



HAL
open science

Modifications fonctionnelles en position C2 des 8-alkylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-ones et stratégie d'extension de fragment pour la synthèse d'inhibiteurs de kinases de la famille DYRK

Florence Couly

► **To cite this version:**

Florence Couly. Modifications fonctionnelles en position C2 des 8-alkylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-ones et stratégie d'extension de fragment pour la synthèse d'inhibiteurs de kinases de la famille DYRK. Chimie organique. Normandie Université, 2018. Français. NNT : 2018NORMIR12 . tel-01997231

HAL Id: tel-01997231

<https://theses.hal.science/tel-01997231>

Submitted on 28 Jan 2019

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.



Normandie Université

THESE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité CHIMIE

Préparée au sein de l'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen

Modifications fonctionnelles en position C2 des 8-alkylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-ones et stratégie d'extension de fragment pour la synthèse d'inhibiteurs de kinases de la famille DYRK

Présentée et soutenue par
Florence COULY

Thèse soutenue publiquement le 12 octobre 2018
devant le jury composé de

M. Pascal MARCHAND	Professeur / Université de Nantes	Examineur
Mme Florence MONGIN	Professeure / Université de Rennes 1	Rapporteur
Mme Pascale MOREAU	Professeure / Université de Clermont Auvergne	Rapporteur
M. Cyrille SABOT	CR CNRS / Université de Rouen - Normandie	Examineur
Mme Corinne FRUIT	MCU HDR / Université de Rouen - Normandie	Codirecteur de thèse
M. Thierry BESSON	Professeur / Université de Rouen - Normandie	Directeur de thèse

Thèse dirigée par Thierry BESSON (Prof) et Corinne FRUIT (MCU HDR), laboratoire COBRA UMR 6014

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les Pr. Pascal Marchand, Florence Mongin et Pascale Moreau ainsi que le Dr. Cyrille Sabot d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ces travaux de thèse.

Je remercie le Pr. Xavier Pannecoucke, directeur de l'UMR CNRS 6014 COBRA, de m'avoir permis d'effectuer ces travaux de thèse, au sein de l'IRCOF. Je remercie également le Dr. Vincent Levacher, responsable de l'équipe hétérocycle, de son accueil chaleureux au sein du groupe.

Merci au Pr. Thierry Besson et au Dr. Corinne Fruit d'avoir dirigé ces travaux. Merci de votre confiance et de votre disponibilité.

Merci au Dr. Sylvain Laclef, sans qui je n'aurais probablement jamais mis les pieds à Rouen. Merci d'avoir parlé de moi au Pr. Thierry Besson lorsque je cherchais une thèse.

Je souhaite aussi remercier le Pr. Thomas Lecourt pour son accompagnement dans le cadre des missions d'enseignement. Merci pour tout le temps que tu as pris pour répondre à mes nombreuses questions lors de la préparation des TD de ta matière. Merci pour ta pédagogie et ta patience.

Un profond merci aux différents post-docs avec qui j'ai eu la chance de travailler : les Dr. Julien Godeau, Jonathan Elie et Clément Berthonneau. Merci pour ces longues discussions autour de la chimie (entre autres) et de m'avoir transmis toutes ces connaissances. Merci pour votre écoute, votre soutien et vos nombreux conseils. Je remercie aussi Carole Dubouilh-Benard pour ces quelques mois par an passés ensemble. Merci pour ta bonne humeur et ces moments de partage.

Merci au Dr. Marine Harari. En plus d'un accueil chaleureux, c'est une réelle amitié que j'ai trouvé à tes côtés. Cette première année fut particulièrement agréable, rythmée de fous-rires et autres chants de Noël. Merci pour ta joie de vivre communicative, tes conseils pertinents et ce chignon qui ne va qu'à toi.

Je tiens à remercier les autres membres actuels ainsi que les « anciens » de l'IRCOF, avec qui j'ai beaucoup partagé. Un merci plus particulier à Marine Gavel, Elodie Carbonnel, Mégane Pons, Claire Segovia, Lætitia Bailly, Emilie Petit, Ludovic Peauger et aux Dr. Kathleen Solmont, Amandine Pons, Timothée Cadart, Kévin Mebarki, Fabinou Legros, Emmanuel Deau, Rabah Azzouz, Souad Ouizem, Anaïs Barré, avec une mention spéciale pour le Dr. Jonathan Hédouin.

Mes sincères remerciements aux Dr. Aurélien Jacquin-Labarre et Thibaut Courant. Merci, vraiment, pour votre écoute et vos conseils pro comme perso. Merci d'avoir été là quand le moral n'était pas au beau fixe et d'avoir su trouver les mots pour me faire avancer et me redonner confiance.

Merci à mes amis chimistes amiénois, Thibaut Chartrel, Lucas Fontaine, Thibault De Visme et Clémence Louchet. Merci d'avoir supporté mes craquages, folies et chants. Merci d'avoir été là, tout simplement.

Merci aussi à mes amis qui, malgré la distance, sont restés présents. Merci à Noémie Frigo, Arthur Réant et Alisée Savard. Merci aussi à Nawel Zaouai d'avoir toujours le mot juste pour un réconfort sans faille.

Un merci plus que particulier à mes meilleures amies ; celles qui me soutiennent et qui m'ont soutenue depuis maintenant plus de dix ans. Merci à Anissa Pecheux, Audrey Henwood, Bérengère Deuil, Charlotte Bocquet, Margaux Levasseur, Ophélie Bucher et Solène Viard. Merci d'être là, toujours présentes, malgré la distance.

Je tiens à profondément remercier ma famille. Sylvie Couly, Bruno Couly, Chrisian Couly, Marion Couly, Olivier Couly, Johanne Dumon, Alexia Couly, Isis Couly, Michel Couly, Iréna Couly et Christophe Couly, merci pour votre écoute, votre soutien et votre bonheur communicatif. Merci de donner ce sens au mot « famille ».

Je crois qu'un remerciement ne serait pas suffisant pour toi, Gauthier Foubert. Merci de ton soutien à toute épreuve. Merci d'être toi, de me faire rire et rêver, de m'écouter, de me comprendre, de m'aimer.

A Guy, Annie, Vincent, merci d'avoir été là. Merci, Guy, de m'avoir tant fait rêver avec ces histoires de marins. Merci, Annie, de m'avoir transmis cette passion débordante pour la nature et ce caractère révolutionnaire. J'ai appris à tes côtés ce que « se battre » signifiait. Merci, Vincent, pour cette enfance passée à tes côtés. Où que vous soyez, je vous remercie.

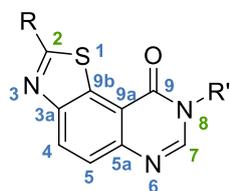
Abréviations

A	Ac	Acétate
	AcOEt	Acétate d'éthyle
	AcOH	Acide acétique
	APP	Amyloid Precursor Proteins
	Ar	Aryle
	ATP	Adénosine Triphosphate
B	BHE	Barrière hémato-encéphalique
	Bipy	Bipyridine
	Bn	Benzyle
	Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyle
C	CDKs	Kinases Dépendantes des Cyclines
	CK	Caséine Kinase
	CLK	Cdc2-like Kinase
	CMD	Méallation-déprotonation concertée
	n-CMD	Méallation-déprotonation non concertée
	cPr	Cyclopropyle
D	DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
	DCM	Dichlorométhane
	DMADMF	<i>N,N</i> -Diméthylacétal du diméthylformamide
	DMA	<i>N,N</i> -Diméthylacétamide
	DMAP	4-Diméthylaminopyridine
	DMEDA	<i>N,N'</i> -Diméthyléthylènediamine
	DMF	<i>N,N</i> -Diméthylformamide
	DMSO	Diméthylsulfoxyde
	DYRK	Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation Regulated Kinase

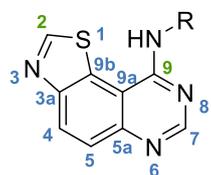
E	EGCG	Epigallocatechin Gallate
	Et	Ethyle
H	HetAr	Hétéroaryle
	HRMS	Spectrométrie de Masse à Haute Résolution
I	IC₅₀	Concentration moléculaire pour obtenir 50% d'inhibition de l'activité enzymatique
	<i>i</i>Pr	Isopropyle
	IR	Infrarouge
M	MA	Maladie d'Alzheimer
	MAP	Microtubule-Associated Protein
	Me	Méthyle
	M.O. (M.W.)	Micro-onde
N	NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimide
	NMP	<i>N</i> -Méthyl-2-pyrrolidone
P	Ph	Phényle
	Phen	1,10-Phénantroline
	Py	Pyridine
R	RSA	Relation structure/activité
	Rdt	Rendement
	RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
S	SD	Syndrome de Down
	S_EAr	Substitution électrophile aromatique
	SNC	Système Nerveux Central

T	t.a.	Température ambiante
	Tau	Tubulin-associated unit
	TBAB	Bromure de tetra- <i>n</i> -butylammonium
	TBD	1,5,7-Triazabicyclo[4.4.0]déc-5-ène
	TFA	Acide trifluoroacétique
	THF	Tétrahydrofurane

Numérotation des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones, thiazolo[5,4-*f*]quinazolines et benzo[*d*]thiazoles



R = H, thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one
 R = CN, 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-2-carbonitrile

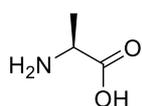


thiazolo[5,4-*f*]quinazoline

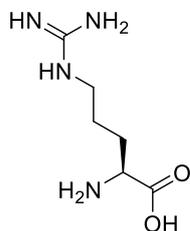


Benzo[*d*]thiazole

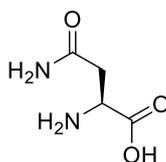
Les acides aminés standards



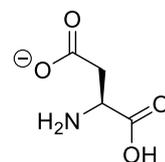
L-Alanine (Ala)



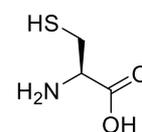
L- Arginine (Arg)



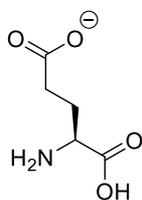
L-Asparagine (Asn)



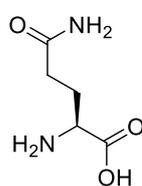
L-Aspartate (Asp)



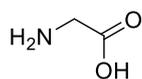
L-Cystéine (Cys)



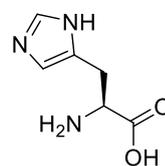
L-Glutamate (Glu)



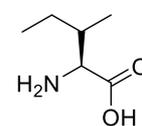
L-Glutamine (Gln)



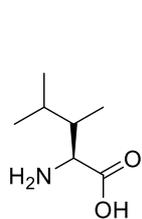
Glycine (Gly)



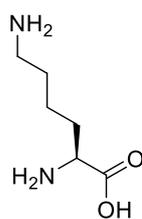
L-Histidine (His)



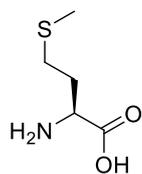
L-Isoleucine (Ile)



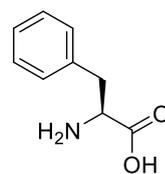
L-Leucine (Leu)



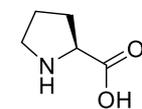
L-Lysine (Lys)



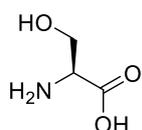
L-Méthionine (Met)



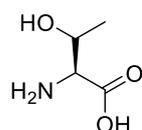
L-Phénylalanine (Phe)



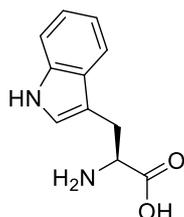
L-Proline (Pro)



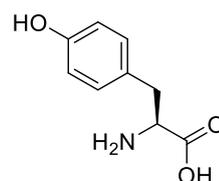
L-Sérine (Ser)



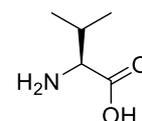
L-Thréonine (Thr)



L-Tryptophane (Trp)



L-Tyrosine (Tyr)



L-Valine (Val)

Table des matières

Introduction Générale.....	6
1. Les protéines kinases.....	8
2. DYRK1A.....	12
2.a. L'implication de DYRK1A dans le système nerveux central	12
2.a.i. La phosphorylation de la protéine Tau	13
2.a.ii. La phosphorylation des précurseurs amyloïdes.....	14
2.b. L'implication de DYRK1A dans le cycle cellulaire.....	15
3. Les inhibiteurs de DYRK1A	18
3.a. Les inhibiteurs naturels de DYRK1A.....	19
3.b. Les inhibiteurs synthétiques de DYRK1A	20
3.b.i. Les dérivés des pyridines et pyrimidines.....	20
3.b.ii. Les quinolines et les quinazolines	22
3.b.iii. Les dérivés d'indoles.....	23
3.b.iv. Les dérivés de l'harmine	24
3.b.v. Les dérivés d'imidazoles et d'imidazolones.....	24
3.b.vi. Les dérivés de benzothiazoles	25
4. Le motif benzo[<i>d</i>]thiazole	27
4.a. L'activité biologique reconnue des benzo[<i>d</i>]thiazoles	27
4.b. La formation des benzo[<i>d</i>]thiazoles	28
4.b.i. Les voies de synthèse usuelles pour la formation des benzo[<i>d</i>]thiazoles.....	28
4.b.ii. L'utilisation du Sel d'Appel pour la formation des benzo[<i>d</i>]thiazoles	30
5. Les travaux antérieurs du laboratoire	32
5.a. Contexte de recherche	32
5.b. Synthèse des thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolines	34
5.c. Synthèse des thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones et de leurs isomères de position...	37
6. Les objectifs de thèse	43

Chapitre 1 : Synthèse des dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles et addition nucléophile d'un acide aminé ou d'une amine sur leur fonction en C2 46

I.1. Introduction	47
I.2. Synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués	52
I.2.a. Première stratégie : synthèse de la quinazolin-4(3 <i>H</i>)-one N3-substituée puis formation du fragment thiazole.	53
I.2.b. Seconde stratégie : synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués via le 6-amino-2-cyanobenzo[<i>d</i>]thiazole-7-carboxylate de méthyle 20	56
I.3. Pharmacomodulation du nitrile en C2 des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués	60
I.3.a. Addition nucléophile d'acides aminés sur les dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles	60
I.3.b. Addition nucléophile d'acides aminés sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbimide de méthyle 30	61
I.3.b.i Synthèse du précurseur	61
I.3.b.ii Addition nucléophile d'un acide aminé sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbimide de méthyle 9	65
I.3.c. Addition nucléophile sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles 9 avec d'autres nucléophiles	66
I.4. Conclusions et perspectives	68
I.5. Partie expérimentale	70

Chapitre 2 : Fonctionnalisation directe par C–H activation des positions C2 et C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-substituées : C–H arylation et C–H alcénylation. 89

II.1. Introduction	92
II.1.a. L'arylation des benzo[<i>d</i>]thiazoles	95
II.1.b. L'arylation des quinazolin-4(3 <i>H</i>)-ones	101
II.1.c. Travaux antérieurs du laboratoire sur la réaction d'arylation	102
II.1.d. Objectifs du chapitre	105
II.2. C–H arylation des positions C2 et C7 de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	107
II.2.a. Synthèse de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	107

II.2.a.i	Décyanation du 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitrile 9	107
II.2.a.ii	Optimisation de la synthèse.....	108
II.2.a.ii.(a)	Etude bibliographique	108
II.2.a.ii.(b)	Optimisation de la synthèse	111
II.2.b.	Arylation séquentielle des positions C2 et C7.....	120
II.2.b.i	Bis-arylation des positions C2 et C7 de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	120
II.2.b.ii	Mono-arylation en position C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	121
II.2.b.iii	Arylation en C7 des 2-aryl-8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones	124
II.2.c.	Débenzylation des dérivés thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones.....	125
II.3.	C–H arylation sélective de la position C2 de thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-substituées	131
II.3.a.	Arylation directe de la position C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 42	131
II.3.a.i	Synthèse de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 42	131
II.3.a.ii	Optimisation de la réaction de C–H arylation sur la 8-cyclopropylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 42	131
II.3.a.iii	Exemplification de la réaction de C–H arylation sur la 8-cyclopropylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 42	132
II.3.b.	Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-substituées	133
II.3.b.i	Synthèse des thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-substituées	134
II.3.b.ii	Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-alkyles	137
II.3.b.iii	Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-alkylesters.....	138
II.4.	C–H alcénylation en C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	140
II.5.	Conclusions et perspectives.....	146
II.6.	Partie expérimentale	148

Chapitre 3 : Evaluation biologique	185
III.1. Introduction	187
III.2. Evaluation de l'activité inhibitrice	190
III.2.a. Les thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones substituées en C2.....	191
III.2.b. Les 8-benzyl-2,7-di- et bis-arylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones.....	194
III.3. Etude des relations structure/activité.....	196
III.4. Evaluation des propriétés biologiques du FC162	199
III.4.a. Kinome scan.....	199
III.4.b. Co-cristal FC162/DYRK1A	200
III.4.c. Effets du FC162 (86) sur DYRK1A en milieu cellulaire.....	201
III.4.c.i Dans les neuroblastes.....	201
III.4.c.ii Dans les cellules pré-B	202
III.4.d. Diffusion passive de la BHE	204
III.5. Conclusions et perspectives.....	205
Chapitre 4 : Modulation des positions C2 et C7 des benzo[<i>d</i>]thiazoles	206
IV.1. Introduction	208
IV.2. Fonctionnalisation des positions C2 et C7 du 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-2,7-dicarbonitrile 116 <i>via</i> des réactions d'addition nucléophile	211
IV.2.a. Synthèse du 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-2,7-dicarbonitrile 116	211
IV.2.b. Etude de la régiosélectivité du 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-2,7-dicarbonitrile 116	213
IV.2.b.i Addition du méthanolate	213
IV.2.b.ii Addition de la <i>p</i> -toluidine.....	214
IV.2.b.iii Addition de l'hydroxylamine	215
IV.2.c. Formation du 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-2,7-dicarbonitrile substitué en C7 par un groupement amidine	215
IV.3. Fonctionnalisation des benzo[<i>d</i>]thiazoles en position C2 <i>via</i> une réaction d'arylation directe	217
IV.3.a. Arylation directe en C2 des 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-7-carboxylates de méthyle. 217	
IV.3.b. Arylation directe en C2 des 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazoles	221

IV.3.c. Arylation directe en C2 du 6-méthoxybenzo[<i>d</i>]thiazole	222
IV.4. Evaluation de l'activité inhibitrice	224
IV.5. Conclusions et perspectives.....	225
IV.6. Partie expérimentale	228
Conclusions générales et perspectives	239
General methods.....	244
I. Chemistry	244
II. Inhibition potency and IC ₅₀	245
III. Kinase Interaction Panel (Ambit Biosciences/DiscoverX).....	247
IV. Neuroblastoma cells Assays.....	247
V. Pre-B cells Assays	248
VI. Pampa BBB procedure	249
Liste des produits	250
Bibliographie.....	258

Introduction Générale

Introduction générale

1. Les protéines kinases.....	8
2. DYRK1A.....	12
2.a. L'implication de DYRK1A dans le système nerveux central	12
2.a.i. La phosphorylation de la protéine Tau	13
2.a.ii. La phosphorylation des précurseurs amyloïdes.....	14
2.b. L'implication de DYRK1A dans le cycle cellulaire.....	15
3. Les inhibiteurs de DYRK1A	18
3.a. Les inhibiteurs naturels de DYRK1A.....	19
3.b. Les inhibiteurs synthétiques de DYRK1A	20
3.b.i. Les dérivés des pyridines et pyrimidines.....	20
3.b.ii. Les quinolines et les quinazolines	22
3.b.iii. Les dérivés d'indoles.....	23
3.b.iv. Les dérivés de l'harmine	24
3.b.v. Les dérivés d'imidazoles et d'imidazolones.....	24
3.b.vi. Les dérivés de benzothiazoles	25
4. Le motif benzo[<i>d</i>]thiazole	27
4.a. L'activité biologique reconnue des benzo[<i>d</i>]thiazoles	27
4.b. La formation des benzo[<i>d</i>]thiazoles	28
4.b.i. Les voies de synthèse usuelles pour la formation des benzo[<i>d</i>]thiazoles.....	28
4.b.ii. L'utilisation du Sel d'Appel pour la formation des benzo[<i>d</i>]thiazoles	30
5. Les travaux antérieurs du laboratoire	32
5.a. Contexte de recherche	32
5.b. Synthèse des thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolines	34
5.c. Synthèse des thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones et de leurs isomères de position...	37
6. Les objectifs de thèse	43

1. Les protéines kinases

Les kinases sont des enzymes du groupe des transférases. Ces enzymes catalysent des réactions de phosphorylation sur des molécules cibles, appelées substrats, tels qu'une protéine, un lipide ou encore un sucre.

Lorsque le substrat est une protéine, on parle de protéines kinases. Ce sous-groupe est composé de 518 kinases, constituant 1,7% du génome humain. Il est responsable de la majorité de la transduction du signal dans les cellules eucaryotes, c'est-à-dire du mécanisme par lequel les cellules répondent à l'information qu'elles reçoivent. De plus, il contrôle de nombreux autres processus cellulaires, notamment le métabolisme, la transcription, le réarrangement du cytosquelette, l'apoptose ou encore la différenciation. Les protéines kinases jouent aussi un rôle essentiel dans la communication intercellulaire lors de sa phase de croissance, ainsi que dans le fonctionnement des systèmes nerveux et immunitaire. Les mutations et le dysfonctionnement de ces enzymes peuvent donc engendrer des répercussions pathologiques graves.¹

Il existe deux familles de protéines kinases : les tyrosines kinases et les serines-thréonines kinases, classées en fonction de l'acide aminé phosphorylé. Dans les deux cas, le transfert du groupement phosphate de l'adénosine triphosphate (ATP) s'effectue sur un résidu substitué par un groupement hydroxyle (Schéma 1).

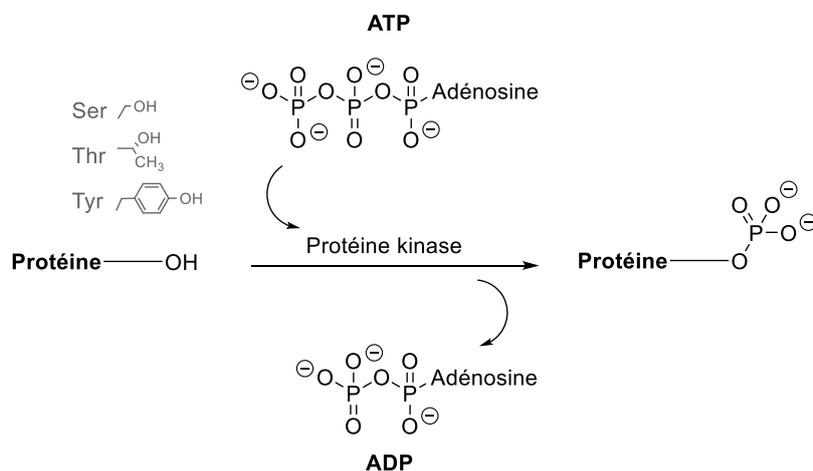


Schéma 1 : Phosphorylation d'une protéine par l'ATP catalysée par une protéine kinase.

Toutes les protéines kinases possèdent des structures proches d'environ 300 acides aminés : ces enzymes sont composées d'un petit lobe N-terminal, et d'un grand lobe C-terminal. Le petit lobe est

¹ G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science* **2002**, 298, 1912–1934.

constitué d'un feuillet bêta à 5 brins (bleu), d'une hélice alpha (hélice α C, orange) et d'une boucle P (jaune) tandis que le grand lobe est principalement constitué d'une hélice alpha (rose) et d'une boucle d'activation (vert). Les sites d'ancrage de l'ATP et du substrat se font dans la région située entre ces deux lobes, appelée poche catalytique. La spécificité de la kinase est directement liée à la structure de cette poche, dont seule la région permettant la reconnaissance du substrat varie d'une kinase à une autre (Schéma 2).

Les protéines kinases peuvent être sous une forme active ou inactive grâce à la modification de l'orientation d'un lobe par rapport à l'autre. Dans le premier cas, des résidus de l'hélice α C peuvent interagir avec le substrat à phosphoryler. De plus, la boucle d'activation, très flexible, peut adopter une conformation étendue dans la poche catalytique, stabilisée par la phosphorylation d'un ou plusieurs de ses résidus. L'activation de la kinase est induite par cette phosphorylation.

L'extrémité de la boucle d'activation permet d'augmenter l'affinité avec l'ATP. Il est constitué de trois résidus conservés chez toutes les kinases : la triade aspartate-phénylalanine-glycine ou motif DFG. Une kinase active est dite « DFG-in » : sa configuration ouverte permet aux substrats d'accéder au site actif. Par opposition, la forme fermée et inactive « DFG-out » empêchera la phosphorylation de la protéine, en raison de la gêne stérique générée par la boucle d'activation (Schéma 2).²

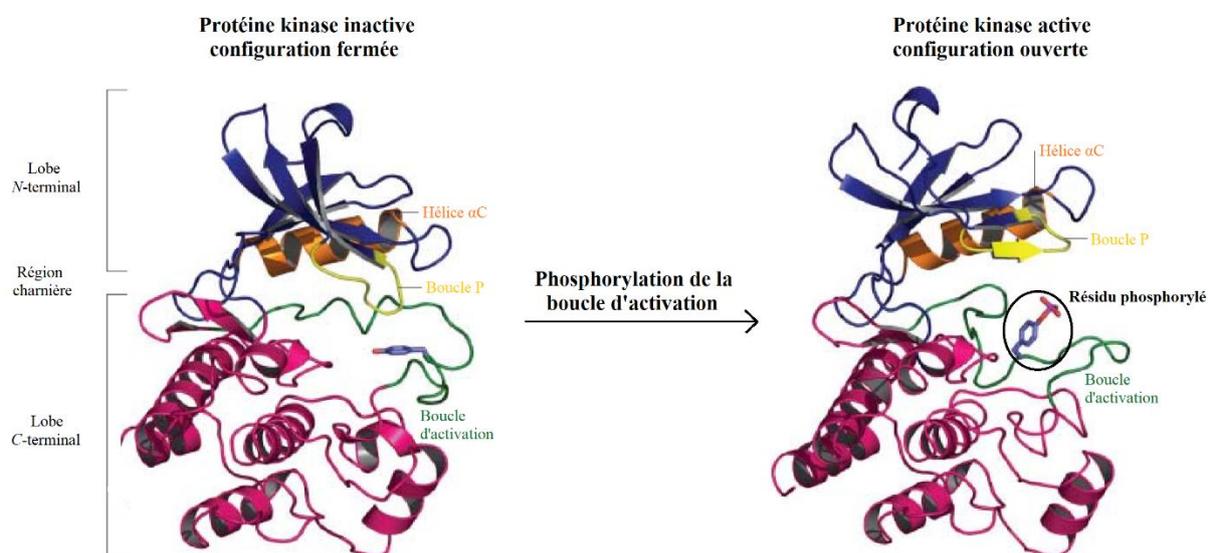


Schéma 2 : Activation d'une protéine kinase.³

La molécule d'ATP a plusieurs sites d'ancrage avec des résidus de la région charnière (« Hinge region », qui est le lien entre les deux lobes), des résidus de la boucle P et le motif DFG. La région

² F. Zuccotto, E. Ardini, E. Casale, M. Angiolini, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 2681–2694.

³ O. Hantschel, G. Superti-Furga, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2004**, 5, 33–44.

charnière forme le fond de la poche catalytique et la boucle P son toit. Différentes interactions se créent entre l'ATP et la poche catalytique : des liaisons hydrogène avec des résidus de la région charnière et des liaisons de type ionique par l'intermédiaire de cations divalents (magnésium ou manganèse) avec la boucle P et le motif DFG. Ces cations compensent la forte charge négative des groupements phosphates de l'ATP.³

La poche catalytique est aussi constituée d'un acide aminé « portier » (« gatekeeper »). Celui-ci varie selon les protéines kinases et contrôle l'accès à la poche hydrophobe arrière. Ce type de poche n'a pas d'interaction avec l'ATP mais est d'une grande importance dans les interactions avec les inhibiteurs de protéines kinases (Figure 1).

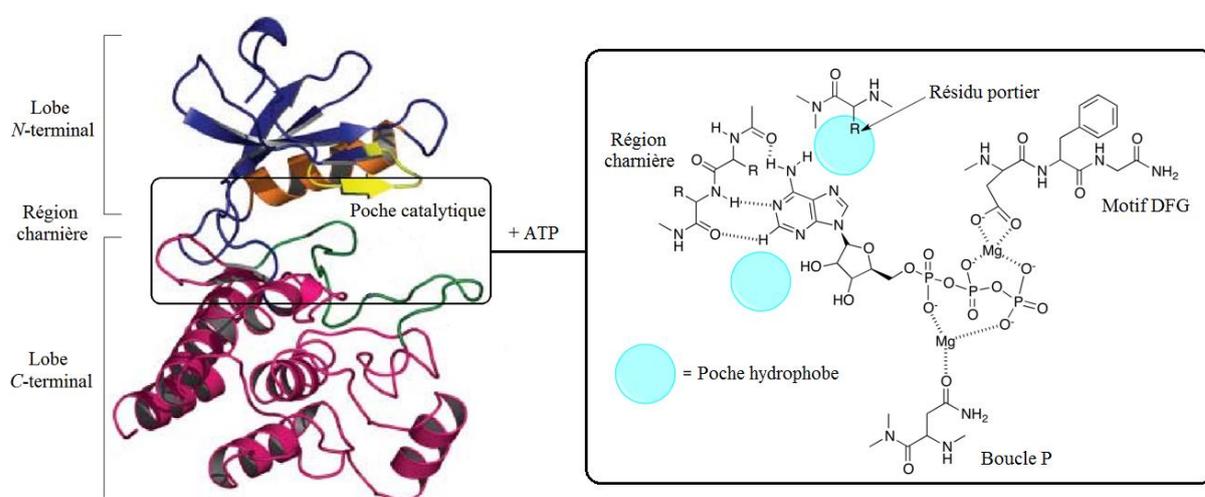


Figure 1 : Poche catalytique d'une protéine kinase en présence d'une molécule d'ATP.³

Dans toutes les protéines kinases, la fonction hydroxyle du substrat est orientée vers le résidu aspartate D166 de la boucle catalytique située sur l'hélice alpha du lobe N-terminal. Ceci permet l'alignement d'un des doublets non liant de l'hydroxyle avec le γ -phosphate de l'ATP, engendrant la réaction de type S_N2 qui conduit au transfert du groupement γ -phosphate, activé et catalysé par le caractère basique de D166 (Schéma 3).⁴

⁴ J. A. Endicott, M. E. M. Noble, L. N. Johnson, *Annu. Rev. Biochem.* **2012**, *81*, 587–613.

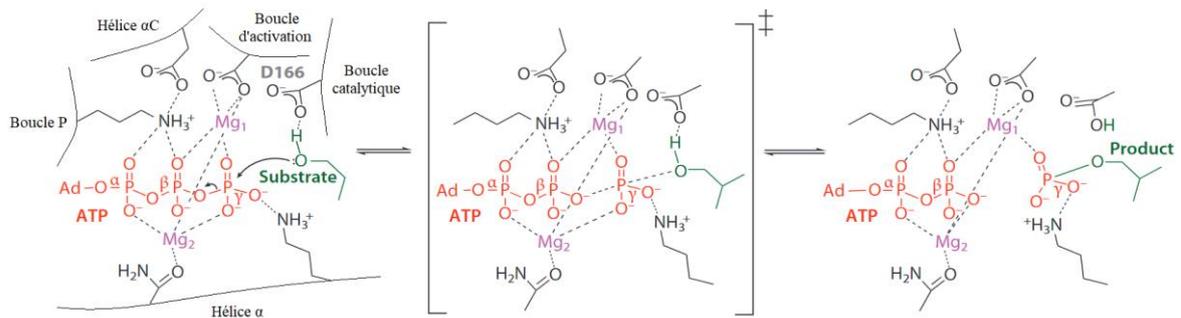


Schéma 3 : Mécanisme de la phosphorylation d'une protéine par l'ATP catalysée par une protéine kinase.⁴

Parmi les 518 protéines kinases présentes chez l'homme, 478 appartiennent à une superfamille unique, divisée en plusieurs groupes, familles et sous-familles, exprimés par un dendrogramme, appelé kinome. Plus deux kinases sont éloignées l'une de l'autre sur l'arborescence du kinome, plus la séquence polypeptidique qui les compose et leurs fonctions biochimiques sont différentes. Huit groupes appartiennent à cette superfamille (Figure 2). Les quarante protéines kinases non référencées sont dites « atypiques » et forment un neuvième groupe.

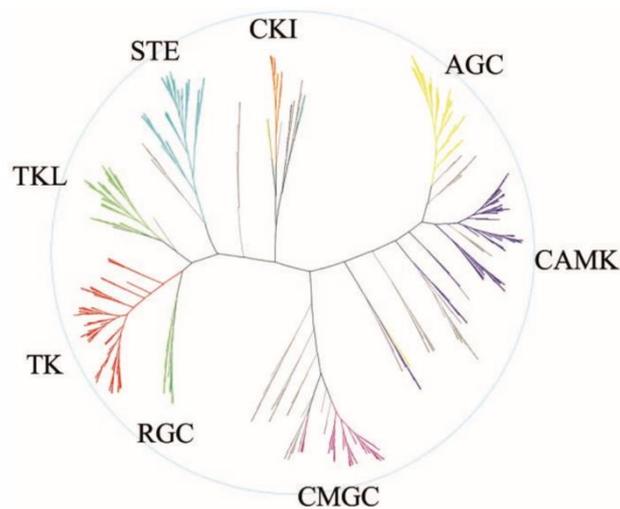


Figure 2 : Kinome humain.¹

2. DYRK1A

Chez l'homme, la sous-famille DYRK (Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase), issue de la famille du même nom et du groupe CMGC est constituée de cinq membres : DYRK1A, DYRK1B (aussi appelé Mirk), DYRK2, DYRK3 et DYRK4. Bien qu'elles fassent partie de la catégorie sérine/thréonine kinases, ces enzymes sont définies par leur « double spécificité » ; c'est-à-dire qu'elles sont capables d'auto-phosphoryler un de leurs résidus tyrosines, engendrant leur auto-activation. Les DYRK peuvent donc catalyser la phosphorylation de résidus tyrosines, sérines et thréonines.^{5,6}

DYRK1A est présente dans le système nerveux central dès la vie fœtale, suggérant un certain rôle dans le développement, la maturation et le vieillissement neuronal. Cette kinase a une interaction directe ou indirecte avec des centaines de gènes dans le corps humain. Son dysfonctionnement peut entraîner de lourdes répercussions sur la santé et déclencher de graves maladies.

La protéine kinase DYRK1A a beaucoup été étudiée pour son implication dans certaines maladies neurodégénératives telles que le syndrome de Down (SD), plus connu sous le nom de trisomie 21, et la maladie d'Alzheimer (MA), mais aussi en cancérologie pour son implication dans le contrôle du cycle cellulaire.

2.a. L'implication de DYRK1A dans le système nerveux central ⁷

La famille des Dual-Specificity Tyrosine Regulated Kinases (DYRK), et plus particulièrement DYRK1A, est codée par un gène situé sur le chromosome 21. De nombreuses études ont montré qu'un taux anormalement élevé de DYRK1A dans le système nerveux central entraînait la neurodégénérescence fibrillaire, la formation de plaques β -amyloïdes et la mort neuronale en jouant un rôle significatif dans le défaut du développement cérébral, la neurodégénérescence précoce, la perte neuronale, et la démence. La surexpression de DYRK1A est donc un acteur important dans la dérégulation des multiples voies du développement et du vieillissement du cerveau.

Cette surexpression a été identifiée chez les patients atteints de la MA mais aussi chez les patients atteints du SD qui comptent 1,5 fois plus de DYRK1A qu'un individu sain, dû à la trisomie du chromosome 21. Presque tous les patients atteints du SD présentent les symptômes de la MA à partir de

⁵ S. Aranda, A. Laguna, S. de la Luna, *FASEB J.* **2011**, 25, 449–462.

⁶ A. Walte, K. Rüben, R. Birner-Gruenberger, C. Preisinger, S. Bamberg-Lemper, N. Hilz, F. Bracher, W. Becker, *FEBS J.* **2013**, 280, 4495–4511.

⁷ (a) J. Wegiel, C.-X. Gong, Y.-W. Hwang, *FEBS J.* **2011**, 278, 236–245, (b) S. Stotani, F. Giordanetto, F. Medda, *Future Med. Chem.* **2016**, 8, 681–696.

40 ans, à savoir une neurodégénérescence liée à l'hyperphosphorylation de la protéine Tau et à la formation de plaques β -amyloïdes. On parle dans ce cas d'une pathologie « type Alzheimer ». ^{7a}

2.a.i. La phosphorylation de la protéine Tau

Dans les neurones, les microtubules jouent un rôle important dans la composition des axones qui conduisent l'influx nerveux. La stabilité des microtubules assure la transmission du message tandis que leur instabilité conduit à la dégénérescence de l'axone, voire à la mort neuronale. ⁸ Cet équilibre est fortement lié à la phosphorylation de la protéine tau (tubulin-associated unit), qui constitue majoritairement la famille des MAP (microtubules associated proteins). Elle favorise l'assemblage et la stabilisation des microtubules qui forment le cytosquelette des cellules eucaryotes. ⁹ Son hyperphosphorylation entraîne la déstabilisation des microtubules. La surexpression de DYRK1A dans le cerveau peut contribuer à la dégénérescence neurofibrillaire précoce, soit directement avec l'hyperphosphorylation des protéines tau, soit indirectement avec la phosphorylation de facteur d'épissage alternatif, menant au déséquilibre entre tau3R et tau4R.

La kinase DYRK1A peut phosphoryler onze sites sur les protéines tau associées aux microtubules. Sa surexpression contribue directement à l'hyperphosphorylation de tau. La phosphorylation par DYRK1A favorise la phosphorylation par GSK-3 β , une autre protéine kinase du groupe CMGC. Cette hyperphosphorylation anormale entraîne la perte des fonctions biologiques de tau, causant la baisse de son activité pour stimuler l'assemblage des microtubules. En plus d'une désorganisation du cytosquelette, cela a pour conséquence leur agrégation sous forme de neurofibrilles et leur solubilisation dans le cytosol sous forme d'oligomère intermédiaire (Figure 3). Ces oligomères favoriseraient la désorganisation des microtubules et inhiberaient leur assemblage, engendrant à terme l'apoptose du neurone. La phosphorylation de tau par DYRK1A favorise aussi leur propre agrégation avec des protéines tau normales et d'autres protéines associées aux microtubules.

⁸ M. D. Tang-Schomer, A. R. Patel, P. W. Baas, D. H. Smith, *FASEB J.* **2010**, *24*, 1401–1410.

⁹ M. N. Islam, M. N. Iskander, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **2004**, *4*, 1077–1104.

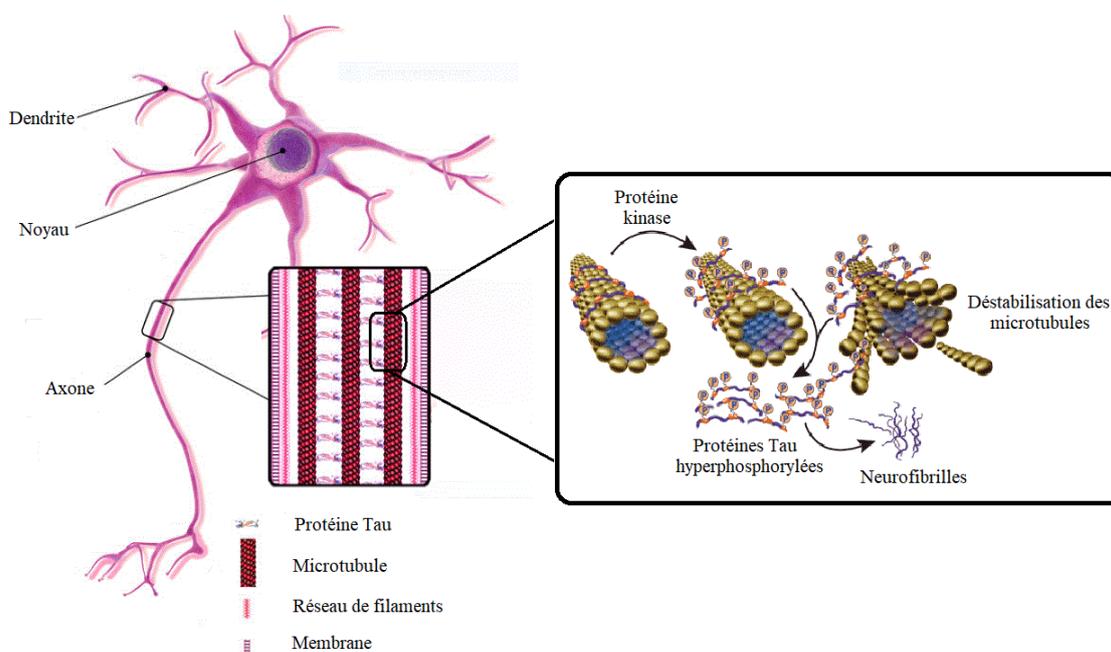


Figure 3 : Neurodégénérescence fibrillaire engendrant la déstabilisation des microtubules dans les neurones.^{10, 11}

Il existe plusieurs isoformes de la protéine tau. Deux d'entre elles, nommées tau3R et tau4R doivent être en proportion égale pour assurer des fonctions neuronales de manière optimale. DYRK1A phosphoryle le facteur d'épissage alternatif de tau favorisant l'expression de tau3R. La surexpression de DYRK1A engendre la prédominance de tau3R par rapport à tau4R, ce qui entraîne un déséquilibre de la proportion des deux isoformes, contribuant à l'altération du cytosquelette.

2.a.ii. La phosphorylation des précurseurs amyloïdes

La kinase DYRK1A phosphoryle aussi des protéines membranaires, appelées APP (Amyloid Precursor Proteins). La surexpression de DYRK1A facilite le clivage des APP, favorisant la formation de protéines bêta-amyloïdes et de l'oligomère A β . Ces oligomères solubles dans le cytoplasme sont toxiques. Ils inhibent l'activité neuronale liée à l'apprentissage et la mémoire, perturbent de façon transitoire des comportements appris, provoquent la démence et favorisent l'expression de la kinase DYRK1A. Les protéines bêta-amyloïdes, quant à elles, s'agglomèrent pour former des plaques, connues sous le nom de plaques séniles. Ces agrégats protéiques peuvent couper la communication synaptique en jouant un rôle dans le cycle de la synthèse de l'acétylcholine, neurotransmetteur impliqué dans la mémorisation et l'apprentissage.¹²

¹⁰ https://www.nottingham.ac.uk/biochemcourses/NTM3/Tess_Alzheimers/tangles.html, consulté le 15/05/18.

¹¹ A. Imani Aria, H. Biglari, *Appl. Math. Comput.* **2018**, 321, 313–332.

¹² G. Chen, T. Xu, Y. Yan, Y. Zhou, Y. Jiang, K. Melcher, H. E. Xu, *Acta Pharmacol. Sin.* **2017**, 38, 1205–1235.

Dans tous les cas, la surexpression de la protéine kinase DYRK1A provoque le déséquilibre soit des microtubules, ce qui peut engendrer la dégénérescence neurofibrillaire puis la mort neuronale, soit de la synthèse de l'acétylcholine, entraînant la perte de la communication neuronale (Schéma 4).

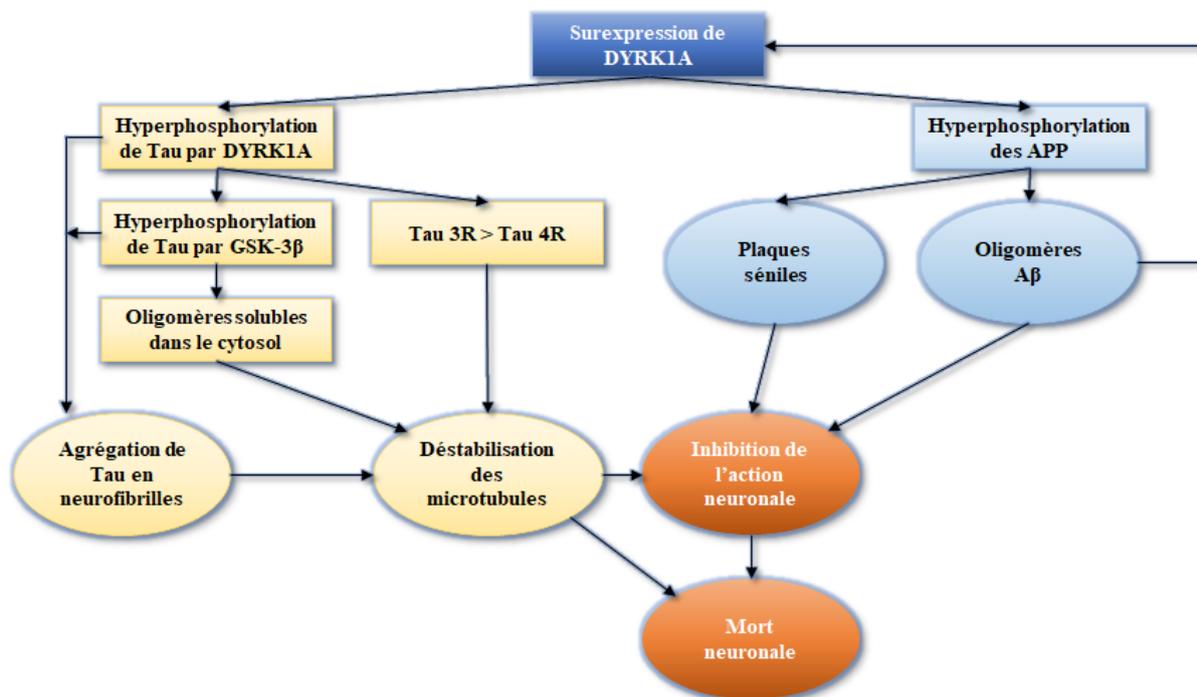


Schéma 4 : Effet de la surexpression de DYRK1A dans le système nerveux central.

2.b. L'implication de DYRK1A dans le cycle cellulaire

De nombreuses études montrent la régulation de diverses fonctions biologiques par la kinase DYRK1A. En effet, cette protéine a entre autres une action sur la transcription cellulaire,¹³ l'épissage de l'ARN messager,¹⁴ les tumeurs des patients atteints de leucémie mégacaryocytaire et du SD,¹⁵ l'apoptose,¹⁶ ainsi que sur le cycle cellulaire. Dans le cadre de cette thèse et afin de mieux comprendre les différents tests biologiques qui seront réalisés sur les molécules synthétisées, seule l'action de DYRK1A sur le cycle cellulaire sera abordée.

Le cycle cellulaire est fortement contrôlé par les protéines kinases. Ainsi, une cellule commence son cycle au stade G1, phase de préparation au stade S au cours de laquelle l'ADN est répliqué. Vient ensuite la phase G2 qui prépare la phase de mitose (phase M) pendant laquelle les chromosomes sont

¹³ Y. Gwack, S. Sharma, J. Nardone, B. Tanasa, A. Iuga, S. Srikanth, H. Okamura, D. Bolton, S. Feske, P. G. Hogan, A. Rao, *Nature* **2006**, *441*, 646–650.

¹⁴ K. de Graaf, H. Czajkowska, S. Rottmann, L. C. Packman, R. Lilischkis, B. Lüscher, W. Becker, *BMC Biochem.* **2006**, *7*, 1–13.

¹⁵ S. Malinge, M. Bliss-Moreau, G. Kirsammer, L. Diebold, T. Chlon, S. Gurbuxani, J. D. Crispino, *J. Clin. Invest.* **2012**, *122*, 948-962.

¹⁶ A. Seifert, L. A. Allan, P. R. Clarke, *FEBS J.* **2008**, *275*, 6268–6280.

dédoublés, formant deux cellules filles. Si les cellules filles ne reçoivent pas de signaux pour recommencer un cycle cellulaire, elles quittent le processus et deviennent quiescentes (phase G0). Les cellules n'ont alors plus ou peu d'interactions avec le milieu cellulaire (Figure 4). Elles cessent leur prolifération ; elles n'entameront un cycle cellulaire que sous l'effet de signaux mitogènes.

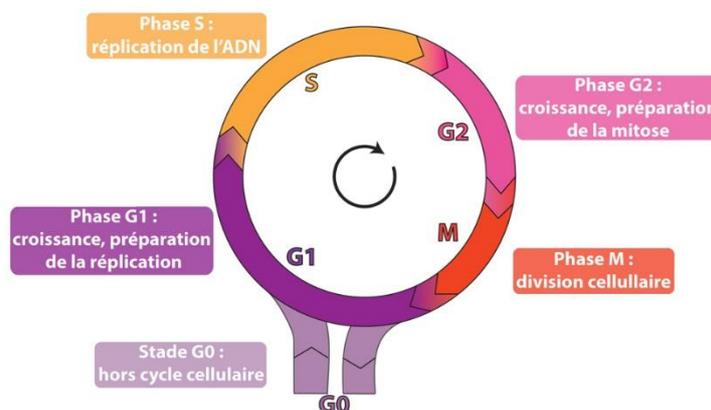


Figure 4 : Phases du cycle cellulaire.¹⁷

Afin d'entrer dans le cycle cellulaire, en G1, une cellule suit l'activation d'une cascade de protéines kinases conduisant à la stimulation de la transcription de gènes essentiels pour l'entrée en division. En général, il s'agit des cyclines D.¹⁸ Si ces cyclines ne sont pas présentes, ou inhibées, la cellule entrera et restera en quiescence.

Pour les cellules cancéreuses, la quiescence est la première étape de la dormance tumorale qui est la période, après le traitement, où les cellules résiduelles sont indétectables. Des rechutes de cancer sont observées lorsque ces cellules repartent dans le cycle cellulaire.¹⁹

La kinase DYRK1A phosphoryle les cyclines D. Cette phosphorylation induit leur destruction, ce qui engendre la sortie du cycle cellulaire. Ce mécanisme a été démontré dans les cellules précurseurs de lymphocytes B et T avec la phosphorylation des cyclines D3,²⁰ mais aussi dans les cellules neuronales avec la phosphorylation des cyclines D1.²¹ La surexpression de DYRK1A a donc pour conséquence de conduire les cellules vers un stade G0.

¹⁷ https://mbio.upmc.fr/bio-cell_cycle-cellulaire_introduction, consulté le 15/05/18.

¹⁸ L. Meijer, *Bull. Cancer* **2012**, *96*, 19.

¹⁹ P. Ostyn, *Facteurs inflammatoires et contrôle de la quiescence/activation des cellules souches tumorales de mélanome*, Thèse de doctorat, Université de Lille, Lille, France, 27/09/2016.

²⁰ B. J. Thompson, R. Bhansali, L. Diebold, D. E. Cook, L. Stolzenburg, A.-S. Casagrande, T. Besson, B. Leblond, L. Désiré, S. Malinge, J. D. Crispino, *J. Exp. Med.* **2015**, *212*, 953–970.

²¹ R. Abbassi, T. G. Johns, M. Kassiou, L. Munoz, *Pharmacol. Ther.* **2015**, *151*, 87–98.

DYRK1A favorise l'assemblage du complexe DREAM (pour « dimerization partner, RB-like, E2F and multi-vulval classe B »)²² en phosphorylant un de ses membres. Composés de plusieurs protéines, ces complexes engendrent la quiescence et réduisent de manière significative la prolifération de cellules cancéreuses. La formation de DREAM provoque aussi la répression des gènes cibles E2F qui sont des acteurs de la sortie du cycle cellulaire et de la correcte différenciation des cellules lors de la transition G1-S. La surexpression de DYRK1A impacte fortement la quiescence et empêche la prolifération des cellules (Schéma 5).

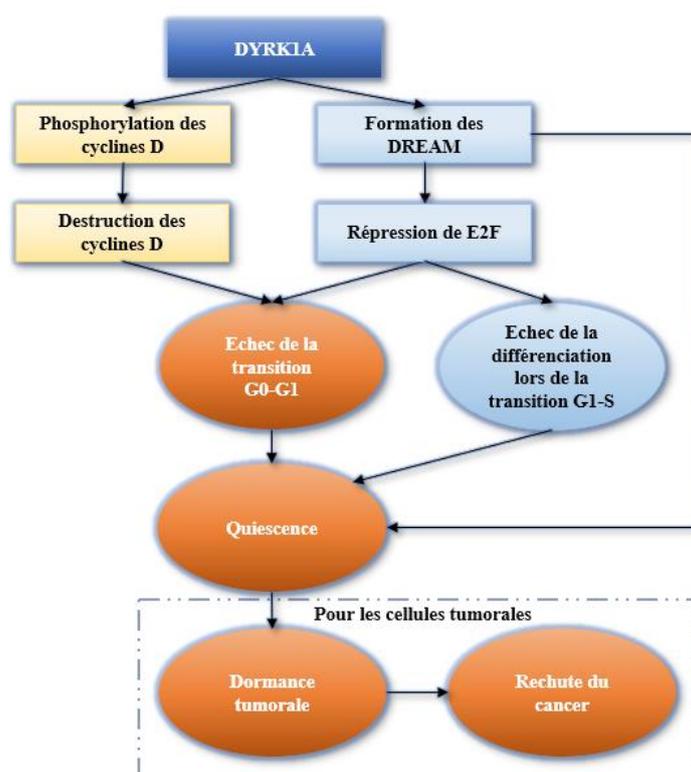


Schéma 5 : Implication et effets de DYRK1A dans le cycle cellulaire.

Il est à noter que DYRK1B joue aussi un rôle dans le cycle cellulaire puisqu'il participe aux mécanismes qui maintiennent l'état de quiescence.²³

Ces études montrent que le taux de DYRK1A joue un rôle important dans l'équilibre neuronal et la régulation de la prolifération des cellules. Il est donc pertinent de contrôler ces mécanismes avec un inhibiteur spécifique de cette protéine kinase.

²² S. Sadasivam, J. A. DeCaprio, *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 585–595.

²³ X. Deng, E. Friedman, *Genes Cancer* **2014**, *5*, 337–347.

3. Les inhibiteurs de DYRK1A²⁴

Pour atteindre leur cible, les inhibiteurs de kinase doivent généralement franchir les barrières cellulaires, voire la barrière hémato-encéphalique (BHE) pour une action sur le système nerveux central. Des paramètres physico-chimiques comme la stabilité métabolique ou encore la balance lipophilie/hydrophilie sont à prendre en considération afin d'assurer la biodisponibilité des inhibiteurs.

La plupart des inhibiteurs de la kinase DYRK1A sont ATP-compétitifs et dits de type 1. Il s'agit de petites molécules qui forment des interactions avec la poche catalytique dans la kinase active. Ces molécules imitent les sites d'ancrage de l'adénine de l'ATP en formant des liaisons hydrogène avec des résidus de la région charnière de la kinase. Elles ont aussi souvent des interactions avec les différentes poches hydrophobes du site catalytique.²⁵

Les inhibiteurs de DYRK1A ont généralement une structure plane, hétéroaromatique, possédant un à deux groupements accepteurs et/ou donneurs de liaisons hydrogène. Ils ont aussi communément un motif aromatique, hydrophobe, capable d'interagir avec la poche hydrophobe arrière du site catalytique, voire avec l'acide aminé portier phénylalanine (Phe 238) (Figure 5). On distingue les inhibiteurs naturels et les inhibiteurs synthétiques.

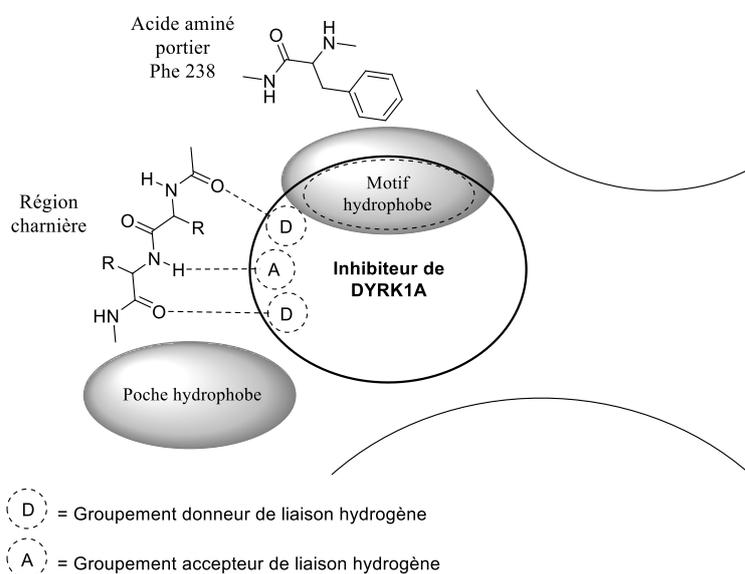


Figure 5 : Représentation d'un inhibiteur ATP-compétitif dans le site actif de DYRK1A.

²⁴ D. B. Jarhad, K. K. Mashelkar, H.-R. Kim, M. Noh, L. S. Jeong, *J. Med. Chem.* **2018**, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00185.

²⁵ A. Backes, B. Zech, B. Felber, B. Klebl, G. Müller, *Expert Opin. Drug Discov.* **2008**, 3, 1409–1425.

3.a. Les inhibiteurs naturels de DYRK1A

A l'heure actuelle, cinq composés d'origine naturelle se sont montrés efficaces et sélectifs dans l'inhibition de la kinase DYRK1A. Il s'agit du gallate d'épigallocatechine (EGCG), de l'harmine, de l'harmol, de la Varioline B et de l'acrifoline (Figure 6). D'autres molécules naturelles ont aussi un pouvoir d'inhibition sur DYRK1A. Néanmoins, elles ne sont pas sélectives de cette kinase et/ou expriment des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du micromolaire.

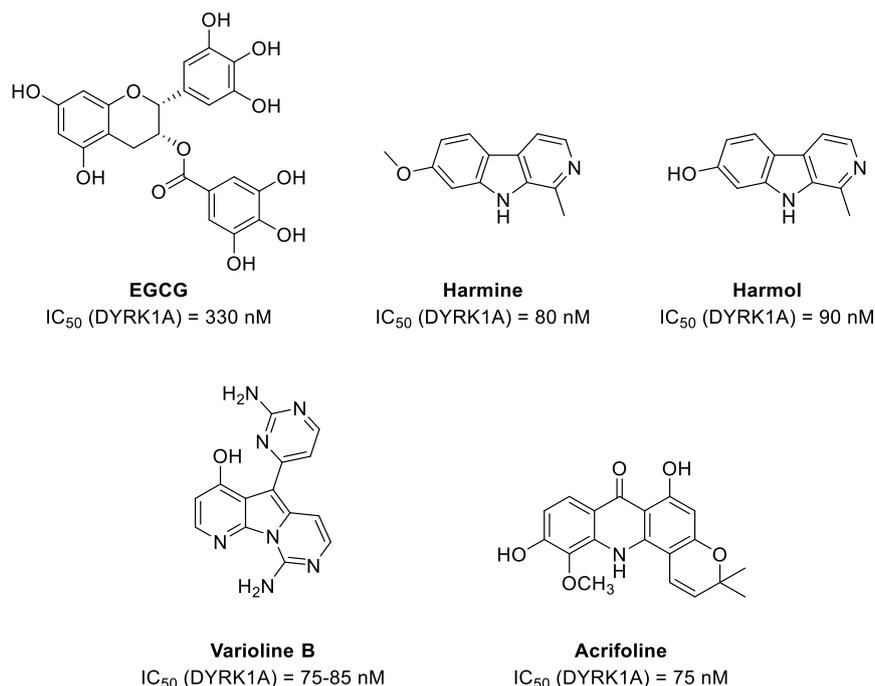


Figure 6 : Inhibiteurs naturels de DYRK1A.

L'**EGCG** est un polyphénol naturel. Elle est la catéchine présente en plus grande quantité dans le thé vert. Sa capacité à inhiber DYRK1A a été décrite en 2003 par Bain et coll. avec une valeur d'IC₅₀ de 330 nM.²⁶

L'**harmine** est un alcaloïde de type β-carboline qui a été isolé pour la première fois dans une liane tropicale (*Banisteriopsis caapi*) de l'Amazonie. En 2007, les travaux de Bain et coll. ont démontré l'inhibition sélective de la famille DYRK et plus particulièrement de DYRK1A avec une valeur d'IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire.²⁷ Même si elle ne peut pas être utilisée *in vivo* à cause de ses propriétés

²⁶ J. Bain, H. McLauchlan, M. Elliott, P. Cohen, *Biochem. J.* **2003**, 371, 199–204.

²⁷ J. Bain, L. Plater, M. Elliott, N. Shpiro, C. J. Hastie, H. McLauchlan, I. Klevernic, J. S. C. Arthur, D. R. Alessi, P. Cohen, *Biochem. J.* **2007**, 408, 297–315.

hallucinogènes,²⁸ l'harmine reste le composé de référence pour les tests *in vitro* du fait de sa disponibilité. L'**harmol**, son dérivé déprotégé, montre aussi une activité intéressante envers DYRK1A.

Surtout connue pour son pouvoir d'inhibition sur les protéines kinases CDK, la **Varioline B**, issue de l'éponge marine antarctique *Kirkpatrickia variolosa*, montre une valeur d'IC₅₀ de 0,08 µM en présence de DYRK1A. Cependant, sa faible solubilité dans l'eau constitue une limite pour les essais cliniques.²⁹

L'**acrifoline** est un alcaloïde naturel, isolé de l'écorce du *Glycosmis chlorosperma*. Elle a montré une forte inhibition de la kinase DYRK1A, semblable à celle de l'harmine.³⁰

La recherche d'inhibiteurs puissants et hautement sélectifs de la protéine DYRK1A reste une priorité à laquelle les composés naturels ne répondent pas entièrement. Afin de surmonter ces inconvénients, plusieurs inhibiteurs synthétiques ont été développés.

3.b. Les inhibiteurs synthétiques de DYRK1A^{31,32}

Depuis ces dix dernières années, les recherches concernant la kinase DYRK1A ont connu un essor, montrant son rôle clef dans de nombreux mécanismes biologiques. Ces résultats ont permis de développer de nombreuses synthèses visant à obtenir de nouveaux inhibiteurs de cette kinase. Seuls les meilleurs candidats de chaque série seront représentés ci-après.

3.b.i. Les dérivés des pyridines et pyrimidines

Les dérivés de pyridines et pyrimidines constituent un squelette important pour la synthèse des inhibiteurs de DYRK1A. En 2011, Mérour et coll. ont analysé 13 analogues de 3-(6-hydroxyindol-2-yl)-5-(phényl)-pyridines et de pyrazines. Malgré un design en forme de V envisagé dans le but d'inhiber les protéines kinases CDK, les résultats biologiques ont montré des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire sur DYRK1A (composé **A**).³³ La même année, cette équipe a étendu la synthèse aux dérivés pyrido[3,2-*d*]pyrimidines afin d'obtenir une nouvelle série de composés, également affine pour

²⁸ C. Gambelunghe, K. Aroni, R. Rossi, L. Moretti, M. Bacci, *Biomed. Chromatogr.* **2008**, *22*, 1056–1059.

²⁹ A. Echalié, K. Bettayeb, Y. Ferandin, O. Lozach, M. Clément, A. Valette, F. Liger, B. Marquet, J. C. Morris, J. A. Endicott, B. Joseph, L. Meijer, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 737–751.

³⁰ M. A. Beniddir, E. Le Borgne, B. I. Iorga, N. Loáč, O. Lozach, L. Meijer, K. Awang, M. Litaudon, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1117–1122.

³¹ B. Smith, F. Medda, V. Gokhale, T. Dunckley, C. Hulme, *ACS Chem. Neurosci.* **2012**, *3*, 857–872.

³² T. L. Nguyen, C. Fruit, Y. Héroult, L. Meijer, T. Besson, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2017**, *27*, 1183–1199.

³³ P. Kassis, J. Brzeszcz, V. Bénétéau, O. Lozach, L. Meijer, R. Le Guével, C. Guillouzo, K. Lewiński, S. Bourg, L. Colliandre, S. Routier, J.-Y. Mérour, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5416–5434.

DYRK1A (composé **B**).³⁴ En 2008, en s'inspirant des structures de la Varioline B et des méridianines (issus d'organismes marins), Meijer et coll. ont synthétisé une série de molécules, les Mériolines, dérivées de 3-(pyrimidin-4-yl)-7-azaindoles. La molécule la plus inhibitrice, nommée **Mérioline 3**, a une IC_{50} de 29 nM en présence de DYRK1A.²⁹ L'année suivante, Moreau et coll. ont développé des analogues de méridianines, qui se sont révélés être sélectifs de la kinase DYRK1A (composé **C**) (Figure 7).³⁵

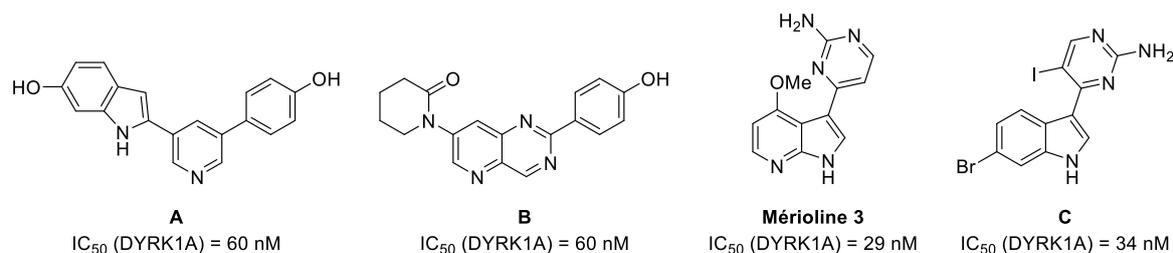


Figure 7 : structure des composés **A**, **B**, **C** et de la **Mérioline 3**.

Les dérivés de pyrido[2,3-*d*]pyrimidines ont aussi été étudiés, notamment par la société Hoffman-La Roche AG, qui a synthétisé six molécules actives sur la kinase DYRK1A avec des IC_{50} en dessous de 10 nM (Composé **D**).³⁶ Cependant, les résultats biologiques ont montré une inhibition équivalente sur DYRK1B, mettant en évidence un manque de sélectivité de ces molécules. Pour répondre à ce problème, l'étude a ensuite été étendue aux analogues dérivés de 1,6-naphthyridines (Composés **E**).³⁷ Les résultats biologiques ont révélé les mêmes propriétés d'inhibition que ceux issus des premiers dérivés. Enfin, la société Hoffman-La Roche AG a choisi d'étudier la relation structure/activité des pyrazolopyrimidines. La stratégie utilisée ici est l'addition de groupements lipophiles comme des aromatiques ou encore des chaînes alkyles (Composé **F**).³⁸ Encore une fois, les molécules synthétisées se sont montrées affines pour DYRK1A mais aussi pour DYRK1B (Figure 8).

³⁴ CNRS and university of Orléans. *WO 2011/135259* **2011**.

³⁵ F. Giraud, G. Alves, E. Debiton, L. Nauton, V. Théry, E. Durieu, Y. Ferandin, O. Lozach, L. Meijer, F. Anizon, E. Pereira, P. Moreau, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4474–4489.

³⁶ Hoffman-La Roche AG. *WO 2012/098065* **2012**.

³⁷ Hoffman-La Roche AG. *WO 2012/098066* **2012**.

³⁸ Hoffman-La Roche AG. *WO 2012/098068* **2012**.

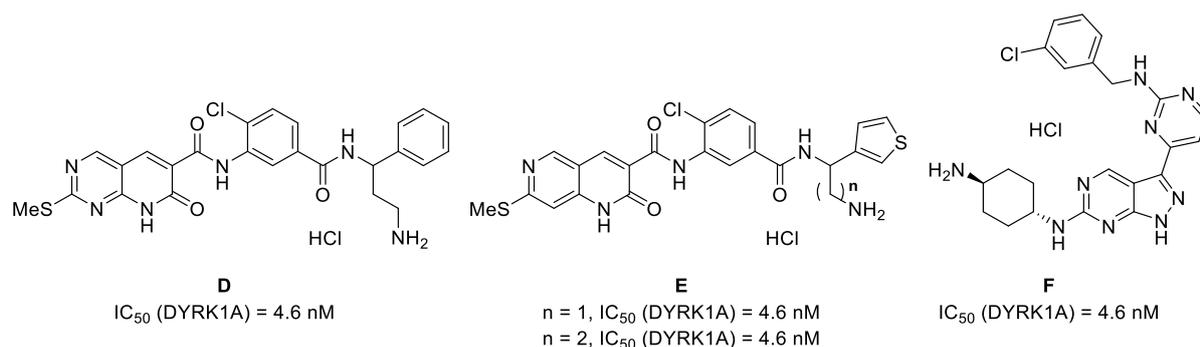


Figure 8 : Meilleurs inhibiteurs synthétisés par Hoffman-La Roche AG.

En collaboration avec Vernalis R&D Ltd, la société Servier a décrit des dérivés de pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines avec une nouvelle chimiothèque de deux cents molécules. Des valeurs d'IC₅₀ comprises entre 2 et 9 nM ont été obtenues pour une quinzaine de composés avec la protéine kinase DYRK1A (composés **G**).³⁹ Des analogues d'animopurines ont été synthétisés par Bain et coll.. Ces travaux ont permis de décrire le **Purlavanol A** (Figure 9).²⁶

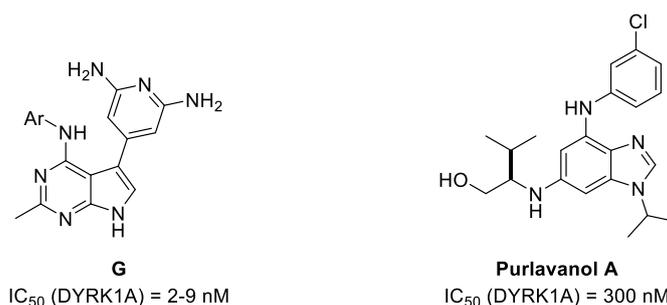


Figure 9 : Structures des composés **G** et du **Purlavanol A**.

3.b.ii. Les quinolines et les quinazolines

La société Hoffman-La Roche AG a aussi travaillé sur une série de dérivés quinoléines. La sélectivité de ces composés envers DYRK1A vis-à-vis de DYRK1B n'a pas été observée (Composé **H**).⁴⁰ Le NIH (National Institute of Health) a synthétisé des inhibiteurs de la kinase DYRK1A en développant une série de quinazolines. Ces petites molécules sont obtenues en seulement 3 étapes. Le composé ayant les meilleurs résultats d'inhibition se nomme **NCGC-00185981**.⁴¹ D'autres dérivés de quinazolines et plus précisément des thiazolo[4,5-*f*]quinazolines ont été synthétisés par notre groupe, en collaboration avec la société Exonhit therapeutics, devenue depuis Diaxonhit. Nommés « **EHT** », ces composés représentent jusqu'alors les inhibiteurs de DYRK1A et de DYRK1B les plus puissants décrits

³⁹ Laboratoire Servier and Vernalis. *WO 2017/055533* 2017

⁴⁰ Hoffman-La Roche AG. *WO 2012/098070* 2012.

⁴¹ NIH. *WO 2011/0041655* 2012.

dans la littérature. Leurs structures et leurs activités biologiques seront décrites plus précisément dans le paragraphe 5.b. (Figure 10).

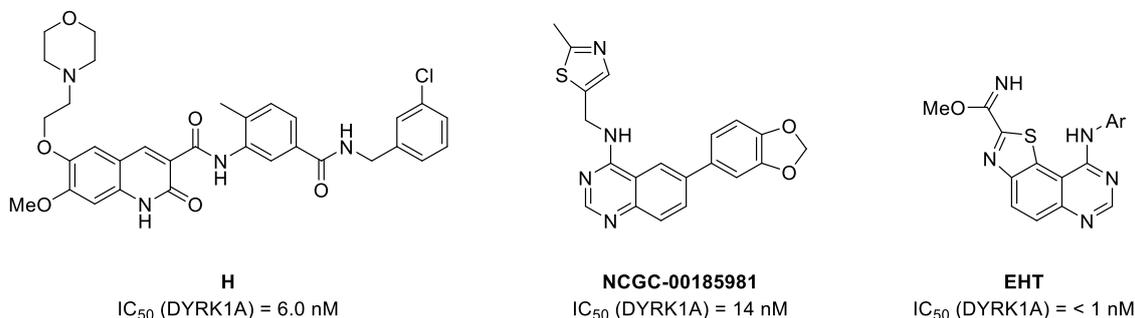


Figure 10 : Structures de **H**, de **NCGC-00185981** et des **EHT**.

3.b.iii. Les dérivés d'indoles

En 2013, un consortium académique (CNRS, l'université de Reims et l'université de Paris Diderot) a synthétisé une série de diaryl-azaindoles, inhibiteurs de DYRK1A (**DANDY**). Ces composés ont été élaborés à partir d'un modèle issu des criblages *in vitro*, calculs et modélisations prédictifs.⁴² Le meilleur candidat a montré une valeur d'IC₅₀ de 3 nM pour la kinase DYRK1A. L'entreprise américaine Samumed, LLC a décrit deux cents dérivés d'indazole-3-carboxamide. Trente d'entre eux ont montré une réelle capacité d'inhibition sur DYRK1A avec des IC₅₀ entre 1 et 6 nM (Composés **I**).⁴³ En 2012, Mérour et coll. ont développé des analogues de Lamellarines D sous la forme de chromeno[3,4*b*]indoles, permettant la synthèse du composé **J** qui possède une valeur d'IC₅₀ de 67 nM (Figure 11).⁴⁴

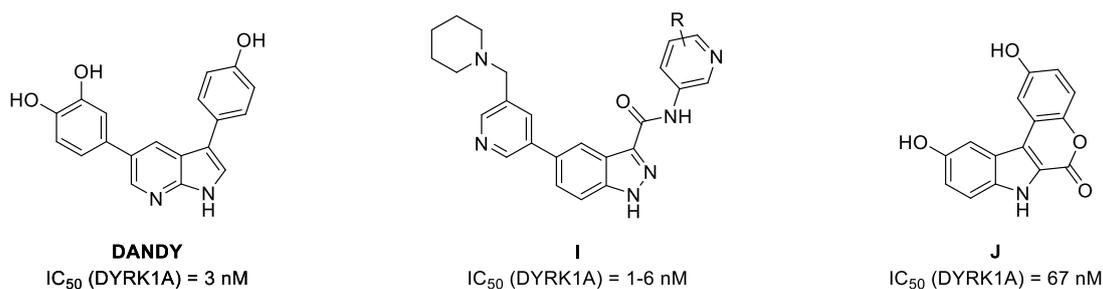


Figure 11 : Structures des dérivés indoliques, inhibiteurs de DYRK1A.

⁴² S. Gourdain, J. Dairou, C. Denhez, L. C. Bui, F. Rodrigues-Lima, N. Janel, J. M. Delabar, K. Cariou, R. H. Dodd, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 9569–9585.

⁴³ Samumed, LLC. *WO 2015/143380* **2015**.

⁴⁴ C. Neagoie, E. Vedrenne, F. Buron, J.-Y. Mérour, S. Rosca, S. Bourg, O. Lozach, L. Meijer, B. Baldeyrou, A. Lansiaux, S. Routier, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *49*, 379–396.

3.b.iv. Les dérivés de l'harmine

En 2011, le « Brigham and Women's Hospital, Inc » s'est associé à l'Université de Harvard et l'université d'Aix-Marseille III, pour synthétiser une série de molécules dérivées d'acridines. Le composé **K** issu de ce travail a montré un pouvoir inhibiteur de l'ordre du nanomolaire sur la kinase DYRK1A.⁴⁵ Le CNRS a ensuite breveté des composés présentant des analogies avec la structure de l'harmine. Le composé **L** a obtenu la meilleure valeur d'IC₅₀ (IC₅₀ = 18 nM).⁴⁶ L'Institut coréen des sciences et de la technologie a développé le **CX-4945**, un dérivé d'acide benzo[*c*][2,6]naphthyridine-8-carboxylique. Plus connu pour son inhibition de CK2 que de DYRK1A, il a déjà subi des essais cliniques de phase II pour l'inhibition de cette kinase, en tant qu'anticancéreux (Figure 12).⁴⁷

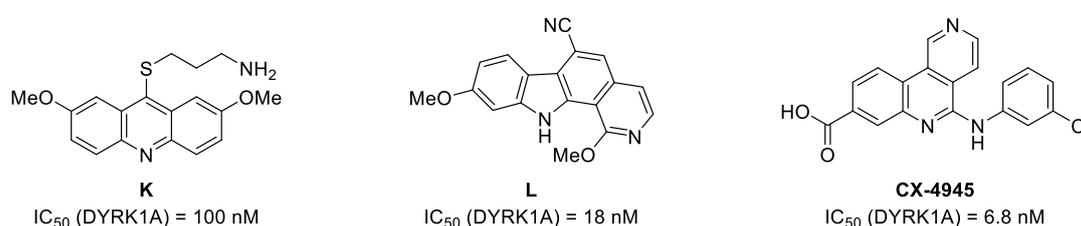


Figure 12 : Structures des composés **K**, **L** et **CX-4945**.

3.b.v. Les dérivés d'imidazoles et d'imidazolones

Les sociétés Servier et Vernalis R&D Ltd. ont très récemment breveté deux cents molécules, comprenant quinze dérivés d'imidazoles qui ont montré des valeurs d'IC₅₀ entre 2 et 9 nM sur la kinase DYRK1A (Composés **M**).⁴⁸ L'université de Rennes a développé des dérivés d'imidazolones, en s'inspirant de la Leucettamine B, un alcaloïde isolé de l'éponge marine calcaire *Leucetta microraphis*. La **Leucettine 41** est ainsi devenue une molécule de référence pour inhiber DYRK1A, au même titre que l'Harmine (Figure 13).⁴⁹



Figure 13 : Structures du composé **M** et de la **Leucettine 41**.

⁴⁵ The Brigham and Women's Hospital, Inc. *WO 2011/127406* **2011**.

⁴⁶ CNRS. *WO 2014/115071* **2014**.

⁴⁷ Korea Research Institute of Bioscience and Technology. *WO 2015/199503* **2015**.

⁴⁸ Laboratoires Servier and Vernalis. *WO 2017/055530* **2017**.

⁴⁹ M. Debdab, F. Carreaux, S. Renault, M. Soundararajan, O. Fedorov, P. Filippakopoulos, O. Lozach, L. Babault, T. Tahtouh, B. Baratte, Y. Ogawa, M. Hagiwara, A. Eisenreich, U. Rauch, S. Knapp, L. Meijer, J.-P. Bazureau, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4172–4186.

3.b.vi. Les dérivés de benzothiazoles

En 2010, Sirtris Pharmaceuticals, Inc. et Kinopharma S.L. ont publié une étude décrivant la sélectivité envers DYRK1A du benzothiazole **INDY**. Ce dernier est isolé après la déprotection du **TG003** (IC_{50} (DYRK1A) = 0,93 nM). Contrairement à l'**harmine**, l'**INDY** n'a pas d'effet hallucinogène et peut être utilisé *in vivo*. Son dérivé acétylé **proINDY** est employé afin de comprendre les différents mécanismes moléculaires impliqués dans le syndrome de Down. En effet, malgré son mauvais pouvoir d'inhibition sur DYRK1A, le **proINDY** passe plus facilement la membrane cellulaire grâce à son groupement acétyle qui augmente sa lipophilie. Il est ensuite déprotégé par une estérase, inhérente à la cellule et générant l'**INDY**.⁵⁰ Ces mêmes groupes ont ensuite breveté le **BINDY**, directement inspiré des travaux antérieurs. Ce composé inhibe DYRK1A avec une valeur d' IC_{50} de 25,1 nM.⁵¹ En 2016, Svendsen et coll. ont synthétisé une série d'inhibiteurs dont la structure est encore plus simple. Il s'agit de benzothiazoles, substitués en C2 par un groupement *N*-acétamide, obtenus après une à trois étapes de synthèse (composé **N**)⁵² (Figure 14).

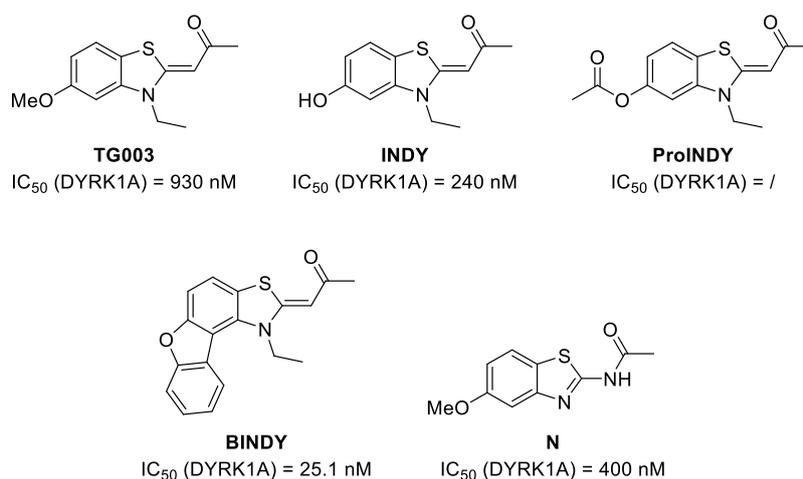


Figure 14 : Dérivés de benzothiazoles actifs sur DYRK1A.

La même année, Hagiwara et coll. ont identifié le **FINDY**, un dérivé de la rhodanine, comme un inhibiteur sélectif de la kinase DYRK1A avec une valeur d' IC_{50} de 110 nM.⁵³ Le même groupe a décrit les propriétés du **CaNDY**, un inhibiteur ATP-compétitif de DYRK1A (IC_{50} = 7,9 nM) (Figure 15).⁵⁴

⁵⁰ Y. Ogawa, Y. Nonaka, T. Goto, E. Ohnishi, T. Hiramatsu, I. Kii, M. Yoshida, T. Ikura, H. Onogi, H. Shibuya, T. Hosoya, N. Ito, M. Hagiwara, *Nat. Commun.* **2010**, *1*, 1–9.

⁵¹ University of Kyoto. *WO 2015/083750* **2015**.

⁵² U. Rothweiler, W. Stensen, B. O. Brandsdal, J. Isaksson, F. A. Leeson, R. A. Engh, J. S. M. Svendsen, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 9814–9824.

⁵³ I. Kii, Y. Sumida, T. Goto, R. Sonamoto, Y. Okuno, S. Yoshida, T. Kato-Sumida, Y. Koike, M. Abe, Y. Nonaka, T. Ikura, N. Ito, H. Shibuya, T. Hosoya, M. Hagiwara, *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 1–14.

⁵⁴ R. Sonamoto, I. Kii, Y. Koike, Y. Sumida, T. Kato-Sumida, Y. Okuno, T. Hosoya, M. Hagiwara, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 1–13.

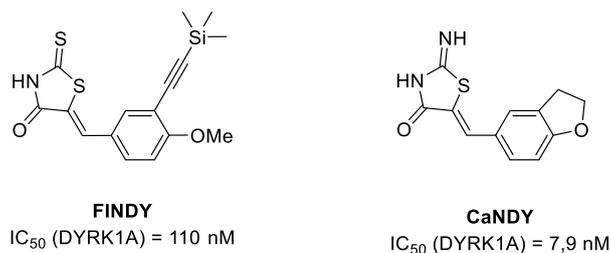


Figure 15 : Structures du **FINDY** et du **CaNDY**.

L'avancée considérable dans la recherche sur DYRK1A de ces dernières années a conduit à la synthèse de nombreux inhibiteurs. En dépit de tous ces travaux, aucune molécule n'est entièrement sélective de DYRK1A. L'élaboration de nouveaux inhibiteurs reste donc un axe de recherche pertinent, pouvant permettre de synthétiser des composés plus affins de cette cible, soit pour un nouveau médicament, soit pour mieux comprendre les différents mécanismes cellulaires liés à cette kinase. Ces études ont mis en évidence qu'une grande diversité de structures est envisageable pour ces inhibiteurs.

4. Le motif benzo[*d*]thiazole

4.a. L'activité biologique reconnue des benzo[*d*]thiazoles

Les benzo[*d*]thiazoles appartiennent à une famille chimique présente dans plusieurs produits naturels bioactifs marins et terrestres. On peut les retrouver dans la Luciférine, qui après son oxydation, permet la bioluminescence de certains organismes, ou encore dans le 2-mercaptobenzothiazole, un composant lié à l'arôme de la canneberge (Figure 16).⁵⁵

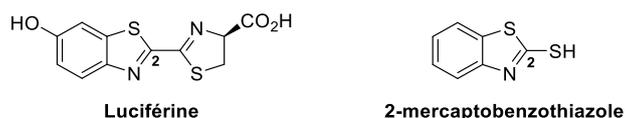


Figure 16 : Structure de la Luciférine et du 2-mercaptobenzothiazole.

Au cours de ces dernières décennies, les benzo[*d*]thiazoles ont été identifiés comme des pharmacophores prometteurs, possédant diverses propriétés biologiques en tant qu'anticonvulsifs,⁵⁶ neuroprotecteurs,⁵⁷ antiglutamates,⁵⁸ antipaludéens,⁵⁹ antituberculeux,⁶⁰ antimicrobiens,⁶¹ analgésiques, anti-inflammatoires⁶² ou encore anticancéreux.⁶³ De nombreux groupes ont développé la synthèse de ces dérivés.⁶⁴

⁵⁵ H. De Wever, H. Verachtert, *Water Res.* **1997**, *31*, 2673–2684.

⁵⁶ (a) X.-Q. Deng, M.-X. Song, C.-X. Wei, F.-N. Li, Z.-S. Quan, *Med. Chem.* **2010**, *6*, 313–320; (b) N. D. Amnerkar, K. P. Bhusari, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 149–159.

⁵⁷ M.-M. Choi, E.-A. Kim, H.-G. Hahn, K. Dal Nam, S.-J. Yang, S. Y. Choi, T. U. Kim, S.-W. Cho, J.-W. Huh, *Toxicology* **2007**, *239*, 156–166.

⁵⁸ P. Jimonet, F. Audiau, M. Barreau, J.-C. Blanchard, A. Boireau, Y. Bour, M.-A. Coléno, A. Doble, G. Doerflinger, C. Do Huu, M.-H. Donat, J. M. Duchesne, P. Ganil, C. Guérémy, E. Honoré, B. Just, R. Kerphirique, S. Gontier, P. Hubert, P. M. Laduron, J. Le Blevec, M. Meunier, J.-M. Miquet, C. Nemecek, M. Pasquet, O. Piot, J. Pratt, J. Rataud, M. Reibaud, J.-M. Stutzmann, S. Mignani, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2828–2843.

⁵⁹ P. W. Bowyer, R. S. Gunaratne, M. Grainger, C. Withers-Martinez, S. R. Wickramasinghe, E. W. Tate, R. J. Leatherbarrow, K. A. Brown, A. A. Holder, D. F. Smith, *Biochem. J.* **2007**, *408*, 173–180.

⁶⁰ Q. Huang, J. Mao, B. Wan, Y. Wang, R. Brun, S. G. Franzblau, A. P. Kozikowski, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6757–6767.

⁶¹ T. H. Al-Tel, R. A. Al-Qawasmeh, R. Zaarour, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1874–1881.

⁶² Y.-R. Lee, G. H. Jin, S.-M. Lee, J.-W. Park, J.-H. Ryu, R. Jeon, B.-H. Park, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2011**, *408*, 625–629.

⁶³ (a) C. G. Mortimer, G. Wells, J.-P. Crochard, E. L. Stone, T. D. Bradshaw, M. F. G. Stevens, A. D. Westwell, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 179–185; (b) S. Tasler, O. Müller, T. Wieber, T. Herz, S. Pegoraro, W. Saeb, M. Lang, R. Krauss, F. Totzke, U. Zirrgiebel, J. E. Ehlert, M. H. G. Kubbutat, C. Schächtele, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6728–6737; (c) A. Kamal, K. S. Reddy, M. N. A. Khan, R. V. C. R. N. C. Shetti, M. J. Ramaiah, S. N. C. V. L. Pushpavalli, C. Srinivas, M. Pal-Bhadra, M. Chourasia, G. N. Sastry, A. Juvekar, S. Zingde, M. Barkume, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4747–4761; (d) A. Kamal, Y. V. V. Srikanth, M. Naseer Ahmed Khan, M. Ashraf, M. Kashi Reddy, F. Sultana, T. Kaur, G. Chashoo, N. Suri, I. Sehar, Z. A. Wani, A. Saxena, P. R. Sharma, S. Bhushan, D. M. Mondhe, A. K. Saxena, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 7136–7150.

⁶⁴ A. Kamal, M. A. H. Syed, S. M. Mohammed, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2015**, *25*, 335–349.

4.b. La formation des benzo[d]thiazoles

4.b.i. Les voies de synthèse usuelles pour la formation des benzo[d]thiazoles

Les méthodologies de synthèse des benzo[d]thiazoles ont été très largement étudiées. Comme le montre la figure 17, de nombreuses voies ont été explorées afin d'obtenir des benzothiazoles substitués en position 2. Ils peuvent être synthétisés par des réactions de condensation ou de cyclisation.⁶⁵

⁶⁵ A. Gupta, S. Rawat, *J. Curr. Pharm. Res.* **2010**, 3, 13-23.

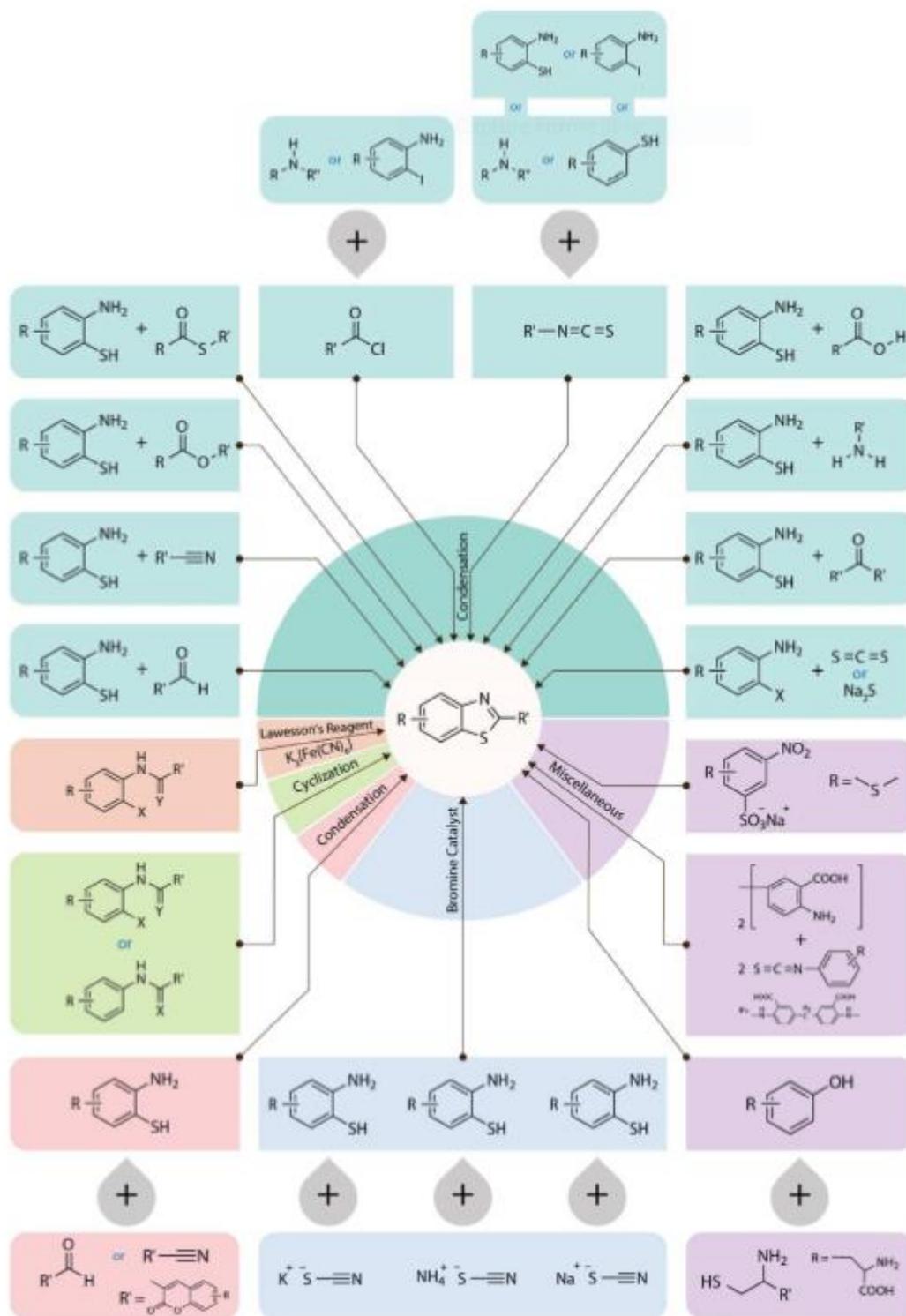


Figure 17 : Exemples de voies de synthèse afin d'obtenir des benzo[d]thiazoles substitués en position

C2.⁶⁶

⁶⁶ N. P. Prajapati, R. H. Vekariya, M. A. Borad, H. D. Patel, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 60176–60208.

4.b.ii. L'utilisation du Sel d'Appel pour la formation des benzo[*d*]thiazoles ⁶⁷

Le Chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium, ou sel d'Appel, est un réactif obtenu par l'addition de chloroacétonitrile dans du monochlorure de soufre en solution dans du dichlorométhane (DCM). Différents nucléophiles comme par exemple des anilines primaires, des méthylènes actifs, de l'eau ou encore du sulfure d'hydrogène peuvent réagir sur la position C5 du sel d'Appel, conduisant aux 4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazoles (Schéma 6).

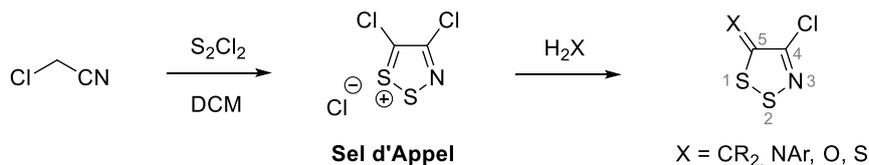


Schéma 6 : Synthèse du sel d'Appel et réactivité avec différents nucléophiles.

Le cycle 1,2,3-dithiazole possède deux liaisons de faible énergie de dissociation avec 429 kJ/mol pour la liaison S1-S2 et 464 kJ/mol pour S2-N3.⁶⁸ La faiblesse de ces liaisons favorise leur clivage en présence de nucléophiles thiophiles, permettant la synthèse de nouveaux systèmes cycliques, souvent substitués par un groupement nitrile.

Les transformations du cycle 1,2,3-dithiazole sont initiées soit par une attaque intramoléculaire sur S1 ou C5, soit par une attaque intermoléculaire sur S1 ou S2. De nombreux motifs hétérocycliques peuvent donc être générés en fonction des conditions utilisées (Schéma 7).

⁶⁷ M. Koyiono, *New ring transformations of 1,2,3-dithiazoles*, Thèse de doctorat, University of Cyprus, Nicosia, Cyprus, 11/2016.

⁶⁸ <https://labs.chem.ucsb.edu/zakarian/armen/11---bonddissociationenergy.pdf>, consulté le 23/05/18

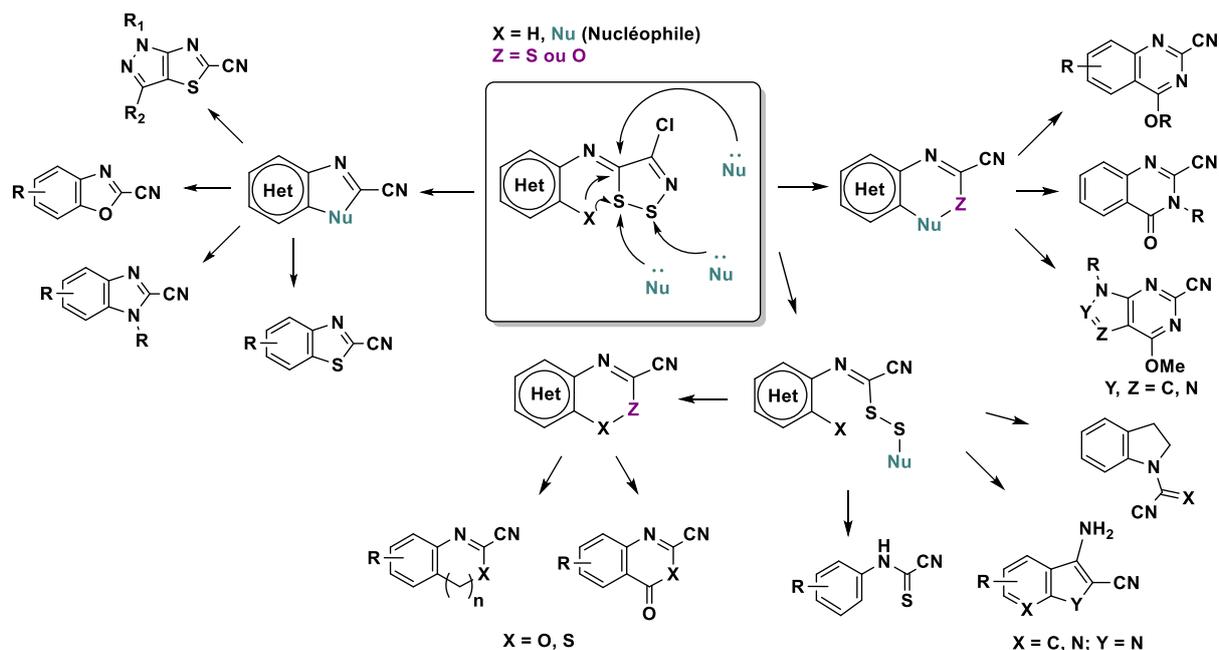


Schéma 7 : Exemple de réactions possibles avec les cycles 1,2,3-dithiazoles.⁶⁹

Après l'addition d'une aniline en position C5, le sel d'Appel peut être utilisé pour la synthèse de benzo[*d*]thiazoles. Ces composés seraient formés *via* un procédé d'électrocyclisation et de fragmentation, comme le montre le schéma 8 ci-dessous.⁷⁰ Nous verrons par la suite que d'autres conditions et types de mécanismes ont été décrits par l'équipe du Pr. Besson pour former ce fragment benzo[*d*]thiazole.

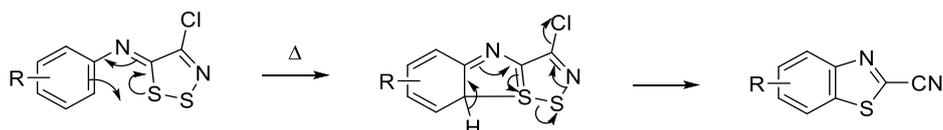


Schéma 8 : Mécanisme proposé pour la cyclisation des dithiazoles par activation thermique.

La synthèse de nouveaux dérivés benzo[*d*]thiazoles est donc pertinente pour obtenir des molécules potentiellement actives dans le milieu biologique. De plus, cette structure est facilement accessible grâce aux nombreuses méthodes développées pour sa synthèse.

⁶⁹ (a) T. Besson, J. Guillard, C. W. Rees, M. Thérissod, *Chem. Commun.* **1997**, 881–882; (b) T. Besson, G. Guillaumet, C. Lamazzi, C. W. Rees, *Synlett* **1997**, 704–706; (c) T. Besson, G. Guillaumet, C. Lamazzi, C. W. Rees, V. Thiéry, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1998**, 4057–4060; (d) V. Bénéteau, T. Besson, J. Guillard, S. Léonce, B. Pfeiffer, *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 1053–1060; (e) C. Lamazzi, S. Léonce, B. Pfeiffer, P. Renard, G. Guillaumet, C. W. Rees, T. Besson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2183–2185; (f) V. Bénéteau, A. Pierré, B. Pfeiffer, P. Renard, T. Besson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2231–2234; (g) V. Bénéteau, T. Besson, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2673–2676; (h) C. Lamazzi, H. Chabane, V. Thiéry, A. Pierre, S. Léonce, B. Pfeiffer, P. Renard, G. Guillaumet, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2002**, *17*, 397–401; (i) S. Frère, V. Thiéry, T. Besson, *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 3795–3804.

⁷⁰ (a) C. W. Rees, *J. Heterocyclic Chem.* **1992**, *29*, 639–651; (b) T. Besson, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1995**, 1659–1662; (c) V. Bénéteau, T. Besson, C. W. Rees, *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 2275–2280; (d) S. Frère, V. Thiéry, C. Bailly, T. Besson, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 773–779.

5. Les travaux antérieurs du laboratoire

5.a. Contexte de recherche

Depuis plus de 20 ans, le laboratoire se concentre sur la synthèse de composés hétérocycliques biologiquement actifs. Cette thématique a permis la mise en place d'étroites collaborations avec différentes équipes de recherche telles que celles du Pr. Bonnet à Orléans pour la modélisation (ICOA, UMR 7311), du Pr. Knapp en Allemagne pour la cristallographie avec les études RX ou encore avec les groupes du Pr. Meijer à Roscoff et du Pr. Crispino aux Etats-Unis pour l'évaluation de l'activité biologique.

Dans les années 1990, la plupart des alcaloïdes pyridoacridines, isolés de nombreux invertébrés marins, montrèrent une cytotoxicité et une activité anticancéreuse sur des cellules tumorales, lors de tests *in vitro*.⁷¹ En collaboration avec des partenaires industriels, le laboratoire a initié diverses études qui consistaient à synthétiser totalement les alcaloïdes naturels ou bien à concevoir leurs analogues (ici des dérivés de dercitines ou encore de kuanoniamines) dont l'activité anticancéreuse avait été particulièrement étudiée (Figure 18).⁷²

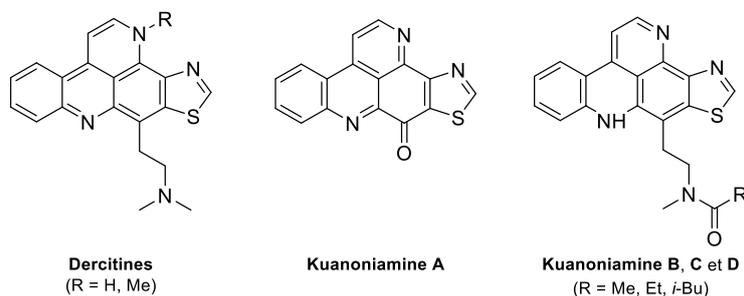


Figure 18 : Structures des dercitines et des kuanoniamines.

L'expertise du Pr. Besson acquise lors de sa collaboration avec le Pr. Rees (Imperial College, Londres) sur le chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium (Sel d'Appel)⁷³ et un changement

⁷¹ T. F. Molinski, *Chemical Reviews* **1993**, 93, 1825–1838.

⁷² (a) G. P. Gunawardana, S. Kohmoto, S. P. Gunasekera, O. J. McConnell, *JACS* **1988**, 110, 4856–4858; (b) N. S. Burres, S. Sazesh, G. P. Gunawardana, J. J. Clement, *Cancer Research* **1989**, 49, 5267–5274; (c) A. R. Carroll, P. J. Scheuer, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 4426–4431; (d) A. Kijjoa, R. Wattanadilok, N. Campos, M. S. J. Nascimento, M. Pinto, W. Herz, *Mar Drugs* **2007**, 5, 6–22.

⁷³ (a) T. Besson, K. Emayan, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1419–1420; (b) T. Besson, K. Emayan, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1995**, 2097–2102; (c) T. Besson, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1996**, 2857–2860; (d) G. Cottenceau, T. Besson, V. Gautier, C. W. Rees, A.-M. Pons, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 529–532; (e) T. Besson, G. Cottenceau, V. Gautier, C. W. Rees, A.-M. Pons, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 2343–2348; (f) H. Chabane, C. Lamazzi, V. Thiery, A. Pierre, S. Leonce, B. Pfeiffer, P. Renard, G. Guillaumet, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2003**, 18, 167–174.; (g) A. Testard, L. Picot, I. Fruitier-Arnaudin, J.-M. Piot, H. Chabane, L. Domon, V. Thiery, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2004**, 19, 467–473; (h) H. Chabane, A. Pierre, S. Leonce, B. Pfeiffer, P. Renard, V. Thiery, G. Guillaumet, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2004**, 19, 567–575.

de stratégie du partenaire industriel ont conduit à la synthèse de molécules plus simples et composées d'un motif benzo[*d*]thiazole afin de former des dérivés de carbazoles ou encore de coumarines, dont l'activité anticancéreuse a aussi été reconnue (Figure 19).⁷⁴ Plus précisément, ces nouveaux squelettes ont été synthétisés dans le but d'obtenir des inhibiteurs de la Glycogène Synthase-Kinase 3 (GSK-3), une protéine kinase du groupe CMGC. GSK-3 a un rôle important dans les mécanismes cellulaires ; la modification de son activité a été détectée lors de certains cancers comme les cancers du sein, des ovaires ou le cancer colorectal.⁷⁵

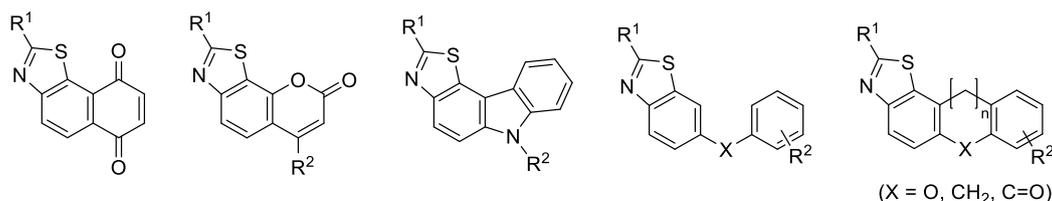


Figure 19 : Exemples de structures développées par l'équipe du Pr Besson entre 2002 et 2004.

C'est dans ce contexte que les motifs thiazole et quinazolin-4(3*H*)-one ont été associés conduisant à la synthèse d'un composé thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one. Cette molécule a été obtenue *via* la double utilisation du sel d'Appel, en sept étapes et à partir du 5-nitroanthranilonitrile, avec un rendement global de 6% (Schéma 9).⁷⁶

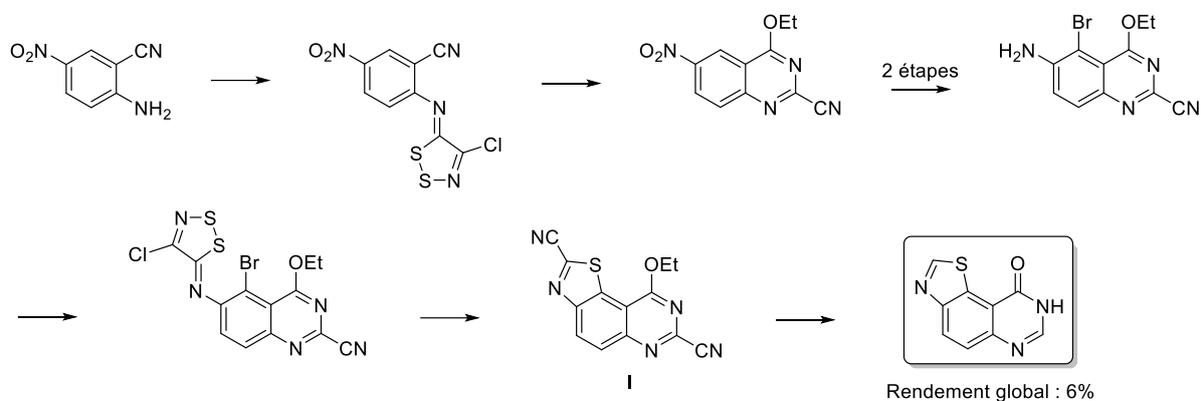


Schéma 9 : Première synthèse de la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one au laboratoire.

Deux composés (le 9-ethoxythiazolo[5,4-*f*]quinazolin-2,7-dicarbonitrile **I** (Schéma 9) et son analogue 9-méthoxy) ont montré une activité sur des cellules cancéreuses, cependant insuffisante pour que le partenaire industriel impliqué continue ce projet commun.

⁷⁴ (a) H. Chabane, C. Lamazzi, V. Thiéry, G. Guillaumet, T. Besson, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2483–2486; (b) F.-R. Alexandre, A. Berecibar, R. Wrigglesworth, T. Besson, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 1413–1419.

⁷⁵ J. A. McCubrey, D. Rakus, A. Gizak, L. S. Steelman, S. L. Abrams, K. Lertpiriyapong, T. L. Fitzgerald, L. V. Yang, G. Montalto, M. Cervello, M. Libra, F. Nicoletti, A. Scalisi, F. Torino, C. Fenga, L. M. Neri, S. Marmiroli, L. Cocco, A. M. Martelli, *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* **2016**, *1863*, 2942–2976.

⁷⁶ T. Besson, J. Guillard, C. W. Rees, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1027–1030.

Ces travaux ont été poursuivis dans le but de synthétiser des analogues de ces structures actives, *via* des squelettes 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles, fonctionnalisés en position C2 par une fonction modulable. Une nouvelle stratégie de synthèse a été mise au point en supprimant une des étapes utilisant le sel d'Appel. Elle donne accès aux précurseurs 2-carbonitriles en six étapes,⁷⁷ qui, en présence d'alcool benzylique, ont conduit aux deux thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one-2-carbimides de benzyle, actifs sur la kinase GSK-3 (Schéma 10).⁷⁸ Ces composés ont aussi montré des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du micromolaire sur DYRK1A (1,5 μM pour R = Et et 1,9 μM pour R = *i*Pr).

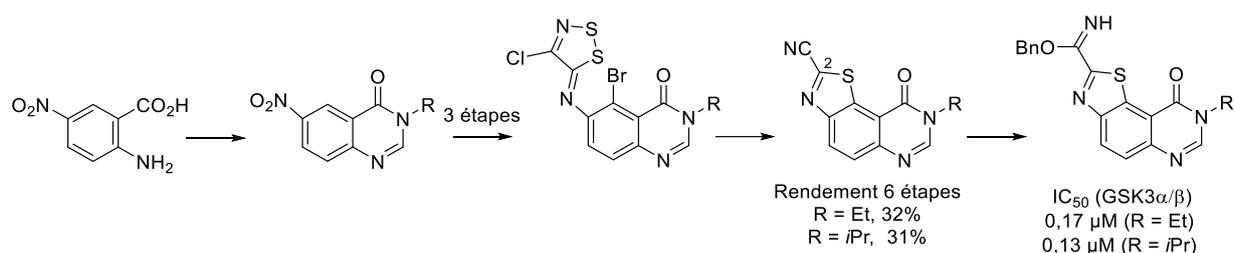


Schéma 10 : Synthèse de thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones actifs sur GSK3.

5.b. Synthèse des thiazolo[5,4-*f*]quinazolines

Les pharmacophores 4-aminoquinazolines et leurs dérivés sont très représentés dans les inhibiteurs de kinases ATP-compétitifs. De plus, les 4-aminoquinazolines actives pour le traitement du cancer possèdent dans de nombreux cas un groupement aromatique sur l'amine en C4.⁷⁹ A partir de ces études et des résultats obtenus précédemment, de nouvelles structures, associant un motif thiazole et une 4-aminoarylquinazoline ont été envisagées dans le but d'obtenir des dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolines.

Les travaux de thèse du Dr. Alicia Foucourt (2006-2009), réalisés en collaboration avec la société Exonhit Therapeutics, ont permis d'optimiser deux voies de synthèse pour accéder aux thiazolo[5,4-*f*]quinazolines-2-carbonitriles, substitués par un groupement aryl-amino en C9 (Schéma 11). La première étape de la voie A consiste à former la partie quinazoline alors que dans la voie B, plus convergente mais plus longue, cette cyclisation se fait en fin de synthèse.

⁷⁷ A. Testard, L. Picot, O. Lozach, M. Blairvacq, L. Meijer, L. Murillo, J.-M. Piot, V. Thiéry, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2005**, *20*, 557–568.

⁷⁸ C. Logé, A. Testard, V. Thiéry, O. Lozach, M. Blairvacq, J.-M. Robert, L. Meijer, T. Besson, *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1469–1477.

⁷⁹ G. Marzaro, A. Guiotto, A. Chilin, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2012**, *22*, 223–252.

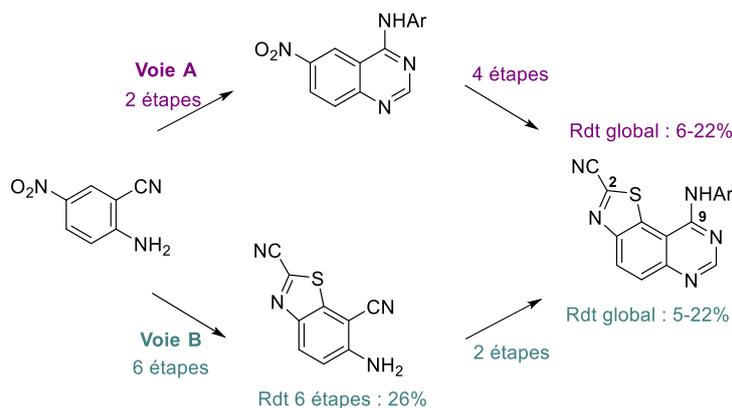


Schéma 11 : Synthèse des dérivés thiazoloquinazolines selon les deux stratégies optimisées.

A partir de ces précurseurs, plus de cent dix produits ont été synthétisés *via* des réactions d'addition nucléophile sur le nitrile en C2. Leur pouvoir d'inhibition a ensuite été évalué sur un panel de protéines kinases. Cinq dérivés 9-(arylamino)thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbimides de méthyle ont montré une activité inhibitrice avec des IC_{50} de l'ordre du micromolaire sur la kinase GSK-3. Ces molécules, nommées **EHT**, ont montré des interactions d'autant plus fortes, de l'ordre du sub-nanomolaire, avec la protéine kinase DYRK1A, qui est devenue la cible principale du laboratoire (Figure 20).⁸⁰ Ces molécules possèdent une importante sélectivité : sur 339 protéines kinases testées, l'EHT 5372 a révélé une activité avec seulement neuf d'entre elles ($IC_{50} < 200$ nM), qui appartiennent toutes au groupe CMGC.⁸¹

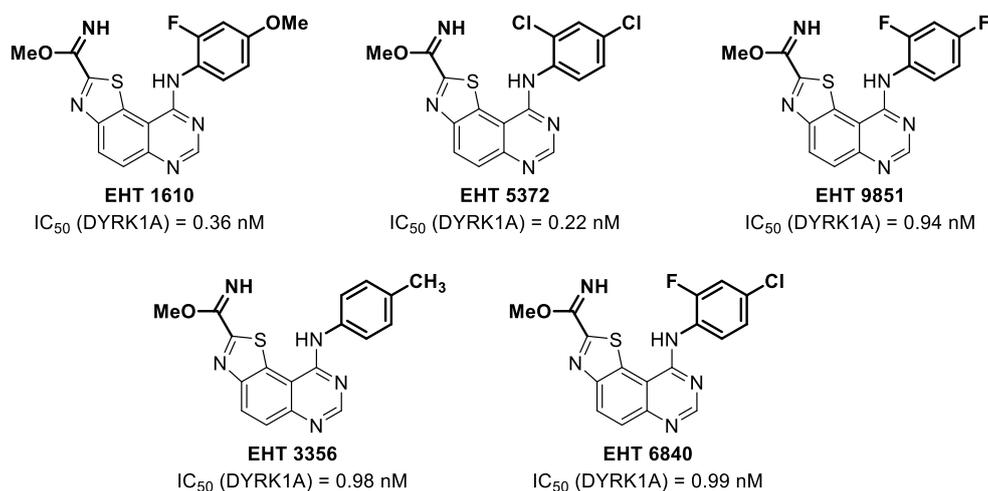


Figure 20 : EHT les plus actifs sur DYRK1A.

⁸⁰ (a) A. Foucourt, D. Hédou, C. Dubouilh-Benard, A. Girard, T. Taverne, A.-S. Casagrande, L. Désiré, B. Leblond, T. Besson, *Molecules* **2014**, *19*, 15411–15439; (b) A. Foucourt, D. Hédou, C. Dubouilh-Benard, L. Désiré, A.-S. Casagrande, B. Leblond, N. Loäec, L. Meijer, T. Besson, *Molecules* **2014**, *19*, 15546–15571.

⁸¹ S. Coutadeur, H. Benyamine, L. Delalonde, C. de Oliveira, B. Leblond, A. Foucourt, T. Besson, A.-S. Casagrande, T. Taverne, A. Girard, M. P. Pando, L. Désiré, *J. Neurochem.* **2015**, *133*, 440–451.

Ces molécules sont reconnues dans la littérature comme étant les inhibiteurs de DYRK1A les plus puissants.^{7b, 24} Les EHT 1610 et 5372 ont été spécialement utilisés pour décrire certains mécanismes cellulaires. L'équipe du Pr. Crispino a pu démontrer l'action de DYRK1A sur la quiescence des cellules précurseurs de lymphocytes B et T en utilisant l'EHT 1610.²⁰ L'équipe du Pr. Friedman a analysé différentes activités cellulaires liées à l'action de DYRK1B (Mirk), comme le maintien de l'état de quiescence, en utilisant les EHT, et plus particulièrement l'EHT 5372.^{23, 82}

Afin de comprendre les interactions molécule/kinase, les EHT les plus actifs ont été transmis à l'équipe du Pr. Knapp qui a formé des co-cristaux EHT1610/DYRK2 et EHT5372/DYRK2 dans le but de les analyser par RX. Des co-cristaux EHT/DYRK1A n'ont malheureusement pas été obtenus. L'analyse RX a suggéré que les EHT formaient plusieurs liaisons faibles avec la poche catalytique de DYRK2, au niveau du site de fixation de l'ATP. Une liaison hydrogène entre l'azote N6 de l'EHT et la lysine 178, située au fond de la poche (Figure 21, cercle bleu), et des interactions de type π -stacking entre le cycle benzénique de la molécule et le résidu portier phénylalanine Phe228 (cercle rouge) sont deux sites d'ancrage révélés par cette étude. L'orientation du groupement imidate, dont l'azote est dirigé vers la région charnière, ne permet que des interactions faibles à cause de la distance qui les sépare (entre 3,1 et 3,3 Å). Cette liaison non-conforme a été suggérée pour expliquer la sélectivité et la forte activité inhibitrice de ces composés.⁸³

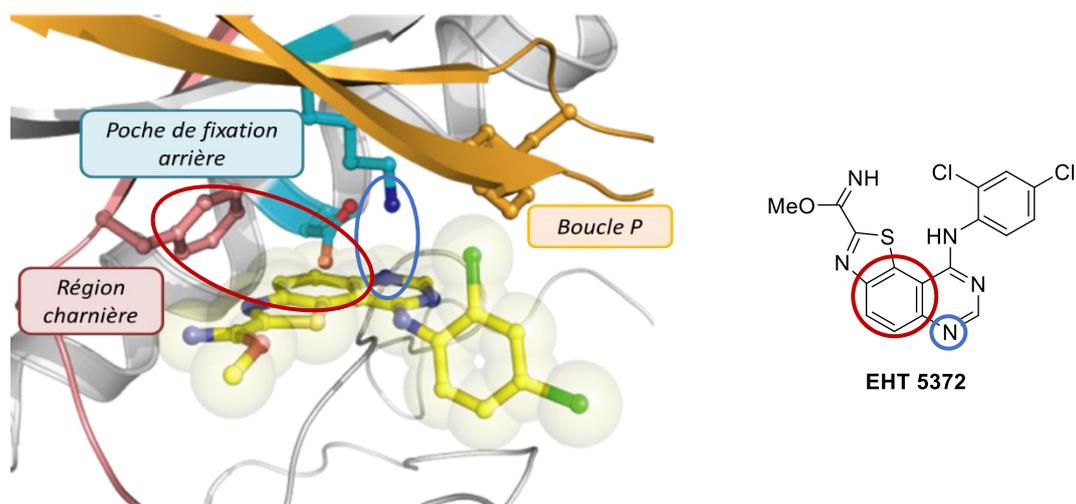


Figure 21 : Représentation du co-cristal EHT5372/DYRK2.

Un docking prédictif a pu être réalisé par l'équipe du Pr. Bonnet dans le but d'extrapoler ces résultats aux EHT placés dans la poche catalytique de la kinase DYRK1A. Ce dernier a révélé que ces

⁸² (a) X. Deng, S. E. Mercer, C.-Y. Sun, E. Friedman, *Genes & Cancer* **2014**, 5, 22–30; (b) X. Deng, J. Hu, M. J. Cunningham, E. Friedman, *Genes & Cancer* **2014**, 5, 201–211.

⁸³ A. Chaikuad, J. Diharce, M. Schröder, A. Foucourt, B. Leblond, A.-S. Casagrande, L. Désiré, P. Bonnet, S. Knapp, T. Besson, *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 10315–10321.

molécules auraient les mêmes types d'interactions que celles décrites précédemment avec DYRK2. Cependant, les liaisons hydrogène entre le groupement imidate et la région charnière seraient plus fortes, expliquant en partie l'affinité des EHT envers DYRK1A (vert) (Figure 22).

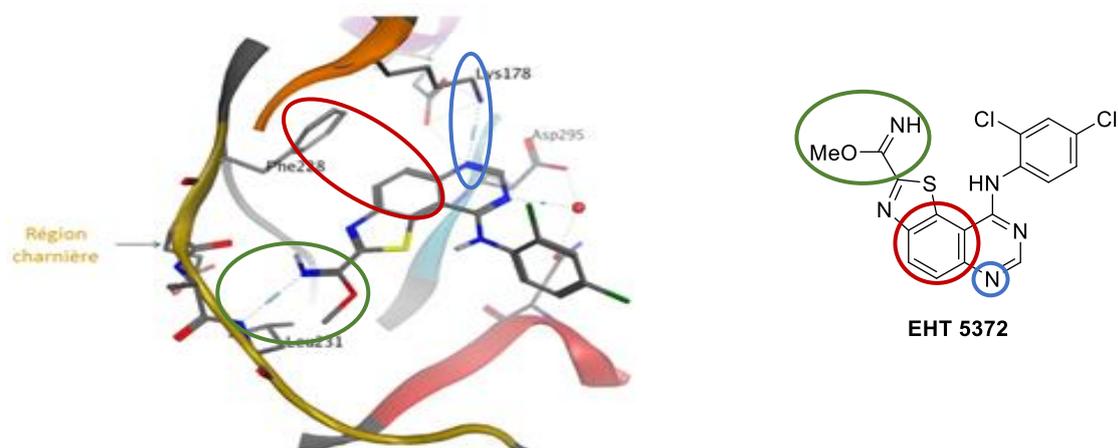


Figure 22 : Modélisation des interactions entre l'EHT5372 et DYRK1A.

5.c. Synthèse des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et de leurs isomères de position

Fort de ces derniers résultats, le laboratoire a voulu étendre l'étude des relations structure/activité aux thiazoloquinazolin-9-ones. Ces travaux, commencés par la thèse d'Alexandra Testard dans les années 2000 et prolongés par la thèse de Damien Hédou (2011-2014) ont permis d'optimiser la synthèse des dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et de leurs isomères de position, puis d'effectuer des pharmacomodulations des positions C2 et N8.

La synthèse des thiazoloquinazolinones a été optimisée et décrite pour les isomères linéaires thiazolo[4,5-*g*] et thiazolo[5,4-*g*]quinazolin-9(8*H*)-ones et pour les composés angulaires thiazolo[4,5-*h*] et thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. Tous ces isomères utilisent comme précurseur des acides anthraniliques commerciaux et peu onéreux (Schéma 12).⁸⁴

⁸⁴ D. Hédou, R. Guillon, C. Lecointe, C. Logé, E. Chosson, T. Besson, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 3182–3191.

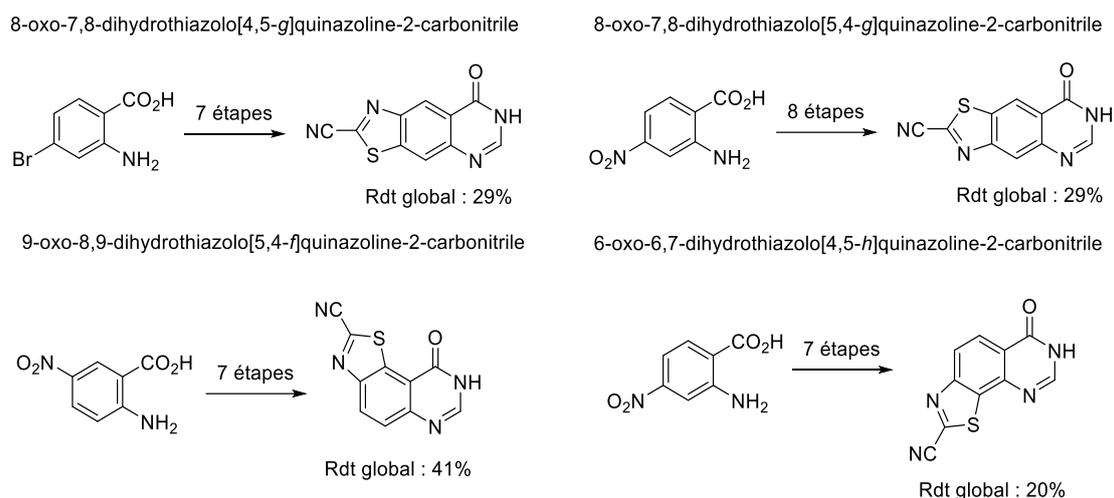


Schéma 12 : Synthèse des différentes thiazoloquinazolinones déprotégées.

La synthèse de thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one-2-carbonitriles substitués en N8 par un groupement alkyle, aryle, benzyle ou amine a été particulièrement explorée. Comme pour la synthèse des thiazolo[5,4-*f*]quinazolines, deux voies ont été optimisées : la première étape de la voie A permet de former la partie quinazolin-4(3*H*)-one alors que dans voie B, plus convergente mais plus longue, cette cyclisation se fait en fin de synthèse (Schéma 13). La voie B permet d'obtenir un intermédiaire benzo[*d*]thiazole poly-fonctionnalisés.⁸⁵

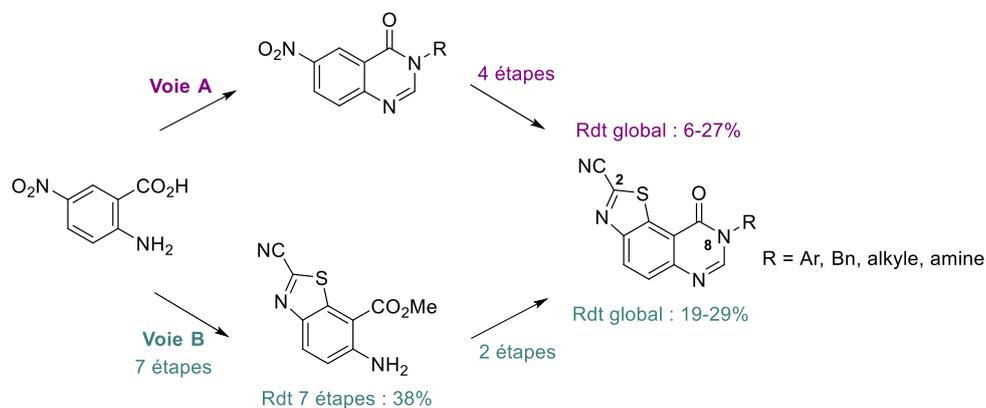


Schéma 13 : Les différentes voies pour la synthèse des 9-oxo-thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles substitués en N8.

L'étude de la pharmacomodulation de la position C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one-2-carbonitriles a permis de synthétiser de nombreux dérivés esters, amides, imidates et amidines *via* des additions nucléophiles sur la fonction cyano des précurseurs (Schéma 14). Le squelette le plus étudié a été celui de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one.

⁸⁵ D. Hédou, J. Godeau, N. Loaëc, L. Meijer, C. Fruit, T. Besson, *Molecules* **2016**, *21*, 578–597.

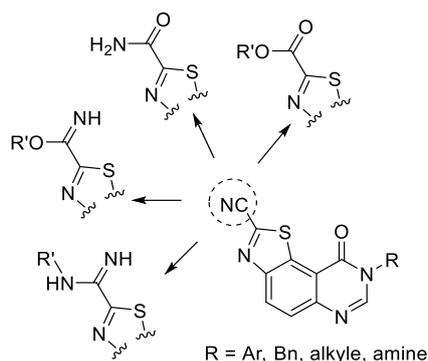


Schéma 14 : additions nucléophiles sur la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one-2-carbonitrile.

Les résultats des tests biologiques *in vitro* ont révélé que cinq de ces molécules présentaient des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire avec DYRK1A. Ces thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones sont substituées en C2 par un imidate méthylique ou benzylique et en N8 par un groupement cycloalkyle (Figure 23).

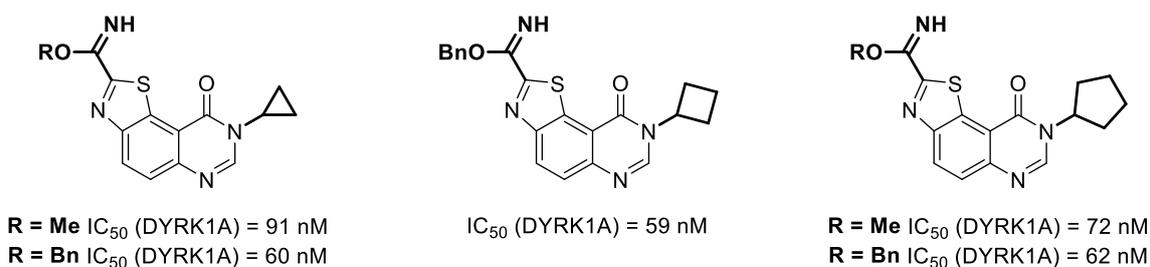


Figure 23 : thiazolo[5,4-*f*]quinazolinones inhibitrices de DYRK1A.

Inspirée de l'étude RX des co-cristaux EHT/DYRK2, une modélisation prédictive du positionnement de ces molécules actives dans la poche catalytique de DYRK1A a pu être calculée. Elle suggère les mêmes types d'interactions que celles de la prédiction EHT/DYRK1A, à savoir des liaisons hydrogène entre l'azote N6 et le résidu Lys178 (bleu) et entre le groupement imidate et la région charnière (vert), ainsi qu'une interaction de type π -stacking entre le cycle benzénique et le résidu portier Phe228 (rouge) (Figure 24).

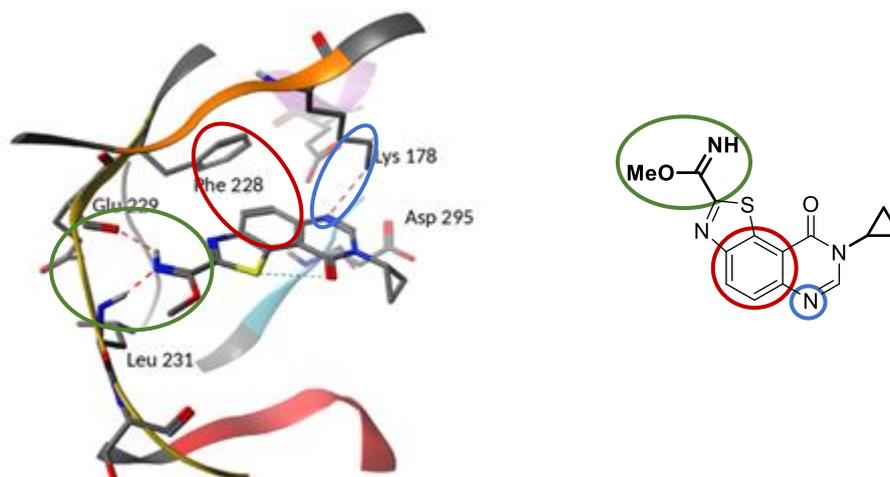


Figure 24 : Modélisation prédictive des interactions entre le 8-cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbimide de méthyle et DYRK1A.

En parallèle, une étude sur la modélisation prévisionnelle basée sur l'extension de fragment en C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one a été réalisée par l'équipe du Pr. Pascal Bonnet (ICOA, UMR 7311, Orléans), et en particulier par le Dr Julien Diharce, afin de définir de nouvelles molécules ayant un fort potentiel d'inhibition sur la kinase DYRK1A. Les résultats ont montré que la région charnière de DYRK1A pouvait former des interactions avec trois de ses résidus : le glutamate 239 et la sérine 242, donneurs de liaison hydrogène et la leucine 241, accepteur de liaison hydrogène (Schéma 15).

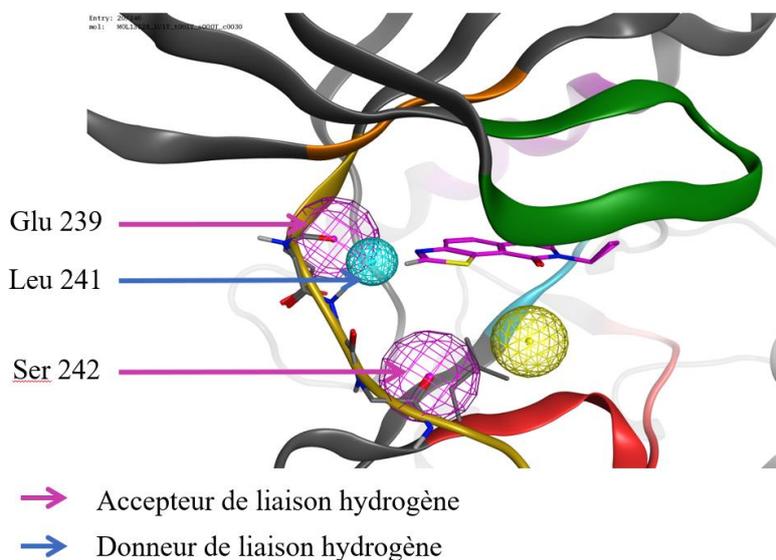


Schéma 15 : Interactions envisagées entre le fragment étendu en C2 des dérivés 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et la région charnière de DYRK1A.

Parmi les cent mille 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones substituées en C2 testées lors du docking, environ cinq cents ont été conservées pour leur interaction potentielle avec au moins deux des trois résidus de la région charnière de DYRK1A. Le groupement en position C2 de la molécule pourrait être modifié par un groupement aromatique (plus spécialement par un hétéroaryle) ou par l'élongation de la chaîne carbonée, avec des fragments fonctionnalisés. De nouvelles chimiothèques de molécules substituées en C2 et potentiellement actives seraient également obtenues après la modulation du groupement alkyle en position N8.

Les différents résultats obtenus sur les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones ont permis au Dr. Marine Harari d'élargir l'étude de ces noyaux tricycliques pendant ses travaux de thèse (2012-2015). Le couplage d'aryles et surtout d'hétéroaryles a été réalisé en position C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones, possédant une liaison C_{sp2}-H sur cette position qui est activable. Une C-H arylation en C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a aussi été envisagée, dans le but d'acquérir des informations quant à l'influence sur l'activité biologique d'un groupement sur cette position qui n'a jamais été fonctionnalisée lors des études précédentes (Figure 25).

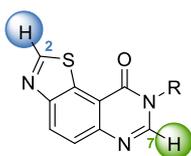


Figure 25 : Positions C-H activables des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

Afin d'obtenir une méthodologie de C-H arylation orthogonale des positions C2 et C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones, une étude modèle sur les quinazolin-4(3*H*)-ones a d'abord été menée par les Dr. Sylvain Laclef et Julien Godeau. Elle a permis de trouver les meilleures conditions pour aryle la position C2 de ces noyaux avec une bis-catalyse palladium/cuivre. Une étape d'activation permet d'assurer la reproductibilité des résultats. Cette méthodologie a conduit à la synthèse de cinquante composés obtenus avec des rendements entre 14 et 96% (Schéma 16).⁸⁶

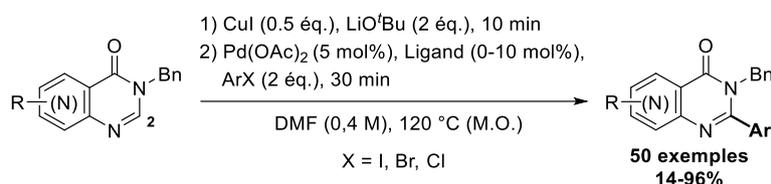


Schéma 16 : Condition de C-H arylation en C2 pour les 3-benzylquinazolin-4(3*H*)-ones.

⁸⁶ (a) S. Laclef, M. Harari, J. Godeau, I. Schmitz-Afonso, L. Bischoff, C. Hoarau, V. Levacher, C. Fruit, T. Besson, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 1700–1703; (b) J. Godeau, M. Harari, S. Laclef, E. Deau, C. Fruit, T. Besson, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 7705–7717.

Une méthodologie de C–H arylation sur les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a ensuite été élaborée, permettant l'arylation sélective et séquentielle des positions C2 et C7. En fonction des conditions, elle permet la synthèse de la molécule bis-arylée **A** (avec deux motifs aryles identiques), mono-arylée en C2 **B** ou di-arylée **C** (aryles différents) (Schéma 17).⁸⁷

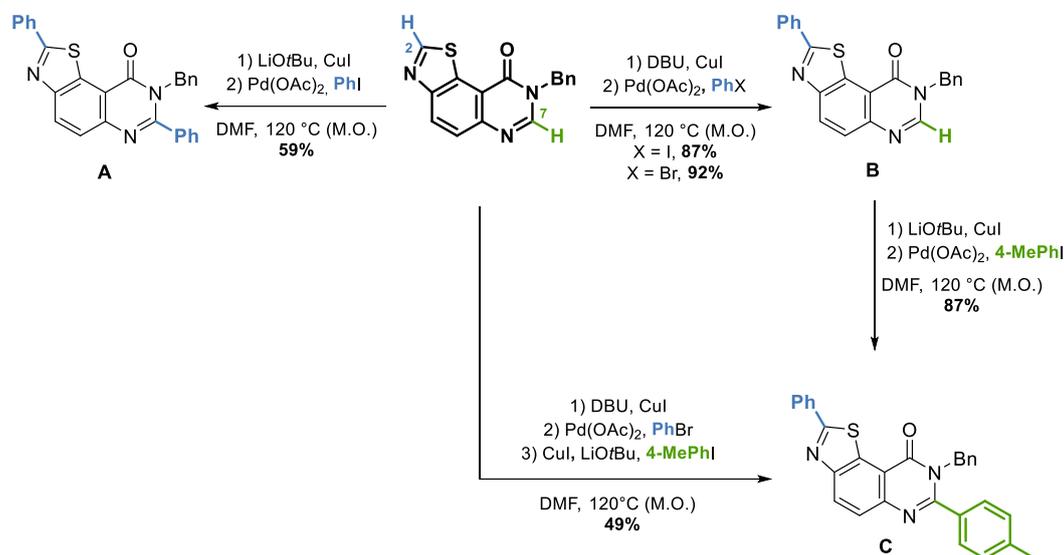


Schéma 17 : C–H arylation de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one en C2 et C7.

Cette étude a été réalisée sur la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one, afin d'obtenir rapidement des dérivés arylés N8 libres après débenzylation. Malheureusement aucune des conditions testées lors de ces travaux de thèse n'a permis de déprotéger ces composés tricycliques.

⁸⁷ M. Harari, F. Couly, C. Fruit, T. Besson, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 3282–3285.

6. Les objectifs de thèse

Ces travaux de thèse s'inscrivent dans la continuité des acquis du laboratoire et des résultats des évaluations biologiques obtenus sur les thiazolo[5,4-*f*]quinazolines et les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. L'objectif principal est la modulation du groupement en position C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones en faisant varier la taille et la nature des substituants afin de former des inhibiteurs potentiels sélectifs de DYRK1A.

L'étude de la modélisation prévisionnelle sur l'extension de fragment en C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a conduit à un premier axe de recherche. Des nucléophiles originaux tels que les acides aminés ont été sélectionnés afin d'allonger la chaîne carbonée de cette position *via* une addition nucléophile sur le dérivé cyané. Cette étude a été envisagée sur un modèle, le 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one-2-carbonitrile qui offre la possibilité d'obtenir facilement une nouvelle série de molécules après débenzylation des composés obtenus (Schéma 18).

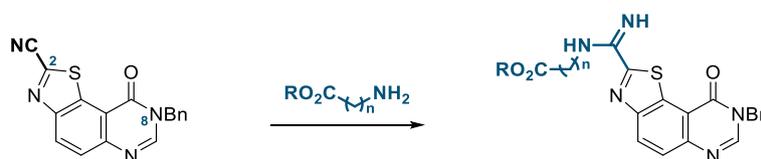


Schéma 18 : Premier axe : élongation de la chaîne en C2 du 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one-2-carbonitrile par addition nucléophile d'acides aminés.

Le second axe de recherche de cette thèse porte sur l'habillage des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones *via* une réaction de C–H arylation metallo-catalysée. Avec la méthodologie optimisée par le Dr. Marine Harari, le premier objectif de cet axe est l'exemplification de la réaction de C–H arylation en C2 et en C7 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one. Le couplage d'hétéroaryles en C2 permettrait de mimer la fonction imidate des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones actives, dont la stabilité chimique en milieu biologique est discutable. L'évaluation de l'activité biologique des composés di et bis-arylés donnerait des informations sur l'influence de la fonctionnalisation de la position C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. Enfin, l'étude de la débenzylation des dérivés mono-arylés a été envisagée afin d'obtenir des 2-arylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones libres (Schéma 19).

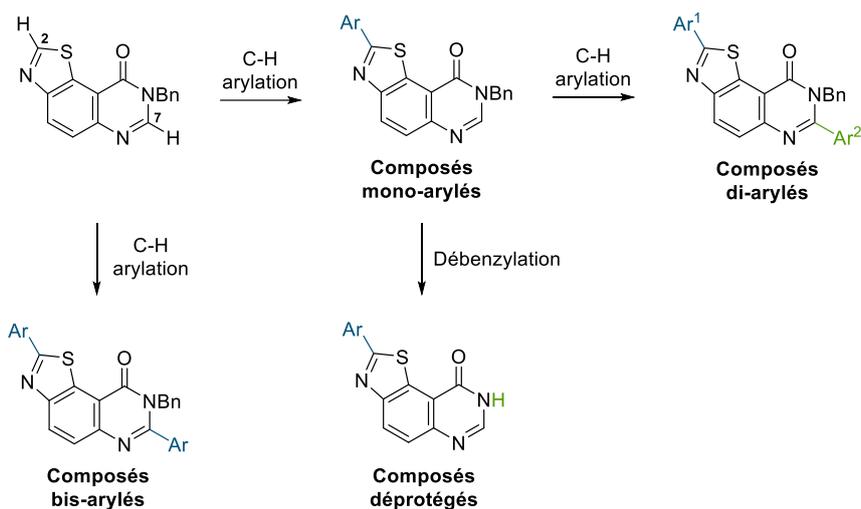


Schéma 19 : Second axe, premiers objectifs : exemplification de la méthode de C–H arylation de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one et débenzylation des dérivés mono-arylés.

Lors des études antérieures, la structure la plus explorée a été la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one. Afin de prolonger l'étude RSA sur ce noyau, la réaction de C–H arylation en C2 du précurseur 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one constitue le second objectif de cet axe de recherche (Schéma 20).

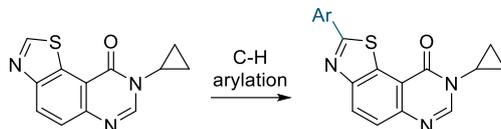


Schéma 20 : Second axe, deuxième objectif : C–H arylation sur la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one.

La pharmacomodulation de la position N8 du composé mono-arylé le plus actif sur DYRK1A est aussi envisagée avec des groupements alkyles et alkylesters : les alkyles étant les groupements portés par les dérivés imidates les plus actifs sur DYRK1A et les alkylesters pouvant favoriser de nouvelles interactions avec des résidus de la poche catalytique de la kinase (Schéma 21).

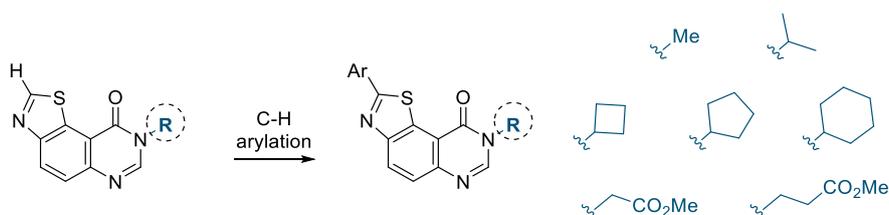


Schéma 21 : Second axe, troisième objectif : pharmacomodulation de la position N8 du composé le plus actif sur DYRK1A

Les analyses RX des co-cristaux et les modélisations prédictives sur les thiazolo[5,4-*f*]quinazolines (EHT) suggèrent que trois groupements ou atomes seraient essentiels pour assurer le pouvoir inhibiteur des molécules sur la kinase DYRK1A : l'azote de l'imidate en C2 et celui en position 6 ainsi que le cycle benzénique. Les benzo[*d*]thiazoles semblent être des plateformes de choix, pouvant réunir ces trois sites d'ancrage (Figure 26).

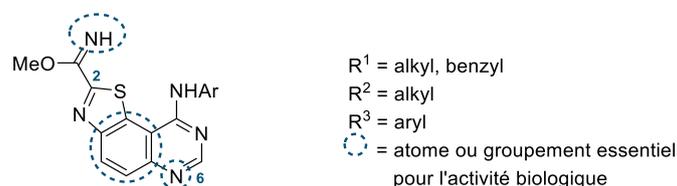


Figure 26 : Atomes ou groupes d'atomes suggérés comme essentiels pour l'activité des EHT sur DYRK1A.

Dans ce contexte, la fonctionnalisation du 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile, un intermédiaire isolé lors de la synthèse des EHT, a été envisagée. Cependant, ce dérivé benzo[*d*]thiazole possède deux fonctions nitriles. L'objectif de cet axe de recherche est donc l'étude de la régiosélectivité du 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile, dans le but de synthétiser des composés dont la structure serait proche de celle des EHT : ce squelette bicyclique serait substitué d'un imidate en C2, d'une amine libre ou protégée en C6 et d'une amidine en C7. Ainsi, nous pourrions étudier l'influence de la flexibilité conformationnelle des positions C6 et C7 (Schéma 22).

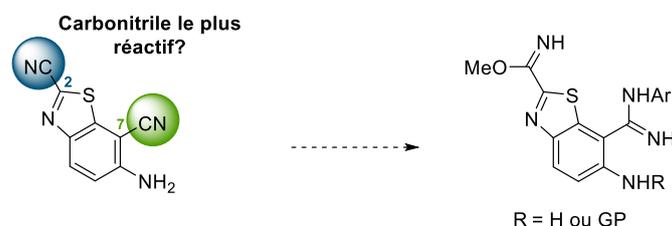


Schéma 22 : Troisième axe : étude de la régiosélectivité puis fonctionnalisation du 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile.

L'évaluation de l'activité inhibitrice sur un panel de protéines kinases dont DYRK1A est réalisée sur la grande majorité des composés synthétisés au laboratoire.

Chapitre 1 : Synthèse des dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles et addition nucléophile d'un acide aminé ou d'une amine sur leur fonction en C2.

Chapitre 1 : Synthèse des dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles et addition nucléophile d'un acide aminé ou d'une amine sur leur fonction en C2.

I.1. Introduction	47
I.2. Synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués.....	52
I.2.a. Première stratégie : synthèse de la quinazolin-4(3 <i>H</i>)-one N3-substituée puis formation du fragment thiazole.	53
I.2.b. Seconde stratégie : synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués via le 6-amino-2-cyanobenzo[<i>d</i>]thiazole-7-carboxylate de méthyle 20	56
I.3. Pharmacomodulation du nitrile en C2 des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués	60
I.3.a. Addition nucléophile d'acides aminés sur les dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles	60
I.3.b. Addition nucléophile d'acides aminés sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbimide de méthyle 30	61
I.3.b.i Synthèse du précurseur.....	61
I.3.b.ii Addition nucléophile d'un acide aminé sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbimide de méthyle 9	65
I.3.c. Addition nucléophile sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitriles 9 avec d'autres nucléophiles.....	66
I.4. Conclusions et perspectives.....	68
I.5. Partie expérimentale	70

I.1. Introduction

Les travaux antérieurs du laboratoire ont permis d'étudier la pharmacomodulation de la position C2 des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles *via* des réactions d'addition nucléophile sur la fonction nitrile de ces composés. Ces travaux ont conduit à la synthèse de cinq dérivés imidates actifs sur la kinase DYRK1A avec des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire. Des dérivés carboximidamides et une hydroxylamine, obtenus à partir du 8-cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile ont aussi montré une activité inhibitrice intéressante sur DYRK1A (Figure I-1).

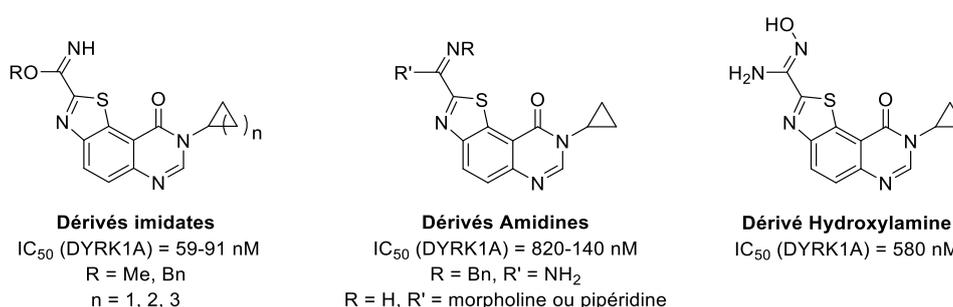


Figure I-2 : Dérivés de thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones actifs sur la kinase DYRK1A, synthétisés lors des travaux antérieurs.

L'objectif de ce chapitre consiste à continuer cette étude de pharmacomodulation de la position C2 avec l'addition de nucléophiles originaux et fonctionnalisés sur la fonction nitrile des précurseurs. Ceci permettrait une extension de fragment, comme suggérée par les modélisations prédictives, pour favoriser de nouvelles interactions entre la molécule et des résidus de la région charnière de la kinase DYRK1A. Les acides aminés constituent des candidats de choix pour cet axe de recherche.

En chimie médicinale, les acides aminés sont régulièrement utilisés dans la synthèse des composés actifs. Naturels ou de synthèse,⁸⁸ ces réactifs représentent une large famille de molécules chirales. Les acides aminés peuvent être utilisés en tant que nucléophile pour la formation de liaisons peptidiques ou encore pour la synthèse d'amidines lorsqu'ils réagissent avec une fonction nitrile.

Plusieurs exemples d'addition nucléophile d'acides aminés sur des composés substitués d'une fonction nitrile sont référencés dans la littérature. Cette réaction a été décrite pour la première fois par Pinner en 1892.⁸⁹ Elle permet de former, en milieu acide *in situ* ou lors d'une première étape, un imidate

⁸⁸ K. Maruoka, T. Ooi, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3013–3028.

⁸⁹ A. Pinner, *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1892**, *25*, 2807–2821.

plus réactif que son précurseur cyané, sur lequel une réaction d'addition-élimination en présence d'un acide aminé est effectuée.

Le groupe de Zhang a utilisé des benzonitriles substitués en tant que réactifs pour la réaction de Pinner afin de synthétiser les chlorhydrates de benzimidate méthyliques correspondants. Ces intermédiaires, obtenus en présence de chlorure d'acétyle dans le méthanol, ont ensuite été engagés avec les chlorhydrates d'ester méthylique de L-, D-sérine ou de L-, D-cystéine ou encore avec l'analogue azoté de ces acides aminés, conduisant aux dérivés de l'antibactérien Yanglingmycin avec des rendements entre 83 et 85% (Schéma I-1).⁹⁰

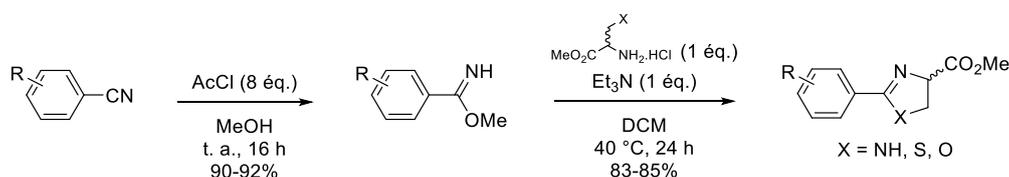


Schéma I-1 : Addition d'acides aminés sur des benzonitriles *via* la formation en milieu acide d'un imidate méthylique.

De la même manière, Guofang et coll. ont optimisé la synthèse de l'antihypertenseur losartan, en utilisant le valeronitrile et la glycine. Une réaction monotope a permis d'obtenir l'amidine correspondante grâce à l'intermédiaire imidate méthylique formé *in situ* en présence du chlorure d'acétyle dans le méthanol (Schéma I-2).⁹¹

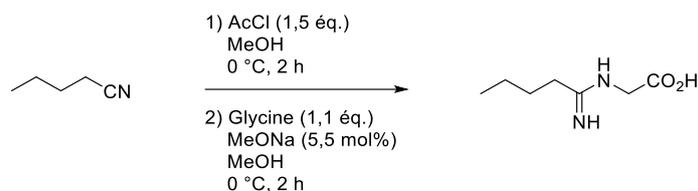


Schéma I-2 : Addition d'un acide aminé sur la fonction nitrile d'un alcane *via* la formation en milieu acide d'un imidate méthylique lors d'une réaction monotope.

En 2012, Prescher et coll. ont mis au point une synthèse de la luciférine et de ses analogues. Le cycle thiazole est formé *via* l'addition puis la cyclisation de la D-cystéine sur les dérivés 2-cyanobenzo[d]thiazoles et 2-cyanobenzo[d]imidazoles (Schéma I-3).

⁹⁰ L.-B. Li, W.-J. Dan, F.-F. Tan, L.-H. Cui, Z.-P. Yuan, W.-J. Wu, J.-W. Zhang, *Chem. Pharm. Bull.* **2015**, *63*, 33–37.

⁹¹ F. Shuangxia, G. Zheng, T. Yelv, L. Hui, J. Guofang, *J. Chem. Res.* **2015**, *39*, 451–454.

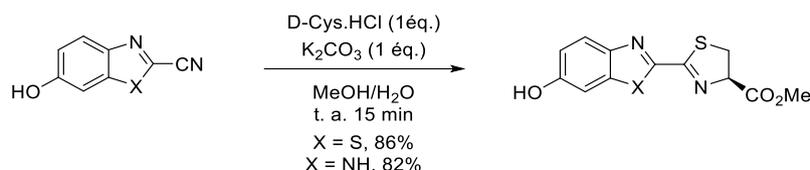


Schéma I-3 : Addition d'un acide aminé sur la fonction nitrile de dérivés hétéroaromatiques sans activation.

Le groupe a ensuite étendu la réaction en utilisant l'analogue azoté de la D-cystéine. Dans ce cas, une activation du nitrile est requise soit en milieu acide pour le composé benzo[*d*]thiazole, ou en présence de cyanure de potassium dans le méthanol pour le composé benzo[*d*]imidazole (Schéma I-4).⁹²

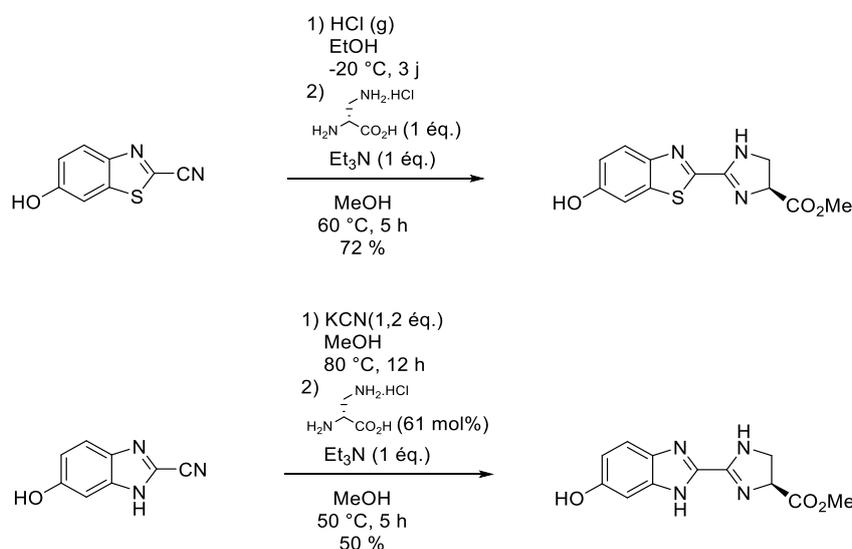


Schéma I-4 : Addition d'un analogue d'acide aminé sur la fonction nitrile de dérivés hétéroaromatiques *via* la formation d'un imidate méthylique.

L'équipe de Webber a synthétisé des amidines, potentiellement inhibitrices d'une enzyme nommée oxyde nitrique synthase inductible (iNOS), qui joue un rôle dans de nombreux processus pathologiques. Les amidines sont obtenues en trois étapes, sous la forme d'hétérocycles à sept chaînons. La première étape est une addition de Michael entre l'ester éthylique de cystéine et l'acrylonitrile. Par l'intermédiaire d'un milieu acide éthanolique, la fonction nitrile de la molécule est transformée en imidate éthylique. Le produit final est obtenu par une cyclisation intramoléculaire, initiée par le milieu réactionnel basique (Schéma I-5).⁹³

⁹² D. C. McCutcheon, M. A. Paley, R. C. Steinhardt, J. A. Prescher, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7604–7607.

⁹³ A. E. Moormann, S. Metz, M. V. Toth, W. M. Moore, G. Jerome, C. Kornmeier, P. Manning, D. W. Hansen, B. S. Pitzele, R. . Webber, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2651–2653.

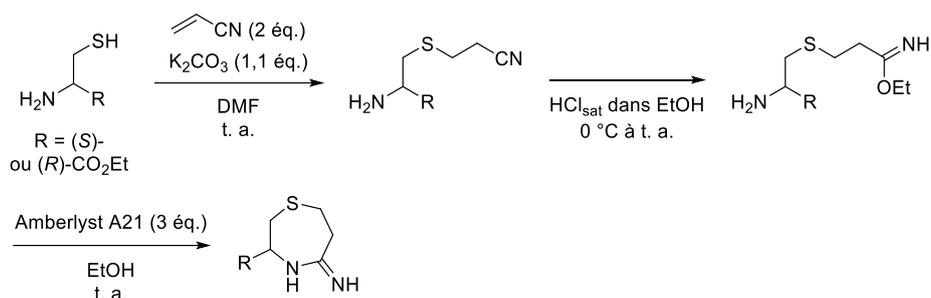


Schéma I-5 : Addition intramoléculaire *via* la formation en milieu acide d'un imidate éthyle.

Robins et coll. ont synthétisé des analogues de la ribavirine, un antiviral puissant, en additionnant la glycine, l'asparagine ou encore la glutamine sur le dérivé imidate méthylique formé en présence de méthanolate de sodium dans le méthanol (Schéma I-6).⁹⁴

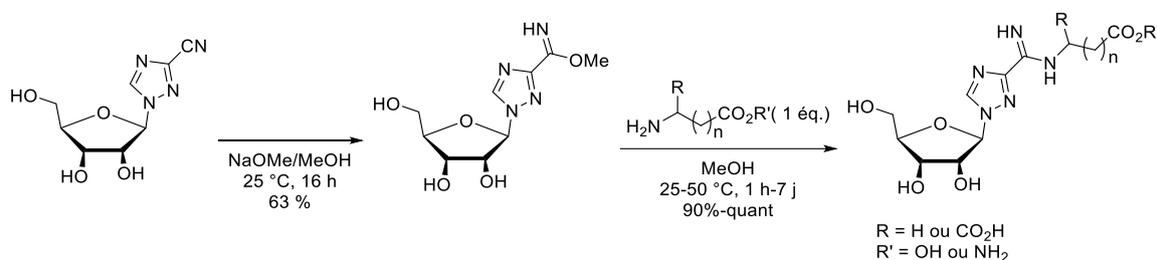


Schéma I-6 : Addition d'acides aminés et analogues sur un dérivé nitrile *via* la formation en milieu basique d'un imidate méthylique.

Les thiols étant de meilleurs nucléophiles et groupements partants que les alcools correspondants, le groupe de Mioskowski a adapté la réaction de Pinner en synthétisant des amidines à partir de thioimidates. Ces intermédiaires ont été obtenus en présence de thiophénol. Avec cette méthode, l'amidine issue de l'addition nucléophile de la glycine a pu être obtenue avec un rendement de 66% contre 14% lorsque l'analogue imidate est utilisé en tant que réactif (Schéma I-7).⁹⁵

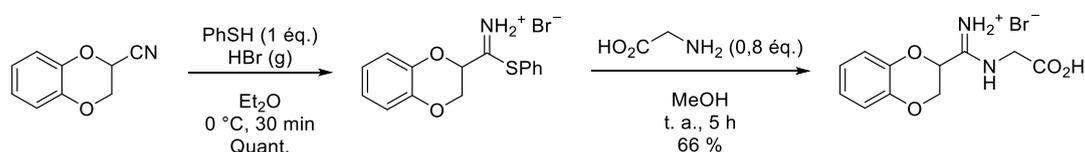


Schéma I-7 : Addition d'un acide aminé sur un la fonction nitrile d'une benzodioxine *via* la formation en milieu acide d'un thioimidate.

⁹⁴ B. Gabrielsen, M. J. Phelan, L. Barthel-Rosa, C. See, J. W. Huggins, D. F. Kefauver, T. P. Monath, M. A. Ussery, G. N. Chmurny, E. M. Schubert, K. Upadhyaya, C. Kwong, D. A. Carter, J. A. Secrist, J. J. Kirsi, W. M. Shanon, R. W. Sidwell, G. D. Kini, R. K. Robins, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3231–3238.

⁹⁵ R. Baati, V. Gouverneur, C. Mioskowski, *Synthesis* **1999**, *6*, 927-929.

Les travaux d'addition nucléophile d'un acide aminé sur les dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués ont d'abord été envisagés sur un modèle, le 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one-2-carbonitrile, qui offre la possibilité d'obtenir facilement une nouvelle série de molécules après la débenzylation des composés obtenus. La synthèse de plusieurs 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués a aussi été envisagée dans le but d'étudier la pharmacomodulation de la position N8 des amidines issues de ces additions nucléophiles.

I.2. Synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués

La modulation des positions C2 et N8 des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles a permis une vaste étude pharmacologique. Les résultats de l'évaluation biologique de ces composés ont orienté ce projet de thèse. Les 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués peuvent être obtenus selon deux stratégies différentes, optimisées lors de précédents travaux à partir de l'acide 5-nitroanthranilique. La première voie de synthèse consiste à former dans un premier temps le cycle pyrimidinone (**C**) substitué en position N3. Le cycle thiazole (**A**) est ensuite synthétisé *via* l'utilisation du sel d'Appel. La seconde voie conduit à une plateforme moléculaire sous la forme d'un benzo[*d*]thiazole (**A** et **B**). Les 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués sont ensuite obtenus *via* la cyclisation de **C** (Schéma I-8).

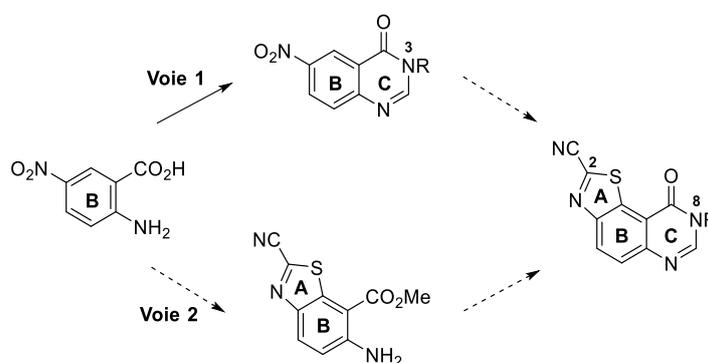


Schéma I-8 : Différentes stratégies pour la synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués.

Le choix du substituant en position N8 des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles a été effectué en fonction des études menées antérieurement au laboratoire. Plusieurs groupements ont été sélectionnés : les alkyles (méthyl, isopropyl) et cycloalkyles de trois à six chaînons afin de poursuivre les travaux du Dr. Hédou, mais aussi le groupement benzyl, utilisé par le Dr. Harari. De nouveaux substituant ont aussi été envisagés comme par exemple des esters, synthétisés *via* l'utilisation d'acides aminés.

I.2.a. Première stratégie : synthèse de la quinazolin-4(3H)-one N3-substituée puis formation du fragment thiazole.

Cette première stratégie permet de synthétiser des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles en seulement cinq étapes. Les dérivés N8-benzyle **9** et N8-cyclopropyle **10** ont pu être obtenus avec des rendements globaux respectifs de 41% et 46% (Schéma I-9).⁸⁷

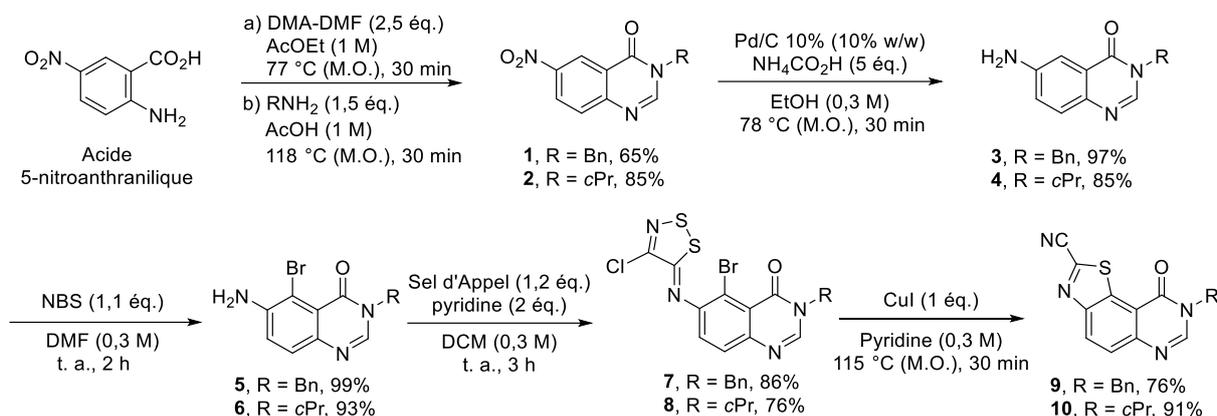


Schéma I-9 : Synthèse du 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile **9** et du 8-cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile **10**.

La première réaction monotope permet d'obtenir le dérivé quinazolin-4(3H)-one N3-substitué. Deux équivalents de diméthylacétal de *N,N*-diméthylformamide (DMADMF) sont nécessaires pour former l'amidine **I** (Schéma I-10). Cet intermédiaire **I** est issu de la condensation de l'aniline sur le site le plus électrophile du sel de méthoxyimimium généré par le chauffage du DMADMF, puis de l'estérification en ester méthylique du composé obtenu. Après évaporation sous pression réduite de l'acétate d'éthyle et des sous-produits formés, le milieu réactionnel est repris dans l'acide acétique, qui catalyse la cyclisation initiée par l'amine primaire introduite. L'addition nucléophile de l'amine se fait sur le carbone activé de l'amidine générant un intermédiaire triamine. Après le départ de diméthylamine, cette seconde amidine se cyclise en quinazolin-4(3H)-one N3-substituée **II**.⁹⁶

⁹⁶ E. Deau, D. Hédou, E. Chosson, V. Levacher, T. Besson, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3518–3521.

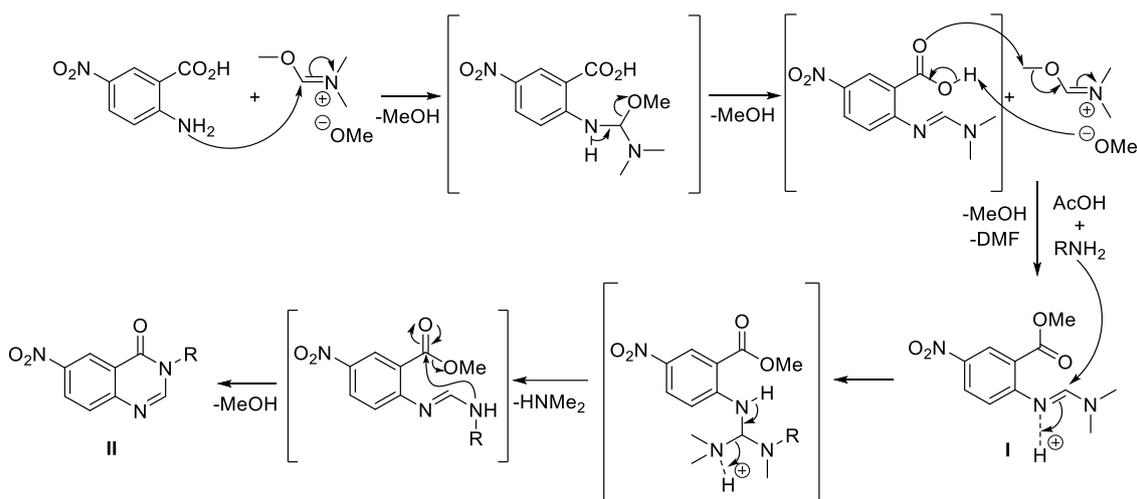


Schéma I-10 : Proposition de mécanisme réactionnel pour la synthèse de dérivés quinazolin-4(3H)-ones N3-substitués.

L'étape suivante consiste à réduire le groupement nitro des composés **1** et **2** en présence de formiate d'ammonium et d'une quantité catalytique de palladium sur charbon. La bromation régiosélective des anilines **3** et **4** avec le *N*-bromosuccinimide (NBS) conduit ensuite aux dérivés bromés **5** et **6** avec des rendements respectifs de 99% et 93%. Les anilines *o*-bromées (**5** et **6**) obtenues sont condensées sur le sel d'Appel en présence de pyridine qui piège l'acide chlorhydrique formé par cette addition nucléophile. Les 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués **9** et **10** sont synthétisés *via* la cyclisation des composés **7** et **8** en présence de cuivre, dans la pyridine. D'après le mécanisme proposé par Rees et coll. en 1998, le cuivre qui est ajouté en quantité stœchiométrique assisterait cette réaction en coordinant le brome des composés (Schéma I-11).⁹⁷

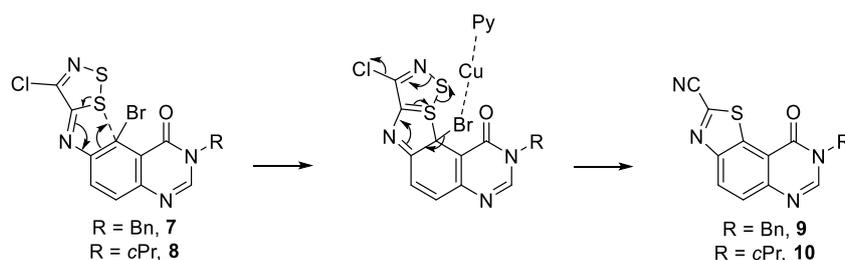


Schéma I-11 : Proposition de mécanisme réactionnel pour la cyclisation en présence de cuivre et de pyridine conduisant aux 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués.

Cette voie de synthèse offre plusieurs avantages : les 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués sont obtenus en seulement 5 cinq étapes avec de très bons

⁹⁷ T. Besson, M.-J. Dozias, J. Guillard, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1998**, 3925–3926.

rendements et un temps de réaction qui ne dépasse pas trois heures. Seuls les produits deux dernières étapes sont purifiés sur gel de silice, ce qui permet une économie de temps et de solvant non négligeable.

Ce schéma réactionnel efficace a été utilisé pour synthétiser le 8-méthyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile, toujours dans le but d'étudier pharmacomodulation de la position N8 (Schéma I-12).

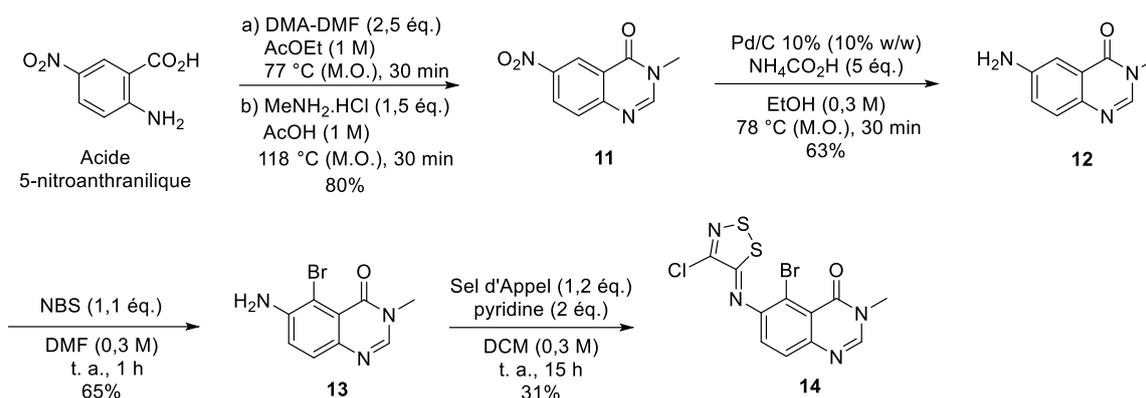


Schéma I-12 : Essais de synthèse du 8-méthyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile.

La 3-méthyl-6-nitroquinazolin-4(3*H*)-one **11** a pu être obtenue avec un rendement de 80% en présence de chlorhydrate de méthylamine (Schéma I-12). La réduction du groupement nitro a permis de synthétiser l'aniline **12** avec un rendement de 63%. Ce dérivé réduit est beaucoup moins soluble que ses analogues N8-cyclopropyle et N8-benzyle, ce qui complique grandement les extractions liquide-liquides et les triturations, expliquant la baisse de rendement. La mauvaise solubilité de ces composés a aussi été observée lors de la bromation de l'aniline **12** en présence de NBS dans le DMF. La régiosélectivité de cette réaction est conservée : seul le dérivé amino *o*-bromé **13** est formé. La condensation du sel d'Appel conduit à la quinazolin-4(3*H*)-one **14** avec un rendement faible de 31% qui est encore une fois lié à la faible solubilité dans les solvants organiques du réactif **13** et du produit **14**.

Suite aux faibles rendements obtenus, nous avons choisi de changer de stratégie de synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués pour une voie beaucoup plus convergente, déjà décrite par notre laboratoire.

I.2.b. *Seconde stratégie : synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués via le 6-amino-2-cyanobenzo[d]thiazole-7-carboxylate de méthyle 20*

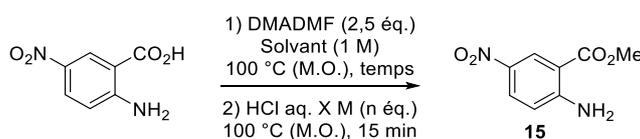
Une stratégie permettant de synthétiser une plateforme multifonctionalisée, dérivée du 2-cyanobenzo[d]thiazole a été optimisée lors de précédents travaux. Cette plateforme est ensuite utilisée en tant que précurseur des différents 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués souhaités qui sont obtenus en seulement 2 étapes, sans purification intermédiaire. Cette voie mène plus facilement à une large librairie de thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8*H*)-ones (Schéma I-13).



Schéma I-13 : Seconde stratégie pour la synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués.

La première étape de synthèse est l'estérification de l'acide 5-nitroanthranilique en présence de DMADMF. L'amidine formée est ensuite hydrolysée en milieu acide avec un chauffage par irradiation micro-onde. En fonction du type d'appareil micro-onde utilisé, les conditions de cette hydrolyse diffèrent. En système ouvert, à pression atmosphérique, la réaction est effectuée dans le DMF à 100 °C pendant 30 minutes (Tableau I-1, Entrée 1). En tube scellé, un solvant moins toxique tel que l'acétate d'éthyle peut être utilisé. Le temps de réaction et la quantité d'acide sont alors réduits (Entrée 2).⁹⁸

Tableau I-1 : Formation du méthyl 2-amino-5-nitrobenzoate **15**.



Entrée	Solvant	Type de Micro-onde	Temps (min)	HCl aq. X M (n éq.)	Rendement (%) ^a
1	DMF	Pression atmosphérique	30	2,6 M (4 éq.)	87
2	AcOEt	Système scellé	15	2 M (2 éq.)	89

^a Rendement isolé.

Le 2-amino-5-nitrobenzoate de méthyle **15** est ensuite doublement protégé par un groupement *ter*-butylcarbamate en présence de di-*ter*-butylcarbonate (Boc₂O), de 4-diméthylaminopyridine

⁹⁸ J. Godeau, A. Martinet, V. Levacher, C. Fruit, T. Besson, *Synthesis* **2016**, 48, 3504–3508.

(DMAP) et de triéthylamine à température ambiante dans le tétrahydrofurane (THF) pendant deux heures afin de former le 2-[(di-*tert*-butoxycarbonyl)amino]-5-nitrobenzoate de méthyle **16** avec un rendement de 87%. Le groupement nitro en position 5 de l'esther anthranilique **16** est ensuite réduit par une réaction de transfert d'hydrogène catalysée au palladium en présence d'un excès de formiate d'ammonium, à reflux du méthanol pendant 30 minutes sous irradiation micro-onde. L'aniline **17** est obtenue avec un rendement de 99% (Schéma I-14).

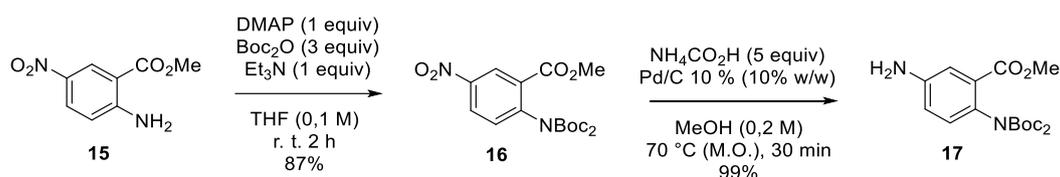


Schéma I-14 : Synthèse du 5-amino-2-[(di-*tert*-butoxycarbonyl)amino]benzoate de méthyle **17**.

La bromation du dérivé carbamate **17** n'est pas entièrement régiosélective. Cette réaction a lieu en présence de NBS dans le DMF à -10 °C pendant deux heures. Cette basse température favorise la formation du régioisomère **18a** en faveur du régioisomère **18b** avec un ratio 9/1. Le mélange est ensuite engagé dans une réaction monotope permettant l'addition du sel d'Appel puis la déprotection de l'aniline en milieu acide avec l'acide trifluoroacétique (TFA) dans le DCM à température ambiante pendant deux heures. L'aniline **19** obtenue avec un rendement de 46% sur ces trois étapes est ensuite mise en réaction avec un équivalent d'iodure de cuivre au reflux de la pyridine sous irradiation micro-onde pendant 30 minutes. Le benzo[*d*]thiazole **20** est synthétisé avec un rendement de 58%, soit avec un rendement global de 20% (Schéma I-15). Le 6-amino-2-cyanobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle **20** représente une plateforme multifonctionnalisée de grand intérêt et le précurseur des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles diversément substitués en N8.

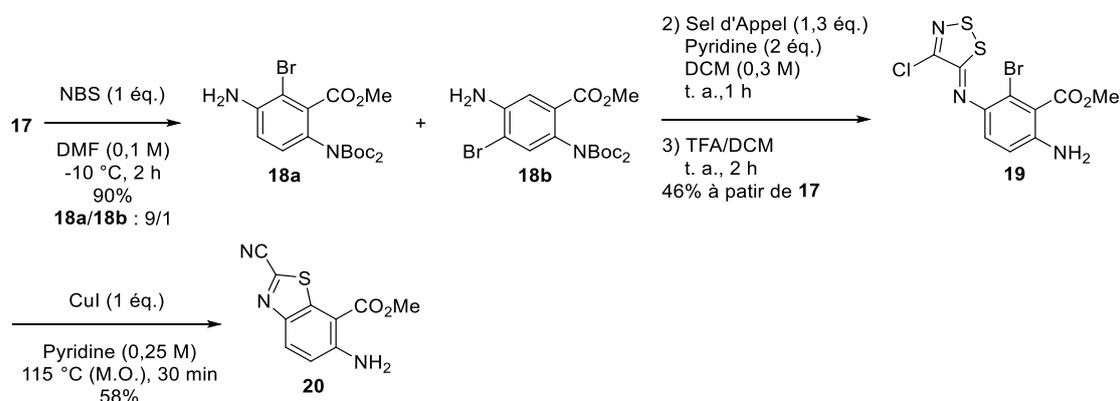


Schéma I-15 : Synthèse du 6-amino-2-cyanobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle.

Afin d'obtenir les 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués envisagés, deux réactions sont nécessaires. La première permet de former le dérivé amidine **21** essentiel pour la cyclisation du motif quinazolin-4(3*H*)-one. La synthèse de l'amidine **21** a été optimisée lors des précédents travaux en utilisant le réactif de Vilsmeier-Haack (ou chlorure de (chlorométhylène)diméthyliminium) dans le DCM à température ambiante pendant deux heures. Cependant, l'instabilité de ce réactif n'a pas permis de synthétiser un produit pur. De plus, les essais de cyclisation en milieu acide sur le composé **21** obtenu non pur avec la cyclobutylamine n'ont pas permis la formation du 8-cyclobutyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **22** avec un rendement reproductible et satisfaisant (Schéma I-16). Etant donné que le dérivé **21** ne peut pas être purifié sur gel de silice sous peine d'hydrolyse partielle ou totale de l'amidine, une nouvelle méthode avec d'autres conditions de réactions a été développée.

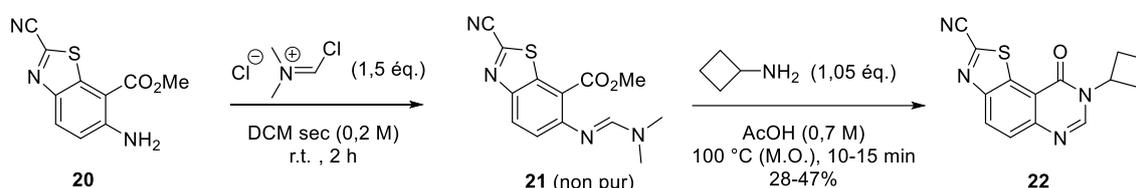
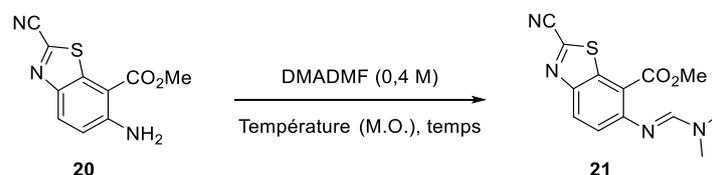


Schéma I-16 : Préparation du 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-cyclobutyle **22** en présence du réactif de Vilsmeier-Haack.

Pour la synthèse du (*E*)-2-cyano-6-((diméthylamino)méthylène)amino)benzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle **21**, nous avons appliqué les conditions décrites par notre groupe pour la formation de l'analogue du réactif **20**, le 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile (Tableau I-2).^{80b}

Tableau I-2 : Optimisation de la formation (*E*)-2-cyano-6-((diméthylamino)méthylène)amino)benzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle **21** en présence de DMADMF.



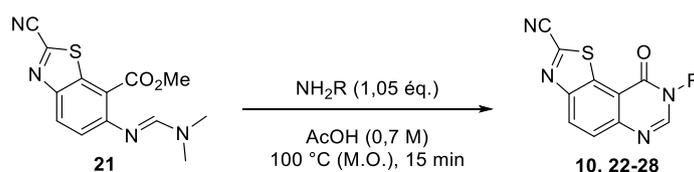
Entrée	Temps (min)	Température (°C)	Ratio 20/21 ^a	
			20	21 (Rendement %)
1	5	70	100	0
2	30	70	78	22
3	40	70	70	30
4	60	70	53	47
5	30	77	50	50
6	60	77	0	100 (94) ^b

^a Ratio déterminé par RMN ¹H après traitement. ^b Rendement isolé.

Ces essais ont permis de déterminer les conditions optimales pour la formation de l'amidine **21**. Ce composé est obtenu avec un rendement de 94% après un chauffage à 77 °C sous irradiation micro-onde pendant une heure du réactif **20** en solution dans le DMADMf (Tableau I-2, Entrée 6).

Le (*E*)-2-cyano-6-((diméthylamino)méthylène)amino)benzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle **21** a ensuite été engagé en présence d'amines primaires substituées par un groupement alkyle ou cycloalkyle dans l'acide acétique avec un chauffage sous irradiation micro-onde pendant 15 minutes à 100 °C afin de synthétiser les 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués souhaités. Deux nouveaux dérivés **27** et **28** ont pu être obtenus en présence des esters méthyliques des chlorhydrates de glycine et de β-alanine avec des rendements respectifs de 70% et 64% (Tableau I-3).

Tableau I-3 : Synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués à partir du précurseur **21**.



	R	Rendement (%)^a
10		86
22		65
23		60
24		50

	R	Rendement (%)^a
25		64
26		43
27		70
28		64

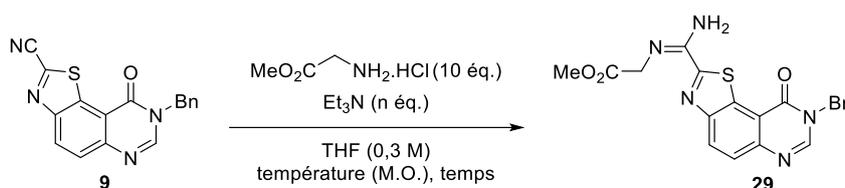
^a Rendement isolé.

I.3. Pharmacomodulation du nitrile en C2 des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles N8-substitués

I.3.a. Addition nucléophile d'acides aminés sur les dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles

Une méthodologie permettant l'addition d'amines primaires sur la fonction cyano du 8-cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile **10** a pu être optimisée lors des travaux antérieurs.^{80b} Les dérivés amidines ont été obtenus en présence d'un excès d'amine avec un chauffage à 100 °C dans le THF pendant 45 min. Ces conditions de réaction ont été appliquées puis optimisées pour l'addition nucléophile de l'ester méthylique du chlorhydrate de glycine sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile **9** (Tableau I-4).

Tableau I-4 : Premiers essais de l'addition du chlorhydrate de glycine sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile **9**.



Entrée	n éq.	Temps (min)	Température (°C)	Rendement (%)
1^a	0	45	100	13
2	10	45	100	14
3	10	120	100	20
4	10	300	100	0
5	10	45	120	33
6	10	45	150	0

^a L'ester méthylique de glycine libre a été utilisé en tant que réactif.

Les conditions de réactions décrites par notre groupe employant une amine libre ont dans un premier temps été testées. Elles ont permis d'obtenir l'amidine **29** avec un rendement de 13% (Entrée 1). Le chlorhydrate de ce réactif, disponible commercialement, a ensuite été utilisé. Il a été introduit avec la triéthylamine (Et₃N) dont le caractère basique a permis de former *in situ* l'amine libre. Ce procédé, qui n'a pas eu d'influence sur le résultat (Entrée 2), a été conservé pour tous les autres essais. Afin de favoriser la conversion du précurseur **9**, le temps de réaction et la température ont été augmentés. Un temps plus long de réaction (Entrée 4) ou une température plus élevée (Entrée 6) entraîne une conversion totale mais aussi la dégradation de l'amidine **29** formée. Un chauffage à 120 °C pendant 45

minutes s'est montré le plus efficace. Cependant ces conditions n'ont donné qu'un rendement faible de 33% (Entrée 5).

Ces premiers résultats ont permis d'isoler et de caractériser l'amidine **29**. La stratégie de synthèse de ce composé a ensuite été modifiée dans le but d'obtenir de meilleurs rendements et une méthodologie plus efficace.

I.3.b. Addition nucléophile d'acides aminés sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbimide de méthyle **30**

Comme décrit dans l'introduction de ce chapitre, la voie de synthèse qui paraît optimale pour l'addition d'un acide aminé sur un nitrile utilise la réaction de Pinner. Cette stratégie, qui consiste à synthétiser *in situ* ou non un dérivé imidate, plus réactif que son analogue nitrile, semble être de choix pour les dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles (Schéma I-17).

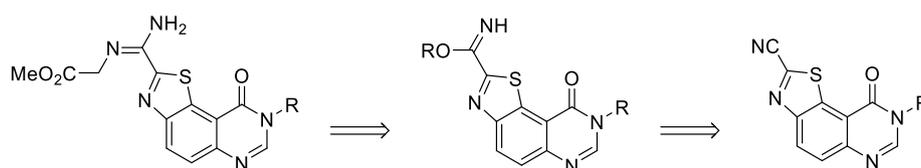


Schéma I-17 : Schéma rétrosynthétique de la formation des dérivés amidines issus de l'addition nucléophile de la glycine *via* la réaction de Pinner.

I.3.b.i Synthèse du précurseur

Les conditions de réaction pour former un imidate méthylique sur les 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles ont déjà été décrites et optimisées lors des précédents travaux.⁸⁵ Cependant, le dérivé imidate N8-benzyle **30** n'avait jamais été synthétisé. Le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbimide de méthyle **30** a pu être obtenue avec un rendement de 90% à partir du dérivé cyané **9**, en présence d'une solution aqueuse de soude à 2 M dans le méthanol à température ambiante (Schéma I-18).

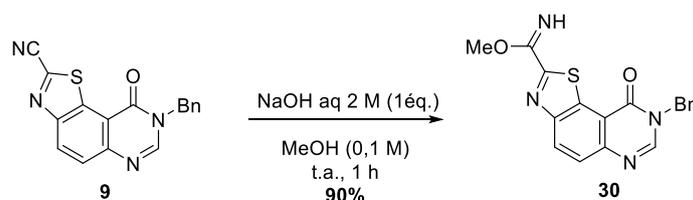


Schéma I-18 : Formation de l'imidate **30** à partir du précurseur **9**.

Suite à l'étude menée sur l'étape de cyclisation du sel d'Appel (Chapitre 2, paragraphe II.2.a.ii.(b)), nous nous sommes interrogés sur la possible réaction monotope permettant la cyclisation puis la formation de l'imidate **30** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7**. La cyclisation serait assurée par l'addition nucléophile de deux équivalents de méthanolate de sodium sur le soufre 2 du sel d'Appel permettant la formation de l'intermédiaire cyanothioformamide **I** dont la cyclisation conduirait à la synthèse du dérivé nitrile **9**. L'imidate **30** serait obtenu comme vu précédemment, avec l'addition nucléophile du méthanolate de sodium sur le groupement cyano de **9** (Schéma I-19). Dans ce cas, trois équivalents de nucléophile seraient nécessaires pour cette réaction.

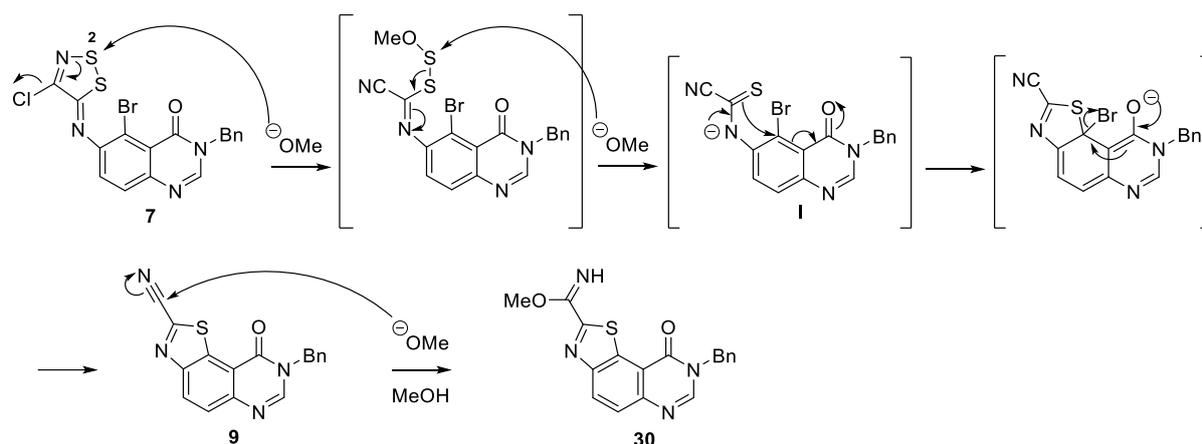
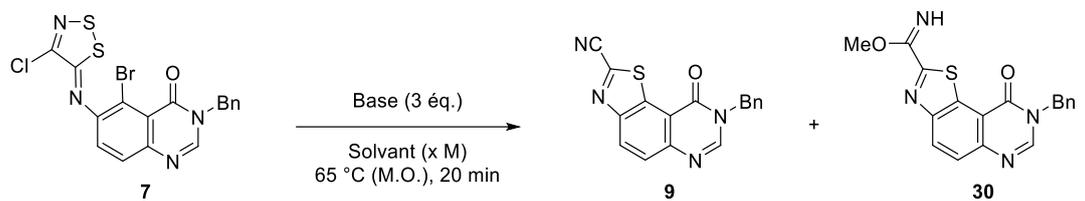


Schéma I-19 : Proposition de mécanisme pour la formation de l'imidate **30** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7**.

Plusieurs essais ont été réalisés afin de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse. Dans un premier temps, des conditions inspirées de la méthodologie mise au point pour la cyclisation du sel d'Appel sans cuivre (Chapitre 2, paragraphe II.2.a.ii.(b)) ont été appliquées. Le temps de réaction est de 20 minutes et un chauffage au reflux du solvant sous irradiation micro-ondes est appliqué.

Un premier essai avec la quinazolin-4(3*H*)-one **7** en présence de méthanolate de sodium dans le méthanol avec un chauffage à 65 °C pendant 20 minutes a permis de former l'imidate **30** attendu avec un rendement RMN de 27% (Tableau I-5, Entrée 1). La dilution du milieu réactionnel ne modifiant pas ces résultats (Entrée 2), une concentration de 0,1 M a été choisie lors de cette étude par souci de solubilité du réactif **7**; l'ajout d'un solvant qui le solubilise défavorise la synthèse de **30** (Entrée 3). La modification de la base montre que l'introduction d'une solution aqueuse de soude ne modifie pas le résultat (Entrée 4) tandis que l'utilisation d'hydrure de sodium permet d'obtenir un rendement de 55% (Entrée 5). Cependant, ce réactif qui semble dégrader l'imidate **30** n'a pas été retenu contrairement aux deux autres bases testées.

Tableau I-5 : Etude de l'influence du solvant, de la concentration et de la base dans la formation de l'imidate **30** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7**.

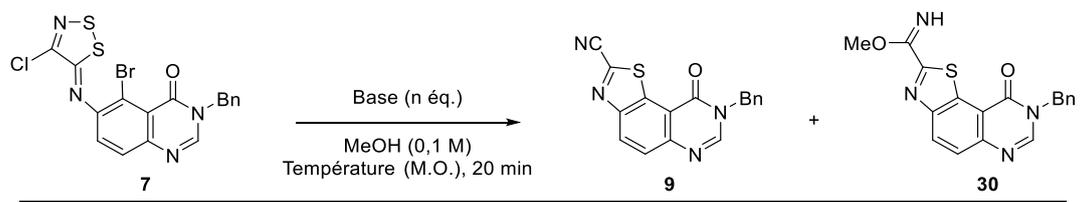


Entrée	Base	Solvant (x M)	9 ^a (%)	30 ^a (%)	7 ^a (%)
1	NaOMe	MeOH (0,4)	10	27	25
2	NaOMe	MeOH (0,1)	10	27	24
3	NaOMe	MeOH/THF v/v (0,1)	32	3	24
4	NaOH aq 2M	MeOH (0,1)	10	30	0
5	NaH 60%	MeOH (0,1)	0	55	0

^a Conversion déterminée par étalon interne (Bn₂O).

La proportion de base introduite a ensuite été modifiée, montrant qu'une quantité trop faible ne favorise pas la formation de l'imidate **30** (Tableau I-6, Entrée 3) tandis qu'un large excès de la base engendre la dégradation du produit (Entrée 4). Trois équivalents de base sont nécessaires et suffisants pour cette réaction. Une température de 65 °C semble être la plus efficace puisqu'un chauffage à 120 °C entraîne la dégradation de l'imidate **30** formé (Entrée 6). En absence de chauffage, les composés majoritaires formés sont des intermédiaires de réaction insolubles dans les solvants RMN utilisés (Entrée 5).

Tableau I-6 : Etude de l'influence de la proportion de base et de la température dans la formation de l'imidate **30** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7**.

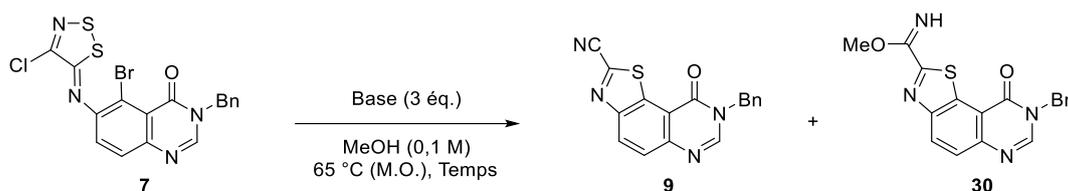


Entrée	Base	n éq.	Température (°C)	9 ^a (%)	30 ^a (%)	7 (%)
1	NaOMe	3	65 °C	10	27	24
2	NaOH aq 2M	3	65 °C	10	30	0
3	NaOH aq 2M	2	65 °C	36	9	0
4	NaOH aq 2M	5	65 °C	0	17	0
5	NaOH aq 2M	3	t.a.	3	5	3
6	NaOMe	3	120 °C	40	0	0

^a Conversion déterminée par étalon interne (Bn₂O).

L'étude sur l'influence du temps de réaction a montré qu'un chauffage d'une heure en présence d'une solution aqueuse de soude permettait d'observer une conversion totale du réactif **7** (Tableau I-7, Entrée 4). L'imidate **30** a été isolé avec un rendement optimal de 56% après deux heures de réaction (Entrée 6).

Tableau I-7 : Etude de l'influence du temps de réaction dans la formation de l'imidate **30** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7**.



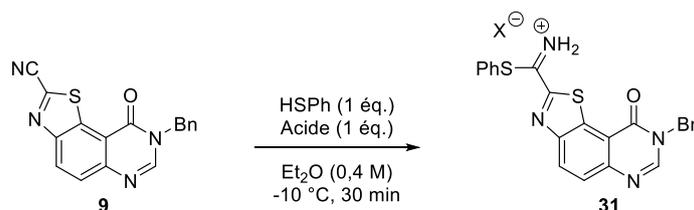
Entrée	Base	Temps (min)	9 ^a (%)	30 ^a (%)	7 (%)
1	NaOMe	20	10	27	24
2	NaOH aq 2M	20	10	30	0
3	NaOMe	60	10	38	35
4	NaOH aq 2M	60	0	65	0
5	NaOH aq 2M	105	Traces	67	0
6	NaOH aq 2M	120	/	56 ^b	/

^a Conversion déterminée par étalon interne (Bn₂O). ^b Rendement isolé.

Malgré cette optimisation, la méthode monotope reste moins efficace que la stratégie réalisée en deux étapes qui est issue de la cyclisation de la quinazolin-4(3*H*)-one **7** en présence de cuivre.

Afin de favoriser l'addition d'un acide aminé sur nos structures, des essais ont été réalisés dans le but de former un intermédiaire réactionnel thioimidate, plus réactif que son analogue imidate (Tableau I-8).⁹⁵

Tableau I-8 : Essais de formation du thioimidate **31** à partir du précurseur **9**.



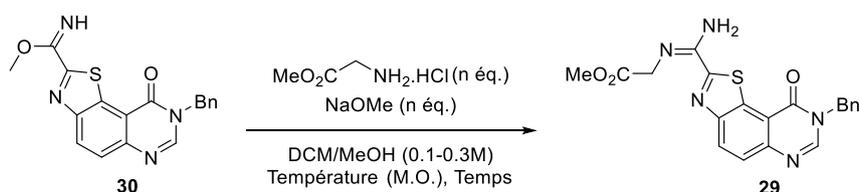
Entrée	Acide	31
1	HBr in AcOH 33% w/w	Pas de réaction
2	HCl in Et ₂ O 1 M	Pas de réaction

Le thioimide **31** n'a pas pu être observé, malgré les deux sources d'acide utilisées. Les essais d'addition d'acides aminés se feront donc avec le précurseur de type imide **30**.

I.3.b.ii Addition nucléophile d'un acide aminé sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbimide de méthyle **9**

Les conditions du premier essai d'addition du chlorhydrate de glycine ester méthylique sur l'imide **30** ont été inspirées des travaux de Robins.⁹⁴ Elles ont permis d'obtenir l'amidine **29** avec un rendement de 55%, en présence de l'acide aminé et du méthanolate de sodium dans un mélange dichlorométhane/méthanol avec un chauffage à 50 °C pendant une heure sous atmosphère inerte (Tableau I-9, Entrée 1). Le mélange binaire de solvants est essentiel pour la solubilité de tous les réactifs, l'imide **30** étant peu soluble dans le méthanol. L'augmentation de la température à 70 °C a permis d'améliorer ce rendement (Entrée 2). Cependant, un temps plus long de réaction engendre la dégradation du produit formé (Entrée 3). La réaction a ensuite été réalisée à température ambiante (Entrées 4 à 6) puis à 0 °C (Entrée 7). Ces essais ont montré qu'un temps long de réaction est nécessaire afin d'obtenir une conversion totale et qu'une température basse permet d'éviter la dégradation de l'amidine **29**. Les meilleures conditions, qui incluent un temps de réaction de 20 heures et une température de 0 °C, ont donné le composé **29** souhaité avec un rendement de 91% (Entrée 7). Néanmoins, cette amidine **29** se dégrade à l'air et à température ambiante.

Tableau I-9 : Optimisation des conditions de réactions pour la synthèse de l'amidine **29** à partir de l'imide **30**.



Entrée	n éq.	Température (°C)	Temps (h)	29 ^a (%)
1	1	50	1	55
2	1	70	1	66
3	1	70	1,25	43
4	2	t.a.	1	76
5	2	t.a.	1,25	78
6	1	t.a.	20	64
7	2	0	20	91

^a Rendement isolé.

Afin de développer l'étude sur l'extension de fragment, l'imidate **30** a été mis en présence du chlorhydrate de β -alanine ester méthylique dans les meilleures conditions obtenues précédemment. Cette réaction a conduit à la synthèse de l'amidine **32** avec un rendement de 70% (Schéma I-20).

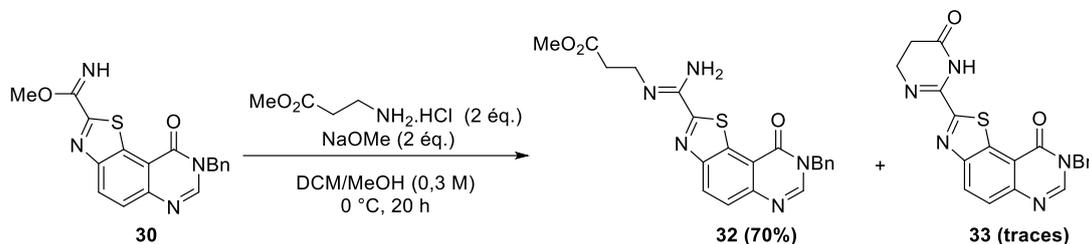
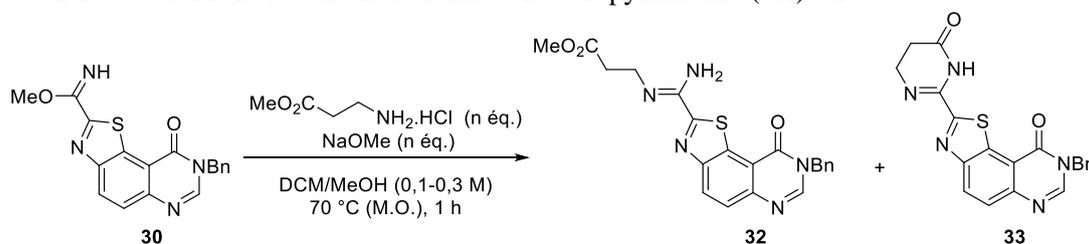


Schéma I-20 : Synthèse de l'amidine **32** en présence du chlorhydrate de β -alanine ester méthylique.

Le dérivé pyrimidin-4(3H)-one **33** a aussi été observé dans ces conditions de réaction. Il est issu de la cyclisation intramoléculaire de la fonction en position C2 de la thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one **32**, effectuée par l'addition nucléophile de l'amidine sur l'ester méthylique. Cette transformation spontanée a été observée à température ambiante dans le chloroforme deutéré, montrant l'instabilité de l'amidine **32** dans ces conditions. Afin de favoriser la formation de la pyrimidin-4(3H)-one **33**, un chauffage de 70 °C pendant une heure a été appliqué à l'imidate **30** (Tableau I-10). Ces conditions ont permis d'obtenir le composé cyclisé **33** avec un rendement de 55%, en présence d'un excès d'acide aminé (Entrée 2) ; un temps de réaction plus long pourrait améliorer ce rendement.

Tableau I-10 : Conditions favorisant la formation de la pyrimidin-4(3H)-one **33**.



Entrée	n équ.	32 ^a (%)	33 ^a (%)
1	1	42	28
2	2	28	55

^a Rendement isolé.

I.3.c. Addition nucléophile sur le 8-benzyle-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitriles **9** avec d'autres nucléophiles

Dans le but de compléter nos données biologiques, deux réactions, déjà connues et optimisées par notre équipe, ont été effectuées sur le dérivé tricyclique N8-benzyle **9**.

L'imidazoline **34** a été synthétisé avec un rendement de 78% en présence d'un excès d'éthylènediamine dans le THF avec un chauffage sous irradiation micro-onde à 100 °C pendant une heure à partir du 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9** (Schéma I-21).

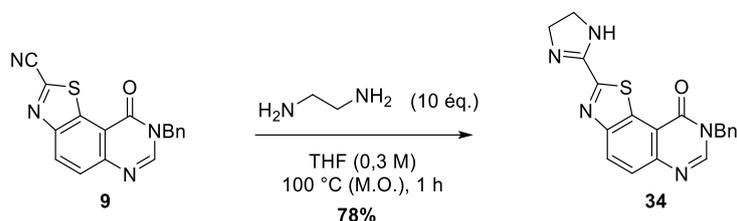


Schéma I-21 : Formation de L'imidazoline **34**.

Le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9** peut aussi réagir avec une solution aqueuse d'hydroxylamine dans le THF à température ambiante pendant une heure et demie afin de former l'hydroxylamine **35** avec un rendement de 95% (Schéma I-22).

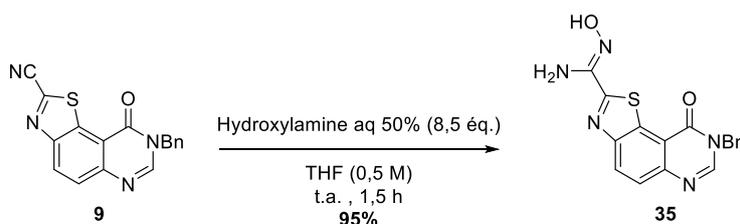


Schéma I-22 : Formation de l'hydroxylamine **35**.

I.4. Conclusions et perspectives

La pharmacomodulation de la position C2 des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles par des réactions d'addition nucléophile a permis de synthétiser six nouvelles molécules (Figure I-3).

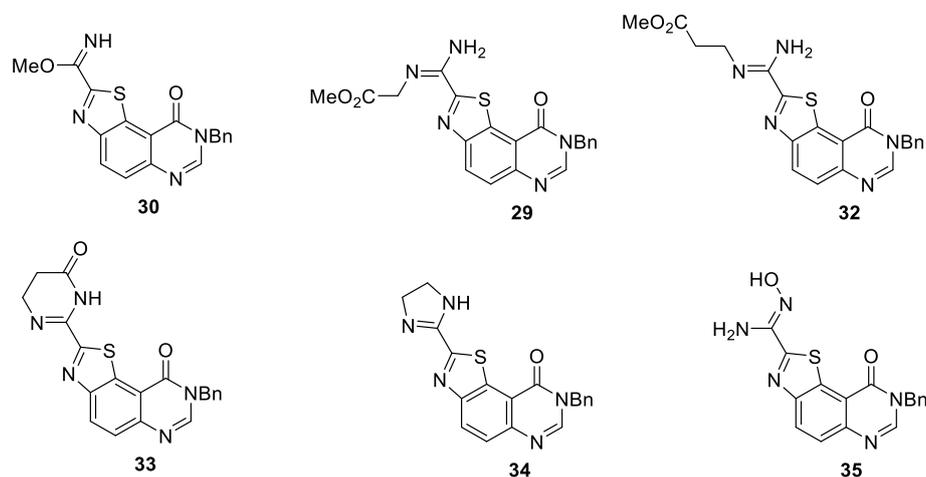


Figure I-3 : Composés obtenus par addition nucléophile sur le 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one-2-carbonitriles **9**.

La synthèse des 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles **9**, **10**, **22-28** a pu être optimisée, notamment lors de la synthèse de l'amide **21** en présence de DMADMF, moins toxique et plus stable que le réactif de Vilsmeier-Haack utilisé initialement, mais aussi lors de la synthèse monotopie formant l'imide **30** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7**.

Parmi les trois molécules synthétisées *via* l'addition d'acides aminés, deux ne sont pas stables à température ambiante. Malgré la mise en place d'une méthode efficace pour leur synthèse, la stabilité de ces amidines **29** et **32** ne semble pas être compatible avec les conditions des tests biologiques qui impliquent une température de 30 °C. Cette réaction n'a donc pas été étendue aux autres dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles **10,22-28**.

Le Dr. C. Berthonneau qui effectue un stage postdoctoral en collaboration avec notre laboratoire et l'Université de Tours étudie la synthèse d'un inhibiteur de kinases double composé de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one et d'un antileucémique, espacés par un bras constitué d'acides aminés dont l'une des terminaisons est la position C2 de la molécule tricyclique (Figure I-4).

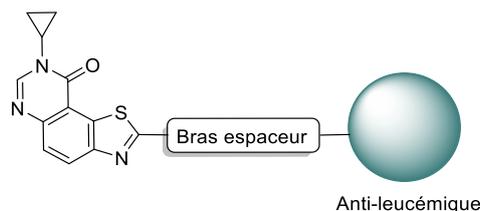


Figure I-4 : Objectif du stage postdoctoral du D. C. Berthonneau.

La connexion entre le bras espaceur et le motif 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one se fait *via* une réaction d'addition nucléophile d'un acide aminé sur le carbone de la fonction nitrile ou d'une fonction dérivée, en position C2 du composé. Confronté aux mêmes problèmes de réactivité de la fonction nitrile sur le précurseur 8-cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **10** que ceux observés dans ce chapitre, une stratégie passant par un intermédiaire ester a été mise au point dans le but de former un dérivé amide, stable (Schéma I-23).

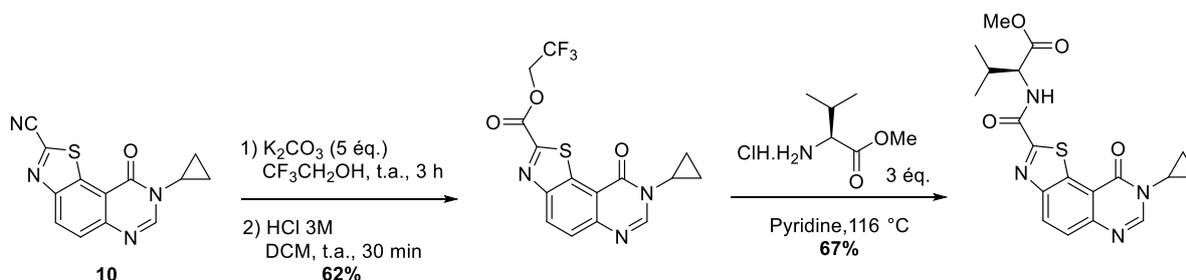


Schéma I-23: nouvelle stratégie pour l'insertion d'acides aminés.

Cette voie de synthèse pourra être appliquée au 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9**, afin d'introduire des motifs acides aminés plus ou moins complexes par une réaction d'addition-élimination sur les intermédiaires esters. Une étude de la pharmacomodulation de la position N8-sera ensuite effectuée sur le composé ayant obtenu les meilleurs résultats biologiques (Schéma I-24).

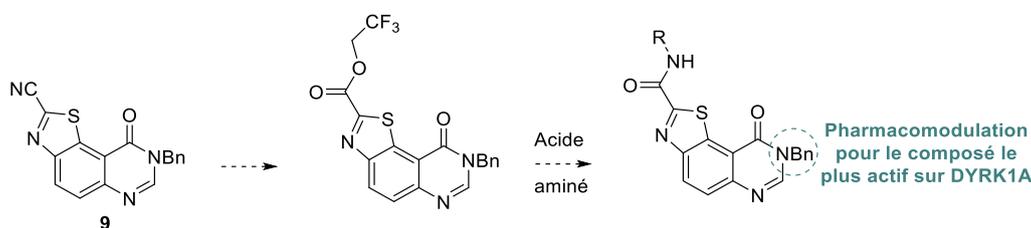
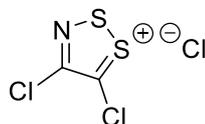


Schéma I-24 : Nouvelle stratégie envisagée pour l'introduction d'acides aminés sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9**.

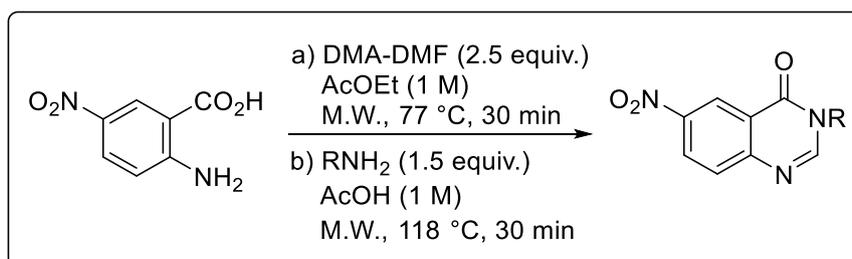
I.5. Partie expérimentale

4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium chloride



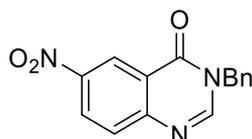
To a solution of chloroacetonitrile (12.6 mL, 0.20 mol, 1 equiv.) in dichloromethane (100 mL, 0.5 M) in a round-bottomed flask (1 L) was added sulfur monochloride (74 mL, 0.92 mmol, 4.6 equiv.) and three drops of Adogen⁴⁶⁴. After homogenizing with a spatula, the mixture was left for 18 h without stirring, protected from atmospheric moisture by a CaCl₂ drying tube. The solid formed was filtered, washed abundantly with dichloromethane and dried under vacuum to give the desired compound (16.7-25.0 g, 40-60% yield) as a dark solid.

General protocol for one-pot cyclisation of N3-substituted 6-nitroquinazolinones



To a solution of 5-nitroanthranilic acid (10 g, 54.8 mmol, 1 equiv.) in ethyl acetate (55 mL, 1 M) was added DMADMF (18.4 mL, 137.2 mmol, 2.5 equiv.). The reaction was heated at 77 °C for 30 min in microwave in an open vessel (2 min ramp). Solvents were removed under *vacuum* and the appropriate amine (82.2 mmol, 1.1 equiv.) was added followed with AcOH (55 mL, 1 M). The mixture was irradiated at 118 °C for 30 min (2 min ramp). Evaporation of the solvent gave a crude product which was triturated in Et₂O for 1 h and then filtered.

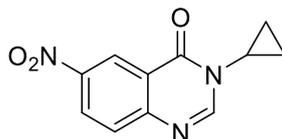
3-benzyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (1)



Yield 65%; 10.04 g; yellow powder; R_f: 0.44 (DCM); mp: 164-166 °C; IR (neat) ν_{\max} 3088, 3029, 1679, 1616, 1602, 1571, 1522, 1474, 1372, 1344, 1258, 1220, 1153, 1077, 969, 936, 847, 834 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.17 (1H, d, J = 2.6 Hz, H₅), 8.52 (1H, dd, J = 9.0, 2.6 Hz, H₇), 8.24 (1H, s, H₂), 7.82 (1H, d, J = 9.0 Hz, H₈), 7.46 – 7.28 (5H, m, H_{Ar}), 5.22 (2H, s, CH_{2Bn}); ¹³C NMR (CDCl₃, 25

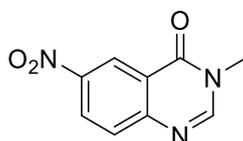
°C, 75.4 MHz): δ_C 160.1 (C), 152.1 (C), 149.3 (CH), 146.2 (C), 135.0 (C), 129.3 (2 x CH), 128.9 (CH), 128.5 (CH), 128.3 (CH), 123.7 (C), 122.5, 50.2 (CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₅H₁₁N₃O₃ [M + H]⁺: 282.0879; Found: 282.0874.

3-cyclopropyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (2)



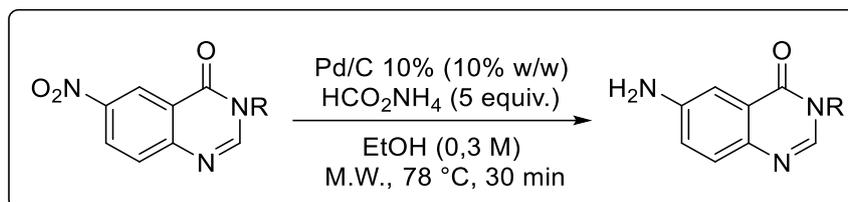
Yield 85%; 10.83 g; yellow powder; R_f: 0.35 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: 174-176 °C; IR (neat) ν_{\max} 3356, 3102, 1675, 1600, 1512, 1300, 1275, 936, 855, 752 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.12 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H₅), 8.50 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.6 Hz, H₇), 8.23 (1H, s, H₂), 7.80 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H₈), 3.50 – 3.08 (1H, m, NHC), 1.42 – 1.16 (2H, m, CH₂), 1.06 – 0.79 (2H, m, CH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 161.2 (C), 151.8 (C), 149.9 (CH), 146.1 (C), 129.2 (CH), 128.4 (CH), 123.4 (CH), 122.2 (C), 29.8 (NCH), 6.7(2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₁H₉N₃O₃ [M + H]⁺: 232.0722; Found: 232.0719.

3-methyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (11)



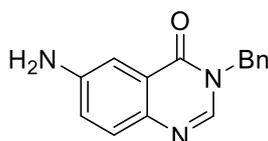
With 5 g of 5-nitroanthranilic acid; yield 80%; 4.509 g; yellow powder; R_f: 0.26 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 192-194 °C; IR (neat) ν_{\max} 3061, 2767, 2456, 1687, 1603, 1569, 1474, 1329, 861, 695 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.80 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, H₅), 8.58 (1H, s, H₂), 8.53 (1H, dd, *J* = 9.0, 2.7 Hz, H₇), 7.85 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H₈), 3.53 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 160.0 (C), 152.2 (C), 151.8 (CH), 145.1 (C), 129.1 (CH), 128.1 (CH), 122.0 (CH), 121.5 (C), 33.9 (CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₉H₇N₃O₃ [M + H]⁺: 206.0566; Found: 206.0570.

General protocol for reduction of nitro group using ammonium formate and palladium on charcoal



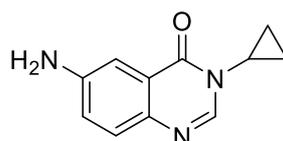
To a solution of corresponding substrate (1 equiv.) in ethanol (0.3 M) was added ammonium formate (5 equiv) and a catalytic amount of 10% palladium charcoal (10% w/w). The reaction was heated at 78 °C for 30 min in microwave in open vessel (2 min ramp). After cooling, the reaction was filtered through Celite® and washed with dichloromethane. The solvent was removed under *vacuum* to give the crude product which was dissolved in dichloromethane and washed with a saturated aqueous solution of NaHCO₃. The organic layer was then dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to provide the reduced product.

6-Amino-3-benzylquinazolin-4(3H)-one (3)



Yield 97%, 7.45 g; white powder; Rf: 0.09 (DCM); mp: 168-170 °C; IR (neat) ν_{\max} 3401, 3301, 3195, 3034, 1663, 1614, 1454, 1437, 1408, 1356, 1350, 1317, 1260, 1216, 1159, 1100, 1077, 963, 941, 927, 881, 832 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 7.92 (1H, s, H₂), 7.52 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₈), 7.49 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, H₅), 7.37 – 7.27 (5H, m, H_{Ar}), 7.08 (1H, dd, *J* = 8.7, 2.7 Hz, H₇), 5.17 (2H, s, CH₂Bn), 3.89 (2H, br s, NH₂). ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 161.0 (C), 146.2 (C), 143.1 (CH), 140.9 (C), 136.1 (C), 129.2 (CH), 128.9 (CH), 128.3 (CH), 128.0 (CH), 123.34 (C), 123.0 (CH), 109.0 (CH), 49.6 (CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₅H₁₃N₃O [M + H]⁺: 252.1137; Found: 252.1131.

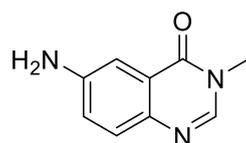
6-Amino-3-cyclopropylquinazolin-4(3H)-one (4)



Yield 85%, 4,55 g; white powder; Rf: 0.17 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: 172-174 °C; IR (neat) ν_{\max} 3420, 3336, 3222, 1653, 1627, 1600, 1491, 1325, 830, 791 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 7.90

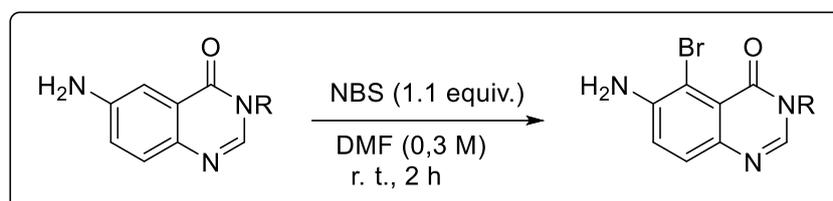
(1H, s, H₂), 7.52 – 7.45 (2H, m, H₅ + H₈), 7.07 (1H, dd, $J = 8.6, 2.8$ Hz, H₇), 4.04 (2H, s, NH₂), 3.45 – 2.99 (1H, m, NHC), 1.32 – 1.03 (2H, m, CH₂), 1.01 – 0.74 (2H, m, CH₂). ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 162.4 (C), 146.1 (C), 143.56 (CH), 140.4 (C), 128.7 (CH), 123.0 (CH), 122.9 (CH), 108.8 (C), 29.3 (NCH), 6.6 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₁H₁₂N₃O [M + H]⁺: 202.0980; Found 202.0974.

6-Amino-3-methylquinazolin-4(3H)-one (12)



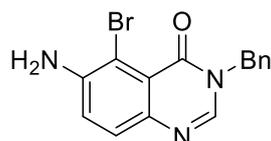
Yield 63%, 2.43 g; white powder; R_f: 0.15 (AcOEt); mp: 214-216 °C; IR (neat) ν_{max} 3424, 3200, 1660, 1606, 1495, 1343, 1057, 836 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 7.85 (1H, s, H₂), 7.52 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H₈), 7.48 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H₅), 7.09 (1H, dd, $J = 8.6, 2.7$ Hz, H₇), 4.01 (2H, br s, NH₂), 3.56 (3H, s, CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 161.6 (C), 146.0 (C), 143.6 (CH), 141.2 (C), 128.9 (CH), 123.2 (C), 123.0 (CH), 108.7 (CH), 34.1 (CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₉H₉N₃O [M + H]⁺: 176.0824; Found: 176.0826.

General protocol for bromination of 6-amino-quinazolin-4(3H)-ones



To a solution of the corresponding substrate (1 equiv.) in DMF (0.3 M) was added NBS (1.1 equiv.). The reaction was stirred at room temperature for 2 hours. The solvent was removed under *vacuum* to give the crude product which was dissolved in ethyl acetate and washed with brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to provide the brominated product.

6-Amino-3-benzyl-5-bromoquinazolin-4(3H)-one (5)



Yield 99%, 9.22 g, brown powder; R_f: 0.14 (DCM); mp: 188-190 °C; IR (neat) ν_{max} 3459, 3285, 3175, 2973, 2930, 2873, 2709, 1697, 1658, 1618, 1491, 1388, 1372, 1327, 1248, 1228, 1123, 1077, 863, 830

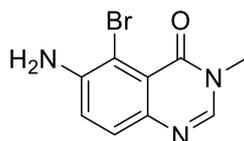
cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , $25\text{ }^\circ\text{C}$, 300 MHz): δ_{H} 7.94 (1H, s, H_2), 7.45 (1H, d, $J = 8.7\text{ Hz}$, H_8), 7.41 – 7.26 (5H, m, H_{Ar}), 7.14 (1H, d, $J = 8.7\text{ Hz}$, H_7), 5.13 (2H, s, CH_2), 4.50 (2H, br s, NH_2); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , $25\text{ }^\circ\text{C}$, 75.4 MHz): δ_{C} 159.4 (C), 144.8 (C), 143.7 (CH), 142.4, 135.8 (C), 129.0 (CH), 128.3 (CH), 128.1 (CH), 128.0 (CH), 121.9 (CH), 120.7 (C), 103.63 (C), 49.9 (CH_2). HRMS (ESI^+): calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{OBr}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 330.0242; Found: 330.0250.

6-Amino-3-cyclopropyl-5-bromoquinazolin-4(3H)-one (6)



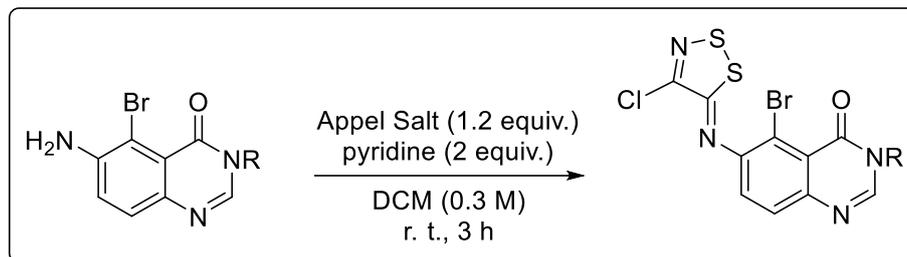
Yield 93%, 4.83 g, brown powder; R_f : 0.28 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: $187\text{--}189\text{ }^\circ\text{C}$; IR (neat) ν_{max} 3088, 3017, 2926, 2848, 1675, 1508, 1335, 1141, 855, 752, 699 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , $25\text{ }^\circ\text{C}$, 300 MHz): δ_{H} 7.88 (1H, s, H_2), 7.39 (1H, d, $J = 8.7\text{ Hz}$, H_8), 7.13 (1H, d, $J = 8.7\text{ Hz}$, H_7), 4.67 (2H, s, NH_2), 3.23 – 3.02 (1H, m, NHC), 1.19 – 1.05 (2H, m, CH_2), 0.93 – 0.76 (2H, m, CH_2); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , $25\text{ }^\circ\text{C}$, 75.4 MHz): δ_{C} 160.8 (C), 144.8 (C), 143.9 (CH), 141.9 (C), 127.7 (CH), 121.8 (CH), 120.1 (C), 103.3 (C), 29.7 (NCH), 6.6 (2 x CH_2). HRMS (ESI^+): calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{OBr}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 282.0065; Found 282.0072.

6-Amino-3-methyl-5-bromoquinazolin-4(3H)-one (13)



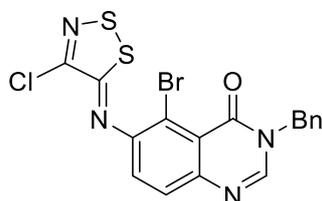
Yield 65%, 0.47 g, brown powder; R_f : 0.14 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: $183\text{--}185\text{ }^\circ\text{C}$; IR (neat) ν_{max} 3453, 3324, 3195, 1657, 1623, 1481, 1336, 816, 527 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , $25\text{ }^\circ\text{C}$, 300 MHz): δ_{H} 7.89 (1H, s, H_2), 7.50 (1H, d, $J = 8.7\text{ Hz}$, H_8), 7.18 (1H, d, $J = 8.7\text{ Hz}$, H_7), 4.60 (2H, br s, NH_2), 3.55 (3H, s, CH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , $25\text{ }^\circ\text{C}$, 75.4 MHz): δ_{C} 160.1 (C), 144.7 (C), 144.2 (CH), 142.8 (C), 128.1 (CH), 122.0 (CH), 120.6 (C), 103.4 (C), 34.7 (CH_3). HRMS (ESI^+): calcd for $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{OBr}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 253.9929; Found: 253.9940.

General protocol for condensation of 6-amino-quinazolin-4(3H)-ones with Appel Salt



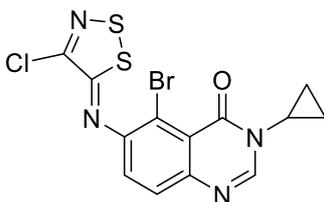
To a solution of the corresponding substrate (1 equiv.) in dichloromethane (0.3 M), were added pyridine (2 equiv.) and 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium chloride (Appel salt) (1.2 equiv.). The reaction was stirred at room temperature for 3 h. The resulting solution was diluted with dichloromethane and washed with water. The aqueous layer was then extracted two times with. The combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and concentrated under *vacuum*. The crude residue was purified by flash chromatography using DCM/AcOEt as eluent to afford desired products (1:0 to 9:1; v/v, for N8 benzyl derivative, 3:2 to 1:4; v/v, for N8 cyclopropyl derivative and 95:5; v/v for N8 methyl derivative).

3-Benzyl-5-bromo-6-((4-chloro-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene)amino)quinazolin-4(3H)-one (7)



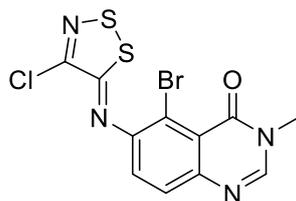
Yield 86%; 3.09 g, yellow powder; Rf: 0.32 (DCM); mp: 210-212 °C; IR (neat) ν_{max} 3027, 1878, 1682, 1587, 1491, 1455, 1435, 1369, 1296, 1258, 1226, 1178, 1151, 1076, 1025, 964, 937, 868, 837 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.11 (1H, s, H_2), 7.73 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H_7), 7.48 – 7.28 (6H, m, $\text{H}_8 + \text{H}_{\text{Ar}}$), 5.17 (2H, s, CH_2); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 162.4 (C), 159.4 (C), 151.1 (C), 148.0 (C), 146.4 (CH), 135.4 (C), 129.5 (CH), 129.2 (CH), 128.6 (CH), 128.4 (CH), 124.3 (CH), 121.7 (C), 113.4 (C), 50.16 (CH_2). HRMS (ESI $^+$): calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{OS}_2\text{BrCl}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 464.9243; Found: 464.9246

3-Cyclopropyl-5-bromo-6-((4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidene)amino)quinazolin-4(3*H*)-one (8)



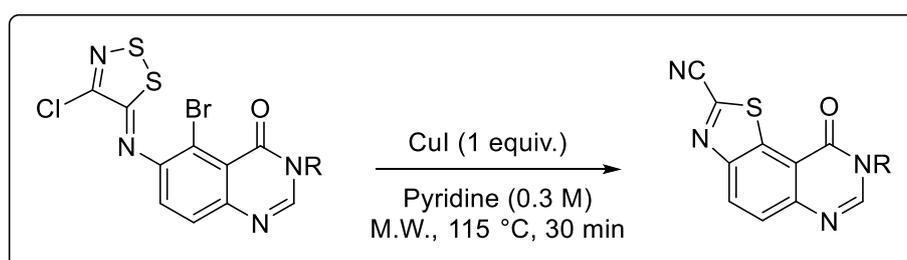
Yield 83%; 6.554 g, orange powder; Rf: 0.46 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: 204-206 °C; IR (neat) ν_{\max} 3003, 1862, 1675, 1593, 1452, 1325, 1293, 1148, 826, 759 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.09 (1H, s, H₂), 7.71 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H₇), 7.37 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H₈), 3.32 – 3.04 (1H, m, NCH), 1.34 – 1.11 (2H, m, CH₂), 1.07 – 0.81 (2H, m, CH₂); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 162.4 (C), 160.7 (C), 151.0 (C), 147.5 (C), 147.3 (C), 146.9 (CH), 129.3 (CH), 124.2 (CH), 121.3 (C), 113.1 (C), 30.0 (NCH), 6.8 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₃H₈N₄OS₂BrCl [M + H]⁺: 414.9090; Found: 414.9088.

3-Methyl-5-bromo-6-((4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidene)amino)quinazolin-4(3*H*)-one (14)



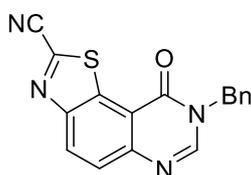
Yield 31%; 0.24 g, yellow powder; Rf: 0.26 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: 178-180 °C; IR (neat) ν_{\max} 3083, 2117, 1672, 1614, 1579, 1453, 1338, 1147, 1062, 864, 824, 725, 459 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.42 (1H, s, H₂), 7.75 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H₇), 7.57 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H₈), 3.46 (3H, s, CH₃); $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 163.2 (C), 159.0 (C), 150.5 (C), 148.4 (CH), 147.5 (C), 145.9 (C), 129.1 (CH), 124.7 (CH), 120.5 (C), 111.3 (C), 34.2 (CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₁H₇N₄OS₂BrCl [M + H]⁺: 388.8933; Found: 388.8937.

General protocol for cyclisation to obtain thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles



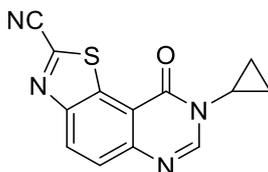
To a solution of the corresponding substrate (1 equiv.) in pyridine (0.3 M) was added copper iodide(I) (1 equiv.). The reaction was irradiated under microwave irradiation in open vessel for 30 min at 115 °C (2 min ramp). After cooling, the reaction mixture was filtered through Celite® and washed with dichloromethane. The filtrate was washed twice with a 5% aqueous ammonia solution, with an aqueous solution of HCl (1 M) and with bromine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated under *vacuum*. The crude residue was purified by flash chromatography using DCM/AcOEt as eluent to afford desired products (1:0 to 9:1; v/v, for N8 benzyl derivative and 1:1 to 7:3; v/v, for N8 cyclopropyl derivative).

8-Benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (9)

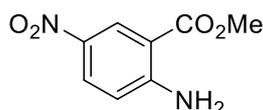


Yield 76%; 4.93 g, beige powder; Rf: 0.34 (DCM); mp: 194-196 °C; IR (neat) ν_{\max} 3059, 2231, 1667, 1589, 1462, 1358, 1261, 1155, 1069, 940, 856, 730, 695, 506 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.53 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₄), 8.34 (1H, s, H₇), 7.98 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₅), 7.49 – 7.30 (5H, m, H_{Ar}), 5.34 (2H, s, CH₂).; ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.5 (C), 151.6 (C), 148.9 (C), 147.5 (CH), 140.3 (C), 134.9 (C), 132.5 (C), 130.6 (CH), 129.4 (CH), 129.0 (CH), 128.4 (CH), 128.2 (CH), 116.4 (C), 113.3 (C), 50.3 (CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₇H₁₀N₄OS [M + H]⁺: 318.0575; Found: 318.0566.

8-Cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (10)



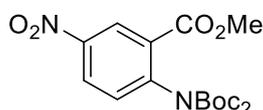
Yield 91%; 1.381 g, beige powder; Rf: 0.46 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: 248-250 °C; IR (neat) ν_{\max} 3067, 2233, 1664, 1579, 1441, 1353, 1303, 1222, 1038, 839, 692 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.52 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₄), 8.38 (1H, s, H₇), 8.01 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₄), 3.66 – 3.19 (1H, m, NCH), 1.39 – 1.28 (2H, m, CH₂), 1.12 – 1.01 (2H, m, CH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 160.7 (C), 151.5 (C), 148.3 (C), 148.0 (C), 140.3 (C), 132.2 (C), 130.5 (CH), 128.0 (CH), 113.2 (2 x C), 29.9 (NCH), 6.6 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₃H₈N₄OS [M + H]⁺: 269.0497; Found: 269.0487.

Methyl 2-amino-5-nitrobenzoate (15)

In atmospheric pressure: To a solution of 5-nitroanthranilic acid (10 g, 54.8 mmol, 1 equiv.) in DMF (55 mL, 1 M) was added in DMADMF (18.4 mL, 137.2 mmol, 2.5 equiv.). The reaction was heated at 100 °C for 30 min in microwave in an open vessel (2 min ramp). After cooling, an aqueous solution of hydrochloric acid 2,6 M (80 mL, 207 mmol, 3.8 equiv.) was added to the mixture. The solution was heated under microwave irradiation at 100 °C for 15 min (2 min ramp). After cooling, the precipitate was filtered off and rinsed with water to give the compound **15** (87%, 9.46 g).

In a sealed tube: In a standard 30 mL Pyrex® vessel, 5-nitranthranilic acid (911 mg, 5.0 mmol) was dissolved in EtOAc (5 mL, 1 M). Then, DMF-DMA (1.7 mL, 12.5 mmol, 2.5 equiv.) was added under stirring. The mixture was heated under micro-wave irradiation at 100 °C for 15 min. After cooling to 60 °C, an aqueous solution of hydrochloric acid 2 M (5 mL, 10 mmol, 2 equiv.) was added to the mixture. The solution was heated under microwave irradiation at 100 °C for 30 min. After cooling to 60 °C, the warm mixture was poured into a beaker containing water (20 mL). After 10 min stirring, the precipitate was filtered off and rinsed with water to give the compound **15** (89%, 0.875 g).

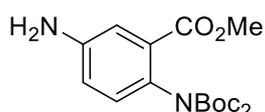
Yellow solid; Rf: 0.57 (DCM); mp: 165-167 °C; IR (neat) ν_{\max} 3469, 3358, 3038, 2964, 1703, 1627, 1313, 1249, 1125, 1068, 827 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.56 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H₆), 8.07 (1H, dd, $J = 9.3, 2.8$ Hz H₄), 7.83 (2H, br. s, NH₂), 6.88 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H₃), 3.85 (3H, s, OMe); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 166.4 (C), 155.8 (C), 135.1 (C), 128.9 (CH), 128.3 (CH), 116.8 (CH), 107.5 (C), 52.1 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₈H₇N₂O₄ [M - H]⁻: 195.0406; Found: 195.0400.

Methyl 2-[(di-*tert*-butoxycarbonyl)amino]-5-nitrobenzoate (16)

To a solution of methyl 5-nitroanthranilate **15** (10.0 g, 50.8 mmol) in THF (510 mL, 0.1 M) were added di-*tert*-butylcarbonate (33.23 g, 152.8 mmol, 3 equiv.), DMAP (6.20 g, 50.8 mmol, 1 equiv.), triethylamine (7 mL, 510.8 mmol, 1 equiv.). The reaction was stirred at room temperature for 2 hours. The solvent was removed in *vacuo* to give the crude product which was dissolved in ethyl acetate. The organic layer was washed with an aqueous solution of HCl (1 M) and twice with brine, and dried over MgSO₄. After the removal solvent, the product was triturated in Et₂O and petroleum ether (1:1; v/v) for 30 min and then filtered to give the compound **16**.

Yield 87%; 17.924 g, beige powder; Rf: 0.66 (DCM); mp: 138-140 °C; IR (neat) ν_{\max} 3092, 2976, 1796, 1724, 1613, 1525, 1270, 1253, 1098, 1076, 849, 777, 667 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.84 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H_6), 8.37 (1H, dd, $J = 8.7, 2.7$ Hz, H_4), 7.40 (d, $J = 8.7$ Hz, H_3), 3.92 (3H, s, OMe), 1.37 (18H, s, 6 x CH_3). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 164.0 (C), 150.2 (C), 146.8 (C), 145.0 (C), 131.6 (CH), 129.5 (C), 127.23(CH), 126.5 (C), 83.8 (C), 53.1 (OMe), 27.9 (6 x CH_3). HRMS (ESI^+): calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_8$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 397.1611; Found: 397.1615.

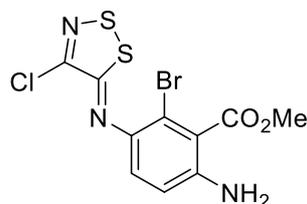
Methyl 5-amino-2-[di(*tert*-butoxycarbonylamino)]benzoate (**17**)



To a stirred mixture of **16** (17.92 g, 45.2 mmol) in methanol (230 mL, 0.2 M) were added ammonium formate (14.26 g, 226 mmol, 5 equiv.) and a catalytic amount of 10% palladium charcoal. The reaction was heated under microwaves in open vessel for 30 minutes at 70 °C. The mixture was filtered through Celite[®] and washed with DCM. The solvent was removed in *vacuo* to give the crude product which was dissolved in DCM. The organic layer was washed with water and a saturated solution of NaHCO_3 , dried over MgSO_4 and concentrated under reduced pressure to give the reduced compound **17**.

Yield 99%; 16.47 g, beige powder; Rf: 0.28 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: 144-146 °C; IR (neat) ν_{\max} 3468, 3376, 2965, 1734, 1706, 1692, 1458, 1362, 1334, 1252, 1235, 1153, 1121, 1089, 806, 767 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 7.23 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H_6), 6.88 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H_3), 6.74 (1H, dd, $J = 8.4, 2.8$ Hz, H_4), 3.88 (2H, s, NH_2), 3.79 (3H, s, OMe), 1.33 (18H, s, 6 x CH_3). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 166.3 (C), 151.7 (C), 146.0 (C), 130.6 (CH), 129.8 (C), 128.3 (C), 118.7 (CH), 116.9 (CH), 82.1 (C), 52.1 (OMe), 27.9 (6 x CH_3). HRMS (ESI^+): calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 367.1869; Found: 367.1875.

Methyl 6-amino-2-bromo-3-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidene)amino]benzoate (**19**)

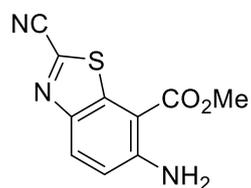


To a solution of aniline **17** (16.467 g, 44.9 mmol, 1.0 equiv.) in DMF (450 mL, 0.1 M) maintained at -10 °C was portion-wise added *N*-Bromosuccinimide (NBS, 8.00 g, 44.9 mmol, 1.0 equiv.). After 1 h of stirring at -10 °C, the solvent was removed under vacuum to provide a crude mixture containing the two brominated compounds **18a** and **18b** with a ratio 90/10 which was diluted in EtOAc. The organic layer

was washed with brine, dried over MgSO_4 . After the removal solvent, products were triturated in Et_2O and petroleum ether (1/1, v/v) for 12 h and then filtered. To a stirred solution of this solid mixture in DCM (130 mL, 0.3 M) was added the 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium chloride (Appel salt) (10.58 g, 50.7 mmol, 1. equiv.) and pyridine (6.3 mL, 78.1 mmol, 1.7 equiv.) at room temperature. After 12 h of stirring at room temperature. The resulting solution was concentrated under *vacuo* to give a crude residue which was treated with a mixture of TFA (40 mL) and methylene chloride (200 mL) for 2 hours. After neutralization with Na_2CO_3 and a saturated solution of NaHCO_3 , the aqueous layer was extracted twice with DCM. The combined organic layers were washed with brine. Evaporation of solvent gave the crude residue which was purified by column chromatography on silica gel with DCM/AcOEt (1:0 to 0:1; v/v) as eluent to furnish **19**.

Yield 46%; 7.49 g, orange powder; Rf: 0.63 (DCM); mp: 128-130 °C; IR (neat) ν_{max} 3416, 3355, 1714, 1625, 1571, 1475, 1431, 1279, 1115, 984, 858, 823, 668 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 7.08 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H_4), 6.72 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H_5), 4.58 (2H, s, NH_2), 3.95 (3H, s, OMe). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 167.8 (C), 158.8 (C), 148.1 (C), 145.7 (C), 140.8 (C), 120.8 (CH), 119.8 (C), 117.1 (C), 116.4 (CH), 52.5 (OMe). HRMS (ESI⁺): calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{BrClN}_3\text{O}_2\text{S}_2$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 379.8930; Found: 379.8922.

Methyl 6-amino-2-cyanobenzo[d]thiazole-7-carboxylate (**20**)

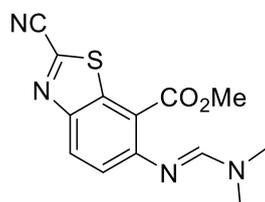


To a suspension of **19** (15.80 g, 43.5 mmol) in pyridine (175 mL, 0.25 M) was added copper (I) iodide (CuI , 8.29 g, 43.5 mmol, 1 equiv.). The reaction was irradiated under microwaves at 115 °C for 30 min (2 min ramp). After cooling, the mixture was diluted in ethyl acetate. The organic layer was washed twice with a 5% ammonia solution and dried over MgSO_4 . The solvent was removed under *vacuum* and the crude residue was purified by column chromatography on silica gel with ethyl acetate/dichloromethane (1:0 to 9:1; v/v) as eluent to furnish **20**.

Yield 58%; 5.90 g, beige powder; Rf: 0.29 (DCM); mp: 204-206 °C; IR (neat) ν_{max} 3409, 3293, 3186, 2226, 1690, 1614, 1441, 1287, 1264, 1111, 815, 730 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.02 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H_4), 6.93 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H_5), 6.39 (2H, s, NH_2), 4.04 (3H, s, OMe). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 1166.6 (C), 152.2 (C), 144.6 (C), 138.8 (C), 134.0 (C), 130.6 (CH), 119.5

(CH), 113.8 (C), 102.0 (C), 52.4 (OMe). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₀H₈N₃O₂S [M + H]⁺: 234.0337; Found: 234.0335.

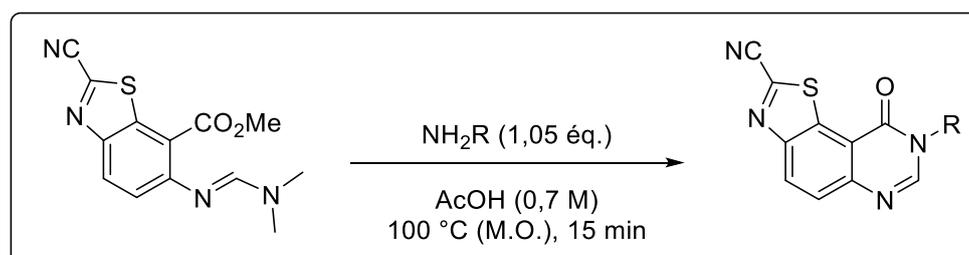
(E)-Methyl 2-cyano-6-(((dimethylamino)methylene)amino)benzo[*d*]thiazole-7-carboxylate (21**)**



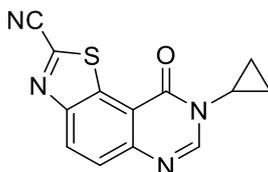
In a sealed tube, a suspension of **20** (0.100 g, 0.43 mmol) in DMF-DMA (1 mL, 0.4 M) was irradiated under microwaves at 77 °C for 1 h. After cooling, petroleum ether was added. The mixture was filtered and rinsed with PE to give the compound **21**.

Yield 94%; 0.117 g, pale yellow solid; R_f: 0.46 (DCM); mp: 136-138 °C; IR (neat) ν_{max} 2952, 2224, 1622, 1569, 1423, 1331, 1258, 1098, 1016, 831 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.12 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 7.39 (1H, s, CH), 7.15 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 3.96 (3H, s, OMe), 3.11 (3H, s, 2 x CH₃). ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 167.2 (C), 155.8 (C), 153.3 (CH), 148.1 (C), 138.9 (C), 137.6 (C), 129.3 (CH), 125.4 (CH), 114.6 (C), 113.7 (C), 52.6 (OMe), 40.5 (CH₃), 34.8 (CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₃H₁₃N₄O₂S [M + H]⁺: 289.0759; Found: 289.0746.

Cyclisation of N8-substituted thiazolo[5,4-*f*]quinazolinone derivatives



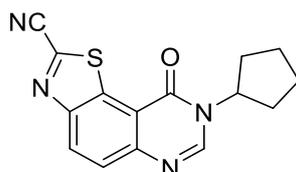
In a sealed tube, to a suspension of (*E*)-methyl 2-cyano-6-(((dimethylamino)methylene)amino)benzo[*d*]thiazole-7-carboxylate **21** (0.100 g, 0.35 mmol) in acetic acid (0.7 mL 0.5 M) was added the appropriate amine (0.36 mmol, 1.05 equiv.). The reaction was irradiated under microwaves at 100 °C for 15 minutes. The solvent was removed under *vacuum* to provide a crude residue which was purified by flash chromatography on silica gel with methylene chloride/ethyl acetate (1:0 to 1:1; v/v) as eluent to furnish the expected 8-substituted 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazolinone-2-carbonitrile derivatives.

8-Cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (10)

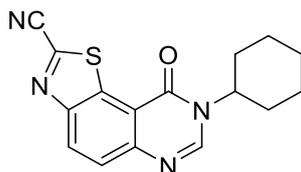
Yield 86%; 0.080 g, beige powder; (see p. 77 for spectral data).

8-Cyclobutyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (22)

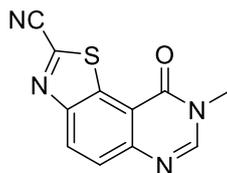
Yield 65%; 0.064 g, beige powder; Rf: 0.55 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp > 265 °C; IR (neat) ν_{\max} 3441, 3296, 3092, 2233, 1662, 1586, 1280, 1145, 1059, 1114, 841 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.52 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₄), 8.40 (1H, s, H₇), 7.98 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₅), 5.26 – 5.06 (1H, m, NHC), 2.74 – 2.59 (2H, m, CH₂), 2.58 – 2.25 (2H, m, CH₂), 2.15 – 1.88 (2H, m, CH₂); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.6 (C), 151.5 (C), 148.7 (C), 145.2 (CH), 140.2 (C), 132.4 (C), 130.5 (CH), 128.1 (CH), 116.0 (C), 113.3 (C), 51.2 (CH), 29.9 (2 x CH₂), 15.5 (CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₄H₁₁N₄OS [M + H]⁺: 283.0654; Found: 283.0660.

8-Cyclopentyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (23)

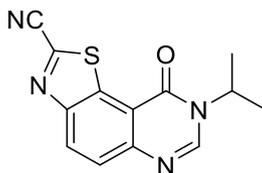
Yield 60%; 0.062 g, beige powder; Rf: 0.65 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp > 265 °C; IR (neat) ν_{\max} 3074, 2961, 2233, 1657, 1583, 1473, 1356, 1254, 1105, 840 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.52 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₄), 8.35 (1H, s, H₇), 7.97 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₅), 5.36 – 5.11 (1H, m, NHC), 2.48 – 2.17 (2H, m, CH₂), 2.07 – 1.72 (6H, m, 3 x CH₂); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.7 (C), 151.5 (C), 148.5 (C), 145.6 (CH), 140.2 (C), 132.5 (C), 130.5 (CH), 128.1 (CH), 116.1 (C), 113.4 (C), 57.1 (CH), 32.4 (2 x CH₂), 24.6 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₅H₁₃N₄OS [M + H]⁺: 297.0810; Found: 297.0820.

8-Cyclohexyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (24)

Yield 50%; 0.054 g, beige powder; Rf: 0.75 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 256-258 °C; IR (neat) ν_{\max} 3060, 2940, 2869, 2226, 1657, 1583, 1466, 1448, 1388, 1346, 1183, 1127, 830 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.49 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H_4), 8.35 (1H, s, H_7), 7.95 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H_5), 5.00 – 4.74 (1H, m, NHC), 2.19 – 1.91 (4H, m, 2 x CH_2), 1.91 – 1.21 (6H, m, 3 x CH_2); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.3 (C), 151.3 (C), 148.4 (C), 145.2 (CH), 140.1 (C), 132.5 (C), 130.4 (CH), 128.0 (CH), 116.1 (C), 113.3 (C), 54.9 (CH), 32.7 (2 x CH_2), 26.0 (2 x CH_2), 25.3 (CH_2). HRMS (ESI⁺): calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 311.0967; Found: 311.0966.

8-Methyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (25)

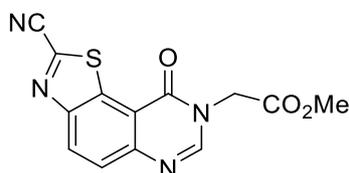
Yield 64%; 0.054 g, beige powder; Rf: 0.28 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 248-250 °C; IR (neat) ν_{\max} 2987, 2904, 2234, 1664, 1669, 1588, 1357, 1334, 1055, 841 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.52 (1H, $J = 8.9$ Hz, H_4), 8.29 (1H, s, H_7), 7.98 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H_5), 3.77 (3H, s, CH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 160.0 (C), 151.5 (C), 149.2 (C), 147.9 (CH), 140.3 (C), 132.2 (C), 130.5 (CH), 128.2 (CH), 116.2 (C), 113.3 (C), 34.6 (CH_3). HRMS (ESI⁺): calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 243.0341; Found: 243.0334.

8-Isopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (26)

Yield 43%; 0.040 g, yellow solid; Rf: 0.46 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp > 260 °C; IR (neat) ν_{\max} 2973, 2236, 1674, 1580, 1496, 1357, 1276, 1247, 1174, 839, 58 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.52 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H_4), 8.35 (1H, s, H_7), 7.98 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H_5), 5.36 – 5.17 (1H, m, NCH), 1.59 (6H, d, $J = 6.9$ Hz, 2 x CH_3); $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.3 (C), 151.4 (C),

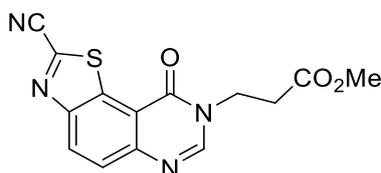
148.5 (C), 144.9 (CH), 140.2 (C), 132.5 (C), 130.5 (CH), 128.1 (CH), 116.2 (C), 113.4 (C), 47.6 (CH), 22.2 (2 x CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₃H₁₁N₄OS [M + H]⁺: 271.0654; Found: 271.0650.

Methyl 2-(2-cyano-9-oxothiazolo[5,4-f]quinazolin-8(9H)-yl)acetate (27)



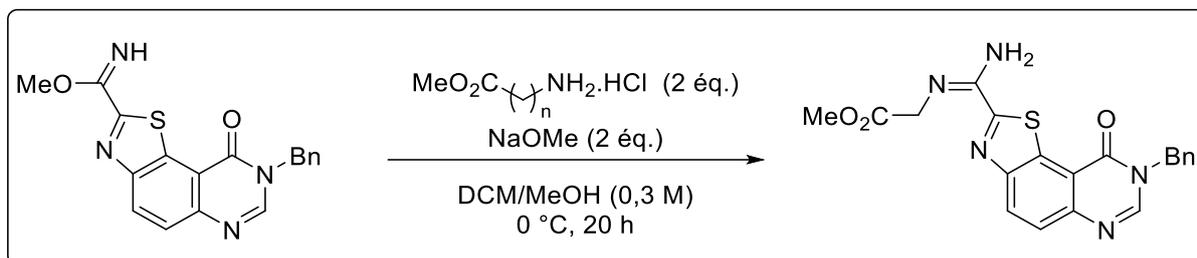
Yield 70%; 0.073 g, white solid; R_f: 0.26 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 249-251 °C; IR (neat) ν_{max} 3006, 2964, 2229, 1743, 1659, 1590, 1438, 1356, 1235, 1171, 984, 841 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.75 – 8.64 (2H, m, H₄ + H₇), 8.04 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H₅), 5.03 (2H, s, CH₂), 3.74 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.0 (C), 158.9 (C), 150.6 (C), 149.5 (CH), 148.8 (C), 139.6 (C), 131.8 (C), 130.6 (CH), 128.1 (CH), 115.2 (C), 113.5 (C), 52.7 (CH₃), 47.6 (CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₃H₉N₄OS [M + H]⁺: 301.0395; Found: 301.0392.

Methyl 3-(2-cyano-9-oxothiazolo[5,4-f]quinazolin-8(9H)-yl)propanoate (28)



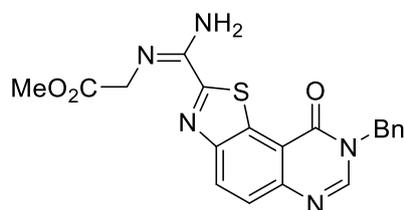
Yield 64%; 0.070 g, white solid; R_f: 0.30 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 212-214 °C; IR (neat) ν_{max} 3075, 2957, 2234, 1903, 1724, 1656, 1586, 1357, 1279, 1162, 1021, 951, 856, 564, 442 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.53 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H₄), 8.47 (1H, s, H₇), 7.99 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H₈), 4.40 (2H, t, *J* = 5.9 Hz, CH₂), 3.69 (3H, s, CH₃), 2.99 (2H, t, *J* = 5.9 Hz, CH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 171.6 (C), 159.7 (C), 151.5 (C), 149.2 (C), 148.6 (CH), 140.3 (C), 132.2 (C), 130.7 (CH), 129.0 (CH), 116.6 (C), 113.3 (C), 52.4 (CH₃), 44.0 (CH₂), 32.5 (CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₄H₁₁N₄OS [M + H]⁺: 315.0552; Found: 315.0553.

Nucleophilic addition of amino ester on methyl 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbimidate (30**)**



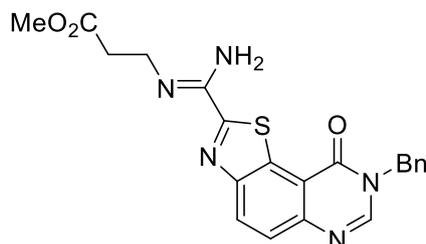
To a solution of **30** (0.050 g, 0.143 mmol), in a dry degassed mixture of DCM and methanol (9/1, 1 mL, 0.3 M) in a sealed tube were added the appropriate amino acid methyl ester hydrochloride (0.285 mmol, 2 equiv.) and sodium methoxide (0.0154 g, 0.285 mmol, 2 equiv.) under argon atmosphere. After 20 h of stirring at 0 °C, the reaction was diluted with DCM (15 mL) and washed with water. The aqueous layer was extracted with DCM and the combined organic layers were dried over Na₂SO₄. The solvent was removed under *vacuum* to provide a crude residue which was purified by chromatography under argon atmosphere on silica gel with methylene chloride/ethyl acetate (98:2; v/v) as eluent to furnish the expected amidine.

Methyl (E)-2-([amino(8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-2-yl)methylene]amino)acetate (29**)**



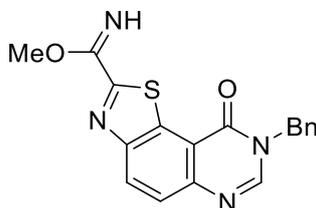
Yield 91%; 0.053 g, beige solid; *R*_f: 0.12 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: 134-136 °C; IR (neat) ν_{\max} 3438, 3412, 3336, 3251, 2949, 1737, 1659, 1585, 1343, 1176, 826, 729, 694 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.36 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.24 (1H, s, H₇), 7.83 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.49 – 7.28 (5H, m, H_{Ar}), 5.31 (2H, s, CH₂), 4.22 (2H, s, CH₂), 3.81 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 170.9 (C), 164.0 (C), 159.7 (C), 152.1 (C), 147.5 (C), 146.5 (CH), 135.4 (C), 133.6 (C), 129.7 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.7 (CH), 128.4 (2 x CH), 126.6 (CH), 116.9 (C), 52.6 (2 x CH₂), 50.0 (CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₂₀H₁₈N₅O₃S [M + H]⁺: 408.1130; Found: 408.1131.

Methyl 3-(8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carboximidamido)propanoate (32)



Yield 70%; 0.042 g, white solid; Rf: 0.12 (DCM/AcOEt 1:1; v/v) ; mp: 191-193 °C; IR (neat) ν_{\max} 3449, 3310, 3179, 2951, 2939, 1709, 1651, 1601, 1450, 1373, 1341, 1197, 1172, 832, 718 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.34 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H_4), 8.23 (1H, s, H_7), 7.82 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H_5), 7.53 – 7.30 (5H, m, H_{Ar}), 5.66 (2H, br. s, NH_2), 5.30 (2H, s, CH_2), 3.73 (3H, s, CH_3), 3.62 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, CH_2), 2.79 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, CH_2); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 173.4 (C), 167.1 (C), 159.8 (C), 152.3 (C), 147.4 (C), 146.3 (CH), 135.4 (C), 133.7 (C), 129.6 (CH), 129.3 (2 x CH_2), 128.7 (CH), 128.42 (2 x CH_2), 126.3 (CH), 116.9 (C), 52.0 (3 x CH_2), 50.0 (CH_3). HRMS (ESI⁺): calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 422.1287; Found: 422.1288.

Methyl 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbimidate (30)

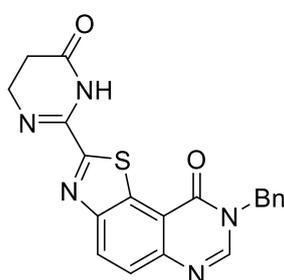


To a stirred solution of 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile **9** (0.300 g, 0.94 mmol, 1 equiv.) in methanol (10 mL, 0.1 M) was added an aqueous solution of sodium hydroxyde (2 M, 0.470 mL, 1.0 equiv.). The resulting mixture was stirred at room temperature for 1 hour. The mixture was filtered and rinse with methanol to furnish the desired imidate **30**.

Yield 90%; 0.297 g, white solid; Rf: 0.22 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 251-253 °C; IR (neat) ν_{\max} 3270, 3065, 2944, 2842, 1669, 1654, 1583, 1498, 1332, 1139, 1061, 954, 893, 837, 695, 487 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.00 (1H, s, NH), 8.45 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.27 (1H, s, H_7), 7.89 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.51 – 7.31 (5H, m, H_{Ar}), 5.32 (2H, s, CH_2), 4.08 (3H, s, OMe); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 162.1 (C), 162.0 (C), 159.8 (C), 152.0 (C), 147.8 (C), 146.6 (CH), 135.3 (C), 133.4 (C), 130.1 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.8 (CH), 128.4 (2 x CH), 127.0 (CH), 116.9 (C), 54.5 (CH_3), 50.1 (CH_2). HRMS (ESI⁺): calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 351.0916; Found: 351.0912.

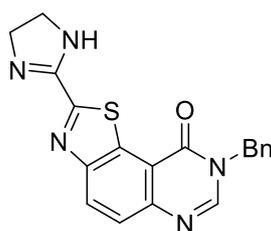
Second method: To a stirred solution of 3-benzyl-5-bromo-6-((4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidene)amino)quinazolin-4(3*H*)-one **7** (0.093 g, 0.94 mmol, 1 equiv.) in methanol (2 mL, 0.1 M) was added an aqueous solution of sodium hydroxyde (2 M, 0.300 mL, 0.6 mmol, 3 equiv.) and the resulting mixture was stirred at 65 °C for 2 h under microwave irradiation. The mixture was diluted with DCM and washed twice with water. The combined aqueous layers were extracted with DCM and organics layers were dried over MgSO₄. The solvent was removed under *vacuum* to provide a crude residue which was purified by flash chromatography on silica gel with methylene chloride/methanol (1:0 to 9:1; v/v) as eluent to furnish the expected imidate **30** with a 56% yield.

8-Benzyl-2-(6-oxo-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (33)



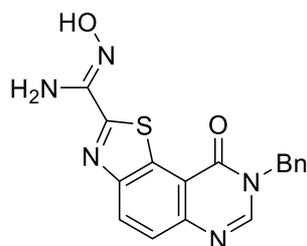
To a solution of **30** (0.050 g, 0.143 mmol), in a dry degassed mixture of DCM and methanol (9:1; v/v, 1 mL, 0.3 M) in a sealed tube were added β-alanine methyl ester hydrochloride (0.040 g, 0.285 mmol, 2 equiv.) and sodium methoxide (0.0154 g, 0.285 mmol, 2 equiv.) under argon atmosphere. The mixture was heated under microwaves at 70 °C for 1 hour. After cooling, the reaction was diluted with DCM (15 mL) and washed with water. The aqueous layer was extracted with DCM and the combined organic layers were dried over Na₂SO₄. The solvent was removed under *vacuum* to provide a crude residue which was purified by flash chromatography under argon atmosphere on silica gel with methylene chloride/ethyl acetate (85:15 to 70:30; v/v) as eluent to furnish the amidine **33**.

Yield 55%; 0.033 g, white solid; R_f: 0.23 (DCM/AcOEt 1:1; v/v); mp: 238-240 °C; IR (neat) ν_{max} 3216, 3063, 2923, 2875, 2104, 1916, 1706, 1665, 1583, 1506, 1443, 1344, 1227, 1196, 829, 721 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.04 (1H, s, NH), 8.28 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.18 (1H, s, H₇), 7.78 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.42 – 7.23 (5H, m, H_{Ar}), 5.25 (2H, s, CH₂), 3.94 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, CH₂), 2.58 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, CH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 169.0 (C), 165.2 (C), 159.7 (C), 151.8 (C), 147.8 (C), 147.3 (C), 146.7 (CH), 135.3 (C), 133.7 (C), 129.8 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.8 (CH), 128.4 (2 x CH), 126.9 (CH), 116.9 (C), 50.0 (CH₂), 45.3 (CH₂), 29.7 (CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₂₀H₁₆N₅O₂S [M + H]⁺: 390.1025; Found: 390.1021.

8-Benzyl-2-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (34)

A solution of thiazoloquinazolinone **9** (0.090 g, 0.28 mmol) and ethylenediamine (0.187 mL, 2.28 mmol, 10 equiv) in THF (1 mL, 0.3 M) was irradiated at 100 °C for 1 hour. The solvent was removed under vacuum and the crude residue was adsorbed on Celite® and purified by flash chromatography using methylene chloride/methanol (95:5; v/v) as eluent to furnish the expected imidazoline product **34**.

Yield 78%; 0.080 g, white solid; Rf: 0.16 (AcOEt); mp: 195-197 °C; IR (neat) ν_{\max} 3543, 3228, 3056, 2925, 2864, 1660, 1597, 1520, 1347, 1165, 833, 720, 695, 503 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.38 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₄), 8.22 (1H, s, H₇), 7.85 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₅), 7.54 – 7.32 (5H, m, H_{Ar}), 5.72 (1H, s, NH), 5.32 (2H, s, CH₂), 3.92 (4H, s, 2 x CH₂).; $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 162.8 (C), 159.9 (C), 159.7 (C), 152.4 (C), 147.6 (C), 146.5 (CH), 135.3 (C), 133.2 (C), 129.6 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.7 (CH), 128.4 (2 x CH), 126.6 (CH), 116.9 (CH), 49.9 (3 x CH₂). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₉H₁₆N₅OS [M + H]⁺: 362.1076; Found: 362.1072.

(Z)-8-Benzyl-N'-hydroxy-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carboximidamide (35)

A solution of nitrile **9** (0.100 g, 0.314 mmol) and hydroxylamine 50%aq. (0.164 mL, 2.670 mmol, 8.5 equiv.) in THF (0.63 mL, 0.5 M) was stirred at room temperature for 1.5 h. Water was added to the mixture which was filtered and rinse with water to furnish the expected compound **35**.

Yield: 95%; 0.104 g; beige powder; Rf: 0.29 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 238-240 °C; IR (neat) ν_{\max} 3453, 3178, 3071, 2855, 1738, 1670, 1604, 1584, 1453, 1344, 949, 832, cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 10.59 (1H, s, OH), 8.76 (1H, s, H₇), 8.42 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₄), 7.84 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₅), 7.44 – 7.25 (5H, m, H_{benzyl}), 6.18 (2H, s, NH₂), 5.31 (2H, s, NCH₂); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 165.0 (C), 159.2 (C), 151.2 (C), 148.1 (C), 147.4 (CH), 147.0 (C), 136.5 (C), 130.8 (C), 128.7 (2 x CH), 128.7 (C), 127.8 (CH), 127.7 (2 x CH), 126.1 (CH), 116.0 (C), 49.3 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for $^{12}\text{C}_{17}^{1}\text{H}_{13}^{14}\text{N}_5^{16}\text{O}_2^{32}\text{S}$ [M + H]⁺: 352.0863; Found: 352.0853.

**Chapitre 2 : Fonctionnalisation directe par C–H
activation des positions C2 et C7 des thiazolo[5,4-*f*]
quinazolin-9(8*H*)-ones N8-substituées : C–H
arylation et C–H alcénylation.**

Chapitre 2 : Fonctionnalisation directe par C–H activation des positions C2 et C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-substituées : C–H arylation et C–H alcénylation.

II.1. Introduction	92
II.1.a. L'arylation des benzo[<i>d</i>]thiazoles	95
II.1.b. L'arylation des quinazolin-4(3 <i>H</i>)-ones	101
II.1.c. Travaux antérieurs du laboratoire sur la réaction d'arylation.....	102
II.1.d. Objectifs du chapitre	105
II.2. C–H arylation des positions C2 et C7 de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	107
II.2.a. Synthèse de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	107
II.2.a.i Décyanation du 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazoline-2-carbonitrile 9	107
II.2.a.ii Optimisation de la synthèse.....	108
II.2.a.ii.(a) Etude bibliographique	108
II.2.a.ii.(b) Optimisation de la synthèse	111
II.2.b. Arylation séquentielle des positions C2 et C7.....	120
II.2.b.i Bis-arylation des positions C2 et C7 de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	120
II.2.b.ii Mono-arylation en position C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	121
II.2.b.iii Arylation en C7 des 2-aryl-8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones	124
II.2.c. Débenzylation des dérivés thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones.....	125
II.3. C–H arylation sélective de la position C2 de thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-substituées	131
II.3.a. Arylation directe de la position C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 42	131
II.3.a.i Synthèse de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 42	131
II.3.a.ii Optimisation de la réaction de C–H arylation sur la 8-cyclopropylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 42	131

II.3.a.iii Exmplification de la réaction de C–H arylation sur la 8-cyclopropylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 42	132
II.3.b. Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-substituées	133
II.3.b.i Synthèse des thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-substituées	134
II.3.b.ii Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-alkyles	137
II.3.b.iii Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones N8-alkylesters	138
II.4. C–H alcénylation en C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one 37	140
II.5. Conclusions et perspectives.....	146
II.6. Partie expérimentale	148

II.1. Introduction

Dans les années 1970, les réactions de couplages croisés catalysées par des métaux de transition ont connu un essor particulier.⁹⁹ Elles sont rapidement devenues des méthodes de choix pour la création de liaisons C-C notamment pour la synthèse de composés bis-arylés (Schéma II-1).¹⁰⁰ De manière générale, ces réactions sont issues d'un couplage entre une molécule halogénée et une espèce organométallique en présence d'un métal de transition.

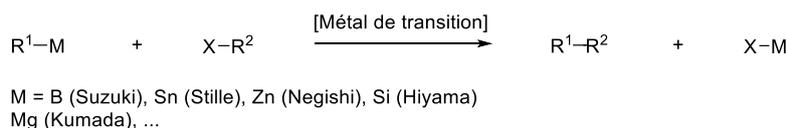


Schéma II-1 : Exemple de couplages croisés catalysés par un métal de transition.

Cependant, ce type de réaction présente plusieurs inconvénients : elle est peu économique en atomes et en prix puisqu'elle nécessite une quantité stœchiométrique de réactifs organométalliques, qui ne sont pas toujours stables. De plus, les sels métalliques formés au cours de la réaction sont parfois toxiques et peuvent entraîner des problèmes lors de la purification des composés.

Pour ces raisons, des méthodes plus en accord avec les principes de la chimie verte font l'objet de nombreux sujets d'études depuis plusieurs dizaines d'années. Ces recherches sont basées sur une nouvelle stratégie : la fonctionnalisation directe de liaison C-H. Décrite par les réactions pionnières de Heck¹⁰¹, Sonogashira¹⁰² ou encore de Fujiwara-Moritani¹⁰³ cette fonctionnalisation permet de créer des liaisons C-C ou C-X directement sur des positions hydrogénées. L'activation de ces liaisons, c'est-à-dire la formation d'une liaison C-M, est médiée *in situ* par un métal de transition.

⁹⁹ (a) K. Tamao, K. Sumitani, M. Kumada, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 4374–4376; (b) A. O. King, N. Okukado, E.-i. Negishi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 683–684; (c) D. Milstein, J. K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3636–3638; (d) N. Miyaura, K. Yamada, A. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437–3440; (e) Y. Hatanaka, T. Hiyama, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 918–920.

¹⁰⁰ Yin, J. Liebscher, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 133–173.

¹⁰¹ R. F. Heck, J. P. Nolley, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2320–2322.

¹⁰² K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467–4470.

¹⁰³ Y. Fujiwara, I. Moritani, S. Danno, R. Asano, S. Teranishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 7166–7169.

La fonctionnalisation directe de liaison C–H est un outil puissant qui permet le couplage de fonctions variées sur des molécules possédant généralement plusieurs liaisons C–H.¹⁰⁴ Très utilisée pour synthétiser des molécules d'intérêt,¹⁰⁵ elle représente un défi pour le chimiste qui doit maîtriser la régiosélectivité de cette réaction.

Deux types de couplage sont associés à cette transformation. Un dérivé non pré-fonctionnalisé peut être couplé soit avec un partenaire halogéné (couplage croisé), soit avec un autre partenaire non pré-fonctionnalisé (couplage deshydrogénatif oxydant). Dans le second cas, l'introduction d'une espèce oxydante est nécessaire.¹⁰⁶ Ces deux procédés utilisent en général un métal de transition en quantité catalytique (Schéma II-2).

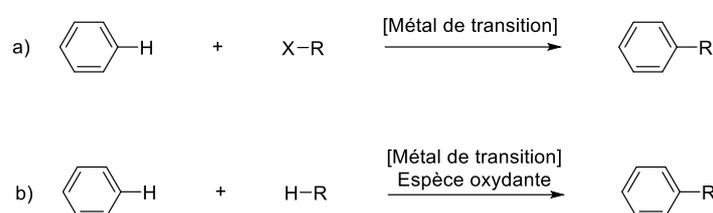


Schéma II-2 : Fonctionnalisation directe de liaison C–H a) par couplage croisé, b) par couplage oxydant.

L'un des métaux de transition le plus étudié pour ce type de fonctionnalisation directe est le palladium, en particulier dans les réactions de C–H arylation. Quatre mécanismes de réaction utilisant ce catalyseur ont été décrits jusqu'alors (Schéma II-3).¹⁰⁷ Le mécanisme de type S_EAr (substitution électrophile aromatique) est fréquent lors des réactions d'arylation d'hétérocycles π-excédentaires. Il procède selon une métallation-déprotonation électrophile. La métallation-déprotonation concertée (CMD) peut se faire avec ou sans l'assistance de la base ou de l'halogène. Ce mécanisme met en avant deux interactions qui ont lieu sur le même carbone : la formation d'une liaison C–Pd et celle qui assiste

¹⁰⁴ T. Gensch, M. J. James, T. Dalton, F. Glorius, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 2296–2306.

¹⁰⁵ (a) Seregin, I. V.; Gevorgyan, V. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1173. (b) Fairlamb, I. J. S. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1036. (c) Bellina, F.; Rossi, R. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 10269. (d) Daugulis, O. *Top. Curr. Chem.* **2010**, *292*, 57. (e) Ackermann, L. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1315. (f) Hirano, K.; Miura, M. *Synlett* **2011**, *3*, 294. (g) Wencel-Delord, J.; Glorius, F. *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 369. (h) Shibahara, F.; Murai, T. *Asian J. Org. Chem.* **2013**, *2*, 624. (i) Rossi, R.; Bellina, F.; Lessi, M.; Manzini, C. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 17. (j) Bonin, H.; Sauthier, M.; Felpin, F.-X. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 645. (k) Davies, H. M. L.; Morton, D. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 343. (l) Segawa, Y.; Maekawa, T.; Itami, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 66. (m) Besson, T.; Fruit, C. *Synthesis* **2016**, *48*, 3879. (n) Gayakhe, V.; Sanghvi, Y. S.; Fairlamb, I. J. S.; Kapdi, A. R. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 11944. (o) Gensch, T.; Hopkinson, M. N.; Glorius, F.; Wencel-Delord, J. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45*, 2900. (p) Rossi, R.; Lessi, M.; Manzini, C.; Marianetti, G.; Bellina, F. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 1795. (q) R. Rossi, M. Lessi, C. Manzini, G. Marianetti, F. Bellina, *Synthesis* **2016**, *48*, 3821–3862. (r) Bheeter, C. B.; Chen, L.; Soulé, J.-F.; Doucet, H. *Catal. Sci. Technol.* **2016**, *6*, 2005. (s) Roudesly, F.; Oble, J.; Poli, G. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2017**, *426*, 275. (t) Aziz, J.; Piguel, S. *Synthesis* **2017**, *49*, 4562. (u) Verbitskiy, E. V.; Rusinov, G. L.; Chupakhin, O. N.; Charushin, V. N. *Synthesis* **2018**, *50*, 193. (v) Choy, P. Y.; Wong, S. M.; Kapdi, A.; Kwong, F. Y. *Org. Chem. Front.* **2018**, *5*, 288.

¹⁰⁶ C. Liu, J. Yuan, M. Gao, S. Tang, W. Li, R. Shi, A. Lei, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 12138–12204.

¹⁰⁷ L. Théveau, C. Verrier, P. Lassalas, T. Martin, G. Dupas, O. Querolle, L. Van Hijfte, F. Marsais, C. Hoarau, *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17*, 14450–14463.

la déprotonation. Lors d'une métallation-déprotonation non concertée (nCMD), la liaison C–Pd se forme sur un hétéroatome en *ortho* de la liaison C–H. Le couplage de type Heck, plus rarement rencontré, correspond à un mécanisme de carbométallation.

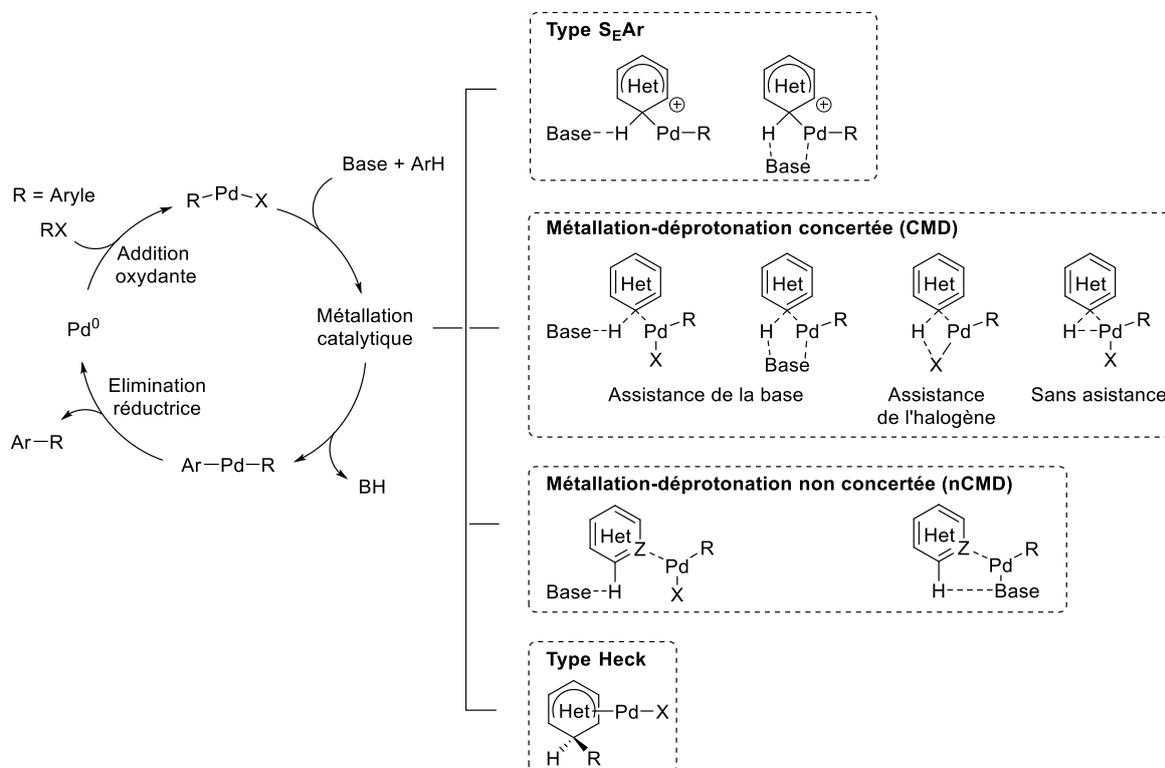


Schéma II-3 : Mécanismes de métallation lors des C–H arylations catalysées au palladium.

Les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones possèdent deux liaisons C_{sp²}-H potentiellement réactives en positions C2 et C7 (Figure II-1). Les deux motifs qui les composent, c'est-à-dire les benzo[*d*]thiazoles et les quinazolin-4(3*H*)-ones ont déjà fait l'objet d'étude d'arylation directe par C–H activation dans différents groupes.

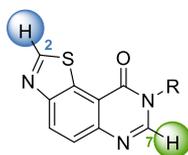


Figure II-1 : Positions C2 et C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones potentiellement réactives aux conditions d'arylation directe.

II.1.a. L'arylation des benzo[d]thiazoles

L'arylation directe des benzothiazoles est favorisée en position C2 qui est pauvre en électrons et particulièrement acide, avec un pKa théorique dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) de 27,3.¹⁰⁸ La C–H arylation des benzothiazoles étant largement illustrée dans la bibliographie, seuls les exemples utilisant des halogénures d'aryles en tant que partenaire de couplage et une catalyse au cuivre et/ou au palladium seront décrits.

L'équipe de Rossi a décrit en 2007 une méthode d'arylation directe sans base, catalysée au palladium et assistée au cuivre. Les couplages avec des iodures d'aryles ont conduit à la synthèse de 2-arylbenzo[d]thiazoles avec des rendements compris entre 85 et 87% (Schéma II-4).¹⁰⁹

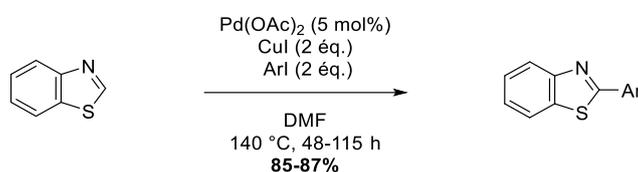


Schéma II-4 : Méthode d'arylation directe du benzo[d]thiazole sans base.

La même année, Daugulis et coll. ont optimisé une réaction d'arylation catalysée au cuivre. Cette méthode a pu être appliquée au benzo[d]thiazole en présence de iodobenzène, permettant la formation du 2-phenylbenzo[d]thiazole avec un rendement de 82% (Schéma II-5).¹¹⁰

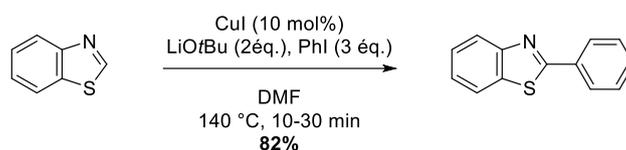


Schéma II-5 : Arylation directe du benzo[d]thiazole catalysée au cuivre.

Le groupe de Bhanage a développé l'arylation en C2 du benzo[d]thiazole en présence d'iodures ou de bromures d'aryles, de phosphate de potassium et du palladium bis(2,2,6,6-tetraméthyl-3,5-heptanedione) ($\text{Pd}(\text{TMHD})_2$) (Schéma II-6).¹¹¹

¹⁰⁸ K. Shen, Y. Fu, J.-N. Li, L. Liu, Q.-X. Guo, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1568–1576.

¹⁰⁹ F. Bellina, C. Calandri, S. Cauteruccio, R. Rossi, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1970–1980.

¹¹⁰ H.-Q. Do, O. Daugulis, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12404–12405.

¹¹¹ N. S. Nandurkar, M. J. Bhanushali, M. D. Bhor, B. M. Bhanage, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1045–1048.

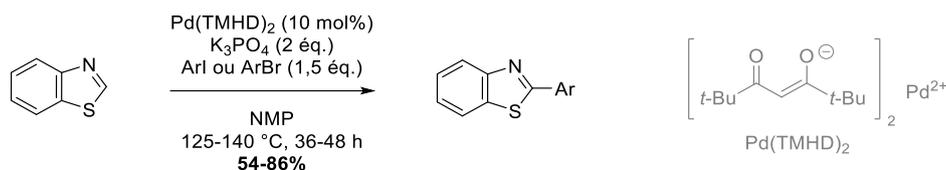


Schéma II-6 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée Palladium.

En 2008, l'équipe de Miura a décrit l'arylation en C2 du benzo[*d*]thiazole avec des iodures d'aryles en présence de phosphate de potassium. Cette réaction est catalysée par le système cuivre/triphénylphosphine (PPh₃) (Schéma II-7).¹¹²

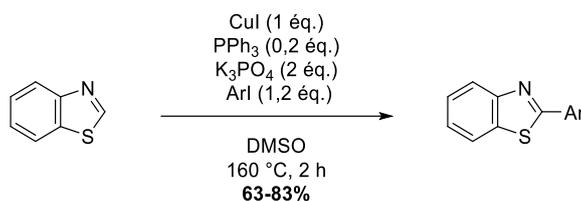


Schéma II-7 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée par le système cuivre/triphénylphosphine.

La même année, le groupe de Daugulis a mis au point une méthode d'arylation permettant l'introduction d'un groupement pyridin-2-yl sur le benzo[*d*]thiazole en présence d'une quantité catalytique d'iodure de cuivre et du ligand bidentate 1,10-phénantroline (Phen) (Schéma II-8).¹¹³

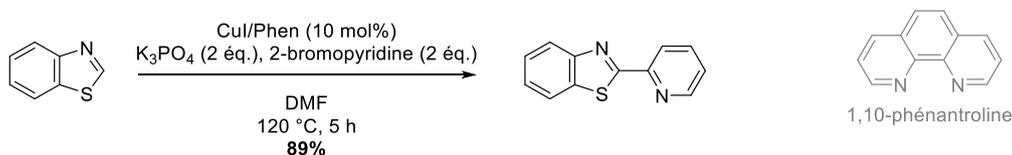


Schéma II-8 : Couplage direct de la 2-bromopyridine et du benzo[*d*]thiazole.

Un système co-catalytique palladium/cuivre composé des complexes de dichlorobis(chloro-*tert*-butylphosphine)palladium (PXPd) et de Cu(Xantphos)I a été développé en 2010 par l'équipe de Faul. Il permet le couplage de bromures, de chlorures et de triflates d'aryles ou d'hétéroaryles sur des dérivés du benzo[*d*]thiazole (Schéma II-9).¹¹⁴

¹¹² T. Yoshizumi, H. Tsurugi, T. Satoh, M. Miura, *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 1598–1600.

¹¹³ H.-Q. Do, R. M. K. Khan, O. Daugulis, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 15185–15192.

¹¹⁴ J. Huang, J. Chan, Y. Chen, C. J. Borths, K. D. Baucom, R. D. Larsen, M. M. Faul, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 3674–3675.

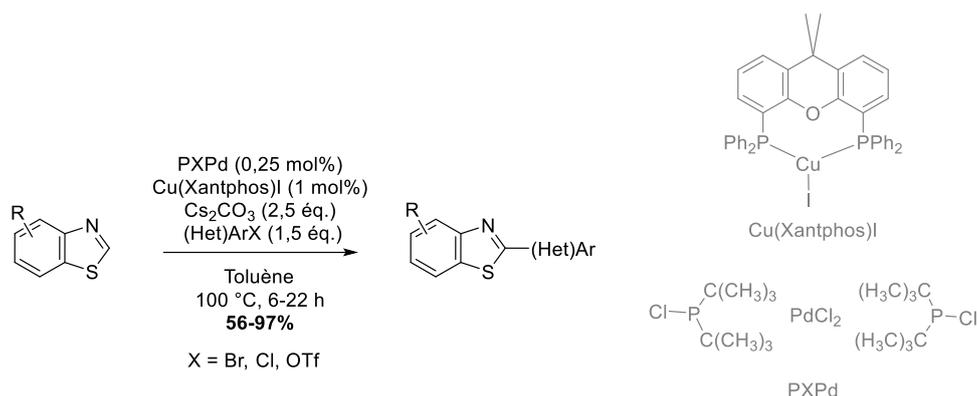


Schéma II-9 : (Hétéro)Arylation directe de dérivés benzo[*d*]thiazoles catalysée par un système Pd/Cu.

La même année, le groupe de Murai a développé une réaction d'arylation directe catalysée par un complexe de palladium comprenant la 1,10-phénantroline et l'hexafluorophosphate. Cette méthode a pu être appliquée au benzo[*d*]thiazole conduisant aux produits d'arylation avec des rendements entre 86 et 100% (Schéma II-10).¹¹⁵

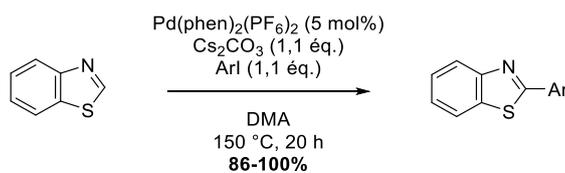


Schéma II-10 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée avec un complexe de palladium.

Une réaction d'arylation directe avec des nanoparticules d'oxyde de cuivre a été rapportée par l'équipe de Wang en 2011 sur des hétérocycles. Ces nanoparticules présentent l'avantage de pouvoir être recyclées sans entraîner une baisse de rendement lors de leur réutilisation. L'application de cette méthode au benzo[*d*]thiazole a conduit à la synthèse de composés arylés en C2 avec des rendements entre 51 et 70% (Schéma II-11).¹¹⁶

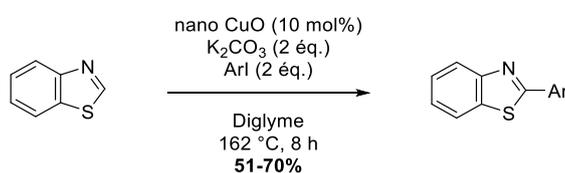


Schéma II-11 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée avec des nanoparticules de CuO.

En 2012, Yuan et coll. ont développé l'arylation directe du benzo[*d*]thiazole en présence de cuivre(0). Le couplage avec les iodures d'aryles a conduit à la synthèse de treize dérivés arylés. Le

¹¹⁵ F. Shibahara, E. Yamaguchi, T. Murai, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 2471.

¹¹⁶ W. Zhang, Q. Zeng, X. Zhang, Y. Tian, Y. Yue, Y. Guo, Z. Wang, *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 4741-4745.

bromobenzène a pu aussi être couplé, menant au 2-phénylbenzo[*d*]thiazole avec un rendement de 43% (Schéma II-12).¹¹⁷

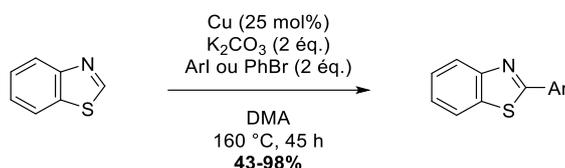


Schéma II-12 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée au cuivre(0).

La même année, le groupe de Ding a développé une réaction d'arylation directe sur le benzo[*d*]thiazole en présence d'iodures ou de bromures d'aryle et catalysée par un dérivé d'oxime pallado-cyclique. Ce catalyseur a été utilisé dans le but d'obtenir des conditions de réaction sans phosphine (Schéma II-13).¹¹⁸

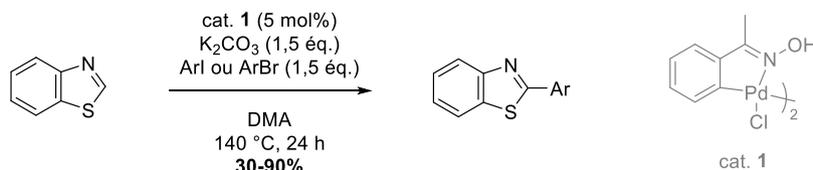


Schéma II-13 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée au palladium.

En 2013, Shen et coll. ont rapporté la réaction de couplage entre le benzo[*d*]thiazole et des arènes polyfluorés 2-pyridinyles. Dans cette réaction catalysée au palladium, le cycle pyridinique du partenaire de couplage agit comme un groupement directeur (Schéma II-14).¹¹⁹

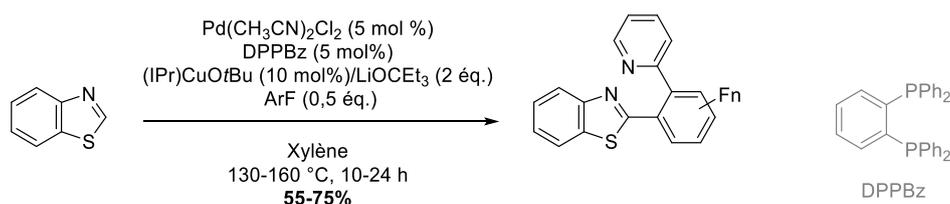


Schéma II-14 : Couplage du benzo[*d*]thiazole avec des fluorures d'aryles.

L'équipe de Blakey a décrit en 2014 la bis-arylation du benzo[1,2-*d*:4,5-*d'*]bis(thiazole) avec des bromures d'aryle. Cette réaction est catalysée avec un système palladium/cuivre. Des produits issus

¹¹⁷ Y. Han, X. Wang, X. Wang, L. Lv, G. Diao, Y. Yuan, *Synthesis* **2012**, 44, 3027–3032.

¹¹⁸ G. Zhang, X. Zhao, Y. Yan, C. Ding, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 2012, 669–672.

¹¹⁹ D. Yu, L. Lu, Q. Shen, *Org. Lett.* **2013**, 15, 940–943.

de la mono-arylation n'ont été observés que lors du couplage avec des bromures de pyridinyle ou avec le 1-bromo-4-nitrobenzene (Schéma II-15).¹²⁰

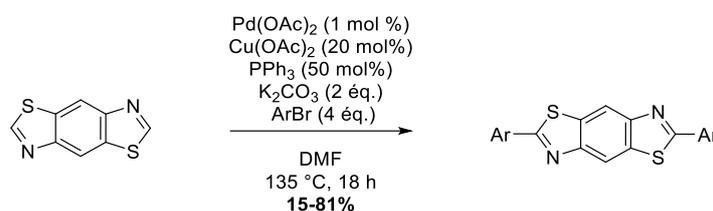


Schéma II-15 : Bis-arylation du benzo[1,2-*d*:4,5-*d'*]bis(thiazole).

La même année, Punji et coll. ont développé une méthode de C–H arylation en présence d'iodures d'aryles, d'iodure de cuivre et d'un catalyseur au palladium coordonné par un ligand en forme de « pince », synthétisé lors de cette étude. Ce catalyseur, qui est introduit en très faible quantité, conduit aux dérivés 2-arylbenzo[*d*]thiazoles avec des rendements entre 20 et 97% (Schéma II-16).¹²¹

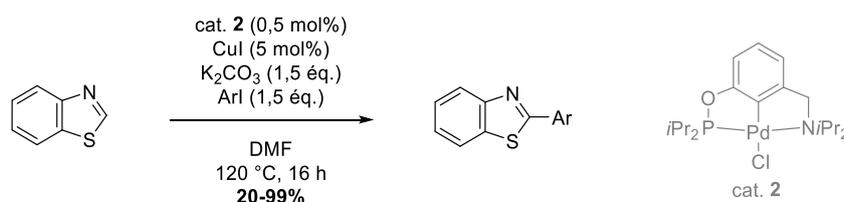


Schéma II-16 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée au palladium et au cuivre.

Une méthode d'arylation directe avec une catalyse hétérogène a été décrite par l'équipe de Phan. Avec sa structure cristalline et poreuse, le polymère de coordination Cu₂(OBA)₂(BPY) permet le couplage d'iodures d'aryle avec le benzo[*d*]thiazole. De plus, ce catalyseur composé de cuivre(II), de 4,4'-oxydibenzoate (OBA) et de 4-4'-bipyridine (BPY), peut être recyclé et être réutilisé plusieurs fois (Schéma II-17).¹²²

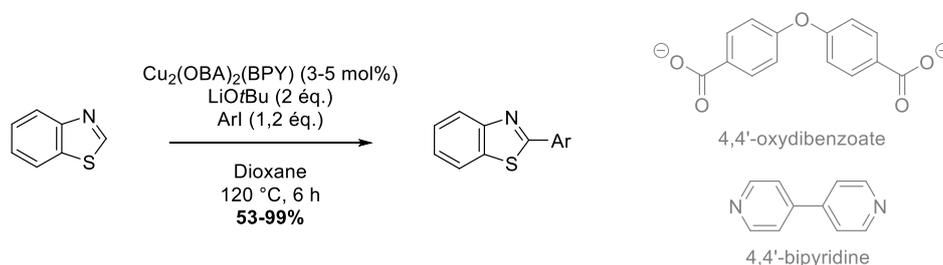


Schéma II-17 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée avec le polymère de coordination Cu₂(OBA)₂(BPY).

¹²⁰ J. L. Bon, D. Feng, S. R. Marder, S. B. Blakey, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7766–7771.

¹²¹ S. M. Khake, V. Soni, R. G. Gonnade, B. Punji, *Dalton Trans* **2014**, *43*, 16084–16096.

¹²² T. Truong, V. T. Nguyen, H. T. X. Le, N. T. S. Phan, *RSC Adv* **2014**, *4*, 52307–52315.

La stratégie développée en 2015 par le groupe de Cai emploie un système bimétallique palladium/cuivre sans ligand. Les iodures d'aryles sont utilisés en tant que partenaire de couplage (Schéma II-18).¹²³

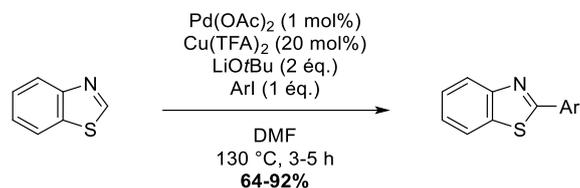


Schéma II-18 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée avec un système Pd/Cu, sans ligand.

En 2016, l'équipe d'Ackermann a décrit une réaction d'arylation directe photo-induite, à température ambiante. Cette méthode est catalysée par du cuivre(I) en présence de la *N,N*-diméthylglycine qui est utilisée comme ligand. Ces conditions douces ont permis de coupler des iodures d'aryles avec le benzo[*d*]thiazole, conduisant aux produits d'arylation avec des rendements entre 46 et 80% (Schéma II-19).¹²⁴

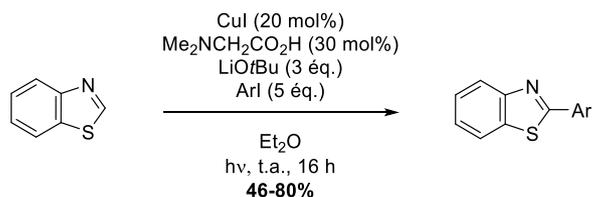


Schéma II-19 : (Hétéro)Arylation directe photo-induite du benzo[*d*]thiazole catalysée au cuivre.

En 2017, deux groupes ont développé des catalyseurs au palladium coordonnés par un ligand en forme de « pince ». L'équipe de Punji a optimisé des dérivés amino-quinolinyl palladiés qui catalysent, avec le cuivre(I), le couplage d'iodures d'aryle avec des benzo[*d*]thiazoles (Schéma II-20, a).¹²⁵ Le groupe de Song a synthétisé des dérivés (phosphinito)benzimidazoles d'aryles, qui, avec l'iodure de cuivre introduit en quantité catalytique, permettent l'arylation d'iodures d'aryles en C2 du benzo[*d*]thiazole (Schéma II-20, b).¹²⁶

¹²³ J. Gu, C. Cai, *RSC Adv.* **2015**, 5, 56311–56315.

¹²⁴ F. Yang, J. Koeller, L. Ackermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, 55, 4759–4762.

¹²⁵ H. Pandiri, V. Soni, R. G. Gonnade, B. Punji, *New J. Chem.* **2017**, 41, 3543–3554.

¹²⁶ C. Wang, Y. Li, B. Lu, X.-Q. Hao, J.-F. Gong, M.-P. Song, *Polyhedron* **2018**, 143, 184–192.

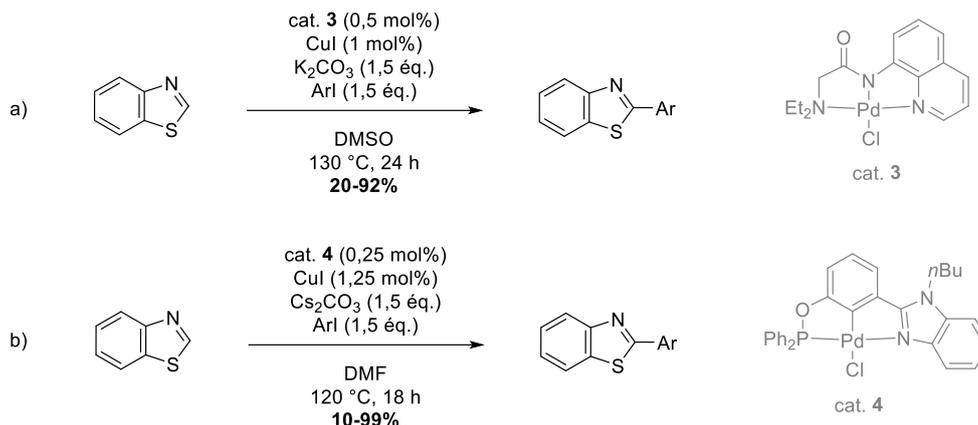


Schéma II-20 : Arylation directe du benzo[*d*]thiazole catalysée au palladium et au cuivre.

II.1.b. L'arylation des quinazolin-4(3*H*)-ones

Très peu de méthodes d'arylation directe intermoléculaire existent pour fonctionnaliser la position C2 des quinazolin-4(3*H*)-ones. Le premier exemple a été décrit en 2013 par l'équipe de Kusurkar pour la synthèse totale de la Bouchardatine, un alcaloïde biologiquement actif. La réaction de C–H activation est catalysée au palladium et permet le couplage d'un dérivé indolique portant une fonction aldéhyde et d'une quinazolin-4(3*H*)-one non protégée (Schéma II-21).¹²⁷

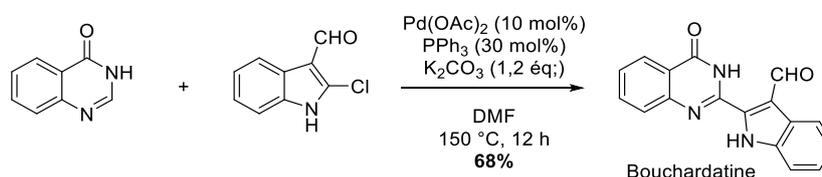


Schéma II-21 : Arylation directe de la quinazolin-4(3*H*)-one pallado-catalysée.

Plus récemment, une méthode d'arylation directe en C6 des 2-pyridones a été décrite par le groupe de Samanta. Les conditions douces de ce couplage catalysé au rhodium(III) ont pu être appliquée à la 3-(pyridin-2-yl)quinazolin-4(3*H*)-one en présence de la diazo *para*-quinone conduisant au produit d'arylation avec un rendement de 70% (Schéma II-22).¹²⁸

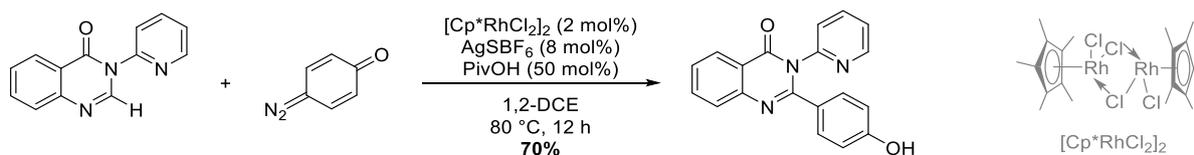


Schéma II-22 : Arylation directe de la quinazolin-4(3*H*)-one catalysée au rhodium.

¹²⁷ N. H. Naik, T. D. Urmode, A. K. Sikder, R. S. Kusurkar, *Aust. J. Chem.* **2013**, *66*, 1112–1114.

¹²⁸ D. Das, P. Poddar, S. Maity, R. Samanta, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 3612–3621.

II.1.c. Travaux antérieurs du laboratoire sur la réaction d'arylation

Les dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones substitués en C2 possèdent une liaison C–H activable en position C7. Une réaction d'arylation directe sur cette position qui n'avait jamais été fonctionnalisée a été envisagée. Afin d'étudier la faisabilité de la C–H arylation, des dérivés quinazolin-4(3*H*)-ones ont été choisis en tant que substrats modèles. L'objectif de ces travaux préliminaires a donc été la mise au point d'une méthode permettant l'arylation directe en position C2 des quinazolin-4(3*H*)-ones (Schéma II-23).

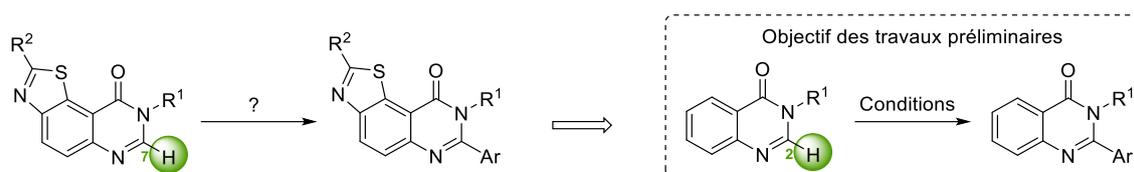


Schéma II-23 : Objectifs de l'étude de l'arylation directe des dérivés quinazolin-4(3*H*)-ones.

Le couplage d'iodures d'(hétéro)aryles avec des dérivés de quinazolin-4(3*H*)-ones s'est montré optimal sans ligand, avec une bis-catalyse palladium/cuivre et un temps de réaction très court. Ces conditions tolèrent un grand nombre d'aryles et d'hétéroaryles, et conduisent de manière générale à de très bons rendements (Schéma II-24).^{86a}

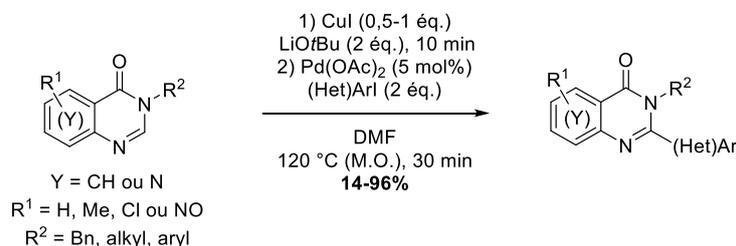


Schéma II-24 : Arylation directe des dérivés quinazolin-4(3*H*)-ones avec des iodures d'aryles.

Cette méthode a pu être étendue aux bromures et aux chlorures d'(hétéro)aryles. Le couplage de tels partenaires a été efficace en présence d'une phosphine, utilisée en tant que ligand (Schéma II-25).^{86b}

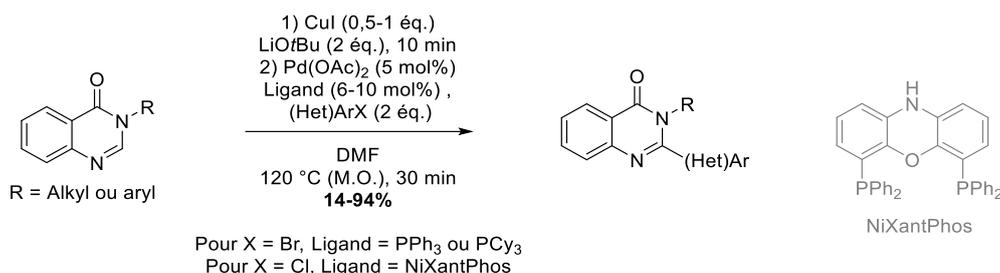


Schéma II-25 : Arylation directe des dérivés quinazolin-4(3*H*)-ones avec des bromures et des chlorures d'aryles.

L'application des conditions optimales issues de ces travaux au 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9** n'a malheureusement pas conduit au produit arylé en C7. Seuls les composés **37** et monoarylé **38** ont été isolés (Schéma II-26).

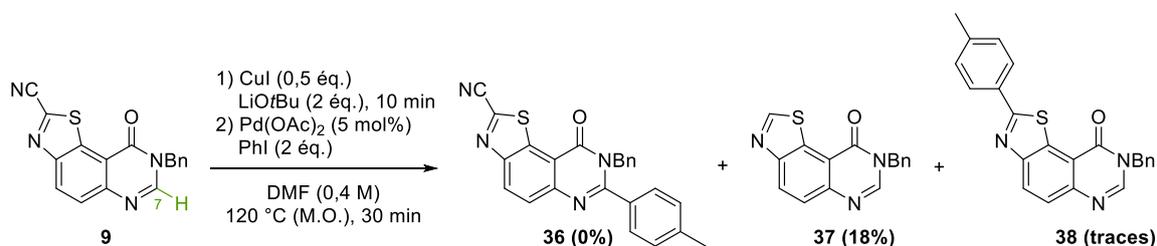


Schéma II-26 : Application des conditions de C–H arylation optimisées au 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9**.

A partir de ces résultats, nous avons voulu étudier la régiosélectivité des positions C2 et C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. L'application des conditions d'arylation directe à la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** a conduit à un mélange de dérivés mono-arylé en C2 **39** et bis-arylé **40**. Les produits, facilement séparables par chromatographie flash sur gel de silice, ont pu être isolés avec des rendements respectifs de 27 et 45% (Schéma II-27).⁸⁷

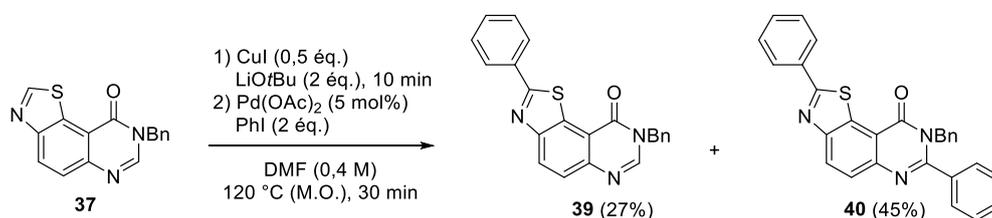


Schéma II-27 : Premier essai d'arylation de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**.

A partir de ces résultats, les conditions de réaction de bis-arylation ont pu être optimisées, formant le dérivé 2,7-diphényl **40** avec un rendement de 59%. Ce composé bis-arylé **40** a pu être obtenu en présence de 3 équivalents d'iodobenzène et après quatre heures de réaction à 120 °C (Schéma II-28).

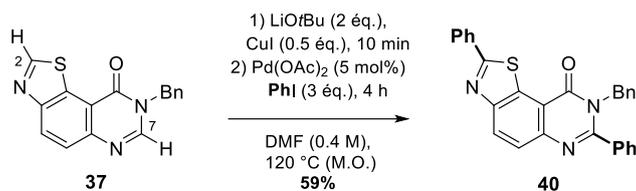


Schéma II-28 : Conditions optimales pour la synthèse de dérivés bis-arylés.

La réaction d'arylation régiosélective de la position C2 a aussi été optimisée. La synthèse du composé mono-arylé **39** a pu être réalisée en changeant la nature de la base et du partenaire de couplage utilisé. La réaction régiosélective de la position C2 est assurée en présence d'une base plus faible telle que le DBU et/ou avec un partenaire de couplage bromé (Schéma II-29).

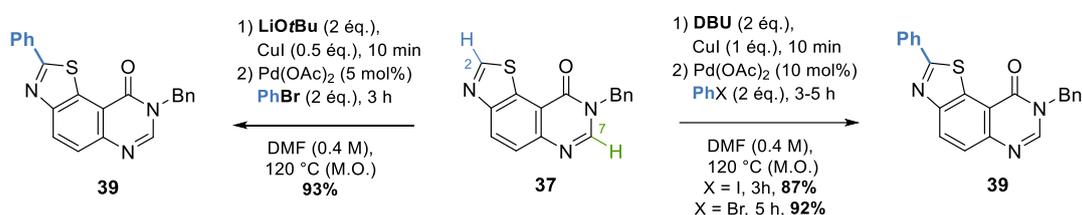


Schéma II-29 : Conditions optimales pour la synthèse de dérivés mono-arylés.

La réaction d'arylation en C7 de la 8-benzyl-2-phénylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **39** a aussi été étudiée. Le composé di-arylé **41** a pu être obtenu en présence du 1-méthyl-4-iodobenzène après cinq heures de chauffage par irradiation micro-onde à 120 °C. Une réaction monotope appliquée à la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** a aussi été réalisée conduisant au dérivé di-arylé **41** avec un rendement de 49% (Schéma II-30).

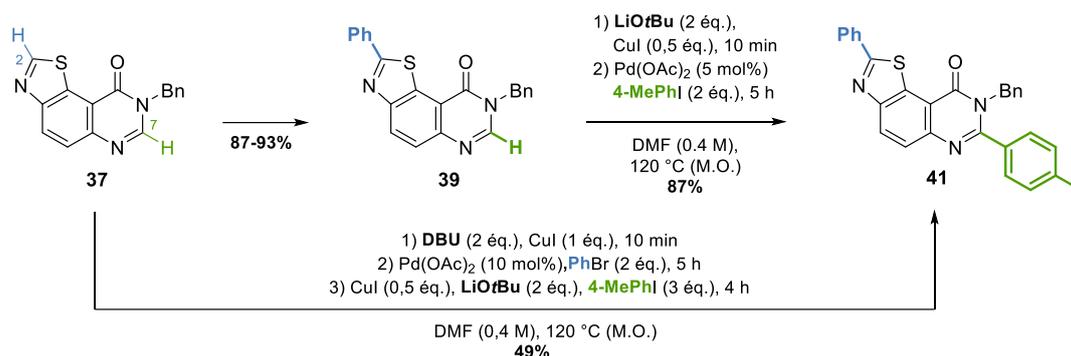


Schéma II-30 : Conditions optimales pour la synthèse de dérivés di-arylés.

II.1.d. Objectifs du chapitre

La méthode de C–H arylation en position C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a été étudiée dans le but de coupler des hétéroaryles. Ces fonctions pourraient en effet mimer le groupement imidate des 8-alkylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones, actives sur DYRK1A, dont la stabilité chimique en milieu biologique est controversée. L'arylation en C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones permet de réaliser une étude de la pharmacomodulation de cette position qui n'avait jamais été fonctionnalisée lors des précédents travaux (Schéma II-31).

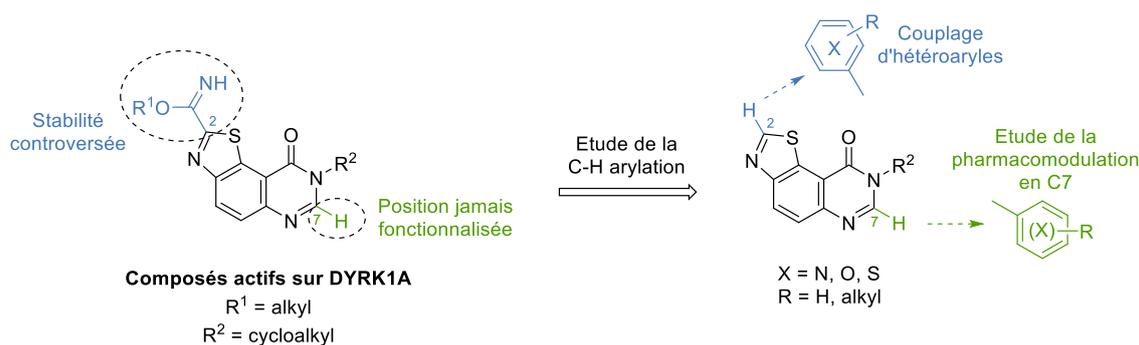


Schéma II-31 : Objectifs de l'étude de la C–H arylation sur les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

Les conditions de C–H arylation ont été optimisées sur le substrat modèle 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**. Le groupement en position N8 a été stratégiquement choisi, la déprotection du benzyl étant la clef pour la synthèse d'une nouvelle famille de molécules arylées. Après l'exemplification de la bis-, mono- et di-arylation de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one, l'étude de la réaction de débenzylation des composés arylés forme donc un premier objectif (Schéma II-32).

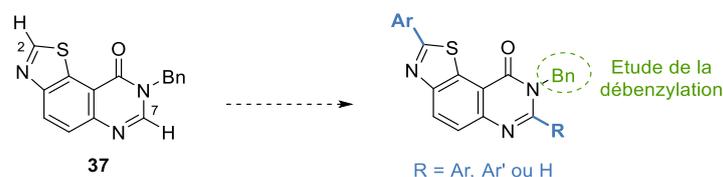


Schéma II-32 : Premiers objectifs : exemplification des réactions d'arylation et débenzylation des composés arylés.

Les meilleures activités inhibitrices sur DYRK1A ont été obtenues avec des dérivés tricycliques N8-cycloalkyles. De plus, le squelette thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one N8-cyclopropyle a particulièrement été étudié par le laboratoire. De ce fait, le second objectif de ces travaux est l'optimisation puis l'exemplification de l'arylation en position C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (Schéma II-33).



Schéma II-33 : Second objectif : optimisation puis exemplification de l'arylation directe en C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one.

Enfin, le dernier objectif de ce chapitre est l'étude de la pharmacomodulation de la position N8 de la 2-(hétéro)aryl-8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one qui aura obtenu les meilleurs résultats d'inhibition sur DYRK1A (Figure II-2).

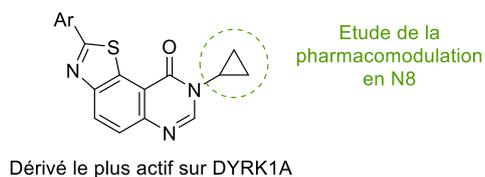


Figure II-2 : Dernier objectif : Pharmacomodulation de la position N8.

II.2. C–H arylation des positions C2 et C7 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**.

II.2.a. Synthèse de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**

II.2.a.i Décyanation du 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9**

Le composé modèle pour l'optimisation puis l'exemplification de cette méthode de C–H arylation est la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**. Son précurseur, le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9** est obtenu en cinq étapes avec un rendement global de 41%, à partir de l'acide 5-nitroanthranilique commercial (voir chapitre 1, paragraphe I.2.a.) (Schéma II-34).¹²⁹

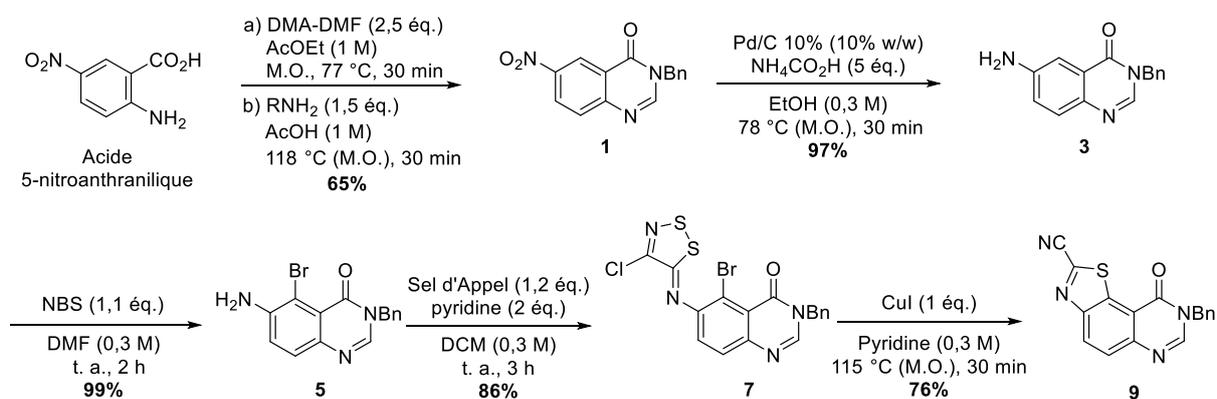


Schéma II-34 : Synthèse du 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9**.

La 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** est obtenue avec un rendement de 98% après hydrolyse du nitrile et décarboxylation du précurseur **9**, réalisées en milieu aqueux acide à 100 °C sous irradiation micro-onde pendant 45 min (Schéma II-35).

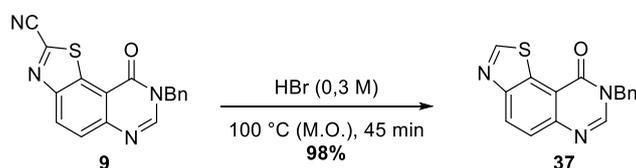


Schéma II-35 : Synthèse de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**.

¹²⁹ F. Couly, C. Dubouilh-Benard, T. Besson, C. Fruit, *Synthesis* **2017**, 49, 4615–4622.

II.2.a.ii Optimisation de la synthèse

II.2.a.ii.(a) Etude bibliographique

Une étude bibliographique nécessaire à la compréhension des stratégies envisagées pour l'optimisation de la synthèse de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** est présentée ci-dessous. Elle décrit la formation des benzo[*d*]thiazoles à partir de dérivés dithiazoles *ortho*-bromés.

Les benzo[*d*]thiazoles **III** peuvent être synthétisés *via* un intermédiaire *N*-arylcyanothioformamide **II**, issus de l'attaque nucléophile sur un composé dithiazole **I**. La réaction de cyclisation est ensuite activée par une base ou un métal de transition tel que le cuivre ou le palladium. Dans certains cas, les benzo[*d*]thiazoles **III** sont obtenus en une étape à partir de dérivés dithiazoles **I**, après plusieurs attaques nucléophiles (Schéma II-36).

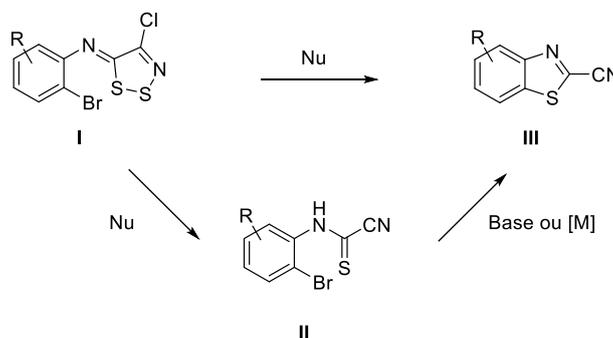


Schéma II-36 : Les différentes voies envisagées pour la formation de benzo[*d*]thiazoles **III** à partir de dérivés dithiazoles **I**.

Dans les années 1990, l'équipe de Kim a isolé à partir de précurseurs dithiazoles, des *N*-arylcyanothioformamides, un sous-produit de la réaction permettant la formation de dérivés dithiométhylène phosphoranes en présence de phosphoranes stables (Schéma II-37, a).¹³⁰ En parallèle, Rees et coll. ont mis au point une réaction afin de synthétiser ces composés cyanothioformamides en utilisant, par exemple la triphénylphosphine (PPh₃) et du DCM non anhydre (Schéma II-37, b).^{73a, 73b, 131} Plus récemment, cette même réaction a été optimisée par le groupe de Koutentis avec un autre réactif, dont l'activité nucléophile est peu connue : le DBU, dont trois équivalents sont nécessaires à la synthèse du thioformamide attendu (Schéma II-37, c).¹³²

¹³⁰ H.-S. Lee, K. Kim, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 869–872.

¹³¹ T. Besson, J. Guillard, C. W. Rees, V. Thiéry, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1998**, 889–892.

¹³² S. S. Michaelidou, P. A. Koutentis, *Synthesis* **2009**, 24, 4167–4174.

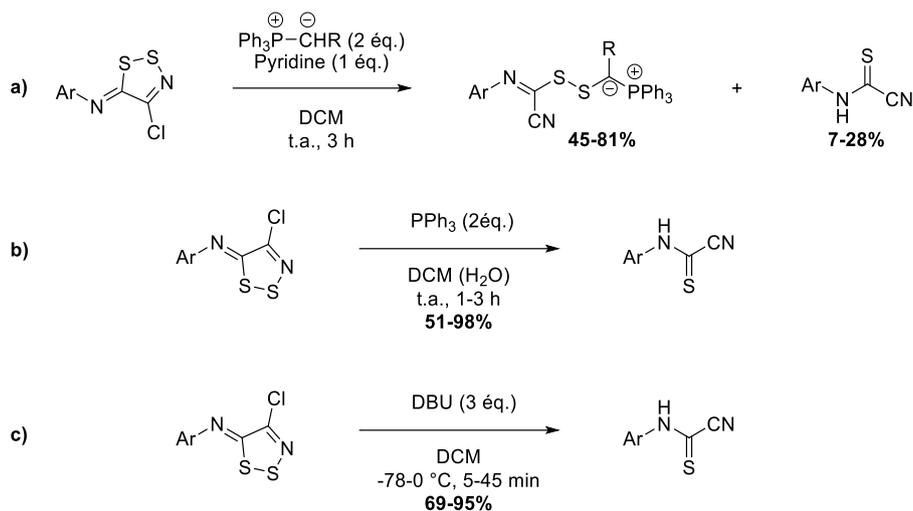


Schéma II-37 : Les différentes stratégies pour la synthèse de *N*-arylcyanothioformamides en présence de nucléophiles.

Ces trois groupes proposent des mécanismes de réactions similaires avec deux attaques nucléophiles sur le soufre S2, le plus électrophile, des précurseurs dithiazoles (Schéma II-38).

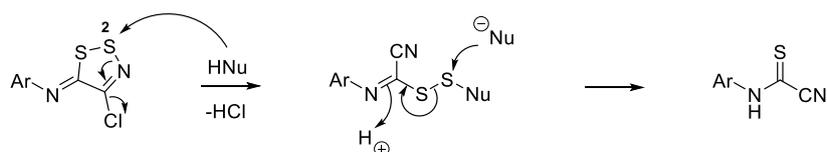


Schéma II-38 : Proposition de mécanisme pour la formation de *N*-arylcyanothioformamides en présence de nucléophiles.

La cyclisation des *N*-arylthioformamides *o*-bromés par substitution nucléophile médiée par une base a été décrite notamment par le groupe de Spitulnik, en 1976, qui utilise l'hydrure de sodium pour former le 2,6-diméthylbenzo[*d*]thiazole. Ce même groupe emploie le méthanoate de sodium en présence du dérivé chloré pour former le 2-méthyl-5-nitrobenzo[*d*]thiazole (Schéma II-39).¹³³

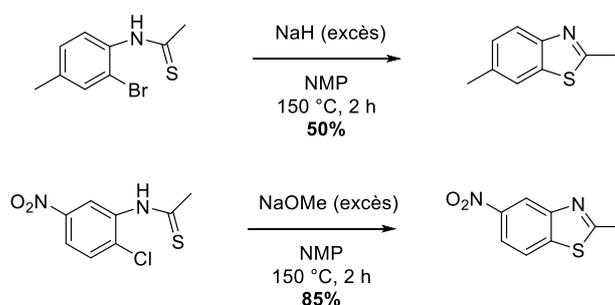


Schéma II-39 : Cyclisation de *N*-arylthioformamides *o*-halogénés par substitution nucléophile.

¹³³ M. J. Spitulnik, *Synthesis* **1976**, 730–731.

Cette cyclisation peut aussi être médiée par un métal de transition tel que le cuivre ou le palladium. Sekar et coll. proposent une méthodologie catalysée au cuivre(II). Les tableaux d'optimisation de cette réaction montrent que l'utilisation d'iodure de cuivre conduit aussi à la cyclisation du dérivé *N*-arylthioformamide malgré un rendement plus faible (48% contre 78% avec CuCl₂) (Schéma II-40, a).¹³⁴ L'équipe de Castellón a utilisé du palladium(0) afin d'obtenir les benzo[*d*]thiazoles à partir de *N*-arylthioformamides *o*-bromés (Schéma II-40, b).¹³⁵

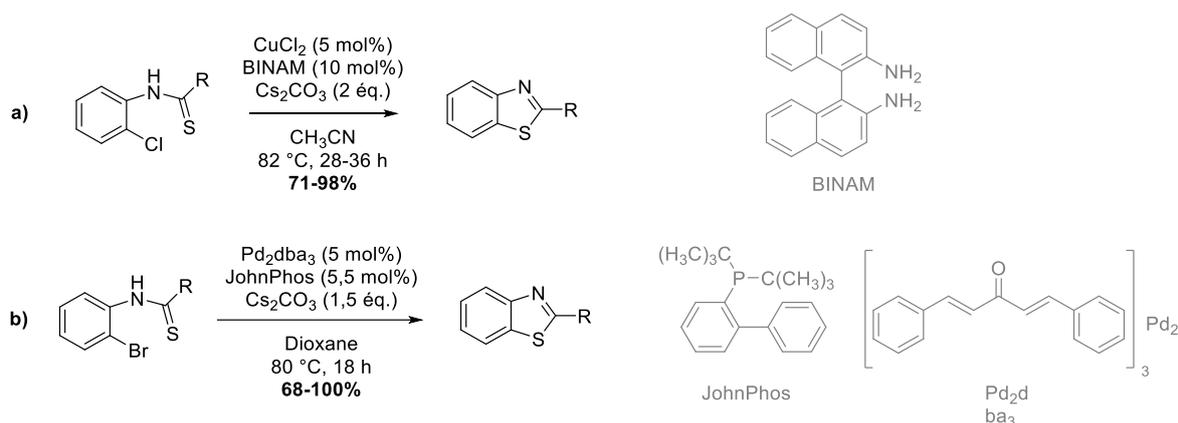


Schéma II-40 : Cyclisation de *N*-arylthioformamides *o*-bromés médiée par un métal de transition.

Le groupe de Koutentis a aussi décrit la synthèse de thiazolopyridines et de thiazolopyrimidines à partir de leur précurseur dithiazole en présence d'iodure de benzyltriméthylammonium. Le mécanisme proposé est de type ANRORC (Addition of Nucleophile, Ring Opening and Ring Closure) : l'attaque nucléophile sur le S2 du dithiazole engendre la substitution nucléophile aromatique afin de former l'intermédiaire anionique pyridinique **I**. Le composé cyclisé **II** est issu de la réaromatisation oxydante de cet intermédiaire (Schéma II-41).¹³⁶

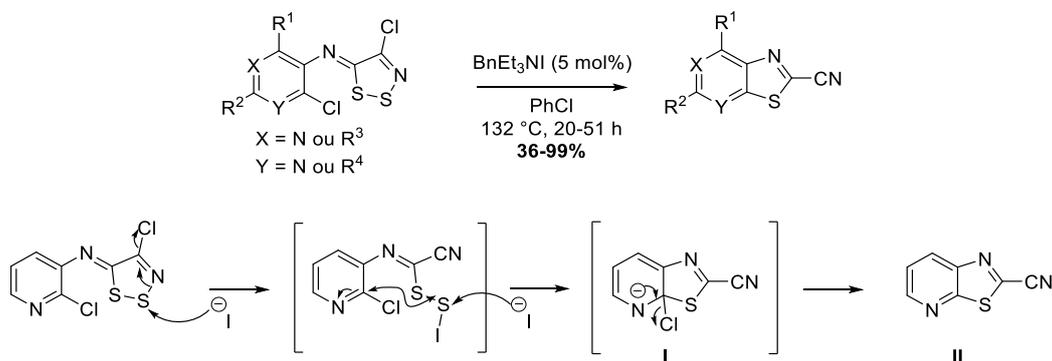


Schéma II-41 : Cyclisation de dithiazoles pyridines et pyrimidines et proposition de mécanisme.

¹³⁴ E. A. Jaseer, D. J. C. Prasad, A. Dandapat, G. Sekar, *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 5009–5012.

¹³⁵ C. Benedí, F. Bravo, P. Uriz, E. Fernández, C. Claver, S. Castellón, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6073–6077.

¹³⁶ P. A. Koutentis, M. Koyioni, S. S. Michaelidou, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 621–629.

II.2.a.ii.(b) Optimisation de la synthèse

Comme vu dans l'introduction de ce chapitre, l'application des conditions optimisées de C–H arylation sur le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9** ont conduit aux produits **37** et **38** (Schéma II-42).

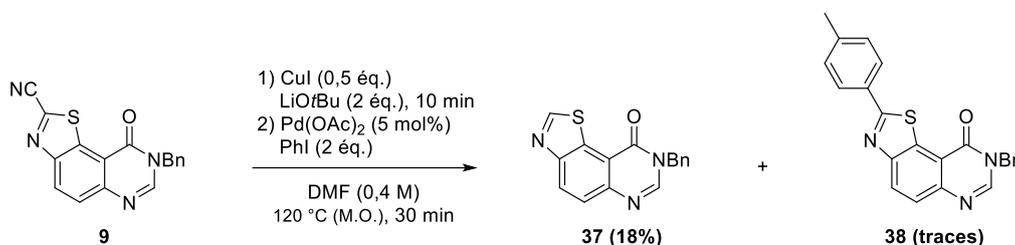


Schéma II-42 : Application des conditions de C–H arylation optimisées au 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9**.

A partir de ces résultats, nous avons postulé qu'une réaction monotope permettant la cyclisation puis la décyanation et enfin la C–H arylation en C2 à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7** était possible dans des conditions d'arylation directe (Schéma II-43).

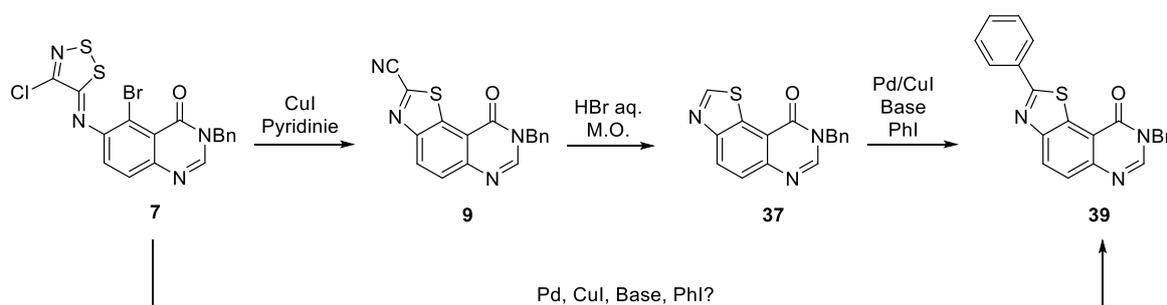


Schéma II-43 : Réaction monotope envisagée avec l'application des conditions d'arylation directe sur la quinazolin-4(3*H*)-one **7**.

Dans cette réaction monotope, la cyclisation formant le dérivé cyané **C** (Schéma II-44) à partir d'une quinazolin-4(3*H*)-one **A** serait initiée soit par l'iodure de cuivre, soit par un nucléophile : la diméthylamine. Ce réactif est généré *in situ* par la dégradation du DMF, qui est favorisée à haute température ou en présence de certains additifs tels que le *tert*-butylate de potassium¹³⁷ ou encore le DBU.¹³⁸ La diméthylamine pourrait conduire à la formation d'un dérivé cyanothioformamide **B**. La cyclisation de cet intermédiaire **B** serait initiée soit par la base, engendrant une substitution nucléophile aromatique, soit par le palladium et/ou le cuivre pour un couplage croisé.

¹³⁷ L. Čechová, P. Jansa, M. Šála, M. Dračinský, A. Holý, Z. Janeba, *Tetrahedron* **2011**, 67, 866–871.

¹³⁸ W. Liu, C. Chen, H. Liu, *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, 11, 1721–1726.

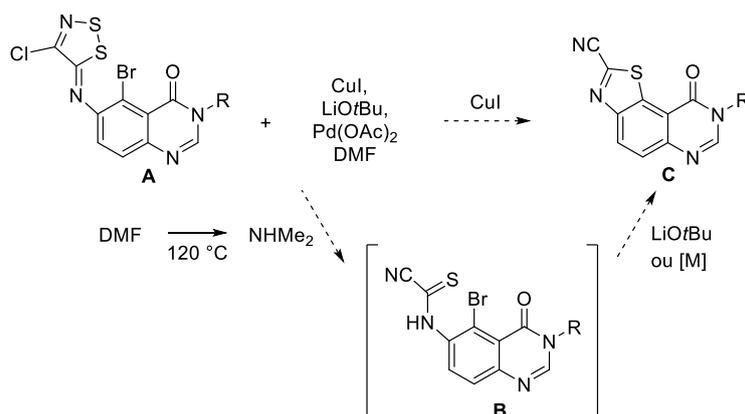
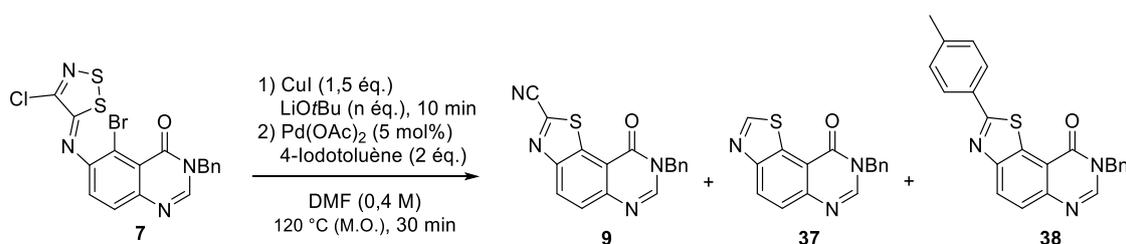


Schéma II-44 : Voies envisagées pour la cyclisation des quinazolin-4(3*H*)-ones **A** en présence des conditions de C–H arylation.

Les conditions de C–H arylation optimisées par notre laboratoire ont été appliquées à la quinazolin-4(3*H*)-one **7**, avec un excès de cuivre afin de favoriser l'étape de cyclisation (Tableau II-1). Avec deux équivalents de *tert*-butylate de lithium, le produit majoritaire formé est le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9** (Entrées 1 et 2). L'augmentation de la quantité de base engendre la dégradation du milieu (Entrées 3 et 4). Pour chaque essai, les produits **37** et **38** n'ont pas été observés sur le spectre RMN ¹H du brut réactionnel.

Tableau II-1 : Application des conditions de C–H arylation à la quinazolin-4(3*H*)-one **7** et variation de la quantité de base.

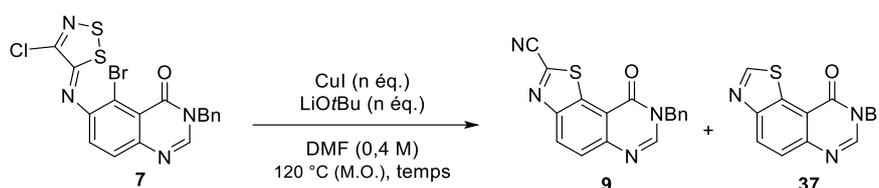


Entrée	n éq	9 (%)	37 (%)	38 (%)
1	2	52	0	0
2^a	2	65	0	0
3	4	0	0	0
4	6	0	0	0

^a Sans étape d'activation, 30 min de réaction après l'ajout de tous les réactifs.

Ces conditions, permettant la cyclisation du réactif **7**, ont ensuite été étudiées dans le but de favoriser la réaction de décyanation qui est une étape clef pour la formation du composé arylé **38**. Des essais sans palladium et sans partenaire de couplage ont donc été effectués (Tableau II-2).

Tableau II-2 : Essais de formation du dérivé **37** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7** ; effets du temps et de la quantité de base et de cuivre.



Entrée	CuI (n éq.)	LiOtBu (n éq.)	Temps (min)	9 (%)	37 (%)
1	1,5	2	10	70	0
2^a	1,5	2	10	58	0
3^a	1,5	2	25	56	0
4	1,5	2	60	45	0
5	1,5	0	10	42	0
6	0	2	10	72	0
7	0	2	60	73	0
8	0	3	10	9%	traces

^a Réaction à t.a.

Ces conditions, en présence de la quinazolin-4(3*H*)-one **7**, ont donné le 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9** avec un rendement de 70% (Entrée 1). Cependant, le composé **37** n'a pas été observé lors de cet essai. Une température plus basse (Entrée 2) ne permet pas une conversion totale du précurseur et un temps de réaction plus long en présence de cuivre engendre la dégradation du milieu réactionnel (Entrées 3 et 4). Les entrées 5 et 6, représentant respectivement les essais sans base et sans cuivre, ont montré que l'étape de cyclisation était possible dans les deux cas, permettant de nous affranchir de l'utilisation de métaux. Seule l'augmentation du nombre d'équivalents de *tert*-butylate de lithium a favorisé la formation du composé **37**, observé sous forme de traces dans le brut réactionnel (Entrée 8).

L'augmentation du nombre d'équivalents de base semble essentielle pour la synthèse de la benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**. Cependant, le tableau II-1 montre qu'en présence de cuivre, l'introduction de 4 équivalents de *tert*-butylate de lithium engendre la dégradation du milieu réactionnel. Afin d'éviter ce phénomène, un ajout séquentiel a été effectué. Le premier permettrait la cyclisation de la quinazolin-4(3*H*)-one **7** et le second la décylation (Tableau II-3).

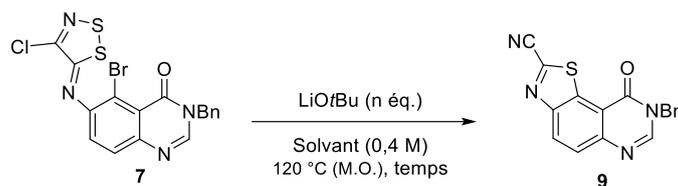
Tableau II-3 : Essais de formation du dérivé **37** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7** ; addition du *tert*-butylate de lithium en deux étapes.

Entrée	LiOtBu étape 1 (n éq.)	LiOtBu étape 2 (n éq.)	9 (%)	37 (%)
1	2	1	49	0
2	2	2	0	0
3	1	1	64	0

L'addition en deux étapes de la base ne favorise pas la formation du composé **9**. De plus, l'introduction fractionnée de 4 équivalents de *tert*-butylate de lithium engendre la dégradation du milieu réactionnel (Entrée 2).

Même si la formation du composé **37** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **7** semble compromise, ces conditions de réaction représentent une nouvelle voie d'accès au 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **9**, sans métaux. L'optimisation des conditions de cyclisation sans cuivre a ensuite été réalisée.

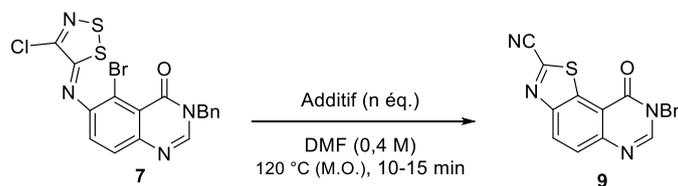
Dans un premier temps, les hypothèses de la génération *in situ* de diméthylamine par la dégradation du DMF par chauffage sous irradiation micro-onde ainsi que l'augmentation de cette dégradation en présence de *tert*-butylate de lithium ont été vérifiées (Tableau II-4). Nous avons d'abord modifié la nature du solvant afin d'exclure la possibilité de cyclisation par un effet thermique. L'utilisation de la *N*-méthyl-pyrrolidone (NMP) en tant que solvant a conduit au composé cyclisé **9** avec un rendement de 89% (Entrée 1). L'essai avec le α,α,α -trifluorotoluène a montré que la cyclisation du dithiazole **7** n'est pas liée à un effet thermique puisqu'aucune réaction n'a été observée après 15 minutes de chauffage (Entrée 2). Les résultats en présence de DMF et sans aucun autre réactif justifient donc la première hypothèse (Entrées 3 et 4). La seconde a pu être vérifiée avec les conditions de l'entrée 5, qui utilisent une quantité catalytique de *tert*-butylate de lithium. Une quantité stœchiométrique permet d'obtenir un rendement de 71% (Entrée 4), une plus grande proportion n'améliorant pas les résultats (Entrée 7).

Tableau II-4 : Effets de la dégradation du DMF et de la quantité de *tert*-butylate de lithium.

Entrée	Solvant	n éq.	Temps (min)	9 (%)
1	NMP	0	15	89
2	α,α,α -trifluorotoluène	0	15	0 (100) ^a
3	DMF	0	10	15
4	DMF	0	60	27
5	DMF	0,5	10	61
6	DMF	1	10	71
7	DMF	2	10	72

^a Précurseur 7.

L'effet de différents additifs connus pour favoriser la dégradation du DMF en diméthylamine a ensuite été étudié (Tableau II-5).

Tableau II-5 : Etude de l'effet des additifs.

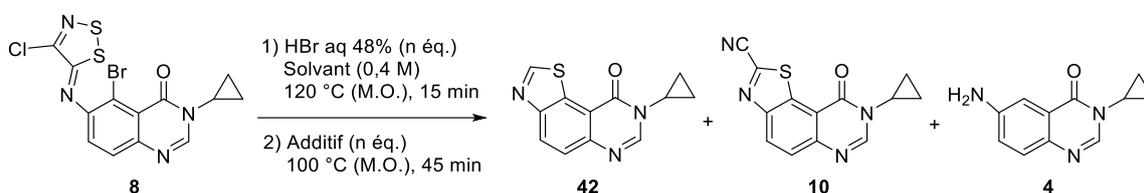
Entrée	Additif	n éq.	9 (%)
1	NH ₄ OH aq. 35 %	2	59
2	DBU	3	6
3	DBU	2	51
4 ^a	HCl aq. 37%	1	78
5	HBr aq. 48%	1	93
6	HNMe ₂ 2M in THF	2	47
7	HNMe ₂ 2M aq. 40 %	2	67
8	HNMe ₂ 2M aq. 40 %	1	80

^a Réaction sur la quinazolin-4(3*H*)-one N8-cyclopropyl 8.

L'ammoniaque,¹³⁹ le DBU¹³⁸ ou l'acide chlorhydrique¹³⁷ décrits comme additifs facilitant la dégradation du DMF en diméthylamine ont été testés pour favoriser la formation du composé cyclisé **9** (Entrée 1 à 4). L'ajout de 3 équivalents de DBU correspond aux conditions mises au point par le groupe de Koutentis pour la formation de thioformamides (Entrée 2).¹³² L'acide hydrobromique a conduit au composé cyclisé **9** avec un rendement de 93% (Entrée 5). L'addition de diméthylamine en solution aqueuse dans le milieu réactionnel a aussi permis d'obtenir des résultats satisfaisants (Entrées 6 à 8) dont un rendement de 80% avec un équivalent de base (Entrée 8).

La réaction de décyanation de nos composés tricycliques est réalisée en présence d'acide hydrobromique. Afin d'obtenir la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** à partir du précurseur **8** un premier essai dans cet acide chauffé 120 °C pendant 15 minutes a été réalisé. Ces conditions ont conduit majoritairement à l'aniline **4** ; seules des traces du composé **42** ont été observées (Tableau II-6, Entrée 1). Des conditions plus douces, combinant les étapes de cyclisation et de décyanation n'ont permis d'isoler que le composé **10** (Entrées 2 et 3).

Tableau II-6 : Essais de formation du dérivé **42** à partir de la quinazolin-4(3*H*)-one **10** en présence d'acide hydrobromique.



Entrée	n éq.	Additif (n éq.)	Solvant	42 (%)	10 (%)	4 (%)
1	/		HBr aq. 48%	traces	0	63
2	1	HBr aq. 48%	DMF	0	56	0
3	1	H ₂ O	DMF	0	93	0

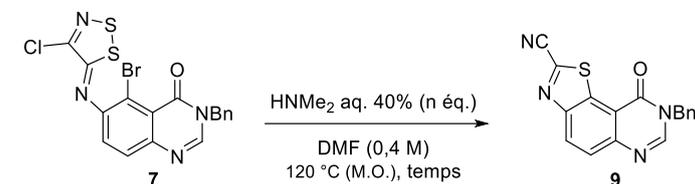
Pour la suite de l'optimisation de la réaction de cyclisation du réactif **7**, des conditions plus douces et compatibles avec un plus grand nombre de fonctions chimiques, utilisant une solution aqueuse de diméthylamine, ont été retenues.

Les essais du tableau II-7 ont montré qu'un temps de réaction de 15 minutes était nécessaire pour obtenir la conversion totale du réactif **7** en présence d'une solution aqueuse de diméthylamine

¹³⁹ (a) A. F. Larsen, T. Ulven, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3546–3548; (b) T. P. Petersen, A. F. Larsen, A. Ritzén, T. Ulven, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 4190–4195.

(Entrée 3). De plus, l'addition d'une quantité catalytique permet d'obtenir les mêmes résultats qu'avec un équivalent de ce réactif (Entrée 5).

Tableau II-7 : Etude de l'effet du temps et du nombre d'équivalents de diméthylamine à 40%.

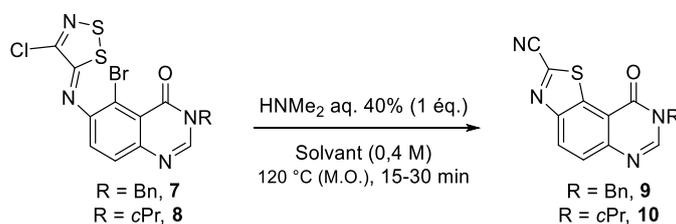


Entrée	n éq.	Temps	9 (%)
1	1	5'	64
2	1	10'	76
3	1	15'	80
4	1	30'	78
5	0,5	15'	79
6 ^a	0,1	15'	56

^a Réaction sur la quinazolin-4(3*H*)-one N8 cyclopropyl **8**.

Les conditions optimales, c'est-à-dire utilisant une solution aqueuse de diméthylamine dans le DMF avec un chauffage par irradiation micro-onde dans un tube scellé pendant 15 à 30 minutes, ont été appliquées au précurseur N8-cyclopropyl **8**. Une montée en échelle a également été réalisée avec les dérivés N8-benzyl **7** et N8-cyclopropyl **8** (Tableau II-8).

Tableau II-8 : Essais de montée en échelle.



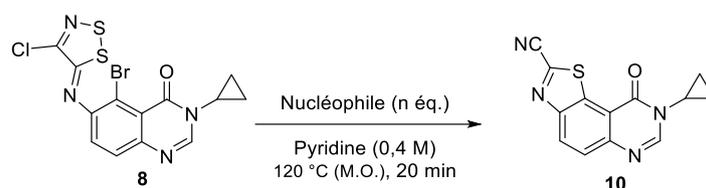
Entrée	Précurseur (mmol)	Type de micro-onde	Solvant	9 ou 10 (%)
1	7 (0,27)	Tube scellé	DMF	80
2	8 (0,27)	Tube scellé	DMF	79
3	7 (5)	Tube scellé	DMF	82
4	8 (62,0)	Pression atm.	DMF	10
5 ^a	7 (10,7)	Pression atm.	NMP	67

^a Réaction sans solution aqueuse de diméthylamine.

Les composés cyclisés **9** et **10** ont été obtenus avec des rendements similaires, compris entre 80 et 82% (Entrée 1 à 3). Cette réaction a ensuite été menée avec un micro-onde possédant un système ouvert, donnant accès à l'échelle du gramme pour la synthèse de nos précurseurs (Entrées 4 et 5). A pression atmosphérique, le point d'ébullition bas de la diméthylamine (Téb = 7 °C), incompatible avec un chauffage à 120 °C est probablement à l'origine du faible rendement de 10% obtenu (Entrée 4). L'utilisation de la NMP, qui avait aussi donné de très bons résultats lors de l'optimisation de cette réaction a permis d'isoler le composé cyclisé **9** avec un rendement de 67% (Entrée 5). Cependant, la formation de sous-produits et l'extraction de ce solvant rendent le traitement de la réaction difficile.

Afin d'obtenir une méthode compatible avec un chauffage à pression atmosphérique, une étude comparant différents nucléophiles a été menée (Tableau II-9).

Tableau II-9 : Etude du nucléophile.



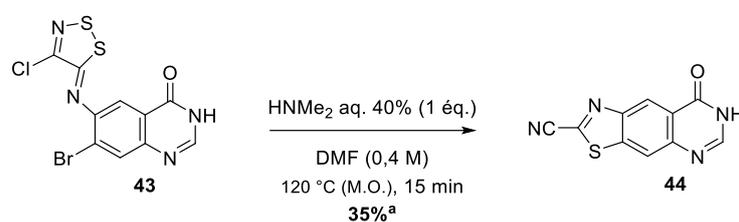
Entrée	Nucléophile (n éq.)	10 (%) ^a
1	Morpholine (1)	60
2	DMEDA (1)	61 ^b
3	NaOH aq. 2 M (2)	68
4	TBAB (2,2)	36
5	PPh ₃ (2,2)	60

^a Rendement déterminé par étalon interne (Bn₂O). ^b Rendement isolé.

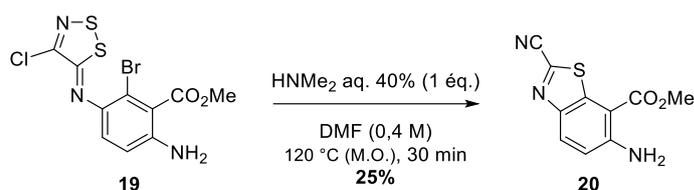
Le solvant de réaction a été modifié par la pyridine afin de ne plus générer de diméthylamine dans le milieu, incompatible avec un système non scellé. Ce solvant a montré les meilleurs résultats, comparé à l'acétonitrile, le DMSO et le trifluorotoluène. D'autres amines secondaires avec un point d'ébullition plus élevé telles que la morpholine et la *N,N'*-diméthyléthylènediamine (DMEDA) ont été testées (Entrée 1 et 2), ainsi que des nucléophiles forts comme les hydroxyles (Entrée 3), les halogénures (Entrée 4) ou encore les phosphines (Entrée 5). Malheureusement, aucun de ces essais n'a permis d'obtenir de meilleurs résultats par rapport aux précédents.

Afin de proposer un mécanisme de réaction, la méthodologie optimisée avec la solution aqueuse de diméthylamine a été appliquée sur un régioisomère du composé quinazolin-4(3*H*)-one **43** et le cycle

benzénique poly-fonctionalisé **19** dans le but de former le thiazolo[4,5-*g*]quinazolin-8(7*H*)-one-2-carbonitrile **44** et le benzo[*d*]thiazole **20** (Schéma II-45).

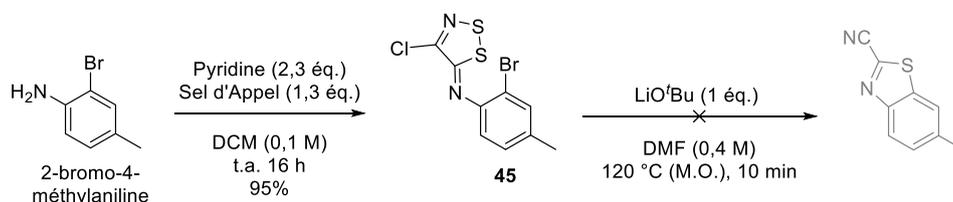


^a Rendement d\u00e9termin\u00e9 par \u00e9talon interne (Bn₂O)



Sch\u00e9ma II-45 : Essais de synth\u00e8se du thiazolo[4,5-*g*]quinazolin-8(7*H*)-one-2-carbonitrile **43** et du benzo[*d*]thiazole **19**.

Aussi, l'application des conditions de cyclisation sur le dithiazole **45** a conduit \u00e0 la d\u00e9gradation du milieu r\u00e9actionnel, le dithiazole **45** \u00e9tant isol\u00e9 avec un rendement de 95% en pr\u00e9sence du sel d'Appel et de pyridine dans le DCM (Sch\u00e9ma II-46).



Sch\u00e9ma II-46 : Synth\u00e8se du dithiazole **45** et essais de cyclisation.

Ces r\u00e9sultats montrent que la position du thiazole ainsi que le cycle pyrimidin-4(3*H*)-one sont importants pour la cyclisation en pr\u00e9sence de dim\u00e9thylamine. N\u00e9anmoins, il est difficile de comparer la r\u00e9activit\u00e9 d'une quinazolinone *N*-benzyl\u00e9e avec une quinazolinone non substitu\u00e9e. Un m\u00e9canisme de type ANRORC est alors envisageable (Sch\u00e9ma II-47).

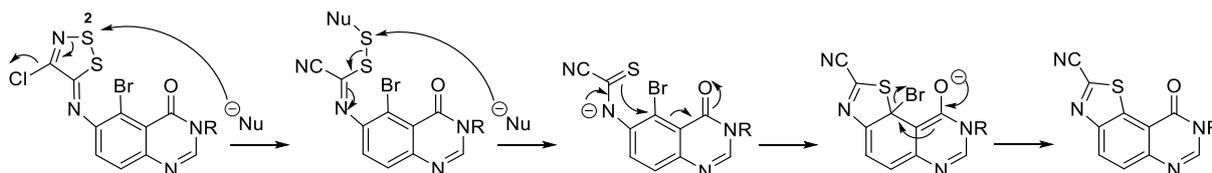


Schéma II-47 : proposition de mécanisme pour la cyclisation des 5-bromo-6-((4-chloro-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene)amino)-quinazolin-4(3H)-ones en présence de diméthylamine.

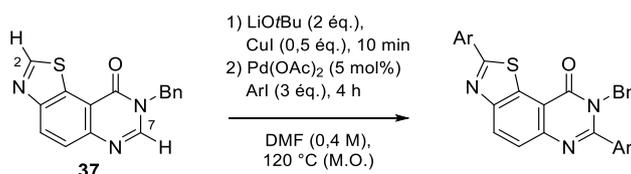
II.2.b. Arylation séquentielle des positions C2 et C7

II.2.b.i Bis-arylation des positions C2 et C7 de la 8-benzylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one **37**

Les conditions optimales de réaction de bis-arylation sur la 8-benzylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one **37** ont été obtenues en présence du *tert*-butylate de lithium, d'un iodure d'aryle, de cuivre(I) et de palladium(II) dans le DMF chauffé pendant 4 h sous irradiation micro-onde à 120 °C.

L'exemplification de cette réaction a pu ensuite être réalisée avec différents partenaires de couplage (Tableau II-10).

Tableau II-10 : Exemplification de la réaction de bis-arylation sur la 8-benzylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one **37**.



Entrée	Ar	Molécule	Rendement (%)
1	Ph	40	59 (32) ^a
2	4-Me-Ph	46	63 (30) ^a
3	4-MeO-Ph	47	67 (29) ^a
4	4-Cl-Ph	48	56 (41) ^a
5	4-F-Ph	49	26 (58) ^a
6	4-CN-Ph	50	55 (38) ^a
7	2,4-Cl-Ph	51	0 (88) ^a
8	3-Pyridinyle	52	0 (73) ^a

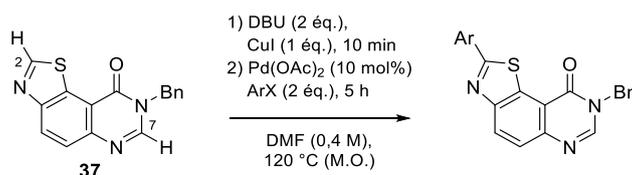
^a Rendement du composé monoarylé en C2 correspondant.

Les produits bis-arylés en position C2 et C7 ont été isolés avec des rendements compris entre 26 et 67% (Entrées 1 à 6). Le produit monoarylé en position C2 est également toujours obtenu. En accord avec les résultats observés lors de l'arylation des quinazolin-4(3*H*)-ones, le 2,4-dichloriodobenzène et la 3-iodopyridine ont conduit exclusivement au produit mono-arylé en C2 (Entrées 7 et 8) : les effets électroniques et la gêne stérique des substituants sur les iodures d'aryle influencent la réaction.

II.2.b.ii Mono-arylation en position C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**

L'exemplification de la mono-arylation régiosélective en C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** a été réalisée avec des partenaires de couplages bromés et iodés, en présence de DBU avec un temps de réaction de 5 h (Tableau II-11).

Tableau II-11 : Exemplification de la réaction de mono-arylation sur la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**.

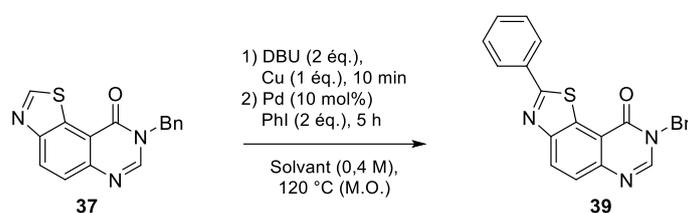


Entrée	Ar	X	Molécule	Rendement (%)
1	Ph	Br	39	92
		I		87
2	4-Me-Ph	Br	38	86
3	4-MeO-Ph	I	53	63
4	4-Me ₂ N-Ph	Br	54	87
5	4-Cl-Ph	Br	55	59
		I		46
6	4-F-Ph	I	56	71
7	4-CN-Ph	I	57	59
8	2,4-Cl-Ph	I	58	62
9	3,4-Cl-Ph	I	59	64
10	3-pyridinyle	I	60	69
11	2-MeO-3-pyridinyle	I	61	29
12	2-pyridinyle	Br	-	0
13	2-pyrazinyle	Br	62	47
14	2-thiazolyle	Br	-	0
15	2-thiazolyle-4-carboxylate d'éthyle	Br	-	0

Cette réaction d'arylation directe montre une grande tolérance pour les réactifs *para*-substitués avec un groupement électro-donneur ou électro-accepteur (Entrées 2 à 7). Les partenaires de couplages di-substitués 2,4- et 3,4-dichloro-1-iodobenzènes ont permis de synthétiser les composés monoarylés **58** et **59** avec des rendements respectifs de 62 et 64% (Entrées 8 et 9). Le couplage avec la 3-iodopyridine a pu être possible (Entrées 10 et 11), contrairement à celui avec le 2-bromopyridine (Entrée 12). Des hétérocycles comportant plusieurs hétéroatomes ont aussi été testés. Seule la fonctionnalisation avec la 2-bromopyrazine a conduit à un produit hétéroarylé (Entrée 13). Malheureusement, l'utilisation de thiazoles comme partenaires de couplage n'a pas permis d'isoler les produits arylés en C2 correspondants (Entrées 14 et 15).

Suite à cette exemplification, quelques essais ont été réalisés afin de mieux comprendre le mécanisme de la réaction (Tableau II-12). Dans un premier temps, nous avons suggéré que la réaction était initiée par le palladium(0), formé *via* la réduction du palladium acétate par la diméthylamine issue de la dégradation du DMF.

Tableau II-12 : Effets du cuivre dans la réaction d'arylation directe en position C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**.



Entrée	Cu	Pd	Solvant	39 (%)
1	/	Pd(OAc) ₂	DMF	0
2	/	Pd(PPh ₃) ₄	α,α,α -trifluorotoluène	0
3	CuI	Pd(PPh ₃) ₄	DMF	75
4^a	CuI	Pd(OAc) ₂	DMF	34
5	CuI	Pd(OAc) ₂	α,α,α -trifluorotoluène	69
6	CuCl ₂	Pd(PPh ₃) ₄	DMF	47
7	CuCl ₂	Pd(PPh ₃) ₄	α,α,α -trifluorotoluène	75
8	CuCl ₂	Pd(OAc) ₂	DMF	21
9	CuCl ₂	Pd(OAc) ₂	α,α,α -trifluorotoluène	32
10^b	CuCl ₂	Pd(OAc) ₂	α,α,α -trifluorotoluène	11
11^c	CuCl ₂	Pd(OAc) ₂	α,α,α -trifluorotoluène	31

^a Ajout de HNMe₂ in THF 2M (2 éq.) dans l'étape 2). ^b Base = LiOtBu, 0,5 éq. CuCl₂, 5 mol% Pd(OAc)₂. ^c Base = LiOtBu, 1 éq. CuCl₂, 5 mol% Pd(OAc)₂.

La présence de cuivre est essentielle à l'arylation : aucune réaction ne se produit en son absence (Entrées 1 et 2). Le mécanisme est bien initié par du palladium(0) (Entrée 3) mais ce dernier ne serait pas formé ou peu par la diméthylamine issue de la décomposition du DMF car l'ajout en excès de ce réactif ne favorise pas la synthèse du composé arylé **39** (Entrée 4). Les résultats de l'entrée 5 confirment cette théorie : le dérivé arylé **39** est obtenu avec un rendement de 69% lorsque la réaction est réalisée sans diméthylamine. Les valeurs de potentiel d'oxydo-réduction du cuivre(I) et du palladium(II) montrent qu'une réaction rédox entre ces deux espèces serait fortement envisageable afin de former du cuivre(II) et le palladium(0) ($E^0(\text{Pd}^{2+}/\text{Pd}) = 0.915 \text{ V/ENH}$ et $E^0(\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+) = 0.159 \text{ V/ENH}$).¹⁴⁰ Après avoir vérifié que la réaction était possible en présence de cuivre(II) (Entrées 6 et 7), des essais avec l'introduction de palladium(II) afin de confirmer cette théorie ont été réalisés (Entrée 8 et 9). Etonnés par les résultats de l'entrée 9, qui ne génèrent aucun réducteur, nous avons ensuite modifié la quantité de cuivre(II), que nous pensions contaminé par des traces de cuivre(I) dans le lot utilisé. Ce postulat a été validé avec les résultats des entrées 10 et 11. L'ensemble de ces essais suggèrent que le palladium(II) n'a pas d'interaction avec la diméthylamine et qu'il est bien réduit par le cuivre(I).

Le mécanisme proposé met en avant la formation d'une espèce cuivrée **I**, assistée par la base lors de l'étape d'activation. Après avoir été réduit par le cuivre(I), le palladium(0) effectue une addition oxydante sur la liaison $\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-X}$ du partenaire de couplage halogéné, donnant lieu à l'intermédiaire **II**. La transmétallation entre les intermédiaires **I** et **II** permet la formation de l'intermédiaire palladié **III** dont l'élimination réductrice conduit à la synthèse du composé arylé en C2 souhaité et à la régénérescence du palladium(0) qui sera de nouveau utilisé dans ce cycle catalytique (Schéma II-49).

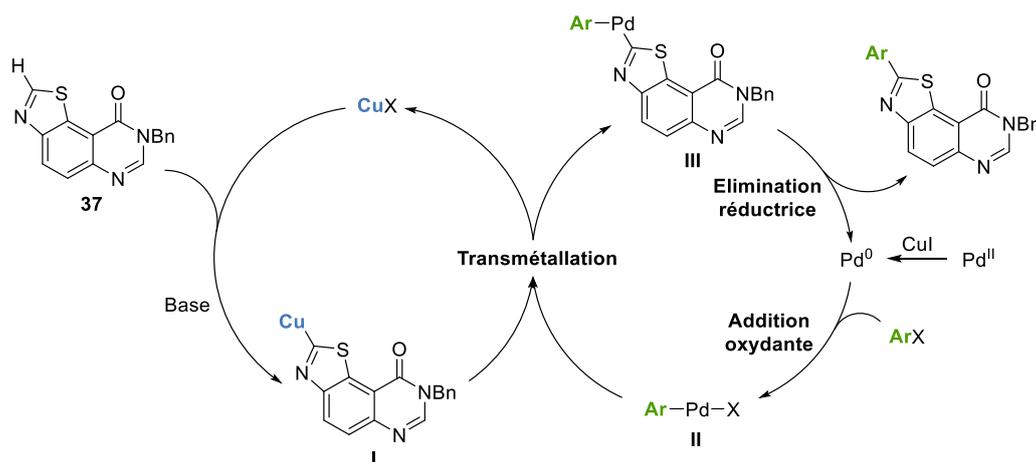


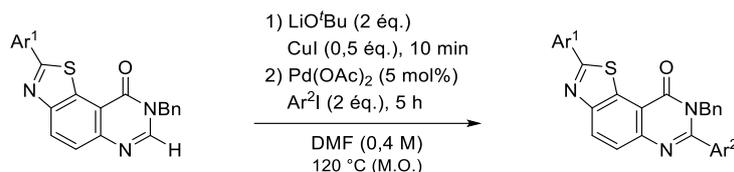
Schéma II-49 : Proposition de mécanisme pour l'arylation directe de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** en position C2.

¹⁴⁰ P. Vanysek, CRC handbook of chemistry and physics **1998**, 8-23–8-33.

II.2.b.iii Arylation en C7 des 2-aryl-8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones

L'exemplification de la réaction d'arylation en C7 des dérivés 2-aryl-8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a été réalisée avec des iodures d'aryle (Tableau II-13).

Tableau II-13 : Exemplification de la réaction de l'arylation directe en position C7 des 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones arylées en C2 **38**, **39**, **53**, **55**, **56**, **57** et **60**.



Entrée	Ar ¹	Ar ²	Molécule	Rendement (%)
1	Ph	4-Me-Ph	41	87
2	4-Me-Ph	4-CN-Ph	63	41
3	4-MeO-Ph	4-F-Ph	64	77
4	4-MeO-Ph	4-CN-Ph	65	73
5	4-Cl-Ph	4-Me-Ph	66	35
6	4-Cl-Ph	4-OMe-Ph	67	33
7	4-Cl-Ph	4-CN-Ph	68	58
8	4-F-Ph	4-Me-Ph	69	59
9	4-CN-Ph	4-F-Ph	70	69
10	4-CN-Ph	2-Me-Ph	71	78
11^a	3-pyridinyle	4-Me-Ph	72	/
12^b	3-pyridinyle	4-Me-Ph	72	/

^a 1,5 éq. CuI. ^b 1,5 éq. CuI et ajout de PPh₃ (6 mol%) dans la seconde étape.

Ainsi, la seconde arylation des 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones substituées par un groupement phényle **39**, *p*-tolyle **38**, 4-méthoxyphényle **53**, 4-chlorophényle **55**, 4-fluorophényle **56**, 4-benzonitrile **57** et 3-pyridinyle **60** a conduit aux composés di-arylés **63** à **72** avec des rendements compris entre 33 et 87% (Tableau II-16). Ces conditions réactionnelles tolèrent des iodures d'aryle *para*-substitués par des groupements électro-donneurs et électro-attracteurs (Entrées 1 à 9) mais aussi *ortho*-substitués par un méthyl (Entrée 10). Le composé **72** issu de l'arylation de la 8-benzyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **60** a été observé en ESI-MS/MS. Malheureusement, aucune méthode de purification n'a pour l'instant permis de l'isoler en raison de sa très faible solubilité dans les solvants organiques et des nombreux sous-produits formés lors de cette réaction (Entrées 11 et 12).

Nous nous sommes ensuite intéressés à la synthèse de dérivés 7-arylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones-2-carbonitriles. Après décyonation, l'arylation de ces dérivés permettrait de synthétiser le composé diarylé **72**, et d'autres molécules (hétéro)arylées en C2 et C7 (Schéma II-50).

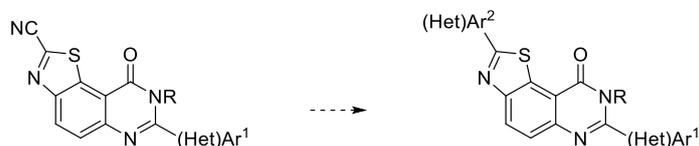


Schéma II-50 : Modification de la stratégie pour la synthèse de composés diarylés.

Afin d'obtenir des dérivés 7-arylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones-2-carbonitriles, des essais d'arylation sur les intermédiaires quinazolin-4(3*H*)-ones isolés lors de la synthèse de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** ont été réalisés (Schéma II-51).

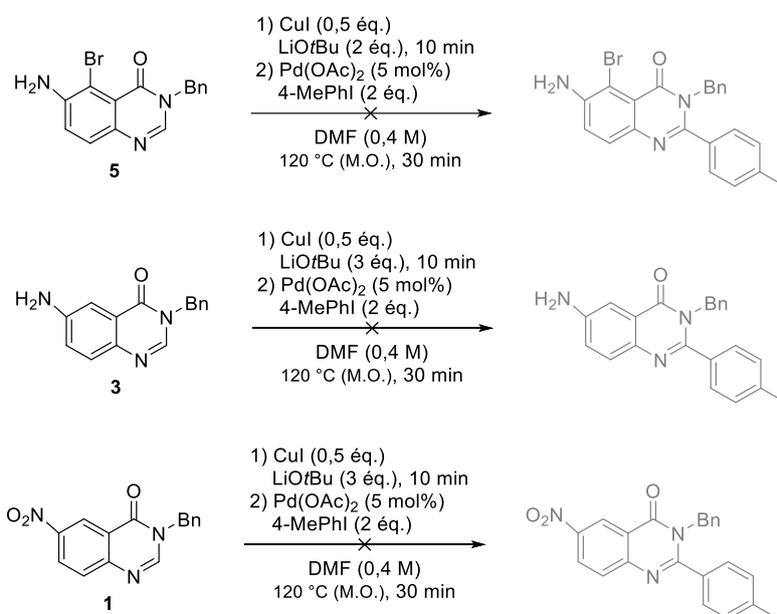


Schéma II-51 : Essais d'arylation directe sur les quinazolin-4(3*H*)-ones **1**, **3** et **5**.

Ces trois essais n'ont cependant pas permis d'isoler les quinazolin-4(3*H*)-ones arylées souhaitées. Ces conditions de réaction ont conduit à la déhalogénéation du composé bromé **5** et la dégradation de la 6-amino-3-benzylquinazolin-4(3*H*)-one **3** et de la 3-benzyl-6-nitroquinazolin-4(3*H*)-one **1**.

II.2.c. Débenzylation des dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones

Cette méthodologie d'arylation directe séquentielle et sélective des positions C2 et C7 a été optimisée puis exemplifiée sur un précurseur modèle, la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one

37 dont le groupement en position N8 peut être déprotégé. Ainsi, une nouvelle série de molécules arylées est obtenue après seulement une étape réactionnelle.

Un modèle, la 3-benzyl-5-bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]quinazolin-4(3*H*)-one **7**, a d'abord été utilisé afin de reproduire les conditions de débenzylation décrites par notre groupe.^{86, 141} Après une légère optimisation de la réaction, la quinazolin-4(3*H*)-one **7** a été mise en présence d'un excès de chlorure d'aluminium avec un chauffage à 80 °C pendant 45 minutes dans le toluène afin d'obtenir le composé déprotégé **73**, avec un rendement de 68% (Schéma II-52).

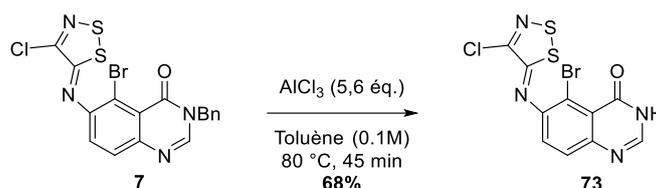


Schéma II-52 : débenzylation de la quinazolin-4(3*H*)-one **7** en présence du chlorure d'aluminium.

Ces conditions ont ensuite été appliquées au composé mono-arylé en C2 **39** et ont permis d'isoler le dérivé déprotégé **74** avec un rendement de 79% (Schéma II-55).

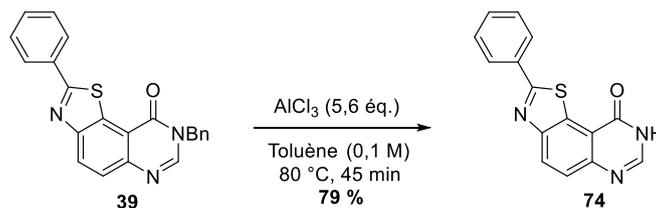


Schéma II-53 : déprotection du composé mono-arylé **39** en présence du chlorure d'aluminium.

Les premiers résultats biologiques des composés arylés ont permis d'orienter les travaux ci-après. Sur tous les produits bis-arylés (**40**, **46** à **50**), mono-arylés (**38**, **39**, **53** à **60**), di-arylés (**41**, **63** à **71**) et débenzylé **74**, seuls deux composés ont montré des pourcentages d'inhibition intéressants. Il s'agit des dérivés mono-arylés en C2 par un groupement 3-pyridinyle **60** ou 2-pyrazinyl **62** (voir Chapitre 3). Les travaux de débenzylation se sont concentrés sur le produit 3-pyridinyle **60**. La fonction quinazolinone déprotégée pourrait en effet favoriser son activité inhibitrice de DYRKA1 en formant de nouvelles liaisons hydrogène avec la poche catalytique de la kinase (Schéma II-54).

¹⁴¹ R. Guillon, F. Pagniez, C. Picot, D. Hédou, A. Tonnerre, E. Chosson, M. Duflos, T. Besson, C. Logé, P. Le Pape, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 288–292.

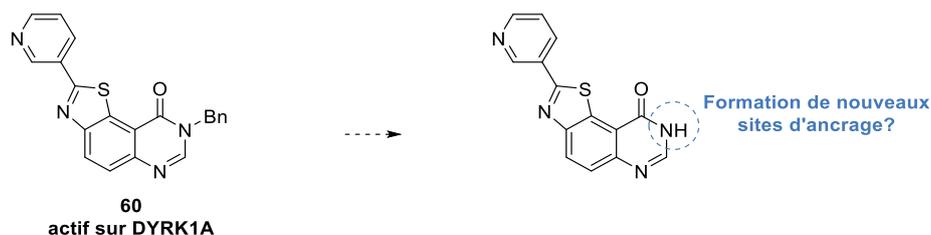


Schéma II-54 : Structures du composé 2-(pyridin-3-yl) **60** actif sur DYRK1A et de son dérivé débenzylé envisagé.

Les conditions de débenzylation ont été appliquées sur la 8-benzyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **60**. Après 18 h de chauffage, seul le réactif a été observé par chromatographie sur couche mince (CCM). Un second ajout de chlorure d'aluminium a été effectué dans le but de déplacer l'équilibre de la réaction. Cependant, le dérivé déprotégé **75** n'a été formé qu'en très petite quantité (Schéma II-55). 30% du réactif **60** ont été isolés après la purification du brut réactionnel.

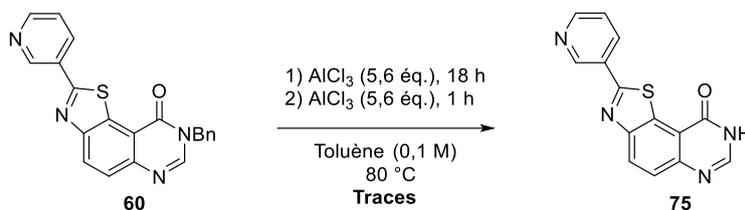


Schéma II-55 : Essai de déprotection de la 8-benzyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **60**.

Face à cet échec, la stratégie de synthèse afin d'obtenir le composé déprotégé **75** a été modifiée. Cette nouvelle voie consiste à effectuer une C–H arylation sur la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one déprotégée. Pour ce faire, un essai de cyclisation a été réalisé sur le dithiazole **73** (Schéma II-56).

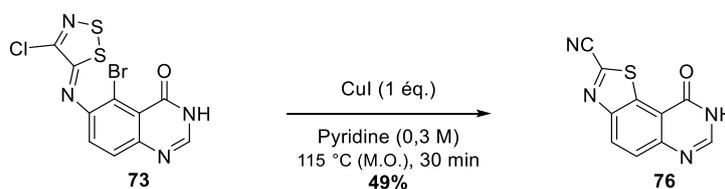
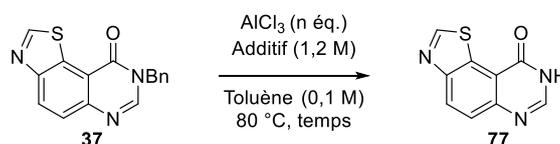


Schéma II-56 : Cyclisation du dithiazole **73**.

Ces conditions de réaction ne permettant qu'un rendement de 49% contre 86% avec le dithiazole benzylé **7** nous ont encouragé à modifier une nouvelle fois la stratégie, vers une synthèse plus convergente, en optimisant la réaction de débenzylation sur la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** (Tableau II-14).

Tableau II-14 : Optimisation de la réaction de déprotection de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** en présence de chlorure d'aluminium.



Entrée	n éq.	Additif	Temps (min)	77 (%)
1	5,6	/	45	25
2	11	/	45	64
3	5,6	DCM	45	43
4	5,6	DCM	900 (15 h)	29
5	11	DCM	45	71
6	11	DCM	5	68
7 ^a	11	DCM	5	22

^a Sur 0,682 mmol du précurseur **37** au lieu de 0,135.

L'application des conditions de déprotection précédemment optimisées a permis d'isoler le composé débenzylé **77** avec un rendement de 25% (Entrée 1). L'augmentation du nombre d'équivalents de chlorure d'aluminium a permis d'améliorer ce rendement (Entrée 2). Le précurseur **37** et le produit **77** étant peu solubles dans le toluène, le dichlorométhane a été ajouté afin d'améliorer les résultats (Entrées 3 à 6). L'entrée 6 décrit les conditions optimales avec 11 équivalents de chlorure d'aluminium et un chauffage à 80 °C pendant 5 minutes dans le mélange de solvants toluène/dichlorométhane. Cependant, la montée en échelle de cette méthode conduit à de moins bons rendements (Entrée 7). De plus, l'excès de chlorure d'aluminium entraîne un traitement de la réaction difficile.

Afin de faciliter le traitement, les conditions utilisant l'acide trifluorométhanesulfonique décrites par Trabanco et coll.¹⁴² ont été testées sur la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**. Une optimisation rapide a permis de définir un temps de réaction de 16 min pour une conversion totale. Avec ces conditions, la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **77** a été obtenue avec un rendement de 82% (Schéma II-57).

¹⁴² F. Rombouts, D. Franken, C. Martínez-Lamenca, M. Braeken, C. Zavattaro, J. Chen, A. A. Trabanco, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4815–4818.

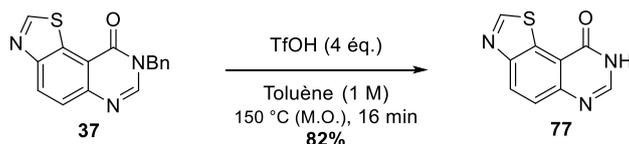


Schéma II-57 : Déprotection de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** en présence d'acide trifluorométhanesulfonique.

Les conditions d'arylation directe ont été appliquées à la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **77** en présence de la 3-iodopyridine. Malheureusement, le composé arylé en C2 **75** n'a été observé que sous forme de traces. De plus les composés **77** et **75** se sont révélés très peu solubles dans les solvants organiques, rendant très difficile les extractions, la purification et l'analyse du milieu réactionnel (Schéma II-58). Avec ces conditions, une réaction de *N*-arylation peut aussi être envisagée. Cependant aucun produit *N*-arylé n'a été observé.

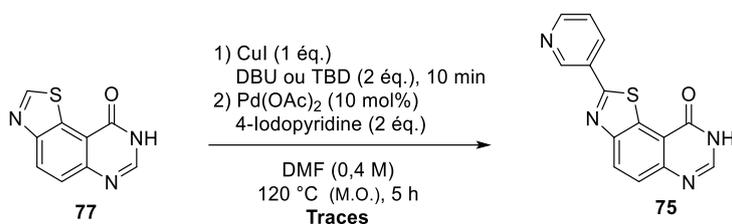


Schéma II-58 : Essais d'arylation directe de la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **77**.

La méthode de déprotection médiée par l'acide trifluorométhanesulfonique a aussi été appliquée à la 8-benzyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **60**. L'optimisation a été effectuée avec le précurseur modèle **37**. La réaction a dû être diluée afin de répondre aux contraintes physiques de l'appareil micro-onde utilisé ; cet appareil ne détectant qu'un volume minimum précis pour assurer la reproductibilité des essais. La quantité d'acide ainsi que le temps de réaction ont dû être augmentés afin d'obtenir le composé **77** avec un rendement de 79% (Schéma II-59, a). L'application de ces conditions sur le dérivé arylé **60** a permis d'isoler le produit déprotégé **75** avec un rendement de 42% (Schéma II-59, b). Cependant, la très faible solubilité de ce produit ne permet pas de s'assurer de son degré de pureté lors des analyses. Seule son observation en ESI-MS/MS confirme sa synthèse. De plus, cette propriété n'est pas compatible avec les conditions des tests biologiques. L'activité inhibitrice de DYRK1A du composé déprotégé **75** n'a donc pas pu être évaluée.

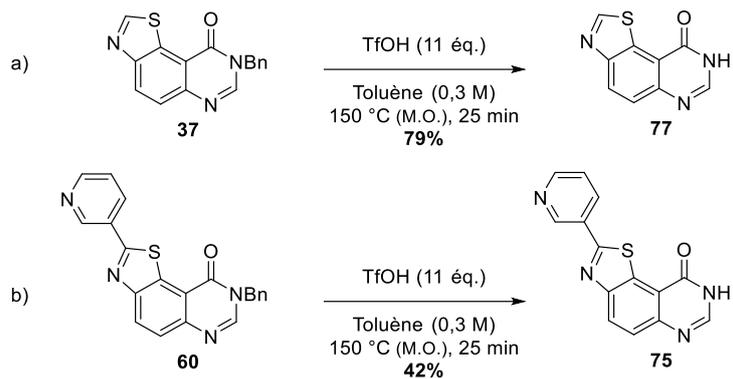


Schéma II-59 : Optimisation de la réaction de déprotection en présence d'acide trifluorométhansulfonique et application au composé 2-(pyridin-3-yl) **60**.

II.3. C–H arylation sélective de la position C2 de thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-substituées

II.3.a. Arylation directe de la position C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42**

II.3.a.i Synthèse de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42**

Le précurseur cyané **10** de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** est obtenu en cinq étapes avec un rendement global de 46%, à partir de l'acide 5-nitroanthranilique commercial (voir chapitre 1, paragraphe I.2.a.) (Schéma II-60).¹²⁹

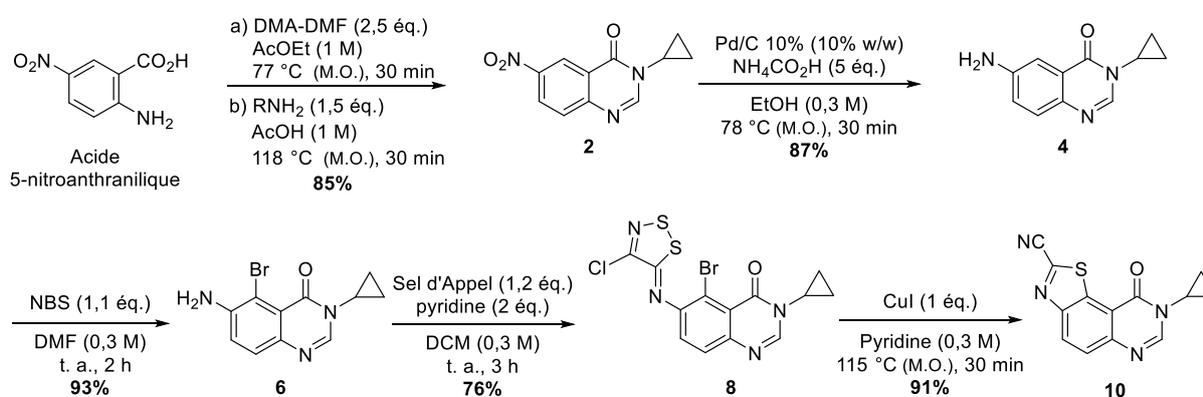


Schéma II-60 : Synthèse du 8-cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **42**.

La 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** est isolée avec un rendement de 90% en présence d'acide hydrobromique avec un chauffage par irradiation micro-onde à 100 °C pendant 45 minutes (Schéma II-61).

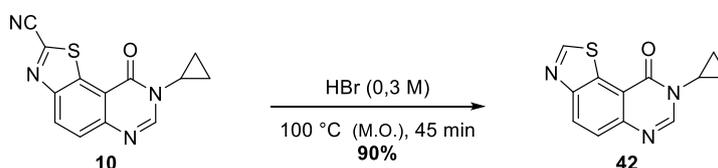
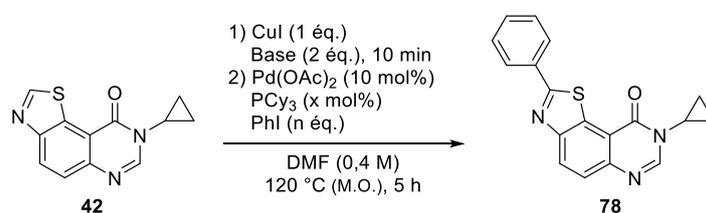


Schéma II-61 : synthèse de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42**.

II.3.a.ii Optimisation de la réaction de C–H arylation sur la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42**

Les conditions de C–H arylation précédemment optimisées ont été appliquées à la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** (Tableau II-15, Entrées 1 et 2). En présence de *tert*-butylate de lithium, le produit C2-arylé a pu être isolé avec un rendement de 19% contre 59% avec le DBU. Cette dernière base a été sélectionnée et certains paramètres ont ensuite été modifiés afin d'optimiser l'efficacité de cette réaction. Cependant, l'augmentation du nombre d'équivalents de iodobenzène (Entrée 3), du temps de réaction et l'ajout de la tricyclohexylphosphine (PCy₃) en tant que ligand (Entrée 4) n'ont pas permis d'améliorer le rendement de la réaction de manière significative. Ces mêmes résultats ont été observés malgré la modification de la base avec le 1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]déc-5-ène (TBD) (Entrée 5).

Tableau II-15 : Optimisation des conditions d'arylation directe en position C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42**.



Entrée	PhI n éq.	PCy ₃ (mol%)	Base	78 (%)
1^a	2	0	LiOtBu	19
2	2	0	DBU	59
3	3	0	DBU	51
4^b	2	20	DBU	58
5	2	0	TBD	63

^a Avec PhBr, 5 mol% de Pd(OAc)₂, 50 mol% de CuI. ^b Temps de réaction : 6h.

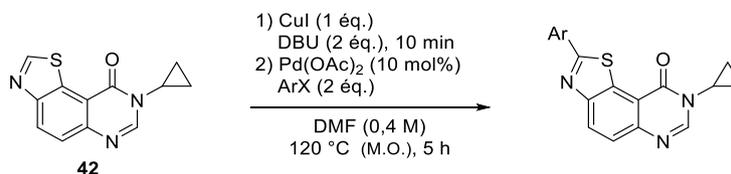
Les conditions des entrées 2 et 5 ont été conservées pour l'exemplification de la réaction.

II.3.a.iii Exemplification de la réaction de C–H arylation sur la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42**

Cette réaction d'arylation directe en position C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** est compatible avec des partenaires de couplage bromés et iodés (Tableau II-16). Des aryles *para*-substitués par un groupement électro-donneur ou électro-attracteur, ainsi que les 2,4 et 3,4-chlorophényles ont pu être couplés avec des rendements entre 31 et 76% (Entrées 2 à 8). Le couplage des dérivés 3-iodopyridines a conduit aux composés arylés **86** et **87** (Entrées 9 et 10). La réaction d'arylation n'a cependant pas pu être efficace avec la 2-bromopyridine ou encore la 2-bromopyrazine

(Entrées 11 et 12). Le TBD a été utilisé en tant que base pour le couplage de la 3-iodopyridine afin de faciliter la purification du produit **86** obtenu.

Tableau II-16 : Exemplification de la réaction d'arylation directe en position C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42**.



Entrée	Ar	X	Molécule	Rendement (%)
1	Ph	I	78	59
2	4-Me-Ph	I	79	64
3	4-MeO-Ph	I	80	76
4	4-Me ₂ N-Ph	Br	81	31
5	4-Cl-Ph	I	82	67
6	4-F-Ph	I	83	52
7	2,4-Cl-Ph	I	84	65
8	3,4-Cl-Ph	I	85	69
9^a	3-pyridinyle	I	86	43
10	2-MeO-3-pyridinyle	I	87	33
11	2-pyridinyle	Br	-	0
12	2-pyrazinyle	Br	-	0

^a TBD comme base.

II.3.b. Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-substituées

Comme annoncé dans le paragraphe II.2.c, les premiers résultats des tests biologiques ont permis d'identifier deux composés arylés présentant une activité inhibitrice de DYRK1A : la 8-benzyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **60** et la 8-benzyl-2-(pyrazin-2-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **62**. Les valeurs d'IC₅₀, détaillées dans le chapitre 3, sont de 12 nM et 133 nM. La pharmacomodulation de la position N8 du meilleur candidat, c'est-à-dire du composé substitué par un groupement 3-pyridinyle, a été entreprise.

Les résultats biologiques antérieurs ont montré que la présence d'un groupement N8-cycloalkyl favorisait l'activité inhibitrice de DYRK1A des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. Le couplage de la 3-iodopyridine sur les 8-cycloalkylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones constitue donc un premier

objectif. Afin d'étendre l'étude de la pharmacomodulation de la position N8 des dérivés tricycliques 2-pyridyn-3-yl, cette réaction a aussi été envisagée sur les composés N8-alkyles et N8-alkylesters.

II.3.b.i Synthèse des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-substituées

Les conditions de décyanation ont été appliquées aux différents précurseurs dont la synthèse est décrite dans le chapitre 1, paragraphe I.2.b. (Tableau II-17). Ces réactions ont été réalisées avec un chauffage par irradiation micro-onde dans un tube scellé. Les composés N8-alkyles **88** à **92** ont pu être facilement isolés, avec des rendements compris entre 97 et 99% (Entrées 1 à 5). Le composé N8-alkylester **93** n'a pas pu être observé lors de cette réaction, aucun produit n'ayant été isolé lors du traitement (Entrée 6). On peut suggérer une hydrolyse de la fonction ester dans les conditions appliquées.

Tableau II-17 : Décyanation des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-alkyls et N8-alkylester.

22-27

Entrée		R	Rendement (%)
1	88		97
2	89		98
3 ^a	90		98
4 ^b	91		98
5	92		99
6	93		0

^a Temps de réaction : 90 min. ^b Temps de réaction : 55 min.

Afin d'obtenir le composé **93**, d'autres méthodes de décyanation ont été expérimentées. La première consiste à remplacer l'acide hydrobromique par l'acide chlorhydrique et la seconde, inspirée de la réaction décrite par le groupe de Maiti,¹⁴³ utilise un catalyseur au nickel(II) et une source d'hydrures. Malheureusement, aucune de ces réactions n'a permis de préparer le composé **93** souhaité (Schéma II-62).

¹⁴³ T. Patra, S. Agasti, Akanksha, D. Maiti, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 69–71.

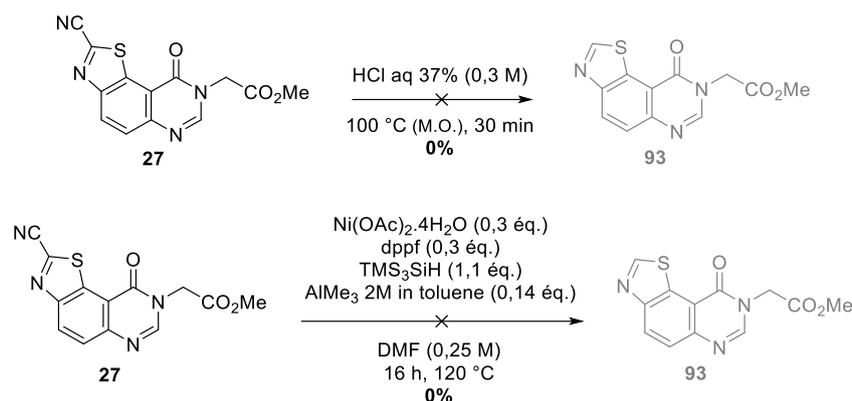


Schéma II-62 : Essais de décyanation de la 2-(2-cyano-9-oxothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-8(9*H*)-yl)acétate de méthyle **27**.

La stratégie de synthèse appliquée pour obtenir ce composé **93** a donc été modifiée en inversant l'étape de décyanation du benzo[*d*]thiazole **20** qui est effectuée avant la réaction de cyclisation (Schéma II-63).

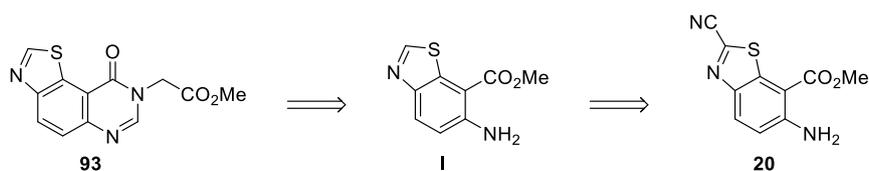
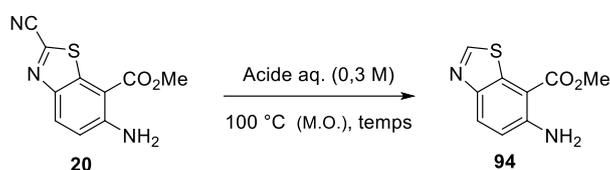


Schéma II-63 : Nouvelle stratégie envisagée pour synthétiser le composé **93**.

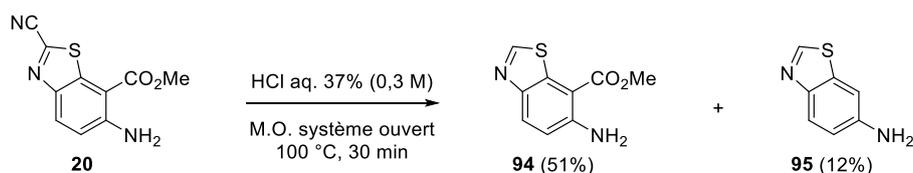
Des essais de décyanation du dérivé benzo[*d*]thiazole **20** ont permis d'isoler le composé **94** (Tableau II-18). La variation du temps de réaction en présence de l'acide hydrobromique n'a pas permis d'obtenir un rendement supérieur à 57% (Entrées 1 à 4), malgré une réaction séquencée permettant un dégazage régulier (Entrée 5). Les meilleures conditions ont été obtenues avec l'acide chlorhydrique et un chauffage à 100 °C pendant 30 minutes (Entrée 7). Une montée en échelle a également été réalisée (Entrée 8).

Tableau II-18 : Optimisation de la décyanation du benzo[*d*]thiazole **20**.

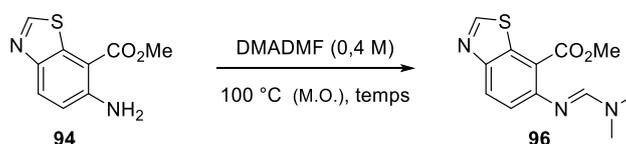
Entrée	Acide aq.	Temps (min)	94 (%)
1	HBr 48%	15	51 ^a
2	HBr 48%	30	57 ^a
3	HBr 48%	45	45
4	HBr 48%	60	56 ^a
5	HBr 48%	10 + 10 + 10	58 ^a
6	HCl 37%	15	72
7	HCl 37%	30	75
8^b	HCl 37%	30	78
9	HCl 37%	45	77 ^a

^a Rendement déterminé par étalon interne (Bn₂O). ^b Sur 5 mmol du précurseur **20** au lieu de 0,6.

L'essai de décyanation du benzo[*d*]thiazole **20** à pression atmosphérique a conduit au composé **94** souhaité avec un rendement de 51% mais aussi à 12% de benzo[*d*]thiazol-6-amine **95** (Schéma II-64). Cela peut s'expliquer par la détection de la température moins précise de l'appareil micro-onde utilisé.

**Schéma II-64** : Essai de montée en échelle avec 8,9 mmol de précurseur **20** sur un appareil en système ouvert.

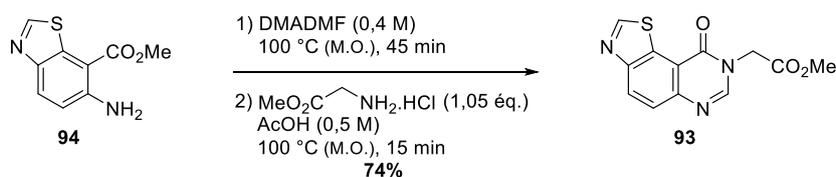
Des essais de synthèse de l'amidine **96** ont ensuite été réalisés (Tableau II-19). La conversion, calculée sur la RMN ¹H du milieu réactionnel après évaporation du solvant, est totale après 45 minutes de chauffage par irradiation micro-onde à 100 °C dans le DMADMF (Entrée 4).

Tableau II-19 : Optimisation de la formation de l'amidine **96**.

Entrée	Temps (min)	Ratio 93/95 ^a	
		94	96
1	5	40	60
2	15	15	85
3	30	5	95
4	45	0	100

^a Ratio déterminé par RMN ¹H après évaporation du DMADMF.

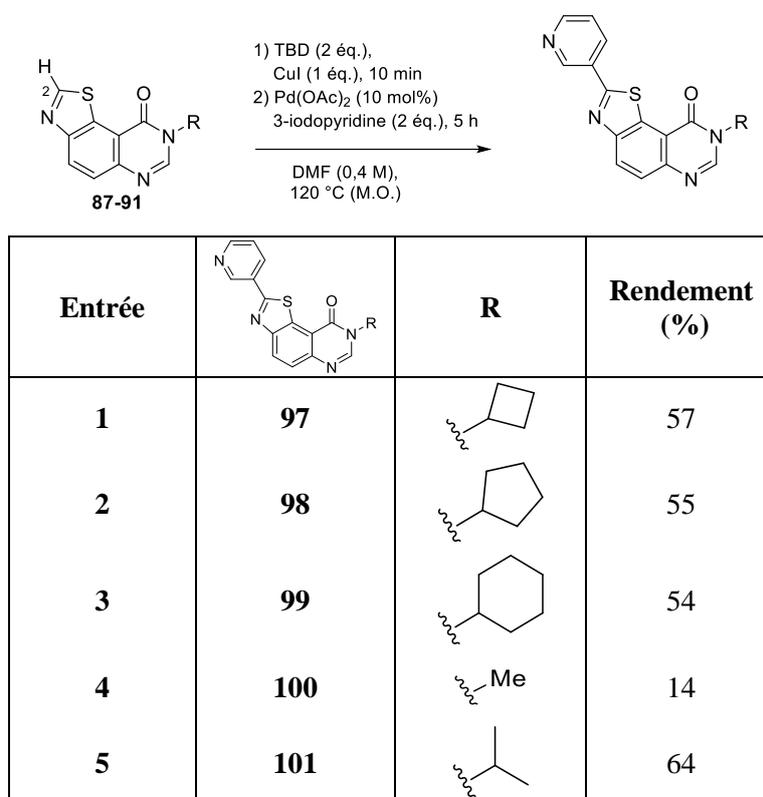
La réaction monotope comprenant la formation du dérivé imidate **96** puis la synthèse de la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one N8-alkylester **93** a été réalisée en présence du chlorhydrate d'ester méthylique de glycine avec un rendement de 74% (Schéma II-65).

**Schéma II-65** : Synthèse monotope de la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-alkylester **93**.

II.3.b.ii Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-alkyles

L'arylation directe en position C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones alkylées en N8 avec la 3-iodopyridine comme partenaire de couplage a permis la synthèse et l'isolement de cinq nouvelles molécules hetero-arylées avec des rendements allant de 14% à 64% (Tableau II-20).

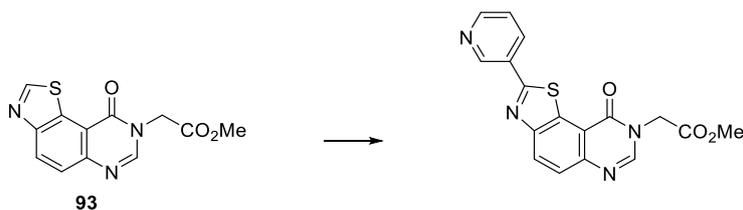
Tableau II-20 : Arylation directe en position C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones alkylées en N8, en présence de la 3-iodopyridine.



II.3.b.iii Couplage de la 3-iodopyridine avec les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-alkylesters

Ces mêmes conditions ont été utilisées avec la 2-(9-oxothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-8(9*H*)-yl)acétate de méthyle **93**. Le composé arylé attendu n'a pas été obtenu, seule la dégradation du réactif étant observée (Tableau II-21, Entrée 1). D'autres conditions réactionnelles décrites pour l'arylation des thiazoles ou des benzo[*d*]thiazoles ont donc été testées (Entrées 2 à 4). Les conditions publiées par le groupe de Bellina (Entrée 2), sans base,¹⁰⁹ par l'équipe de Yuan (Entrée 3), sans palladium,¹¹⁷ ou encore par Hoarau et coll. (Entrée 4), sans cuivre,¹⁴⁴ ont entraîné la dégradation du réactif **93**. Aucune de ces méthodes n'a conduit au 2-(9-oxo-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-8(9*H*)-yl)acétate de méthyle attendu.

¹⁴⁴ T. Martin, C. Verrier, C. Hoarau, F. Marsais, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2909–2912.

Tableau II-21 : Essais d'arylation directe du précurseur alkylester **93**.

Entrée	Conditions	Rendement (%)
1	1) CuI (1 éq.), TBD (2 éq.), DMF (0,4 M), 10 min 2) Pd(OAc) ₂ (10 mol%), 3-Iodopyridine (2 éq.) 120 °C (M.O.), 5 h	0
2	CuI (2 éq.), Pd(OAc) ₂ (10 mol%), 3-Iodopyridine (2 éq.) DMF (0,2 M), 140 °C, 5 j	0
3	Cu (25 mol%), K ₂ CO ₃ (2 éq.), 3-Iodopyridine (2 éq.) DMA (0,5 M), 160 °C, 45 h	0
4	Pd(OAc) ₂ (10 mol%), CyJohnPhos (20 mol%), Cs ₂ CO ₃ (2 éq.), 3-chloropyridine (3 éq.) DMF (0,25 M), 110 °C, 18 h	0

II.4. C–H alcénylation en C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**

La stratégie d'extension de fragment envisagée nous a conduit à étudier la réaction de C–H alcénylation des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones en position C2. L'introduction de motifs styrènes, qui induit une élévation de chaîne, pourrait favoriser de nouvelles interactions de type van der Waals entre le cycle benzénique et/ou sa partie alcénique et une poche hydrophobe du site actif de DYRK1A. Des interactions *via* des liaisons hydrogène sont aussi envisageables entre les substituants orientés en *ortho*, *mé*ta ou *para* et des résidus de la poche catalytique.

Lors de l'exemplification de la réaction de C–H arylation en position C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**, un essai de C–H alcénylation a été effectué avec le β -bromostyrène, conduisant au composé alcénylé **102** avec un rendement de 43% (Schéma II-66).

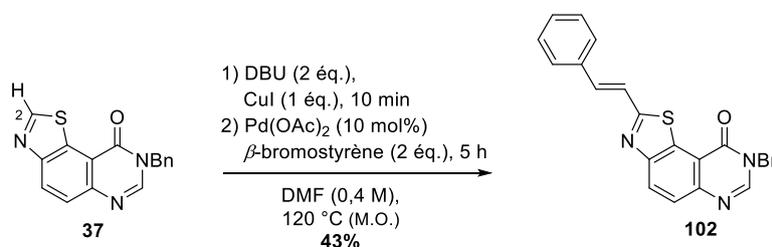
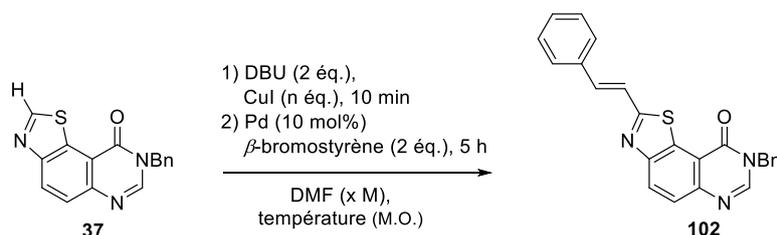


Schéma II-66 : Oléfination directe en C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**.

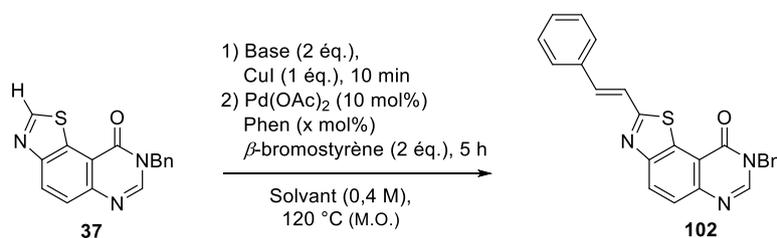
Ces conditions de réaction ont été étudiées afin d'améliorer le rendement. Les rapports frontaux du réactif **37** et du produit **102** étant très proches, quelle que soit la polarité de l'éluant, la séparation de ces composés est difficile. L'objectif de ces travaux est de trouver des conditions conduisant à une conversion complète sans dégrader le milieu réactionnel.

La dilution du milieu réactionnel (Tableau II-22, Entrée 1), la baisse de la température de réaction (Entrée 2) ou encore la modification de la quantité de cuivre(I) (Entrées 3 et 4) n'ont pas permis d'obtenir un meilleur rendement et une conversion complète. Le palladium(0) n'a pas permis d'améliorer ces résultats (Entrée 5).

Tableau II-22 : Etude de la concentration, de la quantité de cuivre, du temps, de la température et de la source de palladium.

Entrée	CuI (n éq.)	Pd	Concentration (x mol/L)	Température (°C)	102 (%)
1	1	Pd(OAc) ₂	0,1	120	7
2	1	Pd(OAc) ₂	0,4	100	25
3	2	Pd(OAc) ₂	0,4	120	39
4	0,5	Pd(OAc) ₂	0,4	120	22
5	0,5	Pd(PPh ₃) ₄	0,4	120	30

La modification du solvant (Tableau II-23, Entrée 1) et de la base (Entrées 2 à 4) n'ont pas conduit non plus à une conversion totale.

Tableau II-23 : Etude du solvant, de la base et du ligand.

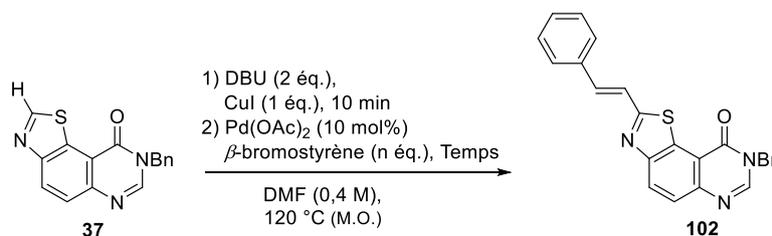
Entrée	Base	Solvant	1,10-Phénantroline (x mol%)	102 (%)
1	DBU	Dioxane	0	34
2	TBD	DMF	0	35
3 ^{a,b}	LiOtBu	DMF	20	21
4 ^b	LiOtBu	DMF	20	41

^a 5 mol% de Pd(OAc)₂, ^b 0,5 éq. de CuI.

Les mêmes résultats ont été observés lors de l'addition séquentielle du partenaire de couplage (Tableau II-24, Entrée 1) ou de la modulation du temps de réaction (Entrée 2 à 4). Ces rendements faibles sont liés à la dimérisation du β -bromostyrène. Un essai a donc été réalisé en utilisant 3 équivalents de ce réactif pour tenter d'augmenter la quantité de monomère en solution (Entrée 5). Cependant, la hausse de la concentration du β -bromostyrène a favorisé sa dimérisation, entraînant une chute de

rendement. Seules les conditions de l'entrée 7 avec un fort excès de cuivre permettent d'obtenir une conversion totale. Cependant, elles ne conduisent pas à la synthèse de l'oléfine **102** avec un meilleur rendement.

Tableau II-24 : Etude de la proportion de cuivre, de réactif et du temps de réaction.

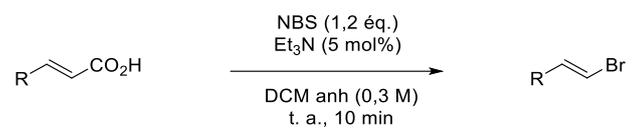


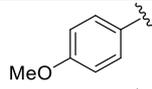
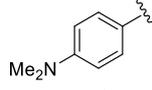
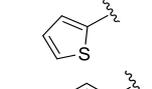
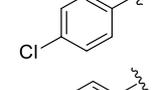
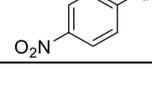
Entrée	CuI (n éq.)	β -bromostyrène (n éq.)	Temps (h)	102 (%)
1	1	1 + 1	2,5 + 2,5	32
2	1	2	0,5	11
3	1	2	2,5	39
4	1	2	6	31
5	1	3	5	21
6	2,5	2	1	36
7	2,5	2	2,5	32

Quelques essais d'exemplification ont tout de même été réalisés en utilisant la méthode initiale d'arylation. Les dérivés du bromostyrène ont été synthétisés avec les conditions décrites par le groupe de Roy à partir d'acides cinnamiques (Tableau II-25).¹⁴⁵ Trois bromostyrènes ont pu être isolés avec des rendements entre 47 et 93% (Entrée 1 à 3). La méthode n'est pas compatible avec les réactifs *para*-substitués par un groupement électro-attracteur (Entrée 4 et 5).

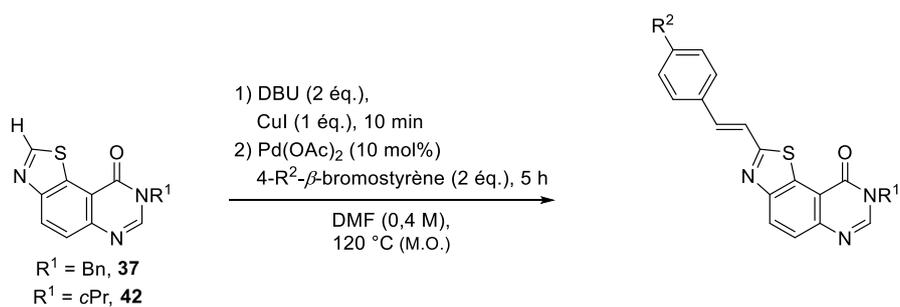
¹⁴⁵ J. P. Das, S. Roy, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 7861–7864.

Tableau II-25 : Synthèse des bromostyrènes.



Entrée	R	Molécule	Rendement (%)
1		103	93
2		104	47
3		105	64
4		-	0
5		-	0

Sur les trois essais d'exemplification réalisés, aucun n'a permis d'isoler une oléfine malgré de multiples purifications sur gel de silice, la réaction n'étant pas totale. Les réactifs n'ont pas pu être séparés des produits par HPLC à cause de leur faible solubilité dans les différents solvants. Les molécules alcénylées **106** et **108** ont cependant été observées en ESI-MS/MS (Tableau II-26).

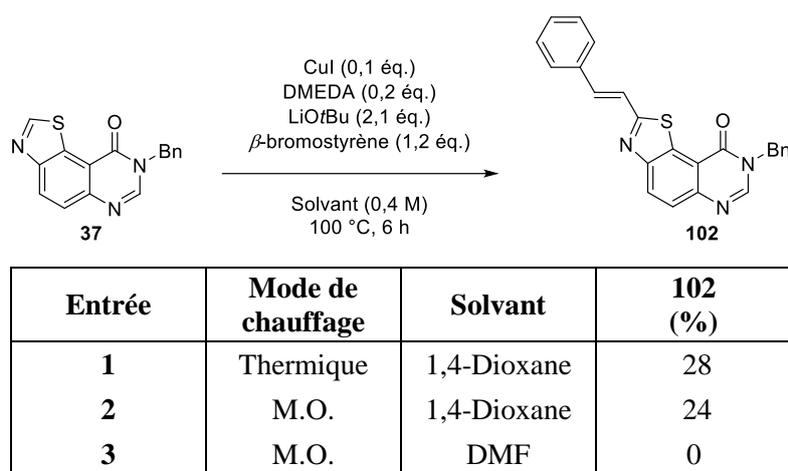
Tableau II-26 : Essais d'exemplification avec la méthode pallado-catalysée et assistée au cuivre.

Entrée	R ¹	R ²	Molécule	Rendement (%)
1	Bn	OMe	106	/
2	Bn	NMe ₂	107	/
3	cPr	H	108	/

D'autres conditions de réaction, décrites dans la littérature ont ensuite été appliquées au réactif **37**.

La méthode publiée par le groupe de Piguel a été reproduite afin d'obtenir l'oléfine **102** avec un meilleur rendement. Elle est décrite en présence de cuivre(I), de DMEDA en tant que ligand, de *tert*-butylate de lithium et de bromostyrène avec un chauffage à 100 °C pendant 6 h dans le 1,4-dioxane (Tableau II-27).¹⁴⁶ L'application de ces conditions a permis d'isoler l'oléfine **102** avec un rendement de 28% (Entrée 1). Un chauffage par irradiation micro-onde n'a pas amélioré ce rendement (Entrée 2). Aucune réaction n'a été observée avec la modification du solvant par le DMF (Entrée 3).

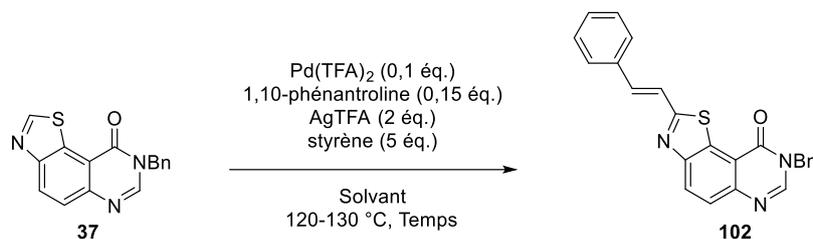
Tableau II-27 : Essais d'alcénylation directe avec la méthode mise au point par l'équipe de Piguel.



Un couplage oxydant, publié par le groupe de Ong, en présence de palladium(II), de la 1,10-phénantroline, d'argent et d'un excès de styrène avec un chauffage pendant 16 h à 130 °C a aussi été testé (Tableau II-28).¹⁴⁷ Aucune conversion n'a été observée avec les conditions initiales qui utilisent le toluène comme solvant (Entrée 1). Ce résultat peut s'expliquer par l'insolubilité du réactif **37** dans ce dernier. *A contrario*, le 1,4-dioxane a conduit à la dégradation du milieu réactionnel (Entrée 2). Le DMF qui semble être le solvant le plus adapté a donné l'oléfine **102** avec un rendement de 45% (Entrée 3). Un temps de réaction plus long (Entrée 4) et l'utilisation d'un autre mode de chauffage (Entrées 5 et 6) n'ont pas permis d'augmenter la conversion du réactif **37** ni le rendement de la réaction. En effet, l'utilisation du micro-onde pour cette réaction est à proscrire car il entraîne la formation de points chauds générant une forte augmentation de pression (jusque $p = 18$ bars) et la dégradation du milieu réactionnel (Entrée 5).

¹⁴⁶ F. Besselièvre, S. Piguel, F. Mahuteau-Betzer, D. S. Grierson, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4029–4032.

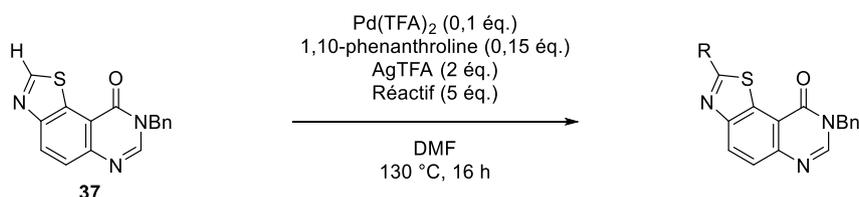
¹⁴⁷ W.-C. Lee, T.-H. Wang, T.-G. Ong, *Chem Commun* **2014**, *50*, 3671–3673.

Tableau II-28 : Essais d'alcénylation directe avec la méthode de couplage oxydant mise au point par l'équipe de Ong.

Entrée	Solvant	Type de chauffage	Temps (h)	102 (%)
1	Toluène	Thermique	16 h	0
2	Dioxane	Thermique	16 h	0
3	DMF	Thermique	16 h	45
4	DMF	Thermique	20 h	41
5	DMF	M.O.	6 h	10
6	DMF	Monowave 50 ^a	6 h	30

^a Le Monowave 50 est un appareil qui produit un chauffage thermique et dont la température et la pression sont mesurées comme dans un appareil micro-onde.

Des essais d'exemplification ont été réalisés avec cette méthode optimisée (Tableau II-29). Comme précédemment, le composé **109** issu du couplage avec le 4-méthylstyrène a été observé en ESI-MS/MS mais n'a pas pu être isolé lors des multiples purifications (Entrée 1). Les essais avec les agents de couplage tels que l' α -méthylstyrène et le 3,4-méthoxystyrène n'ont pas permis la formation des oléfines attendues (Entrées 2 et 3). L'introduction de l'éthylacrylate a conduit à la synthèse du composé alcénylé **110** avec un rendement de 35% (Entrée 4).

Tableau II-29 : Exemplification de la réaction d'alcénylation directe par couplage oxydant.

Entrée	Réactif	Molécule	Rendement (%)
1		109	/
2		-	0
3		-	0
4		110	35

II.5. Conclusions et perspectives

L'optimisation de la méthode de C–H arylation directe réalisée lors de travaux de thèse antérieurs a initié l'étude sur la cyclisation des quinazolin-4(3*H*)-ones substituées d'un dithiazole. Une méthode sans métaux a conduit aux dérivés cyclisés **9** et **10** avec des rendements respectifs de 80 et 79% (Schéma II-67).

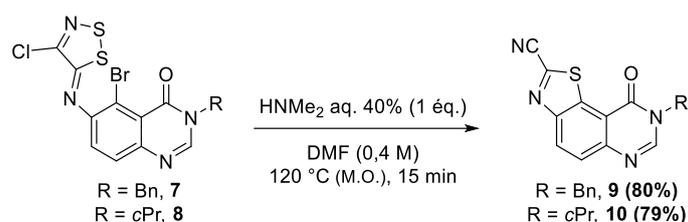


Schéma II-67 : méthode optimisée pour la cyclisation des quinazolin-4(3*H*)-ones **7** et **8**.

L'exemplification de la méthodologie d'arylation directe a permis la synthèse de huit composés bis-arylés, douze mono- et dix di-arylés, à partir de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**. Les réactions optimisées de débenzylation ont conduit à la synthèse de deux nouvelles molécules monoarylées. La réaction d'arylation directe en C2 a ensuite été optimisée et exemplifiée à partir de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** conduisant à la synthèse de dix molécules mono-arylées (Figure II-3).

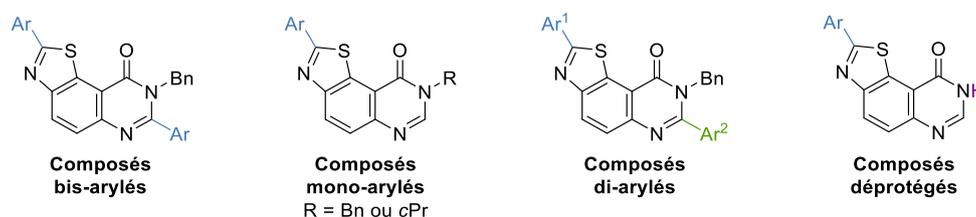


Figure II-3 : C–H arylation directe de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** et de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** et débenzylation de composés mono-arylés.

Des propositions de pharmacomodulation de la position N8 de la 8-benzyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one, active sur DYRK1A ont engendré la synthèse de cinq nouvelles molécules substituées en C2 par un groupement 3-pyridinyle (Schéma II-68).

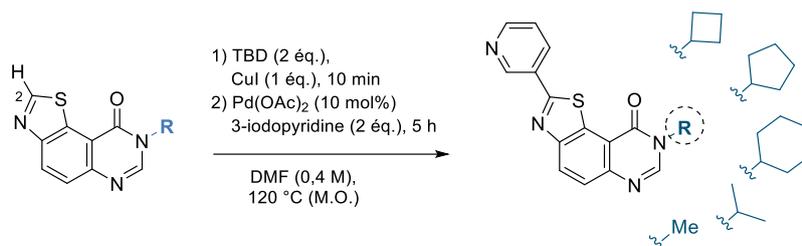


Schéma II-68 : Pharmacomodulation de la position N8 du dérivé 3-pyridinyle.

Enfin, deux oléfines ont été synthétisées par une réaction de C–H alcénylation directe (Figure II-4).

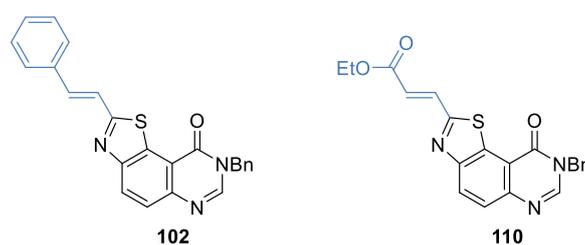


Figure II-4 : Produits issus de la réaction de C–H alcénylation.

Il serait intéressant de développer la méthode de C–H arylation aux isomères de positions du motif thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one, dont les synthèses ont été développées dans notre laboratoire. L'effet de la position du cycle thiazole sur la réactivité des liaisons C_{sp²}–H activables pourrait être étudié. De plus, le couplage d'un groupement 3-pyridinyle en C2 de ces isomères serait pertinent pour l'étude des relations structure/activité menée au laboratoire (Figure II-5).

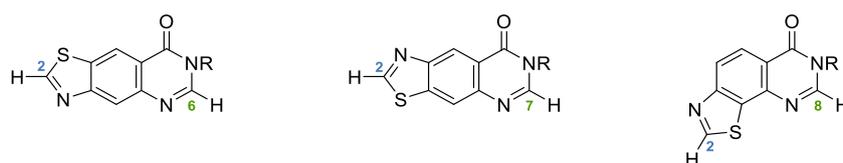
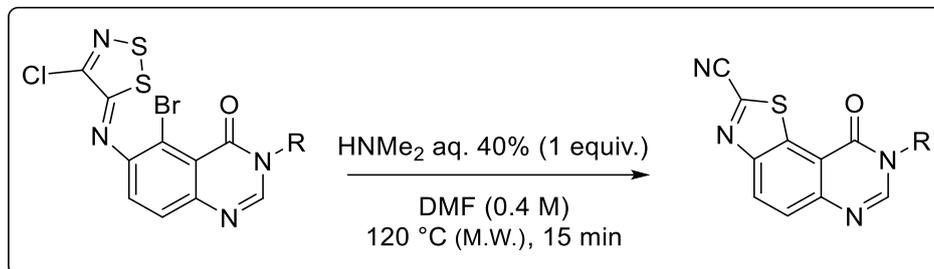


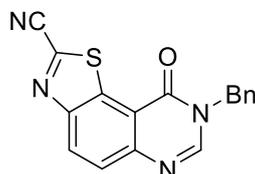
Figure II-5 : Isomères de position des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

II.6. Partie expérimentale

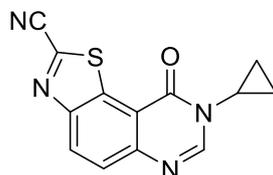
General protocol for the cyclisation of dithiazoles without copper



To a suspension of imine (0.271 mol) in DMF (0.680 mL, 0.4 M) was added aq. solution of dimethylamine 40% (0.031 mL, 0.271 mmol, 1.0 equiv.). The reaction was irradiated under microwave irradiation at 120 °C (power input: 300 W) for 15 min. After cooling, the solvent was removed *in vacuo*. The crude residue was adsorbed in silica and then purified by column chromatography on silica gel with DCM/AcOEt (0:1 to 1:4; v/v) as eluent to give the corresponding compound.

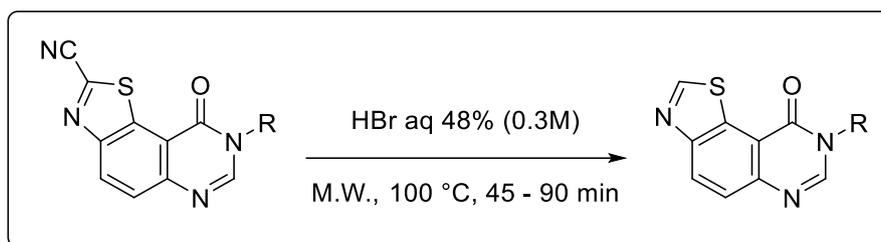
8-Benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile (9)

Yield 80%; 0.069 g. For spectral data, see p 77.

8-cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile (10)

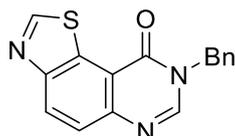
Yield 79%; 0.058 g. For spectral data, see p 77.

General protocol for the decarboxylation of thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles



In a sealed tube, a suspension of the corresponding substrate (0.60 mmol, 1 equiv.) and hydrobromic acid (48% in water) (2 mL, 0.3 M) was irradiated under microwaves for 45 to 90 min at 100 °C. After cooling, the resulting solution was diluted with dichloromethane and neutralized with a saturated aqueous solution of NaHCO₃ and with solid Na₂CO₃ (until pH 8-9). The organic layer was then dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to provide the corresponding product.

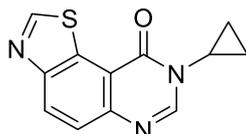
8-Benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (37)



Reaction time : 75 min; Yield: 98%; 0.143 g; white solid; R_f: 0.32 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 178-180 °C; IR (neat) ν_{\max} 3062, 3045, 2922, 2852, 1658, 1585, 1442, 1346, 1284, 1154, 1058, 983 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.22 (1H, s, H₂), 8.49 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.26 (1H, s, H₇), 7.87 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.45 – 7.30 (5H, m, H_{Ar}), 5.32 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 160.0 (C), 157.9 (CH), 152.7 (C), 147.1 (C), 146.2 (CH), 135.4 (C), 130.7 (C), 129.7 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.7 (CH), 128.3 (2 x CH), 126.3 (CH), 116.8 (C), 50.0 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₆H₁₁N₃OS [M + H]⁺: 294.0701; Found: 294.0689.

In an open vessel, with 4.39 g of **9**, reaction time : 45 min; Yield: 98%; 3.97 g.

8-Cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (42)

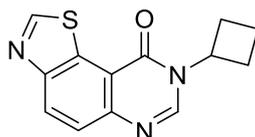


Reaction time : 45 min; Yield: 86%; 0.126 g; beige solid; R_f: 0.18 (DCM/EtOAc, 1:1; v/v); mp: 262-264 °C; IR (neat): ν_{\max} 3073, 3004, 2110, 1921, 1653, 1588, 1455, 1350, 1291, 982, 852 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.22 (1H, s, H₂), 8.49 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₄), 8.26 (1H, s, H₇), 7.87 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 3.50 – 3.25 (1H, m, NCH), 1.37 – 1.17 (2H, m, CH₂), 1.12 – 0.91 (2H, m, CH₂). ¹³C

NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_c = 161.3 (C), 158.0 (CH), 152.7 (C), 146.7 (C + CH), 130.5 (C), 129.6 (CH), 126.2 (CH), 116.3 (C), 29.8 (CH), 6.7 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₂H₉N₃OS [M + H]⁺: 244.0545; found: 244.0542.

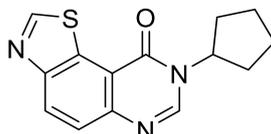
In an open vessel, with 1.37 g of **10**, reaction time: 45 min; Yield: 90%; 1.12 g.

8-Cyclobutylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (**88**)

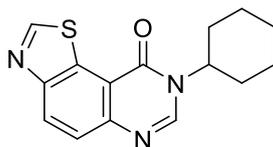


Reaction time : 45 min; Yield: 97%; 0.148 g; white solid; R_f: 0.76 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 242-244 °C; IR (neat) ν_{\max} 3045, 2992, 2957, 2879, 1655, 1601, 1585, 1349, 1277, 1163, 856 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.20 (1H, s, H₂), 8.46 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.31 (1H, s, H₇), 7.86 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 5.21 – 5.06 (1H, m, NCH), 2.71 – 2.55 (2H, m, CH₂), 2.54 – 2.35 (2H, m, CH₂), 2.05 – 1.90 (2H, m, CH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_c 159.0 (C), 157.8 (CH), 152.6 (C), 146.8 (C), 143.8 (CH), 130.5 (C), 129.5 (CH), 126.1 (CH), 116.3 (C), 50.9 (CH), 29.9 (2 X CH₂), 15.5 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₃H₁₁N₃OS [M + H]⁺: 258.0701; Found: 258.0701.

8-Cyclopentylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (**89**)



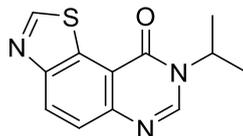
Reaction time : 45 min; Yield: 98%; 0.160 g; white solid; R_f: 0.69 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 214-216 °C; IR (neat) ν_{\max} 2960, 2874, 1661, 1585, 1348, 1259, 1154, 841, 818 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.22 (1H, s, H₂), 8.49 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.27 (1H, s, H₇), 7.87 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 5.36 – 5.20 (1H, m, NCH), 2.38 – 2.21 (2H, m, CH₂), 2.12 – 1.74 (2H, m, CH₂); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_c 159.8 (C), 157.7 (CH), 152.3 (C), 146.4 (C), 144.1 (CH), 130.4 (C), 129.2 (CH), 125.8 (CH), 116.1 (C), 56.4 (CH), 32.1 (2 X CH₂), 24.5 (2 X CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₄H₁₃N₃OS [M + H]⁺: 272.0858; Found: 272.0855.

8-Cyclohexylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (90)

Reaction time : 90 min; Yield: 98%; 0.168 g; white solid; Rf: 0.75 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 228-230 °C; IR (neat) ν_{\max} 3082, 3053, 2932, 2850, 1895, 1665, 1588, 1466, 1448, 1273, 1135, 845, 814 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.19 (1H, s, H₂), 8.44 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₄), 8.25 (1H, s, H₇), 7.83 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₅), 5.03 – 4.71 (1H, m, NCH), 2.20 – 1.87 (4H, m, CH₂), 1.84 – 1.62 (3H, m, CH₂), 1.62 – 1.41 (2H, m, CH₂), 1.36 – 1.17 (1H, m, CH₂); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.6 (C), 157.7 (CH), 152.5 (C), 146.5 (C), 143.7 (CH), 129.4 (CH), 126.0 (CH), 116.4 (C), 54.3 (CH), 32.7 (2 X CH₂), 26.0 (2 X CH₂), 25.3 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₅H₁₅N₃OS [M + H]⁺: 286.114; Found: 286.1021.

8-Methylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (91)

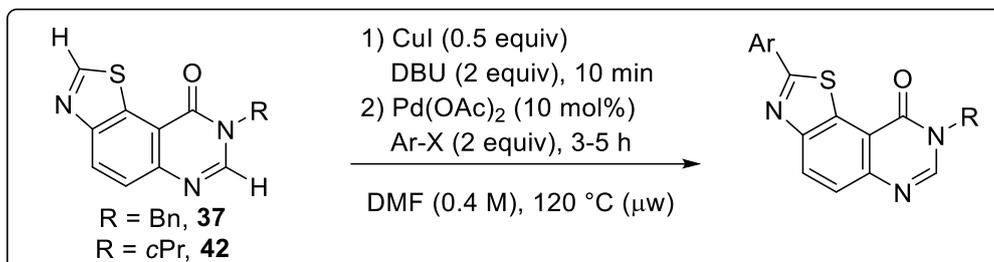
Reaction time : 55 min ; Yield: 98%; 0.112 g; white solid; Rf: 0.47 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 221-223 °C; IR (neat) ν_{\max} 3308, 3149, 3077, 1902, 1698, 1664, 1589, 1386 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.22 (1H, s, H₂), 8.48 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₄), 8.20 (1H, s, H₇), 7.87 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₅), 3.73 (3H, s, CH₃); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 160.2 (C), 157.8 (CH), 152.5 (C), 147.1 (C), 146.5 (CH), 130.2 (C), 129.3 (CH), 126.1 (CH), 116.3 (C), 34.3 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₀H₇N₃OS [M + H]⁺: 218.0388; Found: 218.03386.

8-Isopropylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (92)

Reaction time : 45 min; Yield: 99%; 0.145 g; beige solid; Rf: 0.69 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 237-239 °C; IR (neat) ν_{\max} 3053, 2981, 2920, 1897, 1651, 1583, 1445, 1350, 1265, 1172, 827 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.19 (1H, s, H₂), 8.44 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₄), 8.25 (1H, s, H₇), 7.84 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₅), 5.37 – 5.12 (1H, m, NCH), 1.55 (3H, s, CH₃), 1.53 (3H, s, CH₃); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.6 (C), 157.7 (CH), 152.5 (C), 146.6 (C), 143.4 (CH), 130.6 (C), 129.4

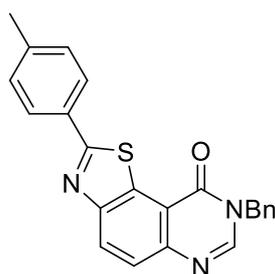
(CH), 126.0 (CH), 116.4 (C), 47.0 (CH), 22.2(2 x CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₂H₁₁N₃OS [M + H]⁺: 246.0701; Found: 246.0708.

General procedure of C2-arylation for 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (37**) and 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (**42**)**

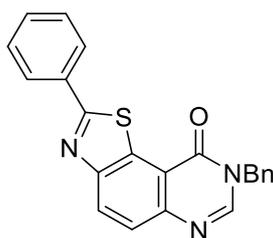


Thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** or **42** (0.341 mmol), copper iodide (0.065 g, 0.341 mmol, 1 equiv) and DBU (0.101 mL, 0.682 mmol, 2.0 equiv) in dry DMF (0.850 mL, 0.4 M) were added to a 2 mL glass microwave vial. The mixture was stirred under microwave irradiation at 120 °C for 10 min. Then Pd(OAc)₂ (0.0076 g, 0.034 mmol, 10 mol%) and aryl halide (0.682 mmol, 2.0 equiv) were added to the mixture. The reaction was then stirred under microwave irradiation at 120 °C for 5 h. The resulting solution was diluted with dichloromethane and filtered through cotton washed with dichloromethane (50 mL) before concentrated under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel with CH₂Cl₂/EtOAc as eluent (1:0 to 0:1; v/v) to afford the corresponding product.

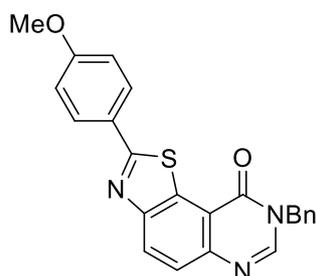
8-Benzyl-2-(*p*-tolyl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (38**)**



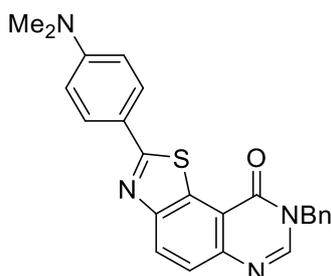
Yield: 86%; 0.113 g; yellow solid; R_f: 0.61 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 269-271 °C; IR (neat) ν_{max} 3066, 2951, 2916, 1708, 1657, 1585, 1478, 1454, 1366, 1337, 1264, 1181, 1153, 1069 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.41 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.23 (1H, s, H₇), 8.15 – 8.00 (2H, m, H_{Ar}), 7.84 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.51 – 7.28 (7H, m, H_{Ar}), 5.32 (2H, s, NCH₂), 2.44 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 172.1 (C), 160.1 (C), 153.7 (C), 146.5 (C), 145.8 (CH), 141.8 (C), 135.5 (C), 131.8 (C), 131.0 (C), 130.0 (2 x CH), 129.3 (2 x CH), 129.1 (CH), 128.7 (CH), 128.3 (2 x CH), 127.6 (2 x CH), 126.2 (CH), 116.8 (C), 50.1 (CH₂), 21.7 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₃H₁₇N₃OS [M + H]⁺: 384.1171; Found: 384.1171.

8-Benzyl-2-phenylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (39)

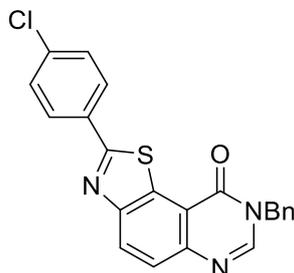
Yield: 92%; 0.116 g; yellow powder; R_f: 0.55 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 212-213 °C; IR (neat) ν_{\max} 2926, 1661, 1584, 1475, 1441, 1341, 1154, 1070 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.43 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.25 (1H, s, H₇), 8.23 – 8.12 (2H, m, H_{Ar}), 7.86 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.59 – 7.47 (3H, m, H_{Ar}), 7.45 – 7.31 (5H, m, H_{Ar}), 5.32 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 171.9 (C), 160.1 (C), 153.6 (C), 146.7 (C), 145.9 (CH), 135.5 (C), 133.7 (C), 131.9 (C), 131.3 (CH), 129.3 (4 x CH), 129.2 (CH), 128.7 (CH), 128.3 (2 x CH), 127.7 (2 x CH), 126.3 (CH), 116.8 (C), 50.1 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₂H₁₅N₃OS [M + H]⁺: 370.1014; Found: 370.1005.

8-Benzyl-2-(4-methoxyphenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (53)

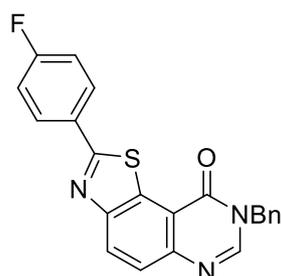
Yield: 63%; 0.85 g; white solid; R_f: 0.33 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 246-248 °C; IR (neat) ν_{\max} 3067, 2938, 2838, 1657, 1600, 1478, 1452, 1403, 1337, 1262, 1169, 1152, 1069, 1032 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.39 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H₄), 8.23 (1H, s, H₇), 8.17 – 8.08 (2H, m, H_{Ar}), 7.83 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H₅), 7.46 – 7.29 (5H, m, H_{Ar}), 7.05 – 7.02 (2H, m, H_{Ar}), 5.32 (2H, s, NCH₂), 3.90 (3H, s, OMe); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 171.7 (C), 162.2 (C), 160.1 (C), 153.7 (C), 146.4 (C), 145.7 (CH), 135.5 (2 x C), 131.7 (C), 129.3 (4 x CH), 128.8 (CH), 128.7 (CH), 128.3 (2 x CH), 126.5 (C), 126.1 (CH), 114.7 (2 x CH), 55.7 (CH₃), 50.1 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₃H₁₇N₃O₂S [M + H]⁺: 400.1120; Found: 400.1126.

8-Benzyl-2-(4-(dimethylamino)phenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (54)

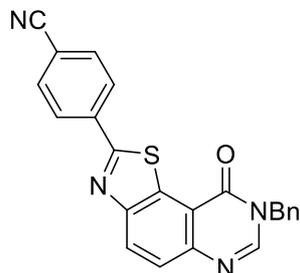
Yield: 87%; 0.122 g; orange powder; Rf: 0.45 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 224-226 °C; IR (neat) ν_{\max} 3544, 2919, 2851, 2803, 1654, 1602, 1529, 1444, 1429, 1366, 1335, 1263, 1187, 1150, 1067, 943 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.32 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.18 (1H, s, H_7), 8.11 – 7.96 (2H, m, H_{Ar}), 7.78 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.49 – 7.29 (5H, m, H_{Ar}), 6.84 – 6.67 (2H, m, H_{Ar}), 5.29 (2H, s, NCH_2), 3.06 (6H, s, 2 x CH_3); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 172.6 (C), 160.2 (C), 154.0 (C), 152.4 (C), 145.9 (C), 145.3 (CH), 135.6 (C), 131.3 (C), 129.2 (2 x CH), 129.0 (2 x CH), 128.6 (CH), 128.3 (3 x CH), 125.8 (CH), 121.3 (C), 116.6 (C), 111.9 (2 x CH), 50.0 (CH_2), 40.3 (2 x CH_3). HRMS (ESI^+): Calcd for $\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 413.1436; Found: 413.1431.

8-Benzyl-2-(4-chlorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (55)

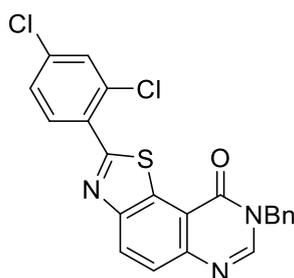
Yield: 59%; 0.082 g; yellow solid; Rf: 0.51 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 282-284 °C; IR (neat) ν_{\max} 2923, 2852, 1738, 1658, 1584, 1452, 1367, 1337, 1206, 1153, 1087 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.42 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.25 (1H, s, H_7), 8.13 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H_{Ar}), 7.87 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.51 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H_{Ar}), 7.45 – 7.31 (5H, m, H_{Ar}), 5.33 (2H, s, NCH_2); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 170.4 (C), 160.0 (C), 153.5 (C), 146.8 (CH), 146.0 (C), 137.4 (C), 135.4 (C), 132.2 (C), 131.9 (C), 129.6 (2 x CH), 129.3 (2 x CH), 129.3 (CH), 128.8 (2 x CH), 128.7 (CH), 128.3 (2 x CH), 126.5 (CH), 115.1 (C), 50.1 (CH_2). HRMS (ESI^+): Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{OSCl}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 404.0624; Found: 404.0627.

8-Benzyl-2-(4-fluorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (56)

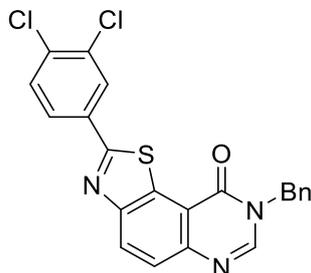
Yield: 71%; 0.094 g; yellow solid; R_f: 0.53 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 234-236 °C; IR (neat) ν_{\max} 3060, 3032, 2948, 1659, 1585, 1478, 1453, 1337, 1230, 1153, 1069, 952 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.41 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.24 (1H, s, H₇), 8.18 (2H, dd, *J* = 8.8, 5.4 Hz, H_{Ar}), 7.86 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.48 – 7.29 (5H, m, H_{Ar}), 7.22 (2H, t, *J* = 8.8 Hz, H_{Ar}), 5.33 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 170.6 (C), 166.4 (C), 161.5 (C, d, *J* = 231.1 Hz), 160.0 (C), 153.6 (C), 146.0 (CH), 135.4 (C), 132.0 (C), 130.0 (C, d, *J* = 3.0 Hz), 129.7 (2 x CH, d, *J* = 8.7 Hz), 129.3 (2 x CH), 129.2 (CH), 128.7 (CH), 128.4 (2 x CH), 126.4 (CH), 116.5 (2 x CH, d, *J* = 22.2 Hz), 114.6 (C), 50.1 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₂H₁₄N₃OSF [M + H]⁺: 388.0920; Found: 388.0917.

4-(8-Benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazolin-2-yl)benzonitrile (57)

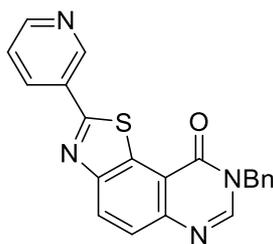
Yield: 59%; 0.079 g; yellow solid; R_f: 0.45 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp > 300 °C; IR (neat) ν_{\max} 3057, 2950, 2226, 1739, 1655, 1583, 1451, 1338, 1152, 1068 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.46 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₄), 8.33 – 8.27 (3H, m, H_{Ar} + H₇), 7.91 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.82 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H_{Ar}), 7.45 – 7.34 (5H, m, H_{Ar}), 5.34 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 169.1 (C), 159.9 (C), 153.5 (C), 147.9 (C), 147.9 (C), 146.4 (CH), 137.6 (C), 135.3 (C), 133.1 (2 x CH), 129.7 (CH), 129.4 (2 x CH), 128.8 (CH), 128.4 (2 x CH), 128.2 (C), 128.1 (2 x CH), 126.9 (CH), 118.43 (C), 114.4 (C), 50.3 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₃H₁₄N₃OS [M + H]⁺: 395.0967; Found: 395.0965.

8-Benzyl-2-(2,4-dichlorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (58)

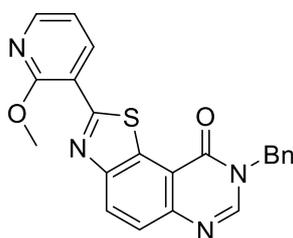
Yield: 62%; 0.093 g; yellow powder; Rf: 0.68 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 262-264 °C; IR (neat) ν_{\max} 3067, 1664, 1581, 1477, 1442, 1348, 1265, 1150, 1101, 1063, 952 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.47 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.33 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H_{Ar}), 8.26 (1H, s, H_7), 7.89 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_7), 7.59 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H_{Ar}), 7.46 – 7.32 (6H, m, H_{Ar}), 5.34 (2H, s, NCH_2); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 167.0 (C), 159.9 (C), 151.8 (C), 146.7 (C), 146.3 (CH), 137.0 (C), 135.3 (C), 133.6 (C), 133.1 (C), 132.7 (CH), 130.9 (CH), 130.8 (C), 129.6 (CH), 129.4 (2 x CH), 128.8 (CH), 128.3 (2 x CH), 127.8 (CH), 126.2 (CH), 116.6 (C), 50.2 (CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OSCl}_2$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 438.0235; Found: 438.0244.

8-Benzyl-2-(3,4-dichlorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (59)

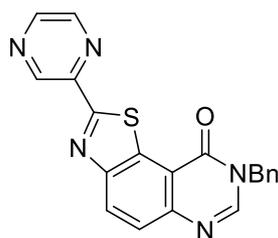
Yield: 64%; 0.095 g; yellow powder; Rf: 0.47 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 242-244 °C; IR (neat) ν_{\max} 3031, 1662, 1583, 1448, 1344, 1156, 830 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.41 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.31 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H_{Ar}), 8.25 (1H, s, H_7), 7.97 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, H_{Ar}), 7.86 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.59 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H_{Ar}), 7.46 – 7.30 (5H, m, H_{benzyl}), 5.32 (2H, s, NCH_2); ^{13}C { ^1H } NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 168.9 (C), 160.0 (C), 153.4 (C), 147.0 (C), 146.1 (CH), 135.4 (C), 135.3 (C), 133.8 (C), 133.5 (C), 132.0 (C), 131.3 (CH), 129.4 (CH), 129.3 (2 x CH), 129.2 (CH), 128.7 (CH), 128.4 (2 x CH), 126.7 (CH), 126.6 (CH), 116.8 (C), 50.2 (CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 438.0235; Found: 438.0234.

8-Benzyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (60)

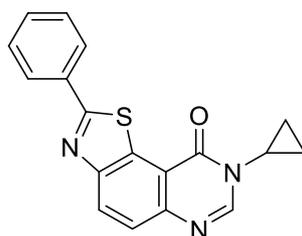
Yield: 69%; 0.087 g; yellow solid; Rf: 0.08 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 201-203 °C; IR (neat) ν_{\max} 3395, 3059, 2919, 2851, 1656, 1587, 1449, 1345, 1267, 1157, 1076, 1000 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.41 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H_{Ar}), 8.75 (1H, dd, $J = 4.8, 1.6$ Hz, H_{Ar}), 8.55 – 8.38 (2H, m, $\text{H}_{\text{Ar}} + \text{H}_4$), 8.26 (1H, s H_7), 7.89 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H_5), 7.48 (1H, ddd, $J = 8.0, 4.9, 0.9$ Hz, H_{Ar}), 7.45 – 7.33 (5H, s, H_{Ar}), 5.33 (2H, s, NCH_2); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 168.4 (C), 160.0 (C), 153.4 (C), 151.9 (CH), 148.7 (CH), 147.0 (C), 146.2 (CH), 135.4 (C), 134.7 (CH), 131.9 (C), 129.8 (C), 129.4 (2 x CH), 129.4 (CH), 128.8 (CH), 128.4 (2 x CH), 126.7 (CH), 124.1 (CH), 116.8 (C), 50.2 (CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 371.0967; Found: 371.0957.

8-Benzyl-2-(2-methoxypyridin-3-yl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (61)

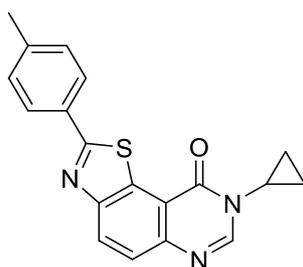
Yield: 29%; 0.039 g; yellow powder; Rf: 0.43 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 280-282 °C; IR (neat) ν_{\max} 3062, 2937, 2113, 1665, 1600, 1576, 1464, 1395, 1339, 1261, 1000, 729 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.85 (1H, dd, $J = 7.6, 1.9$ Hz, H_{Ar}), 8.43 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.32 (1H, dd, $J = 4.9, 1.9$ Hz, H_{Ar}), 8.23 (1H, s, H_7), 7.86 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.44 – 7.31 (5H, m, H_{benzyl}), 7.11 (1H, dd, $J = 7.6, 4.9$ Hz, H_{Ar}), 5.35 (2H, s, NCH_2), 4.25 (3H, s, OCH_3); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 165.8 (C), 160.9 (C), 160.2 (C), 152.1 (C), 149.1 (CH), 146.7 (C), 145.8 (CH), 138.0 (CH), 135.6 (C), 133.4 (C), 129.3 (2 x CH), 129.1 (CH), 128.7 (CH), 128.2 (2 x CH), 126.1 (CH), 117.6 (CH), 117.1 (C), 116.8 (C), 54.2 (CH_3), 49.9 (CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 401.1072; Found: 401.1068.

8-Benzyl-2-(pyrazin-2-yl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (62)

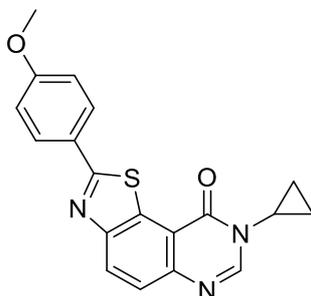
Yield: 47%; 0.059 g; brown solid; R_f: 0.16 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 216-218 °C; IR (neat) ν_{\max} 3062, 3033, 2953, 1739, 1654, 1584, 1449, 1340, 1238, 1153, 1068, 1014 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.63 (1H, s, H_{Ar}), 8.69 (2H, s, H_{Ar}), 8.48 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.26 (1H, s, H₇), 7.88 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.48 – 7.31 (5H, m, H_{Ar}), 5.34 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 170.0 (C), 159.9 (C), 153.7 (C), 147.4 (C), 146.4 (CH), 146.0 (CH), 144.5 (CH), 142.5 (CH), 135.4 (C), 133.4 (C), 129.8 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.7 (CH), 128.4 (2 x CH), 128.3 (C), 126.8 (CH), 117.0 (C), 50.1 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₀H₁₃N₅OS [M + H]⁺: 372.0919; Found: 372.0909.

8-Cyclopropyl-2-phenylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (78)

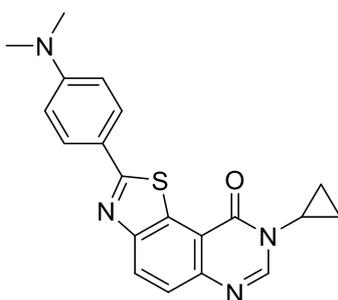
Yield: 55%; 0.060 g; yellow powder; R_f: 0.41 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 233-235 °C; IR (neat) ν_{\max} 3356, 3054, 2919, 1667, 1584, 1474, 1441, 1340, 1317, 1164, 830, 762 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.42 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.24 (1H, s, H₇), 8.22 – 8.15 (2H, m, H_{Ar}), 7.84 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.58 – 7.49 (3H, m, H_{Ar}), 3.44 – 3.30 (1H, m, NCH), 1.37 – 1.21 (2H, m, H_{cyclopropyl}), 1.09 – 0.99 (2H, m, H_{cyclopropyl}); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 171.9 (C), 161.4 (C), 153.6 (C), 146.4 (CH), 146.2 (C), 133.7 (C), 131.8 (C), 131.3 (CH), 129.3 (CH), 129.2 (CH), 127.7 (CH), 126.2 (CH), 116.4 (C), 29.7 (CH), 6.7 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₈H₁₃N₃OS [M + H]⁺: 320.0858; Found: 320.0862.

8-Cyclopropyl-2-(*p*-tolyl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (79)

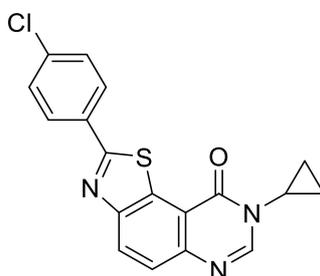
Yield: 64%; 0.073 g; yellow powder; Rf: 0.43 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 282-284 °C; IR (neat) ν_{\max} 3058, 3017, 1667, 1584, 1450, 1342, 1294, 1159, 815 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.39 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.22 (1H, s, H_7), 8.06 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H_{Ar}), 7.81 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.32 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H_{Ar}), 3.42 – 3.29 (1H, m, NCH), 2.43 (3H, s, $\text{CH}_{3\text{Ar}}$), 1.39 – 1.17 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$), 1.11 – 0.96 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 172.1 (C), 161.4 (C), 153.6 (C), 146.3 (CH), 146.0 (C), 141.8 (C), 131.6 (C), 131.0 (C), 130.0 (2 x CH), 129.0 (CH), 127.6 (2 x CH), 126.0 (CH), 116.3 (C), 29.7 (CH), 21.7 (CH_3), 6.7 (2 x CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 334.1014; Found: 334.1013.

8-Cyclopropyl-2-(4-methoxyphenyl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (80)

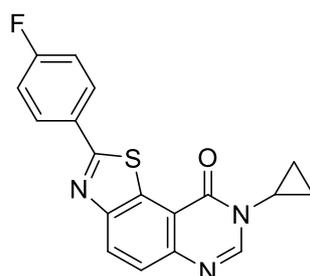
Yield: 76%; 0.090 g; beige powder; Rf: 0.33 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 252-254 °C; IR (neat) ν_{\max} 3014, 2922, 2851, 2124, 1919, 1657, 1601, 1449, 1335, 1246, 1167, 1025, 835 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.36 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.21 (1H, s, H_7), 8.11 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H_{Ar}), 7.81 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.02 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H_{Ar}), 3.89 (3H, s, OCH_3), 3.50 – 3.27 (1H, m, NCH), 1.37 – 1.12 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$), 1.12 – 0.88 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 171.7 (C), 162.2 (C), 161.4 (C), 153.7 (C), 146.2 (CH), 145.8 (C), 131.5 (C), 129.3 (2 x CH), 128.7 (CH), 126.5 (C), 126.0 (CH), 116.3 (C), 114.7 (2 x CH), 55.6 (CH_3), 29.7 (CH), 6.7 (2 x CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 350.0961; Found: 350.0963.

8-Cyclopropyl-2-(4-(dimethylamino)phenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (81)

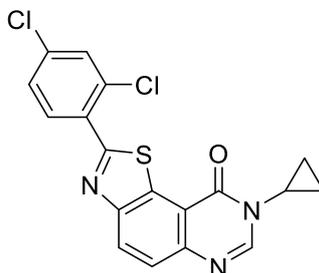
Yield: 31%; 0.039 g; yellow powder; R_f: 0.29 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 245-247 °C; IR (neat) ν_{\max} 3530, 3386, 3041, 2897, 2819, 2103, 1655, 1600, 1473, 1449, 1367, 1338, 1290, 1187, 816 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.32 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₄), 8.19 (1H, s, H₇), 8.05 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H_{Ar}), 7.78 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 6.78 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H_{Ar}), 3.42 – 3.27 (1H, m, NCH), 3.08 (6H, s, N(CH₃)₂), 1.32 – 1.22 (2H, m, H_{cyclopropyl}), 1.07 – 0.98 (2H, m, H_{cyclopropyl}); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 172.7 (C), 161.5 (C), 154.0 (C), 152.4 (C), 145.8 (CH), 145.4 (C), 131.2 (C), 129.0 (2 x CH), 128.3 (CH), 125.7 (CH), 121.4 (C), 116.3 (C), 112.0 (2 x CH), 40.3 (2 x CH₃), 29.6 (CH), 6.7 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₈H₁₃N₃OS [M + H]⁺: 363.1274; Found: 363.1268.

2-(4-Chlorophenyl)-8-cyclopropylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (82)

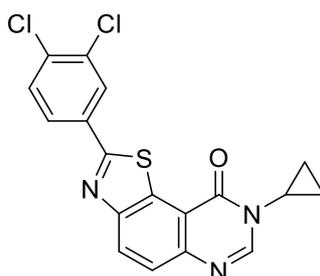
Yield: 67%; 0.080 g; yellow powder; R_f: 0.41 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 276-278 °C; IR (neat) ν_{\max} 3059, 1918, 1665, 1587, 1451, 1347, 1289, 1085, 834 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.40 (1 H, d, *J* = 8.7 Hz, H₄), 8.24 (1H, s, H₇), 8.11 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H_{Ar}), 7.84 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.50 (2H, d, *J* = 8.3 Hz, H_{Ar}), 3.47 – 3.27 (1H, m, NCH), 1.43 – 1.18 (2H, m, H_{cyclopropyl}), 1.14 – 0.93 (2H, m, H_{cyclopropyl}); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 170.5 (C), 161.3 (C), 153.5 (C), 146.5 (CH), 146.3 (C), 137.4 (C), 132.2 (C), 131.7 (C), 129.6 (2 x CH), 129.2 (CH), 128.8 (2 x CH), 126.4 (CH), 116.4 (C), 29.7 (CH), 6.7 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₈H₁₂ClN₃OS [M + H]⁺: 354.0462; Found: 354.0470.

8-Cyclopropyl-2-(4-fluorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (83)

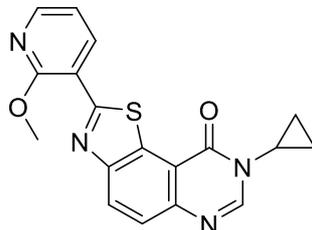
Yield: 52%; 0.060 g; yellow powder; Rf: 0.41 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 274-276 °C; IR (neat) ν_{\max} 307, 2112, 1877, 1658, 1585, 1454, 1343, 1229, 1153, 830 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.38 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.23 (1H, s, H_7), 8.20 – 8.09 (2H, m, H_{Ar}), 7.83 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.25 – 7.15 (2H, m, H_{Ar}), 3.44 – 3.28 (1H, m, NCH), 1.34 – 1.23 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$), 1.09 – 0.96 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 170.6 (C), 164.67 (C, d, $J = 252.1$ Hz), 161.33 (C), 153.50 (C), 146.40 (CH), 146.21 (C), 131.70 (C), 130.06 (C, d, $J = 3.4$ Hz), 129.66 (2 x CH, d, $J = 8.7$ Hz), 129.05 (CH), 126.26 (CH), 116.46 (2 x CH, d, $J = 22.1$ Hz), 29.71 (CH), 6.73 (2 x CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{FN}_3\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 338.0758; Found: 338.0748.

8-Cyclopropyl-2-(2,4-dichlorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (84)

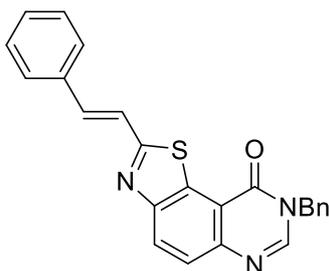
Yield: 65%; 0.086 g; yellow powder; Rf: 0.49 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 272-274 °C; IR (neat) ν_{\max} 3068, 2961, 1664, 1580, 1476, 1439, 1371, 1349, 1102, 829 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.45 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.32 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H_{Ar}), 8.26 (1H, s, H_7), 7.86 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.58 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H_{Ar}), 7.42 (1H, dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, H_{Ar}), 3.47 – 3.27 (1H, m, NCH), 1.41 – 1.18 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$), 1.11 – 0.97 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 167.0 (C), 161.3 (C), 151.7 (C), 146.7 (CH), 146.6 (C), 136.9 (C), 133.6 (C), 132.8 (C), 132.6 (CH), 131.0 (C), 130.8 (CH), 129.4 (CH), 127.8 (CH), 126.4 (CH), 116.2 (C), 29.8 (CH), 6.7 (2 x CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 388.0073; Found: 388.0070.

8-Cyclopropyl-2-(3,4-dichlorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (85)

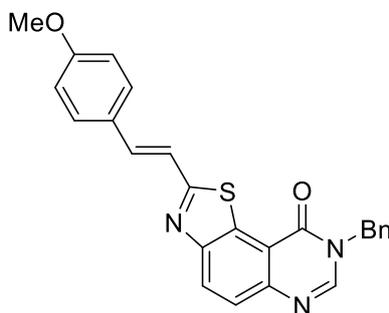
Yield: 69%; 0.091 g; beige powder; Rf: 0.45 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 263-265 °C; IR (neat) ν_{\max} 3088, 3009, 2913, 2849, 1867, 1666, 1585, 1449, 1344, 1311, 829 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.41 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.32 (d, $J = 2.1$ Hz, H_{Ar}), 8.25 (1H, s, H_{Ar}), 7.97 (1H, dd, $J = 8.4$, 2.1 Hz, H_{Ar}), 7.86 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.60 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H_{Ar}), 3.46 – 3.32 (1H, m, NCH), 1.37 – 1.22 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$), 1.11 – 0.98 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 169.0 (C), 162.2 (C), 153.4 (C), 146.7 (CH), 135.4 (C), 135.1 (C), 133.8 (C), 133.6 (C), 131.3 (C), 131.3 (CH), 129.3 (CH), 129.2 (CH), 126.6 (CH), 126.6 (CH), 116.4 (C), 29.8 (CH), 6.8 (2 x CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 388.0073; Found: 388.0069.

8-Cyclopropyl-2-(2-methoxyppyridin-3-yl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (87)

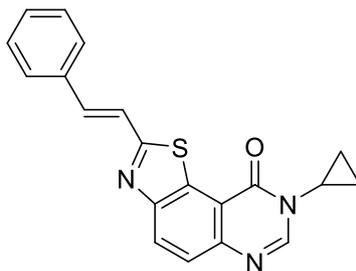
Yield: 33%; 0.039 g; yellow powder; Rf: 0.20 (DCM/AcOEt, 1:1; v/v); mp: 280-282 °C; IR (neat) ν_{\max} 3059, 2945, 2849, 2113, 1665, 1577, 1345, 1305, 1200, 836, 806, 767 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.84 (1H, dd, $J = 7.6$, 2.0 Hz, H_{Ar}), 8.41 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.31 (1H, dd, $J = 4.9$, 2.0 Hz, H_{Ar}), 8.23 (1H, s, H_7), 7.83 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.10 (1H, dd, $J = 7.6$, 4.9 Hz, H_{Ar}), 4.24 (3H, s, OCH_3), 3.45 – 3.28 (1H, m, NCH), 1.33 – 1.21 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$), 1.10 – 0.98 (2H, m, $\text{H}_{\text{cyclopropyl}}$); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 165.9 (C), 161.5 (C), 160.9 (C), 152.0 (C), 149.1 (CH), 146.2 (CH), 146.2 (C), 137.9 (CH), 133.2 (C), 128.9 (CH), 126.0 (CH), 117.6 (CH), 117.1 (C), 116.4 (C), 54.1 (CH_3), 29.7 (CH), 6.7 (2 x CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 351.0916; Found: 351.0912.

(E)-8-Benzyl-2-styrylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (102)

Yield: 43%; 0.058 g; brown solid; R_f: 0.55 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 116-118 °C; IR (neat) ν_{\max} 3028, 2928, 2326, 2247, 2111, 1881, 1792, 1660, 1583, 1495, 1444, 1340, 1253, 1153, 1074, 951 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.35 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.23 (1H, s, H₇), 7.83 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.69 (1H, d, *J* = 16.3 Hz), 7.67 – 7.59 (2H, m, H_{Ar}), 7.56 – 7.35 (9H, m), 5.32 (2H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 170.9 (C), 160.1 (C), 145.9 (CH), 138.4 (CH), 135.5 (CH), 129.8 (CH), 129.3 (2 x CH), 129.2 (3 x CH), 129.0 (C), 128.9 (C), 128.7 (C), 128.6 (C), 128.4 (2 x CH), 128.2 (C), 127.7 (2 x CH), 126.3 (CH), 124.1 (C), 122.1 (CH), 50.1 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₄H₁₇N₃OS [M + H]⁺: 396.1171; Found: 396.1175.

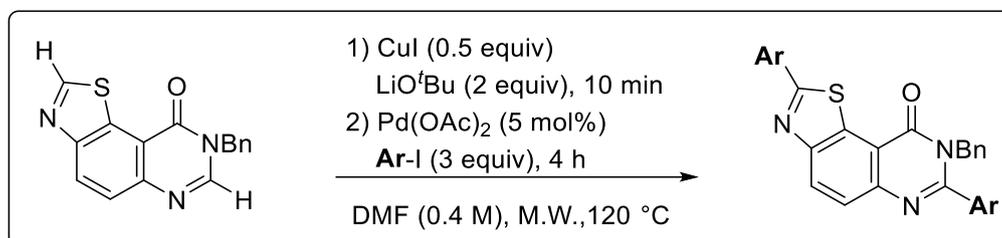
(E)-8-Benzyl-2-(4-methoxystyryl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (106)

Not isolated; R_f: 0.27 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); HRMS (ESI⁺): calcd for C₂₅H₂₀N₃O₂S [M + H]⁺: 426.1276; Found: 426.1274.

(E)-8-Cyclopropyl-2-styrylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (108)

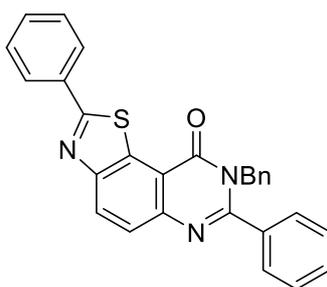
Not isolated; R_f: 0.19 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); HRMS (ESI⁺): calcd for C₂₀H₁₆N₃O₂S [M + H]⁺: 346.1014; Found: 346.1012.

General procedure: Bis-arylation

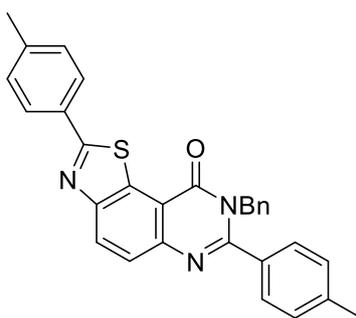


Thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** (0.341 mmol, 1.0 equiv), copper iodide (0.033 g, 0.17 mmol, 0.5 equiv) and lithium *tert*-butoxide (0.055 g, 0.682 mmol, 2.0 equiv) in dry DMF (0.850 mL) are added to a 2 mL glass microwave vial. The mixture is stirred under microwave irradiation at 120 °C for 10 min (2 min ramp). Then Pd(OAc)₂ (0.0038 g, 0.017 mmol, 5.0 mol%) and aryl iodide (1.023 mmol, 3.0 equiv) are added to the mixture. The reaction is then stirred under microwave irradiation at 120 °C for 4 h (2 min ramp). The resulting solution is diluted with dichloromethane, filtered through cotton and washed three times with dichloromethane. The volatiles were removed under reduced and the crude product is purified by flash chromatography on silica gel using a gradient (PE/DCM/EtOAc, 1:4:0 to 0:4:1; v/v) to afford the corresponding product.

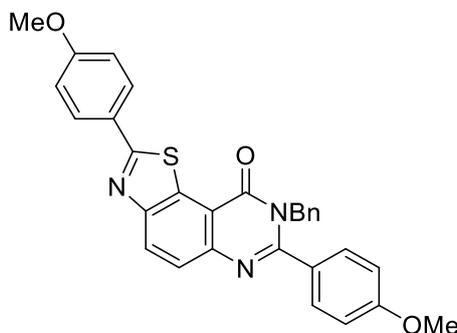
8-Benzyl-2,7-diphenylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (**40**)



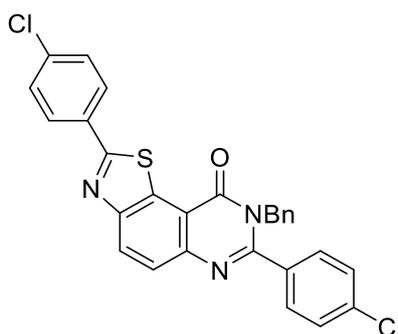
Yield: 59%; 0.089 g; yellow solid; R_f: 0.91 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 174-176 °C; IR (neat) ν_{max} 3057, 3028, 2916, 2847, 1685, 1347, 1272, 1250, 1158, 1127, 1070, 1016 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.47 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.26 – 8.13 (2H, m), 7.93 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.61 – 7.48 (4H, m), 7.48 – 7.34 (3H, m), 7.25 – 7.14 (4H, m), 7.03 – 6.91 (2H, m), 5.41 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 171.7 (C), 161.5 (C), 158.8 (C), 156.1 (C), 153.5 (C), 145.9 (C), 136.3 (C), 135.1 (C), 133.8 (C), 132.1 (C), 131.3 (CH), 130.3 (CH), 129.5 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.9 (2 x CH), 128.8 (2 x CH), 128.3 (2 x CH), 127.8 (CH), 127.7 (2 x CH), 127.2 (2 x CH), 126.4 (CH), 49.3 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₈H₂₀N₃OS [M + H]⁺: 446.1327; Found: 446.1322.

8-Benzyl-2,7-di-*p*-tolylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (46)

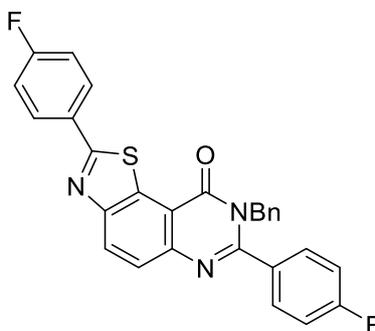
Yield: 63%; 0.101 g; yellow solid; R_f: 0.94 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 224-226 °C; IR (neat) ν_{\max} 3029, 2920, 2853, 1660, 1606, 1566, 1452, 1346, 1290, 1239, 1153, 1110, 1028, 958 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.45 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₄), 8.12 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.91 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.41 – 7.30 (5H, m), 7.31 – 7.23 (4H, m), 7.07 – 7.00 (2H, m), 5.44 (2H, s, NCH₂), 2.48 (3H, s), 2.46 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 171.7 (C), 161.6 (C), 156.2 (C), 153.4 (C), 145.8 (C), 141.7 (C), 140.5 (C), 136.5 (C), 132.3 (C), 131.9 (C), 131.1 (C), 130.0 (2 x CH), 129.4 (2 x CH), 129.2 (CH), 128.7 (2 x CH), 128.3 (2 x CH), 127.7 (CH), 127.6 (2 x CH), 127.2 (2 x CH), 126.3 (CH), 115.4 (C), 49.3 (CH₂), 21.69 (CH₃), 21.59 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₃₀H₂₄N₃OS [M + H]⁺: 474.1640; Found: 474.1629.

8-Benzyl-2,7-bis(4-methoxyphenyl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (47)

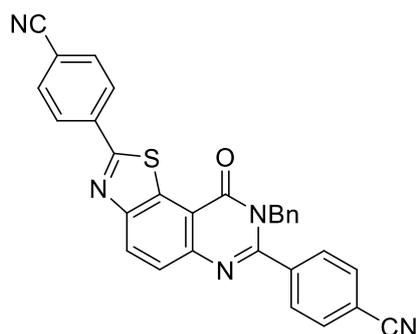
Yield: 67%; 0.115 g; yellow solid; R_f: 0.81 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 236-238 °C; IR (neat) ν_{\max} 3021, 2975, 2942, 2840, 1661, 1605, 1578, 1564, 1514, 1454, 1421, 1347, 1251, 1177, 1161, 1027 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.40 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.14 (2H, d, *J* = 8.7 Hz), 7.87 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.37 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.25 – 7.18 (3H, m), 7.07 – 6.98 (4H, m), 6.94 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 5.42 (2H, s, NCH₂), 3.90 (3H, s), 3.86 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 171.4 (C), 162.2 (C), 161.7 (C), 161.1 (C), 155.9 (C), 153.5 (C), 145.7 (C), 136.6 (C), 131.9 (C), 130.0 (2 x CH), 129.3 (2 x CH), 129.1 (CH), 128.8 (2 x CH), 127.7 (CH), 127.6 (C), 127.1 (2 x CH), 126.6 (C), 126.2 (CH), 115.3 (C), 114.7 (2 x CH), 114.2 (2 x CH), 55.6 (CH₃), 55.6 (CH₃), 49.4 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₃₀H₂₄N₃O₃S [M + H]⁺: 506.1538; Found: 506.1530.

8-Benzyl-2,7-bis(4-chlorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (48)

Yield: 56%; 0.98 g; yellow solid; R_f: 0.98 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 204-206 °C; IR (neat) ν_{\max} 3048, 2951, 2361, 2118, 1899, 1664, 1574, 1491, 1471, 1344, 1290, 1239, 1152, 1089, 1013, 958 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.46 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.14 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.91 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.51 (2H, d, *J* = 8.6 Hz), 7.42 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.34 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.26 – 7.22 (3H, m), 7.06 – 6.87 (2H, m), 5.39 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 170.4 (C), 161.4 (C), 155.2 (C), 153.5 (C), 145.9 (C), 137.4 (C), 136.6 (2 x C), 136.1 (C), 133.5 (C), 132.2 (C), 132.2 (C), 129.8 (2 x CH), 129.6 (3 x CH), 129.1 (2 x CH), 128.9 (2 x CH), 128.9 (2 x CH), 128.0 (CH), 127.0 (2 x CH), 126.6 (CH), 49.33 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₈H₁₈N₃OSCl₂ [M + H]⁺: 514.0548; Found: 514.0532.

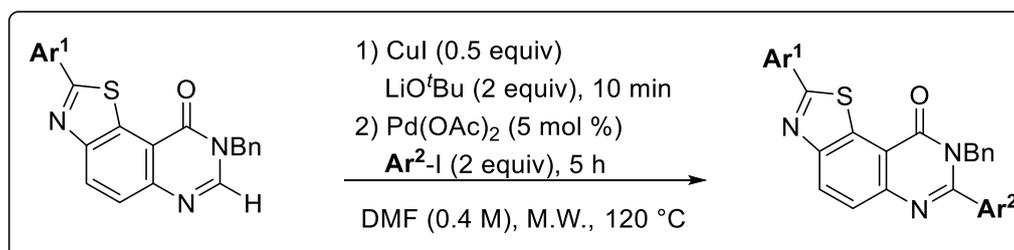
8-Benzyl-2,7-bis(4-fluorophenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (49)

Yield: 26%; 0.042 g; yellow solid; R_f: 0.80 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 205-207 °C; IR (neat) ν_{\max} 3057, 3043, 2999, 1667, 1574, 1511, 1458, 1343, 1229, 1156 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.43 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.22 – 8.15 (2H, m), 7.87 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.43 – 7.34 (2H, m), 7.26 – 7.17 (5H, m), 7.16 – 7.08 (2H, m), 6.99 – 6.93 (2H, m), 5.38 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 170.5 (C), 164.7 (C, d, *J* = 252.2 Hz), 163.7 (C, d, *J* = 251.2 Hz), 161.5 (C), 155.2 (C), 153.5 (C), 145.7 (C), 136.2 (C), 132.1 (C), 131.2 (C, d, *J* = 3.6 Hz), 130.5 (2 x CH, d, *J* = 8.6 Hz), 130.1 (C, d, *J* = 3.3 Hz), 129.7 (2 x CH, d, *J* = 8.7 Hz), 129.5 (CH), 128.9 (2 x CH), 127.9 (CH), 127.0 (2 x CH), 126.5 (CH), 116.5 (2 x CH, d, *J* = 22.1 Hz), 116.0 (2 x CH, d, *J* = 22.0 Hz), 115.4 (C), 49.3 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₈H₁₇N₃OSF₂ [M + H]⁺: 482.1139; Found: 482.1132.

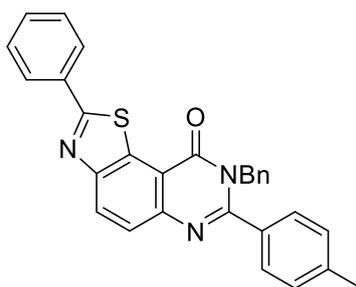
4,4'-(8-Benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2,7-diyl)dibenzonitrile (50)

Yield: 55%; 0.93 g; yellow solid; *R_f*: 0.84 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp > 300 °C; IR (neat) ν_{\max} 3051, 2922, 2852, 2230, 1658, 1574, 1554, 1353, 1291, 1237, 1149, 1061, 1016 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.51 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.40 – 8.22 (2H, m), 7.92 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.89 – 7.78 (2H, m), 7.76 – 7.68 (2H, m), 7.53 – 7.45 (2H, m), 7.26 – 7.15 (3H, m), 6.99 – 6.84 (2H, m), 5.37 (2H, s, NCH_2); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 169.4 (C), 161.1 (C), 154.6 (C), 153.7 (C), 146.1 (C), 139.0 (C), 137.5 (C), 135.7 (C), 133.1 (2 x CH), 132.6 (C), 132.6 (2 x CH), 130.2 (CH), 129.2 (2 x CH), 129.1 (2 x CH), 128.2 (CH), 128.1 (2 x CH), 127.0 (CH), 126.9 (2 x CH), 118.4 (C), 118.0 (C), 115.6 (C), 114.5 (C), 114.3 (C), 49.23 (CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{30}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 496.1232; Found: 496.1237.

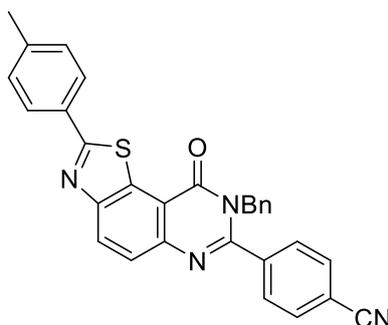
General procedure: Di-arylation



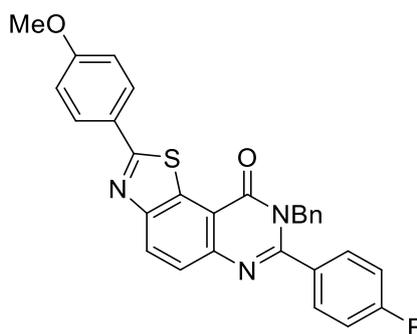
2-aryl-thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (0.271 mmol, 1.0 equiv), copper iodide (0.136 mmol, 0.5 equiv) and lithium *tert*-butoxide (0.542 mmol, 2.0 equiv) in dry DMF (0.4 M) are added to a 2 mL glass microwave vial. The mixture is stirred under microwave irradiation at 120 °C for 10 min (2 min ramp). Then $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.014 mmol, 5 mol%) and aryl iodide (0.542 mmol, 2.0 equiv) are added to the mixture. The reaction is then stirred under microwave irradiation at 120 °C for 5 h (2 min ramp). The resulting solution is diluted with dichloromethane, filtered through cotton and washed three times with dichloromethane. The volatiles were removed under reduced and the crude product is purified by flash chromatography on silica gel using a gradient (PE/DCM/EtOAc, 1:4:0 to 0:8:2; v/v) to afford the corresponding product.

8-Benzyl-2-phenyl-7-(*p*-tolyl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (41)

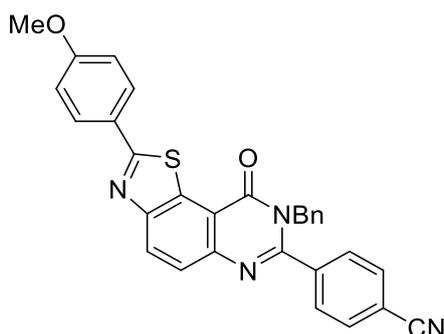
Yield: 87%; 0.108 g; yellow solid; R_f: 0.98 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 234-236 °C; IR (neat) ν_{\max} 3067, 3021, 2922, 1666, 1577, 1564, 1545, 1454, 1349, 1251, 1160, 968 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.45 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.27 – 8.11 (2H, m), 7.91 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.56 – 7.49 (3H, m), 7.36 – 7.28 (2H, m), 7.26 – 7.17 (5H, m), 7.03 – 6.97 (2H, m), 5.41 (2H, s, NCH₂), 2.43 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 171.7 (C), 161.5 (C), 156.4 (C), 153.4 (C), 145.8 (C), 140.6 (C), 136.4 (2 x C), 133.8 (C), 132.1 (C), 131.3 (CH), 129.5 (2 x CH), 129.5 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.8 (2 x CH), 128.3 (2 x CH), 127.8 (CH), 127.7 (2 x CH), 127.2 (2 x CH), 126.3 (CH), 115.4 (C), 49.4 (CH₂), 21.6 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₉H₂₂N₃OS [M + H]⁺: 460.1484; Found: 460.1506.

4-[8-Benzyl-9-oxo-2-(*p*-tolyl)-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-7-yl]benzonitrile (63)

Yield: 41%; 0.054 g; yellow solid; R_f: 0.67 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 256-258 °C; IR (neat) ν_{\max} 3020, 2970, 2930, 2227, 1739, 1662, 1575, 1453, 1348, 1230, 1156, 1071, 1013 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.43 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₄), 8.08 (2H, d, *J* = 7.9 Hz), 7.84 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.70 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.48 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.33 (2H, d, *J* = 7.9 Hz), 7.29 – 7.19 (3H, m), 6.95 – 6.85 (2H, m), 5.33 (2H, s, NCH₂), 2.44 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 172.3 (C), 161.2 (C), 153.9 (C), 145.3 (C), 142.0 (2 x C), 139.2 (C), 135.9 (C), 132.5 (2 x CH), 132.1 (C), 130.9 (C), 130.0 (2 x CH), 129.5 (CH), 129.2 (2 x CH), 129.0 (2 x CH), 128.1 (CH), 127.6 (2 x CH), 126.9 (2 x CH), 126.3 (CH), 118.0 (C), 115.5 (C), 114.1 (C), 49.1 (CH₂), 21.7 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₃₀H₂₀N₄OS [M + H]⁺: 485.1436; Found: 485.1427.

8-Benzyl-7-(4-fluorophenyl)-2-(4-methoxyphenyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (64)

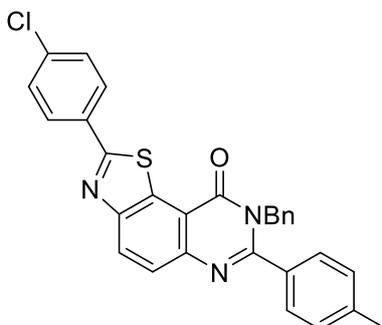
Yield: 77%; 0.103 g; yellow solid; Rf: 0.66 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 244-246 °C; IR (neat) ν_{\max} 3074, 3030, 2957, 2839, 1667, 1604, 1569, 1496, 1453, 1343, 1246, 1224, 1172, 1151, 1023 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.40 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H_4), 8.13 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.84 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H_5), 7.38 (2H, dd, $J = 8.5, 5.2$ Hz), 7.27 – 7.20 (3H, m), 7.11 (2H, t, $J = 8.5$ Hz), 7.03 (2H, d, $J = 8.6$ Hz), 7.01 – 6.91 (2H, m), 5.37 (2H, s, NCH_2), 3.89 (3H, s); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 171.6 (C), 163.7 (C, d, $J = 250.9$ Hz), 162.2 (C), 161.6 (C), 154.9 (C), 153.7 (C), 145.4 (C), 136.3 (C), 131.9 (C), 131.3 (C, d, $J = 3.6$ Hz), 130.5 (2 x CH, d, $J = 8.6$ Hz), 129.3 (2 x CH), 129.2 (CH), 128.9 (2 x CH), 127.9 (CH), 127.0 (2 x CH), 126.6 (C), 126.2 (CH), 116.0 (2 x CH, d, $J = 21.9$ Hz), 115.4 (C), 114.7 (2 x CH), 55.7 (CH_3), 49.3 (CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{29}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2\text{SF}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 494.1327; Found: 494.1336.

4-[8-Benzyl-2-(4-methoxyphenyl)-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazolin-7-yl]benzonitrile (65)

Yield: 73%; 0.99 g; yellow solid; Rf: 0.79 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 226-228 °C; IR (neat) ν_{\max} 3064, 2937, 2839, 2231, 1672, 1605, 1573, 1477, 1452, 1415, 1344, 1311, 1258, 1159, 1116, 1031, 969 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.42 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.13 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.83 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.70 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.48 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.26 – 7.20 (3H, m), 7.03 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 6.97 – 6.82 (2H, m), 5.34 (2H, s, NCH_2), 3.90 (3H, s); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 172.0 (C), 162.3 (C), 161.2 (C), 153.9 (C), 153.8 (C), 145.2 (C), 139.2 (C), 135.9 (C), 132.5 (2 x CH), 132.0 (C), 129.3 (3 x CH), 129.2 (2 x CH), 129.0 (2 x CH), 128.1 (CH), 126.9 (2 x CH), 126.4

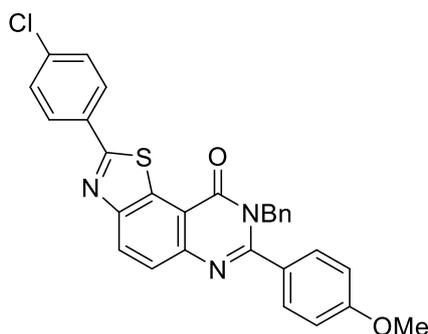
(C), 126.2 (CH), 118.1 (C), 115.5 (C), 114.7 (2 x CH), 114.1 (C), 55.6 (CH₂), 49.1 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₃₀H₂₁N₄O₂S [M + H]⁺: 501.1385; Found: 501.1379.

8-Benzyl-2-(4-chlorophenyl)-7-(*p*-tolyl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (66)



Yield: 35%; 0.047 g; white solid; R_f: 0.92 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 228-230 °C; IR (neat) ν_{max} 3054, 3029, 1737, 1561, 1541, 1451, 1349, 1297, 1247, 1159, 1090, 1017 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.36 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.06 (2H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.84 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.43 (2H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.25 (2H, d, *J* = 7.9 Hz), 7.20 – 7.13 (5H, m), 6.98 – 6.86 (2H, m), 5.34 (2H, s, NCH₂), 2.36 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 170.2 (C), 161.5 (C), 156.5 (C), 153.3 (C), 146.0 (C), 140.6 (C), 137.3 (C), 136.4 (C), 132.3 (C), 132.2 (C), 132.1 (C), 129.6 (2 x CH), 129.5 (2 x CH), 129.4 (CH), 128.8 (2 x CH), 128.8 (2 x CH), 128.3 (2 x CH), 127.8 (CH), 127.2 (2 x CH), 126.6 (CH), 115.4 (C), 49.4 (CH₂), 21.6 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₉H₂₀N₃OSCl [M + H]⁺: 494.1094; Found: 494.1095.

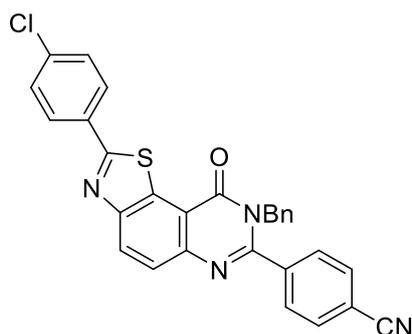
8-Benzyl-2-(4-chlorophenyl)-7-(4-methoxyphenyl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (67)



Yield: 33%; 0.045 g; yellow solid; R_f: 0.82 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 248-250 °C; IR (neat) ν_{max} 3052, 3006, 2921, 2850, 1726, 1577, 1511, 1449, 1346, 1306, 1257, 1174, 1088, 1019 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.43 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H₄), 8.13 (2H, d, *J* = 8.4 Hz), 7.91 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.50 (2H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.38 (2H, d, *J* = 8.5 Hz), 7.31 – 7.16 (3H, m), 7.10 – 6.97 (2H, m), 6.95 (2H, d, *J* = 8.2 Hz), 5.43 (2H, s, NCH₂), 3.87 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C

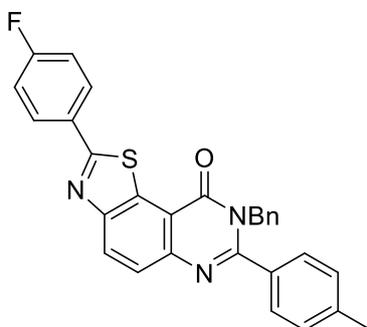
170.1 (C), 161.6 (C), 161.2 (C), 156.3 (C), 153.3 (C), 150.5 (C), 145.9 (C), 137.3 (C), 136.4 (C), 132.3 (C), 130.0 (2 x CH), 129.6 (2 x CH), 129.5 (CH), 129.3 (C), 128.8 (4 x CH), 128.4 (C), 127.8 (CH), 127.1 (2 x CH), 126.5 (CH), 114.2 (2 x CH), 55.7 (CH₃), 49.5 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₉H₂₀N₃O₂SCl [M + H]⁺: 510.1043; Found: 510.1055.

4-(8-Benzyl-2-(4-chlorophenyl)-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazolin-7-yl)benzonitrile (68)



Yield: 58%; 0.079 g; yellow solid; R_f: 0.92 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 262-264 °C; IR (neat) ν_{\max} 2932, 2922, 2230, 1739, 1665, 1575, 1441, 1342, 1234, 1152, 1089, 1063, 1014, 956, 831 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.47 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.15 (2H, d, *J* = 8.3 Hz), 7.88 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.72 (2H, d, *J* = 8.0 Hz), 7.55 – 7.50 (4H, m), 7.26 – 7.16 (3H, m), 6.97 – 6.86 (2H, m), 5.36 (2H, s, NCH₂); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 174.7 (C), 161.7 (C), 161.2 (C), 154.2 (C), 153.8 (C), 145.7 (C), 139.1 (C), 137.6 (C), 135.8 (C), 132.5 (2 x CH), 132.2 (C), 129.8 (C), 129.7 (2 x CH), 129.6 (CH), 129.2 (2 x CH), 129.1 (2 x CH), 128.9 (2 x CH), 128.2 (CH), 126.9 (2 x CH), 126.6 (CH), 118.0 (C), 114.2 (C), 49.2 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₉H₁₈N₄OSCl [M + H]⁺: 505.0890; Found: 505.0886.

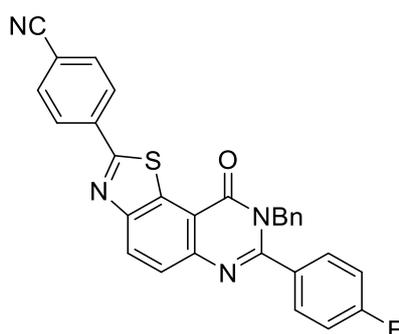
8-Benzyl-2-(4-fluorophenyl)-7-(*p*-tolyl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8*H*)-one (69)



Yield: 59%; 0.076 g; yellow solid; R_f: 0.92 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 204-206 °C; IR (neat) ν_{\max} 3064, 3031, 2923, 2854, 1662, 1576, 1514, 1453, 1348, 1230, 1156, 1071, 1029, 969 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.42 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.18 (2H, dd, *J* = 8.6, 5.3 Hz), 7.89 (1H, d,

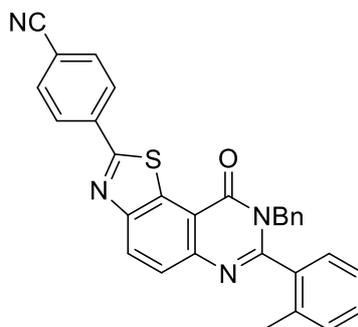
$J = 8.8$ Hz, H_5), 7.32 (2H, d, $J = 7.9$ Hz), 7.26 – 7.13 (7H, m), 7.07 – 6.89 (2H, m), 5.41 (2H, s, NCH_2), 2.43 (3H, s); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 25 °C, 75.4 MHz): δ_c 170.3 (C), 164.7 (C, d, $J = 252.3$ Hz), 161.5 (C), 156.4 (C), 153.3 (C), 146.0 (C), 140.6 (C), 136.4 (C), 132.3 (C), 132.0 (C), 130.2 (C, d, $J = 3.3$ Hz), 129.7 (2 x CH, d, $J = 8.5$ Hz), 129.5 (2 x CH), 129.3 (CH), 128.8 (2 x CH), 128.3 (2 x CH), 127.7 (CH), 127.2 (2 x CH), 126.5 (CH), 116.5 (2 x CH, d, $J = 22.3$ Hz), 115.4 (C), 49.4 (CH_2), 21.6 (CH_3). HRMS (ESI⁺): Calcd for $C_{29}H_{21}N_3OSF$ [$M + H$]⁺: 478.1389; Found: 478.1387.

4-(8-Benzyl-7-(4-fluorophenyl)-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazolin-2-yl)benzonitrile (70)



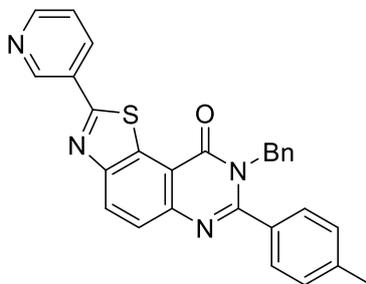
Yield: 69%; 0.091 g; yellow solid; R_f: 0.91 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 276-278 °C; IR (neat) ν_{max} 3019, 2922, 2230, 1655, 1572, 1509, 1440, 1342, 1233, 1149, 1062, 1013 cm^{-1} ; 1H NMR ($CDCl_3$, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.49 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.31 (2H, d, $J = 8.2$ Hz), 7.93 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.82 (2H, d, $J = 8.2$ Hz), 7.40 (2H, dd, $J = 8.5, 5.3$ Hz), 7.26 – 7.21 (3H, m), 7.13 (2H, t, $J = 8.4$ Hz), 7.05 – 6.89 (2H, m), 5.40 (2H, s, NCH_2); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 25 °C, 75.4 MHz): δ_c 169.0 (C), 161.4 (C), 160.5 (C, d, $J = 250.7$ Hz), 155.7 (C), 153.4 (C), 146.3 (C), 137.6 (C), 136.1 (C), 134.2 (C), 133.1 (2 x CH), 132.5 (C), 131.1 (C, d, $J = 4.8$ Hz), 130.5 (2 x CH, d, $J = 8.8$ Hz), 130.0 (CH), 128.9 (2 x CH), 128.0 (2 x CH), 128.0 (CH), 127.0 (2 x CH), 127.0 (CH), 116.1 (2 x CH, d, $J = 22.0$ Hz), 115.5 (C), 114.4 (C), 49.4 (CH_2). HRMS (ESI⁺): Calcd for $C_{29}H_{18}N_4OSF$ [$M + H$]⁺: 489.1185; Found: 489.1178.

4-(8-Benzyl-9-oxo-7-(*o*-tolyl)-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazolin-2-yl)benzonitrile (71)



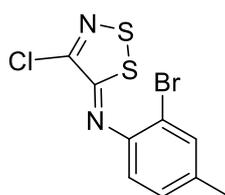
Yield: 78%; 0.102 g; yellow solid; R_f: 0.92 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); mp: 139-141 °C; IR (neat) ν_{\max} 3058, 3029, 2955, 2924, 2223, 1655, 1568, 1453, 1349, 1233, 1158, 1106, 966 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.48 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.32 (2H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.92 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.83 (2H, d, *J* = 8.2 Hz), 7.46 – 7.38 (1H, m), 7.32 – 7.26 (2H, m), 7.23 – 7.13 (4H, m), 6.96 – 6.81 (2H, m), 5.34 (1H, d, *J* = 14.7 Hz), 5.25 (1H, d, *J* = 14.9 Hz), 1.96 (3H, s); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.8 (C), 161.5 (C), 156.2 (C), 153.3 (C), 146.5 (C), 137.7 (C), 136.3 (C), 135.8 (C), 134.4 (C), 133.1 (2 x CH), 132.5 (C), 130.9 (CH), 130.3 (CH), 129.9 (CH), 128.6 (2 x CH), 128.2 (CH), 128.1 (CH), 128.0 (4 x CH), 127.0 (CH), 126.2 (CH), 118.5 (C), 115.6 (C), 114.3 (C), 48.7 (CH₂), 19.14 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₃₀H₂₁N₄OS [M + H]⁺: 485.1436; Found: 485.1428.

8-Benzyl-2-(pyridin-3-yl)-7-(*p*-tolyl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (72)



Not isolated. R_f: 0.17 (DCM/EtOAc, 4:1; v/v); HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₈H₂₁N₄OS [M + H]⁺: 461.1436; Found: 461.1436.

N-(2-Bromo-4-methylphenyl)-4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-imine (45)

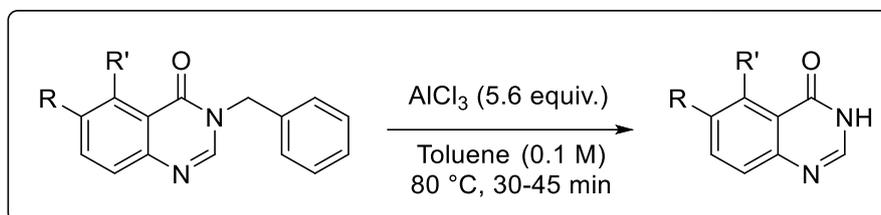


To a suspension of 2-bromo-4-methylaniline (0.500 mL, 4.03 mmol, 1 equiv.) in dichloromethane (40 mL, 0.1 M) were added pyridine (0.750 mL, 9.27 mmol, 2.3 equiv.) and 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium chloride (Appel salt) (1.093 g, 5.24 mmol, 1.3 equiv.). The reaction was stirred at room temperature for 16 h. The solvent was removed under *vacuum* and the crude residue was purified by flash chromatography using PE/DCM as eluent (8:2 to 7:3; v/v) to afford the desired product **45**.

Yield: 95%; 1.238 g; yellow solid; R_f: 0.88 (DCM); mp: 103-105 °C; IR (neat) ν_{\max} 2946, 2830, 2336, 2116, 1681, 1603, 1567, 1473, 1128, 868, 850, 790, 579, 561, 414 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 7.52 (1H, s, H₃), 7.18 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H₅), 7.04 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H₆), 2.36 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 160.5 (C), 147.8 (C), 147.6 (C), 137.8 (C), 134.3 (CH), 129.6

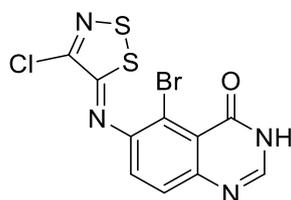
(CH), 117.9 (CH), 115.7 (C), 20.9 (CH₃).HRMS (ESI⁺): Calcd for C₉H₇N₂S₂ClBr [M + H]⁺: 320.8923; Found: 320.8921.

General procedure for debenylation of compounds 73 and 74

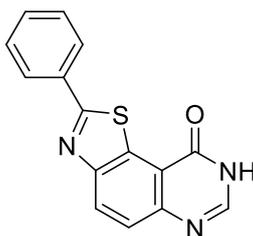


To a suspension of the corresponding substrate (1 equiv.) in toluene (0.1 M) was added aluminum chloride (5.6 equiv.). The reaction was heated at 80 °C for 30 to 45 min. The resulting solution was diluted with ethyl acetate and washed with water. The aqueous layer was then extracted with ethyl acetate and the combined organic layers were washed twice with a saturated aqueous solution of NaHCO₃, dried over Na₂SO₄ and concentrated under *vacuum*. The crude residue was purified by flash chromatography using DCM/AcOEt (1:0 to 0:1; v/v) as eluent to afford the desired product.

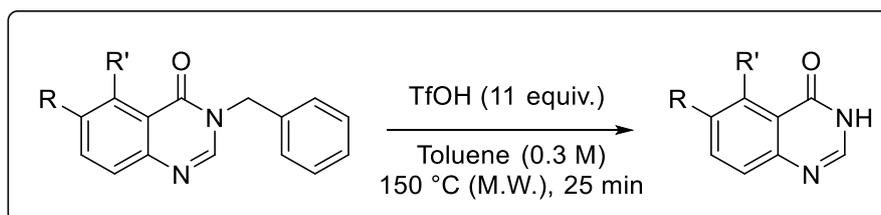
(Z)-5-Bromo-6-[(4-chloro-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene)amino]quinazolin-4(3H)-one (73)



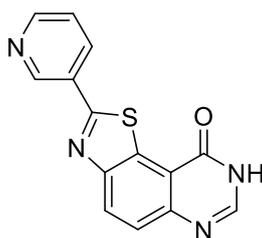
Reaction time : 30 min ; Yield 78%, orange powder; 0.063 g, R_f: 0.35 (AcOEt); mp: 257-259 °C; IR (neat) ν_{\max} 163.2, 159.2, 150.3, 147.8, 145.9, 145.5, 128.9, 124.8, 121.6, 111.4 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 12.35 (1H, br s, NH), 8.06 (1H, s, H₂), 7.75 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₇), 7.57 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₈). ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 163.1 (C), 159.2 (C), 150.2 (C), 148.2 (C), 145.9 (C), 145.4 (CH), 129.2 (CH), 124.7 (CH), 121.6 (C), 111.4 (C). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₀H₅BrClN₄OS₂ [M + H]⁺: 374.8777; Found 374.8761.

2-Phenylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (74)

Reaction time : 45 min ; Yield 79%, white powder; 0.030 g, Rf: 0.24 (AcOEt); mp: 315-317 °C; IR (neat) ν_{\max} 3057, 2818, 2655, 2117, 1997, 1674, 1616, 1588, 1437, 1342, 981, 833, 758, 681, 533 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 12.84 (1H, br s, NH), 8.45 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H₄), 8.28 (1H, s, 1H₇), 8.22 – 8.10 (2H, m, H_{ar}), 7.83 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H₅), 7.67 – 7.47 (3H, m, H_{ar}). ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 170.1 (C), 159.8 (C), 152.3 (C), 147.4 (C), 145.4 (CH), 132.9 (C), 131.4 (CH), 130.4 (C), 129.5 (CH), 128.7 (CH), 127.2 (CH), 126.3 (CH), 116.9 (C). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₅H₁₀N₃OS [M + H]⁺: 280.0545; Found: 280.0548.

General procedure for debenylation of compounds 75 and 77

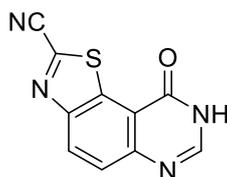
To a solution of the appropriate *N*-benzyl compound (0.162 mmol, 1 equiv.) in toluene (0.550 mL, 0.3 M) was added triflic acid (0.160 mL, 1.782 mmol, 11 equiv). The resulting was stirred for 25 min at 150 °C under microwave irradiation. After cooling to rt the mixture was diluted with methanol (15 mL) and Na₂CO₃ (0.191 g, 1.782 mmol, 11 equiv.) was added (pH = 8). Then the reaction mixture was stirred for 10 min at room temperature and filtered through a fritted glass. Solids were purified by flash chromatography over silica gel using DCM/MeOH as eluent (96:4; v/v) to furnish the compound **77**. The product **75** was not purified (poorly soluble in organic solvents).

2-(Pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (75)

Not isolated; Rf: 0.32 (AcOEt); HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₄H₉N₄OS [M + H]⁺: 281.0497; Found: 281.0498.

Thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (77)

Yield : 82%, 0.100 g; white solid; Rf: 0.21 (AcOEt); mp > 260 °C; IR (neat) ν_{\max} 3181, 3030, 2930, 2822, 2774, 2657, 2118, 1673, 1609, 1585, 1460, 1432, 1342, 1170, 985, 827 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_H 12.84 (1H, br s, NH), 9.56 (1H, s, H₂), 8.50 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 8.29 (1H, s, H₇), 7.85 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 160.0 (C), 159.0 (CH), 151.8 (C), 147.5 (C), 145.7 (CH), 129.6 (C), 128.9 (CH), 125.8 (CH), 116.9 (C). HRMS (ESI): Calcd for C₉H₄N₃OS [M - H]⁻: 202.0075; Found: 202.0075.

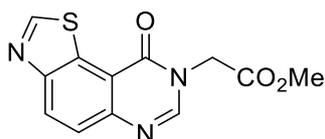
9-Oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (76)

To a solution of **73** (0.250 g, 0,67 mmol) in pyridine (0.3 M) in a sealed tube was added copper iodide(I) (0.127 g, 0,67 mmol, 1 equiv). The reaction was irradiated under microwaves for 30 min at 115 °C. After cooling, the reaction mixture was filtered through Celite[®] and washed with ethyl acetate and then with dichloromethane. The filtrate was washed with an aqueous solution of HCl (1 M) and twice with water. The aqueous layers were filtered through a fritted glass and solids were rinsed with water. The volatiles were removed under reduced pressure to afford the desired product **76**.

Yield : 49%, 0.075 g; beige solid; Rf: 0.33 (AcOEt); mp >265 °C; IR (neat) ν_{\max} 3160, 3048, 2855, 2232, 1659, 1608, 1590, 1460, 1382, 1354, 1303, 1274, 1225, 1164, 1110, 1013, 973, 897, 859, 832 cm⁻¹; ¹H

NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_H 13.12 (1H, br s, NH), 8.51 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₄), 8.38 (1H, s, H₇), 7.87 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H₅); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 159.5 (C), 150.1 (C), 149.3 (C), 147.1 (CH), 138.9 (C), 131.3 (C), 129.8 (CH), 127.8 (CH), 116.3 (C), 113.5 (C). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₀H₅N₄OS [M + H]⁺: 229.0184; Found: 229.0170.

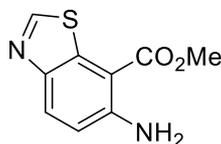
Methyl 2-(9-oxothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-8(9*H*)-yl)acetate (**93**)



In a sealed tube, a stirred suspension methyl 6-aminobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate **94** (0.200 g, 0.96 mmol, 1 equiv.) in DMADMF (2.4 mL, 0.4 M) was heated at 100 °C for 45 min under microwave irradiation. Solvents were removed under *vacuum* and glycine methyl ester hydrochloride (0.127 g, 1.01 mmol, 1.05 equiv.) was added followed with AcOH (2 mL, 0.5 M). The mixture was irradiated at 118 °C for 15 min. Evaporation of the solvent gave a crude product which was purified by flash chromatography over silica gel using DCM/AcOEt as eluent (8:2 to 0:1; v/v) to furnish the compound **93**.

Yield : 74%, 0.196 g; white solid; R_f: 0.30 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 216-218 °C; IR (neat) ν_{\max} 3049, 2985, 2936, 2109, 1869, 1749, 1666, 1599, 1437, 1347, 1217, 1172, 981, 840 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.22 (1H, s, H₂), 8.51 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₄), 8.13 (1H, s, H₇), 7.90 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₅), 4.85 (2H, s, CH₂), 3.82 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 167.6 (C), 159.8 (C), 158.0 (CH), 152.9 (C), 147.2 (C), 146.0 (CH), 129.9 (CH), 126.4 (CH), 116.4 (CH), 53.3 (CH₃), 47.5 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₂H₁₀N₃O₃S [M + H]⁺: 276.0443; Found: 276.0440.

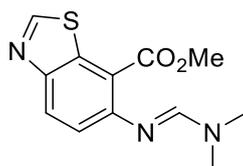
Methyl 6-aminobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate (**94**)



In a sealed tube, a suspension of methyl 6-amino-2-cyanobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate **20** (1.116 g, 5.00 mmol, 1 equiv.) and chlorhydrique acid (37% in water) (16.7 mL, 0.3 M) was irradiated under microwaves for 30 at 100 °C. After cooling, the resulting solution was diluted with dichloromethane and neutralized with a saturated aqueous solution of NaHCO₃ and with solid Na₂CO₃ (until pH 8-9). The organic layer was then dried over Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure to provide the product **94**.

Yield : 78%, 0.807 g; beige solid; Rf: 0.67 (AcOEt); mp: 112-114 °C; IR (neat) ν_{\max} 3495, 3373, 3042, 2962, 2120, 1682, 1600, 1554, 1454, 1420, 1269, 1117, 999, 846, 812, 468 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.74 (1H, s, H₂), 7.99 (1H, d, J = 8.9 Hz, H₄), 6.83 (1H, d, J = 8.9 Hz, H₅), 6.08 (2H, s, NH₂), 4.01 (3H, s, CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 167.3 (C), 152.1 (CH), 150.4 (C), 145.5 (C), 136.0 (C), 129.4 (CH), 117.3 (CH), 103.1 (C), 51.9 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [M + H]⁺: 209.0385; Found: 209.0388.

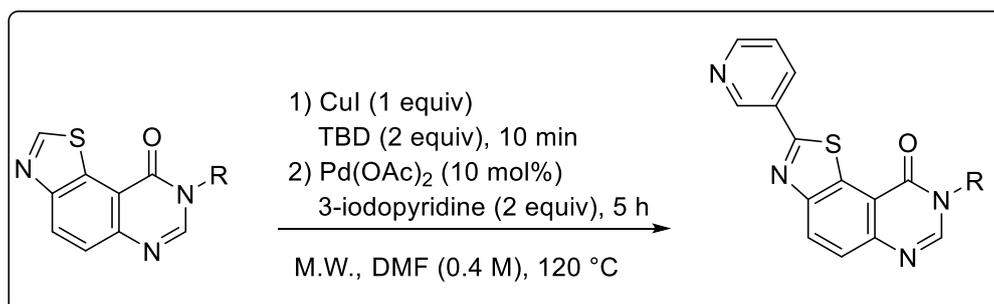
Methyl (*E*)-6-([(dimethylamino)methylene]amino)benzo[*d*]thiazole-7-carboxylate (**96**)



In a sealed tube, a suspension of **94** (0.062 g, 0.30 mmol) in DMF-DMA (0.750 mL, 0.4 M) was irradiated under microwaves at 100 °C for 30 min. Solvents were removed under *vacuum* to give **96**.

Not isolated; Rf: 0.45 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.88 (1H, s, H₂), 8.07 (1H, d, J = 8.6 Hz, H₄), 7.34 (1H, s, CH), 7.04 (1H, d, J = 8.6 Hz, H₅), 3.92 (3H, s, CH₃), 3.05 (6H, s, 2 x CH₃).

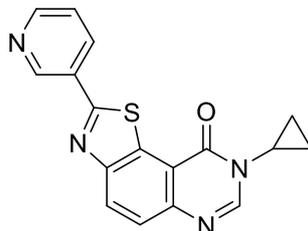
General procedure of C2-arylation for thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one N8-alkylated with 3-iodopyridine



Thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (0.341 mmol), copper iodide (0.065 g, 0.341 mmol, 1 equiv) and TBD (0.095 g, 0.682 mmol, 2.0 equiv) in dry DMF (0.850 mL) were added to a 2 mL glass microwave vial under argon atmosphere. The mixture was stirred under microwave irradiation at 120 °C for 10 min. Then Pd(OAc)₂ (0.0076 g, 0.034 mmol, 10 mol%) and 3-iodopyridine (0.140 g, 0.682 mmol, 2.0 equiv) were added to the mixture. The reaction was then stirred under microwave irradiation at 120 °C for 5 h. The resulting solution was diluted with dichloromethane and washed three times with a 5% aqueous ammonia solution, then with water and brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated

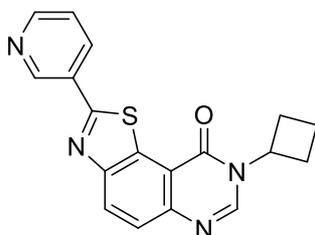
under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel with MeOH/CH₂Cl₂ as eluent (1:0 to 95:5; v/v) to afford the corresponding product.

8-Cyclopropyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (86)

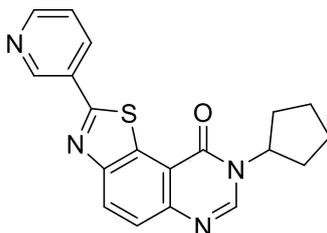


Yield: 43%; 0.047 g; beige powder; R_f: 0.09 (AcOEt); mp: 237-239 °C; IR (neat) ν_{\max} 3059, 3012, 2114, 1659, 1588, 1449, 1344, 1295, 1024, 837 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.41 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H_{Ar}), 8.75 (1H, d, *J* = 4.9 Hz, H_{Ar}), 8.54 – 8.38 (2H, m, H_{Ar} + H₄), 8.26 (1H, s, H₇), 7.88 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₅), 7.48 (1H, dd, *J* = 8.0, 4.9 Hz, CH_{Ar}), 3.45 – 3.26 (1H, m, NCH), 1.36 – 1.24 (2H, m, H_{cyclopropyl}), 1.14 – 0.96 (2H, m, H_{cyclopropyl}); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.5 (C), 161.3 (C), 153.4 (C), 151.9 (CH), 148.7 (CH), 146.7 (CH), 146.6 (C), 134.7 (CH), 131.7 (C), 129.8 (C), 129.3 (CH), 126.6 (CH), 124.1 (CH), 116.4 (C), 29.8 (CH), 6.7(2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₇H₁₂N₄OS [M + H]⁺: 321.0807; Found: 321.0810.

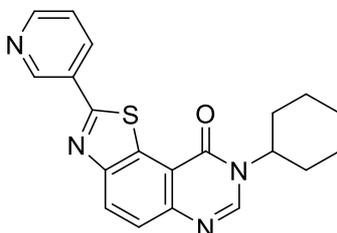
8-Cyclobutyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (97)



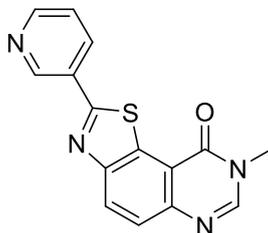
Yield: 57%; 0.064 g; yellow solid; R_f: 0.45 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 251-253 °C; IR (neat) ν_{\max} 3072, 2992, 2948, 2865, 1906, 1655, 1584, 1347, 848 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃ + D₂O, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.39 (1H, br s, H_{Ar}), 8.72 (1H, d, *J* = 4.8, H_{Ar}), 8.45 – 8.29 (2H, m, H_{Ar} + H₄), 8.30 (1H, s, H₇), 7.86 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.46 (1H, dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, H_{Ar}), 5.18 – 5.09 (1H, m, NCH), 2.70 – 2.60 (2H, m, CH₂), 2.54 – 2.40 (2H, m, CH₂), 2.04 – 1.94 (2H, m, CH₂); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃ + D₂O, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.2 (C), 160.0 (C), 153.2 (C), 151.8 (CH), 148.6 (CH), 146.7 (C), 143.8 (CH), 134.7 (CH), 131.6 (C), 129.8 (C), 129.2 (CH), 126.5 (CH), 124.1 (CH), 116.3 (C), 51.1 (CH), 29.8 (2 x CH₂), 15.5 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₈H₁₄N₄OS [M + H]⁺: 335.0967; Found: 335.0974.

8-Cyclopentyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (98)

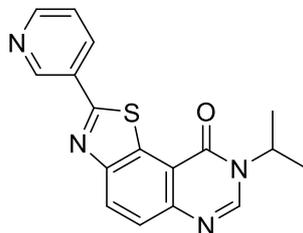
Yield: 65%; 0.077 g; yellow solid; R_f: 0.43 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 212-214 °C; IR (neat) ν_{\max} 3064, 3964, 2872; 1902, 1645, 1584, 1451, 828 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.40 (1H, br s, H_{Ar}), 8.73 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H_{Ar}), 8.50 – 8.38 (2H, m, H_{Ar} + H₄), 8.25 (1H, s, H₇), 7.86 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.46 (dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, H_{Ar}), 5.39 – 5.08 (1H, m, NCH), 2.46 – 2.16 (2H, m, CH₂), 2.14 – 1.67 (4H, m, CH₂); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.0 (C), 159.8 (C), 152.9 (C), 151.5 (CH), 148.4 (CH), 146.3, 144.1 (CH), 134.4 (CH), 131.5 (C), 129.8 (C), 128.9 (CH), 126.2 (CH), 124.1 (CH), 116.2 (C), 56.8 (CH), 32.1 (2 x CH₂), 24.6 (2 x CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₉H₁₆N₄OS [M + H]⁺: 349.1123; Found: 349.1115.

8-Cyclohexyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (99)

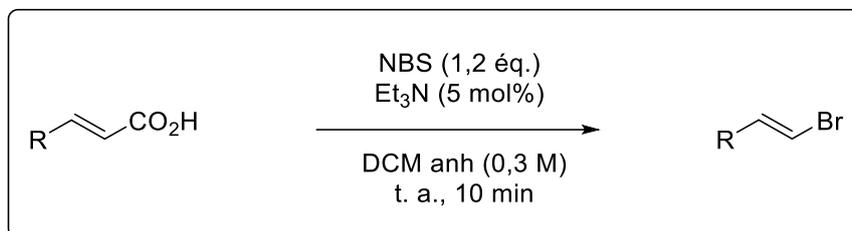
Yield: 54%; 0.067 g; yellow solid; R_f: 0.43 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 201-203 °C; IR (neat) ν_{\max} 3309, 3146, 1076, 2920, 1902, 1661, 1587, 1350, 1333, 826 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.38 (1H, br s, H_{Ar}), 8.72 (1H, br s, H_{Ar}), 8.56 – 8.35 (2H, m, H_{Ar} + H₄), 8.25 (1H, s, H₇), 7.84 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H₄), 7.45 (1H, dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, H_{Ar}), 4.96 – 4.79 (1H, m, NCH), 2.16 – 1.89 (4H, m, CH₂), 1.86 – 1.65 (3H, m, CH₂), 1.65 – 1.43 (2H, m, CH₂), 1.38 – 1.16 (1H, m, CH₂); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.1 (C), 159.6 (C), 153.0 (C), 151.6 (CH), 148.5 (CH), 146.3 (C), 143.7 (CH), 134.5 (CH), 131.7 (C), 129.8 (C), 129.1 (CH), 126.3 (CH), 124.0 (CH), 116.3 (C), 54.5 (CH), 32.6 (2 x CH₂), 25.9 (2 x CH₂), 25.2 (CH₂). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₂₀H₁₈N₄OS [M + H]⁺: 363.1280; Found: 363.1295.

8-Methyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (100)

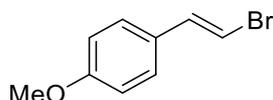
Yield: 14%; 0.014 g; yellow solid; R_f: 0.36 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 272-274 °C; IR (neat) ν_{\max} 3068, 1651, 1588, 1446, 1346, 699 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.39 (1H, br s, H_{Ar}), 8.73 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H_{Ar}), 8.58 – 8.36 (2H, m, H_{Ar} + H₄), 8.19 (1H, s, H₇), 7.86 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.47 (1H, dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, H_{Ar}), 3.73 (3H, s, CH₃); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.36 (C), 160.40 (C), 153.29 (C), 151.82 (CH), 148.66 (CH), 147.20 (C), 146.60 (CH), 134.71 (CH), 131.54 (C), 129.77 (C), 129.25 (CH), 126.60 (CH), 124.06 (CH), 116.48 (C), 34.37 (CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₅H₁₀N₄OS [M + H]⁺: 295.0654; Found: 295.0668.

8-Isopropyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (101)

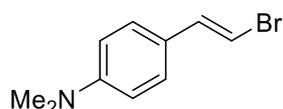
Yield: 64%; 0.070 g; yellow solid; R_f: 0.46 (DCM/MeOH, 95:5; v/v); mp: 202-204 °C; IR (neat) ν_{\max} 3540, 3047, 2962, 1643, 1585, 1449, 830, 696 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃ + D₂O, 25 °C, 300 MHz): δ_H 9.37 (1H, br s, H_{Ar}), 8.71 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H_{Ar}), 8.48 – 8.33 (2H, m, H_{Ar} + H₄), 8.24 (1H, s, H₇), 7.84 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 7.44 (1H, dd, *J* = 8.0, 4.8 Hz, H_{Ar}), 5.34 – 5.13 (1H, m, NCH), 1.57 (3H, s, CH₃), 1.55 (3H, s, CH₃); ¹³C{¹H} NMR (CDCl₃ + D₂O, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.2 (C), 159.6 (C), 153.1 (C), 151.7 (CH), 148.6 (CH), 146.5 (C), 143.5 (CH), 134.6 (CH), 131.8 (C), 129.8 (C), 129.2 (CH), 126.4 (CH), 124.0 (CH), 116.5 (C), 47.2 (CH), 22.1 (2 x CH₃). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₁₇H₁₄N₄OS [M + H]⁺: 323.0967; Found: 323.0973.

General procedure for the synthesis of α,β -unsaturated bromides.

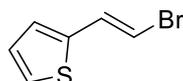
To a solution of α,β -unsaturated aromatic carboxylic acid (1 mM, 1 equiv.) in dichloromethane (3 mL (0.3 M)) was added triethylamine (0.007 mL, 0.05 mmol, 5 mol%). After the mixture was stirred for 5 min at room temperature, *N*-bromosuccinimide (0.214 g, 1.2 mmol, 1.2 equiv.) was added. The solution was stirred for 5 min, and solvent was removed under reduced pressure. The mixture was purified by column chromatography over silica gel with PE/AcOEt (1:0 to 1:1; v/v) as eluent to afford the α,β -unsaturated bromides.

(*E*)-1-(2-Bromovinyl)-4-methoxybenzene (103)

Yield: 93%; 0.213 g. Spectra data were in accordance with the reported data.¹⁴⁸

(*E*)-4-(2-Bromovinyl)-*N,N*-dimethylaniline (104)

Yield: 47%; 0.107 g. Spectra data were in accordance with the reported data.¹⁴⁹

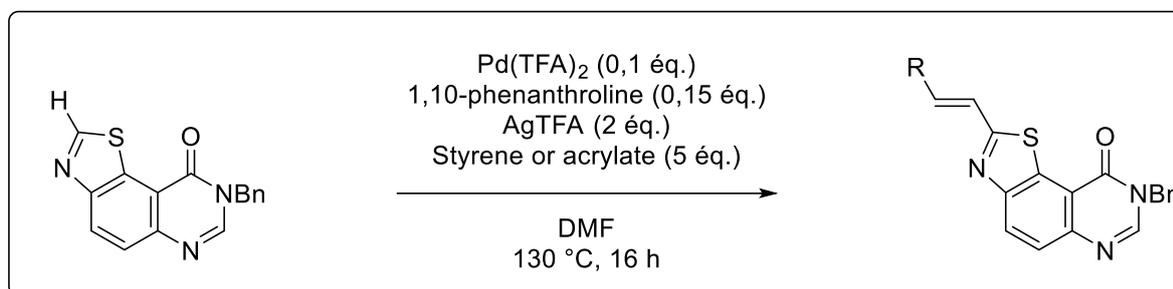
(*E*)-2-(2-Bromovinyl)thiophene (105)

¹⁴⁸ M. Qian, Z. Huang, E. Negishi, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1531–1534.

¹⁴⁹ C. Hultsch, O. Blank, H.-J. Wester, M. R. Heinrich, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1881–1883.

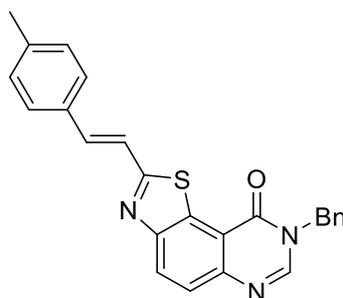
Yield: 64%; 0.122 g. Spectra data were in accordance with the reported data.¹⁵⁰

General procedure of C2-alkenylation for 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (37**) with styrene and acrylates**



To a DMF solution (0.680 mL, 0.5 M) of Pd(TFA)₂ (0.0113 g, 0.034 mmol, 10 mol%), 1,10-phenanthroline (0.0092 g, 0.051 mmol, 15 mol%), AgTFA (0.151 g, 0.681 mmol, 2 equiv.) and 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** (0.100 g, 0.340 mmol) was added styrene or acrylate (1.704 mmol, 5 equiv.) into the vial under argon atmosphere. After the vial was screw-capped, the reaction solution was heated at 130 °C for 16 h. The resulting solution was filtered through Celite® and washed with DCM (100 mL). The filtrate was concentrated in vacuo to afford the crude product which was purified by flash chromatography using DCM/AcOEt (9:1 to /3; v/v) as eluant.

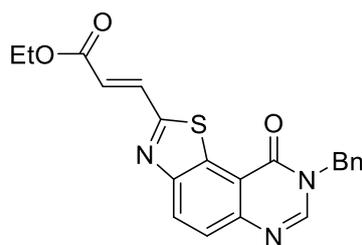
(*E*)-8-Benzyl-2-(4-methylstyryl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (109**)**



Not isolated; R_f: 0.36 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); Calcd for C₂₅H₂₀N₃OS [M + H]⁺: 410.1327; Found: 410.1328.

Ethyl (*E*)-3-(8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-2-yl)acrylate (110**)**

¹⁵⁰ R. Hosseinzadeh, M. Tajbakhsh, M. Mavvaji, Z. Lasemi, *Res. Chem. Intermed.* **2015**, *41*, 2427–2436.



Yield: 35%; 0.047 g; white solid; Rf: 0.29 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 196-198 °C; IR (neat) ν_{\max} 3054, 2980, 2932, 1904, 1712, 1665, 1635, 1583, 1449, 1308, 1178, 970, 731 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.41 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.26 (1H, s, H_7), 7.95 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 7.87 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.45 – 7.30 (5H, m, H_{Ar}), 6.92 (1H, d, $J = 16.0$ Hz), 5.32 (2H, s, CH_2), 4.32 (2H, q, $J = 7.1$ Hz, CH_2), 1.37 (3H, t, $J = 7.1$ Hz, CH_3); $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 167.1 (C), 165.7 (C), 159.8 (C), 153.1 (C), 147.4 (C), 146.4 (CH), 136.6 (CH), 135.2 (C), 132.2 (C), 129.6 (CH), 129.3 (2 x CH), 128.7 (CH), 128.3 (2 x CH), 126.8 (CH), 126.4 (CH), 116.6 (C), 61.3 (CH_2), 50.1 (CH_2), 14.4 (CH_3). HRMS (ESI⁺): Calcd for $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 392.1069; Found: 392.1062.

Chapitre 3 : Evaluation biologique

Chapitre 3 : Evaluation Biologique

III.1.	Introduction	187
III.2.	Evaluation de l'activité inhibitrice	190
III.2.a.	Les thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones substituées en C2	191
III.2.b.	Les 8-benzyl-2,7-di- et bis-arylthiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-ones	194
III.3.	Etude des relations structure/activité	196
III.4.	Evaluation des propriétés biologiques du FC162	199
III.4.a.	Kinome scan	199
III.4.b.	Co-cristal FC162/DYRK1A	200
III.4.c.	Effets du FC162 (86) sur DYRK1A en milieu cellulaire	201
III.4.c.i	Dans les neuroblastes	201
III.4.c.ii	Dans les cellules pré-B	202
III.4.d.	Diffusion passive de la BHE	204
III.5.	Conclusions et perspectives	205

III.1. Introduction

Les travaux antérieurs du laboratoire ont permis de synthétiser une première série de composés, nommée EHT, et dérivée des *N*-aryl-thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-4-amines. Ces composés se sont montrés particulièrement actifs et sélectifs de DYRK1A (IC_{50} sub-nanomolaires) (voir introduction générale, paragraphe 5.b.). L'analyse du co-cristal EHT 5372/DYRK2 a montré que le groupement imidate en position C2 des EHT pointait vers la région charnière (« hinge »), le groupe azoté de cette fonction se situant à une distance de 3.1-3.6 Å de certains des résidus du fond de la poche catalytique. Malgré cette faible interaction avec la région charnière, cette liaison non-conforme a été suggérée pour expliquer la sélectivité et la forte activité inhibitrice de ces composés. De plus, une liaison hydrogène a été observée entre un résidu de la boucle d'activation (Lys178) et l'azote de la quinazoline (N6). Enfin, ce co-cristal a pu montrer une interaction de type π -stacking entre l'acide aminé portier aromatique (Phe228) et le cycle benzénique de l'EHT (Figure III-1).

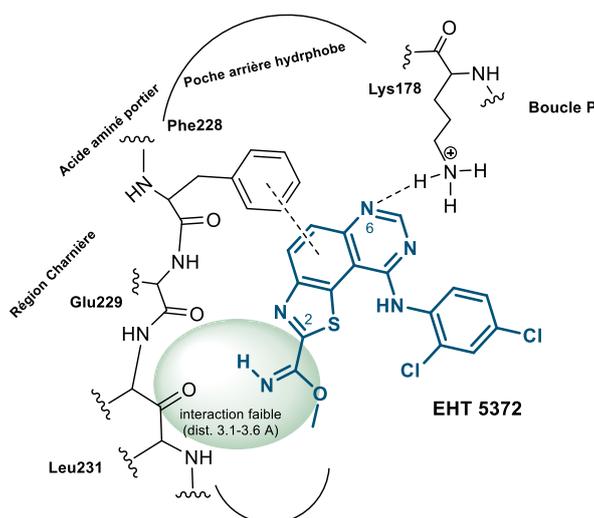


Figure III-1 : Représentation schématique du co-cristal EHT5372/DYRK2.⁸³

Ces résultats ont permis la synthèse et l'étude d'une nouvelle série de 8-alkylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones substituées en C2 par un groupement imidate. Ces composés se sont aussi montrés actifs sur DYRK1A ($59 \text{ nM} < IC_{50} < 91 \text{ nM}$) même si les valeurs des IC_{50} obtenues sont moins bonnes que celles précédemment décrites sur la série EHT. En se référant au co-cristal schématiquement représenté ci-dessus, une modélisation prédictive des interactions entre les dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et DYRK1A a pu être réalisée (voir Introduction générale, paragraphe 5.c.). Ce docking suggère que ces composés formeraient les mêmes types d'interactions avec la kinase que les EHT (Figure III-2).

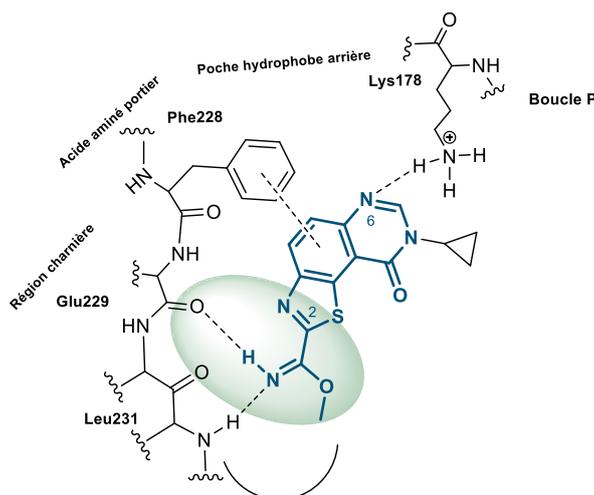


Figure III-2 : Modélisation prédictive des interactions entre le 8-cyclopropyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbimide de méthyle et DYRK1A.

Enfin, une étude sur la modélisation prévisionnelle basée sur l'extension de fragment en C2 de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one a été réalisée par l'équipe du Professeur Pascal Bonnet (ICOA Orléans), et en particulier par le Dr Julien Diharce. Cette étude a permis de définir de nouvelles structures moléculaires pour lesquelles les calculs et les modèles prévoient une forte interaction avec la kinase DYRK1A. Le groupement en position C2 de la molécule pourrait être modifié par un groupement aromatique (plus spécialement par un hétéroaryle) ou par l'élongation de la chaîne carbonée, avec des fragments fonctionnalisés capables d'interactions ou de liaisons avec notamment la région charnière du site catalytique de la kinase. De nouvelles chimiothèques de molécules substituées en C2 et potentiellement actives seraient également obtenues après la modulation supplémentaire du groupement alkyle en position N8.

Lors de ces travaux de thèse, des dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones (hétéro)arylés en C2 ont été synthétisés. La modulation de la position N8 de ces composés a aussi été réalisée. La liaison C_{sp2}-H activable en position C7 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a permis d'étudier l'arylation de cette position. Enfin, l'élongation de la chaîne carbonée a permis de créer de nouveaux composés tricycliques (Schéma III-1).

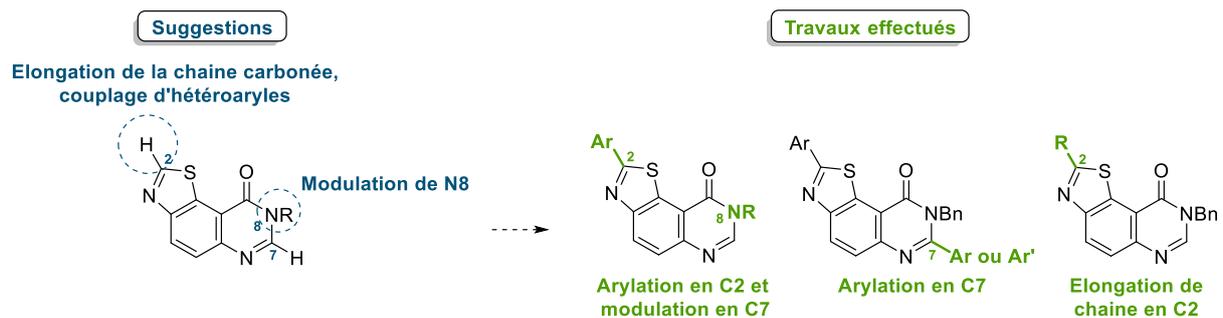


Schéma III-1 : Résumé des axes de recherches suggérés par le docking et des travaux réalisés.

III.2. Evaluation de l'activité inhibitrice

La société ManRos Therapeutics (Roscoff) a effectué les tests biologiques déterminant le pourcentage d'inhibition de nos molécules sur un panel de sept protéines kinases : CDK-2, CDK-5, CDK-9, CK1, CLK1, DYRK1A et GSK-3.

Les protéines kinases CDKs (« Cyclin-dependent kinases ») représentent l'une des familles les plus larges et les plus étudiées du groupe CMGC. Ces kinases ont, comme leur nom l'indique, une action sur les protéines cyclines, qui jouent un rôle important dans le cycle cellulaire.¹⁵¹ Les CDKs sont aussi impliquées dans la maladie d'Alzheimer, notamment dans l'hyperphosphorylation de la protéine tau.¹⁵²

La Caséine Kinase 1 (CK1), membre du groupe de protéines kinases CK, est impliquée dans la MA : cette kinase est retrouvée en plus grande concentration en cas de surproduction de plaques β -amyloïdes ou d'hyperphosphorylation de tau.¹⁵³

La protéine « Cdc2-like Kinase 1 » (CLK1) fait partie du groupe CMGC. Il a été décrit que cette protéine kinase pouvait avoir un rôle crucial dans la MA : elle serait capable de promouvoir la formation de l'isoforme tau4R, entraînant un déséquilibre du cytosquelette du neurone.¹⁵⁴

L'activité biologique de DYRK1A dans le système nerveux central et sur le cycle cellulaire est décrite dans l'introduction générale, respectivement aux paragraphes 2.a. et 2.b.. La surexpression de cette protéine kinase peut avoir des conséquences importantes, entraînant la mort neuronale et la quiescence des cellules.

GSK-3, ou Glycogène Synthase Kinase-3 est un des membres du groupe CMGC. L'activité de cette kinase est connue pour ses effets dans le cycle cellulaire ou encore dans certains cancers comme les cancers du sein, des ovaires et le cancer colorectal.^{75, 155} GSK-3 est aussi particulièrement étudiée

¹⁵¹ (a) M. Knockaert, P. Greengard, L. Meijer, *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 417–425. (b) P. Nurse, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 596–603.

¹⁵² (a) K. Baumann, E.-M. Mandelkow, J. Biernat, H. Piwnica-Worms, E. Mandelkow, *FEBS Lett.* **1993**, *336*, 417–424. (b) S. Leclerc, M. Garnier, R. Hoessel, D. Marko, J. A. Bibb, G. L. Snyder, P. Greengard, J. Biernat, Y.-Z. Wu, E.-M. Mandelkow, G. Eisenbrand, L. Meijer, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 251–260.

¹⁵³ (a) M. Flajolet, G. He, M. Heiman, A. Lin, A. C. Nairn, P. Greengard, *PNAS* **2007**, *104*, 4159–4164. (b) D. P. Hanger, H. L. Byers, S. Wray, K.-Y. Leung, M. J. Saxton, A. Seereeram, C. H. Reynolds, M. A. Ward, B. H. Anderton, *J. Biol. Chem.* **2007**, *282*, 23645–23654. (c) D. I. Perez, C. Gil, A. Martinez, *Med. Res. Rev.* **2011**, *31*, 924–954.

¹⁵⁴ P. Jain, C. Karthikeyan, N. S. H. N. Moorthy, D. K. Waiker, A. K. J. and P. Trivedi, *Curr. Drug Targets* **2014**, *15*, 539–550.

¹⁵⁵ M.-T. Webster, M. Rozycka, E. Sara, E. Davis, M. Smalley, N. Young, T. C. Dale, R. Wooster, *Genes. Chromosomes Cancer* **2000**, *28*, 443–453.

pour son activité en lien avec les plaques β -amyloïdes et la phosphorylation de la protéine tau dans le cadre de la MA.¹⁵⁶

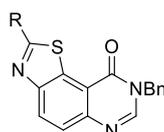
Les résultats des tests réalisés sur nos molécules sont exprimés en pourcentage d'inhibition. Ils renseignent le pourcentage de la population de kinase ayant survécu après un temps d'incubation en présence de l'inhibiteur potentiel. Chaque essai est réalisé avec une concentration finale en inhibiteur potentiel de 10 μ M. Au-dessus de 50%, les composés sont considérés comme inactifs. Il s'agit d'une méthode de criblage préliminaire permettant d'évaluer le potentiel des composés et ainsi de sélectionner uniquement les plus actifs avant d'en évaluer les IC₅₀.

Au total, 47 molécules ont été criblées. Les résultats sont divisés en deux groupes, en fonction de leur structure : les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones C2 substituées et les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones di- et bis-arylés.

III.2.a. Les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones substituées en C2

L'évaluation de l'activité biologique des 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones substituées en C2 par un groupement styrène, imidate méthylique ou encore 5,6-dihydropyrimidin-4(3*H*)-one a été effectuée (Tableau III-1). Seul le dérivé imidate **35** a montré un pourcentage d'inhibition intéressant sur les protéines kinases DYRK1A et CLK1 et GSK-3.

Tableau III-1 : Activité biologique des 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones C2 substituées.



N°	R	CDK-2	CDK-5	CDK-9	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
102		> 80	> 80	> 80	> 80	76	48	> 80
35		-	-	-	69	16	15	33
33^a		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80

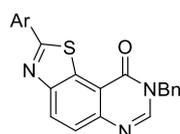
Ces résultats représentent le pourcentage de kinases non inhibées.

L'évaluation de l'activité inhibitrice des 2-aryl-8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones (Tableau III-2) a permis de mettre en évidence une activité intéressante des dérivés substitués en C2 par

¹⁵⁶ (a) F. Hernández, E. G. de Barreda, A. Fuster-Matanzo, P. Goñi-Oliver, J. J. Lucas, J. Avila, *Brain Res. Bull.* **2009**, *80*, 248–250. (b) A. Kremer, J. V. Louis, T. Jaworski, F. Van Leuven, *Front. Mol. Neurosci.* **2011**, *4*, 1–10.

un groupement hétéroaryle 3-pyridinyle ou 2-pyrazinyle (composés **60** et **62**). Ces composés présentent des pourcentages d'inhibition significatifs des kinases CLK1, DYRK1A et GSK-3 et une sélectivité de la protéine DYRK1A. Les autres composés C2-arylés se sont montrés inactifs pour l'inhibition des protéines kinases testées, tout comme le dérivé débenzylé **74**.

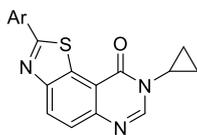
Tableau III-2 : Activité biologique des 8-benzyl-2-arylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-ones.



N ^o	Ar	CDK-2	CDK-5	CDK-9	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
39		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
74^a		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
38		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
53		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
54		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
55		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
56		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
57		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
58		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
59		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
60		> 80	> 80	> 80	> 80	51	2	18
61		> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
62		> 80	> 80	> 80	> 80	43	2	20

Ces résultats représentent le pourcentage de kinases non inhibées. ^a Dérivé débenzylé.

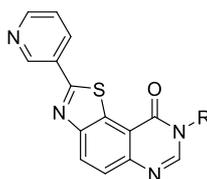
De la même manière, les composés arylés en C2 et substitués en position N8 par un groupement cyclopropyle ne se sont pas montrés actifs, à l'exception du dérivé 2-pyridin-3-yl **86** (Tableau III-3). L'évaluation de l'activité inhibitrice de cette molécule a permis de mettre en évidence une forte inhibition de CLK1, DYRK1A et de GSK-3, mais aussi une faible interaction avec CK1. Les essais sur les CDKs n'ont pas été réalisés pour cette série de composés.

Tableau III-3 : Activité biologique des 2-aryl-8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

N°	Ar	CDK-2	CDK-5	CDK-9	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
78		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80
79		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80
80		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80
81		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80
82		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80
83		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80
84		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80
85		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80
86		-	-	-	48	3	4	11
87		-	-	-	> 80	> 80	> 80	> 80

Ces résultats représentent le pourcentage de kinases non inhibées.

Le criblage des 2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a montré que seuls trois dérivés avaient une activité inhibitrice sur les sept kinases testées (Tableau III-4). Les composés substitués en position N8 par un groupement cyclopentyle **98**, cyclohexyle **99** ou méthyle **100** ont affiché un pourcentage d'inhibition sur DYRK1A ou d'autres kinases proche ou en dessous de 50%. Cependant, une seconde évaluation du pourcentage d'inhibition avec une concentration de 1 μ M en molécule testée a montré la perte de toute activité pour ces composés.

Tableau III-4 : Activité biologique des 2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

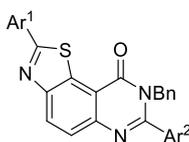
N°	R	CDK-2 ^a	CDK-5 ^a	CDK-9 ^a	CK1 ^a	CLK1 ^a	DYRK1A ^a	GSK-3 ^a
97		> 80	-	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
98		> 80	-	> 80	> 80	> 80	43 (> 80) ^a	> 80
99		> 80	-	> 80	> 80	> 80	55 (> 80) ^a	45 (> 80) ^a
100		> 80	-	> 80	> 80	26 (> 80) ^a	23 (> 80) ^a	> 80
101		> 80	-	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80

^a Pourcentage de kinases non inhibées. ^a Avec une concentration en inhibiteur potentiel de 1 μ M.

Quatre composés substitués en C2 ont montré des pourcentages d'inhibition intéressants. Leur IC₅₀ et une discussion sur les relations structure/activité sont présentées dans le paragraphe III.3. ci-dessous.

III.2.b. Les 8-benzyl-2,7-di- et bis-arylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones

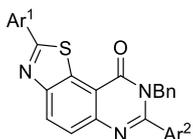
Ce groupe de molécules comprend les dérivés 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones bis- et di-arylés (Tableau III-5). Parmi les 16 composés évalués, aucun ne présente d'activité inhibitrice significative sur les sept protéines kinases testées.

Tableau III-5 : Activité biologique des 8-benzyl-2,7-di- et bis-arylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

N°	Ar ¹	Ar ²	CDK-2	CDK-5	CDK-9	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
40			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
46			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
47			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
48			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80

Résultats en pourcentage de kinases non inhibées.

Tableau III-5 (suite): Activité biologique des 8-benzyl-2,7-di- et bis-arylthiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8*H*)-ones.



N°	Ar ¹	Ar ²	CDK-2	CDK-5	CDK-9	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
49			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
50			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
41			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
63			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
64			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
65			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
66			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
67			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
68			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
69			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
70			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80
71			> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80	> 80

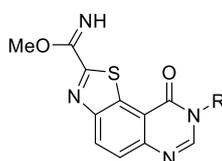
Résultats en pourcentage de kinases non inhibées.

Il semblerait que l'arylation de la position C7 ne soit pas favorable pour la formation de nouvelles interactions entre la molécule et la poche catalytique des kinases testées. Cependant, les dérivés les plus potentiellement actifs, hétéroarylés en C2 et/ou en C7, n'ont pas pu être synthétisés.

III.3. Etude des relations structure/activité

Dans un premier temps, une étude de la pharmacomodulation de la position N8 du 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbimide de méthyle **30** a été réalisée en comparant ses valeurs d'IC₅₀ avec celles des autres imidates méthyliques obtenues lors des précédents travaux. Il semblerait que le groupement benzyle entraîne une perte de l'inhibition des protéines kinases CLK1, DYRK1A et GSK-3. Le composé benzylé **30** reste tout de même modérément affiné de DYRK1A et CLK1 (Tableau III-6).

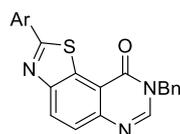
Tableau III-6 : IC₅₀ (μM) des dérivés 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbimides de méthyle.



N°	R	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
30		> 10	0,50	0,30	1,1
-		> 10	0,031	0,091	0,082
-		> 10	0,091	0,13	0,16
-		> 10	0,29	0,072	0,028
-		> 10	0,38	0,17	0,030
-		> 10	0,038	0,18	1,7
-		5,4	0,16	0,14	0,041

L'étude de la C–H arylation a permis de mettre en évidence l'importance de la nature du groupement aryle positionné en C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones ainsi que celui en position N8.

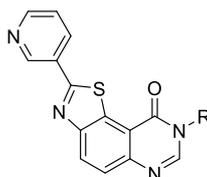
Les résultats les plus prometteurs pour les 2-aryl-8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones ont été obtenus avec les dérivés portant un groupement hétéroaryle en position C2 (Tableau III-7). Nous pouvons constater que le nombre d'hétéroatomes sur ce groupement ou son *ortho*-substitution ont une influence sur l'activité. Ainsi, le dérivé 3-pyridinyle **60** montre une sélectivité pour DYRK1A avec une IC₅₀ de 12 nM, tandis qu'un groupement 2-pyrazinyle (composé **62**) diminue l'affinité pour cette protéine kinase. Le dérivé **61** substitué par un groupement 2-méthoxy-3-pyridinyle ne montre aucune activité. D'après ces résultats, le groupement semblant favoriser l'activité inhibitrice de DYRK1A est le 3-pyridinyle.

Tableau III-7 : IC₅₀ des 2-aryl-8-benzyl-thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.^a

N°	Ar	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
39		> 10	> 10	> 10	> 10
38, 53 à 59		> 10	> 10	> 10	> 10
60		> 10	2,0	0,012	3,7
61		> 10	> 10	> 10	> 10
62		> 10	3,33	0,133	6,0

^a IC₅₀ en μM.

L'étude de la pharmacomodulation de la position N8 des 2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a mis en évidence l'activité inhibitrice de deux composés (Tableau III-8). Le dérivé N8-cyclopropyle **86** a montré des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire sur CLK1, DYRK1A et GSK-3, contrairement au dérivé N8-benzyl **60** qui est sélectif de DYRK1A. Plus surprenant, les autres composés substitués par un groupement alkyle en position N8 n'ont pas montré d'activité sur les kinases testées.

Tableau III-8 : IC₅₀ (μM) des 2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

N°	R	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
60		> 10	2,0	0,012	3,7
86		6,0	0,018	0,011	0,068
97		> 10	> 10	> 10	> 10
98		> 10	> 10	> 10	> 10
99		> 10	> 10	> 10	> 10
100		> 10	> 10	> 10	> 10
101		> 10	> 10	> 10	> 10

La 2-(pyridin-3-yl)-8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **86**, aussi nommée **FC162**, s'est montrée être le dérivé arylé le plus actif sur les kinases du groupe CMGC. D'autres tests

ont pu être effectués par nos différents collaborateurs, permettant de mieux définir l'activité biologique de cette molécule arylée.

III.4. Evaluation des propriétés biologiques du **FC162**

III.4.a. Kinome scan

L'activité du composé **FC162 (86)** a pu être mesurée sur un panel de 468 protéines kinases par la société ManRos Therapeutics. Les résultats de ces essais figurent sur le kinome scan ci-dessous, qui affiche une vision semi-quantitative de l'affinité de ce composé envers l'ensemble des kinases testées (Figure III-2). L'interaction entre une kinase et le **FC162 (86)** est représentée par un point rouge : plus le point est large, plus l'activité de l'inhibiteur est forte.

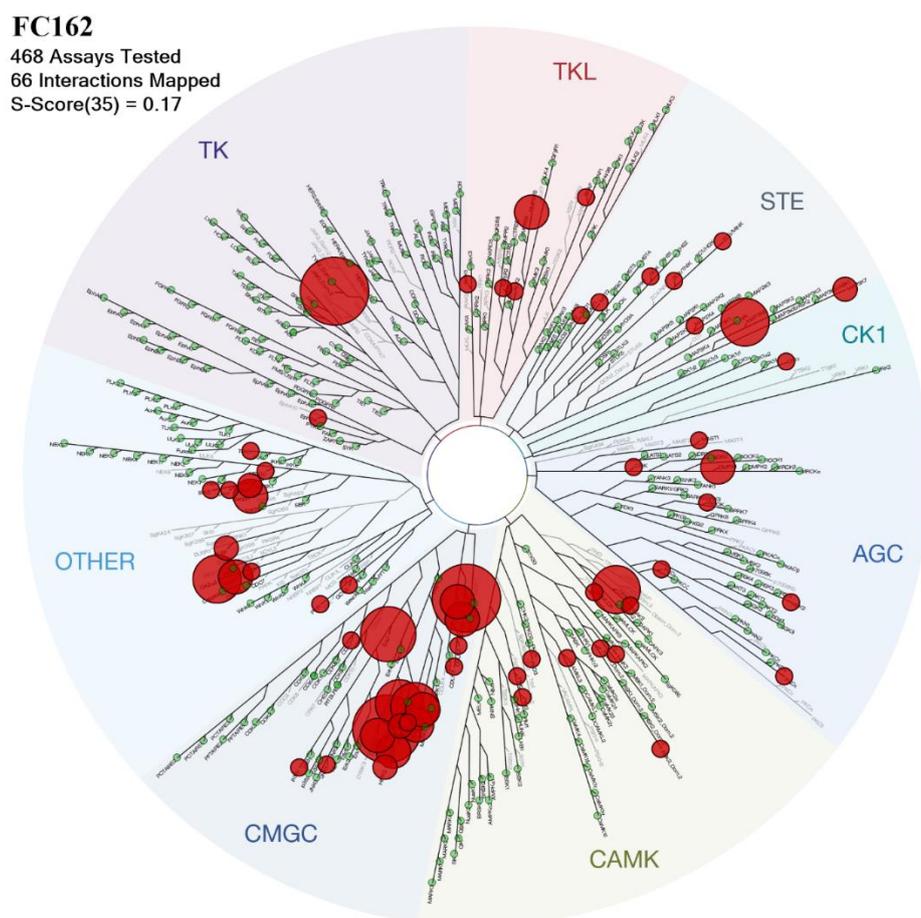


Figure III-2 : Kinome scan du **FC162 (86)**.

Cette étude a montré que le **FC162 (86)** avait des interactions avec 66 protéines kinases différentes, dont une majorité appartient au groupe CMGC. La haute affinité du **FC162 (86)** pour DYRK1A, GSK-3 et CLK1 a pu être vérifiée lors de ces tests. Ce nombre d'interactions dévoilerait un manque de sélectivité du **FC162 (86)**, surtout par rapport aux EHT. En effet, sur un panel de 339 protéines kinases, l'EHT 5372 a montré une interaction avec seulement onze d'entre elles.⁸¹

III.4.b. Co-cristal FC162/DYRK1A

Un co-cristal **FC162**/DYRK1A a pu être formé puis analysé par l'équipe du Pr. Knapp (Goethe University, Frankfurt am Main, Germany). Comme les modélisations prévisionnelles l'ont suggéré, l'inhibiteur arylé forme trois interactions avec le site catalytique de la protéine kinase (Figure III-3).

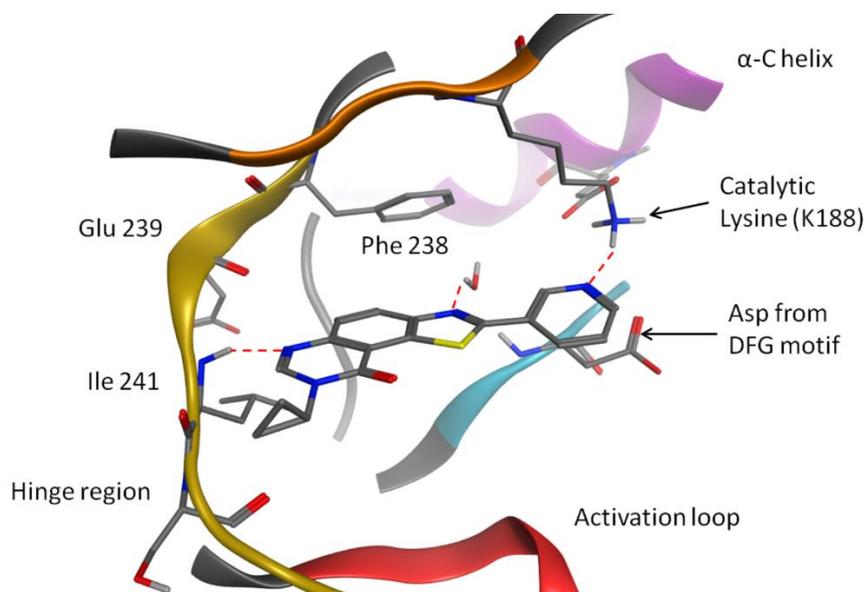


Figure III-3 : Représentation du co-cristal FC162/DYRK1A.

Cette étude a révélé que le placement de l'inhibiteur était en fait opposé à celui des EHT décrits précédemment. L'analyse RX du co-cristal **FC162**/DYRK1A a montré que l'azote du groupement 3-pyridinyle du **FC162** (**86**) formait des liaisons hydrogène avec la lysine 188 (et non avec des résidus de la région charnière). L'azote N6 interagit *via* le même type de liaison avec un résidu de la région charnière. Enfin, le cycle benzénique forme une interaction de type π -stacking avec le résidu portier Phe 238 (Figure III-4).

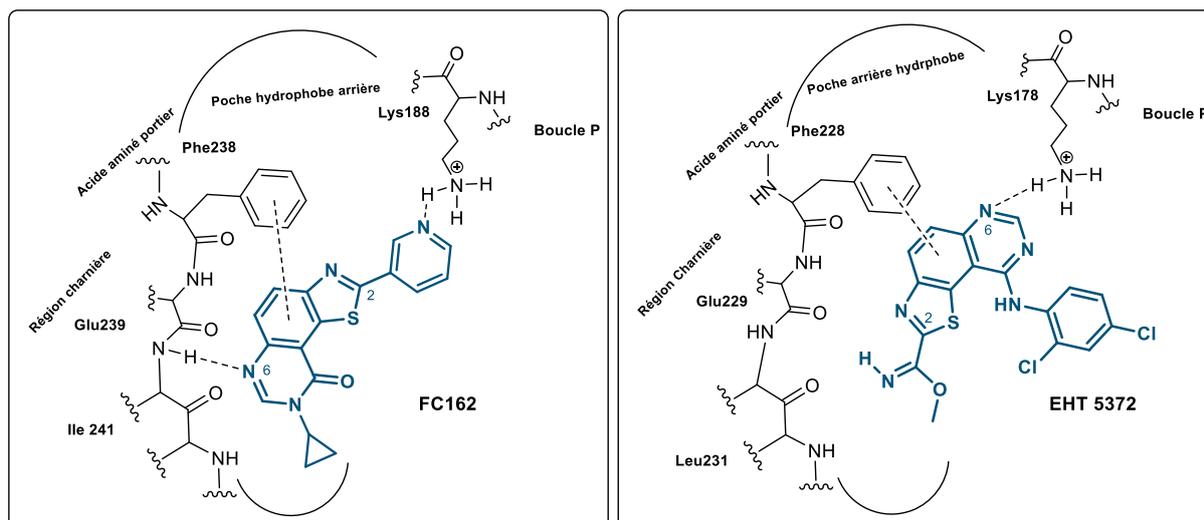


Figure III-4 : Représentation schématique des co-cristaux **FC162/DYRK1A** (gauche) et **EHT5372/DYRK2** (droite).

Ce positionnement « inversé » du **FC162 (86)** par rapport aux EHT pourrait être la cause de la perte de sélectivité de DYRK1A. Si on se réfère aux travaux publiés sur divers composés de la littérature, le positionnement du **FC162 (86)** devient plus conventionnel. De ce fait, cette molécule serait plus « compatible » avec le site actif de kinases variées, expliquant son manque de sélectivité.^{31, 35, 157}

III.4.c. Effets du **FC162 (86)** sur DYRK1A en milieu cellulaire

Des essais sur des cellules neuroblastes et pré-B ont été effectués afin de déterminer le pouvoir inhibiteur du **FC162 (86)** sur DYRK1A en milieu cellulaire.

III.4.c.i Dans les neuroblastes

La société ManRos Therapeutics a effectué des essais sur des cellules neuroblastes. Dans ce type de cellules, la kinase DYRK1A phosphoryle particulièrement la protéine cycline D1 sur son résidu thréonine 286 et la protéine tau sur son résidu thréonine 212. Plusieurs essais ont été réalisés en introduisant une concentration croissante du **FC162 (86)** en présence de neuroblastes. Les tests comparatifs positifs ont été réalisés avec la Leucettine L41, un inhibiteur de DYRK1A de référence (voir dans l'introduction générale, paragraphe 3.b.v.).

Sur la figure III-5 A, la diminution de l'intensité du marqueur montre que la phosphorylation des cyclines D1 sur la Thr286 est inhibée en fonction de la dose de **FC162 (86)** introduite, confirmant

¹⁵⁷ T. Koyama, N. Yamaotsu, I. Nakagome, S. Ozawa, T. Yoshida, D. Hayakawa, S. Hirono, *J. Mol. Graph. Model.* **2017**, 72, 229–239.

l'activité de ce composé sur DYRK1A. De la même manière, la figure III-5 **B** montre une absence de la phosphorylation de la protéine tau sur la Thr212 en présence du **FC162 (86)**.

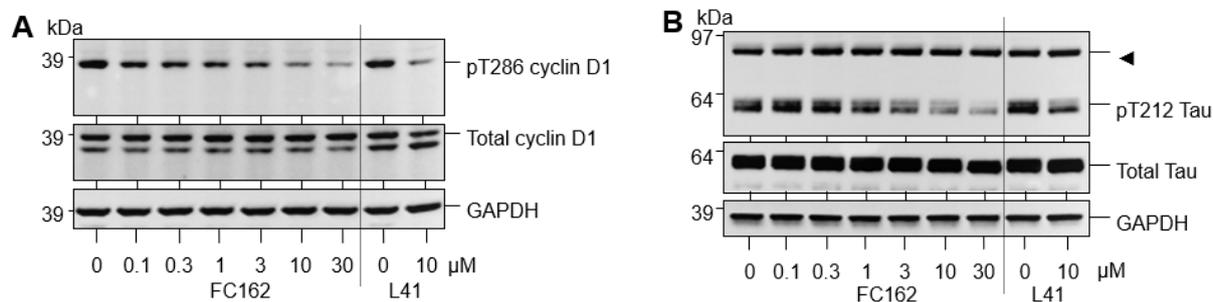


Figure III-5 : Effets du **FC162 (86)** en milieu cellulaire composé de neuroblastes.

Ces résultats confirment l'activité inhibitrice du **FC162 (86)** sur DYRK1A en milieu cellulaire.

III.4.c.ii Dans les cellules pré-B

Le groupe du Prof John D. Crispino (Northwestern University, Illinois, USA) a démontré en utilisant l'EHT 1610 que l'inhibition de DYRK1A entraîne la diminution de la phosphorylation de la cycline D3 sur la Thr283 dans les cellules pré-B, les conduisant à sortir de quiescence.²⁰

Afin d'évaluer l'activité du **FC162 (86)** en milieu cellulaire et son potentiel inhibiteur de DYRK1A, des essais sur des cellules pré-B ont été réalisés.

Dans un premier temps, une réduction de la phosphorylation de la cycline D3 sur la Thr283 a pu être observée en fonction de la dose de **FC162 (86)** introduite, confirmant une nouvelle fois l'activité inhibitrice de ce composé sur DYRK1A en milieu cellulaire (Figure III-6).

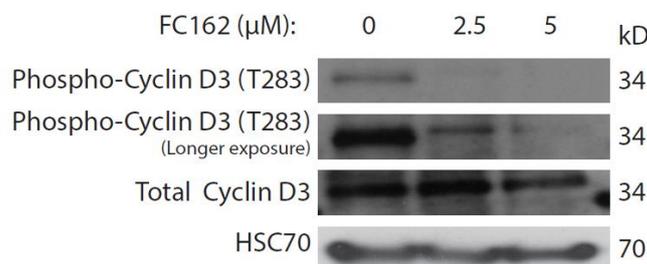


Figure III-6 : Inhibition de la phosphorylation de la cycline D3 en fonction de la dose de **FC162 (86)** introduite.

Ensuite, quatre essais ont été comparés afin d'évaluer les effets du **FC162 (86)** sur la quiescence cellulaire. Après chaque test, les cellules ont été comptées et caractérisées par cytométrie en flux, ce qui permet de différencier les cellules en fonction de leur stade dans le cycle cellulaire. Les résultats sont alors présentés sous la forme d'un histogramme biparamétrique (Figure III-7).

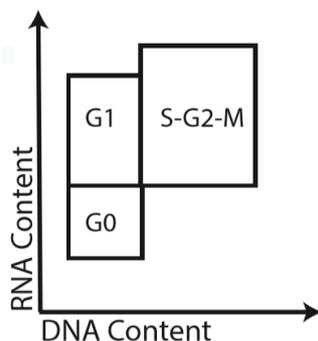


Figure III-7 : Répartition des populations de cellules en fonction de leur stade dans le cycle cellulaire sur un histogramme biparamétrique.

Le premier test a été réalisé avec des cellules pré-B qui ne possèdent pas de protéines kinases DYRK1A. Le second a été effectué à partir de pré-B qui ont été placées en amont des essais dans des conditions favorisant leur sortie du cycle cellulaire. Ces cellules ont aussi été mises en présence de différentes doses de **FC162 (86)**, correspondant aux deux derniers essais (Figure III-8).

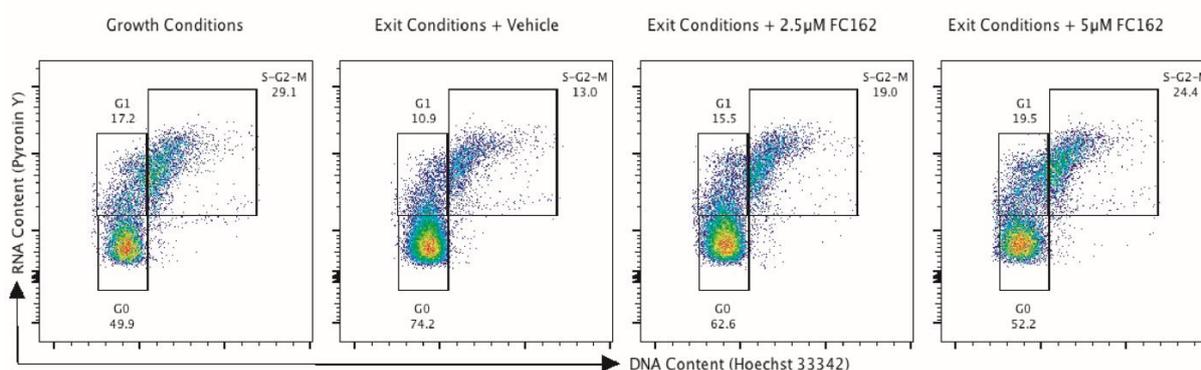


Figure III-8 : histogrammes biparamétriques issus de l'analyse par cytométrie en flux des quatre essais.

Ces résultats ont aussi été exprimés à l'aide d'un histogramme monoparamétrique. Ce dernier permet de confirmer que l'introduction du **FC162 (86)** favorise la sortie de la quiescence des cellules. De plus, les cellules pré-B du milieu comprenant une concentration de 5 µM en **FC162 (86)** se comportent de la même manière que celles dépourvues de kinases DYRK1A (Figure III-9).

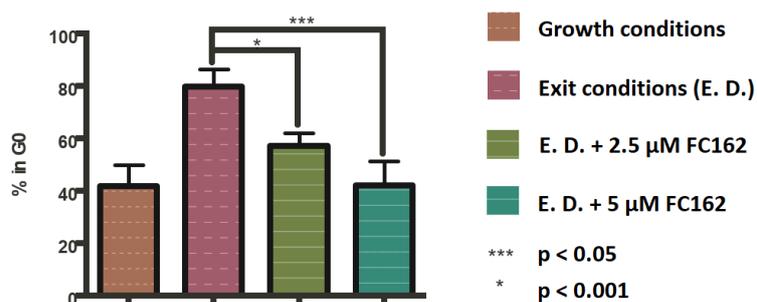


Figure III-9 : Histogramme monoparamétrique issu de l'analyse par cytométrie en flux des quatre essais.

Ces résultats confirment que l'inhibition de DYRK1A par le **FC162 (86)** favorise l'entrée des cellules pré-B dans le cycle cellulaire.

III.4.d. Diffusion passive de la BHE

Une étude de la diffusion passive de la barrière hémato-encéphalique (BHE) a été réalisée avec la méthode PAMPA¹⁵⁸ par l'équipe du Prof. Aurélie Malzert-Freon (CERMN, Caen) sur le **FC162 (86)**. La perméabilité effective (Pe) calculée à l'issue de ce test renseigne sur la capacité du composé à diffuser dans la BHE.

La perméabilité effective du **FC162 (86)** a pu être calculée puis comparée à celles de la théophylline (référence négative), et de la corticostérone (référence positive). Les résultats ont montré que le **FC162 (86)** diffuse de la même manière dans la BHE que la corticostérone (Tableau III-9). Cette propriété est intéressante pour d'éventuelles utilisations thérapeutiques du **FC162**.

Tableau III-9 : Etude de la diffusion passive de la BHE sur le **FC162 (86)**.

Nom produit	Concentration testée	logPe	Pe (10 ⁻⁶ cm/s)	Interprétation
FC162	100 µM	-4,92 ± 0,04	12,18 ± 1,10	Diffuse
Théophylline	250 µM	-6,26 ± 0,03	0,55 ± 0,03	Ne diffuse pas
Corticostérone	100 µM	-4,86 ± 0,07	13,86 ± 2,20	Diffuse

¹⁵⁸ L. Di, E. H. Kerns, K. Fan, O. J. McConnell, G. T. Carter, *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38, 223–232.

III.5. Conclusions et perspectives

Les travaux sur les modifications de chaîne en position C2 issus de l'addition nucléophile sur les 9-oxo-8,9-dihydrothiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitriles n'ont pas permis d'obtenir un nouvel inhibiteur de DYRK1A. Peu de composés ont pu être synthétisés et testés : cet axe de recherche reste donc pertinent pour l'élaboration de potentiels inhibiteurs.

L'évaluation de l'activité inhibitrice des 2-arylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones a révélé que le couplage d'un groupement 3-pyridinyle en position C2 favorisait l'activité inhibitrice de certains dérivés, mettant en avant le composé **FC162 (86)** en tant qu'inhibiteur de DYRK1A. Des tests biologiques complémentaires ont confirmé son activité en milieu cellulaire et son intérêt potentiel dans certaines applications, en particulier en cancérologie. L'étude de la diffusion passive de la BHE a aussi permis de montrer que le **FC162 (86)** possède certaines caractéristiques utiles à de nouvelles investigations en biologie. La réalisation d'un kinome scan a pu montrer que ce composé était moins sélectif que les dérivés EHT. L'analyse du co-cristal **FC162/DYRK1A** pourrait apporter des éléments de réponse sur cette perte de sélectivité.

Enfin, l'arylation de la position C7 n'a pas permis d'observer une activité inhibitrice intéressante sur les protéines kinases testées.

A partir de ces résultats, le couplage du groupement 3-pyridinyle en C2 a été envisagé sur des structures plus simples de type benzo[*d*]thiazole, qui ont été choisies en tant que nouveaux substrats afin d'étudier l'effet de la suppression du cycle pyrimidin-4(3*H*)-one sur l'activité des molécules. Une fois substituées en C2, ces structures, qui seraient fonctionnalisées en C6 par un groupement accepteur de liaisons hydrogène, pourraient maintenir les trois points d'ancrage avec la poche catalytique de DYRK1A qui semblent nécessaires à l'activité de la molécule (Figure III-10).

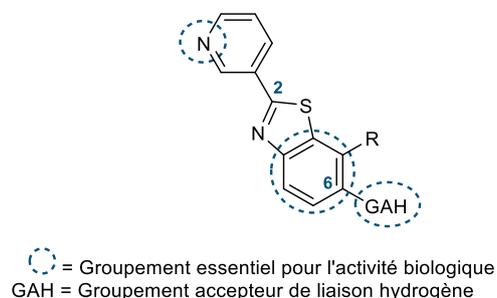


Figure III-10 : Etude envisagée sur les noyaux benzo[*d*]thiazoles.

L'étude du couplage du groupement 3-pyridinyle en C2 des benzo[*d*]thiazoles a pu être effectuée lors de ces travaux de thèse. Elle est décrite dans le chapitre 4 ci-après.

Chapitre 4 : Modulation des positions C2 et C7 des benzo[*d*]thiazoles

Chapitre 4 : Modulation des positions C2 et C7 des benzo[*d*]thiazoles

IV.1.	Introduction	208
IV.2.	Fonctionnalisation des positions C2 et C7 du 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-2,7-dicarbonitrile 116 <i>via</i> des réactions d'addition nucléophile	211
IV.2.a.	Synthèse du 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-2,7-dicarbonitrile 116	211
IV.2.b.	Etude de la régiosélectivité du 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-2,7-dicarbonitrile 116	213
IV.2.b.i	Addition du méthanolate	213
IV.2.b.ii	Addition de la <i>p</i> -toluidine.....	214
IV.2.b.iii	Addition de l'hydroxylamine	215
IV.2.c.	Formation du 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-2,7-dicarbonitrile substitué en C7 par un groupement amidine	215
IV.3.	Fonctionnalisation des benzo[<i>d</i>]thiazoles en position C2 <i>via</i> une réaction d'arylation directe	217
IV.3.a.	Arylation directe en C2 des 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazole-7-carboxylates de méthyle.	217
IV.3.b.	Arylation directe en C2 des 6-aminobenzo[<i>d</i>]thiazoles.....	221
IV.3.c.	Arylation directe en C2 du 6-méthoxybenzo[<i>d</i>]thiazole	222
IV.4.	Evaluation de l'activité inhibitrice	224
IV.5.	Conclusions et perspectives.....	225
IV.6.	Partie expérimentale	228

IV.1. Introduction

De nombreux composés provenant de ressources naturelles se sont révélés biologiquement actifs. Cependant, les structures de ces molécules, souvent composées de plusieurs cycles et de nombreux centres stéréogènes, sont difficiles à synthétiser.¹⁵⁹ Afin de développer de nouveaux médicaments, une stratégie consistant à simplifier la structure de ces dérivés naturels est usuellement appliquée.¹⁶⁰ Le chimiste tente alors de synthétiser des molécules plus simples, formées des groupes d'atomes pharmacophores qui ont été identifiés sur le composé naturel actif. Cette stratégie a été utilisée par exemple par Uhlfelder et coll.,¹⁶¹ qui ont synthétisé la Procaine en 1909. Ce dérivé est issu de la simplification structurelle de la cocaïne (Figure IV-1).

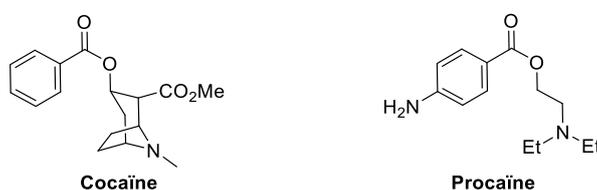


Figure IV-1 : Structures de la cocaïne et de la procaine.

Parmi les nombreuses molécules synthétisées au laboratoire, cinq dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et cinq dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolines (EHT) se sont révélés être de puissants inhibiteurs sélectifs de DYRK (Figure IV-2). Ces composés sont tous substitués en position C2 par un groupement imidate.

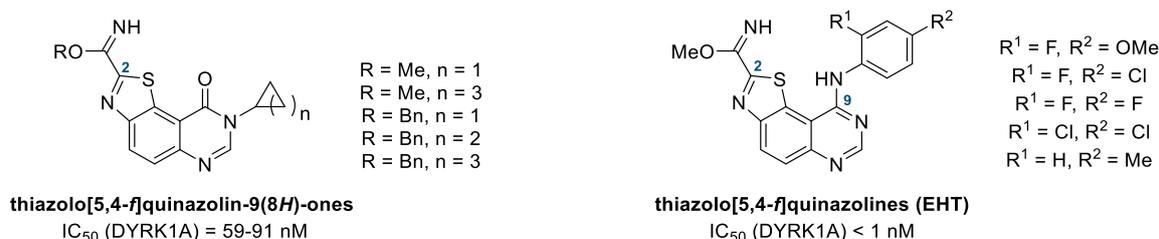


Figure IV-2 : Thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et thiazolo[5,4-*f*]quinazolines les plus actives sur DYRK1A.

A partir des co-cristaux EHT/DYRK2 dont l'analyse RX est décrite dans l'introduction générale, paragraphe 5.b., des modélisations prédictives des interactions entre les EHT ou les dérivés thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones avec DYRK1A ont suggéré que trois atomes ou groupes d'atomes

¹⁵⁹ D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2007**, 70, 461–477.

¹⁶⁰ L. P. Graham, Chimie pharmaceutique, second edition translate by Paul Depovere, Eds.; De Boeck, Bruxelles, Belgium, **2003**.

¹⁶¹ A. Einhorn, K. Fiedler, C. Ladisch, E. Uhlfelder, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1909**, 371, 142–161.

de ces molécules actives forment des interactions avec la protéine kinase : deux liaisons hydrogène avec l'azote du groupement imidate et celui en position 6, et une interaction de type π -stacking avec le groupement phényle (Figure IV-3).

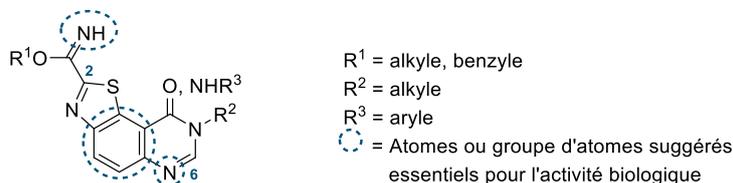


Figure IV-3 : Atomes et groupe d'atomes suggérés essentiels pour l'activité des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et des thiazolo[5,4-*f*]quinazolines sur DYRK1A.

Cependant, les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et les thiazolo[5,4-*f*]quinazolines ont plusieurs désavantages : leur synthèse est longue et ces composés présentent parfois des problèmes de solubilité. De plus, la stabilité métabolique de la fonction méthyl-imidate a toujours suscité de nombreuses questions chez nos collègues biologistes et pharmacologues. Afin de pallier ces défauts tout en conservant une activité inhibitrice de kinase, la synthèse de molécules possédant une structure plus simple a été envisagée.

Les trois fonctions assurant l'activité biologique peuvent constituer le squelette de benzo[*d*]thiazoles. Afin d'obtenir des structures semblables à celles des dérivés tricycliques actifs, ces composés seraient substitués en C2 par un groupement imidate et en C6 par une amine libre ou protégée. Les intermédiaires benzo[*d*]thiazoles poly-fonctionnalisés, utilisés comme précurseurs des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones et des thiazolo[5,4-*f*]quinazolines ont donc été envisagés en tant que réactif. Ces molécules, dont la synthèse est connue au laboratoire, possèdent un groupement nitrile en C2 qui peut facilement être fonctionnalisé et une fonction amine en C6. Les résultats sur l'activité biologique obtenus lors des travaux antérieurs montrent que les thiazolo[5,4-*f*]quinazolines sont des inhibiteurs plus puissants que les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. De ce fait, ces travaux ont été initiés avec le précurseur 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile (Schéma IV-1).

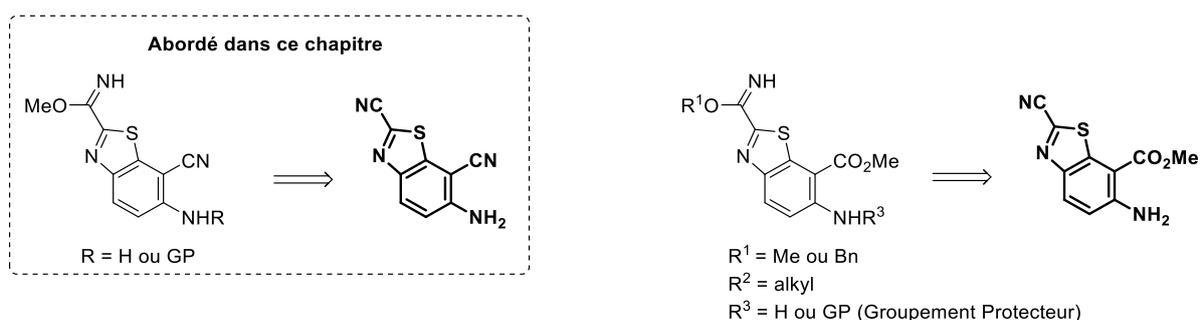


Schéma IV-1 : Fonctionnalisations envisagées des benzo[*d*]thiazoles poly-fonctionnalisés.

Afin d'étudier l'effet d'un groupement structurellement proche du noyau pyrimidin-4-amine des EHT mais possédant une grande mobilité conformationnelle, la formation de 6-aminobenzo[*d*]thiazoles substitués en C7 par une amidine a été envisagée. Cette structure simplifiée pourrait favoriser de nouvelles interactions avec la poche catalytique des kinases et améliorer la sélectivité des composés. (Schéma IV-2).

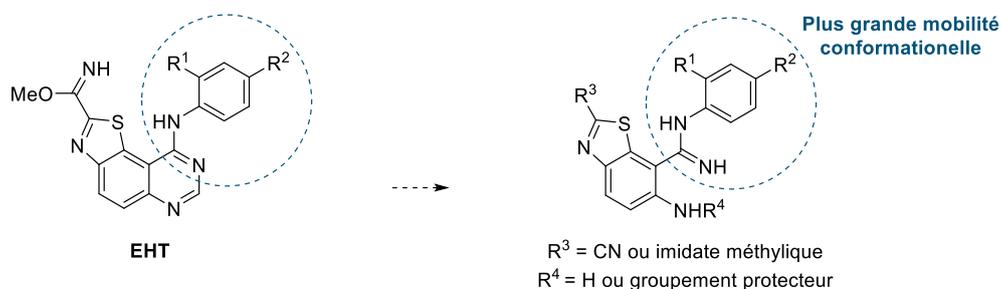


Schéma IV-2 : 6-aminobenzo[*d*]thiazoles substitués en C7 par une amidine envisagés à partir de la structure des EHT.

L'évaluation de l'activité inhibitrice de certains dérivés 2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones ayant montré des valeurs d'IC₅₀ sur DYRK1A de l'ordre du nanomolaire (Chapitre 3, paragraphe III.3.), l'arylation directe en position C2 du composé issu de la décyanation du 6-amino-2-cyanobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle a également été étudiée (Schéma IV-3).

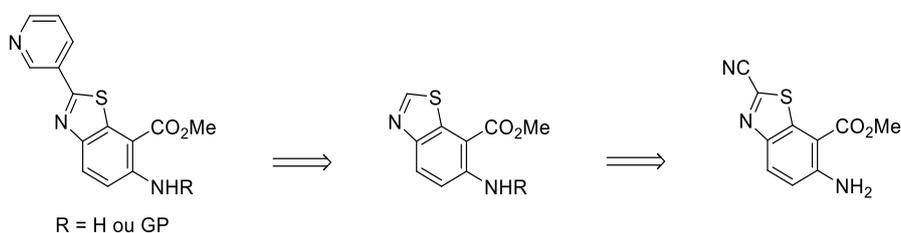


Schéma IV-3 : Stratégie envisagée pour l'étude de l'arylation directe du 6-amino-2-cyanobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle.

IV.2. Fonctionnalisation des positions C2 et C7 du 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile **116** via des réactions d'addition nucléophile

Le 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile possédant deux groupements nitriles en C2 et en C7, on peut s'interroger sur la différence de réactivité et donc de la régiosélectivité potentielle lors de réactions d'addition nucléophile sur ce composé. L'environnement électronique de chacune des fonctions nitriles pourrait permettre de les distinguer. L'expérience du laboratoire dans la chimie de tels composés laisse à penser que la position C2 est la plus réactive vis-à-vis de ce type de réaction (Schéma IV-4).

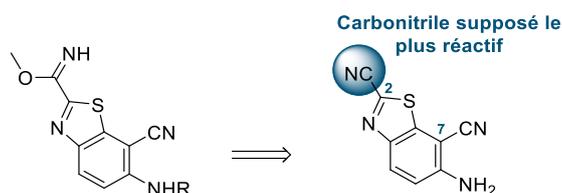


Schéma IV-4 : Stratégie envisagée pour la synthèse des dérivés benzo[d]thiazoles souhaités.

Etant donné cette régiosélectivité présumée, nous avons envisagé d'obtenir des benzo[d]thiazoles substitués en C7 par un groupement amidine via la cyclisation d'un précurseur dithiazole déjà fonctionnalisé. L'addition d'une aniline sera alors tentée sur un intermédiaire de réaction du 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile **116** (Schéma IV-5).

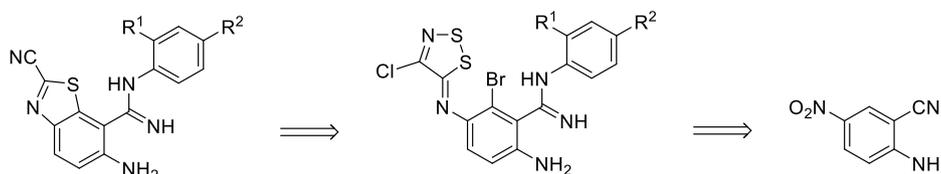


Schéma IV-5 : Stratégie envisagée pour la synthèse des 6-aminobenzothiazoles substitués en C7 par une amidine.

La première étape de ces travaux a été la synthèse du précurseur 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile.

IV.2.a. Synthèse du 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile **116**

La synthèse déjà optimisée par le laboratoire a permis d'obtenir le 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile **116** en 6 étapes à partir du 5-nitroanthranilonitrile qui est disponible commercialement

et peu onéreux (Schéma IV-6).¹⁶² La première étape de cette stratégie est la protection de l'aniline du 5-nitroanthranilonitrile avec un groupement carbamate en présence de dicarbonate de di-*tert*-butyle (Boc₂O), de triéthylamine et de DMAP dans le dichlorométhane pendant 2,5 h. Le dérivé anthranilonitrile protégé **111** est réduit lors d'une réaction de transfert d'hydrogène pallado-catalysée conduisant au (4-amino-2-cyanophényl)carbamate de *tert*-butyle **112** avec un rendement de 96%. La bromation régiosélective en présence de NBS dans le DMF à température ambiante pendant 2,5 h permet d'isoler l'unique régioisomère **113** à hauteur de 96%. L'aniline **113** réagit ensuite avec le sel d'Appel, conduisant au dérivé dithiazole **115**. Après avoir été déprotégé en milieu acide, le composé benzénique poly-fonctionnalisé **115** est mis en présence d'un excès de cuivre(I) dans la pyridine chauffée à reflux pendant 30 min afin de synthétiser le benzo[*d*]thiazole **116** avec un rendement de 62%, soit un rendement global de 26%.

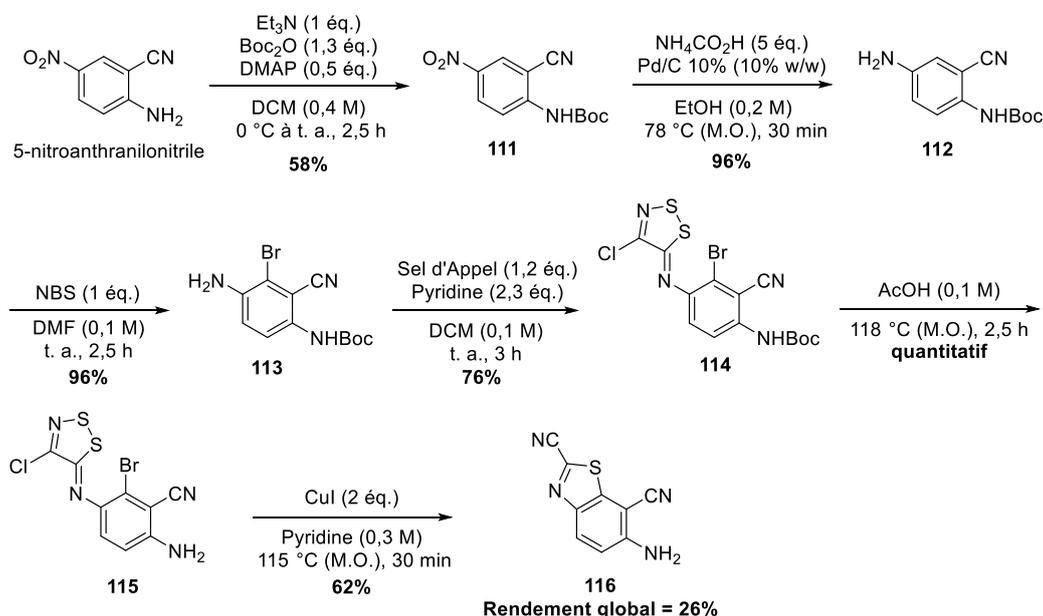


Schéma IV-6 : Synthèse de l'intermédiaire clef **116**.

Un essai de cyclisation sans métaux a été réalisé à partir du dithiazole **115**. Les conditions utilisées sont issues de l'optimisation de la synthèse des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones, présentée dans le chapitre 2 (paragraphe II.2.a.ii.(b)). Pour ce test, le *tert*-butylate de lithium a été utilisé en tant qu'additif afin de favoriser la dégradation du DMF en diméthylamine qui permet la réaction de cyclisation. Ces conditions n'ont pas permis d'isoler de benzo[*d*]thiazole **116** ; seule la dégradation du milieu réactionnel a été observée (Schéma IV-7).

¹⁶² Leblond, B.; Casagrande, A.-S.; Désiré, L.; Foucourt, A.; Besson, T. *WO 2013/026806 A1* **2013**.

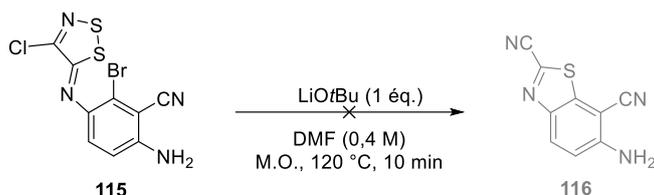


Schéma IV-7 : Essai de cyclisation du dithiazole **115** sans métaux.

IV.2.b. Etude de la régiosélectivité du 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile **116**

IV.2.b.i Addition du méthanolate

La méthode décrite pour la formation des 2-imidates thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones dans le chapitre 1 a été appliquée au 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile **116**. Le composé di-cyané **116**, en présence d'une solution aqueuse de soude dans le méthanol, à température ambiante pendant 1 h a donné un mélange 9/1 des deux régioisomères **117** et **118**, non séparables à cause de leur insolubilité dans les solvants organiques. La disparition totale du réactif **116** a été cependant constatée (Schéma IV-8). La régiosélectivité en faveur du nitrile en C2 a pu être vérifiée : sur le spectre ^{13}C du mélange, un pic à 83,05 ppm appartenant au produit majoritaire a été observé. Ce signal correspond au carbone C7 substitué par un groupement nitrile.

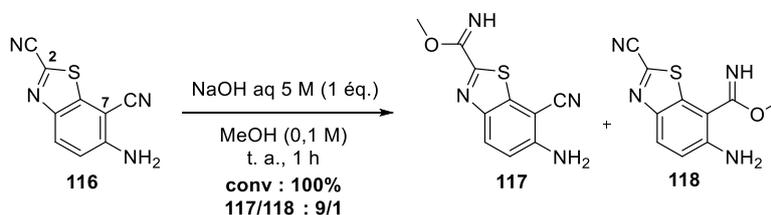


Schéma IV-8 : Addition du méthylate de sodium sur une fonction nitrile : étude de la régiosélectivité.

Les conditions d'addition d'une aniline sur un dérivé benzonitrile décrites par l'équipe de Koutentis ont ensuite été appliquées à ce mélange d'isomères inséparables.¹⁶³ Nous avons espéré isoler l'amidine **119**, dans le but d'étudier l'effet de la mobilité conformationnelle du groupement en position C7. Cette réaction pouvait aussi conduire au composé **120** issu de la condensation de la *p*-toluidine en C2 ou encore à la diamidine **121**, qui sont aussi intéressants dans le cadre de l'étude RSA.

La réaction avec la *para*-toluidine, en présence de chlorure d'aluminium dans le toluène à 110 °C n'a pas permis d'observer les dérivés **119** et **121**. Cependant, l'amidine **120** et l'amide **122** issu de son hydrolyse partielle ont été isolés avec des rendements respectifs de 21% et 15% (Schéma IV-9). Ces conditions ont en partie engendré la dégradation du milieu réactionnel.

¹⁶³ P. A. Koutentis, S. I. Mirallai, *Tetrahedron* **2010**, 66, 5134–5139.

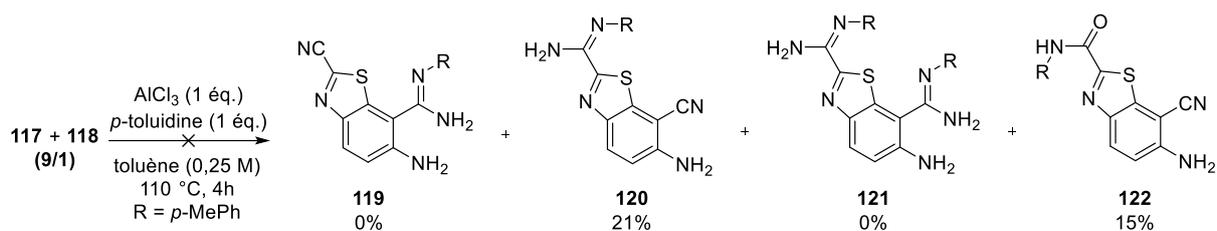


Schéma IV-9 : Réaction en présence de la *p*-toluidine sur le mélange **117** + **118**.

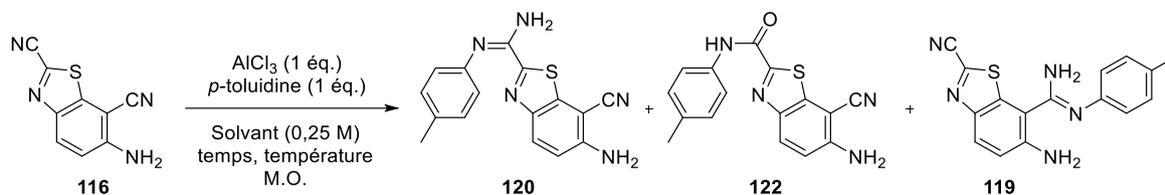
Cette réaction d'addition nucléophile a ensuite été étudiée dans le but d'obtenir les composés **120** et **122** avec de meilleurs rendements.

Les travaux sur la formation de l'imidate n'ont pas été poursuivis à cause de la trop faible solubilité des produits formés.

IV.2.b.ii Addition de la *p*-toluidine

Les conditions décrites par le groupe de Koutentis ont été appliquées au nitrile **116**.¹⁶³ L'addition de la *p*-toluidine sur le dérivé **116** a conduit, après un chauffage de 20 h, à l'amidine **120** avec un rendement de 40% (Tableau IV-1, Entrée 1).

Tableau IV-1 : Essais d'addition nucléophile de la *p*-toluidine sur le 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile **116**.



Entrée	Solvant	Temps (h)	Température (°C)	120 (%)	122 (%)	119 (%)
1 ^a	Toluène	20	110	40	-	-
2 ^a	α,α,α -Trifluorotoluène	24	102	-	-	-
3	α,α,α -Trifluorotoluène	3	102	-	-	-
4	NMP	1,5	200	20	27	-
5 ^b	NMP	1,5	200	21	34	-
6	NMP	2	200	-	31	-

^a chauffage thermique. ^b 2 éq. *p*-toluidine.

La conversion non totale (38% du réactif **116** ont été isolés après purification) a initié l'optimisation de la réaction. Lorsque le α,α,α -trifluorotoluène est utilisé comme solvant, une conversion de 50% ainsi qu'une dégradation du nitrile **116** sont observées (Tableau IV-1, Entrées 2 et 3). La NMP

n'a pas permis d'augmenter le rendement de l'amidine **120** (Entrées 4 à 6). L'augmentation du nombre d'équivalents de *p*-toluidine n'a pas mené à de meilleurs résultats (Entrée 5) ; un temps de réaction plus long a engendré la dégradation de la molécule **120** (Entrée 6). L'hydrolyse de ce composé en amide **122** ne s'est produite qu'en présence de NMP (Entrées 4 à 6). Le régioisomère **119** n'a pas été observé lors de ces essais.

Cette étude a permis de synthétiser l'amidine **120** avec un rendement de 40% mais aussi d'isoler l'amide **122**. Ces deux composés ont été envoyés en tests biologiques. Les travaux d'addition nucléophile sur le 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile **116** seront poursuivis ou non en fonction de ces résultats qui ne sont pas encore disponibles.

IV.2.b.iii Addition de l'hydroxylamine

L'évaluation de l'activité inhibitrice des thiazolo[5,4-*f*]quinazolines substituées en C2 par une hydroxylamine a montré des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire sur certaines protéines kinases, dont DYRK1A (résultats non publiés). Toujours dans le but d'étendre nos travaux de RSA, la simplification structurale de ces composés sous la forme du 6-amino-7-cyano-*N'*-hydroxybenzothiazole-2-carboximidamide **123** a été envisagée. Les conditions décrites par le laboratoire, c'est-à-dire un excès d'une solution aqueuse d'hydroxylamine dans le THF pendant 1 h à température ambiante, ont donné le seul régioisomère **123** avec un rendement de 85% (Schéma IV-10). La structure de ce régioisomère a pu être confirmée par l'analyse du spectre RMN ¹³C.

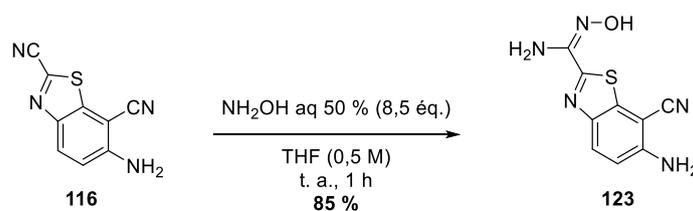


Schéma IV-10 : Synthèse de l'hydroxylamine **123**.

IV.2.c. Formation du 6-aminobenzothiazole-2,7-dicarbonitrile substitué en C7 par un groupement amidine

Afin d'obtenir le 6-aminobenzothiazole-2-carbonitrile substitué en C7 par un groupement amidine **119**, les conditions d'addition de la *p*-toluidine ont été appliquées sur les intermédiaires réactionnels conduisant au précurseur nitrile **116**. Malheureusement, aucune amidine correspondant au produit de réaction des substrats **112**, **113** ou **114** n'a été isolée. La dégradation du réactif a été observée à chaque essai (Schéma IV-11).

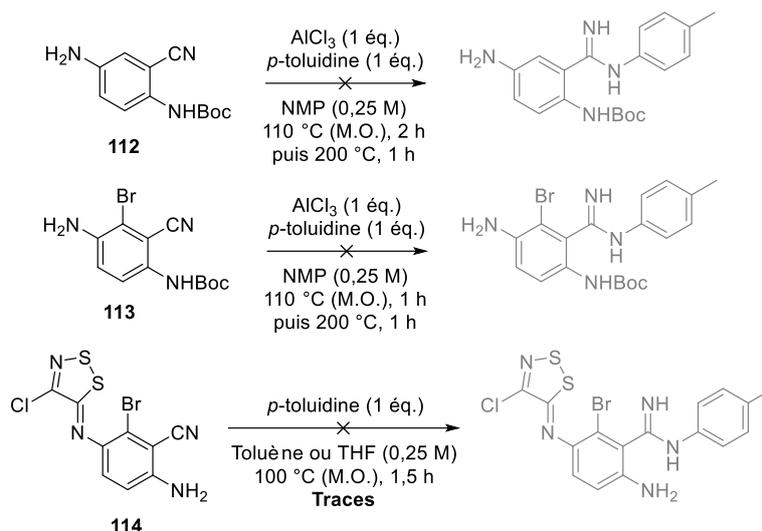


Schéma IV-11 : Essais de formation d'amidine sur les intermédiaires **112**, **113** et **114**.

L'essai sur le produit commercial 5-nitroanthranilonitrile a permis d'isoler l'amidine **124** avec un rendement de 88%. L'application de la stratégie de synthèse pour la formation du dérivé benzo[*d*]thiazole, avec comme première étape la protection de l'aniline en présence de Boc_2O , a conduit à la dégradation de l'intermédiaire **124** (Schéma IV-12).

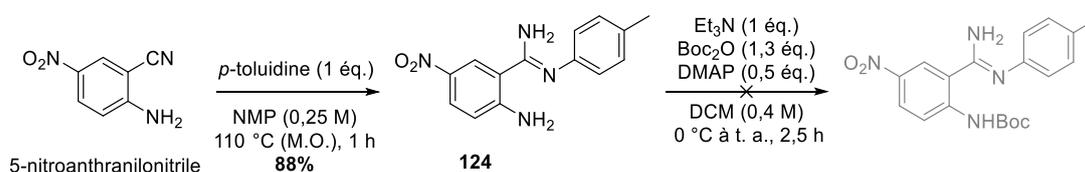


Schéma IV-12 : Synthèse de l'amidine **124** à partir du 5-nitroanthranilonitrile et essai de protection.

Ces différentes tentatives et stratégies utilisées n'ont pas permis d'obtenir le 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2-carbonitrile **119** substitué en C7 par un groupement amidine. Ces travaux n'ont pas été poursuivis.

IV.3. Fonctionnalisation des benzo[*d*]thiazoles en position C2 *via* une réaction d'arylation directe

Une fois les résultats de l'évaluation biologique des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(*8H*)-ones arylées obtenus (voir chapitre 3) et la réaction de décyanation du 6-amino-2-cyanobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle **94** optimisée (voir chapitre 2, paragraphe II.3.b.i), un nouvel axe de recherche a été envisagé. Ce dernier porte sur le couplage d'un groupement 3-pyridinyle par une réaction d'arylation directe, sur des motifs benzo[*d*]thiazoles. Ces nouvelles molécules représentent une simplification structurelle des dérivés tricycliques actifs, substitués en position C2 par un groupement hétéroaryle.

IV.3.a. Arylation directe en C2 des 6-aminobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylates de méthyle

Afin de synthétiser la structure la plus proche possible de celle du **FC162 (86)**, qui est le dérivé arylé le plus actif sur DYRK1A, des essais de C–H arylation sur l'intermédiaire 6-aminobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle **94** ont été réalisés avec les conditions décrites dans le chapitre 2, paragraphe II.3.b.iii. Cette réaction a provoqué la dégradation du réactif **94** (Schéma IV-14).

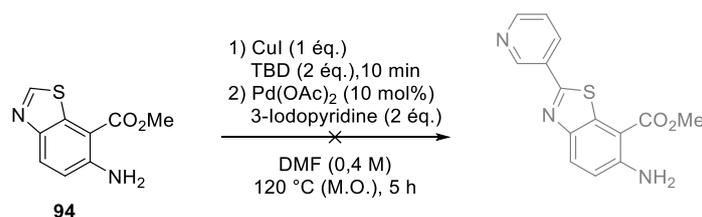


Schéma IV-14 : Essai d'arylation en C2 du 6-aminobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle **94**.

Afin d'éviter des réactions parasites engendrant la dégradation du milieu réactionnel, le couplage de la 3-iodopyridine a été effectué avec le benzo[*d*]thiazole **125**, protégé par un groupement carbamate. La protection du composé **94** est effectuée en deux étapes monotopes, la première conduisant au dérivé 6-NBoc₂ et la seconde assurant la mono-déprotection en milieu acide de l'aniline. Le composé 6-NHBoc **125** est obtenu avec un rendement de 55%. L'application des conditions d'arylation directe sur le composé protégé **125** n'a pas fourni le produit arylé attendu mais a abouti à la dégradation du milieu réactionnel (Schéma IV-15).

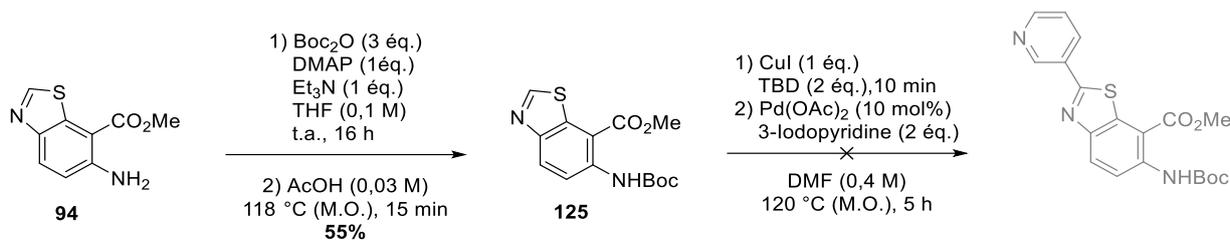


Schéma IV-15 : Synthèse du benzo[*d*]thiazole protégé **125** et essai d'arylation directe.

Afin d'éviter les problèmes de réactivité avec le groupement protecteur de type carbamate, nous sommes tournés vers l'arylation directe d'anilines alkylées. L'effet inductif donneur du méthyle pourrait favoriser des interactions entre le doublet non liant de l'aniline et un résidu donneur de liaison hydrogène de la poche catalytique de DYRK1A. Des essais de mono- et de di-méthylation ont été réalisés. Une fois arylés, ces deux composés pourraient permettre l'étude de la pharmacomodulation de la position C6.

Les différents essais de mono-méthylation du benzo[*d*]thiazole **94** n'ont pas permis d'isoler le produit **126** attendu (Tableau IV-2). Aucune conversion n'a été observée avec les conditions décrites par le groupe de Verbruggen (Entrée 1)¹⁶⁴. Celles décrites par les équipes de Zahradník (Entrée2)¹⁶⁵ et de Chattopadhyay (Entrée 3)¹⁶⁶ ont abouti à la dégradation du réactif **94**. L'application de cette dernière méthode sur le précurseur 2-carbonitrile **20** a permis d'obtenir le composé méthylé **127** avec un faible rendement de 36% (Entrée 4), qui n'a pas pu être amélioré malgré un temps de réaction plus long (Entrée 5).

Ce rendement trop faible n'a pas permis de réaliser des essais de décylation sur le composé méthylé **127**. Une nouvelle stratégie de synthèse a été mise au point afin d'obtenir le précurseur *N*-méthyl-6-aminobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle, incluant la méthylation de l'acide 5-nitroanthranilique en première étape (Schéma IV-16).

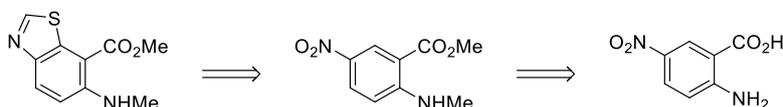
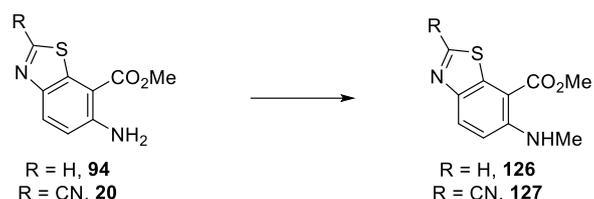


Schéma IV-16 : Nouvelle stratégie pour la synthèse du *N*-méthyl-6-aminobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle.

¹⁶⁴ K. Serdons, K. Van Laere, P. Janssen, H. F. Kung, G. Bormans, A. Verbruggen, *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 7090–7102.

¹⁶⁵ P. Hrobrik, I. Sigmundová, P. Zahradník, *Synthesis* **2005**, 4, 600–604.

¹⁶⁶ M. E. Hoque, R. Bisht, C. Haldar, B. Chattopadhyay, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 7745–7748.

Tableau IV-2 : Essais de mono-méthylation des benzo[d]thiazoles **20** et **94**.

Entrée	R	Conditions	126 ou 127 (%)
1	H	1) NaOMe (1 éq.), Paraformaldéhyde (1 éq.) MeOH anh (0,1 M), 65 °C (M.O.), 1 h 2) NaBH ₄ (1 éq.), 65 °C (M.O.), 1 h	0
2	H	Fe (8 éq.), Formaldéhyde 37% aq (10 éq.), H ₂ SO ₄ aq 4 M (3 éq.) THF (0,25 M), Sonificateur, t.a., 30 min	0
3	H	K ₂ CO ₃ (1 éq.), MeI (3 éq.) CH ₃ CN (0,5 M), 100 °C, 16 h	0
4	CN	K ₂ CO ₃ (1 éq.), MeI (3 éq.) CH ₃ CN (0,5 M), 100 °C, 16 h	36
5	CN	K ₂ CO ₃ (1 éq.), MeI (3 éq.) CH ₃ CN (0,5 M), 100 °C, 4 j	12

Les conditions de méthylation ayant donné les meilleurs résultats sur le précurseur benzo[d]thiazole **20** ont été appliquées sur l'acide 5-nitroanthranilique (Tableau IV-3). Le 2-(méthylamino)-5-nitrobenzoate de méthyle **128** a pu être isolé avec un rendement de 55% après 72 h de réaction (Entrée 2). La modification des autres paramètres de réaction n'ont pas conduit à un rendement plus élevé (Entrées 1, 3 et 4).

Tableau IV-3 : Synthèse du 2-(méthylamino)-5-nitrobenzoate de méthyle **128**.

Entrée	R	K ₂ CO ₃ n éq.	MeI n éq.	Temps (h)	128 (%)
1	H	3	4	20 h	34
2	H	3	4	72 h	55 (53) ^a
3	H	3	6	20 h	29
4	Me	2	3	20 h	17

^a Sur 60 mmol d'acide 5-nitroanthranilique au lieu de 0,6 mmol.

La réduction du composé méthylé **128** a conduit à la dianiline **129** avec un rendement de 53%. Cependant, cette voie de synthèse n'a pas été poursuivie à cause de l'instabilité du produit **129** obtenu (Schéma IV-17).

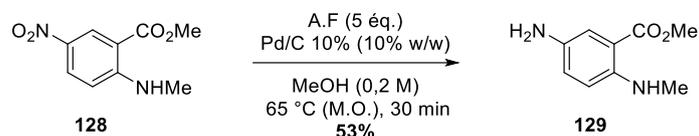
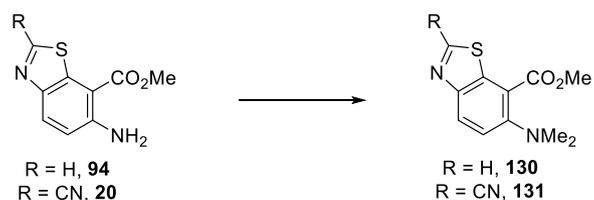


Schéma IV-17 : Réduction du 2-(méthylamino)-5-nitrobenzoate de méthyle **128**

Des essais de di-méthylation sur les benzo[*d*]thiazoles **20** et **94** ont aussi été réalisés (Tableau IV-4). Aucune des méthodes testées n'a permis d'isoler les produits 6-*N*-diméthyles attendus. Les conditions des entrées 2 et 3 sont inspirées de la méthode publiée par le groupe de Miller¹⁶⁷ et celles de l'entrée 4 par l'équipe de Suginome.¹⁶⁸

Tableau IV-4 : Essais de di-méthylation des benzo[*d*]thiazoles **94** et **20**.



Entrée	R	Conditions	130 ou 131 (%)
1	H	K ₂ CO ₃ (2 éq.), MeI (2 éq.) CH ₃ CN (0,6 M), 100 °C, 16 h	0
2	H	Formol 37 % (4 éq.), NaBHAc ₃ (1,5 éq.) DCE (0,1 M), t.a., 1 h	0
3	CN	Formol 37 % (4 éq.), NaBHAc ₃ (1,5 éq.) DCE (0,1 M), t.a., 1 h	0
4	CN	NaH 60 % (4éq.), MeI (2,5 éq.) DMF (0,3 M), 0 °C à t.a., 2 h	0

Les conditions de *N*-méthylation ne semblent pas être compatibles avec les benzo[*d*]thiazoles substitués en C7 par un groupement ester méthylique. Un substrat plus simple a donc été envisagé : le 6-aminobenzo[*d*]thiazole, dont la protection de la fonction amine en C6 a déjà été étudiée et décrite par plusieurs groupes. Les conditions d'arylation seront ensuite appliquées aux dérivés protégés.

¹⁶⁷ G. R. Reddy, W. C. Thompson, S. C. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 13586–13587.

¹⁶⁸ T. Torigoe, T. Ohmura, M. Suginome, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 14272–14276.

IV.3.b. Arylation directe en C2 des 6-aminobenzothiazoles

Un premier essai de C–H arylation a été réalisé sur le dérivé 6-aminobenzothiazole dont l'aniline est protégée avec un groupement carbamate. Ce précurseur **132** a été obtenu avec un rendement de 73%, après une légère optimisation de la réaction décrite par le groupe de Subbiah¹⁶⁹, qui utilise du Boc₂O et de l'iodure de sodium dans le THF à température ambiante pendant une heure. L'application des conditions d'arylation directe sans base¹⁰⁹ sur le dérivé protégé **132** n'a pas permis d'isoler le produit arylé attendu, mais a donné majoritairement le 6-aminobenzothiazole (Schéma IV-18).

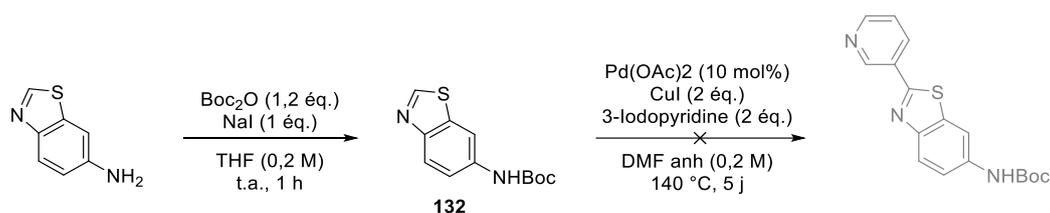
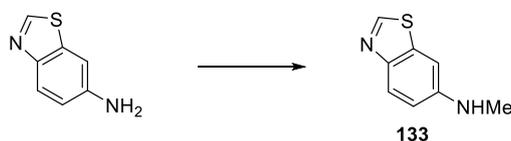


Schéma IV-18 : Essai d'arylation directe du 6-aminobenzothiazole protégé **132**.

L'étude de la *N*-méthylation du 6-aminobenzothiazole, commercial, a ensuite été réalisée (Tableau IV-5).

Tableau IV-5 : Essais de protection du 6-aminobenzothiazole.



Entrées	Conditions	133 (%)
1	K ₂ CO ₃ (2 éq.), MeI (3 éq.) CH ₃ CN (0,5 M), 100 °C, 18 h	0
2	KOH (1,8 éq.), MeI (1,2 éq.) Acétone/H ₂ O 10/1 (0.06 M), Reflux, 2 h	20 ^a
3	1) NaOMe (1 éq.), Paraformaldéhyde (1 éq.) MeOH (0,3 M), 66 °C (M.O.), 2 h 2) NaBH ₄ (1 éq.), 66 °C (M.O.), 1 h	62
4^b	1) NaOMe (1 éq.), Paraformaldéhyde (1 éq.) MeOH (0,3 M), 66 °C, 2 h 2) NaBH ₄ (1 éq.), 66 °C, 1 h	51

^a Conversion calculée sur la RMN ¹H du brut. ^b Montée en échelle : sur 5,0 mmol au lieu de 0,5 mmol et utilisation d'un chauffage traditionnel.

¹⁶⁹ S. Periyasamy, S. Subbiah, *J. Chem. Pharm. Res.* **2016**, 8, 510–518.

Les conditions publiées par le groupe de Chattopadhyay,¹⁶⁶ utilisant le carbonate de potassium et l'iodométhane dans l'acétonitrile avec un chauffage à 100 °C pendant 18 h ont engendré la dégradation du réactif (Entrée 1). La méthode de Player et coll.¹⁷⁰ décrite en présence de potasse, de iodométhane et d'un mélange de solvant Acétone/Eau chauffé à reflux pendant 2 h n'a conduit qu'à une conversion de 20% du réactif (Entrée 2). La réaction monotope d'amination réductrice mise au point par l'équipe Verbruggen¹⁶⁴ est réalisée dans le méthanol avec du paraformaldéhyde et du méthanolate de sodium. Un ajout de tétrahydroborate de sodium est effectué dans un second temps. Ces conditions ont permis d'isoler le composé protégé **133** avec un rendement de 62% (Entrée 3). L'entrée 4 montre que cette réaction monotope reste efficace lors d'une montée en échelle (Entrée 4).

L'application de la méthode d'arylation directe sur le benzo[*d*]thiazole **133** a permis d'isoler le *N*-méthyl-2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazol-6-amine **134** avec un rendement de 79% (Schéma IV-19).

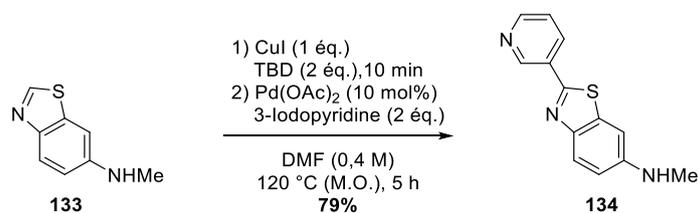


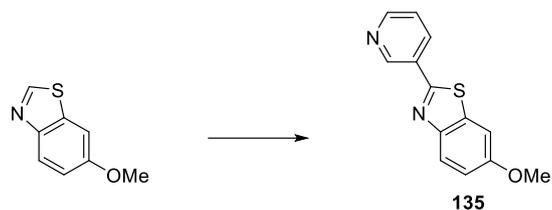
Schéma IV-19 : Synthèse du composé 2-pyridin-3-yl **134**.

Nous avons voulu étendre cette réaction de C–H arylation à l'analogue 6-méthoxybenzo[*d*]thiazole, afin d'étudier la pharmacomodulation de la position C6 des dérivés bicycliques hétéroarylés en C2.

IV.3.c. Arylation directe en C2 du 6-méthoxybenzo[*d*]thiazole

L'arylation en C2 du 6-méthoxybenzo[*d*]thiazole, disponible commercialement, permet d'étudier la pharmacomodulation de la position 6 des 2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazoles. L'application de nos conditions a conduit au composé arylé **135** avec un rendement de 33% (Tableau IV-6, Entrée1). D'autres méthodes décrites dans la littérature et dans le paragraphe II.3.c.iii ont été testées. Celles sans base ont mené au meilleur rendement : elles ont permis d'obtenir le 6-méthoxy-2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazole avec un rendement de 57% (Entrée 2).

¹⁷⁰ N. Baidur, N. Chadha, B. M. Brandt, D. Asgari, R. J. Patch, C. Schalk-HiHi, T. E. Carver, I. P. Petrounia, C. A. Baumann, H. Ott, C. Manthey, B. A. Springer, M. R. Player, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1717–1720.

Tableau IV-6 : Essais d'arylation directe du 6-méthoxybenzo[*d*]thiazole **135**.

Entrée	Conditions	135 (%)
1	1) CuI (1 éq.), TBD (2 éq.) DMF (0,4 M), 10 min 2) Pd(OAc) ₂ (10 mol%), 3-Iodopyridine (2 éq.), 5 h 120 °C (M.O.)	33
2	CuI (2 éq.), Pd(OAc) ₂ (10 mol%), 3-Iodopyridine (2 éq.) DMF (0,2 M), 140 °C, 5 j	57
3	Cu (25 mol%), K ₂ CO ₃ (2 éq.), 3-Iodopyridine (2 éq.) DMA (0,5 M), 160 °C, 45 h	45
4	Pd(OAc) ₂ (10 mol%), CyJohnPhos (20 mol%) Cs ₂ CO ₃ (2 éq.), 3-chloropyridine (3 éq.) DMF (0,25 M), 110 °C, 18 h	Traces

IV.4. Evaluation de l'activité inhibitrice

L'activité inhibitrice des deux dérivés 2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazoles **134** et **135** a pu être évaluée très récemment par la société ManRos Therapeutics (Tableau IV-7). Le composé 6-amino **134** n'a montré aucune activité sur les kinases testées, contrairement au composé 6-méthoxy **135** qui présente une faible activité sur DYRK1A et GSK-3, avec des IC₅₀ de l'ordre du micromolaire. Le **FC162 (86)** reste donc le dérivé 2-pyridin-3-yl le plus actif sur DYRK1A (IC₅₀ = 11 nM, voir Chapitre 3, paragraphe III.3.).

Tableau IV-7 : IC₅₀ des 2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazoles.^a



N°	Ar	CK1	CLK1	DYRK1A	GSK-3
134	NHMe	> 10	> 10	> 10	> 10
135	OMe	> 10	0,92	0,88	> 10

^a IC₅₀ en μM

La perte de l'activité des benzo[*d*]thiazoles **134** et **135** pourrait s'expliquer par la mobilité du groupement en C6. En tournant sur eux-mêmes, ces groupements formeraient des cônes d'encombrement stériques, qui empêcheraient ou modifieraient les interactions entre la molécule et les résidus de la poche catalytique des kinases.

IV.5. Conclusions et perspectives

Les travaux sur la substitution nucléophile du 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile **116** ont permis de décrire la différence de réactivité entre les deux groupements nitriles portés par cette molécule en positions C2 et C7. L'environnement électro-appauvri de la position C2 active le carbone du nitrile sur cette position, le rendant plus sensible à diverses modifications chimiques. Cette différence de réactivité qui n'avait jamais été étudiée a conduit à la synthèse de trois nouveaux composés. Le premier est l'amidine **120**, issue de l'addition nucléophile de la *p*-toluidine et le second est l'amide **122**, produit par l'hydrolyse partielle de l'amidine **120**. L'addition de l'hydroxylamine sur le nitrile **116** a permis de synthétiser le 6-amino-7-cyano-*N'*-hydroxybenzo[*d*]thiazole-2-carboximidamide **123** (Figure IV-3).

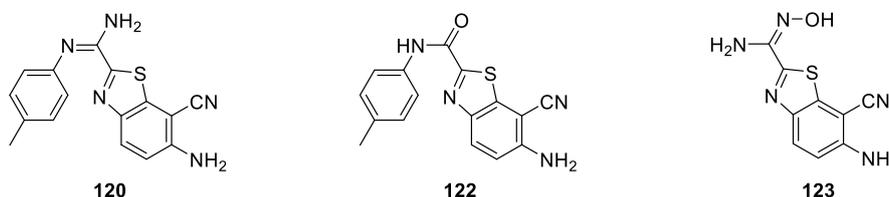


Figure IV-3 : Structures des composés **120**, **122** et **123**.

L'étude de l'arylation directe a conduit à la synthèse de deux nouveaux composés 2-pyridin-3-yls (Figure IV-4). Ces benzo[*d*]thiazoles arylés **134** et **135** suivent la stratégie de la simplification structurelle par rapport aux 2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones dont certains sont actifs sur DYRK1A.

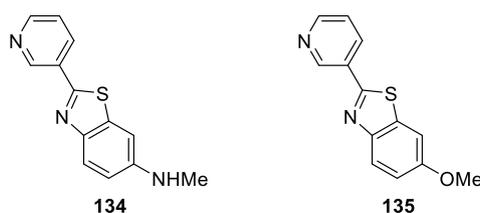


Figure IV-4 : Structures des 2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazoles **134** et **135**.

Avant d'obtenir les résultats de l'évaluation biologique des composés arylés **134** et **135**, des essais préliminaires conduisant à l'ouverture des 3-(2-cyanophényl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones ont été réalisés. Cette stratégie a été élaborée à partir de la publication du groupe de Sasaki.

En 2009, cette équipe a décrit l'ouverture de la 3-(2-cyanophényl)quinazolin-4(3*H*)-one en présence d'éthylènediamine, dans un mélange de solvant binaire DMF/méthanol après 1,5 jour de réaction à température ambiante (Schéma IV-20).¹⁷¹

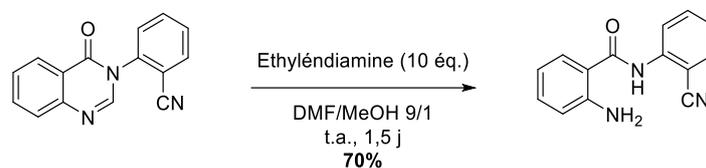


Schéma IV-20 : Ouverture de la 3-(2-cyanophényl)quinazolin-4(3*H*)-one.

Cette ouverture de cycle a été envisagée sur les 2-pyridin-3-ylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones dans le but de poursuivre l'étude sur la simplification structurale. Une nouvelle stratégie a été mise en place : ces benzo[*d*]thiazoles arylés dériveraient des 2-pyridin-3-ylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones, obtenues par l'arylation directe en C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones N8-2-benzonitriles (Schéma IV-21).

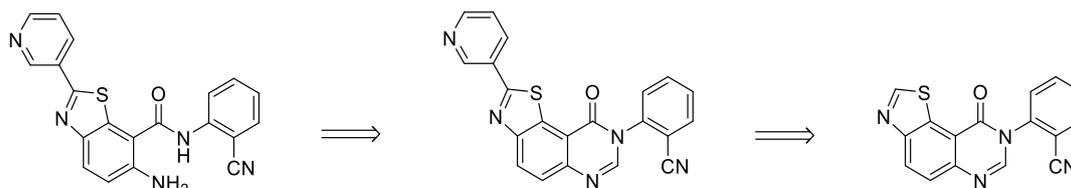


Schéma IV-21 : Rétrosynthèse envisagée pour la synthèse de 2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazoles.

Des essais d'ouverture de cycle sur un modèle thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones ont dans un premier temps été entrepris, impliquant la synthèse du 2-(9-oxothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-8(9*H*)-yl)benzonitrile. Cette stratégie a pour but de vérifier si cette réaction est possible sur nos structures tricycliques (Schéma IV-22).

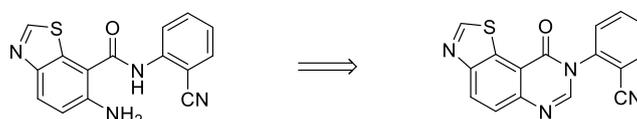


Schéma IV-22 : Travaux préliminaires envisagés.

Les conditions de cyclisation habituellement utilisées au laboratoire n'ont pas mené au 2-(9-oxothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-8(9*H*)-yl)benzonitrile **136** attendu (Schéma IV-23).

¹⁷¹ K. Okuda, T. Tagata, S. Kashino, T. Hirota, K. Sasaki, *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, 57, 1296–1299.

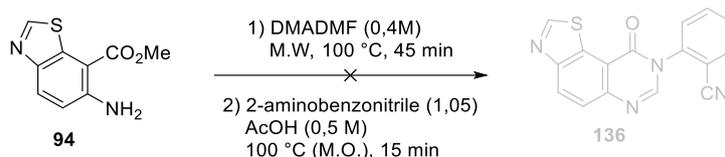
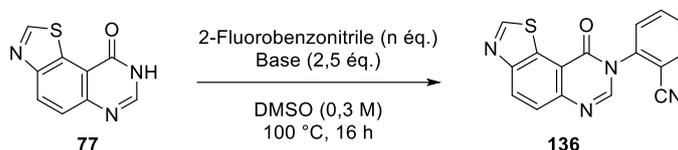


Schéma IV-23 : Essai de cyclisation du benzo[*d*]thiazole **94** en présence du 2-aminobenzonitrile.

Afin de contourner ce problème, un essai de *N*-arylation a été effectué sur le thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **77**. L'application des conditions décrites par Jahangir et coll.¹⁷² a permis de synthétiser le composé *N*-arylé **136** avec un rendement de 9% (Tableau IV-8, Entrée 1). L'augmentation du nombre d'équivalents du 2-fluorobenzonitrile a conduit à un rendement optimal de 68% (Entrée 2), l'utilisation d'une base plus forte ne favorisant pas cette réaction (Entrée 3).

Tableau IV-8 : *N*-arylation de la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **77**.



Entrée	n éq	Base	136 (%)
1	1	K ₂ CO ₃	9%
2	3	K ₂ CO ₃	68%
3	3	Cs ₂ CO ₃	23%

L'application des conditions de Sasaki et coll. sur le 2-(9-oxothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-8(9*H*)-yl)benzonitrile **136** a donné, après 5 jours de réaction, le benzo[*d*]thiazole **137** avec un rendement de 5% (Schéma IV-24). Peu d'analyses ont pu être effectuées sur ce composé dont 1 mg a été isolé. Cependant, sa formule brute a été vérifiée en ESI-MS/MS.

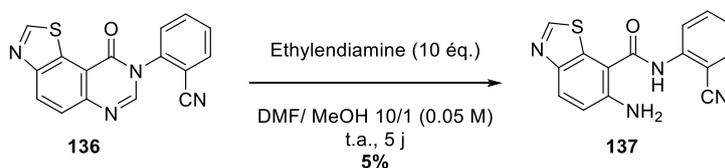
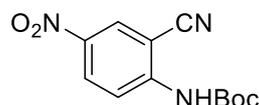


Schéma IV-24 : synthèse du benzo[*d*]thiazole **137**.

Compte tenu des résultats de l'évaluation biologique des benzo[*d*]thiazoles **134** et **135**, ces travaux ne seront pas poursuivis.

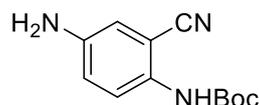
¹⁷² S. Russell Stabler, Jahangir, *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 123–129.

IV.6. Partie expérimentale

***tert*-Butyl (2-cyano-4-nitrophenyl)carbamate (111)**

To a solution of 2-amino-5-nitrobenzonitrile (10 g, 61.3 mmol) in dichloromethane (153 mL, 0.4 M) at 0 °C, were added di-*tert*-butyl dicarbonate (17.4 g, 79.7 mmol, 1.3 equiv.), triethylamine (8.5 mL, 61.3 mmol, 1 equiv.), and 4-(dimethylamino) pyridine (3.75 g, 30.7 mmol, 0.5 equiv.). The solution was stirred at 0°C for 10 min and then at room temperature for 2,5 h. On completion, reaction mixture was neutralized with a solution of HCl 1 M (200 mL) and the aqueous layer was extracted three times with DCM (200 mL). The combined organic layers were washed with water (300 mL) and brine (300 mL), dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by flash chromatography using petroleum ether/methylene chloride (5:5 to 4:6; v/v) to give the compound **111**.

Yield 58%; 9.34 g; white solid; R_f: 0.77 (DCM); mp: 134-136 °C; IR (neat) ν_{\max} 3412, 3072, 3012, 2982, 2935, 2229, 1735, 1617, 1582, 1543, 1508, 1473, 1455, 1420, 1372, 1350, 1320, 1303, 1257, 1234, 1176, 1143, 1052, 1028, 923, 915, 889, 853 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} (1H, s, NH), 8.64 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, H₃), 8.44 (1H, dd, *J* = 9.2, 2.7 Hz, H₅), 7.85 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H₆), 1.50 (9H, s, 3 x CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 152.1 (C), 146.6 (C), 142.7 (C), 129.4 (CH), 128.9 (CH), 123.5 (CH), 115.3 (C), 105.5 (C), 81.3 (C), 27.9 (3 x CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₂H₁₂N₃O₄ [M + H]⁺: 262.0828; Found: 262.0831.

***tert*-Butyl (4-amino-2-cyanophenyl)carbamate (112)**

To a solution of *tert*-butyl (4-amino-2-cyanophenyl)carbamate **111** (8.27 g, 31.4 mmol) in ethanol (160 mL, 0.2 M) were added ammonium formate (9.90 g, 157.1 mmol, 5 equiv.) and a catalytic amount of 10% palladium charcoal (0.83 g, 10% w/w). The solution was irradiated under microwaves for 30 min at 85 °C with a power input of 800 W. The catalyst was removed by filtration through Celite® and washed with ethanol (240 mL). The resulting filtrate was evaporated under reduced pressure. Then, the residue was dissolved in AcOEt (160 mL), quenched with a saturated solution of NaHCO₃ (160 mL), dried with MgSO₄ and concentrated under reduced pressure to give the compound **112**.

Yield 97%; 7.11 g; pale yellow solid; R_f: 0.23 (DCM); mp: 126-128 °C; IR (neat) ν_{\max} 3476, 3431, 3365, 3398, 2988, 2934, 2222, 1697, 1628, 1587, 1521, 1443, 1429, 1392, 1367, 1324, 1294, 1274,

1250, 1230, 1161, 1053, 1028, 947, 902, 872, 849, 824 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 25 $^\circ\text{C}$, 300 MHz): δ_{H} 8.83 (1H, br s, NH), 7.00 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H_5), 6.82-6.77 (2H, m, H_3 , H_6), 5.46 (2H, s, NH_2), 1.43 (9H, s, 3 x CH_3); $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 25 $^\circ\text{C}$, 75.4 MHz): δ_{C} 153.9 (C), 146.8 (C), 128.8 (C), 128.0 (CH), 118.7 (CH), 117.6 (C), 115.9 (CH), 109.9 (C), 79.0 (C), 28.1 (3 x CH_3). HRMS (ESI^+): calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 234.1243; Found: 234.1240.

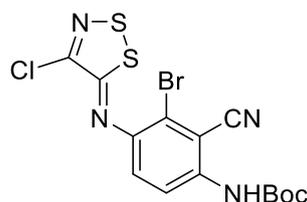
***tert*-Butyl (4-amino-3-bromo-2-cyanophenyl)carbamate (113)**



To a solution of **112** (7.93 g, 34.0 mmol) in DMF (340 mL, 0.1 M) was added NBS (6.05 g, 34.0 mmol, 1 equiv.). After 2 h of stirring at room temperature, water (300 mL) was added and the mixture was extracted three times with AcOEt (300 mL), washed three times with water (300 mL) and two times with brine (250 mL). The combined organic layers were dried with MgSO_4 and concentrated under reduced pressure to give the compound **113**.

Yield 96%; 10.24 g; beige solid; R_f : 0.66 (petroleum ether/DCM 1:9; v/v); mp: 163-165 $^\circ\text{C}$; IR (neat) ν_{max} 3327, 2826, 2605, 2566, 2236, 1955, 1716, 1610, 1561, 1496, 1481, 1398, 1369, 1280, 1238, 1193, 1153, 1059, 963, 906, 838 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 25 $^\circ\text{C}$, 300 MHz): δ_{H} 9.05 (1H, br s, NH), 7.09 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.01 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_6), 5.73 (2H, br s, NH_2), 1.43 (9H, s, 3 x CH_3); $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 25 $^\circ\text{C}$, 75.4 MHz): δ_{C} 153.7 (C), 144.7 (C), 131.3 (C), 127.0 (CH), 119.2 (CH), 116.2 (C), 112.9 (C), 107.3 (C), 79.4 (C), 28.1 (3 x CH_3). HRMS (ESI^+): calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{Br}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 312.0348; Found: 312.0354.

***tert*-Butyl (Z)-[3-bromo-4-([4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino)-2-cyanophenyl]carbamate (114)**

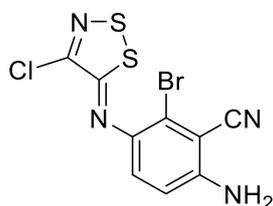


To a suspension of *Tert*-butyl (4-amino-3-bromo-2-cyanophenyl)carbamate **113** (10.14 g, 32.5 mmol) in dichloromethane (325 mL, 0.1 M) were added pyridine (6.0 mL, 74.7 mmol, 2.3 equiv.) and 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium chloride (Appel salt) (8.13 g, 39.0 mmol, 1.2 equiv.). The reaction was stirred at room temperature for 4 h. The resulting solution was diluted with dichloromethane and washed

with water. The aqueous layer was then extracted two times with. The combined organic layers were dried over Na_2SO_4 and concentrated under *vacuum*. The crude residue was purified by flash chromatography using PE/DCM as eluent to afford desired product **114** (1:1 to 2:3; v/v).

Yield 76%; 11.06 g; yellow solid; *Rf*: 0.31 (PE/DCM 1:1; v/v); mp: 144-146 °C; IR (neat) ν_{max} 3366, 2977, 2935, 2227, 1714, 1597, 1570, 1560, 1508, 1392, 1369, 1270, 1238, 1156, 1057, 971, 859, 846, 809 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.65 (1H, s, NH), 7.71 – 7.36 (2H, m, $\text{H}_5 + \text{H}_6$), 1.48 (9H, s, 3 x CH_3); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 163.6 (C), 152.9 (C), 147.4 (C), 146.1 (C), 140.0 (C), 126.2 (CH), 123.6 (CH), 117.7 (C), 115.3 (C), 112.2 (C), 80.4 (C), 28.0 (3 x CH_3). HRMS (ESI $^+$): calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2\text{BrCl}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 446.9352; Found: 446.9340.

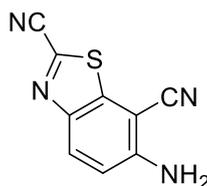
(Z)-6-Amino-2-bromo-3-[(4-chloro-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene)amino]benzonitrile (115)



A mixture of carbamate **114** (11.06 g, 24.7 mmol) and acetic acid (250 mL, 0.1 M) was heated at 118 °C under microwaves in open vessel for 2.5 h (2 min ramp). After cooling, the resulting solution was concentrated under reduced pressure to give the desired compound **115**.

Yield quant.; 11.06 g; yellow solid; *Rf*: 0.21 (PE/DCM 1:1; v/v); mp: 183-185 °C; IR (neat) ν_{max} 3421, 3340, 3231, 2220, 1701, 1647, 1596, 1575, 1473, 1405, 1291, 1251, 1192, 1137, 973, 869, 847, 804 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 7.35 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H_4), 6.91 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H_5), 6.52 (2H, br. s, NH_2); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.6 (C), 151.7 (C), 146.7 (C), 137.9 (C), 124.4 (CH), 119.0 (C), 116.4 (C), 115.7 (CH), 97.2 (C). HRMS (ESI $^+$): calcd for $\text{C}_9\text{H}_5\text{N}_4\text{S}_2\text{BrCl}$ [$\text{M} + \text{H}$] $^+$: 346.8828; Found: 346.8846.

6-Aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile (116)

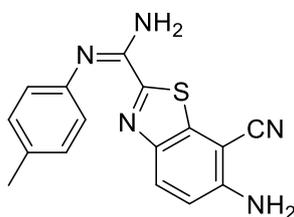


To a suspension of imine **115** (6.04 g, 16.89 mmol) in pyridine (56 mL, 0.3 M) was added copper(I) iodide (6.43 g, 33.78 mmol, 2 equiv.). The reaction was heated at 115 °C under microwave irradiation in open vessel for 30 min. After cooling, the mixture was dissolved in EtOAc and washed with a sodium

thiosulfate solution. The organic layer was dried over MgSO₄, and the solvent was removed *in vacuo*. The crude residue was purified by flash chromatography (PE/DCM 1:9 to 0:9; v/v) to afford the expected compound **116**.

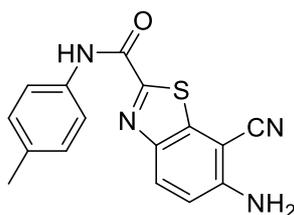
Yield 62%.; 2.10 g; beige solid; *R_f*: 0.53 (DCM); mp: 246-248 °C; IR (neat) ν_{\max} 3433, 3350, 3250, 2225, 1653, 1593, 1487, 1451, 1415, 1330, 1290, 1206, 1161, 1128, 821 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.06 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H₄), 7.28 (2H, br. s, NH₂), 7.07 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H₅); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 153.8 (C), 142.3 (C), 140.8 (C), 129.7 (CH), 129.5 (C), 118.3 (CH), 115.8 (C), 113.4 (C), 82.1 (C). HRMS (ESI⁻): calcd for C₉H₃N₄S [M - H]⁻: 199.0078; Found: 199.0076.

(E)-6-Amino-7-cyano-N'-(p-tolyl)benzo[d]thiazole-2-carboximidamide (120)



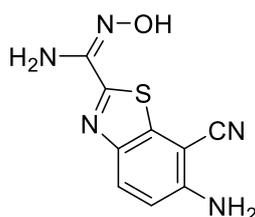
To stirred 6-aminobenzo[d]thiazole-2,7-dicarbonitrile **116** (0.100 g, 0.50 mmol) was added portion wise powdered anhydrous AlCl₃ (0.067 g, 0.50 mmol, 1 equiv.). The reaction was then heated to 100 °C and *p*-toluidine (0.053 g, 0.50 mmol, 1 equiv.) and toluene (2 mL, 0.25 M) were added. The mixture was heated at 110 °C for 20 h. The resultant solid mass was crushed and slurried in 12.5% NaOH (4 mL). The resulting mixture was extracted with DCM and then with AcOEt, washed with water and dried over MgSO₄. Solvents were removal and the crude was purified by flash chromatography (DCM/AcOEt 1:0 to 1:1; v/v) to furnish the product **120**.

Yield 40%.; 0.062 g; yellow solid; *R_f*: 0.38 (DCM); mp: 212-214 °C; IR (neat) ν_{\max} 3478, 3436, 3356, 3243, 3018, 2914, 2854, 2211, 1921, 1640, 1593, 1556, 1500, 1278, 819 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 7.94 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, H₄), 7.15 (2H, d, *J* = 7.9 Hz, H_{Ar}), 6.97 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, H₅), 6.87 (2H, d, *J* = 7.9 Hz, H_{Ar}), 6.80 (2H, br. s, NH₂), 6.64 (2H, br. s, NH₂), 2.28 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 161.5 (C), 152.2 (C), 148.1 (C), 145.6 (C), 143.4 (C), 140.5 (C), 131.8 (C), 129.7 (2 x CH), 129.0 (CH), 121.7 (2 x CH), 116.5 (C), 116.1 (CH), 83.6 (C), 20.6 (CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₆H₁₃N₅ [M + H]⁺: 308.0970; Found: 308.0974.

6-Amino-7-cyano-*N*-(*p*-tolyl)benzo[*d*]thiazole-2-carboxamide (122)

To stirred 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile **116** (0.100 g, 0.50 mmol) were added portion wise powdered anhydrous AlCl₃ (0.067 g, 0.50 mmol, 1 equiv.), *p*-toluidine (0.106 g, 1.0 mmol, 2 equiv.) and NMP (2 mL, 0.25 M). The mixture was heated at 200 °C for 1.5 h under microwave irradiation. The mixture was quenched with 12.5% NaOH aq. (1 mL) diluted with water (40 mL), extracted with AcOEt (40 mL), washed with water (2 x 40 mL) and dried over MgSO₄. Solvent was removal and the crude was purified by flash chromatography (DCM/AcOEt 1:0 to 1:1; v/v) to furnish the products **122** and **120** (21%, 0.032 mg).

Yield 34%.; 0.052 g; yellow solid; *R_f*: 0.48 (DCM); mp: 221-223 °C; IR (neat) ν_{\max} 3451, 3349, 3232, 3020, 2214, 2103, 1989, 1660, 1632, 1590, 1525, 1407, 1240, 804, 497 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 10.88 (1H, s, NH), 8.05 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H₄), 7.75 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H_{Ar}), 7.17 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H_{Ar}), 7.06 (1H, d, *J* = 9.2 Hz, H₅), 2.28 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 158.9 (C), 157.6 (C), 152.8 (C), 143.2 (C), 141.1 (C), 135.5 (C), 133.5 (C), 129.3 (CH), 129.1 (2 x CH), 120.6 (2 x CH), 117.2 (CH), 116.3 (C), 83.4 (C), 20.6 (CH₃). HRMS (ESI): calcd for C₁₆H₁₁N₆OS [M - H]⁻: 307.0659; Found: 307.0651.

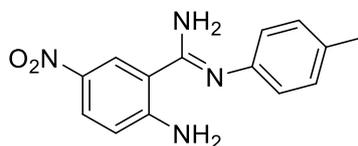
(*E*)-6-Amino-7-cyano-*N*'-hydroxybenzo[*d*]thiazole-2-carboximidamide (123)

To a solution of nitrile **116** (100 mg, 0.5 mmol) in THF (0.5 mL, 1 M) was added hydroxylamine 50% aq. (0.234 mL, 4.25 mmol, 8.5 equiv.). The reaction was stirred at room temperature for 1 h. Water was added to the mixture which was filtered and rinse with water to furnish the expected compound **123**.

Yield: 85%; 0.099 g; white solid; *R_f*: 0.20 (DCM/AcOEt, 4:1; v/v); mp: 253-255 °C; IR (neat) ν_{\max} 3420, 3332, 3231, 2209, 2114, 1899, 1639, 1591, 1590, 1557, 1060, 953, 813 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): 10.43 (1H, s, OH), 7.89 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H₄), 6.93 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, H₅), 6.69 (2H, s, NH₂), 6.04 (2H, s, NH₂); ¹³C{¹H} NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 156.7 (C), 152.0 (C), 147.0

(C), 143.0 (C), 138.5 (C), 128.5 (CH), 116.6 (C), 115.7 (CH), 83.7 (C). HRMS (ESI⁺): Calcd for C₉H₈N₅O [M + H]⁺: 234.0450; Found: 234.0450.

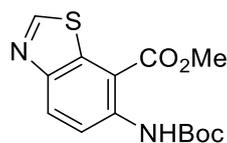
(Z)-2-Amino-5-nitro-N'-(p-tolyl)benzimidamide (124)



To stirred 5-nitroanthranilonitrile (0.600 g, 3.68 mmol) were added *p*-toluidine (0.394 g, 3.68 mmol, 1 equiv.) and toluene (15 mL, 0.25 M) were added. The mixture was heated at 110 °C for 1 h under microwave irradiation. The resulting mixture was quenched with 12.5% NaOH aq. (6 mL), diluted with water (150 mL), extracted with AcOEt (3 x 150 mL), washed with water (2 x 150 mL) and dried over MgSO₄. Solvents were removal to furnish the product **124**.

Yield 88%.; 0.877 g; brown solid; R_f: 0.80 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 202-204 °C; IR (neat) ν_{max} 3403, 3327, 3227, 1642, 1603, 1569, 1491, 1265, 1081, 916, 823, 746 cm⁻¹; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 300 MHz): δ_H 8.39 (1H, d, *J* = 2.7 Hz, H₆), 8.12 (1H, dd, *J* = 9.4, 2.7 Hz, H₄), 7.49 (2H, br. s, NH₂), 7.03 – 6.67 (2H, m, H₃ + H_{Ar}), 6.46 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H_{Ar}), 4.85 (2H, s, NH₂), 2.11 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 156.2 (C), 145.8 (C), 135.8 (C), 130.7 (2 x CH), 129.4 (CH), 129.3 (C), 124.2 (C), 116.1 (C), 115.0(2 x CH), 114.2 (CH), 92.6 (C), 20.2(CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₄H₁₄N₄O₂ [M + H]⁺: 271.1195; Found: 271.1182.

Methyl 6-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]benzo[*d*]thiazole-7-carboxylate (125)

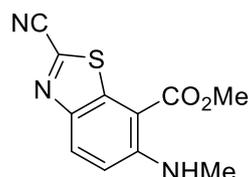


To a solution of benzo[*d*]thiazole **94** (0.200 g, 0.96 mmol) in THF (10 mL, 0.1 M) were added di-*tert*-butylcarbonate (0.628 g, 2.88 mmol, 3 equiv.), DMAP (0.116 g, 0.96 mmol, 1 equiv.) and triethylamine (0.132 mL, 0.96 mmol, 1 equiv.). The reaction was stirred at room temperature for 16 hours. The solvent was removed in *vacuo*. The mixture was diluted in acetic acid (30 mL) and heated at reflux for 15 minutes. The solvent was removed in *vacuo* and the mixture was diluted in DCM, washed with a saturated aqueous solution of NaHCO₃ and dried over MgSO₄. The crude was purified by flash chromatography with DCM/AcOEt as eluent (1:0 to 9:1; v/v) to furnish the compound **125**.

Yield 55%; 0.162 g, white powder; R_f: 0.70 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 123-125 °C; IR (neat) ν_{max} 3256, 3061, 2977, 2952, 1730, 1686, 1594, 1248, 1228, 1150, 1065, 840 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C,

300 MHz): δ_{H} 10.54 (1H, s, NH), 8.90 (1H, s, H₂), 8.72 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H₄), 8.23 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H₅), 4.06 (3H, s, CH₃), 1.55 (9H, s, 3 x CH₃); ^{13}C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 167.2 (C), 154.8 (CH), 152.9 (C), 148.3 (C), 142.6 (C), 135.4 (C), 129.5 (CH), 118.2 (CH), 108.1 (C), 81.2 (C), 52.6 (CH₃), 28.4 (3 x CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₄H₁₇N₂O₄S [M + H]⁺: 309.0909; Found: 309.0912.

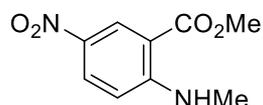
Methyl 2-cyano-6-(methylamino)benzo[d]thiazole-7-carboxylate (**126**)



To a solution of benzo[d]thiazole **20** (0.047 g, 0.20 mmol) CH₃CN (0.400 mL, 0.5 M) in a sealed tube were added K₂CO₃ (0.028 g, 0.20 mmol, 1 equiv.) and CH₃I (0.037 mL, 0.60 mmol, 3 equiv.). The reaction was heated at 100 °C for 16 h. After cooling, the solvent was evaporated under reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography using PE/DCM/AcOEt (1:4:0 to 0:0:1; v/v/v) to furnish the product **126**.

Yield 36%; 0.018 g, white powder; R_f: 0.42 (DCM); mp: 185-187 °C; IR (neat) ν_{max} 3344, 2955, 2920, 2853, 2021, 2115, 1901, 1678, 1601, 1531, 1437, 1393, 1247, 1097, 812 cm⁻¹; ^1H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.42 (1H, br. s, NH), 8.10 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H₄), 7.02 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H₅), 4.02 (3H, s, CH₃), 3.07 (3H, d, $J = 5.1$ Hz, CH₃); ^{13}C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 167.0 (C), 153.6 (C), 143.3 (C), 139.3 (C), 133.1 (C), 131.1 (CH), 113.9 (C), 113.7 (CH), 101.1 (C), 52.6 (CH₃), 30.3 (CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₁H₁₀N₃O₂S [M + H]⁺: 248.0494; Found: 248.0494.

Methyl 2-(methylamino)-5-nitrobenzoate (**128**)

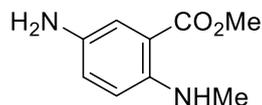


To a solution of 5-nitroanthranilic acid (0.109 g, 0.60 mmol) in CH₃CN (1 mL, 0.6 M) in a sealed tube were added K₂CO₃ (0.249 g, 1.80 mmol, 3 equiv.) and CH₃I (0.150 mL, 2.4 mmol, 4 equiv.). The reaction was heated at 100 °C for 72 h. After cooling, the mixture was filtered through cotton and rinse with AcOEt. The filtrate was evaporated reduced pressure. The crude residue was purified by flash chromatography using PE/DCM (1:1 to 0:1; v/v) to furnish the product **128**.

Yield 55%; 0.069 g, yellow powder; R_f: 0.71 (DCM); mp: 150-152 °C; IR (neat) ν_{max} 3324, 3070, 2907, 1694, 1611, 1589, 1496, 1240, 1178, 821 cm⁻¹; ^1H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.81 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H₆), 8.50 (1H, br. s, NH), 8.19 (1H, dd, $J = 9.4, 2.8$ Hz, H₄), 6.64 (1H, d, $J = 9.4$ Hz,

H₃), 3.89 (3H, s, CH₃), 3.00 (3H, d, *J* = 5.1 Hz, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 167.9 (C), 155.5 (C), 135.9 (C), 129.9 (CH), 129.1 (CH), 110.5 (CH), 108.9 (C), 52.2 (CH₃), 29.9 (CH₃). HRMS (ESI⁻): calcd for C₉H₉N₂O₄ [M - H]⁻: 209.0562; Found: 209.0566.

Methyl 5-amino-2-(methylamino)benzoate (**129**)



To a solution of mixture of methyl 2-(methylamino)-5-nitrobenzoate **128** (0.084 g, 0.4 mmol), in methanol (2 mL, 0.3 M) in a sealed tube were added ammonium formate (0.126 g, 2.0 mmol, 5 equiv) and a catalytic amount of 10% palladium charcoal (10% w/w). The reaction was heated at 65 °C for 30 min under microwave irradiation. After cooling the reaction was filtered through Celite® and washed with dichloromethane. The solvent was removed under *vacuum* to give the crude product which was dissolved in dichloromethane, washed with a saturated aqueous solution of NaHCO₃. The organic layer was then dried over Na₂SO₄, concentrated under reduced pressure and purified by chromatography on silica gel using DCM/AcOEt (1:0 to 0:1; v/v) to furnish the product **132**.

Yield 53%; 0.038 g, brown oil; R_f: 0.68 (DCM); IR (neat) ν_{max} 3381, 3188, 2949, 2816, 1666, 1575, 1518, 1434, 1209, 1173 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_H 7.31 (1H, d, *J* = 2.8 Hz, H₆), 7.11 (1H, br. s, NH), 6.89 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.8 Hz, H₄), 6.57 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₅), 3.21 (2H, br. s, NH₂), 3.83 (3H, s, CH₃), 2.87 (3H, s, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_C 168.9 (C), 146.6 (C), 134.7 (C), 124.4 (CH), 117.7 (CH), 112.2 (CH), 110.3 (C), 51.6 (CH₃), 30.2 (CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₉H₁₃N₂O₂ [M + H]⁺: 181.0977; Found: 181.0978.

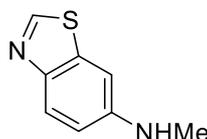
tert-Butyl benzo[*d*]thiazol-6-ylcarbamate (**132**)



To a stirred mixture of benzo[*d*]thiazol-6-amine (0.050 g, 0.33 mmol), sodium iodide (0.049 g, 0.33 mmol, 1 equiv) in THF (1.7 mL, 0.2 M), (Boc)₂O (0.087 g, 0.40 mmol, 1.2 equiv) was added dropwise and the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h. The mixture was diluted with AcOEt, washed with an aqueous solution of Na₂S₂O₃ (5%) and with a saturated aqueous solution of NaHCO₃. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and the solvent was evaporated under reduced pressure to give the crude residue which was purified by flash chromatography on silica gel using DCM/AcOEt (9:1; v/v) to furnish the product **132**.

Yield 73%; 0.061 g, white oil; Rf: 0.72 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 124-126 °C; IR (neat) ν_{\max} 3256, 3043, 2973, 2928, 1712, 1607, 1572, 1526, 1477, 1234, 1153, 1024, 829, 754 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.86 (1H, s, H₂), NH, 8.32 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H₇), 7.97 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H₄), 7.23 (1H, dd, $J = 8.8, 2.2$ Hz, H₅), 7.03 (1H, br. s, NH), 1.51 (9H, s, 3 x CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 152.9 (C), 152.8 (CH), 149.2 (C), 136.5 (C), 135.1 (C), 123.5 (C), 118.2 (CH), 110.8 (CH), 81.0 (C), 28.4 (3 x CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₂H₁₅N₂O₂S [M + H]⁺: 251.0854; Found: 251.0866.

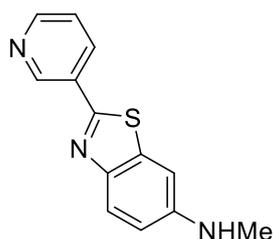
N-Methylbenzo[*d*]thiazol-6-amine (133)



To a solution of benzo[*d*]thiazol-6-amine (0.075 mg, 0.50 mmol) in methanol (1.5 mL, 0.3 M) was added sodium methoxide (0.027 g, 0.50 mmol, 1 equiv.) and paraformaldehyde (0.015 g, 0.50 mmol, 1 equiv.), and the mixture was heated at 66 °C for 2h under microwave irradiation. The reaction mixture was cooled to 0 °C, sodium borohydride (0.019 g, 0.50 mmol, 1 equiv.) was added in portions, and the mixture was heated for 1 h at 66 °C. The mixture was then poured into crushed ice and extracted with ethyl acetate. The combined ethyl acetate layers were dried over MgSO₄, concentrated, and purified with silica column flash chromatography using gradient mixtures PE/AcOEt (8:2 to 7:3; v/v) to furnish the product **133**.

Yield 62%; 0.051 g, black oil; Rf: 0.50 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); IR (neat) ν_{\max} 3312, 3067, 2888, 2807, 1601, 1559, 1483, 1327, 814 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 8.65 (1H, s, H₂), 7.87 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H₄), 7.02 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H₇), 6.80 (1H, dd, $J = 8.8, 2.3$ Hz, H₅), 3.96 (1H, br. s, NH), 2.89 (3H, s, CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 149.0 (CH), 147.8 (C), 146.0 (C), 136.0 (C), 123.8 (CH), 114.7 (CH), 101.4 (CH), 31.0 (CH₃). 152.9 (C), 152.8 (CH), 149.2 (C), 136.5 (C), 135.1 (C), 123.5 (C), 118.2 (CH), 110.8 (CH), 81.0 (C), 28.4 (3 x CH₃). HRMS (ESI⁺): calcd for C₈H₉N₂S [M + H]⁺: 165.0486; Found: 165.0486.

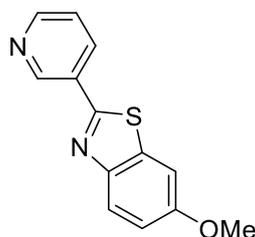
N-Methyl-2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazol-6-amine (134)



N-methylbenzo[*d*]thiazol-6-amine **133** (0.056 g, 0.341 mmol), copper iodide (0.065 g, 0.341 mmol, 1 equiv) and TBD (0.095 g, 0.682 mmol, 2.0 equiv) in dry DMF (0.850 mL) were added to a 2 mL glass microwave vial under argon atmosphere. The mixture was stirred under microwave irradiation at 120 °C for 10 min. Then Pd(OAc)₂ (0.0076 g, 0.034 mmol, 10 mol%) and 3-iodopyridine (0.140 g, 0.682 mmol, 2.0 equiv) were added to the mixture. The reaction was then stirred under microwave irradiation at 120 °C for 5 h. The resulting solution was diluted with dichloromethane and washed three times with a 5% aqueous ammonia solution, then with water and brine. The organic layer was dried over Na₂SO₄ and concentrated under *vacuum*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel with DCM/MeOH as eluent (98:2 to 90:10; v/v) to afford the product **134**.

Yield 79%; 0.065 g, yellow solid; R_f: 0.23 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 125-127 °C; IR (neat) ν_{\max} 3283, 3030, 2898, 2808, 2111, 1604, 1567, 1501, 1296, 802, 697 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.21 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H_{Ar}), 8.64 (1H, dd, *J* = 4.9, 1.6 Hz, H_{Ar}), 8.36 – 8.13 (1H, m, H_{Ar}), 7.85 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H₄), 7.39 (1H, ddd, *J* = 8.1, 4.9, 0.8 Hz, H_{Ar}), 7.00 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H₇), 6.80 (1H, dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, H₅), 2.91 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.3 (C), 150.8 (CH), 148.2 (CH), 148.0 (C), 146.6 (C), 137.5 (C), 134.1 (CH), 130.3 (C), 123.9 (CH), 123.8 (CH), 114.9 (CH), 101.3 (CH), 31.0 (CH³). HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₃H₁₂N₃S [M + H]⁺: 242.0752; Found: 242.0751.

6-Methoxy-2-(pyridin-3-yl)benzo[*d*]thiazole (**135**)

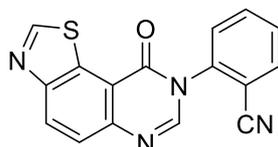


6-methoxybenzo[*d*]thiazole (0.056 g, 0.34 mmol), Pd(OAc)₂ (0.0038 g, 0.017 mmol, 5 mol%), CuI (0.129 g, 0.682 mmol, 2 equiv.) and 3-iodopyridine (0.140 g, 0.682 mmol, 2 equiv.) were placed in a sealed tube under argon atmosphere. Deaerated DMF (1.7 mL, 0.2 M) were added. The resulting mixture was stirred at 140 °C for 5 d. After cooling, the reaction mixture was diluted with DCM, washed with 5% aqueous ammonia solution and dried over MgSO₄. The volatiles were removed under reduced and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel using a gradient (DCM/AcOEt, 2:8 to 7:3; v/v) to afford the compound **135**.

Yield 57%; 0.074 g, yellow solid; R_f: 0.31 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 120-122 °C; IR (neat) ν_{\max} 3045, 2831, 2117, 1903, 1601, 1415, 1255, 1222, 1021, 968, 823, 696 cm⁻¹; ¹H NMR (CDCl₃, 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.24 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H_{Ar}), 8.68 (1H, dd, *J* = 4.9, 1.6 Hz, H_{Ar}), 8.39 – 8.27 (1H, m, H_{Ar}), 7.97 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H₄), 7.42 (dd, *J* = 8.0, 4.9 Hz, H_{Ar}), 7.37 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H₇), 7.12 (1H, dd,

$J = 9.0, 2.6$ Hz, H_5), 3.90 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 162.1 (C), 158.3 (C), 151.3 (CH), 148.7 (C), 148.5 (CH), 136.5 (C), 134.3 (CH), 130.0 (C), 124.1 (CH), 123.9 (CH), 116.2 (CH), 104.2 (CH), 56.0 (CH_3). HRMS (ESI⁺): calcd for $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 243.0592; Found: 243.0591.

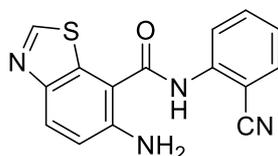
2-(9-Oxothiazolo[5,4-*f*]quinazolin-8(9*H*)-yl)benzotrile (136)



To a solution of thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **77** (0.050 g, 0.25 mmol) in DMSO (0.820 mL, 0.3 M) was added K_2CO_2 (0.085 g, 1.65 mmol, 2.5 equiv.) and 2-fluorobenzotrile (0.081 mL, 0.75 mmol, 3 equiv.). The reaction was heated at 130 °C for 16 h. After cooling, the reaction mixture was diluted with water and extracted with AcOEt. The organics layers were dried over MgSO_4 . The volatiles were removed under reduced pressure and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel using a gradient (DCM/AcOEt, 4:1; v/v) to afford the compound **136**.

Yield 68%; 0.051 g, white solid; R_f: 0.30 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 256-260 °C; IR (neat) ν_{max} 3064, 6047, 2929, 2850, 2234, 1671, 1585, 1571, 1449, 1347, 1275, 1182, 793, 757 cm^{-1} ; ^1H NMR (CDCl_3 , 25 °C, 300 MHz): δ_{H} 9.25 (1H, s, H_2), 8.59 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_4), 8.21 (1H, s, H_7), 7.99 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H_5), 7.96 – 7.81 (3H, m, H_{Ar}), 7.76 – 7.57 (2H, m, H_{Ar}); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 25 °C, 75.4 MHz): δ_{C} 159.3 (C), 158.4 (CH), 153.3 (C), 146.9 (C), 144.4 (CH), 139.2 (C), 134.4 (CH), 134.2 (CH), 131.3 (C), 130.5 (CH), 130.4 (CH), 129.4 (CH), 126.6 (CH), 116.6 (C), 115.2 (C), 112.8 (C). HRMS (ESI⁺): calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M} + \text{H}$]⁺: 305.0497; Found: 305.0493.

6-Amino-*N*-(2-cyanophenyl)benzo[*d*]thiazole-7-carboxamide (137)



To a solution of **136** (0.040 g, 0.13 mmol) in DMF (2.20 mL) and methanol (0.22 mL) was added ethylenediamine (0.088 mL, 1.31 mmol, 10 equiv.) and the solution was stirred at room temperature for 5 d. Water and DCM were added and the aqueous layer was extracted with DCM and then with AcOEt. The combined organic layers were dried over MgSO_4 . The volatiles were removed under reduced and the crude product was purified by chromatography on silica gel using a gradient (DCM/AcOEt, 4:1) to afford the compound **137**.

Yield 3%; 0.001 g, beige solid; R_f: 0.38 (DCM/AcOEt 4:1; v/v); mp: 209-211 °C; HRMS (ESI⁺): calcd for C₁₅H₁₁N₄OS [M + H]⁺: 295.0648; Found: 298.0654.

Conclusions générales et perspectives

Ces travaux de thèse ont porté sur la fonctionnalisation du noyau thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one. L'objectif principal était la modulation des fragments en position C2 de ces composés, en faisant varier la taille et la nature des substituants afin de former des inhibiteurs potentiels de kinases et en particulier de DYRK1A. La modulation de la position N8 a aussi été réalisée dans le but de créer de la diversité moléculaire et de nouvelles chimiothèques (Figure 27).

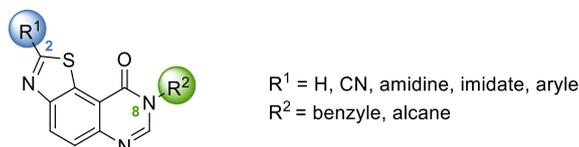


Figure 27 : Modulation envisagée des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

Le premier axe de recherche a permis de synthétiser six nouvelles molécules *via* une réaction d'addition nucléophile sur la fonction nitrile en position C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one. Trois de ces nouvelles molécules ont été obtenues avec l'addition d'un acide aminé (Schéma 23).

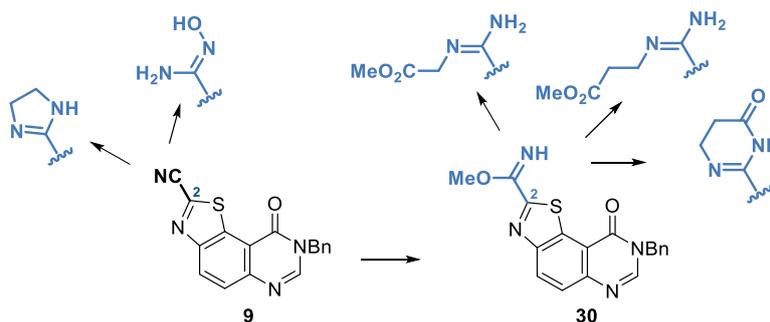


Schéma 23 : Modulation de la position C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one.

Ces travaux de thèse ont aussi permis d'optimiser plusieurs étapes de la synthèse des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. L'amide **21** a été obtenu en présence de DMADMF, moins toxique et plus stable que le réactif de Vilsmeier-Haack utilisé initialement (Schéma 24. a). La décyanation en milieu acide de l'intermédiaire 6-amino-2-cyanobenzo[*d*]thiazole-7-carboxylate de méthyle **20** a permis de synthétiser la thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **93** substituée en position N8 par un groupement comprenant une fonction ester en bout de chaîne (Schéma 24. b). Enfin, la synthèse de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** et de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** a été optimisée sans métaux lors de la réaction de cyclisation formant le motif thiazole (Schéma 24. c).

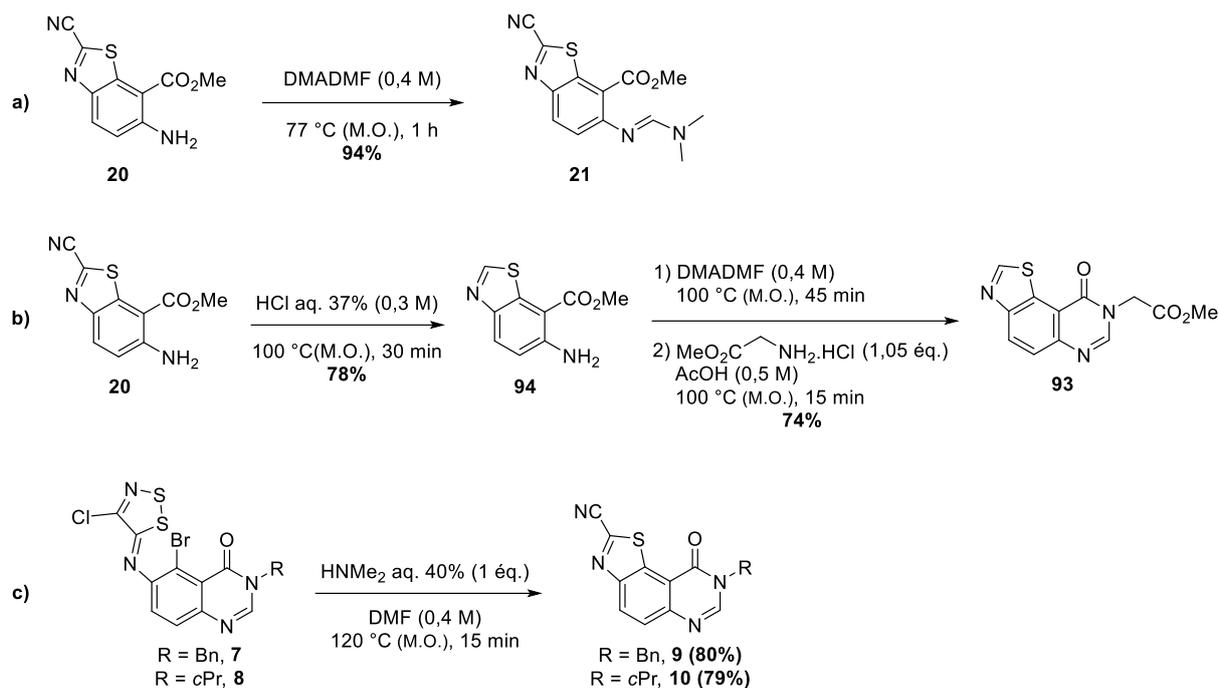


Schéma 24 : Optimisation de la synthèse des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

La méthode d'arylation directe par catalyse organométallique mise au point par le Dr. Marine Harari a pu être exemplifiée sur la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37** conduisant à la synthèse de composés mono-(hétéro)arylés en position C2 et di- ou bis-arylés en C2 et C7 (Schéma 25). Une réaction de débenzylation des dérivés mono-arylés a aussi été mise au point.

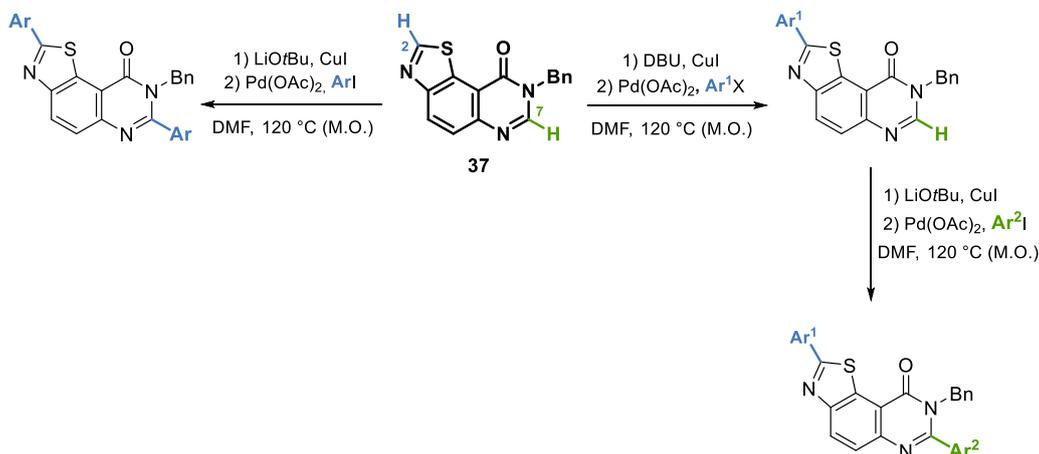


Schéma 25 : Exemplification de l'arylation séquentielle des position C2 et C7 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **37**.

La réaction de C–H arylation en position C2 a pu être efficacement appliquée à la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** (Schéma 26).

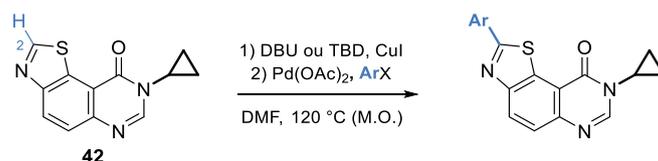


Schéma 26 : Application des conditions d'arylation directe à la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42** et exemplification de la réaction.

L'évaluation de l'activité inhibitrice des dérivés arylés en C2 ont montré qu'un groupement 3-pyridinyle favorisait les interactions entre la molécule et le site catalytique de DYRK1A. Ces résultats ont conduit à la pharmacomodulation de la position N8 des 2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones, et à la synthèse de cinq nouveaux dérivés N8-alkyles (Figure 28).

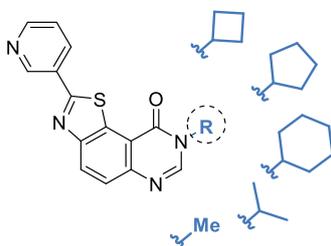


Figure 28 : Etude de la pharmacomodulation de la position N8 des des 2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones.

L'évaluation de l'activité inhibitrice de l'ensemble des produits arylés sur un panel de sept protéines kinases a permis d'identifier la 8-cyclopropyl-2-(pyridin-3-yl)thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **86 (FC162)** en tant qu'inhibiteur de DYRK1A. Des tests biologiques complémentaires ont confirmé son activité en milieu cellulaire et son intérêt potentiel dans certaines applications, en particulier en cancérologie. L'analyse du co-cristal **FC162/DYRK1A** a suggéré que trois atomes ou groupes d'atomes formaient des interactions avec des résidus de la poche catalytique de DYRK1A (Figure 29).

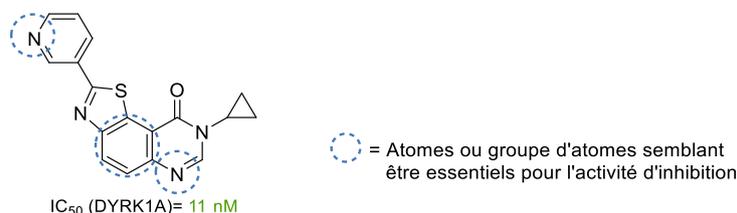


Figure 29 : Structure et valeur d'IC₅₀ sur DYRK1A du **FC162 (86)**.

Les résultats de ces évaluations biologiques, couplés à ceux obtenus lors de travaux antérieurs, ont conduit à la synthèse de structures plus simples, qui comportent les atomes et groupes d'atomes

semblant essentiels à l'activité inhibitrice de la molécule. La réactivité du 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-nitrile **116**, précurseur des EHT, a été étudiée, montrant que le groupement nitrile en C2 est plus réactif lors d'une addition nucléophile. Trois nouveaux composés ont été synthétisés lors de cette étude (Schéma 27).

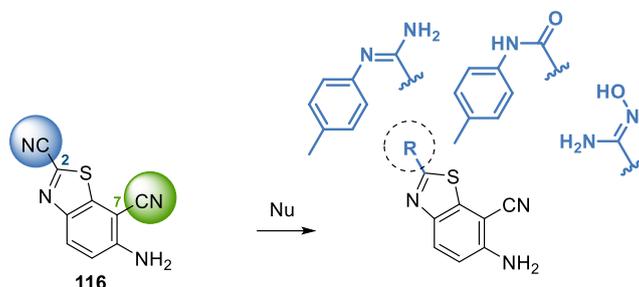


Schéma 27 : Etude de la régiosélectivité du 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile **116**.

Le couplage des *N*-méthylbenzo[*d*]thiazol-6-amine et 6-méthoxybenzo[*d*]thiazole a été effectué avec la 3-iodopyridine. L'évaluation de l'activité inhibitrice de ces molécules **134** et **135** suggère qu'un groupement possédant une mobilité conformationnelle en position C6 conduit à la perte de l'activité inhibitrice des protéines kinases (Figure 30). Les travaux sur les benzo[*d*]thiazoles ne seront donc pas poursuivis.

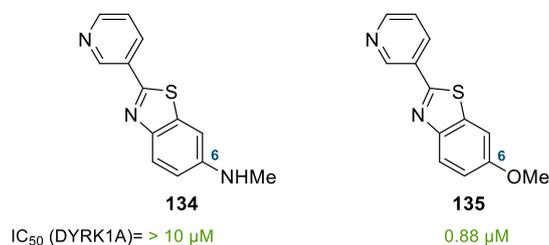


Figure 30 : Benzo[*d*]thiazoles C2-arylés synthétisés.

Afin d'étudier la relation structure/activité des dérivés tricycliques substitués en C2 par un groupement 3-pyridinyle, il serait intéressant d'appliquer les conditions d'arylation directe aux isomères de structure du **FC162** (**86**). L'influence de la réactivité chimique et de l'activité biologique sera ainsi étudiée en fonction de la géométrie des 2-arylthiazoloquinazolinones synthétisées (Figure 31).

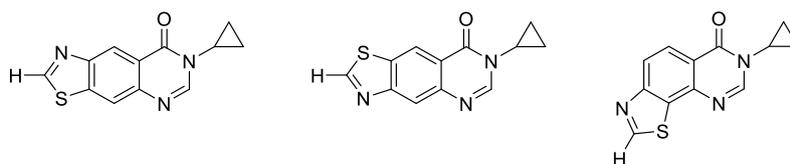


Figure 31 : Isomères de structure de la 8-cyclopropylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **42**.

General methods

I. Chemistry

All reagents were purchased from commercial suppliers and were used without further purification except for DMF, which was stored under argon and activated molecular sieves. All reactions were monitored by thin-layer chromatography with silica gel 60 F254 precoated aluminium plates (0.25 mm). Visualization was performed with a UV light at wavelengths of 254 and 312 nm.

Purifications were conducted with a flash column chromatography system (Puriflash) equipped with a dual UV/Vis spectrophotometer (200–600 nm), a fraction collector (176 tubes), a dual piston pump (1 to 200 mL/min, Pmax = 15 bar), which allowed quaternary gradients, and an additional inlet for air purge (Interchim, Montluçon, France).

Melting points of solid compounds were measured with a SMP3 Melting Point instrument (STUART, Bibby Scientific Ltd, Roissy, France) with a precision of 1.5 °C. IR spectra were recorded with a Spectrum 100 Series FTIR spectrometer (PerkinElmer, Villebon S/Yvette, France).

Liquids and solids were investigated with a single-reflection attenuated total reflectance (ATR) accessory; the absorption bands are given in cm^{-1} .

NMR spectra (^1H , ^{19}F and ^{13}C) were acquired at 295 K using a WP 300 spectrometer an AVANCE 300 MHz spectrometer (Bruker, Wissembourg, France) at 300 and 75.4 MHz, using TMS as an internal standard. Coupling constants J are in Hz, and chemical shifts are given in ppm. Abbreviations used for pics are: s: singlet, d: doublet, t: triplet, q: quadruplet and m: multiplet. Signals in ^{13}C spectra were assigned based on the result of $^{13}\text{CDEPT135}$ experiments.

Mass spectrometry was performed by the Mass Spectrometry Laboratory of the University of Rouen. The mass spectra [ESI, EI, and field desorption (FD)] were recorded with a LCP 1er XR spectrometer (WATERS, Guyancourt, France).

Microwave experiments were conducted in two different commercial microwave reactors especially designed for synthetic chemistry:

-RotoSYNTH™ (Milestone S.r.l.Italy) is a multimode cavity with a microwave power delivery system ranging from 0 to 1200W. Open vessel experiments were carried out in round bottom flask (from 25 mL to 4 L) fitted with a reflux condenser. The temperature was monitored via a contact-less infrared

pyrometer (IRT) and fibre-optic contact thermometer (FO). Temperature, pressure and power profiles were edited and monitored through the EASY-Control software provided by the manufacturer.

-Microwaves-assisted reactions were carried out in sealed tubes with a Biotage Initiator microwave synthesis instrument and temperatures were measured by IR-sensor (Biotage, Uppsala, Sweden). Time indicated in the various protocols is the time measured when the mixtures were at the programmed temperature.

Some reactions were carried out in 10 mL sealed tubes with Monowave 50 (Anton Paar GmbH). The temperature was monitored by an external contact sensor placed at the cavity bottom, measuring the surface temperature of the reaction vessel. Time indicated in the various protocols is the time measured when the mixtures were at the programmed temperature.

The purity of all tested compounds was determined by chromatographic analysis performed at 25 °C on Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Les Ulis, France) with a quaternary pump equipped with a photodiode array detector (DAD) managed at 254 nm. Column was a Luna C18 (150 mm × 4.6 mm; 3 µm particle size) provided by Phenomenex (Le Pecq, France). The mobile phase was water (A) and acetonitrile (B) (v/v); starting condition is 90% A and 10% B in which the solvent B changed to 10% to 90% in 4% by minute. Flow rate was 0.5 mL/min and 5 µL were injected. The percentage of purity of all products was more than 98%.

II. Inhibition potency and IC₅₀

All compounds were tested on seven different in vitro kinase assays (CDK2, CDK5/p25 and CDK9 (cyclin-dependent kinase), CK1 / casein kinase 1, CLK1 (cdc-2 like kinase), DYRK1A (dual-specificity, tyrosine phosphorylation regulated kinase) and GSK3 Glycogen Synthase Kinase 3) to evaluate their inhibition potency. All compounds were first tested at a final concentration of 10 µM. Compounds showing less than 50% inhibition were considered as inactive (IC₅₀ > 10 µM). Compounds displaying more than 50% inhibition at 10 µM were next tested over a wide range of concentrations (usually from 0.01 to 10 µM), and IC₅₀ values were determined from the dose-response curves (Sigma-Plot). Harmine is a -carboline alkaloid known to be a potent inhibitor of DYRK1A. Leucettine L41 is also a potent DYRK1A inhibitor derived from a marine natural product, Leucettamine B. They were tested as positive controls and their IC₅₀ values were compared with those obtained for the compounds under study.

Buffers

Homogenization buffer: 25 mM MOPS; 15 mM EGTA; 15 mM MgCl₂; 60 mM β -glycerophosphate; 15 mM *p*-nitrophenylphosphate; 2 mM dithiothreitol (DTT); 1 mM Na₃VO₄; 1 mM NaF; 1 mM di-sodium phenylphosphate; 1X protease inhibitor cocktail; 0.2% Nonidet P-40 substitute.

Buffer A: 10 mM MgCl₂; 1 mM EGTA (MW 380.4); 1 mM DTT (MW 154.2); 25 mM Tris/HCl (MW 121.1), and; 50 μ g/mL heparin.

Buffer C: 60 mM β -glycerophosphate; 30 mM *p*-nitrophenylphosphate; 25 mM MOPS pH 7.0; 5 mM EGTA; 15 mM MgCl₂; 1 mM DTT, and; 0.1 mM sodium vanadate.

All chemicals were purchased from Sigma Aldrich (St. Quentin Fallavier, France), unless otherwise stated and the protease inhibitor cocktail was from Roche (Boulogne-Billancourt, France).

Protein Kinase Assays

Kinase activities were assayed in buffer A or C at 30°C at a final ATP concentration of 15 μ mol/L. Blank values were subtracted and activities were expressed in percent of the maximal activity, i.e., in the absence of inhibitors. Controls were performed with appropriate dilutions of DMSO.

The GS-1, CKS, CDK7/9 tide and RS peptide substrates were obtained from Proteogenix (Oberhausbergen, France).

GSK-3 α/β (porcine brain, native) was assayed, in buffer A, with 0.5 mg BSA/mL + 1 mM DTT, using GS-1 (YRRAAVPPSPSLSRHSSPHQSpEDEEE) (pS stands for phosphorylated serine), a GSK-3 specific substrate, in the presence of 15 μ mol/L [γ -³³P] ATP (3000 Ci/mmol; 10 mCi/mL) in a final volume of 30 μ L. After 30 min incubation at 30 °C, the reaction was stopped by harvesting onto P81 phosphocellulose supernatant (Whatman, Dutscher SAS, Brumath, France) using a FilterMate harvester (PerkinElmer, Courtaboeuf, France) and were washed in 1% phosphoric acid. Scintillation fluid was added and the radioactivity measured in a Packard counter.

CK1 δ/ϵ (porcine brain, native) was assayed as described for CDK1 but in buffer C and using 25 μ M CKS peptide (RRKHAAIGpSAYSITA), a CK1-specific substrate.

DYRK1A, 1B, 2 and 3 (Human, recombinant, expressed in *E. coli* as GST fusion proteins) were purified by affinity chromatography on glutathione-agarose and assayed as described for CDK1/cyclin

B with with 0.5 mg BSA/mL + 1 mM DTT and using Woodtide (KKISGRLSPIMTEQ) (1.5 µg/assay) as a substrate, a residue of transcription factor FKHR.

CLK1, 2, 3 and 4 (mouse, recombinant, expressed in *E. coli* as GST fusion proteins) were assayed as described for CDK1/cyclin B with 0.5 mg BSA/mL + 1 mM DTT and RS peptide (GRSRSRSRSRSR).

III. Kinase Interaction Panel (Ambit Biosciences/DiscoverX)

Assays were performed essentially as described previously. For most assays, kinase-tagged T7 phage strains were grown in parallel in 24-well blocks in an *E. coli* host derived from the BL21 strain. *E. coli* were grown to log-phase and infected with T7 phage from a frozen stock (multiplicity of infection ~0.1) and incubated with shaking at 32 °C until lysis (~90 min). The lysates were centrifuged (6000× *g*) and filtered (0.2 µm) to remove cell debris. The remaining kinases were produced in HEK-293 cells and subsequently tagged with DNA for qPCR detection. Streptavidin-coated magnetic beads were treated with biotinylated small molecule ligands for 30 min at room temperature (RT) to generate affinity resins for kinase assays. The liganded beads were blocked with excess biotin and washed with blocking buffer (SeaBlock (Pierce, ThermoFisher Scientific, Illkirch, France), 1% BSA, 0.05% Tween 20, 1 mM DTT) to remove unbound ligand and to reduce non-specific phage binding. Binding reactions were assembled by combining kinases, liganded affinity beads, and test compounds in 1× binding buffer (20% SeaBlock, 0.17× PBS, 0.05% Tween 20, 6 mM DTT). An 11-point threefold serial dilution of each test compound was prepared in 100% DMSO at 100× final test concentration which and subsequently diluted to 1× in the assay. All reactions were performed in polystyrene 96-well plates in a final volume of 0.135 mL. The assay plates were incubated at RT with shaking for 1 h and the affinity beads were washed four times with wash buffer (1× PBS, 0.05% Tween 20). The beads were then resuspended in elution buffer (1× PBS, 0.05% Tween 20, 0.5 µM non-biotinylated affinity ligand) and incubated at RT with shaking for 30 min. The kinase concentration in the eluates was measured by qPCR.

IV. Neuroblastoma cells Assays

Culture and treatment of cell lines

SH-SY5Y neuroblastoma cells conditionally expressing human DYRK1A [4] (gift from Dr. Walter Becker) or overexpressing the four-repeat (4R) tau isoform (gift from Dr. Fred Van Leuven) were cultured in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM):Nutrient Mixture F-12 (DMEM/F-12, Gibco, c/o Invitrogen, Saint Aubin, France) containing 1% Penicillin Streptomycin mixture (Gibco, c/o

Invitrogen, Saint Aubin, France) and 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco) in a humidified, 5% CO₂ incubator at 37°C. One day after seeding 2.10⁶ SH-SY5Y-DYRK1A into 60 mm dishes, doxycycline was added (1 µg/mL final concentration) to induce DYRK1A expression. Twenty-four hours later, FC162 was added at different concentrations, or Leucettine L41 at 10 µM (with a final concentration of 0.1% DMSO) and cells were incubated for an additional 24 h. Finally, cells were scraped in cold PBS, centrifuged at 10,000 rpm for 5 min at 4°C, and pellets were snap-frozen in liquid nitrogen and kept at -80 °C. The same protocol was used on SH-SY5Y-Tau-4R cells, but only 1.10⁶ cells were seeded into 60 mm dishes one day before treatment, and they were harvested 6 h after adding the compounds.

Cell lysis, electrophoresis and Western Blotting

Cell pellets were lysed in homogenization buffer and centrifuged (17,000 g for 10 min at 4 °C). Protein extracts were mixed (1:1 v/v) with sample buffer (2x NuPAGE LDS sample buffer, 200 mM DTT). Following heat denaturation, equal amounts of proteins (20 or 30 µg) were loaded on NuPAGE precast 4–12% Bis-Tris protein gels. Electrophoresis was run in MOPS buffer. Rapid blot transfers were performed at 2.5 A/25 V for 7 min. Membranes were blocked in milk (5% Regilait in Tris Buffered Saline with 0.1% Tween (TBST)) for 1 h. Membranes were then incubated with the antibodies against cyclin D1 (overnight at 4°C, 1:2,000 in 5% BSA; Cell Signaling), phospho T286-cyclin D1 (1:2,000 in 5% BSA overnight at 4°C; Cell Signaling), DYRK1A (1:2,000 in BSA, 2 h at RT; Abnova), Tau (1/2,000 in milk, overnight at 4°C), phospho T212-Tau (1/2,000 in milk, overnight at 4°C) or GAPDH (2 h at RT, 1:30,000 dilution; Bio-Rad). Finally, membranes were incubated for 1 h at RT with goat anti-rabbit or goat anti-mouse antibodies (Bio-Rad), and chemiluminescent detection was achieved with homemade ECL-Tris buffer (100 mM Tris pH 8.5, 0.009% H₂O₂, 0.225 mM p-coumaric acid, 1.25 mM luminol) with Fusion Fx7 camera software.

V. Pre-B cells Assays

Cell culture

CD19+ cells were isolated from murine total bone marrow using the EasySep positive-selection system (Stem Cell Technologies). Cells were expanded in DMEM supplemented with 10% FBS (Hyclone), 2mM L-Glutamine, 10mM HEPES (pH 8), 1mM Sodium Pyruvate, 55µM β-mercaptoethanol, 50µg/mL Gentamicin, and 1x Primocin (Invivogen) in the presence of 5ng/mL murine IL-7 and 10ng/mL murine SCF (PreproTech). Cells were replated every 2 days, maintaining a concentration of 2e6 cells/mL, and used for assays after 6 days of expansion.

Immunoblotting

Pre-B cells were treated with FC162 (doses indicated in Figure 1) or vehicle (0.1% DMSO) for 3 hours. Cells were then collected and lysed for 30 minutes on ice in TENT buffer (50mM Tris, pH 8, 2mM EDTA, 150mM NaCl, 1% Triton X-100) supplemented with 5mM NaF, 2mM NaVO₃, 2mM β -glycerophosphate, 2mM Sodium Pyrophosphate, and 1x complete protease inhibitor EDTA-free (Roche). Lysates were cleared by centrifugation for 10 minutes at 21000g at 4C. Protein lysates were denatured in LDS sample loading buffer (Life Technologies) with 5% β -mercaptoethanol at 95C for 5 min and electrophoresed on 4-12% Bis-Tris gradient gels (Life Technologies). Proteins were transferred to PVDF membranes and probed with primary antibodies for phospho-Cyclin D3 Thr283 (ab55322, Abcam), total Cyclin D3 (C-16, Santa Cruz Biotechnology, Inc), and HSC-70 (B-6, Santa Cruz Biotechnology, Inc), and detected with HRP-conjugated secondary antibodies and ECL substrate (GE Healthcare). Immunoblots were performed in triplicate.

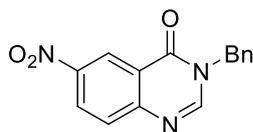
Cell cycle analysis

Wild-type pre-B cells were replanted in complete culture media with 100-fold less IL-7 and SCF for 2 days in order to induce cell cycle exit. Cells were stained with 10 μ g/mL Hoechst 33342 (Life Technologies) for 1 hour in the dark at 37C prior to collection, washed, and resuspended in FACS buffer with 1 μ g/mL Pyronin Y (Sigma Aldrich) for 25 minutes before analysis. Cells were analyzed using LSRII flow cytometer (BD). Cell cycle analysis was performed in triplicate.

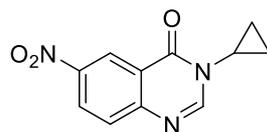
VI. Pampa BBB procedure

Test compounds were dissolved in DMSO at 5 mg/mL. Ten microlitres of this compound stock solution were diluted 200-fold in universal buffer at pH 7.4 and mixed by the robot to make secondary stock solution (final concentration 25 mg/mL). Two hundred microlitres of the secondary stock solution were added to the donor wells. The filter membrane was coated with PBL in dodecane (selected empirically as 4 mL volume of 20 mg/mL PBL in dodecane) and the acceptor well was filled with 200 mL of pH 7.4 buffer. The acceptor filter plate was carefully put on the donor plate to form a 'sandwich' (consisting of the aqueous donor with test compound on the bottom, artificial lipid membrane in the middle, and aqueous acceptor on the top). The test compound diffused from the donor well through the lipid membrane and into the acceptor well. The 'sandwich' was left undisturbed for 18 hrs while the permeation occurred. The concentration of drug in the acceptor, the donor, and the reference wells was determined using the UV plate reader. Effective permeability (P_e) of the compounds was calculated by using the pION PSR4p software.

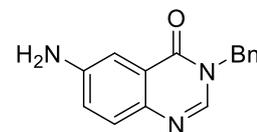
Liste des produits



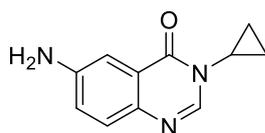
1
p. 70



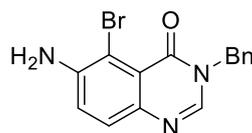
2
p. 71



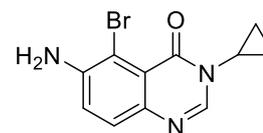
3
p. 72



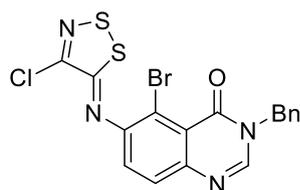
4
p. 72



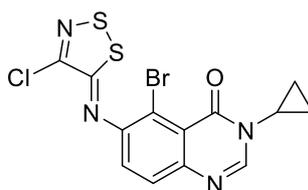
5
p. 73



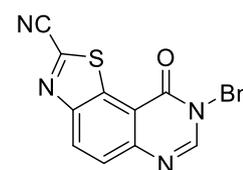
6
p. 74



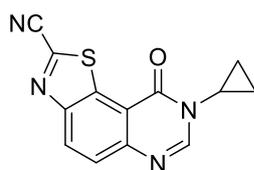
7
p. 75



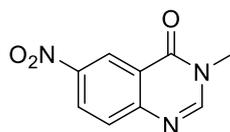
8
p. 76



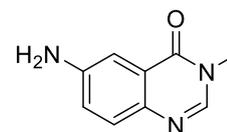
9
p. 77, 148



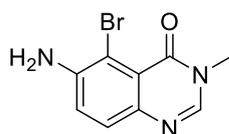
10
p. 77, 82, 148



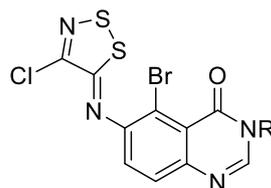
11
p. 71



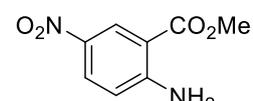
12
p. 73



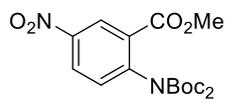
13
p. 74



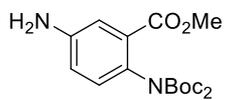
14
p. 76



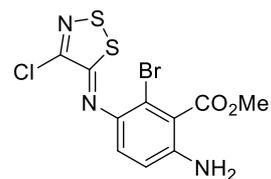
15
p. 78



16
p. 78



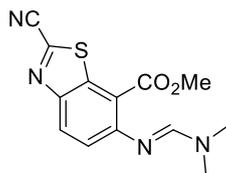
17
p. 79



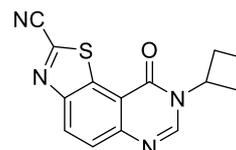
19
p. 79



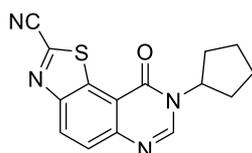
20
p. 80



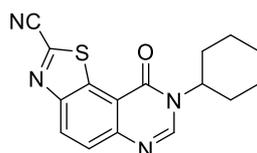
21
p. 81



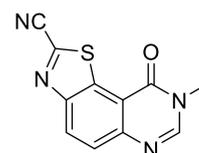
22
p. 82



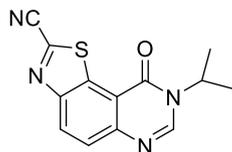
23
p. 82



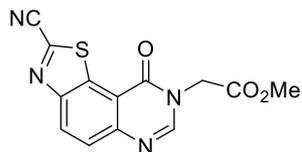
24
p. 83



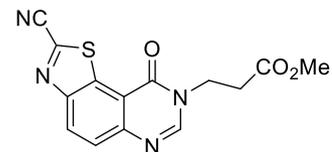
25
p. 83



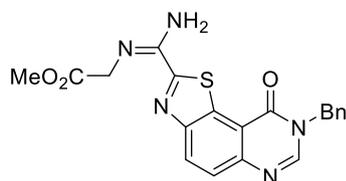
26
p. 83



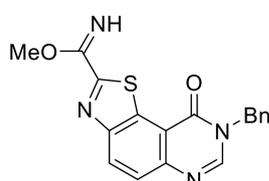
27
p. 84



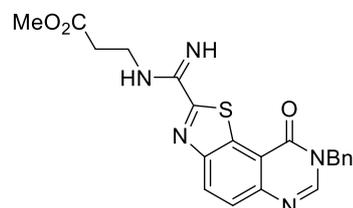
28
p. 84



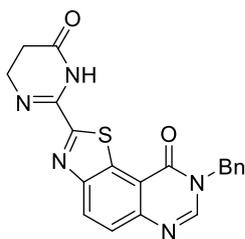
29
p. 85



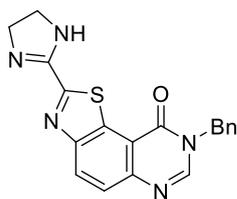
30
p. 86



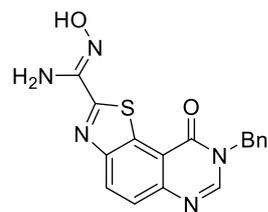
32
p. 86



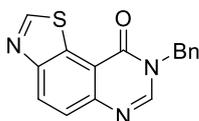
33
p. 87



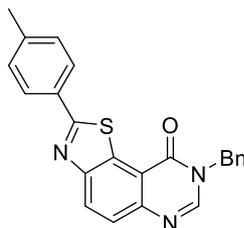
34
p. 88



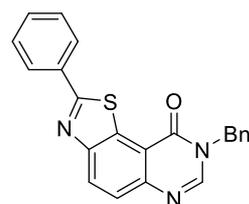
35
p. 88



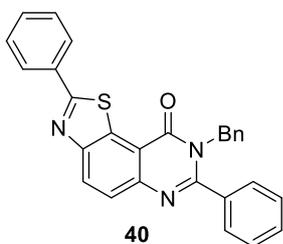
37
p. 149



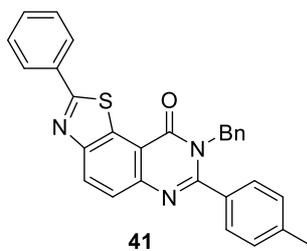
38
p. 152



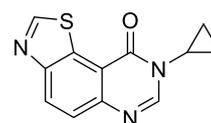
39
p. 153



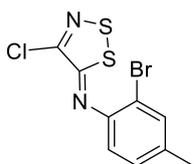
40
p. 164



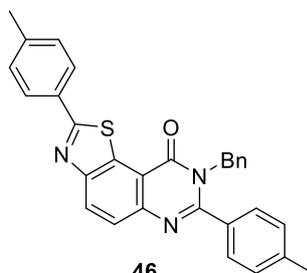
41
p. 168



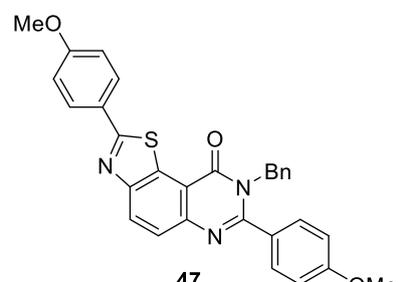
42
p. 149



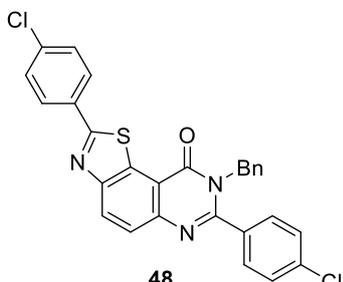
45
p. 173



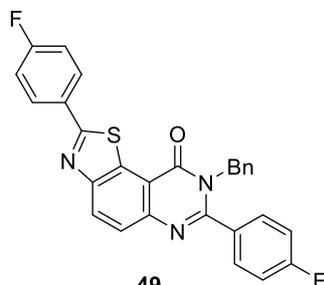
46
p. 165



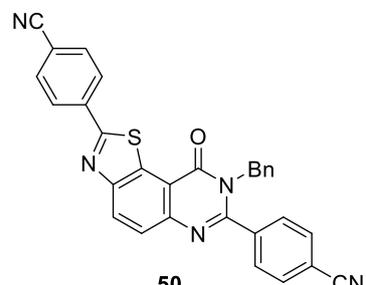
47
p. 165



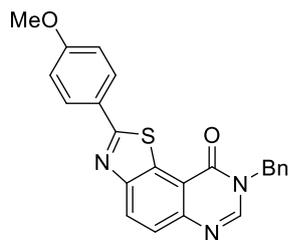
48
p. 166



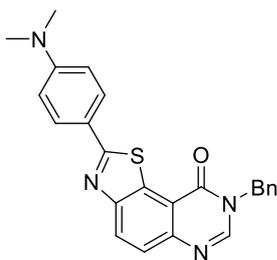
49
p. 166



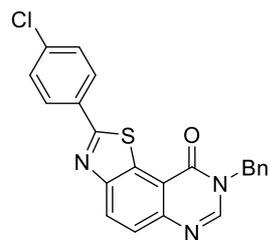
50
p. 167



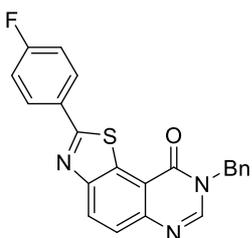
53
p. 153



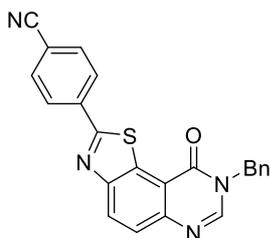
54
p. 154



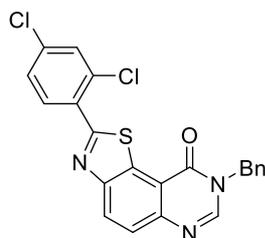
55
p. 154



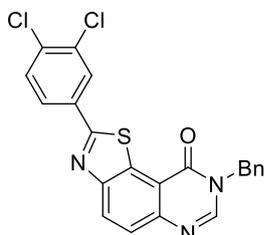
56
p. 155



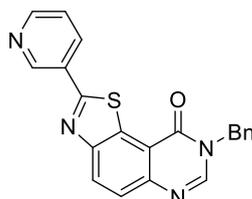
57
p. 155



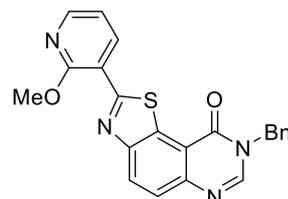
58
p. 156



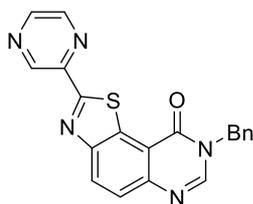
59
p. 156



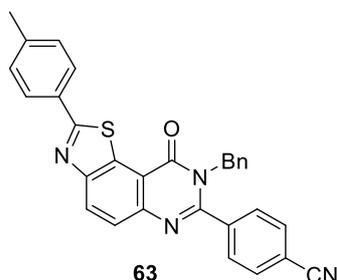
60
p. 157



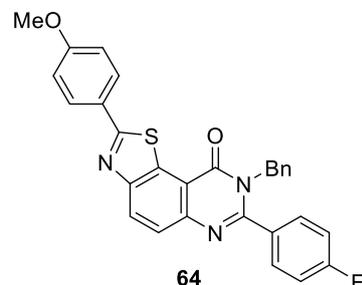
61
p. 157



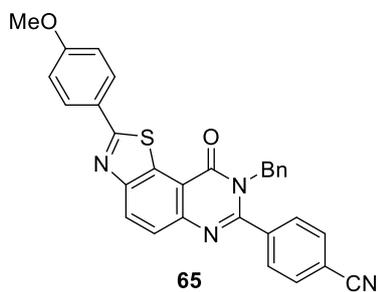
62
p. 158



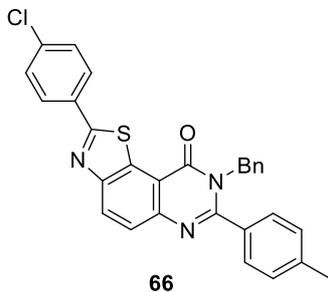
63
p. 168



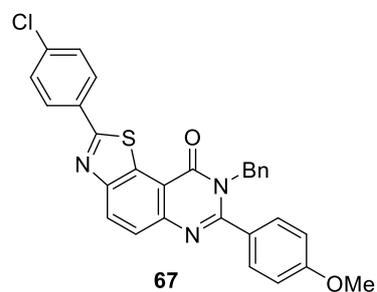
64
p. 169



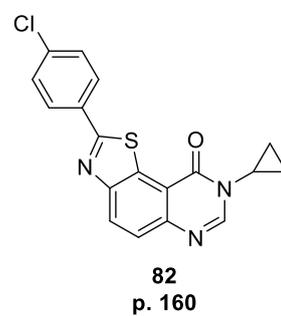
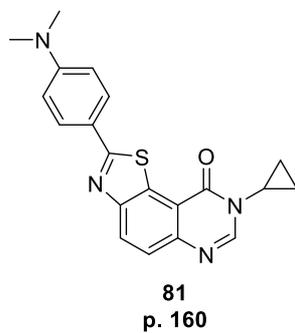
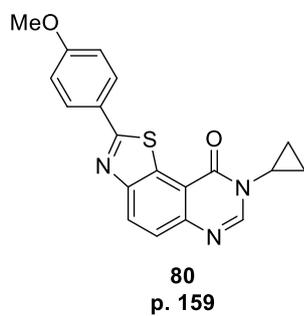
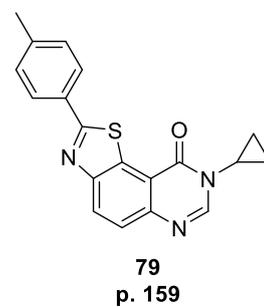
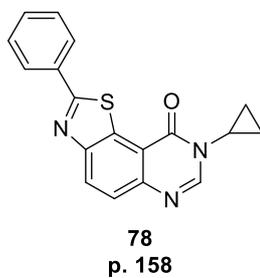
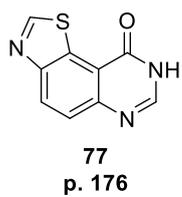
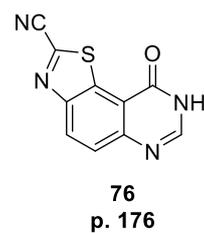
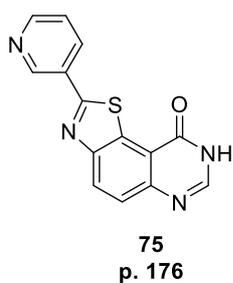
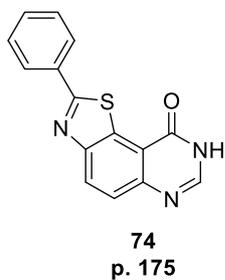
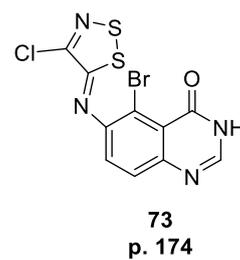
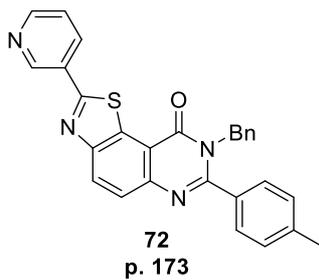
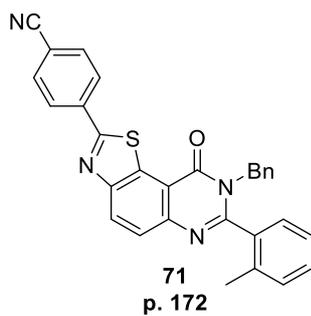
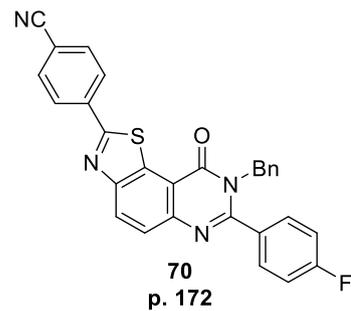
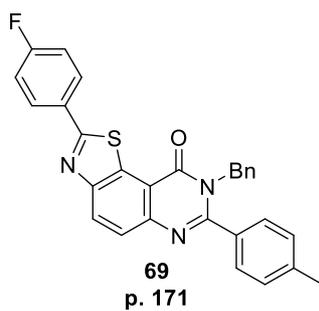
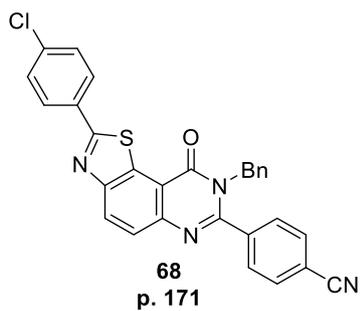
65
p. 169

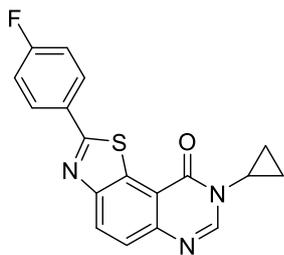


66
p. 170

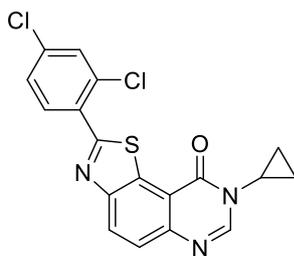


67
p. 170

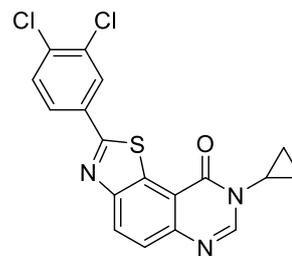




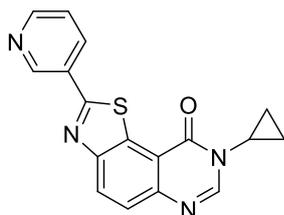
83
p. 161



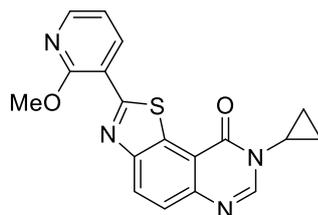
84
p. 161



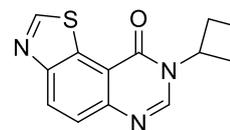
85
p. 162



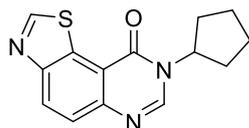
86
p. 179



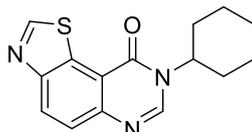
87
p. 162



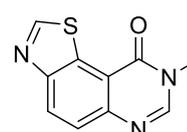
88
p. 150



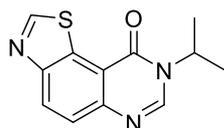
89
p. 150



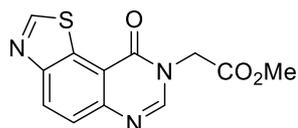
90
p. 150



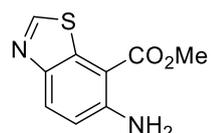
91
p. 151



92
p. 151



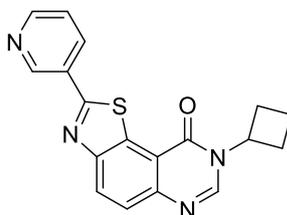
93
p. 177



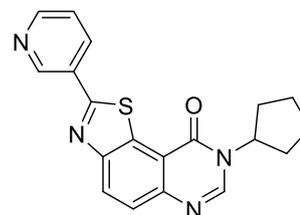
94
p. 177



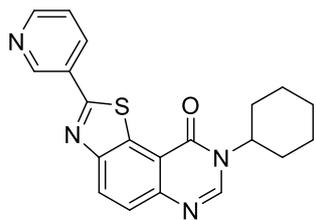
96
p. 178



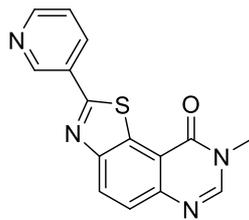
97
p. 179



98
p. 180



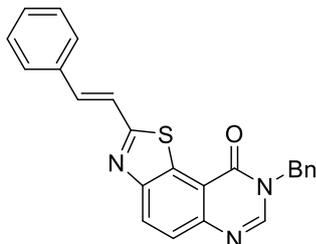
99
p. 180



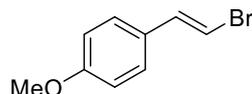
100
p. 181



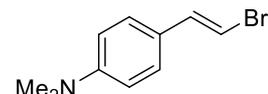
101
p. 181



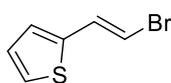
102
p. 163



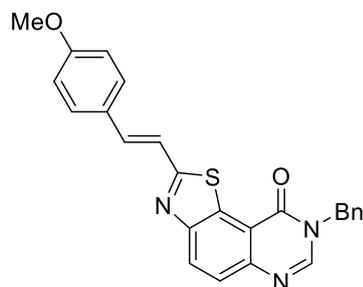
103
p. 182



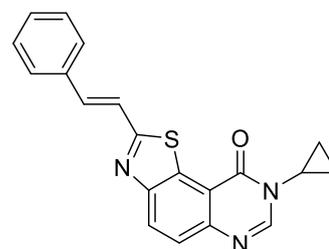
104
p. 182



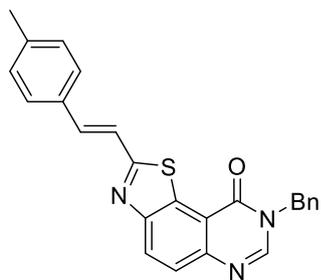
105
p. 182



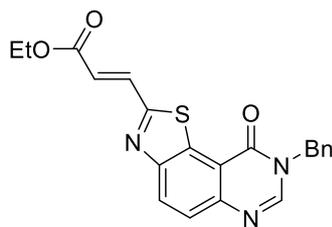
106
p. 163



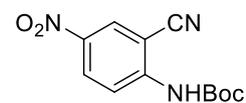
108
p. 163



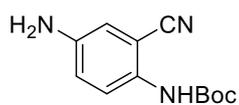
109
p. 183



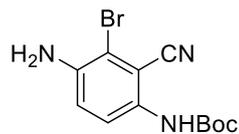
110
p. 183



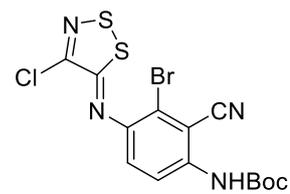
111
p. 228



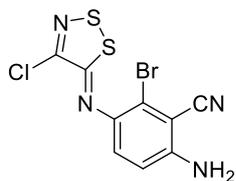
112
p. 228



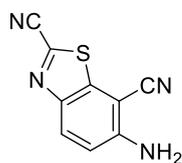
113
p. 229



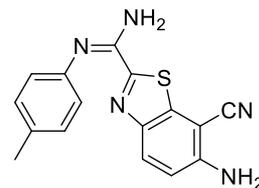
114
p. 229



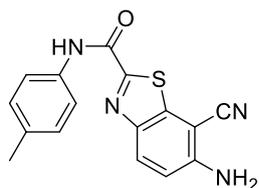
115
p. 230



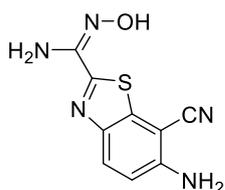
116
p. 230



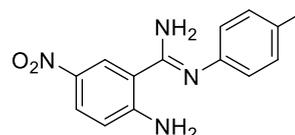
120
p. 231, 232



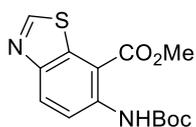
122
p. 232



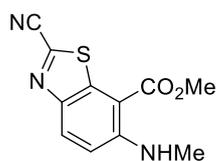
123
p. 232



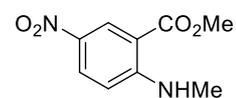
124
p. 233



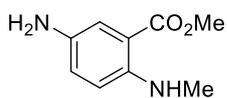
125
p. 233



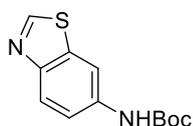
127
p. 234



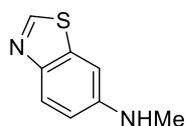
128
p. 234



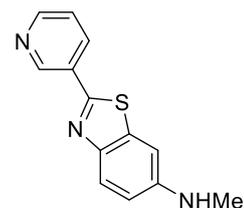
129
p. 235



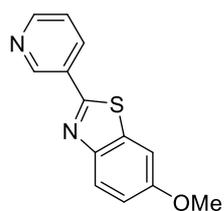
132
p. 235



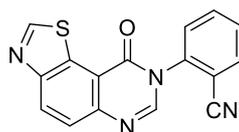
133
p. 236



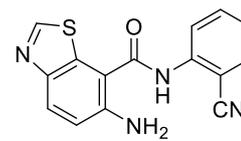
134
p. 236



135
p. 237



136
p. 238



137
p. 238

Bibliographie

- 1) G. Manning, D. B. Whyte, R. Martinez, T. Hunter, S. Sudarsanam, *Science* **2002**, 298, 1912–1934.
- 2) F. Zuccotto, E. Ardini, E. Casale, M. Angiolini, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 2681–2694.
- 3) O. Hantschel, G. Superti-Furga, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **2004**, 5, 33–44.
- 4) J. A. Endicott, M. E. M. Noble, L. N. Johnson, *Annu. Rev. Biochem.* **2012**, 81, 587–613.
- 5) S. Aranda, A. Laguna, S. de la Luna, *FASEB J.* **2011**, 25, 449–462.
- 6) A. Walte, K. Rüben, R. Birner-Gruenberger, C. Preisinger, S. Bamberg-Lemper, N. Hilz, F. Bracher, W. Becker, *FEBS J.* **2013**, 280, 4495–4511.
- 7) (a) J. Wegiel, C.-X. Gong, Y.-W. Hwang, *FEBS J.* **2011**, 278, 236–245, (b) S. Stotani, F. Giordanetto, F. Medda, *Future Med. Chem.* **2016**, 8, 681–696.
- 8) M. D. Tang-Schomer, A. R. Patel, P. W. Baas, D. H. Smith, *FASEB J.* **2010**, 24, 1401–1410.
- 9) M. N. Islam, M. N. Iskander, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **2004**, 4, 1077–1104.
- 10) https://www.nottingham.ac.uk/biochemcourses/NTM3/Tess_Alzheimers/tangles.html, consulté le 15/05/18.
- 11) A. Imani Aria, H. Biglari, *Appl. Math. Comput.* **2018**, 321, 313–332.
- 12) G. Chen, T. Xu, Y. Yan, Y. Zhou, Y. Jiang, K. Melcher, H. E. Xu, *Acta Pharmacol. Sin.* **2017**, 38, 1205–1235.
- 13) Y. Gwack, S. Sharma, J. Nardone, B. Tanasa, A. Iuga, S. Srikanth, H. Okamura, D. Bolton, S. Feske, P. G. Hogan, A. Rao, *Nature* **2006**, 441, 646–650.
- 14) K. de Graaf, H. Czajkowska, S. Rottmann, L. C. Packman, R. Lilischkis, B. Lüscher, W. Becker, *BMC Biochem.* **2006**, 7, 1–13.
- 15) S. Malinge, M. Bliss-Moreau, G. Kirsammer, L. Diebold, T. Chlon, S. Gurbuxani, J. D. Crispino, *J. Clin. Invest.* **2012**, 122, 948–962.
- 16) A. Seifert, L. A. Allan, P. R. Clarke, *FEBS J.* **2008**, 275, 6268–6280.
- 17) https://rnbio.upmc.fr/bio-cell_cycle-cellulaire_introduction, consulté le 15/05/18.
- 18) L. Meijer, *Bull. Cancer* **2012**, 96, 19–29.
- 19) P. Ostyn, *Facteurs inflammatoires et contrôle de la quiescence/activation des cellules souches tumorales de mélanome*, Thèse de doctorat, Université de Lille, Lille, France, 27/09/2016.
- 20) B. J. Thompson, R. Bhansali, L. Diebold, D. E. Cook, L. Stolzenburg, A.-S. Casagrande, T. Besson, B. Leblond, L. Désiré, S. Malinge, J. D. Crispino, *J. Exp. Med.* **2015**, 212, 953–970.

- 21) R. Abbassi, T. G. Johns, M. Kassiou, L. Munoz, *Pharmacol. Ther.* **2015**, *151*, 87–98.
- 22) S. Sadasivam, J. A. DeCaprio, *Nat. Rev. Cancer* **2013**, *13*, 585–595.
- 23) X. Deng, E. Friedman, *Genes Cancer* **2014**, *5*, 337–347.
- 24) D. B. Jarhad, K. K. Mashelkar, H.-R. Kim, M. Noh, L. S. Jeong, *J. Med. Chem.* **2018**, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00185.
- 25) A. Backes, B. Zech, B. Felber, B. Klebl, G. Müller, *Expert Opin. Drug Discov.* **2008**, *3*, 1409–1425.
- 26) J. Bain, H. McLauchlan, M. Elliott, P. Cohen, *Biochem. J.* **2003**, *371*, 199–204.
- 27) J. Bain, L. Plater, M. Elliott, N. Shpiro, C. J. Hastie, H. McLauchlan, I. Klevernic, J. S. C. Arthur, D. R. Alessi, P. Cohen, *Biochem. J.* **2007**, *408*, 297–315.
- 28) C. Gambelunghe, K. Aroni, R. Rossi, L. Moretti, M. Bacci, *Biomed. Chromatogr.* **2008**, *22*, 1056–1059.
- 29) A. Echalié, K. Bettayeb, Y. Ferandin, O. Lozach, M. Clément, A. Valette, F. Liger, B. Marquet, J. C. Morris, J. A. Endicott, B. Joseph, L. Meijer, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 737–751.
- 30) M. A. Beniddir, E. Le Borgne, B. I. Iorga, N. Loaëc, O. Lozach, L. Meijer, K. Awang, M. Litaudon, *J. Nat. Prod.* **2014**, *77*, 1117–1122.
- 31) B. Smith, F. Medda, V. Gokhale, T. Dunckley, C. Hulme, *ACS Chem. Neurosci.* **2012**, *3*, 857–872.
- 32) T. L. Nguyen, C. Fruit, Y. Hérault, L. Meijer, T. Besson, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2017**, *27*, 1183–1199.
- 33) P. Kassis, J. Brzeszcz, V. Bénétéau, O. Lozach, L. Meijer, R. Le Guével, C. Guillouzo, K. Lewiński, S. Bourg, L. Colliandre, S. Routier, J.-Y. Mérour, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 5416–5434.
- 34) CNRS and university of Orléans. *WO 2011/135259* **2011**.
- 35) F. Giraud, G. Alves, E. Debiton, L. Nauton, V. Théry, E. Durieu, Y. Ferandin, O. Lozach, L. Meijer, F. Anizon, E. Pereira, P. Moreau, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4474–4489.
- 36) Hoffman-La Roche AG. *WO 2012/098065* **2012**.
- 37) Hoffman-La Roche AG. *WO 2012/098066* **2012**.
- 38) Hoffman-La Roche AG. *WO 2012/098068* **2012**.
- 39) Laboratoire Servier and Vernalis. *WO 2017/055533* **2017**
- 40) Hoffman-La Roche AG. *WO 2012/098070* **2012**.
- 41) NIH. *WO 2011/0041655* **2012**.
- 42) S. Gourdain, J. Dairou, C. Denhez, L. C. Bui, F. Rodrigues-Lima, N. Janel, J. M. Delabar, K. Cariou, R. H. Dodd, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 9569–9585.

- 43) Samumed, LLC. *WO 2015/143380* **2015**.
- 44) C. Neagoie, E. Vedrenne, F. Buron, J.-Y. Mérour, S. Rosca, S. Bourg, O. Lozach, L. Meijer, B. Baldeyrou, A. Lansiaux, S. Routier, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *49*, 379–396.
- 45) The Brigham and Women's Hospital, Inc. *WO 2011/127406* **2011**.
- 46) CNRS. *WO 2014/115071* **2014**.
- 47) Korea Research Institute of Bioscience and Technology. *WO 2015/199503* **2015**.
- 48) Laboratoires Servier and Vernalis. *WO 2017/055530* **2017**.
- 49) M. Debdab, F. Carreaux, S. Renault, M. Soundararajan, O. Fedorov, P. Filippakopoulos, O. Lozach, L. Babault, T. Tahtouh, B. Baratte, Y. Ogawa, M. Hagiwara, A. Eisenreich, U. Rauch, S. Knapp, L. Meijer, J.-P. Bazureau, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4172–4186.
- 50) Y. Ogawa, Y. Nonaka, T. Goto, E. Ohnishi, T. Hiramatsu, I. Kii, M. Yoshida, T. Ikura, H. Onogi, H. Shibuya, T. Hosoya, N. Ito, M. Hagiwara, *Nat. Commun.* **2010**, *1*, 1–9.
- 51) University of Kyoto. *WO 2015/083750* **2015**.
- 52) U. Rothweiler, W. Stensen, B. O. Brandsdal, J. Isaksson, F. A. Leeson, R. A. Engh, J. S. M. Svendsen, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 9814–9824.
- 53) I. Kii, Y. Sumida, T. Goto, R. Sonamoto, Y. Okuno, S. Yoshida, T. Kato-Sumida, Y. Koike, M. Abe, Y. Nonaka, T. Ikura, N. Ito, H. Shibuya, T. Hosoya, M. Hagiwara, *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 1–14.
- ⁵⁴⁾ R. Sonamoto, I. Kii, Y. Koike, Y. Sumida, T. Kato-Sumida, Y. Okuno, T. Hosoya, M. Hagiwara, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 1–13.
- 55) H. De Wever, H. Verachtert, *Water Res.* **1997**, *31*, 2673–2684.
- 56) (a) X.-Q. Deng, M.-X. Song, C.-X. Wei, F.-N. Li, Z.-S. Quan, *Med. Chem.* **2010**, *6*, 313–320; (b) N. D. Amnerkar, K. P. Bhusari, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 149–159.
- 57) M.-M. Choi, E.-A. Kim, H.-G. Hahn, K. Dal Nam, S.-J. Yang, S. Y. Choi, T. U. Kim, S.-W. Cho, J.-W. Huh, *Toxicology* **2007**, *239*, 156–166.
- 58) P. Jimonet, F. Audiau, M. Barreau, J.-C. Blanchard, A. Boireau, Y. Bour, M.-A. Coléno, A. Doble, G. Doerflinger, C. Do Huu, M.-H. Donat, J. M. Duchesne, P. Ganil, C. Guérémy, E. Honoré, B. Just, R. Kerphirique, S. Gontier, P. Hubert, P. M. Laduron, J. Le Blevec, M. Meunier, J.-M. Miquet, C. Nemecek, M. Pasquet, O. Piot, J. Pratt, J. Rataud, M. Reibaud, J.-M. Stutzmann, S. Mignani, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2828–2843.
- 59) P. W. Bowyer, R. S. Gunaratne, M. Grainger, C. Withers-Martinez, S. R. Wickramasinghe, E. W. Tate, R. J. Leatherbarrow, K. A. Brown, A. A. Holder, D. F. Smith, *Biochem. J.* **2007**, *408*, 173–180.
- 60) Q. Huang, J. Mao, B. Wan, Y. Wang, R. Brun, S. G. Franzblau, A. P. Kozikowski, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 6757–6767.
- 61) T. H. Al-Tel, R. A. Al-Qawasmeh, R. Zaarour, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1874–1881.

- 62) Y.-R. Lee, G. H. Jin, S.-M. Lee, J.-W. Park, J.-H. Ryu, R. Jeon, B.-H. Park, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2011**, *408*, 625–629.
- 63) (a) C. G. Mortimer, G. Wells, J.-P. Crochard, E. L. Stone, T. D. Bradshaw, M. F. G. Stevens, A. D. Westwell, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 179–185; (b) S. Tasler, O. Müller, T. Wieber, T. Herz, S. Pegoraro, W. Saeb, M. Lang, R. Krauss, F. Totzke, U. Zirrgiebel, J. E. Ehlert, M. H. G. Kubbutat, C. Schächtele, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6728–6737; (c) A. Kamal, K. S. Reddy, M. N. A. Khan, R. V. C. R. N. C. Shetti, M. J. Ramaiah, S. N. C. V. L. Pushpavalli, C. Srinivas, M. Pal-Bhadra, M. Chourasia, G. N. Sastry, A. Juvekar, S. Zingde, M. Barkume, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 4747–4761; (d) A. Kamal, Y. V. V. Srikanth, M. Naseer Ahmed Khan, M. Ashraf, M. Kashi Reddy, F. Sultana, T. Kaur, G. Chashoo, N. Suri, I. Sehar, Z. A. Wani, A. Saxena, P. R. Sharma, S. Bhushan, D. M. Mondhe, A. K. Saxena, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 7136–7150.
- 64) A. Kamal, M. A. H. Syed, S. M. Mohammed, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2015**, *25*, 335–349.
- 65) A. Gupta, S. Rawat, *Journal of Current Pharmaceutical Research* **2010**, *3*, 13–23.
- 66) N. P. Prajapati, R. H. Vekariya, M. A. Borad, H. D. Patel, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 60176–60208.
- 67) M. Koyiono, *New ring transformations of 1,2,3-dithiazoles*, Thèse de doctorat, University of Cyprus, Nicosia, Cyprus, 11/2016.
- 68) <https://labs.chem.ucsb.edu/zakarian/armen/11---bonddissociationenergy.pdf>, consulté le 23/05/18
- 69) (a) T. Besson, J. Guillard, C. W. Rees, M. Thérissod, *Chem. Commun.* **1997**, 881–882; (b) T. Besson, G. Guillaumet, C. Lamazzi, C. W. Rees, *Synlett* **1997**, 704–706; (c) T. Besson, G. Guillaumet, C. Lamazzi, C. W. Rees, V. Thiéry, *J. Chem. Soc. Perkin I* **1998**, 4057–4060; (d) V. Bénéteau, T. Besson, J. Guillard, S. Léonce, B. Pfeiffer, *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 1053–1060; (e) C. Lamazzi, S. Léonce, B. Pfeiffer, P. Renard, G. Guillaumet, C. W. Rees, T. Besson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2183–2185; (f) V. Bénéteau, A. Pierré, B. Pfeiffer, P. Renard, T. Besson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2231–2234; (g) V. Bénéteau, T. Besson, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 2673–2676; (h) C. Lamazzi, H. Chabane, V. Thiery, A. Pierre, S. Leonce, B. Pfeiffer, P. Renard, G. Guillaumet, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2002**, *17*, 397–401; (i) S. Frère, V. Thiéry, T. Besson, *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 3795–3804.
- 70) (a) C. W. Rees, *J. Heterocyclic Chem.* **1992**, *29*, 639–651; (b) T. Besson, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Perkin I* **1995**, 1659–1662; (c) V. Bénéteau, T. Besson, C. W. Rees, *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 2275–2280; (d) S. Frere, V. Thiery, C. Bailly, T. Besson, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 773–779.
- 71) T. F. Molinski, *Chemical Reviews* **1993**, *93*, 1825–1838.
- 72) (a) G. P. Gunawardana, S. Kohmoto, S. P. Gunasekera, O. J. McConnell, *JACS* **1988**, *110*, 4856–4858; (b) N. S. Burres, S. Sazesh, G. P. Gunawardana, J. J. Clement, *Cancer Research* **1989**, *49*, 5267–5274; (c) A. R. Carroll, P. J. Scheuer, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4426–4431; (d) A. Kijjoa, R. Wattanadilok, N. Campos, M. S. J. Nascimento, M. Pinto, W. Herz, *Mar Drugs* **2007**, *5*, 6–22.
- 73) (a) T. Besson, K. Emayan, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1995**, 1419–1420; (b) T. Besson, K. Emayan, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Perkin I* **1995**, 2097–2102; (c) T. Besson, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Perkin I* **1996**, 2857–2860; (d) G. Cottencau, T. Besson, V. Gautier, C. W. Rees, A.-M. Pons *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 529–532; (e) T. Besson, G. Cottencau, V. Gautier, C. W. Rees, A.-M. Pons *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 2343–2348; (f) H. Chabane, C. Lamazzi, V. Thiery, A. Pierre, S. Leonce, B. Pfeiffer, P. Renard, G. Guillaumet, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2003**, *18*, 167–174.; (g) A. Testard, L. Picot, I. Fruitier-Arnaudin, J.-M. Piot, H. Chabane, L. Domon, V. Thiery, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2004**, *19*, 467–473; (h) H. Chabane, A. Pierre, S.

- Leonce, B. Pfeiffer, P. Renard, V. Thiery, G. Guillaumet, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2004**, *19*, 567–575.
- 74) (a) H. Chabane, C. Lamazzi, V. Thiéry, G. Guillaumet, T. Besson, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2483–2486; (b) F.-R. Alexandre, A. Berecibar, R. Wrigglesworth, T. Besson, *Tetrahedron* **2003**, *59*, 1413–1419.
- 75) J. A. McCubrey, D. Rakus, A. Gizak, L. S. Steelman, S. L. Abrams, K. Lertpiriyapong, T. L. Fitzgerald, L. V. Yang, G. Montalto, M. Cervello, M. Libra, F. Nicoletti, A. Scalisi, F. Torino, C. Fenga, L. M. Neri, S. Marmiroli, L. Cocco, A. M. Martelli, *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res.* **2016**, *1863*, 2942–2976.
- 76) T. Besson, J. Guillard, C. W. Rees, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1027–1030.
- 77) A. Testard, L. Picot, O. Lozach, M. Blairvacq, L. Meijer, L. Murillo, J.-M. Piot, V. Thiéry, T. Besson, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2005**, *20*, 557–568.
- 78) C. Logé, A. Testard, V. Thiéry, O. Lozach, M. Blairvacq, J.-M. Robert, L. Meijer, T. Besson, *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1469–1477.
- 79) G. Marzaro, A. Guiotto, A. Chilin, *Expert Opin. Ther. Pat.* **2012**, *22*, 223–252.
- 80) (a) A. Foucourt, D. Hédou, C. Dubouilh-Benard, A. Girard, T. Taverne, A.-S. Casagrande, L. Désiré, B. Leblond, T. Besson, *Molecules* **2014**, *19*, 15411–15439; (b) A. Foucourt, D. Hédou, C. Dubouilh-Benard, L. Désiré, A.-S. Casagrande, B. Leblond, N. Loäec, L. Meijer, T. Besson, *Molecules* **2014**, *19*, 15546–15571.
- 81) S. Coutadeur, H. Benyamine, L. Delalonde, C. de Oliveira, B. Leblond, A. Foucourt, T. Besson, A.-S. Casagrande, T. Taverne, A. Girard, M. P. Pando, L. Désiré, *J. Neurochem.* **2015**, *133*, 440–451.
- 82) (a) X. Deng, S. E. Mercer, C.-Y. Sun, E. Friedman, *genes & Cancer* **2014**, *5*, 22–30; (b) X. Deng, J. Hu, M. J. Cunningham, E. Friedman, *genes & Cancer* **2014**, *5*, 201–211.
- 83) A. Chaikuad, J. Diharce, M. Schröder, A. Foucourt, B. Leblond, A.-S. Casagrande, L. Désiré, P. Bonnet, S. Knapp, T. Besson, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 10315–10321.
- 84) D. Hédou, R. Guillon, C. Lecointe, C. Logé, E. Chosson, T. Besson, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 3182–3191.
- 85) D. Hédou, J. Godeau, N. Loäec, L. Meijer, C. Fruit, T. Besson, *Molecules* **2016**, *21*, 578–597.
- 86) (a) S. Laclef, M. Harari, J. Godeau, I. Schmitz-Afonso, L. Bischoff, C. Hoarau, V. Levacher, C. Fruit, T. Besson, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 1700–1703; (b) J. Godeau, M. Harari, S. Laclef, E. Deau, C. Fruit, T. Besson, *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, *2015*, 7705–7717.
- 87) M. Harari, F. Couly, C. Fruit, T. Besson, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 3282–3285.
- 88) K. Maruoka, T. Ooi, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3013–3028.
- 89) A. Pinner, *Berichte Dtsch. Chem. Ges.* **1892**, *25*, 2807–2821.
- 90) L.-B. Li, W.-J. Dan, F.-F. Tan, L.-H. Cui, Z.-P. Yuan, W.-J. Wu, J.-W. Zhang, *Chem. Pharm. Bull.* **2015**, *63*, 33–37.

- 91) F. Shuangxia, G. Zheng, T. Yelv, L. Hui, J. Guofang, *J. Chem. Res.* **2015**, *39*, 451–454.
- 92) D. C. McCutcheon, M. A. Paley, R. C. Steinhardt, J. A. Prescher, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7604–7607.
- 93) A. E. Moormann, S. Metz, M. V. Toth, W. M. Moore, G. Jerome, C. Kornmeier, P. Manning, D. W. Hansen, B. S. Pitzele, R. Webber, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2651–2653.
- 94) B. Gabrielsen, M. J. Phelan, L. Barthel-Rosa, C. See, J. W. Huggins, D. F. Kefauver, T. P. Monath, M. A. Ussery, G. N. Chmurny, E. M. Schubert, K. Upadhyaya, C. Kwong, D. A. Carter, J. A. Secrist, J. J. Kirsi, W. M. Shanon, R.W. Sidwell, G. D. Kini, R. K. Robins, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 3231–3238.
- 95) R. Baati, V. Gouverneur, C. Mioskowski, *Synthesis* **1999**, *6*, 927–929.
- 96) E. Deau, D. Hédou, E. Chosson, V. Levacher, T. Besson, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3518–3521.
- 97) T. Besson, M.-J. Dozias, J. Guillard, C. W. Rees, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1998**, 3925–3926.
- 98) J. Godeau, A. Martinet, V. Levacher, C. Fruit, T. Besson, *Synthesis* **2016**, *48*, 3504–3508.
- 99) (a) K. Tamao, K. Sumitani, M. Kumada, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 4374–4376; (b) A. O. King, N. Okukado, E.-i. Negishi, *J. Chem.Soc., Chem. Commun.* **1977**, 683–684; (c) D. Milstein, J. K. Stille, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3636–3638; (d) N. Miyaoura, K. Yamada, A. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437–3440; (e) Y. Hatanaka, T. Hiyama, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 918–920.
- 100) Yin, J. Liebscher, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 133–173.
- 101) R. F. Heck, J. P. Nolley, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2320–2322.
- 102) K. Sonogashira, Y. Tohda, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.* **1975**, *16*, 4467–4470.
- 103) Y. Fujiwara, I. Moritani, S. Danno, R. Asano, S. Teranishi, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 7166–7169.
- 104) T. Gensch, M. J. James, T. Dalton, F. Glorius, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 2296–2306.
- 105) (a) Seregin, I. V.; Gevorgyan, V. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1173. (b) Fairlamb, I. J. S. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1036. (c) Bellina, F.; Rossi, R. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 10269. (d) Daugulis, O. *Top. Curr. Chem.* **2010**, *292*, 57. (e) Ackermann, L. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1315. (f) Hirano, K.; Miura, M. *Synlett* **2011**, *3*, 294. (g) Wencel-Delord, J.; Glorius, F. *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 369. (h) Shibahara, F.; Murai, T. *Asian J. Org. Chem.* **2013**, *2*, 624. (i) Rossi, R.; Bellina, F.; Lessi, M.; Manzini, C. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 17. (j) Bonin, H.; Sauthier, M.; Felpin, F.-X. *Adv. Synth. Catal.* **2014**, *356*, 645. (k) Davies, H. M. L.; Morton, D. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 343. (l) Segawa, Y.; Maekawa, T.; Itami, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 66. (m) Besson, T.; Fruit, C. *Synthesis* **2016**, *48*, 3879. (n) Gayakhe, V.; Sanghvi, Y. S.; Fairlamb, I. J. S.; Kapdi, A. R. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 11944. (o) Gensch, T.; Hopkinson, M. N.; Glorius, F.; Wencel-Delord, J. *Chem.Soc.Rev.* **2016**, *45*, 2900. (p) Rossi, R.; Lessi, M.; Manzini, C.; Marianetti, G.; Bellina, F. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 1795. (q) R. Rossi, M. Lessi, C. Manzini, G. Marianetti, F. Bellina, *Synthesis* **2016**, *48*, 3821–3862. (r) Bheeter, C. B.; Chen, L.; Soulé, J.-F.; Doucet, H. *Catal. Sci. Technol.* **2016**, *6*, 2005. (s) Roudesly, F.; Oble, J.; Poli, G. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2017**, *426*, 275. (t) Aziz, J.; Piguel, S. *Synthesis* **2017**, *49*, 4562. (u) Verbitskiy, E. V.; Rusinov, G. L.; Chupakhin, O. N.; Charushin, V. N. *Synthesis* **2018**, *50*, 193. (v) Choy, P. Y.; Wong, S. M.; Kapdi, A.; Kwong, F. Y. *Org. Chem. Front.* **2018**, *5*, 288.

- 106) C. Liu, J. Yuan, M. Gao, S. Tang, W. Li, R. Shi, A. Lei, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 12138–12204.
- 107) L. Théveau, C. Verrier, P. Lassalas, T. Martin, G. Dupas, O. Querolle, L. Van Hijfte, F. Marsais, C. Hoarau, *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17*, 14450–14463.
- 108) K. Shen, Y. Fu, J.-N. Li, L. Liu, Q.-X. Guo, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1568–1576.
- 109) F. Bellina, C. Calandri, S. Cauteruccio, R. Rossi, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 1970–1980.
- 110) H.-Q. Do, O. Daugulis, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12404–12405.
- 111) N. S. Nandurkar, M. J. Bhanushali, M. D. Bhor, B. M. Bhanage, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1045–1048.
- 112) T. Yoshizumi, H. Tsurugi, T. Satoh, M. Miura, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1598–1600.
- 113) H.-Q. Do, R. M. K. Khan, O. Daugulis, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15185–15192.
- 114) J. Huang, J. Chan, Y. Chen, C. J. Borths, K. D. Baucom, R. D. Larsen, M. M. Faul, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3674–3675.
- 115) F. Shibahara, E. Yamaguchi, T. Murai, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 2471.
- 116) W. Zhang, Q. Zeng, X. Zhang, Y. Tian, Y. Yue, Y. Guo, Z. Wang, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 4741–4745.
- 117) Y. Han, X. Wang, X. Wang, L. Lv, G. Diao, Y. Yuan, *Synthesis* **2012**, *44*, 3027–3032.
- 118) G. Zhang, X. Zhao, Y. Yan, C. Ding, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 669–672.
- 119) D. Yu, L. Lu, Q. Shen, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 940–943.
- 120) J. L. Bon, D. Feng, S. R. Marder, S. B. Blakey, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7766–7771.
- 121) S. M. Khake, V. Soni, R. G. Gonnade, B. Punji, *Dalton Trans* **2014**, *43*, 16084–16096.
- 122) T. Truong, V. T. Nguyen, H. T. X. Le, N. T. S. Phan, *RSC Adv* **2014**, *4*, 52307–52315.
- 123) J. Gu, C. Cai, *RSC Adv* **2015**, *5*, 56311–56315.
- 124) F. Yang, J. Koeller, L. Ackermann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 4759–4762.
- 125) H. Pandiri, V. Soni, R. G. Gonnade, B. Punji, *New J. Chem.* **2017**, *41*, 3543–3554.
- 126) C. Wang, Y. Li, B. Lu, X.-Q. Hao, J.-F. Gong, M.-P. Song, *Polyhedron* **2018**, *143*, 184–192.
- 127) N. H. Naik, T. D. Urmode, A. K. Sikder, R. S. Kusurkar, *Aust. J. Chem.* **2013**, *66*, 1112–1114.
- 128) D. Das, P. Poddar, S. Maity, R. Samanta, *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 3612–3621.
- 129) F. Couly, C. Dubouilh-Benard, T. Besson, C. Fruit, *Synthesis* **2017**, *49*, 4615–4622.

- 130) H.-S. Lee, K. Kim, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 869–872.
- 131) T. Besson, J. Guillard, C. W. Rees, V. Thiéry, *J. Chem. Soc. Perkin 1* **1998**, 889–892.
- 132) S. S. Michaelidou, P. A. Koutentis, *Synthesis* **2009**, *24*, 4167–4174.
- 133) M. J. Spitulnik, *Synthesis* **1976**, 730–731.
- 134) E. A. Jaseer, D. J. C. Prasad, A. Dandapat, G. Sekar, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 5009–5012.
- 135) C. Benedí, F. Bravo, P. Uriz, E. Fernández, C. Claver, S. Castellón, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6073–6077.
- 136) P. A. Koutentis, M. Koyioni, S. S. Michaelidou, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 621–629.
- 137) L. Čechová, P. Jansa, M. Šála, M. Dračinský, A. Holý, Z. Janeba, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 866–871.
- 138) W. Liu, C. Chen, H. Liu, *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 1721–1726.
- 139) (a) A. F. Larsen, T. Ulven, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3546–3548; (b) T. P. Petersen, A. F. Larsen, A. Ritzén, T. Ulven, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 4190–4195.
- 140) P. Vanysek, CRC handbook of chemistry and physics **1998**, 8-23–8-33.
- 141) R. Guillon, F. Pagniez, C. Picot, D. Hédou, A. Tonnerre, E. Chosson, M. Duflos, T. Besson, C. Logé, P. Le Pape, *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 288–292.
- 142) F. Rombouts, D. Franken, C. Martínez-Lamenca, M. Braeken, C. Zavattaro, J. Chen, A. A. Trabanco, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 4815–4818.
- 143) T. Patra, S. Agasti, Akanksha, D. Maiti, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 69–71.
- 144) T. Martin, C. Verrier, C. Hoarau, F. Marsais, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 2909–2912.
- 145) J. P. Das, S. Roy, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7861–7864.
- 146) F. Besselièvre, S. Piguel, F. Mahuteau-Betzer, D. S. Grierson, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 4029–4032.
- 147) W.-C. Lee, T.-H. Wang, T.-G. Ong, *Chem Commun* **2014**, *50*, 3671–3673.
- 148) M. Qian, Z. Huang, E. Negishi, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1531–1534.
- 149) C. Hultsch, O. Blank, H.-J. Wester, M. R. Heinrich, *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1881–1883.
- 150) R. Hosseinzadeh, M. Tajbakhsh, M. Mavvaji, Z. Lasemi, *Res. Chem. Intermed.* **2015**, *41*, 2427–2436.
- 151) (a) M. Knockaert, P. Greengard, L. Meijer, *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 417–425. (b) P. Nurse, *ChemBioChem* **2002**, *3*, 596–603.
- 152) (a) K. Baumann, E.-M. Mandelkow, J. Biernat, H. Piwnicka-Worms, E. Mandelkow, *FEBS Lett.* **1993**, *336*, 417–424. (b) S. Leclerc, M. Garnier, R. Hoessel, D. Marko, J. A. Bibb, G. L. Snyder, P.

- Greengard, J. Biernat, Y.-Z. Wu, E.-M. Mandelkow, G. Eisenbrand, L. Meijer, *J. Biol Chem.* **2001**, 276, 251–260.
- 153) (a) M. Flajolet, G. He, M. Heiman, A. Lin, A. C. Nairn, P. Greengard, *PNAS* **2007**, 104, 4159–4164. (b) D. P. Hanger, H. L. Byers, S. Wray, K.-Y. Leung, M. J. Saxton, A. Seereeram, C. H. Reynolds, M. A. Ward, B. H. Anderton, *J. Biol. Chem.* **2007**, 282, 23645–23654. (c) D. I. Perez, C. Gil, A. Martinez, *Med. Res. Rev.* **2011**, 31, 924–954.
- 154) P. Jain, C. Karthikeyan, N. S. H. N. Moorthy, D. K. Waiker, A. K. J. and P. Trivedi, *Curr. Drug Targets* **2014**, 15, 539–550.
- 155) M.-T. Webster, M. Rozycka, E. Sara, E. Davis, M. Smalley, N. Young, T. C. Dale, R. Wooster, *Genes. Chromosomes Cancer* **2000**, 28, 443–453.
- 156) (a) F. Hernández, E. G. de Barreda, A. Fuster-Matanzo, P. Goñi-Oliver, J. J. Lucas, J. Avila, *Brain Res. Bull.* **2009**, 80, 248–250. (b) A. Kremer, J. V. Louis, T. Jaworski, F. Van Leuven, *Front. Mol. Neurosci.* **2011**, 4, 1–10.
- 157) T. Koyama, N. Yamaotsu, I. Nakagome, S. Ozawa, T. Yoshida, D. Hayakawa, S. Hirono, *J. Mol. Graph. Model.* **2017**, 72, 229–239.
- 158) L. Di, E. H. Kerns, K. Fan, O. J. McConnell, G. T. Carter, *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38, 223–232.
- 159) D. J. Newman, G. M. Cragg, *J. Nat. Prod.* **2007**, 70, 461–477.
- 160) L. P. Graham, Chimie pharmaceutique, second edition translate by Paul Depovere, Eds.; De Boeck, Bruxelles, Belgium, **2003**.
- 161) A. Einhorn, K. Fiedler, C. Ladisch, E. Uhlfelder, Justus Liebigs, *Ann. Chem.* **1909**, 371, 142–161.
- 162) Leblond, B.; Casagrande, A.-S.; Désiré, L.; Foucourt, A.; Besson, T. *WO 2013/026806 A1* **2013**.
- 163) P. A. Koutentis, S. I. Mirallai, *Tetrahedron* **2010**, 66, 5134–5139.
- 164) K. Serdons, K. Van Laere, P. Janssen, H. F. Kung, G. Bormans, A. Verbruggen, *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 7090–7102.
- 165) P. Hrobrik, I. Sigmundová, P. Zahradník, *Synthesis* **2005**, 4, 600–604.
- 166) M. E. Hoque, R. Bisht, C. Haldar, B. Chattopadhyay, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 7745–7748.
- 167) G. R. Reddy, W. C. Thompson, S. C. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 13586–13587.
- 168) T. Torigoe, T. Ohmura, M. Sugimoto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 14272–14276.
- 169) S. Periyasamy, S. Subbiah, *J. Chem. Pharm. Res.* **2016**, 8, 510–518.
- 170) N. Baidur, N. Chadha, B. M. Brandt, D. Asgari, R. J. Patch, C. Schalk-HiHi, T. E. Carver, I. P. Petrounia, C. A. Baumann, H. Ott, C. Manthey, B. A. Springer, M. R. Player, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 1717–1720.
- 171) K. Okuda, T. Tagata, S. Kashino, T. Hirota, K. Sasaki, *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, 57, 1296–1299.

172) S. Russell Stabler, Jahangir, *Synth. Commun.* **1994**, 24, 123–129.

Les effets du dérèglement de l'expression des protéines kinases DYRK (Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase) et plus particulièrement de DYRK1A sont étudiées dans le cas des maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, syndrome de Down) et celui de certains cancers. Ces travaux de thèse s'inscrivent dans la continuité des acquis du laboratoire et des résultats des évaluations de l'activité inhibitrice obtenus sur les thiazolo[5,4-*f*]quinazolines et les thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. L'objectif principal est la modulation du groupement en position C2 des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones en faisant varier la taille et la nature des substituants afin de former des inhibiteurs potentiels sélectifs de DYRK1A.

Le premier chapitre de ce manuscrit concerne l'addition de nucléophiles originaux tels que des acides aminés sur la fonction nitrile en position C2 de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one. Le second chapitre décrit l'optimisation de la synthèse des thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones ainsi que l'arylation directe ces motifs. La réaction de débenzylation des dérivés C2-arylés et la fonctionnalisation par C–H alcénylation de la 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one sont aussi décrites dans cette partie. Le troisième chapitre concerne l'évaluation de l'activité biologique de la plupart des composés synthétisés au cours de ces travaux, révélant le **FC162** en tant qu'inhibiteur de DYRK1A. Ces résultats ont conduit à la modulation en position C2 de motifs plus simples : les benzo[*d*]thiazoles, permettant d'étudier la régiosélectivité du 6-aminobenzo[*d*]thiazole-2,7-dicarbonitrile et l'arylation directe de ces dérivés bicycliques.

The effects of expression modulation of protein kinases DYRK (Dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase) and especially of DYRK1A are characterized in a variety of diseases including neurodegenerative diseases (Alzheimer's disease or Down syndrome) and cancers. This thesis deals with our laboratory knowledge and previous results obtained with thiazolo[5,4-*f*]quinazolines and thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones and their activity. The main part of this thesis is focused on the C2-modulation of thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones to synthesize potent DYRK1A inhibitors.

The first chapter of this manuscript describes the addition of nucleophiles such as amino acids at the C2-function of 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones. The second chapter is focused on the optimization of the thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-ones synthesis and their C–H arylation. Deprotection of C2-arylated products and C–H alkenylation approach of 8-benzylthiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one are also described. The third chapter deals with the inhibitory activity evaluation of most of the compounds prepared along this work shown **FC162** as DYRK1A inhibitor. These results led to C2 modulation of simpler structures such as benzo[*d*]thiazoles by studying the C–H arylation of these bicyclic derivatives.