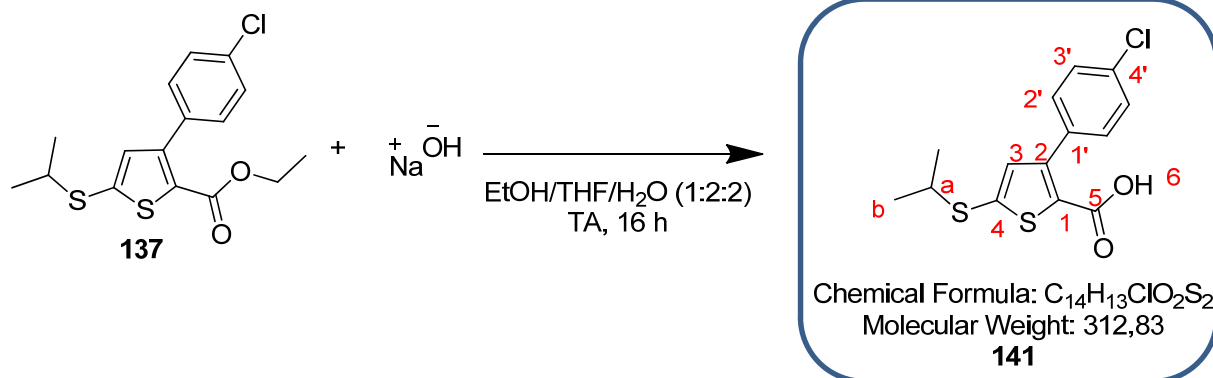
IR :

v (cm⁻¹) : 2970 et 2921 et 2861 et 2779 (**CH st**), 2525, 1672 (**C=O st**), 1657, 1597, 1570, 1477 (**arC-C**), 1462, 1139, 1089, 1056, 1014, 883, 827 et 763 (**arC-H δ**), 734, 694, 682, 628.

AE :

Théorique %C = 49,75 ; %H = 3,85 ; %N = 4,46 ; %O = 10,20.

Trouvée %C = 49,82 ; %H = 4,00 ; %N = 4,39 ; %O = 9,94.

acide 3-(4-chlorophényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **141**

Une solution aqueuse de soude 2M (2,4 mL, 0,209 g, 5,28 mmol, 13 éq.) est ajoutée au composé **137** (0,135 g, 0,40 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (3,6 mL).

Après agitation pendant 16 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (5,0 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **141** (0,060 g, 48 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,39 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,40 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,01 (s, 1H, **H3**) ; 7,39 (m, 4H, **H2'** et **H3'**).

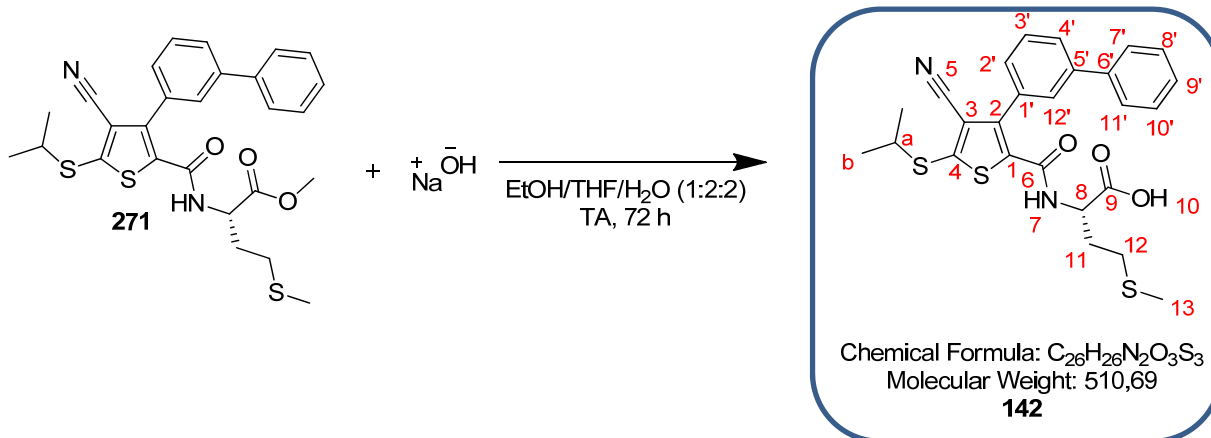
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 41,9 (**Ca**) ; 127,5 (**C2'**) ; 128,4 (**C1**) ; 130,8 (**C3'**) ; 133,1 (**C4'**) ; 134,5 (**C1'**) ; 135,8 (**C3**) ; 143,4 (**C4**) ; 149,5 (**C2**) ; 166,6 (**C5**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 311,0 [M-H] $^-$.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

acide (2S)-2-(3-(biphényl-3-yl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **142**



Une solution aqueuse de soude 2M (0,25 mL, 0,021 g, 0,51 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **271** (0,027 g, 0,05 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,37 mL).

Après agitation pendant 72 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,6 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par plaque préparative (éluant CH₂Cl₂/MeOH 95:5 (v/v)) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **142** (0,016 g, 62 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 1,33 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 1,66 (m, 1H, **H11**) ; 1,79 (s, 3H, **H13**) ; 1,88 (m, 1H, **H11**) ; 1,99 (m, 2H, **H12**) ; 3,51 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 4,36 (m, 1H, **H8**) ; 7,25 à 7,65 (m, 9H, **H_{ar}**).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 15,2 (**C13**) ; 23,5 (**Cb**) ; 30,8 (**C12**) ; 32,1 (**C11**) ; 43,8 (**Ca**) ; 54,0 (**C8**) ; 114,7 (**C3**) ; 117,4 (**C5**) ; 128,3 (2**CH_{ar}**) ; 128,9 (**CH_{ar}**) ; 129,0 (**CH_{ar}**) ; 129,3 (**CH_{ar}**) ; 129,5 (**CH_{ar}**) ; 130,0 (2**CH_{ar}**) ; 130,9 (**CH_{ar}**) ; 133,8 (**C_{ar}**) ; 137,7 (**C1**) ; 141,5 (**C2**) ; 143,6 (**C_{ar}**) ; 144,8 (**C_{ar}**) ; 151,3 (**C4**) ; 162,5 (**C6**) ; 171,3 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 511,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₆H₂₇N₂O₃S₃⁺ [M+H]⁺ : 511,1184, trouvée : 511,1195.

IR :

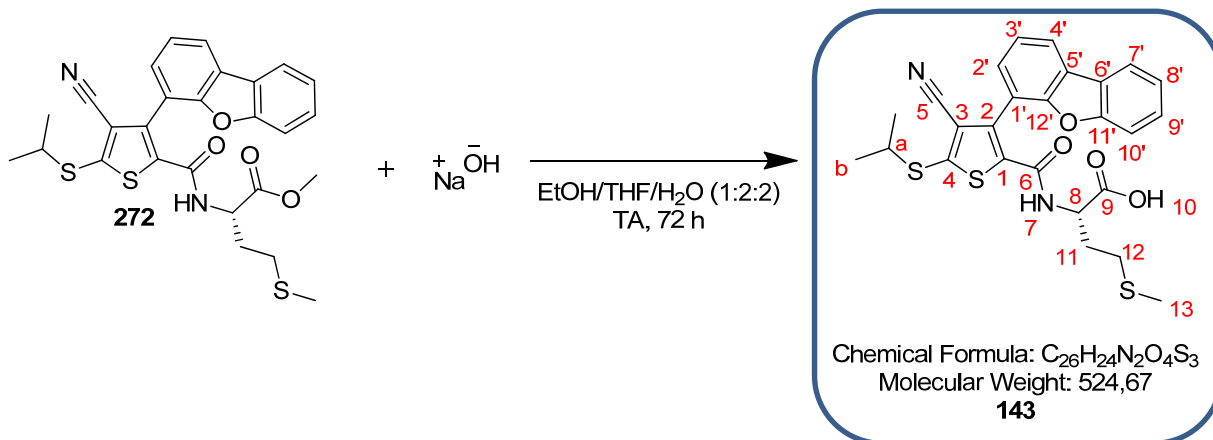
ν (cm⁻¹) : 3393 (**NH st**), 2971 et 2918 (**CH st**), 2223 (**C≡N st**), 1598 (**C=O_{acide} st**), 1532 (**NH δ**), 1400, 1362, 1242, 1021, 759, 697.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,73 min, 60 %.

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -29,4° (MeOH, 0,68).

acide (2S)-2-(4-cyano-3-(dibenzo[b,d]furan-4-yl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **143**

Une solution aqueuse de soude 2M (0,27 mL, 0,022 g, 0,54 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **272** (0,029 g, 0,05 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,41 mL).

Après agitation pendant 72 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,6 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par plaque préparative (éluant $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v)) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **143** (0,028 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 1,35 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,50 (m, 2H, **H11**) ; 1,66 (s, 3H, **H13**) ; 1,84 (m, 2H, **H12**) ; 3,55 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,26 (m, 1H, **H8**) ; 7,29 à 7,54 (m, 5H, **H_{ar}**) ; 7,96 à 8,10 (m, 2H, **H_{ar}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 15,0 (**C13**) ; 23,5 (**Cb**) ; 30,7 (**C12**) ; 31,8 (**C11**) ; 43,8 (**Ca**) ; 53,4 (**C8**) ; 112,9 (**CH_{ar}**) ; 114,3 (**C3**) ; 117,4 (**C5**) ; 117,6 (**C_{ar}**) ; 122,2 (**CH_{ar}**) ; 123,6 (**CH_{ar}**) ; 124,6 (**CH_{ar}**) ; 124,7 (**CH_{ar}**) ; 125,1 (**C_{ar}**) ; 126,6 (**C_{ar}**) ; 129,1 (**CH_{ar}**) ; 129,3 (**CH_{ar}**) ; 138,9 (**C1**) ; 138,9 (**C2**) ; 151,7 (**C4**) ; 154,5 (**C_{ar}**) ; 157,6 (**C_{ar}**) ; 162,5 (**C6**) ; 173,8 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 525,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{26}H_{25}N_2O_4S_3^+$ $[M+H]^+$: 525,0976, trouvée : 525,0990.

IR :

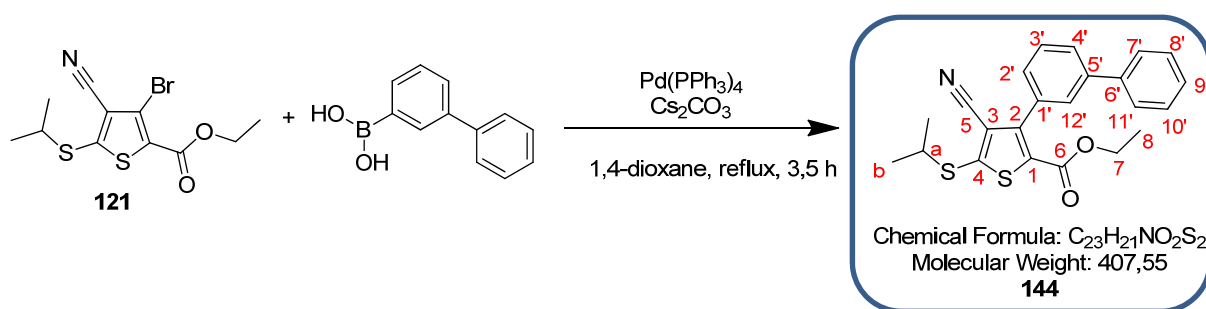
ν (cm^{-1}) : 2957 et 2920 (**CH st**), 2226 (**C \equiv N st**), 1732 (**C=O_{ester} st**), 1631 (**C=O_{amide} st**), 1533 (**NH δ**), 1446, 1415, 1188, 1052, 846, 753.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,58 min, 90 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -31,9^\circ$ (MeOH, 0,94).

3-(biphényl-3-yl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **144**

A une solution du composé **121** (0,283 g, 0,85 mmol, 1 éq.) dans 8,1 mL de 1,4-dioxane sont additionnés le tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) (0,098 g, 0,08 mmol, 0,1 éq.), le carbonate de césium (0,690 g, 2,12 mmol, 2,5 éq.) et l'acide biphényl-3-yl-boronique (0,335 g, 1,69 mmol, 2 éq.).

Après 3,5 heures d'agitation à reflux, le milieu réactionnel est dilué dans l'eau puis extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 75:25 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **144** (0,209 g, 61 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,19 (t, 3H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,5$ Hz) ; 3,67 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,5$ Hz) ; 4,22 (q, 2H, **H7**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,38 à 7,69 (m, 9H, **H_{ar}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,3 (**Ca**) ; 61,8 (**C7**) ; 113,7 (**C3**) ; 114,9 (**C5**) ; 127,2 (**CH_{ar}**) ; 127,3 (**CH_{ar}**) ; 127,5 (**CH_{ar}**) ; 127,9 (**CH_{ar}**) ; 128,2 (**CH_{ar}**) ; 128,5 (**CH_{ar}**) ; 128,8 (**CH_{ar}**) ; 129,4 (**C_{ar}**) ; 132,6 (**C1**) ; 140,4 (**C_{ar}**) ; 140,7 (**C_{ar}**) ; 141,1 (**C2**) ; 153,1 (**C4**) ; 160,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 430,1 [$M+Na$] $^+$.

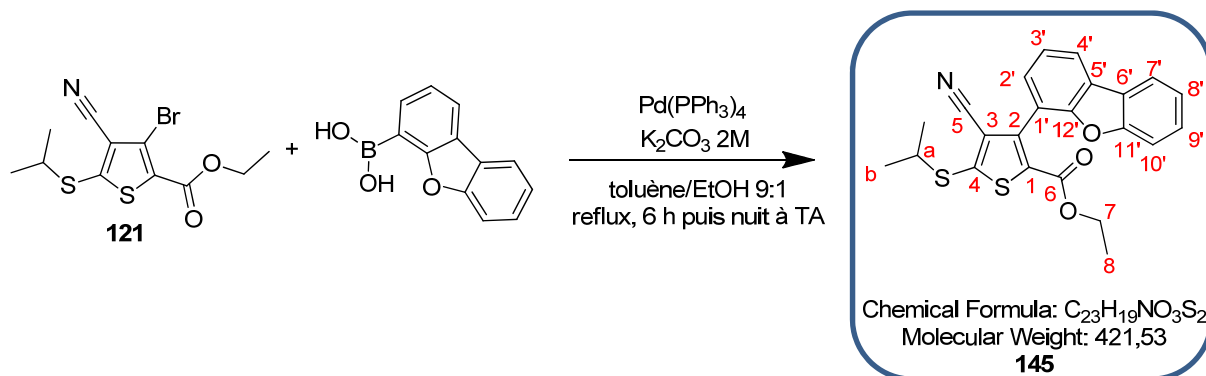
Haute résolution calculée pour $C_{23}H_{21}NO_2S_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 430,0911, trouvée : 430,0902.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2980 et 2923 (**CH st**), 2217 (**C \equiv N st**), 1719 (**C=O st**), 1525, 1474 (**arC-C**), 1397, 1354, 1252, 1173, 1087, 1040, 1020, 875, 798 (**arC-H δ**), 753, 704.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,76 min, 74 %.

4-cyano-3-(dibenzo[b,d]furan-4-yl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **145**

A une solution du composé **121** (0,294 g, 0,88 mmol, 1 éq.) dans 7,6 mL de toluène et 0,8 mL d'éthanol sont additionnés le tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) (0,102 g, 0,09 mmol, 0,1 éq.), le carbonate de potassium 2M dans l'eau (1,10 mL, 0,304 g, 2,20 mmol, 2,5 éq.) et l'acide dibenzo[b,d]furan-4-ylboronique (0,227 g, 1,49 mmol, 2 éq.).

Après 6 heures d'agitation à reflux puis une nuit à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué dans l'eau puis extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 75:25 (v/v) en 35 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **145** (0,274 g, 74 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 0,82 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,41 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,59 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,97 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 7,27 à 7,44 (m, 5H, **H_{ar}**) ; 7,88 à 7,97 (m, 2H, **H_{ar}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 13,7 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,4 (**Ca**) ; 61,6 (**C7**) ; 111,7 (**CH_{ar}**) ; 113,4 (**C_{ar}**) ; 116,2 (**C3**) ; 117,1 (**C5**) ; 120,9 (**CH_{ar}**) ; 121,8 (**CH_{ar}**) ; 122,6 (**CH_{ar}**) ; 123,0 (**CH_{ar}**) ; 124,0 (**C_{ar}**) ; 124,5 (**C_{ar}**) ; 127,5 (**CH_{ar}**) ; 127,7 (**CH_{ar}**) ; 131,5 (**C1**) ; 142,5 (**C2**) ; 153,0 (**C4**) ; 153,6 (**C_{ar}**) ; 156,0 (**C_{ar}**) ; 160,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 444,1 [$M+Na$] $^+$.

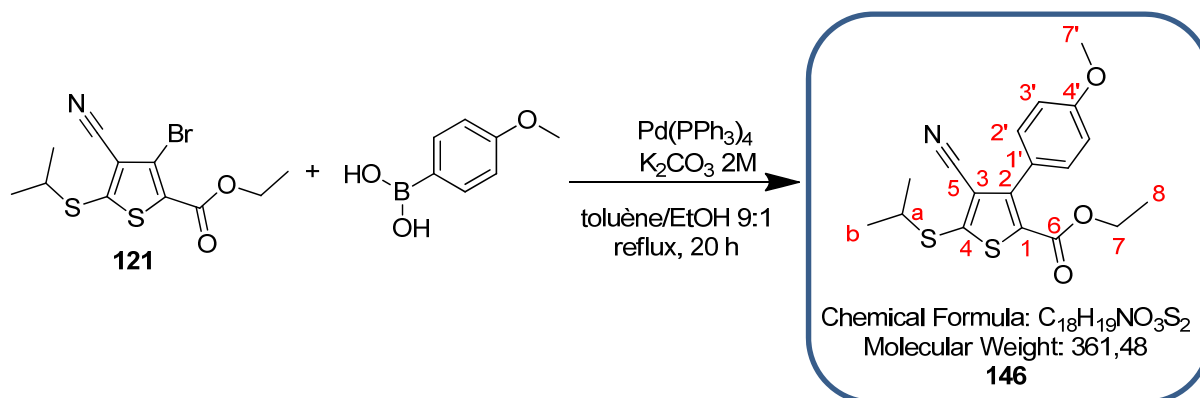
Haute résolution calculée pour $C_{23}H_{19}NO_3S_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 444,0704, trouvée : 444,0710.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2960 et 2971 et 2899 (**CH st**), 2222 (**C \equiv N st**), 1721 (**C=O st**), 1577, 1526 et 1449 (**arC-C**), 1399, 1353 (**C-O st**), 1274 (**CO-O st as**), 1228, 1160, 1046, 875, 778 et 751 (**arC-H δ**), 715, 682.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,67 min, 92 %.

4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(4-méthoxyphényl)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **146**

A une solution du composé **121** (0,709 g, 2,12 mmol, 1 éq.) dans 18,3 mL de toluène et 2,0 mL d'éthanol sont additionnés le tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) (0,245 g, 0,21 mmol, 0,1 éq.), le carbonate de potassium 2M dans l'eau (2,65 mL, 0,733 g, 5,30 mmol, 2,5 éq.) et l'acide 4-méthoxyphénylboronique (0,645 g, 4,24 mmol, 2 éq.).

Après 20 heures d'agitation à reflux, le milieu réactionnel est dilué dans l'eau puis extrait quatre fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 85:15 (v/v) en 35 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **146** (0,302 g, 50 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,23 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,46 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,63 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,85 (s, 3H, **H7'**) ; 4,22 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 6,97 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,7$ Hz) ; 7,38 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,7$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,1 (**Ca**) ; 55,3 (**C7'**) ; 61,6 (**C7**) ; 113,5 (**C3'** et **C5'**) ; 113,8 (**C3**) ; 116,0 (**C5**) ; 124,2 (**C1'**) ; 128,6 (**C1**) ; 130,8 (**C2'** et **C6'**) ; 149,1 (**C2**) ; 152,7 (**C4**) ; 160,2 (**C4'**) ; 160,3 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 384,1 $[M+Na]^+$.

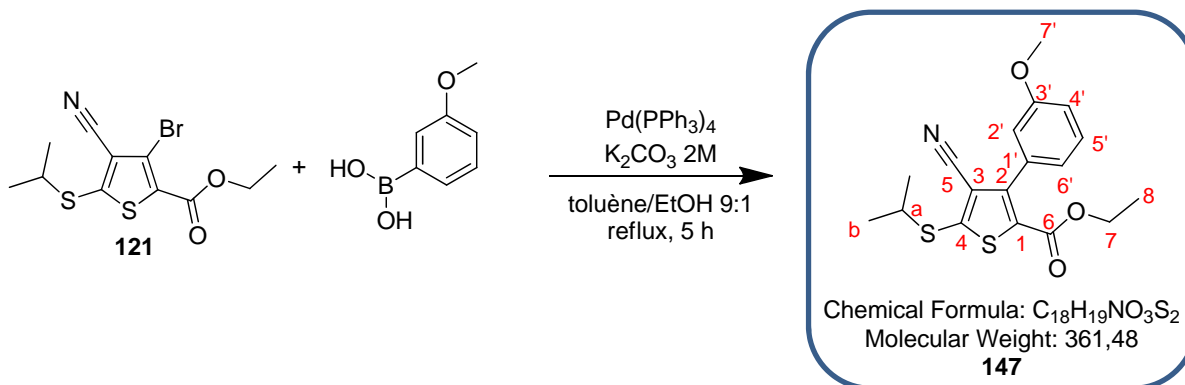
Haute résolution calculée pour $C_{18}H_{19}NO_3S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 384,0704, trouvée : 384,0722.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2971 et 2918 et 2837 (**CH** st), 2216 (**C \equiv N** st), 1713 (**C=O** st), 1610, 1530, 1496 et 1458 (**arC-C**), 1365, 1358, 1264, 1250, 1180, 1083, 1024, 828 et 759 (**arC-H** δ), 732, 677.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,17 min, 77 %.

4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(3-méthoxyphényl)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **147**

A une solution du composé **121** (0,250 g, 0,75 mmol, 1 éq.) dans 6,4 mL de toluène et 0,7 mL d'éthanol sont additionnés le tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) (0,086 g, 0,07 mmol, 0,1 éq.), le carbonate de potassium 2N dans l'eau (0,93 mL, 0,258 g, 1,87 mmol, 2,5 éq.) et l'acide 3-méthoxyphénylboronique (0,227 g, 1,49 mmol, 2 éq.).

Après 5 heures d'agitation à reflux, le milieu réactionnel est dilué dans l'eau puis extrait quatre fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 85:15 (v/v) en 35 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **147** (0,111 g, 41 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,21 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,65 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,85 (s, 3H, **H7'**) ; 4,22 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 6,98 (m, 3H, **H4'** et **H2'** et **H6'**) ; 7,37 (t, 1H, **H5'**, $J = 8,1$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 13,9 (**C8**) ; 23,1 (**Cb**) ; 42,2 (**Ca**) ; 55,3 (**C7'**) ; 61,7 (**C7**) ; 113,6 (**C3**) ; 114,8 et 114,9 (**C2'** et **C4'**) ; 116,0 (**C5**) ; 121,6 (**C6'**) ; 129,1 (**C5'**) ; 129,4 (**C1**) ; 133,4 (**C1'**) ; 148,9 (**C2**) ; 152,7 (**C4**) ; 159,2 (**C3'**) ; 160,1 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 384,1 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{18}H_{19}NO_3S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 384,0704, trouvée : 384,0710.

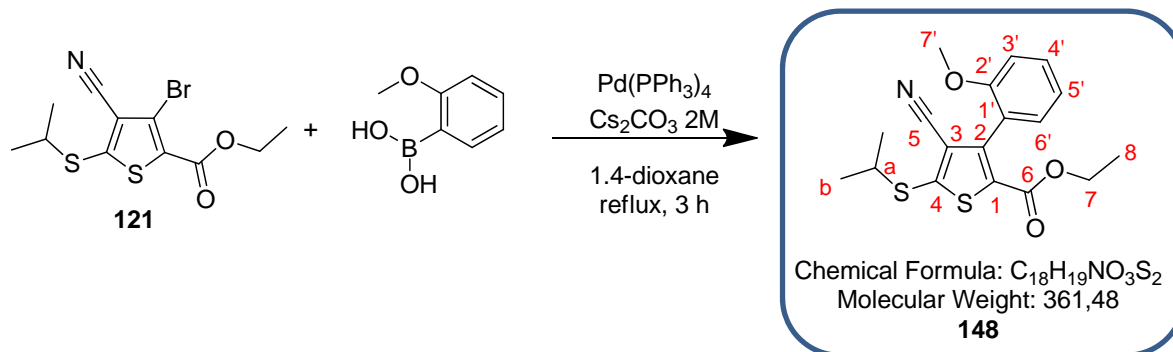
IR :

ν (cm^{-1}) : 2976 et 2899 (**CH** st), 2223 (**C \equiv N** st), 1721 (**C=O** st), 1608, 1578, 1527, 1449 (**arC-C**), 1399, 1353, 1274, 1228, 1184, 1161, 1045, 1018, 875, 779 et 751 (**arC-H** δ), 715, 682.

AE :

Théorique %C = 59,81 ; %H = 5,30 ; %N = 3,87 ; %O = 13,28 ; %S = 17,74.

Trouvée %C = 59,96 ; %H = 5,30 ; %N = 4,07 ; %O = 13,29 ; %S = 17,94.

4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(2-méthoxyphényl)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **148**

A une solution du composé **121** (0,844 g, 2,53 mmol, 1 éq.) dans 24 mL de 1,4-dioxane sont additionnés le tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) (0,292 g, 0,25 mmol, 0,1 éq.), le carbonate de césium (2,06 g, 6,31 mmol, 2,5 éq.) et l'acide 2-méthoxyphénylboronique (1,00 g, 5,05 mmol, 2 éq.).

Après 3 heures d'agitation à reflux, le milieu réactionnel est dilué dans l'eau puis extrait quatre fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/CH₂Cl₂ 50:50 (v/v) en 45 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **148** (0,704 g, 68 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,07 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,36 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,72 (s, 3H, **H7'**) ; 4,09 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 6,94 (m, 2H, **H3'** et **H5'**) ; 7,17 (m, 1H, **H4'**) ; 7,33 (m, 1H, **H6'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,3 (**Cb**) ; 42,2 (**Ca**) ; 55,4 (**C7'**) ; 61,4 (**C7**) ; 111,0 (**C3'**) ; 113,7 (**C3**) ; 117,2 (**C5**) ; 120,2 (**C5'**) ; 121,4 (**C1'**) ; 130,5 (**C1**) ; 130,8 et 130,9 (**C4'** et **C6'**) ; 145,6 (**C2**) ; 151,4 (**C4**) ; 156,6 (**C2'**) ; 160,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 384,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₈H₁₉NO₃S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 384,0704, trouvée : 384,0712.

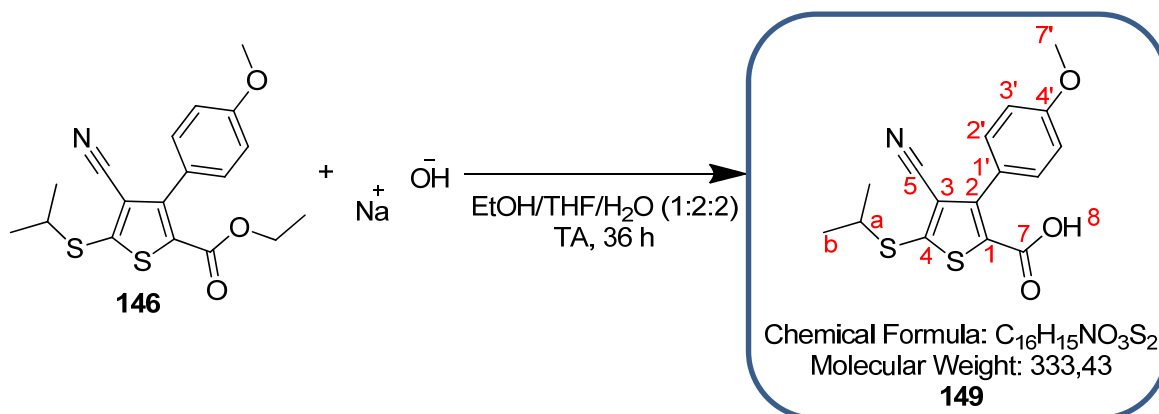
IR :

ν (cm⁻¹) : 2983 et 2909 (**CH** st), 2224 (**C≡N** st), 1717 (**C=O** st), 1601, 1537, 1486 et 1470 (**arC-C**), 1367, 1270, 1245, 1180, 1083, 1023, 842 et 756 (**arC-H** δ), 681.

AE :

Théorique %C = 59,81 ; %H = 5,30 ; %N = 3,87.

Trouvée %C = 60,09 ; %H = 5,27 ; %N = 3,93.

acide 4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(4-méthoxyphényl)thiophène-2-carboxylique **149**

Une solution aqueuse de soude 2M (1,4 mL, 0,111 g, 2,77 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **146** (0,100 g, 0,28 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (2,1 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (3,0 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **149** (0,092 g, rendement quantitatif).

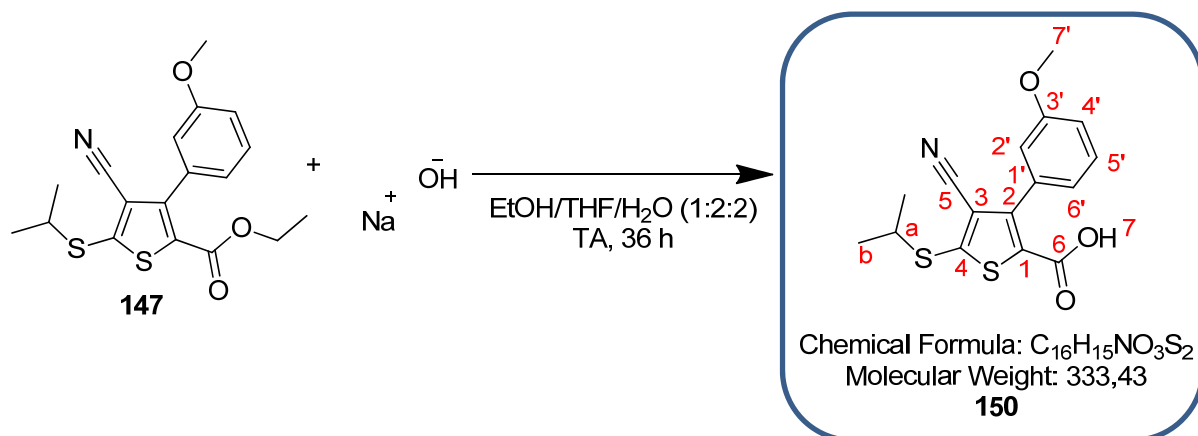
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,45 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,60 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,79 (s, 3H, **H7'**) ; 6,88 (d, 2H, **H3'**, $J = 7,7$ Hz) ; 7,29 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,7$ Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 42,3 (**Ca**) ; 55,4 (**C7'**) ; 113,9 (**C3'** et **C5'**) ; 115,1 (**C3**) ; 115,8 (**C5**) ; 124,2 (**C1'**) ; 129,6 (**C1**) ; 131,0 (**C2'** et **C6'**) ; 149,9 (**C2**) ; 154,4 (**C4**) ; 160,5 (**C4'**) ; 165,3 (**C6**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

acide 4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(3-méthoxyphényl)thiophène-2-carboxylique **150**

Une solution aqueuse de soude 2M (0,5 mL, 0,044 g, 1,11 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **147** (0,040 g, 0,11 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,8 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (2,3 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **150** (0,031 g, 84 % de rendement).

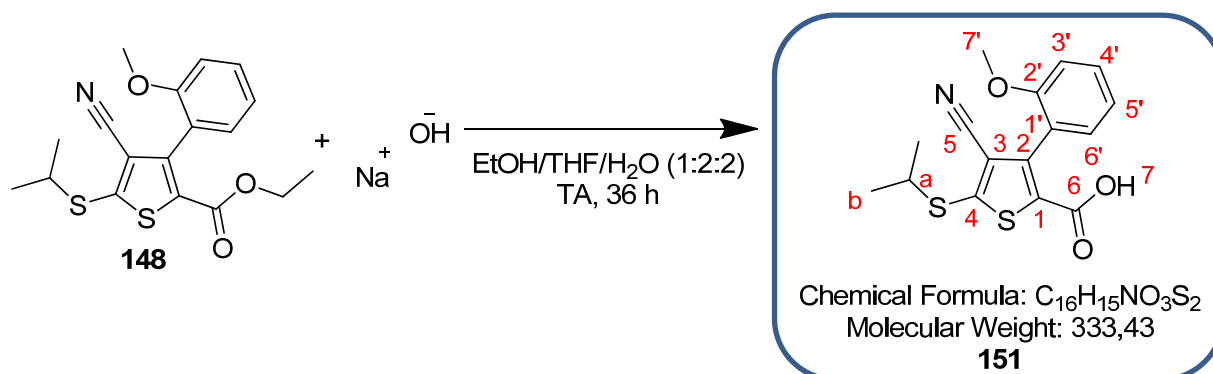
RMN 1H (300 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 1,43 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,66 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,81 (s, 3H, **H7'**) ; 6,98 à 7,05 (m, 3H, **H2'** et **H4'** et **H6'**) ; 7,32 (t, 1H, **H5'**, $J = 7,9$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 23,5 (**Cb**) ; 43,0 (**Ca**) ; 55,7 (**C7'**) ; 114,6 (**C3**) ; 115,2 (**C2'**) ; 116,2 (**C4'**) ; 117,3 (**C5**) ; 122,8 (**C6'**) ; 129,7 (**C5'**) ; 131,5 (**C1**) ; 135,3 (**C1'**) ; 147,7 (**C2**) ; 150,9 (**C4**) ; 160,2 (**C3'**) ; 165,7 (**C6**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

acide 4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(2-méthoxyphényl)thiophène-2-carboxylique **151**

Une solution aqueuse de soude 2M (3,0 mL, 0,233 g, 5,84 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **148** (0,211 g, 0,58 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (4,5 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (6,0 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **151** (0,195 g, rendement quantitatif).

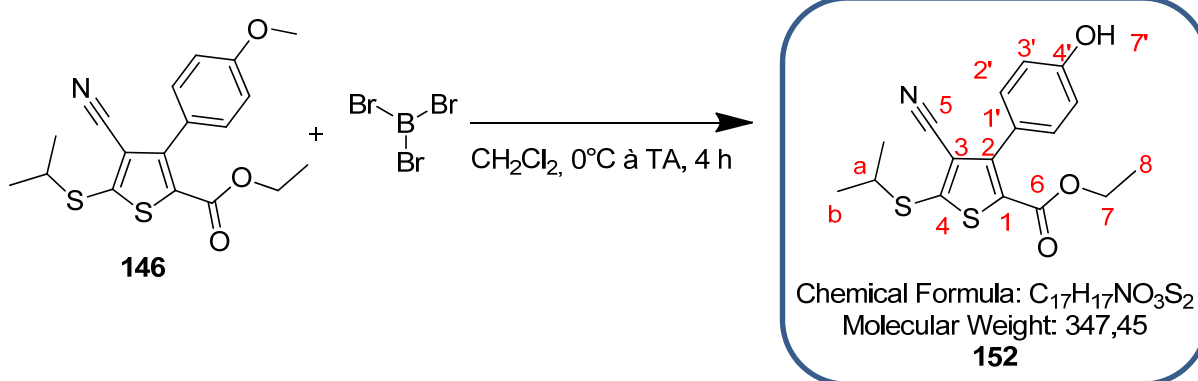
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,43 (d, 6H, **H_b**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,57 (h, 1H, **H_a**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,72 (s, 3H, **H_{7'}**) ; 6,90 (m, 2H, **H_{3'}** et **H_{5'}**) ; 7,12 (m, 1H, **H_{4'}**) ; 7,31 (m, 1H, **H_{6'}**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 23,4 (**C_b**) ; 42,4 (**C_a**) ; 55,9 (**C_{7'}**) ; 111,6 (**C_{3'}**) ; 113,8 (**C₃**) ; 117,0 (**C₅**) ; 120,7 (**C_{5'}**) ; 121,5 (**C_{1'}**) ; 130,5 (**C₁**) ; 131,1 (**C_{4'}** et **C_{6'}**) ; 146,6 (**C₂**) ; 153,1 (**C₄**) ; 156,7 (**C_{2'}**) ; 165,0 (**C₆**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

4-cyano-3-(4-hydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **152**

Au composé **146** (0,117 g, 0,32 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 8,5 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (2,59 mL, 0,649 g, 2,59 mmol, 8 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 2 heures et à température ambiante pendant 2 heures.

8,5 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 10 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, ensuite extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaunâtre, le composé **152** (0,041 g, 37 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,26 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,65 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,25 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 5,81 (s, 1H, **H7'**) ; 6,85 (d, 2H, **H3'** et **H5'**, $J = 8,7$ Hz) ; 7,30 (d, 2H, **H2'** et **H6'**, $J = 8,7$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,3 (**Ca**) ; 61,8 (**C7**) ; 113,9 (**C3**) ; 115,2 (**C3'** et **C5'**) ; 115,8 (**C5**) ; 124,0 (**C1'**) ; 128,2 (**C1**) ; 130,8 (**C2'** et **C6'**) ; 149,4 (**C2**) ; 153,1 (**C4**) ; 156,9 (**C4'**) ; 160,5 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 370,1 $[M+Na]^+$.

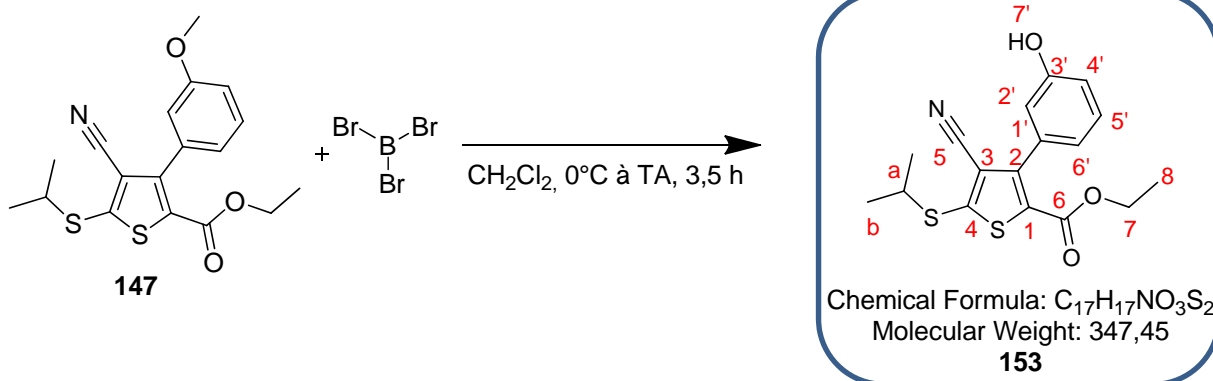
Haute résolution calculée pour $C_{17}H_{17}NO_3S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 370,0548, trouvée : 370,0559.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3365 (**O-H** st), 2961 et 2925 et 2851 (**CH** st), 2219 (**C≡N** st), 1720, 1678 (**C=O** st), 1612, 1501 et 1435 (**arC-C**), 1358, 1266, 1169, 1083, 1039, 842 et 760 (**arC-H** δ), 679.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,47 min, 100 %.

4-cyano-3-(3-hydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **153**

Au composé **147** (0,035 g, 0,10 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 2,5 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (0,775 mL, 0,194 g, 0,77 mmol, 8 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 1,5 heures et à température ambiante pendant 2 heures.

2,5 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 3 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, ensuite extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaunâtre, le composé **153** (0,027 g, 64 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,22 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,64 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 4,22 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 6,87 à 6,99 (m, 3H, **H2'** et **H4'** et **H6'**) ; 7,32 (m, 1H, **H5'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 13,9 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,3 (**Ca**) ; 61,8 (**C7**) ; 113,6 (**C3**) ; 115,7 (**C4'**) ; 116,3 (**C2'**) ; 116,7 (**C5**) ; 121,8 (**C6'**) ; 129,4 (**C5'**) ; 129,6 (**C1**) ; 133,6 (**C1'**) ; 148,6 (**C2**) ; 153,0 (**C4**) ; 155,2 (**C3'**) ; 160,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 370,1 [M+Na]⁺.

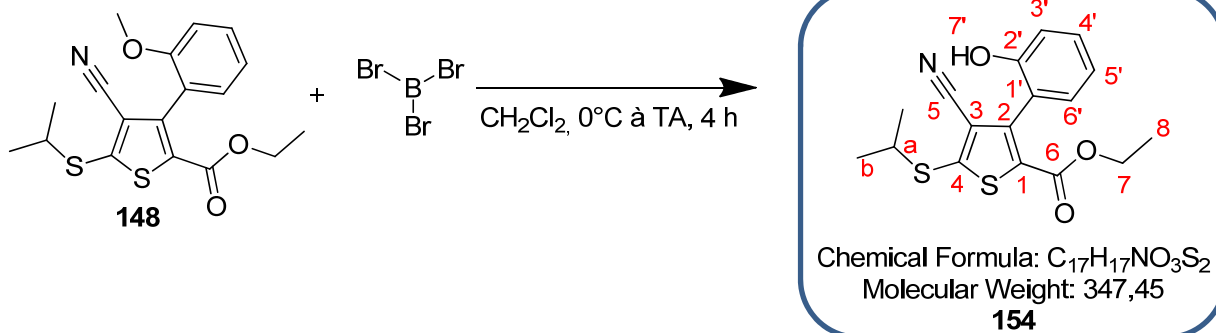
Haute résolution calculée pour $C_{17}H_{17}NO_3S_2Na^+$ [M+Na]⁺ : 370,0548, trouvée : 370,0544.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3208 (**O-H** st), 2966 et 2934 (**CH** st), 2223 (**C≡N** st), 1699 (**C=O** st), 1584, 1532 et 1446 (**arC-C**), 1369, 1295, 1158, 1092, 1043, 872 et 760 (**arC-H** δ), 711.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,48 min, 72 %.

4-cyano-3-(2-hydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **148**

Au composé **148** (0,250 g, 0,69 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 18,0 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (5,53 mL, 1,39 g, 5,53 mmol, 8 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 2 heures et à température ambiante pendant 2 heures.

18,0 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 10 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, ensuite extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaunâtre, le composé **154** (0,110 g, 46 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,05 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,31 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,47 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 4,07 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 5,62 (s, 1H, **H7'**) ; 6,75 à 6,89 (m, 2H, **H3'** et **H5'**) ; 7,06 à 7,18 (m, 2H, **H4'** et **H6'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 13,9 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,3 (**Ca**) ; 62,0 (**C7**) ; 113,6 (**C3**) ; 116,6 (**C5**) ; 116,9 (**C3'**) ; 120,2 (**C1'**) ; 120,8 (**C5'**) ; 130,0 (**C1**) ; 130,7 et 130,9 (**C4'** et **C6'**) ; 145,2 (**C2**) ; 153,0 (**C4**) ; 153,2 (**C2'**) ; 160,8 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 370,1 [M+Na]⁺.

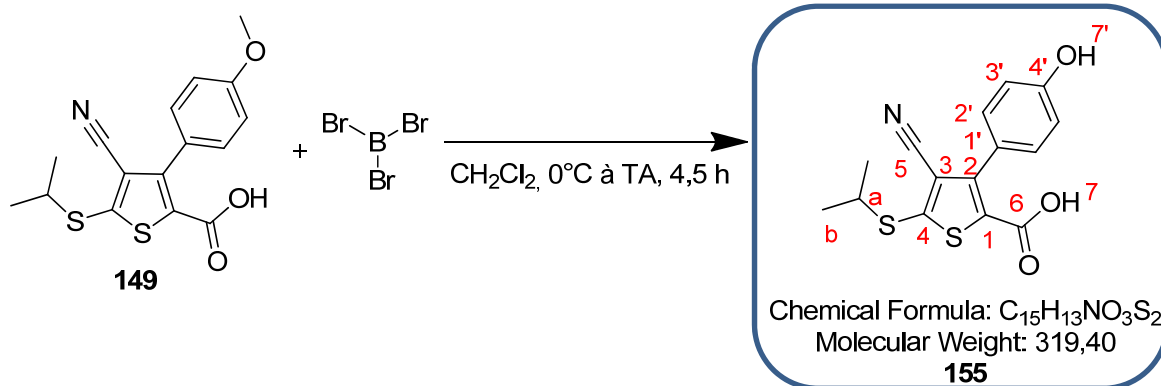
Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₇NO₃S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 370,0548, trouvée : 370,0561.

IR :

v (cm⁻¹) : 3386 (**O-H** st), 2973 et 2935 (**CH** st), 2222 (**C≡N** st), 1690 (**C=O** st), 1611, 1530 et 1495 (**arC-C**), 1445, 1373, 1297, 1221, 1078, 1007, 824 et 758 (**arC-H** δ), 709, 691.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,48 min, 86 %.

acide 4-cyano-3-(4-hydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **155**

Au composé **149** (0,093 g, 0,28 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 7,3 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (2,23 mL, 0,559 g, 2,23 mmol, 8 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 3 heures et à température ambiante pendant 1,5 heures.

7,3 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 10 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par partition de pentane et d'acétonitrile pour donner un solide jaunâtre, le composé **155** (0,069 g, 78 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 1,45 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,72 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 6,92 (d, 2H, **H3'** et **H5'**, $J = 8,7$ Hz) ; 7,35 (d, 2H, **H2'** et **H6'**, $J = 8,7$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 42,9 (**Ca**) ; 114,4 (**C3**) ; 115,6 (**C3'** et **C5'**) ; 117,1 (**C5**) ; 124,4 (**C1'**) ; 130,0 (**C1**) ; 131,9 (**C2'** et **C6'**) ; 150,0 (**C2**) ; 152,6 (**C4**) ; 159,0 (**C4'**) ; 161,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 342,0 [$M+Na$] $^+$.

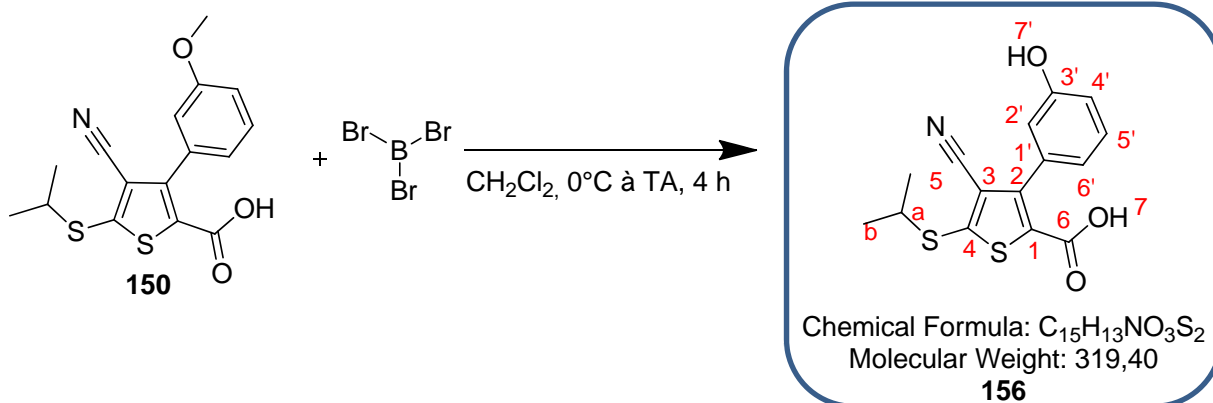
Haute résolution calculée pour $C_{15}H_{13}NO_3S_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 342,0235, trouvée : 342,0242.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3364 (**O-H** st), 2965 et 2924 et 2841 (**CH** st), 2234 (**C \equiv N** st), 1689 (**C=O** st), 1609, 1531, 1493 (**arC-C**), 1414, 1352, 1269, 1194, 1175, 837 et 768 (**arC-H** δ), 678.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,37 min, 100 %.

acide 4-cyano-3-(3-hydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **156**

Au composé **150** (0,031 g, 0,09 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 2,4 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (0,744 mL, 0,186 g, 0,74 mmol, 8 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 2 heures et à température ambiante pendant 2 heures.

4,0 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 2 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par partition de pentane et d'acétonitrile pour donner un solide jaunâtre, le composé **156** (0,027 g, 90 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 1,46 (d, 6H, **H_b**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,73 (h, 1H, **H_a**, $J = 6,6$ Hz) ; 6,91 à 6,94 (m, 3H, **H_{2'}** et **H_{4'}** et **H_{6'}**) ; 7,28 (m, 1H, **H_{5'}**).

RMN ¹³C (75 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 23,4 (**C_b**) ; 42,9 (**C_a**) ; 114,1 (**C₃**) ; 116,8 (**C₅**) ; 116,8 (**C_{2'}**) ; 117,3 (**C_{4'}**) ; 121,5 (**C_{6'}**) ; 129,9 (**C_{5'}**) ; 130,9 (**C₁**) ; 134,8 (**C_{1'}**) ; 149,6 (**C₂**) ; 152,6 (**C₄**) ; 157,9 (**C_{3'}**) ; 161,1 (**C₆**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 342,0 [M+Na]⁺.

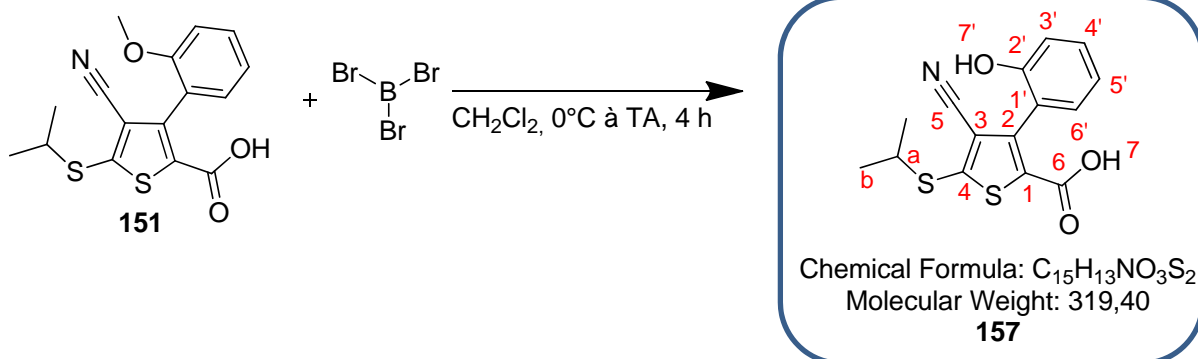
Haute résolution calculée pour $C_{15}H_{13}NO_3S_2Na^+$ [M+Na]⁺ : 342,0235, trouvée : 342,0240.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3384 (**O-H** st), 3197 (**arCH** st), 2971 et 2928 et 2856 (**CH** st), 2228 (**C≡N** st), 1681 (**C=O** st), 1652, 1596, 1524, 1490 (**arC-C**), 1441, 1295, 1187, 870, 791 (**arC-H** δ), 751, 706.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,38 min, 100 %.

acide 4-cyano-3-(2-hydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **157**

Au composé **151** (0,200 g, 0,60 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 15,8 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (4,80 mL, 1,20 g, 4,80 mmol, 8 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 2 heures et à température ambiante pendant 2 heures.

16,0 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 5 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 98:2 (v/v) plus 0,4 % (v/v) d'acide formique en 30 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **157** (0,068 g, 35 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 1,40 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,65 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 6,84 à 6,94 (m, 2H, **H3'** et **H5'**) ; 7,19 à 7,24 (m, 2H, **H4'** et **H6'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 42,9 (**Ca**) ; 114,2 (**C3**) ; 116,6 (**C3'**) ; 118,1 (**C5**) ; 120,1 (**C5'**) ; 121,2 (**C1'**) ; 131,2 et 131,6 (**C4'** et **C6'**) ; 132,3 (**C1**) ; 146,6 (**C2**) ; 151,5 (**C4**) ; 155,5 (**C2'**) ; 161,3 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 342,0 $[M+Na]^+$.

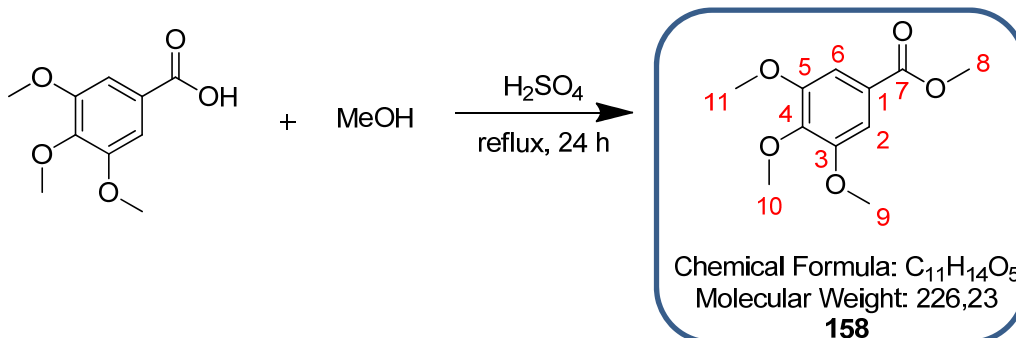
Haute résolution calculée pour $C_{15}H_{13}NO_3S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 342,0235, trouvée : 342,0239.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3341 (**O-H** st), 2973 et 2923 (**CH** st), 2216 (**C≡N** st), 1709 (**C=O** st), 1607, 1521 et 1496 (**arC-C**), 1378, 1206, 1191, 1051, 877 et 770 (**arC-H** δ), 746, 729, 658.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,37 min, 66 %.

3,4,5-triméthoxybenzoate de méthyle **158**

L'acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque (5,01 g, 23,6 mmol, 1 éq.) est mis en suspension dans 65 mL de méthanol. L'acide sulfurique concentré (0,126 mL, 0,232 g, 2,36 mmol, 0,1 éq.) est ajouté au milieu réactionnel qui est ensuite agité à reflux pendant 24 heures.

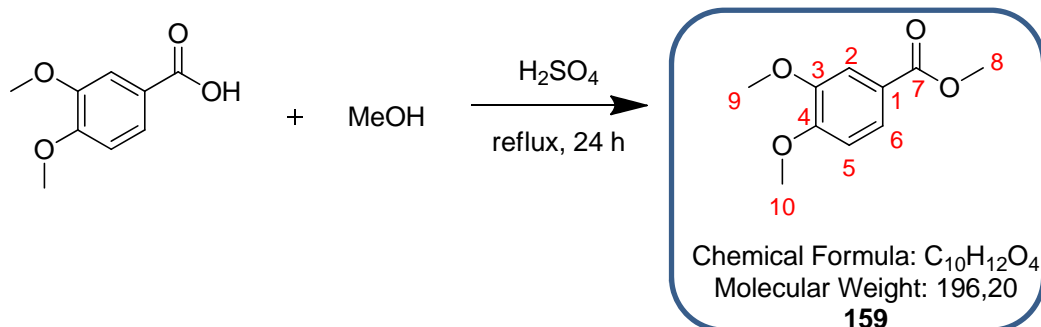
Le solvant est évaporé et le résidu obtenu est solubilisé dans l'eau (60 mL). La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique (4 × 25 mL). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite donnant un solide blanc, le produit **158** (5,30 g, 99 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,92 (s, 12H, **H8**, **H10**, **H11** et **H12**) ; 7,32 (s, 2H, **H2** et **H6**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.²⁹⁹

²⁹⁹ van Meurs, F. and van Bekkum, H. J. *Organomet. Chem.* **1977**, 133, 321-326.

3,4-diméthoxybenzoate de méthyle **159**

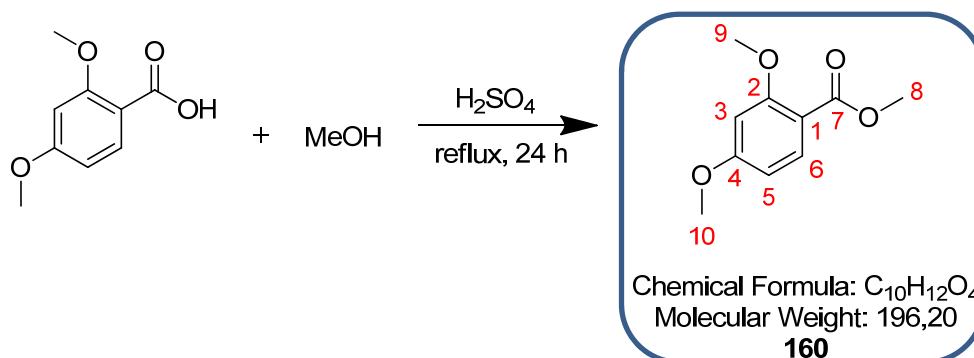
L'acide 3,4-diméthoxybenzoïque (5,01 g, 27,5 mmol, 1 éq.) est mis en suspension dans 75 mL de méthanol. L'acide sulfurique concentré (0,147 mL, 0,270 g, 2,75 mmol, 0,1 éq.) est ajouté au milieu réactionnel qui est ensuite agité à reflux pendant 24 heures.

Le solvant est évaporé et le résidu obtenu est solubilisé dans l'eau (60 mL). La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique (4 × 25 mL). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite donnant un solide blanc, le produit **159** (5,33 g, 99 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,91 (s, 3H, **H8**) ; 3,95 (s, 6H, **H9** et **H10**) ; 6,90 (d, 1H, **H5**, $J = 9,0$ Hz) ; 7,56 (d, 1H, **H2**, $J = 2,1$ Hz) ; 7,69 (dd, 1H, **H6**, $J = 2,1$ Hz et $J = 9,0$ Hz).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.²⁹⁹

2,4-diméthoxybenzoate de méthyle **160**

L'acide 2,4-diméthoxybenzoïque (3,59 g, 19,7 mmol, 1 éq.) est mis en suspension dans 54 mL de méthanol. L'acide sulfurique concentré (0,105 mL, 0,193 g, 1,97 mmol, 0,1 éq.) est ajouté au milieu réactionnel qui est ensuite agité à reflux pendant 24 heures.

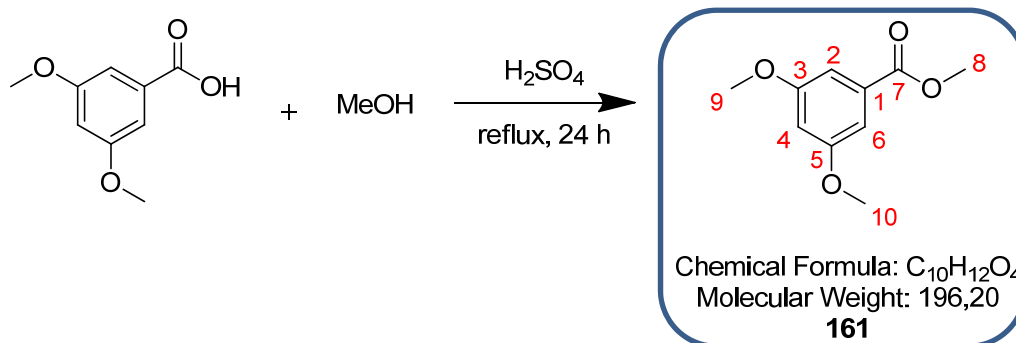
Le solvant est évaporé et le résidu obtenu est solubilisé dans l'eau (50 mL). La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique (4 × 20 mL). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite donnant un solide blanc, le produit **160** (3,77 g, 98 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,86 (s, 6H, **H9** et **H10**) ; 3,90 (s, 3H, **H8**) ; 6,49 (s, 1H, **H3**) ; 6,51 (d, 1H, **H5**, *J* = 8,0 Hz) ; 7,86 (d, 1H, **H6**, *J* = 8,0 Hz).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.³⁰⁰

³⁰⁰ Anderson, W. K.; Boehm, T. L.; Makara, G. M. and Swann, R. T. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 46-55.

3,5-diméthoxybenzoate de méthyle **161**

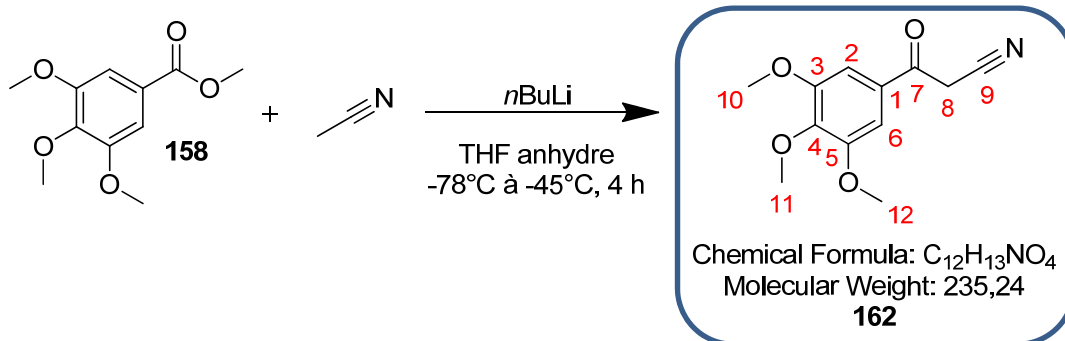
L'acide 3,5-diméthoxybenzoïque (4,41 g, 24,2 mmol, 1 éq.) est mis en suspension dans 66 mL de méthanol. L'acide sulfurique concentré (0,130 mL, 0,238 g, 2,42 mmol, 0,1 éq.) est ajouté au milieu réactionnel qui est ensuite agité à reflux pendant 24 heures.

Le solvant est évaporé et le résidu obtenu est solubilisé dans l'eau (55 mL). La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique (4 × 20 mL). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite donnant un solide blanc, le produit **161** (4,74 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,84 (s, 6H, **H9** et **H10**) ; 3,93 (s, 3H, **H8**) ; 6,67 (s, 1H, **H4**) ; 7,21 (s, 2H, **H2** et **H6**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.²⁹⁹

3-oxo-3-(3,4,5-triméthoxyphényl)propanenitrile **162**

Le *n*-butyllithium 1,6M dans l'hexane (14,6 mL, 23,4 mmol, 1 éq.) est ajouté dans 47 mL de THF anhydre à -78°C. Après 15 minutes, une solution d'acétonitrile (1,34 mL, 1,06 g, 25,7 mmol, 1,1 éq.) dans 47 mL de THF anhydre est ajoutée goutte-à-goutte en 15 minutes. Après 1 heure d'agitation à -78°C, une solution de 3,4,5-triméthoxybenzoate de méthyle **158** (5,29 g, 23,4 mmol, 1 éq.) dans 47 mL de THF anhydre est ajoutée au milieu goutte-à-goutte en 15 minutes. Le milieu réactionnel est agité 1 heure à -78°C puis 2 heures à -45°C dans un bain d'acétonitrile et de carboglace.

Après retour à température ambiante, la solution est traitée goutte-à-goutte avec 25 mL d'acide chlorhydrique 2N. De l'acétate d'éthyle est ensuite ajouté et les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite une fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient éther de pétrole à éther de pétrole/AcOEt 1:1 (v/v) en 60 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **162** (2,55 g, 55 % de conversion, 46 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,94 (s, 6H, **H10** et **H12**) ; 3,97 (s, 3H, **H11**) ; 4,06 (s, 2H, **H8**) ; 7,18 (s, 2H, **H2** et **H6**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 29,2 (**C8**) ; 56,5 (**C10** et **C12**) ; 61,1 (**C11**) ; 106,2 (**C2** et **C6**) ; 113,8 (**C9**) ; 129,3 (**C1**) ; 144,2 (**C4**) ; 153,4 (**C3** et **C5**) ; 186,2 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 258,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₂H₁₃NO₄Na⁺ [M+Na]⁺ : 258,0742, trouvée : 258,0736.

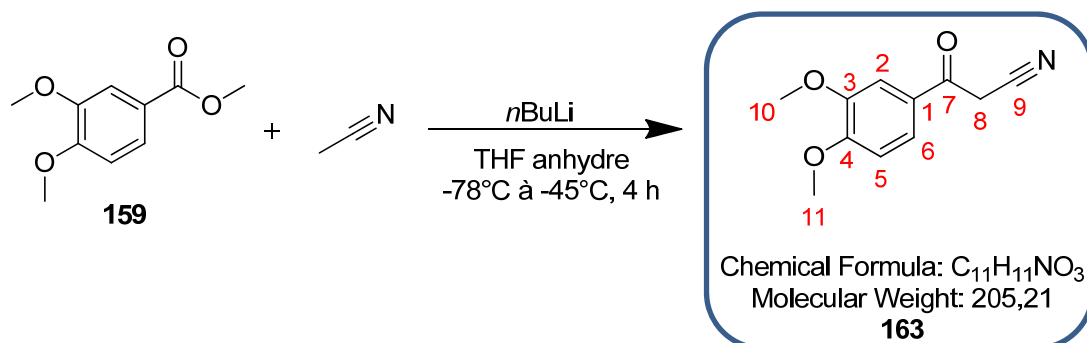
IR :

ν (cm⁻¹) : 3105 (**arC-H** st), 2944 et 2926 et 2840 (**C-H** st), 2253 (**C≡N** st), 1676 (**C=O** st), 1579 et 1503 (**arC-C**), 1453, 1412, 1394, 1336, 1158, 1114, 987, 930, 842 et 831 (**arC-H** δ), 725.

AE :

Théorique %C = 61,27 ; %H = 5,57 ; %N = 5,95 ; %O = 27,21.

Trouvée %C = 61,31 ; %H = 5,54 ; %N = 5,86 ; %O = 26,98.

3-(3,4-diméthoxyphényl)-3-oxopropanenitrile **163**

Le *n*-butyllithium 1,6M dans l'hexane (17,0 mL, 27,1 mmol, 1 éq.) est ajouté dans 54 mL de THF anhydre à -78°C. Après 15 minutes, une solution d'acétonitrile (1,56 mL, 1,23 g, 29,8 mmol, 1,1 éq.) dans 54 mL de THF anhydre est ajoutée goutte-à-goutte en 15 minutes. Après 1 heure d'agitation à -78°C, une solution de 3,4-diméthoxybenzoate de méthyle **159** (5,32 g, 27,1 mmol, 1 éq.) dans 54 mL de THF anhydre est ajoutée au milieu goutte-à-goutte en 15 minutes. Le milieu réactionnel est agité 1 heure à -78°C puis 2 heures à -45°C dans un bain d'acétonitrile et de carboglace.

Après retour à température ambiante, la solution est traitée goutte-à-goutte avec 25 mL d'acide chlorhydrique 2N. De l'acétate d'éthyle est ensuite ajouté et les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite une fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient éther de pétrole à éther de pétrole/AcOEt 1:1 (v/v) en 60 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **163** (2,34 g, 51 % de conversion, 42 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,97 (s, 3H, **H10**) ; 3,99 (s, 3H, **H11**) ; 4,05 (s, 2H, **H8**) ; 6,94 (d, 1H, **H5**, *J* = 9,0 Hz) ; 7,50 (d, 1H, **H6**, *J* = 9,0 Hz) ; 7,53 (s, 1H, **H2**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 28,9 (**C8**) ; 56,1 (**C11**) ; 56,2 (**C10**) ; 110,2 (**C5**) ; 110,3 (**C2**) ; 114,0 (**C9**) ; 123,5 (**C6**) ; 127,5 (**C1**) ; 149,6 (**C3**) ; 154,7 (**C4**) ; 185,5 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 228,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₁H₁₁NO₃Na⁺ [M+Na]⁺ : 228,0637, trouvée : 228,0645.

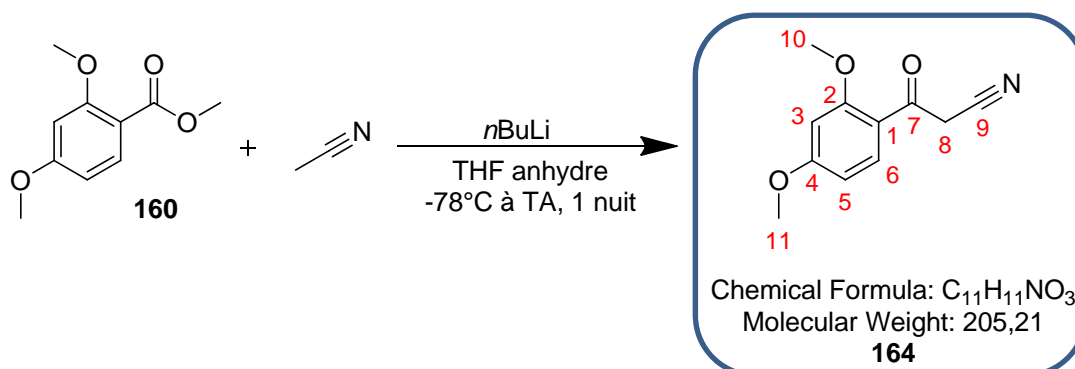
IR :

ν (cm⁻¹) : 3088 (arC-H st), 2988 et 2942 et 2914 (C-H st), 2251 (C≡N st), 1671 (C=O st), 1585 et 1516 (arC-C), 1445, 1422, 1393, 1325, 1262, 1244, 1154, 1016, 866, 801 et 760 (arC-H δ), 634, 624.

AE :

Théorique %C = 64,38 ; %H = 5,40 ; %N = 6,83 ; %O = 23,39.

Trouvée %C = 64,31 ; %H = 5,40 ; %N = 6,80 ; %O = 23,33.

3-(2,4-diméthoxyphényl)-3-oxopropanenitrile **164**

Le *n*-butyllithium 1,6M dans l'hexane (12,0 mL, 19,2 mmol, 1 éq.) est ajouté dans 39 mL de THF anhydre à -78°C. Après 15 minutes, une solution d'acétonitrile (1,11 mL, 0,869 g, 21,2 mmol, 1,1 éq.) dans 39 mL de THF anhydre est ajoutée goutte-à-goutte en 15 minutes. Après 1 heure d'agitation à -78°C, une solution de 2,4-diméthoxybenzoate de méthyle **160** (3,77 g, 19,2 mmol, 1 éq.) dans 39 mL de THF anhydre est ajoutée au milieu goutte-à-goutte en 15 minutes. Le milieu réactionnel est agité 1,5 heures à -78°C, 2,5 heures à 0°C puis une nuit de 0°C à température ambiante.

La solution est traitée goutte-à-goutte avec 20 mL d'acide chlorhydrique 2N. De l'acétate d'éthyle est ensuite ajouté et les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite une fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient éther de pétrole à éther de pétrole/AcOEt 1:1 (v/v) en 60 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **164** (2,63 g, 67 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,90 (s, 3H, **H10**) ; 3,97 (s, 3H, **H11**) ; 4,04 (s, 2H, **H8**) ; 6,49 (d, 1H, **H3**, *J* = 2,0 Hz) ; 6,60 (dd, 1H, **H5**, *J* = 8,5 Hz et *J* = 2,0 Hz) ; 7,94 (d, 1H, **H6**, *J* = 8,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 34,0 (**C8**) ; 55,7 (**C10** et **C11**) ; 98,3 (**C3**) ; 106,2 (**C5**) ; 114,9 (**C9**) ; 117,8 (**C1**) ; 133,6 (**C6**) ; 161,3 (**C2**) ; 166,1 (**C4**) ; 185,9 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 228,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₁H₁₁NO₃Na⁺ [M+Na]⁺ : 228,0637, trouvée : 228,0633.

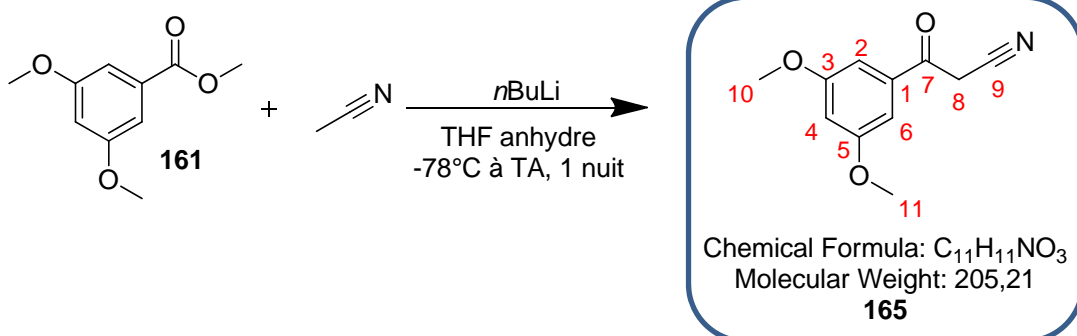
IR :

ν (cm⁻¹) : 3098 (**arC-H** st), 2960 et 2929 (**C-H** st), 2260 (**C≡N** st), 1664 (**C=O** st), 1593 et 1566 (**arC-C**), 1470, 1427, 1295, 1251, 1205, 1167, 1126, 1040, 1014, 854 et 820 (**arC-H** δ), 651, 635.

AE :

Théorique %C = 64,38 ; %H = 5,40 ; %N = 6,83 ; %O = 23,39.

Trouvée %C = 64,29 ; %H = 5,35 ; %N = 6,84 ; %O = 23,19.

3-(3,5-diméthoxyphényl)-3-oxopropanenitrile **165**

Le *n*-butyllithium 1,6M dans l'hexane (9,78 mL, 15,7 mmol, 1 éq.) est ajouté dans 31 mL de THF anhydre à -78°C. Après 15 minutes, une solution d'acétonitrile (0,899 mL, 0,707 g, 17,2 mmol, 1,1 éq.) dans 31 mL de THF anhydre est ajoutée goutte-à-goutte en 15 minutes. Après 1,5 heures d'agitation à -78°C, une solution de 3,5-diméthoxybenzoate de méthyle **161** (3,07 g, 15,7 mmol, 1 éq.) dans 31 mL de THF anhydre est ajoutée au milieu goutte-à-goutte en 15 minutes. Le milieu réactionnel est agité 1,5 heures à -78°C, 2,5 heures à 0°C et une nuit de 0°C à température ambiante.

La solution est traitée goutte-à-goutte avec 20 mL d'acide chlorhydrique 2N. De l'acétate d'éthyle est ensuite ajouté et les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite une fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient éther de pétrole à éther de pétrole /AcOEt 1:1 (v/v) en 45 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **165** (2,34 g, 67 % de conversion, 36 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 3,87 (s, 6H, **H10** et **H11**) ; 4,05 (s, 2H, **H8**) ; 6,73 (t, 1H, **H4**, *J* = 2,5 Hz) ; 7,04 (t, 2H, **H2** et **H6**, *J* = 2,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 29,5 (**C8**) ; 55,7 (**C10** et **C11**) ; 106,3 (**C2** et **C6**) ; 106,7 (**C4**) ; 113,6 (**C9**) ; 136,1 (**C1**) ; 161,2 (**C3** et **C5**) ; 186,8 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 228,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₁H₁₁NO₃Na⁺ [M+Na]⁺ : 228,0637, trouvée : 228,0630.

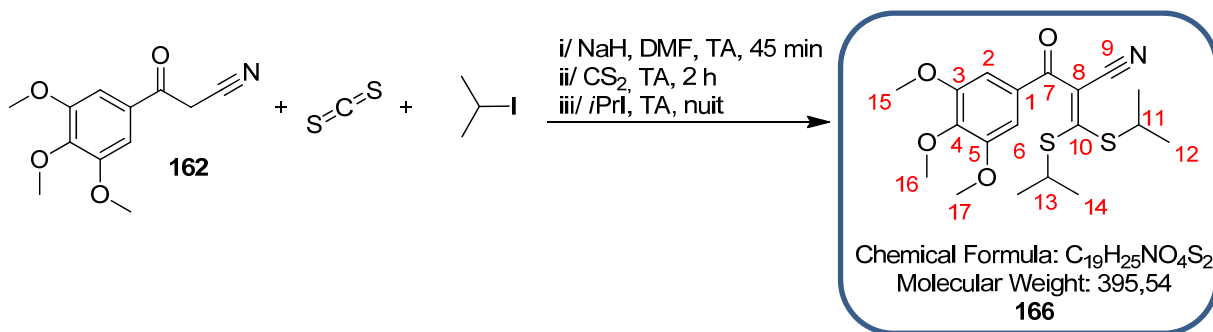
IR :

ν (cm⁻¹) : 3079 (**arC-H** st), 2994 et 2946 et 2910 (**C-H** st), 2256 (**C≡N** st), 1685 (**C=O** st), 1588 (**arC-C**), 1465, 1427, 1350, 1207, 1159, 1067, 1021, 861 et 830 (**arC-H** δ), 738, 683, 637.

AE :

Théorique %C = 64,38 ; %H = 5,40 ; %N = 6,83 ; %O = 23,39.

Trouvée %C = 64,32 ; %H = 5,51 ; %N = 6,73 ; %O = 23,51.

3,3-bis(isopropylthio)-2-(3,4,5-triméthoxybenzoyl)acrylonitrile **166**

L'hydruure de sodium à 60 % dans de l'huile (1,11 g, 27,6 mmol, 2,6 éq.) est ajouté au 3-oxo-3-(3,4,5-triméthoxyphényl)propanenitrile **162** (2,50 g, 10,6 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le diméthylformamide (19 mL) à température ambiante. Le milieu réactionnel orange est agité pendant 45 minutes avant d'y ajouter goutte-à-goutte le disulfure de carbone (0,639 mL, 0,809 g, 10,6 mmol, 1 éq.). Le mélange réactionnel devenu alors rouge foncé est agité pendant 2 heures avant d'ajouter goutte-à-goutte l'iodure d'isopropyle (2,23 mL, 3,79 g, 22,3 mmol, 2,1 éq.). Enfin, le milieu réactionnel est enfin chauffé à 60°C et agité pendant 23 heures.

Le milieu est ensuite évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'eau. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 45 minutes) pour donner le composé **166** (3,08 g, 73 % de rendement) sous forme d'un solide jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,32 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,47 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,73 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,91 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,93 (s, 6H, **H15** et **H17**) ; 3,96 (s, 3H, **H16**) ; 7,22 (s, 2H, **H2** et **H6**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 22,9 (**C12** ou **C14**) ; 23,0 (**C12** ou **C14**) ; 40,8 (**C11** ou **C13**) ; 42,0 (**C11** ou **C13**) ; 56,3 (**C15** et **C17**) ; 61,0 (**C16**) ; 107,1 (**C2** et **C6**) ; 112,2 (**C8**) ; 116,8 (**C9**) ; 130,7 (**C1**) ; 143,3 (**C4**) ; 153,1 (**C3** et **C5**) ; 169,4 (**C10**) ; 185,9 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 418,1[M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₉H₂₅NO₄S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 418,1123, trouvée : 418,1123.

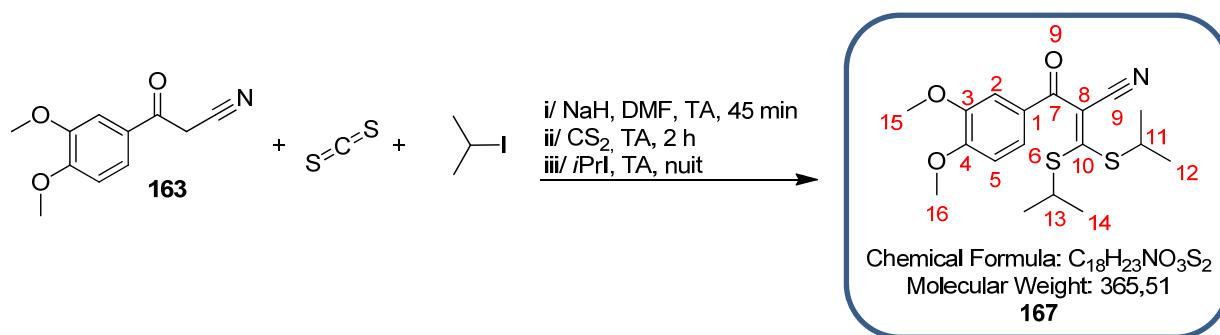
IR :

ν (cm⁻¹) : 3000 (arCH st), 2968 et 2926 et 2864 (CH st), 2203 (C≡N st), 1638 (C=O st), 1582, 1455 (arC-C), 1412, 1328, 1222, 1126, 1056, 997, 914, 859 et 766 (arC-H δ), 710, 651, 634.

AE :

Théorique %C = 57,69 ; %H = 6,37 ; %N = 3,54 ; %O = 16,18 ; %S = 16,21.

Trouvée %C = 57,69 ; %H = 6,45 ; %N = 3,55 ; %O = 16,04 ; %S = 16,04.

2-(3,4-diméthoxybenzoyl)-3,3-bis(isopropylthio)acrylonitrile **167**

L'hydrure de sodium à 60 % dans de l'huile (1,19 g, 29,7 mmol, 2,6 éq.) est ajouté au 3-(3,4-diméthoxyphényl)-3-oxopropanenitrile **163** (2,34 g, 11,4 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le diméthylformamide (20 mL) à température ambiante. Le milieu réactionnel orange est agité pendant 45 minutes avant d'y ajouter goutte-à-goutte le disulfure de carbone (0,686 mL, 0,868 g, 11,4 mmol, 1 éq.). Le mélange réactionnel devenu alors rouge foncé est agité pendant 2 heures avant d'ajouter goutte-à-goutte l'iodure d'isopropyle (2,39 mL, 4,07 g, 24,0 mmol, 2,1 éq.). Enfin, le milieu réactionnel est chauffé à 60°C et agité pendant 23 heures.

Le milieu est ensuite évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'eau. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 45 minutes) pour donner le composé **167** (3,21 g, 77 % de rendement) sous forme d'un solide jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,28 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 6,6 Hz) ; 1,46 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,69 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,91 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,95 (s, 3H, **H15**) ; 3,97 (s, 3H, **H16**) ; 6,93 (d, 1H, **H5**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,51 (d, 1H, **H2**, *J* = 2,1 Hz) ; 7,60 (dd, 1H, **H6**, *J* = 2,1 Hz et *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 22,9 (**C12** ou **C14**) ; 23,0 (**C12** ou **C14**) ; 40,6 (**C11** ou **C13**) ; 41,7 (**C11** ou **C13**) ; 56,0 (**C15**) ; 56,2 (**C16**) ; 110,1 (**C2**) ; 111,2 (**C5**) ; 113,1 (**C8**) ; 116,7 (**C9**) ; 124,9 (**C6**) ; 128,6 (**C1**) ; 149,3 (**C4**) ; 154,1 (**C3**) ; 167,3 (**C10**) ; 185,6 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 388,1[M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₈H₂₃NO₃ S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 388,1017, trouvée : 388,1029.

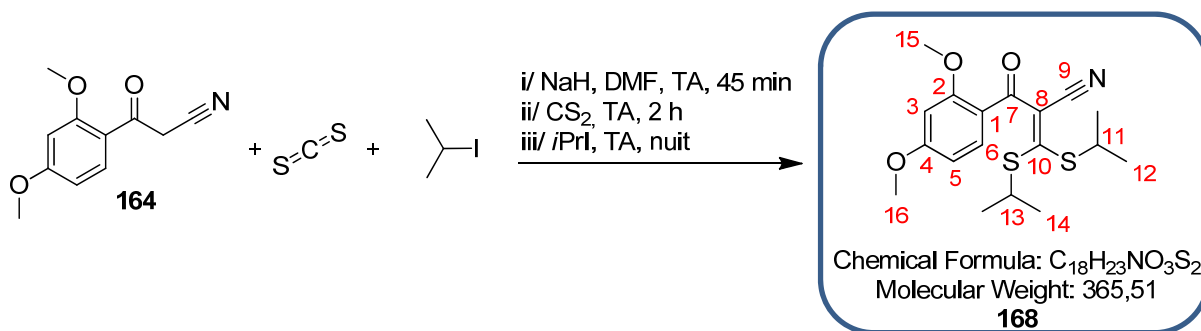
IR :

ν (cm⁻¹) : 2961 et 2923 et 2861 (**CH** st), 2199 (**C≡N** st), 1641 (**C=O** st), 1592, 1581, 1515, 1439 (**arC-C**), 1415, 1268, 1247, 1140, 1048, 1015, 914, 895, 818 et 765 (**arC-H** δ), 712, 664, 629.

AE :

Théorique %C = 59,15 ; %H = 6,34 ; %N = 3,83 ; %O = 13,13 ; %S = 17,55.

Trouvée %C = 59,08 ; %H = 6,36 ; %N = 3,92 ; %O = 13,36 ; %S = 17,59.

2-(2,4-diméthoxybenzoyl)-3,3-bis(isopropylthio)acrylonitrile **168**

L'hydrure de sodium à 60 % dans de l'huile (1,33 g, 33,3 mmol, 2,6 éq.) est ajouté au 3-(2,4-diméthoxyphényl)-3-oxopropanenitrile **164** (2,62 g, 12,8 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le diméthylformamide (22 mL) à température ambiante. Le milieu réactionnel orange est agité pendant 45 minutes avant d'y ajouter goutte-à-goutte le disulfure de carbone (0,769 mL, 0,974 g, 12,8 mmol, 1 éq.). Le mélange réactionnel devenu alors rouge foncé est agité de nouveau pendant 2 heures avant d'ajouter goutte-à-goutte l'iodure d'isopropyle (2,68 mL, 4,57 g, 26,9 mmol, 2,1 éq.). Enfin, le milieu réactionnel est chauffé à 60°C et agité pendant 23 heures.

Le milieu est ensuite évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'eau. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 45 minutes) pour donner le composé **168** (1,59 g, 34 % de rendement) sous forme d'un solide jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,32 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 6,6 Hz) ; 1,44 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,78 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,87 (s, 3H, **H15**) ; 3,89 (s, 3H, **H16**) ; 3,95 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 6,6 Hz) ; 6,46 (d, 1H, **H3**, *J* = 2,4 Hz) ; 6,56 (dd, 1H, **H5**, *J* = 2,4 Hz et *J* = 8,4 Hz) ; 7,61 (d, 1H, **H6**, *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 22,8 (**C12** ou **C14**) ; 22,9 (**C12** ou **C14**) ; 40,1 (**C11** ou **C13**) ; 41,8 (**C11** ou **C13**) ; 55,6 (**C15**) ; 55,7 (**C16**) ; 98,3 (**C3**) ; 105,8 (**C5**) ; 115,6 (**C8**) ; 117,5 (**C9**) ; 120,4 (**C1**) ; 133,1 (**C6**) ; 160,2 (**C2**) ; 165,0 (**C4**) ; 167,6 (**C10**) ; 185,6 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 388,1[M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₈H₂₃NO₃ S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 388,1017, trouvée : 388,1018.

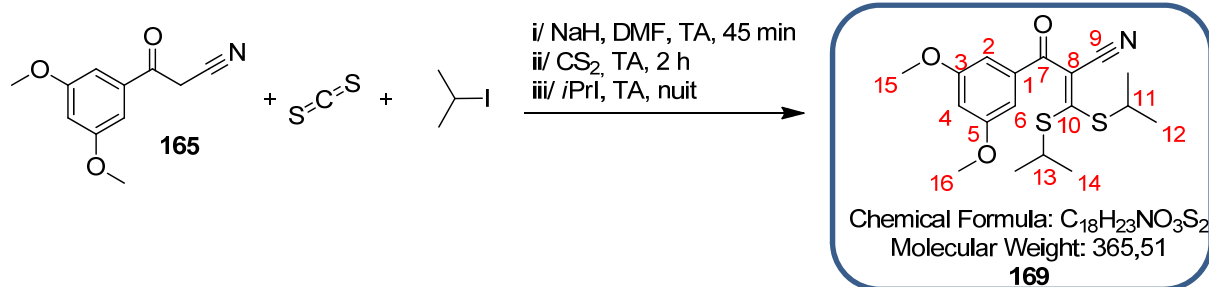
IR :

ν (cm⁻¹) : 2964 et 2924 et 2863 (**CH** st), 2205 (**C≡N** st), 1641 (**C=O** st), 1594, 1451 (**arC-C**), 1435, 1417, 1264, 1209, 1159, 1125, 1020, 913, 832, 819 et 767 (**arC-H** δ), 712, 651, 632.

AE :

Théorique %C = 59,15 ; %H = 6,34 ; %N = 3,83 ; %S = 17,55.

Trouvée %C = 59,33 ; %H = 6,35 ; %N = 3,66 ; %S = 17,18.

2-(3,5-diméthoxybenzoyl)-3,3-bis(isopropylthio)acrylonitrile **169**

L'hydrure de sodium à 60 % dans de l'huile (0,332 g, 8,30 mmol, 2,6 éq.) est ajouté au 3-(3,5-diméthoxyphényl)-3-oxopropanenitrile **165** (0,655 g, 3,19 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le diméthylformamide (6 mL) à température ambiante. Le milieu réactionnel orange est agité pendant 45 minutes avant d'y ajouter goutte-à-goutte le disulfure de carbone (0,192 mL, 0,243 g, 3,19 mmol, 1 éq.). Le mélange réactionnel devenu alors rouge foncé est agité de nouveau pendant 2 heures avant d'ajouter goutte-à-goutte l'iodure d'isopropyle (0,669 mL, 1,139 g, 6,70 mmol, 2,1 éq.). Enfin, le milieu réactionnel est chauffé à 60°C et agité pendant 23 heures.

Le milieu est ensuite évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'eau. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner le composé **169** (0,948 g, 81 % de rendement) sous forme d'un solide jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,30 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 6,6 Hz) ; 1,46 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,73 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,85 (s, 6H, **H15** et **H16**) ; 3,93 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 6,6 Hz) ; 6,69 (t, 1H, **H4**, *J* = 2,4 Hz) ; 7,04 (t, 2H, **H2** et **H6**, *J* = 2,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 22,9 (**C12** ou **C14**) ; 23,0 (**C12** ou **C14**) ; 40,8 (**C11** ou **C13**) ; 42,0 (**C11** ou **C13**) ; 55,6 (**C15** et **C16**) ; 106,3 (**C4**) ; 107,1 (**C2** et **C6**) ; 112,0 (**C8**) ; 116,7 (**C9**) ; 137,8 (**C1**) ; 160,8 (**C3** et **C5**) ; 170,1 (**C10**) ; 187,0 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 388,1[M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₈H₂₃NO₃ S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 388,1017, trouvée : 388,1004.

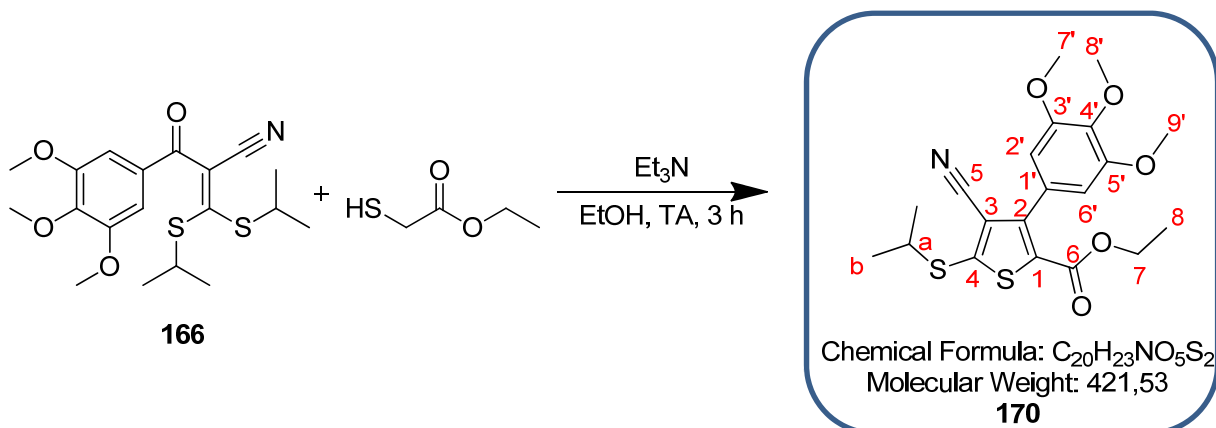
IR :

ν (cm⁻¹) : 2965 et 2926 et 2864 (**CH st**), 2206 (**C≡N st**), 1670 (**C=O st**), 1589, 1455 (**arC-C**), 1425, 1319, 1299, 1204, 1155, 1052, 923, 846 et 764 (**arC-H δ**), 678, 626.

AE :

Théorique %C = 59,15 ; %H = 6,34 ; %N = 3,83.

Trouvée %C = 59,00 ; %H = 6,32 ; %N = 3,83.

4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(3,4,5-triméthoxyphényl)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **170**

Au cétène dithioacétal **166** (3,03 g, 7,66 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 33 mL d'éthanol sont additionnés le thioglycolate d'éthyle (0,839 mL, 0,920 g, 7,66 mmol, 1 éq.) et la triéthylamine goutte-à-goutte (1,17 mL, 0,852 g, 8,42 mmol, 1,1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3 heures.

Après évaporation du solvant, de l'eau est ajoutée au le milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 55 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **170** (2,34 g, 72 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,23 (t, 3H, **H8**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J = 7,0$ Hz) ; 3,62 (h, 1H, **Ha**, $J = 7,0$ Hz) ; 3,90 (s, 6H, **H7'** et **H9'**) ; 3,92 (s, 3H, **H8'**) ; 4,24 (q, 2H, **H7**, $J = 7,5$ Hz) ; 6,65 (s, 2H, **H2** et **H6**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,2 (**Ca**) ; 56,3 (**C7'** et **C9'**) ; 61,0 (**C8'**) ; 61,7 (**C7**) ; 107,0 (**C2** et **C6**) ; 113,7 (**C3**) ; 115,8 (**C5**) ; 127,3 (**C1'**) ; 129,0 (**C1**) ; 138,8 (**C4'**) ; 148,9 (**C2'**) ; 152,8 (**C3'** et **C5'**) ; 153,0 (**C4**) ; 160,1 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 444,0 [$M+Na$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{20}H_{23}NO_5S_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 444,0915, trouvée : 444,0916.

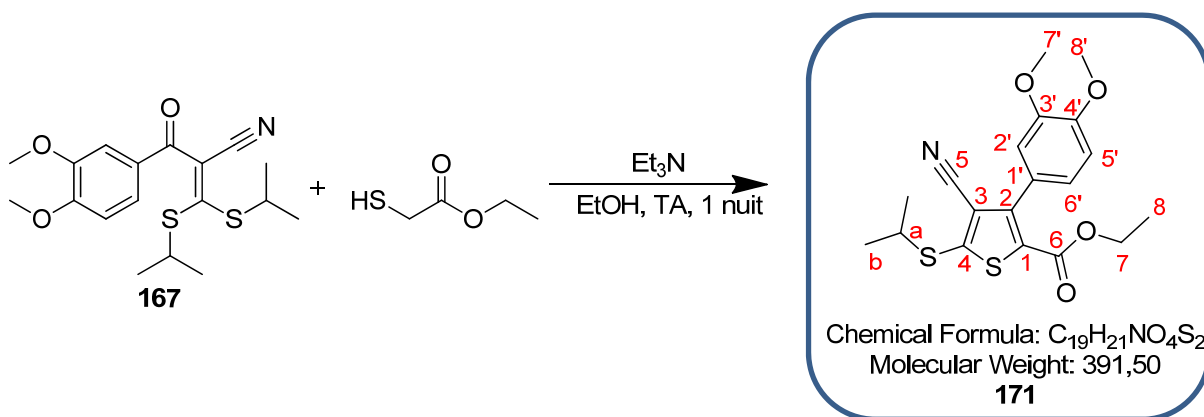
IR :

ν (cm^{-1}) : 2971 et 2940 et 2838 (**CH** st), 2221 (**C \equiv N** st), 1722 (**C=O** st), 1588, 1501 (**arC-C**), 1410, 1352, 1248, 1234, 1182, 1156, 1123 (**C=S** st), 1100, 1004, 846 et 762 (**arC-H** δ), 691.

AE :

Théorique %C = 56,99 ; %H = 5,50 ; %N = 3,32 ; %S = 15,21.

Trouvée %C = 57,04 ; %H = 5,60 ; %N = 3,28 ; %S = 15,16.

4-cyano-3-(3,4-diméthoxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **171**

Au cétène dithioacétal **167** (3,20 g, 8,77 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 38 mL d'éthanol sont additionnés le 2-mercaptoacétate d'éthyle (0,961 mL, 1,05 g, 8,77 mmol, 1 éq.) et la triéthylamine goutte-à-goutte (1,34 mL, 0,976 g, 9,64 mmol, 1,1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 50°C pendant une nuit.

Après évaporation du solvant, de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 55 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **171** (2,94 g, 86 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,25 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,5 Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,5 Hz) ; 3,65 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,5 Hz) ; 3,92 (s, 3H, **H7'**) ; 3,96 (s, 3H, **H8'**) ; 4,24 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,5 Hz) ; 6,95 (d, 1H, **H5'**, *J* = 8,4 Hz) ; 6,97 (d, 1H, **H2'**, *J* = 2,1 Hz) ; 7,03 (dd, 1H, **H6'**, *J* = 2,1 Hz et *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,2 (**Ca**) ; 55,9 (**C7'**) ; 56,0 (**C8'**) ; 61,6 (**C7**) ; 110,6 (**C2'**) ; 112,8 (**C5'**) ; 113,8 (**C3**) ; 116,1 (**C5**) ; 122,3 (**C6'**) ; 124,4 (**C1'**) ; 128,6 (**C1**) ; 148,4 (**C3'**) ; 149,1 (**C2**) ; 149,8 (**C4'**) ; 152,8 (**C4**) ; 160,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 414,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₉H₂₁NO₄S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 414,0810, trouvée : 414,0829.

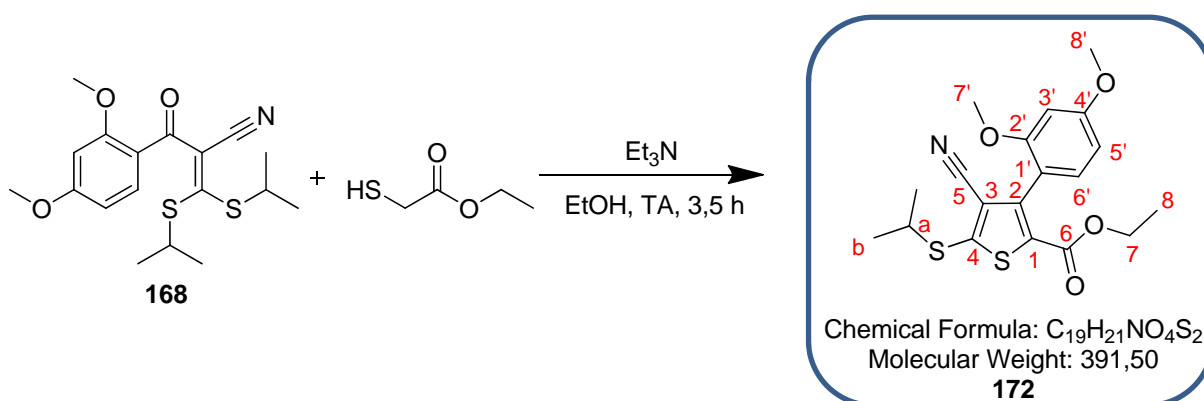
IR :

ν (cm⁻¹) : 2964 et 2934 et 2834 (**CH** st), 2214 (**C≡N** st), 1715 (**C=O** st), 1704, 1503 (**arC-C**), 1360, 1255, 1225, 1182, 1140 (**C=S** st), 1085, 1024, 868 et 760 (**arC-H** δ), 752, 698.

AE :

Théorique %C = 58,29 ; %H = 5,41 ; %N = 3,58 ; %O = 16,35 ; %S = 16,38.

Trouvée %C = 58,14 ; %H = 5,39 ; %N = 3,58 ; %O = 16,47 ; %S = 16,34.

4-cyano-3-(2,4-diméthoxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **172**

Au cétène dithioacétal **168** (1,53 g, 4,19 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 18 mL d'éthanol sont additionnés le 2-mercaptoacétate d'éthyle (0,460 mL, 0,504 g, 4,19 mmol, 1 éq.) et la triéthylamine goutte-à-goutte (0,643 mL, 0,467 g, 4,61 mmol, 1,1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3,5 heures.

Après évaporation du solvant, de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 30 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **172** (0,559 g, 34 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,22 (t, 3H, **H8**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,46 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,5$ Hz) ; 3,61 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,5$ Hz) ; 3,80 (s, 3H, **H7'**) ; 3,86 (s, 3H, **H8'**) ; 4,21 (q, 2H, **H7**, $J = 7,5$ Hz) ; 6,55 (dd, 1H, **H5'**, $J = 2,1$ Hz et $J = 8,4$ Hz) ; 6,58 (d, 1H, **H3'**, $J = 2,1$ Hz) ; 7,19 (d, 1H, **H6'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,2 (**Ca**) ; 55,4 et 55,5 (**C7'** et **C8'**) ; 61,4 (**C7**) ; 98,7 (**C3'**) ; 104,4 (**C5'**) ; 113,9 (**C3**) ; 117,5 (**C5**) ; 130,0 (**C1'**) ; 131,6 (**C6'**) ; 145,6 (**C1**) ; 151,2 (**C2**) ; 157,7 (**C4**) ; 160,3 (**C6**) ; 161,9 (**C2'** et **C4'**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 414,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₉H₂₁NO₄S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 414,0810, trouvée : 414,0816.

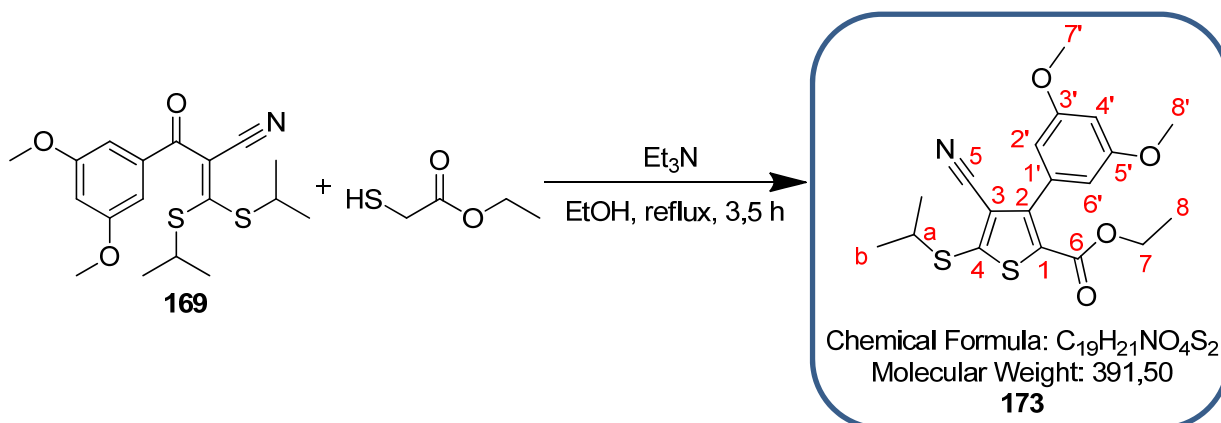
IR :

ν (cm⁻¹) : 2962 et 2934 et 2836 (**CH** st), 2221 (**C≡N** st), 1721 (**C=O** st), 1694, 1609 (**arC-C**), 1496, 1462, 1369, 1247, 1207, 1182, 1159 (**C=S** st), 1080, 1030, 8328 et 764 (**arC-H** δ), 678.

AE :

Théorique %C = 58,29 ; %H = 5,41 ; %N = 3,58.

Trouvée %C = 58,56 ; %H = 5,55 ; %N = 3,51.

4-cyano-3-(3,5-diméthoxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **173**

Au cétène dithioacétal **169** (0,904 g, 2,47 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 11 mL d'éthanol sont additionnés le 2-mercaptoacétate d'éthyle (0,271 mL, 0,297 g, 2,47 mmol, 1 éq.) et la triéthylamine goutte-à-goutte (0,379 mL, 0,275 g, 2,72 mmol, 1,1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3,5 heures.

Après évaporation du solvant, de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **173** (0,615 g, 64 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,22 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,47 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,64 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,83 (s, 6H, **H7'** et **H8'**) ; 4,23 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 6,54 (s, 3H, **H2'** et **H4'** et **H6'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,2 (**Ca**) ; 55,4 (**C7'** et **C8'**) ; 61,7 (**C7**) ; 101,3 (**C4'**) ; 107,5 (**C2'** et **C6'**) ; 113,5 (**C3**) ; 116,0 (**C5**) ; 133,9 (**C1'**) ; 148,8 (**C1**) ; 152,7 (**C2**) ; 160,1 (**C4**) ; 160,2 (**C6**) ; 160,3 (**C3'** et **C5'**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 414,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₉H₂₁NO₄S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 414,0810, trouvée : 414,0811.

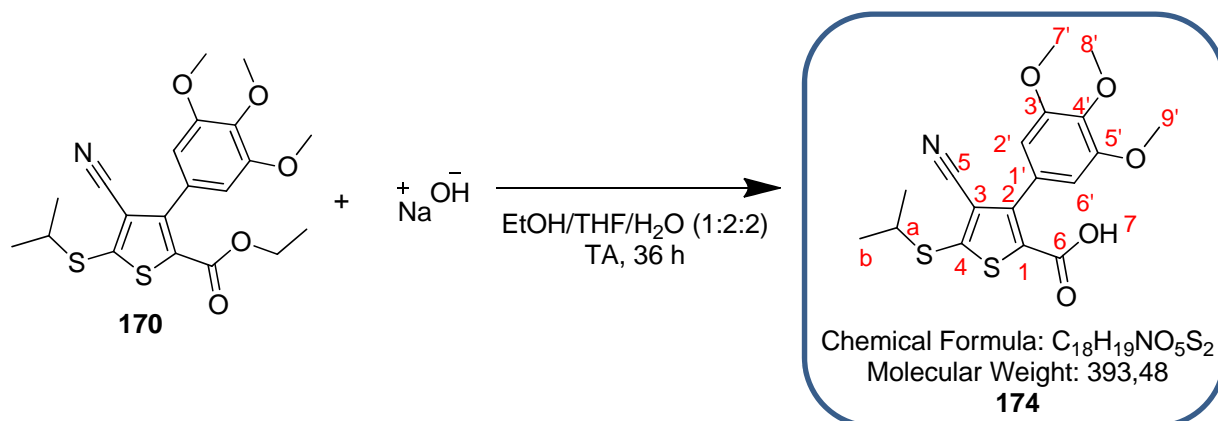
IR :

v (cm⁻¹) : 2970 et 2934 et 2838 (**CH** st), 2219 (**C≡N** st), 1725 (**C=O** st), 1586, 1534 (**arC-C**), 1427, 1364, 1312, 1238, 1201, 1154 (**C=S** st), 1053, 945, 851, 832 et 758 (**arC-H** δ), 696.

AE :

Théorique %C = 58,29 ; %H = 5,41 ; %N = 3,58 ; %O = 16,35 ; %S = 16,38.

Trouvée %C = 58,11 ; %H = 5,45 ; %N = 3,54 ; %O = 16,51 ; %S = 16,14.

acide 4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(3,4,5-triméthoxyphényl)thiophène-2-carboxylique **174**

Une solution aqueuse de soude 2M (2,8 mL, 0,228 g, 5,69 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **170** (0,240 g, 0,57 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (4,2 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (5,6 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **174** (0,230 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,51 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,66 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,88 (s, 6H, **H7'** et **H9'**) ; 3,93 (s, 3H, **H8'**) ; 6,66 (s, 2H, **H2'** et **H6'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 22,1 (**Cb**) ; 41,1 (**Ca**) ; 52,3 (**C7'** et **C9'**) ; 59,9 (**C8'**) ; 106,0 (**C2'** et **C6'**) ; 112,5 (**C3**) ; 114,0 (**C5**) ; 125,7 (**C1'**) ; 125,8 (**C1**) ; 138,0 (**C4'**) ; 149,4 (**C2**) ; 151,8 (**C3'** et **C5'**) ; 154,5 (**C4**) ; 163,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 416,1 [$M+Na$] $^+$.

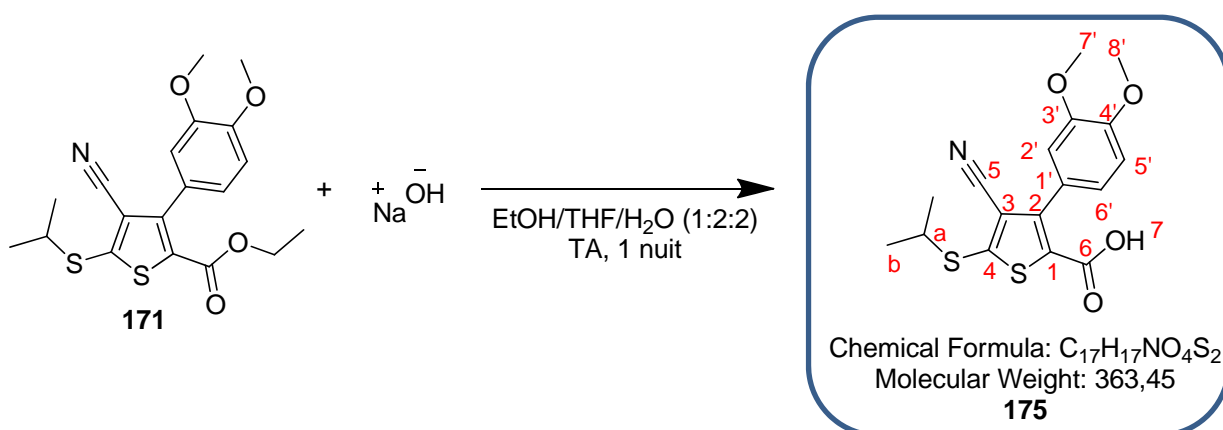
Haute résolution calculée pour $C_{18}H_{19}NO_5S_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 416,0602, trouvée : 416,0601.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2971 et 2836 (**CH** st), 2221 (**C \equiv N** st), 1644 (**C=O** st), 1587, 1500 et 1439 (**arC-C**), 1358, 1300, 1237, 1124, 1101, 1011, 938, 865, 839 et 764 (**arC-H** δ), 708, 691.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,84 min, 100 %.

acide 4-cyano-3-(3,4-diméthoxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **175**

Une solution aqueuse de soude 2M (1,6 mL, 0,134 g, 3,35 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **171** (0,132 g, 0,34 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (2,4 mL).

Après agitation pendant une nuit à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (3,2 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **175** (0,126 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,48 (d, 6H, **H_b**, $J = 7,0$ Hz) ; 3,67 (h, 1H, **H_a**, $J = 7,0$ Hz) ; 3,90 (s, 3H, **H_{7'}**) ; 3,95 (s, 3H, **H_{8'}**) ; 6,95 (d, 1H, **H_{5'}**, $J = 8,4$ Hz) ; 6,96 (d, 1H, **H_{2'}**, $J = 2,1$ Hz) ; 7,03 (dd, 1H, **H_{6'}**, $J = 2,1$ Hz et $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,1 (**C_b**) ; 42,1 (**C_a**) ; 55,9 (**C_{7'}**) ; 56,0 (**C_{8'}**) ; 110,8 (**C_{2'}**) ; 112,8 (**C_{5'}**) ; 113,5 (**C₃**) ; 113,6 (**C₅**) ; 122,3 (**C_{6'}**) ; 123,4 (**C₁**) ; 124,0 (**C_{1'}**) ; 148,5 (**C₂**) ; 150,1 (**C₄**) ; 150,7 (**C_{4'}**) ; 155,3 (**C_{3'}**) ; 160,2 (**C₆**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 386,1 [$M+Na$] $^+$.

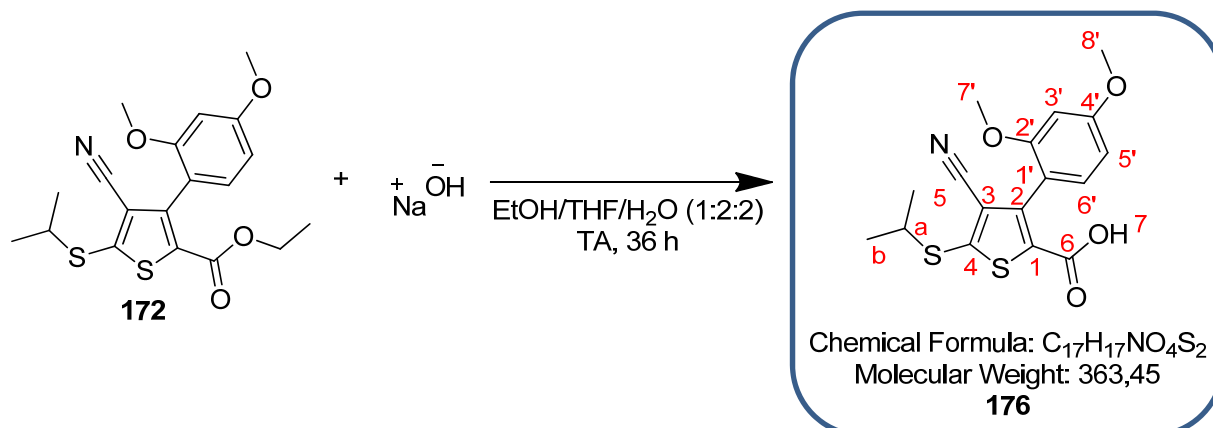
Haute résolution calculée pour $C_{17}H_{17}NO_4S_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 386,0497, trouvée : 386,0514.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2951 et 2928 et 2827 (**CH** st), 2228 (**C \equiv N** st), 1680 (**C=O** st), 1533, 1505 et 1454 (**arC-C**), 1356, 1247, 1232, 1167, 1140, 1021, 880, 811 et 764 (**arC-H** δ), 697.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,73 min, 100 %.

acide 4-cyano-3-(2,4-diméthoxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **176**

Une solution aqueuse de soude 2M (3,1 mL, 0,246 g, 6,16 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **172** (0,241 g, 0,62 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (4,6 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (6,2 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **176** (0,230 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,64 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,80 (s, 3H, **H7'**) ; 3,88 (s, 3H, **H8'**) ; 6,58 (s, 1H, **H3'**) ; 6,59 (d, 1H, **H5'**, $J = 8,1$ Hz) ; 7,19 (d, 1H, **H6'**, $J = 8,1$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,1 (**Cb**) ; 42,1 (**Ca**) ; 55,4 et 55,5 (**C7'** et **C8'**) ; 98,8 (**C3'**) ; 104,7 (**C5'**) ; 113,5 (**C3**) ; 116,7 (**C5**) ; 128,0 (**C1'**) ; 131,6 (**C6'**) ; 147,3 (**C1**) ; 153,7 (**C2**) ; 157,7 (**C4**) ; 162,1 (**C6**) ; 165,5 (**C2'** et **C4'**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 386,1 [$M+Na$] $^+$.

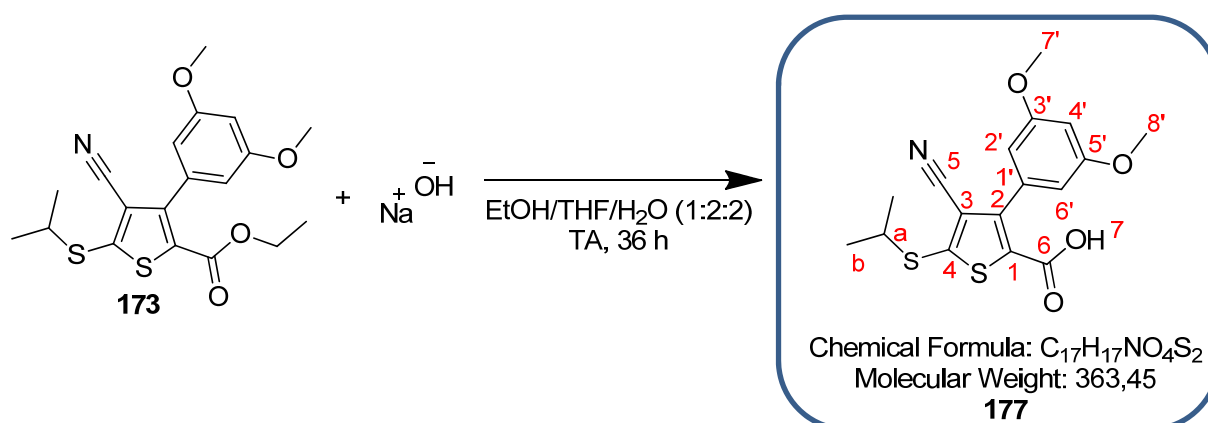
Haute résolution calculée pour $C_{17}H_{17}NO_4S_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 386,0497, trouvée : 386,0496.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2966 et 2931 et 2841 (**CH st**), 2222 (**C \equiv N st**), 1664 (**C=O st**), 1608, 1579, 1534, 1495 et 1417 (**arC-C**), 1354, 1302, 1284, 1256, 1158, 1031, 920, 831 et 765 (**arC-H δ**), 731, 679.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,91 min, 97 %.

acide 4-cyano-3-(3,5-diméthoxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **177**

Une solution aqueuse de soude 2M (1,9 mL, 0,149 g, 3,73 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **173** (0,146 g, 0,37 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (2,8 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (3,8 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **177** (0,138 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,40 (d, 6H, **H_b**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,55 (h, 1H, **H_a**, *J* = 6,9 Hz) ; 3,73 (s, 6H, **H7'** et **H8'**) ; 6,45 (m, 3H, **H2'** et **H4'** et **H6'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 23,1 (**C_b**) ; 42,1 (**C_a**) ; 55,5 (**C7'** et **C8'**) ; 101,6 (**C4'**) ; 107,4 (**C2'** et **C6'**) ; 113,2 (**C3**) ; 115,3 (**C5**) ; 127,3 (**C1'**) ; 133,4 (**C1**) ; 150,4 (**C2**) ; 152,3 (**C4**) ; 160,4 (**C3'** et **C5'**) ; 164,3 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 386,0 [M+Na]⁺.

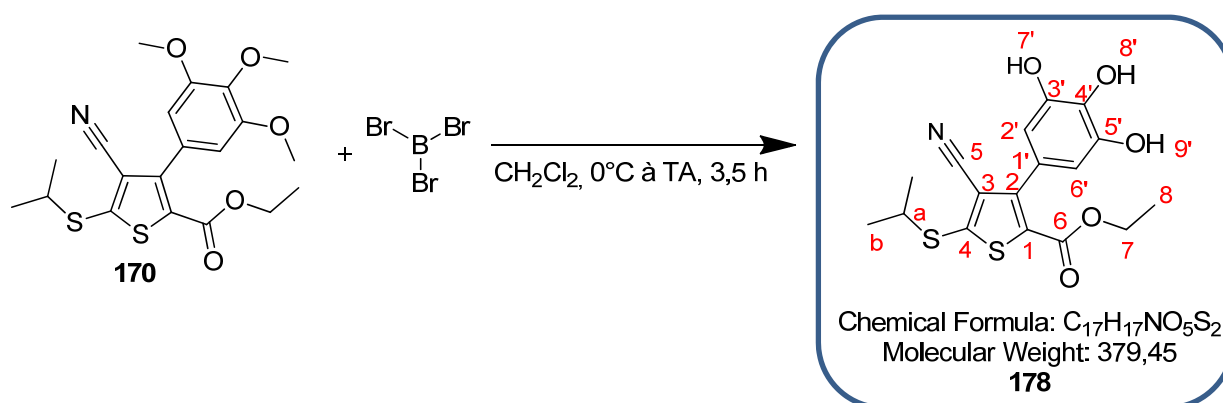
Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₇NO₄S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 386,0497, trouvée : 386,0506.

IR :

ν (cm⁻¹) : 2965 et 2933 et 2841 (**CH** st), 2224 (**C≡N** st), 1666 (**C=O** st), 1592, 1527, 1450 et 1421 (**arC-C**), 1356, 1309, 1265, 1206, 1156, 1065, 929, 845 et 765 (**arC-H** δ), 714, 696.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,99 min, 100 %.

4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(3,4,5-trihydroxyphényl)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **170**

Au composé **170** (0,067 g, 0,16 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 4 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (2,07 mL, 0,518 g, 2,07 mmol, 13 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 1,5 heures et à température ambiante pendant 2 heures.

4 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 15 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **178** (0,023 g, 35 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,27 (t, 3H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J = 7,0$ Hz) ; 3,63 (h, 1H, **Ha**, $J = 7,0$ Hz) ; 4,27 (q, 2H, **H7**, $J = 7,0$ Hz) ; 5,62 (s, 1H, **H8'**) ; 5,69 (s, 2H, **H7'** et **H9'**) ; 6,57 (s, 2H, **H2'** et **H6'**).

RMN ¹³C (75 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 14,2 (**C8**) ; 23,4 (**Cb**) ; 42,9 (**Ca**) ; 62,4 (**C7**) ; 109,7 (**C2'** et **C6'**) ; 114,3 (**C3**) ; 117,1 (**C5**) ; 124,2 (**C1'**) ; 130,0 (**C1**) ; 134,9 (**C4'**) ; 146,0 (**C3'** et **C5'**) ; 149,9 (**C2**) ; 152,3 (**C4**) ; 160,7 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 402,0 [M+Na]⁺.

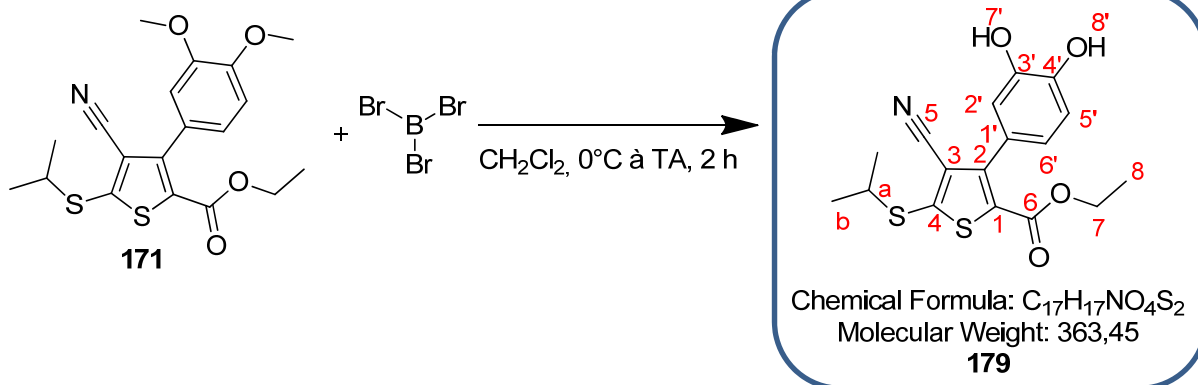
Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₇NO₅S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 402,0446, trouvée : 402,0456.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3337 (**O-H** st), 2971 et 2923 (**CH** st), 2221 (**C≡N** st), 1693 (**C=O** st), 1501 et 1446 (**arC-C**), 1374, 1293, 1242, 1154, 1085, 1033, 844 et 764 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,60 min, 100 %.

4-cyano-3-(3,4-dihydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **179**

Au composé **171** (0,060 g, 0,15 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 4 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (1,53 mL, 0,384 g, 1,53 mmol, 10 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 1 heure puis à température ambiante pendant 1 heure.

4 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 15 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 7:3 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **179** (0,045 g, 80 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,27 (t, 3H, **H8**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,47 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,64 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 4,24 (q, 2H, **H7**, *J* = 6,9 Hz) ; 5,85 (s, 1H, **H8'**) ; 6,05 (s, 1H, **H7'**) ; 6,86 (d, 1H, **H5'**, *J* = 8,4 Hz) ; 6,87 (s, 1H, **H2'**) ; 6,95 (d, 1H, **H6'**, *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 13,9 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,2 (**Ca**) ; 61,9 (**C7**) ; 113,8 (**C3**) ; 115,0 (**C2'**) ; 115,6 (**C5**) ; 116,6 (**C5'**) ; 122,3 (**C6'**) ; 124,4 (**C1'**) ; 128,3 (**C1**) ; 143,3 (**C3'**) ; 145,0 (**C4'**) ; 149,2 (**C2**) ; 153,2 (**C4**) ; 160,5 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 386,1 [M+Na]⁺.

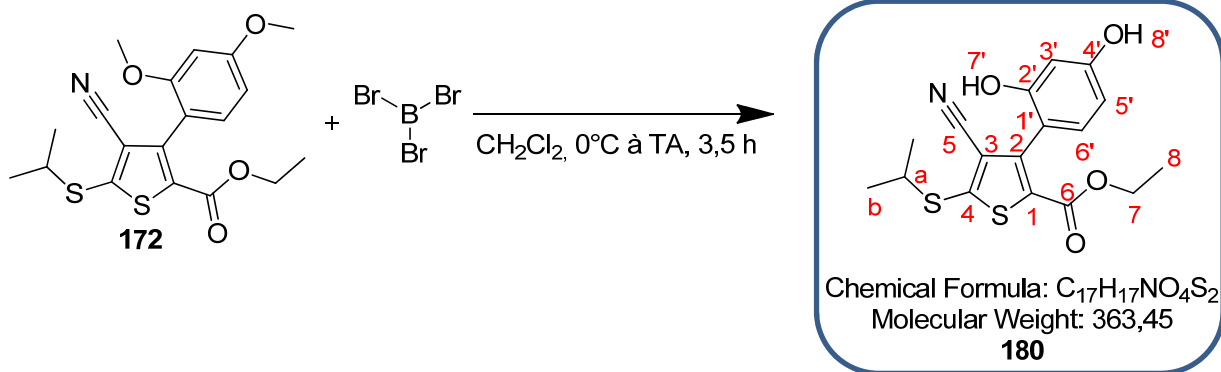
Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₈NO₄S₂⁺ [M+H]⁺ : 364,0677, trouvée : 364,0686.

IR :

v (cm⁻¹) : 3354 (**O-H** st), 2970 et 2918 et 2865 (**CH** st), 2224 (**C≡N** st), 1722, 1691 (**C=O** st), 1603, 1498 et 1444 (**arC-C**), 1357, 1290, 1240, 1153, 1079, 1039, 871, 808 et 755 (**arC-H** δ), 698.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,07 min, 97 %.

4-cyano-3-(2,4-dihydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **180**

Au composé **172** (0,041 g, 0,11 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 3 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (1,06 mL, 0,264 g, 1,05 mmol, 10 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 1,75 heures puis à température ambiante pendant 1,75 heures.

3 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 10 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaunâtre, le composé **180** (0,022 g, 58 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,28 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,0 Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, *J* = 7,0 Hz) ; 3,64 (h, 1H, **Ha**, *J* = 7,0 Hz) ; 4,28 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,0 Hz) ; 6,40 (s, 1H, **H7'** ou **H8'**) ; 6,45 (d, 1H, **H3'**, *J* = 1,5 Hz) ; 6,50 (dd, 1H, **H5'**, *J* = 1,5 Hz et *J* = 5,1 Hz) ; 7,09 (d, 1H, **H6'**, *J* = 5,1 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,3 (**Ca**) ; 62,2 (**C7**) ; 104,0 (**C3'**) ; 108,4 (**C5'**) ; 112,4 (**C1'**) ; 113,9 (**C3**) ; 116,6 (**C5**) ; 129,1 (**C1**) ; 131,7 (**C6'**) ; 146,1 (**C2**) ; 153,1 (**C4**) ; 154,4 (**C2'**) ; 158,1 (**C4'**) ; 161,1 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 386,0 [M+Na]⁺.

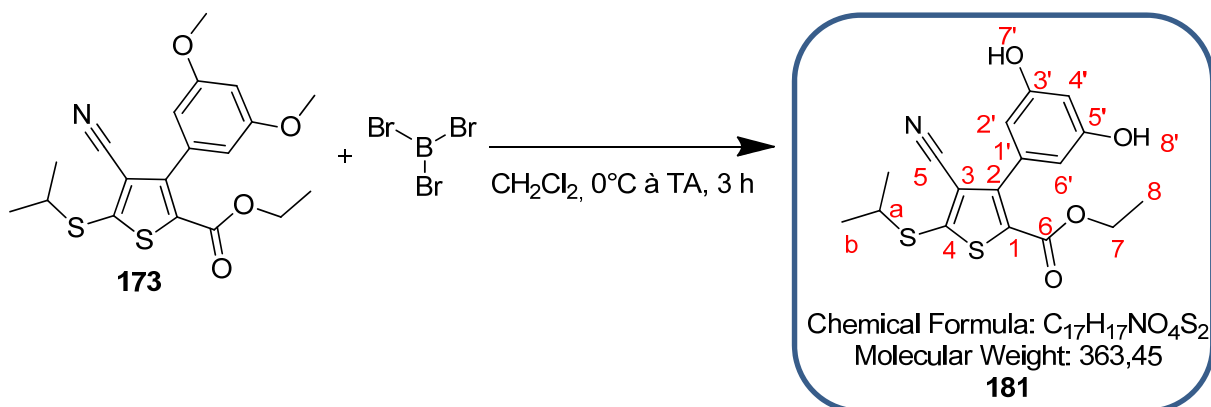
Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₇NO₄S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 386,0497, trouvée : 386,0504.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3328 (**O-H** st), 2972 et 2928 (**CH** st), 2243 (**C≡N** st), 1691 (**C=O** st), 1614, 1599, 1502 et 1458 (**arC-C**), 1371, 1277, 1215, 1168, 1118, 1081, 977, 845, 801 et 765 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,90 min, 86 %.

4-cyano-3-(3,5-dihydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **181**

Au composé **173** (0,088 g, 0,22 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 6 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (2,25 mL, 0,563 g, 2,25 mmol, 10 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 1,5 heures puis à température ambiante pendant 1,5 heures.

6 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 20 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide jaunâtre, le composé **181** (0,028 g, 34 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,26 (t, 3H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,5$ Hz) ; 3,63 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,5$ Hz) ; 4,25 (q, 2H, **H7**, $J = 7,0$ Hz) ; 6,26 (s, 2H, **H7'** et **H8'**) ; 6,37 (s, 1H, **H4'**) ; 6,45 (s, 2H, **H2'** et **H6'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,2 (**Cb**) ; 42,3 (**Ca**) ; 62,1 (**C7**) ; 104,1 (**C4'**) ; 109,0 (**C7'** et **C8'**) ; 113,5 (**C3**) ; 115,4 (**C5**) ; 128,9 (**C1**) ; 134,2 (**C1'**) ; 148,9 (**C2**) ; 153,4 (**C4**) ; 156,6 (**C3'** et **C5'**) ; 160,4 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 386,0 $[M+Na]^+$.

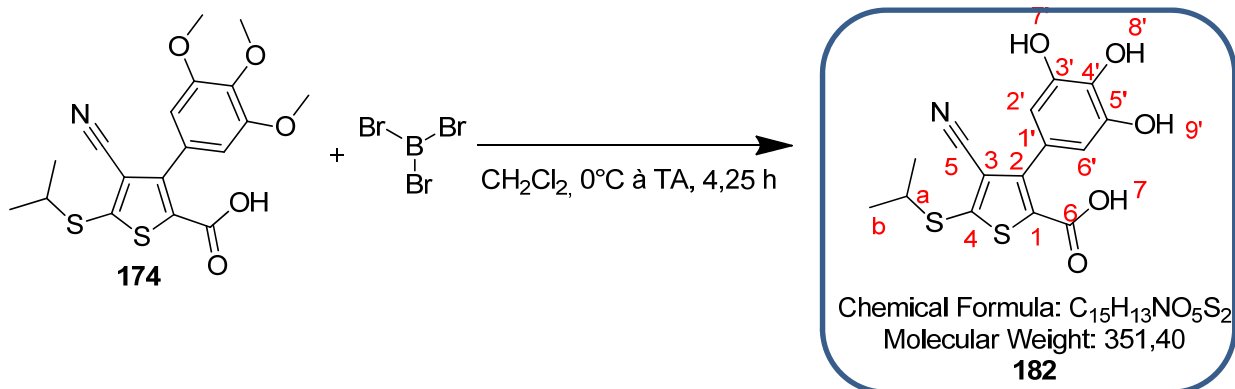
Haute résolution calculée pour $C_{17}H_{17}NO_4S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 386,0497, trouvée : 386,0503.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3385 (**O-H** st), 2969 et 2923 (**CH** st), 2213 (**C=N** st), 1689 (**C=O** st), 1594, 1491 et 1460 (**arC-C**), 1373, 1358, 1249, 1155, 1094, 1004, 846 et 763 (**arC-H** δ), 703, 675.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,83 min, 100 %.

acide 4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(3,4,5-trihydroxyphényl)thiophène-2-carboxylique **182**

Au composé **174** (0,286 g, 0,73 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 19 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (9,45 mL, 2,37 g, 9,45 mmol, 13 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 1,75 heures puis à température ambiante pendant 2,5 heures.

25 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 20 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide jaune, le composé **182** (0,182 g, 71 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 1,44 (d, 6H, **H_b**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,68 (h, 1H, **H_a**, *J* = 6,9 Hz) ; 6,53 (s, 2H, **H_{2'}** et **H_{6'}**), 7,54 (sl, 1H, **H_{8'}**), 8,05 (sl, 2H, **H_{7'}** et **H_{9'}**).

RMN ¹³C (75 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 23,4 (**C_b**) ; 42,9 (**C_a**) ; 109,9 (**C_{2'}** et **C_{6'}**) ; 114,4 (**C₃**) ; 117,0 (**C₅**) ; 124,3 (**C_{1'}**) ; 130,1 (**C₁**) ; 134,8 (**C_{4'}**) ; 146,1 (**C_{3'}** et **C_{5'}**) ; 150,0 (**C₂**) ; 152,5 (**C₄**) ; 161,4 (**C₆**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 374,0 [M+Na]⁺.

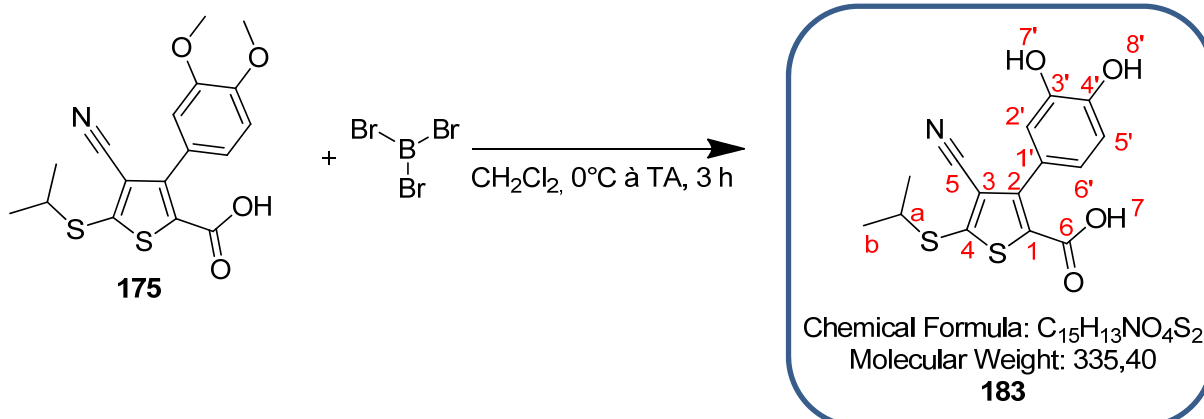
Haute résolution calculée pour C₁₅H₁₃NO₅S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 374,0133, trouvée : 374,0145.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3321 (**O-H** st), 2969 et 2912 (**CH** st), 2224 (**C≡N** st), 1671 (**C=O** st), 1610, 1506 et 1437 (**arC-C**), 1360, 1300, 1240, 1155, 1079, 1025, 854 et 767 (**arC-H** δ), 687.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 3,71 min, 100 %.

acide 4-cyano-3-(3,4-dihydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **183**

Au composé **175** (0,169 g, 0,46 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 12 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (4,65 mL, 1,17 g, 4,65 mmol, 10 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 1,5 heures puis à température ambiante pendant 1,5 heures.

13 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 30 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par partition de pentane et d'acétonitrile pour donner un solide jaunâtre, le composé **183** (0,100 g, 64 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 1,46 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,72 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 6,83 (d, 1H, **H5'**, $J = 8,4$ Hz) ; 6,90 (s, 1H, **H2'**) ; 6,99 (d, 1H, **H6'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 22,2 (**Cb**) ; 41,7 (**Ca**) ; 113,2 (**C3**) ; 114,5 (**C2'**) ; 116,0 (**C5**) ; 116,5 (**C5'**) ; 121,3 (**C6'**) ; 123,8 (**C1**) ; 128,8 (**C1'**) ; 144,1 (**C3'**) ; 145,7 (**C4'**) ; 148,8 (**C2**) ; 151,3 (**C4**) ; 160,1 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 334,1 [M-H]⁻.

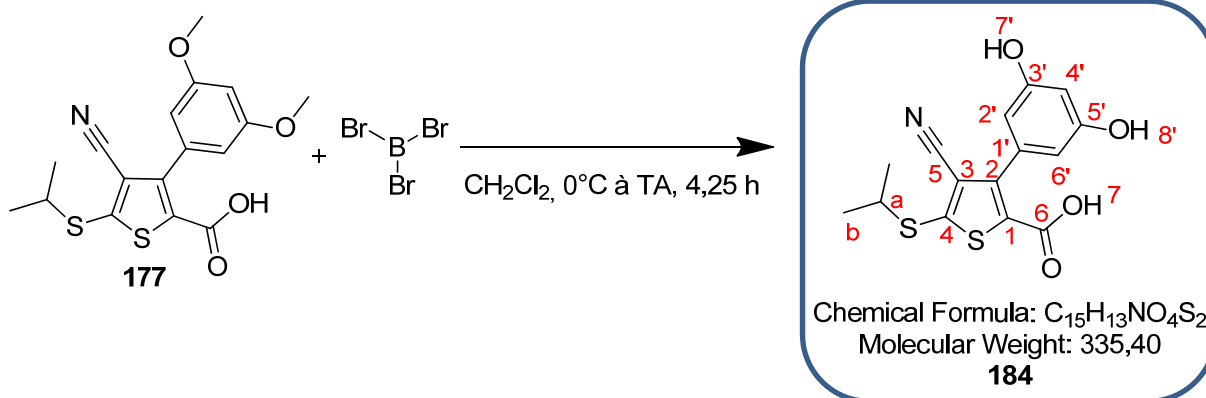
Haute résolution calculée pour $C_{15}H_{12}NO_4S_2^-$ [M-H]⁻ : 334,0208, trouvée : 334,0221.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3422 (**O-H** st), 3131 (ar**CH** st), 2965 et 2923 et 2862 (**CH** st), 2224 (**C=N** st), 1691 (**C=O** st), 1606, 1537, 1496 (ar**C-C**), 1358, 1278, 1238, 1168, 781 (ar**C-H** δ), 675.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,83 min, 95 %.

acide 4-cyano-3-(3,5-dihydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **184**

Au composé **177** (0,066 g, 0,18 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 5 mL de dichlorométhane à 0°C sous argon est additionné goutte-à-goutte le tribromure de bore 1M dans le dichlorométhane (1,82 mL, 0,455 g, 1,82 mmol, 10 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 0°C pendant 1,75 heures et à température ambiante pendant 2,5 heures.

6 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, 20 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide jaune, le composé **184** (0,042 g, 69 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 1,45 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,71 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 6,43 (m, 3H, **H2'** et **H4'** et **H6'**), 8,40 (sl, 2H, **H7'** et **H8'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, acétone) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 42,9 (**Ca**) ; 104,1 (**C4'**) ; 108,9 (**C2'** et **C6'**) ; 114,1 (**C3**) ; 116,9 (**C5**) ; 130,9 (**C1'**) ; 135,4 (**C1**) ; 149,7 (**C2**) ; 152,5 (**C4**) ; 159,0 (**C3'** et **C5'**) ; 161,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 358,0 $[M+Na]^+$.

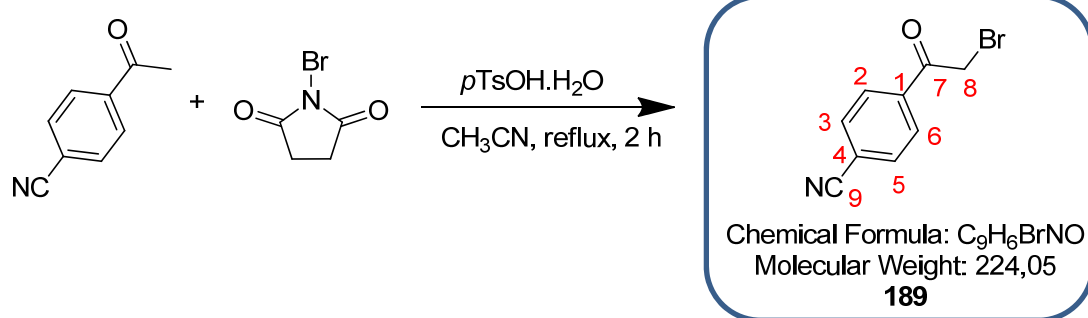
Haute résolution calculée pour $C_{15}H_{13}NO_4S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 358,0184, trouvée : 358,0197.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3383 (**O-H** st), 2966 et 2925 et 2850 (**CH** st), 2228 (**C \equiv N** st), 1692 (**C=O** st), 1601, 1496 et 1413 (**arC-C**), 1350, 1259, 1193, 1153, 1045, 1003, 840 et 767 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 3,92 min, 100 %.

4-(2-bromoacétyl)benzonitrile **189**

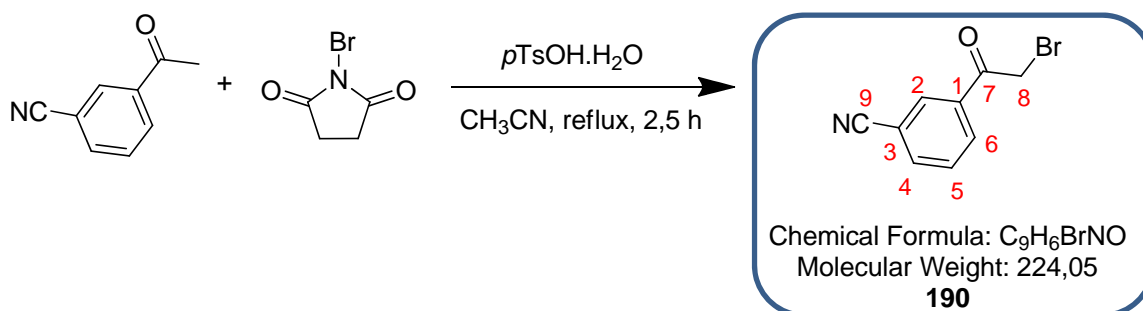
L'acide *para*-toluène sulfonique monohydraté (2,02 g, 10,6 mmol, 1,5 éq.) est ajouté au 4-acétylbenzonitrile (1,03 g, 7,09 mmol, 1 éq.) solubilisé dans l'acétonitrile (350 mL) à température ambiante. Le N-bromosuccinimide (1,26 g, 7,09 mmol, 1,5 éq.) est ensuite additionné par fractions. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 heures à reflux.

Après retour à température ambiante, le milieu est évaporé à sec. L'huile est solubilisée dans le dichlorométhane. La phase organique est ensuite lavée deux fois avec de l'eau, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane/CH₂Cl₂ 8:2 (v/v) à heptane/CH₂Cl₂ 5:5 (v/v) en 30 minutes) pour donner le composé **189** (1,24 g, 78 % de rendement) sous forme d'un solide blanc.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 4,45 (s, 2H, **H8**) ; 7,82 (d, 1H, **H3** et **H5**, *J* = 8,0 Hz) ; 8,10 (d, 1H, **H2** et **H6**, *J* = 8,0 Hz).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.²³⁴

3-(2-bromoacétyl)benzonitrile **190**

L'acide *para*-toluène sulfonique monohydraté (2,34 g, 12,3 mmol, 1,5 éq.) est ajouté au 3-acétylbenzonitrile (1,19 g, 8,20 mmol, 1 éq.) solubilisé dans l'acétonitrile (410 mL) à température ambiante. Le N-bromosuccinimide (1,46 g, 8,20 mmol, 1,5 éq.) est ensuite additionné par fractions. Le milieu réactionnel est agité pendant 2,5 heures à reflux.

Après retour à température ambiante, le milieu est évaporé à sec. L'huile est solubilisée dans le dichlorométhane. La phase organique est ensuite lavée deux fois avec de l'eau, séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane/ CH₂Cl₂ 8:2 (v/v) à heptane/CH₂Cl₂ 5:5 (v/v) en 30 minutes) pour donner le composé **190** (1,64 g, 89 % de rendement) sous forme d'un solide blanc.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 4,45 (s, 2H, **H8**) ; 7,67 (t, 1H, **H5**, *J* = 7,5 Hz) ; 7,89 (d, 1H, **H6**, *J* = 7,5 Hz) ; 8,22 (d, 1H, **H4**, *J* = 7,5 Hz) ; 8,27 (s, 1H, **H2**).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 32,2 (**C8**) ; 114,9 (**C3**) ; 119,3 (**C9**) ; 131,3 (**C5**) ; 133,2 (**C1**) ; 133,8 (**C4**) ; 134,3 (**C2**) ; 137,9 (**C6**) ; 190,3 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 222,0 [M-H]⁻.

Haute résolution calculée pour C₉H₅⁷⁹BrNO⁻ [M-H]⁻ : 221,9554, trouvée : 221,9562 ;

C₉H₅⁸¹BrNO⁻ [M-H]⁻ : 223,9534, trouvée : 223,9542.

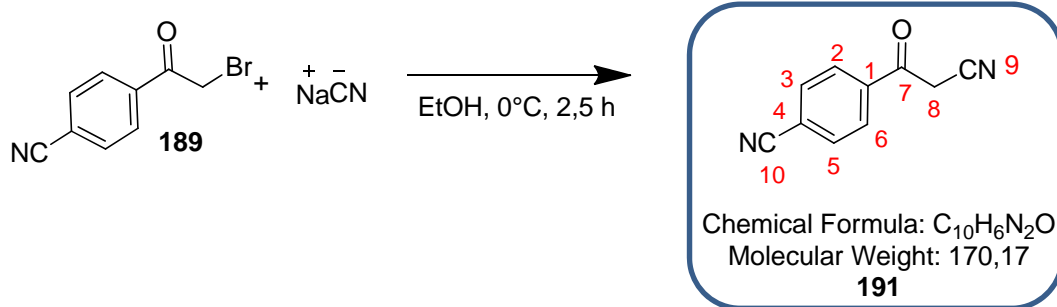
IR :

ν (cm⁻¹) : 3105 et 3067 (**arCH** st), 2990 et 2940 (**CH** st), 2229 (**C≡N** st), 1705 (**C=O_{cétone}** st), 1688, 1598, 1480, 1429, 1386, 1275, 1223, 1150, 1031, 938, 884, 801, 694, 681.

AE :

Théorique %C = 48,25 ; %H = 2,70 ; %N = 6,25 ; %O = 7,16 ;

Trouvée %C = 48,33 ; %H = 2,69 ; %N = 6,16 ; %O = 7,42.

4-(2-cyanoacétyl)benzonitrile **191**

Sous argon, une solution de cyanure de sodium (0,717 g, 14,6 mmol, 2,9 éq.) dans 3,7 mL d'eau est ajoutée au pousse-seringue en 30 minutes au 4-(2-bromoacétyl)benzonitrile **189** (1,13 g, 5,05 mmol, 1 éq.) mis en suspension à 0°C dans l'éthanol (15 mL). Le milieu réactionnel est agité pendant 2 heures à 0°C.

15 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite filtré sur Célite® et lavé avec de l'eau. Le filtrat orange est acidifié avec une solution d'acide chlorhydrique 1N jusqu'à l'obtention d'un milieu « nuageux » (pH ≈ 2). Le filtrat est extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont ensuite séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide rouge obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 35 minutes) pour donner le composé **191** (0,535 g, 62 % de rendement) sous forme d'un solide blanc.

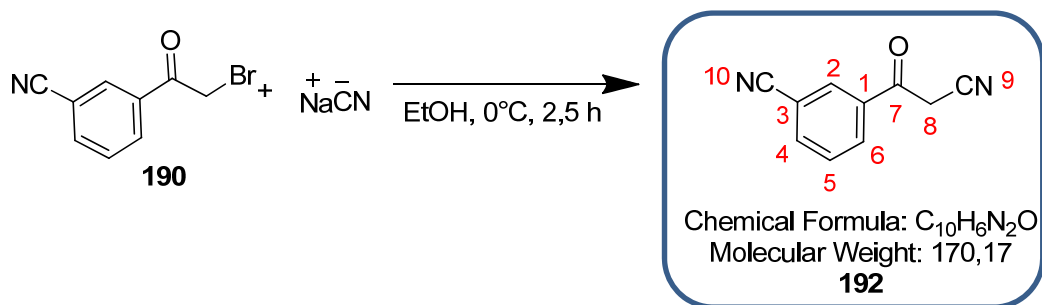
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 4,04 (s, 2H, **H8**) ; 7,78 (d, 2H, **H3** et **H5**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,97 (d, 2H, **H2** et **H6**, *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 29,7 (**C8**) ; 112,9 (**C9**) ; 117,3 (**C10**) ; 118,1 (**C4**) ; 129,9 (**C2** et **C6**) ; 133,0 (**C3** et **C5**) ; 137,0 (**C1**) ; 186,0 (**C7**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.²³⁸

3-(2-cyanoacétyl)benzonitrile **192**

Sous argon, une solution de cyanure de sodium (1,03 g, 20,9 mmol, 2,9 éq.) dans 5,2 mL d'eau est ajoutée au pousse-seringue en 30 minutes au 3-(2-bromoacétyl)benzonitrile **190** (1,62 g, 7,22 mmol, 1 éq.) mis en suspension à 0°C dans l'éthanol (15 mL). Le milieu réactionnel est agité pendant 2,5 heures à 0°C.

15 mL d'eau sont ajoutés au milieu réactionnel, qui est ensuite filtré sur Célite® et lavé avec de l'eau. Le filtrat orange est acidifié avec une solution d'acide chlorhydrique 1N jusqu'à l'obtention d'un milieu « nuageux » (pH ≈ 2). Le filtrat est extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont ensuite séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide rouge obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 50 minutes) pour donner le composé **192** (0,742 g, 60 % de rendement) sous forme d'un solide blanc.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 4,12 (s, 2H, **H8**) ; 7,67 (t, 1H, **H5**, *J* = 7,5 Hz) ; 7,89 (d, 1H, **H6**, *J* = 7,5 Hz) ; 8,22 (d, 1H, **H3**, *J* = 7,5 Hz) ; 8,27 (s, 1H, **H2**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 29,6 (**C8**) ; 112,9 (**C9**) ; 114,0 (**C3**) ; 117,2 (**C10**) ; 130,3 (**C5**) ; 132,0 (**C4**) ; 132,2 (**C2**) ; 135,0 (**C1**) ; 137,5 (**C6**) ; 185,4 (**C7**).

SM (IE) : m/z 172,0 [M]⁺.

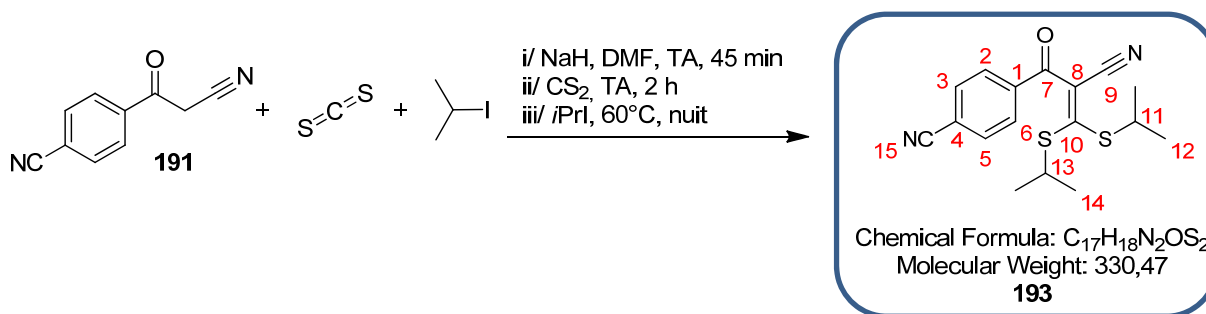
IR :

ν (cm⁻¹) : 3111 et 3067 (**arCH** st), 2923 (**CH** st), 2256 et 2232 (**C≡N** st), 1700 (**C=O_{cétone}** st), 1601, 1480, 1430, 1392, 1323, 1239, 1156, 1040, 944, 909, 805, 753, 684, 662.

AE :

Théorique %C = 70,58 ; %H = 3,55 ; %N = 16,46 ; %O = 9,40.

Trouvée %C = 70,56 ; %H = 3,52 ; %N = 16,26 ; %O = 9,56.

4-(2-cyano-3,3-bis(isopropylthio)acryloyl)benzonitrile **193**

L'hydru de sodiu à 60 % dans de l'huile (0,199 g, 4,98 mmol, 2,6 éq.) est ajouté au 4-(2-cyanoacétyl)benzonitrile **191** (0,326 g, 1,92 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le diméthylformamide (3 mL) à température ambiante. Le milieu réactionnel de couleur orange est agité pendant 45 minutes à température ambiante. Le disulfure de carbone (0,115 mL, 0,146 g, 1,92 mmol, 1 éq.) est ensuite additionné goutte-à-goutte. Le mélange réactionnel devenu rouge foncé est agité pendant 2 heures à température ambiante avant d'ajouter goutte-à-goutte l'iodure d'isopropyle (0,402 mL, 0,684 g, 4,02 mmol, 2,1 éq.). Le milieu réactionnel est alors agité à 60°C pendant 23 heures.

Le milieu est ensuite évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'eau puis la phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 45 minutes) pour donner le composé **193** (0,330 g, 52 % de rendement) sous forme d'une huile jaune.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,36 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 7,0 Hz) ; 1,47 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 7,0 Hz) ; 3,86 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 7,0 Hz) ; 4,06 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 7,0 Hz) ; 7,79 (d, 2H, **H2** et **H6**, *J* = 8,0 Hz) ; 7,96 (d, 2H, **H3** et **H5**, *J* = 8,0 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 22,9 (**C12** ou **C14**) ; 23,0 (**C12** ou **C14**) ; 41,1 (**C11** ou **C13**) ; 43,1 (**C11** ou **C13**) ; 108,8 (**C8**) ; 116,3 (**C4**) ; 117,3 (**C9**) ; 117,8 (**C15**) ; 129,4 (**C2** et **C6**) ; 132,4 (**C3** et **C5**) ; 140,2 (**C1**) ; 176,7 (**C10**) ; 185,9 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 353,1[M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₈N₂O S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 353,0758, trouvée : 353,0753.

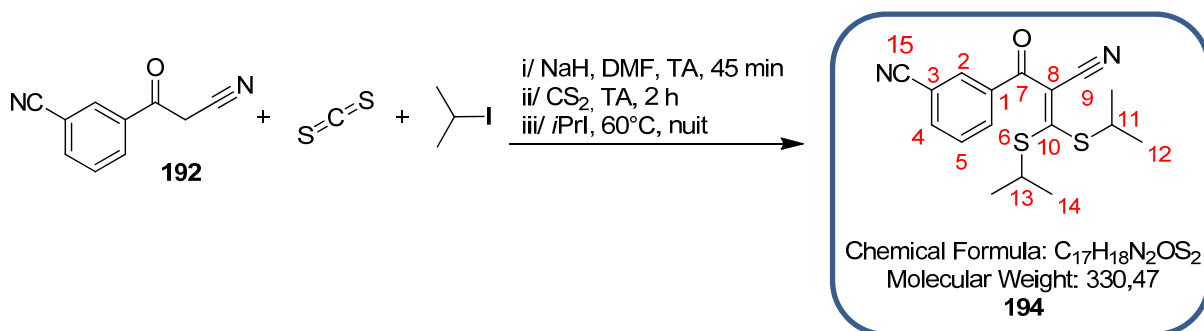
IR :

ν (cm⁻¹) : 2969 et 2928 et 2865 (**CH** st), 2231 et 2205 (**C≡N** st), 1646 (**C=O** st), 1449, 1403, 1368, 1257, 1153, 1052, 994, 916, 854, 764, 700.

AE :

Théorique %C = 61,79 ; %H = 5,49 ; %N = 8,48 ; %O = 4,84 ; %S = 19,41.

Trouvée %C = 61,68 ; %H = 5,56 ; %N = 8,51 ; %O = 5,05 ; %S = 19,37.

3-(2-cyano-3,3-bis(isopropylthio)acryloyl)benzonitrile **194**

L'hydruure de sodium à 60 % dans de l'huile (0,437 g, 10,9 mmol, 2,6 éq.) est ajouté au 3-(2-cyanoacétyl)benzonitrile **192** (0,715 g, 4,20 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le diméthylformamide (7 mL) à température ambiante. Le milieu réactionnel de couleur orange est agité pendant 45 minutes à température ambiante. Le disulfure de carbone (0,253 mL, 0,320 g, 4,20 mmol, 1 éq.) est ensuite additionné goutte-à-goutte. Le mélange réactionnel devenu rouge foncé est agité pendant 2 heures à température ambiante avant d'ajouter goutte-à-goutte l'iodure d'isopropyle (0,881 mL, 1,50 g, 8,82 mmol, 2,1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à 60°C pendant 23 heures.

Le milieu est ensuite évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'eau puis la phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 45 minutes) pour donner le composé **194** (0,966 g, 70 % de rendement) sous forme d'une huile jaune.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,36 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 7,0 Hz) ; 1,47 (d, 6H, **H12** ou **H14**, *J* = 7,0 Hz) ; 3,85 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 7,0 Hz) ; 4,05 (h, 1H, **H11** ou **H13**, *J* = 7,0 Hz) ; 7,63 (t, 1H, **H5**, *J* = 7,5 Hz) ; 7,86 (d, 1H, **H6**, *J* = 7,5 Hz) ; 8,11 (d, 1H, **H3**, *J* = 7,5 Hz) ; 8,14 (s, 1H, **H2**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 22,9 (**C12** ou **C14**) ; 23,0 (**C12** ou **C14**) ; 41,1 (**C11** ou **C13**) ; 43,1 (**C11** ou **C13**) ; 108,8 (**C8**) ; 113,2 (**C3**) ; 117,2 (**C9**) ; 117,7 (**C15**) ; 129,6 (**C5**) ; 132,6 (**C4**) ; 133,0 (**C2**) ; 136,0 (**C6**) ; 137,7 (**C1**) ; 176,2 (**C10**) ; 185,3 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 353,1[M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₈N₂O S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 353,0758, trouvée : 353,0757.

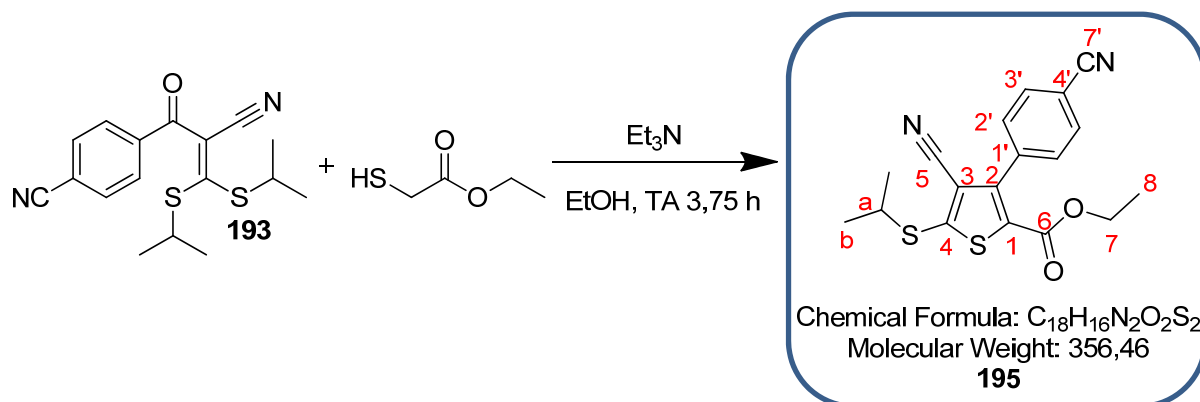
IR :

ν (cm⁻¹) : 2969 et 2931 et 2861 (**CH** st), 2232 et 2204 (**C≡N** st), 1647 (**C=O** st), 1420, 1368, 1267, 1153, 1051, 1012, 917, 813, 754, 683, 665.

AE :

Théorique %C = 61,79 ; %H = 5,49 ; %N = 8,48 ; %O = 4,84 ; %S = 19,41.

Trouvée %C = 61,87 ; %H = 5,61 ; %N = 8,44 ; %O = 4,99 ; %S = 19,53.

4-cyano-3-(4-cyanophényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **195**

Au cétène dithioacétal **193** (0,312 g, 0,79 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 3,5 mL d'éthanol sont additionnés le 2-mercaptoacétate d'éthyle (0,086 mL, 0,095 g, 0,79 mmol, 1 éq.) et la triéthylamine goutte-à-goutte (0,121 mL, 0,088 g, 0,87 mmol, 1,1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3,75 heures.

Après évaporation du solvant, de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **195** (0,157 g, 56 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,23 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,49 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,66 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 4,23 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,54 (d, 2H, **H2'**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,77 (d, 2H, **H3'**, *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,1 (**Cb**) ; 42,4 (**Ca**) ; 62,0 (**C7**) ; 113,1 (**C4'** et **C3**) ; 114,8 (**C5**) ; 116,1 (**C7'**) ; 129,7 (**C1**) ; 130,2 (**C2'**) ; 131,9 (**C3'**) ; 136,9 (**C1'**) ; 146,7 (**C2**) ; 154,2 (**C4**) ; 159,6 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 379,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₈H₁₆N₂O₂S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 379,0551, trouvée : 379,0555.

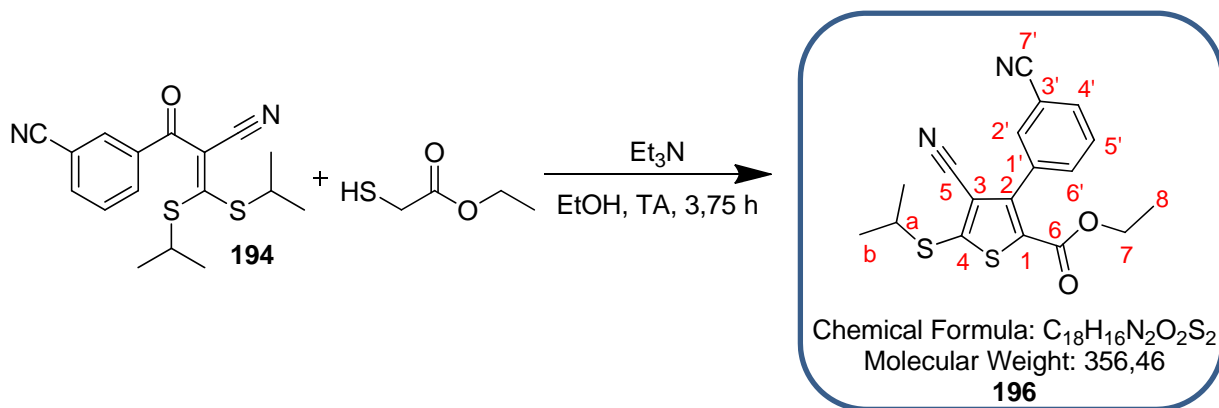
IR :

ν (cm⁻¹) : 2975 et 2923 (**CH** st), 2233 (**C≡N** st), 1720 (**C=O** st), 1527 et 1499 (**arC-C**), 1473, 1391, 1356, 1269, 1192, 1179, 1083, 1042, 1017, 849, 762 (**arC-H** δ), 675.

AE :

Théorique %C = 60,65 ; %H = 4,52 ; %N = 7,86 ; %O = 8,98 ; %S = 17,99.

Trouvée %C = 60,81 ; %H = 4,44 ; %N = 7,76 ; %O = 8,76 ; %S = 18,11.

4-cyano-3-(3-cyanophényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **196**

Au cétène dithioacétal **194** (0,940 g, 2,38 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 10 mL d'éthanol sont additionnés le 2-mercaptoacétate d'éthyle (0,261 mL, 0,286 g, 2,38 mmol, 1 éq.) et la triéthylamine goutte-à-goutte (0,364 mL, 0,265 g, 2,61 mmol, 1,1 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 3,75 heures.

Après évaporation du solvant, de l'eau est ajoutée sur le milieu réactionnel, qui est ensuite extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 40 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **196** (0,772 g, 91 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,23 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,49 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,66 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,23 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; de 7,57 à 7,77 (m, 4H, **H_{ar}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 23,1 (**Cb**) ; 42,4 (**Ca**) ; 62,0 (**C7**) ; 113,1 (**C3** et **C3'**) ; 114,8 (**C5**) ; 116,1 (**C7'**) ; 129,1 (**C4'**) ; 129,9 (**C1**) ; 132,6 (**C6'**) ; 133,1 (**C2'**) ; 133,7 (**C5'**) ; 135,4 (**C1'**) ; 146,1 (**C2**) ; 154,1 (**C4**) ; 159,7 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 379,1 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{18}H_{16}N_2O_2S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 379,0551, trouvée : 379,0556.

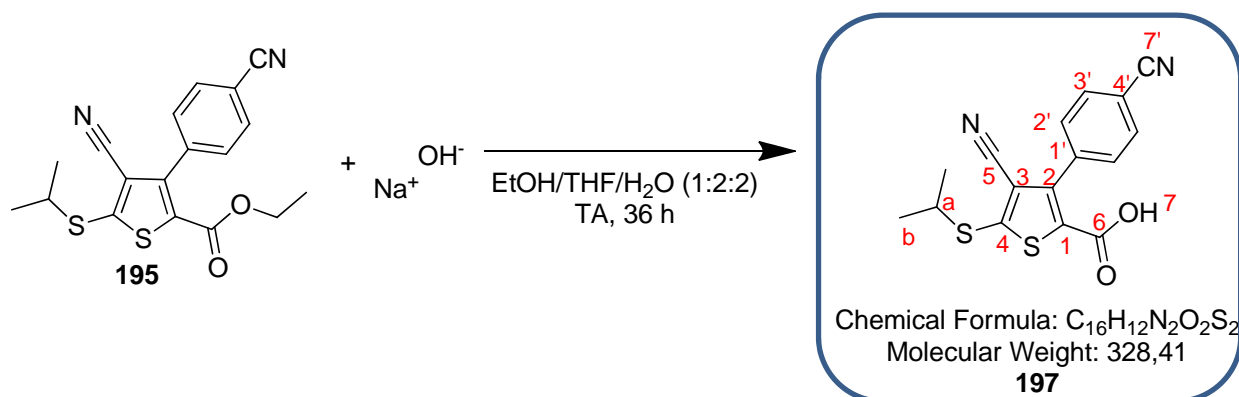
IR :

ν (cm^{-1}) : 2967 et 2928 (**CH** st), 2233 (**C \equiv N** st), 1723 (**C=O** st), 1520 et 1487 (**arC-C**), 1366, 1273, 1163, 1085, 1042, 1017, 905, 806 et 761 (**arC-H** δ), 705, 680.

AE :

Théorique %C = 60,65 ; %H = 4,52 ; %N = 7,86 ; %O = 8,98 ; %S = 17,99.

Trouvée %C = 60,61 ; %H = 4,56 ; %N = 7,78 ; %O = 8,86 ; %S = 18,01.

acide 4-cyano-3-(4-cyanophényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **197**

Une solution aqueuse de soude 2M (1,5 mL, 0,122 g, 3,06 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **195** (0,109 g, 0,31 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (2,3 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (3,0 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **197** (0,100 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 1,46 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,74 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 7,72 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,88 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 43,6 (**Ca**) ; 113,8 (**C4'** et **C3**) ; 114,2 (**C5**) ; 119,5 (**C7'**) ; 130,4 (**C1**) ; 131,7 (**C2'**) ; 133,0 (**C3'**) ; 139,0 (**C1'**) ; 147,7 (**C2**) ; 154,1 (**C4**) ; 162,3 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 327,0 [M-H] $^-$.

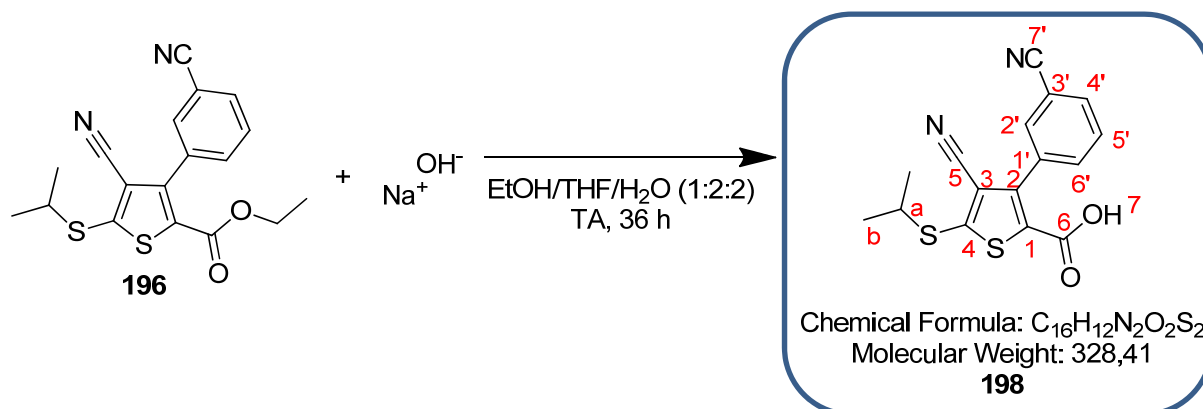
Haute résolution calculée pour $C_{16}H_{11}N_2O_2S_2$ [M-H] $^-$: 327,0262, trouvée : 327,0268.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2966 et 2925 et 2861 (**CH** st), 2227 (**C \equiv N** st), 1695 (**C=O** st), 1674, 1607, 1533 et 1494 (**arC-C**), 1368, 1266, 1268, 1196, 1156, 1039, 873, 837, 789 et 769 (**arC-H** δ), 673.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,77 min, 80 %.

acide 4-cyano-3-(3-cyanophényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxylique **198**

Une solution aqueuse de soude 2M (10 mL, 0,809 g, 20,2 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **196** (0,721 g, 2,02 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (15 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (20 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **198** (0,557 g, 84 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 1,47 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,75 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 4) ; 7,69 à 7,97 (m, 4H, **Har**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 43,3 (**Ca**) ; 113,1 (**C3'**) ; 114,0 (**C3**) ; 116,6 (**C5**) ; 119,0 (**C7'**) ; 130,2 (**C4'**) ; 130,2 (**C1**) ; 133,4 (**C6'**) ; 134,2 (**C2'**) ; 135,0 (**C5'**) ; 135,1 (**C1'**) ; 147,2 (**C2**) ; 153,4 (**C4**) ; 160,9 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 351,0 $[M+Na]^+$.

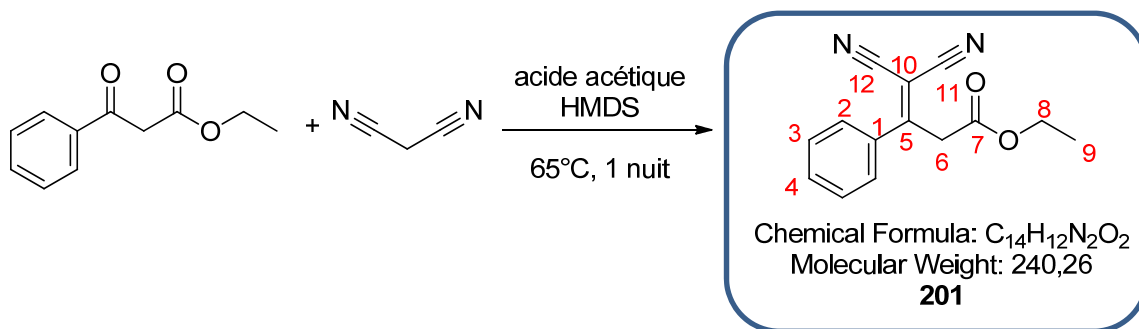
Haute résolution calculée pour $C_{16}H_{12}N_2O_2S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 351,0238, trouvée : 351,0244.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2969 et 2933 (**CH** st), 2253 et 2207 (**C \equiv N** st), 1690 (**C=O** st), 1530 et 1472 (**arC-C**), 1419, 1350, 1261, 1229, 1157, 1082, 822 et 799 (**arC-H** δ), 688, 671.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,75 min, 97 %.

4,4-dicyano-3-phénylbut-3-énoate d'éthyle **201**

Le HMDS (0,65 mL, 0,504 g, 3,12 mmol, 1,2 éq.) est additionné au 1,7 mL d'acide acétique à l'aide d'un pousse-seringue en 30 minutes. Cette solution est ajoutée au milieu réactionnel constitué d'oxopropanoate d'éthyle et de sa forme énol (0,500 g, 2,60 mmol, 1 éq.), de malononitrile (0,16 mL, 0,172 g, 2,60 mmol, 1 éq.) et de 0,9 mL d'acide acétique. Le milieu réactionnel est chauffé à 65°C pendant une nuit.

Après refroidissement à température ambiante avec 4,3 mL de toluène refroidi à 0°C puis dilution avec 3,5 mL d'eau, le milieu réactionnel est ensuite extrait deux fois avec du toluène. Les phases organiques rassemblées sont lavées quatre fois avec de l'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile rouge obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) pour donner sous forme d'huile jaune, le composé **201** (0,399 g, 64 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,19 (t, 3H, **H9**, *J* = 7,2 Hz) ; 3,97 (s, 2H, **H6**) ; 4,14 (q, 2H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,53 (m, 5H, **Har**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

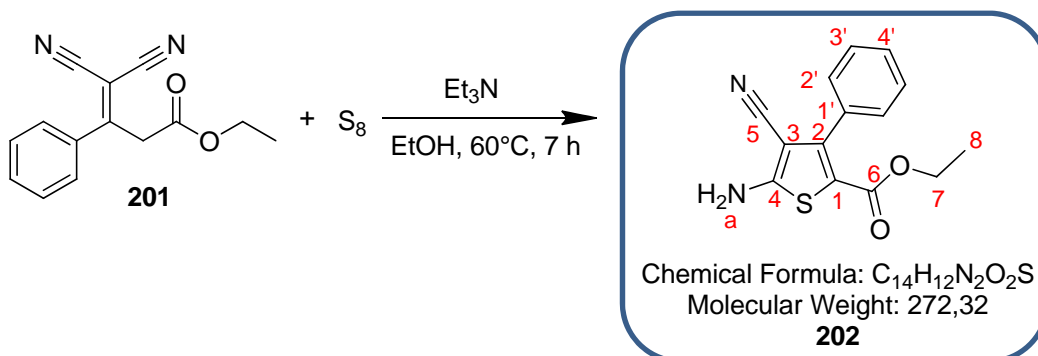
δ (ppm) : 13,9 (**C9**) ; 42,5 (**C6**) ; 62,3 (**C8**) ; 87,8 (**C10**) ; 112,3 et 112,4 (**C11** et **C12**) ; 127,7 (**C2**) ; 129,2 (**C3**) ; 132,5 (**C4**) ; 134,6 (**C1**) ; 166,4 (**C5**) ; 170,2 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 239,1 [M-H]⁻.

Haute résolution calculée pour C₁₄H₁₁N₂O₂ [M-H]⁻ : 239,0821, trouvée : 239,0830.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3418 (**arCH** st), 2897 et 2846 (**CH** st), 2231 (**C≡N** st), 1737 (**C=O** st ester), 1640, 1531, 1510, 1484, 1364, 1270, 1210, 1088, 1013, 878, 828, 757, 744.

5-amino-4-cyano-3-phénylthiophène-2-carboxylate d'éthyle **202**

Le soufre moléculaire (0,006 g, 0,20 mmol, 1 éq.) est ajouté au composé **201** (0,047 g, 0,20 mmol, 1 éq.), solubilisé dans 0,11 mL d'éthanol. La triéthylamine (0,027 mL, 0,020 g, 0,20 mmol, 1 éq.) est ensuite additionnée goutte-à-goutte au milieu réactionnel.

Après 7 heures d'agitation à 60°C, le milieu réactionnel est extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois avec une solution de chlorure de sodium 12,5 % massique puis une fois avec une solution de chlorure de sodium 25 % massique, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide orange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 20 minutes) pour donner sous forme de solide jaune, le composé **202** (0,053 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,07 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 4,06 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 5,18 (sl, 2H, **Ha**) ; 7,35 (s, 5H, **Har**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

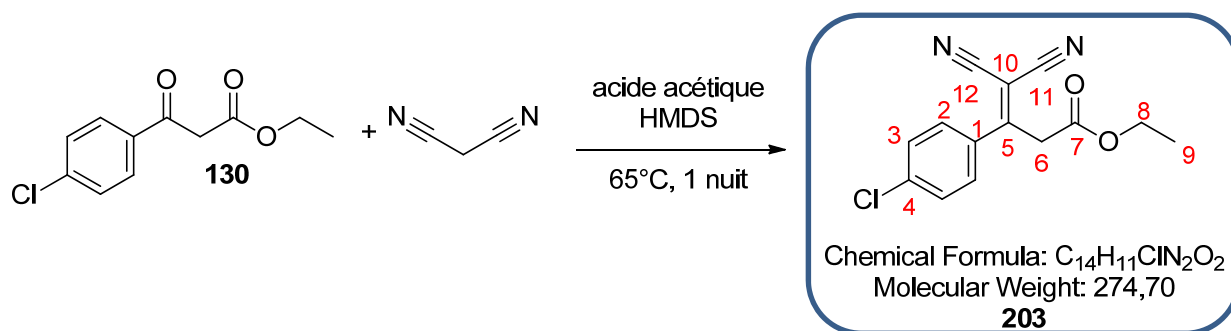
δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 61,0 (**C7**) ; 92,7 (**C3**) ; 112,0 (**C1**) ; 114,4 (**C5**) ; 127,9 (**C2'**) ; 129,0 (**C4'**) ; 129,1 (**C3'**) ; 132,9 (**C1'**) ; 148,0 (**C2**) ; 161,2 (**C6**) ; 164,5 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 273,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₄H₁₃N₂O₂S [M+H]⁺ : 273,0698, trouvée : 273,0700.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3361 et 3326 (**NH** st), 2986 et 2899 (**CH** st), 2211 (**C≡N** st), 1681 (**C=O** st ester), 1652, 1505, 1479, 1319, 1264, 1165, 1068, 1014, 749, 695.

3-(4-chlorophényl)-4,4-dicyanobut-3-énoate d'éthyle **203**

Le HMDS (7,44 mL, 5,76 g, 35,7 mmol, 1,2 éq.) est additionné aux 20 mL d'acide acétique à l'aide d'un pousse-seringue en 30 minutes. Cette solution est ajoutée au milieu réactionnel constitué d'oxopropanoate d'éthyle **130** et de sa forme énol (6,74 g, 29,7 mmol, 1 éq.), de malononitrile (1,87 mL, 1,96 g, 29,7 mmol, 1 éq.) et de 10 mL d'acide acétique. Le milieu réactionnel est chauffé à 65°C pendant une nuit.

Après refroidissement à température ambiante avec 50 mL de toluène refroidi à 0°C puis dilution avec 40 mL d'eau, le milieu réactionnel est extrait deux fois avec du toluène. Les phases organiques rassemblées sont lavées quatre fois avec de l'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile rouge obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 60 minutes) pour donner sous forme d'huile jaune, le composé **203** (4,65 g, 57 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,15 (t, 3H, **H9**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,87 (s, 2H, **H6**) ; 4,08 (q, 2H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 7,42 (s, 4H, **Har**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

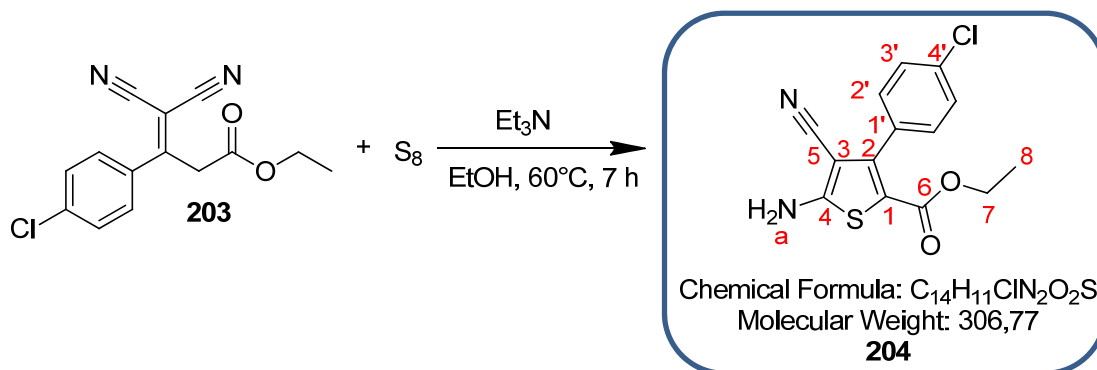
δ (ppm) : 14,0 (**C9**) ; 42,3 (**C6**) ; 62,4 (**C8**) ; 88,3 (**C10**) ; 111,9 et 112,1 (**C11** et **C12**) ; 129,1 (**C2**) ; 129,7 (**C3**) ; 132,9 (**C4**) ; 139,0 (**C1**) ; 166,2 (**C5**) ; 168,6 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 273,0 [M-H] $^-$.

Haute résolution calculée pour $C_{14}H_{10}^{35}ClN_2O_2$ [M-H] $^-$: 273,0431, trouvée : 273,0430.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3418 (arCH st), 2897 et 2846 (CH st), 2231 ($C\equiv N$ st), 1737 ($C=O$ st ester), 1640, 1590, 1510, 1485, 1365, 1268, 1242, 1210, 1088, 1013, 878, 828, 757, 744.

5-amino-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **204**

Le soufre moléculaire (0,539 g, 16,8 mmol, 1 éq.) est ajouté au composé **203** (4,62 g, 16,8 mmol, 1 éq.), solubilisé dans 9,4 mL d'éthanol. La triéthylamine (2,35 mL, 1,70 g, 16,8 mmol, 1 éq.) est ensuite additionnée goutte-à-goutte au milieu réactionnel.

Après 7 heures d'agitation à 60°C, le milieu réactionnel est extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois avec une solution de chlorure de sodium 12,5 % massique puis une fois avec une solution de chlorure de sodium 25 % massique, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide orange obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 100 minutes) pour donner sous forme de solide jaune, le composé **204** (4,38 g, 85 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,11 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 4,08 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 5,19 (sl, 2H, **Ha**) ; 7,30 (d, 2H, **H3'**, $J = 6,9$ Hz) ; 7,33 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,9$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

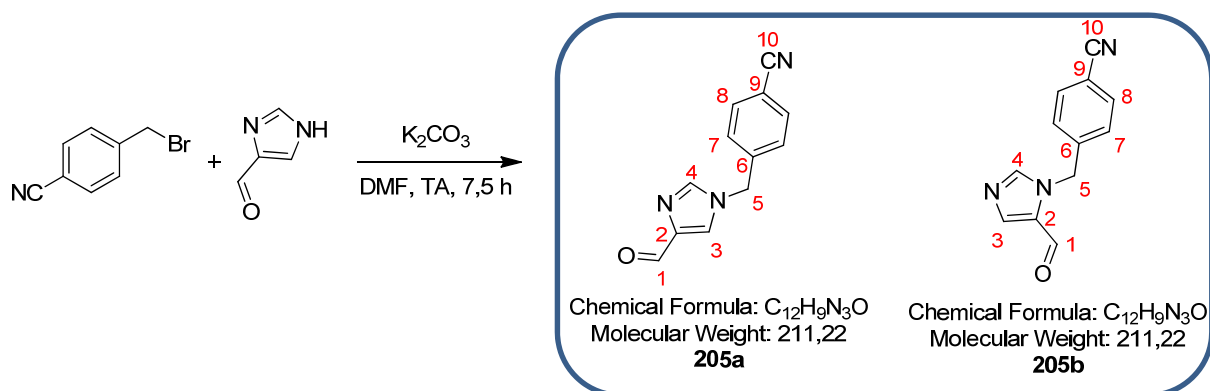
δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 61,2 (**C7**) ; 92,5 (**C3**) ; 112,3 (**C1**) ; 114,2 (**C5**) ; 128,3 (**C2'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 131,3 (**C4'**) ; 135,1 (**C1'**) ; 146,6 (**C2**) ; 160,9 (**C6**) ; 164,5 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 305,0 $[M-H]^-$.

Haute résolution calculée pour $C_{14}H_{10}^{35}ClN_2O_2S$ $[M-H]^-$: 305,0152, trouvée : 305,0160.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3348 et 3307 (**NH** st), 3214 (**arCH** st), 2961 (**CH** st), 2215 (**C≡N** st), 1682 (**C=O** st ester), 1647, 1505, 1485, 1368, 1321, 1274, 1170, 1088, 1070, 1015, 821, 759.

4-((4-formyl-1H-imidazol-1-yl)méthyl)benzonitrile **205a**4-((5-formyl-1H-imidazol-1-yl)méthyl)benzonitrile **205b**

À une solution d'imidazole-4-carbaldéhyde (1,19 g, 12,3 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du DMF (12 mL) est ajoutée du carbonate de potassium (3,41 g, 24,7 mmol, 2 éq.). Après 10 minutes d'agitation à température ambiante, une solution de 4-(bromométhyl)benzonitrile (2,42 g, 12,3 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du DMF (5,9 mL) est additionnée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité pendant 7,5 heures à température ambiante.

Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 98:2 (v/v) en 30 minutes) pour donner deux solides blancs, le composé **205a** (0,969 g, 37 % de rendement) et le composé **205b** (1,03 g, 40 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

4-((4-formyl-1H-imidazol-1-yl)méthyl)benzonitrile :

δ (ppm) : 5,28 (s, 2H, **H5**) ; 7,28 (d, 2H, **H7**, J = 8,4 Hz) ; 7,63 (d, 2H, **H8**, J = 8,4 Hz) ; 7,68 (s, 1H, **H3**) ; 7,70 (s, 1H, **H4**) ; 9,85 (s, 1H, **H1**).

4-((5-formyl-1H-imidazol-1-yl)méthyl)benzonitrile :

δ (ppm) : 5,58 (s, 2H, **H5**) ; 7,28 (d, 2H, **H7**, J = 8,4 Hz) ; 7,63 (d, 2H, **H8**, J = 8,4 Hz) ; 7,79 (s, 1H, **H3**) ; 7,88 (s, 1H, **H4**) ; 9,74 (s, 1H, **H1**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

4-((4-formyl-1H-imidazol-1-yl)méthyl)benzonitrile :

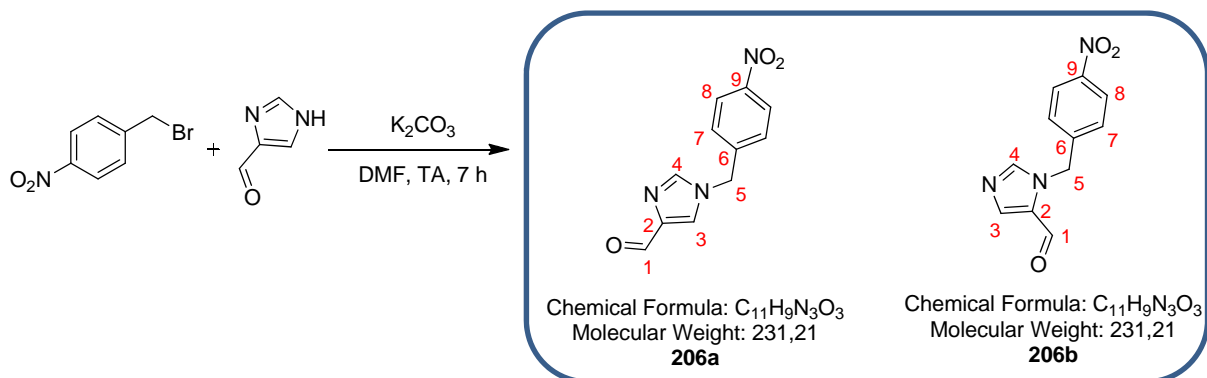
δ (ppm) : 50,8 (**C5**) ; 112,9 (**C9**) ; 118,0 (**C10**) ; 124,6 (**C2**) ; 128,0 (**C7**) ; 133,1 (**C8**) ; 138,9 (**C4**) ; 139,9 (**C6**) ; 142,9 (**C3**) ; 186,0 (**C1**).

4-((5-formyl-1H-imidazol-1-yl)méthyl)benzonitrile :

δ (ppm) : 49,8 (**C5**) ; 112,4 (**C9**) ; 118,2 (**C10**) ; 127,8 (**C7**) ; 130,8 (**C2**) ; 132,7 (**C8**) ; 140,9 (**C6**) ; 143,8 (**C3**) ; 144,0 (**C4**) ; 179,2 (**C1**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 212,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₂H₁₀N₃O⁺ [M+H]⁺ : 212,0824, trouvée : 212,0821.

1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde **206a**1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazole-5-carbaldéhyde **206b**

À une solution d'imidazole-4-carbaldéhyde (1,49 g, 15,5 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du DMF (14,9 mL) est ajoutée du carbonate de potassium (4,28 g, 31,0 mmol, 2 éq.). Après 10 minutes d'agitation à température ambiante, une solution de 1-(bromométhyl)-4-nitrobenzène (3,35 g, 15,5 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du DMF (7,4 mL) est additionnée goutte à goutte. Le milieu réactionnel est agité pendant 7 heures à température ambiante.

Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 98:2 (v/v) en 30 minutes) pour donner deux solides blancs, le composé **206a** (0,981 g, 27 % de rendement) et le composé **206b** (1,24 g, 35 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazole-4-carbaldehyde :

δ (ppm) : 5,24 (s, 2H, **H5**) ; 7,26 (d, 2H, **H7**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,55 (s, 1H, **H4**) ; 7,58 (s, 1H, **H3**) ; 8,19 (d, 2H, **H8**, $J = 8,4$ Hz) ; 9,83 (s, 1H, **H1**).

1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazole-5-carbaldehyde :

δ (ppm) : 5,55 (s, 2H, **H5**) ; 7,24 (d, 2H, **H7**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,73 (s, 1H, **H4**) ; 7,82 (s, 1H, **H3**) ; 8,12 (d, 2H, **H8**, $J = 8,4$ Hz) ; 9,67 (s, 1H, **H1**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazole-4-carbaldehyde :

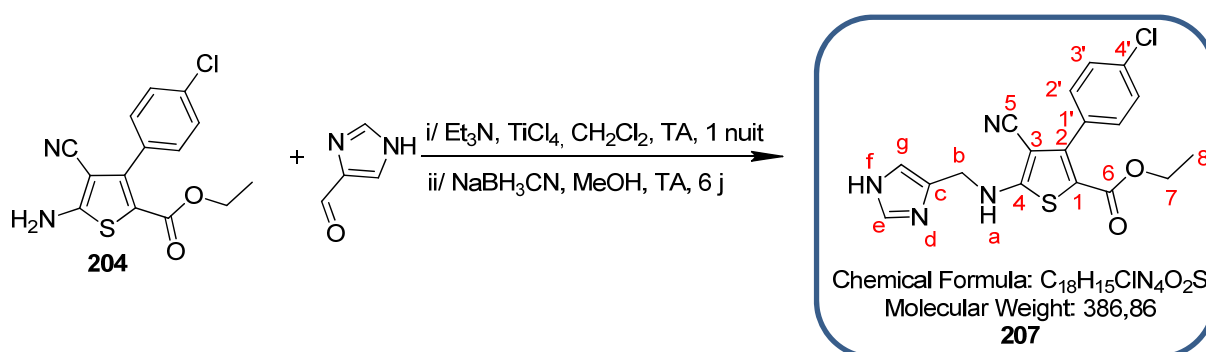
δ (ppm) : 50,6 (**C5**) ; 123,6 (**C2**) ; 124,3 (**C3**) ; 124,6 (**C8**) ; 128,2 (**C7**) ; 138,9 (**C4**) ; 141,6 (**C6**) ; 143,1 (**C9**) ; 186,0 (**C1**).

1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazole-5-carbaldehyde :

δ (ppm) : 49,6 (**C5**) ; 124,2 (**C8**) ; 128,0 (**C7**) ; 129,0 (**C3**) ; 130,8 (**C2**) ; 142,8 (**C6**) ; 143,8 (**C9**) ; 144,0 (**C4**) ; 179,2 (**C1**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 232,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{11}H_{10}N_3O_3^+$ $[M+H]^+$: 232,0722, trouvée : 232,0714.

5-(((1H-imidazol-4-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **207**

Sous argon, la triéthylamine (0,334 mL, 0,243 g, 2,39 mmol, 3 éq.) suivie d'une solution de chlorure de titane 1N dans le dichlorométhane (0,398 mL, 0,075 g, 0,40 mmol, 0,5 éq.) sont additionnées à une solution de 5-aminothiophène **204** (0,244 g, 0,80 mmol, 1 éq.), d'imidazole-4-carbaldéhyde (0,076 g, 0,80 mmol, 1 éq.) dans 4,9 mL de dichlorométhane anhydre à température ambiante. Après une nuit d'agitation à température ambiante, le cyanoborohydrure de sodium (0,150 g, 2,39 mmol, 3 éq.) solubilisé dans 1,9 mL de méthanol est ajouté au milieu. Le mélange réactionnel de couleur rouge sombre est agité pendant 6 jours à température ambiante.

Le milieu réactionnel est traité avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de l'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 98:2 (v/v) en 30 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **207** (0,145 g, 47 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 1,12 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 4,08 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 4,54 (d, 2H, **Hb**, *J* = 5,4 Hz) ; 7,23 (s, 1H, **Hg**) ; 7,45 (m, 4H, **H2'** et **H3'**) ; 7,68 (s, 1H, **He**) ; 7,90 (t, 1H, **Ha**, *J* = 5,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 14,3 (**C8**) ; 45,2 (**Cb**) ; 61,2 (**C7**) ; 89,4 (**C3**) ; 115,2 (**C5**) ; 116,8 (**Cg**) ; 128,7 (**C2'**) ; 132,0 (**C3'**) ; 133,6 (**C1**) ; 134,8 (**C1'** et **C4'**) ; 135,7 (**Cc**) ; 136,7 (**Ce**) ; 147,9 (**C2**) ; 161,6 (**C6**) ; 167,7 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 387,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₈H₁₆³⁵ClN₄O₂S⁺ [M+H]⁺ : 387,0683, trouvée : 387,0685.

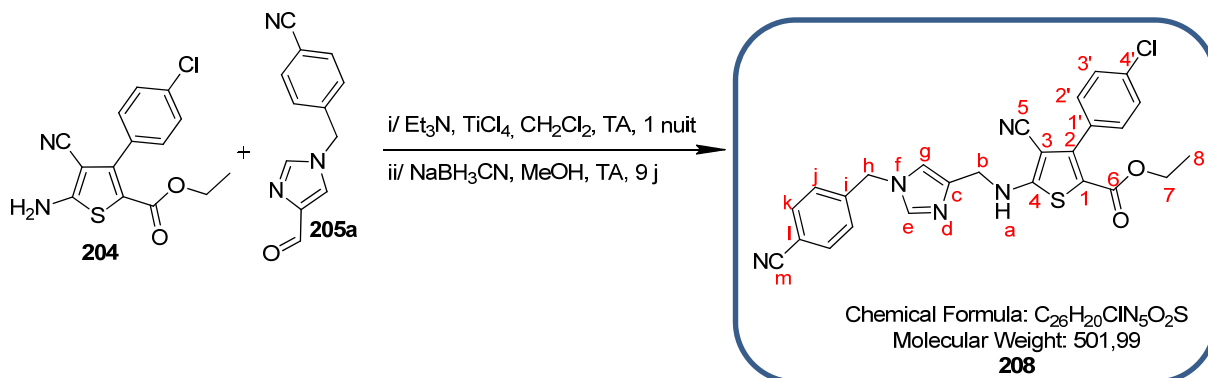
IR :

ν (cm⁻¹) : 3278 (**NH** st), 2981 (**CH** st), 2206 (**C≡N** st), 1678 (**C=O** st), 1549, 1521 et 1484 (**arC-C**), 1270, 1172, 1088, 1016, 820 et 757 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 3,67 min, 99 %.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)méthyl)amino)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **208**



Sous argon, la triéthylamine (0,358 mL, 0,261 g, 2,56 mmol, 3 équ.) suivie d'une solution de chlorure de titane 1N dans le dichlorométhane (0,427 mL, 0,081 g, 0,43 mmol, 0,5 équ.) sont additionnées à une solution de 5-aminothiophène **204** (0,262 g, 0,85 mmol, 1 équ.), d'imidazole-4-carbaldéhyde **205a** (0,180 g, 0,85 mmol, 1 équ.) dans 5,2 mL de dichlorométhane anhydre à température ambiante. Après une nuit d'agitation à température ambiante, le cyanoborohydrure de sodium (0,161 g, 2,56 mmol, 3 équ.) solubilisé dans 2,0 mL de méthanol est additionné au milieu. Le mélange réactionnel de couleur rouge sombre est agité pendant 9 jours à température ambiante.

Le milieu réactionnel est traité avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de l'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **208** (0,279 g, 65 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,19 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 4,17 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 4,44 (d, 2H, **Hb**, $J = 5,1$ Hz) ; 5,22 (s, 2H, **Hh**) ; 6,59 (t, 1H, **Ha**, $J = 5,1$ Hz) ; 6,98 (d, 1H, **Hg**, $J = 1,2$ Hz) ; 7,29 (d, 2H, **Hj**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,35 (d, 2H, **H3'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,40 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,63 (d, 1H, **He**, $J = 1,2$ Hz) ; 7,71 (d, 2H, **Hk**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 44,7 (**Cb**) ; 50,5 (**Ch**) ; 61,0 (**C7**) ; 89,3 (**C3**) ; 112,7 (**Cl**) ; 114,9 (**C5**) ; 117,8 (**Cg**) ; 118,1 (**Cm**) ; 127,8 (**Cj**) ; 128,2 (**C2'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 131,5 (**C4'**) ; 133,0 (**Ck**) ; 133,4 (**C1'**) ; 134,9 (**C1**) ; 137,4 (**Cc**) ; 138,1 (**Ce**) ; 140,9 (**Ci**) ; 147,4 (**C2**) ; 161,3 (**C6**) ; 166,2 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 502,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{26}H_{21}^{35}ClN_5O_2S^+$ $[M+H]^+$: 502,1104, trouvée : 502,1109.

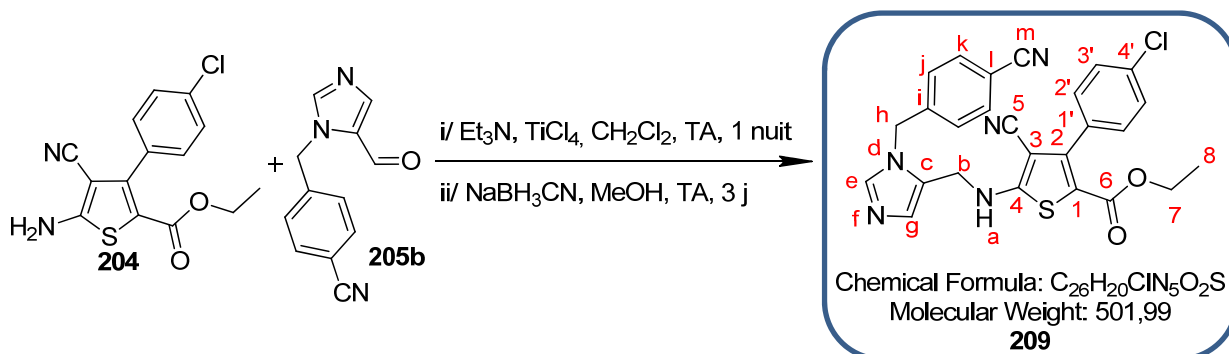
IR :

ν (cm^{-1}) : 3125 (**NH** st), 2928 (**CH** st), 2226 et 2201 (**C \equiv N** st), 1701 (**C=O** st), 1542, 1521, 1484, 1368, 1314, 1213, 1173, 1077, 1015, 824 et 757 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,49 min, 100 %.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **209**



Sous argon, la triéthylamine (0,492 mL, 0,675 g, 4,83 mmol, 3 éq.) suivie d'une solution de chlorure de titane 1N dans le dichlorométhane (0,805 mL, 0,153 g, 0,81 mmol, 0,5 éq.) sont additionnées à une solution de 5-aminothiophène **204** (0,494 g, 1,61 mmol, 1 éq.), d'imidazole-5-caraldéhyde **205b** (0,340 g, 1,61 mmol, 1 éq.) dans 9,8 mL de dichlorométhane anhydre à température ambiante. Après une nuit d'agitation à température ambiante, le cyanoborohydrure de sodium (0,304 g, 4,83 mmol, 3 éq.) solubilisé dans 3,9 mL de méthanol est additionné au milieu. Le mélange réactionnel de couleur rouge sombre est agité pendant 3 jours à température ambiante.

Le milieu réactionnel est traité avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de l'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 98:2 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **209** (0,605 g, 75 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,18 (t, 3H, **H8**, J = 7,2 Hz) ; 4,16 (q, 2H, **H7**, J = 7,2 Hz) ; 4,26 (d, 2H, **Hb**, J = 5,1 Hz) ; 5,21 (s, 2H, **Hh**) ; 6,78 (t, 1H, **Ha**, J = 5,1 Hz) ; 7,04 (d, 2H, **Hj**, J = 8,4 Hz) ; 7,21 (s, 1H, **Hg**) ; 7,29 (d, 2H, **H3'**, J = 6,6 Hz) ; 7,41 (d, 2H, **H2'**, J = 6,6 Hz) ; 7,56 (d, 2H, **Hk**, J = 8,4 Hz) ; 7,63 (s, 1H, **He**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 40,4 (**Cb**) ; 48,4 (**Ch**) ; 61,2 (**C7**) ; 89,2 (**C3**) ; 111,4 (**C1**) ; 112,3 (**Cl**) ; 114,9 (**C5**) ; 118,2 (**Cm**) ; 125,0 (**Cc**) ; 126,9 (**Cj**) ; 128,3 (**C2'**) ; 130,5 (**C3'**) ; 131,2 (**C4'**) ; 131,7 (**Cg**) ; 132,9 (**Ck**) ; 135,1 (**C1'**) ; 139,9 (**Ce**) ; 141,0 (**Ci**) ; 147,0 (**C2**) ; 160,9 (**C6**) ; 165,6 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 502,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₆H₂₁³⁵ClN₅O₂S⁺ [M+H]⁺ : 502,1104, trouvée : 502,1125.

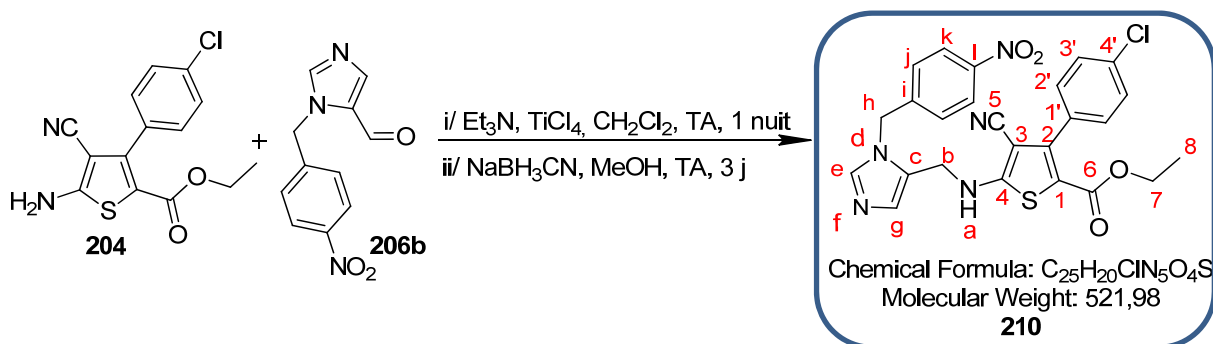
IR :

ν (cm⁻¹) : 3585 (**NH st**), 2981 (**CH st**), 2222 et 2216 (**C≡N st**), 1687 (**C=O st**), 1564, 1524, 1484, 1432, 1317, 1253, 1168, 1087, 1016, 819 et 758 (**arC-H δ**), 658.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,07 min, 100 %.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(((1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **210**



Sous argon, la triéthylamine (0,635 mL, 0,463 g, 4,54 mmol, 3 éq.) suivie d'une solution de chlorure de titane 1N dans le dichlorométhane (0,757 mL, 0,144 g, 0,76 mmol, 0,5 éq.) sont additionnées à une solution de 5-aminothiophène **204** (0,465 g, 1,51 mmol, 1 éq.), d'imidazole-5-carbaldéhyde **206b** (0,350 g, 1,51 mmol, 1 éq.) dans 9,2 mL de dichlorométhane anhydre à température ambiante. Après une nuit d'agitation à température ambiante, le cyanoborohydrure de sodium (0,286 g, 4,54 mmol, 3 éq.) solubilisé dans 3,6 mL de méthanol est additionné au milieu. Le mélange réactionnel de couleur rouge sombre est agité pendant 3 jours à température ambiante.

Le milieu réactionnel est traité avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de l'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **210** (0,514 g, 65 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,24 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 4,18 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 4,32 (d, 2H, **Hb**, $J = 5,1$ Hz) ; 5,31 (s, 2H, **Hh**) ; 5,76 (t, 1H, **Ha**, $J = 5,1$ Hz) ; 7,17 (d, 2H, **Hj**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,30 (s, 1H, **Hg**) ; 7,33 (d, 2H, **H3'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,44 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,71 (s, 1H, **He**) ; 8,23 (d, 2H, **Hk**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 40,4 (**Cb**) ; 48,2 (**Ch**) ; 61,3 (**C7**) ; 89,3 (**C3**) ; 111,6 (**C1**) ; 114,7 (**C5**) ; 124,3 (**Cj**) ; 124,9 (**Cc**) ; 127,0 (**Ck**) ; 128,3 (**C2'**) ; 130,5 (**C3'**) ; 131,1 (**C4'**) ; 132,0 (**Cg**) ; 135,2 (**C1'**) ; 140,0 (**Ce**) ; 142,9 (**Ci**) ; 147,0 (**C2**) ; 147,8 (**Cl**) ; 160,9 (**C6**) ; 165,4 (**C4**).

SM (ESI, $MeOH + CH_2Cl_2$) : m/z 522,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{25}H_{21}^{35}ClN_5O_4S^+$ $[M+H]^+$: 522,1003, trouvée : 522,1025.

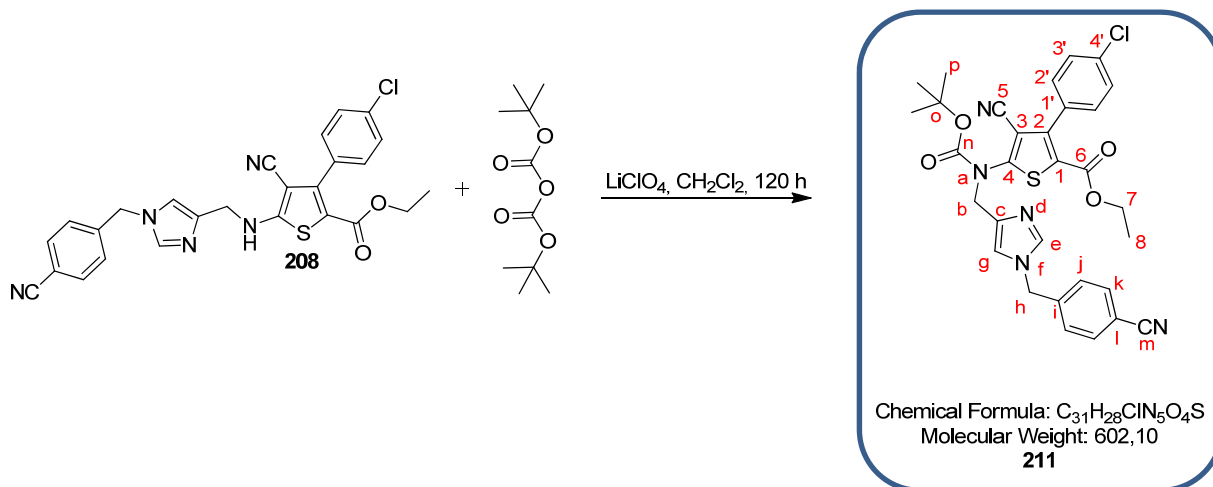
IR :

ν (cm^{-1}) : 3585 (**NH** st), 2981 (**CH** st), 2207 (**C≡N** st), 1697 (**C=O** st), 1510, 1482, 1343, 1257, 1220, 1172, 1086, 1072, 1015, 840, 822 et 757 (**arC-H** δ), 733, 658.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,19 min, 100 %.

5-((tert-butoxycarbonyl)((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **211**



Le thiophène **208** (0,079 g, 0,16 mmol, 1 éq.) est additionné à une solution de dicarbonate de di-tert-butyle (0,102 g, 0,48 mmol, 3 éq.) et de perchlorate de lithium (0,005 g, 0,05 mmol, 0,3 éq.) solubilisés dans le dichlorométhane (0,3 mL).

Après 120 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite®, lavé au dichlorométhane et concentré sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 98:2 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **211** (0,078 g, 83 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,12 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,41 (s, 9H, **Hp**) ; 4,12 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 4,86 (s, 2H, **Hb**) ; 5,09 (s, 2H, **Hh**) ; 6,87 (s, 1H, **Hg**) ; 7,13 (d, 2H, **Hj**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,20 (d, 2H, **H3'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,34 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,41 (s, 1H, **He**) ; 7,54 (d, 2H, **Hk**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 28,0 (**Cp**) ; 48,9 (**Cb**) ; 53,2 (**Ch**) ; 61,7 (**C7**) ; 83,6 (**Co**) ; 89,3 (**C3**) ; 109,1 (**C1**) ; 112,5 (**Cl**) ; 113,4 (**C5**) ; 118,1 (**Cg**) ; 118,2 (**Cm**) ; 127,6 (**Cj**) ; 128,4 (**C2'**) ; 130,8 (**C3'**) ; 130,9 (**C4'**) ; 132,9 (**Ck**) ; 135,3 (**C1'**) ; 137,3 (**Ce**) ; 138,6 (**Cc**) ; 141,3 (**Ci**) ; 145,3 (**C2**) ; 152,3 (**Cn**) ; 157,2 (**C4**) ; 160,5 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 602,2 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{31}H_{29}^{35}ClN_5O_4S^+$ $[M+H]^+$: 602,1629, trouvée : 602,1613.

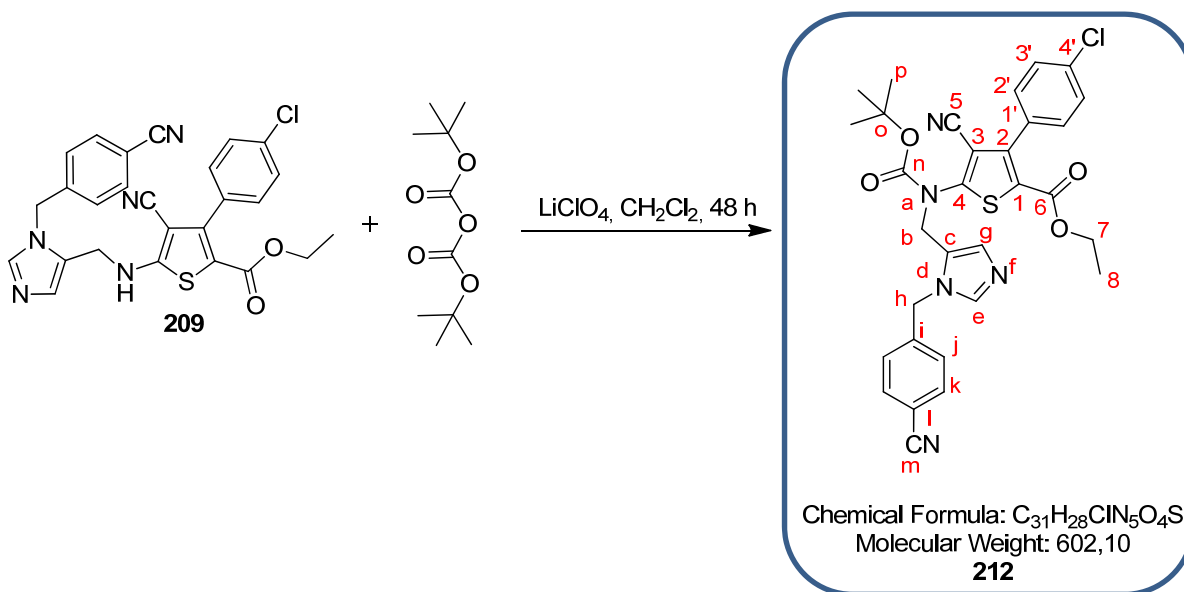
IR :

ν (cm^{-1}) : 2981 et 2928 (**CH** st), 2229 (**C \equiv N** st), 1711 (**C=O** st), 1497, 1470, 1369, 1287, 1247, 1213, 1147, 1087, 1016, 844, 821 et 764 (**arC-H** δ), 728.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,31 min, 100 %.

5-((tert-butoxycarbonyl)((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **212**



Le thiophène **209** (0,568 g, 1,13 mmol, 1 éq.) est additionné à une solution de dicarbonate de di-tert-butyle (0,741 g, 3,39 mmol, 3 éq.) et de perchlorate de lithium (0,048 g, 0,45 mmol, 0,4 éq.) solubilisés dans le dichlorométhane (2,3 mL).

Après 48 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite®, lavé au dichlorométhane et concentré sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 98:2 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **212** (0,431 g, 63 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,21 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,44 (s, 9H, **Hp**) ; 4,20 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 4,87 (s, 2H, **Hb**) ; 5,32 (s, 2H, **Hh**) ; 6,93 (s, 1H, **Hg**) ; 7,20 (d, 2H, **Hj**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,26 (d, 2H, **H3'**, *J* = 6,6 Hz) ; 7,40 (d, 2H, **H2'**, *J* = 6,6 Hz) ; 7,59 (s, 1H, **He**) ; 7,64 (d, 2H, **Hk**, *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 27,8 (**Cp**) ; 43,5 (**Cb**) ; 48,3 (**Ch**) ; 62,0 (**C7**) ; 84,4 (**Co**) ; 111,5 (**C1**) ; 112,2 (**C3**) ; 112,7 (**C5**) ; 118,3 (**Cl**) ; 125,6 (**Cm**) ; 127,4 (**Cj**) ; 128,4 (**C2'**) ; 130,4 (**Cg**) ; 130,7 (**C3'**) ; 131,7 (**Cc**) ; 132,9 (**C4'** et **Ck**) ; 135,4 (**C1'**) ; 139,7 (**Ce**) ; 141,5 (**Ci**) ; 145,3 (**C2**) ; 152,0 (**Cn**) ; 155,1 (**C4**) ; 160,1 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 624,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₃₁H₂₈³⁵ClN₅O₄SNa⁺ [M+Na]⁺ : 624,1448, trouvée : 624,1436.

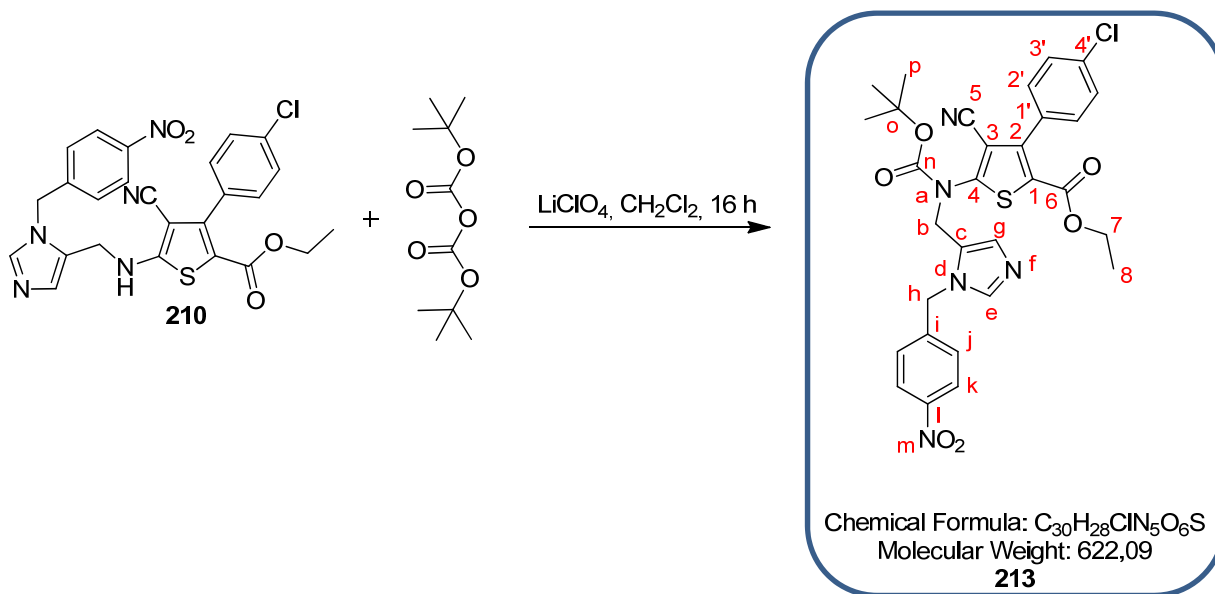
IR :

ν (cm⁻¹) : 2971 (**CH** st), 2229 (**C≡N** st), 1711 (**C=O** st), 1497, 1369, 1276, 1253, 1146, 1088, 1017, 837, 820 et 763 (**arC-H** δ), 728, 661.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,97 min, 100 %.

5-((tert-butoxycarbonyl)((1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **213**



Le thiophène **210** (0,594 g, 1,14 mmol, 1 éq.) est additionné à une solution de dicarbonate de di-tert-butyle (0,745 g, 3,41 mmol, 3 éq.) et de perchlorate de lithium (0,048 g, 0,46 mmol, 0,4 éq.) solubilisés dans le dichlorométhane (2,3 mL).

Après 16 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est filtré sur Célite®, lavé au dichlorométhane et concentré sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 98:2 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **213** (0,510 g, 72 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,27 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,48 (s, 9H, **Hp**) ; 4,22 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 4,90 (s, 2H, **Hb**) ; 5,41 (s, 2H, **Hh**) ; 6,97 (s, 1H, **Hg**) ; 7,28 (d, 2H, **Hj**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,30 (d, 2H, **H3'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,44 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,62 (s, 1H, **He**) ; 8,24 (d, 2H, **Hk**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,0 (**C8**) ; 27,8 (**Cp**) ; 43,5 (**Cb**) ; 48,1 (**Ch**) ; 62,0 (**C7**) ; 84,4 (**Co**) ; 112,8 (**C5**) ; 124,3 (**Cj**) ; 125,5 (**C1**) ; 125,9 (**Cg**) ; 127,6 (**Ck**) ; 128,5 (**C2'**) ; 130,3 (**C4'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 131,9 (**Cc**) ; 135,5 (**C1'**) ; 139,7 (**Ce**) ; 143,3 (**Ci**) ; 145,3 (**C2**) ; 147,8 (**Cl**) ; 152,1 (**Cn**) ; 155,1 (**C4**) ; 160,1 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 622,2 $[M+H]^+$.

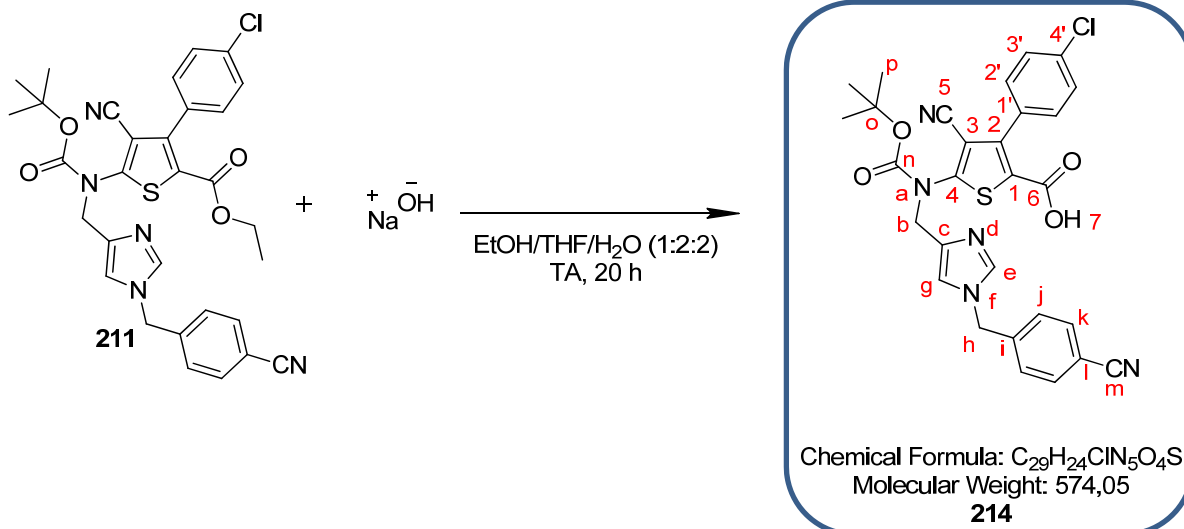
Haute résolution calculée pour $C_{30}H_{29}^{35}ClN_5O_6S^+$ $[M+H]^+$: 622,1527, trouvée : 622,1537.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2982 (**CH** st), 2226 (**C≡N** st), 1710 (**C=O** st), 1521, 1496, 1369, 1344, 1282, 1217, 1146, 1088, 1016, 838 et 763 (**arC-H** δ), 727, 661.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,09 min, 99 %.

5-((tert-butoxycarbonyl)((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **211**

Une solution aqueuse de soude 2M (0,7 mL, 0,056 g, 1,39 mmol, 3 éq.) est ajoutée au composé **211** (0,279 g, 0,46 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (1,1 mL).

Après agitation pendant 20 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5-6 avec de l'Amberlyte IRC-50. La solution est ensuite filtrée, l'Amberlyte IRC-50 lavé au méthanol puis le filtrat concentré sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **214** (0,098 g, 37 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) :

δ (ppm) : 1,42 (s, 9H, **Hp**) ; 4,82 (s, 2H, **Hb**) ; 5,34 (s, 2H, **Hh**) ; 7,17 (s, 1H, **Hg**) ; 7,36 à 7,39 (m, 4H, **Hj** et **H3'**) ; 7,53 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,78 (d, 2H, **Hk**, $J = 8,7$ Hz) ; 7,81 (s, 1H, **He**).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) :

δ (ppm) : 27,6 (**Cp**) ; 47,9 (**Cb**) ; 48,9 (**Ch**) ; 82,5 (**Co**) ; 110,4 (**C3**) ; 112,5 (**Cl** et **C5**) ; 118,5 (**Cm**) ; 118,6 (**Cg**) ; 127,9 (**Cj**) ; 128,0 (**C2'**) ; 131,1 (**C3'**) ; 131,4 (**Cc**) ; 132,5 (**Ck**) ; 133,6 (**C4'**) ; 136,7 (**C1'**) ; 137,9 (**Ce**) ; 143,2 (**C2**) ; 143,4 (**Ci**) ; 151,7 (**Cn**) ; 156,3 (**C4**) ; 161,5 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 574,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{29}H_{25}^{35}ClN_5O_4S^+$ $[M+H]^+$: 574,1316, trouvée : 574,1306.

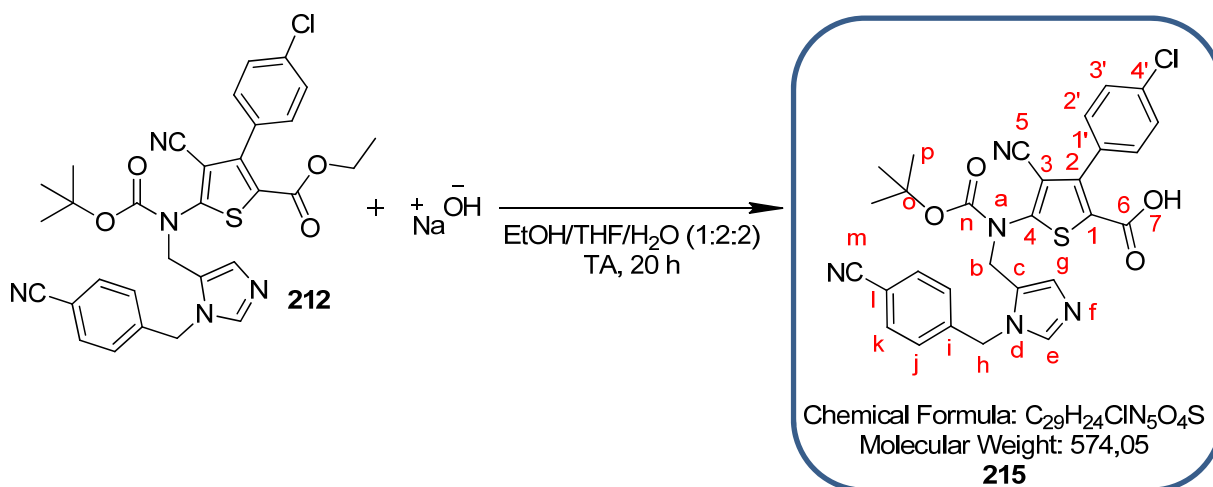
IR :

ν (cm^{-1}) : 2971 et 2922 (**CH** st), 2216 (**C≡N** st), 1722 (**C=O** st), 1498, 1368, 1283, 1252, 1154, 1055, 836 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,32 min, 96 %.

5-((tert-butoxycarbonyl)((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **215**



Une solution aqueuse de soude 2M (0,7 mL, 0,055 g, 1,38 mmol, 3 éq.) est ajoutée au composé **211** (0,277 g, 0,46 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (1,1 mL).

Après agitation pendant 20 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5-6 avec de l'Amberlyte IRC-50. La solution est ensuite filtrée, l'Amberlyte IRC-50 lavé au méthanol puis le filtrat concentré sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **215** (0,155 g, 59 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 1,45 (s, 9H, **H_p**) ; 4,95 (s, 2H, **H_b**) ; 5,51 (s, 2H, **H_h**) ; 7,21 (s, 1H, **H_g**) ; 7,32 à 7,44 (m, 6H, **H_j**, **H_{3'}** et **H_{2'}**) ; 7,75 (d, 2H, **H_k**, $J = 8,7$ Hz) ; 8,20 (s, 1H, **H_e**).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 28,1 (**C_p**) ; 44,4 (**C_b**) ; 48,7 (**C_h**) ; 84,2 (**C_o**) ; 112,6 (**C₃**) ; 113,7 (**C_l** et **C₅**) ; 119,1 (**C_m**) ; 127,1 (**C₁**) ; 128,6 (**C_j**) ; 129,0 (**C_{2'}**) ; 131,3 (**C_g**) ; 132,1 (**C_{3'}**) ; 132,4 (**C_c**) ; 133,6 (**C_k**) ; 135,3 (**C_{4'}** et **C_{1'}**) ; 140,6 (**C_e**) ; 143,6 (**C_i**) ; 145,3 (**C₂**) ; 153,0 (**C_n**) ; 156,2 (**C₄**) ; 161,7 (**C₆**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 574,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour $C_{29}H_{25}^{35}ClN_5O_4S^+$ [M+H]⁺ : 574,1316, trouvée : 574,1303.

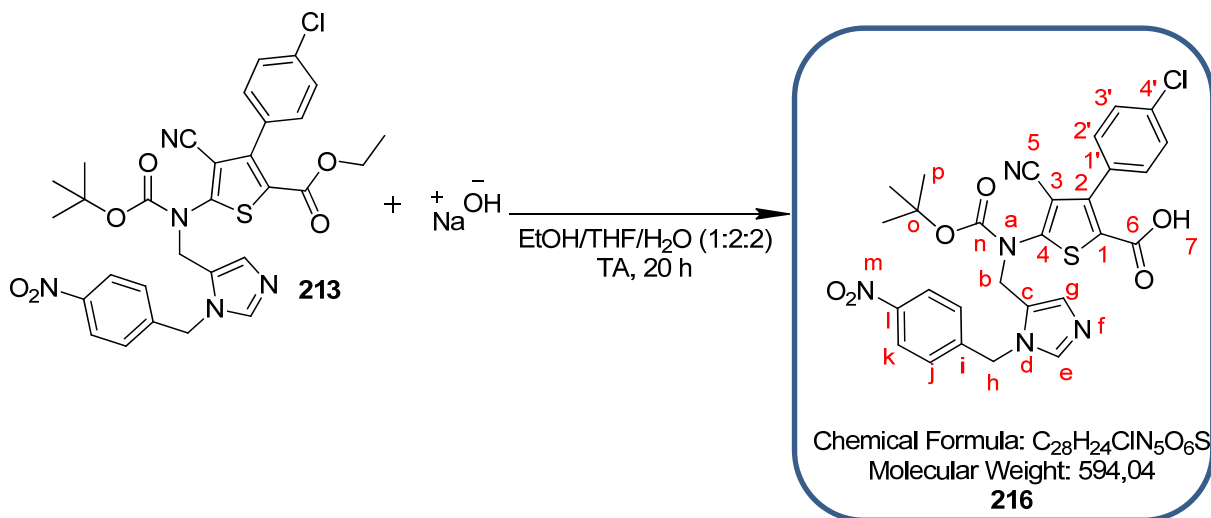
IR :

ν (cm⁻¹) : 2986 et 2894 (**CH** st), 2231 (**C≡N** st), 1708 (**C=O** st), 1498, 1369, 1293, 1148, 1084, 1022, 836 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,21 min, 100 %.

5-((tert-butoxycarbonyl)((1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **213**



Une solution aqueuse de soude 2M (0,3 mL, 0,024 g, 0,61 mmol, 3 éq.) est ajoutée au composé **213** (0,126 g, 0,20 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,45 mL).

Après agitation pendant 20 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5-6 avec de l'Amberlyte IRC-50. La solution est ensuite filtrée, l'Amberlyte IRC-50 lavé au méthanol puis le filtrat concentré sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **216** (0,061 g, 51 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, DMSO- d_6) :

δ (ppm) : 1,38 (s, 9H, **H_p**) ; 4,89 (s, 2H, **H_b**) ; 5,45 (s, 2H, **H_h**) ; 6,91 (s, 1H, **H_g**) ; 7,33 (d, 2H, **H_j**, $J = 8,5$ Hz) ; 7,37 (d, 2H, **H_{3'}**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,54 (d, 2H, **H_{2'}**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,92 (s, 1H, **H_e**) ; 8,22 (d, 2H, **H_k**, $J = 8,5$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO- d_6) :

δ (ppm) : 27,3 (**C_p**) ; 43,9 (**C_b**) ; 47,0 (**C_h**) ; 83,1 (**C_o**) ; 110,4 (**C₃**) ; 113,0 (**C₅**) ; 123,9 (**C_j**) ; 126,0 (**C₁**) ; 127,2 (**C_{4'}**) ; 127,6 (**C_k**) ; 128,1 (**C_{2'}**) ; 129,5 (**C_g**) ; 131,1 (**C_{3'}**) ; 133,7 (**C_c**) ; 139,7 (**C_e**) ; 143,1 (**C_i**) ; 144,8 (**C₂**) ; 146,9 (**C_l**) ; 151,5 (**C_n**) ; 154,8 (**C₄**) ; 161,2 (**C₆**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 594,1 [M+H]⁺.

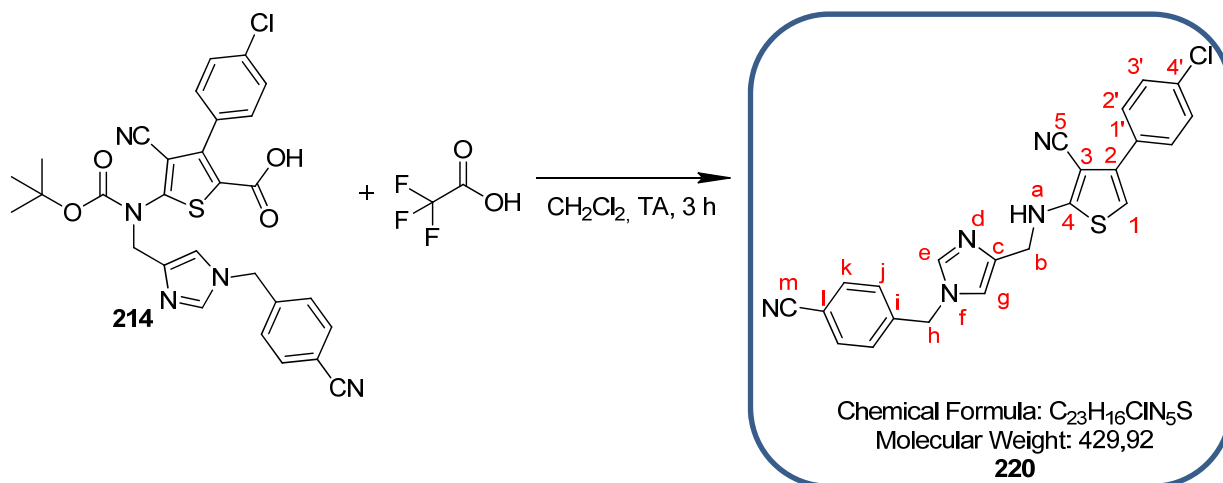
Haute résolution calculée pour $C_{28}H_{25}^{35}ClN_5O_6S^+$ [M+H]⁺ : 594,1214, trouvée : 594,1205.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2985 et 2899 (**CH** st), 2226 (**C≡N** st), 1698 (**C=O** st), 1523, 1496, 1372, 1343, 1288, 1257, 1147, 1089, 1017, 837 et 769 (**arC-H** δ), 732.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,36 min, 100 %.

4-(4-chlorophényl)-2-(((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)méthyl)amino)thiophène-3-carbonitrile **220**

De l'acide trifluoroacétique (0,33 mL, 0,491 g, 4,30 mmol, 35 éq.) est ajouté au composé **214** (0,070 g, 0,12 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du dichlorométhane (0,33 mL).

Après agitation pendant 3 heures à température ambiante, de l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide blanc qui est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 90:10 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **220** (0,008 g, 16 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 4,63 (s, 2H, **Hb**) ; 5,31 (s, 2H, **Hh**) ; 6,32 (s, 1H, **H1**) ; 7,17 (s, 1H, **Hg**) ; 7,28 à 7,40 (m, 4H, **Hj** et **H3'**) ; 7,46 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,72 (d, 2H, **Hk**, $J = 8,4$ Hz) ; 8,36 (s, 1H, **He**).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 42,7 (**Cb**) ; 52,9 (**Ch**) ; 86,1 (**C3**) ; 107,4 (**C1**) ; 114,0 (**Cl**) ; 117,1 (**C5**) ; 119,1 (**Cm**) ; 121,3 (**Cg**) ; 129,9 (**Cj**) ; 129,9 (**C2'**) ; 130,0 (**C3'**) ; 134,1 (**Ck**) ; 134,4 (**C4'**) ; 134,5 (**Cc**) ; 135,2 (**C1'**) ; 137,8 (**Ce**) ; 140,4 (**Cl**) ; 141,4 (**C2**) ; 167,2 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 428,1 $[M-H]^-$.

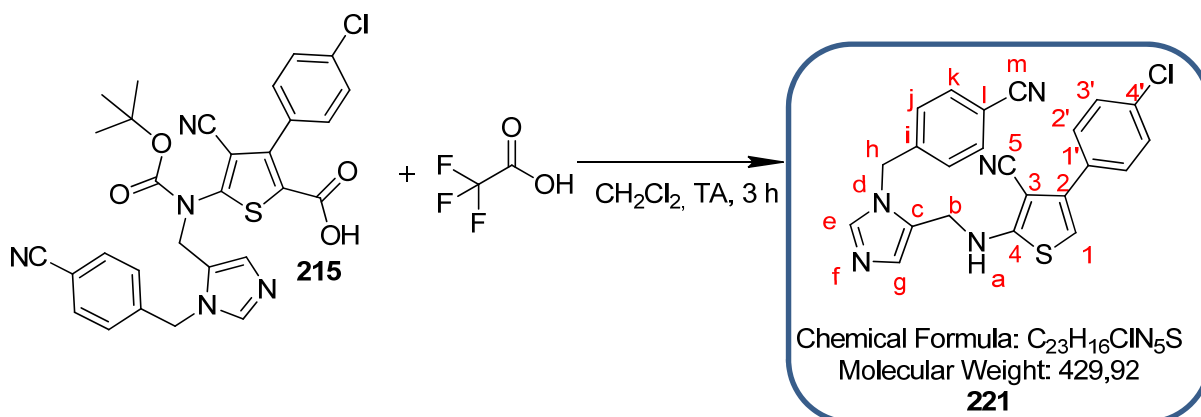
Haute résolution calculée pour $C_{23}H_{15}^{35}ClN_5S^+$ $[M-H]^+$: 428,0737, trouvée : 428,0745.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2990 (**CH** st), 2220 et 2203 (**C≡N** st), 1667 (**C=O** st), 1544, 1482, 1411, 1194, 1131, 1092, 1014, 827 et 798 (**arC-H** δ), 719.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,17 min, 100 %.

4-(4-chlorophényl)-2-(((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)thiophène-3-carbonitrile **221**

De l'acide trifluoroacétique (0,15 mL, 0,224 g, 1,97 mmol, 35 éq.) est ajouté au composé **215** (0,032 g, 0,06 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du dichlorométhane (0,15 mL).

Après agitation pendant 3 heures à température ambiante, de l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide blanc qui est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 90:10 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **221** (0,010 g, 39 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 4,39 (s, 2H, **Hb**) ; 5,45 (s, 2H, **Hh**) ; 6,46 (s, 1H, **H1**) ; 7,14 (s, 1H, **Hg**) ; 7,15 (d, 2H, **Hj**, *J* = 8,5 Hz) ; 7,40 (d, 2H, **H3'**, *J* = 6,5 Hz) ; 7,49 (d, 2H, **H2'**, *J* = 6,5 Hz) ; 7,61 (d, 2H, **Hk**, *J* = 8,5 Hz) ; 7,86 (s, 1H, **He**).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 40,1 (**Cb**) ; 49,2 (**Ch**) ; 84,9 (**C3**) ; 106,6 (**C1**) ; 112,5 (**Cl**) ; 117,0 (**C5**) ; 119,5 (**Cm**) ; 128,2 (**Cj** et **Cg**) ; 129,8 (**C2'**) ; 129,9 (**C3'**) ; 130,8 (**Ce**) ; 133,8 (**Ck**) ; 134,5 (**C4'**) ; 135,0 (**C1'**) ; 140,1 (**Cc**) ; 141,2 (**Ci**) ; 143,8 (**C2**) ; 166,9 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 430,1 [M+H]⁺.

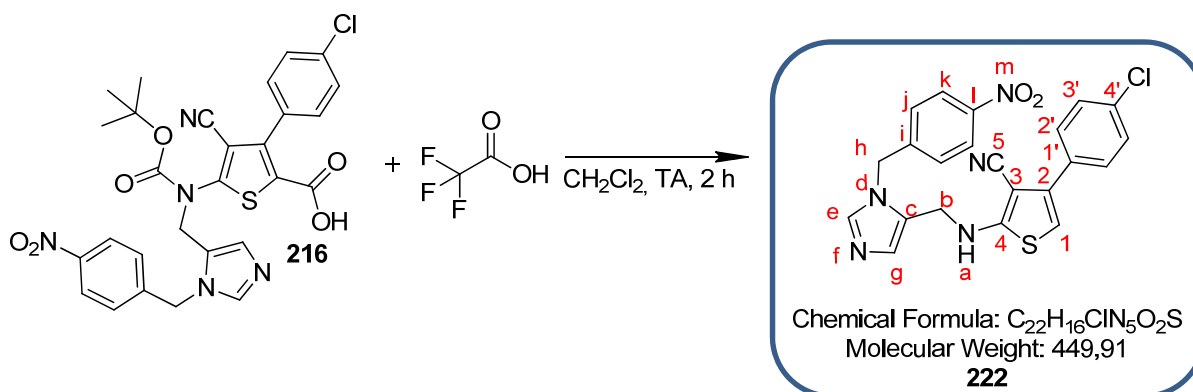
Haute résolution calculée pour C₂₃H₁₇³⁵ClN₅S⁺ [M+H]⁺ : 430,0893, trouvée : 430,0907.

IR :

ν (cm⁻¹) : 2990 et 2920 (**CH** st), 2228 et 2198 (**C≡N** st), 1540, 1090, 828 et 741 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 3,90 min, 95 %.

4-(4-chlorophényl)-2-(((1-(4-nitrobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)thiophène-3-carbonitrile **222**

De l'acide trifluoroacétique (0,19 mL, 0,276 g, 2,42 mmol, 20 éq.) est ajouté au composé **215** (0,072 g, 0,12 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du dichlorométhane (0,7 mL).

Après agitation pendant 2 heures à température ambiante, de l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide blanc qui est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 90:10 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **222** (0,035 g, 65 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 4,73 (s, 2H, **Hb**) ; 5,96 (s, 2H, **Hh**) ; 6,70 (s, 1H, **H1**) ; 7,46 à 7,59 (m, 6H, **Hj**, **H2'** et **H3'**) ; 7,78 (s, 1H, **Hg**) ; 8,23 (d, 2H, **Hk**, *J* = 8,5 Hz) ; 8,91 (s, 1H, **He**).

RMN ¹³C (75 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 40,8 (**Cb**) ; 50,3 (**Ch**) ; 86,0 (**C3**) ; 107,2 (**C1**) ; 116,0 (**C5**) ; 123,7 (**Cg**) ; 124,8 (**Cj**) ; 129,1 (**Ck**) ; 129,6 (**C2'**) ; 129,7 (**C3'**) ; 130,4 (**Cc**) ; 134,0 (**C4'**) ; 134,4 (**C1'**) ; 138,9 (**Ce**) ; 139,4 (**Ci**) ; 143,1 (**C2**) ; 148,8 (**Cl**) ; 165,6 (**C4**).

SM (ESI, MeOH) : m/z 450,1 [M+H]⁺.

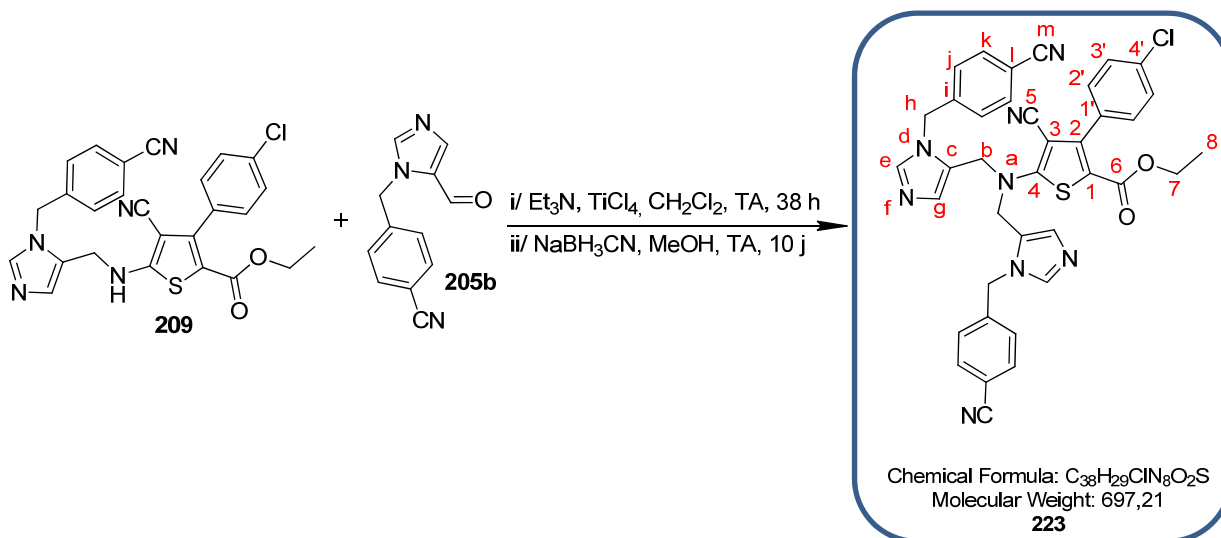
Haute résolution calculée pour C₂₂H₁₇³⁵ClN₅O₂S⁺ [M+H]⁺ : 450,0791, trouvée : 450,0788.

IR :

ν (cm⁻¹) : 2596 (**CH** st), 2204 (**C≡N** st), 1672 (**C=O** st), 1550, 1520, 1410, 1343, 1281, 1195, 1131, 1095, 1030, 1014, 904, 820 et 798 (**arC-H** δ), 720.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,05 min, 95 %.

5-bis((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **223**

Sous argon, la triéthylamine (0,16 mL, 0,116 g, 1,14 mmol, 6 éq.) suivie d'une solution de chlorure de titane 1N dans le dichlorométhane (0,189 mL, 0,036 g, 0,19 mmol, 1 éq.) sont additionnées à une solution de 5-aminothiophène **209** (0,095 g, 0,19 mmol, 1 éq.), d'imidazole-5-carbaldéhyde **205b** (0,080 g, 0,38 mmol, 2 éq.) dans 1,2 mL de dichlorométhane anhydre à température ambiante. Après 38 heures d'agitation à température ambiante, le cyanoborohydrure de sodium (0,119 g, 1,90 mmol, 10 éq.) solubilisé dans 1,6 mL de méthanol est additionné au milieu. Le mélange réactionnel de couleur rouge sombre est agité pendant 7 jours à température ambiante.

Le milieu réactionnel est traité avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec de l'eau, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **223** (0,034 g, 26 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,27 (t, 3H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 4,19 (q, 2H, **H7**, $J = 7,0$ Hz) ; 4,37 (s, 4H, **Hb**) ; 5,13 (s, 4H, **Hh**) ; 7,02 (d, 4H, **Hj**, $J = 8,5$ Hz) ; 7,25 (d, 2H, **H3'**, $J = 6,5$ Hz) ; 7,28 (s, 2H, **Hg**) ; 7,44 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,5$ Hz) ; 7,54 (s, 2H, **He**) ; 7,64 (d, 4H, **Hk**, $J = 8,5$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 46,1 (**Cb**) ; 48,5 (**Ch**) ; 61,7 (**C7**) ; 81,2 (**C3**) ; 111,6 (**C1**) ; 112,8 (**Cl**) ; 115,4 (**C5**) ; 117,9 (**Cm**) ; 124,4 (**Cc**) ; 126,8 (**Cj**) ; 127,5 (**C2'**) ; 128,5 (**C3'**) ; 130,6 (**C4'**) ; 131,3 (**Cg**) ; 132,8 (**Ck**) ; 133,1 (**C1'**) ; 140,0 (**Ce**) ; 140,4 (**Ci**) ; 148,1 (**C2**) ; 160,3 (**C6**) ; 165,2 (**C4**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 697,2 $[M+H]^+$.

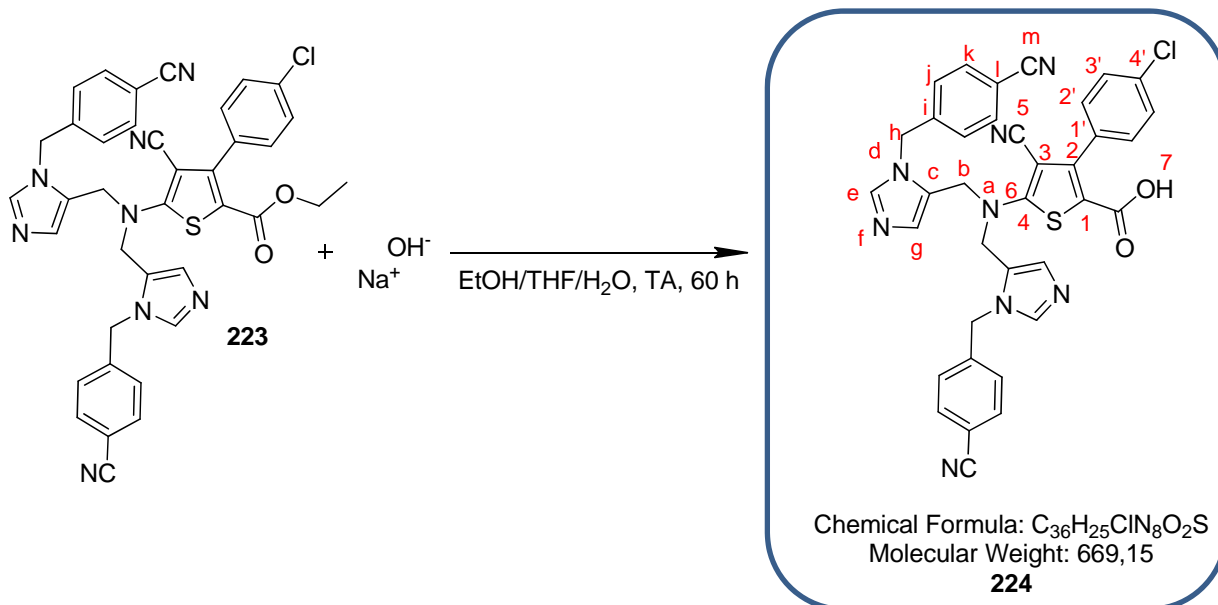
Haute résolution calculée pour $C_{38}H_{30}^{35}ClN_8O_2S^+$ $[M+H]^+$: 697,1901, trouvée : 697,1895.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2981 (**CH** st), 2229 et 2219 (**C \equiv N** st), 1707, 1681 (**C=O** st), 1506, 1441, 1369, 1266, 1215, 1168, 1088, 1016, 818 et 732 (**arC-H** δ), 661.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 3,62 min, 100 %.

acide 5-(bis((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylique **224**

Une solution aqueuse de soude 2M (0,05 mL, 0,004 g, 0,11 mmol, 3 équ.) est ajoutée au composé **223** (0,025 g, 0,04 mmol, 1 équ.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,75 mL).

Après agitation pendant 60 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5-6 avec de l'Amberlyte IRC-50. La solution est ensuite filtrée, l'Amberlyte IRC-50 lavé au méthanol puis le filtrat concentré sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 95:5 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **224** (0,025 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (500 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 4,39 (s, 4H, **Hb**) ; 5,33 (s, 4H, **Hh**) ; 6,95 (d, 4H, **Hj**, $J = 7,5$ Hz) ; 7,13 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,0$ Hz) ; 7,30 (s, 2H, **Hg**) ; 7,35 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,0$ Hz) ; 7,68 (d, 4H, **Hk**, $J = 7,5$ Hz) ; 7,84 (s, 2H, **He**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 669,2 $[M+H]^+$.

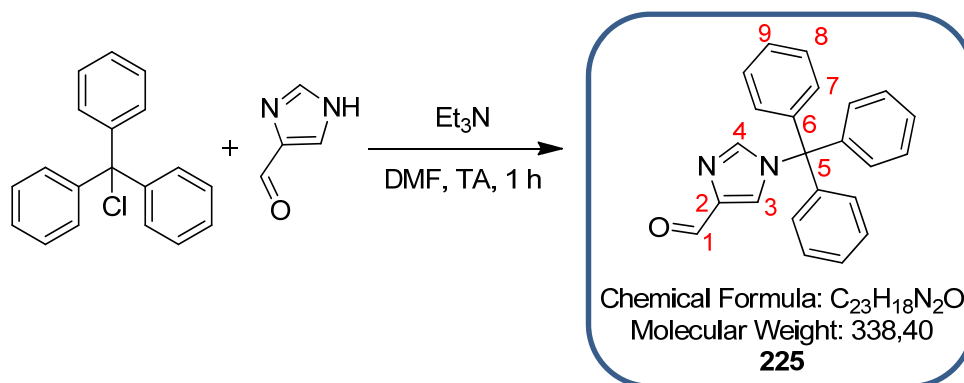
Haute résolution calculée pour $C_{36}H_{26}^{35}ClN_8O_2S^+$ $[M+H]^+$: 669,1588, trouvée : 669,1556.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3356 (**COO-H** st), 2923 (**CH** st), 2228 et 2205 (**C≡N** st), 1701, 1665 (**C=O** st), 1499, 1349, 1265, 1178, 1091, 1015, 820 (**arC-H** δ).

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 3,03 min, 100 %.

1-trityl-1H-imidazole-4-carbaldéhyde **225**

Sous argon, à une solution d'imidazole-4-carbaldéhyde (2,52 g, 26,3 mmol, 1 éq.) et de triéthylamine (7,34 mL, 52,5 mmol, 2 éq.) solubilisés dans du DMF (17 mL) est ajoutée à l'aide d'un pousse-seringue en 20 minutes une solution de chlorure de trityle (7,32 g, 26,3 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du DMF (38 mL).

Après 1 heure d'agitation à température ambiante, de l'eau est versée dans le milieu réactionnel permettant de former un précipité. Ce dernier est filtré puis solubilisé dans un grand volume d'acétate d'éthyle (400 mL). La solution est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **225** (8,9 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

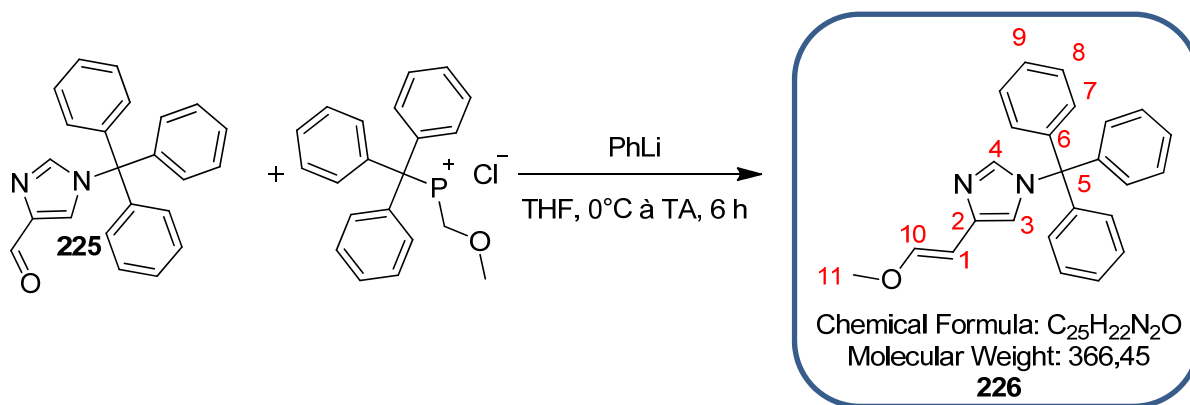
δ (ppm) : 7,12 (m, 6H, **H7**) ; 7,27 (s, 1H, **H3**) ; 7,34 (m, 9H, **H8** et **H9**) ; 7,63 (s, 1H, **H4**) ; 9,89 (s, 1H, **H1**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 76,4 (**C5**) ; 127,9 (**C3**) ; 128,4 (**C8**) ; 128,5 (**C9**) ; 129,7 (**C7**) ; 140,6 (**C4**) ; 140,9 (**C2**) ; 141,5 (**C6**) ; 186,6 (**C1**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 361,1 [$M+Na$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{23}H_{18}N_2O^+$ [$M+Na$] $^+$: 361,1317, trouvée : 361,1325.

(E)-4-(2-méthoxyvinyl)-1-trityl-1H-imidazole **226**

Sous argon à 0°C, à une solution de chlorure de (méthoxyméthyl)triphénylphosphonium (1,84 g, 5,36 mmol, 5 éq.) solubilisé dans du THF (17 mL) est ajoutée à l'aide d'un pousse-seringue en 5 minutes une solution de phényllithium 1,8 M dans du THF (2,98 mL, 0,250 g, 5,36 mmol, 5 éq.). Après 5 minutes d'agitation à 0°C, le bain de glace est enlevé et le milieu réactionnel est agité deux heures à température ambiante. L'imidazole **225** (0,363 g, 1,07 mmol, 1 éq.) est ensuite introduit en une fois ;

Après 4 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 98:2 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **226** (0,315 g, 49 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

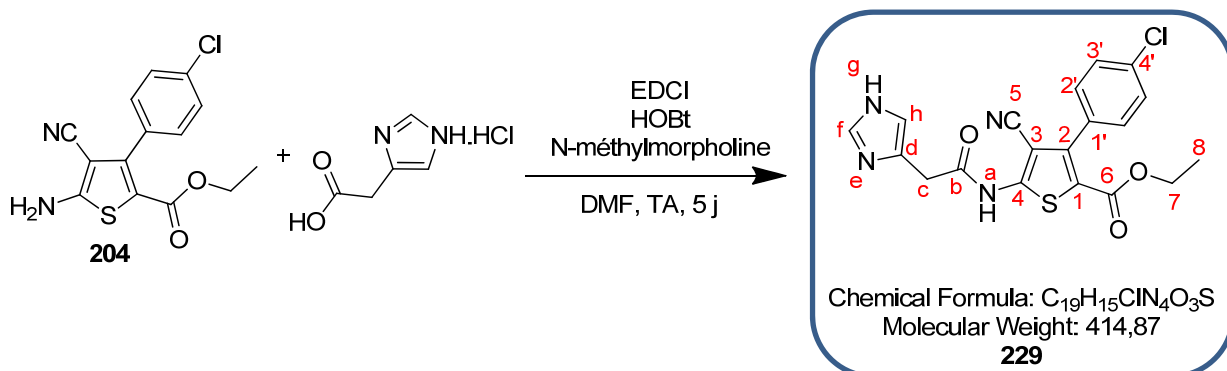
δ (ppm) : 3,66 (s, 3H, **H11**) ; 5,43 (d, 1H, **H1**, J = 6,6 Hz) ; 5,66 (d, 1H, **H10**, J = 6,6 Hz) ; 7,17 (m, 6H, **H7**) ; de 7,21 à 7,69 (m, 11H, **H3**, **H4**, **H8** et **H9**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 56,6 (**C11**) ; 75,3 (**C5**) ; 97,3 (**C1**) ; 116,7 (**C3**) ; 128,1 (**C8** et **C9**) ; 129,4 (**C2**) ; 129,8 (**C7**) ; 138,6 (**C4**) ; 142,5 (**C6**) ; 148,8 (**C10**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 367,2 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₅H₂₃N₂O⁺ [M+H]⁺ : 367,1810, trouvée : 367,1786.

5-(2-(1H-imidazol-4-yl)acétamido)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **229**

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **204** (0,175 g, 0,57 mmol, 1 éq.), le (1H-imidazol-4-yl)-acide acétique (0,232 g, 1,43 mmol, 2,5 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,137 g, 0,71 mmol, 1,25 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,109 g, 0,71 mmol, 1,25 éq.), la triéthylamine (3,5 mL, 2,55 g, 25,0 mmol, 50 éq.) et 2,5 mL de diméthylformamide. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 5 jours.

Le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite puis sous vide. Le résidu est dilué dans l'eau puis extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois avec de l'eau, une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide jaune obtenue est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 98:2 (v/v) en 25 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **229** (0,071 g, 30 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 1,19 (t, 3H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 3,91 (s, 2H, **Hc**) ; 4,18 (q, 2H, **H7**, $J = 7,0$ Hz) ; 7,20 (s, 1H, **Hh**) ; 7,50 à 7,54 (m, 4H, **Har**) ; 7,83 (s, 1H, **Hf**).

RMN ^{13}C (75 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 14,3 (**C8**) ; 34,8 (**Cc**) ; 61,7 (**C7**) ; 97,6 (**C3**) ; 113,8 (**Ch**) ; 115,5 (**C5**) ; 120,0 (**C1**) ; 128,9 (**C2'**) ; 132,2 (**C3'**) ; 133,0 (**C4'**) ; 135,1 (**C1'**) ; 136,4 (**Cd** et **Cf**) ; 144,8 (**C2**) ; 153,5 (**C4**) ; 161,8 (**C6**) ; 169,7 (**Cb**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 415,1 $[M+H]^+$.

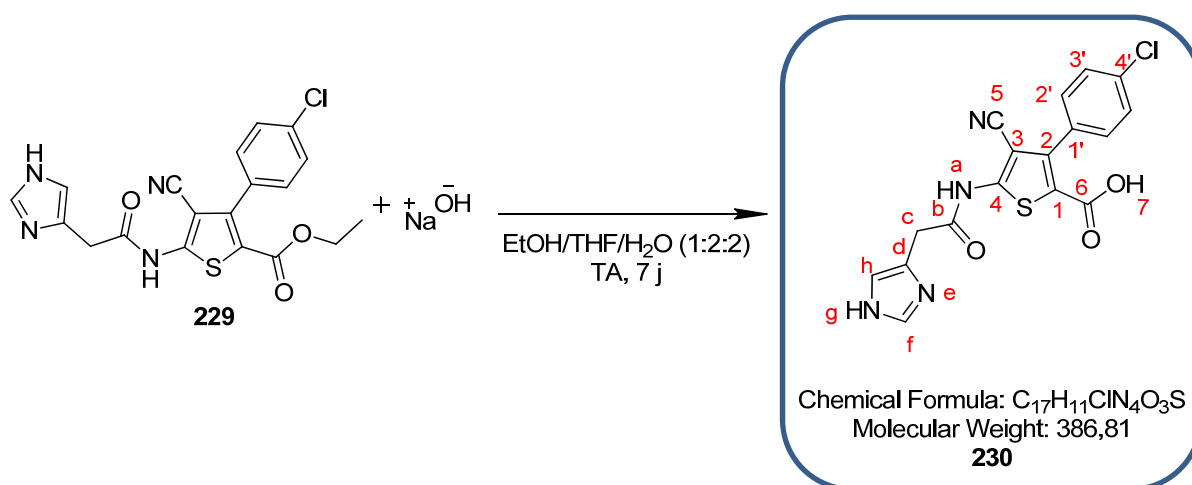
Haute résolution calculée pour $C_{19}H_{16}^{35}ClN_4O_3S^+$ $[M+H]^+$: 415,0632, trouvée : 415,0625.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3293 (**NH** st), 2971 et 2902 (**CH** st), 2221 (**C \equiv N** st), 1690 (**C=O** st), 1559, 1539, 1488 (**NH** δ), 1377, 1323, 1274, 1254, 1152, 1084, 1037, 1014, 834, 759, 706.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 3,63 min, 100 %.

acide 5-(2-(1H-imidazol-4-yl)acétamido)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylique **230**

Une solution aqueuse de soude 2M (0,2 mL, 0,016 g, 0,40 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **229** (0,017 g, 0,04 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,3 mL).

Après agitation pendant 7 jours à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5-6 avec de l'Amberlyte IRC-50. La solution est ensuite filtrée, l'Amberlyte IRC-50 lavé au méthanol puis le filtrat concentré sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **230** (0,018 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (500 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 4,21 (s, 2H, **Hc**) ; 7,41 (d, 4H, **H3'**, *J* = 8,0 Hz) ; 7,48 (d, 4H, **H2'**, *J* = 8,0 Hz) ; 7,56 (s, 1H, **Hh**) ; 8,93 (s, 1H, **Hf**).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 46,0 (**Cc**) ; 98,7 (**C3**) ; 114,1 (**Ch**) ; 119,3 (**C5**) ; 120,0 (**C1**) ; 129,2 (**C2'**) ; 132,2 (**C3'**) ; 133,1 (**C4'**) ; 135,4 (**C1'** et **Cf**) ; 135,9 (**Cd**) ; 145,8 (**C2**) ; 153,0 (**C4**) ; 164,1 (**C6**) ; 168,7 (**Cb**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 387,0 [M+H]⁺.

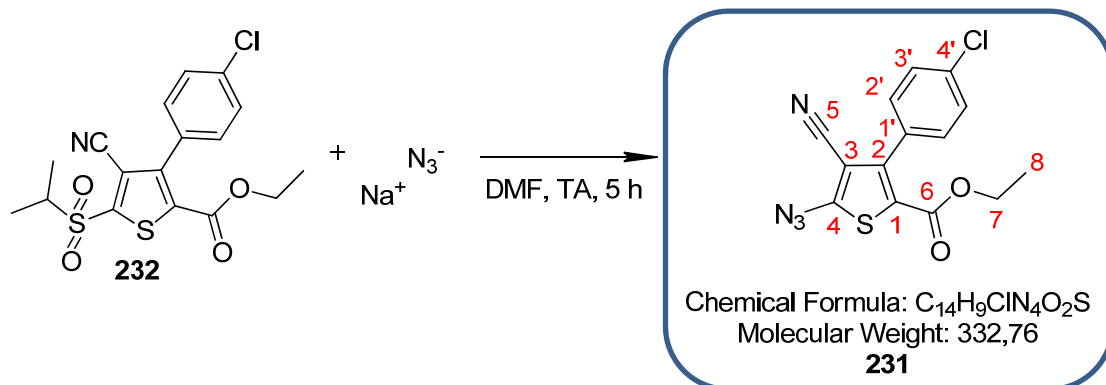
Haute résolution calculée pour C₁₇H₁₂³⁵ClN₄O₃S⁺ [M+H]⁺ : 387,0319, trouvée : 387,0324.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3139 (**NH** st), 2986 et 2931 (**CH** st), 2221 (**C≡N** st), 1694 (**C=O** st), 1553, 1522, 1484 (**NH** δ), 1381, 1266, 1149, 1088, 1016, 829.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 2,81 min, 100 %.

5-azido-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **231**

Au composé **232** (1,13 g, 2,84 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le diméthylformamide (34 mL) est ajouté l'azoture de sodium (0,554 g, 8,53 mmol, 3 éq.).

Après 5 heures d'agitation à température ambiante, de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite pour donner un solide orange, le composé **231** (0,906 g, 95 % de rendement).

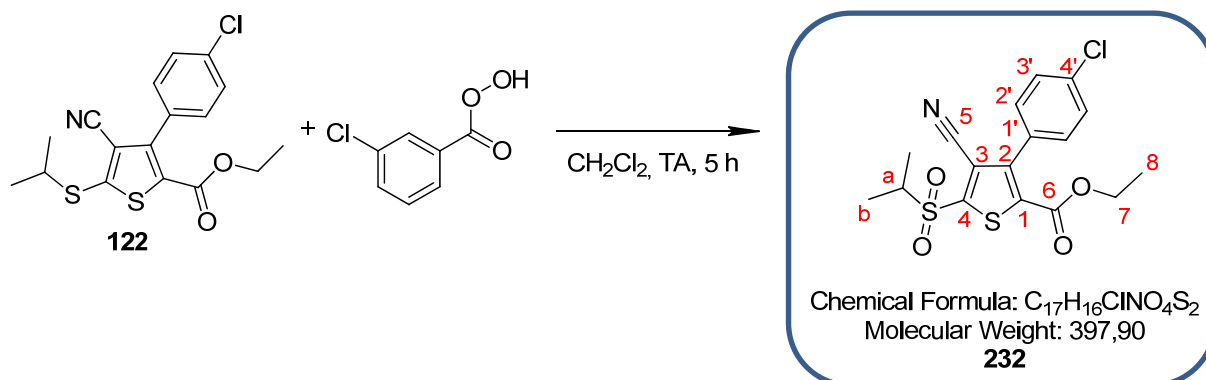
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,22 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 4,22 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,35 (d, 2H, **H3'**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,43 (d, 2H, **H2'**, *J* = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 62,2 (**C7**) ; 103,0 (**C3**) ; 111,9 (**C5**) ; 121,5 (**C1**) ; 128,6 (**C2'**) ; 130,2 (**C4'**) ; 130,8 (**C1'**) ; 135,9 (**C3'**) ; 147,0 (**C2**) ; 155,4 (**C4**) ; 160,0 (**C6**).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylsulfonyl)thiophène-2-carboxylate d'éthyle **232**

Au composé **122** (1,02 g, 2,78 mmol, 1 éq.) solubilisé dans le dichlorométhane (20,5 mL) est ajouté le *m*CPBA (pur à 70 %, 1,72 g, 6,96 mmol, 2,5 éq.).

Après 5 heures d'agitation à température ambiante, une solution de bicarbonate de sodium est ajoutée au milieu réactionnel. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **232** (1,13 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

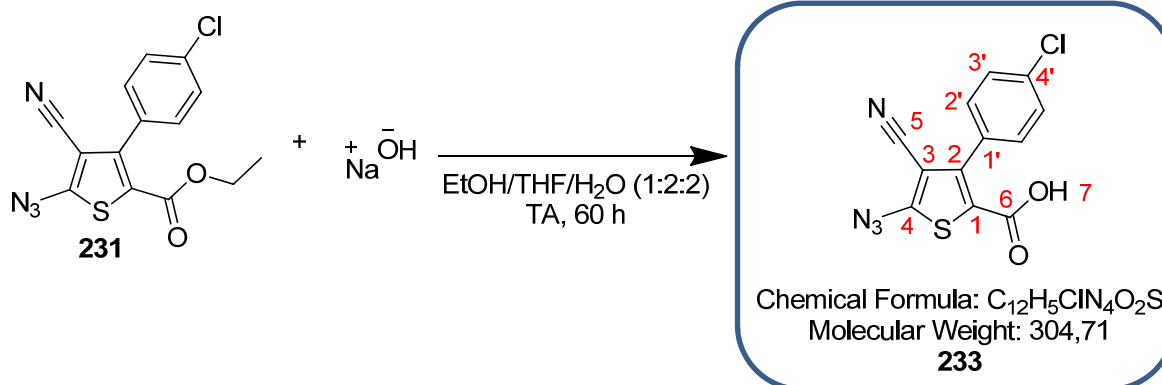
δ (ppm) : 1,26 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,49 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,59 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 4,28 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,36 (d, 2H, **H3'**, *J* = 7,5 Hz) ; 7,48 (d, 2H, **H2'**, *J* = 7,5 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,1 (**C8**) ; 15,9 (**Cb**) ; 57,4 (**Ca**) ; 63,0 (**C7**) ; 111,6 (**C3**) ; 116,5 (**C5**) ; 128,9 (**C2'**) ; 129,4 (**C4'**) ; 131,0 (**C1'**) ; 135,7 (**C3'**) ; 136,4 (**C1**) ; 149,2 (**C2**) ; 150,1 (**C4**) ; 159,5 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 420,0 [M+Na]⁺.

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.¹²²

acide 5-azido-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylique **233**

Une solution aqueuse de soude 2M (0,3 mL, 0,023 g, 0,57 mmol, 3 éq.) est ajoutée au composé **231** (0,064 g, 0,19 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,45 mL).

Après agitation pendant 60 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,7 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide brun, le composé **233** (0,060 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 7,31 (d, 2H, **H3'**, *J* = 7,2 Hz) ; 7,35 (d, 2H, **H2'**, *J* = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

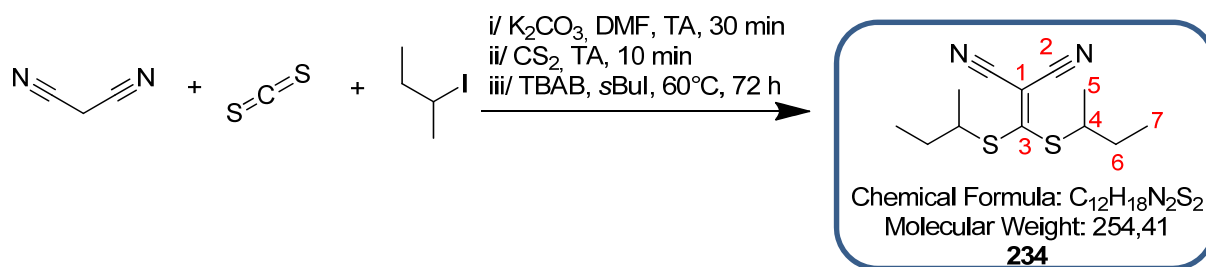
δ (ppm) : 102,8 (**C3**) ; 112,9 (**C5**) ; 129,3 (**C2'**) ; 125,6 (**C4'**) ; 132,2 (**C3'**) ; 136,3 (**C1'**) ; 143,9 (**C2**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 277,0 [M-N₂+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₂H₆³⁵ClN₂O₂S⁺ [M-N₂+H]⁺ : 276,9839, trouvée : 276,9831.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3315 (**COO-H** st), 2923 (**CH** st), 2216 (**C≡N** st), 2118 (**-N⁺≡N** st), 1687 (**C=O** st), 1590, 1492, 1404, 1375, 1241, 1173, 1090, 1014, 834, 766.

2-(bis(sec-butylthio)méthylène)malononitrile **234**

Le malononitrile (3,14 mL, 3,29 g, 49,8 mmol, 1 éq.) est ajouté à 115 mL de DMF à température ambiante. La solution passe de la couleur orange à violette. Après ajout du carbonate de potassium (7,58 g, 54,8 mmol, 1,1 éq.), la solution devient fuchsia jusqu'à devenir grise après 30 minutes d'agitation à température ambiante, où le disulfure de carbone (3,00 mL, 3,80 g, 49,8 mmol, 1 éq.) est ensuite additionné goutte-à-goutte. Le mélange réactionnel jaune est alors agité pendant 10 minutes à température ambiante. Le bromure de tétra-*n*-butylammonium (3,21 g, 9,97 mmol, 0,2 éq.) et l'iodure de *sec*-butyle (11,5 mL, 18,3 g, 99,7 mmol, 2 éq.) sont ajoutés goutte-à-goutte à température ambiante. Le milieu réactionnel est ensuite agité à 60°C pendant 72 heures.

Après refroidissement à température ambiante, le milieu est évaporé à sec sous vide. Le résidu est solubilisé dans 130 mL d'eau. La phase aqueuse est extraite quatre fois avec de l'éther diéthylique (4 × 150 mL). Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées deux fois avec une solution de thiosulfate de sodium 5 % puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le brut obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 8:2 (v/v) en 45 minutes) pour donner le composé **234** (6,90 g, 54 % de rendement) sous forme d'une huile jaune.

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,06 (t, 3H, **H7**, *J* = 7,5 Hz) ; 1,41 (d, 3H, **H5**, *J* = 6,5 Hz) ; 1,72 (qd, 2H, **H6**, *J* = 7,0 Hz et *J* = 7,5 Hz) ; 3,80 (tq, 1H, **H4**, *J* = 6,5 Hz et *J* = 7,0 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 11,2 et 11,3 (**C7**) ; 20,4 et 20,7 (**C5**) ; 29,6 et 29,8 (**C6**) ; 49,1 (**C4**) ; 80,8 (**C1**) ; 112,9 (**C2**) ; 180,5 (**C3**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 277,1 [M+Na]⁺ ; 309,1 [M+Na+MeOH]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₂H₁₈N₂S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 277,0809, trouvée : 277,0803.

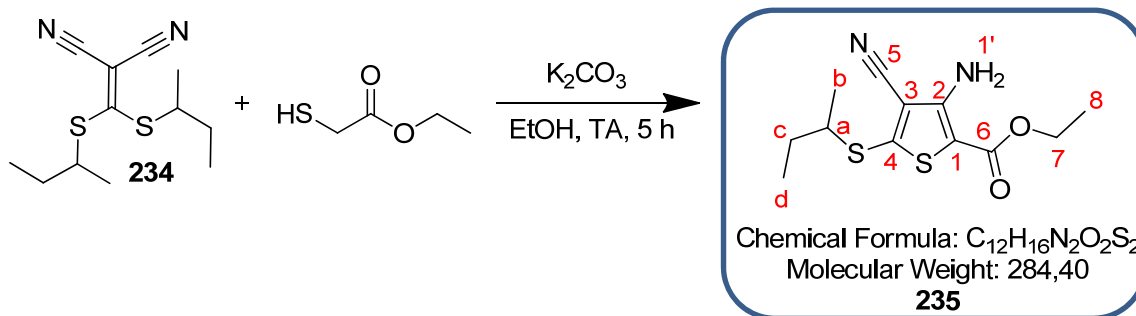
IR :

ν (cm⁻¹) : 2966 et 2927 et 2875 (**CH** st), 2217 (**C≡N** st), 1693, 1607, 1538, 1447, 1380, 1278, 1221, 1148, 934, 788, 674, 633.

AE :

Théorique %C = 56,65 ; %H = 7,13 ; %N = 11,01 ; %S = 25,21.

Trouvée %C = 56,61 ; %H = 7,36 ; %N = 10,92 ; %S = 25,29.

3-amino-5-(sec-butylthio)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **235**

Au cétène dithioacétal **234** (6,79 g, 26,7 mmol, 1 éq.) solubilisé dans 112 mL d'éthanol sont additionnés le carbonate de potassium (4,43 g, 32,0 mmol, 1,2 éq.) et le 2-mercaptoacétate d'éthyle (3,07 mL, 3,37 g, 28,0 mmol, 1,05 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 5 heures.

Après évaporation du solvant, de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel, extrait par la suite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide jaune obtenu est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 6:4 (v/v) en 45 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **235** (6,60 g, 87 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,06 (t, 3H, **Hd**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,36 (t, 3H, **H8**, $J = 7,0$ Hz) ; 1,42 (d, 3H, **Hb**, $J = 6,5$ Hz) ; 1,74 (qd, 2H, **Hc**, $J = 7,0$ Hz et $J = 7,5$ Hz) ; 3,38 (tq, 1H, **Ha**, $J = 6,5$ Hz et $J = 7,0$ Hz) ; 4,31 (q, 2H, **H7**, $J = 7,0$ Hz) ; 5,78 (s, 2H, **H1'**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 11,4 (**Cd**) ; 14,6 (**C8**) ; 20,6 (**Cb**) ; 29,8 (**Cc**) ; 48,6 (**Ca**) ; 60,8 (**C7**) ; 101,2 (**C3**) ; 103,5 (**C5**) ; 112,8 (**C1**) ; 153,0 (**C2**) ; 153,9 (**C4**) ; 162,8 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 285,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour $C_{12}H_{17}N_2O_2S_2^+$ [M+H]⁺ : 285,0731, trouvée : 285,0723.

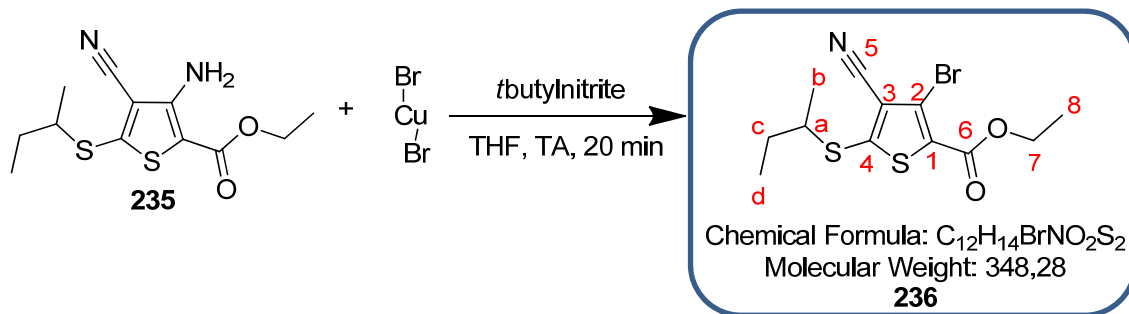
IR :

ν (cm⁻¹) : 3415 et 3328 (**NH₂** st), 3211 (**arCH** st), 2963 et 2930 et 2873 (**CH** st), 2214 (**C≡N** st), 1675, 1616, 1537, 1461, 1406, 1363, 1300, 1185, 1070, 1009, 909, 760, 688, 627.

AE :

Théorique %C = 50,68 ; %H = 5,67 ; %N = 9,85 ; %O = 11,25 ; %S = 22,55.

Trouvée %C = 50,62 ; %H = 5,70 ; %N = 9,83 ; %O = 11,32 ; %S = 22,78.

3-bromo-5-(sec-butylthio)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **236**

A une solution du composé **235** (6,54 g, 23,0 mmol, 1 éq.) dans 60 mL de THF anhydre est additionné le bromure de cuivre (II) (10,3 g, 46,0 mmol, 2 éq.) dans un ballon sec sous argon. Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, est lentement additionnée une solution de *tert*-butylnitrite (4,00 mL, 3,56 g, 34,5 mmol, 1,5 éq.) dans 12 mL de THF anhydre.

Après 20 minutes d'agitation à température ambiante, 72 mL d'acide chlorhydrique 20 % sont ajoutés au milieu réactionnel qui est extrait ensuite quatre fois avec de l'éther diéthylique. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 6:4 (v/v) en 45 minutes) pour donner un solide jaune, le composé **236** (7,22 g, 80 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,08 (t, 3H, **Hd**, *J* = 7,5 Hz) ; 1,37 (t, 3H, **H8**, *J* = 7,2 Hz) ; 1,40 (d, 3H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 1,73 (qd, 2H, **Hc**, *J* = 7,2 Hz et *J* = 7,5 Hz) ; 3,42 (tq, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz et *J* = 7,2 Hz) ; 4,40 (q, 2H, **H7**, *J* = 7,2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 11,3 (**Cd**) ; 14,2 (**C8**) ; 20,6 (**Cb**) ; 29,6 (**Cc**) ; 49,2 (**Ca**) ; 62,2 (**C7**) ; 112,6 (**C3**) ; 117,6 (**C5**) ; 118,0 (**C2**) ; 128,7 (**C1**) ; 154,3 (**C4**) ; 159,0 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 404,0 [M+Na+MeOH]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₃H₁₈⁷⁹BrNO₃S₂Na⁺ [M+Na+MeOH]⁺ : 401,9809, trouvée : 403,9824 ;
C₁₃H₁₈⁸¹BrNO₃S₂Na⁺ [M+Na+MeOH]⁺ : 403,9789, trouvée : 403,9804.

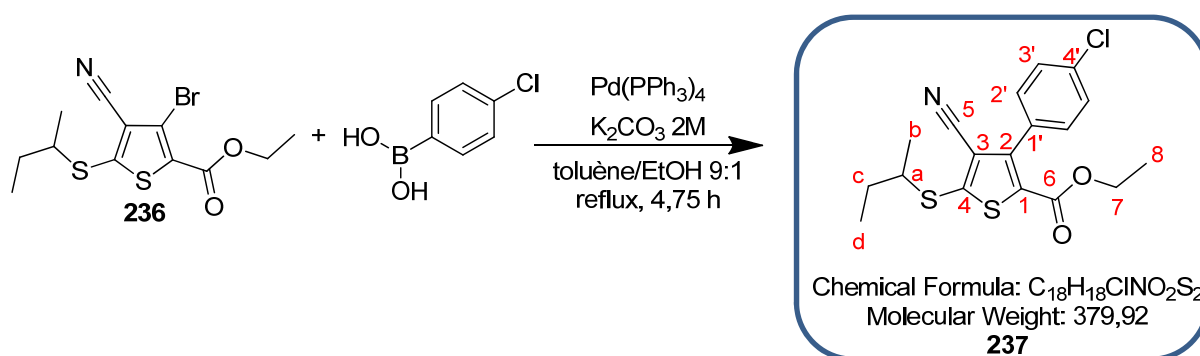
IR :

v (cm⁻¹) : 2964 et 2914 (**CH** st), 2214 (**C≡N** st), 1722 (**C=O** st), 1503, 1392, 1351, 1225 (**CO-O** st as), 1100, 1047, 1023 (**C-Br** st), 954, 897, 835, 751, 668.

AE :

Théorique %C = 41,38 ; %H = 4,05 ; %N = 4,02 ; %O = 9,19 ; %S = 18,41.

Trouvée %C = 41,44 ; %H = 3,92 ; %N = 4,15 ; %O = 8,89 ; %S = 18,64.

5-(sec-butylthio)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylate d'éthyle **237**

A une solution du composé **236** (0,504 g, 1,45 mmol, 1 éq.) dans 12,4 mL de toluène et 1,4 mL d'éthanol sont additionnés le tétrakis(triphénylphosphine)palladium(0) (0,167 g, 0,14 mmol, 0,1 éq.), le carbonate de potassium 2N dans l'eau (1,81 mL, 0,500 g, 3,61 mmol, 2,5 éq.) et l'acide 4-chlorophénylboronique (0,452 g, 2,89 mmol, 2 éq.).

Après 4,75 heures d'agitation à reflux, le milieu réactionnel est dilué dans l'eau puis extrait quatre fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 35 minutes) pour donner un solide blanc, le composé **237** (0,466 g, 85 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,09 (t, 3H, **Hd**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,23 (t, 3H, **H8**, $J = 7,2$ Hz) ; 1,46 (d, 3H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,75 (qd, 2H, **Hc**, $J = 7,2$ Hz et $J = 7,5$ Hz) ; 3,44 (tq, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz et $J = 7,2$ Hz) ; 4,22 (q, 2H, **H7**, $J = 7,2$ Hz) ; 7,38 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,44 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 11,3 (**Cd**) ; 14,0 (**C8**) ; 20,7 (**Cb**) ; 29,7 (**Cc**) ; 49,0 (**Ca**) ; 61,8 (**C7**) ; 113,5 (**C3**) ; 115,3 (**C5**) ; 128,4 (**C2'**) ; 129,2 et 129,8 (**C4'** et **C1'**) ; 130,7 (**C3'**) ; 135,3 (**C1**) ; 147,8 (**C2**) ; 153,8 (**C4**) ; 160,0 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 402,0 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{18}H_{18}^{35}ClNO_2S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 402,0365, trouvée : 402,0370.

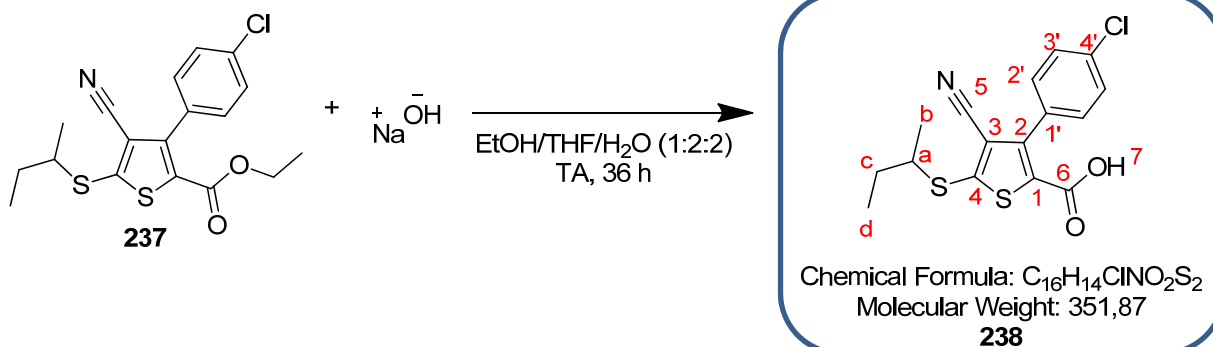
IR :

ν (cm^{-1}) : 2969 et 2920 et 2876 (**CH** st), 2219 (**C \equiv N** st), 1715 (**C=O** st), 1527, 1487 (**arC-C**), 1400, 1368, 1356 (**C-O** st), 1264 (**CO-O** st as), 1172, 1090, 1081, 1015, 843, 824 et 759 (**arC-H** δ), 725, 667.

AE :

Théorique %C = 56,90 ; %H = 4,78 ; %N = 3,69 ; %O = 8,42 ; %S = 16,88.

Trouvée %C = 56,88 ; %H = 4,75 ; %N = 3,76 ; %O = 8,71 ; %S = 16,74.

acide 5-(sec-butylthio)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxylique **238**

Une solution aqueuse de soude 2M (4,0 mL, 0,320 g, 8,00 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **237** (0,304 g, 0,80 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (6,0 mL).

Après 36 heures d'agitation à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (8,0 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **238** (0,253 g, 90 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,11 (t, 3H, **Hd**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,49 (d, 3H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,80 (qd, 2H, **Hc**, $J = 7,2$ Hz et $J = 7,5$ Hz) ; 3,47 (tq, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz et $J = 7,2$ Hz) ; 7,38 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,45 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 11,3 (**Cd**) ; 20,6 (**Cb**) ; 29,7 (**Cc**) ; 49,0 (**Ca**) ; 113,2 (**C3**) ; 114,6 (**C5**) ; 128,6 (**C2'**) ; 129,9 (**C1'** ou **C4'**) ; 130,1 (**C1'** ou **C4'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 135,7 (**C1**) ; 149,6 (**C2**) ; 156,5 (**C4**) ; 164,3 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 350,0 [M-H] $^-$.

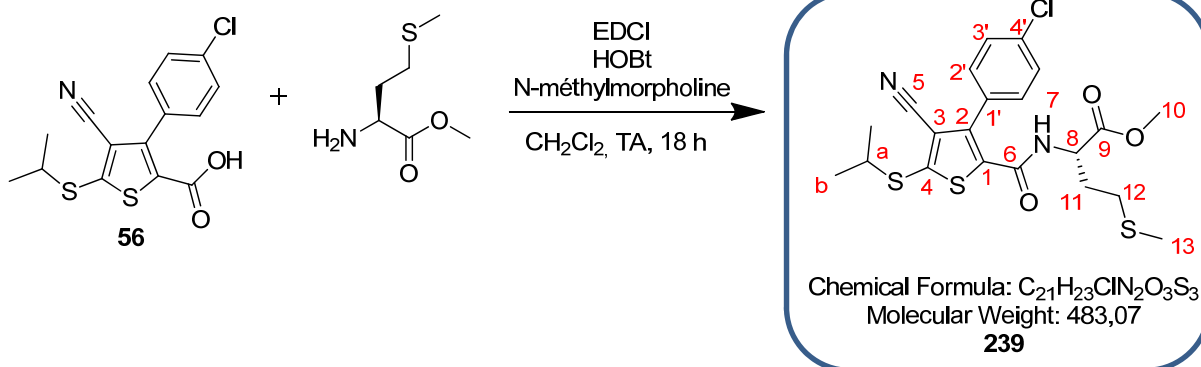
Haute résolution calculée pour $C_{16}H_{13}^{35}ClNO_2S_2^-$ [M-H] $^-$: 350,0076, trouvée : 350,0088.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2964 et 2923 (**CH** st), 2219 (**C \equiv N** st), 1667 (**C=O** st), 1596, 1524 et 1485 (**arC-C**), 1401, 1355, 1270, 1196, 1177, 1089, 1015, 923, 865, 828 et 762 (**arC-H** δ), 721, 709, 672, 623.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,51 min, 90 %.

(2S)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **239**

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **56** (0,261 g, 0,77 mmol, 1 éq.), la L-méthionine méthylée (0,154 g, 0,77 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,178 g, 0,93 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,237 g, 1,55 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,085 mL, 0,078 g, 0,77 mmol, 1 éq.) et 2,1 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 18 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel afin d'avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) permettant d'isoler une huile jaune, le produit **239** (0,331 g, 89 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,38 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,78 (m, 1H, **H11**) ; 1,93 (s, 3H, **H13**) ; 2,00 (m, 1H, **H11**) ; 2,18 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,61 (s, 3H, **H10**) ; 4,59 (m, 1H, **H8**) ; 6,05 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,36 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,48 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,4 (**C13**) ; 23,1 (**Cb**) ; 29,6 (**C12**) ; 31,0 (**C11**) ; 42,4 (**Ca**) ; 50,0 (**C8**) ; 52,6 (**C10**) ; 113,3 (**C3**) ; 115,5 (**C5**) ; 129,8 (**C2'**) ; 129,9 (**C3'**) ; 130,7 (**C4'**) ; 136,1 (**C1**) ; 136,5 (**C1'**) ; 141,8 (**C2**) ; 152,4 (**C4**) ; 159,0 (**C6**) ; 171,1 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 505,0 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{23}^{35}ClN_2O_3S_3Na^+$ $[M+Na]^+$: 505,0457, trouvée : 505,0440.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3401 (**NH** st), 2964 et 2920 (**CH** st), 2224 (**C≡N** st), 1740 (**C=O_{ester}** st), 1646 (**C=O_{amide}** st), 1508 (**NH** δ), 1483, 1436, 1400, 1366, 1204.

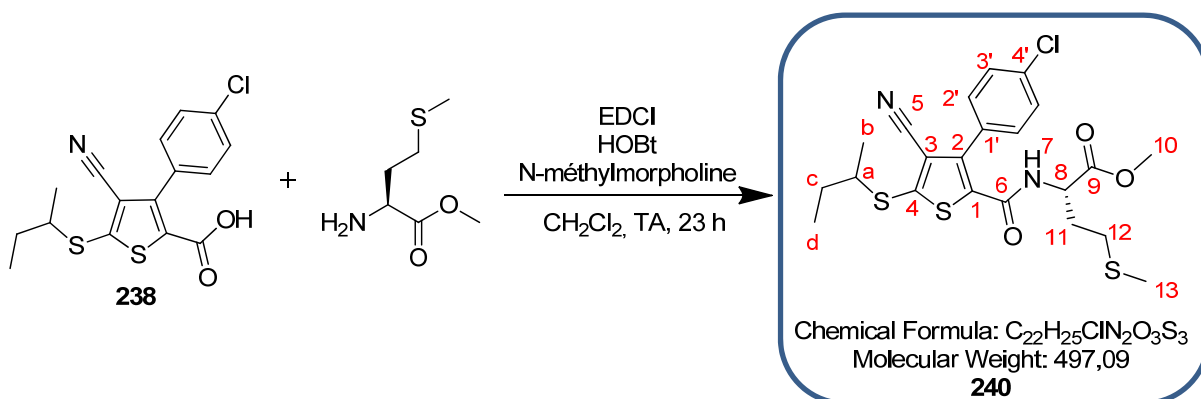
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,21 min, 98 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -15,6^\circ$ (MeOH, 0,64).

(2S)-2-(5-(sec-butylthio)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **240**



Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **238** (0,253 g, 0,72 mmol, 1 éq.), la L-méthionine (0,144 g, 0,72 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,165 g, 0,86 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,220 g, 1,44 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,079 mL, 0,073 g, 0,72 mmol, 1 éq.) et 2 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 23 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel jusqu'à avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **240** (0,243 g, 68 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,10 (t, 3H, **Hd**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,47 (d, 3H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,80 (qd, 2H, **Hc**, $J = 7,2$ Hz et $J = 7,5$ Hz) ; 1,90 (m, 1H, **H11**) ; 2,05 (s, 3H, **H13**) ; 2,06 (m, 1H, **H11**) ; 2,28 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,42 (tq, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz et $J = 7,2$ Hz) ; 3,71 (s, 3H, **H10**) ; 4,70 (m, 1H, **H8**) ; 6,10 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,46 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,58 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 11,3 (**Cd**) ; 15,5 (**Cb**) ; 20,6 (**C13**) ; 29,6 (**C12**) ; 29,7 (**Cc**) ; 31,1 (**C11**) ; 49,1 (**Ca**) ; 52,0 (**C8**) ; 52,6 (**C10**) ; 113,4 (**C3**) ; 115,1 (**C5**) ; 129,9 (**C2'**) ; 130,7 (**C3'**) ; 130,8 (**C4'**) ; 135,8 (**C1**) ; 136,6 (**C1'**) ; 141,8 (**C2**) ; 153,0 (**C4**) ; 159,7 (**C6**) ; 171,2 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 519,1 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{22}H_{25}^{35}ClN_2O_3S_3Na^+$ $[M+Na]^+$: 519,0614, trouvée : 519,0612.

IR :

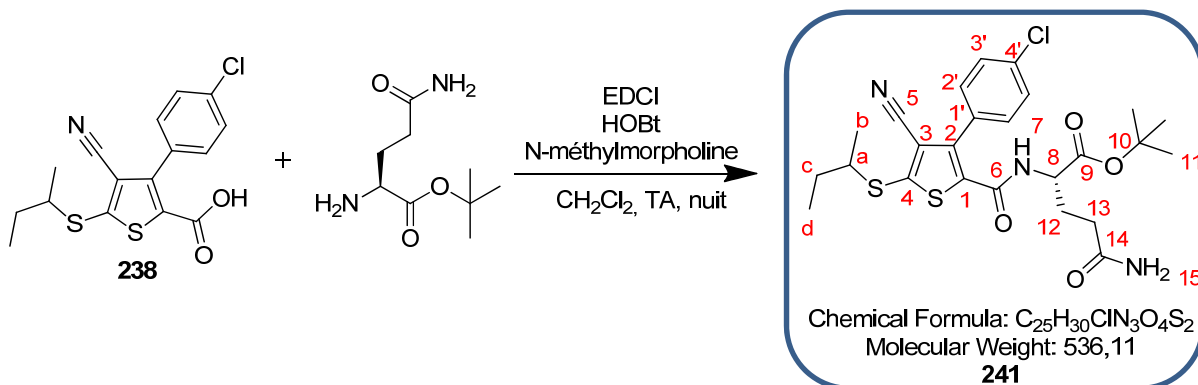
ν (cm^{-1}) : 3300 (**NH** st), 2964 et 2922 (**CH** st), 2219 (**C \equiv N** st), 1739 (**C=O_{ester}** st), 1681 et 1663 (**C=O_{amide}** st), 1527 (**NH** δ), 1484, 1435, 1356, 1267 (**CO-O** st as), 1202, 1174, 1090, 1014, 865, 828, 761, 672.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,21 min, 96 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -8,93^\circ$ (MeOH, 0,56).

(2S)-5-amino-2-(5-(sec-butylthio)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxamido)-5-oxopentanoate de tert-butyle **241**

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **238** (0,109 g, 0,31 mmol, 1 éq.), la L-glutamine (0,063 g, 0,31 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,071 g, 0,37 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,095 g, 0,62 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,034 mL, 0,031 g, 0,31 mmol, 1 éq.) et 0,8 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 23 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel jusqu'à avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane/AcOEt 1:1 (v/v) à AcOEt en 20 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **241** (0,114 g, 69 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,08 (t, 3H, **Hd**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,42 (s, 9H, **H11**) ; 1,44 (d, 3H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,74 (qd, 2H, **Hc**, $J = 7,2$ Hz et $J = 7,5$ Hz) ; 2,12 (m, 2H, **H13**) ; 2,16 (m, 2H, **H12**) ; 3,40 (tq, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz et $J = 7,2$ Hz) ; 4,43 (m, 1H, **H8**) ; 5,58 (sl, 1H, **H15**) ; 6,01 (sl, 1H, **H15**) ; 6,36 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,43 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,53 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 11,3 (**Cd**) ; 20,6 (**Cb**) ; 27,9 (**H11**) ; 28,3 (**C12**) ; 29,7 (**Cc**) ; 31,4 (**C13**) ; 49,2 (**Ca**) ; 53,0 (**C8**) ; 83,0 (**C10**) ; 113,5 (**C3**) ; 115,3 (**C5**) ; 129,8 (**C2'** et **C4'**) ; 130,7 (**C3'**) ; 135,8 (**C1**) ; 136,3 (**C1'**) ; 142,0 (**C2**) ; 152,5 (**C4**) ; 160,2 (**C6**) ; 169,8 (**C9**) ; 174,0 (**C14**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 558,1 [$M+Na$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{25}H_{30}^{35}ClN_3O_4S_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 558,1264, trouvée : 558,1259.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3361 (**NH** st), 3180 (**arCH** st), 2972 et 2928 (**CH** st), 2226 (**C \equiv N** st), 1729 (**C=O_{ester}** st), 1651 (**C=O_{amide}** st), 1532 (**NH** δ), 1485, 1451, 1368 (**C-O** st), 1285, 1248, 1152 (**CN** st), 1091, 1015, 829, 738.

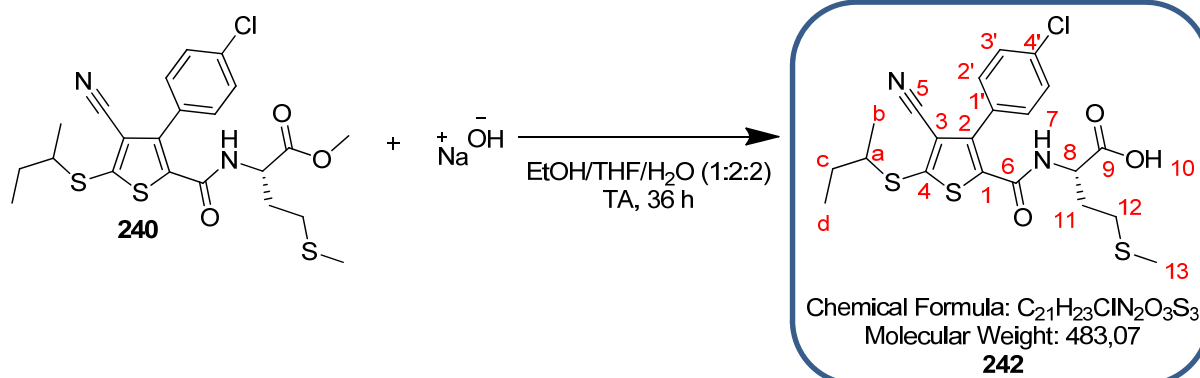
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,65 min, 91 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -5,00^\circ$ (MeOH, 1,00).

acide (2S)-2-(5-(sec-butylthio)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **242**



Une solution aqueuse de soude 2M (1,2 mL, 0,099 g, 2,47 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **240** (0,123 g, 0,25 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (1,9 mL).

Après 36 heures d'agitation à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (2,4 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **242** (0,113 g, 94 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,09 (t, 3H, **Hd**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,46 (d, 3H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,77 (qd, 2H, **Hc**, $J = 7,2$ Hz et $J = 7,5$ Hz) ; 1,91 (m, 1H, **H11**) ; 2,04 (s, 3H, **H13**) ; 2,05 (m, 1H, **H11**) ; 2,33 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,42 (tq, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz et $J = 7,2$ Hz) ; 4,70 (m, 1H, **H8**) ; 6,13 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,45 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,55 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 10,3 (**Cd**) ; 14,4 (**C13**) ; 19,6 (**Cb**) ; 28,6 (**C12**) ; 28,7 (**Cc**) ; 29,6 (**C11**) ; 48,1 (**Ca**) ; 51,0 (**C8**) ; 112,3 (**C3**) ; 113,9 (**C5**) ; 128,1 (**C4'**) ; 128,9 (**C2'**) ; 129,7 (**C3'**) ; 134,3 (**C1**) ; 135,6 (**C1'**) ; 141,1 (**C2**) ; 152,4 (**C4**) ; 159,0 (**C6**) ; 174,4 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 505,1 [$M+Na$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{23}^{35}ClN_2O_3S_3Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 505,0457, trouvée : 505,0452.

IR :

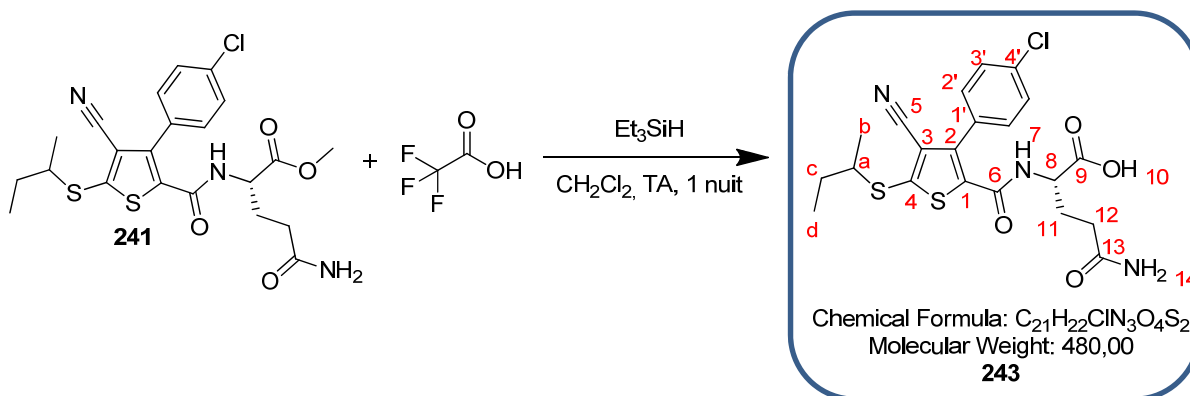
ν (cm^{-1}) : 2966 et 2920 (**CH** st), 2225 (**C \equiv N** st), 1729 (**C=O_{ester}** st), 1634 (**C=O_{amide}** st), 1532 (**NH** δ), 1508, 1484, 1401, 1364, 1208, 1091, 1014, 828, 738.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,58 min, 93 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -11,5^\circ$ (MeOH, 1,30).

acide (2S)-5-amino-2-(5-(sec-butylthio)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxamido)-5-oxopentanoïque **243**

De l'acide trifluoroacétique (0,22 mL, 0,328 g, 2,88 mmol, 26 éq.) et du triéthylsilane (0,04 mL, 0,032 g, 0,28 mmol, 2,5 éq.) est ajouté au composé **241** (0,059 g, 0,11 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du dichlorométhane (0,2 mL).

Après une nuit d'agitation à température ambiante, 1 mL d'éther diéthylique est ajouté au milieu réactionnel qui est par la suite évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide blanc obtenu est purifié par plaque préparative (éluant $CH_2Cl_2/MeOH$ 9:1 (v/v) avec 1 % d'acide formique) permettant d'isoler une huile incolore, le produit **243** (0,029 g, 55 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,00 (t, 3H, **Hd**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,36 (d, 3H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,65 (qd, 2H, **Hc**, $J = 7,2$ Hz et $J = 7,5$ Hz) ; 1,86 à 2,15 (m, 4H, **H11** et **H12**) ; 3,34 (tq, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz et $J = 7,2$ Hz) ; 4,38 (m, 1H, **H8**) ; 6,44 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 6,67 (sl, 2H, **H14**) ; 7,34 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,44 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 11,3 (**Cd**) ; 20,6 (**Cb** ou **C11**) ; 20,7 (**Cb** ou **C11**) ; 29,7 (**Cc**) ; 31,2 (**C12**) ; 49,2 (**Ca**) ; 52,6 (**C8**) ; 113,3 (**C3**) ; 115,2 (**C5**) ; 129,8 (**C2'**) ; 129,9 (**C4'**) ; 130,8 (**C3'**) ; 135,1 (**C1**) ; 136,3 (**C1'**) ; 142,4 (**C2**) ; 153,0 (**C4**) ; 160,2 (**C6**) ; 171,1 (**C9**) ; 176,6 (**C13**).

SM (ESI, $MeOH + CH_2Cl_2$) : m/z 502,1 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{22}^{35}ClN_3O_4S_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 502,0638, trouvée : 502,0645.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3353 (**NH st**), 2971 et 2913 (**CH st**), 2221 (**C \equiv N st**), 1597 (**C=O_{amide} st**), 1533 (**NH δ**), 1482, 1399, 1207, 1091, 1015.

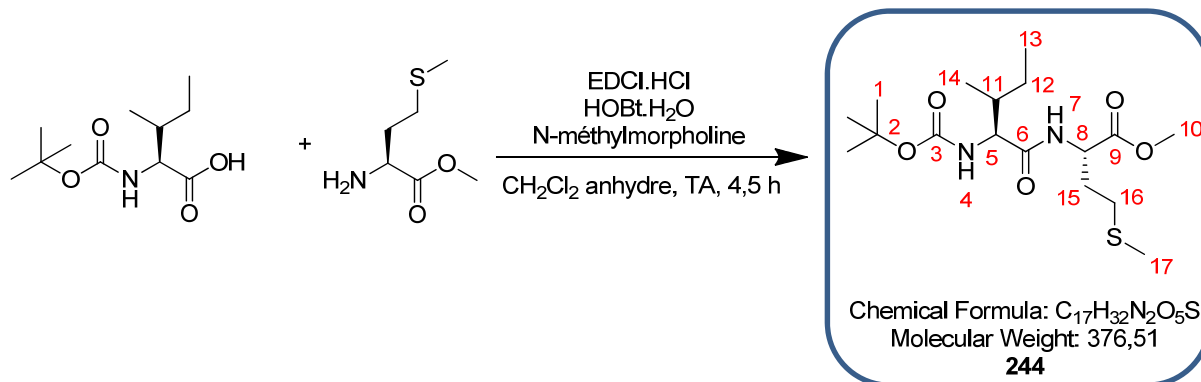
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,50 min, 91 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -8,33^\circ$ ($MeOH$, 0,60).

(5S,8S)-5-((tert-butoxycarbonyl)amino)-11-méthylpentanamido)-8-(méthylthio)butanoate de méthyle **244**



Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés la Boc-isoleucine (0,878 g, 3,80 mmol, 1 équ.), la méthionine méthylée (0,758 g, 3,80 mmol, 1 équ.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,873 g, 4,56 mmol, 1,2 équ.), le N-hydroxybenzotriazole monohydraté (0,698 g, 4,56 mmol, 1,2 équ.), la N-méthylmorpholine (0,417 mL, 0,384 g, 3,80 mmol, 1 équ.) et 20 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 4,5 heures.

Du dichlorométhane est ajouté au milieu réactionnel qui est ensuite lavé une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau et enfin une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite pour donner un solide blanc, le produit **244** (1,33 g, 93 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) :

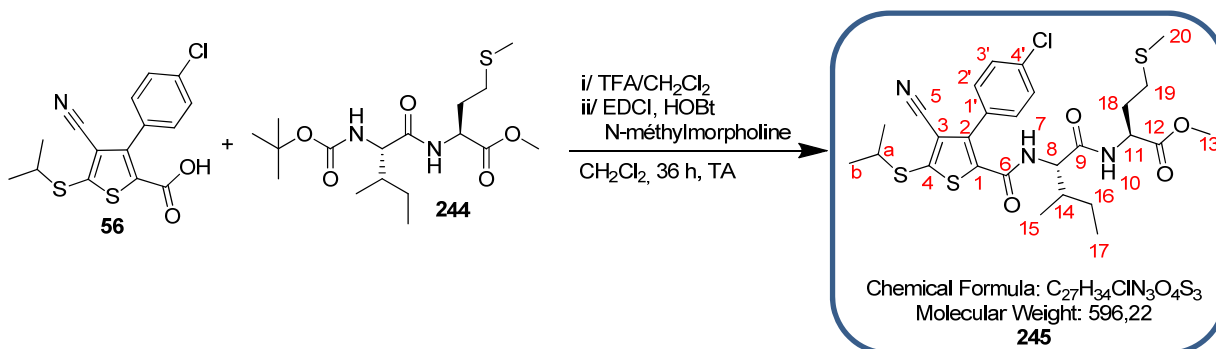
δ (ppm) : 0,95 (m, 6H, **H13** et **H14**) ; 1,47 (s, 9H, **H1**) ; 1,50 (m, 2H, **H12**) ; 1,90 (m, 1H, **H11**) ; 2,04 (m, 1H, **H15**) ; 2,11 (s, 3H, **H17**) ; 2,19 (m, 1H, **H15**) ; 2,53 (m, 2H, **H16**) ; 3,78 (s, 3H, **H10**) ; 3,97 (m, 1H, **H5**) ; 4,72 (m, 1H, **H8**) ; 5,03 (m, 1H, **H4**) ; 6,54 (m, 1H, **H7**).

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -50,0^\circ$ (MeOH, 0,90).

Les analyses obtenues sont en accord avec la littérature.³⁰¹

³⁰¹ Chen, S. and Xu, J. *Tet. Lett.* **1992**, *33*, 647-650.

(8S,11S)- 8-benzyl-11-isopropyl-15,15-diméthyl-7,10,13-trioxo-14-oxa-2-thia-6,9,12-triazahexadécane-5-carboxylate-11-oxa-2-thia-6,9-diazatridécane-5-carboxylate de méthyle **245**

Le dipeptide **244** (0,084 g, 0,22 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans 0,6 mL d'acide trifluoroacétique et 0,6 mL de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité 40 minutes. De l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide, le dipeptide déprotégé.

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le dipeptide déprotégé, le thiophène **56** (0,075 g, 0,22 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,051 g, 0,27 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,068 g, 0,44 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,024 mL, 0,022 g, 0,22 mmol, 1 éq.) et 0,59 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 36 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel jusqu'à avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite pour donner un solide jaune, le produit **245** (0,092 g, 70 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 0,78 (d, 3H, **H15**, $J = 6,5$ Hz) ; 0,81 (t, 3H, **H17**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,47 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,5$ Hz) ; 1,64 (m, 2H, **H16**) ; 2,00 (m, 1H, **H18**) ; 2,08 (s, 3H, **H20**) ; 2,15 (m, 1H, **H18**) ; 2,50 (t, 2H, **H19**, $J = 7,5$ Hz) ; 3,62 (m, 1H, **Ha**) ; 3,77 (s, 3H, **H13**) ; 4,25 (m, 1H, **H8**) ; 4,67 (m, 1H, **H11**) ; 5,93 (d, 1H, **H7**, $J = 8,5$ Hz) ; 6,40 (d, 1H, **H10**, $J = 8,0$ Hz) ; 7,44 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,0$ Hz) ; 7,57 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 11,3 (**C17**) ; 15,3 (**C15**) ; 15,5 (**C20**) ; 23,1 (**Cb**) ; 24,6 (**C16**) ; 29,9 (**C19**) ; 31,3 (**C18**) ; 37,3 (**C14**) ; 42,4 (**Ca**) ; 51,5 (**C13**) ; 52,6 (**C11**) ; 58,3 (**C8**) ; 113,3 (**C3**) ; 115,5 (**C5**) ; 130,0 (**C2'**) ; 130,1 (**C4'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 136,5 (**C1'**) ; 136,6 (**C1**) ; 141,7 (**C2**) ; 152,2 (**C4**) ; 160,0 (**C6**) ; 169,9 (**C9**) ; 172,0 (**C12**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 618,1 [$M+Na$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{27}H_{34}^{35}ClN_3O_4S_3Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 618,1298, trouvée : 618,1310.

IR :

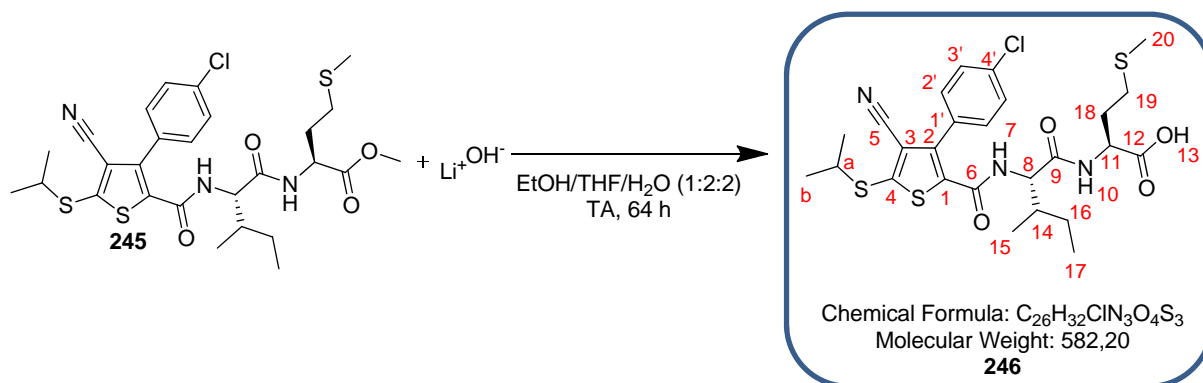
ν (cm^{-1}) : 3293 et 3221 (**NH**), 2965 et 2918 (**CH st**), 2227 (**C \equiv N st**), 1743 (**C=O_{ester} st**), 1667 et 1627 (**C=O_{amide} st**), 1538 (**NH δ**), 1488, 1436, 1209, 1171, 1090, 1015, 877, 833.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,15 min, 93 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -10,4^\circ$ (MeOH, 0,96).

acide (8S,11S)-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-3-méthylpentanamido)-4-(méthylthio)butanoïque **246**

Une solution aqueuse de lithine 2M (0,42 mL, 0,020 g, 0,84 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **245** (0,050 g, 0,08 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,6 mL).

Après agitation pendant 64 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,8 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **246** (0,049 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (500 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 0,66 (d, 3H, **H15**, $J = 6,5$ Hz) ; 0,71 (t, 3H, **H17**, $J = 7,5$ Hz) ; 1,32 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,5$ Hz) ; 1,52 (m, 2H, **H16**) ; 1,88 (m, 1H, **H18**) ; 1,97 (s, 3H, **H20**) ; 2,02 (m, 1H, **H18**) ; 2,47 (t, 2H, **H19**, $J = 7,5$ Hz) ; 3,50 (m, 1H, **Ha**) ; 4,10 (d, 1H, **H8**, $J = 7,5$ Hz) ; 4,43 (m, 1H, **H11**) ; 7,38 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,0$ Hz) ; 7,48 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,0$ Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 11,4 (**C17**) ; 15,4 (**C15**) ; 15,9 (**C20**) ; 23,6 (**Cb**) ; 25,6 (**C16**) ; 31,2 (**C19**) ; 32,3 (**C18**) ; 38,2 (**C14**) ; 43,8 (**Ca**) ; 52,6 (**C11**) ; 59,9 (**C8**) ; 114,4 (**C3**) ; 117,3 (**C5**) ; 130,7 (**C2'**) ; 132,1 (**C4'**) ; 132,2 (**C3'**) ; 137,1 (**C1'**) ; 138,0 (**C1**) ; 143,4 (**C2**) ; 151,4 (**C4**) ; 162,4 (**C6**) ; 173,1 (**C9**) ; 174,7 (**C12**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 604,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₆H₃₂³⁵ClN₃O₄S₃Na⁺ [M+Na]⁺ : 604,1141, trouvée : 604,1161.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3293 (**NH**), 2966 et 2928 et 2865 (**CH** st), 2227 (**C≡N** st), 1718 (**C=O_{acide}** st), 1627 (**C=O_{amide}** st), 1531 (**NH** δ), 1485, 1436, 1210, 1151, 1090, 1015, 829.

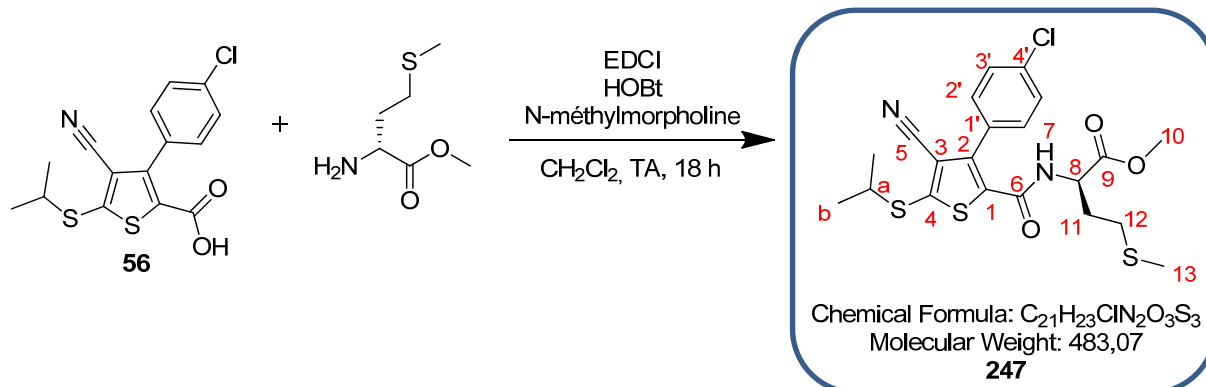
UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,61 min, 90 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -10,9^\circ$ (MeOH, 0,46).

(2R)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **247**



Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **56** (0,146 g, 0,43 mmol, 1 éq.), la D-méthionine méthylée (0,086 g, 0,43 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,099 g, 0,52 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,132 g, 0,86 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,048 mL, 0,043 g, 0,043 mmol, 1 éq.) et 1,2 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 18 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel afin d'avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) permettant d'isoler une huile jaune, le produit **247** (0,183 g, 88 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,38 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,78 (m, 1H, **H11**) ; 1,95 (s, 3H, **H13**) ; 2,00 (m, 1H, **H11**) ; 2,19 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,53 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,62 (s, 3H, **H10**) ; 4,60 (m, 1H, **H8**) ; 6,03 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,37 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,48 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,5 (**C13**) ; 23,2 (**Cb**) ; 29,6 (**C12**) ; 31,1 (**C11**) ; 42,4 (**Ca**) ; 50,0 (**C8**) ; 52,7 (**C10**) ; 113,4 (**C3**) ; 115,2 (**C5**) ; 129,9 (**C2'**) ; 129,9 (**C3'**) ; 130,7 (**C4'**) ; 136,1 (**C1**) ; 136,6 (**C1'**) ; 141,8 (**C2**) ; 152,6 (**C4**) ; 159,7 (**C6**) ; 171,2 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 505,1 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{23}^{35}ClN_2O_3S_3Na^+$ $[M+Na]^+$: 505,0457, trouvée : 505,0450.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3301 (**NH** st), 2966 et 2918 (**CH** st), 2226 (**C=N** st), 1750 (**C=O_{ester}** st), 1647 (**C=O_{amide}** st), 1537 (**NH** δ), 1516, 1488, 1437, 1366, 1308, 1227, 1208, 1171.

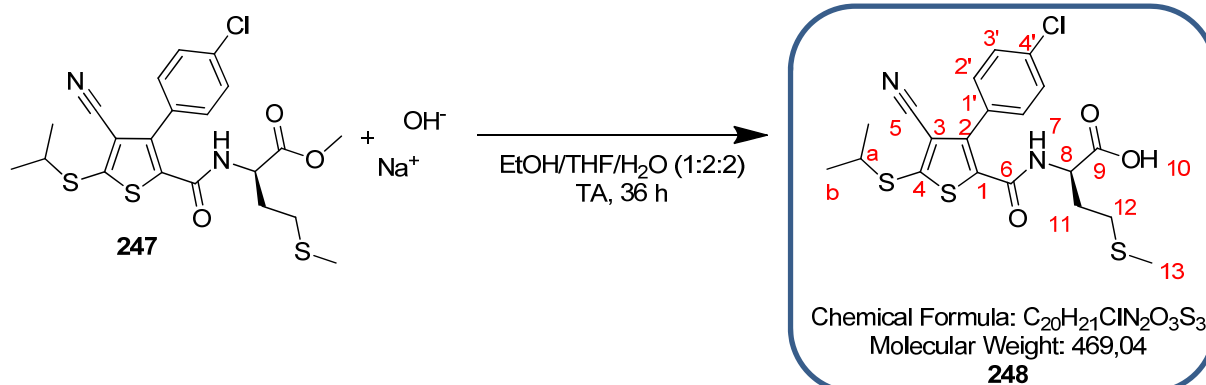
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,98 min, 98 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = 18,5^\circ$ (MeOH, 1,08).

acide (2R)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **248**



Une solution aqueuse de soude 2M (1,13 mL, 0,052 g, 2,26 mmol, 13 éq.) est ajoutée au composé **247** (0,081 g, 0,17 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (1,7 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (2,3 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide orange, le composé **248** (0,048 g, 62 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 1,29 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,79 (m, 1H, **H11**) ; 1,90 (s, 3H, **H13**) ; 1,93 (m, 1H, **H11**) ; 2,20 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,45 (m, 1H, **H8**) ; 6,76 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,47 (m, 4H, **H2'** et **H3'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 15,2 (**C13**) ; 23,4 (**Cb**) ; 30,5 (**C12**) ; 31,6 (**C11**) ; 43,2 (**Ca**) ; 52,8 (**C8**) ; 114,2 (**C3**) ; 117,0 (**C5**) ; 130,2 (**C2'**) ; 131,6 (**C4'**) ; 132,2 (**C3'**) ; 136,2 (**C1**) ; 138,0 (**C1'**) ; 142,6 (**C2**) ; 150,4 (**C4**) ; 160,7 (**C6**) ; 172,4 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 467,0 [**M-H**] $^-$.

Haute résolution calculée pour $C_{20}H_{20}^{35}ClN_2O_3S_3^-$ [**M-H**] $^-$: 467,0325, trouvée : 467,0317.

IR :

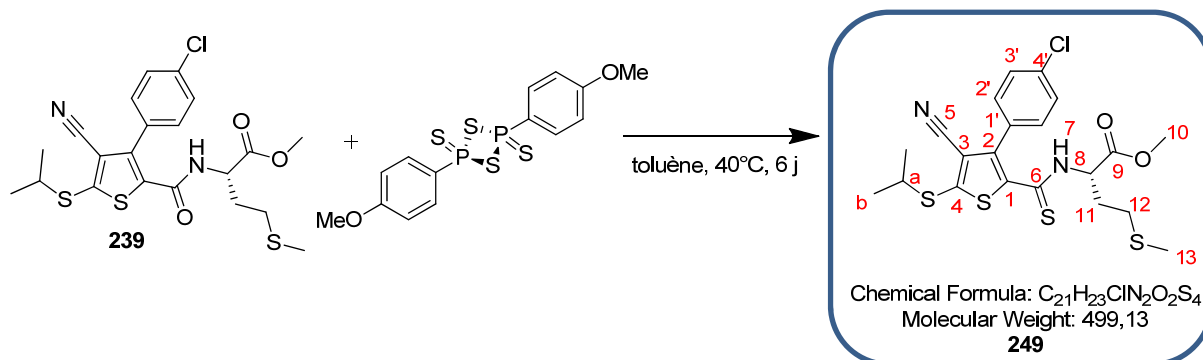
ν (cm^{-1}) : 3293 (**NH** st), 2967 et 2918 (**CH** st), 2226 (**C \equiv N** st), 1748 (**C=O_{ester}** st), 1646 (**C=O_{amide}** st), 1537 (**NH** δ), 1486, 1439, 1305, 1266, 1208, 1170, 1093, 1015, 827, 794.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,34 min, 92 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = 14,3^\circ$ (MeOH, 1,40).

(2S)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carbothioamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **249**

Dans un ballon sec sous argon, le réactif de Lawesson (0,121 g, 0,30 mmol, 1 éq.) est ajouté au composé **239** (0,144 g, 0,30 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du toluène (3 mL). Le milieu réactionnel est agité à 40°C pendant 6 jours.

Le solvant est évaporé à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) permettant d'isoler une huile jaune, le produit **249** (0,082 g, 55 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,49 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 1,96 (m, 1H, **H11**) ; 2,03 (s, 3H, **H13**) ; 2,14 (m, 1H, **H11**) ; 2,22 (m, 2H, **H12**) ; 3,66 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 3,71 (s, 3H, **H10**) ; 5,10 (m, 1H, **H8**) ; 7,45 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,7$ Hz) ; 7,56 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,7$ Hz) ; 7,64 (d, 1H, **H7**, $J = 6,9$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,1 (**C13**) ; 23,4 (**Cb**) ; 30,2 (**C12**) ; 30,9 (**C11**) ; 43,1 (**Ca**) ; 52,8 (**C10**) ; 58,7 (**C8**) ; 100,9 (**C3**) ; 114,2 (**C5**) ; 130,2 (**C2'**) ; 131,6 (**C4'**) ; 132,1 (**C3'**) ; 136,1 (**C1'**) ; 138,3 (**C1**) ; 144,7 (**C2**) ; 151,2 (**C4**) ; 170,8 (**C8**) ; 188,7 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 521,0 [$M+Na$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{23}^{35}ClN_2O_2S_4Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 521,0229, trouvée : 521,0232.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3346 (**NH** st), 2957 et 2917 (**CH** st), 2224 (**C \equiv N** st), 1740 (**C=O_{ester}** st), 1521 (**NH** δ), 1481, 1436, 1378, 1247, 1171, 1090, 1014, 834, 739.

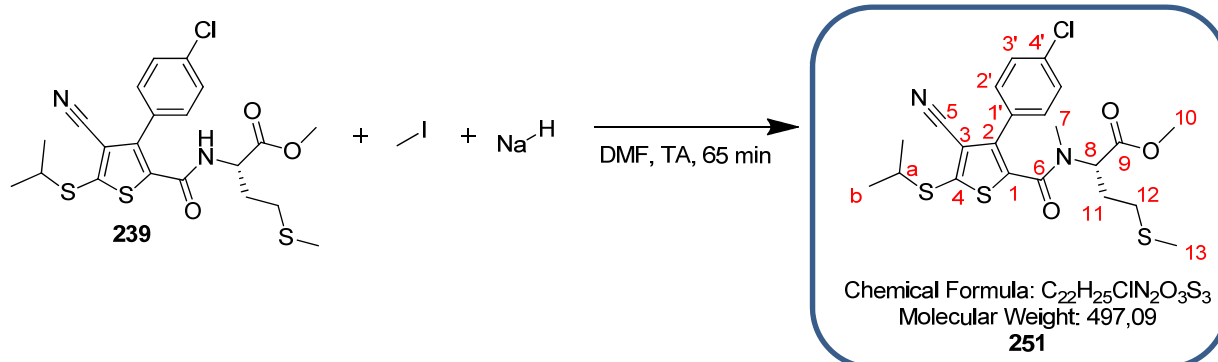
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,52 min, 100 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -90,9^\circ$ (MeOH, 0,44).

(2S)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-méthylthiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **251**



Dans un ballon sec sous argon, l'hydruide de sodium à 60 % dans de l'huile (0,036 g, 0,89 mmol, 3 éq.) est ajouté au composé **239** (0,144 g, 0,30 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du DMF (10 mL). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 15 minutes. L'iodure de méthyle (0,019 mL, 0,042 g, 0,30 mmol, 1 éq.) est ensuite ajouté.

Après 50 minutes d'agitation à température ambiante, 23 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium sont ajoutés. Le milieu réactionnel est extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis concentrées sous pression réduite puis sous vide. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 15 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **251** (0,078 g, 53 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 1,45 (d, 6H, **H_b**, $J = 6,6$ Hz) ; 2,03 (m, 1H, **H₁₁**) ; 2,08 (s, 3H, **H₁₃**) ; 2,20 (m, 1H, **H₁₁**) ; 2,28 (m, 2H, **H₁₂**) ; 2,72 (s, 3H, **H₇**) ; 3,66 (h, 1H, **H_a**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,70 (s, 3H, **H₁₀**) ; 5,00 (m, 1H, **H₈**) ; 7,60 (m, 4H, **H_{2'}** et **H_{3'}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 15,2 (**C₁₃**) ; 23,5 (**C_b**) ; 28,5 (**C₁₂**) ; 31,1 (**C₁₁**) ; 34,7 (**C₇**) ; 43,6 (**C_a**) ; 52,6 (**C₁₀**) ; 57,7 (**C₈**) ; 114,5 (**C₃**) ; 116,6 (**C₅**) ; 130,0 (**C_{2'}**) ; 130,1 (**C_{4'}**) ; 131,5 (**C_{2'}**) ; 135,8 (**C_{1'}** et **C₁**) ; 145,9 (**C₂**) ; 158,1 (**C₄**) ; 164,0 (**C₆**) ; 171,1 (**C₉**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 519,0 [$M+Na$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{22}H_{25}^{35}ClN_2O_3S_3Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 519,0614, trouvée : 519,0610.

IR :

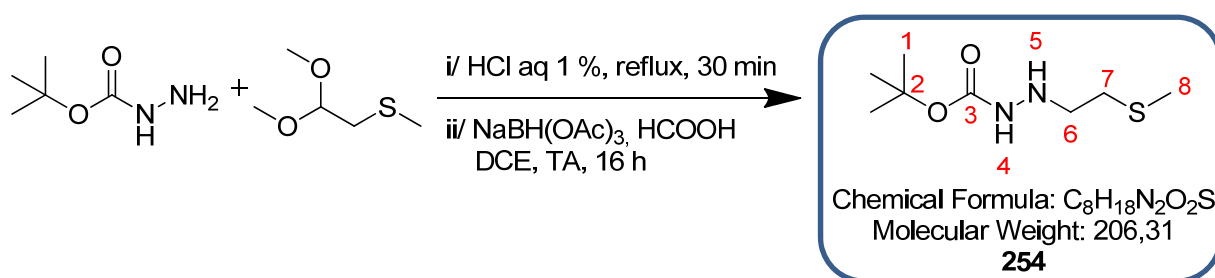
ν (cm^{-1}) : 2957 et 2921 (**CH** st), 2226 (**C \equiv N** st), 1740 (**C=O_{ester}** st), 1634 (**C=O_{amide}** st), 1488, 1436, 1397, 1235, 1203, 1156, 1092, 1053, 1014, 831, 735.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,09 min, 95 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -45,5^\circ$ (MeOH, 1,10).

2-(2-(méthylthio)éthyl)hydrazinecarboxylate de *tert*-butyle **254**

Le (2,2-diméthoxyéthyl)(méthyl)sulfane (3,0 mL, 3,07 g, 22,5 mmol, 1 éq.) est ajouté à une solution d'acide chlorhydrique à 1 % w/v (0,26 mL) dans de l'eau (9,4 mL). Après 30 minutes à reflux, le milieu réactionnel est neutralisé avec une solution saturée de bicarbonate de sodium puis extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour obtenir l'aldéhyde **253** sous la forme d'une huile marron.

Sous argon, l'aldéhyde obtenu **253** (1,10 g, 12,2 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans 61 mL de dichloroéthane. La Boc-hydrazine (1,77 g, 13,4 mmol, 1,1 éq.) suivie d'acide acétique glacial (2,79 mL, 2,93 g, 48,8 mmol, 4 éq.) et de triacétoxyborohydrure de sodium (5,17 g, 24,4 mmol, 2 éq.) sont additionnés au milieu réactionnel.

Après une nuit d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est traité avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées une fois avec une solution saturée de bicarbonate de sodium, une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile incolore obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à hheptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 45 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **254** (1,35 g, 29 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

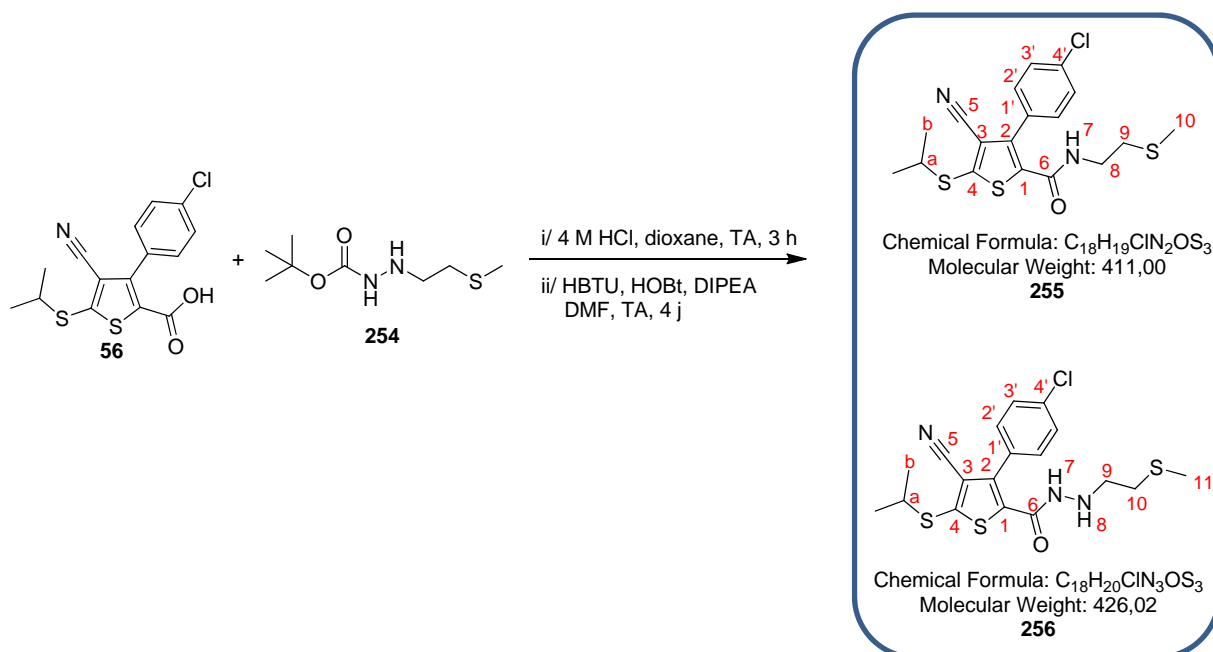
δ (ppm) : 1,40 (s, 9H, **H1**) ; 2,06 (s, 3H, **H8**) ; 2,56 (t, 2H, **H7**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,00 (t, 2H, **H6**, *J* = 6,6 Hz) ; 6,02 (sl, 1H, **H4**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 15,5 (**C8**) ; 28,3 (**C1**) ; 32,4 (**C7**) ; 50,0 (**C6**) ; 80,6 (**C2**) ; 159,2 (**C3**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 205,1 [M-H]⁻.

Haute résolution calculée pour C₈H₁₇N₂O₂S⁻ [M-H]⁻ : 205,1011, trouvée : 205,1009.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carboxamide **255**3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N'-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carbohydrazide **256**

L'hydrazinecarboxylate **254** (0,075 g, 0,36 mmol, 1 éq.) est ajouté à une solution d'acide chlorhydrique concentrée (0,4 mL) dans le dioxane (0,8 mL). Après 3 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite. A l'huile jaune obtenue solubilisée dans 1,0 mL de DMF sont ajoutés le composé **56** (0,122 g, 0,36 mmol, 1 éq.), le HBTU (0,137 g, 0,36 mmol, 1 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,055 g, 0,36 mmol, 1 éq.) et la diisopropyléthylamine (0,124 mL, 0,093 g, 0,72 mmol, 2 éq.). Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 20 heures.

Le milieu réactionnel est traité avec une solution saturée de bicarbonate de sodium. Le milieu est extrait trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 35 minutes) pour donner deux huiles jaunes, le composé **255** (0,026 g, 17 % de rendement) et le composé **256** (0,015 g, 10 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carboxamide

δ (ppm) : 1,37 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 1,88 (s, 3H, **H10**) ; 2,40 (t, 2H, **H9**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,36 (td, 2H, **H8**, $J = 6,0$ Hz et $J = 6,6$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 5,80 (t, 1H, **H7**, $J = 6,0$ Hz) ; 7,34 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,45 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N'-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carbohydrazide

δ (ppm) : 1,47 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 2,10 (s, 3H, **H11**) ; 2,52 (t, 2H, **H10**, $J = 6,6$ Hz) ; 2,98 (t, 2H, **H9**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,62 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 6,88 (sl, 1H, **H7**) ; 7,42 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,55 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carboxamide
 δ (ppm) : 14,5 (**C10**) ; 23,2 (**Cb**) ; 33,3 (**C9**) ; 37,5 (**C8**) ; 42,4 (**Ca**) ; 113,5 (**C3**) ; 115,4 (**C5**) ; 129,9 (**C4'**) ; 130,0 (**C2'**) ; 130,7 (**C3'**) ; 136,5 (**C1'**) ; 137,0 (**C1**) ; 141,2 (**C2**) ; 152,0 (**C4**) ; 159,9 (**C6**).

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N'-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carbohydrazide
 δ (ppm) : 14,9 (**C11**) ; 23,6 (**Cb**) ; 32,6 (**C10**) ; 50,9 (**C9**) ; 43,9 (**Ca**) ; 109,3 (**C3**) ; 114,6 (**C5**) ; 129,6 (**C4'**) ; 130,0 (**C2'**) ; 132,2 (**C3'**) ; 144,5 (**C2**) ; 153,5 (**C4**) ; 159,2 (**C6**).

SM

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carboxamide
(ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 411,0 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₈H₂₀³⁵ClN₂OS₃⁺ [M+H]⁺ : 411,0426, trouvée : 411,0423.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N'-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carbohydrazide
(ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 426,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₈H₂₁³⁵ClN₃OS₃⁺ [M+H]⁺ : 426,0535, trouvée : 426,0544.

IR :

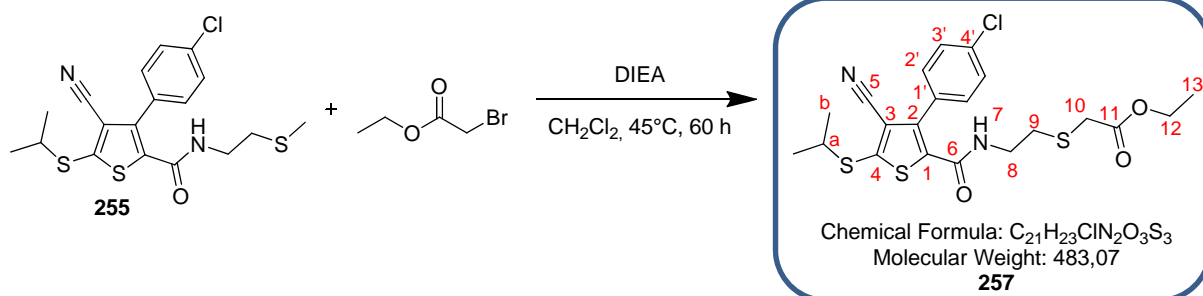
3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carboxamide
 ν (cm⁻¹) : 3375 (**NH**), 2962 et 2919 (**CH** st), 2225 (**C≡N** st), 1642 (**C=O_{amide}** st), 1531, 1506, 1484, 1366, 1281, 1210, 1090, 1050, 1014, 829, 735.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N'-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carbohydrazide
 ν (cm⁻¹) : 3269 (**NH**), 2966 et 2919 (**CH** st), 2223 (**C≡N** st), 1644 (**C=O_{amide}** st), 1526, 1485, 1441, 1398, 1366, 1285, 1243, 1089, 1050, 1014, 829, 738.

UPLC :

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carboxamide
Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,87 min, 87 %.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N'-(2-(méthylthio)éthyl)thiophène-2-carbohydrazide
Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,50 min, 85 %.

2-((2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)éthyl)thio)acétate d'éthyle **257**

Dans un ballon sec sous argon, le bromoacétate d'éthyle (0,022 mL, 0,033 g, 0,20 mmol, 1 éq.) est ajouté au composé **255** (0,084 g, 0,20 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du dichlorométhane (2,6 mL).

Après 60 heures d'agitation à 45°C, le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane/AcOEt 95:5 (v/v) à heptane/AcOEt 7:3 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **257** (0,053 g, 52 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,20 (t, 3H, **H13**, $J = 6,9$ Hz) ; 1,37 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 2,58 (t, 2H, **H9**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,02 (s, 2H, **H10**) ; 3,37 (td, 2H, **H8**, $J = 6,0$ Hz et $J = 6,6$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,08 (q, 2H, **H12**, $J = 6,9$ Hz) ; 5,91 (t, 1H, **H7**, $J = 6,0$ Hz) ; 7,35 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,45 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,2 (**C13**) ; 23,3 (**Cb**) ; 32,3 (**C9**) ; 33,1 (**C10**) ; 38,0 (**C8**) ; 42,5 (**Ca**) ; 61,7 (**C12**) ; 113,5 (**C3**) ; 115,5 (**C5**) ; 129,9 (**C2'**) ; 130,0 (**C4'**) ; 130,8 (**C3'**) ; 136,4 (**C1'**) ; 136,9 (**C1**) ; 141,3 (**C2**) ; 151,9 (**C4**) ; 159,9 (**C6**) ; 170,2 (**C11**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 483,1 $[M+H]^+$.

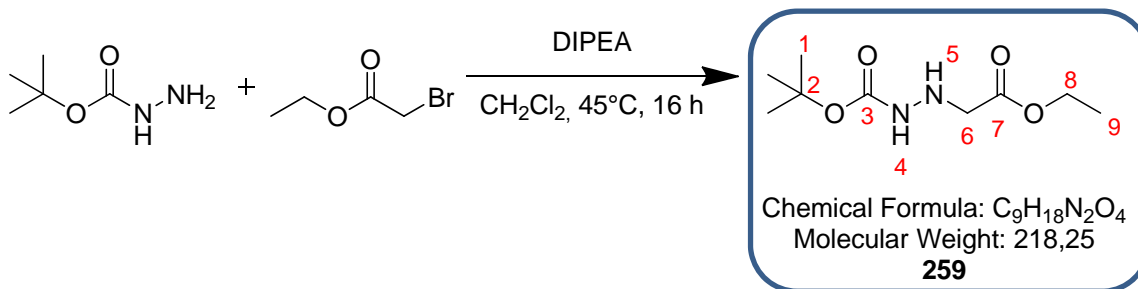
Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{24}^{35}ClN_2O_3S_3^+ [M+H]^+$: 483,0638, trouvée : 483,0637.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3389 (**NH**), 2968 et 2928 (**CH st**), 2225 (**$C\equiv N$ st**), 1732 (**$C=O_{ester}$ st**), 1644 (**$C=O_{amide}$ st**), 1532, 1511, 1485, 1366, 1274, 1154, 1127, 1090, 1015, 830, 735.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,91 min, 83 %.

2-(2-éthoxy-2-oxoéthyl)hydrazinecarboxylate de *tert*-butyle **259**

Dans un ballon sec sous argon, le bromoacétate d'éthyle (0,959 mL, 1,44 g, 8,64 mmol, 1 éq.) et la diisopropyléthylamine (1,51 mL, 1,12 g, 8,64 mmol, 1 éq.) sont ajoutés à l'hydrazinecarboxylate de *tert*-butyle (1,14 g, 8,64 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du dichlorométhane (113 mL).

Après 16 heures d'agitation à 45°C, le milieu réactionnel est évaporé sous pression réduite. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 40 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **259** (1,01 g, 54 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,21 (t, 3H, **H9**, *J* = 6,9 Hz) ; 1,38 (s, 9H, **H1**) ; 3,57 (s, 2H, **H6**) ; 4,13 (q, 2H, **H8**, *J* = 6,9 Hz) ; 6,30 (sl, 1H, **H4**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

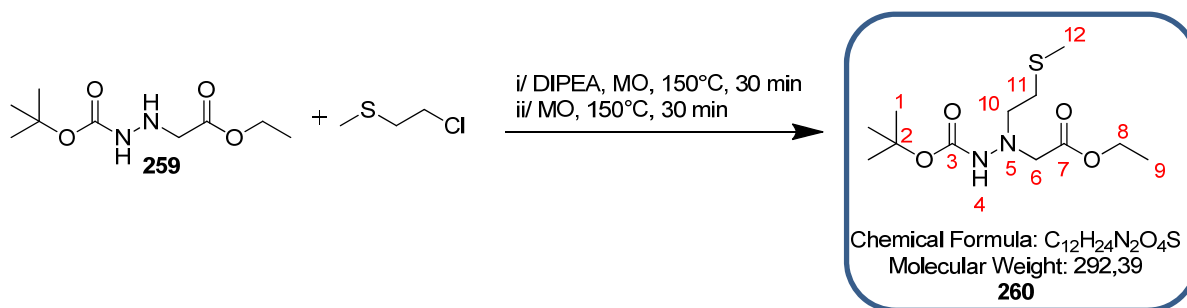
δ (ppm) : 14,2 (**C9**) ; 28,4 (**C1**) ; 53,0 (**C6**) ; 61,2 (**C8**) ; 81,0 (**C2**) ; 156,2 (**C3**) ; 171,3 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 241,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₉H₁₈N₂O₄Na⁺ [M+Na]⁺ : 241,1164, trouvée : 241,1160.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3371 et 3245 (**NH**), 2985 et 2933 (**CH** st), 1738 (**C=O_{ester}** st), 1703 (**C=O_{amide}** st), 1547, 1482, 1367, 1247, 1155, 1026, 937, 833, 782, 755.

2-(2-éthoxy-2-oxoéthyl)-2-(2-(méthylthio)éthyl)hydrazinecarboxylate de *tert*-butyle **260**

Dans un tube micro-ondes sec sous argon, le (2-chloroéthyl)(méthyl)sulfane (0,622 mL, 0,691 g, 6,25 mmol, 1 éq.) et la diisopropyléthylamine (1,09 mL, 0,807 g, 6,25 mmol, 1 éq.) sont ajoutés à l'hydrazinecarboxylate de *tert*-butyle **259** (1,36 g, 6,25 mmol, 1 éq.). Le milieu réactionnel est chauffé deux fois à 150°C pendant 30 minutes sous irradiation micro-ondes puis concentré sous pression réduite.

Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 7:3 (v/v) en 70 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **260** (0,211 g, 12 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,19 (t, 3H, **H9**, *J*=7,5 Hz) ; 1,35 (s, 9H, **H1**) ; 2,03 (s, 3H, **H12**) ; 2,55 (t, 2H, **H11**, *J*= 7,0 Hz) ; 3,03 (t, 2H, **H10**, *J*= 7,0 Hz) ; 3,64 (s, 2H, **H6**) ; 4,10 (q, 2H, **H8**, *J*= 7,5 Hz) ; 6,54 (sl, 1H, **H4**).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 14,4 (**C9**) ; 15,8 (**C12**) ; 28,2 (**C1**) ; 31,8 (**C11**) ; 56,4 (**C6**) ; 57,7 (**C10**) ; 60,8 (**C8**) ; 80,2 (**C2**) ; 155,2 (**C3**) ; 170,7 (**C7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 315,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₁₂H₂₄N₂O₄SNa⁺ [M+Na]⁺ : 315,1354, trouvée : 315,1366.

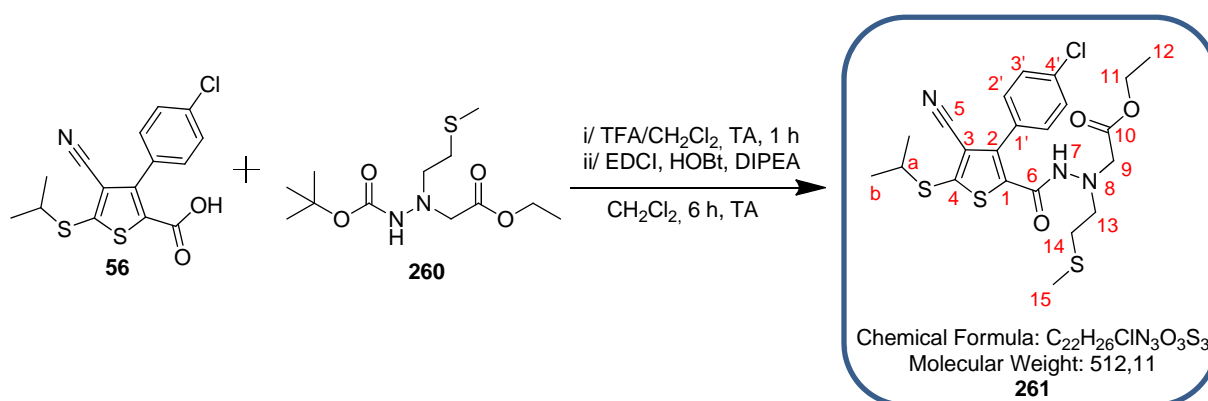
IR :

ν (cm⁻¹) : 2978 et 2918 (**CH** st), 1728 (**C=O** st), 1482, 1453, 1366, 1241, 1197, 1147, 1024, 848, 772.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,47 min, 100 %.

2-(2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carbonyl)-1-(2-(méthylthio)éthyl)hydrazinyl)acétate d'éthyle **261**



Le composé **260** (0,086 g, 0,29 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans 0,6 mL d'acide trifluoroacétique et 0,6 mL de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité 1 heure. De l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide, le dipeptide déprotégé.

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés l'hydrazine **260** déprotégée, le thiophène **56** (0,100 g, 0,29 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,068 g, 0,35 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,090 g, 0,59 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,032 mL, 0,030 g, 0,29 mmol, 1 éq.) et 0,8 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 6 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel jusqu'à avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite pour donner un solide jaune. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 7:3 (v/v) en 70 minutes) pour donner une huile incolore, le produit **261** (0,087 g, 58 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,28 (t, 3H, **H12**, $J=7,2$ Hz) ; 1,48 (d, 6H, **Hb**, $J=6,6$ Hz) ; 2,11 (s, 3H, **H15**) ; 2,57 (t, 2H, **H14**, $J=7,5$ Hz) ; 2,99 (t, 2H, **H13**, $J=7,5$ Hz) ; 3,62 (h, 1H, **Ha**, $J=6,6$ Hz) ; 3,63 (s, 2H, **H9**) ; 4,10 (q, 2H, **H11**, $J=7,2$ Hz) ; 7,40 (d, 2H, **H3'**, $J=8,4$ Hz) ; 7,54 (d, 2H, **H2'**, $J=8,4$ Hz) ; 7,58 (sl, 1H, **H7**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,1 (**C12**) ; 15,8 (**C15**) ; 23,1 (**Cb**) ; 31,7 (**C14**) ; 42,4 (**Ca**) ; 56,1 (**C13**) ; 56,6 (**C9**) ; 61,1 (**C11**) ; 113,4 (**C3**) ; 115,2 (**C5**) ; 129,8 (**C2'**) ; 130,5 (**C3'**) ; 135,6 (**C4'**) ; 136,4 (**C1'**) ; 141,6 (**C1**) ; 152,2 (**C2**) ; 159,3 (**C4** et **C6**) ; 169,9 (**C10**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 512,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{22}H_{27}^{35}ClN_3O_3S_3^+ [M+H]^+$: 512,0903, trouvée : 512,0884.

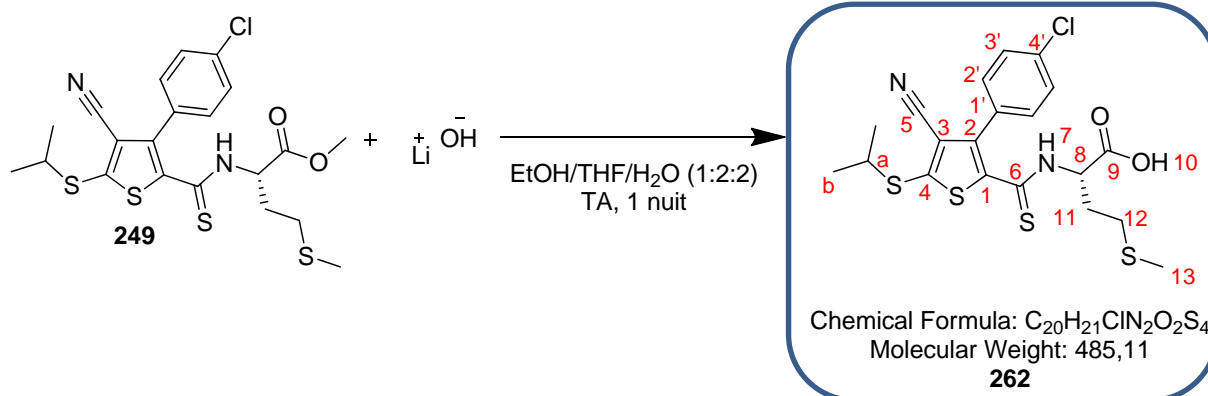
IR :

ν (cm^{-1}) : 3329 (**NH**), 2982 et 2909 (**CH** st), 2219 (**C=N** st), 1729 (**C=O_{ester}** st), 1660 (**C=O_{amide}** st), 1536 (**NH** δ), 1499, 1485, 1417, 1374, 1197, 1088, 1029, 1014, 828, 745.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,96 min, 100 %.

acide (2S)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carbothioamido)-4-(méthylthio)butanoïque **262**



Une solution aqueuse de lithine 2M (0,6 mL, 0,029 g, 1,19 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **249** (0,059 g, 0,12 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,9 mL).

Après agitation pendant une nuit à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,8 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **262** (0,058 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,40 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,90 (m, 1H, **H11**) ; 1,96 (s, 3H, **H13**) ; 2,13 (m, 1H, **H11**) ; 2,20 (m, 2H, **H12**) ; 3,58 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 5,06 (m, 1H, **H8**) ; 7,45 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,44 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,55 (d, 1H, **H7**, $J = 7,2$ Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 15,5 (**C13**) ; 23,2 (**Cb**) ; 29,5 (**C12**) ; 29,8 (**C11**) ; 42,2 (**Ca**) ; 57,3 (**C8**) ; 113,3 (**C3**) ; 114,7 (**C5**) ; 130,0 (**C4'**) ; 130,2 (**C2'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 136,6 (**C1'**) ; 137,2 (**C1**) ; 142,5 (**C2**) ; 155,7 (**C4**) ; 174,6 (**C9**) ; 186,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 485,0 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour C₂₀H₂₂³⁵ClN₂O₂S₄⁺ [M+H]⁺ : 485,0253, trouvée : 485,0241.

IR :

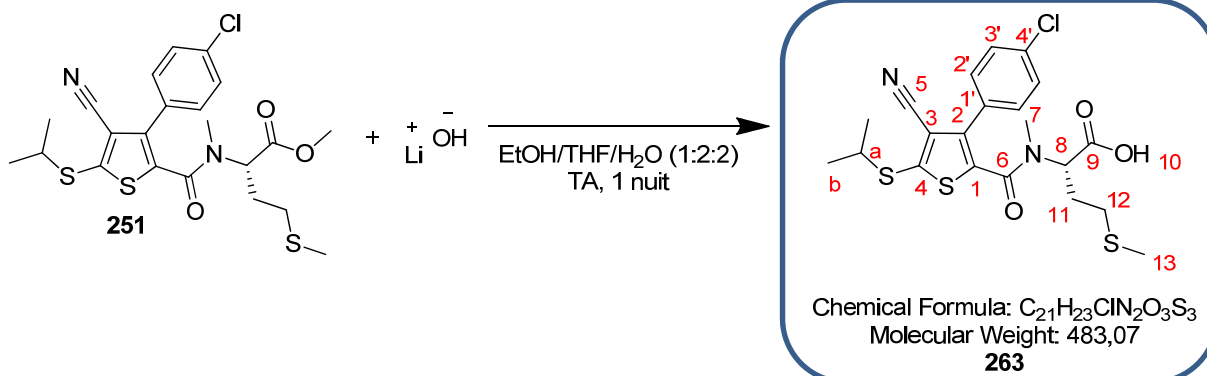
ν (cm⁻¹) : 3327 (**NH** st), 2962 et 2918 (**CH** st), 2223 (**C≡N** st), 1713 (**C=O_{ester}** st), 1596, 1521 (**NH** δ), 1504, 1480, 1368, 1243, 1175, 1139, 1090, 1048, 1014, 834, 734.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,86 min, 100 %.

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -101,9° (MeOH, 0,54).

acide (2S)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-méthylthiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **263**

Une solution aqueuse de lithine 2M (0,45 mL, 0,021 g, 0,87 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **251** (0,043 g, 0,09 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,65 mL).

Après agitation pendant une nuit à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,8 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **263** (0,040 g, 95 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 1,29 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,9$ Hz) ; 1,87 (m, 1H, **H11**) ; 1,92 (s, 3H, **H13**) ; 2,09 (m, 1H, **H11**) ; 2,12 (m, 2H, **H12**) ; 2,58 (s, 3H, **H7**) ; 3,49 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,9$ Hz) ; 4,87 (m, 1H, **H8**) ; 7,45 (m, 4H, **H2'** et **H3'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 15,1 (**C13**) ; 23,4 (**Cb**) ; 28,5 (**C12**) ; 31,1 (**C11**) ; 34,6 (**C7**) ; 43,6 (**Ca**) ; 57,4 (**C8**) ; 114,6 (**C3**) ; 116,7 (**C5**) ; 130,0 (**C2'**) ; 131,0 (**C4'**) ; 131,5 (**C3'**) ; 132,0 (**C1'**) ; 135,8 (**C1**) ; 143,7 (**C2**) ; 157,3 (**C4**) ; 162,6 (**C6**) ; 171,6 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 483,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{24}^{35}ClN_2O_3S_3^+ [M+H]^+$: 483,0638, trouvée : 483,0632.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2966 et 2921 (**CH** st), 2226 (**C \equiv N** st), 1732 (**C=O_{ester}** st), 1597 (**NH** δ), 1489, 1448, 1402, 1155, 1091, 1053, 1014, 830, 733.

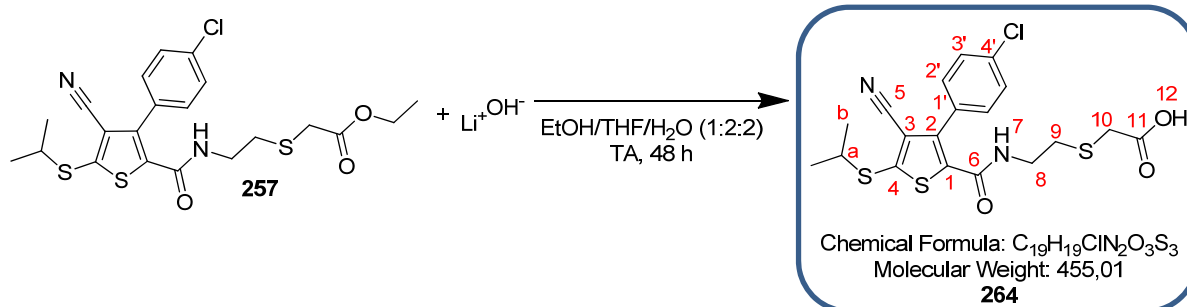
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,40 min, 91 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -16,7^\circ$ (MeOH, 1,02).

acide 2-((2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)éthyl)thio)acétique **264**



Une solution aqueuse de lithine 2M (0,30 mL, 0,025 g, 0,59 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **257** (0,030 g, 0,06 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,45 mL).

Après agitation pendant 48 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,7 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est extrait ensuite deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **264** (0,029 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,39 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 2,59 (t, 2H, **H9**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,07 (s, 2H, **H10**) ; 3,39 (td, 2H, **H8**, $J = 6,0$ Hz et $J = 6,6$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 5,83 (t, 1H, **H7**, $J = 6,0$ Hz) ; 7,34 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,45 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,3 (**Cb**) ; 32,3 (**C9**) ; 32,8 (**C10**) ; 38,0 (**C8**) ; 42,4 (**Ca**) ; 113,4 (**C3**) ; 115,3 (**C5**) ; 128,5 (**C4'**) ; 129,9 (**C1'**) ; 130,0 (**C2'**) ; 130,8 (**C3'**) ; 136,5 (**C1**) ; 141,5 (**C2**) ; 152,3 (**C4**) ; 160,2 (**C6**) ; 174,5 (**C11**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 455,0 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{19}H_{20}^{35}ClN_2O_3S_3^+$ $[M+H]^+$: 455,0325, trouvée : 455,0322.

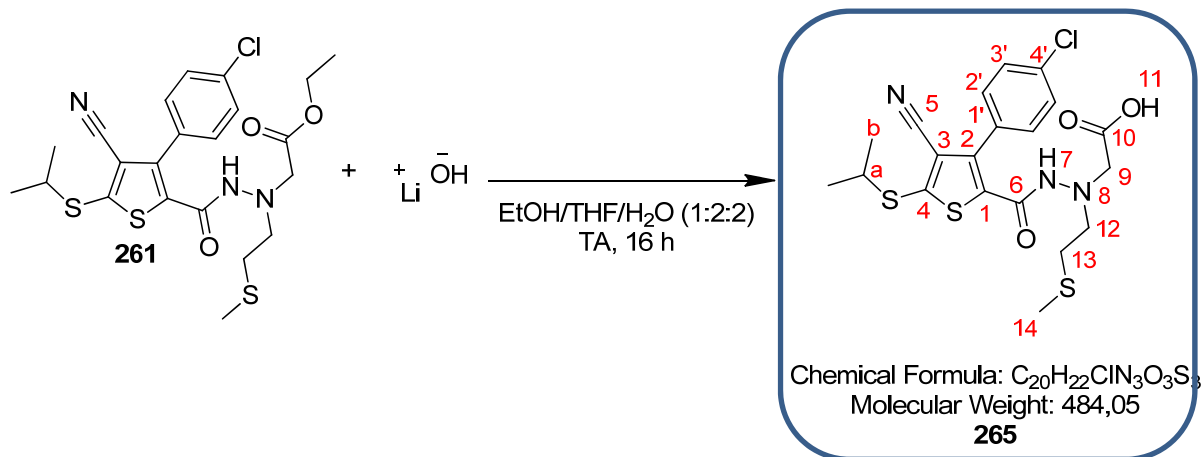
IR :

ν (cm^{-1}) : 2965 et 2928 (**CH** st), 2224 (**C \equiv N** st), 1712 (**C=O_{ester}** st), 1634 (**C=O_{amide}** st), 1533, 1484, 1367, 1243, 1090, 1014, 829, 734.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,02 min, 90 %.

acide 2-(2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carbonyl)-1-(2-(méthylthio)éthyl)hydrazinyl)acétique **265**



Une solution aqueuse de lithine 2M (0,4 mL, 0,018 g, 0,76 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **261** (0,039 g, 0,08 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,6 mL).

Après agitation pendant 16 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (1,0 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **265** (0,038 g, rendement quantitatif).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,48 (d, 6H, **Hb**, *J*=6,6 Hz) ; 2,09 (s, 3H, **H14**) ; 2,53 (t, 2H, **H13**, *J*= 7,5 Hz) ; 3,00 (t, 2H, **H12**, *J*= 7,5 Hz) ; 3,62 (h, 1H, **Ha**, *J*=6,6 Hz) ; 3,67 (s, 2H, **H9**) ; 7,35 (sl, 1H, **H7**) ; 7,40 (d, 2H, **H3'**, *J*= 8,4 Hz) ; 7,53 (d, 2H, **H2'**, *J*= 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 15,9 (**C14**) ; 23,4 (**Cb**) ; 31,7 (**C13**) ; 42,5 (**Ca**) ; 56,0 (**C12**) ; 57,3 (**C9**) ; 113,3 (**C3**) ; 114,9 (**C5**) ; 130,0 (**C2'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 134,3 (**C4'**) ; 136,6 (**C1'**) ; 142,0 (**C1**) ; 153,5 (**C2**) ; 158,2 (**C4**) ; 160,0 (**C6**) ; 173,1 (**C10**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 484,1 [M+H]⁺.

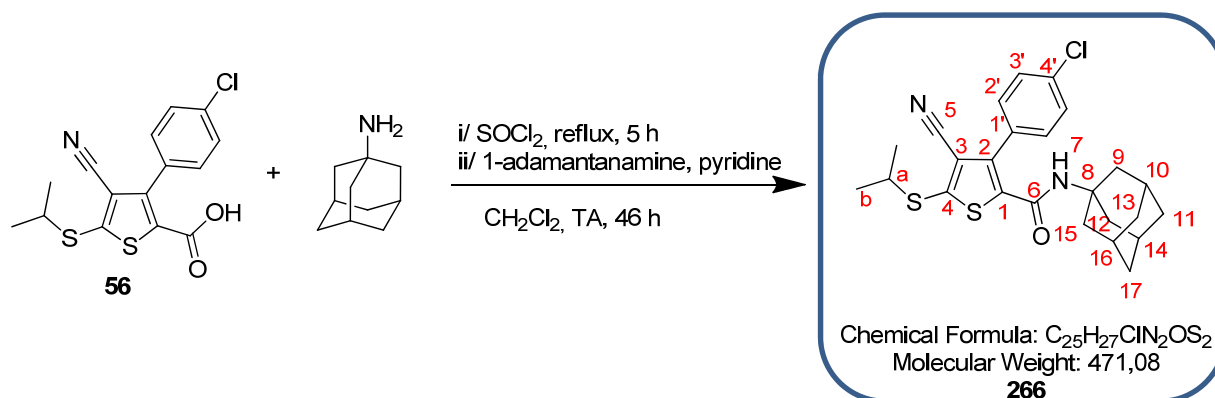
Haute résolution calculée pour C₂₀H₂₃³⁵ClN₃O₃S₃⁺ [M+H]⁺ : 484,0590, trouvée : 484,0580.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3327 (**NH**), 2976 et 2921 (**CH** st), 2225 (**C≡N** st), 1724 (**C=O_{ester}** st), 1646 (**C=O_{amide}** st), 1525 (**NH** δ), 1484, 1401, 1366, 1206, 1091, 1046, 1015, 828, 733.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 5,15 min, 100 %.

N-(adamantan-1-yl)-3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamide **266**

Le thiophène **56** (0,118 g, 0,35 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans du chlorure de thionyle (0,25 mL, 0,415 g, 3,49 mmol, 10 éq.). Une goutte de DMF est ajoutée à la solution. Après 5 heures de chauffage à reflux, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu est ensuite solubilisé dans du dichlorométhane anhydre (0,4 mL) sous argon. Le 1-adamantanamine (0,063 g, 0,42 mmol, 1,2 éq.) et la pyridine (0,071 mL, 0,069 g, 0,87 mmol, 2,5 éq.) sont ajoutés.

Après 46 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/ CH_2Cl_2 1:1 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide jaunâtre, le composé **266** (0,045 g, 27 % de rendement).

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,45 (d, 6H, **Hb**, $J = 7,0$ Hz) ; 1,63 (m, 6H, **H11** et **H13** et **H17**) ; 1,76 (s, 6H, **H9** et **H12** et **H15**) ; 2,03 (s, 3H, **H10** et **H14** et **H16**) ; 3,59 (h, 1H, **Ha**, $J = 7,0$ Hz) ; 5,12 (sl, 1H, **H7**) ; 7,41 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,5$ Hz) ; 7,56 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,5$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,2 (**Cb**) ; 29,3 (**C11** et **C13** et **C17**) ; 36,1 (**C9** et **C12** et **C15**) ; 41,2 (**C10** et **C14** et **C16**) ; 42,4 (**Ca**) ; 52,9 (**C8**) ; 113,6 (**C3**) ; 115,5 (**C5**) ; 129,7 (**C2'**) ; 130,2 (**C4'**) ; 130,8 (**C3'**) ; 136,4 (**C1'**) ; 139,5 (**C1**) ; 140,3 (**C2**) ; 151,0 (**C4**) ; 158,8 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 493,1 $[M+Na]^+$.

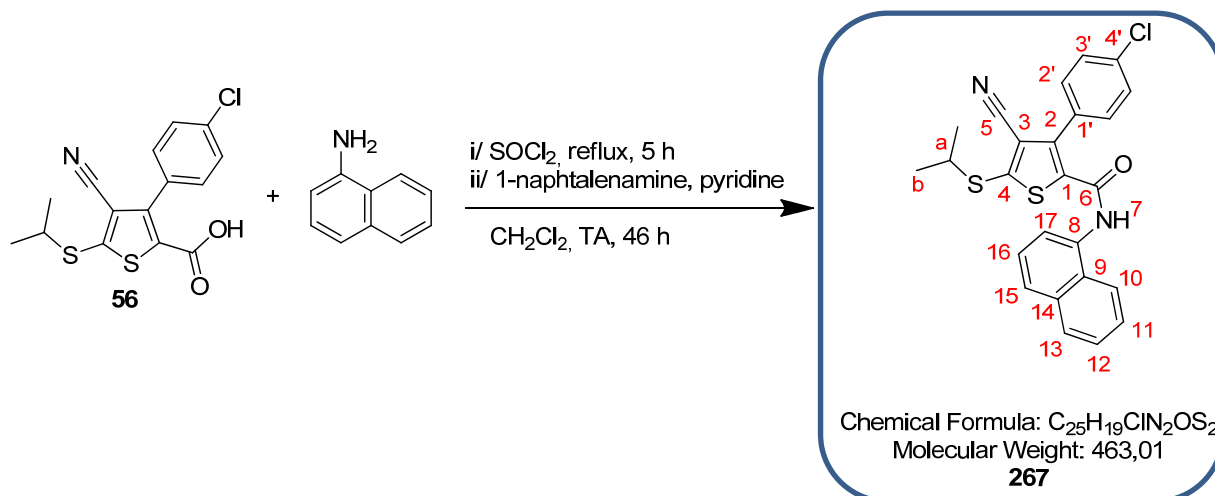
Haute résolution calculée pour $C_{25}H_{27}^{35}ClN_2OS_2Na^+$ $[M+Na]^+$: 493,1151, trouvée : 493,1154.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3404 (**NH**), 2962 et 2905 et 2856 (**CH** st), 2227 (**C \equiv N** st), 1653 (**C=O_{amide}** st), 1535 (**NH δ**), 1518, 1487, 1357, 1301, 1090, 1038, 1013, 880, 836, 744.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 7,21 min, 100 %.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-(naphthalen-1-yl)thiophène-2-carboxamide **267**

Le thiophène **56** (0,129 g, 0,38 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans du chlorure de thionyle (0,28 mL, 0,456 g, 3,83 mmol, 10 éq.). Une goutte de DMF est ajoutée à la solution. Après 5 heures de chauffage à reflux, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu est ensuite solubilisé dans du dichlorométhane anhydre (0,5 mL) sous argon. La 1-naphtalénamine (0,066 g, 0,46 mmol, 1,2 éq.) et la pyridine (0,077 mL, 0,076 g, 0,96 mmol, 2,5 éq.) sont ajoutées.

Après 46 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/ CH_2Cl_2 1:1 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide jaunâtre, le composé **267** (0,117 g, 66 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,42 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,59 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 6,22 (d, 1H, **H7**, $J = 8,7$ Hz) ; 7,24 à 8,20 (m, 11H, **Har**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 23,2 (**Cb**) ; 42,4 (**Ca**) ; 113,3 (**C3**) ; 115,2 (**C5**) ; 118,4 (**Char**) ; 118,6 (**Char**) ; 125,1 (**Car**) ; 125,5 (**Char**) ; 125,8 (**Char**) ; 126,1 (**Char**) ; 126,2 (**Char**) ; 128,9 (**Char**) ; 130,1 (**Car**) ; 130,6 (**C2'**) ; 131,1 (**C3'**) ; 131,5 (**Car**) ; 133,8 (**Car**) ; 137,2 (**Car**) ; 137,8 (**Car**) ; 140,9 (**C2**) ; 153,3 (**C4**) ; 158,2 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 485,0 [$M+Na$] $^+$.

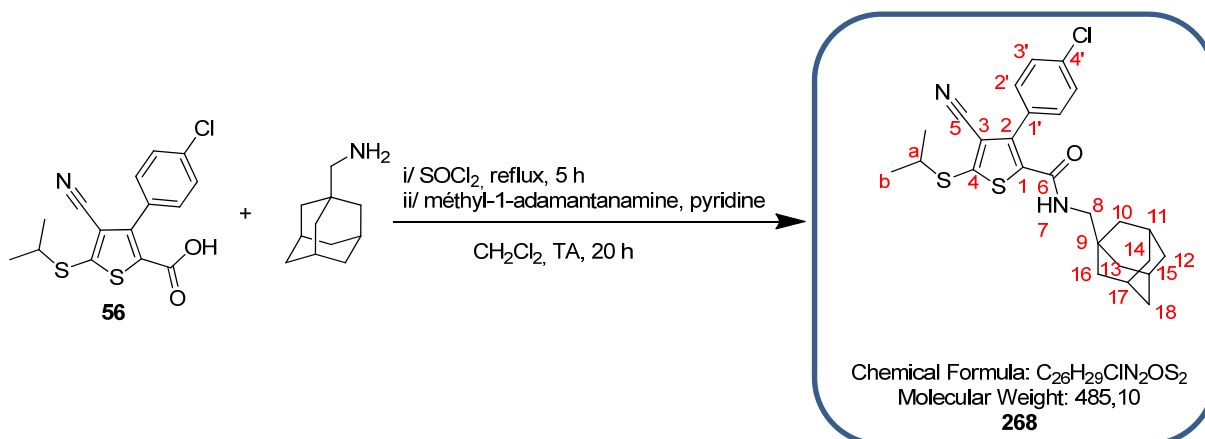
Haute résolution calculée pour $C_{25}H_{19}^{35}ClN_2OS_2Na^+$ [$M+Na$] $^+$: 485,0525, trouvée : 485,0549.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3414 (**NH**), 2968 et 2918 (**CH st**), 2221 (**C \equiv N st**), 1650 (**C=O_{amide} st**), 1535 (**NH δ**), 1499, 1482, 1399, 1366, 1347, 1263, 1089, 1052, 1015, 901, 832, 804, 775, 736.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,58 min, 87 %.

N-(adamantan-1-ylméthyl)-3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamide **268**

Le thiophène **56** (0,148 g, 0,44 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans du chlorure de thionyle (0,32 mL, 0,520 g, 4,37 mmol, 10 éq.). Une goutte de DMF est ajoutée à la solution. Après 5 heures de chauffage à reflux, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu est ensuite solubilisé dans du dichlorométhane anhydre (0,3 mL) sous argon. Le méthyl-1-adamantanamine (0,087 g, 0,52 mmol, 1,2 éq.) et la pyridine (0,088 mL, 0,086 g, 1,09 mmol, 2,5 éq.) sont ajoutés.

Après 20 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide orange, le composé **268** (0,184 g, 87 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 1,09 (d, 6H, **H10** et **H13** et **H16**, *J* = 3,0 Hz) ; 1,29 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 1,50 (m, 6H, **H12** et **H14** et **H18**) ; 1,75 (s, 3H, **H11** et **H15** et **H17**) ; 2,73 (d, 2H, **H8**, *J* = 6,0 Hz) ; 3,51 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 6,04 (d, 1H, **H7**, *J* = 6,0 Hz) ; 7,47 (d, 2H, **H3'**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,54 (d, 2H, **H2'**, *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 29,2 (**C11** et **C15** et **C17**) ; 34,2 (**C9**) ; 37,5 (**C12** et **C14** et **C18**) ; 40,6 (**C10** et **C13** et **C16**) ; 43,2 (**Ca**) ; 52,1 (**C8**) ; 114,1 (**C3**) ; 117,2 (**C5**) ; 130,5 (**C2'**) ; 132,3 (**C3'**) ; 136,4 (**C1'** et **C4'**) ; 139,9 (**C1**) ; 141,5 (**C2**) ; 149,7 (**C4**) ; 160,7 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 507,1 [M+Na]⁺.

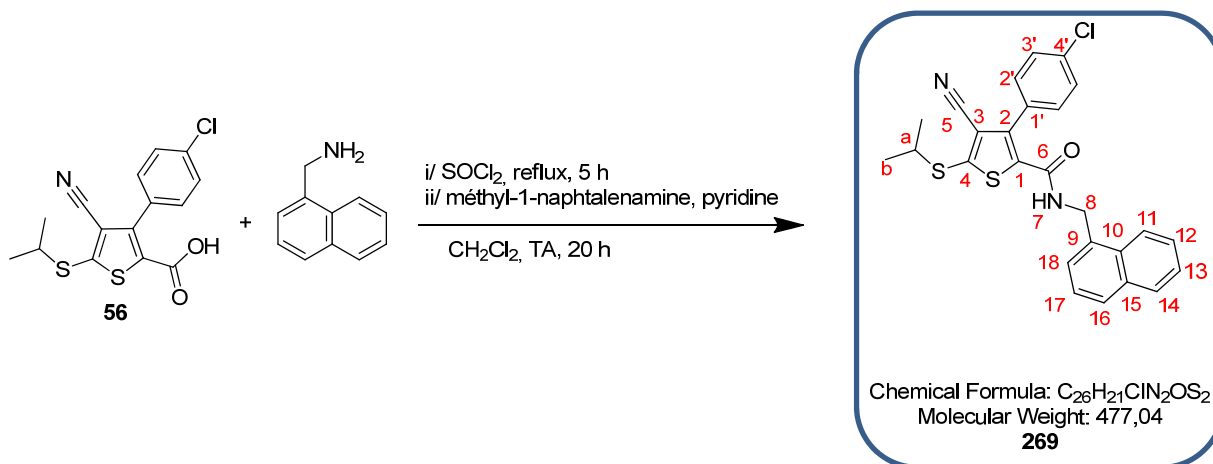
Haute résolution calculée pour C₂₆H₂₉³⁵ClN₂OS₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 507,1308, trouvée : 507,1321.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3418 (**NH**), 2897 et 2848 (**CH** st), 2232 (**C≡N** st), 1639 (**C=O_{amide}** st), 1530 (**NH** δ), 1509, 1484, 1364, 1270, 1088, 1012, 878, 828, 744.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 7,24 min, 94 %.

3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(isopropylthio)-N-(naphthalen-1-ylméthyl)thiophène-2-carboxamide **269**

Le thiophène **56** (0,145 g, 0,43 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans du chlorure de thionyle (0,31 mL, 0,511 g, 4,29 mmol, 10 éq.). Une goutte de DMF est ajoutée à la solution. Après 5 heures de chauffage à reflux, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu est ensuite solubilisé dans du dichlorométhane anhydre (0,3 mL) sous argon. Le méthyl-1-naphtalénamine (0,076 mL, 0,081 g, 0,52 mmol, 1,2 éq.) et la pyridine (0,087 mL, 0,085 g, 1,07 mmol, 2,5 éq.) sont ajoutés.

Après 20 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est évaporé à sec. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackagée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 20 minutes) pour donner un solide jaunâtre, le composé **269** (0,186 g, 91 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 1,43 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,6 Hz) ; 3,64 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,6 Hz) ; 4,87 (d, 2H, **H8**, *J* = 5,7 Hz) ; 6,98 (sl, 1H, **H7**, *J* = 5,7 Hz) ; 7,21 (d, 2H, **H2'**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,35 (d, 2H, **H3'**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,30 à 7,99 (m, 7H, **Har**).

RMN ¹³C (75 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 23,4 (**Cb**) ; 42,3 (**C8**) ; 43,3 (**Ca**) ; 114,2 (**C3**) ; 116,9 (**C5**) ; 124,3 (**CH_{ar}**) ; 126,2 (**CH_{ar}**) ; 126,8 (**CH_{ar}**) ; 127,3 (**CH_{ar}**) ; 127,4 (**CH_{ar}**) ; 129,2 (**CH_{ar}**) ; 129,6 (**CH_{ar}**) ; 129,7 (**C2'**) ; 131,4 (**C_{ar}**) ; 131,9 (**C_{ar}**) ; 132,2 (**C3'**) ; 134,3 (**C_{ar}**) ; 134,8 (**C_{ar}**) ; 135,8 (**C_{ar}**) ; 138,7 (**C_{ar}**) ; 142,1 (**C2**) ; 149,9 (**C4**) ; 160,5 (**C6**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 499,1 [M+Na]⁺.

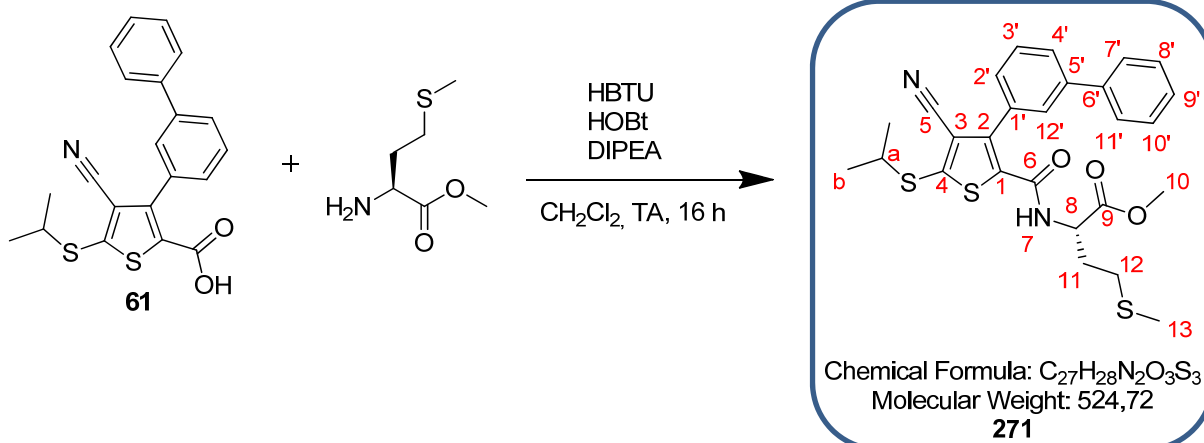
Haute résolution calculée pour C₂₆H₂₁³⁵ClN₂OS₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 499,0682, trouvée : 499,0688.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3413 (**NH**), 2966 et 2918 (**CH st**), 2223 (**C≡N st**), 1640 (**C=O_{amide} st**), 1531 (**NH δ**), 1504, 1484, 1366, 1264, 1208, 1090, 1014, 829, 776.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 6,62 min, 100 %.

(2S)-2-(3-(biphényl-3-yl)-4-cyano-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **271**

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **61** (0,042 g, 0,11 mmol, 1 éq.), l'ester méthylique de la L-méthionine (0,022 g, 0,11 mmol, 1 éq.), le HBTU (0,042 g, 0,11 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,017 g, 0,11 mmol, 1 éq.), la N,N-diisopropyléthylamine (0,038 mL, 0,029 g, 0,22 mmol, 2 éq.) et 0,3 mL de diméthylformamide. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 16 heures.

Le diméthylformamide est évaporé sous-vide. Le résidu obtenu est solubilisé dans du dichlorométhane puis lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 40:60 (v/v) en 25 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **271** (0,037 g, 64 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,49 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,77 (m, 1H, **H11**) ; 1,92 (s, 3H, **H13**) ; 1,95 (m, 1H, **H11**) ; 2,15 (m, 2H, **H12**) ; 3,62 (s, 3H, **H10**) ; 3,63 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,66 (m, 1H, **H8**) ; 6,18 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,40 à 7,82 (m, 9H, **H_{ar}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,3 (**C13**) ; 23,2 (**Cb**) ; 29,4 (**C12**) ; 31,9 (**C11**) ; 42,4 (**Ca**) ; 51,9 (**C8**) ; 52,5 (**C10**) ; 113,5 (**C3**) ; 115,6 (**C5**) ; 127,3 (2**CH_{ar}**) ; 127,9 (**CH_{ar}**) ; 128,0 (**CH_{ar}**) ; 128,0 (**CH_{ar}**) ; 128,9 (**CH_{ar}**) ; 130,0 (2**CH_{ar}**) ; 130,1 (**CH_{ar}**) ; 132,1 (**C_{ar}**) ; 136,1 (**C1**) ; 139,7 (**C2**) ; 142,8 (**C_{ar}**) ; 143,1 (**C_{ar}**) ; 152,4 (**C4**) ; 159,8 (**C6**) ; 171,2 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 525,1 [$M+H$] $^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{27}H_{29}N_2O_3S_3^+$ [$M+H$] $^+$: 525,1340, trouvée : 525,1348.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3399 (**NH st**), 2966 et 2922 (**CH st**), 2223 (**C \equiv N st**), 1741 (**C=O_{ester} st**), 1645 (**C=O_{amide} st**), 1530 (**NH δ**), 1506, 1436, 1368, 1199, 1170, 1058, 760, 719, 698.

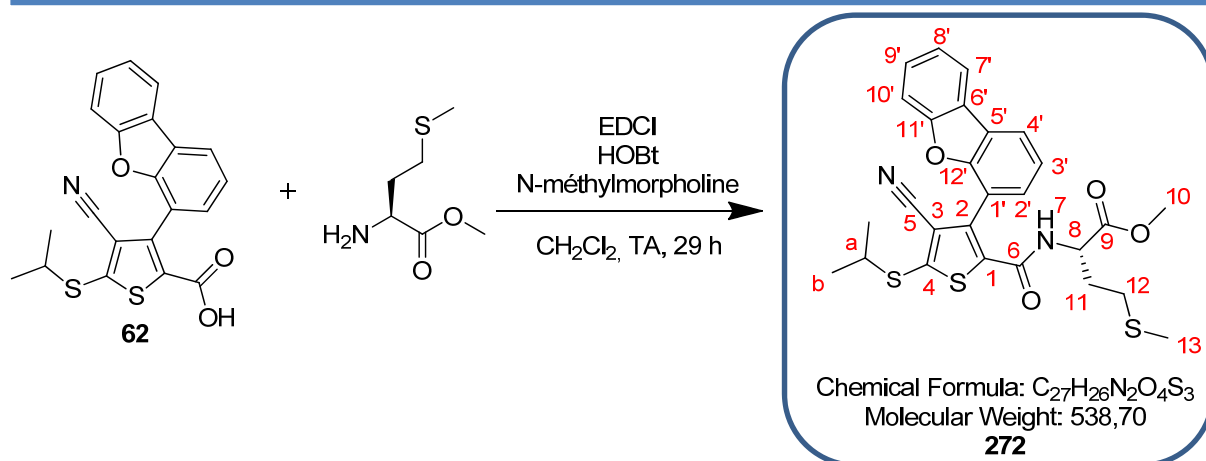
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,33 min, 90 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -7,35^\circ$ (MeOH, 0,68).

(2S)-2-(4-cyano-3-(dibenzo[b,d]furan-4-yl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **272**



Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **62** (0,163 g, 0,41 mmol, 1 éq.), l'ester méthylique de la L-méthionine (0,083 g, 0,41 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,095 g, 0,50 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,127 g, 0,83 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,045 mL, 0,042 g, 0,41 mmol, 1 éq.) et 1,1 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 29 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu. Le mélange réactionnel est lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) permettant d'isoler un solide blanc, le produit **272** (0,138 g, 62 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 1,45 (d, 6H, **H_b**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,60 (m, 2H, **H₁₁**) ; 1,78 (s, 3H, **H₁₃**) ; 1,92 (m, 2H, **H₁₂**) ; 3,49 (s, 3H, **H₁₀**) ; 3,66 (h, 1H, **H_a**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,41 (m, 1H, **H₈**) ; 7,40 à 7,65 (m, 5H, **H_{ar}**) ; 8,08 à 8,21 (m, 2H, **H_{ar}**).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 15,2 (**C₁₃**) ; 23,2 (**C_b**) ; 29,2 (**C₁₂**) ; 31,3 (**C₁₁**) ; 42,5 (**C_a**) ; 51,8 (**C₈**) ; 52,4 (**C₁₀**) ; 112,0 (**CH_{ar}**) ; 113,4 (**C₃**) ; 115,6 (**C₅**) ; 116,0 (**C_{ar}**) ; 121,0 (**CH_{ar}**) ; 122,9 (**CH_{ar}**) ; 123,5 (**CH_{ar}**) ; 123,6 (**CH_{ar}**) ; 123,8 (**C_{ar}**) ; 125,7 (**C_{ar}**) ; 127,9 (**CH_{ar}**) ; 128,1 (**CH_{ar}**) ; 136,9 (**C₁**) ; 137,6 (**C₂**) ; 152,2 (**C₄**) ; 153,1 (**C_{ar}**) ; 156,2 (**C_{ar}**) ; 159,8 (**C₆**) ; 170,9 (**C₉**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : m/z 561,1 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour $C_{27}H_{26}N_2O_4S_3Na^+$ [M+Na]⁺ : 561,0952, trouvée : 561,0949.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3358 (**NH** st), 2962 et 2921 (**CH** st), 2225 (**C≡N** st), 1740 (**C=O_{ester}** st), 1645 (**C=O_{amide}** st), 1528 (**NH** δ), 1511, 1450, 1415, 1369, 1188, 1052, 846, 754.

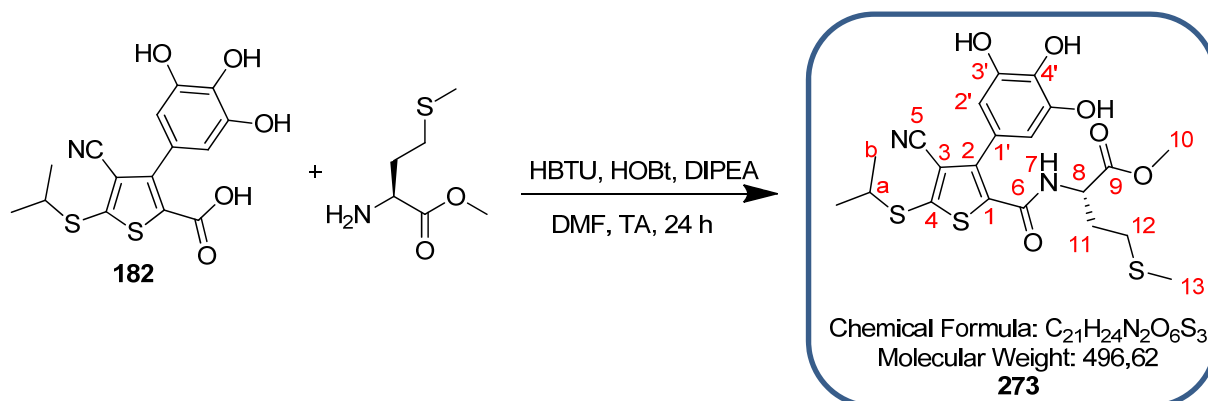
UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 6,19 min, 93 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -25,0^\circ$ (MeOH, 0,20).

(S)-2-(4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(3,4,5-trihydroxyphényl)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **273**



Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **182** (0,087 g, 0,25 mmol, 1 éq.), l'ester méthylique de la L-méthionine (0,049 g, 0,25 mmol, 1 éq.), le HBTU (0,094 g, 0,25 mmol, 1 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,038 g, 0,25 mmol, 1 éq.), la diisopropylamine (0,085 mL, 0,064 g, 0,50 mmol, 2 éq.) et 0,7 mL de diméthylformamide. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 heures.

Le milieu réactionnel est extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 98:2 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile jaune, le composé **273** (0,059 g, 48 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,36 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,77 (m, 1H, **H11**) ; 1,95 (s, 3H, **H13**) ; 1,98 (m, 1H, **H11**) ; 2,22 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,51 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,63 (s, 3H, **H10**) ; 4,64 (m, 1H, **H8**) ; 6,44 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 6,54 (s, 2H, **H2'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,4 (**C13**) ; 23,2 (**Cb**) ; 29,6 (**C12**) ; 31,1 (**C11**) ; 42,3 (**Ca**) ; 52,0 (**C8**) ; 52,9 (**C10**) ; 109,3 (**C2'**) ; 113,6 (**C3**) ; 115,0 (**C5**) ; 122,6 (**C1'**) ; 133,8 (**C1**) ; 135,1 (**C4'**) ; 143,3 (**C3'**) ; 145,1 (**C2**) ; 152,8 (**C4**) ; 160,3 (**C6**) ; 171,9 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 497,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{25}N_2O_6S_3^+$ $[M+H]^+$: 497,0875, trouvée : 497,0862.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3365 (**NH** st), 2952 (**CH** st), 2231 (**C≡N** st), 1739 (**C=O_{ester}** st), 1602 (**C=O_{amide}** st), 1529 (**NH** δ), 1438, 1309, 1189, 1036, 732.

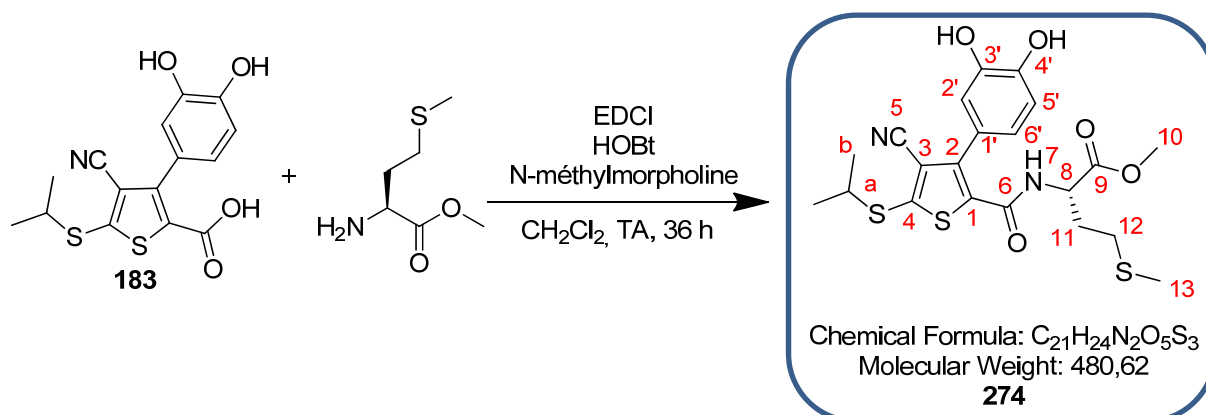
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,50 min, 93 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -20,8^\circ$ (MeOH, 0,30).

(S)-2-(4-cyano-3-(3,4-dihydroxyphényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **274**



Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **183** (0,039 g, 0,12 mmol, 1 éq.), l'ester méthylique de la L-méthionine 0,023 g, 0,12 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,027 g, 0,14 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,035 g, 0,23 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,013 mL, 0,012 g, 0,12 mmol, 1 éq.) et 0,3 mL de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 36 heures.

Le milieu réactionnel est extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 98:2 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **274** (0,018 g, 33 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,37 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,75 (m, 2H, **H11**) ; 1,94 (s, 3H, **H13**) ; 2,19 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,63 (s, 3H, **H10**) ; 4,63 (m, 1H, **H8**) ; 6,30 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 6,84 à 6,97 (m, 3H, **H2'** et **H5'** et **H6'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,4 (**C13**) ; 23,2 (**Cb**) ; 29,6 (**C12**) ; 31,2 (**C11**) ; 42,2 (**Ca**) ; 51,9 (**C8**) ; 52,8 (**C10**) ; 113,7 (**C3**) ; 116,3 (**C5**) ; 116,5 (**C5'**) ; 116,6 (**C2'**) ; 120,2 (**C1**) ; 122,1 (**C6'**) ; 123,1 (**C1'**) ; 143,3 (**C3'**) ; 144,5 (**C4'**) ; 146,2 (**C2**) ; 152,6 (**C4**) ; 160,3 (**C6**) ; 171,8 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 481,1 [M+H]⁺.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{25}N_2O_5S_3^+$ [M+H]⁺ : 481,0926, trouvée : 481,0919.

IR :

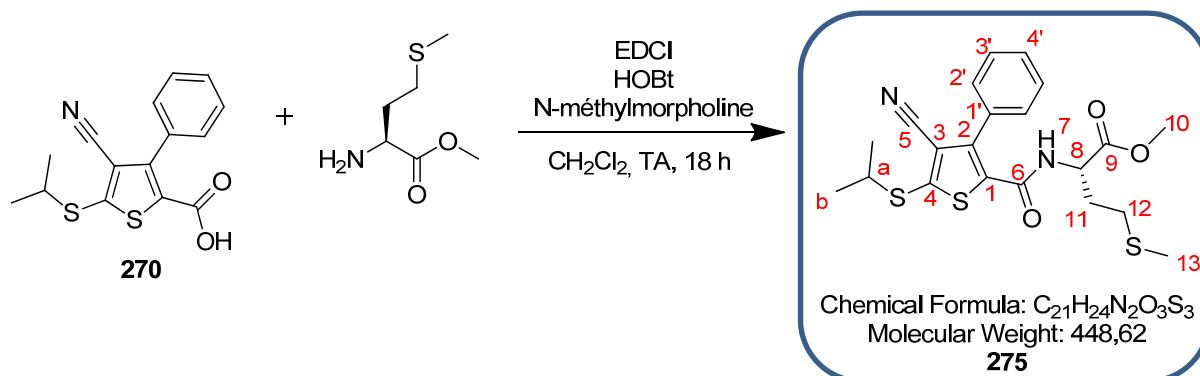
ν (cm^{-1}) : 3370 (**NH** st), 2966 et 2913 (**CH** st), 2226 (**C≡N** st), 1740 (**C=O_{ester}** st), 1626, 1602 (**C=O_{amide}** st), 1538 (**NH** δ), 1496, 1437, 1281, 1174, 1114, 1041, 734.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,88 min, 90 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -11,9^\circ$ (MeOH, 0,42).

(S)-2-(4-cyano-5-(isopropylthio)-3-phénylthiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **275**

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **270** (0,058 g, 0,19 mmol, 1 éq.), l'ester méthylique de la L-méthionine (0,038 g, 0,19 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,044 g, 0,23 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,058 g, 0,38 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,021 mL, 0,019 g, 0,19 mmol, 1 éq.) et 0,5 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 18 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel jusqu'à avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 1:1 (v/v) en 25 minutes) et permet d'isoler une huile jaune, le produit **275** (0,037 g, 45 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,38 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,69 (m, 1H, **H11**) ; 1,89 à 1,94 (m, 6H, **H11** et **H12** et **H13**) ; 3,54 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,59 (s, 3H, **H10**) ; 4,58 (m, 1H, **H8**) ; 5,97 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,41 (m, 2H, **H2**) ; 7,50 à 7,52 (m, 3H, **H3'** et **H4'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 14,4 (**C13**) ; 22,2 (**Cb**) ; 28,4 (**C12**) ; 28,7 (**C11**) ; 41,3 (**Ca**) ; 50,8 (**C8**) ; 51,5 (**C10**) ; 114,6 (**C3** et **C5**) ; 128,2 (**C2'**) ; 128,6 (**C3'**) ; 129,2 (**C4'**) ; 130,6 (**C1'**) ; 135,0 (**C1**) ; 142,2 (**C2**) ; 151,3 (**C4**) ; 158,9 (**C6**) ; 170,3 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 471,1 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{21}H_{24}N_2O_3S_3Na^+$ $[M+Na]^+$: 471,0847, trouvée : 471,0855.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3296 (**NH** st), 2967 et 2923 (**CH** st), 2227 (**C \equiv N** st), 1749 (**C=O_{ester}** st), 1647 (**C=O_{amide}** st), 1538, 1516 (**NH** δ), 1487, 1437, 1367, 1308, 1210, 1171, 1093, 1016, 988, 826, 795.

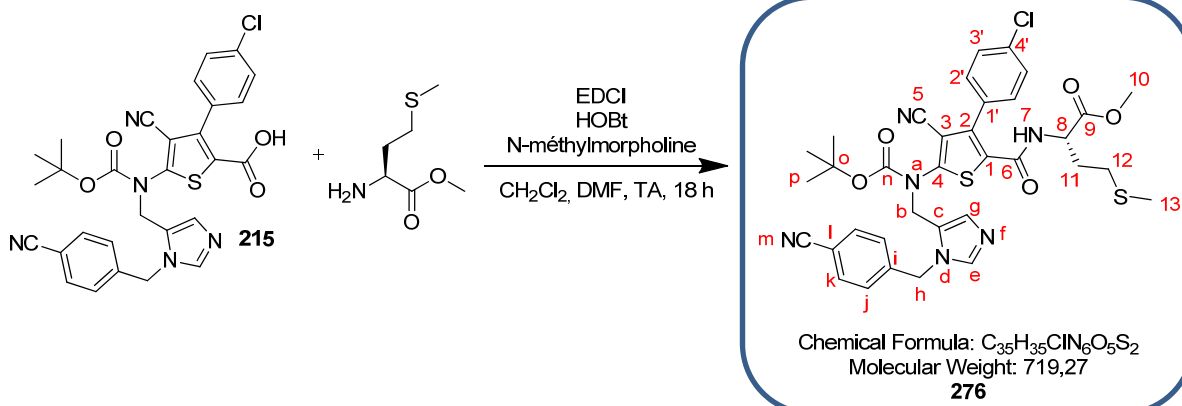
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,76 min, 75 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -8,33^\circ$ (MeOH, 0,60).

(S)- 2-(5-((tert-butoxycarbonyl)((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **276**



Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **215** (0,115 g, 0,20 mmol, 1 éq.), l'ester méthylique de la L-méthionine (0,039 g, 0,20 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,045 g, 0,24 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,059 g, 0,40 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,021 mL, 0,020 g, 0,20 mmol, 1 éq.), 0,5 mL de dichlorométhane anhydre et 0,2 mL de diméthylformamide. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 18 heures.

Le milieu réactionnel est extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile jaune obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH 98:2 (v/v) en 25 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **276** (0,136 g, 94 % de rendement).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 1,46 (s, 9H, **Hp**) ; 1,83 (m, 1H, **H11**) ; 2,03 (s, 3H, **H13**) ; 2,04 (m, 1H, **H11**) ; 2,28 (t, 2H, **H12**, *J* = 7,5 Hz) ; 3,71 (s, 3H, **H10**) ; 4,67 (m, 1H, **H8**) ; 4,87 (s, 2H, **Hb**) ; 5,34 (s, 2H, **Hh**) ; 6,18 (s, 2H, **H7**) ; 6,94 (s, 1H, **Hg**) ; 7,22 (d, 2H, **Hj**, *J* = 8,4 Hz) ; 7,37 (d, 2H, **H3'**, *J* = 6,6 Hz) ; 7,54 (d, 2H, **H2'**, *J* = 6,6 Hz) ; 7,57 (s, 1H, **He**) ; 7,67 (d, 2H, **Hk**, *J* = 8,4 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) :

δ (ppm) : 15,4 (**C13**) ; 27,8 (**Cp**) ; 29,6 (**C12**) ; 31,0 (**C11**) ; 43,5 (**Cb**) ; 48,3 (**Ch**) ; 52,1 (**C8**) ; 52,7 (**C10**) ; 84,3 (**Co**) ; 111,8 (**C1**) ; 112,3 (**C3**) ; 112,6 (**Cl**) ; 118,3 (**C5**) ; 125,6 (**Cm**) ; 127,4 (**Cj**) ; 129,5 (**Cc**) ; 130,0 (**C2'**) ; 130,6 (**C3'**) ; 131,8 (**Cg**) ; 132,5 (**C4'**) ; 132,9 (**Ck**) ; 136,7 (**C1'**) ; 139,3 (**Ce**) ; 139,6 (**Ci**) ; 141,4 (**C2**) ; 152,1 (**Cn**) ; 154,7 (**C4**) ; 159,7 (**C6**) ; 171,1 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 741,2 [M+Na]⁺.

Haute résolution calculée pour C₃₅H₃₅³⁵ClN₆O₅S₂Na⁺ [M+Na]⁺ : 741,1697, trouvée : 741,1694.

IR :

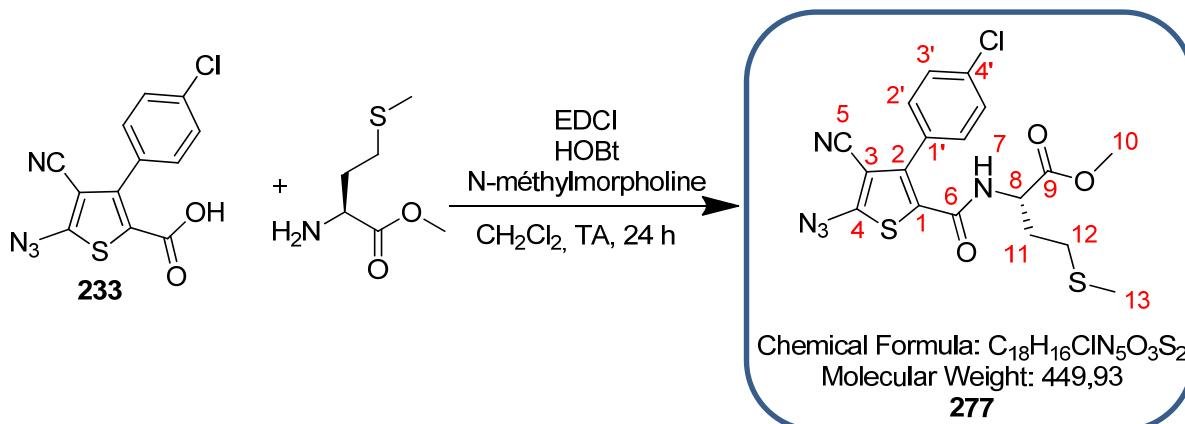
ν (cm⁻¹) : 2974 et 2918 (**CH** st), 2231 (**C≡N** st), 1713 (**C=O_{ester}** st), 1652 (**C=O_{amide}** st), 1498 (**NH** δ), 1369, 1281, 1219, 1147, 1091, 839, 760.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,81 min, 100 %.

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -14,7° (MeOH, 1,02).

(S)-2-(5-azido-3-(4-chlorophényl)-4-cyanothiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **277**

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **233** (0,050 g, 0,16 mmol, 1 éq.), l'ester méthylique de la L-méthionine (0,033 g, 0,16 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,038 g, 0,20 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,050 g, 0,33 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,018 mL, 0,017 g, 0,16 mmol, 1 éq.) et 0,44 mL de dichlorométhane. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 24 heures.

Le milieu réactionnel est extrait trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile orange obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 98:2 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **277** (0,012 g, 17 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,78 (m, 1H, **H11**) ; 1,98 (m, 1H, **H11**) ; 2,00 (s, 3H, **H13**) ; 2,22 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,67 (s, 3H, **H10**) ; 4,62 (m, 1H, **H8**) ; 5,91 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,41 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,51 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,7 (**C13**) ; 29,8 (**C12**) ; 31,6 (**C11**) ; 52,2 (**C8**) ; 52,7 (**C10**) ; 92,1 (**C3**) ; 114,3 (**C5**) ; 119,4 (**C1**) ; 130,0 (**C2'**) ; 130,8 (**C3'**) ; 130,9 (**C4'**) ; 136,5 (**C1'**) ; 140,4 (**C2**) ; 160,9 (**C4**) ; 164,6 (**C6**) ; 171,7 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 424,1 $[M-N_2+3H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{18}H_{19}^{35}ClN_3O_3S_2^+$ $[M-N_2+3H]^+$: 424,0556, trouvée : 424,0551.

IR :

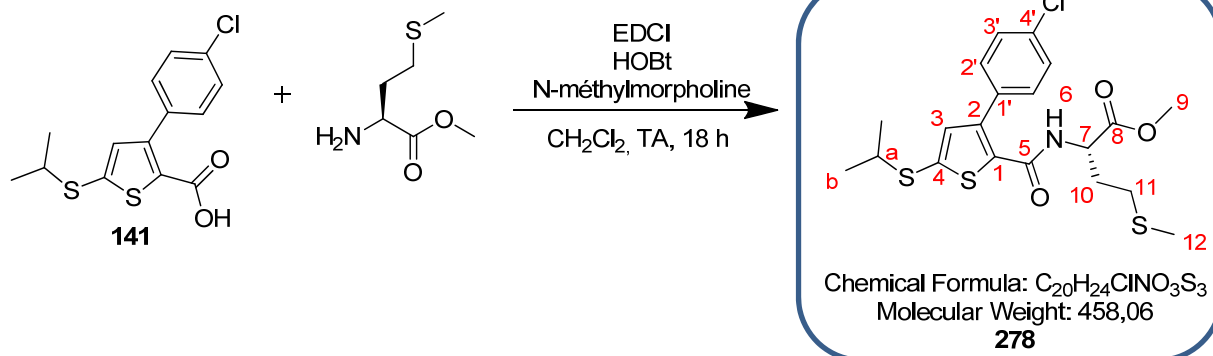
ν (cm^{-1}) : 3399 et 3326 et 3192 (**NH** st), 2947 et 2913 (**CH** st), 2208 (**C≡N** st), 1737 (**C=O_{ester}** st), 1623 (**C=O_{amide}** st), 1498, 1436, 1265, 1200, 1090, 1015, 734.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,65 min, 90 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -20,8^\circ$ (MeOH, 0,24).

(S)-2-(3-(4-chlorophényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle **278**

Dans un ballon surmonté d'une garde de chlorure de calcium sont ajoutés le composé **141** (0,060 g, 0,19 mmol, 1 éq.), l'ester méthylique de la L-méthionine (0,038 g, 0,19 mmol, 1 éq.), le chlorhydrate de 1-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide (0,044 g, 0,23 mmol, 1,2 éq.), le N-hydroxybenzotriazole (0,058 g, 0,38 mmol, 2 éq.), la N-méthylmorpholine (0,021 mL, 0,019 g, 0,19 mmol, 1 éq.) et 0,5 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 18 heures.

Du dichlorométhane est additionné au milieu réactionnel jusqu'à avoir une solution limpide. Le milieu réactionnel est ensuite lavé une fois avec de l'acide citrique 5 % massique, une fois avec de l'eau, une fois avec du carbonate de sodium 5 % massique, de nouveau une fois avec de l'eau puis une fois avec une solution saturée de chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et concentrée sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient heptane à heptane/AcOEt 3:1 (v/v) en 25 minutes) permettant d'isoler une huile jaune, le produit **278** (0,037 g, 43 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,26 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,79 (m, 1H, **H10**) ; 1,96 (s, 3H, **H12**) ; 2,01 (m, 1H, **H10**) ; 2,24 (t, 2H, **H11**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 3,62 (s, 3H, **H9**) ; 4,62 (m, 1H, **H7**) ; 6,08 (d, 1H, **H6**, $J = 7,8$ Hz) ; 6,87 (s, 1H, **H3**) ; 7,32 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,37 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 15,4 (**C12**) ; 23,1 (**Cb**) ; 29,7 (**C11**) ; 31,3 (**C10**) ; 41,8 (**Ca**) ; 52,0 (**C7**) ; 52,5 (**C9**) ; 129,2 (**C2'**) ; 130,5 (**C3'**) ; 133,3 (**C4'**) ; 134,9 (**C1'**) ; 136,0 (**C3** et **C4**) ; 139,3 (**C1**) ; 141,6 (**C2**) ; 161,1 (**C5**) ; 171,6 (**C8**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 458,0 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{20}H_{25}^{35}ClNO_3S_3^+$ $[M+H]^+$: 458,0685, trouvée : 458,0703.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2924 (**CH** st), 2230 (**C \equiv N** st), 1741 (**C=O_{ester}** st), 1705, 1644 (**C=O_{amide}** st), 1508 (**NH** δ), 1480, 1429, 1384, 1276, 1224, 1149, 1090, 1031, 938, 803, 752.

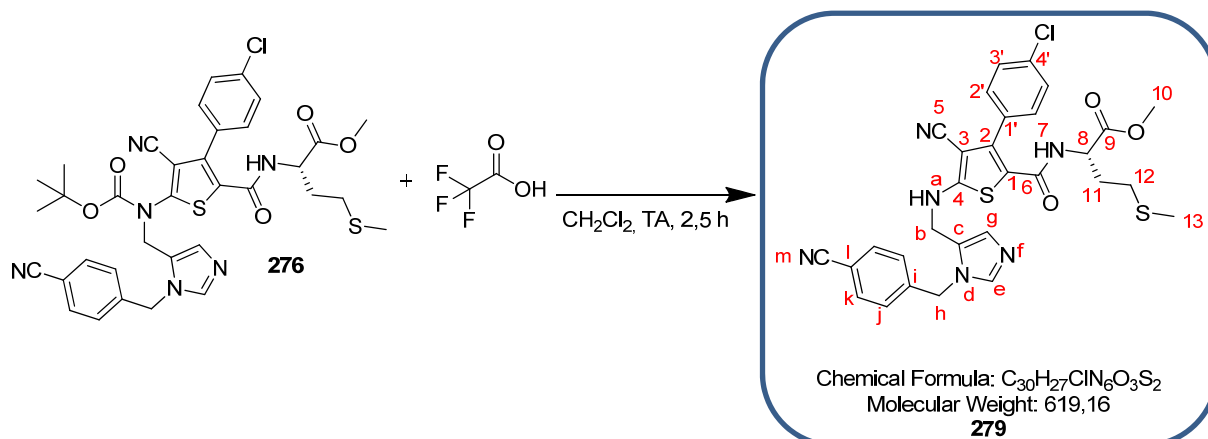
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 6,33 min, 90 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -10,0^\circ$ (MeOH, 1,00).

((S)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoate de méthyle 279



De l'acide trifluoroacétique (0,18 mL, 0,266 g, 2,33 mmol, 35 éq.) est ajouté au composé **276** (0,048 g, 0,07 mmol, 1 éq.) solubilisé dans du dichlorométhane (0,18 mL).

Après agitation pendant 2,5 heures à température ambiante, de l'éther diéthylique est additionné au milieu qui est ensuite concentré sous pression réduite. Cette dernière étape est répétée jusqu'à obtenir un solide blanc qui est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de silice prépackée (éluant gradient CH_2Cl_2 à $CH_2Cl_2/MeOH$ 90:10 (v/v) en 20 minutes) pour donner une huile incolore, le composé **279** (0,042 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 1,83 (m, 1H, **H11**) ; 1,99 (m, 1H, **H11**) ; 2,04 (s, 3H, **H13**) ; 2,24 (m, 2H, **H12**) ; 3,72 (s, 3H, **H10**) ; 4,54 (m, 1H, **H8**) ; 4,61 (s, 2H, **Hb**) ; 5,68 (s, 2H, **Hh**) ; 7,33 (d, 2H, **Hj**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,45 (d, 2H, **H3'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,58 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,6$ Hz) ; 7,75 (d, 2H, **Hk**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,78 (s, 1H, **Hg**) ; 9,04 (s, 1H, **He**).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 15,3 (**C13**) ; 30,8 (**C12**) ; 31,5 (**C11**) ; 40,7 (**Cb**) ; 50,9 (**Ch**) ; 53,0 (**C8**) ; 53,4 (**C10**) ; 89,9 (**C3**) ; 113,5 (**C1**) ; 115,1 (**Cl**) ; 117,8 (**C5**) ; 119,4 (**Cm**) ; 123,8 (**Cg**) ; 128,6 (**Cj**) ; 130,6 (**C2'**) ; 130,7 (**Cc**) ; 132,1 (**C3'**) ; 132,4 (**C4'**) ; 134,2 (**Ck**) ; 137,0 (**C1'**) ; 139,6 (**Ce**) ; 141,1 (**Ci**) ; 143,2 (**C2**) ; 163,2 (**C6**) ; 166,1 (**C4**) ; 173,4 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 619,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{30}H_{28}^{35}ClN_6O_3S_2^+ [M+H]^+$: 619,1353, trouvée : 619,1348.

IR :

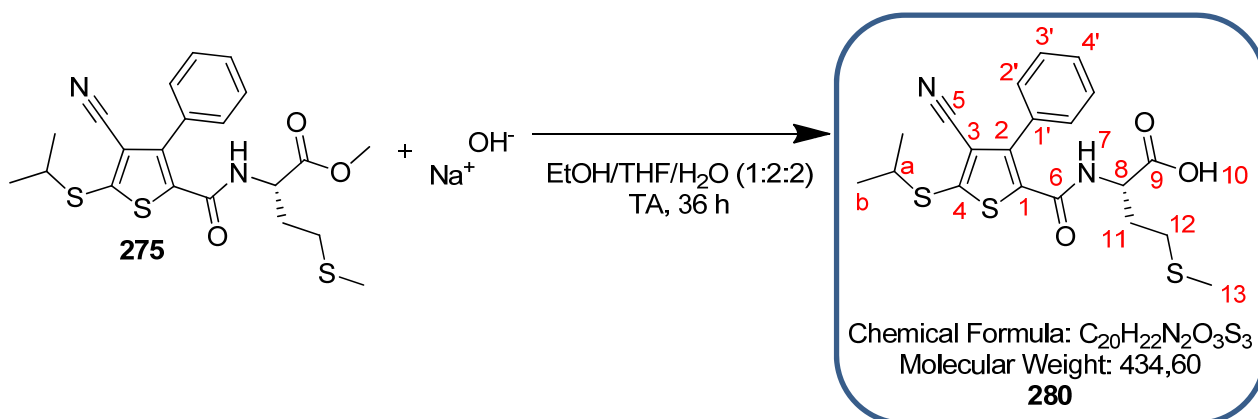
ν (cm^{-1}) : 2974 et 2918 (**CH** st), 2209 (**C≡N** st), 1738 (**C=O_{ester}** st), 1670 (**C=O_{amide}** st), 1627, 1509 (**NH** δ), 1418, 1353, 1197, 1173, 1128, 1091, 825, 798.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 4,03 min, 90 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -15,6^\circ$ (MeOH, 0,32).

acide (S)-2-(4-cyano-5-(isopropylthio)-3-phénylthiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque
280

Une solution aqueuse de soude 2M (0,4 mL, 0,019 g, 0,78 mmol, 13 éq.) est ajoutée au composé **275** (0,025 g, 0,06 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,6 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,9 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide orange, le composé **280** (0,025 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) :

δ (ppm) : 1,30 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,66 (m, 1H, **H11**) ; 1,88 (s, 3H, **H13**) ; 1,90 (m, 1H, **H11**) ; 2,12 (t, 2H, **H12**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,52 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,44 (m, 1H, **H8**) ; 6,43 (d, 1H, **H7**, $J = 7,8$ Hz) ; 7,42 à 7,48 (m, 5H, **H2'** et **H3'** et **H4'**).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 15,2 (**C13**) ; 23,5 (**Cb**) ; 30,7 (**C12**) ; 31,8 (**C11**) ; 43,7 (**Ca**) ; 53,3 (**C8**) ; 114,5 (**C3**) ; 117,4 (**C3**) ; 130,3 (**C2'**) ; 130,4 (**C3'**) ; 130,8 (**C4'**) ; 132,1 (**C1'**) ; 133,3 (**C1**) ; 145,0 (**C2**) ; 151,3 (**C4**) ; 162,7 (**C6**) ; 174,0 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 433,1 $[M-H]^-$.

Haute résolution calculée pour $C_{20}H_{21}N_2O_3S_3^- [M-H]^-$: 433,0714, trouvée : 433,0711.

IR :

ν (cm^{-1}) : 2962 et 2923 (**CH** st), 2221 (**C \equiv N** st), 1728 (**C=O_{ester}** st), 1637 (**C=O_{amide}** st), 1533 (**NH** δ), 1511, 1444, 1367, 1259, 1209, 1089, 1015, 798, 704.

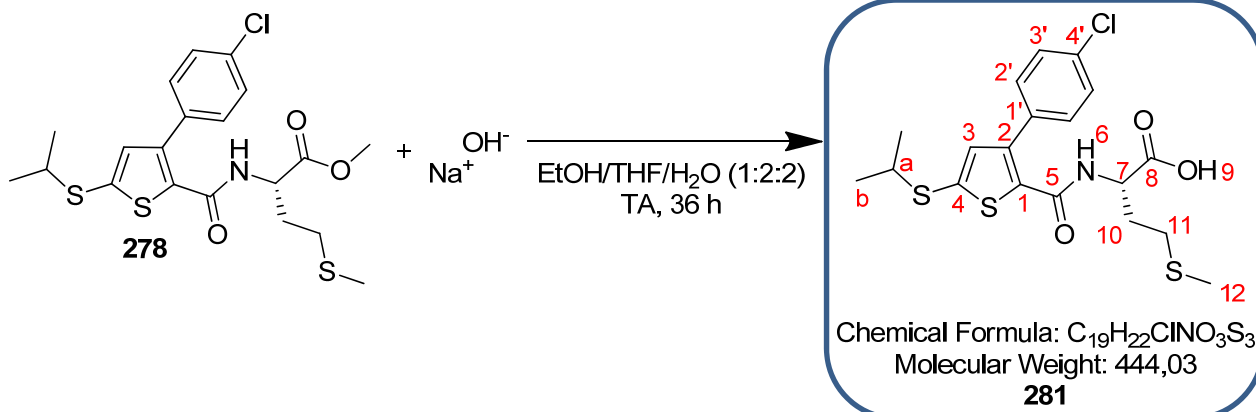
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,10 min, 46 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -6,41^\circ$ (MeOH, 0,78).

acide (S)-2-(3-(4-chlorophényl)-5-(isopropylthio)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **281**



Une solution aqueuse de soude 2M (0,4 mL, 0,019 g, 0,84 mmol, 13 éq.) est ajoutée au composé **278** (0,029 g, 0,063 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,6 mL).

Après agitation pendant 36 heures à température ambiante, une solution d'acide chlorhydrique 1N (0,9 mL) est ajoutée au milieu réactionnel, qui est ensuite extrait deux fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite pour donner un solide orange, le composé **281** (0,019 g, 68 % de rendement).

RMN 1H (300 MHz, acétone- d_6) :

δ (ppm) : 1,31 (d, 6H, **Hb**, $J = 6,6$ Hz) ; 1,90 (m, 1H, **H10**) ; 1,98 (s, 3H, **H12**) ; 2,07 (m, 1H, **H10**) ; 2,37 (t, 2H, **H11**, $J = 7,2$ Hz) ; 3,37 (h, 1H, **Ha**, $J = 6,6$ Hz) ; 4,39 (m, 1H, **H7**) ; 7,15 (s, 1H, **H3**) ; 7,46 (d, 2H, **H3'**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,56 (d, 2H, **H2'**, $J = 8,4$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 15,3 (**C12**) ; 23,4 (**Cb**) ; 31,2 (**C11**) ; 32,7 (**C10**) ; 42,8 (**Ca**) ; 51,3 (**C7**) ; 130,0 (**C2'**) ; 131,5 (**C3'**) ; 134,9 (**C4'**) ; 135,6 (**C1'**) ; 137,4 (**C3**) ; 137,5 (**C4**) ; 138,6 (**C1**) ; 143,1 (**C2**) ; 164,1 (**C5**) ; 172,4 (**C8**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 466,1 $[M+Na]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{19}H_{22}^{35}ClNO_3S_3Na^+$ $[M+Na]^+$: 466,0348, trouvée : 466,0350.

IR :

ν (cm^{-1}) : 3058 et 2941 (**CH** st), 2230 (**C \equiv N** st), 1706 (**C=O_{ester}** st), 1598 (**C=O_{amide}** st), 1480, 1430, 1387, 1278, 1224, 1150, 1032, 939, 803.

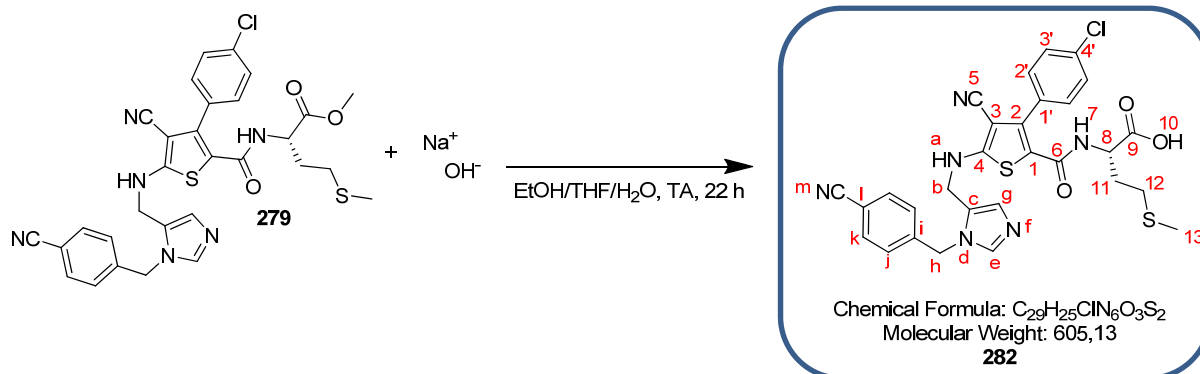
UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 5,70 min, 60 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -33,3^\circ$ (MeOH, 0,15).

acide (S)-2-(3-(4-chlorophényl)-4-cyano-5-(((1-(4-cyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yl)méthyl)amino)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **282**



Une solution aqueuse de soude 2M (0,2 mL, 0,008 g, 0,32 mmol, 10 éq.) est ajoutée au composé **279** (0,020 g, 0,03 mmol, 1 éq.) solubilisé dans un mélange éthanol/THF 1:2 (v/v) (0,3 mL).

Après agitation pendant 22 heures à température ambiante, le milieu réactionnel est acidifié à pH = 5-6 avec de l'Amberlyte IRC-50. La solution est ensuite filtrée, l'Amberlyte IRC-50 lavé au méthanol puis le filtrat concentré sous pression réduite pour donner un solide blanc, le composé **282** (0,020 g, rendement quantitatif).

RMN 1H (500 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 1,97 (m, 2H, **H11**) ; 2,04 (s, 3H, **H13**) ; 2,20 (m, 2H, **H12**) ; 4,30 (m, 1H, **H8**) ; 4,47 (s, 2H, **Hb**) ; 5,48 (s, 2H, **Hh**) ; 7,17 (d, 2H, **Hj**, $J = 8,5$ Hz) ; 7,23 (s, 1H, **Hg**) ; 7,41 (d, 2H, **H3'**, $J = 6,5$ Hz) ; 7,54 (d, 2H, **H2'**, $J = 6,5$ Hz) ; 7,68 (d, 2H, **Hk**, $J = 8,4$ Hz) ; 7,92 (s, 1H, **He**).

RMN ^{13}C (75 MHz, MeOD) :

δ (ppm) : 15,3 (**C13**) ; 30,9 (**C12**) ; 33,4 (**C11**) ; 41,1 (**Cb**) ; 49,2 (**Ch**) ; 55,6 (**C8**) ; 89,1 (**C3**) ; 112,6 (**C1**) ; 115,5 (**Cl**) ; 118,3 (**C5**) ; 119,6 (**Cm**) ; 127,4 (**Cc**) ; 128,1 (**Cj**) ; 129,4 (**Cg**) ; 130,6 (**C2'**) ; 131,3 (**Ce**) ; 132,0 (**C3'**) ; 132,7 (**C4'**) ; 133,9 (**Ck**) ; 136,7 (**C1'**) ; 142,5 (**Ci**) ; 143,9 (**C2**) ; 162,6 (**C6**) ; 166,3 (**C4**) ; 176,8 (**C9**).

SM (ESI, MeOH + CH_2Cl_2) : m/z 605,1 $[M+H]^+$.

Haute résolution calculée pour $C_{29}H_{26}^{35}ClN_6O_3S_2^+ [M+H]^+$: 605,1196, trouvée : 605,1187.

IR :

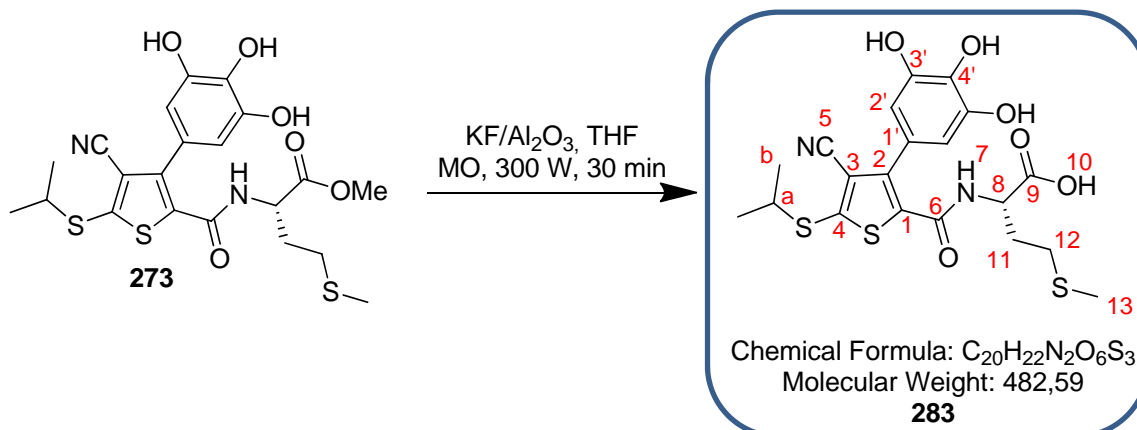
ν (cm^{-1}) : 2993 et 2942 (**CH** st), 2209 (**C≡N** st), 1692 (**C=O_{acide}** st), 1530, 1389, 1257, 1176, 1014, 964, 931, 796, 750.

UPLC :

Méthode ($H_2O/MeOH$) : TA, 3,62 min, 90 %.

Pouvoir rotatoire :

$[\alpha]_D^{20} = -12,5^\circ$ (MeOH, 0,40).

acide (S)-2-(4-cyano-5-(isopropylthio)-3-(3,4,5-trihydroxyphényl)thiophène-2-carboxamido)-4-(méthylthio)butanoïque **273**

Dans un tube micro-ondes, un dépôt solide du composé **273** (0,013 g, 0,03 mmol, 1 éq.) est effectué sur de l'alumine dopée au fluorure de potassium (0,039 g) et 0,3 mL de THF sont ajoutés. Le milieu réactionnel est chauffé cinq fois sous irradiation micro-ondes à une puissance de 300 W pendant 30 minutes.

Après refroidissement, de l'eau est ajoutée au milieu réactionnel qui est agité pendant 20 minutes puis filtré et lavé avec de l'eau. Le filtrat est neutralisé par addition d'acide chlorhydrique 1N puis extrait deux fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et concentrées sous pression réduite. Le solide brun obtenu est purifié par plaque préparative sur silice (éluant CH₂Cl₂/MeOH/HCOOH 95:5:0,4 (v/v)/v) pour donner une huile brune, le composé **283** (0,003 g, 23 % de rendement).

RMN ¹H (500 MHz, acétone-d₆) :

δ (ppm) : 1,44 (d, 6H, **Hb**, *J* = 6,5 Hz) ; 1,87 (m, 1H, **H11**) ; 2,03 (s, 3H, **H13**) ; 2,08 (m, 1H, **H11**) ; 2,35 (t, 2H, **H12**, *J* = 7,0 Hz) ; 3,41 (h, 1H, **Ha**, *J* = 6,5 Hz) ; 4,53 (m, 1H, **H8**) ; 6,56 (s, 2H, **H2'**) ; 6,90 (m, 1H, **H7**).

SM (ESI, MeOH + CH₂Cl₂) : *m/z* 481,1 [M-H]⁻.

Haute résolution calculée pour C₂₀H₂₁N₂O₆S₃⁺ [M-H]⁻ : 481,0562, trouvée : 481,0544.

IR :

ν (cm⁻¹) : 3345 (**NH** st), 2971 et 2918 (**CH** st), 2226 (**C≡N** st), 1604 (**C=O_{ester}** st), 1537 (**NH** δ), 1441, 1377, 1240, 1197, 1045, 873.

UPLC :

Méthode (H₂O/MeOH) : TA, 4,04 min, 95 %.

Pouvoir rotatoire :

[α]_D²⁰ = -6,25° (MeOH, 0,80).

ANNEXE

Rappels de cinétique enzymatique

I. Équation de Michaelis Menten



Équation 2 : Cinétique enzymatique selon Michaelis-Menten
E = enzyme libre, S = substrat, P = produit

Dans les conditions de l'état stationnaire c'est-à-dire quand la concentration [ES] ne change pas, la vitesse globale peut s'écrire :

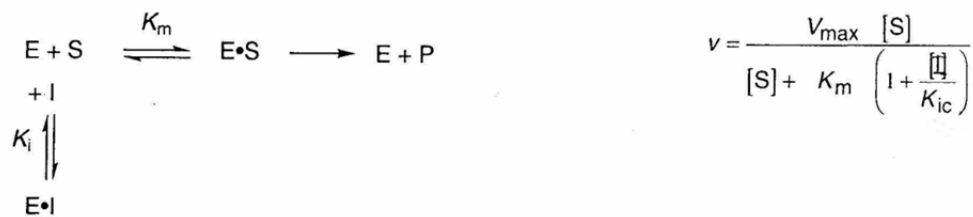
$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]} \quad \text{avec} \quad K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

$$V_{\max} = k_2 \cdot [E]_0$$

II. Inhibition réversible (linéaire)

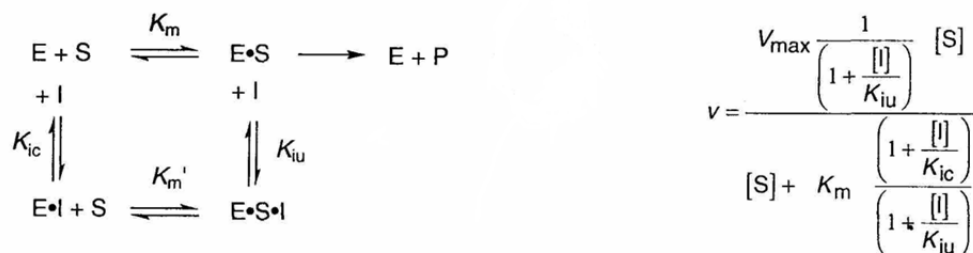
Inhibition compétitive

S et I sont en compétition pour le même site : le complexe ternaire E•S•I n'existe pas.



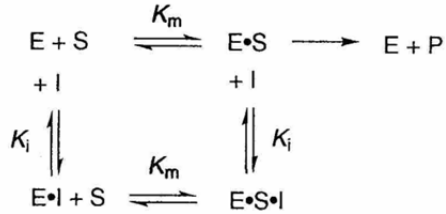
Inhibition mixte (deux sites dépendants)

S et I se fixent sur deux sites différents le complexe E•S•I existe. Les constantes des équilibres sont reliées par la relation $K_m \times K_{iu} = K_m' \times K_{ic}$.



Inhibition non-compétitive pure (deux sites indépendants)

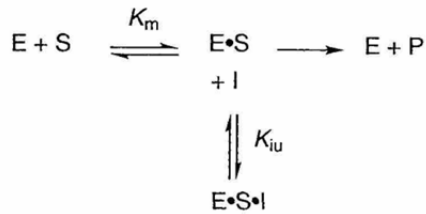
S et I se fixent sur deux sites différents le complexe E•S•I existe. Les constantes des équilibres sont reliées par la relation $K_i = K_{iu} = K_{ic}$.



$$v = \frac{V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_i}} [S]}{[S] + K_m}$$

Inhibition incompétitive

I ne se fixe que sur le complexe E•S. $K_{ic} = \infty$.



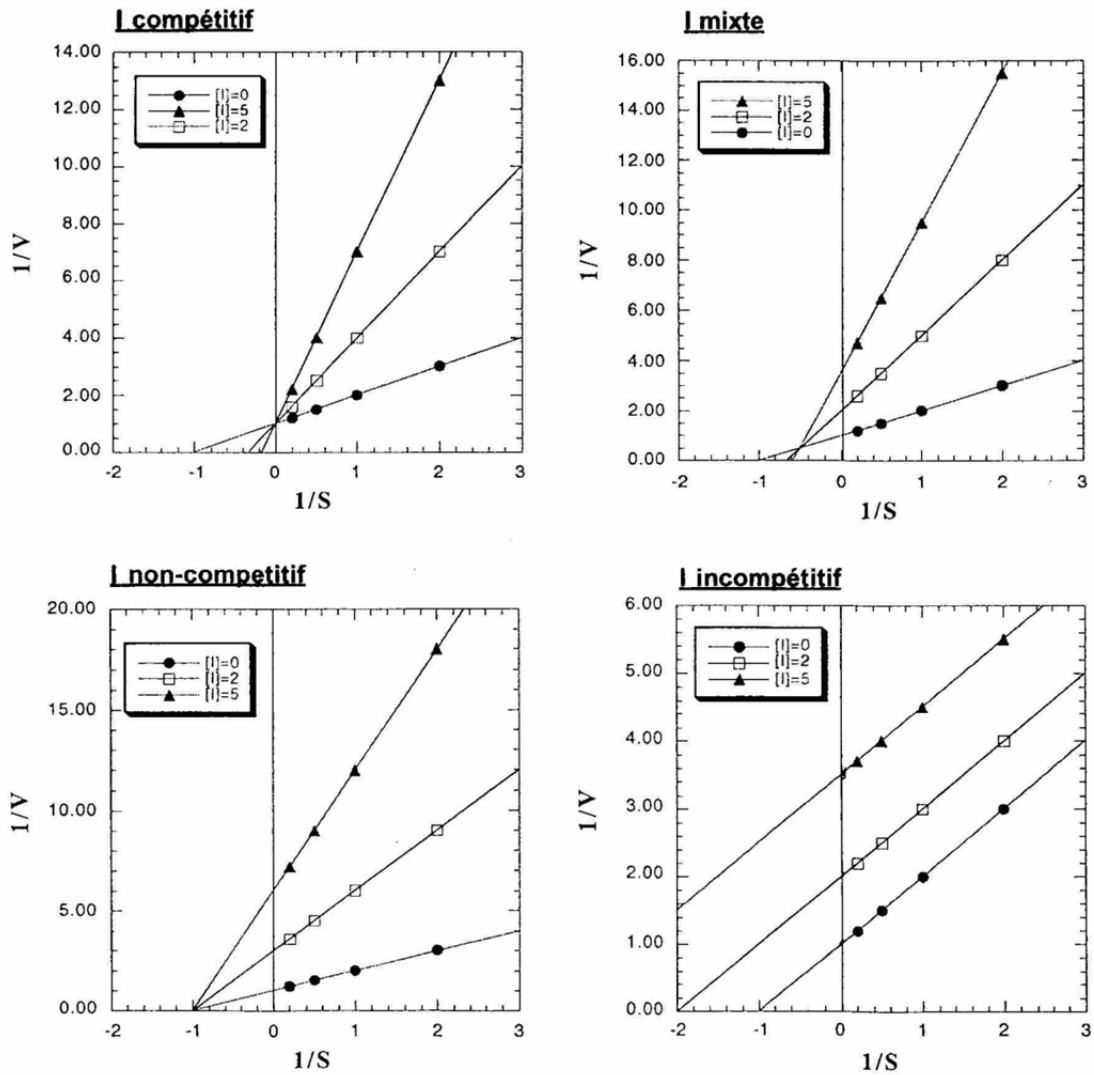
$$v = \frac{V_{\max} \frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_{iu}}} [S]}{[S] + K_m \frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_{iu}}}}$$

Récapitulatif

Type d'inhibition	V_{\max}^{app}	$V_{\max}^{\text{app}}/K_m^{\text{app}}$	K_m^{app}
Compétitive	V_{\max}	$\frac{V_{\max}/K_m}{1 + [I]/K_{ic}}$	$K_m(1 + [I]/K_{ic})$
Mixte	$\frac{V_{\max}}{1 + [I]/K_{iu}}$	$\frac{V_{\max}/K_m}{1 + [I]/K_{ic}}$	$\frac{K_m(1 + [I]/K_{ic})}{1 + [I]/K_{iu}}$
Non-compétitive pure ¹	$\frac{V_{\max}}{1 + [I]/K_{iu}}$	$\frac{V_{\max}/K_m}{1 + [I]/K_{ic}}$	K_m
Incompétitive	$\frac{V_{\max}}{1 + [I]/K_{iu}}$	V_{\max}/K_m	$\frac{K_m}{1 + [I]/K_{iu}}$

¹ Dans ce cas $K_i = K_{ic} = K_{iu}$. Néanmoins les symboles ont été conservés pour garder la symétrie du tableau.

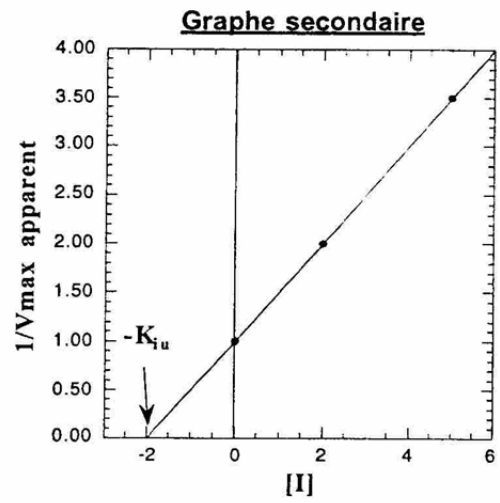
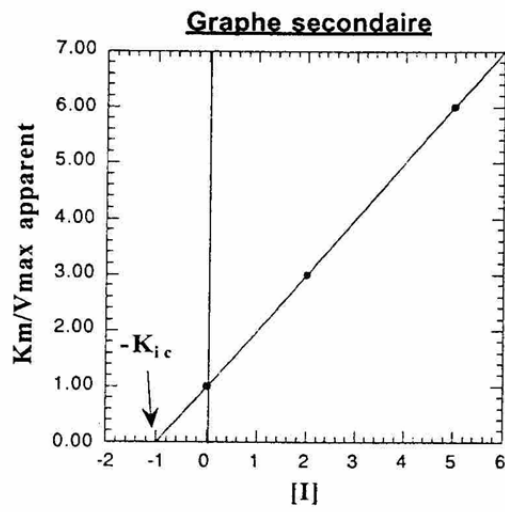
Analyse graphique en double inverse



Simulations pour $K_m = 1$; $V_m = 1$; $[S]/K_m = 0.5, 1, 2, 5$; $K_{IC} = 1$; $K_{IU} = 2$; $[I] = 0, 2, 5$.

Notre enzyme possède deux substrats : le FPP et le peptide. Pour les études cinétiques de compétition, nous avons appliqués le modèle d'une enzyme à un substrat en nous plaçant dans les conditions de saturation d'un des deux substrats.

Détermination graphique des constantes d'inhibition



Références :

A. Cornish-Bowden (1995) Fundamentals of Enzyme Kinetics pp 95

A. Fersht (1999) Structure and Mechanism in Protein Science pp 113

BIBLIOGRAPHIE

1. Walsh, C. T.; Garneau-Tsodikova, S. and Gatto, G. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 7342-7372.
2. Hurwitz, H. I.; Casey, P. J.; Sidney, A. S. and Thomas, J. M. *Current Topics in Membranes*, Academic Press. **2002**, *Volume 52*, 531-550.
3. Boutin, J. A. *Cell. Signal.* **1997**, *9*, 15-35.
4. Dunphy, J. T. and Linder, M. E. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lip.* **1998**, *1436*, 245-261.
5. Sinensky, M. *Biochim. Biophys. Acta* **2000**, *1484*, 93 - 106.
6. Zhang, F. L. and Casey, P. J. *Ann. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 241-269.
7. Takeda, J. and Kinoshita, T. *Trends Biochem. Sc.* **1995**, *20*, 367-371.
8. Gelb, M. H.; Brunsveld, L.; Hrycyna, C. A.; Michaelis, S.; Tamanoi, F.; Van Voorhis, W. C. and Waldmann, H. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 518-528.
9. Zhang, H. *Handbook of metalloproteins* **2004**, *3*, 37-48.
10. Seabra, M. C.; Reiss, Y.; Casey, P. J.; Brown, M. S. and Goldstein, J. L. *Cell* **1991**, *65*, 429-434.
11. Lane, K. T. and Beese, L. S. *J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 681-699.
12. Casey, P. J. and Seabra, M. C. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 5289-5292.
13. Trueblood, C. E.; Boyartchuk, V. L.; Picologlou, E. A.; Rozema, D.; Poulter, C. D. and Rine, J. *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 4381-4392.
14. Leung, K. F.; Baron, R. and Seabra, M. C. *J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 467-475.
15. Zhang, H.; Seabra, M. C. and Deisenhofer, J. *Structure* **2000**, *8*, 241-251.
16. Guo, Z.; Wu, Y.-W.; Das, D.; Delon, C.; Cramer, J.; Yu, S.; Thuns, S.; Lupilova, N.; Waldmann, H.; Brunsveld, L.; Goody, R. S.; Alexandrov, K. and Blankenfeldt, W. *EMBO J* **2008**, *27*, 2444-2456.
17. Park, H. W. and Beese, L. S. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1997**, *7*, 873-880.
18. Long, S. B.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Structure* **2000**, *8*, 209-222.
19. Long, S. B.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Biochemistry* **1998**, *37*, 9612-9618.
20. Strickland, C. L.; Windsor, W. T.; Syto, R.; Wang, L.; Bond, R.; Wu, Z.; Schwartz, J.; Le, H.; Beese, L. and Weber, P. C. *Biochemistry* **1998**, *37*, 16601-16611.
21. Park, H.-W.; Boduluri, S. R.; Moomaw, J. F.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Science* **1997**, *275*, 1800-1805.
22. Long, S. B.; Hancock, P. J.; Kral, A. M.; Hellinga, H. W. and Beese, L. S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 12948-12953.
23. Buckner, F. S.; Yokoyama, K.; Nguyen, L.; Grewal, A.; Erdjument-Bromage, H.; Tempst, P.; Strickland, C. L.; Xiao, L.; Van Voorhis, W. C. and Gelb, M. H. *J Biol. Chem.* **2000**, *275*, 21870-21876.
24. Long, S. B.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Nature* **2002**, *419*, 645 - 650.
25. Bowers, K. E. and Fierke, C. A. *Biochemistry* **2004**, *43*, 5256-5265.
26. Sousa, S. F.; Fernandes, P. A. and Ramos, M. J. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 3-10
27. Sousa, S. F.; Fernandes, P. A. and Ramos, M. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3369-3378.
28. Sousa, S. F.; Fernandes, P. A. and Ramos, M. J. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 4243-4247.
29. Tobin, D. A.; Pickett, J. S.; Hartman, H. L.; Fierke, C. A. and Penner-Hahn, J. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9962-9969.
30. Terry, K. L.; Casey, P. J. and Beese, L. S. *Biochemistry* **2006**, *45*, 9746-9755.
31. Reiss, Y.; Brown, M. S. and Goldstein, J. L. *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 6403-6408.
32. Huang, C.-C.; Casey, P. J. and Fierke, C. A. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 20-23.
33. Hightower, K. E.; Huang, C. c.; Casey, P. J. and Fierke, C. A. *Biochemistry* **1998**, *37*, 15555-15562.
34. Huang, C. c.; Hightower, K. E. and Fierke, C. A. *Biochemistry* **2000**, *39*, 2593-2602.
35. Yang, Y.; Chakravorty, D. K. and Merz, K. M. *Biochemistry* **2010**, *49*, 9658-9666.
36. Gilman, A. G. *Ann. Rev. Biochem.* **1987**, *56*, 615-649.
37. Wright, L. P. and Philips, M. R. *J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 883-891.
38. http://virologie.free.fr/documents/virologie/11-Cycle_cellulaire/Cycle_cellulaire.htm.
39. <http://stl-bgb.blogspot.com/2009/04/td-biochimie-300409.html>.
40. Cheeseman, I. M. and Desai, A. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9*, 33-46.
41. Broers, J. L. V.; Peeters, E. A. G.; Kuijpers, H. J. H.; Endert, J.; Bouten, C. V. C.; Oomens, C. W. J.; Baaijens, F. P. T. and Ramaekers, F. C. S. *Hum. Mol. Genet.* **2004**, *13*, 2567-2580.

42. Sinensky, M.; Fantle, K.; Trujillo, M.; McLain, T.; Kupfer, A. and Dalton, M. *J. Cell Sci.* **1994**, *107*, 61-67.
43. Rusiñol, A. E. and Sinensky, M. S. *J. Cell Sci.* **2006**, *119*, 3265-3272.
44. Hennekam, R. C. M. *Am. J. Med. Genet. Part A* **2006**, *140A*, 2603-2624.
45. Meshorer, E. and Gruenbaum, Y. *J. Cell Biol.* **2008**, *181*, 9-13.
46. Oliff, A. *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer* **1999**, *1423*, C19-C30.
47. Leonard, D. M. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2971-2990.
48. Downward, J. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 11-22.
49. Liu, M.; Bryant, M. S.; Chen, J.; Lee, S.; Yaremko, B.; Lipari, P.; Malkowski, M.; Ferrari, E.; Nielsen, L.; Prioli, N.; Dell, J.; Sinha, D.; Syed, J.; Korfmacher, W. A.; Nomeir, A. A.; Lin, C. C.; Wang, L.; Taveras, A. G.; Doll, R. J.; Njoroge, F. G.; Mallams, A. K.; Remiszewski, S.; Catino, J. J.; Girijavallabhan, V. M.; Kirschmeier, P. and Bishop, W. R. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 4947-4956.
50. Whyte, D. B.; Kirschmeier, P.; Hockenberry, T. N.; Nunez-Oliva, I.; James, L.; Catino, J. J.; Bishop, W. R. and Pai, J.-K. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 14459-14464.
51. Ashar, H. R.; James, L.; Gray, K.; Carr, D.; Black, S.; Armstrong, L.; Bishop, W. R. and Kirschmeier, P. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 30451 - 30457.
52. Tamanoi, F.; Gau, C. L.; Jiang, C.; Edamatsu, H. and Kato-Stankiewicz, J. *Cell. Mol. Life Sci.* **2001**, *58*, 1636 - 1649.
53. http://www.dpd.cdc.gov/DPDx/HTML/ImageLibrary/malaria_LifeCycle.GIF.
54. http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/TrypanosomiasisAfrican_il.htm.
55. http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/TrypanosomiasisAmerican_il.htm.
56. http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Leishmaniasis_il.htm.
57. Field, H.; Blench, I.; Croft, S. and Field, M. C. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1996**, *82*, 67-80.
58. Yokoyama, K.; Lin, Y.; Stuart, K. D. and Gelb, M. H. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1997**, *87*, 61-69.
59. Buckner, F. S.; Eastman, R. T.; Nepomuceno-Silva, J. L.; Speelman, E. C.; Myler, P. J.; Van Voorhis, W. C. and Yokoyama, K. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2002**, *122*, 181-188.
60. Chakrabarti, D.; Azam, T.; DelVecchio, C.; Qiu, L.; Park, Y.-i. and Allen, C. M. *Mol. Biochem. Parasitol.* **1998**, *94*, 175-184.
61. Chakrabarti, D.; Da Silva, T.; Barger, J.; Paquette, S.; Patel, H.; Patterson, S. and Allen, C. M. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 42066-42073.
62. Ibrahim, M.; Azzouz, N.; Gerold, P. and Schwarz, R. T. *Int. J. Parasitol.* **2001**, *31*, 1489-1497.
63. Eastman, R. T.; Buckner, F. S.; Yokoyama, K.; Gelb, M. H. and Van Voorhis, W. C. *J. Lipid Res.* **2006**, *47*, 233-240.
64. Eastman, R. T.; White, J.; Hucke, O.; Bauer, K.; Yokoyama, K.; Nallan, L.; Chakrabarti, D.; Verlinde, C. L. M. J.; Gelb, M. H.; Rathod, P. K. and Van Voorhis, W. C. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 13554-13559.
65. Nallan, L.; Bauer, K. D.; Bendale, P.; Rivas, K.; Yokoyama, K.; Hornéy, C. P.; Pendyala, P. R.; Floyd, D.; Lombardo, L. J.; Williams, D. K.; Hamilton, A.; Sebti, S.; Windsor, W. T.; Weber, P. C.; Buckner, F. S.; Chakrabarti, D.; Gelb, M. H. and Van Voorhis, W. C. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3704-3713.
66. Hutchinson, J. *Trans. Med. Chir. Soc. Edinburgh* **1886**, *69*, 473-477.
67. Gilford, H. *Med. Chirurg. Trans.* **1897**, *80*, 17-45.
68. Eriksson, M.; Brown, W. T.; Gordon, L. B.; Glynn, M. W.; Singer, J.; Scott, L.; Erdos, M. R.; Robbins, C. M.; Moses, T. Y.; Berglund, P.; Dutra, A.; Pak, E.; Durkin, S.; Csoka, A. B.; Boehnke, M.; Glover, T. W. and Collins, F. S. *Nature* **2003**, *423*, 293-298.
69. De Sandre-Giovannoli, A.; Bernard, R.; Cau, P.; Navarro, C.; Amiel, J.; Boccaccio, I.; Lyonnet, S.; Stewart, C. L.; Munnich, A.; Le Merrer, M. and Lévy, N. *Science* **2003**, *300*, 2055-2055.
70. Glynn, M. W. and Glover, T. W. *Hum. Mol. Genet.* **2005**, *14*, 2959-2969.
71. Fong, L. G.; Frost, D.; Meta, M.; Qiao, X.; Yang, S. H.; Coffinier, C. and Young, S. G. *Science* **2006**, *311*, 1621-1623.
72. Yang, S. H.; Chang, S. Y.; Andres, D. A.; Spielmann, H. P.; Young, S. G. and Fong, L. G. *J. Lipid Res.* **2010**, *51*, 400-405.
73. Meta, M.; Yang, S. H.; Bergo, M. O.; Fong, L. G. and Young, S. G. *Trends Mol. Med.* **2006**, *12*, 480-487.

74. End, D. W.; Mevellec, L. and Angibaud, P. *Cancer*. R. H. Bradbury, Springer Berlin Heidelberg. **2007**, *1*, 133-168-168.
75. Appels, N. M. G. M.; Beijnen, J. H. and Schellens, J. H. M. *The Oncologist* **2005**, *10*, 565-578.
76. Patel, D. V.; Schmidt, R. J.; Biller, S. A.; Gordon, E. M.; Robinson, S. S. and Manne, V. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2906-2921.
77. Pompliano, D. L.; Rands, E.; Schaber, M. D.; Mosser, S. D.; Anthony, N. J. and Gibbs, J. B. *Biochemistry* **1992**, *31*, 3800-3807.
78. Patel, D. V.; Gordon, E. M.; Schmidt, R. J.; Weller, H. N.; Young, M. G.; Zahler, R.; Barbacid, M.; Carboni, J. M.; Gullo-Brown, J. L.; Hunihan, L.; Ricca, C.; Robinson, S.; Seizinger, B. R.; Tuomari, A. V. and Manne, V. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 435-442.
79. Lamothe, M.; Perrin, D.; Blotières, D.; Leborgne, M.; Gras, S.; Bonnet, D.; Hill, B. T. and Halazy, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1291-1296.
80. Dolence, J. M. and Poulter, C. D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 5008-5011.
81. Zahn, T. J.; Weinbaum, C. and Gibbs, R. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1763-1766.
82. Tahir, S. K.; Gu, W. Z.; Zhang, H. C.; Leal, J.; Lee, J. Y.; Kovar, P.; Saeed, B.; Cherian, S. P.; Devine, E.; Cohen, J.; Warner, R.; Wang, Y. C.; Stout, D.; Arendsen, D. L.; Rosenberg, S. and Ng, S. C. *Eur. J. Cancer* **2000**, *36*, 1161-1170.
83. Singh, S. B.; Zink, D. L.; Liesch, J. M.; Goetz, M. A.; Jenkins, R. G.; Nallin-Omstead, M.; Silverman, K. C.; Bills, G. F.; Mosley, R. T.; Gibbs, J. B.; Albers-Schonberg, G. and Lingham, R. B. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 5917-5926.
84. Singh, S. B.; Liesch, J. M.; Lingham, R. B.; Silverman, K. C.; Sigmond, J. M. and Goetz, M. A. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7896-7901.
85. Gibbs, J. B.; Pompliano, D. L.; Mosser, S. D.; Rands, E.; Lingham, R. B.; Singh, S. B.; Scolnick, E. M.; Kohl, N. E. and Oliff, A. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 7617-7620.
86. Silverman, K. C.; Jayasuriya, H.; Cascales, C.; Vilella, D.; Bills, G. F.; Jenkins, R. G.; Singh, S. B. and Lingham, R. B. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1997**, *232*, 478-481.
87. Ayral-Kaloustian, S. and Salaski, E. J. *Curr. Med. Chem.* **2002**, *9*, 1003-1032.
88. Reiss, Y.; Stradley, S. J.; Gierasch, L. M.; Brown, M. S. and Goldstein, J. L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 732-736.
89. Kral, A. M.; Diehl, R. E.; deSolms, S. J.; Williams, T. M.; Kohl, N. E. and Omer, C. A. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 27319-27323.
90. Kohl, N. E.; Wilson, F. R.; Mosser, S. D.; Giuliani, E.; deSolms, S. J.; Conner, M. W.; Anthony, N. J.; Holtz, W. J.; Gomez, R. P. and Lee, T. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 9141-9145.
91. Nigam, M.; Seong, C. M.; Qian, Y.; Hamilton, A. D. and Sebti, S. M. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 20695-20698.
92. Qian, Y.; Marugan, J. J.; Fossum, R. D.; Vogt, A.; Sebti, S. M. and Hamilton, A. D. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 3011-3024.
93. Burns, C. J.; Guitton, J.-D.; Baudoin, B.; Lelièvre, Y.; Duchesne, M.; Parker, F.; Fromage, N. and Commerçon, A. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1763-1767.
94. Hunt, J. T.; Lee, V. G.; Leftheris, K.; Seizinger, B.; Carboni, J.; Mabus, J.; Ricca, C.; Yan, N. and Manne, V. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 353-358.
95. Ohkanda, J.; Buckner, F. S.; Lockman, J. W.; Yokoyama, K.; Carrico, D.; Eastman, R.; de Luca-Fradley, K.; Davies, W.; Croft, S. L.; Van Voorhis, W. C.; Gelb, M. H.; Sebti, S. M. and Hamilton, A. D. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 432-445.
96. Appels, N. M. G. M.; Bolijn, M. J.; Chan, K.; Stephens, T. C.; Hocht-Boes, G.; Middleton, M.; Beijnen, J. H.; de Bono, J. S.; Harris, A. L. and Schellens, J. H. M. *Br. J. Cancer* **2008**, *98*, 1951-1958.
97. Anthony, N. J.; Gomez, R. P.; Schaber, M. D.; Mosser, S. D.; Hamilton, K. A.; O'Neil, T. J.; Koblan, K. S.; Graham, S. L.; Hartman, G. D.; Shah, D.; Rands, E.; Kohl, N. E.; Gibbs, J. B. and Oliff, A. I. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3356-3368.
98. deSolms, S. J.; Deana, A. A.; Giuliani, E. A.; Graham, S. L.; Kohl, N. E.; Mosser, S. D.; Oliff, A. I.; Pompliano, D. L. and Rands, E. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 3967-3971.

99. Williams, T. M.; Ciccarone, T. M.; MacTough, S. C.; Bock, R. L.; Conner, M. W.; Davide, J. P.; Hamilton, K.; Koblan, K. S.; Kohl, N. E.; Kral, A. M.; Mosser, S. D.; Omer, C. A.; Pompliano, D. L.; Rands, E.; Schaber, M. D.; Shah, D.; Wilson, F. R.; Gibbs, J. B.; Graham, S. L.; Hartman, G. D.; Oliff, A. I. and Smith, R. L. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1345-1348.
100. Le Diguarher, T.; Ortuno, J.-C.; Shanks, D.; Guilbaud, N.; Pierré, A.; Raimbaud, E.; Fauchère, J.-L.; Hickman, J. A.; Tucker, G. C. and Casara, P. J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 767-771.
101. Le Diguarher, T.; Ortuno, J.-C.; Dorey, G.; Shanks, D.; Guilbaud, N.; Pierré, A.; Fauchère, J.-L.; Hickman, J. A.; Tucker, G. C. and Casara, P. J. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 3193-3204.
102. Perez, M.; Maraval, C.; Dumond, S.; Lamothe, M.; Schambel, P.; Etiévant, C. and Hill, B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1455-1458.
103. Williams, T. M.; Bergman, J. M.; Brashear, K.; Breslin, M. J.; Dinsmore, C. J.; Hutchinson, J. H.; MacTough, S. C.; Stump, C. A.; Wei, D. D.; Zartman, C. B.; Bogusky, M. J.; Culberson, J. C.; Buser-Doepner, C.; Davide, J.; Greenberg, I. B.; Hamilton, K. A.; Koblan, K. S.; Kohl, N. E.; Liu, D.; Lobell, R. B.; Mosser, S. D.; O'Neill, T. J.; Rands, E.; Schaber, M. D.; Wilson, F.; Senderak, E.; Motzel, S. L.; Gibbs, J. B.; Graham, S. L.; Heimbrook, D. C.; Hartman, G. D.; Oliff, A. I. and Huff, J. R. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 3779-3784.
104. Wlodarczyk, N.; Le Broc-Ryckewaert, D.; Gilleron, P.; Lemoine, A.; Farce, A.; Chavatte, P.; Dubois, J.; Pommery, N.; Hénichart, J.-P.; Furman, C. and Millet, R. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1178-1190.
105. Saha, A. K.; Liu, L.; Simoneaux, R.; DeCorte, B.; Meyer, C.; Skrzat, S.; Breslin, H. J.; Kukla, M. J. and End, D. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5407-5411.
106. Hunt, J. T.; Ding, C. Z.; Batorsky, R.; Bednarz, M.; Bhide, R.; Cho, Y.; Chong, S.; Chao, S.; Gullo-Brown, J.; Guo, P.; Kim, S. H.; Lee, F. Y. F.; Leftheris, K.; Miller, A.; Mitt, T.; Patel, M.; Penhallow, B. A.; Ricca, C.; Rose, W. C.; Schmidt, R.; Slusarchyk, W. A.; Vite, G. and Manne, V. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3587-3595.
107. Lombardo, L. J.; Camuso, A.; Clark, J.; Fager, K.; Gullo-Brown, J.; Hunt, J. T.; Inigo, I.; Kan, D.; Koplowitz, B.; Lee, F.; McGlinchey, K.; Qian, L.; Ricca, C.; Rovnyak, G.; Traeger, S.; Tokarski, J.; Williams, D. K.; Wu, L. I.; Zhao, Y.; Manne, V. and Bhide, R. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1895-1899.
108. Njoroge, F. G.; Taveras, A. G.; Kelly, J.; Remiszewski, S.; Mallams, A. K.; Wolin, R.; Afonso, A.; Cooper, A. B.; Rane, D. F.; Liu, Y.-T.; Wong, J.; Vibulbhan, B.; Pinto, P.; Deskus, J.; Alvarez, C. S.; del Rosario, J.; Connolly, M.; Wang, J.; Desai, J.; Rossman, R. R.; Bishop, W. R.; Patton, R.; Wang, L.; Kirschmeier, P.; Bryant, M. S.; Nomeir, A. A.; Lin, C. C.; Liu, M.; McPhail, A. T.; Doll, R. J.; Girijavallabhan, V. M. and Ganguly, A. K. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4890-4902.
109. Adjei, A. A.; Erlichman, C.; Davis, J. N.; Cutler, D. L.; Sloan, J. A.; Marks, R. S.; Hanson, L. J.; Svingen, P. A.; Atherton, P.; Bishop, W. R.; Kirschmeier, P. and Kaufmann, S. H. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 1871-1877.
110. Feldman, E. J.; Cortes, J.; DeAngelo, D. J.; Holyoake, T.; Simonsson, B.; O'Brien, S. G.; Reiffers, J.; Turner, A. R.; Roboz, G. J.; Lipton, J. H.; Maloisel, F.; Colombat, P.; Martinelli, G.; Nielsen, J. L.; Petersdorf, S.; Guilhot, F.; Barker, J.; Kirschmeier, P.; Frank, E.; Statkevich, P.; Zhu, Y.; Loechner, S. and List, A. *Leukemia* **2008**, *22*, 1707-1711.
111. Hucke, O.; Gelb, M. H.; Verlinde, C. L. M. J. and Buckner, F. S. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5415-5418.
112. Harousseau, J.-L.; Martinelli, G.; Jedrzejczak, W. W.; Brandwein, J. M.; Bordessoule, D.; Masszi, T.; Ossenkoppele, G. J.; Alexeeva, J. A.; Beutel, G.; Maertens, J.; Vidriales, M.-B.; Dombret, H.; Thomas, X.; Burnett, A. K.; Robak, T.; Khuageva, N. K.; Golenkov, A. K.; Tothova, E.; Mollgard, L.; Park, Y. C.; Bessems, A.; De Porre, P.; Howes, A. J. and for the, F.-A. M. L. I. *Blood* **2009**, *114*, 1166-1173.
113. Rao, S.; Cunningham, D.; de Gramont, A.; Scheithauer, W.; Smakal, M.; Humblet, Y.; Kourteva, G.; Iveson, T.; Andre, T.; Dostalova, J.; Illes, A.; Belly, R.; Perez-Ruixo, J. J.; Park, Y. C. and Palmer, P. A. *J. Clin. Oncol.* **2004**, *22*, 3950-3957.
114. Van Cutsem, E.; van de Velde, H.; Karasek, P.; Oettle, H.; Vervenne, W. L.; Szawlowski, A.; Schoffski, P.; Post, S.; Verslype, C.; Neumann, H.; Safran, H.; Humblet, Y.; Perez Ruixo, J.; Ma, Y. and Von Hoff, D. *J. Clin. Oncol.* **2004**, *22*, 1430-1438.

115. Lannuzel, M.; Lamothe, M.; Schambel, P.; Etievant, C.; Hill, B. and Perez, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1459-1462.
116. Hast, M. A.; Fletcher, S.; Cummings, C. G.; Pusateri, E. E.; Blaskovich, M. A.; Rivas, K.; Gelb, M. H.; Van Voorhis, W. C.; Sebt, S. M.; Hamilton, A. D. and Beese, L. S. *Chem. Biol.* **2009**, *16*, 181-192.
117. Omura, S.; Van der Pyl, D.; Inokoshi, J.; Takahashi, Y. and Takeshima, H. *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 222-228.
118. Hinterding, K.; Hagenbuch, P.; Rétey, J. and Waldmann, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1236-1239.
119. Marcia de Figueiredo, R. « Synthèse de nouveaux composés conçus pour mimer l'état de transition de la protéine farnésyltransférase » *Université Paris-Sud XI*, **2005**, Gif-sur-Yvette.
120. Coudray, L. « Synthèse d'inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase de type bisubstrat » *Université Paris-Sud XI*, **2005**, Châtenay-Malabry.
121. Duez, S. « Synthèse et évaluation biologique de nouveaux inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase » *Université Paris-Sud XI*, **2008**, Gif-sur-Yvette.
122. Lethu, S. « Études de relations structure-activité des 3-aryltiophènes, une nouvelle classe d'inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase ». *Université Paris-Sud XI*, **2009**, Gif-sur-Yvette.
123. Lethu, S. and Dubois, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 3920-3931.
124. Tron, G. C.; Pirali, T.; Billington, R. A.; Canonico, P. L.; Sorba, G. and Genazzani, A. A. *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 278-308.
125. Whiting, M.; Muldoon, J.; Lin, Y.-C.; Silverman, S. M.; Lindstrom, W.; Olson, A. J.; Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B.; Elder, J. H. and Fokin, V. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1435-1439.
126. Brik, A.; Alexandratos, J.; Lin, Y.-C.; Elder, J. H.; Olson, A. J.; Wlodawer, A.; Goodsell, D. S. and Wong, C.-H. *ChemBioChem* **2005**, *6*, 1167-1169.
127. Tam, A.; Arnold, U.; Soellner, M. B. and Raines, R. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12670-12671.
128. Bennett, I.; Broom, N.; Bruton, G.; Calvert, S.; Clarke, B.; Coleman, K.; Edmondson, R.; Edwards, P.; Jones, D.; Osborne, N. and Walker, G. *J. Antibiotics* **1991**, *44*, 331-337.
129. Kume, M.; Kubota, T.; Kimura, Y.; Nakashimizu, K.; Motokawa, M. and Nakano, M. *J. Antibiotics* **1993**, *46*, 177-192.
130. Makabe, O.; Suzuki, H. and Umezawa, S. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1977**, *50*, 2689-2693.
131. Alonso, R.; Camarasa, M. J.; Alonso, G. and De Las Heras, F. G. *Eur. J. Med. Chem.* **1980**, *15*, 105-109.
132. Srinivasan, R.; Uttamchandani, M. and Yao, S. Q. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 713-716.
133. Odlo, K.; Hentzen, J.; dit Chabert, J. F.; Ducki, S.; Gani, O. A. B. S. M.; Sylte, I.; Skrede, M.; Flørenes, V. A. and Hansen, T. V. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 4829-4838.
134. Salmon, A. J.; Williams, M. L.; Innocenti, A.; Vullo, D.; Supuran, C. T. and Poulsen, S.-A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5032-5035.
135. Jiang, Y. and Hansen, T. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 1626-1629.
136. Huisgen, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565-598.
137. Juricek, M.; Kouwer, P. H. J. and Rowan, A. E. *Chem. Commun.* **2011**, 47, 8740-8749.
138. Michael, A. *J. Prakt. Chem.* **1893**, *48*, 94-95.
139. Kolb, H. C.; Finn, M. G. and Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
140. Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V. and Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
141. Tornøe, C. W.; Christensen, C. and Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
142. Hein, J. E. and Fokin, V. V. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1302-1315.
143. Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B. and Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210-216.
144. Krasinski, A.; Fokin, V. V. and Sharpless, K. B. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1237-1240.
145. Hlasta, D. J. and Ackerman, J. H. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6184-6189.
146. Coats, S. J.; Link, J. S.; Gauthier, D. and Hlasta, D. J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1469-1472.
147. Zhang, L.; Chen, X.; Xue, P.; Sun, H. H. Y.; Williams, I. D.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. and Jia, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998-15999.

148. Boren, B. C.; Narayan, S.; Rasmussen, L. K.; Zhang, L.; Zhao, H.; Lin, Z.; Jia, G. and Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8923-8930.
149. Rasmussen, L. K.; Boren, B. C. and Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5337-5339.
150. Majireck, M. M. and Weinreb, S. M. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8680-8683.
151. Praud-Tabaries, A.; Dombrowsky, L.; Bottzek, O.; Briand, J.-F. and Blache, Y. *Tet. Lett.* **2009**, *50*, 1645-1648.
152. Feldman, A. K.; Colasson, B.; Sharpless, K. B. and Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13444-13445.
153. Padwa, A. and Sá, M. M. *Tet. Lett.* **1997**, *38*, 5087-5090.
154. Gagneux, A.; Winstein, S. and Young, W. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 5956-5957.
155. Szardenings, A. K.; Burkoth, T. S.; Look, G. C. and Campbell, D. A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6720-6722.
156. Cho, J. H. and Kim, B. M. *Tet. Lett.* **2002**, *43*, 1273-1276.
157. Salvatore, R. N.; Nagle, A. S.; Schmidt, S. E. and Jung, K. W. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1893-1896.
158. Hoogboom, J. and Swager, T. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15058-15059.
159. Montagu, A.; Roy, V.; Balzarini, J.; Snoeck, R.; Andrei, G. and Agrofoglio, L. A. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 778-786.
160. Zink, D. M.; Baumann, T.; Nieger, M. and Bräse, S. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, *2011*, 1432-1437.
161. Bastero, A.; Font, D. and Pericàs, M. A. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2460-2468.
162. Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K. and Zimmermann, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5188-5240.
163. Appukkuttan, P.; Dehaen, W.; Fokin, V. V. and Van der Eycken, E. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4223-4225.
164. Feldman, A. K.; Colasson, B. and Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3897-3899.
165. Chittaboina, S.; Xie, F. and Wang, Q. *Tet. Lett.* **2005**, *46*, 2331-2336.
166. Cavender, C. J. and Shiner, V. J. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3567-3569.
167. Nyffeler, P. T.; Liang, C.-H.; Koeller, K. M. and Wong, C.-H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 10773-10778.
168. Anselme, J. P. and Fischer, W. *Tetrahedron* **1969**, *25*, 855-859.
169. Fischer, W. and Anselme, J. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5284-5285.
170. Alper, P. B.; Hung, S.-C. and Wong, C.-H. *Tet. Lett.* **1996**, *37*, 6029-6032.
171. Goddard-Borger, E. D. and Stick, R. V. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3797-3800.
172. Suárez, J. R.; Trastoy, B.; Pérez-Ojeda, M. E.; Marín-Barrios, R. and Chiara, J. L. *Adv. Synth. Catal.* **2010**, *352*, 2515-2520.
173. Katritzky, A. R.; El Khatib, M.; Bol'shakov, O.; Khelashvili, L. and Steel, P. J. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 6532-6539.
174. Kitamura, M.; Yano, M.; Tashiro, N.; Miyagawa, S.; Sando, M. and Okauchi, T. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 458-462.
175. Beckmann, H. S. G. and Wittmann, V. *Org. Lett.* **2006**, *9*, 1-4.
176. Angelo, N. G. and Arora, P. S. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 7963-7967.
177. Lee, C.-T.; Huang, S. and Lipshutz, B. H. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 3139-3142.
178. Smith, N. M.; Greaves, M. J.; Jewell, R.; Perry, M. W. D.; Stocks, M. J. and Stonehouse, J. P. *Synlett* **2009**, 1391-1394.
179. Maisonneuve, S. and Xie, J. *Synlett* **2009**, 2977-2981.
180. Johansson, J. R.; Lincoln, P.; Nordén, B. and Kann, N. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 2355-2359.
181. Cho, C. S. *Catal. Comm.* **2006**, *7*, 1012-1014.
182. Marsella, J. A. *J. Organomet. Chem.* **1991**, *407*, 97-105.
183. De Brabander, M. J.; Van de Velre, R. M. L.; Aerts, F. E. M.; Borgers, M. and Janssen, P. A. J. *Cancer Res.* **1976**, *36*, 905-916.
184. Ingledew, W. J. and Ohnishi, T. *Biochem. J.* **1977**, *164*, 617-620.
185. Edwards, R. M.; Aiyar, N.; Ohlstein, E. H.; Weidley, E. F.; Griffin, E.; Ezekiel, M.; Keenan, R. M.; Ruffolo, R. R. and Weinstock, J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, *260*, 175-181.
186. Molvi, K. I.; Vasu, K. K.; Yerande, S. G.; Sudarsanam, V. and Haque, N. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 1049-1058.

187. Fernandez, M.-C.; Castaño, A.; Dominguez, E.; Escribano, A.; Jiang, D.; Jimenez, A.; Hong, E.; Hornback, W. J.; Nisenbaum, E. S.; Rankl, N.; Tromiczak, E.; Vaught, G.; Zarrinmayeh, H. and Zimmerman, D. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 5057-5061.
188. Paal, C. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 367-371.
189. Ozturk, T.; Ertas, E. and Mert, O. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5210-5278.
190. Paal, C. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 2756-2767.
191. Knorr, L. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 299-311.
192. Gewalt, K.; Schinke, E. and Böttcher, H. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 94-100.
193. Sabnis, R. W.; Rangnekar, D. W. and Sonawane, N. D. *J. Het. Chem.* **1999**, *36*, 333-345.
194. Fiesselmann, H.; Schipprak, P. and Zeitler, L. *Chem. Ber.* **1954**, *87*, 841-848.
195. Li, J.-J. in *Name Reactions in Heterocyclic Chemistry*. E. Wiley-Interscience, **2005**, 184-192.
196. Baraldi, P. G.; Fruttarolo, F.; Tabrizi, M. A.; Preti, D.; Romagnoli, R.; El-Kashef, H.; Moorman, A.; Varani, K.; Gessi, S.; Merighi, S. and Borea, P. A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1229-1241.
197. Sommen, G.; Comel, A. and Kirsch, G. *Synthesis* **2003**, 735-741.
198. Tominaga, Y.; Luo, J.-K. and Castle, R. N. *J. Het. Chem.* **1994**, *31*, 771-773.
199. Doyle, M. P.; Siegfried, B. and Dellaria, J. F. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 2426-2431.
200. Miyaura, N. and Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483.
201. Kotha, S.; Lahiri, K. and Kashinath, D. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 9633-9695.
202. Dalggaard, L.; Kolind-Andersen, H. and Lawesson, S. O. *Tetrahedron* **1973**, *29*, 2077-2085.
203. Nilsson, N. H. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 3181-3184.
204. Hu, S.; Huang, Y.; Poss, M. A. and Gentles, R. G. *J. Het. Chem.* **2005**, *42*, 661-667.
205. Andersen, H. S.; Olsen, O. H.; Iversen, L. F.; Sørensen, A. L. P.; Mortensen, S. B.; Christensen, M. S.; Branner, S.; Hansen, T. K.; Lau, J. F.; Jeppesen, L.; Moran, E. J.; Su, J.; Bakir, F.; Judge, L.; Shahbaz, M.; Collins, T.; Vo, T.; Newman, M. J.; Ripka, W. C. and Møller, N. P. H. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4443-4459.
206. Thomae, D.; Kirsch, G. and Seck, P. *Synthesis* **2007**, 1027-1032.
207. Augustin, M.; Rudolf, W. D. and Schmidt, U. *Tetrahedron* **1976**, *32*, 3055-3061.
208. Comel, A. and Kirsch, G. *J. Het. Chem.* **2001**, *38*, 1167-1171.
209. Huang, Q.; Richardson, P. F.; Sach, N. W.; Zhu, J.; Liu, K. K. C.; Smith, G. L. and Bowles, D. M. *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 556-564.
210. Lethu, S.; Ginisty, M.; Bosc, D. and Dubois, J. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6205-6208.
211. Datta, A.; Pooranchand, D.; Ila, H. and Junjappa, H. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 7631-7640.
212. Okazaki, R.; Negishi, Y. and Inamoto, N. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3819-3824.
213. Hornback, J. M.; Poundstone, M. L.; Vadlamani, B.; Graham, S. M.; Gabay, J. and Patton, S. T. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 5597-5601.
214. Hantzsch, A. and Weber, J. H. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1887**, *20*, 3118-3132.
215. Sandmeyer, T. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 1633-1635.
216. Sandmeyer, T. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1884**, *17*, 2650-2653.
217. Galli, C. *Chem. Rev.* **1988**, *88*, 765-792.
218. González, I. C.; Davis, L. N. and Smith Ii, C. K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4037-4043.
219. Romagnoli, R.; Baraldi, P. G.; Pavani, M. G.; Tabrizi, M. A.; Preti, D.; Fruttarolo, F.; Piccagli, L.; Jung, M. K.; Hamel, E.; Borgatti, M. and Gambari, R. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3906-3915.
220. Feutrill, G. I. and Mirrington, R. N. *Tet. Lett.* **1970**, *11*, 1327-1328.
221. Harrison, I. T. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1969**, 616-616.
222. Jung, M. E. and Lyster, M. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3761-3764.
223. Felix, A. M. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1427-1429.
224. Baldwin, L. J.; Pakray, S.; Castle, R. N. and Lee, M. L. *J. Het. Chem.* **1985**, *22*, 1667-1669.
225. Kawasaki, I.; Matsuda, K. and Kaneko, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1971**, *44*, 1986-1987.
226. Olah, G. A.; Narang, S. C.; Gupta, B. G. B. and Malhotra, R. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1247-1251.
227. Vickery, E. H.; Pahler, L. F. and Eisenbraun, E. J. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4444-4446.
228. McOmie, J. F. W.; Watts, M. L. and West, D. E. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2289-2292.

229. Bringmann, G.; Hinrichs, J.; Henschel, P.; Kraus, J.; Peters, K. and Peters, E.-M. *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *2002*, 1096-1106.
230. Fang, Z.; Song, Y.; Sarkar, T.; Hamel, E.; Fogler, W. E.; Agoston, G. E.; Fanwick, P. E. and Cushman, M. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4241-4244.
231. Schäfer, W. and Franck, B. *Chem. Ber.* **1966**, *99*, 160-164.
232. Tüng, Đ. T.; Tuân, Đ. T.; Rasool, N.; Villinger, A.; Reinke, H.; Fischer, C. and Langer, P. *Adv. Synth. Cat.* **2009**, *351*, 1595-1609.
233. Kamila, S.; Koh, B. and Biehl, E. R. *J. Het. Chem.* **2006**, *43*, 1609-1612.
234. Lee, J. C.; Bae, Y. H. and Chang, S.-K. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2004**, *24*, 407-408.
235. Ziegler, K.; Schenck, G.; Krockow, E. W.; Siebert, A.; Wenz, A. and Weber, H. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1942**, *551*, 1-79.
236. Lambert, F. L.; Ellis, W. D. and Parry, R. J. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 304-306.
237. Olah, G. A.; Wang, Q.; Sandford, G. and Surya Prakash, G. K. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3194-3195.
238. Ridge, D. N.; Hanifin, J. W.; Harten, L. A.; Johnson, B. D.; Menschik, J.; Nicolau, G.; Sloboda, A. E. and Watts, D. E. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 1385-1389.
239. Patani, G. A. and LaVoie, E. J. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 3147-3176.
240. Meanwell, N. A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 2529-2591.
241. Cope, A. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59*, 2327-2330.
242. Milart, P.; Wilamowski, J. and Sepiol, J. *J. Tetrahedron* **1998**, *54*, 15643-15656.
243. Barnes, D. M.; Haight, A. R.; Hameury, T.; McLaughlin, M. A.; Mei, J.; Tedrow, J. S. and Riva Toma, J. D. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11311-11319.
244. Bassindale, A. R. and Stout, T. *Tet. Lett.* **1985**, *26*, 3403-3406.
245. Rosowsky, A.; Chen, K. K. N. and Lin, M. *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 191-194.
246. Abdelrazek, F. M.; Salah El-Din, A. M. and Mekky, A. E. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1813-1817.
247. Peet, N. P.; Sunder, S.; Barbuch, R. J. and Vinogradoff, A. P. *J. Het. Chem.* **1986**, *23*, 129-134.
248. Grimmett, M. R. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. R. K. Alan and W. R. Charles. Oxford, Pergamon. **1984**, 373-456.
249. Pierce, M. E.; Carini, D. J.; Huhn, G. F.; Wells, G. J. and Arnett, J. F. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4642-4645.
250. Sonogawa, M.; Yokota, M.; Tomiyama, H. and Tomiyama, T. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 706-710.
251. Abdel-Magid, A. F.; Carson, K. G.; Harris, B. D.; Maryanoff, C. A. and Shah, R. D. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3849-3862.
252. Ohkanda, J.; Lockman, J. W.; Kothare, M. A.; Qian, Y.; Blaskovich, M. A.; Sebti, S. M. and Hamilton, A. D. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 177-188.
253. Green, N.; Hu, Y.; Janz, K.; Li, H.-Q.; Kaila, N.; Guler, S.; Thomason, J.; Joseph-McCarthy, D.; Tam, S. Y.; Hotchandani, R.; Wu, J.; Huang, A.; Wang, Q.; Leung, L.; Pelker, J.; Marusic, S.; Hsu, S.; Telliez, J.-B.; Hall, J. P.; Cuzzo, J. W. and Lin, L.-L. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4728-4745.
254. Curtin, M. L.; Florjancic, A. S.; Cohen, J.; Gu, W.-Z.; Frost, D. J.; Muchmore, S. W. and Sham, H. L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1367-1371.
255. Gutierrez, C. D.; Bavetsias, V. and McDonald, E. *Tet. Lett.* **2005**, *46*, 3595-3597.
256. White, W. A. and Weingarten, H. *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 213-214.
257. Barney, C. L.; Huber, E. V. and R. McCarthy, J. *Tet. Lett.* **1990**, *31*, 5547-5550.
258. Hussein, H. A. R. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* **2007**, *182*, 2069-2085.
259. Albright, J. D.; DeVries, V. G.; Du, M. T.; Largis, E. E.; Miner, T. G.; Reich, M. F. and Shepherd, R. G. *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 1393-1411.
260. Boger, D. L.; Yohannes, D.; Zhou, J. and Patane, M. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3420-3430.
261. Fettes, A. and Carreira, E. M. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9274-9283.
262. Heydari, A. and Hosseini, S. E. *Adv. Synth. Cat.* **2005**, *347*, 1929-1932.
263. Han, G.; Tamaki, M. and Hruby, V. J. *J. Peptide Res.* **2001**, *58*, 338-341.
264. Evans, B. E.; Lundell, G. F.; Gilbert, K. F.; Bock, M. G.; Rittle, K. E.; Carroll, L. A.; Williams, P. D.; Pawluczyk, J. M. and Leighton, J. L. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3993-4005.

265. Barral, K.; Moorhouse, A. D. and Moses, J. E. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1809-1811.
266. Maradiya, H. R. and Patel, V. S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2002**, *38*, 1324-1330-1330.
267. Pokhodylo, N. T.; Matiychuk, V. S. and Obushak, M. D. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 2678-2683.
268. Vagner, J.; Qu, H. and Hruby, V. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 292-296.
269. Sifferlen, T.; Rueping, M.; Gademann, K.; Jaun, B. and Seebach, D. *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 2067-2093.
270. Gatewood, E. S. and Johnson, T. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1926**, *48*, 2900-2905.
271. Clausen, K.; Thorsen, M. and Lawesson, S. O. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 3635-3639.
272. Jesberger, M.; Davis, T. P. and Barner, L. *Synthesis* **2003**, 1929-1958.
273. Cava, M. P. and Levinson, M. I. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5061-5087.
274. Nishio, T. and Ori, M. *Helv. Chim. Acta* **2001**, *84*, 2347-2354.
275. Davy, H. J. *Chem. Soc.* **1982**, 457-458.
276. Lajoie, G.; Lépine, F.; Maziak, L. and Belleau, B. *Tet. Lett.* **1983**, *24*, 3815-3818.
277. Yokoyama, M.; Hasegawa, Y.; Hatanaka, H.; Kawazoe, Y. and Imamoto, T. *Synthesis* **1984**, 827-829.
278. Aurelio, L.; Brownlee, R. T. C. and Hughes, A. B. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 5823-5846.
279. McDermott, J. R. and Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1973**, *51*, 1915-1919.
280. Coggins, J. R. and Benoiton, N. L. *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 1968-1971.
281. Marino, G.; Valente, L.; Johnstone, R. A. W.; Mohammedi-Tabrizi, F. and Sodini, G. C. *J. Chem. Soc.* **1972**, 357-358.
282. Gellman, S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173-180.
283. Laurencin, M.; Bauchat, P. and Baudy-Floc'h, M. *Synthesis* **2009**, 1007-1013.
284. Cheguillaume, A.; Doubli-Bounoua, I.; Baudy-Floc'h, M. and Le Grel, P. *Synlett* **2000**, 331-334.
285. Cheguillaume, A.; Salaün, A.; Sinbandhit, S.; Potel, M.; Gall, P.; Baudy-Floc'h, M. and Le Grel, P. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4923-4929.
286. Gassman, P. G.; Van Bergen, T. J.; Gilbert, D. P. and Cue, B. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 5495-5508.
287. Millet, R.; Domarkas, J.; Houssin, R.; Gilleron, P.; Goossens, J.-F.; Chavatte, P.; Logé, C.; Pommery, N.; Pommery, J. and Hénichart, J.-P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6812-6820.
288. Kabalka, G. W.; Wang, L. and Pagni, R. M. *Green. Chem.* **2001**, *3*, 261-262.
289. Dommerholt, J.; Schmidt, S.; Temming, R.; Hendriks, L. J. A.; Rutjes, F. P. J. T.; van Hest, J. C. M.; Lefeber, D. J.; Friedl, P. and van Delft, F. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9422-9425.
290. Pompliano, D. L.; Gomez, R. P. and Anthony, N. J. *J Am Chem Soc* **1992**, *114*, 7946-7946.
291. Cassidy, P. B.; Dolence, J. M. and Poulter, C. D. *Methods Enzym.* **1995**, *250*, 30-43.
292. Desjardins, R. E.; Canfield, C. J.; Haynes, J. D. and Chulay, J. D. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1979**, *16*, 710-718.
293. Guillon, J.; Grellier, P.; Labaied, M.; Sonnet, P.; Léger, J.-M.; Déprez-Poulain, R.; Forfar-Bares, I.; Dallemagne, P.; Lemaître, N.; Péhourcq, F.; Rochette, J.; Sergheraert, C. and Jarry, C. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 1997-2009.
294. O'Brien, J.; Wilson, I.; Orton, T. and Pognan, F. *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 5421-5426.
295. Bastos, I. M. D.; Motta, F. N.; Charneau, S.; Santana, J. M.; Dubost, L.; Augustyns, K. and Grellier, P. *Microb. Infect.* **2010**, *12*, 457-466.
296. Li, J.; Cao, J.-j.; Wei, J.-f.; Shi, X.-y.; Zhang, L.-h.; Feng, J.-j. and Chen, Z.-g. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 229-233.
297. Díez-González, S.; Correa, A.; Cavallo, L. and Nolan, S. P. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 7558-7564.
298. Evans, D. A.; Britton, T. C.; Ellman, J. A. and Dorow, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 4011-4030.
299. van Meurs, F. and van Bekkum, H. *J. Organomet. Chem.* **1977**, *133*, 321-326.
300. Anderson, W. K.; Boehm, T. L.; Makara, G. M. and Swann, R. T. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 46-55.
301. Chen, S. and Xu, J. *Tet. Lett.* **1992**, *33*, 647-650.

Synthèse et évaluation biologique d'hétérocycles à cinq chaînons, inhibiteurs de la protéine farnésyltransférase

La protéine farnésyltransférase (FTase) est une métalloenzyme à zinc catalysant le transfert d'une chaîne farnésyle provenant du pyrophosphate de farnésyle (FPP) sur le résidu cystéine de certaines protéines possédant un motif CaaX C-terminal où C est la cystéine farnésylée, a est un acide aminé aliphatique et X est Ser, Ala, Gln ou Met. Une fois additionné, le groupement farnésyle fait office de point d'ancrage rendant possible la fixation des protéines à la membrane cellulaire et de guide moléculaire facilitant la liaison de ces protéines prénylées à d'autres protéines.

D'abord étudiée en oncologie, la FTase constitue aujourd'hui une cible potentielle pour la thérapie antiparasitaire qui manque cruellement de médicaments suite à l'apparition de phénomènes de résistance. La nécessité d'améliorer les thérapies existantes ouvre la voie de recherches innovantes pour trouver de nouvelles molécules bioactives.

Lors de ces travaux de thèse, les deux stratégies de recherche pratiquées en chimie médicinale ont été utilisées.

La première approche a consisté à synthétiser des analogues bisubstrats 1,2,3-triazoles pouvant se lier à la fois sur le site de liaison de la protéine et sur celui du FPP. Cette approche rationnelle a aussi permis d'ébaucher une synthèse monotope de triazoles 1,5-disubstitués à partir d'amines primaires.

L'approche par criblage constitue la deuxième méthode de recherche de nouveaux inhibiteurs. Dans ce contexte, la chimiothèque de l'ICSN a été criblée et deux composés de type 3-arylthiophène ont révélé de bonnes activités et une structure originale dans l'inhibition de la FTase. Ainsi, des travaux de relations structure-activité ont été réalisés pour moduler les différentes positions du thiophène et la nature de l'hétérocycle central.

Ce travail nous a permis d'élaborer une librairie de plus d'une centaine de composés. L'évaluation biologique de ces analogues sur FTases isolées humaine et de *T. brucei* et sur parasites *T. brucei* et *P. falciparum* a révélé des molécules particulièrement intéressantes et prometteuses.

Mots-clefs : protéine farnésyltransférase, inhibiteur bisubstrat, inhibiteur compétitif, antiparasitaire, relations structure-activité, thiophène, triazole, synthèse monotope.

Synthesis and biological evaluation of five-membered heterocycles, inhibitors of protein farnesyltransferase

Protein farnesyltransferase (FTase) is a zinc metalloenzyme which catalyzes the transfer of a farnesyl chain from farnesyl pyrophosphate (FPP) to the cysteine residue of some proteins possessing a C-terminal CaaX moiety where C is the farnesylated cysteine, a is an aliphatic amino-acid and X is Ser, Ala, Gln or Met. Once attached, the farnesyl group serves as anchors for fixing proteins to cell membrane and as molecular handles for facilitating binding of these prenylated proteins to other proteins.

First studied in oncology, FTase constitutes nowadays a potential target for antiparasitic therapies, where drugs are missing due to the appearance of resistance phenomena. The necessity to improve the existing therapies paves the way of innovating researches to find new bioactive molecules.

During this Ph.D work, two strategies of research used in medicinal chemistry were performed.

The first approach consisted in the synthesis of bisubstrate analogues with a 1,2,3-triazole core devised to tie up both to the protein and the FPP binding sites. This rational approach also allowed to draft a one-pot synthesis of 1,5-disubstituted triazoles from primary amines.

The screening approach was the second strategy to search for new inhibitors. For this purpose, ICSN chemical library was screened and two 3-arylthiophene compounds disclosed good activities and an original scaffold for FTase inhibition. Therefore, a structure-activity relationship study was carried out to modulate the different positions of the thiophene and the nature of the central heterocycle.

This work allowed us to create a above-hundred-molecule library. The biological evaluation of these analogues on human and *T. brucei* isolated FTase and on *T. brucei* and *P. falciparum* parasites revealed particularly interesting and promising molecules.

Keywords: protein farnesyltransferase, bisubstrat inhibitor, competitive inhibitor, antiparasitic, structure-activity relationships, thiophene, triazole, one-pot synthesis.