

UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

UFR DE PHARMACIE

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

Ecole Doctorale Sciences, Technologies, Santé (ED 358)

Discipline : Sciences du médicament

Présentée et soutenue publiquement par

Matthieu ROUFFET

Le 15 décembre 2008

**Synthèse, évaluation biologique et détermination du mode de
chélation de sulfonylhydrazides inhibiteurs de MMP**

Directeur de thèse : Pr Dominique Guillaume

Rapporteurs

Dr. Régis MILLET

Maître de Conférences à l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert
Lespagnol, Lille

Dr. Josiane THIERRY

Chargée de Recherche à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles,
CNRS, Gif sur Yvette

Examineurs

Pr. Frédéric BOHR

Professeur à l'Université de Reims Champagne-Ardenne

Dr. Erika BOURGUET (co-encadrant de thèse)

Maître de Conférences à l'Université de Reims Champagne-Ardenne

Pr. Dominique GUILLAUME (directeur de thèse)

Professeur à l'Université de Reims Champagne-Ardenne

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury :

Le Docteur Josiane Thierry qui me fait l'honneur d'accepter de juger ce travail en tant que rapporteur. Qu'elle trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

Le Docteur Régis Millet qui me fait l'honneur d'accepter de juger ce travail en tant que rapporteur. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Le Professeur Dominique Guillaume pour m'avoir encadré pendant ces trois années. Merci pour votre soutien, votre aide et votre patience à mon égard. Je vous serai pour toujours reconnaissant de m'avoir permis de partir à San Diego pendant six mois.

Le Professeur Frédéric Bohr, pour m'avoir enseigné la chimie théorique et montré son importance dans la chimie organique actuelle. Merci d'avoir accepté de travailler sur mon projet n'étant pas un spécialiste. Merci pour ces heures de discussions fructueuses sur les calculs, mais aussi sur la recherche en général.

Le Professeur Seth. M. Cohen, thank you so much for taking a chance with me, eventhough you did not know me at first. Your experience has brought me a lot during these six months and I am grateful for that. Thank you.

Le Docteur Erika Bourguet pour m'avoir suivi au quotidien. Merci pour ta persévérance et ton courage. J'ai encore beaucoup de chose à apprendre, mais merci de m'avoir enseigné ta rigueur.

Je tiens ensuite à remercier :

Le Professeur Janos Sapi pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de l'ICMR 6229. Le Professeur Catherine Mirand pour accepter de me prendre en stage de DEA. Merci aux docteurs William Hornebeck et George Bellon pour les discussions relatives aux tests biologiques et à Martine Decarme pour sa gentillesse et pour avoir testé mes produits. Merci au Professeur Eric Hénon et à Gautier Mauroy.

Merci Marc, Stéphanie, Hatice, Saâdia, Claude, Clément, Gaelle et Aude pour ces trois années passées à vos côtés et pour votre aide. Merci Daniel pour tes précieux conseils d'ordre technique et souvent théorique.

Thanks to all my labmates at UCSD. Thanks Arpita for staying late in the lab with me and for welcoming me in Seth's lab.

Finalement, je tiens à remercier mes parents, mes frères et mes sœurs pour leur soutien quotidien et leur joie de vivre. Si j'en suis là aujourd'hui c'est grâce à vos encouragements. Merci d'avoir cru en moi.

Elodie, merci d'être simplement là pour moi. Je t'aime.

SOMMAIRE

1	Généralités sur les métalloprotéinases matricielles	9
1.1	La structure des métalloprotéinases matricielles	9
1.2	Le rôle des MMP	11
1.3	Les inhibiteurs synthétiques de MMP	12
1.4	Les travaux antérieurs du Laboratoire, situation du sujet	18
2	Les fonctions sulfonylhydrazine et sulfonylhydrazide	23
2.1	Synthèse de la fonction sulfonylhydrazine	23
2.1.1	Les sulfonylhydrazines aromatiques	24
2.1.2	Les sulfonylhydrazines non aromatiques	25
2.1.3	Les sulfonylhydrazines substituées	27
2.1.3.1	Préparation des sulfonylhydrazines alkylées en N ₁	27
2.1.3.2	Préparation des arylhydrazines	28
2.1.3.3	Synthèse des 1,2-bis-sulfonylhydrazines	29
2.2	La réactivité des sulfonylhydrazines	31
2.2.1	Réactivité en présence d'une base forte : les réactions de substitution nucléophile	31
2.2.2	Les réactions de substitution nucléophile en milieu neutre	32
2.2.3	Réactivité en milieu neutre ou acide : synthèse d'hydrazones	33
2.3	La synthèse des sulfonylhydrazides	35
2.3.1	Synthèse par réaction entre un hydrazide et un chlorure de sulfonyle	35
2.3.2	Synthèse par réaction entre une sulfonylhydrazine et un dérivé d'acide carboxylique	38
2.3.3	Synthèse de sulfonylhydrazide par des méthodes particulières	39
2.4	La réactivité des sulfonylhydrazides	40
2.5	Conclusion	42
3	Travaux antérieurs et molécule cible	44

4	Synthèse de la molécule cible	47
4.1	Stratégie de couplage et rétrosynthèse	47
4.2	Synthèse du tryptophanamide modifié 85	50
4.2.1	Approche rétrosynthétique et bibliographique	50
4.2.2	Travaux personnels	52
4.3	Synthèse de la partie succinique 84a	56
4.3.1	Approche rétrosynthétique et bibliographique	56
4.3.2	Travaux personnels	58
4.4	Synthèse des bromobiphénylesulfonylhydrazine 83 et 86	65
4.4.1	Approche rétrosynthétique et bibliographique	65
4.4.2	Travaux personnels	67
4.5	Couplage selon la voie A	69
4.6	Essais de couplage selon la voie B	78
4.7	Essais de couplage selon la voie C	82
4.8	Synthèse des pipérazinediones	88
5	Evaluation Biologique	93
6	Etude théorique de la fonction sulfonylhydrazide et de son mode de chélation avec l'ion Zn²⁺	95
6.1	Les groupements sulfonylhydrazides seuls	96
6.1.1	Géométrie des sulfonylhydrazides simples	96
6.1.2	Les sulfonylhydrazides N ₁ -déprotonnés	100
6.2	Les modes de chélation des sulfonylhydrazides au zinc	101
6.2.1	Les sulfonylhydrazides simples	101
6.2.2	Les sulfonylhydrazides sous forme anionique	108
6.3	Le modèle du site actif	109
6.3.1	Les différents complexes et leur géométrie	109
6.3.2	Les complexes avec des ligands anioniques	117
6.4	Conclusion	123
7	Synthèse de chlorure de sulfonyle sur des dérivés du maltol et pyrone	129

7.1	Approche rétrosynthétique	131
8	Travaux personnels	132
8.1.1	L'utilisation de l'acide chlorosulfonique	132
8.1.2	Autre stratégie de sulfonation	138
8.2	Conclusion	141
9	Synthèse d'inhibiteurs de MMP dérivés des sulfaminométhyles	142
9.1	Conception des inhibiteurs	142
9.2	Synthèse du sulfonamide 179 et de ses dérivés	147
9.2.1	Approche rétrosynthétique et bibliographique	147
9.2.2	Synthèse du composé 179	148
9.3	Essais Biologiques	154
10	Conclusion	155

GLOSSAIRE

MMP : matrice métalloprotéinase

MT-MMP : métalloprotéinase matricielle transmembranaire

TIMP : tissular inhibitors of matrix metalloproteinases

ZBG: zinc binding group

FDA: food and drug administration

DEAD: diéthylazadicarboxylate

DMTMM: 4-(4,6-diméthoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-méthylmorpholinium

BOC: *tert*-butoxycarbone

NMM: *N*-méthylmorpholine

CDMT: 2-chloro-4,6-diméthoxy-1,3,5-triazine

DCC: dicyclohexylcarbodiimide

DIC: diisopropylcarbodiimide

EDC: 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide

T.A. : température ambiante

TFA : acide trifluoroacétique

THF : tétrahydrofurane

BuLi : butyllithium

DFT : density functional theory

éq. : équivalent

LiHMDS : 1,1,1,3,3,3-hexaméthylidisilazane de lithium

INTRODUCTION

1 Généralités sur les métalloprotéinases matricielles

1.1 La structure des métalloprotéinases matricielles

Les métalloprotéinases matricielles (MMP) forment une famille d'environ 28 enzymes calcium et zinc dépendantes impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire. D'un point de vue structural, ces enzymes sont divisées en plusieurs domaines dont trois sont communs :

1. Un pré-domaine, nécessaire à la maturation et à la sécrétion de l'enzyme hors de la cellule.
2. Un pro-domaine, qui permet de maintenir la protéinase sous sa forme inactive et dont le clivage permet d'activer l'enzyme. Ce pro-domaine contient un résidu cystéine lié au zinc catalytique.
3. Un domaine catalytique qui est constitué d'environ cent soixante aminoacides. Il contient sur sa partie C-terminale un atome de zinc lié à trois histidines et à une molécule d'eau, formant le site catalytique. Ce site catalytique est responsable de l'activité hydrolytique des MMP.

Les MMP renferment aussi un domaine C-terminal, appelé domaine type hémopexine du fait de sa forte ressemblance avec une protéine sérique : l'hémopexine. Ce domaine C-terminal, qui diffère selon les enzymes, est présent chez toutes les MMP, excepté les MMP-7 et -26. Ce domaine variable confère des propriétés supplémentaires à la MMP : la capacité à former des liaisons transmembranaires si un domaine hydrophobe est présent ou des interactions protéine-protéine, notamment lors de la liaison au substrat ou à des inhibiteurs naturels.

Bien que les MMP possèdent des domaines communs, elles se différencient par leur structure et leur rôle (Figure 1).

Par exemple, les MMP-2 et -9 disposent d'un domaine supplémentaire de type fibronectine qui leur confère la possibilité de se lier et de cliver le collagène interstitiel dénaturé ou gélatine¹. Elles sont communément appelées « gélatinases ».

Les MMP-14, -15, -16, -17, -24 et -25 renferment un domaine transmembranaire et une queue cytoplasmique qui leur permet de se lier à la membrane cellulaire et d'intervenir notamment dans l'activation protéolytique des autres métalloprotéinases matricielles. Ces enzymes sont appelées métalloprotéinases transmembranaires (MT-MMP).

Il est ainsi possible de différencier au sein des MMP :

- ↪ Les collagénases (MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18)
- ↪ Les gélatinases (MMP-2, MMP-9)
- ↪ Les stromélysines (MMP-3, MMP-10, MMP-11)
- ↪ Les métalloprotéases membranaires (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25)
- ↪ Les matrilysines (MMP-7, MMP-26)

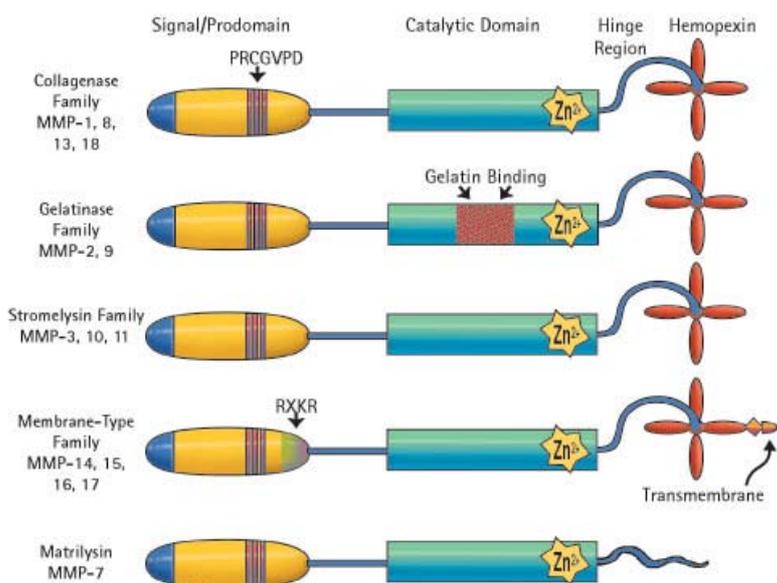


Figure 1 : Représentation simplifiée de la structure des différentes MMP

(http://www.merckbiosciences.co.uk/sharedimages/calbiochem/IS_proteases_homology.jpg)

1.2 Le rôle des MMP

Le rôle physiologique des métalloprotéinases matricielles est important, puisque ces enzymes sont capables de cliver et de remodeler spécifiquement les différents éléments de la matrice extracellulaire. La composition de la matrice extracellulaire varie selon sa localisation dans l'organisme. Dans les tissus conjonctifs, on trouve différentes formes de collagène qui apportent une certaine rigidité et des élastines qui assurent la liaison des cellules. En revanche, la lame basale est principalement constituée de laminine et de collagène. Ainsi, la matrice extracellulaire joue un rôle dans le soutien structural, l'adhérence, le mouvement et la régulation de la cellule.

La dégradation et le remodelage de la matrice extracellulaire sont étroitement régulés par des inhibiteurs endogènes de MMP : les TIMP « Tissular inhibitors of matrix metalloproteinases ». Ces inhibiteurs, au nombre de quatre, ont la particularité d'inhiber de façon réversible toutes les MMP en se liant à leur site actif par leur domaine N-terminal formant ainsi un complexe équimolaire.

Les MMP et TIMP sont en général faiblement exprimés dans les tissus sains. Leur expression augmente lors des processus de remodelage tissulaire physiologique ou pathologique sous l'effet de facteurs capables de moduler la transcription de leurs gènes. La production des enzymes peut alors excéder celles de leurs inhibiteurs, ce qui conduit à la perte de l'équilibre MMP/TIMP. Les MMP participent dans ces conditions à la majorité des régulations liées à une anomalie de la matrice extracellulaire, en particulier la réparation tissulaire, la cicatrisation cutanée, l'embryogénèse, ou encore l'angiogénèse. Les MMP sont aussi associées à des états pathologiques variés comme les arthrites rhumatismales, l'invasion tumorale, la dissémination métastatique et le cancer.

Une diminution de l'expression des MMP peut, à l'inverse, favoriser l'accumulation de matrice extracellulaire au cours de maladies telles que les collagénoses. Dans le cadre des maladies cardiovasculaires, le rôle capital des MMP a été reconnu ces dernières années tant pour favoriser l'hyperplasie intimale artérielle que pour fragiliser la lésion athéroscléreuse avancée, ce qui aboutira finalement à sa rupture².

Les métalloprotéinases matricielles sont donc impliquées dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques. Elles deviennent une cible thérapeutique de choix.

1.3 Les inhibiteurs synthétiques de MMP

La possibilité de réguler les MMP par des inhibiteurs synthétiques a été étudiée depuis de nombreuses années³.

La stratégie initiale utilisait les composants issus de la destruction de la matrice extracellulaire comme modèle pour le « design » d'inhibiteurs (Tableau 1)

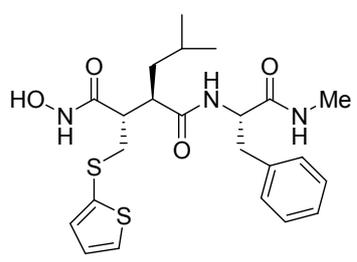
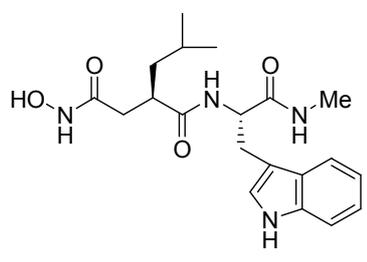
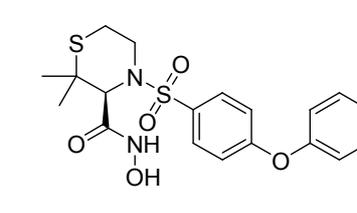
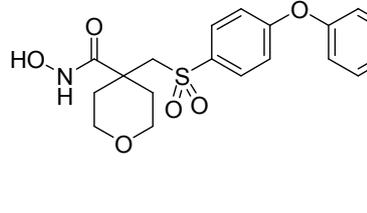
	<p>Batimastat® IC₅₀ (nM): MMP-1 : 10 MMP-2 : 4 MMP-3 : 20 MMP-8 : 10 MMP-9 : 1</p>		<p>Ilomastat® IC₅₀ (nM): MMP-1 : 0.4 MMP-2 : 0.4 MMP-3 : 26 MMP-8 : 0.2 MMP-9 : 0.6</p>
	<p>Prinomastat® IC₅₀ (nM): MMP-1 : 8 MMP-2 : 0.08 MMP-3 : 0.27 MMP-8 : - MMP-9 : 0.26</p>		<p>RS-130,830 IC₅₀ (nM): MMP-1 : 590 MMP-2 : 0.22 MMP-3 : 9 MMP-8 : - MMP-9 : 0.58</p>

Tableau 1 : Différents inhibiteurs de MMP à large spectre et leur IC₅₀

Sachant que le site catalytique des MMP contient un atome de zinc, ces inhibiteurs possèdent tous un groupement chélateur de zinc, le « Zinc Binding Group » (ZBG) qui leur permet de « s'ancrer » dans le site actif de la protéine et de former des interactions fortes avec celui-ci. La plupart des inhibiteurs de première génération ont un groupement acide hydroxamique comme ZBG. La chélation de l'ion Zn²⁺ implique les deux atomes d'oxygène de la fonction acide hydroxamique (Figure 2).

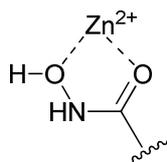


Figure 2 : Mode de chélation de la fonction acide hydroxamique

Ces inhibiteurs dits « peptidomimétiques » ont conduit à des molécules très actives, mais à large spectre c'est-à-dire qu'ils n'inhibent pas sélectivement une MMP par rapport à toutes les autres.

Très vite une seconde génération d'inhibiteurs est apparue en se basant sur une approche plus structurale. Une connaissance de plus en plus précise du site actif de chaque MMP a conduit de nombreux Laboratoires à choisir une MMP comme cible thérapeutique. Ainsi, la structure de plus de 12 000 inhibiteurs de MMP a été publiée et il devient quasiment impossible de classer tous les inhibiteurs de MMP tant le nombre est important et les structures variées.

Pourtant, à l'heure actuelle, le seul inhibiteur de MMP approuvé par la FDA (Food and Drug Administration) est le Periostat®. Il s'agit d'un dérivé de tétracycline qui inhibe les collagénases et qui est utilisé pour le traitement de la périodontie (maladie des gencives).

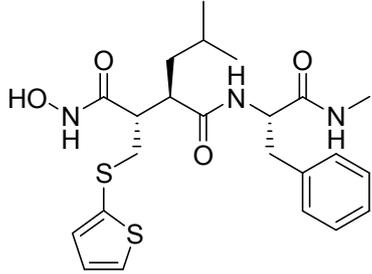
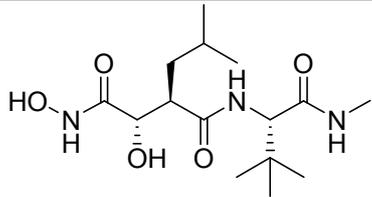
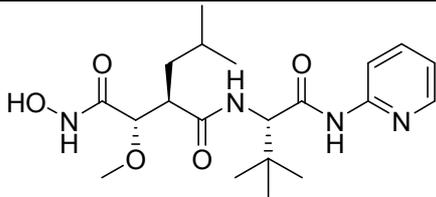
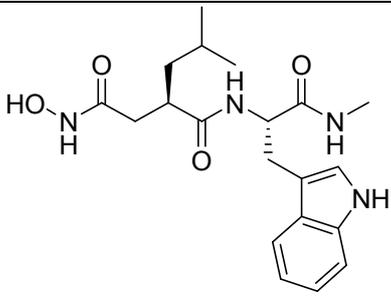
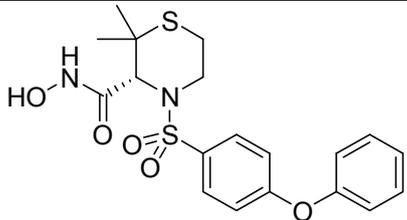
D'autres inhibiteurs ont toutefois été évalués en essais cliniques, mais beaucoup ont vu leur développement arrêté, car les effets secondaires étaient trop importants par rapport à leur effet bénéfique. Les inhibiteurs de première génération qui ont été testés ne montrent pas de sélectivité particulière pour une MMP, en revanche, les inhibiteurs de deuxième génération sont plus sélectifs (Tableau 2).

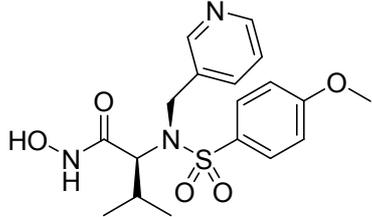
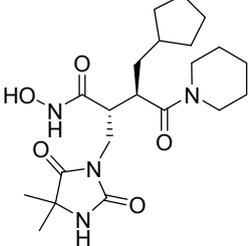
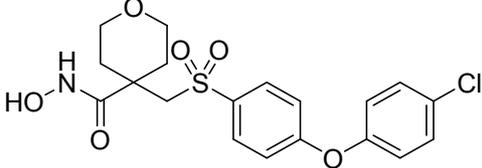
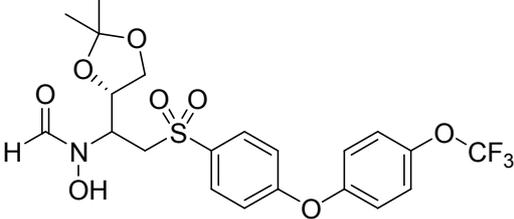
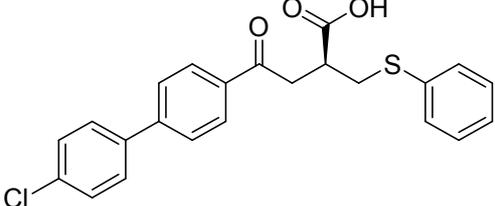
nom	MMP-1	MMP-2	MMP-3	MMP-7	MMP-8	MMP-9	MMP-13
Batimastat [®]	10	4	20	-	10	1	3
Marimastat [®]	5	6	200	20	2	3	2
Ilomastat [®]	0.4	0.4	26	-	0.2	0.6	-
Prinomastat [®]	8.3	0.08	0.27	54	-	0.26	0.04
MMI-270	33	20	43	-	-	8	-
Solimastat [®]	10	80	30	5	-	70	-
Tanomastat [®]	>5000	11	143	-	-	301	1470
Rébimastat [®]	26	41	157	23	10	25	4
RS-130,830*	590	0.22	9.3	1200	-	0.58	0.52
Trocade ^{®*}	3	154	527	-	4	59	3
Périostat [®]	452000	56000	32000	-	-	-	-
S-3304	1.7	-	-	-	-	9.6	-
ABT-518	8900	0.78	12	11000	5	0.5	3.3
D-1927	12	130	381	36	10	53	10

Tableau 2 : Activités inhibitrices (IC₅₀ en nM) de quelques inhibiteurs de MMP de première génération (en bleu) ou de deuxième génération (en noir) testés cliniquement

*** : Ki en nM**

La plupart de ces inhibiteurs de MMP ont été développés dans le but d'obtenir des agents antiprolifératifs. Cependant, quelques uns d'entre eux ont été synthétisés en vu de traiter d'autres pathologies comme l'ulcération de la cornée ou l'arthrite (Tableau 3).

Inhibiteurs (Laboratoire)	Indication	Statut	Structure et MMP inhibées
Batimastat [®] (BB-94) (British Biotech)	Cancer	Arrêt	 <p data-bbox="1050 593 1230 629">Large spectre</p>
Marimastat [®] (BB-2516) (British Biotech)	Cancer	Phase III (arrêt)	 <p data-bbox="1011 869 1268 904">MMP-1, -2, -7 et -9</p>
Solimastat [®] (BB-3644) (British Biotech)	Cancer	Phase I (arrêt)	 <p data-bbox="1054 1144 1225 1180">MMP-1 et -7</p>
Ilomastat [®] (GM-6001) (Glycomed)	Ulcération de la cornée	Phase III (arrêt)	 <p data-bbox="1050 1518 1230 1554">Large spectre</p>
Prinomastat [®] (AG-3340) (Agouron)	Cancer, Dégénérescence maculaire	Phase III (arrêt) Phase II (arrêt)	 <p data-bbox="1034 1816 1246 1852">MMP-2, -3 et -9</p>

<p>MMI-270 (Novartis)</p>	<p>Cancer, arthrite, Tumeur solide</p>	<p>Phase II (arrêt) Phase I (arrêt)</p>	 <p>MMP-1, -3, -12 et -13</p>
<p>Trocade® (Ro32-3555) (Roche)</p>	<p>Arthrite rhumatoïde</p>	<p>Phase III (arrêt)</p>	 <p>MMP-1, -8 et -13</p>
<p>RS130,830 (Roche Bioscience)</p>	<p>Ostéoarthrite, Arthrite</p>	<p>Phase I Phase II</p>	 <p>MMP-2 et -9</p>
<p>ABT-518 (Abbott)</p>	<p>Tumeur solide</p>	<p>Phase I</p>	 <p>MMP-2 et -9</p>
<p>Tanomastat® (BAY 12-9566) (Bayer)</p>	<p>Cancer, Arthrite</p>	<p>Phase III</p>	 <p>MMP-2, -3 et -9</p>

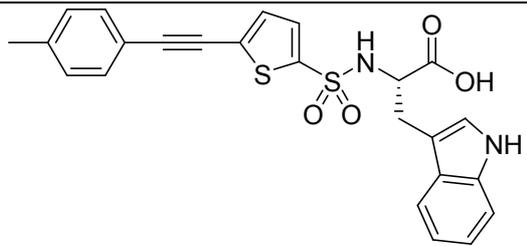
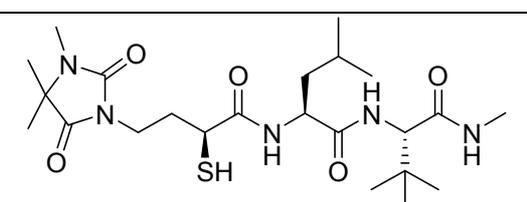
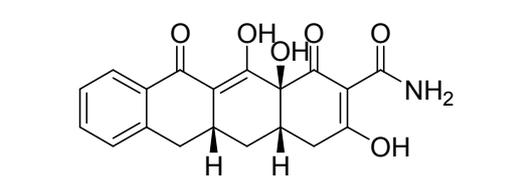
S-3304 (Shionogi)	Tumeur solide	Phase II	 <p>MMP-1 et -9</p>
Rebimastat [®] (BMS-275291) (Celltech BMS)	Cancer	Phase II	 <p>MMP-2 et -9</p>
Metastat [®] (CMT-3) (Collagenex SUNNY)	Cancer	Phase III	 <p>MMP-2 et -9</p>
Néovastat	Cancer	Phase II	<p>Cartilage de requin</p> <p>MMP-9</p>

Tableau 3 : Liste des inhibiteurs de MMP ayant conduit à des essais cliniques ou évalués actuellement.

La lecture de ce tableau met en évidence la difficulté à générer des inhibiteurs de MMP, puisque parmi une pléthore de molécules plus ou moins complexes, seule une a réussi à passer les essais cliniques.

L'absence d'inhibiteurs de MMP sur le marché, malgré le grand nombre de molécule développée ne signifie pas nécessairement que ce concept thérapeutique est erroné. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer la difficulté à générer des inhibiteurs spécifiques de MMP.

Premièrement, il a été montré que les essais cliniques effectués n'étaient pas forcément adéquats. Si l'on considère par exemple les essais réalisés sur les patients atteints du cancer, les résultats sont relatifs, car l'administration des molécules est faite sur une tumeur en développement. Or, c'est au tout début de celui-ci que le traitement peut être efficace, période à laquelle la tumeur n'est pas toujours détectable.⁴

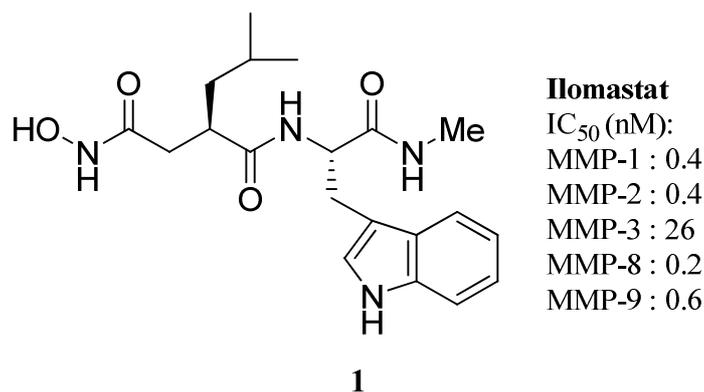
Deuxièmement, pour quelques composés, des effets secondaires délétères ont parfois été observés pendant les premières phases des essais cliniques. L'un des plus sévères est le syndrome musculosquelettal. Cette fibromyalgie caractérisée notamment par des douleurs au niveau des articulations à parfois conduit à l'arrêt des essais.⁵

Enfin, l'utilisation de la fonction acide hydroxamique comme ZBG induit des problèmes liés aux propriétés intrinsèques de cette fonction. Elle est aisément hydrolysable en acide carboxylique et le métabolite devient alors rapidement excrété. De plus, l'affinité de l'acide hydroxamique pour les métaux de transition comme le fer, le nickel ou le cuivre est parfois supérieure à celle du zinc. Cela induit des chélations indésirables et parfois incompatibles pour l'utilisation thérapeutique.⁶

La recherche d'autres groupements capables de chélater le zinc est une nécessité pour espérer obtenir des inhibiteurs de MMP sélectifs et peu toxiques.

1.4 Les travaux antérieurs du Laboratoire, situation du sujet

Le Laboratoire de Chimie Thérapeutique de la Faculté de Pharmacie de Reims s'intéresse aux inhibiteurs de métalloprotéinases matricielles depuis plusieurs années et notamment à la pharmacomodulation de la galardine® (ou Ilomastat, **1**). La galardine® est un inhibiteur pseudo-peptidique de première génération qui contient une fonction acide hydroxamique, une chaîne succinique et une partie tryptophane modifiée. C'est un inhibiteur puissant de MMP, mais à large spectre.



Des pharmacomodulations effectuées sur cette molécule ont montré que l'analogue **2** dont la rigidité de la chaîne *iso*-butylique était imposée par une double liaison E (Tableau 4) présentait une bonne sélectivité pour la MMP-2 par rapport à la MMP-3 tout en conservant une activité de l'ordre du nano molaire⁷.

Puis, de nouveaux ZBG non hydroxamiques ont été développés. Il a été montré que la fonction sulfonylhydrazide pouvait potentiellement être un ZBG.⁸ Les résultats obtenus avec les molécules **3** et **5** ont montré une bonne sélectivité sur la MMP-2 par rapport à la MMP-1, tout en conservant une bonne activité pour **3**. Le remplacement de l'acide hydroxamique par le bromobiphénylesulfonylhydrazide, a conduit au composé **5** qui présente une assez bonne sélectivité et une bonne activité inhibitrice vis-à-vis de la MMP-9.⁸

Finalement, l'influence de la partie tryptophane a été étudiée.⁹ L'ajout d'un groupement phényle en position deux de l'indole a ainsi permis de synthétiser la molécule **4** qui possède une activité de l'ordre du sub nanomolaire.

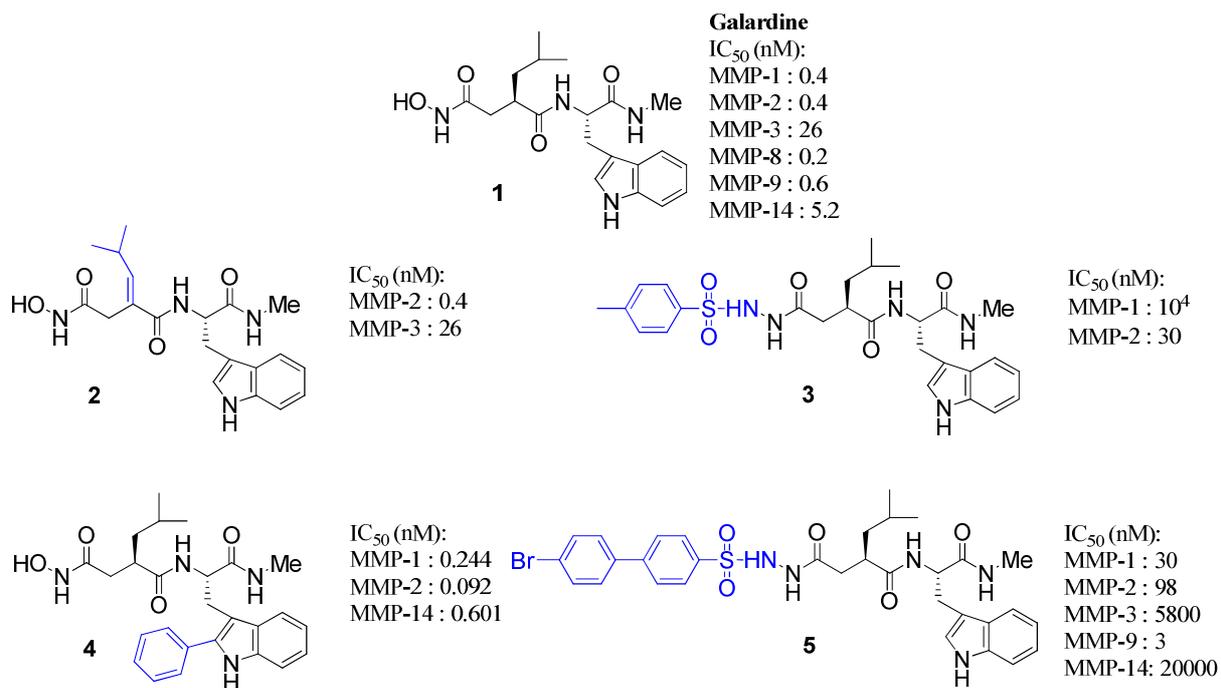
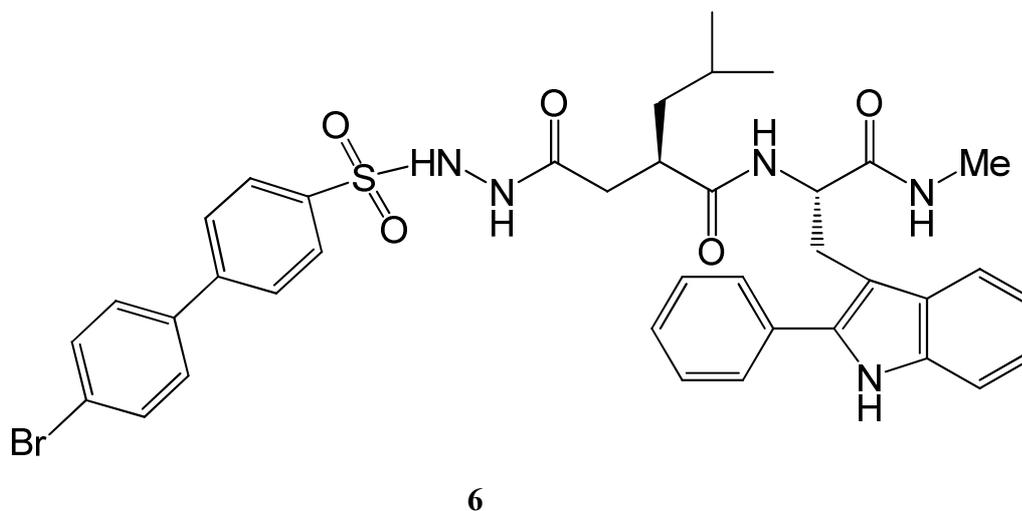


Tableau 4 : Les inhibiteurs dérivés de la galardine® (1) synthétisés au Laboratoire et leurs activités

Ces résultats ont permis d'émettre une hypothèse concernant la structure d'un inhibiteur puissant et spécifique sur la MMP-9. Ce dernier correspond à une combinaison des deux meilleurs résultats établis, soit l'ajout d'un groupement phényle en position 2 de l'indole et l'utilisation d'un groupement 4-bromobiphénylesulfonylhydrazide. La molécule **6** contient ces deux modifications.



La synthèse de la molécule **6** m'a été confiée au début de ma thèse, ainsi que l'étude de la fonction sulfonylhydrazine et plus particulièrement sa réactivité en vue de la formation de sulfonylhydrazides.

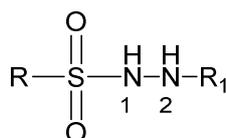
Après une étude bibliographique portant sur les méthodes de synthèse des fonctions sulfonylhydrazine et sulfonylhydrazide, le chapitre travaux personnels sera consacré à la description de la synthèse du composé **6** et à l'étude du caractère chélatant vis-à-vis de l'ion Zn^{2+} de la fonction sulfonylhydrazide. Le troisième chapitre décrit les travaux que j'ai réalisés au sein de « l'University of California San Diego » (UCSD) durant un stage de six mois.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

2 Les fonctions sulfonylhydrazine et sulfonylhydrazide

Les sulfonylhydrazines se distinguent des sulfonylhydrazides par la présence d'un groupement carbonyle sur l'atome d'azote 2 (Figure 3).

Par convention, l'atome d'azote qui porte la fonction sulfonyle sera défini comme azote N₁ et l'autre atome d'azote sera appelé N₂.



R₁ = COR' fonction **sulfonylhydrazide**

R₁ ≠ COR' fonction **sulfonylhydrazine**

Figure 3 : Structure des sulfonylhydrazines et sulfonylhydrazides

2.1 Synthèse de la fonction sulfonylhydrazine

La fonction sulfonylhydrazine est constituée de l'enchaînement d'un groupement RSO₂ et d'une hydrazine substituée ou non. Les sulfonylhydrazines sont généralement synthétisées à partir d'un chlorure de sulfonyle et de l'hydrazine en présence ou non de base.

L'hydrazine est un liquide incolore commercial dont le pK_a est de 8.07¹⁰, ce qui est comparable à celui de la morpholine (pK_a 8.3). L'hydrazine est une base faible suffisamment nucléophile pour réagir avec des chlorures de sulfonyle, des acides carboxyliques activés, des aldéhydes ou des halogénures d'alkyle.

Il existe un nombre considérable de chlorures de sulfonyle disponibles commercialement. De plus l'utilisation de certains réactifs comme l'acide chlorosulfonique permet de synthétiser beaucoup de chlorures de sulfonyle aromatiques non commerciaux.¹¹

Il est donc possible de préparer directement et à un coût assez réduit, un grand nombre de sulfonylhydrazines.

2.1.1 Les sulfonylhydrazines aromatiques

Grâce à la préparation assez facile des chlorures de sulfonyle aromatiques, la fonction sulfonylhydrazine se retrouve sur des noyaux aromatiques variés et les rendements de couplage entre les chlorures de sulfonyle et l'hydrazine sont souvent supérieurs à 80%.

Dans leur recherche de source de diimide, Cusack *et al.* ont décrit la préparation de la triisopropylbenzènesulfonylhydrazine et de la triméthylbenzènesulfonylhydrazine (**9a** et **9b**, respectivement) avec un rendement de 96% (Schéma 1) en utilisant 2.2 équivalents d'hydrazine **7** et le chlorure de sulfonyle **8**.¹² La présence du deuxième équivalent d'hydrazine permet de piéger l'acide libéré pendant la réaction et de conserver un milieu légèrement basique.

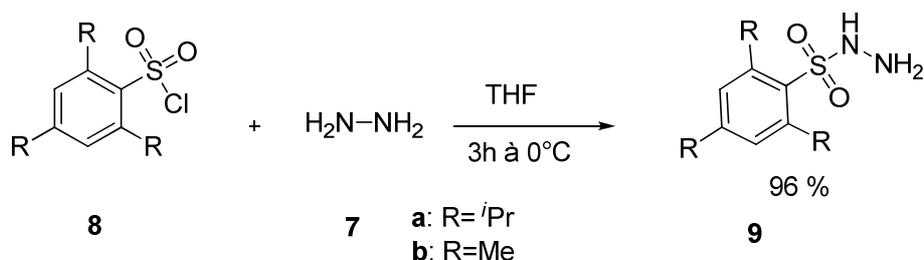


Schéma 1

Lors de la condensation des chlorures de sulfonyle et de l'hydrazine, la température est un facteur important qui doit être contrôlé. En effet, les dérivés triisopropylbenzènesulfonylhydrazine **9a** et triméthylbenzènesulfonylhydrazine **9b** sont fragiles et se décomposent facilement en diimide (NH=NH) sous l'action de la chaleur (température > 35°C), des solvants dans lesquels ils sont solubilisés (notamment le méthanol) et de la présence d'une base telle que la triéthylamine (Schéma 2).

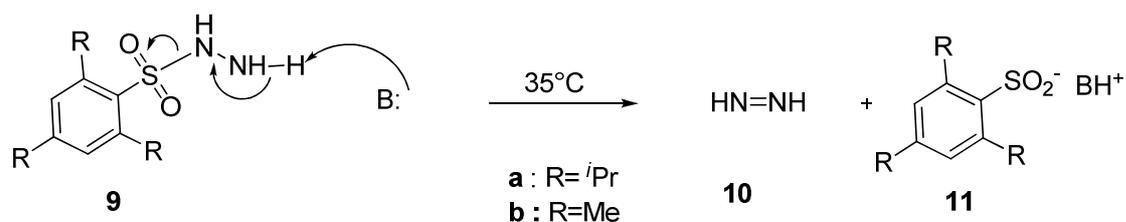


Schéma 2

Les substituants du noyau aromatique influencent la formation du diimide. En effet, une mesure de la décomposition réalisée par ces mêmes auteurs a montré que dans le méthanol, à 35°C et en présence d'un équivalent de triéthylamine, la triisopropylbenzènesulfonylhydrazine se décompose seize fois plus rapidement que la triméthylbenzènesulfonylhydrazine et 380 fois plus que la tosylhydrazine.

La synthèse du diméthyl 5-(hydrazinylsulfonyl)isophthalate **13** a été réalisée avec un rendement de 56% en utilisant cinq équivalents d'hydrazine **7** dans un mélange éthanol/chloroforme¹³ (Schéma 3).

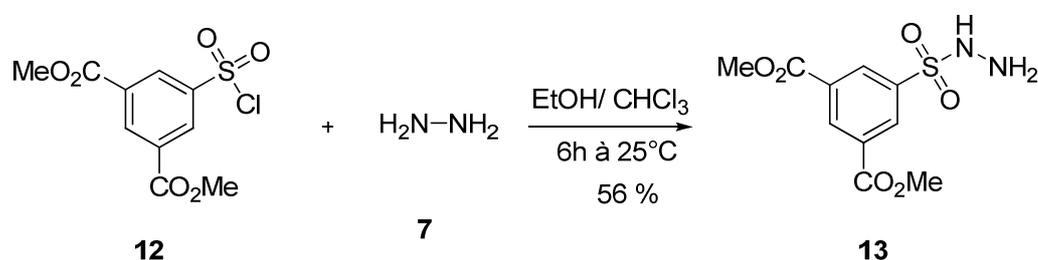


Schéma 3

D'autres sulfonylhydrazines contenant notamment des noyaux pyridine, thiophène, quinoline, naphthalènedione ou fluorobenzène ont pu être synthétisées de la même façon avec des rendements supérieurs à 70%.¹⁴

2.1.2 Les sulfonylhydrazines non aromatiques

Il existe peu d'exemples de sulfonylhydrazines non aromatiques. Cela peut s'expliquer assez facilement par la difficulté à préparer des chlorures de sulfonyle non aromatiques.

Plusieurs méthodologies ont été mises au point pour générer ces fonctions sur des dérivés alkyles. Il est possible par exemple, de réaliser des chlorations oxydatives sur des thiols ou des thiosulfates, mais les rendements ne sont pas toujours bons.

Récemment, une méthode permettant d'oxyder les composés disulfures symétriques **14** en chlorures de sulfonyle en une seule étape a été mise au point. Cette méthode conduit aux chlorures de sulfonyle **15** et **16** avec des rendements allant de 90 et 98%, respectivement¹⁵ (Schéma 4).

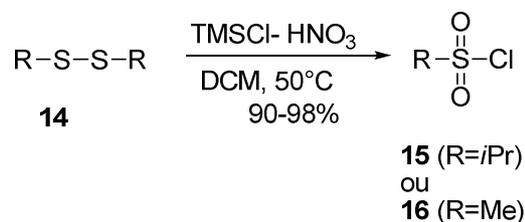


Schéma 4

Lors d'une étude sur la compréhension des conditions de formation des ions iminiums, la métylhydrazine **17** a été synthétisée.¹⁶ La condensation du chlorure de métyle **16** et de l'hydrazine **7** conduit à la formation de **17** avec un rendement de 36% et à la formation du diméthanesulfonylhydrazine (Schéma 5). Les auteurs justifient le faible rendement par la formation de ce dernier.

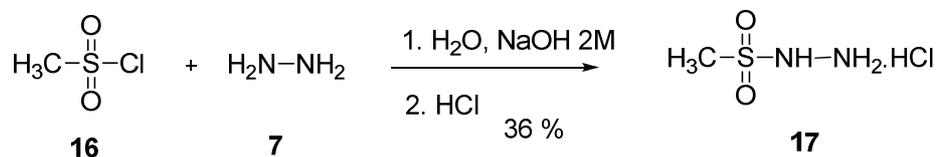


Schéma 5

Un autre exemple de formation de sulfonylhydrazines non aromatiques a été décrit en 1979 lors de la préparation de dérivés du 3-(sulfamoylméthyl)-1,2-benzisoxazole **19**.¹⁷ La condensation du chlorure de sulfonyle **18** avec l'hydrazine **7** dans l'acétate d'éthyle conduit à l'adduit **19** avec un rendement de 47% (Schéma 6).

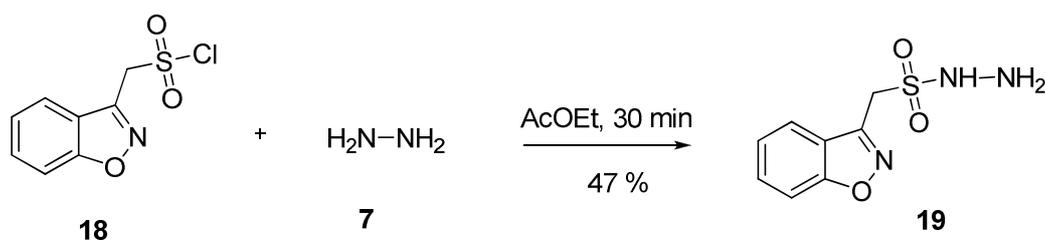


Schéma 6

2.1.3 Les sulfonylhydrazines substituées

La préparation de sulfonylhydrazines « simples » se fait en utilisant l'hydrazine et un chlorure de sulfonyle. Pour les sulfonylhydrazines N₁ et/ou N₂ substituées, différentes hydrazines sont utilisées, ce qui induit une réactivité particulière selon le substituant.

Il existe essentiellement deux types de substitution :

- ↳ Par une chaîne alkyle
- ↳ Par un noyau aromatique substitué ou non.

Selon le type de substitution, la nucléophilie de l'atome d'azote peut être modifiée, ce qui favorise ou non la réactivité de l'atome d'azote portant le substituant et permet ainsi de synthétiser des sulfonylhydrazines avec un groupement R sur les positions N₁ ou N₂.

2.1.3.1 Préparation des sulfonylhydrazines alkylées en N₁

La méthylhydrazine **21** est un produit commercial qui possède un pKa proche de celui de l'hydrazine (7.87 contre 8.07 pour l'hydrazine). La présence d'un groupement méthyle ne change pas énormément la valeur du pKa, en revanche, la nucléophilie des deux atomes d'azote varie fortement. Le groupement méthyle a un caractère faiblement « donneur » et l'atome d'azote qui porte ce substituant devient plus nucléophile que l'autre. Il est donc plus réactif lors des réactions de substitution nucléophile vis-à-vis des chlorures de sulfonyle.

Hrubiec *et al.* ont décrit la préparation d'une série de 1-arylsulfonyl-1-méthylhydrazines (**22**) par synthèse régiosélective en vue de la préparation d'agents antinéoplastiques.¹⁸ Les rendements, supérieurs à 60%, varient en fonction des chlorures de sulfonyle utilisés (Schéma 7).

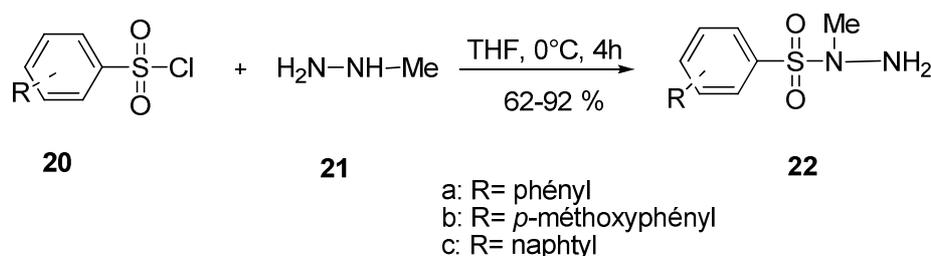


Schéma 7

Il est intéressant de noter que dans les mêmes conditions, la méthylhydrazine **21** réagit avec le chlorure de phénylméthanesulfonyle (**23**) avec un rendement de 47%. Cela suggère la moins bonne réactivité des chlorures de sulfonyle non aromatiques (Schéma 8).

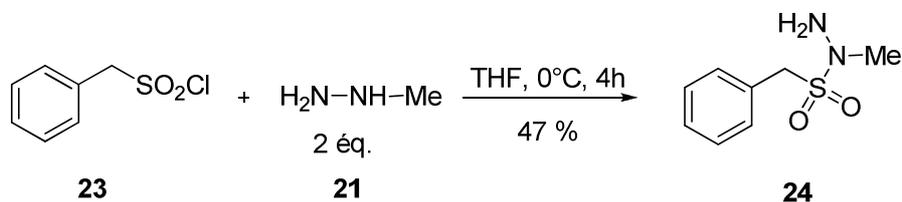


Schéma 8

Ces résultats montrent que les sulfonylhydrazines substituées sur l'atome d'azote N_1 sont préférentiellement formées lorsque la méthylhydrazine est utilisée. Pour obtenir des sulfonylhydrazines avec le groupement méthyle sur l'atome d'azote N_2 , il est généralement nécessaire de procéder en deux étapes : une étape de couplage avec l'hydrazine **7**, puis une étape de méthylation.

2.1.3.2 Préparation des arylhydrazines

Dans le cas des hydrazines substituées par un noyau aromatique, la réactivité des atomes d'azote est inversée par rapport à celle de la méthylhydrazine. Cela est dû premièrement à l'effet d'encombrement stérique lié au noyau aromatique et deuxièmement à la nucléophilie de l'atome d'azote qui porte le substituant. Un noyau aromatique ayant un caractère plus attracteur que donneur d'électrons, l'atome d'azote le plus nucléophile devient celui qui n'est pas substitué.

Un grand nombre de *N*-aryl tosylhydrazines (**27**) a été synthétisé sur phase solide avec des rendements allant de 85 à 97% à partir du chlorure de tosylo commercial et des phénylhydrazines substituées **22**¹⁹ (Schéma 9).

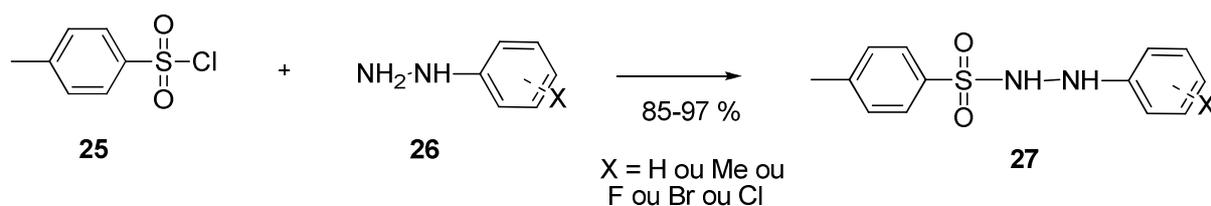


Schéma 9

2.1.3.3 Synthèse des 1,2-bis-sulfonylhydrazines

Il existe quelques exemples de synthèse de 1,2-bis-sulfonylhydrazines (**30** et **31**). Il s'agit de sulfonylehydrazines dont chaque atome d'azote est substitué par un groupement sulfonyle. Ces dérivés ont été synthétisés par Shyam *et al.*²⁰, dans plusieurs publications portant sur l'utilisation des 1-arylsulfonyl-1-méthylhydrazines et des *N,N'*-bis-arylsulfonylhydrazines en tant qu'agents antinéoplastiques.

Deux stratégies de synthèse ont été élaborées :

↪ Si la 1,2-bis-sulfonylhydrazine est dissymétrique (**30**), une approche séquentielle est nécessaire. Une sulfonylehydrazine (**28**) (substituée ou non) (préparée selon le procédé décrit paragraphe 2.1.3) réagit avec un équivalent d'un chlorure de sulfonyle (**29**) en présence de pyridine dans le THF (Schéma 10, méthode 1).

↪ Pour préparer des composés tels que **31**, la méthylhydrazine **21** réagit avec un chlorure de sulfonyle (**29**) approprié dans un ratio de 1:2 en présence de pyridine (Schéma 10, méthode 2).

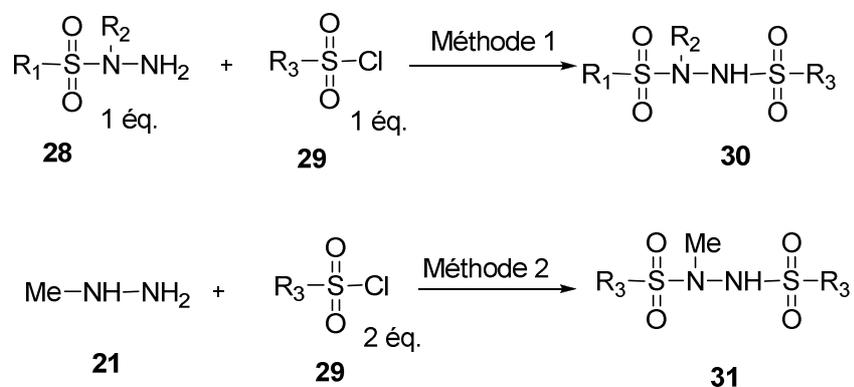


Schéma 10

Quelle que soit la stratégie adoptée, les rendements avoisinent en moyenne 40%. Par la suite, cette équipe a aussi synthétisé des 1,2,2-tris-sulfonylhydrazines (**33a** et **33b**) à partir de la méthylhydrazine **21** ou de **32** et du chlorure de mésyle **16**²¹, mais les rendements restent faibles à cause de la réactivité réduite des bis-sulfonylhydrazines (Schéma 11).

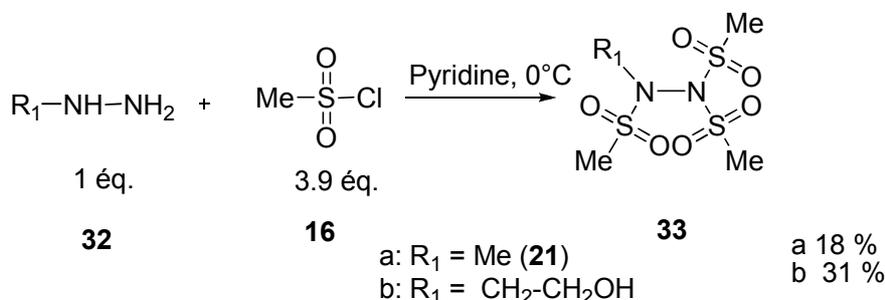


Schéma 11

Finale­ment, le 2,2-bis-benzènesulfonyl-1,1-biphénylhydrazine (**36**) et le *N*-benzènesulfamidocarbazole **37** ont été synthétisés avec des rendements respectifs de 50 et 65% à partir de *N*-aminocarbazole **35**²² (Schéma 12).

La disubstitution se fait à 0°C avec deux équivalents de chlorure de sulfonyle **34**, alors que la monosubstitution se fait au reflux de la pyridine avec un seul équivalent de chlorure de sulfonyle **34**. Ces dérivés sulfonylhydrazines mono- et di-substitués se décomposent par thermolyse en tétrazènes.

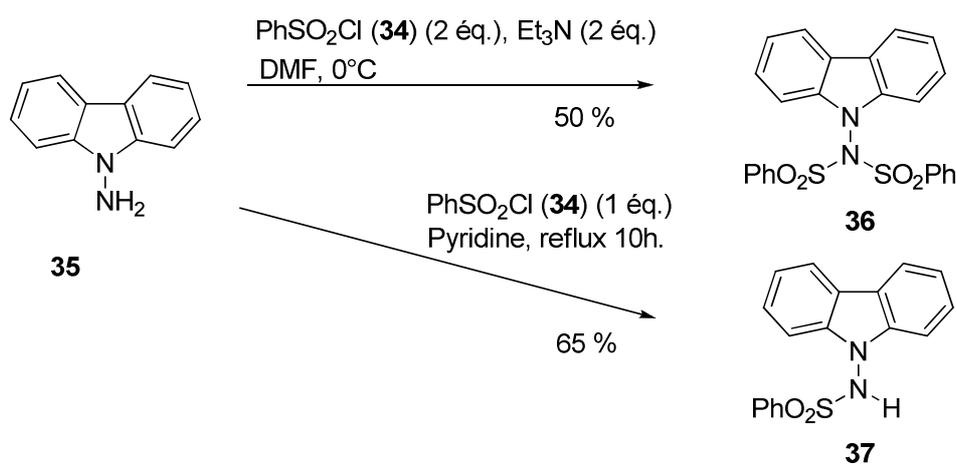


Schéma 12

Dans la littérature, il existe plusieurs exemples d'hydrazines substituées, les plus courantes ayant des substitutions avec un groupement méthyle ou aryle. Les quelques exemples de di- et tri- substitutions montrent qu'en augmentant le nombre d'équivalents de chlorure de sulfonyle, chaque atome d'azote peut être substitué. Cela nous amène à considérer la réactivité des sulfonylhydrazines.

2.2 La réactivité des sulfonylhydrazines

La fonction sulfonylhydrazine possède une réactivité particulière. La présence du groupement sulfonyle sur un des deux atomes d'azote (N_1 , pour cet exemple) confère une acidité plus importante à l'atome d'hydrogène porté par ce dernier. De plus, l'atome d'azote N_2 devient plus nucléophile que l'atome d'azote N_1 . Ainsi, en présence d'une base forte, on pourra synthétiser des sulfonylhydrazines substituées en position N_1 , alors que sans ajout de base forte, la substitution se fera principalement sur l'atome d'azote le plus nucléophile, soit l'atome d'azote N_2 .

2.2.1 Réactivité en présence d'une base forte : les réactions de substitution nucléophile

Dans l'étude consacrée à la réaction de dérivés de tosylhydrazines portant une insaturation, Sato *et al.*²³ ont fait réagir la tosylhydrazine avec des halogénures d'allyle (**38**) en présence de NaH. Les auteurs expliquent à partir de données de RMN ^1H , que l'atome d'azote N_1 réagit, puisqu'ils observent un singulet large qui intègre pour deux protons vers δ 3.6 ppm attribué à la présence d'un NH_2 (Schéma 13).

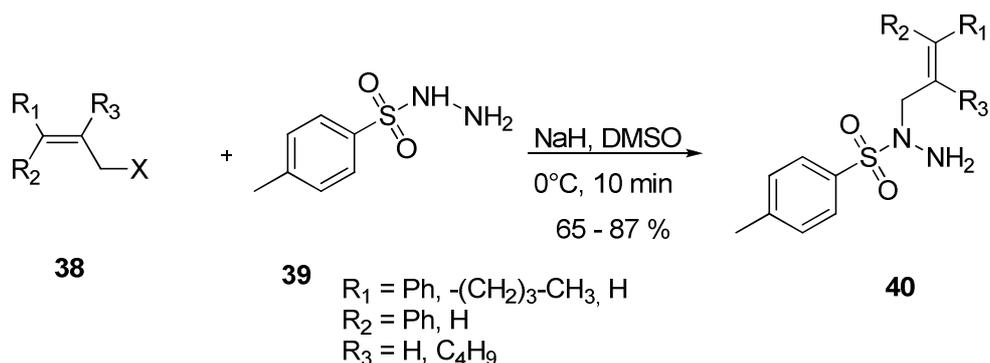


Schéma 13

En présence de benzaldéhyde, les adduits **40** forment des sulfonylhydrazones, ce qui prouve expérimentalement la présence d'une amine primaire sur le produit et donc que l'atome d'azote N_2 n'a pas réagi

2.2.2 Les réactions de substitution nucléophile en milieu neutre

Lorsque les sulfonylhydrazines ne sont pas déprotonnées, l'amine primaire est la fonction la plus réactive. La majorité des réactions de substitution nucléophile ne nécessitent pas la présence d'une base.

Abdel Aleem *et al.*²⁴ ont réalisé la synthèse de dérivés de quinazolinone **43** en milieu neutre par condensation des sulfonylhydrazines **41** et des composés halogénés **42** (Schéma 14).

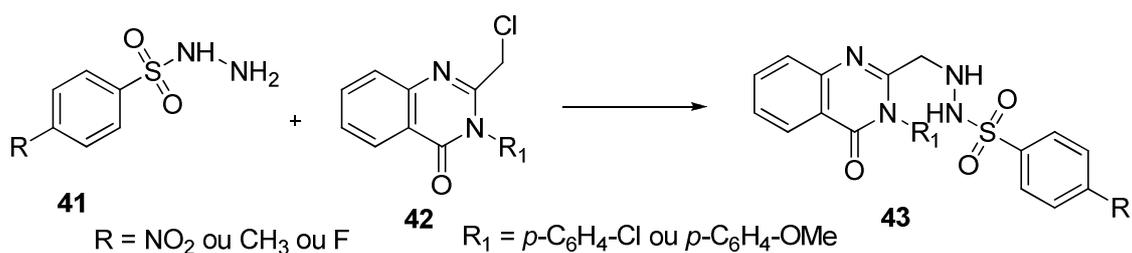


Schéma 14

Il existe un exemple où l'atome d'azote N_1 de la tosylhydrazine **39** réagit comme nucléophile sur un alcool propargylique dans une réaction de type Mitsunobu²⁵ afin de générer des 1-alkyl-1-arènesulfonylhydrazines **45** puis des allènes **46** (Schéma 15).²⁶ Ces derniers se décomposent assez facilement en diimide et en acide *p*-toluènesulfonique.

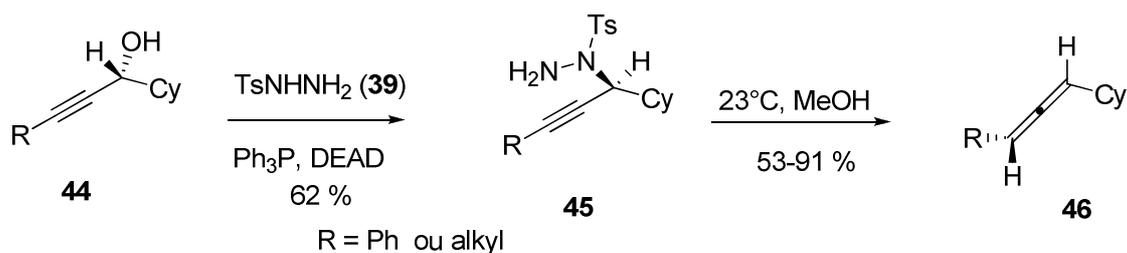


Schéma 15

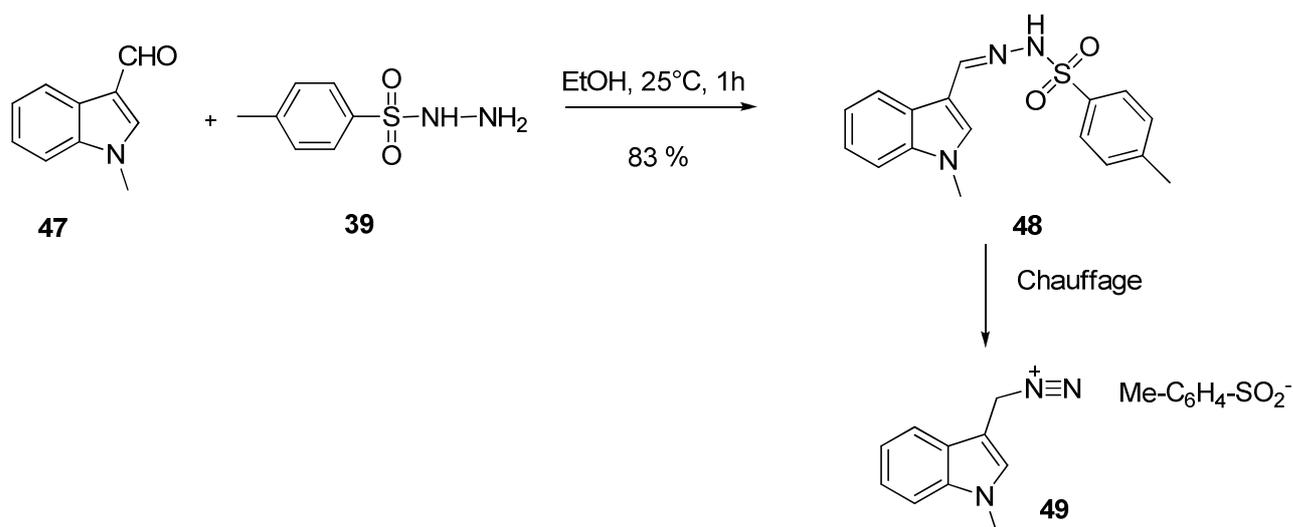
Bien que le milieu semble neutre, la substitution du dérivé **44** par la tosylhydrazine **39** se fait sur l'atome d'azote N_1 . Cette affirmation a été confirmée, puisque le produit intermédiaire **45** a été isolé et entièrement caractérisé ; un singulet large caractéristique du NH_2 est observé sur le spectre de RMN 1H vers δ 3.7 ppm prouvant que la substitution s'est bien faite sur l'atome d'azote portant le groupement sulfonyle.

Cela peut s'expliquer par la présence du diéthylazodicarboxylate (DEAD) qui, sous sa forme bétaïne, peut jouer le rôle d'une base suffisamment forte pour arracher le proton de la tosylhydrazine **39** rendant l'atome d'azote N_1 plus nucléophile.

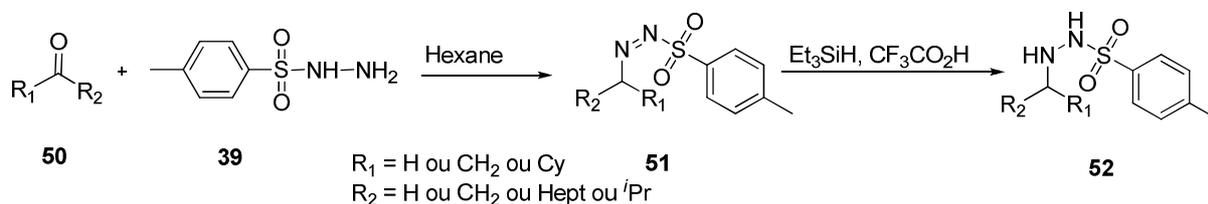
2.2.3 Réactivité en milieu neutre ou acide : synthèse d'hydrazones

Les hydrazines réagissent avec des aldéhydes et des cétones pour former des hydrazones, de la même façon, les sulfonylhydrazines forment des sulfonylhydrazones ($RSO_2NHN=CH-R_1$). Les synthèses de ces dernières sont nombreuses et se font généralement dans des solvants protiques et polaires en présence ou non d'un acide. Selon qu'un dérivé aldéhydique ou cétonique est utilisé, des sulfonylhydrazones mono- ou di-substituées sont obtenues.

La sulfonylhydrazone **48** a été synthétisée à partir du dérivé indolique **47** et de la tosylhydrazine avec un rendement de 83%²⁷ dans le but de la décomposer thermiquement et d'obtenir un sel de diazonium (Schéma 16).



La synthèse de ces sulfonhydrazones s'effectue avec des rendements de couplage souvent supérieurs à 50%. Les sulfonhydrazones peuvent aisément générer des hétérocycles, mais elles peuvent aussi être réduites, ce qui donne accès à des 2-alkyl-sulfonhydrazines (**52**), qui sont des sulfonhydrazines substituées en position N₂ par des groupements alkyles (Schéma 17).



Parfois, la méthode directe ne permet pas de synthétiser ces sulfonhydrazines substituées sur l'atome d'azote N₂ par un groupement alkyle, car ce dernier a un caractère donneur. Cette méthode est donc une alternative à la méthode directe (Chapitre 2.2.2) et permet de faire varier la position de la substitution sur les sulfonhydrazines. Wu *et al.*²⁸ ont réduit des tosylhydrazones avec un mélange de triéthylsilane et d'acide trifluoroacétique avec des rendements sur deux étapes compris entre 50 et 92%.

Les sulfonylhydrazines peuvent être préparées en une seule étape pour avoir un noyau aromatique en position N₂ ou un groupement alkyle en position N₁. En revanche, il est nécessaire de synthétiser des sulfonylhydrazones, puis, de les réduire si l'on veut un groupement alkyle en position N₂. Ainsi, selon la stratégie choisie, l'accès à toutes les substitutions est possible sur les sulfonylhydrazines, avec des rendements variables.

2.3 La synthèse des sulfonylhydrazides

Les sulfonylhydrazides sont constitués d'un enchaînement d'un groupement sulfonyle avec une hydrazine substituée en position N₂ par une fonction carbonyle. Ce sont des hydrazines 1,2-disubstituées.

La synthèse des sulfonylhydrazides peut se faire de deux façons différentes :

- ↳ Par un couplage entre un hydrazide (RCONHNH₂) et un chlorure de sulfonyle.
- ↳ Par une réaction entre une sulfonylhydrazine et un dérivé carbonyle (acide carboxylique activé, chlorure d'acyle ou ester).

Quelque soit la méthode utilisée, c'est l'amine primaire qui réagira dans tous les cas pour former une liaison amide ou une liaison sulfonamide. Les rendements de ces réactions sont équivalents à ceux que trouvés pour des couplages avec des amines simples : ils dépendent du substrat.

2.3.1 Synthèse par réaction entre un hydrazide et un chlorure de sulfonyle

Les pK_a des atomes d'azote de la plupart des hydrazides sont situés entre 3 et 5, valeurs bien inférieures à celle de l'hydrazine (pK_a 8). Contrairement à cette dernière, les hydrazides ne sont plus suffisamment basiques pour neutraliser l'acide chlorhydrique dégagé lors de la réaction de couplage entre un chlorure de sulfonyle et une hydrazine. En conséquence, lors de la formation de sulfonylhydrazides par cette méthode, la présence d'une base est nécessaire.

Cette méthode a été employée en vue de préparer des agents potentiellement antibactériens et antinéoplastiques.²⁹ Dans un premier temps, les hydrazides (**54**) sont préparés à partir d'esters éthyliques et de l'hydrazine hydrate avec des rendements supérieurs à 70%. Puis, ces hydrazides réagissent avec des chlorures d'arylsulfonyle dans la pyridine à 0°C pour former des arylsulfonylhydrazides (**55**) (Schéma 18).

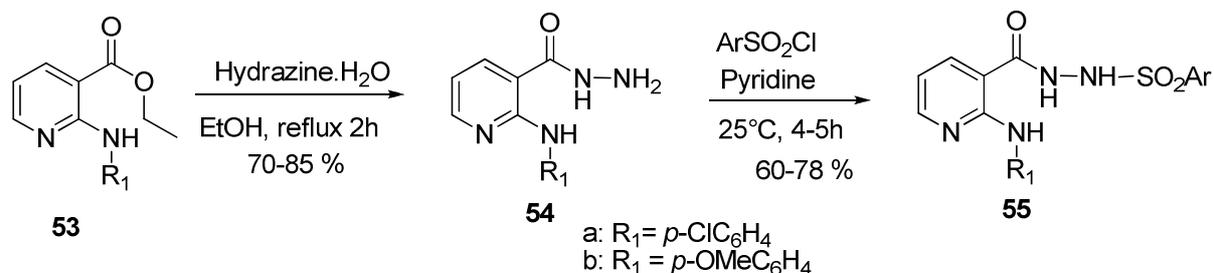


Schéma 18

Les exemples de synthèse de sulfonylehydrazides par cette stratégie sont nombreux et les chlorures de sulfonyle peuvent varier. En effet, la nature du chlorure de sulfonyle (aromatique ou non) ne semble pas influencer le cours de la réaction, puisqu'il existe des exemples où le chlorure de mésyle est utilisé et les rendements restent bons.

Lorsque l'hydrazide est substitué sur l'amine primaire par un groupement alkyle, l'atome d'azote le plus nucléophile est celui qui porte cette substitution. Ainsi, lors de la réaction avec le chlorure de mésyle **16** en présence de triéthylamine, la réaction se fait sur l'atome d'azote N₁ (Schéma 19) et un 1-alkyl-1-sulfonylehydrazide (**57**) est obtenu.³⁰

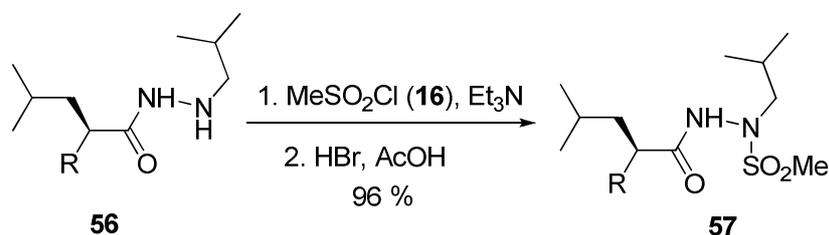


Schéma 19

La réactivité des hydrazides cycliques (**58**) a été utilisée par Ahn *et al.*³¹ pour la synthèse de β -aminoacyles. La réaction se fait en présence de triéthylamine et un dérivé sulfonylhydrazide cyclique (**59**) est obtenu (Schéma 20).

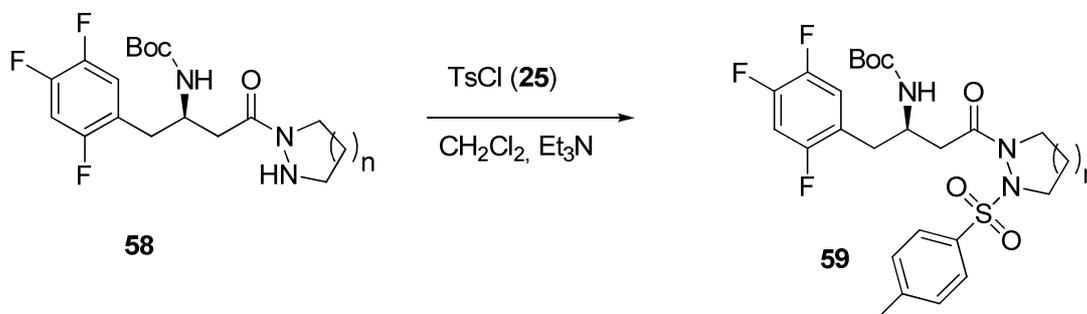


Schéma 20

Il est possible de substituer deux fois un hydrazide par un chlorure de sulfonyle. En effet, en mettant deux équivalents de chlorure de tosylate, Reinecke *et al.*³² ont synthétisé des dérivés de benzotriazine-4-one di-substitués (**61**) par simple réaction dans la pyridine avec un rendement de 68% (Schéma 21).

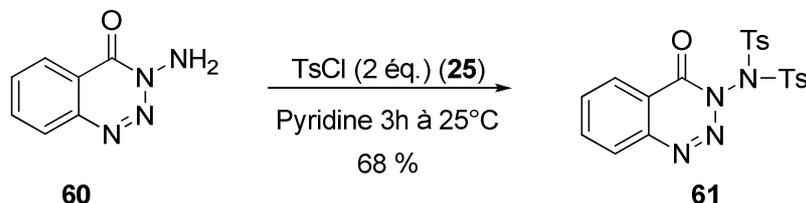


Schéma 21

Il est important de noter que le deuxième groupement tosylé du composé **61** peut être éliminé par réaction avec du méthanolate de sodium ce qui permet d'obtenir un dérivé sulfonylhydrazide simple avec un rendement de 62%.

L'utilisation de dérivés de sulfonylhydrazides totalement substitués comme adduits de Diels Alder a été rapportée.³³ Partant d'une hydrazone protégée par deux groupements allyloxycarbazate (**62**), trois équivalents de chlorure de mésyle **16** sont utilisés en présence de pyridine pour substituer la dernière position possible avec un rendement de 80% (Schéma 22).

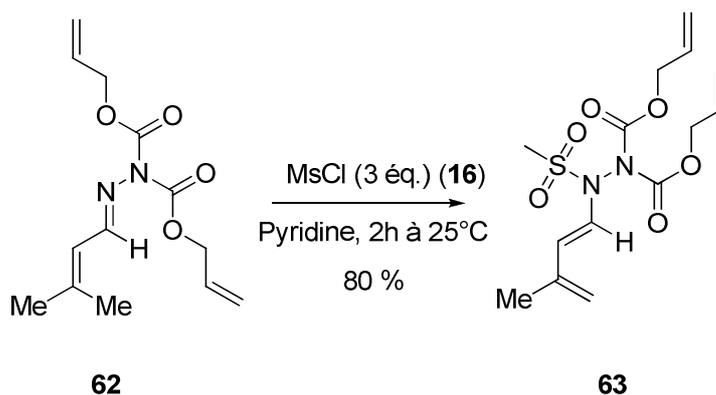


Schéma 22

2.3.2 Synthèse par réaction entre une sulfonylhydrazine et un dérivé d'acide carboxylique

Les différentes voies de synthèse des sulfonylhydrazines ont été étudiées précédemment et la réactivité de ces fonctions en présence d'un acide organique est semblable à celle des amines. En partant du chlorure d'acyle (**64**), la sulfonylhydrazide (**65**) a été obtenue avec un rendement de 60% (Schéma 23)³⁴.

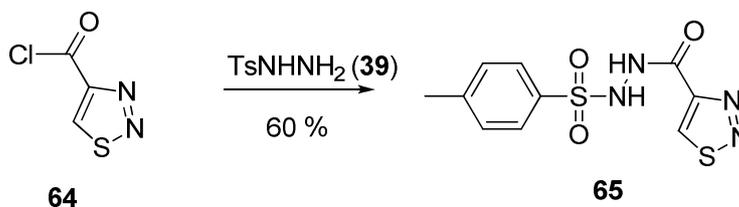


Schéma 23

Les sulfonylhydrazines **67** peuvent aussi être condensées à des benzoxazinones **66** pour former des dérivés de quinoxalinone substituées en position 3 par des sulfonamides (**68**) (Schéma 24). La particularité de cette réaction est qu'elle se fait sans solvant par fusion des réactifs. Les rendements après extraction liquide-liquide sont compris entre 8 et 99%.³⁵

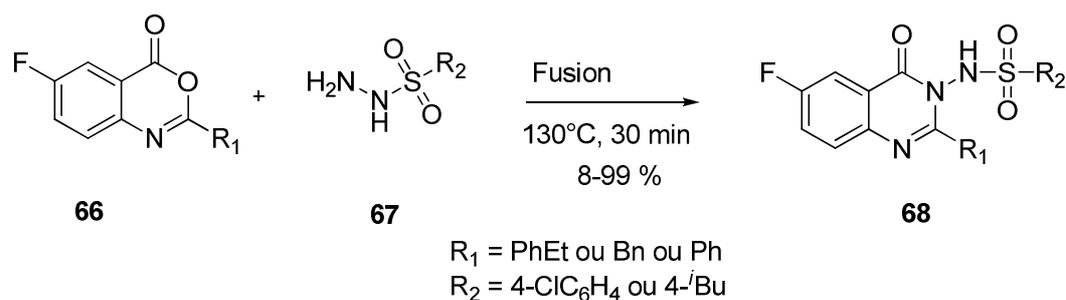


Schéma 24

2.3.3 Synthèse de sulfonylehydrazone par des méthodes particulières

Bien que des synthèses de sulfonylehydrazides se retrouvent majoritairement par formation de liaisons amide ou sulfonamide, il existe quelques exemples où des sulfonylehydrazides sont obtenues par des voies particulières.

La synthèse de sulfonylehydrazides à partir de bis(2,2,2-trichloroéthyl)azodicarboxylate (BTCEAD) (**70**) et d'acides sulfoniques (**69**) (Schéma 25) est un bon exemple. La préparation des acides sulfoniques varie selon qu'ils sont aromatiques ou non.

Les produits obtenus sont des dérivés de sulfonylehydrazides polysubstitués (**71**). Les rendements sont supérieurs à 70% pour tous les exemples rapportés³⁶.

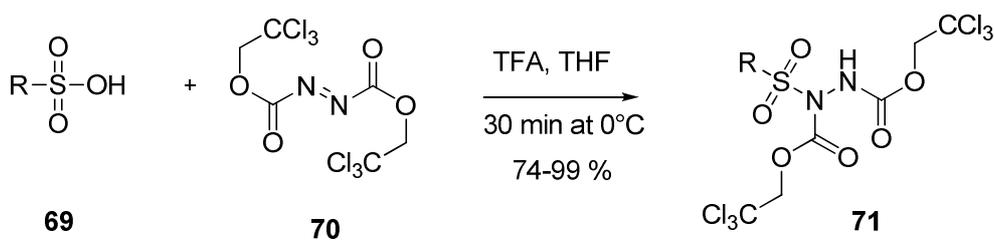


Schéma 25

Il est possible de traiter les produits obtenus avec de l'acétone et de la poudre de zinc afin d'obtenir des sulfonamides³⁶.

Enfin, les sulfonylhydrazines peuvent se condenser avec des thioisocyanates pour former des alkylsulfonylhydrazinethioamides. Ces molécules se cyclisent ensuite en présence de phosgène en 1,3,4 thiadiazoles. De même, la 1,2-bis-méthylsulfonyl-1-(2-chloroéthyl)-hydrazine (**72**) peut se condenser avec un isocyanate (**73**) pour former des 2-(aminocarbonyl)-1,2-bis(méthylsulfonyl)-1-(2-chloroéthyl) hydrazines (**74**) (Schéma 26). Les rendements sont inférieurs à 44%.³⁷

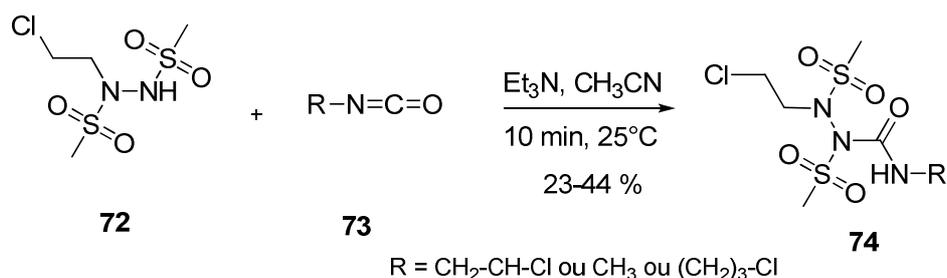


Schéma 26

Il existe donc différentes voies de synthèse pour obtenir des sulfonylhydrazides. Les substituants peuvent parfois être éliminés et d'autres produits, comme des hétérocycles, peuvent être synthétisés. Cela nous amène à étudier la réactivité des sulfonylhydrazides.

2.4 La réactivité des sulfonylhydrazides

Les sulfonylhydrazides se décomposent sous l'action de la chaleur. Cette propriété est utilisée pour la réaction de type Mac Fadyen-Stevens, où des aldéhydes sont synthétisés à partir de sulfonylhydrazides par thermolyse. Les conditions de la réaction de Mac Fadyen-Stevens sont simples, puisqu'il suffit de chauffer une suspension d'un sulfonylhydrazide (**75**) avec du carbonate de sodium (5 équivalents) dans l'éthylène glycol à 160°C pendant moins de deux minutes.³⁸ La décomposition thermique permet de générer un aldéhyde (**76**) avec un rendement de plus de 70% (Schéma 27). Il semble que l'effet de surface soit important, car en solution homogène, la réaction est très lente.

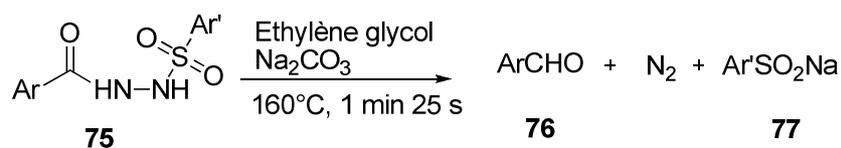


Schéma 27

Les sulfonylhydrazides permettent aussi d'avoir accès à des hydrazones lorsqu'ils sont alkylés. L'alkylation se fait sur l'atome d'azote N₁, puisque ce dernier est plus nucléophile en milieu basique. Hendrickson *et al.*³⁹ n'ont pas pu isoler les intermédiaires lors de l'alkylation des différentes sulfonylhydrazides et ce même à température ambiante. En effet, ces intermédiaires se décomposent immédiatement en hydrazones (**80**) (Schéma 28).

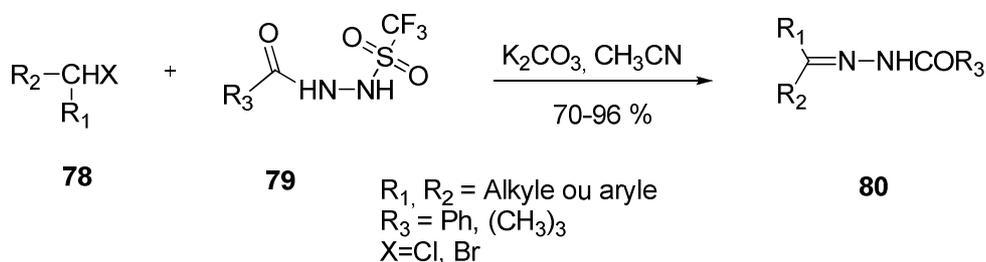


Schéma 28

Les sulfonylhydrazides peuvent conduire à des cyclisations intramoléculaires. Dans la plupart des cas, c'est l'atome d'azote N₁ qui vient attaquer les positions électrophiles de la chaîne pour former des hétérocycles à 6 éléments. La nucléophilie de chaque atome d'azote est mal définie, puisque selon les cas on observe un cycle à cinq ou six éléments. Rubinstein *et al.* suggèrent la formation d'un cycle à cinq éléments dans le cas des sulfonylhydrazides (**82**), puisque ce dernier serait plus stable que le cycle à six de par son axe de symétrie⁴⁰. En milieu acide, l'atome d'azote N₁ est selon eux le moins nucléophile (Schéma 29).

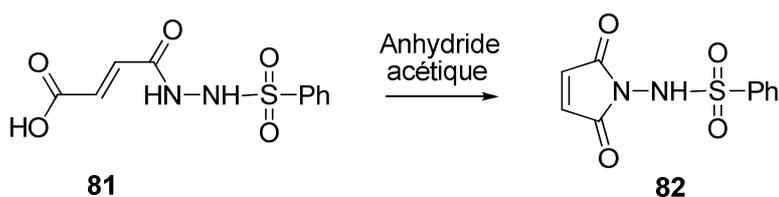


Schéma 29

La réactivité des sulfonylhydrazides et sulfonylhydrazines permet de générer un grand nombre de dérivés hétérocycliques et linéaires (hydrazones).

2.5 Conclusion

Il est possible de synthétiser des sulfonylhydrazines à partir d'un chlorure de sulfonyle et de l'hydrazine. De par la synthèse plus aisée des chlorures de sulfonyle aromatiques par rapport aux chlorures de sulfonyle non-aromatiques, la synthèse de sulfonylhydrazines aromatiques est plus favorable. Lorsque l'hydrazine est substituée par un groupement alkyle (principalement un groupement méthyle) ou par un groupement aryle, la réactivité des deux atomes d'azote vis-à-vis des chlorures de sulfonyle s'inverse.

Les atomes d'azote de la fonction sulfonylhydrazine réagissent différemment en fonction du pH du milieu. En présence d'une base forte l'atome d'azote proche du groupement sulfonyle est déprotonné et sa nucléophilie est augmentée par rapport à l'autre atome d'azote. En revanche, dans un milieu neutre, l'atome d'azote de l'amine primaire est plus nucléophile.

La synthèse des sulfonylhydrazides se fait généralement en deux étapes. Il est possible de synthétiser la sulfonylhydrazine, puis former le sulfonylhydrazide par réaction avec un dérivé carbonyle ou bien synthétiser l'hydrazide, puis former le sulfonylhydrazide par réaction avec un chlorure de sulfonyle. Bien que d'autres méthodes existent, elles ne sont pas répandues et ne permettent de synthétiser que des sulfonylhydrazides particuliers.

Enfin, les sulfonylhydrazides peuvent se décomposer en aldéhyde par un réarrangement de Mac Fadyen-Stevens. Ils peuvent aussi former des cycles par cyclisation intramoléculaire.

Il existe un grand nombre de méthodes pour synthétiser des sulfonylhydrazines et des sulfonylhydrazides et la plupart passent par des réactions assez simples.

TRAVAUX PERSONNELS

Synthèse d'un inhibiteur de MMP

3 Travaux antérieurs et molécule cible

Au vu des résultats préalablement obtenus au Laboratoire, il m'a été proposé durant ma thèse de synthétiser une molécule possédant les caractéristiques pouvant amener une sélectivité vis-à-vis des gélatinases (MMP-2 ou MMP-9) et plus particulièrement vis-à-vis de la MMP-2.

En effet, depuis quelques années, le Laboratoire s'intéresse à la synthèse de dérivés de la galardine® **1** comme inhibiteurs de métalloprotéinases matricielles. Plusieurs modifications chimiques ont déjà été effectuées sur le squelette de la galardine® (groupements R₁-R₂-R₃-R₄,) (Figure 4).

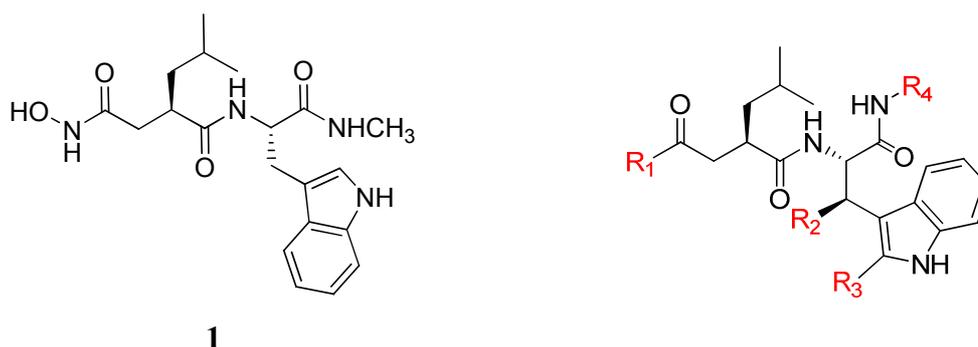


Figure 4 : Galardine® et analogues

Parmi ces quatre grands types de modifications, seuls deux ont réellement permis d'augmenter l'activité inhibitrice et d'apporter une certaine sélectivité vis-à-vis des MMP-2 et -9.

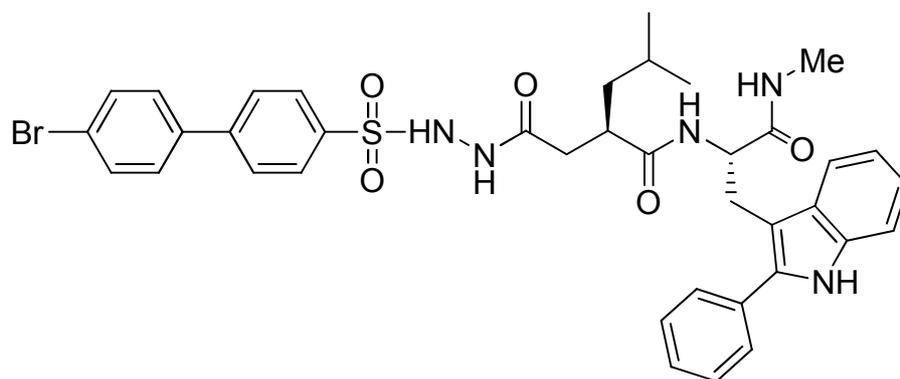
La première des quatre principales modifications préalablement étudiées a porté sur l'introduction d'une chaîne lipophile en C18 en R₄. Cette modification n'ayant pas apporté d'améliorations notoires, un lactame encombré a été synthétisé, mais ce dernier n'a pas non plus permis d'accroître l'activité inhibitrice. Ainsi, le groupement méthyle reste, à ce jour, le meilleur groupement pour obtenir un inhibiteur sélectif des gélatinases possédant un squelette dérivé de l'ilomastat.

La nature du substituant R₃ a été étudiée. L'introduction d'un noyau aromatique a permis d'augmenter considérablement l'activité inhibitrice vis-à-vis des MMP-1, -2 et -14 sans toutefois apporter de sélectivité. L'IC₅₀ de la molécule possédant un groupement phényle en position deux de l'indole, sur la MMP-2 est de 0.09 nM (0.4 nM pour la galardine®).

La substitution en position β du tryptophane (R₂ = phényle ou méthyle) a permis d'obtenir une sélectivité pour la MMP-1 comparé à la MMP-14 en série phényle. Cette modification a aussi entraîné une perte d'activité d'environ un log vis-à-vis de la MMP-2, mais les diastéréoisomères synthétisés n'ayant jamais été séparés, il est difficile de tirer efficacement parti de cette modification.

Finalement, l'acide hydroxamique présent sur l'ilomastat et responsable de la complexation avec le zinc a été remplacé par un groupement arylsulfonylhydrazide (R₁= NHNHSO₂Ar). Cette dernière modification a été bénéfique, puisque l'activité inhibitrice a été en partie conservée par rapport à la galardine® vis-à-vis des gélatinases, mais a considérablement diminué pour les autres MMP.

Ainsi, parmi toutes les modifications apportées lors des travaux antérieurs, la substitution par un groupement phényle en position 2 de l'indole et le remplacement de l'acide hydroxamique par une fonction sulfonylhydrazide se sont révélés intéressants. Il est difficile de cumuler les effets de pharmacomodulation, mais il a semblé cependant intéressant de synthétiser la molécule **6**. Celle-ci est composée des groupements phényle en position deux de l'indole et 4-bromobiphénylsulfonylhydrazide comme groupement chélatant du zinc. Son activité sur les MMP-1, -2, -3, -9 et -14 sera évaluée et son évolution sera analysée.



6

4 Synthèse de la molécule cible

4.1 Stratégie de couplage et rétrosynthèse

L'étude attentive de la structure de la molécule **6** révèle la présence de deux fonctions amide et d'une fonction sulfonylhydrazide délimitant les différents équivalents synthétiques possibles pour synthétiser la molécule recherchée (Schéma 30).

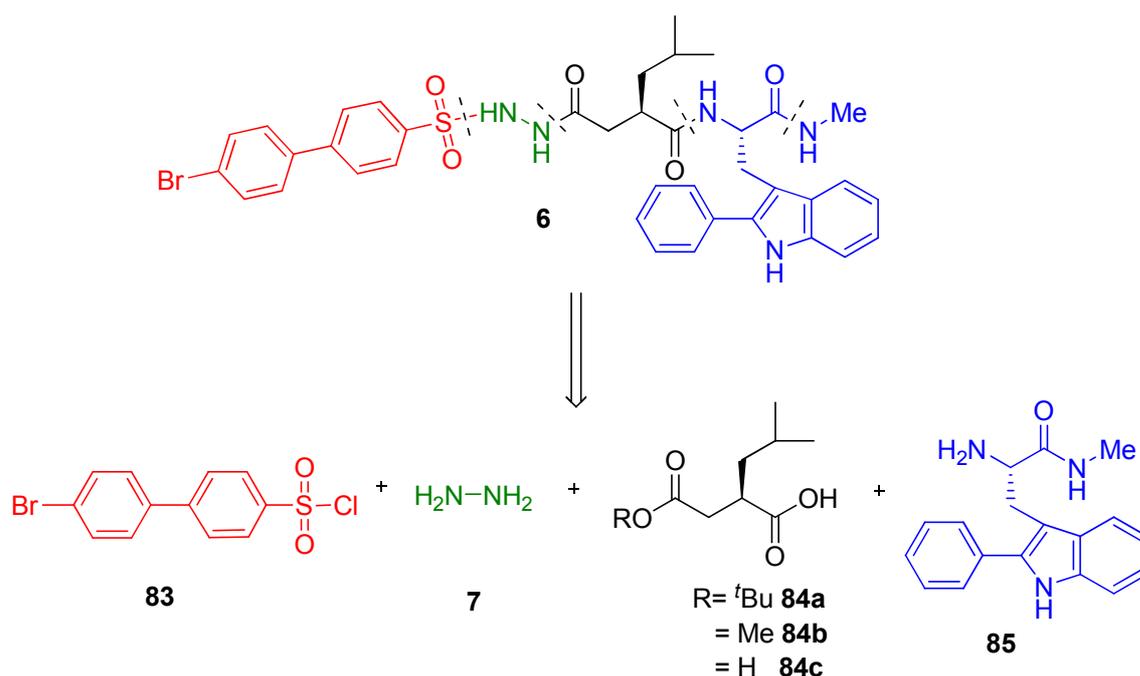


Schéma 30

Le découpage rétrosynthétique de la molécule **6** s'est donc fait en fonction des différentes liaisons amides, puisqu'il est possible d'envisager que ces dernières soient synthétisées efficacement par couplages peptidiques.

La première fonction amide est celle présente sur la molécule **85** (représentée en bleu, Schéma 30). Une substitution nucléophile au niveau du carbonyle avec de la méthylamine permet d'obtenir cet amide terminal. Par ailleurs, une fois synthétisée cette fonction (CONHMe) a l'avantage de protéger l'acide carboxylique tout en étant une partie intégrante de la molécule **6**.

La deuxième fonction amide peut être synthétisée par un couplage peptidique entre le dérivé du tryptophane **85** et la molécule **84a** (représentée en noir, Schéma 30). En effet, la partie « bleu » de la molécule cible n'est autre qu'un dérivé du *L*-tryptophane substitué en position 2 par un groupement phényle et possédant un groupement amide terminal au lieu d'une fonction acide carboxylique. Une fois les modifications effectuées sur le tryptophane, il sera possible de coupler régiosélectivement l'amine primaire avec l'acide carboxylique libre de l'acide succinique **84a** pour former cette liaison amide.

Ce dérivé de l'acide succinique, qui possède une chaîne *iso*-butyle en position 2, constitue la partie centrale de la molécule **6**. Les deux fonctions acide carboxylique permettent d'envisager des couplages peptidiques successifs avec le tryptophane modifié d'un côté **87** et avec le 4-bromobiphénylesulfonylhydrazine **86** de l'autre (Schéma 31). Il sera bien sûr nécessaire de déterminer les bons groupements protecteurs afin d'éviter des réactions secondaires.

Les fonctions sulfonylhydrazides peuvent être formées de deux façons. L'hydrazine **7** peut être additionnée à l'acide carboxylique du composé succinique pour former la liaison hydrazide, puis après un couplage avec le chlorure de sulfonyle **83**, la liaison sulfonylhydrazide sera obtenue.

L'autre stratégie repose sur la formation de la liaison sulfonylhydrazine en premier lieu, puis après un couplage pseudo-peptidique avec l'acide carboxylique libre du dérivé succinique, la fonction sulfonylhydrazide peut être synthétisée. L'hydrazine devra aussi être mono-protégée afin de prévenir d'éventuels problèmes de dimérisation.

En fonction de l'expertise acquise par le Laboratoire dans le domaine de la synthèse des analogues de galardine®, trois approches rétrosynthétiques peuvent alors être envisagées pour accéder à l'analogue **6**.

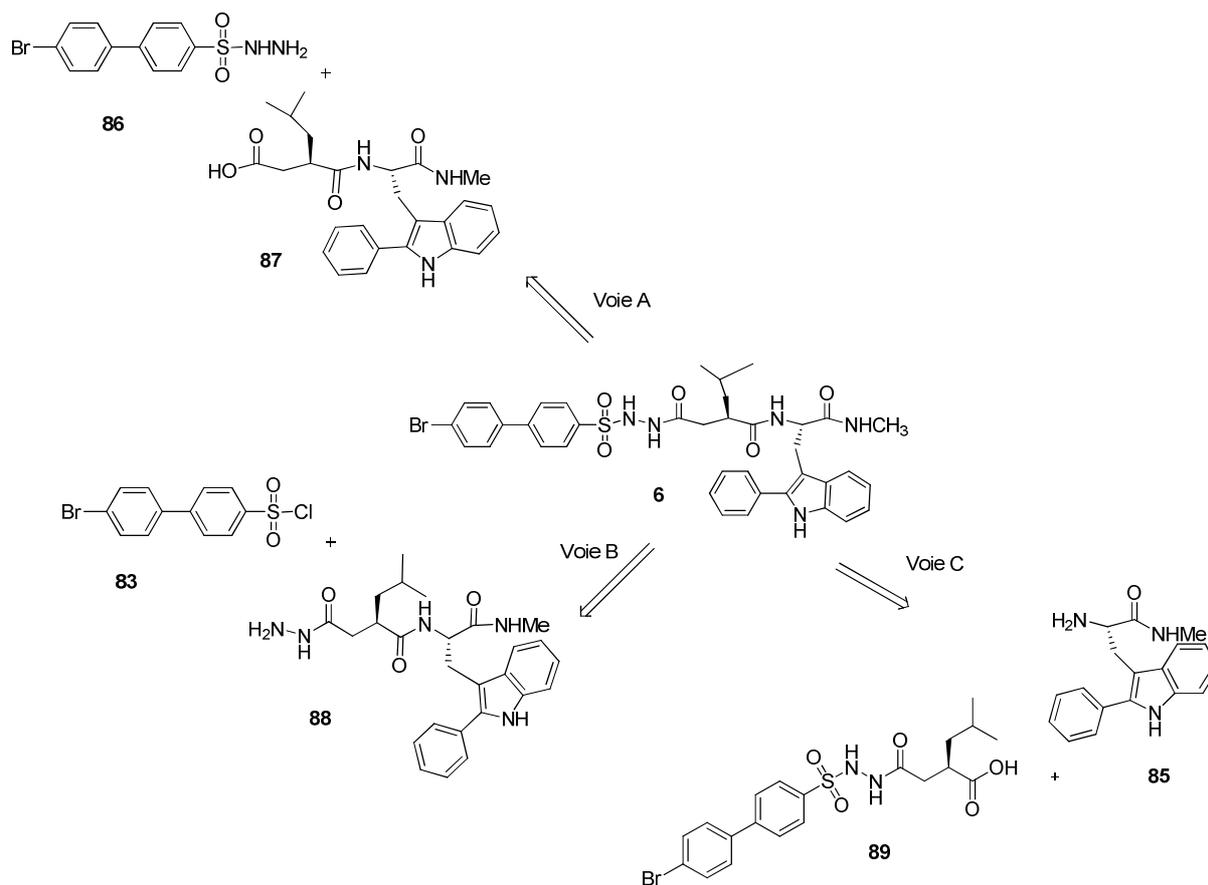


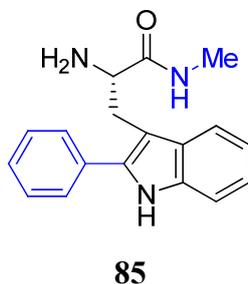
Schéma 31

Les trois voies partent des mêmes équivalents synthétiques de départ et ne diffèrent que par l'ordre de formation des liaisons entre eux. Ainsi, pour les voies A et B, le tryptophane modifié (**85**) est couplé au dérivé succinique en premier, puis la fonction sulfonylhydrazide est formée en dernier. En revanche pour la voie C, la liaison sulfonylhydrazide est formée en premier, puis le tryptophane modifié est couplé à la molécule **89**, issue de ce couplage.

Cacune de ces voies a été explorée au cours de ma thèse afin de déterminer la plus efficace.

4.2 Synthèse du tryptophanamide modifié 85

4.2.1 Approche rétrosynthétique et bibliographique



Le composé **85** peut être obtenu à partir du tryptophane. L'acide carboxylique est remplacé par une fonction amide et l'indole est substitué en position 2 par un groupement phényle (en bleu sur la molécule **85**).

La littérature ne décrit pas de la synthèse de ce composé, il a donc fallu établir une stratégie de synthèse pour l'obtenir (Schéma 32).

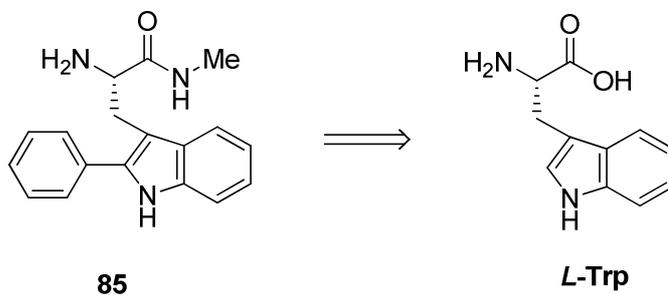


Schéma 32

L'étape clé de cette synthèse repose sur la formation de la liaison C-C entre la position 2 de l'indole et le noyau aromatique. Un couplage de type Suzuki permet de synthétiser des liaisons C-C, mais pour ce faire, il est nécessaire de préparer un dérivé halogéné en position 2. Plusieurs synthèses ont été décrites pour préparer le 2-bromotryptophane. Une des premières synthèses montre la nécessité de protéger les fonctions amine et acide par un groupement trifluoroacétate et une fonction ester, respectivement, avant de bromer la position 2 de l'indole.⁴¹

La formation d'un ester éthylique permet d'assurer la protection de la fonction acide, mais aussi de préparer la molécule en vue de l'étape de formation de l'amide terminal par réaction de substitution nucléophile avec la méthylamine.

Les 2-haloindoles sont sensibles au milieu acide, il est donc nécessaire de choisir un groupement protecteur pour l'amine qui soit labile en milieu alcalin. C'est la raison pour laquelle le groupement trifluoroacétate a été retenu pour protéger la fonction amine.

La bromation en position 2 de l'indole été décrite avec un équivalent de *N*-bromosuccinimide (NBS) dans du tétrachlorure de carbone avec un rendement de 83%.⁴¹

L'utilisation de ces mêmes conditions a été rapportée par Schmidt *et al.* sur le composé **90**⁴². Le solvant de cette réaction n'est plus du tétrachlorure de carbone, mais du dichlorométhane et en trente minutes le dérivé bromé est obtenu avec 88% de rendement (Schéma 33).

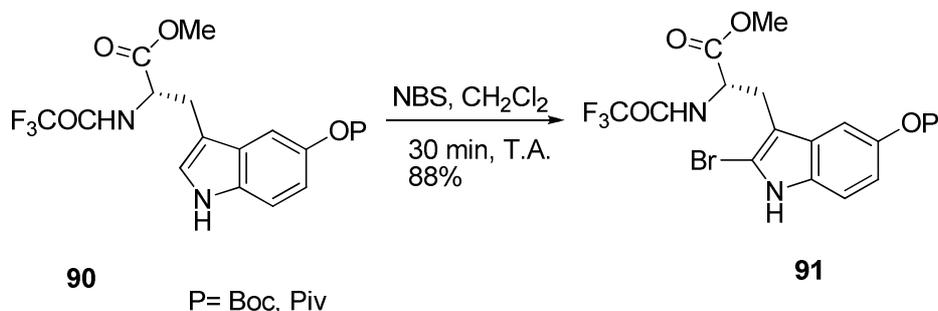


Schéma 33

Il n'existe pas de couplages de type Suzuki réalisés sur le tryptophane. En revanche, des 2-aryltryptamines ont été obtenues par ce type de couplage à partir de 2-bromotryptamines (**92**) et les dérivés **93** ont été isolés avec des rendements allant de 12 à 91% (Schéma 34).⁴³

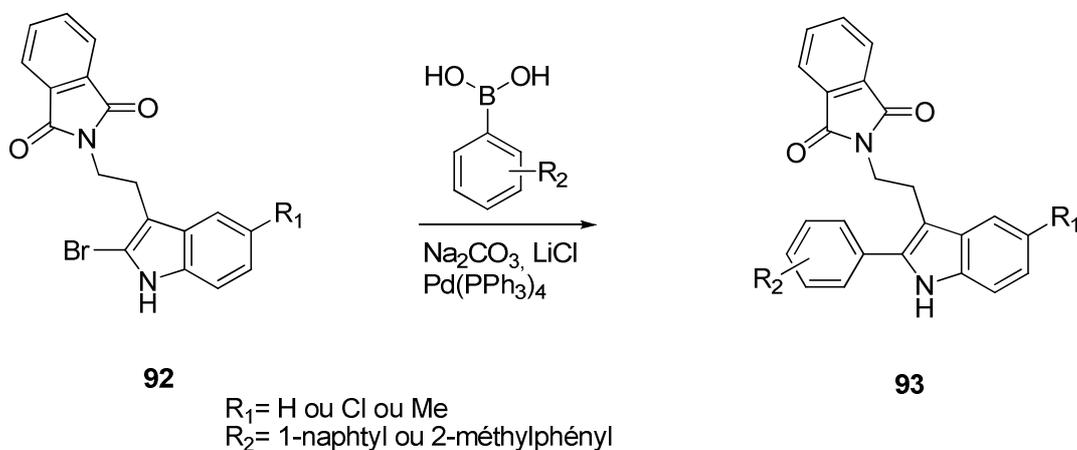


Schéma 34

Il semble cependant possible de transposer ces conditions aux dérivés du tryptophane afin d'obtenir le composé substitué en position 2.

L'étape suivante consiste à former la fonction amide et cela se fait aisément par substitution de la fonction ester

4.2.2 Travaux personnels

Dans un premier temps, les fonctions amine et acide du *L*-tryptophane sont protégées sous forme d'un trifluoroacétamide et d'un ester éthylique, respectivement (Schéma 35).

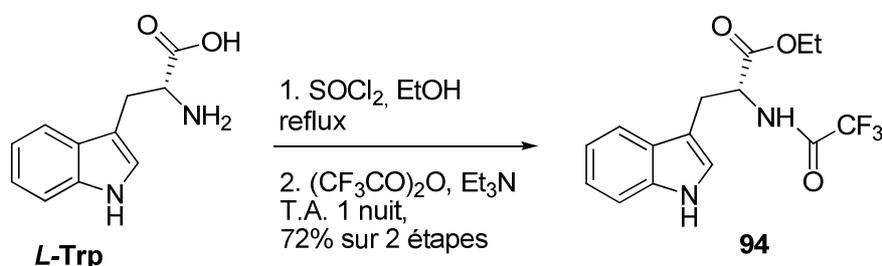


Schéma 35

L'estérification de l'acide carboxylique se fait par traitement du *L*-Trp avec une solution éthanolique contenant deux équivalents de chlorure de thionyle. Après quatre heures de reflux, le suivi par chromatographie sur couche mince indique une disparition du produit de départ au profit de la formation de l'ester éthylique.

Le brut obtenu après le lavage basique est directement mis en réaction pour l'étape suivante. Il est à noter que le milieu acide a permis la protection de l'amine primaire par protonation de cette dernière, la rendant moins nucléophile dans ces conditions.

L'étape de protection de l'amine nécessite la présence de triéthylamine pour neutraliser l'acide trifluoroacétique dégagé lors de la réaction. Le spectre de RMN ^1H de la molécule **94** indique l'existence d'un triplet à δ 1.14 ppm ($J = 7.1$ Hz) et d'un quadruplet à δ 4.12 ppm ($J = 7.1$ Hz) mettant en évidence la formation de l'ester éthylique de la première étape. Par ailleurs, le spectre de RMN ^{13}C montre la présence du groupement trifluoroacétate. En effet,

les quadruplets à δ 156.6 ppm ($J= 37.5$ Hz) et à δ 116.3 ppm ($J= 285$ Hz) sont attribués au groupement COCF_3 .

L'étape suivante consiste à bromer la position 2 de l'indole afin d'obtenir le dérivé qui permettra de procéder au couplage de type Suzuki ultérieurement. La bromation est réalisée avec du NBS dans du tétrachlorure de carbone à reflux (Schéma 36).

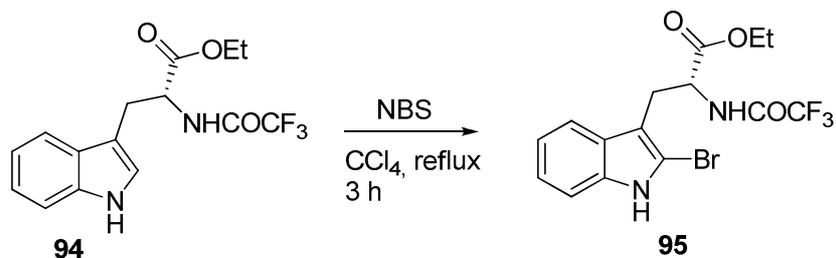


Schéma 36

La dissolution du tryptophane protégé (**94**) est partielle dans le solvant de réaction, c'est seulement après avoir ajouté le NBS par portion et en portant le milieu réactionnel à reflux que le mélange devient limpide. L'élimination de l'excès de NBS se fait par filtration à chaud, puis le brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice.

La comparaison des spectres de RMN ^1H et ^{13}C des composés **94** et **95** montre pour le composé **95** la disparition du signal correspondant au proton en position 2 de l'indole (H_2) (δ 7.2 ppm pour **94**) et le blindage de l'atome de carbone 2, qui passe de δ 124 ppm pour **94** à δ 109 ppm pour **95** attestant de la présence de l'atome de brome sur cette position et de la régiospécificité de la réaction. La molécule **95** est obtenue avec 93% de rendement.

Le composé **95** a été traité en présence d'acide phénylboronique, de tétrakis (triphénylphosphine) palladium, de chlorure de lithium et d'hydrogénocarbonate de sodium dans un mélange éthanol/toluène (1:1). Les conditions de type Suzuki, identiques à celles rapportées par Chu *et al.*⁴³, ont permis de synthétiser la molécule **96** avec un rendement de 73% (Schéma 37).

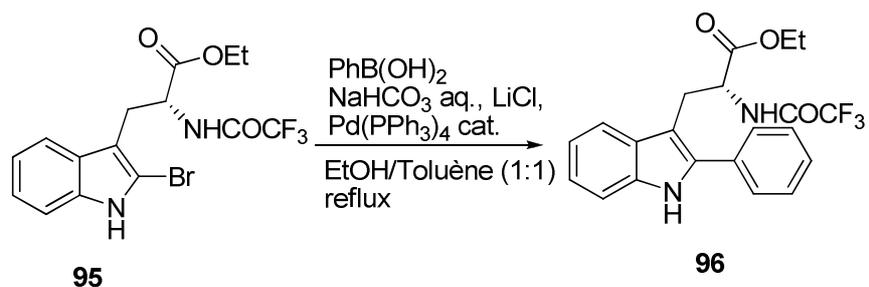


Schéma 37

Le tétrakis (triphénylphosphine) palladium doit être fraîchement préparé et conservé sous atmosphère inerte et à l'abri de la lumière.

L'importance de la présence du chlorure de lithium dans le couplage n'a pas été vraiment étudiée. Toutefois, il semble, selon les auteurs, que le rendement de couplage diminue lorsque ce dernier est absent. De même, la quantité d'eau ajoutée au milieu est importante pour le bon fonctionnement de la réaction.

La structure du composé **96** a été confirmée par RMN et spectrométrie de masse. L'analyse du spectre de masse indique la présence d'un ion à m/z 405.3 correspondant à $[M+H]^+$. La RMN ^{13}C indique la présence de neuf CH aromatiques : quatre attribués à la partie indolique (δ 111.0, 118.5, 120.2 et 122.7 ppm) et cinq correspondant au groupement phényle (δ 128.2, 128.3, 129.0, 129.1 et 132.5 ppm).

Le déplacement chimique du carbone 2 de l'indole portant le noyau aromatique passe de δ 109 ppm pour le composé **95** à δ 135.6 ppm pour le composé **96** montrant qu'il y a eu substitution sur ce carbone.

La dernière étape de formation du dérivé tryptophanamide **85** consiste en la déprotection de la fonction amine et l'amidification du côté acide. Ces deux réactions peuvent se faire en une seule étape par utilisation de la méthylamine qui, par trans-amidification, libère l'amine et conduit à l'amide en réagissant avec l'ester éthylique. La dissolution du produit **96** dans un mélange éthanol/méthylamine aqueuse 40% (**97**) (1:1) permet une déprotection du groupement trifluoroacétate et une amidification de l'ester éthylique avec un rendement de 77% (Schéma 38).

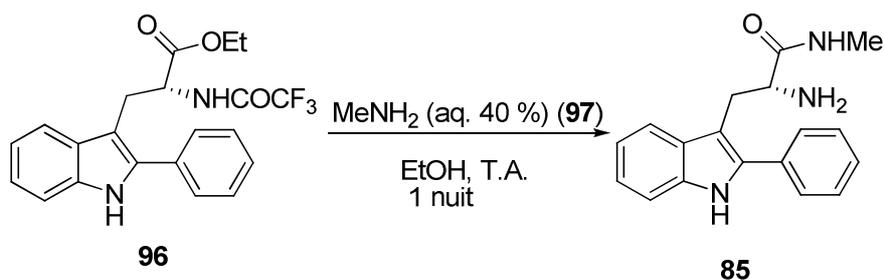


Schéma 38

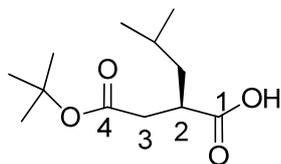
Le spectre de RMN ^1H de **85** montre un doublet intégrant pour trois protons à δ 2.5 ppm ($J=4.6$ Hz) attestant de la présence de la fonction méthylamide. Par ailleurs, la disparition des signaux à δ 1.0 ppm et δ 3.6 ppm de **96** indique la disparition de l'ester éthylique.

La déprotection du groupement trifluoroacétate est aisément repérable sur le spectre de RMN ^{13}C , l'absence du quadruplet à 156.6 ppm en est la preuve. Le singulet large à δ 1.5 ppm échangeable par D_2O sur le spectre ^1H (dans le DMSO) est en accord avec cette affirmation, puisqu'il s'agit du signal de l'amine libre.

Enfin, le spectre de masse indique bien la présence de la molécule **85** par un ion $[\text{M}+\text{H}]^+$ à m/z 294 avec une abondance de 50% et un ion à m/z 277 avec une abondance relative à 100%. Cet ion correspond au fragment du produit **85** sans la fonction amine.

4.3 Synthèse de la partie succinique 84a

4.3.1 Approche rétrosynthétique et bibliographique



84a

La molécule **84a** est un dérivé de l'acide succinique possédant une chaîne *iso*-butyle en position 2. Sa configuration absolue en cette position est *R*. Elle comporte une fonction acide en position 1 et une fonction ester *tert*-butylique en position 4.

Le 4-succinate de méthyle substitué en position 2 peut être synthétisé par ouverture de l'anhydride **100** généré par condensation de l'anhydride maléique **98** avec le 2-méthylpropène **99** après hydrogénation catalytique (Schéma 39).⁴⁴

Après condensation de l'anhydride maléique **98** avec le 2-méthylpropène **99**, l'adduit obtenu est réduit par hydrogénation catalytique pour donner l'anhydride **100**. Ce dernier est ensuite ouvert avec du méthanol pour donner le composé **101** sous forme d'un mélange racémique. Une résolution chimique à l'aide de la (-) méthylbenzylamine permet d'obtenir sélectivement le composé *R* (**84b-1**).

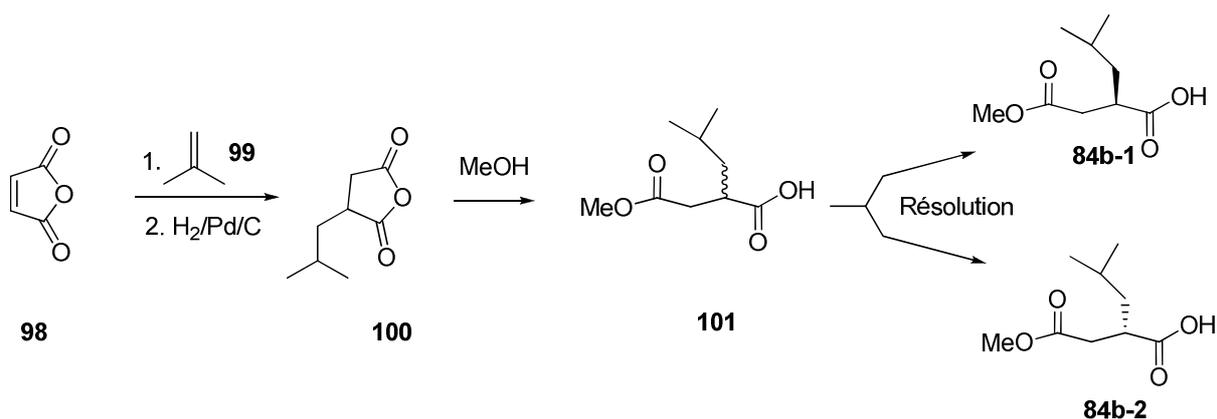


Schéma 39

Le dérivé **84b-1** peut être obtenu en seulement quatre étapes, mais cette stratégie présente deux facteurs limitants :

-L'étape de méthanolyse nécessite environ 8 jours de réaction, ce qui est long pour une seule réaction dont le rendement ne dépasse pas 60%.

-Il faut réaliser une résolution chimique afin d'obtenir uniquement le composé énantiomériquement pur.

Afin d'obtenir le dérivé **84a** ou **b** possédant une stéréochimie *R*, il nous a paru nécessaire d'avoir recours à une autre méthode de synthèse.

Une synthèse de **84a** a été décrite en 1993⁴⁵ et nécessite quatre étapes. Quatre étapes supplémentaires sont nécessaires à la préparation d'un auxiliaire chiral **104** qui permettra, de contrôler la stéréochimie lors de la synthèse (Schéma 40).

L'acide 4-méthylvalérique ou isocaproïque (**102**) est d'abord transformé en chlorure d'acyle avec du chlorure de thionyle. Le composé **103**, obtenu par distillation sous pression réduite, est ensuite condensé au composé **104** en présence de butyllithium pour donner le composé **105**.

L'adduit **105** est additionné au *tert*-butylbromoacétate **106** à -78°C afin de générer le composé **107**. Le clivage de l'auxiliaire chiral conduit au composé **84a** énantiomériquement pur.

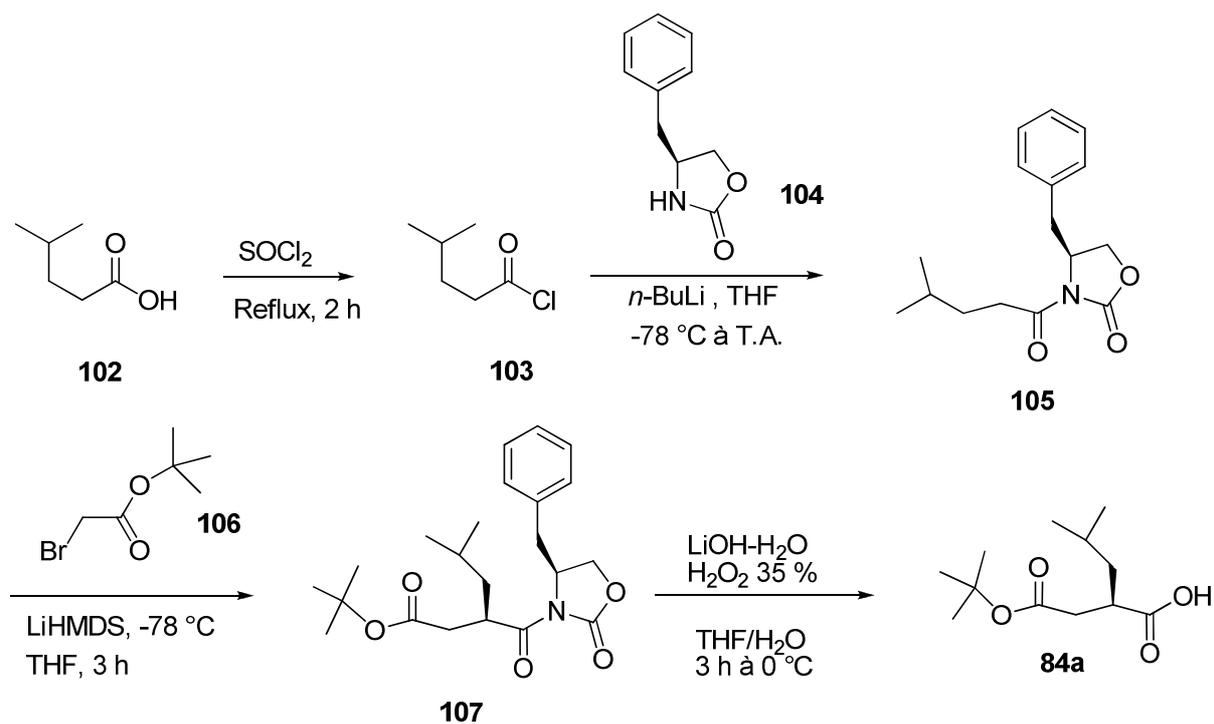


Schéma 40

Cette méthode est très utilisée et représente la stratégie la plus fréquemment rencontrée pour obtenir des dérivés de type **84**.

4.3.2 Travaux personnels

Nous avons décidé d'utiliser la méthode générale de préparation de **84a**. Il fallait donc préparer l'oxazolidinone chirale **104** afin d'obtenir la stéréosélectivité désirée et la synthèse de cette oxazolidinone se fait à partir de la *L*-phénylalanine (Schéma 41).⁴⁶

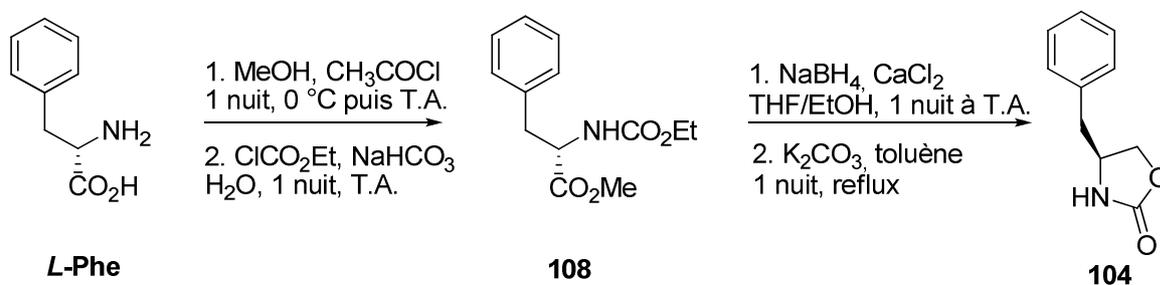


Schéma 41

Pendant la première étape, la fonction acide de la *L*-phénylalanine est estérifiée à l'aide de chlorure d'acétyle dans le méthanol. Le milieu acide permet de transformer l'amine primaire en sel d'ammonium (forme protonnée) et ainsi supprimer sa nucléophilie. Ensuite, le milieu est alcalinisé par NaHCO₃ et mis en réaction avec le chloroformiate d'éthyle pour donner le produit **108** qui est isolé avec 90% de rendement.

Le spectre de RMN ¹H de **108** montre un singulet intégrant pour trois protons à δ 3.7 ppm confirmant la formation de l'ester méthylique. Par ailleurs, la présence d'un triplet et d'un quadruplet à δ 1.2 (*J*= 7.1 Hz) et δ 4.1 ppm (*J*= 7.1 Hz) respectivement sont caractéristiques de l'enchaînement CH₂-CH₃ du carbamate d'éthyle.

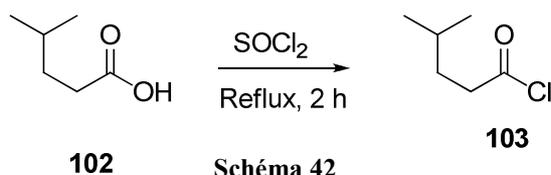
L'ester méthylique de **108** est ensuite réduit en alcool avec du borohydrure de sodium dans un mélange THF/ éthanol. La réaction est complète en 24h et le milieu est acidifié jusque pH 4.

Le brut est simplement dissous dans du toluène, puis chauffé à reflux avec une quantité catalytique de carbonate de potassium. Ces conditions réactionnelles permettent la cyclisation de l'alcool sur le carbamate d'éthyle et la libération d'éthanol. L'utilisation d'un « Dean-Stark » permet de séparer l'éthanol libéré du milieu réactionnel et favorise la cyclisation.

L'oxazolidinone **104**, souvent appelée « copule d'Evans », obtenue avec 79% de rendement, a été caractérisée totalement et ses analyses sont conformes à celles données par les auteurs de cette synthèse⁴⁶ ($[\alpha]_D^{20}$: -62.2 (c=1, CHCl₃) ; $[\alpha]_D^{20}$: -63 (c=1, CHCl₃) littérature) CAS No : 90719-32-7

Le spectre de RMN ¹H de **104** montre un singulet large à δ 5.9 ppm qui est caractéristique du NH. Le CH en α de l'oxazolidinone donne un doublet de doublet sous forme d'un triplet à δ 4.4 ppm. Enfin, le spectre de RMN ¹³C présente, en plus des signaux facilement attribuables au phénylalaninol, un atome de carbone quaternaire à δ 159 ppm ; il s'agit du carbonyle de l'oxazolidinone.

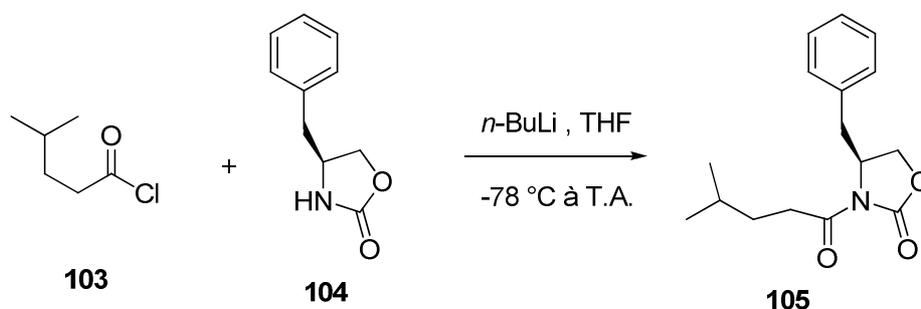
Dans le but de poursuivre la synthèse, l'acide 4-méthylvalérique **102**, qui constitue le précurseur de la chaîne *iso*-butyle, doit être activé pour réagir avec la copule d'Evans d'où la synthèse du chlorure d'acyle **103** (Schéma 42).



L'acide 4-méthylvalérique est dissous dans du chlorure de thionyle et porté à reflux. L'excès de chlorure de thionyle est ensuite évaporé, puis le chlorure d'acyle est obtenu par distillation sous pression réduite sous forme d'une huile incolore avec 80% de rendement.

L'acide 4-méthylvalérique **102** et son chlorure d'acyle **103** présentent des caractéristiques RMN peu différentes. La preuve de l'obtention de **103** repose sur le déplacement chimique du carbonyle en RMN ^{13}C qui passe de δ 182 pour l'acide **102** à δ 174 ppm (CDCl_3) pour **103**. De plus, la disparition du singulet large à δ 11.6 ppm en RMN ^1H caractéristique d'un acide carboxylique confirme que ce dernier n'est plus présent et que le chlorure d'acyle correspondant s'est formé.

L'étape suivante est une addition nucléophile de l'oxazolidinone déprotonée sur le chlorure d'acyle **103** (Schéma 43).



Dans un premier temps, l'oxazolidinone **104** est agitée dans du THF anhydre à -78°C en présence d'un équivalent de *n*-butyllithium afin d'arracher le proton porté par l'atome d'azote.

Le chlorure d'acyle **103** est ensuite ajouté goutte-à-goutte sur l'anion formé. Après purification par chromatographie sur colonne de silice la molécule **104** est obtenue avec 83% de rendement.

Il est important de noter que le nombre d'équivalent de base doit être précisément d'un équivalent sous peine de risquer l'épimérisation du centre asymétrique.

L'alkylation de la *N*-acyl-oxazolidinone **105** ainsi obtenue permet de former le deuxième centre asymétrique dont la stéréochimie *R* est totalement contrôlée (Schéma 44).

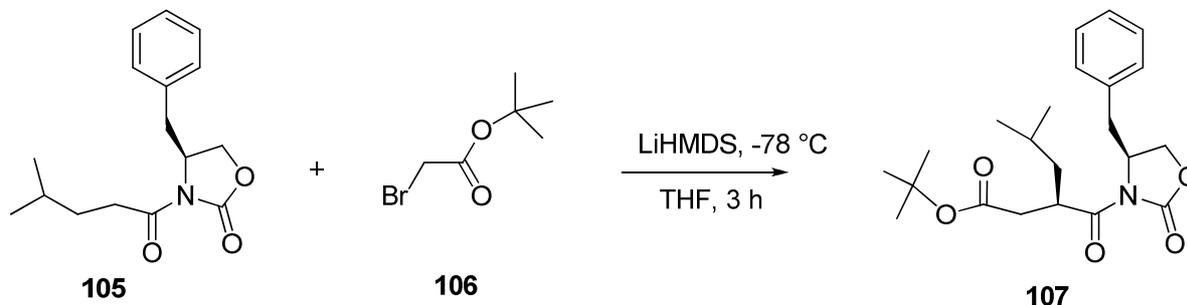


Schéma 44

Une seconde base forte est nécessaire à la formation de l'anion en α du carbonyle de **105** et pour cela, le sel de lithium hexaméthyl disilazane (LiHMDS) est utilisé. La réaction se déroule, comme la précédente, à -78°C, afin d'assurer une certaine stabilité à l'anion généré, puis le *tert*-butylbromoacétate est additionné au milieu pour former le produit **107** avec 24% de rendement.

Le contre ion de la base utilisée permet de contrôler la stéréochimie par la formation d'un chélate avec le lithium et ainsi favoriser la substitution nucléophile sur la face la moins encombrée (Schéma 45).

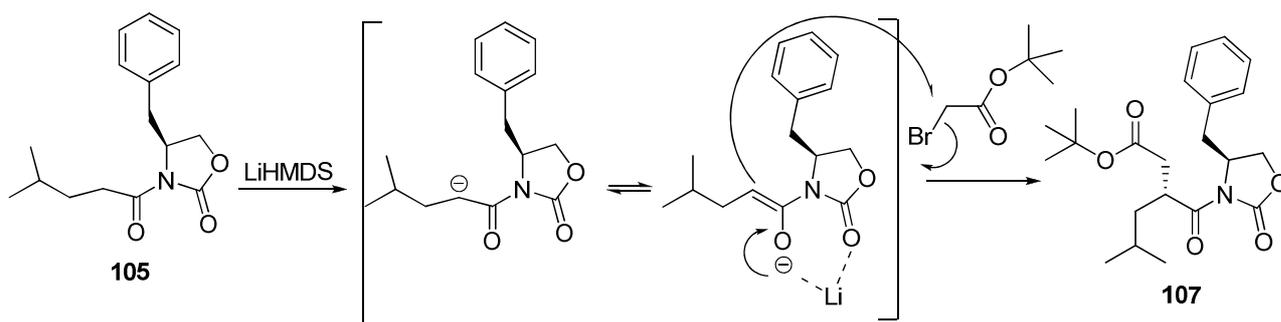


Schéma 45

Cette méthode permet donc d'obtenir de façon diastéréosélective (au minimum 95%), la molécule **107**.

Ce constat vient de l'analyse du spectre de RMN ^1H de **107** qui ne montre aucun dédoublement des signaux. Le signal du groupement *tert*-butoxy est sous forme d'un singulet à δ 1.4 ppm et celui des 5H aromatiques entre δ 7.2 et 7.3 ppm confirme la structure de **107**. Le spectre de RMN ^{13}C indique de son côté la présence de trois atomes de carbone quaternaires à δ 153, 171 et 176 ppm caractéristiques des trois groupements carbonyle de la molécule (CO oxazolidinone, CO *t*-butoxy, CHCON , respectivement).

La dernière étape est le clivage de l'auxiliaire chiral en milieu oxydant (Schéma 46).

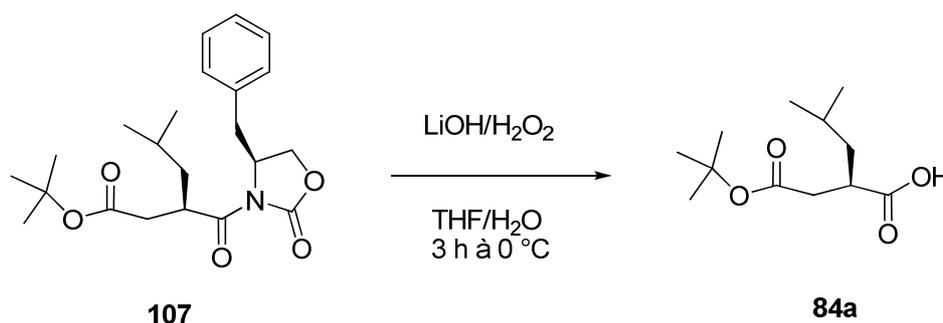


Schéma 46

La réaction se fait à 0°C dans un mélange THF/eau en présence d'eau oxygénée et d'hydroxyde de lithium.

Quelques difficultés ont été rencontrées lors de la purification de ce produit. L'oxazolidinone **104** régénérée peut être séparée de l'acide **84a** par extraction acido-basique. A pH alcalin l'oxazolidinone est soluble en phase organique, alors que l'acide **84a**, sous forme de sel, reste en phase aqueuse.

Il est nécessaire de contrôler le pH durant l'acidification pour que le rendement de l'extraction soit quantitatif. Lorsque le pH est égal ou inférieur à 1, l'acide n'est pas récupéré, en revanche à pH 2-3, il est aisément extrait. Il semble donc qu'un pH trop acide perturbe l'extraction de **84a** en phase organique. En effet, le groupement *tert*-butoxy est clivé et le composé diacide reste en phase aqueuse.

De plus, si la première extraction n'est pas complète et qu'il reste de la copule d'Evans dans la phase aqueuse, celle-ci se retrouve extraite après acidification avec l'acide carboxylique **84a** et dans ce cas, la séparation des deux par chromatographie est difficile.

La caractérisation du composé **84a** a été réalisée par l'étude de son spectre de RMN ^1H qui indique toujours la présence du groupement *tert*-butoxy par un singulet à δ 1.4 ppm et de la chaîne *iso*-butyle par deux doublets à δ 0.91 et 0.94 ppm ($J= 6.4$ Hz).

Le spectre de RMN ^{13}C indique deux atomes de carbone quaternaires à δ 171 et 181 ppm correspondant aux groupements carbonyle du *tert*-butoxy et de l'acide carboxylique, respectivement. Le déplacement chimique de ce dernier atome de carbone est déblindé de 28 ppm par rapport au composé **107**, ce qui indique un changement d'environnement et confirme la présence d'un acide carboxylique.

Il est aussi possible de garder l'auxiliaire chiral dans cette dernière étape et de cliver quantitativement le groupement *tert*-butoxy avec de l'acide trifluoroacétique (Schéma 47). Cette alternative sera mise à profit ultérieurement.

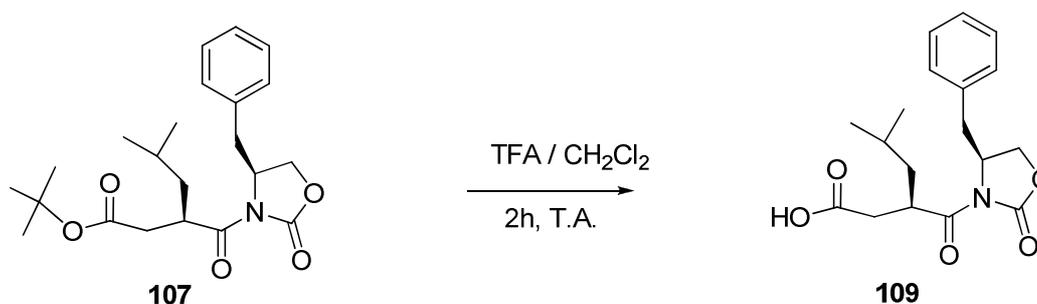


Schéma 47

Pour préparer **109**, le composé **107** est alors dissous dans du dichlorométhane. Ensuite, l'acide trifluoroacétique est ajouté au milieu. L'acide **109**, obtenu quantitativement, cristallise dans l'acétone.

Le spectre de masse du composé **109** indique la présence de l'ion moléculaire à m/z 333, mais aussi d'un ion à m/z 156 correspondant au clivage de l'auxiliaire chiral.

Le spectre de RMN ^1H de **109** ne diffère pas énormément de celui de la molécule **107**. Toutefois, le singulet correspondant au groupement *tert*-butoxy n'apparaît plus sur le spectre de **109** et l'on observe un singulet large à δ 9.3 ppm qui intègre pour un proton. Ce signal est celui du OH de l'acide carboxylique.

Enfin, le spectre de RMN ^{13}C de **109** montre que les déplacements chimiques des groupements carbonyle à δ 153 et 171 ppm (CO oxazolidinone et CHCON , respectivement). Le troisième carbonyle résonne à δ 176 ppm au lieu de δ 171 pour le groupement carbonyle du *tert*-butoxy ; la déprotection s'est effectuée.

4.4 Synthèse des composés 83 et 86

4.4.1 Approche rétrosynthétique et bibliographique



La synthèse du composé **86** n'a jamais été décrite en revanche le produit **83**, qui peut être un intermédiaire dans la préparation de **86**, a été décrit par O'Brien *et al.*

Deux stratégies de synthèse sont possibles pour obtenir des dérivés biphénylés contenant une fonction chlorure de sulfonyle, sulfonamide ou sulfonylhydrazine⁴⁷.

La première stratégie repose sur la formation du chlorure de sulfonyle par réaction directe entre un dérivé biphénylé (souvent commercial) et l'acide chlorosulfonique.

La deuxième stratégie repose sur un couplage bi-arylique de type Suzuki entre un sulfamide (ou une sulfonylhydrazine) et un acide phénylboronique substitué. Cela permet d'avoir accès à des biphénylsulfonamides ou à des biphénylsulfonylhydrazines comme le composé **86** (Schéma 48)

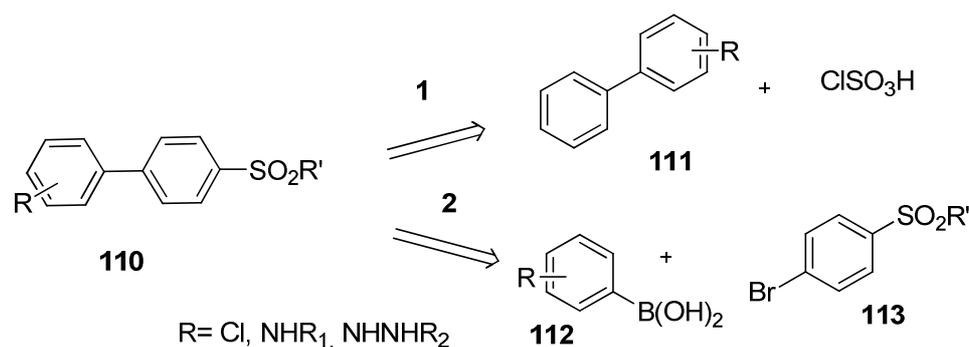


Schéma 48

Le choix d'une stratégie par rapport à l'autre repose sur la commercialisation des réactifs. S'il existe un dérivé biphenylé **111** commercial, alors la méthode avec l'acide chlorosulfonique sera favorisée.

Dans le cas contraire, l'utilisation d'un couplage de type Suzuki est nécessaire et alors le chlorure de sulfonyle de 4-bromophényle **113**, commercial, est utilisé avec un acide phénylboronique approprié **112**. La deuxième voie donne accès à des biphenylsulfonamides ou à des biphenylsulfonylhydrazines plus complexes, mais seulement dans la limite où les acides boroniques sont disponibles.

Dans le cas du composé **83**, O'Brien *et al.* rapporte l'utilisation de la première voie de synthèse (sulfochloration), puisque le 4-bromobiphényle **114** est un produit commercial peu onéreux. Il est important de souligner que la deuxième voie n'est pas applicable à cause de la présence de l'atome de brome en position para du biphenyle qui interférerait dans le couplage de type Suzuki.

En faisant réagir le 4-bromobiphényle **114** avec 1.2 équivalent d'acide chlorosulfonique dans le chloroforme, l'acide sulfonique **115** est isolé avec 75% de rendement. L'acide sulfonique **115** est ensuite dissous dans du chlorure de thionyle avec un minimum de DMF pour donner, après 4h de reflux, le composé **83**. Le rendement de cette deuxième réaction est de 72%, soit un rendement global de 54% (Schéma 49).

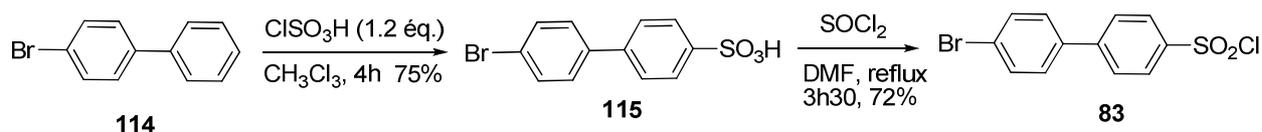
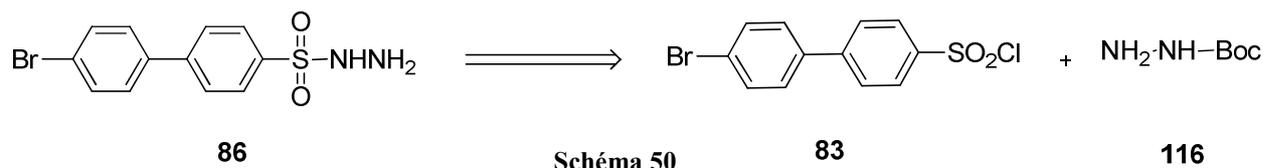


Schéma 49

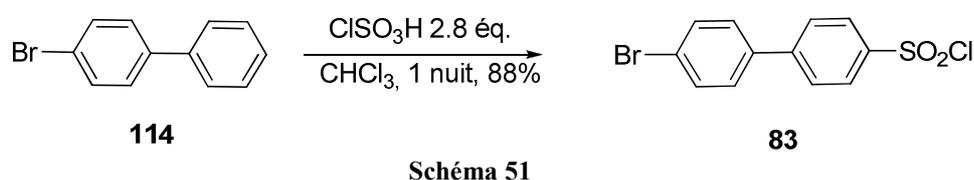
Pour obtenir le produit **86**, le composé **83** peut être additionné à une hydrazine monoprotégée par un groupement Boc (Schéma 50).



4.4.2 Travaux personnels

La synthèse du composé **83** a été réalisée comme l'a décrite O'Brien, c'est-à-dire en utilisant l'acide chlorosulfonique. Le produit attendu a été obtenu après les deux étapes avec un rendement de 50%.

Un autre essai de synthèse de **83** a été réalisé avec 2.8 équivalents d'acide chlorosulfonique (Schéma 51). Dans ces conditions, le composé **83** est directement isolé après 24h d'agitation à température ambiante avec 88% de rendement. Par ailleurs, aucun traitement n'est nécessaire et le produit est aisément recristallisé dans un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle.



Le rendement a été augmenté de 50% à 88% pour cette réaction par l'utilisation de 2.8 équivalents de réactif, l'excès d'acide chlorosulfonique remplaçant le chlorure de thionyle.

Le chlorure de sulfonyle **83** est ensuite mis en réaction avec du *tert*-butylcarbazate en présence de triéthylamine dans le THF pour donner le *tert*-butyl-2-(4'-bromobiphényl-4-ylsulfonyl)hydrazinecarboxylate **117**. Ce dernier cristallise dans du dichlorométhane et le rendement de la réaction est de 68%.

Pour cliver le groupement Boc, le dérivé est mis sous agitation dans une solution de dioxane/HCl et en quelques minutes le 4'-bromobiphényl-4-sulfonylhydrazine **86** précipite sous forme de sel (Schéma 52).

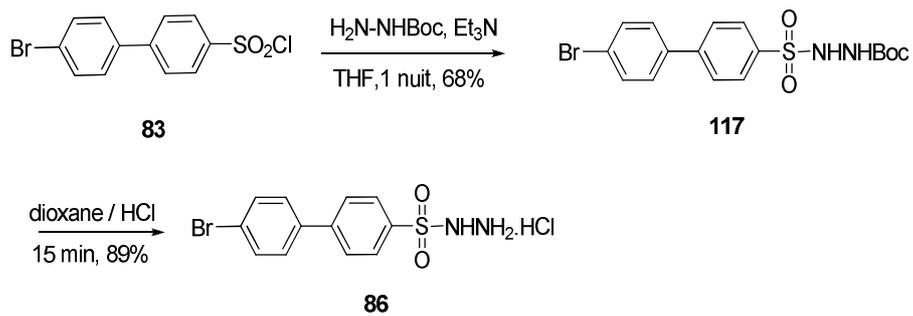


Schéma 52

Il est possible de cliver le groupement Boc avec un mélange TFA/CH₂Cl₂, mais le temps de réaction est de deux heures et les rendements ne sont pas meilleurs.

4.5 Couplage selon la voie A

La première approche que nous avons envisagée pour synthétiser **6** repose sur un couplage peptidique entre la sulfonylhydrazine **86** et le composé **87** comme étape finale (Schéma 53).

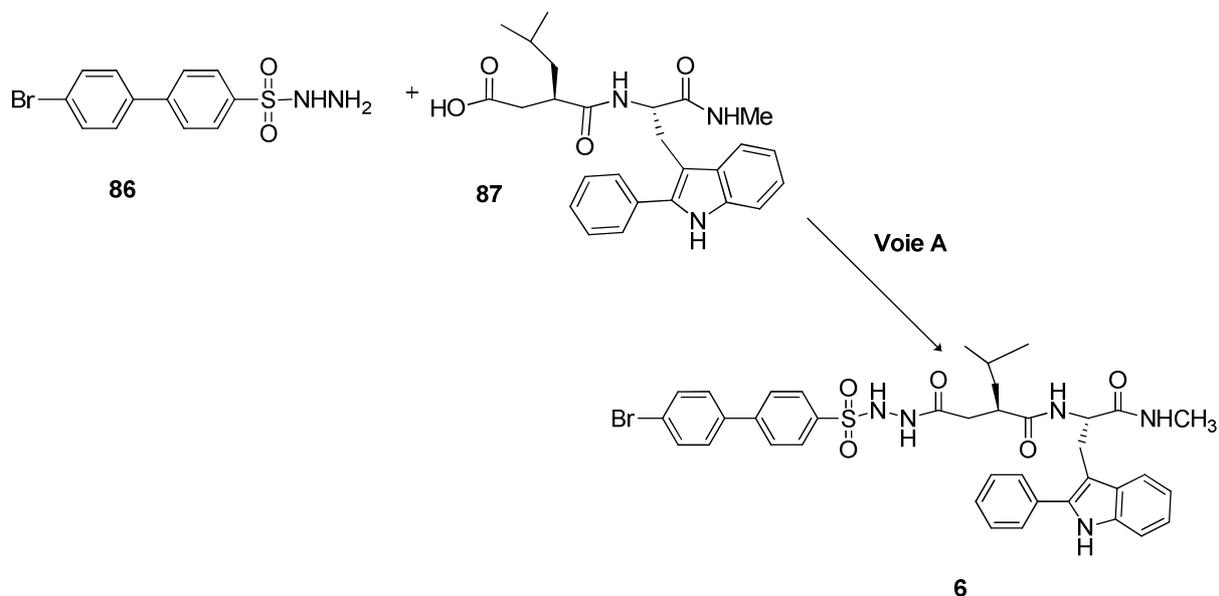


Schéma 53

Pour réaliser ce couplage, il est nécessaire de synthétiser l'acide **87**. L'acide succinique monoester (**84a**) et le tryptophanamide (**85**) sont couplés avec le chlorhydrate de 4-(4,6-diméthoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-méthylmorpholinium (DMTMM). La DMTMM est un agent de couplage qui a été beaucoup utilisé dans le Laboratoire pour les couplages peptidiques et la base souvent associée est la *N*-méthylmorpholine (NMM).

L'avantage de cet agent de couplage est qu'il est aisément synthétisable par réaction entre la NMM et la 2-chloro-4,6-diméthoxy-1,3,5-triazine (CDMT), car il précipite sous forme de sel.⁴⁸ Lors d'un couplage peptidique, l'excès de DMTMM est facilement séparable du brut réactionnel par extraction ainsi que son résidu issu de l'activation de l'acide avec la DMTMM.

Le couplage se fait dans le THF bien que la DMTMM n'y soit pas soluble, afin de limiter la dégradation de la DMTMM ce qui diminuerait le rendement.

L'acide **84a** est activé en moins de 15 minutes et, à l'inverse des carbodiimides, les sous-produits réactionnels sont facilement éliminables, puisque l'activation de l'acide libère de la *N*-méthylmorpholine qui s'ajoute au milieu réactionnel.

Le couplage entre **84a** et **85** est total en trois heures et le produit **118** est obtenu après purification par chromatographie sur colonne de silice avec 80% de rendement (Schéma 54).

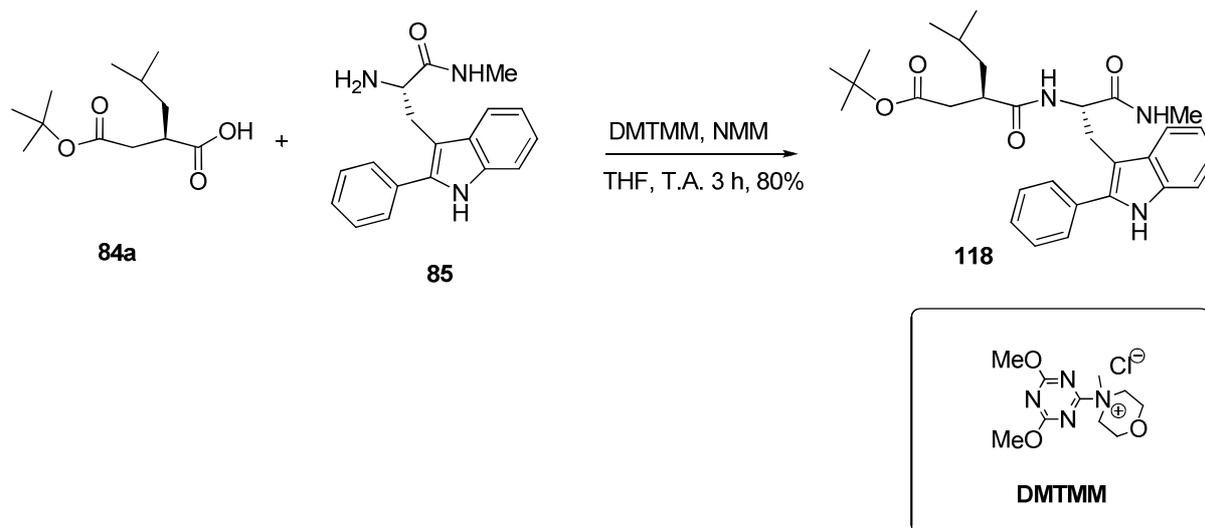


Schéma 54

La molécule **118** a été caractérisée par RMN ^1H et ^{13}C , spectrométrie de masse et infrarouge.

Le spectre de RMN ^1H regroupe les signaux caractéristiques de chacun des réactifs à savoir :

- La présence du groupement *tert*-butoxy, par un singulet intégrant pour neuf protons à δ 1.4 ppm.

- Les deux doublets à δ 0.79 et 0.85 ppm ($J= 6.2$ Hz) représentant les groupements méthyles de la chaîne *iso*-butyle.

- Le doublet de trois protons à δ 2.4 ppm ($J= 4.5$ Hz), caractéristique du NHMe.

- Enfin, le multiplet à δ 4.6 ppm correspond au $\text{CH}\alpha$ du tryptophane.

Le spectre de RMN ^{13}C montre bien trente atomes de carbone et parmi ceux-ci, les trois carbonyles sont présents dont celui du *tert*-butoxy à δ 171.7 ppm.

Le spectre de masse indique un ion à m/z 506 correspondant à la formule brute $C_{30}H_{39}N_3O_4$. Le spectre infrarouge montre plusieurs bandes caractéristiques dont celles des NH à 3383 et 3286 cm^{-1} et celles des différents carbonyles à 1727 et 1639 cm^{-1} indiquant la présence des groupements *tert*-butoxy et amide, respectivement.

Il est nécessaire de cliver le groupement *tert*-butoxy en vue d'obtenir l'acide **87**. Les conditions sont identiques à celles utilisées pour le composé **109**, à savoir du TFA dans du dichlorométhane anhydre (Schéma 55).

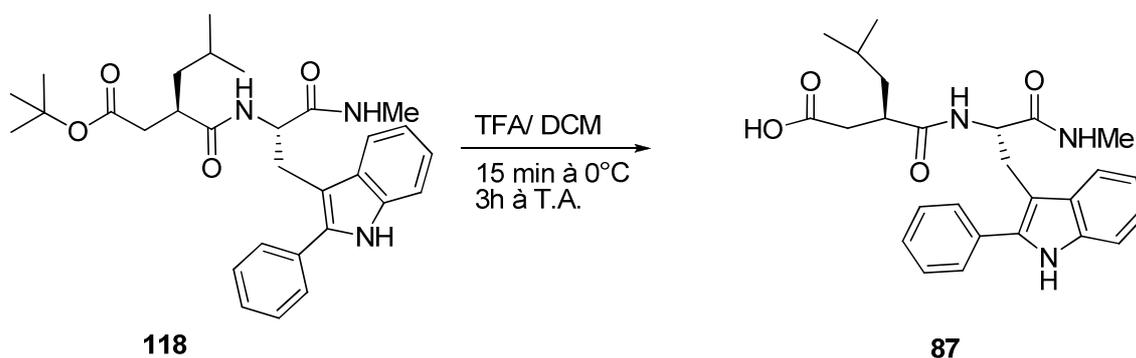


Schéma 55

La réaction ne nécessite pas de traitement particulier si ce n'est l'évaporation du solvant et ainsi l'acide **87** est obtenu quantitativement sous forme d'huile.

Le suivi par chromatographie indique la formation de l'acide par l'apparition d'une tache plus polaire qui a tendance à « traîner », ce qui est souvent caractéristique des acides carboxyliques. Le spectre de RMN 1H indique de son côté les mêmes signaux que la molécule de départ sans le singulet à δ 1.4 ppm prouvant bien la perte du *tert*-butoxy.

L'obtention de la molécule **6** se fait par un couplage peptidique selon cette voie de synthèse. Cette voie est la première qui a été essayée, puisque plusieurs molécules ont été synthétisées de cette manière auparavant avec des rendements allant de 11 à 67%.⁹ Les dérivés étaient alors assez similaires à notre molécule cible (**6**), sauf que le tryptophane n'était pas substitué en position 2 de l'indole par un groupement phényle et le couplage ne s'était pas effectué avec la 4-bromobiphénylesulfonylhydrazine **86**, mais avec d'autres sulfonylhydrazines.

L'agent de couplage qui avait été employé est la DMTMM, déjà utilisée pour former le composé **118**. Nous avons pris deux équivalents de DMTMM, six équivalents de base et cinq équivalents de dérivé **86** (Schéma 56).

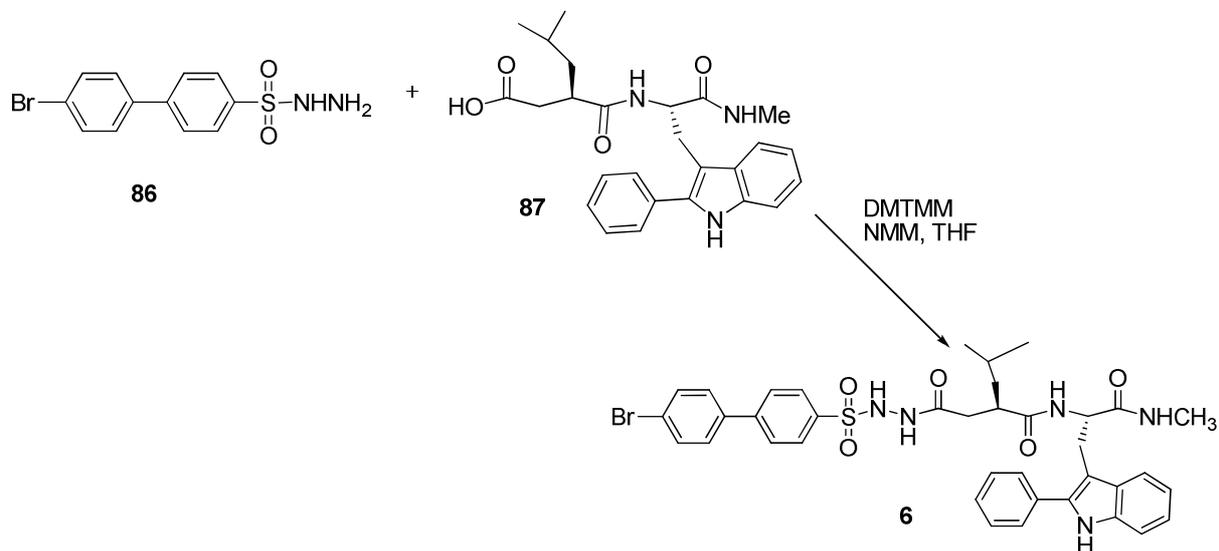


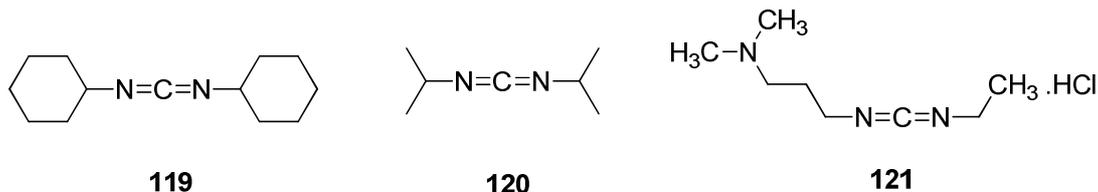
Schéma 56

Malgré un temps de réaction de trente heures et un rapport de cinq pour un en faveur de la bromobiphénylsulfonylhydrazine, la molécule **6** n'a pas pu être isolée.

Il existe divers agents de couplage qui ont été utilisés auparavant par d'autres équipes et qui se sont révélés efficaces.

Les carbodiimides sont connus pour être de bons activateurs de la fonction acide carboxylique. Leur structure générale est composée d'un enchaînement C-N=C=N-C. Ils se différencient par les substituants situés à chaque extrémité de la fonction carbodiimide. Ainsi, lorsque le substituant est un cyclohexyle, le dicyclohexylcarbodiimide (DCC, **119**) est obtenu et lorsque c'est un *iso*-propyle, il s'agit du diisopropylcarbodiimide (DIC, **120**).

Il existe d'autres carbodiimides comme le chlorhydrate de 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC, **121**) qui possède des groupements éthyle et diméthylaminopropyle, chacun à une extrémité de la fonction carbodiimide.



Le DCC est un des premiers agents de couplage à avoir été utilisé en synthèse peptidique car il est peu cher et permet d'obtenir de bons rendements de couplage. Néanmoins, bien que le résidu *N,N'*-dicyclohexylurée soit isolable par filtration, les traces de ce sous-produit sont difficilement séparables du produit de couplage. De plus, le DCC est allergène et sa forme gélatineuse à température ambiante rend son utilisation laborieuse.

Le DIC (**120**) est moins allergène que le DCC et sa forme liquide à température ambiante rend son utilisation plus aisée. Par ailleurs, la *N,N'*-diisopropylurée est soluble dans le dichlorométhane ce qui nécessite quelques précautions quant aux solvants utilisés lors du traitement de la réaction.

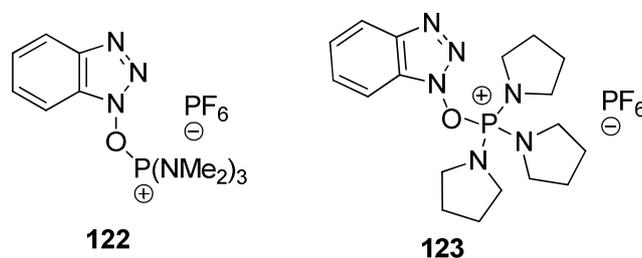
L'EDC (**121**) possède l'avantage d'être sous forme de sel, ce qui le rend soluble dans l'eau et facilite son élimination et il en est de même pour le sous-produit, la 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) urée.

Il existe un grand nombre de carbodiimides sur le marché, mais l'ajout d'un activateur tel que le *N*-hydroxyphthalimide, à des carbodiimides simples comme le DCC⁴⁹ permet souvent d'augmenter le rendement de couplage.

Enfin, l'activation des acides par les carbodiimides risque d'engendrer une racémisation partielle des centres asymétriques. L'ajout de benzotriazoles comme le 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) limite l'épimérisation et permet ainsi de palier à ce problème.

Dans le but de limiter la formation de sous-produits et l'épimérisation des centres asymétriques, une autre classe d'agent de couplage a été développée. Il s'agit des phosphonium et notamment le benzotriazol-1-yloxy-tris(diméthylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP, **122**) qui est un assemblage entre un noyau benzotriazole et un phosphonium. Les couplages sont efficaces pour former des amides, mais il faut des précautions d'emploi, car le sous-produit de la réaction (hexaméthylphosphoramide) est hautement cancérigène.

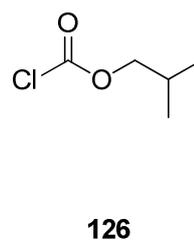
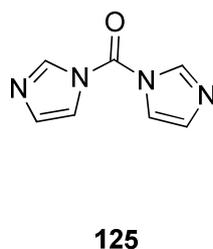
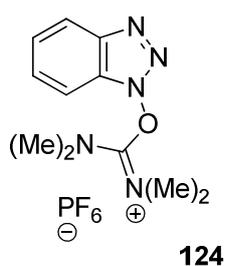
Pour palier ce problème, le benzotriazol-1-yloxy(tripyrrolidino)phosphonium hexafluorophosphate (pyBOP, **123**) a été synthétisé. Dans ce cas, la partie diméthylamine est remplacée par une pyrrolidine ce qui engendre la formation de sous-produit moins dangereux.



Il existe bien d'autres dérivés phosphonium et leur utilisation varie en fonction de la synthèse. Entre autre, le bromotripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate est plus efficace que le pyBOP et est souvent utilisé pour des couplages difficiles où les autres agents de couplage ont échoué.

L'activation des acides carboxyliques par le passage à un chlorure d'acyle est une méthode souvent utilisée dans la mesure où le composé n'est pas sensible au milieu acide. Les deux réactifs couramment mis en œuvre sont les chlorures de thionyle et d'oxalyle. Ce dernier permet de synthétiser des chlorures d'acyle dans des conditions douces alors que le second est plus fort et sert quand l'acide de départ est « robuste ».

Enfin, il est difficile d'être exhaustif sur les agents de couplage peptidique tant le nombre est élevé. Il existe, en effet, des dérivés d'uronium comme par exemple le O-(benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium hexafluorophosphate (HBTU, **124**), des imidazolium avec le carbonyl diimidazole (CDI, **125**), des chloroformiates comme l'*iso*-butylchloroformiate (IBCF, **126**), *etc...* chacun ayant une spécificité et un coût non négligeable, notamment les dérivés complexes.



Dans le cas du couplage entre l'acide **87** et le sulfonylhydrazine **86**, trois méthodes de couplages ont été testées afin d'obtenir la molécule **6**.

Les couplages ont été réalisés sur des petites quantités, car la synthèse de l'acide **87** nécessite quinze étapes.

Pour le premier essai, le DIC (**120**) a été utilisé avec HOBt comme agent « antiépimérisant » et avec trois équivalents de NMM en tant que base. La réaction se fait dans l'acétonitrile à température ambiante et la conversion est totale au bout de trois heures d'après le suivi par chromatographie sur couche mince. Après le traitement, le brut est purifié sur colonne de silice et le produit est isolé.

L'analyse du spectre de RMN ^1H montre la présence du produit de couplage accompagné de diisopropylurée, qui est le résidu issu de l'activation de l'acide par le DIC. Le DIU n'étant pas soluble dans l'éther et faiblement dans le dichlorométhane, le brut a été dissous dans un mélange de ces deux solvants afin de le faire précipiter. Après quelques jours au réfrigérateur, il y a précipitation du DIU qui est séparé par filtration, mais l'analyse des quelques milligrammes restant montre encore des traces de celui-ci. Ce lot ne peut être utilisé pour des essais biologiques.

Le couplage B passe par la formation d'un chlorure d'acyle. L'essai est réalisé sur 10 mg en utilisant du chlorure de thionyle dans du dichlorométhane distillé. Après une heure trente à reflux, tout l'acide est consommé, et le dérivé bromé **86** est ajouté avec de la NMM. Une fois la réaction traitée, il n'y a pas la formation du produit attendu, mais plutôt divers produits issus de la dégradation de l'acide **87**.

Ayant obtenu la molécule **6** avec le DIC comme agent de couplage, mais en mélange avec la DIU, nous avons voulu utiliser un autre carbodiimide dont le résidu serait soluble en phase aqueuse. Le couplage C est alors réalisé avec l'EDC (**121**) dans du THF avec de la *N*-méthylmorpholine et un léger excès de dérivé **86** (1.2 équivalent).

Malgré les conditions anhydres, il n'y a aucune conversion après 24h de réaction à température ambiante, 4h à reflux et l'ajout de 2 équivalents de base. La CCM montre seulement les deux réactifs de départ.

Le tableau 5 résume les essais effectués.

Conditions Essais	Agent de couplage	Quantité de Sulfonylhydrazide	Quantité d'acide	Base Solvant	Rendement Et Remarque
A	DIC / HOBt (1.2 éq.)	3 éq. (104 mg)	1 éq. (43 mg)	NMM (3 éq.) CH ₃ CN	Environ 12 mg de produit + DIU.
B	SOCl ₂ (1.05 éq.)	1.1 éq. (10.1 mg)	1 éq. (10 mg)	NMM (1.1 éq.) CH ₂ Cl ₂	Dégradation de l'acide
C	EDC (1.4 éq. / HOBt (1.7 éq.)	1.2 éq. (9 mg)	1 éq. (10 mg)	NMM (4.3 éq.) THF	Pas de réaction, l'acide ne réagit pas

Tableau 5 : Essais de couplage en vue de l'obtention de la molécule 6

Un dernier couplage a été effectué avec la DMTMM, mais dans des proportions différentes du premier couplage. En effet, 2.5 équivalents de dérivé bromé **86** ont été utilisés au lieu de 5 lors du premier essai et avec 4 équivalents de NMM au lieu de six. Les lavages se font avec de l'acide citrique 5% et du NaHCO₃ 5% au lieu de HCl 1N et NaHCO₃ saturée afin d'éviter de perdre du produit dans les phases aqueuses.

Le (*R*)-2-(2-(2-(4'-bromobiphényl-4-ylsulfonyl)hydrazinyl)-2-oxoéthyl)-4-méthyl-*N*-((*S*)-1-(méthylamino)-1-oxo-3-(2-phényl-1*H*-indol-3-yl)propan-2-yl)pentanamide (**6**) est finalement obtenu après purification par chromatographie sur colonne de silice avec un rendement de 35%.

Le spectre de RMN ¹H ne diffère pas énormément de celui de l'acide de départ entre δ 0 et 6 ppm, puisque les protons de cette région sont identiques.

Le multiplet de la chaîne *iso*-butyle observé entre δ 0.68 et 0.74 ppm, le signal du groupement méthyle de la fonction amide à δ 2.4 ppm et le CH α du tryptophane à δ 4.5 ppm montrent la présence de toutes les parties succinique et tryptophane.

La différence avec l'acide **87** se trouve dans la partie aromatique où l'intégration des signaux indique qu'il y a 17 protons aromatiques. Bien que certains signaux soient superposés, les signaux caractéristiques du groupement biphényle sont présents : quatre doublets intégrant pour deux protons chacun.

4.6 Essais de couplage selon la voie B

La stratégie B repose sur un couplage entre la fonction hydrazine du composé **88** et le chlorure de sulfonyle **83**. Par rapport à la stratégie A, cette voie ne nécessite pas d'agent de couplage, mais seulement une base et la synthèse des réactifs de départ est proche de celle de la voie A (Schéma 57).

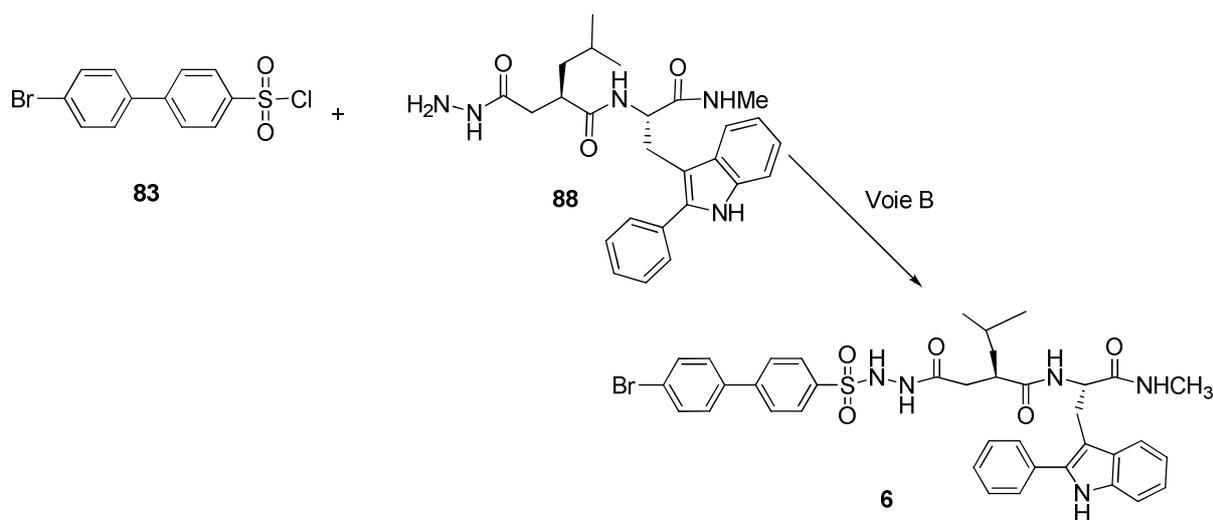


Schéma 57

Il est nécessaire de synthétiser le dérivé **88** avant de pouvoir le coupler à la molécule **83**. L'acide **87** est couplé au *tert*-butylcarbazate avec la DMTMM en utilisant la *N*-méthylmorpholine comme base dans du THF anhydre.

Ce couplage est efficace, mais il nécessite au moins deux équivalents de *tert*-butylcarbazate et autant de NMM. En effet, dans les conditions de départ, 1.1 équivalent de NMM et de *tert*-butylcarbazate sont utilisés or, après une nuit d'agitation à température ambiante, la conversion n'est pas totale. Il faut ajouter 0.8 équivalent de chaque réactif, puis agiter pendant quatre heures supplémentaires afin que tout l'acide de départ soit consommé (Schéma 58).

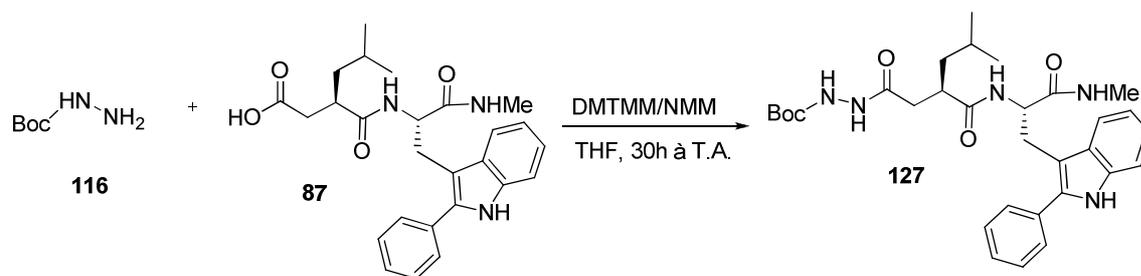


Schéma 58

Une fois la conversion totale, le solvant est évaporé et après purification, la molécule **127** est isolée avec un rendement de 85%.

Les signaux retrouvés sur le spectre de RMN ^1H sont les doublets de la chaîne *iso*-butyle, le multiplet du CH_α du tryptophane et le singulet du groupement Boc à δ 1.4 ppm. La partie aromatique présente neuf protons entre δ 7 et 7.6 ppm.

Le spectre de RMN ^{13}C comporte bien les trente et un atomes de carbone attendus et par rapport au spectre de l'acide **87**, le signal du Boc à 28.5 ppm est présent. Par ailleurs, les quatre carbonyles sont entre δ 158 et 177 ppm ainsi que les atomes de carbone du noyau indolique dont les déplacements chimiques sont caractéristiques et connus.

Le groupement Boc est ensuite clivé quantitativement dans une solution de dioxane/HCl (Schéma 59). Il est aussi possible d'utiliser un mélange TFA/ CH_2Cl_2 .

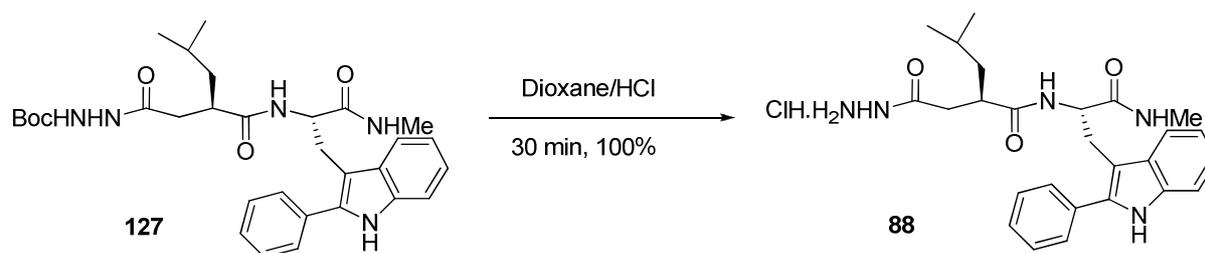


Schéma 59

Le composé **88** est isolé par filtration et son spectre de RMN ^1H montre la perte du groupement Boc par l'absence des signaux à δ 1.4 ppm et à δ 28 ppm sur le spectre de RMN ^{13}C .

Une fois la fonction hydrazide formée, elle peut réagir avec le chlorure de sulfonyle du dérivé bromé **83**.

Les différents essais ont été réalisés dans du THF avec de la triéthylamine ou de la pyridine (Schéma 60).

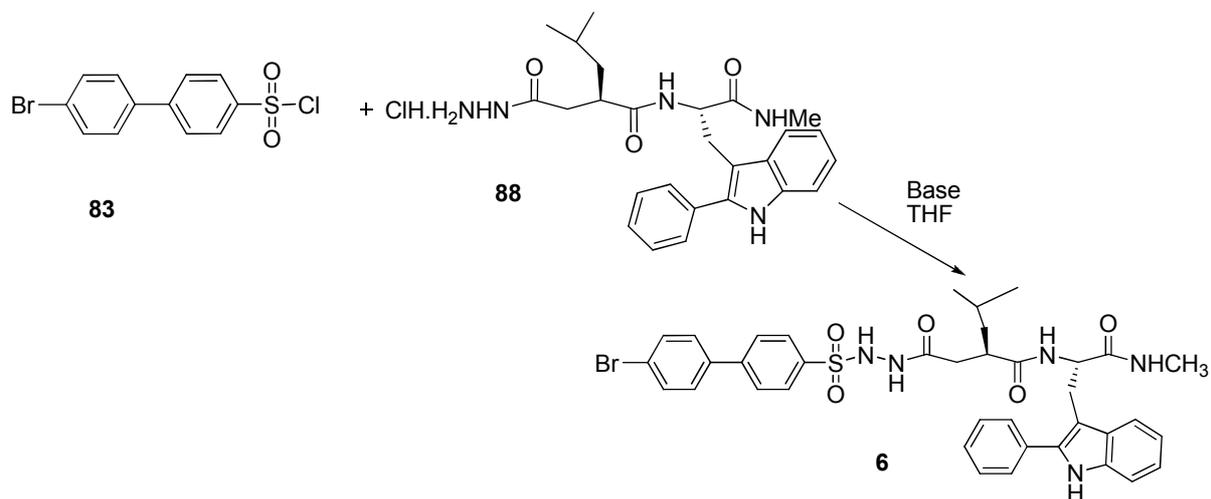


Schéma 60

Le premier essai a été réalisé avec de la triéthylamine (2.1 équivalents) et 1.5 équivalent de dérivé **83**. La réaction est agitée une nuit à température ambiante et six heures à reflux, puis le brut est purifié sur colonne de silice pour donner un produit dont le spectre ne présente pas suffisamment de protons aromatiques, mais dont le reste de la molécule semble correspondre aux parties succinique et tryptophane. Le couplage ne s'est pas effectué et le produit isolé n'est autre que le réactif de départ.

Lors d'un deuxième essai, 1.6 équivalent de triéthylamine a été employé pour la réaction de couplage avec le même nombre d'équivalent de composé **83** et après une nuit à reflux, 52% de réactif de départ **88** sont recouvrés. La molécule **6** attendue n'est pas isolée pour ce couplage.

La pyridine est utilisée comme base pour le troisième essai dans le THF anhydre. La solution est agitée 24h à température ambiante, puis portée à reflux pendant 24 heures.

Deux fractions sont isolées lors de la purification. Les spectres de RMN ^1H de ces deux fractions ne montrent pas les signaux attendus, surtout dans la partie aromatique où l'intégration ne donne pas les 17 protons désirés. La première fraction ressemble à du réactif de départ alors que la seconde est plutôt un produit de dégradation de la partie succinique provenant du reflux prolongé.

Le dernier essai est effectué sur 116 mg de produit **88** avec 2.2 équivalents de triéthylamine. Trois fractions sont isolées en assez petite quantité (entre 6 et 19 mg) : la première contient 11 mg d'un produit dont le spectre de RMN ^1H ne montre pas le $\text{CH}\alpha$ du tryptophane, ni les doublets du groupement biphényle. La deuxième fraction séparée contient 19 mg et le spectre de RMN proton est identique à celui du produit de départ. La troisième fraction contient 6 mg d'un produit non identifié. Aucune des fractions ne présente les signaux correspondant au produit attendu.

Cette stratégie qui semblait tout aussi directe que la première n'a pas permis d'isoler le produit attendu bien que les réactions paraissaient faciles à mettre en œuvre et que toutes les précautions aient été prises (solvant anhydre, triéthylamine distillée, *etc...*).

4.7 Essais de couplage selon la voie C

La voie C est la dernière qui ait été essayée en vue de l'obtention de la molécule cible **6**. Cette stratégie commence par la formation de la fonction sulfonylhydrazide et se termine par la formation d'une liaison peptidique avec le dérivé du tryptophane (**85**) (Schéma 61).

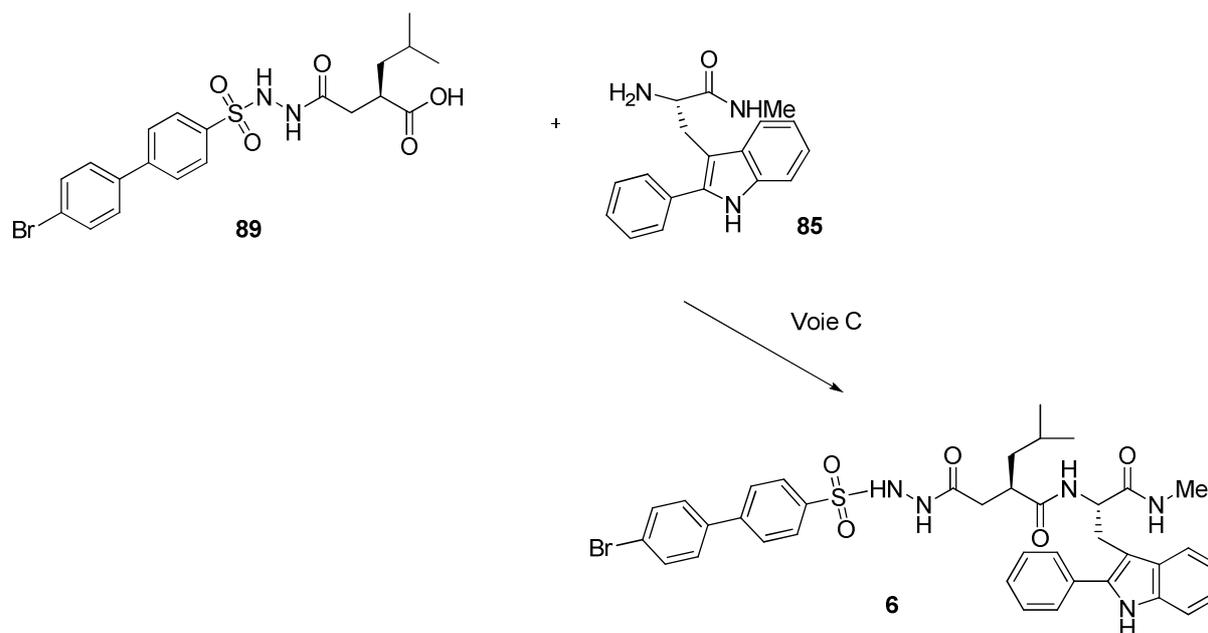


Schéma 61

La première étape correspond à un couplage peptidique entre la 4-bromobiphénylsulfonylhydrazine **86** et l'acide (*R*)-3-((*S*)-4-benzyl-2-oxooxazolidine-3-carbonyl)-5-méthylhexanoïque (**109**). Quatre méthodes de couplage ont été testées à commencer par celle utilisant la DMTMM, dont la mise en œuvre est aisée. Ce couplage a été effectué dans le THF anhydre, avec trois équivalents de NMM afin de neutraliser l'acide chlorhydrique libéré lors du couplage ainsi que le dérivé **86** (1.2 équivalent) qui est sous forme de chlorhydrate en présence de 1.2 équivalent de DMTMM (Schéma 62).

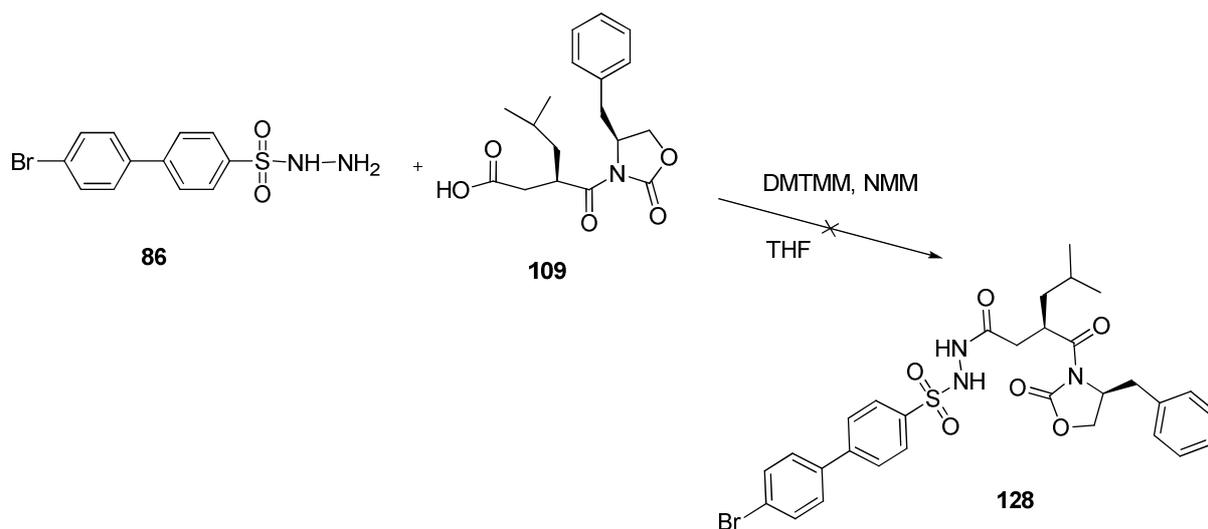


Schéma 62

Après 24h de réaction à température ambiante, un traitement comprenant des lavages acides et basiques, le brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice. Les fractions isolées montrent la présence de deux produits dont le Rf est très proche. Ces derniers sont difficilement séparables même après trois colonnes de chromatographie.

Finalement, après avoir réalisé un autre essai avec les mêmes proportions, les deux taches sont isolées ensemble afin d'être purifiées par CLHP. Les deux produits sont séparés et caractérisés par RMN. Le premier produit montre qu'il s'agit du produit issu du couplage et le second est un produit inattendu dont la structure ressemble à celle d'une tétrahydropyridazine-3,6-dione (Schéma 63).

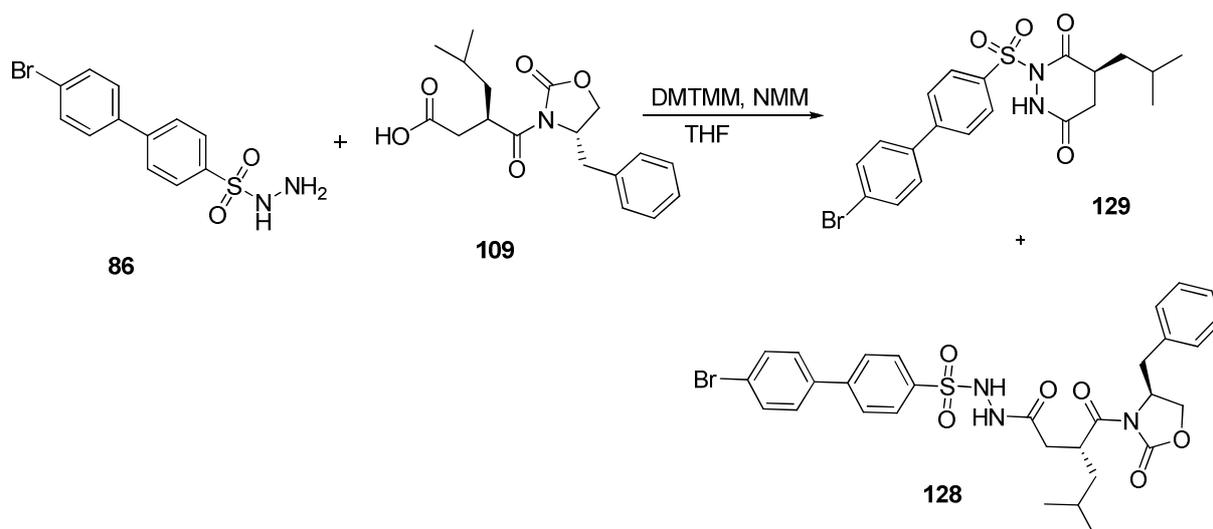


Schéma 63

Le produit le moins polaire est le composé **128**. Son spectre de RMN ¹H présente pour sa partie aromatique, en plus des cinq protons aromatiques de l'auxiliaire chiral, quatre doublets intégrant pour deux protons entre δ 7.2 et δ 7.9 ppm ($J= 8.5$ Hz) caractéristiques du groupement biphenyle. Un des NH forment un doublet 8 ppm ($J= 5.4$ Hz) indiquant que le couplage a bien eu lieu sur l'amine primaire de l'hydrazine.

Les doublets de la chaîne *iso*-butyle sont présents à δ 0.75 et 0.77 ppm au lieu du multiplet à δ 0.93 ppm pour l'acide de départ. Ce décalage vers le champ fort indique qu'il y a eu un changement de l'environnement des méthyles, ce qui peut être expliqué par la formation de la liaison sulfonylhydrazide.

Enfin, le signal du CH α de l'auxiliaire chiral se retrouve à δ 4.64 ppm et celui du CH₂-O sous forme d'un doublet à δ 4.16 ppm ($J= 4.2$ Hz) intégrant pour deux protons.

Sur le spectre de RMN ¹³C, le déplacement chimique des atomes de carbone de la copule d'Evans et de la partie succinique restent invariants. En revanche, celui de l'acide carboxylique passe de δ 176 à 169 ppm, indiquant la présence de la fonction sulfonylhydrazide. Par ailleurs, les atomes de carbone du groupement biphenyle sont entre δ 122 et 128 ppm. La molécule **128** est isolée lors du couplage entre l'acide **109** et le dérivé bromé **86**.

Pour la seconde molécule, les analyses de RMN 1D et 2D et de spectrométrie de masse ont permis d'élucider la structure.

La première chose remarquable dans le spectre de RMN ^1H du second composé est l'absence de tous les signaux de l'auxiliaire d'Evans. Les cinq protons aromatiques, le $\text{CH}\alpha$ et les deux CH_2 ne sont pas présents. Les doublets du groupement biphényle sont présents entre δ 7.4 et δ 8.1 ppm ($J= 8.5$ Hz) indiquant la présence de la fonction sulfonylhydrazide. Par ailleurs, le Rf de ce produit est bien plus grand que celui du dérivé bromé **86** de départ, ce n'est pas celui-ci.

La partie du spectre de RMN ^1H du second produit entre δ 1 et 3 ppm est la plus caractéristique, puisque l'on retrouve tous les signaux de la partie succinique. Les doublets des méthyles de la chaîne *iso*-butyle se retrouvent à δ 0.90 et 0.94 ppm ($J= 6.3$ Hz) et par le spectre RMN COSY le CH et le CH_2 de cette chaîne sont observés sous forme de multiplets à δ 1.4 et δ 1.7 ppm, respectivement. La tache de corrélation entre les méthyles et le CH montre que ce dernier est présent dans le multiplet à δ 1.7 ppm. L'analyse du spectre HSQC permet de montrer que les protons du CH_2 sont présents dans les deux multiplets et ne sont pas équivalents. Enfin, deux signaux supplémentaires sont présents sur le spectre de RMN proton. Ces derniers présentent une corrélation en COSY et ils sont attribués au CH au pied de la chaîne *iso*-butyle et au CH_2 en α de cette chaîne.

Nous pouvons constater que les parties succinique et biphénylsulfonylhydrazide sont présentes en RMN, mais pas celle de l'auxiliaire chiral. Il semble donc que le couplage entre l'acide carboxylique du composé **109** et le dérivé **86** se soit effectué, mais que les conditions opératoires aient aussi permis de cliver la copule d'Evans.

Le spectre de masse (ionisation par impact électronique) montre un ion à m/z 464 avec ses isotopes indiquant la présence du brome. La masse molaire de la molécule **128** sans l'auxiliaire chiral, mais possédant un acide carboxylique à la place est de 482.

Il semble donc que la molécule obtenue ait perdu une molécule d'eau et il est probable que cela soit dû à une cyclisation intramoléculaire de l'atome d'azote près du sulfonyle sur le carbonyle portant l'auxiliaire chiral.

Dans ce cas, le spectre de masse correspond et la RMN ^{13}C aussi, puisque les vingt atomes de carbone sont présents et parmi ceux-ci, les deux carbonyles possèdent des déplacements chimiques à δ 172 et 176 ppm, respectivement, indiquant que ce sont des carbonyles de fonction amide.

Ces éléments semblent favorables à la structure d'une tétrahydropyridazine-3,6-dione.

Voulant obtenir la molécule cible **6**, les quelques milligrammes de produit de couplage **128** récupérés ont été mis en réaction avec du peroxyde d'hydrogène et de l'hydroxyde de lithium afin de cliver la copule d'Evans. Les conditions opératoires sont identiques à celles qui avaient été utilisées pour cliver cet auxiliaire lors de la synthèse de l'acide succinique **84a**. Le produit obtenu dans ces conditions n'est pas l'acide carboxylique **89** attendu, mais plutôt un mélange entre l'auxiliaire d'Evans et la molécule **129** isolée lors du premier couplage. Il semble donc qu'en milieu basique, la copule puisse être clivée par une réaction de cyclisation intramoléculaire comme observé lors du couplage avec la DMTMM.

Pour vérifier cette hypothèse, le produit linéaire **128** est mis en réaction avec deux équivalents de triéthylamine dans du dichlorométhane. Effectivement, après une heure de réaction, le réactif disparaît pour former la molécule **129** et libérer l'auxiliaire chirale **104** (Schéma 64).

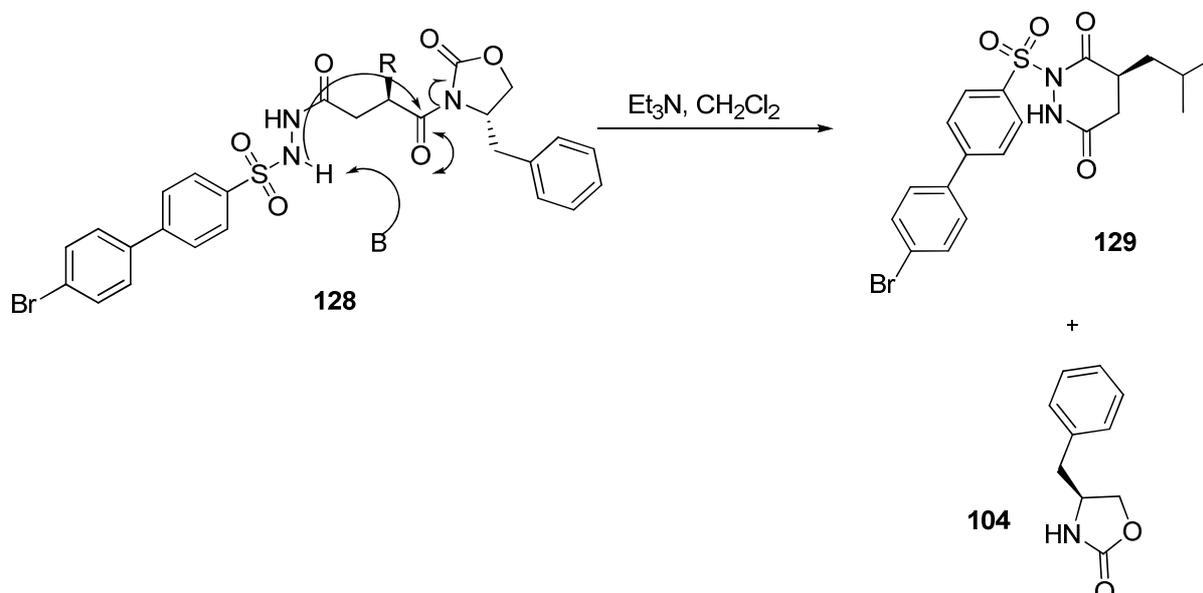


Schéma 64

Lors du couplage entre l'acide **109** et la bromobiphénylesulfonylhydrazine **86**, la liaison sulfonylhydrazide est formée et il s'en suit une cyclisation intramoléculaire qui libère l'auxiliaire **104**.

Un essai a été réalisé avec le DCC et la NMM dans du dichlorométhane distillé. La réaction est agitée deux heures et après purification par colonne de silice, seul le composé **86** est récupéré avec du DCU, mais aucun produit de couplage n'est isolé ni issu d'une cyclisation intramoléculaire.

Deux autres couplages ont été réalisés en passant cette fois par la formation d'un chlorure d'acyle. Le chlorure d'oxalyle a été utilisé en premier, puis le chlorure de thionyle dans le second essai. Dans les deux cas, la RMN ¹H du brut ne montre aucun produit issu du couplage et dans ces conditions, le chlorure d'acyle ne se forme que partiellement ou est dégradé si les conditions sont trop fortes (SOCl₂ à reflux).

Le couplage direct entre l'acide **109** et le 4-bromobiphénylesulfonylhydrazine **86** ne permet pas d'accéder au produit désiré **128** avec un bon rendement. De plus, l'étape suivante de clivage conduit à la formation de composé **129** et non de l'acide carboxylique **89**.

Cette stratégie a finalement ouvert la voie à une nouvelle réaction, mais n'a pas permis d'obtenir la molécule **89** permettant de poursuivre la synthèse.

Toutefois, la formation d'une tétrahydropyridazine-3,6-dione énantiomériquement pure par libération d'un auxiliaire chiral est une réaction nouvelle. Cette réaction a été exploitée en faisant varier les sulfonylhydrazines et l'acide de départ afin de voir si le composé cyclique se forme.

4.8 Synthèse des tétrahydropyridazine-3,6-diones

La réaction entre le composé **86** et l'acide **109** a conduit à la formation de la molécule **129** dans des conditions de couplage impliquant la DMTMM. A la place du composé **86**, deux essais ont été réalisés avec la mésylhydrazine **17** et la tosylhydrazine **39**. La tosylhydrazine est commerciale, en revanche il est nécessaire de synthétiser la mésylhydrazine. Pour ce faire, une stratégie identique à celle de la synthèse de **86** est utilisée.

Le chlorure de mésyle **16** est ajouté à une solution de *tert*-butylcarbazate **116** dans l'éther avec 1.1 équivalent de triéthylamine. Le produit obtenu après filtration des cristaux est directement mis dans un mélange dichlorométhane/méthanol et une solution d'éther chlorhydrique est ajoutée afin de cliver le groupement Boc (Schéma 65).

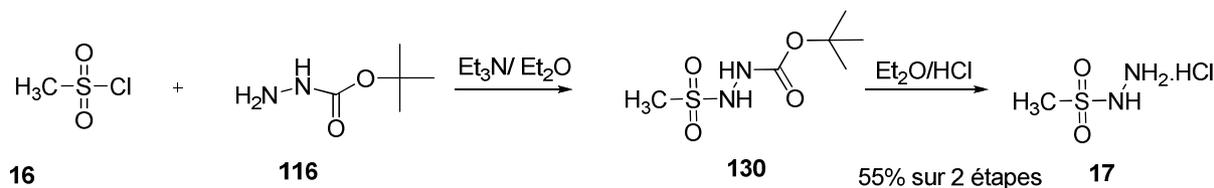


Schéma 65

Le spectre de RMN ^1H du composé **130** présente deux singulets à δ 1.4 ppm et δ 3.9 ppm correspondant aux signaux des groupements *tert*-butoxy et méthyle, respectivement. Le singulet du méthyle sur le spectre de RMN ^1H du composé **17** se trouve à 3.3 ppm et le signal du *tert*-butoxy disparaît indiquant que le clivage en milieu acide s'est bien effectué.

Le couplage de l'acide **109** avec la mésylhydrazine **17**, conduit à la formation du composé **132** et l'auxiliaire chiral **104** est récupéré (Schéma 66).

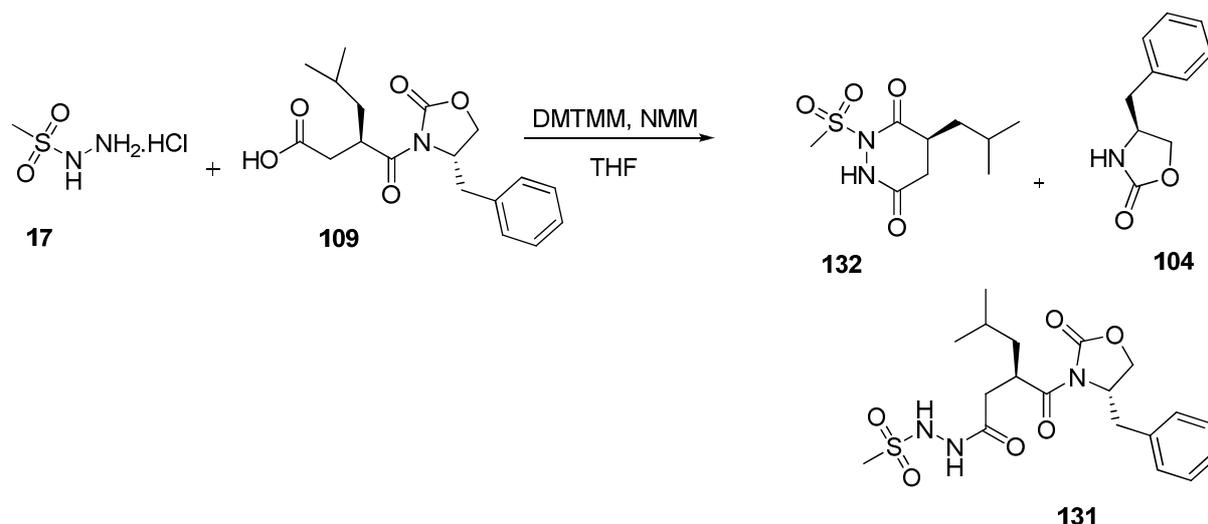


Schéma 66

Le composé **132** est isolé avec 17% de rendement. Une polarité similaire entre les deux produits de la réaction et le manque de chromophore en UV rendent la séparation difficile d'avec l'auxiliaire chiral **104**. La conversion n'est pas totale pour cette réaction et parmi les fractions isolées, du produit linéaire **131** est observé à l'état de trace. La faible quantité isolée permet malgré tout de caractériser le composé **132**.

Sur le spectre de RMN ^1H du composé **132**, le signal du méthyle est observé par un singulet à δ 3.2 ppm indiquant la présence du groupement mésyle. Le spectre de masse présente un ion à m/z 248.1 correspondant à l'ion moléculaire et l'on retrouve le fragment sans le groupement mésyle est à m/z 169.1.

Le couplage entre l'acide **109** et la tosylhydrazine **39** conduit aussi à la formation de la molécule cyclique **133**. La DMTMM est utilisée (1.2 équivalent) avec un excès de NMM comme base dans du THF anhydre (Schéma 67).

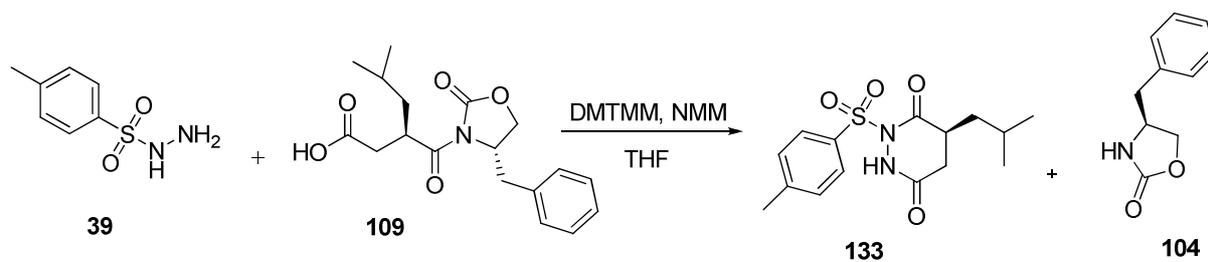


Schéma 67

L'auxiliaire chiral **104** est difficilement séparable de la molécule **133**. En effet, la différence de polarité entre ces deux produits est très faible. Toutefois, une cristallisation dans un mélange dichlorométhane/éther de pétrole permet, après purification sur colonne de silice, d'obtenir le composé **133** et de le caractériser. Le composé **133** est donc obtenu avec 27% de rendement. La conversion n'est pas totale dans ce couplage même après 24 heures de réaction.

Le spectre de masse du produit **133** indique un ion à m/z 324.1 correspondant à l'ion moléculaire. Un fragment correspondant à la perte du groupement tosyle à m/z 154.9 est aussi observé sur ce spectre. L'analyse du spectre de RMN ^1H montre les doublets des deux groupements méthyles de la chaîne *iso*-butyle à δ 0.91 et 0.96 ppm ($J= 6.3$ Hz) et les multiplets des CH et CH₂ au pied de cette chaîne. Le singulet du méthyle du groupement tosyle est observé à δ 2.4 ppm et les deux doublets du noyau aromatique sont observés à δ 7.3 et 7.8 ppm, respectivement ($J= 8.2$ Hz).

Le spectre de RMN ^{13}C présente deux atomes de carbone quaternaires à δ 171.9 et 175.6 ppm correspondant aux deux carbonyles du composé **133**. Le signal du méthyle se trouve à δ 21.7 ppm confirmant la structure du produit obtenu.

Les couplages entre l'acide **109** et les composés **86**, **17** et **39** permettent de synthétiser les molécules **129**, **132** et **133**, respectivement. Les faibles rendements s'expliquent par la conversion qui n'est pas totale et par la formation de produits linéaires comme les composés **128** et **131** en faible quantité.

L'acide **109** possède une chaîne *iso*-butyle et dans le but d'explorer un peu plus cette réaction de cyclisation, l'acide **135** a été synthétisé. Cet acide est issu de l'ouverture de l'anhydride succinique **134** par l'auxiliaire chiral **104** (Schéma 68).

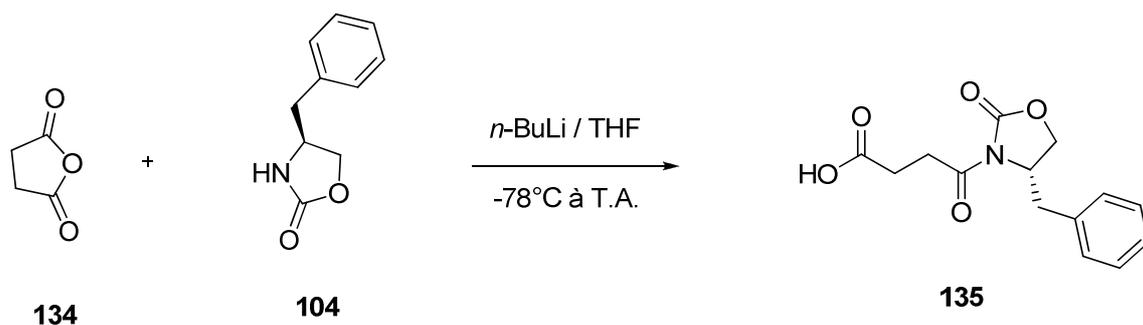


Schéma 68

L'anhydride succinique **134** est commercial et son ouverture se fait avec une base forte à -78°C. Le composé **135** est obtenu avec 60% de rendement.

Le spectre de RMN ^1H du produit **135** possède cinq protons aromatiques caractéristiques de l'auxiliaire chiral ainsi que le signal du CH_2 en α de l'acide carboxylique montrant que le couplage s'est produit. Le spectre de masse indique un ion qui correspond à l'ion moléculaire à m/z 277.1.

Le couplage de l'acide **135** avec la tosylhydrazine **39** est réalisé avec la DMTMM dans le THF. Bien que la conversion ne soit pas totale, la formation d'un pipérazinedione n'est pas observée, en revanche il se forme le produit de couplage linéaire **136** (Schéma 69).

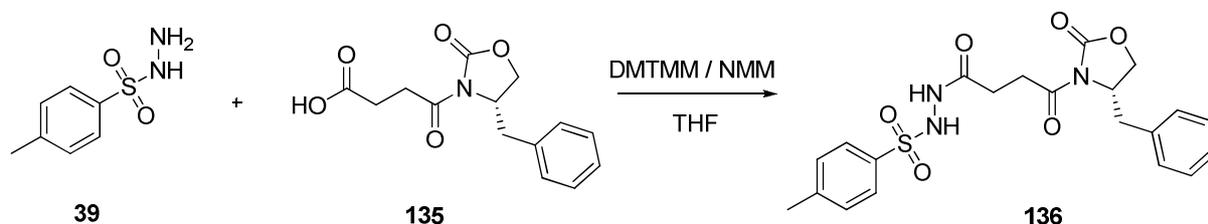


Schéma 69

Le composé **136** est isolé avec 19% de rendement. Le spectre de RMN ^1H de celui-ci présente les cinq protons aromatiques de l'auxiliaire chiral sous forme d'un multiplet ainsi que le singulet du méthyle du groupement tosylo à δ 2.3 ppm.

Le multiplet du CH en α de l'atome d'azote de l'auxiliaire chiral se trouve à δ 4.6 ppm. Le spectre HSQC indique, entre autre, une corrélation entre les deux signaux des CH de la partie succinique permettant de confirmer la structure du composé **136**.

L'analyse du spectre de masse n'indique pas d'ion moléculaire, mais deux ions à m/z 268 et 155 correspondant aux fragments d'un produit sans l'auxiliaire chiral et du groupement tosyle, respectivement.

Il est à noter que la présence d'un groupement donneur en α du carbonyle de la *N*-acyloxazolidinone semble être un facteur important pour la cyclisation intramoléculaire. Cela serait intéressant d'approfondir ou de vérifier l'effet de ces groupements.

Un couplage du composé **135** a été effectué avec la 4-bromobiphénylsulfonylhydrazine **86**, mais aucun produit n'a été isolé et pour le composé **131**, le couplage n'a pas été essayé, car aucun chromophore visible à l'UV ne se formerait et la séparation serait trop complexe.

Ces réactions de cyclisation intramoléculaire permettent de générer en une seule étape des pipérazinediones énantiomériquement pures. Bien que les rendements soient faibles pour le moment, il devrait être possible d'optimiser cette réaction et l'étendre à d'autres acides. Cette partie n'a pu être développée davantage faute de temps.

5 Evaluation Biologique

L'activité inhibitrice de la molécule cible (**6**) a été évaluée sur différentes MMP et comparée à celle de composés antérieurement préparés au Laboratoire. Les résultats sont représentés dans le tableau 6.

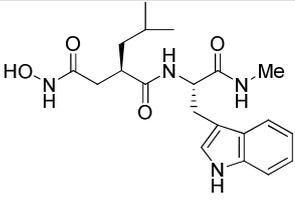
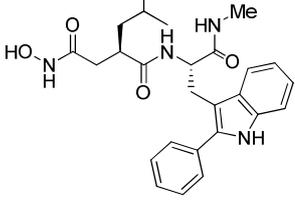
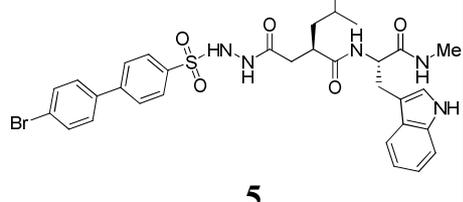
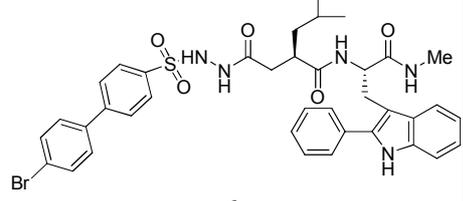
	MMP-1 (IC ₅₀ nM)	MMP-2 (IC ₅₀ nM)	MMP-3 (IC ₅₀ nM)	MMP-9 (IC ₅₀ nM)	MMP-14 (IC ₅₀ nM)
 <p style="text-align: center;">1</p>	0.4	0.4	26	0.6	5.2
 <p style="text-align: center;">4</p>	0.244	0.092	-	-	0.601
 <p style="text-align: center;">5</p>	30	98	5800	3	20000
 <p style="text-align: center;">6</p>	350	247	53	18	1237

Tableau 6 : Activité inhibitrice de 1, 4, 5 et 6 sur les MMP -1, -2, -3, -9 et -14

Les résultats biologiques montrent que l'association du groupement phényle en position 2 de l'indole avec le groupement sulfonylhydrazide n'a pas amélioré l'activité inhibitrice de la molécule. Lorsque l'activité inhibitrice de la molécule **6** est comparée à celle de la galardine® **1**, il y a une perte d'activité vis-à-vis des gélatinases de l'ordre d'un log pour la MMP-9 et de deux log pour la MMP-2.

Le remplacement de la fonction acide hydroxamique par une fonction sulfonylhydrazide a permis de conserver une certaine sélectivité vis-à-vis de la MMP-9. Toutefois, au vu des résultats biologiques obtenus pour les molécules possédant la fonction sulfonylhydrazide comme ZBG (Zinc Binding Group), il est clair que cette dernière est responsable de la baisse d'activité vis-à-vis des MMP. Cependant, la molécule possède toujours une activité de l'ordre du nanomolaire ce qui laisse à penser qu'il y a une ou plusieurs interactions avec le site actif de ces enzymes.

Ces interactions peuvent être liées au zinc, mais aussi aux différentes poches qui constituent la protéine. Ainsi, la sélectivité vis-à-vis de la MMP-9 peut être due à des interactions entre la fonction sulfonylhydrazide, notamment le 4-bromobiphénylesulfonylhydrazide et une poche particulière de cette MMP (S_2) et pas forcément due à la chélation du zinc. Cela expliquerait la perte d'activité par rapport à l'acide hydroxamique. Ce dernier étant connu pour chélater des nombreux métaux dont le zinc.

L'association de deux effets bénéfiques observés lors de la synthèse d'inhibiteurs de MMP ne donne pas forcément une molécule qui a une meilleure activité que les précédentes. La synthèse qui a été réalisée le démontre bien, puisque l'activité de la molécule **6** n'est finalement pas celle escomptée. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication⁵⁰.

6 Etude théorique de la fonction sulfonylhydrazide et de son mode de chélation avec l'ion Zn^{2+}

L'introduction d'une fonction sulfonylhydrazide a conduit à des composés inhibant les MMP. Cependant, l'inhibition de l'enzyme ne signifie pas nécessairement que la molécule inhibitrice soit aussi un chélateur puissant du zinc. Expérimentalement, les sulfonylhydrazides sont des molécules peu solubles dans l'eau aux concentrations nécessaires pour évaluer leur activité chélatrice.

Nous avons mené une étude théorique sur une série de sulfonylhydrazides pour évaluer les propriétés chélatrices du zinc de nos molécules. Il s'agit d'utiliser une méthode de chimie quantique permettant de prévoir le mode de chélation de cette fonction. L'acide hydroxamique a été choisi comme référence.

Cette étude a été menée en collaboration avec le Pr. Frédéric Bohr, du Laboratoire LACM-DTI (URCA) à Reims. L'Université de Reims Champagne Ardenne a acquis en 2002 un ordinateur appelé ROMEO. C'est avec ce ordinateur que nous avons effectué les premiers calculs d'optimisation de géométrie pour des molécules contenant la fonction sulfonylhydrazide. Puis, en novembre 2006 un nouveau superordinateur plus puissant que le premier a été installé. Il s'agit de ROMEO2. Grâce à celui-ci, nous avons pu envisager des calculs sur des systèmes plus complexes avec beaucoup plus d'électrons dans un temps raisonnable.

La méthode DFT (density functional theory) a été utilisée tout au long de cette étude, car à ce niveau de théorie, il a été possible de retrouver des résultats obtenus expérimentalement dans un temps de calcul acceptable. Le potentiel d'échange-corrélation utilisé est le potentiel hybride B3LYP⁵¹.

Par ailleurs, les bases d'orbitales atomiques utilisées pour cette étude sont : 6-31G** pour tous les atomes sauf pour le brome et le zinc où une base plus particulière a été utilisée : LANL2DZ⁵²⁻⁵⁴. Cette dernière inclut des pseudo-potentiels pour représenter les électrons de cœur des atomes lourds, ce qui réduit la taille du calcul (nombre d'électrons explicitement traités).

6.1 Les groupements sulfonylhydrazides seuls

6.1.1 Géométrie des sulfonylhydrazides simples

Dans un premier temps, une série de sulfonylhydrazides a été sélectionnée afin d'observer l'influence des groupements alkyles et aryles sur les propriétés chélatrices du zinc. Nous avons considéré que le substituant du carbonyle n'avait pas d'importance sur la chélation et nous avons placé un méthyle pour toute la série à la place de la chaîne alkyle (Tableau 7).

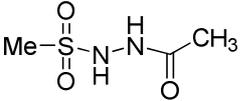
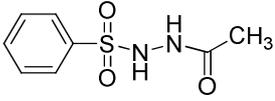
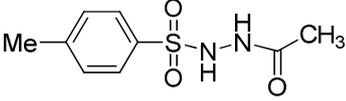
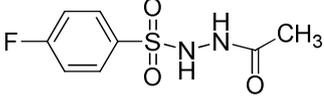
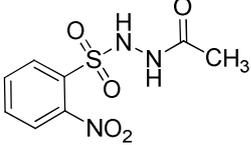
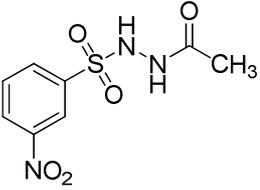
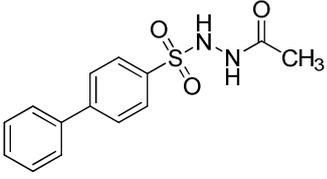
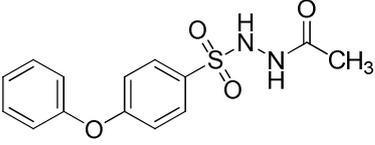
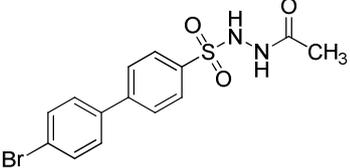
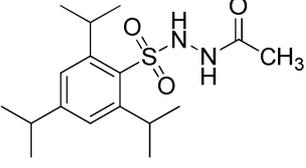
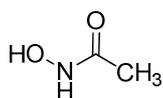
 137	 138
 139	 140
 141	 142
 143	 144
 145	 146

Tableau 7 : Structure de molécules étudiées pour les calculs quantiques

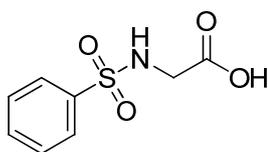
Avant de placer l'atome de zinc et de minimiser l'énergie dans le but de voir le ou les modes de chélation, il est nécessaire d'optimiser les molécules seules pour pouvoir comparer les variations d'énergie avec les molécules chélatées.

Le choix des groupements méthyle, phényle, 4-fluorophényle, *etc...* repose sur les travaux antérieurs du Laboratoire où ces derniers ont été utilisés comme ZBG sur des dérivés de l'Ilomastat et dont les activités biologiques sont connues sur certaines MMP.

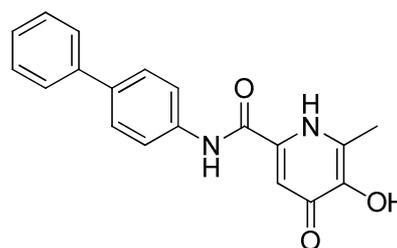
Par ailleurs, dans le but de valider le niveau de calcul, puis de vérifier leur cohérence avec les observations expérimentales, d'autres molécules ont été incluses dans la série. L'acide hydroxamique (**147**) est un groupement chélateur de zinc connu et son mode de chélation a déjà été étudié expérimentalement⁵⁵. Les composés **148** et **149** ont été publiés comme des molécules pouvant chélater le zinc et notamment le composé **149** qui a fait l'objet d'études de docking en parallèle avec des essais biologiques. Si l'on retrouve le même mode de chélation il sera possible de valider notre niveau de calcul⁵⁶.



147



148



149

Bien qu'il existe des données sur les molécules **148** et **149**, l'acide hydroxamique **147** est celui qui a été le plus rapporté comme ZBG et pour lequel la littérature contient beaucoup de données expérimentales⁵⁵.

En effet, il existe principalement des données de rayons X sur le mode de chélation de l'acide hydroxamique au zinc dans le site actif des MMP. Cela permet de comparer la géométrie obtenue par calcul à celle obtenue par cristallisation. Nous aborderons la chélation dans la partie suivante.

L'optimisation des molécules présentées dans le tableau 7 a été réalisée en utilisant le logiciel « GAUSSIAN 03 ». Chaque structure a été optimisée, puis un calcul de fréquence a permis de vérifier que chaque géométrie finale était un minimum. C'est le cas si aucune fréquence imaginaire n'existe pour la géométrie trouvée.

Les calculs d'optimisation présentés ici n'ont pas pour but d'explorer l'ensemble de la surface d'énergie potentielle, car le nombre de minimum d'énergie est très important, vu le grand nombre de degrés de liberté. Toutefois, au niveau de calcul choisi, deux minima ont été trouvés pour la plupart des sulfonylhydrazides :

-Le premier est une géométrie dont l'angle dièdre CNNS est compris entre -103.5 et -106.9° et celui de HNNH entre -73.7 et -76.2° . Cette géométrie sera appelée *cis* de par la position des atomes d'hydrogène des deux atomes d'azote.

-Le deuxième est une géométrie dont l'angle dièdre CNNS est compris entre -92.8 et -102.8° et celui de HNNH entre -133.7 et -160.4° . Cette géométrie sera appelée *trans* (Image 1).

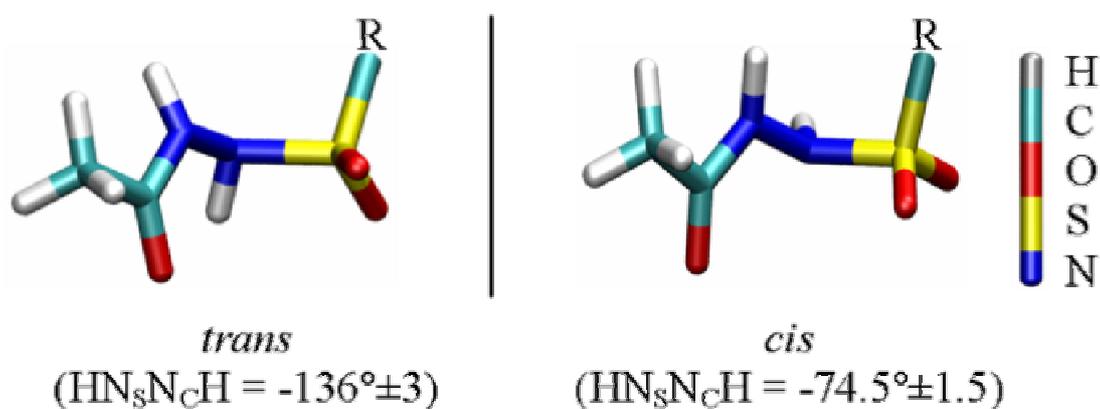


Image 1

L'exemple représenté sur l'image 1 montre la fonction sulfonylhydrazide dans les formes *cis* et *trans*. Dans les deux cas, c'est l'hydrogène de l'atome d'azote proche du groupement SO_2 qui subit une inversion.

Par ailleurs, il est important de noter que ces deux minima n'ont pas été observés pour toute la série. En effet, pour les composés **137**, **141** et **142**, seules les géométries *trans* ont été obtenues en partant pourtant de la même géométrie *cis*. La géométrie *trans* est plus stable d'environ 5.2 kcal/mol que la géométrie *cis*, et il est possible que pour ces trois molécules, à ce niveau de calcul, la conformation *cis* ne soit pas un minimum local. Les différences d'énergie entre les deux géométries permettent d'identifier la géométrie la plus stable. Cette différence d'énergie est notée ΔE (Tableau 8).

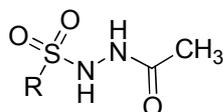
Composés  R=	ΔE trans/cis (kcal/mol)
Me (137)	/
C ₆ H ₅ - (138)	5.2
Me-C ₆ H ₄ - (139)	5.1
F-C ₆ H ₄ - (140)	5.4
<i>o</i> NO ₂ -C ₆ H ₄ - (141)	/
<i>m</i> NO ₂ -C ₆ H ₄ - (142)	/
C ₆ H ₅ -C ₆ H ₄ - (143)	5.2
C ₆ H ₅ -O-C ₆ H ₄ - (144)	5.2
Br-C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ - (145)	5.4

Tableau 8 : Différence entre l'énergie des géométries *cis* et *trans* des composés 137-145

L'acide hydroxamique **147** a aussi été optimisé et la géométrie la plus stable obtenue est celle où l'atome d'hydrogène du OH forme une liaison hydrogène stabilisante avec le carbonyle. (Image 2).

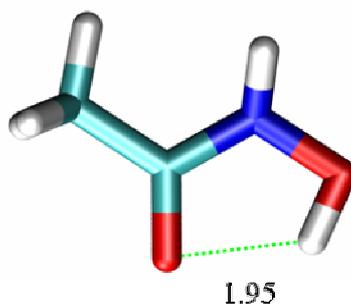


Image 2

6.1.2 Les sulfonylhydrazides N_1 -déprotonnés

En plus de l'optimisation réalisée sur les molécules simples, l'hydrogène de l'atome d'azote proche du SO_2 a été enlevé sur certaines molécules afin de représenter un anion. L'étude des anions provient du fait que dans le site actif des MMP, le pH est tel que certaines fonctions sont sous forme anionique et notamment l'acide hydroxamique. Des modifications ont été apportées au fichier de départ, car la charge globale n'est plus neutre, mais -1. Pour le reste, les coordonnées cartésiennes de la dernière géométrie sont utilisées.

Au vu des résultats de ΔE obtenus ci-dessus et des géométries observées pour chaque sulfonylhydrazides, il n'est pas aberrant de penser que le comportement théorique de chaque molécule est assez similaire. En effet, les différences de conformation entre le composé avec un groupement méthyle en position para du phényle ou un atome de fluor ou même un atome d'hydrogène sont très faibles. En conséquence, dans l'étude des formes anioniques, seules cinq sulfonylhydrazides ont été optimisés :

- Le mésyle **137**, comme représentant des alkylsulfonylhydrazides.
- Le phénylsulfonylhydrazide **138** représente les arylsulfonylhydrazides car il se comporte comme les composés **139**, **140**, **143** et **145**.
- Les composés **141** et **142**, la présence du groupement NO_2 ayant montré une influence particulière sur la chélation.
- La molécule **144** possède un oxygène à caractère mésomère donneur qui peut influencer la répartition électronique.

Par ailleurs, l'acide hydroxamique est aussi optimisé sous sa forme anionique au niveau de la fonction hydroxyle.

Le fait d'avoir des données théoriques sur les anions permet de mieux expliquer les modes de chélation en fonction du milieu dans lequel va se trouver la molécule. Il est essentiel d'avoir l'énergie de l'anion seul afin de calculer des variations d'énergie.

La géométrie change légèrement, mais la molécule seule ne possède d'intérêt que lorsqu'elle est comparée avec son pendant chélaté. Dans le but de rester cohérent avec les images représentées auparavant, l'anion issu du phénylsulfonylhydrazide **138** est représenté ci-après (Image 3).

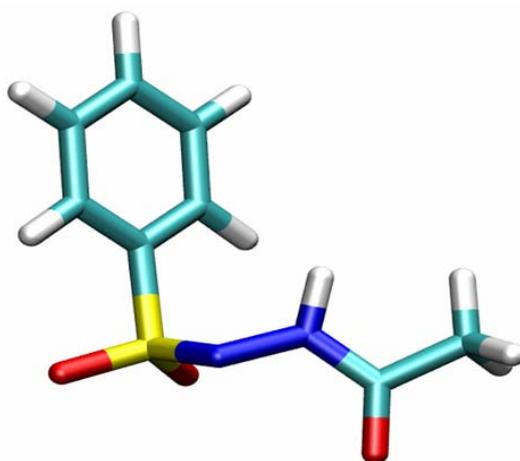


Image 3

6.2 Les modes de chélation des sulfonylhydrazides au zinc

6.2.1 Les sulfonylhydrazides simples

Ayant obtenu les géométries des sulfonylhydrazides, un ion Zn^{2+} a été ajouté et placé à une distance proche des atomes d'oxygène des fonctions sulfonyle et carbonyle et de l'atome d'azote proche du sulfonyle.

La géométrie de départ est essentielle, puisqu'elle oriente le calcul vers un minimum sur la surface d'énergie potentielle. Dans le but de rechercher d'autres minima, plusieurs géométries de départ ont été testées et deux minima ont été trouvés pour chacune des molécules, ce qui correspond à deux types de chélation.

Le premier mode correspond à une chélation du zinc avec les deux atomes d'oxygène et l'atome d'azote en α du sulfonyle, appelé le mode « **Tridentate** ». Le deuxième correspond à une chélation avec l'atome d'azote proche du sulfonyle et l'atome d'oxygène du carbonyle avec une participation de groupement aryle. Ce sera le mode « **Bidentate** » (Image 4).

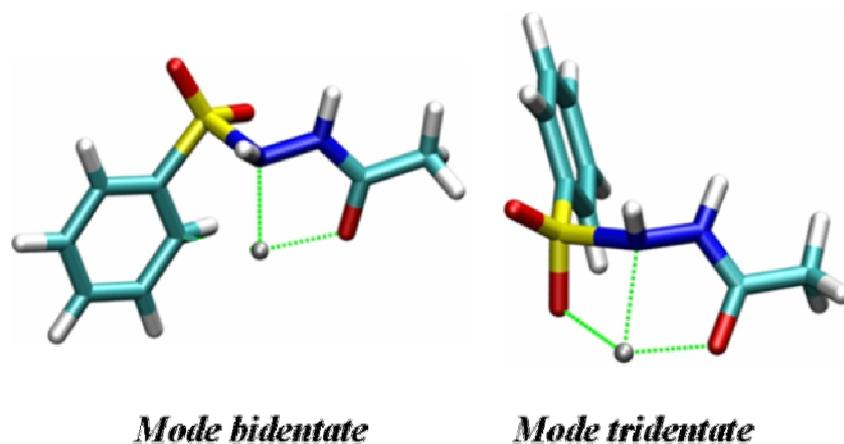


Image 4

Dans le cas du composé **141**, la proximité du groupement NO₂ en position ortho conduit à une chélation en plus par l'atome d'oxygène et il n'existe pas de forme bidentate pour ce composé, mais plutôt une forme tétradentate (Image 5).

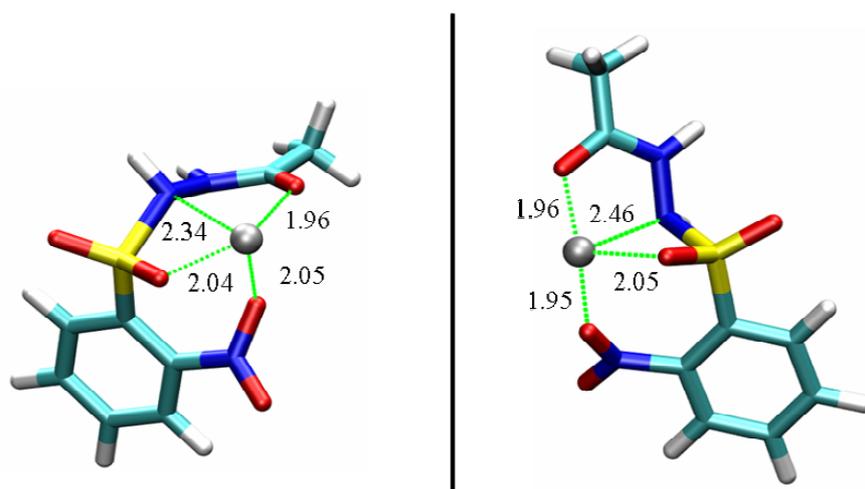


Image 5

Pour toutes les autres molécules, les géométries sont assez similaires que ce soit dans le mode tridentate ou bidentate (Tableau 9).

Composés R=	Tridentate		Bidentate		ΔE (Tridentate /Bidentate) kcal/mol (1 Ha=628.11 kcal/mol)
	Distances (Å)	Energie (Hartree)	Distances (Å)	Energie (Hartree)	
Me (137)	Zn-O(CO) = 1.93 Zn-O(SO ₂)= 1.96 Zn-NH= 2.41	-917.392371608	Zn-O(CO) = 1.93 Zn-NH= 2.07	-917.348627698	-27.5
C₆H₅- (138)	Zn-O(CO)= 1.93 Zn-O(SO ₂)= 1.97 Zn-NH=2.26	-1109.15449548	Zn-O(CO) = 1.94 Zn-NH= 2.20 Zn-Ar= 2.20	-1109.14491295	-6.1
Me-C₆H₄- (139)	Zn-O(CO)= 1.94 Zn-O(SO ₂)= 1.97 Zn-NH=2.23	-1148.48320856	Zn-O(CO) = 1.94 Zn-NH= 2.19 Zn-Ar= 2.20	-1148.47367771	-6.0
F-C₆H₄- (140)	Zn-O(CO) = 1.93 Zn-O(SO ₂)= 1.98 Zn-NH=2.25	-1208.38129996	Zn-O(CO) = 1.94 Zn-NH= 2.19 Zn-Ar= 2.23	-1208.36571587	-9.8

<i>o</i>NO₂- C₆H₄- (141)	Zn-O(CO) = 1.96 Zn-O(SO ₂)= 2.04 Zn-NH=2.05 Zn-NO ₂ = 2.05	-1313.65144174	N'existe pas	/	/
<i>m</i>NO₂- C₆H₄- (142)	Zn-O(CO) = 1.93 Zn-O(SO ₂)= 1.97 Zn-NH= 2.29	-1313.62769634	Zn-O(CO) = 1.93 Zn-NH= 2.28 Zn-Ar= 2.48 Zn-NO ₂ = 2.02	-1313.64619272	11.6
C₆H₅- C₆H₄- (143)	Zn-O(CO) = 1.95 Zn-O(SO ₂)= 1.98 Zn-NH= 2.13	-1340.23287790	Zn-O(CO) = 1.95 Zn-NH= 2.19 Zn-Ar= 2.19	-1340.22280488	-6.3
C₆H₅-O- C₆H₄- (144)	Zn-O(CO) = 1.94 Zn-O(SO ₂)= 1.98 Zn-NH=2.16	-1415.44057955	Zn-O(CO) = 1.95 Zn-NH= 2.18 Zn-Ar= 2.20	-1415.42786234	-8

Tableau 9 : Géométrie et énergie de molécules 137-144

La comparaison des énergies est possible, car ces dernières décrivent seulement deux états pour la même molécule optimisée.

Dans l'ensemble, le mode tridentate est plus stable que le mode bidentate avec une exception pour le composé **142** où le groupement nitro en position méta intervient dans la chélation stabilisant le complexe.

La stabilisation la plus grande est observée pour le composé **137** dont le substituant est un groupement méthyle. La variation d'énergie est de -27.5 kcal/mol en faveur du mode tridentate ce qui montre que ce mode est beaucoup plus stable que l'autre par rapport aux dérivés possédant un noyau aromatique comme substituant. L'interaction supplémentaire avec l'atome d'oxygène du sulfonyle est directement responsable de la plus grande stabilité du mode tridentate en phase gazeuse.

La présence d'un noyau aromatique réduit la différence d'énergie entre les deux modes d'environ 20 kcal/mol par rapport au composé **137**. D'après la représentation du résultat obtenu, il existe une interaction entre le noyau aromatique et le zinc qui stabilise le mode bidentate.

Cette interaction est le fruit d'une proximité dans l'espace des électrons \square avec l'atome de zinc et a pour conséquence une stabilisation du complexe qui varie en fonction du substituant.

Pour le composé possédant un groupement phényle seul, la différence d'énergie est de -6.1 kcal/mol. La présence d'un groupement méthyle en position para (composé **139**) ou d'un groupement phényle (composé **143**) ne change quasiment pas la stabilisation du complexe bidentate par rapport au complexe tridentate, puisque le ΔE est de -6 et -6.3 kcal/mol. Ces substituants n'ayant pas de réel caractère donneur ou accepteur, les électrons du système \square ne sont pas influencés et le complexe pas plus stabilisé que pour le produit **138**.

En revanche, lorsqu'il y a un atome de fluor ou un atome d'oxygène en position para du sulfonylhydrazide, le complexe bidentate devient encore moins stable par rapport au mode tridentate.

Le caractère électro-attracteur de ces atomes influence la répartition électronique du système \square et plus celui-ci est électronégatif, plus la déstabilisation augmente. Le complexe bidentate du composé **140** qui possède l'atome de fluor est donc moins stable que son homologue tridentate de -9.8 kcal/mol, alors que lorsque le substituant est un groupement phényléther, le complexe est moins stable de seulement 8 kcal/mol.

Les géométries des deux modes de chélation ne sont pas très différentes. En effet, lorsque l'on observe attentivement les deux structures pour un même composé et que les angles et les distances sont analysés, nous pouvons constater que les distances entre l'ion Zn^{2+} et l'atome d'oxygène ne varient pas entre le mode tridentate et bidentate et cette distance est de $1.93 \pm 0.02 \text{ \AA}$.

De même, la distance entre les atomes de zinc et d'azote reste aux alentours de 2.2 \AA pour l'ensemble des composés possédant un noyau aromatique comme substituant. Dans le cas du composé **137**, cette distance passe de 2.41 pour le mode tridentate à 2.07 \AA pour le mode bidentate.

Pour le composé **137**, une autre géométrie a été trouvée, mais ce minimum sur la surface d'énergie potentielle est bien supérieur aux deux minima trouvés auparavant. Il s'agit d'un mode de chélation où les atomes d'azote et d'oxygène sont chélatés au zinc en formant un cycle à quatre chaînons peu stable. La différence d'énergie entre ce mode et le mode tridentate est de -45.2 kcal/mol et de -17.8 kcal/mol pour le mode bidentate. Cette différence est telle que l'on peut considérer que ce n'est pas un minimum important, mais qui existe malgré tout.

L'acide hydroxamique chélate le zinc de façon bidentate avec les deux atomes d'oxygène (Image 6).

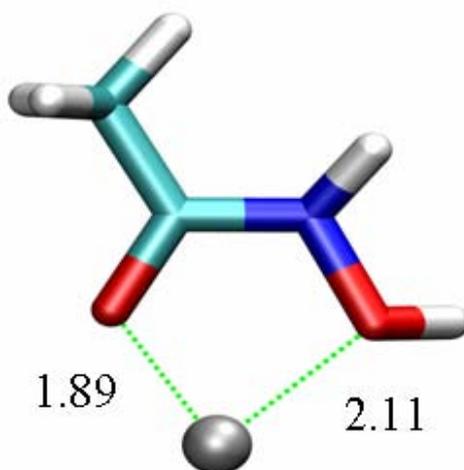


Image 6

Ce mode de chélation est couramment admis par les utilisateurs de la fonction acide hydroxamique⁵⁵. En effet, ce cycle à cinq chaînons est stable et ne se rompt pas facilement.

Sachant que cette fonction a été utilisée à maintes reprises dans la synthèse d'inhibiteurs de MMP, son énergie de stabilisation a été comparée à la série de sulfonylhydrazides dont les énergies ont été optimisées. Le calcul effectué est simple et le seul but est de comparer l'acide hydroxamique aux sulfonylhydrazides comme ZBG. Il s'agit de soustraire la somme de l'énergie du zinc seul et un composé choisi (molécules **137** à **144**) à l'énergie de ce composé complexé au zinc.

On a donc l'équation suivante :

$$\Delta E = E_{\text{(complexe)}} - [E_{\text{(Zn}^{2+})} + E_{\text{(composé seul)}}]$$

Sachant que pour l'acide hydroxamique seul, un mode de chélation a été trouvé, il n'existe qu'un seul ΔE , mais pour les sulfonylhydrazides, deux modes existent ce qui implique deux énergies différentes et donc deux calculs de ΔE .

L'énergie de l'ion Zn^{2+} est obtenue lorsqu'un calcul de minimisation d'énergie est lancé sur cet atome. Cela correspond à son énergie en phase gazeuse (Tableau 10).

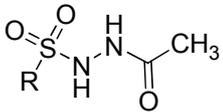
Composés  R=	ΔE (kcal/mol) tridentate	ΔE (kcal/mol) bidentate
Acide hydroxamique (147)	/	-168.8
Me (137)	-210.6	-183.2
C ₆ H ₅ - (138)	-231.5	-225.5
Me-C ₆ H ₄ - (139)	-236.0	-230.0
F-C ₆ H ₄ - (140)	-228.9	-219.1
<i>o</i> NO ₂ -C ₆ H ₄ - (141)	-232.9	/
<i>m</i> NO ₂ -C ₆ H ₄ - (142)	-212.2	-223.8
C ₆ H ₅ -C ₆ H ₄ - (143)	-240.5	-234.2
C ₆ H ₅ -O-C ₆ H ₄ - (144)	-240.5	-232.6

Tableau 10 : Différence d'énergie entre le mode bidentate et tridentate pour les composés 137-144

Le fait d'ajouter un ion Zn^{2+} aux sulfonylhydrazides et à l'acide hydroxamique stabilise les composés, puisque la variation d'énergie est négative. Cette stabilisation est assez importante, mais surtout supérieure à celle de l'acide hydroxamique, qui est la référence en matière de groupement chélateur de zinc.

La chélation du zinc par les sulfonylhydrazides est plus favorable que celle avec l'acide hydroxamique, puisque la différence d'énergie est plus importante. Ce constat est valable pour les deux modes de chélation, mais dans le cas du mode bidentate la comparaison est encore plus directe, puisque ce mode est identique à celui de l'acide hydroxamique.

Dans la série des sulfonylhydrazides, l'interaction de l'oxygène du sulfonyle avec le zinc rend le complexe plus stable. Le composé **137** est le moins stabilisant de toute cette série, ce qui est dû à l'absence de noyau aromatique.

Les composés **138**, **139**, **140**, et **141** possèdent des ΔE allant de -228.9 à -236 kcal/mol et sont assez similaires dans la stabilisation quelque soit le substituant.

La plus grande différence d'énergie est observée pour les composés **143** et **144** qui possèdent deux noyaux aromatiques. Il semble donc que la présence d'un noyau aromatique substitué ou non stabilise le complexe et que l'ajout d'un deuxième augmente davantage cette stabilité.

6.2.2 Les sulfonylhydrazides sous forme anionique

Le composé **137** a aussi été optimisé sous sa forme anionique avec un ion Zn^{2+} . La géométrie obtenue varie de façon assez importante que ce soit dans le mode tridentate ou bidentate. En effet, dans les deux modes, l'atome d'azote déprotonné se rapproche de l'atome de zinc de 0.18 Å. Il s'ensuit une variation de l'angle dièdre CNNS qui passe alors de -106.4 à -107.8° dans le mode tridentate et de -107.1 à -115.3° dans le mode bidentate.

Bien que la comparaison énergétique ne soit pas possible entre les molécules protonnées et déprotonnées, il est possible de comparer les ΔE afin de voir l'état le plus stabilisant.

Avant tout, la différence d'énergie entre le mode tridentate et bidentate est de 7.6 kcal/mol dans la forme anionique. Il y a une différence de 1.6 kcal/mol par rapport au ΔE du même composé **137** sous sa forme protonnée, ce qui permet de conclure que sous sa forme anionique, le mode tridentate est encore plus stable que le mode bidentate. La distance entre les atomes de zinc et d'azote est le seul paramètre qui ait varié entre les deux formes et c'est donc ce paramètre qui joue en faveur de la stabilisation du mode tridentate. En effet, dans le mode bidentate, le rapprochement de l'atome d'azote ne fait que réorienter la molécule par rapport à l'atome de zinc sans vraiment apporter de stabilité, or dans le mode tridentate, ce rapprochement stabilise le complexe.

Le ΔE calculé pour le composé **138** entre la molécule complexée et la molécule seule (Tableau 10) est de -231.5 kcal/mol dans le mode tridentate et -225.5 kcal/mol dans le mode bidentate. Dans le cas du composé **138** déprotonné cette variation est de -437.2 kcal/mol dans le mode tridentate et -429.6 kcal/mol dans le mode bidentate.

Les valeurs calculées semblent démesurées par rapport à des ΔE de quelques kcal/mol entre les deux modes de chélation. Les calculs sont réalisés en phase gazeuse et dans ce milieu, la représentation d'un ion n'est pas autant appropriée qu'en solution et du point de vue énergétique, des valeurs plus importantes sont retrouvées.

La tendance entre les deux formes est toutefois comparable. La forme anionique est beaucoup plus stabilisante que ce soit dans le mode bidentate ou le mode tridentate. Une charge n'étant pas naturellement stable, il est normal que l'ajout d'un atome permettant de compenser cette charge stabilise le complexe.

6.3 Le modèle du site actif

6.3.1 Les différents complexes et leur géométrie

La sphère de coordination du zinc dans le site actif des MMP est typiquement constituée de trois histidines et d'un ligand exogène. En vue de représenter au mieux la réalité observée dans le vivant, des pseudo-histidines ont été ajoutées au complexe formé par l'ion Zn^{2+} et la

série de sulfonylhydrazides. Ces pseudo-histidines sont des 2-méthylimidazoles chélatant l'atome de zinc avec l'atome d'azote non protonné.

Les étapes préliminaires d'optimisation d'énergie sur les sulfonylhydrazides seules, puis sur les complexes avec l'ion Zn^{2+} seul ont été nécessaires avant d'engager des calculs avec un système bien plus important. En effet, puisque le temps de calcul avec ce nouveau système n'est pas négligeable, ceux-ci ayant duré en moyenne 50 heures (CPU) avant de trouver un minimum. De plus, elles ont permis de trouver des modes de chélation différents et cela donne un point de départ dans la recherche de minima.

Par ailleurs, il était important de voir si le niveau de calcul était suffisant pour aborder un tel problème et s'il représentait bien la réalité. Là encore, des comparaisons avec des structures aux rayons X ont été effectuées.

Dans un premier temps, le complexe de zinc avec trois méthylimidazoles et une molécule d'eau a été minimisé.

Il faut que le complexe soit déjà dans un état stable et que les méthylimidazoles soient déjà bien orientés l'un par rapport à l'autre avant d'ajouter les sulfonylhydrazides. Le temps de minimisation est ainsi réduit, car la partie inférieure du complexe ne subit pas de changement important dans les angles ou les distances (Image 7).

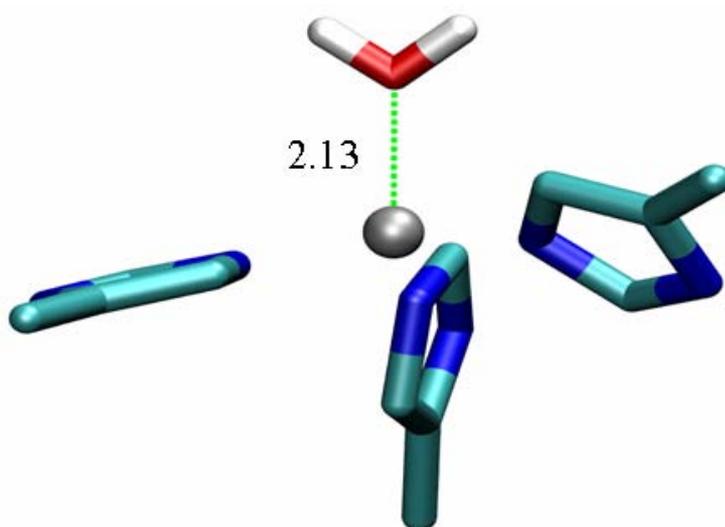


Image 7

L'atome d'oxygène de la molécule d'eau est à 2.1 Å de l'atome de zinc et les méthylimidazoles sont à 2.05 Å. Sachant qu'il y a quatre substituants sur l'atome de zinc, il est possible d'obtenir une géométrie plane carrée ou tétraédrique. Mais d'après le modèle VSEPR, la géométrie tétraédrique est plus favorable. Le résultat obtenu est conforme à cela, puisque la géométrie représentée sur l'image 7 montre bien un tétraèdre légèrement tordu. Les angles sont de 108.1°, 103.1° et 100.2°, ce qui est proche des angles du tétraèdre qui sont de 109°.

La géométrie obtenue est conforme à celle obtenue dans la littérature, ce qui valide le niveau de calcul et la méthode⁵⁷.

Puis, les sulfonylhydrazides ont été construits à partir de la géométrie avec la molécule d'eau. L'atome d'oxygène de la molécule d'eau a été remplacé par l'atome d'azote des sulfonylhydrazides.

La géométrie de départ de l'optimisation diffère de celles obtenues pour les molécules avec l'ion Zn^{2+} seul (bidentate et tridentate), mais elle permet d'observer les différentes possibilités de chélation avec les autres atomes d'oxygène et de voir, dans le cas où le zinc est entouré de trois méthylimidazoles, quel mode prévaut.

Le minimum obtenu indique un mode de chélation différent de celui calculé en l'absence des trois méthylimidazoles (Image 8).

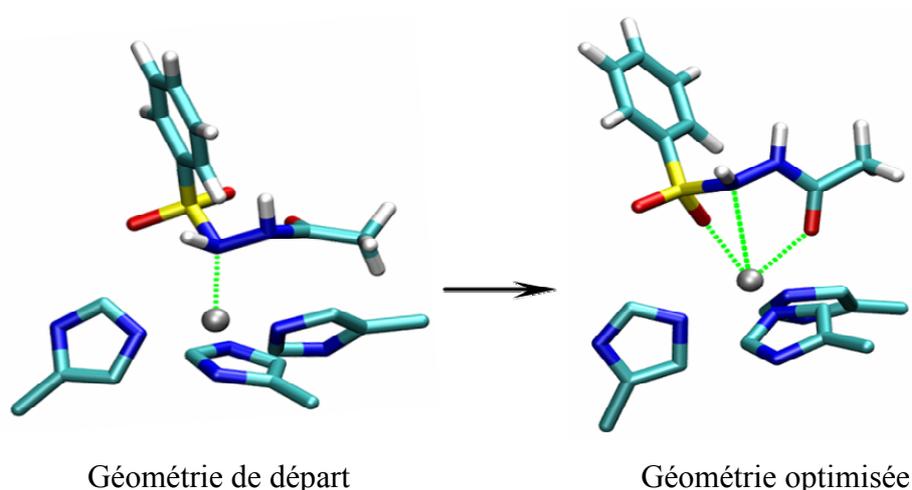


Image 8

Dans la géométrie de départ (Image 8 à gauche) la distance entre l'atome de zinc et l'atome d'azote est de 2.1 Å. Après optimisation, le minimum trouvé (Image 8 à droite) montre un mode de chélation dans lequel les deux atomes d'oxygène du sulfonyle et du carbonyle sont impliqués, mais sans la chélation de l'atome d'azote. Cette distance Zn-N augmente de 1.4 Å et passe à 3.5 Å et n'intervient donc plus dans la chélation.

L'exemple représenté sur l'Image 8 montre le phénylsulfonylhydrazide chélatant l'ion Zn^{2+} en formant un cycle à sept chaînons. Ce minimum a été obtenu quel que soit le substituant et en partant de la même géométrie initiale. Les distances Zn-O_(co) et Zn-O_(SO2) sont en moyenne de 2.25 et 2.20 Å, respectivement. Cela est supérieur aux distances observées dans les complexes avec l'ion Zn^{2+} seul. En effet, les distances Zn-O_(co) et Zn-O_(SO2) sont de 1.95 et 2.0 Å, respectivement. Les trois méthylimidazoles encombrant le zinc, ce qui éloigne le ligand qui se lie au zinc de 0.3 et 0.2 Å, respectivement.

Les atomes d'hydrogène des deux atomes d'azote des sulfonylhydrazides sont en *cis* l'un par rapport à l'autre et il n'existe aucun minimum avec les atomes d'hydrogène en *trans* à ce niveau de calcul. Bien que l'atome d'azote proche du sulfonyle n'entre plus dans la chélation, la géométrie la plus stable est celle dans laquelle le doublet libre est proche de l'atome de zinc d'où la forme *cis* obtenue. La géométrie initiale ne permet pas non plus d'orienter le ligand dans la forme *trans*, puisque l'atome d'azote est déjà lié au zinc et l'atome d'hydrogène se retrouve forcément à l'opposé.

De la même façon qu'un ΔE avait été calculé pour chaque sulfonylhydrazide entre le ligand seul et le ligand chélaté, un ΔE a été calculé aussi avec les trois méthylimidazoles (Tableau 11) selon la formule suivante :

$$\Delta E = [E_{\text{(complexe + ligand)}} + E_{\text{(H2O)}}] - [E_{\text{(Cx H2O)}} + E_{\text{(ligand seul)}}]$$

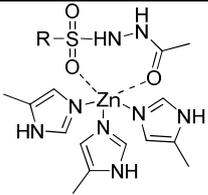
 R=	ΔE (kcal/mol)
Acide hydroxamique (147)	-11.5
Me (137)	-10.8
C₆H₅- (138)	-20.1
Me-C₆H₄- (139)	-21.3
F-C₆H₄- (140)	-17.8
<i>o</i>NO₂-C₆H₄- (141)	-10.9
<i>m</i>NO₂-C₆H₄- (142)	-6.1
C₆H₅-C₆H₄- (143)	-20.3
C₆H₅-O-C₆H₄- (144)	-21.1
Br- C₆H₄- C₆H₄ (145)	-30.8

Tableau 11 : Différence d'énergie entre les complexes avec les composés 137-145 et le complexe hydraté

La molécule d'eau a été optimisée seule afin d'obtenir son énergie. Le ΔE obtenu représente la stabilisation ou non du complexe par rapport au complexe avec une molécule d'eau.

Tous les composés sous forme de complexe sont plus stables que le complexe formé avec une molécule d'eau. En effet, d'après la formule utilisée, plus la valeur est négative plus la capacité du ligand à chélater le zinc est importante.

La comparaison d'un complexe de zinc tétraédrique et d'un complexe pentacoordonné semble montrer que le complexe pentacoordonné est plus stable quelque soit la molécule utilisée.

Toutefois, dans le cas de l'acide hydroxamique le mode de chélation obtenu est un mode monodentate où l'atome d'oxygène du carbonyle est le seul atome qui chélate le zinc. Le complexe obtenu est donc tétraédrique et, malgré tout, plus stable que le complexe avec la molécule d'eau (Image 9).

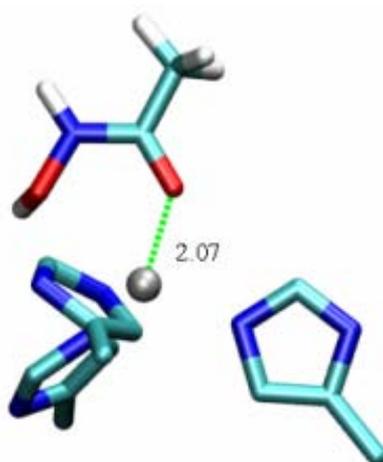


Image 9

Sachant que l'acide hydroxamique chélate le zinc seul sous forme bidentate, il aurait été normal de retrouver ce mode dans le complexe avec les méthylimidazoles. Mais, même après avoir donné une géométrie de départ dans laquelle l'atome d'oxygène du OH est chélaté au zinc, l'optimisation conduit toujours à ce même mode de chélation. Il semble donc qu'au niveau de calcul choisi, le mode bidentate pour l'acide hydroxamique en présence des méthylimidazoles, ne soit pas un minimum sur la surface d'énergie potentielle.

La différence d'énergie est toutefois en faveur du complexe de l'acide hydroxamique par rapport à celui avec la molécule d'eau avec un ΔE de -11.5 kcal/mol, ce qui montre une bonne capacité qu'a ce ligand à se lier au zinc.

Les composés **137**, **141** et **142**, sont des ligands dont la capacité à se lier au zinc par rapport à l'eau est proche de celle de l'acide hydroxamique. Le composé **145** est le ligand dont la chélation par rapport à une molécule d'eau est plus forte, mais la plus faible par rapport aux autres ligands. Par rapport au composé **138** possédant un noyau aromatique, le composé **142** possède seulement un groupement nitro en position méta et pourtant son ΔE de -6.1 kcal/mol est nettement inférieur au composé **138** qui est de -20.1 kcal/mol.

Le caractère électro-attracteur du groupement NO_2 est donc responsable de cet effet en affaiblissant la liaison $\text{O}_{(\text{SO}_2)}\text{-Zn}$ par délocalisation des électrons (2.23 Å contre 2.09 Å pour le composé **138**).

L'effet du groupement nitro pour le composé **141** n'est pas aussi important que pour le composé **142**, car l'atome d'oxygène du NO₂ en position ortho peut intervenir dans la stabilisation du zinc de par sa proximité avec celui-ci dans l'espace.

En ce qui concerne le composé **137**, dans le mode bidentate le ΔE de -10.8 kcal/mol, se rapproche de celui de l'acide hydroxamique. Par rapport au composé **138**, l'absence de noyau aromatique rend le complexe moins stabilisant, mais malgré tout, plus que dans le cas d'une molécule d'eau. Les électrons du noyau aromatique renforcent la chélation du ligand sur le zinc.

Un autre minimum a été trouvé pour le composé possédant un groupement méthyle. Il s'agit d'un mode de chélation monodentate dont l'énergie est légèrement plus stable que le mode bidentate de 0.65 kcal/mol (Image 10).

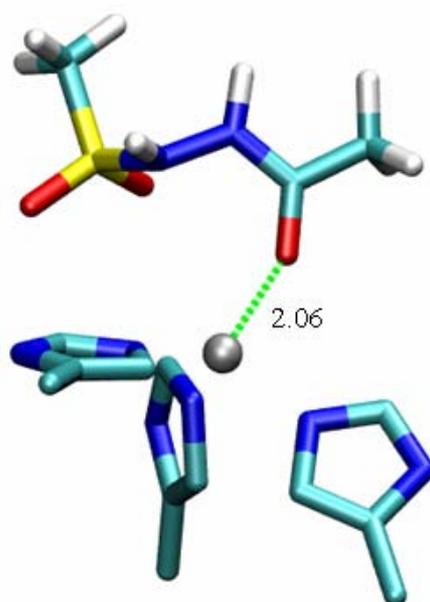


Image 10

Le ΔE obtenu avec l'énergie dans ce mode monodentate est de -11.3 kcal/mol ce qui est similaire à la valeur obtenue dans le cas de l'acide hydroxamique. Que ce soit en mode bidentate ou en mode monodentate, les valeurs de ΔE du composé **137** sont du même ordre de grandeur que celle de l'acide hydroxamique.

Dans le cas des autres composés, les ΔE sont de l'ordre de -20 kcal/mol. La référence dans cette série est le composé **138**, car il possède un seul noyau aromatique non substitué. Le composé **140** possède un ΔE de -17.8 kcal/mol contre -20.1 pour le composé **138**. Dans le cas du composé **139**, le méthyle en position para du groupement sulfonylhydrazide a un caractère faiblement donneur et le ΔE de -21.3 kcal/mol est légèrement plus important que celui pour le composé **138**. L'évolution est identique pour les composés **143** et **144**.

Le ΔE du 4-bromobiphényle **145** est de -30.8 kcal/mol ce qui est dû à la présence de l'atome de brome, puisque le même composé **143** sans cet atome voit son ΔE rester à -20.3 kcal/mol.

Dans le but de continuer à comparer la capacité que possède chaque ligand à se lier au zinc par rapport à l'eau, la galardine® **1** a été utilisée et optimisée (Image 11).

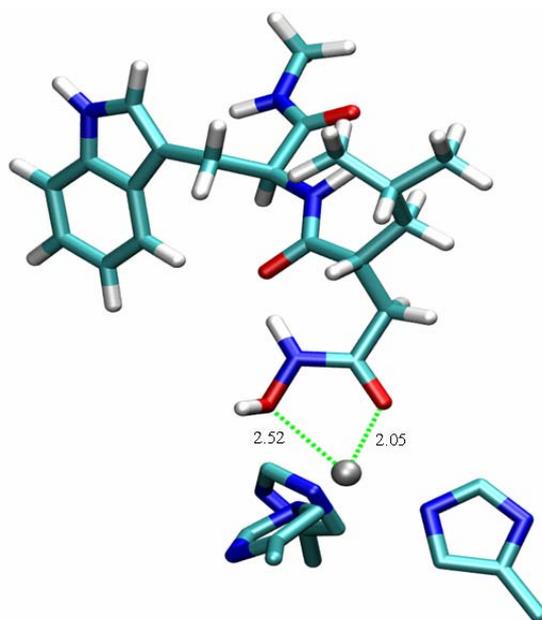


Image 11

Lorsque le ΔE est calculé, une valeur de -31.8 kcal/mol est obtenue. Par rapport à l'acide hydroxamique seul, la différence de 20 kcal/mol montre l'importance de la chaîne latérale sur la capacité qu'à la galardine à se chélater au zinc.

6.3.2 Les complexes avec des ligands anioniques

Enfin, la chélation des anions a aussi été calculée avec les méthylimidazoles. Deux géométries de départ ont été évaluées afin d'obtenir, si possible, plusieurs minima et comparer leurs énergies. La première géométrie est celle où seul l'atome d'azote déprotonné chélate le zinc et la deuxième est identique au mode bidentate obtenu pour chaque sulfonylhydrazide, donc le cycle à 7 chaînons, mais sans l'atome d'hydrogène.

Ces deux géométries de départ ont conduit à deux minima différents après optimisation. La première géométrie a donné lieu à un mode bidentate dans lequel le carbonyle se lie au zinc et la deuxième à un mode tridentate semblable à celui obtenu avec le zinc seul (Image 12).

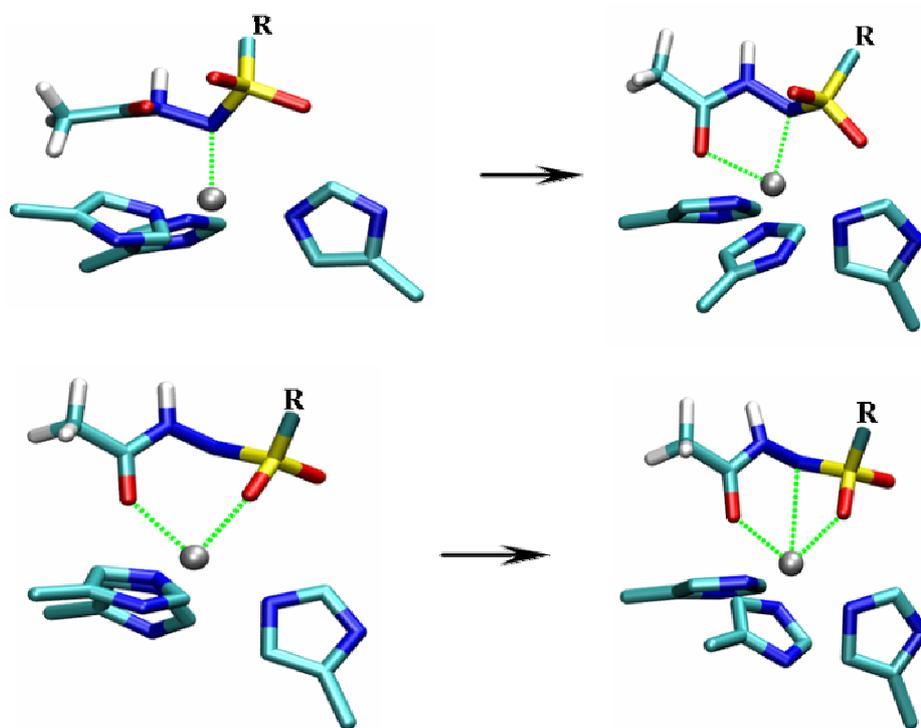


Image 12

Dans le mode bidentate, la distance entre l'atome d'azote et le zinc est de 2.13 Å et la distance avec le carbonyle est de 2.24 Å. La distance entre le zinc et le carbonyle est invariante par rapport au mode bidentate obtenu dans le cas où l'atome d'azote n'est pas déprotonné.

Dans le cas du mode bidentate avec le zinc seul, la distance Zn-N est de 2.20 Å et celle de Zn-O(co) de 1.94 Å. Cela indique qu'avec les méthylimidazoles et le ligand anionique, la liaison Zn-N est plus forte à cause de la charge et a pour effet de rapprocher l'atome d'azote du zinc aux dépens du carbonyle.

La réorientation du complexe est observable aussi par les angles dièdres. Pour le mode bidentate avec le zinc seul, l'angle CNNS est de -107.1° contre -114.6° lorsque les histidines sont ajoutées.

Le deuxième mode de chélation (Image 12, à droite) est un mode tridentate dans lequel l'atome d'azote préalablement éloigné du zinc de 3 Å se rapproche de 0.5 Å pour former une troisième liaison avec le métal.

La présence d'une charge déforme la géométrie du complexe de départ afin d'ajouter une interaction supplémentaire stabilisante. Les distances Zn-O(so₂) et Zn-O(co) sont de 2.27 et 2.15 Å, respectivement.

Lorsque la géométrie du mode tridentate avec le zinc seul est comparée avec la géométrie du complexe tridentate obtenue ci-dessus, on remarque que l'angle dièdre CNNS passe de -106.4° à -95.2°. La présence d'un anion déforme la géométrie initiale afin de permettre la chélation de l'atome d'azote.

Le cas du composé **138** a été utilisé pour représenter l'ensemble des sulfonylhydrazides possédant un noyau aromatique. Les substituants ont un effet sur l'énergie et parfois, sur le mode de chélation, comme dans le cas des composés **141** et **142**, où les groupements NO₂ peuvent intervenir dans la chélation. Pour les autres sulfonylhydrazides, en revanche, les substituants n'affectent pas le mode de chélation et le choix du composé **138** représente bien l'ensemble.

Pour le composé **137**, le mode bidentate est obtenu et les angles sont identiques à ceux du mode bidentate pour le composé **138**. En revanche, le mode tridentate n'est pas trouvé et il semble que l'atome d'azote bien que déprotonné ne se lie pas au zinc. Dans ce mode, seuls les deux atomes d'oxygène du sulfonyle et du carbonyle chélatent le zinc et l'on retrouve finalement la même géométrie que celle de départ avec un rapprochement de l'atome d'azote. La distance Zn-N est de 2.99 Å contre 2.48 Å dans le cas du composé **138** et cela explique que l'atome d'azote ne chélate pas le zinc (Image 13).

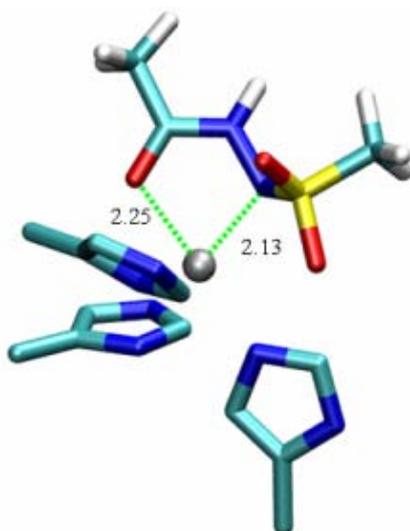


Image 13

Lorsque l'on compare les composés **137** et **138**, on peut conclure qu'au delà de l'anion, la chélation de l'atome d'azote dans le mode tridentate dépend de la présence des électrons π du système aromatique

Bien que l'atome d'azote n'entre pas dans la coordination du zinc, on remarque que les atomes d'oxygène sont plus proches du zinc dans le composé **137** par rapport au composé **138**. En effet, la distance Zn-O_(SO₂) est de 2.11 Å pour le ligand **137**, contre 2.27 Å pour le composé **138** et la distance Zn-O_(CO) de 2.13 Å contre 2.15 Å.

L'acide hydroxamique, a aussi été optimisé sous sa forme anionique. L'atome d'hydrogène du OH a été enlevé, puis les modifications nécessaires ont été apportées dans le fichier de départ. Alors que le mode bidentate conventionnel n'a pas été trouvé pour l'acide hydroxamique, il existe lorsque celui-ci est sous sa forme anionique. En effet, en partant du mode monodentate obtenu après optimisation de l'acide hydroxamique et en enlevant un atome d'hydrogène, l'atome d'oxygène se rapproche du zinc et entre dans la chélation pour former le cycle à cinq éléments (Image 14).

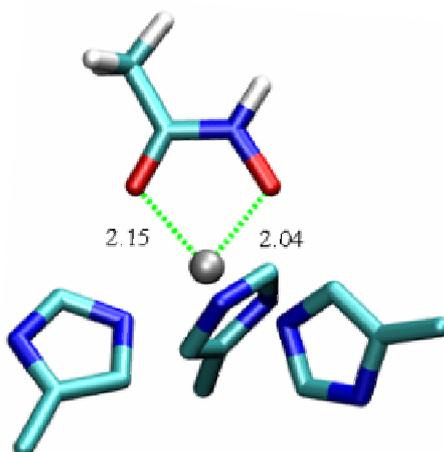


Image 14

La distance Zn-O est de 2.04 Å et celle de Zn-O_(CO) est de 2.14 Å. La charge négative sur l'atome d'oxygène a permis de rapprocher cet atome du métal.

Lorsque les ligands sont déprotonnés, on retrouve les deux modes de chélation obtenus avec les ligands chélatés au zinc seul.

Alors que si l'atome d'azote reste protonné, seul un mode bidentate est obtenu. La formation d'un anion a donc des conséquences sur le mode de chélation des ligands. Les mêmes conclusions sont tirées pour l'acide hydroxamique qui retrouve un mode bidentate lorsqu'il est sous forme anionique.

Du point de vue énergétique, plusieurs comparaisons sont possibles et notamment la différence entre les deux modes de chélation (Tableau 12).

Composés anioniques	Energie mode Tridentate (Hartree)	Energie mode Bidentate (Hatree)	ΔE (Tridentate / Bidentate) kcal/mol
R=			
Me (137)	-1714.00871665	-1714.01678475	5.1
C ₆ H ₅ ⁻ (138)	-1905.74537694	-1905.75179397	4.0
<i>o</i> NO ₂ -C ₆ H ₄ ⁻ (141)	Pas trouvé	-2110.22804807	/
<i>m</i> NO ₂ -C ₆ H ₄ ⁻ (142)	-2110.23438069	Pas trouvé	/
C ₆ H ₅ -O-C ₆ H ₄ ⁻ (144)	-2212.01227118	-2212.01810782	3.7

Tableau 12 : Différence d'énergie entre les modes tridentate pour les composés 137, 138, 141, 142 et 144

D'après les valeurs de ΔE , le mode bidentate est plus stable que celui tridentate pour les composés **137**, **138** et **144**. L'écart énergétique est assez significatif et va à l'opposé de ce qui avait été observé pour les ligands avec le zinc seul. Le mode tridentate était dans ce cas plus stable que le mode bidentate pour la plupart des composés.

Dans le cas du ligand **137**, l'écart est réduit par rapport au ΔE calculé avec le zinc seul. Pour le ligand **141**, il n'existe pas de mode tridentate car la distance Zn-N est de 3 Å. En revanche il existe un deuxième mode bidentate dans lequel les deux atomes d'oxygène chélatent l'ion Zn²⁺. L'écart entre ces deux modes n'est que de 0.6 kcal/mol.

La différence entre les composés **138** et **144** n'est que de 0.3 kcal/mol. Le substituant O-C₆H₅ n'influence pas un mode de chélation au profit d'un autre et le mode bidentate reste le plus stable.

Finalement, il est possible de comparer aussi les ΔE entre le complexe avec une molécule d'eau, l'acide hydroxamique et les ligands sous forme anionique (Tableau 13).

La formule utilisée est identique à la précédente, mais les énergies utilisées sont celles obtenues pour les anions :

$$\Delta E = [E_{\text{(complexe + ligand déprotonné)}} + E_{\text{(H}_2\text{O)}}] - [E_{\text{(C}_x\text{H}_2\text{O)}} + E_{\text{(ligand seul déprotonné)}}]$$

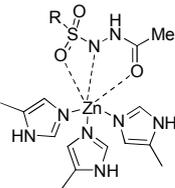
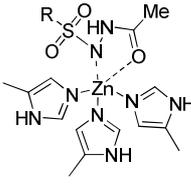
Composé (R=)	ΔE (kcal/mol) (mode tridentate)	ΔE (kcal/mol) (mode bidentate)
		
Acide hydroxamique	/	-202.9
Me (137)	-166.8	-171.9
C ₆ H ₅ ⁻ (138)	-162.2	-166.2
<i>o</i> NO ₂ -C ₆ H ₄ ⁻ (141)	-155.1	-149.8
<i>m</i> NO ₂ -C ₆ H ₄ ⁻ (142)	-149.2	/
C ₆ H ₅ -O-C ₆ H ₄ ⁻ (144)	-158.1	-161.8

Tableau 13 : Différence d'énergie entre les deux modes de chélation avec le complexe H₂O

La différence d'énergie entre le complexe avec la molécule d'eau et les ligands déprotonnés est importante comparée à cette différence lorsque les ligands ne sont pas sous forme anionique. La stabilisation par rapport à la molécule d'eau du complexe anionique est entre 8 et 9 fois supérieure à celle du complexe normal.

Pour le composé **138**, par exemple, le ΔE est de -162.2 kcal/mol pour le ligand anionique en mode tridentate contre -20.1 kcal/mol pour le même composé dans le même mode de chélation.

La comparaison avec l'acide hydroxamique montre que les sulfonylhydrazides déprotonnés sont moins stabilisants, car les valeurs de ΔE sont supérieures à celle de l'acide hydroxamique. Ce n'est pas le cas pour les ligands non déprotonnés qui stabilisent plus le complexe que l'acide hydroxamique.

Cela est dû au fait que le mode de chélation est bidentate lorsque l'acide hydroxamique est déprotonné alors qu'il est monodentate dans le cas contraire.

Le composé **137** possède le ΔE le plus proche de celui de l'acide hydroxamique. Ce constat a été établi pour le ligand simple (sans anion) et l'absence de noyau aromatique rend le complexe plus stabilisant ce qui est l'inverse lorsque le ligand n'est pas déprotonné. La charge négative portée par l'atome d'azote proche du sulfonyle n'est pas stabilisée par la présence d'un noyau aromatique. Si le noyau aromatique possède un groupement électro-attracteur, comme c'est le cas pour le composé **141** alors le ΔE est encore moins favorable, puisque la valeur est de -149 kcal/mol pour le mode bidentate contre -202 kcal/mol pour l'acide hydroxamique.

L'ajout d'un groupement O-C₆H₅ en position para du noyau aromatique influence assez peu la stabilisation par rapport au composé **138** avec -161.8 kcal/mol pour **144** contre -166.2 kcal/mol pour **138** dans le mode bidentate. La différence de 4.4 kcal/mol indique que le composé est moins stabilisant, mais par rapport aux composés **141** et **142**, cette différence est moindre.

Finalement, lorsque les ligands sont sous forme anionique, leur stabilisation par rapport à l'acide hydroxamique est moins importante que lorsqu'ils ne sont pas déprotonnés où leur stabilisation est meilleure que l'acide hydroxamique.

6.4 Conclusion

L'étude théorique de la fonction sulfonylhydrazide a permis de mettre en évidence les différents modes de chélation du zinc selon son environnement et les substituants portés par les ligands. La comparaison avec l'acide hydroxamique a permis de valider le niveau de calcul utilisé par comparaison avec les données expérimentales d'une part, mais aussi de mettre en évidence des modes de chélation différents selon que l'hydroxyle est déprotonné ou non, d'autre part.

Les ligands seuls ont été d'abord optimisés afin d'obtenir des énergies et voir les différentes géométries possibles. Deux géométries *cis* et *trans* sont obtenues avec une plus grande stabilité pour la géométrie *trans* d'environ 5 kcal/mol.

L'ion Zn^{2+} a ensuite été ajouté à différents endroits afin d'explorer au mieux les différents modes de chélation. Le placement du zinc à proximité de l'atome d'azote près de sulfonyle dans la géométrie initiale est issu de l'analogie avec les sulfonamides. Le déplacement du zinc vers le sulfonyle ou vers le carbonyle permet de voir si les deux atomes d'oxygène peuvent intervenir dans la chélation.

Deux modes ont été observés dans lesquels l'atome d'azote chélate le zinc. Le premier est un mode tridentate où, en plus de l'atome d'azote, les deux atomes d'oxygène du carbonyle et du sulfonyle chélatent le zinc. Le deuxième est un mode bidentate où seul l'atome d'oxygène du carbonyle chélate le zinc en plus de l'atome d'azote. Le mode le plus stable est le mode tridentate pour la plupart des ligands. L'acide hydroxamique donne, de son côté, un mode bidentate avec la chélation par les deux atomes d'oxygène.

Une fois ce mode observé, à l'ion Zn^{2+} ont été ajoutés des méthylimidazoles comme pseudo-histidine, puisque dans le site actif des MMP, le zinc est entouré de trois histidines. Après optimisation, il s'avère que le mode le plus stable énergétiquement est un mode inattendu où les deux fonctions sulfonyle et carbonyle chélatent le zinc. Le cycle formé est un cycle à sept éléments et aucun mode de chélation stable faisant intervenir l'atome d'azote n'est trouvé à ce niveau de calcul.

L'acide hydroxamique ne chélate le zinc que sous forme monodentate et aucun minimum n'est trouvé avec un mode bidentate. Cela est assez inattendu par rapport au mode bidentate observé dans le cas du zinc seul et dans les structures aux rayons X. Mais, sachant que dans le site actif des MMP le pH est tel que l'acide hydroxamique est déprotonné et que lorsqu'un anion a été simulé on retrouve ce mode bidentate, on peut penser que l'acide hydroxamique simple (non anionique) chélate le zinc de façon monodentate.

Finalement, lorsque l'atome d'azote est déprotonné, deux modes de chélation sont retrouvés. Le premier est un mode bidentate où l'atome d'azote déprotonné et l'atome d'oxygène du carbonyle chélate le zinc et le deuxième est un mode tridentate où l'atome d'oxygène du

sulfonyle chélate le zinc aussi. Ces deux modes sont identiques aux deux modes observés pour le zinc, mais dans le cas du complexe avec les méthylimidazoles, le mode bidentate devient plus stable.

Cette étude a permis de mettre en évidence la formation d'un complexe pentacoordonné dans lequel la fonction sulfonylhydrazide se lie au zinc par deux atomes d'oxygène, formant un cycle à sept éléments lorsque le ligand est placé dans le site actif des MMP. La simulation de ligand déprotonné a montré qu'il existait deux modes de chélation différents du cycle à sept éléments, dans lesquels l'atome d'azote intervient avec soit les deux atomes d'oxygène (mode tridentate), soit avec l'atome d'oxygène du carbonyle (mode bidentate).

La fonction sulfonylhydrazide peut être utilisée en remplacement de la fonction acide hydroxamique, car sa capacité à lier le zinc est supérieure à celle de l'acide hydroxamique. En revanche, dans le cas d'une protéine, où le pH est tel que les ligands sont déprotonnés, l'acide hydroxamique est plus favorable à la chélation. Au vu des problèmes de toxicité, de faible biodisponibilité de cette fonction et de la faible différence théorique de capacité à lier le zinc par rapport au sulfonylhydrazide, il est préférable d'utiliser la fonction sulfonylhydrazide comme ZBG.

La synthèse des composés **137**, **139**, **144** et **145** a été effectuée afin de réaliser des essais de potentiométrie et voir le potentiel complexant du zinc. Mais, il s'avère que la faible solubilité de ces composés n'a pas permis de réaliser ces essais.

Conception *in silico* et synthèse d'inhibiteurs de MMP

Durant ma thèse, j'ai eu l'occasion de partir en stage six mois au sein du Laboratoire du Professeur Seth Cohen à « l'University of California San Diego » (UCSD) afin d'acquérir une expérience complémentaire en matière de synthèse d'inhibiteurs de MMP. Le Laboratoire de chimie bioinorganique du Professeur Cohen travaille sur les inhibiteurs de MMP depuis 2001 avec une approche différente de celle de notre Laboratoire. En effet, la chimie des complexes métalliques est très développée.

Deux thématiques y sont exploitées. La première repose sur la synthèse de structures tridimensionnelles appelées « Metal Organic Framework » (MOF). Ces complexes peuvent être utilisés comme pièges à hydrogène. La deuxième repose sur la synthèse de nouveau « Zinc Binding Group » (ZBG) dans le but de synthétiser des inhibiteurs de MMP.

Les premiers inhibiteurs synthétisés par l'équipe du Pr. Cohen sont principalement des ZBG modifiés possédant une chaîne bi-arylique pouvant se placer dans la poche S_1' des différentes MMP. Les ZBG sont principalement des dérivés de maltol (**150**) et de pyrone (**151**) dont le mode de chélation du zinc est similaire à celui de l'acide hydroxamique (Figure 5).

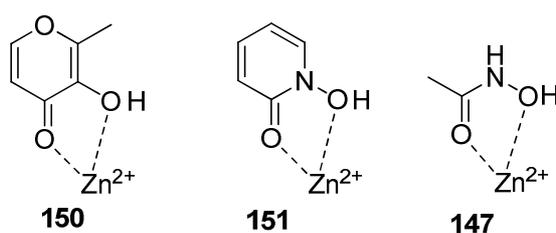


Figure 5: Structure des trois ZBG différents

Le passage du stade de ZBG à celui d'inhibiteur de MMP suit une procédure bien établie. Celle-ci est toujours respectée dès lors qu'un nouveau ZBG est trouvé et que le Laboratoire désire passer à la synthèse d'inhibiteur.

En premier lieu, le ZBG est cristallisé avec un complexe de zinc mimant le site actif des MMP⁵⁵. Ce complexe, appelé « complexe Tp » (pour trispirazoles), est constitué de trois pyrazoles liés à un atome de bore et un atome de zinc (Figure 6).

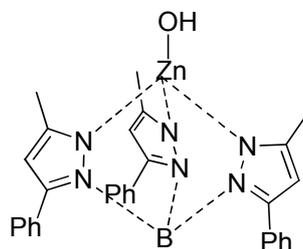


Figure 6 : complexe Tp

La synthèse de ce complexe se fait en deux étapes à partir de trois équivalents de pyrazoles et d'un équivalent de borohydrure de potassium (KBH₄). Le mélange est chauffé à 240°C, température à laquelle les réactifs entre en fusion. La réaction se fait pendant la fusion progressive des réactifs, puis après avoir ajouté de l'acétonitrile et filtré les impuretés à chaud (80°C), le complexe de bore précipite. Ce précipité est ensuite dissous dans un mélange dichlorométhane/méthanol et du perchlorate de zinc est ajouté au milieu avec un équivalent d'hydroxyde de potassium. Après une nuit, le complexe Tp est obtenu et conservé dans du dichlorométhane pour l'étape suivante de complexation.

Pour obtenir des structures aux rayons X montrant les modes de chélation des ligands, il est nécessaire de laisser réagir le complexe Tp avec un équivalent de ligand dans du benzène, puis de laisser diffuser lentement les vapeurs de pentane. L'apparition de cristaux est assez rapide (quelques jours) et l'analyse par diffraction de rayons X se fait juste après avoir sélectionné un monocristal. Tous les ZBG utilisés par le Laboratoire du Pr. Cohen ont été cristallisés avec le complexe Tp et les structures ont pu être élucidées par l'analyse de la diffraction par rayons X. C'est ainsi que le mode bidentate a pu être mis en évidence pour le maltol, les pyrones et leurs dérivés.

Dans un second temps, il est important d'avoir recours à des logiciels informatiques dans le but de « construire » des inhibiteurs sélectifs. Pour ce faire, la structure cristalline obtenue pour le ligand est placée, de manière virtuelle, dans le site actif d'une MMP choisie. La structure de la MMP est prise dans la « Protein Data Bank » (PDB).

Il s'agit en réalité de superposer les atomes de zinc et pyrazoles avec l'atome de zinc et les histidines dans le site actif, puis de conserver la forme la plus probable où le ligand ne se retrouve pas superposé à un acide aminé.

Une fois l'orientation trouvée, il est possible de construire virtuellement des chaînes latérales au ZBG dans l'optique d'interagir avec les poches de la protéine et particulièrement la poche S₁' qui varie en fonction des MMP. Une certaine sélectivité peut alors être observée selon le groupement choisi et le logiciel LUDI permet d'obtenir un score représentant les interactions possibles avec les acides aminés environnants. Plus le score est élevé, plus le groupement possède des atomes capables de former des liaisons avec les acides aminés (hydrogène, Van der Waals...) et meilleur sera le groupement. De plus, la bibliothèque de LUDI contient un grand nombre de chaînes et de groupements dont la synthèse est plus ou moins réalisable.

Dans un troisième temps, la molécule construite virtuellement est synthétisée. Le choix des groupements ayant été guidé aussi par la stratégie de synthèse, le nombre d'étape est souvent limité et la synthèse chimique assez directe (couplage peptidique, pas de centre asymétrique). Enfin, la molécule synthétisée est testée sur huit MMP et les résultats sont analysés afin de voir si la molécule est active et sélective.

7 Synthèse de chlorure de sulfonyle sur des dérivés du maltol et pyrone

A mon arrivé, il m'a été confié un premier projet dans lequel toutes les étapes décrites précédemment avaient déjà été réalisées en amont. La structure et l'activité de plusieurs inhibiteurs de MMP déjà synthétisés dans le Laboratoire du Pr. Cohen en suivant ces étapes sont reportées (Tableau 14).

	<p>IC₅₀ (microM) MMP-1= >50 MMP-2= 0.92 MMP-3= 0.56 MMP-7= >50 MMP-8= 0.086 MMP-9= 27.1 MMP-12= 0.018 MMP-13= 4.1</p>		<p>IC₅₀ (microM) MMP-1= >50 MMP-2= 4.4 MMP-3= 0.077 MMP-7= >50 MMP-8= 0.248 MMP-9= 32.3 MMP-12= 0.085 MMP-13= 6.6</p>
	<p>IC₅₀ (microM) MMP-1= >50 MMP-2= 9.3 MMP-3= 0.24 MMP-7= >50 MMP-8= 0.064 MMP-9= >50 MMP-12= 0.022 MMP-13= 20.6</p>		<p>IC₅₀ (microM) MMP-1= >50 MMP-2= 16.5 MMP-3= 41.7 MMP-7= >50 MMP-8= 3.8 MMP-9= >50 MMP-12= 1.2 MMP-13= 16.5</p>

Tableau 14 : Inhibiteurs synthétisés par Pr. Cohen et leur IC₅₀

Tous ces inhibiteurs montrent des caractéristiques communes, à savoir un groupement bi-arylique qui se place dans la poche S₁' de la MMP et deux atomes d'oxygène qui chélatent le zinc de façon bidentate.

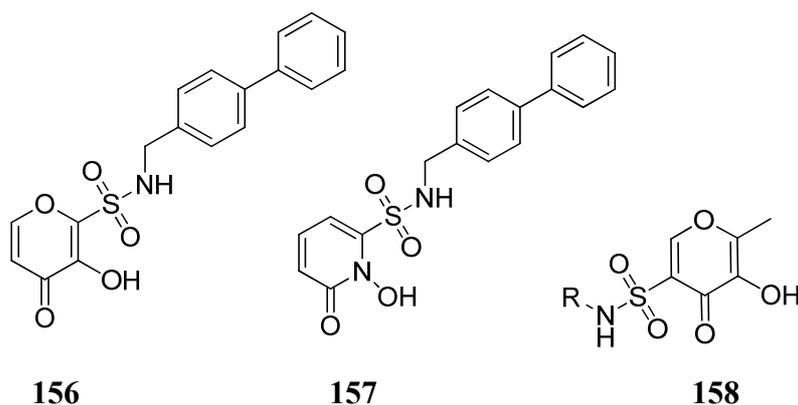
Le fait que le groupement bi-arylique soit séparé de l'atome d'azote par un CH₂ est issu de la superposition dans le site actif qui montrait la nécessité d'avoir un atome entre la fonction amide et le groupement biphenyle. Le score LUDI était considérablement réduit lorsqu'aucun atome ne séparait les deux ou lorsqu'il y en avait deux ou plus.

Cela a été confirmé par l'expérience, puisque les dérivés possédant 0, 1 ou 2 atomes de carbone entre la fonction amide et le biphenyle ont été testés et seul celui avec un seul atome de carbone s'est avéré actif⁵⁶.

Les activités biologiques ont été évaluées sur ces quatre composés et des activités de l'ordre du nanomolaire ont pu être mesurées vis-à-vis de certaine MMP pour PY-2, 1,2-HOPO-2 et AM-2.

La méthodologie de superposition de structures obtenues par RX dans le site actif des MMP, est donc efficace et permet d'avoir des inhibiteurs actifs et sélectifs.

Dans le cadre de mon projet, il m'a été demandé de synthétiser les dérivés **156**, **157** et **158** de PY-2, 1,2-HOPO et AM-2, respectivement. Ils possèdent une fonction sulfonamide à la place de la fonction amide. Cela m'a été demandé en vu d'augmenter les interactions avec la poche S₁' , la fonction sulfonyle pouvant aisément donner des liaisons hydrogène avec certains acides aminés grâce à ses deux atomes d'oxygène.



La molécule **156** possède un noyau dérivé de l'acide pyroméconique, la molécule **157** un noyau dérivé d'une pyrone et la molécule **158** un noyau dérivé du maltol.

7.1 Approche rétrosynthétique

Les trois molécules cibles peuvent être synthétisées par un couplage entre un chlorure de sulfonyle et une amine primaire (Schéma 70).

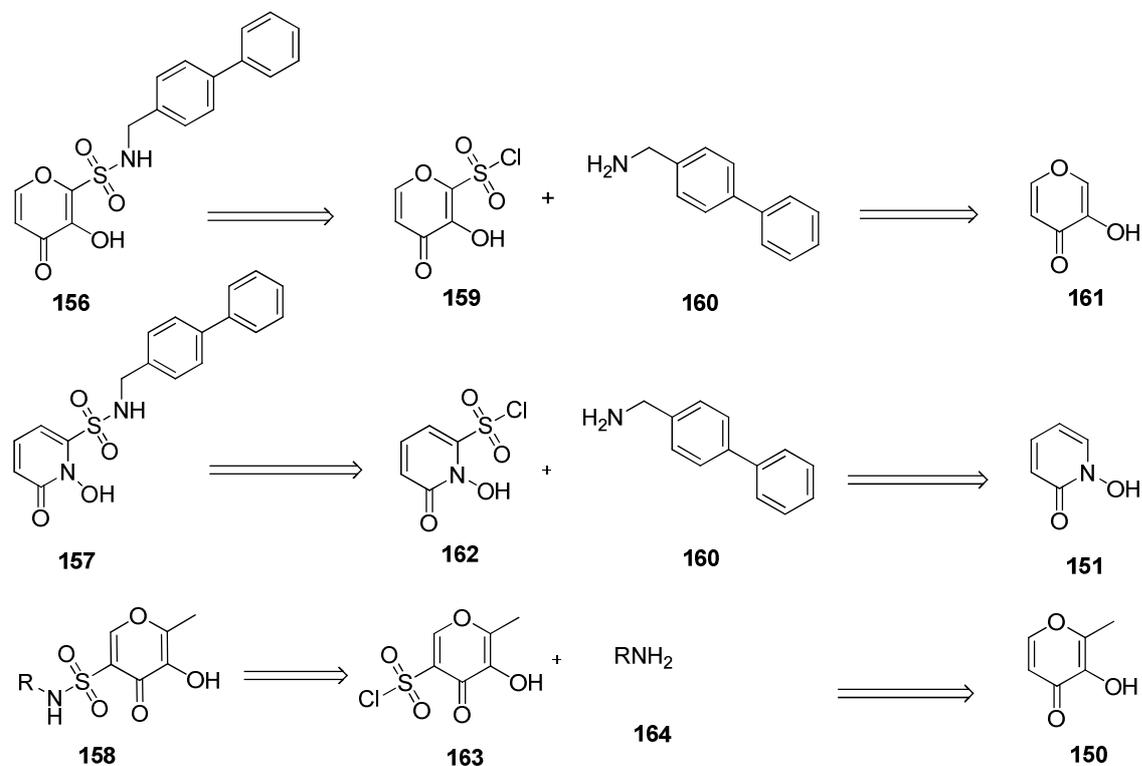


Schéma 70

La synthèse des chlorures de sulfonyle **159**, **162** et **163** est l'étape clé pour l'obtention des produits **156**, **157** et **158**. Pour les composés **157** et **158**, elle se fait sur des produits commerciaux (le maltol et l'hydroxypyronne). Pour le composé **156**, il est nécessaire au préalable de synthétiser l'acide pyroméconique avant de tenter des essais de sulfonation. Une fois la fonction chlorure de sulfonyle obtenue, il est possible d'avoir un grand nombre de sulfonamides en couplant celle-ci avec différentes amines. Dans le cas des molécules **156** et **157** le couplage avec la biphenyl-4-ylméthanamine **160**, commerciale, permet d'obtenir des dérivés proches des PY-2 et 1,2-HOPO qui diffèrent seulement par la présence d'une fonction sulfonamide à la place d'une fonction amide. La synthèse directe de chlorure de sulfonyle sur des dérivés du maltol, de pyrone ou d'acide pyroméconique n'a jamais été décrite.

8 Travaux personnels

8.1.1 L'utilisation de l'acide chlorosulfonique

Lors de la préparation du 4-bromobiphénylesulfonylhydrazide, l'acide chlorosulfonique avait été utilisé pour synthétiser un chlorure de sulfonyle sur le 4-bromobiphényle. La réaction est simple, ne nécessite pas de traitement particulier et le rendement est de 88%.

Par ailleurs, des chlorures de sulfonyle ont pu être synthétisés avec l'acide chlorosulfonique sur d'autres noyaux comme des phénols, des coumarines, *etc...*¹¹. La première approche choisie repose sur l'utilisation de l'acide chlorosulfonique (Schéma 71).

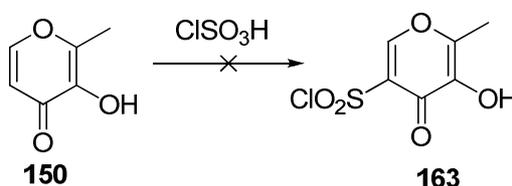


Schéma 71

Plusieurs essais ont été réalisés sur 500 mg de maltol avec 2.1 équivalents de chlorure de sulfonyle dans le chloroforme. Pour le premier essai, après une nuit de réaction, le maltol de départ est récupéré et aucune réaction ne s'est produite d'après le spectre de RMN ¹H du composé isolé. Le spectre de RMN ¹H du maltol présente deux doublets à δ 6.3 ppm (*J*= 4.4 Hz) et δ 7.9 ppm (*J*= 4.4 Hz) caractéristiques des deux protons en α du carbonyle et en α de l'atome d'oxygène, respectivement. Le groupement méthyle donne un singulet caractéristique à 2.2 ppm.

Ainsi, si la substitution a lieu, un des doublets doit disparaître et cela est très facilement repérable sur le spectre de RMN ¹H.

Les essais suivants ont été réalisés en faisant varier un paramètre à la fois : nombre d'équivalent de ClSO₃H (de 2.1 à 10 équivalents), solvant (aucun ou chloroforme), température (T.A. ou reflux) (Tableau 15).

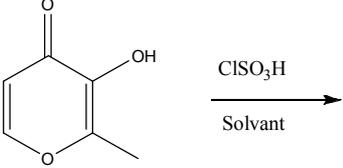
Réaction	Conditions
	ClSO ₃ H : 2.1 éq. Solvant : CHCl ₃ durée : 1 nuit T°C : T.A.
	ClSO ₃ H : 2.1 éq. Solvant : CHCl ₃ durée : 1 nuit T°C : T.A. + 18h reflux
	ClSO ₃ H : 2.1 éq. Solvant : toluène temps et T°C : 18h reflux (110°C)
	ClSO ₃ H : 10 éq. Solvant : CHCl ₃ durée : 1 nuit T°C : T.A.
	ClSO ₃ H : 10 éq. Solvant : aucun durée : 1 nuit T°C : reflux de ClSO ₃ H

Tableau 15 : Essais de chlorosulfonation

Chaque réaction a été suivie par chromatographie sur couche mince (CCM), puis les bruts réactionnels ont été analysés par RMN ¹H.

Dans tous les cas, même après avoir chauffé à reflux du toluène pendant 24 heures, aucune substitution ne se fait sur le maltol. Au vu du spectre de RMN ¹H du produit isolé lors du premier essai et présentant un singulet large à 9.3 ppm, il est probable que l'acide chlorosulfonique ait réagi sur le groupement hydroxyle pour former une fonction acide sulfonique. Cela a été observé sur les phénols et d'autres hétérocycles possédant des groupements hydroxyles libres¹¹, mais en chauffant ou en augmentant les temps de réaction.

Néanmoins, selon ces travaux, la substitution sur le noyau aromatique avait quand même lieu. Les essais suivants ont donc été réalisés dans cette optique, mais aucun produit n'a été isolé, puisque dans tous les cas, soit le maltol est récupéré, soit il se dégrade.

Sachant qu'il y a peut-être une substitution sur la fonction hydroxyle du maltol, une possibilité est de protéger celle-ci. Tout d'abord, un groupement benzyle a été utilisé, car le benzylmaltol est commercial, mais la forte acidité du milieu clive le groupement benzyle si bien que le seul produit récupéré est le maltol. Une autre alternative est d'utiliser le diméthylsulfate afin de protéger la fonction hydroxyle par un éther méthylique⁵⁸ (Schéma 72).

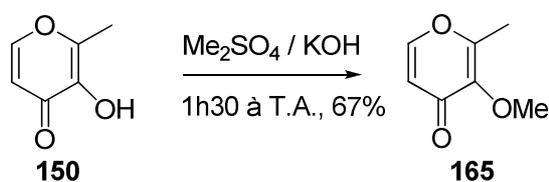


Schéma 72

La réaction se fait dans une solution de KOH à 10% et le produit **165** est obtenu après extraction avec un rendement de 72%. Le spectre de RMN ^1H présente un singulet à 3.8 ppm en plus du signal du méthyle à 2.2 ppm montrant bien la présence d'un groupement méthoxy. Des essais avec l'acide chlorosulfonique ont été réalisés sur le composé **165** (Tableau 16).

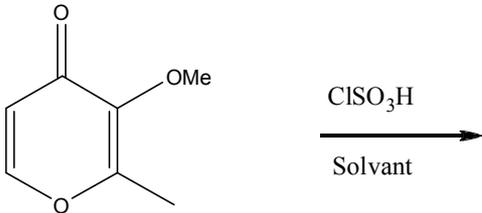
Réaction	Conditions
	ClSO ₃ H : 2.1 éq. Solvant : CHCl ₃ temps et T°C : 18h à T.A.
	ClSO ₃ H : 10 éq. Solvant : CHCl ₃ temps et T°C : 18h à T.A.
	ClSO ₃ H : 10 éq. SOCl ₂ : 5 éq. temps et T°C : reflux
	ClSO ₃ H : 10 éq. Solvant : CHCl ₃ / DMF (1:1) temps et T°C : 1h30 reflux

Tableau 16 : Essais de chlorosulfonation sur le composé 165

Les quatre essais réalisés ont tous échoué et il a même été observé une déprotection du groupement méthoxy lorsque le mélange est porté à reflux de l'acide chlorosulfonique. La substitution sur le composé **165** ne se fait pas avec l'acide chlorosulfonique. Cette voie ne permet pas d'obtenir de chlorure de sulfonyle **163** en quelque position que ce soit dans la série du maltol.

Dans le cas des pyrones, les mêmes réactions sont effectuées. L'acide chlorosulfonique est utilisé comme réactif et solvant en même temps, à température ambiante, puis à 70°C et ensuite à reflux. Dans tous les cas, aucune substitution ne s'effectue et il en est de même lorsque la fonction hydroxyle est protégée par un groupement méthoxy (Schéma 73).

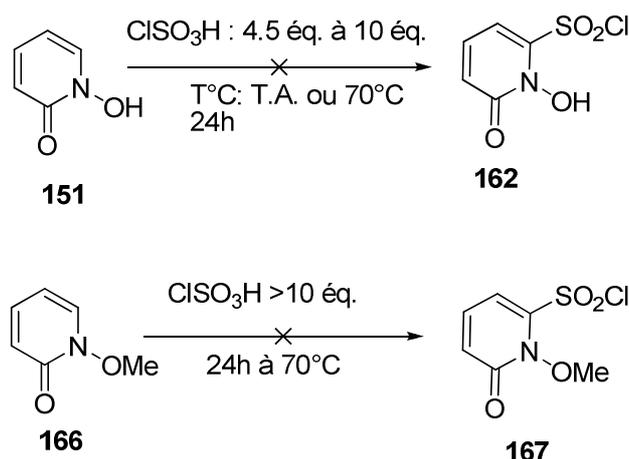


Schéma 73

N'ayant pas obtenu les dérivés du maltol et de l'hydroxypyronne possédant un groupement sulfonyle, des essais ont été réalisés sur l'acide pyroméconique. Ce précurseur du composé **159** n'est pas commercial et nécessite d'être préalablement synthétisé. La structure de l'acide pyroméconique ne diffère de celle du maltol que par l'absence du groupement méthyle. La synthèse a été décrite et suivie afin d'obtenir le plus rapidement possible l'adduit de départ pour réaliser des essais de sulfonation⁵⁹.

Le produit de départ est l'alcool furfurylique et quatre étapes sont nécessaires à la préparation de l'acide pyroméconique⁵⁹ (Schéma 74).

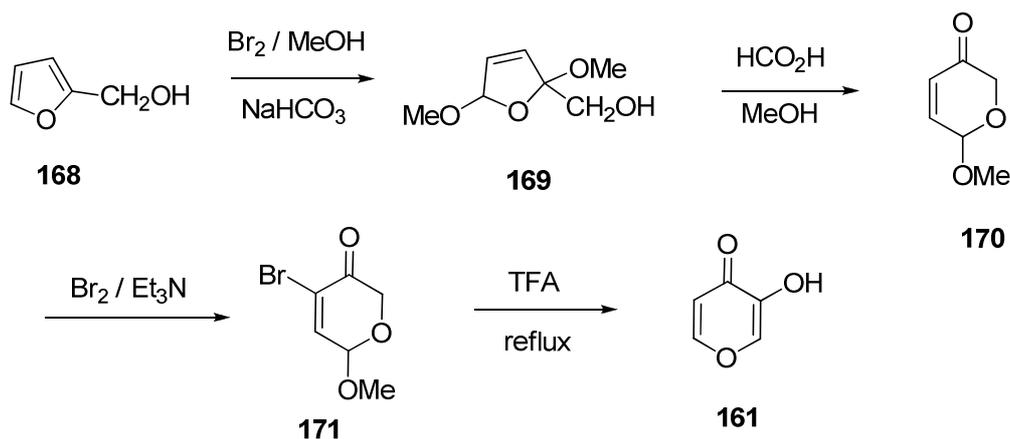


Schéma 74

L'alcool furfurylique **168** est bromé en milieu méthanolique conduisant à la formation du produit diméthoxylé **169**. L'addition du dibrome se fait à -40°C et le composé **169** est obtenu après distillation sous pression réduite avec 73% de rendement. Le centre asymétrique formé donne un mélange *cis/trans*, mais aucune séparation n'est nécessaire, puisque ce centre disparaît dans l'étape d'après.

La formation de **170** se fait en milieu acide formique. L'ouverture du cycle est possible dans ces conditions et il s'en suit une expansion de cycle par addition nucléophile de l'atome d'oxygène sur le CH_2OH . La réaction s'effectue dans le méthanol et le composé **170** est obtenu avec un rendement de 34%. Le faible rendement est dû aux pertes lors de la distillation sous pression réduite. Le composé obtenu est directement mis en réaction dans l'étape suivante sans caractérisation.

L'huile incolore issue de la distillation est dissoute dans du dichlorométhane, le dibrome et la triéthylamine sont ajoutés puis le mélange est agité pendant deux heures. Le composé **171** est obtenu avec 55% de rendement. Là encore, aucune caractérisation n'a été effectuée et le produit a été directement utilisé dans l'étape suivante.

La dernière étape permet d'obtenir l'acide pyroméconique. Le composé **171** est mis au reflux dans l'acide trifluoroacétique pendant deux heures, puis après purification par chromatographie, l'acide pyroméconique est obtenu sous forme d'un solide rouge avec 44% de rendement.

Le spectre de RMN ^1H de l'acide pyroméconique présente deux doublets à δ 6.5 ppm ($J = 5.6$ Hz) et à δ 7.8 ppm ($J = 5.6$ Hz) correspondant au proton oléfinique en α du carbonyle et à celui en α de l'atome d'oxygène, respectivement. Enfin, un singulet correspond au proton en α de l'hydroxyle. Le proton du OH donne un singulet large entre 6.6 et 6.8 ppm. Ces données permettent de confirmer la présence de l'acide pyroméconique.

Les essais de sulfonylation ne sont pas réalisés directement sur l'acide pyroméconique, mais sur le composé **172** qui correspond à l'acide protégé par un groupement méthoxy (Schéma 75).

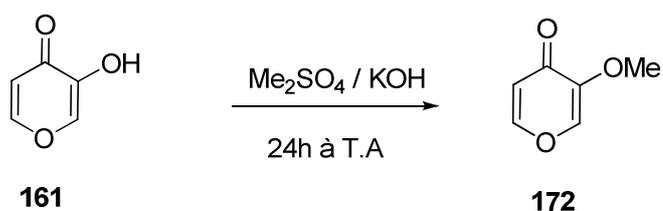


Schéma 75

Les conditions de méthylation sont similaires à celles permettant la protection du maltol et de l'hydroxypyrrone. Le rapport frontal ne variant pas lors du suivi CCM, un « test de chélation au fer » est nécessaire pour confirmer la formation du produit **172**. En effet, les composés comme le maltol ou l'acide pyroméconique sont de bons chélateurs du zinc, mais aussi du fer. Lorsqu'une solution de fer est déposée sur la CCM, la tache prend une coloration marron, mettant en évidence un complexe qui montre la présence des fonctions chélatrices du fer. Lorsque le composé **172** est formé, le test de chélation au fer devient négatif, puisque la ligation sous forme bidentate ne peut se faire.

Dans notre cas, ce test a permis de montrer que la réaction était terminée et le composé **172** est obtenu après traitement avec 38% de rendement.

Deux essais de sulfonylation ont été réalisés sur le composé **172**. Le premier essai se fait avec un excès d'acide chlorosulfonique à température ambiante et le second avec la même quantité de réactif, mais à 60°C pendant 16 heures. Dans les deux cas, seul le produit de départ est récupéré et aucun produit issu d'une substitution n'est observé.

Au vu de ces résultats, les réactions de synthèse de l'acide pyroméconique ne sont ni optimisées, ni reconduites. Une nouvelle stratégie de sulfonylation doit alors être envisagée.

8.1.2 Autre stratégie de sulfonylation

La deuxième stratégie essayée dans le but de sulfonyler le maltol passe par la synthèse d'un dérivé bromé, puis par une réaction d'échange avec un atome de lithium qui réagira ensuite avec une solution de SO₂Cl₂ pour donner un dérivé sulfonylé.

Le maltol, commercial, peu onéreux et dont la synthèse du dérivé bromé est décrite, a été utilisé dans un premier temps (Schéma 76).

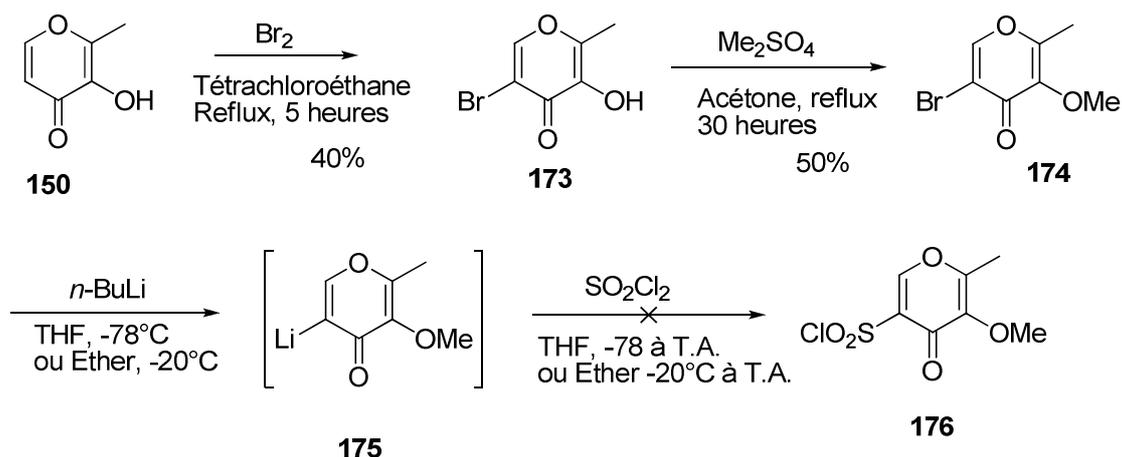


Schéma 76

Le maltol **150** est bromé dans du tétrachloroéthane pour donner le dérivé **173** avec 40% de rendement. Le produit de la réaction est caractérisé par RMN ^1H et un seul singulet à δ 8.6 ppm correspond au proton en α de l'atome d'oxygène. Il y a disparition du doublet à δ 6.3 ppm observé sur le maltol. Le déplacement chimique du signal du proton passant de δ 7.9 pour le maltol à δ 8.6 ppm pour le composé **173** indique bien la présence d'un atome de brome en α du carbonyle.

La méthylation de l'hydroxyle se fait dans l'acétone à reflux avec un équivalent de diméthylsulfate. Le composé **174** est obtenu avec 50% de rendement. Son spectre de RMN ^1H présente en plus du signal du méthyle à δ 2.3 ppm, un singulet à δ 3.9 ppm correspondant au groupement OMe. La partie aromatique montre le singulet du proton en α de l'atome d'oxygène à δ 8.0 ppm.

La dernière étape se déroule en deux temps. Tout d'abord, le composé **174** est dissous dans du THF ou de l'éther anhydre à -70°C , puis du $n\text{-BuLi}$ est ajouté afin de remplacer l'atome de brome par un atome de lithium. Le THF est préféré à l'éther, car dans ce dernier le composé peut précipiter si la température est trop basse.

La molécule **175** n'est pas isolée. Après deux heures de réaction, une solution de SO_2Cl_2 est ajoutée au milieu afin de remplacer l'atome de lithium par le chlorure de sulfonyle. Le suivi CCM n'indique aucune transformation, en revanche après traitement, le produit de départ est récupéré ainsi qu'un autre produit correspondant au composé **165** (maltol O-protégé). Cela indique que la première étape d'échange de brome-lithium se fait en partie.

Deux essais supplémentaires d'optimisation ont été réalisés. L'ajout de la solution de SO_2Cl_2 s'est fait à -40°C au lieu de -70°C pour le premier essai et à -20°C pour le second. Dans les deux cas, aucune réaction ne se produit.

8.2 Conclusion

Des essais de sulfonylation ont été tentés et aucun n'a permis d'avoir des chlorures de sulfonyle, que ce soit sur le maltol, l'acide pyroméconique ou l'hydroxypyronone.

La méthode directe par réaction avec l'acide chlorosulfonique n'a donné aucun résultat même après avoir protégé la fonction hydroxyle susceptible de réagir avec ce réactif. L'acide chlorosulfonique permet de donner des chlorures de sulfonyle en une seule étape sur des dérivés aromatiques ou hétéroaromatiques, mais sur nos dérivés, aucune réaction n'est observée.

L'acide pyroméconique a été synthétisé afin d'augmenter les possibilités de substitution. La synthèse n'a pas été optimisée, puisque les résultats obtenus après réaction avec l'acide chlorosulfonique n'étaient pas favorables.

La méthode directe n'ayant pas fonctionné, une autre voie de synthèse a été envisagée. Cette voie est plus longue et nécessite la préparation de produits bromés et protégés. Les essais n'ont pas permis d'obtenir de chlorure de sulfonyle. De ce fait, les réactions précédentes n'ont pas fait l'objet d'optimisation des rendements.

9 Synthèse d'inhibiteurs de MMP dérivés des sulfaminométhyles

9.1 Conception des inhibiteurs

Le premier projet de synthèse de chlorures de sulfonyle n'ayant pas abouti, un second projet m'a été confié. Il s'agit de construire un inhibiteur de MMP possédant un motif sulfaminométhyle comme ZBG. Le choix de ce groupement comme chélateur de zinc est issu de la recherche de fluorophores spécifiques du zinc⁶⁰.

L'acide 2-méthyl-8-(4-toluènesulfonamido)-6-quinolyloxy acétique, aussi appelé « Zinquin A » (**178**), est un dérivé dont les propriétés fluorophores *in vivo* sont importantes et les capacités à chélater spécifiquement Zn^{2+} ont été démontrées. Le groupement sulfonaminométhyle est un dérivé simplifié du zinquin A et formerait un bon ZBG (Figure 7).

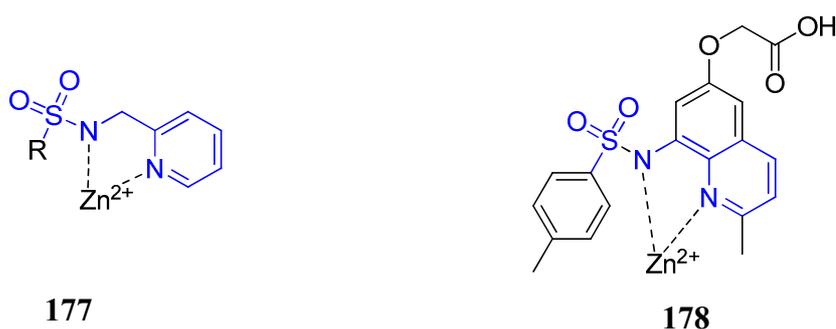


Figure 7 : Structure du sulfaminométhyle et du Zinquin A

Cette fonction sulfaminométhyle possède l'avantage de donner un grand nombre d'inhibiteurs par la présence de la fonction sulfonamide.

La stratégie utilisée pour synthétiser des inhibiteurs à partir d'un groupement potentiellement chélateur de zinc a été décrite auparavant. Les travaux présentés ci-après ont pour avantage de mettre à profit toute la stratégie mise au point par le Laboratoire du Professeur Cohen.

Dans un premier temps, il est nécessaire d'obtenir une structure aux RX du ZBG complexé au zinc. Pour ce faire du *N*-(pyridin-2-ylméthyl)méthanesulfonamide est dissous dans du benzène avec un équivalent de complexe Tp.

Ce mélange est ensuite placé dans un récipient permettant à des vapeurs de pentane de diffuser lentement dans la solution. Après quelques jours à l'abri de la lumière et à température ambiante, des cristaux transparents sont obtenus. Un monocristal est extrait et soumis à une analyse de diffraction par Rayons X. Le résultat ne montre pas le complexe Tp chélaté, mais un dimère avec le zinc et deux molécules de ZBG (Image 15).

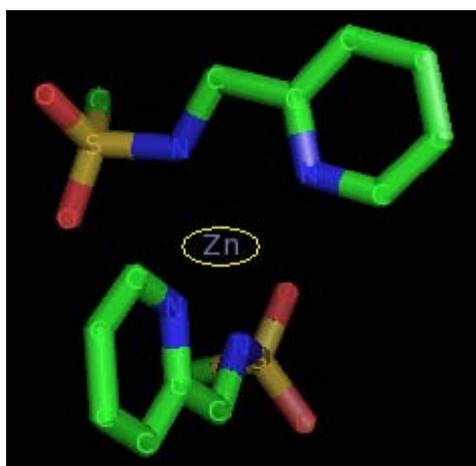


Image 15

Avec cette structure cristallisée, il est possible d'obtenir des images superposées de ce ZBG dans le site actif de la MMP-2 ou -3 selon notre choix. Nous avons décidé de générer, si possible, un inhibiteur sélectif de la MMP-2 en collaborant avec le Laboratoire de modélisation du Professeur Andrew Mac Cammon (UCSD).

La superposition a permis d'obtenir une image montrant le ZBG placé dans le site actif de la MMP-2 (Image 16). La position du ZBG dans ce site actif a été choisie afin que la fonction sulfonamide soit orientée vers la partie droite de la protéine. C'est l'orientation qui semble la plus favorable selon l'expertise acquise par le Laboratoire du Professeur Mac Cammon et des précédents essais avec le maltol⁵⁶.

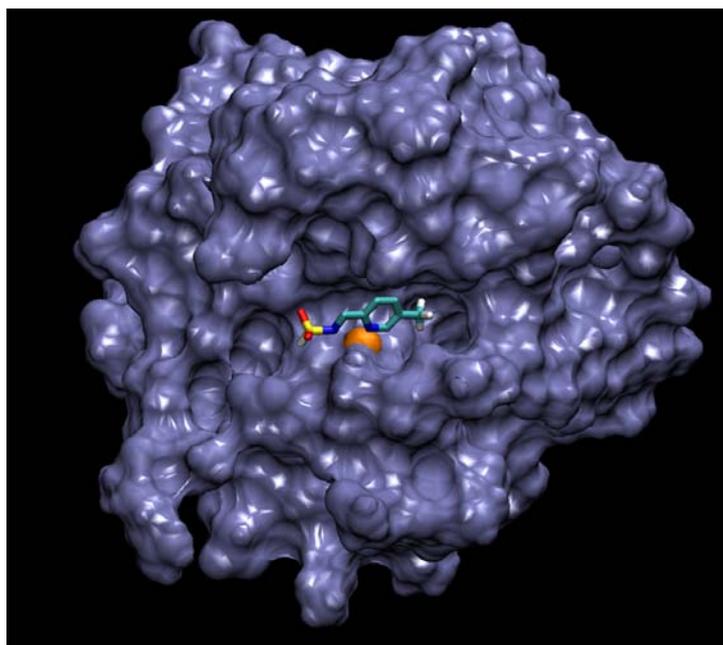


Image 16

Une fois le ZBG placé dans le site actif, il convient de construire virtuellement un inhibiteur dont les chaînes latérales interagissent avec les acides aminés présents dans les différentes poches.

La construction se fait avec le logiciel LUDI. Ce dernier permet de générer un grand nombre de groupement sur une position particulière et de définir un score en fonction des interactions avec les acides aminés environnants. Dans le cas du maltol, il a été montré qu'un groupement biphenyle possédant un score de 600 donnait un inhibiteur dont l'activité inhibitrice est de l'ordre du nanomolaire pour la MMP-3⁵⁶. Ainsi en le transposant à notre ZBG avec la MMP-2 et en comparant les scores avec LUDI, il est possible de choisir un groupement, de définir sa distance avec le ZBG et d'obtenir un inhibiteur possédant une bonne activité inhibitrice.

La poche la plus importante qui a été la plus explorée par le Laboratoire du Pr. Cohen est la poche S_1' . Cette poche est profonde pour la MMP-2 et un groupement de type biphenyle et même triphenyle permet d'obtenir un bon score avec LUDI, mais aussi une bonne activité inhibitrice. Ainsi, il a été remarqué qu'avec un « espaceur » placé en position 3 du noyau pyridine, il était possible d'atteindre la poche S_1' et d'y placer un groupement (Image 17).

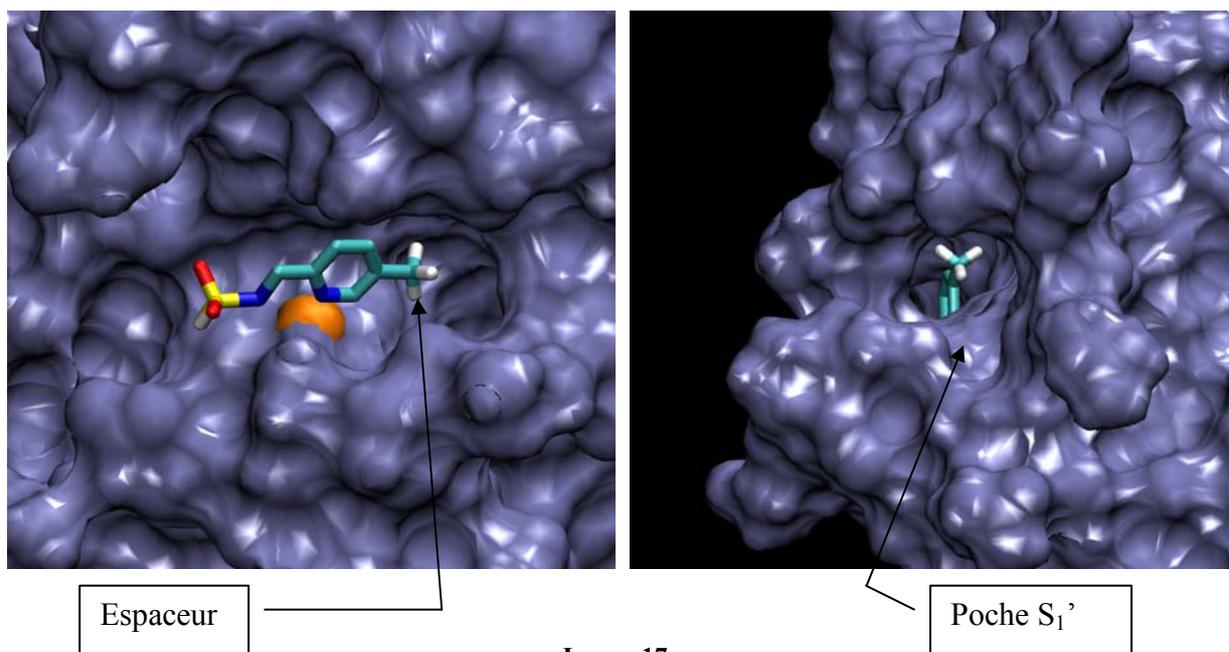


Image 17

Pour la poche S_1' un score de 609 a été obtenu grâce au logiciel LUDI pour le groupement $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-C}_6\text{H}_4$; ce score est similaire à celui qui avait été obtenu pour les dérivés du maltol. Ce groupement biphenyle est lié au noyau pyridinique par un seul espaceur, en l'occurrence un CH_2 . Ce dernier permet d'orienter directement le groupement biphenyle dans la poche S_1' , mais le fait que ce soit un CH_2 ou autre chose n'a pas d'importance.

Pour la partie orientée à gauche de l'atome de zinc, une multitude de possibilités est envisageable, car il existe un grand nombre de chlorures de sulfonyle sur le marché. Une fois de plus, le logiciel LUDI a généré, entre autre, un benzimidazole ou un indole comme groupement lié au SO_2 . Au-delà du score LUDI de 394 obtenu pour le benzimidazole et de 390 pour l'indole, il est important de noter que le choix des groupements a été guidé par les règles de synthèse organique.

En effet, la bibliothèque LUDI comporte de nombreuses molécules et le score généré est directement lié aux interactions trouvées avec des acides aminés environnants. Dans le cas du benzimidazole, le score de 394 est parmi les meilleurs obtenus, car les deux atomes d'azote peuvent donner des liaisons hydrogène avec l'acide glutamique 210 et l'alanine 167 (MMP-2).

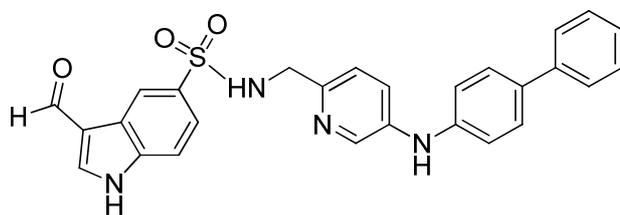
Mais, au-delà de ces interactions qui peuvent aussi exister avec d'autres groupements, la synthèse d'un chlorure de sulfonyle sur le noyau benzimidazole n'est ni triviale et ni fructueuse. En revanche, dans le cas de l'indole, dont les interactions avec l'acide glutamique 210 est possible, la synthèse de chlorure de sulfonyle est plus accessible.

Durant l'élaboration d'inhibiteurs de la MMP-2, il est important de concevoir un inhibiteur dont le score LUDI est le meilleur tout en prenant en compte l'aspect synthétique.

Des recherches bibliographiques ont permis de choisir l'indole, car il est possible de générer un chlorure de sulfonyle sur la position désirée (position 5) avec l'acide chlorosulfonique (cf. partie suivante).

Finalement, au lieu d'un $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_4\text{-C}_6\text{H}_4$, un groupement $\text{NH-C}_6\text{H}_4\text{-C}_6\text{H}_4$ a été choisi pour la partie gauche, car il était synthétiquement plus facile à faire.

La molécule cible possédant le meilleur compromis entre le score LUDI et l'accès synthétique est donc un dérivé sulfaminométhylpyridine. Celui-ci a un noyau indolique substitué en position 3 par un aldéhyde et un groupement biphenylamine en position 5 de la pyridine **179**.



179

9.2 Synthèse du sulfonamide 179 et de ses dérivés

La synthèse de la molécule **179** a été étudiée lors des études de docking afin qu'elle soit facile à mettre en œuvre et que les réactifs de départ soient commerciaux.

9.2.1 Approche rétrosynthétique et bibliographique

La synthèse de **179** se fait en quatre étapes à partir d'un précurseur commercial : le 5-amino-2-pyridinecarbonitrile (ou 5-aminopicolinitrile) (Schéma 77).

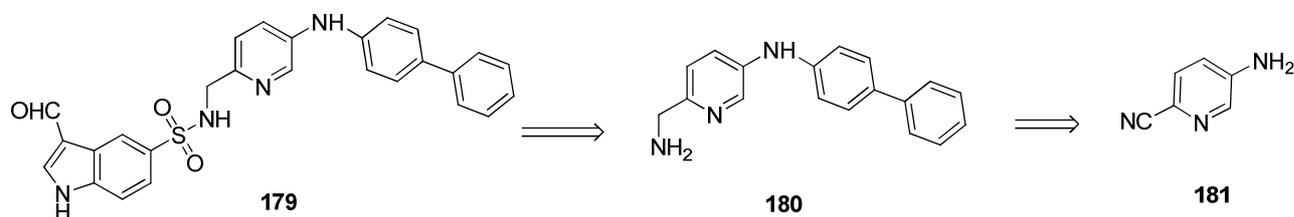


Schéma 77

L'obtention de **180** se fait par un couplage pallado-catalysé de type Buchwald-Hartwig de l'amine primaire du 5-aminopicolinitrile **181** avec le 4-bromobiphényle **114**, puis par la réduction de la fonction nitrile. L'avantage de la fonction nitrile est qu'elle permet, en une seule étape de réduction, d'obtenir le noyau aminométhylpyridine. L'indole-3-carboxaldéhyde est sulfonylé avec l'acide chlorosulfonique, puis additionné au composé **180** pour donner la molécule **179**.

L'étape clé dans cette synthèse est le couplage pallado-catalysé. Ce dernier permet de créer une liaison C-N en une seule étape entre une amine primaire et un dérivé aromatique bromé. Un couplage de ce type entre la 3-aminopyridine et le 7-bromo-2,3-diméthylbenzothiophène a déjà été décrit⁶¹ (Schéma 78).

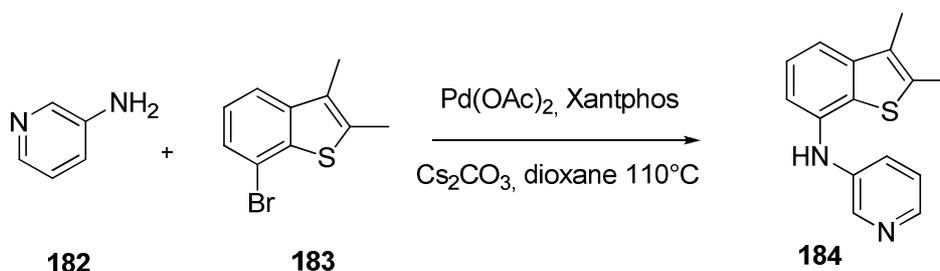


Schéma 78

La réaction se fait dans du dioxane à 110°C sous atmosphère inerte et le composé **184** est obtenu avec 60% de rendement après 19h de réaction. Des couplages de type Buchwald-Hartwig ont aussi été réalisés avec l'assistance des micro-ondes et les produits de couplage ont été obtenus avec des rendements supérieurs à 75%.

Il est ensuite nécessaire de réduire la fonction nitrile afin d'obtenir le motif aminométhylpyridine. Cela constitue la deuxième étape dans la synthèse de **180**. Une réduction du groupement nitrile a été décrite pour un dérivé similaire au composé **180**. La réduction du 5-(4,4,5,5-tétraméthyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)picolinonitrile **185** se fait quantitativement par hydrogénation catalytique en milieu acide⁶² (Schéma 79).

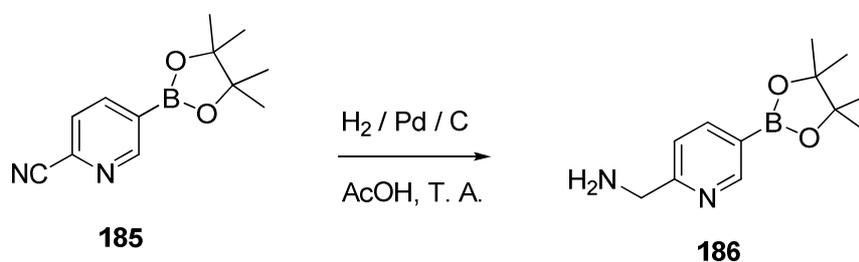


Schéma 79

9.2.2 Synthèse du composé 179

L'étape clé dans la synthèse de **179** est l'étape de couplage pallado-catalysé. Les conditions utilisées sont similaires à celles décrites pour la synthèse du composé **184**. Dix essais ont été effectués sur ce couplage dans le but d'optimiser la réaction. Un rendement de 57% a été atteint pour le premier essai de couplage après purification sur colonne de silice.

Puis, plusieurs essais ont été réalisés avec le réacteur micro-onde dans le but d'optimiser le rendement. Au lieu du dioxane, du DMF a été utilisé ce qui permet d'augmenter la température de réaction. Dans le meilleur cas et après quatre minutes à 180°C, le produit de couplage **187** est obtenu avec 53%.

Finalement, la méthode classique (bain d'huile) a permis d'isoler le produit avec un rendement de 87%, lorsque le temps de réaction est réduit à seulement une heure et le nombre d'équivalent de chaque réactif restent invariants par rapport à ceux décrits pour obtenir **184** (Schéma 80).

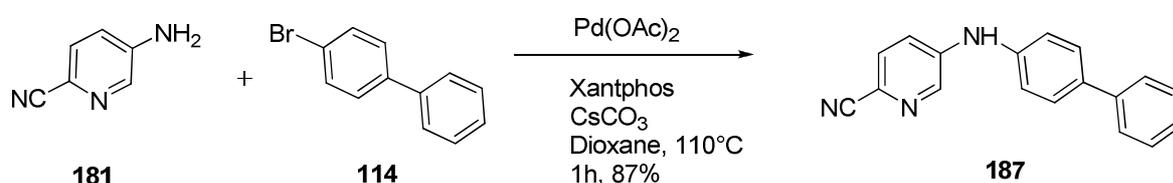


Schéma 80

Le spectre de RMN ^1H du composé **187** ne présente que des protons dans la partie aromatique. Le proton caractéristique en position 6 de la pyridine est observé à δ 8.4 ppm (d, $J= 2.4$ Hz). La présence d'un doublet à la place d'un singulet est probablement due à un couplage longue-distance avec le NH.

Le signal du NH forme un singulet large à δ 9.3 ppm et intègre pour un seul proton. Le spectre de masse indique un seul ion à m/z 272 correspondant à l'ion moléculaire du composé **187**.

La deuxième étape consiste à réduire la fonction nitrile. Etant donné que des conditions ont été décrites pour une telle réaction⁶², nous avons utilisé la méthode de réduction par hydrogénation catalytique en milieu acide acétique. Après plusieurs essais, aucune conversion n'a été observée.

Une autre méthode a donc été envisagée ; il s'agit d'utiliser un réducteur puissant comme LiAlH_4 . Après quelques manipulations de mise au point dans le traitement de la réaction, le composé **180** est obtenu avec 63% de rendement. Bien que le composé **180** possède une

amine primaire, il est possible de purifier le brut de la réaction par chromatographie sur colonne de silice en utilisant 1% de NH_4OH dans le mélange de solvant (dichlorométhane/méthanol) (Schéma 81).

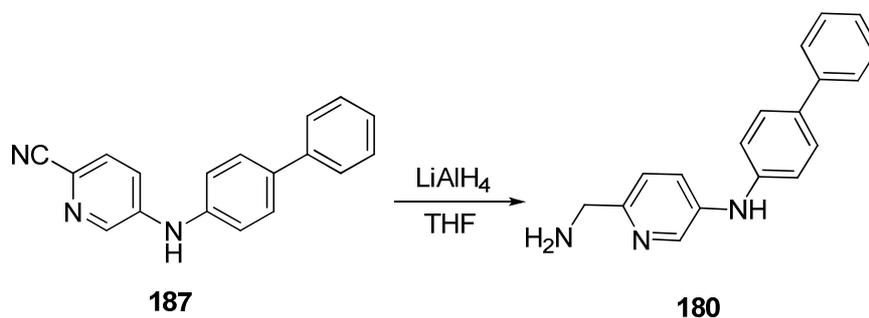


Schéma 81

Le spectre de RMN ^1H de la molécule **180** indique, en plus des huit protons aromatiques, un singulet à δ 3.9 ppm correspondant au CH_2 et un singulet large à δ 5.9 ppm correspondant au NH.

Le signal du CH_2 est retrouvé sur le spectre de RMN ^{13}C à δ 47.1 ppm confirmant que la réduction s'est produite. Enfin, le spectre de masse présente deux ions à m/z 276.00 et m/z 259.30 indiquant l'ion moléculaire et celui du composé $[\text{M}-\text{NH}_2]^+$, respectivement.

Une fois la réduction réalisée, il est possible de synthétiser plusieurs inhibiteurs dont la molécule **179**. En effet, il m'a été demandé de synthétiser dans un premier temps les molécules **188** et **189** possédant une fonction méthylsulfonamide et trifluorométhylsulfonamide, respectivement, afin de valider l'activité inhibitrice de ces dernières (Figure 8). Les inhibiteurs synthétisés au Laboratoire du Pr. Seth Cohen, possèdent tous un ZBG associé à un groupement biphényle et les activités inhibitrices sont inférieures à $10 \mu\text{M}$.

Ainsi, le fait de synthétiser les molécules ci-dessous permet d'avoir une idée sur l'orientation du ZBG dans le site actif. Le choix du groupement trifluorométhyle est guidé par l'électronégativité des atomes de fluor, ce qui aurait pour conséquence d'accroître l'acidité du proton de l'atome d'azote du sulfonamide et ainsi, favoriser la chélation à l'atome de zinc.

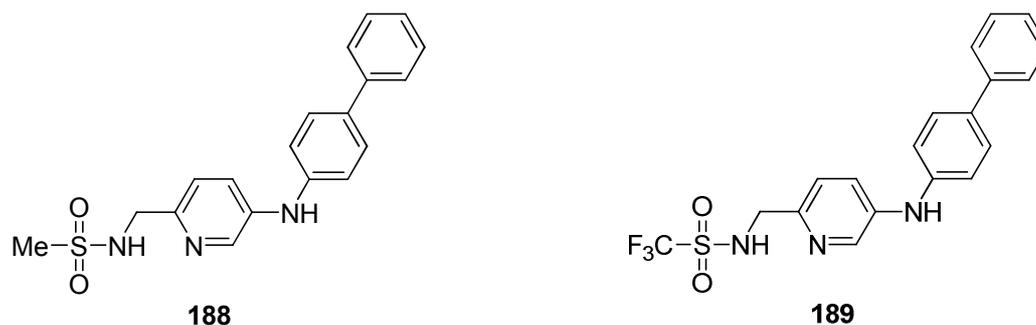


Figure 8 : structure de 188 et 189

Une étape supplémentaire est nécessaire pour synthétiser les molécules **188** et **189** à partir de **180**. Les chlorures de mésyle et de trifluorométhansulfonyle étant commerciaux, un simple couplage en présence d'une base permet d'obtenir la fonction sulfonamide.

Dans le cas du composé **188**, la réaction entre le composé **180** et le chlorure de mésyle **16** se fait dans du dichlorométhane anhydre en présence de pyridine (Schéma 82).

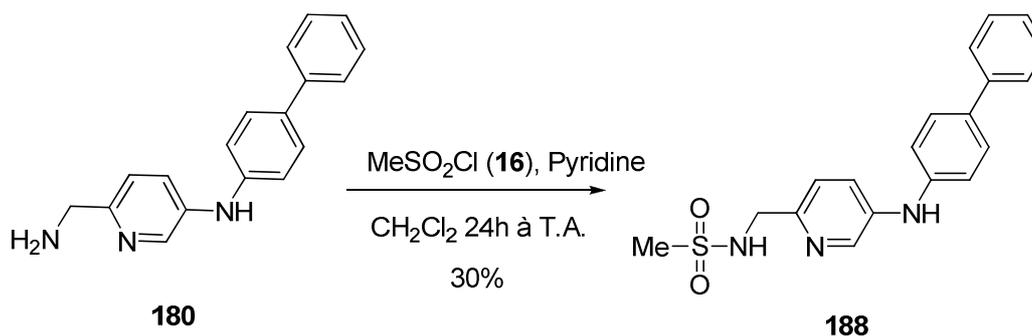


Schéma 82

Le produit obtenu est analysé par RMN. Le spectre de RMN ^1H est assez similaire à celui du composé **180**, se retrouve le CH_2 sous forme d'un singulet à δ 4.5 ppm, ainsi que les huit protons aromatiques dont le signal du proton en position 6 de la pyridine à δ 8.25 ppm. A ces données s'ajoute le singulet correspondant au groupement méthyle à δ 3.1 ppm indiquant la présence de la fonction méthylsulfonamide.

Le spectre de RMN ^{13}C corrobore ces affirmations par la présence du signal correspondant au méthyle à δ 38.7 ppm et celui du CH_2 à δ 42.8 ppm. De plus, le spectre de masse montre un ion à m/z 354.1 correspondant à l'ion moléculaire.

Dans le cas du composé **189**, les conditions réactionnelles sont identiques à celles de la synthèse de **188** avec du trifluorométhanesulfonyl (Schéma 83).

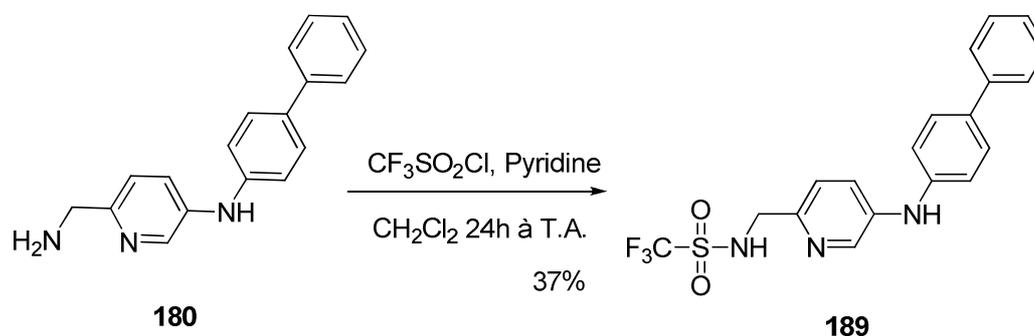


Schéma 83

Le produit **189** est obtenu avec 37% de rendement. Les rendements de couplage pour ces réactions ne sont pas élevés, mais n'ont pas été optimisés. Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C indiquent les mêmes signaux que ceux du produit **188**. La seule différence se trouve dans le signal du CF_3 , qui ne peut être sur le spectre ^1H , mais qui se retrouve à δ 29.9 ppm sur le spectre ^{13}C . Le spectre de masse indique un ion à m/z 408.09 correspondant à l'ion moléculaire et un fragment à m/z 259.32 correspondant à celui du composé **189** sans la fonction trifluorométhylsulfonamide.

La synthèse de la molécule cible **179** passe par la formation d'un chlorure de sulfonyl sur l'indole-3-carboxaldéhyde. Le choix de ce composé particulier a été fait après plusieurs essais infructueux sur le benzimidazole, le méthylbenzimidazole et l'indole.

La réaction entre l'acide chlorosulfonique et l'indole-3-carboxaldéhyde s'effectue à température ambiante et le produit **191** est isolé avec 25% de rendement (Schéma 84).

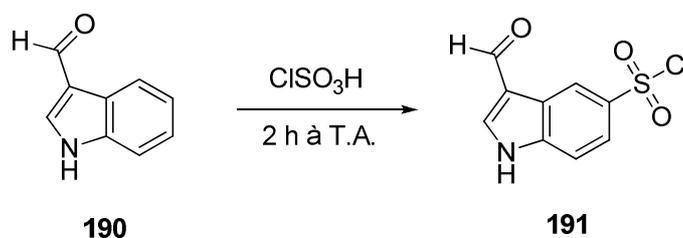


Schéma 84

Le spectre de RMN ^1H de la molécule **191** présente le signal de l'hydrogène de l'aldéhyde à δ 12.1 ppm et les quatre protons restant sur le noyau indolique (sans le NH) entre δ 7.2 et 8.5 ppm. Faute de temps, les autres analyses n'ont pas été effectuées, mais un couplage a toutefois été tenté en vue d'obtenir la molécule **179** et tester son activité inhibitrice.

Le couplage entre les composés **180** et **191** est réalisé dans le THF avec deux équivalents de pyridine. Le composé **179** est obtenu avec un rendement de 37% (Schéma 85).

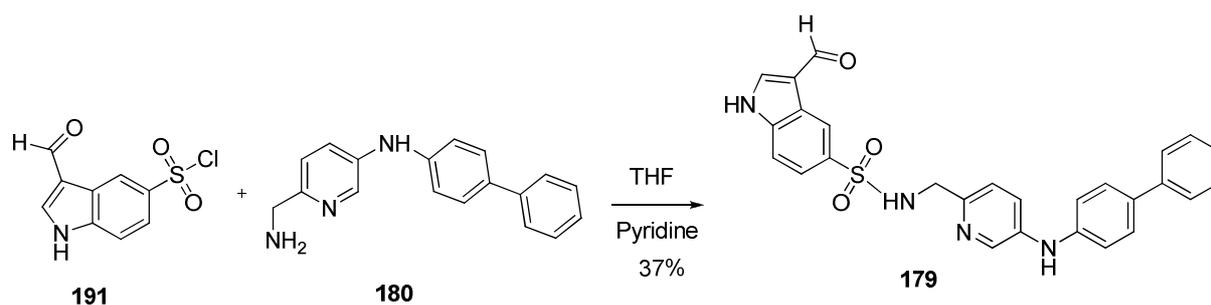


Schéma 85

Le spectre de RMN ^1H de la molécule **179** présente une partie aromatique assez complexe, mais l'intégration indique bien la présence des 16 protons aromatiques. Par ailleurs, les signaux du CH_2 et de l'aldéhyde sont retrouvés à δ 4.1 ppm et 9.9 ppm, respectivement. Cela confirme que la molécule **179** possède les caractéristiques des deux réactifs réunis.

Le spectre de masse indique un ion à m/z 483.07 qui correspond à l'ion moléculaire de la molécule. Une analyse de LC-MS a permis de montrer que la molécule **179** est pure à 97 %.

Le composé **179** est synthétisé en quatre étapes à partir de produits commerciaux. Les rendements n'ont pas été optimisés. Toutefois des essais biologiques ont été effectués sur cette molécule, ainsi que sur les composés **188** et **189**.

9.3 Essais Biologiques

Les trois molécules **179**, **188** et **189** ont été testées sur différentes MMP. Les résultats sont réunis dans les tableaux suivants. Ils sont exprimés en pourcentage d'inhibition à 1 μM (Tableau 17 et Tableau 18).

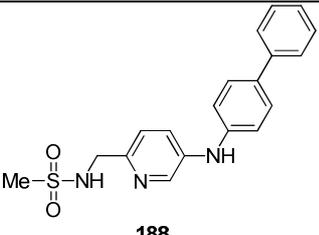
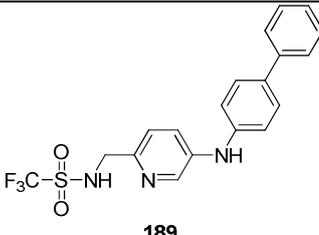
	 188	 189
MMP-1	10 %	5 %
MMP-2	0 %	33 %
MMP-3	24 %	6 %
MMP-7	6 %	12 %
MMP-8	8 %	18 %
MMP-9	0 %	/
MMP-13	6 %	/

Tableau 17 : Pourcentage d'inhibition des molécules 188 et 189 sur différentes MMP à 1 micromolaire

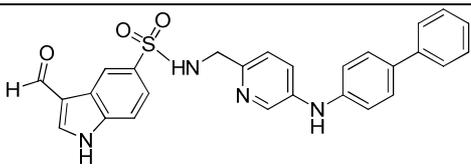
	 179
MMP-2	13 %
MMP-3	0 %

Tableau 18 : Pourcentage d'inhibition à 1 micromolaire du composé 179 sur les MMP -2 et -3

Les résultats sur la molécule **188** ne montrent aucune activité inhibitrice sur les MMP-2 et -9 et une faible activité sur les autres MMP. Lorsque le groupement méthyle est remplacé par un groupement trifluorométhyle, l'activité inhibitrice augmente vis-à-vis de la MMP-2 et une certaine sélectivité est observée. Bien que ces résultats soient moins bons que ceux obtenus dans le cas du maltol, on constate une activité non négligeable à 1 μM qui laisse entrevoir des possibilités de synthèse d'inhibiteurs puissants, spécifique et ce, sans même ajouter de groupement sur la partie gauche du ZBG.

Dans le cas de la molécule **179**, seules les MMP-2 et -3 ont été testées et les résultats préliminaires ne permettent pas vraiment de conclure.

10 Conclusion

Parmi les deux projets réalisés pendant ces six mois passés à San Diego, un seul a permis de donner des inhibiteurs de MMP. La synthèse de chlorure de sulfonyle sur des dérivés du maltol, de l'acide pyroméconique et même des hydroxypyrones n'a pas fonctionné.

Le second projet a été intéressant sur plusieurs points : Premièrement, la stratégie de synthèse a pu être utilisée du début à la fin et en quelques semaines, trois inhibiteurs ont été synthétisés à partir d'un simple ZBG. Deuxièmement, l'interaction avec l'équipe du Pr. Mc Cammon a permis de concevoir des molécules potentiellement actives virtuellement. Enfin, des études de cristallographie ont été réalisées pour servir de base à la synthèse de nouveaux inhibiteurs. Ce deuxième projet montre la complémentarité des aspects autres que ceux de la chimie organique dans la synthèse d'inhibiteurs de MMP.

CONCLUSION

La synthèse de quatre inhibiteurs de MMP a été réalisée durant ma thèse. La première molécule qui a été synthétisée possède un squelette dérivé de l'ilomastat. Les modifications chimiques apportées sur ce dérivé ont permis de synthétiser une molécule possédant une activité de l'ordre du nanomolaire sur les MMP-1, -2, -3, -9 et -14, mais aucune selectivité n'a été observée. Du point de vue synthétique, une réaction nouvelle a été découverte lors des essais de formation de la fonction sulfonylhydrazide. Il s'agit de la synthèse énantiosélective de tétrahydropyridazine-3,6-diones à partir d'un couplage peptidique entre un acide carboxylique possédant un auxiliaire chiral et une sulfonylhydrazine. Bien que les rendements soient pour l'instant faibles, une étude approfondie de cette réaction permettra d'optimiser ces rendements et favoriser la réaction dans le sens de formation des tétrahydropyridazine-3,6-diones.

Les trois autres molécules synthétisées possèdent des noyaux de type aminométhylpyridine. Ces inhibiteurs ont été conçus au sein du laboratoire de l'UCSD grâce à des expériences de cristallisation et de RX associées à un logiciel de docking (Accelrys). Il a été intéressant de réaliser à la fois la conception et la synthèse de ces molécules puis de les tester sur les MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9 et -13. Les inhibiteurs ont été synthétisés en moins de six étapes et les activités obtenues sont de l'ordre du micro-molaire.

Enfin, une étude théorique sur une série de sulfonylhydrazide a permis de mettre en évidence le mode de chélation de cette fonction avec un ion Zn^{2+} . Grâce au supercalculateur ROMEO2, un modèle du site actif des MMP a pu être exploité pour montrer le comportement de la fonction sulfonylhydrazide dans le site catalytique des MMP. Il a été démontré que cette fonction chélatée l'ion Zn^{2+} avec les deux atomes d'oxygènes. Dans le cas où le pH permet de déprotonner la fonction sulfonylhydrazide, les calculs ont mis en évidence la chélation de l'ion Zn^{2+} par l'atome d'azote proche du sulfonyle en plus des deux atomes d'oxygène.

PARTIE EXPERIMENTALE

Appareils

Les spectres infrarouges (IR) sont réalisés sur un spectromètre PERKIN ELMER SPECTRUM BX/RX mono-faisceau à transformée de Fourier. Les principales bandes d'absorption sont données en cm^{-1} .

Les spectres de masse ont été réalisés sur un appareil VG Autospec avec ionisation par impact électronique (énergie du faisceau électronique = -70 eV), Ou sur un spectromètre de masse ThermoFinnigan MAT 900XL. La valeur du rapport m/z est suivie entre parenthèses, de l'intensité relative de l'ion (exprimée en pourcentage du pic de base).

Les spectres de RMN ^1H ont été enregistrés en solution à 300 MHz sur un appareil BRUKER AC300 ou à 400 MHz sur un spectromètre Varian FT-NMR. Les déplacements chimiques δ sont donnés en ppm par rapport au tétraméthylsilane (TMS) comme référence interne et sont suivis des symboles s, d, t, q, m, dd, sl (désignant les singulet, doublet, triplet, quadruplet, multiplet, doublet de doublet, singulet large, respectivement). Les constantes de couplage (J) sont données en hertz.

Les spectres de RMN ^{13}C ont été effectués à 75 MHz sur un appareil BRUKER AC300 ou à 100 MHz sur un spectromètre Varian FT-NMR. Les déplacements chimiques δ sont donnés en ppm par rapport au TMS.

Support de chromatographie

Les chromatographies analytiques sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques de silice MERCK 60F254 (support aluminium).

Les spots sont révélés lors de l'exposition à la lumière UV et par trempage de la plaque dans une solution de vanilline suivi de son chauffage.

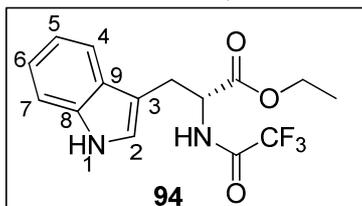
Les chromatographies sur colonne à pression atmosphérique ont été réalisées à l'aide de gel de silice Merck Geduran SI 60, granulométrie 0.063-0.200 mm (70-230 mesh ASTM).

Solvants et Réactifs

Les solvants employés sont des solvants commerciaux purs : le dichlorométhane, le chloroforme, l'acétate d'éthyle, le DMF, l'éthanol, le méthanol, le toluène et l'éther de pétrole. Le THF est rendu anhydre par distillation sur sodium en présence de benzophénone et le dichlorométhane est distillé en présence d'hydrure de calcium.

Les réactifs commerciaux, achetés chez Acros Organics ou Sigma Aldrich, ont été utilisés sans purification supplémentaire.

Préparation du 2-(*S*)-trifluoroacétamido-3-(1*H*-indol-3-yl)-propanoate d'éthyle **94**



$C_{15}H_{15}N_2O_3F_3$

$M = 328.29$ g/mol

Mode opératoire

Cinq grammes (1 éq, 24.5 mmol) de *L*-tryptophane sont dissous dans 80 mL d'éthanol absolu. Le chlorure de thionyle 3.6 mL, 2 éq, 49.0 mmol) est ajouté goutte-à-goutte avec une ampoule à brome en 15 minutes. Le mélange est laissé sous agitation et au reflux 3h30, puis le solvant est évaporé. Le solide blanc obtenu est repris dans de l'AcOEt, cette phase organique est lavée avec une solution aqueuse de $NaHCO_3$ (5%) puis séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration et concentration du solvant, une huile légèrement jaune est isolée. Elle est mise en réaction avec 110 mL de CH_2Cl_2 , la solution est refroidie à $0^\circ C$, 3.4 mL (1 éq, 24.4 mmol) de triéthylamine sont ajoutés ainsi que 7.9 mL (56.9 éq, 2.4 mmol) d'anhydride trifluoroacétique, (dégagement gazeux). Le mélange est laissé à température ambiante et sous agitation pendant une nuit. Le solvant est évaporé et trois cristallisations successives dans du CH_2Cl_2 permettent d'obtenir 4.81 g de cristaux beiges. Les eaux mères sont purifiées par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : Cyclohexane/ CH_2Cl_2 , 40 : 60), 0.78 g supplémentaires de solide blanc sont isolés, soit un masse totale de 5.6 g (72% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H (DMSO- d_6) : δ (ppm): 1.14 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3) ; 3.20-3.35 (m, 2H, CH_2) ; 4.12 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H, CH_2) ; 4.57 (m, 1H, CH) ; 7.02 (m, 1H, H6) ; 7.10 (m, 1H, H5) ; 7.18 (s, 1H, H2) ; 7.37 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, H7) ; 7.55 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H4) ; 9.95 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, NH) ; 10.92 (s, 1H, NH_{indole})

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm): 14.1 (CH_3) ; 26.2 (CH_2) ; 54.0 (CH) ; 61.3 (CH_2) ; 109.4 (C3) ; 111.7 (C7) ; 116.3 (q, $J = 285$ Hz, CF_3) ; 118.4 (C4) ; 118.7 (C6) ; 121.3 (C5) ; 124.0 (C2) ; 127.1 (C9) ; 136.3 (C8) ; 156.6 (q, $J = 37.5$ Hz, $CO(CF_3)$) ; 170.5 (CO_2)

UV (MeOH): λ_{max} (nm): 290, 282, 272, 219, 200

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3374 (NH), 3322 (NH), 1736 (CO), 1696 (CO), 1555, 1304, 1278, 1230, 1176, 1093, 1027, 873, 860, 741, 692

Point de fusion : 117-119°C

Masse (IC) : 328.96 $[M]^+$ (100), 311 (14), 283 (15), 255 (25), 242 (23), 238 (59)

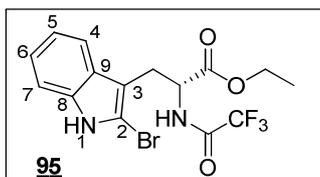
Analyse élémentaire pour $C_{15}H_{15}N_2O_3F_3$:

% calculés : C : 54.88 ; H : 4.61 ; N : 8.53

% mesurés : C : 54.64 ; H : 4.74 ; N : 8.38

$[\alpha]_D^{21}$: -21 ($c=1.13$, DMSO)

**Préparation du 2-(S)-trifluoroacétamido-3-(2-bromo-1H-indol-3-yl)-propanoate
d'éthyle 95**



Mode opératoire

Dans 80 mL de tétrachlorure de carbone, 2.905 g (1 éq, 8.86 mmol) de l'ester **94** sont additionnées. La suspension est agitée et chauffée pour une dissolution partielle, 1.576 g (1 éq, 8.86 mmol) de *N*-bromosuccinimide sont ajoutés par portion. Le mélange est porté au reflux et maintenu pendant 30 minutes. Le solvant est évaporé. L'huile est reprise dans un mélange AcOEt/Cyclohexane (1 : 2), les cristaux roses obtenus sont filtrés (succinimide). Les eaux mères sont purifiées par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant : Cyclohexane/AcOEt, gradient : 80 : 20 □ 70 : 30). Finalement, 3.35 g (8.23 mmol) de solide jaune pâle sont obtenus, soit 93% de rendement.

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm): 1.22 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3) ; 3.32 (m, 2H, CH_2) ; 4.08-4.24 (m, 2H, CH_2) ; 4.91 (dd, $J = 13.8$ Hz, $J = 5.8$ Hz, 1H, CH) ; 6.99 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, NH) ; 7.09 (m, 1H, H6) ; 7.20 (m, 1H, H5) ; 7.25 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H7) ; 7.46 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H4) ; 8.35 (s, 1H, NH_{indole})

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm): 13.8 (CH_3) ; 27.3 (CH_2) ; 52.9 (CH) ; 62.5 (CH_2) ; 109.0 (C2) ; 109.6 (C3) ; 110.7 (C7) ; 116.3 (q, $J = 285$ Hz, CF_3) ; 117.7 (C4) ; 120.5 (C6) ; 122.8 (C5) ; 127.5 (C9) ; 136.0 (C8) ; 156.6 (q, $J = 37.5$ Hz, $CO(CF_3)$) ; 170.2 (CO_2)

UV (MeOH): λ_{max} (nm): 290, 282, 216, 202

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3339 (NH), 1727 (CO), 1701 (CO), 1555, 1450, 1419, 1278, 1194, 1164, 1027, 873, 741, 723, 648

Point de fusion : 134-137°C

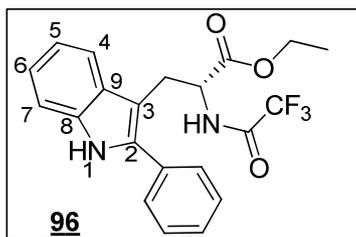
Analyse élémentaire pour $C_{15}H_{14}N_2O_3BrF_3$:

% calculés : C : 44.25 ; H : 3.47 ; N : 6.88

% mesurés : C : 44.41 ; H : 3.34 ; N : 6.78

$[\alpha]_D^{21}$: -14 ($c=1.41$, DMSO)

Préparation du 2-(S)-trifluoroacétamido-3-(2-phényl-1H-indol-3-yl)-propanoate D'éthyle **96**



Mode opératoire

L'acide phénylboronique (0.48 g, 3.93 mmol, 1.5 éq) est dissous dans 70 mL d'un mélange toluène/éthanol (1 : 1) avec 1.07 g (1 éq, 2.63 mmol) de composé bromé **95**. Ajouter 441 mg (2éq, 5.25 mmol) de NaHCO_3 dissous dans suffisamment d'eau, puis 334 mg (3 éq, 7.88 mmol) de LiCl et enfin 303 mg (0.1 éq, 0.26 mmol) de catalyseur $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ sont déposés. La solution jaune est laissée sous agitation et au reflux pendant 4h30. Le mélange rouge est concentré puis repris dans du CH_2Cl_2 et une solution aqueuse de NaHCO_3 (10%). La phase aqueuse est extraite par 3 fois avec du CH_2Cl_2 . Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur sulfate de magnésium puis concentrées. Afin de purifier le mélange brut, une chromatographie sur colonne est réalisée (éluant : CH_2Cl_2 /Essence G, 9 : 1). 677 mg (1.67 mmol) de produits sont isolés (63% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN ^1H (CDCl_3) : δ (ppm): 1.02 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_3) ; 3.58 (m, 3H, $\text{CH}_2(\text{CH}_3)$, $\text{H}(\text{CH}_2)$) ; 3.92 (m, 1H, $\text{H}(\text{CH}_2)$) ; 4.80 (m, 1H, CH) ; 6.68 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, NH) ; 7.12-7.57 (m, 9H, H_{indole} , H_{Ph}) ; 8.22 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{indole}}$)

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ (ppm): 13.7 (CH_3) ; 26.5 (CH_2) ; 53.4 (CH) ; 61.9 ($\text{CH}_2(\text{CH}_3)$) ; 105.6 (C3) ; 111.0 (C7) ; 116.3 (q, $J = 285$ Hz, CF_3) ; 118.5 (C6) ; 120.2 (C4) ; 122.7 (C5) ; 128.2, 128.3 (C_{Ph}) ; 128.9 (C9) ; 129.0 ; 129.1 (C_{Ph}) ; 132.5 (C_{Ph}) ; 135.6 (C2) ; 136.3 (C8) ; 156.6 (q, $J = 37.5$ Hz, $\text{CO}(\text{CF}_3)$) ; 170.2 (CO_2)

UV (MeOH): λ_{max} (nm): 304, 241, 221, 199

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3374 (NH), 3286 (NH), 1753 (CO), 1705 (CO), 1555, 1450, 1278, 1203, 1172, 1018, 877, 745, 697

Point de fusion : 172-174°C

Masse (IC) : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 405.29 (100), 405 (60), 339 (15), 218 (20), 206 (15)

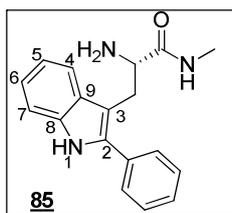
Analyse élémentaire pour $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}_3$:

% calculés : C : 62.37 ; H : 4.74 ; N : 6.93

% mesurés : C : 62.18 ; H : 4.66 ; N : 6.82

$[\alpha]_{\text{D}}^{21}$: -10.5 ($c=0.84$, DMSO)

Préparation du 2-(S)-amino-N-méthyl-3-(2-phényl-1H-indol-3-yl)-propionamide **85**



Mode opératoire

Une solution de 7 mL d'éthanol absolu avec 671 mg (1.66 mmol) de **96** et 7 mL de méthylamine aqueuse est laissée sous agitation à température ambiante pendant une nuit. Le solvant est évaporé, puis repris avec du CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée 3 fois avec une solution aqueuse d'HCl (5%). Les phases acides rassemblées sont alors alcalinisées avec une solution aqueuse de NaHCO_3 (10%) jusqu'à pH 8. Puis, cette phase aqueuse est extraite avec du CH_2Cl_2 qui est ensuite séchée sur du MgSO_4 . L'évaporation du solvant permet alors d'obtenir 375 mg (1.27 mmol) d'un solide blanc (77% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN ^1H (DMSO- d_6) : δ (ppm): 1.50 (sl, 2H, NH_2) ; 2.56 (d, $J = 4.6$ Hz, 3H, CH_3) ; 2.90 (dd, $J = 14.0$ Hz, $J = 8.6$ Hz, 1H, CH_2) ; 3.24 (dd, $J = 14.0$ Hz, $J = 5.1$ Hz, 1H, CH_2) ; 3.55 (m, 1H, CH) ; 7.03 (m, 1H, H6) ; 7.13 (m, 1H, H5) ; 7.40 (m, 2H, H_{Ph}) ; 7.52 (m, 2H, H_{Ph} , H7) ; 7.64 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H4) ; 7.75 (m, 2H, H_{Ph}) ; 7.82 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, NH) ; 11.25 (s, 1H, $\text{NH}_{\text{indole}}$)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm): 25.8 (CH_3) ; 31.2 (CH_2) ; 56.4 (CH) ; 108.8 (C3) ; 111.1 (C7) ; 118.9 (C6) ; 119.4 (C4) ; 121.8 (C5) ; 127.7 ; 128.5 ; 128.9 (C_{Ph}) ; 129.1 (C9) ; 133.2 (C_{Ph}) ; 135.9 (C2) ; 136.3 (C8) ; 175.5 (CO)

UV (MeOH): λ_{max} (nm): 305, 239, 222, 198

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3269 (NH), 3049 (NH), 2925 (CH), 1648 (CO), 1533, 1450, 1406, 1340, 1260, 1155, 1005, 921, 847, 767, 741, 697

Point de fusion : 76-78°C

Masse (IC) : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 294.11 (50), 277 (100), 235 (30), 220 (22)

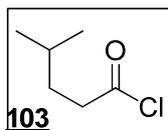
Analyse élémentaire pour $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$, 0.5 H_2O :

% calculés : C : 71.50 ; H : 6.67 ; N : 14.32

% mesurés : C : 71.49 ; H : 6.62 ; N : 13.89

$[\alpha]_{\text{D}}^{21}$: +9 (c=0.79, DMSO)

Préparation du chlorure de 4-méthylpentanoyle **103**



Référence : Ceruti, M.; Rocco, F.; Viola, F.; Balliano, G.; Grosa, G.; Dosio, F.; Cattel, L. *Eur. J. Med. Chem.*, **1993**, 28, 675-682

Mode opératoire

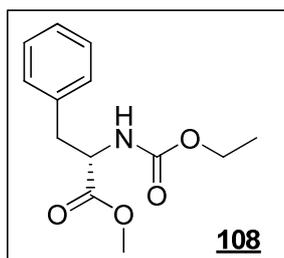
L'acide carboxylique **102** (9.4 mL, 1 éq, 74.0 mmol) est mis sous agitation, dans 20.0 mL (3.7 éq, 274 mmol) de $SOCl_2$. Le mélange est laissé au reflux pendant 2h. L'excès de $SOCl_2$ est alors évaporé sous vide, avec 100 mL de K_2CO_3 dans le ballon de réception. Le chlorure d'acide est ensuite distillé à $60^\circ C$ sous 1 mmHg de pression et 8.07 g (59.9 mmol) d'une huile incolore sont ainsi isolés (80%).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$): δ (ppm): 0.92 (d, $J = 6.3$ Hz, 6H, CH_3) ; 1.55-1.67 (m, 3H, CH, CH_2) ; 2.88 (m, 2H, $CH_2(CO)$)

RMN ^{13}C ($CDCl_3$): δ (ppm): 22.0 ; 22.2 (CH_3) ; 27.2 (CH) ; 33.6 (CH_2) ; 45.3 (CH_2) ; 174.0 (CO)

Préparation du 2-(S)-(éthoxycarbonylamino)-3-phényl-propanoate de méthyle **108**



Référence : Lewis, N.; McKillop, A.; Taylor, R.; Watson, R. J. *Synth. Comm.*, **1995**, *25*, 561-568

Mode opératoire

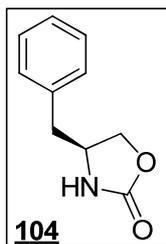
Du méthanol (43 mL) est placé à 0°C puis 7 mL de chlorure d'acétyle (96 mmol, 3.2 éq) sont ajoutés goutte-à-goutte. Ensuite à cette solution 5 g de L-Phénylalanine (30 mmol, 1 éq) sont additionnées et le mélange est laissé sous agitation à température ambiante (TA) pendant 12h puis, le solvant est évaporé. Le produit obtenu est dissous dans 130 mL d'eau, puis 13 g d'hydrogénocarbonate de sodium (153 mmol, 5.1 éq) sont ajoutés par petites portions avant d'adjoindre 3.5 mL de chloroformiate d'éthyle (36 mmol, 1.2 eq) goutte-à-goutte. Le mélange réactionnel est agité pendant 4h à TA, puis extrait 3 fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et évaporées.

Le produit **108** est isolé sous forme d'huile de couleur jaune (6.78 g, 90% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN ^1H (CDCl_3) : δ (ppm) : 1.23 (t, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 3H, CH_3) ; 3.10 (m, 2H, CH_2) ; 3.72 (s, 3H, CH_3O) ; 4.11 (q, $J = 7.1 \text{ Hz}$, 2H, CH_2) ; 4.65 (m, 1H, CH) ; 5.10 (d, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 1H, NH) ; 7.11-7.33 (m, 5H, CH_{Ph})

Préparation du 4-(*S*)-benzyloxazolidin-2-one **104**



Référence : Lewis, N.; McKillop, A.; Taylor, R.; Watson, R. J. *Synth. Comm.*, **1995**, 25, 561-568

Mode opératoire

Le produit **108** est dissous dans un mélange de 18.4 mL de THF et 36.8 mL d'éthanol. 1.7 g de borohydrure de sodium (45 mmol, 1.65 éq) et 4 g de chlorure de calcium (36 mmol, 1.35 éq) sont ajoutés par petites portions. Le mélange est agité pendant 12h à température ambiante, puis acidifié avec une solution d'acide citrique (2M) jusqu'à pH 4. Ensuite, il est extrait avec de l'acétate d'éthyle et lavé avec une solution aqueuse de chlorure de sodium saturée. La phase organique est séchée et filtrée sur bouchon de silice pour donner 4.9 g de produit solide de couleur blanche qui est utilisé tel quel pour la suite de la réaction. Le brut est ensuite dissous dans 33 mL de toluène, puis 71.8 mg de carbonate de potassium (0.72 mmol, 0.033 éq) sont ajoutés. Le mélange est porté au reflux pendant 8h, puis évaporé et cristallisé dans du toluène.

Un produit solide de couleur jaune est obtenu (4.19 g, 23.6 mmol) avec un rendement de 79 %.

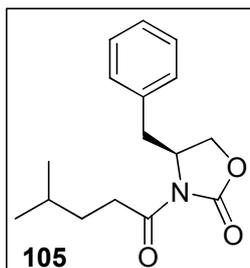
Analyses physico-chimiques

RMN ¹H (CDCl₃) : δ (ppm) : 5.76 (m, 2H, CH₂) ; 4.04-4.16 (m, 2H, CH₂O) ; 4.42 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH) ; 5.91 (sl, 1H, NH) ; 7.16-7.36 (m, 5H, CH_{Ph})

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm) : 41.5 (CH₂) ; 53.9 (CH) ; 69.7 (CH₂O) ; 127.4 ; 129.1 ; 129.2 (CH_{Ph}) ; 136.1 (C_{Ph}) ; 159.7 (CO)

[α]_D²¹ : -62.2 (c=1, CHCl₃)

Préparation du 3-(4-méthylpentanoyl)-4-(S)-benzyloxazolidin-2-one **105**



$C_{16}H_{21}NO_3$ M = 275.35 g/mol

Référence : Lewis, N.; McKillop, A.; Taylor, R.; Watson, R. J. *Synth. Comm.*, **1995**, 25, 561-568

Mode opératoire

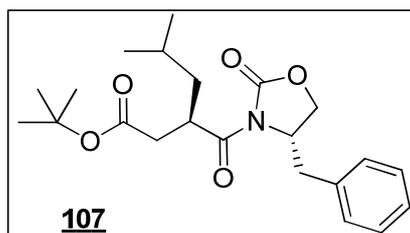
Dans 33 mL de THF fraîchement distillé, 4.2 g d'oxazolidinone **104** sont dissous, puis refroidis à $-78^{\circ}C$ sous N_2 . 18 mL de *n*-butyllithium (1.3 M, 1 éq) sont ajoutés à la solution. Le mélange est laissé à $-78^{\circ}C$ pendant 1h, puis 3.51 g du chlorure d'acide (1.1 éq) sont additionnés. La solution est agitée 1h supplémentaire à $-78^{\circ}C$, puis laissée lentement revenir à température ambiante. Le mélange est alors neutralisé avec une solution aqueuse de NH_4Cl à 30%. Le solvant est évaporé et la phase aqueuse est extraite avec du CH_2Cl_2 . La phase organique extraite est lavée successivement avec des solutions aqueuses de NaOH (1M), de NaCl et d'eau distillée. Cette solution est séchée, filtrée et évaporée. Après purification du produit sur colonne de silice, 5.42 g d'huile incolore sont obtenus, soit 83% de rendement.

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm): 0.94 (d, $J = 6.2$ Hz, 6H, CH_3) ; 1.60 (m, 3H, CH, CH_2) ; 2.76 (dd, $J = 9.6$ Hz, $J = 13.3$ Hz, 1H, CH_{2Ph}) ; 2.94 (m, 2H, $CH_2(CO)$) ; 3.30 (dd, $J = 3.3$ Hz, $J = 13.3$ Hz, 1H, CH_{2Ph}) ; 4.18 (m, 2H, CH_2O) ; 4.67 (m, 1H, CH) ; 7.20-7.37 (m, 5H, CH_{Ph})

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm): 22.1 ($2CH_3$) ; 27.4 (CH) ; 32.9 (CH_2) ; 33.4 (CH_2) ; 37.7 (CH_2) ; 54.9 (CH) ; 65.9 (CH_2) ; 127.1 ; 128.7 ; 129.2 (CH_{Ph}) ; 135.1 (C_{Ph}) ; 153.2 (CO) ; 173.4 (CO)

Préparation du *N*-[2-(*R*)-(tert-butylcarboxyméthyl)-4-méthylpentanoyl]-4-(*S*)-benzyloxazolidin-2-one 107



Référence : Levy D E *et al. J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 199-223

Mode opératoire

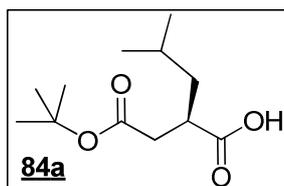
Dans un tricol sec équipé d'un thermomètre, 3.35 g d'oxazolidinone **105** (12.2 mmol) sont dissous dans 20 mL de THF. La solution est refroidie à $-78^{\circ}C$, avant que 26.8 mL de LiHMDS (0.5M, 1.1 éq) ne soient ajoutés. Lors de l'addition, ne pas dépasser $-65^{\circ}C$. Après 1h d'agitation à $-78^{\circ}C$, 4.4 mL de bromoacétate de tertibutyle (2.5 éq, 3.04 mmol) sont ajoutés, ne pas dépasser $-70^{\circ}C$. L'agitation est maintenue 1h à $-78^{\circ}C$, 1h à $-40^{\circ}C$, puis 1h à $0^{\circ}C$, avant d'ajouter à cette solution brune 15 mL d'une solution aqueuse de NH_4Cl saturée. Les deux phases sont séparées, la phase organique est évaporée. L'huile jaune obtenue (lacrymogène) est reprise avec du CH_2Cl_2 et la phase aqueuse précédente est également extraite avec du CH_2Cl_2 . Les phases organiques sont rassemblées, séchées, filtrées sur coton et évaporées. La cristallisation est réalisée par l'ajout de quelques millilitres d'éther dans l'huile. 750 mg de cristaux blancs sont isolés. Les eaux mères sont purifiées sur colonne de silice et 400 mg de cristaux blancs supplémentaires sont obtenus (rendement : 24%).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm): 0.93 (m, 6H, CH_3) ; 1.30-1.67 (m, 3H, $\underline{C}H(CH_3)_2$, CH_2iBu) ; 1.43 (s, 9H, CH_3) ; 2.49 (dd, $J = 4.5$ Hz, $J = 15.5$ Hz, 1H, CH_{2Ph}) ; 2.74 (dd, $J = 10.2$ Hz, $J = 15.0$ Hz, 2H, $CH_2(CO_2tBu)$) ; 3.35 (dd, $J = 2.7$ Hz, $J = 15.5$ Hz, 1H, CH_{2Ph}) ; 4.16 (d, $J = 5.3$ Hz, 2H, CH_2O) ; 4.26 (m, 1H, $CH(CO)$) ; 4.65 (m, 1H, CH) ; 7.26-7.37 (m, 5H, CH_{Ph})

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm): 21.7 ; 23.3 (2 CH_3) ; 25.7 (CH) ; 28.0 (3 CH_3) ; 37.2 ($\underline{C}H_2(CO_2tBu)$) ; 37.5 (CH_{2Ph}) ; 37.6 ($\underline{C}H(CO)$) ; 40.9 (CH_2) ; 55.6 (CH) ; 65.8 (CH_2O) ; 80.6 ($\underline{C}(CH_3)_3$) ; 127.1 ; 128.9 ; 129.5 (CH_{Ph}) ; 135.8 (C_{Ph}) ; 152.9 (CO_2) ; 171.3 (CO_2tBu) ; 176.4 ($\underline{C}HCO$)

Préparation de l'acide 2-(*R*)-((*tert*-butylcarboxyméthyl))-4-méthylpentanoïque **84a**



Référence : Levy, D.E. *et al. J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 199-223

Mode opératoire

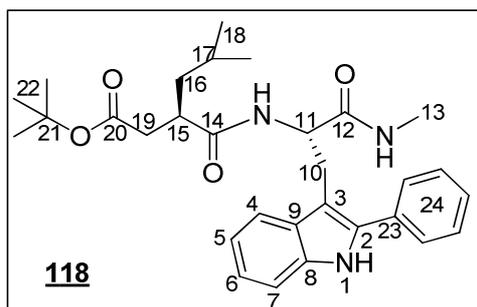
L'oxazolidinone **107** (2 g, 1 éq, 5.1 mmol) est dissoute dans 20 mL un mélange THF/H₂O (4 : 1) et le milieu réactionnel est refroidi à 0°C. Une solution de 290.8 mg (1.35 éq, 6.9 mmol) de LiOH (1.18M) dans 6 mL d'H₂O, puis 3.2 mL de H₂O₂ sont successivement ajoutés. La solution est agitée pendant 5h à cette température. 6.8 mL d'une solution aqueuse de Na₂SO₃ (2.7M) sont alors additionnés au mélange réactionnel. Le THF est évaporé et la phase aqueuse obtenue extraite trois fois avec du CH₂Cl₂. La phase aqueuse est ensuite acidifiée jusque pH 2 avec une solution d'HCl (1M), puis extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique ainsi isolée est séchée sur MgSO₄, filtrée sur coton, puis concentrée et 1.23 g (5.3 mmol) d'huile incolore sont obtenus (100%).

Analyses physico-chimiques

RMN ¹H (CDCl₃) : δ (ppm): 0.91 (d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 3H, CH₃) ; 0.94 (d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 3H, CH₃) ; 1.29-1.66 (m, 3H, CH, CH₂) ; 1.44 (s, 9H, 3CH₃) ; 2.38 (dd, $J = 5.1 \text{ Hz}$, $J = 16.4 \text{ Hz}$, 1H, CH(CH₂CO₂*t*Bu)) ; 2.60 (dd, $J = 9.3 \text{ Hz}$, $J = 16.4 \text{ Hz}$, 1H, CH(CH₂CO₂*t*Bu)) ; 2.86 (m, 1H, CH(CO₂H))

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm): 22.2 (CH₃) ; 22.5 (CH₃) ; 25.7 (CH) ; 27.9 (3CH₃) ; 37.6 (CH₂(CO₂*t*Bu)) ; 39.5 (CH(CO₂H)) ; 40.9 (CH₂) ; 81.1 (C(CH₃)₃) ; 171.2 (CO₂*t*Bu) ; 181.4 (CO₂H)

Préparation du 3-(*R*)-[1-(méthylcarbamoyl)-2-(*S*)-(2-phényl-1*H*-indol-3-yl)-éthylcarbamoyl]-5-méthyl hexanoate de *tert*-butyle 118



Mode opératoire

Dans 6 mL de THF distillé, 92.6 mg d'acide **84a** (1 éq, 0.40 mmol) sont dissous puis 133 mg (1.2 éq, 0.48 mmol) sont ajoutés de DMTMM. La solution est agitée 30 minutes à température ambiante, puis 49.5 μ L (1.1 éq, 0.44 mmol) de NMM et 118 mg (1 éq, 0.40 mmol) de l'amine **85** sont ajoutés au milieu réactionnel. La suspension est agitée 3h à température ambiante. Le solvant est alors évaporé et le mélange est repris avec du CH_2Cl_2 , lavé successivement avec des solutions aqueuses de $NaHCO_3$ à 5% et d'acide citrique à 5% puis, de NaCl saturée. La phase organique résultante est séchée ($MgSO_4$) et le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : Cyclohexane/EtOAc, 7 :3), ce qui permet d'isoler 163 mg (0.32 mmol) d'un solide blanc (80% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H (DMSO- d_6) : δ (ppm): 0.79 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, H18) ; 0.85 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, H18) ; 1.07 (m, 1H, H16) ; 1.38 (m, 11H, H22, H17, H16) ; 2.10-2.27 (m, 2H, H19) ; 2.38 (d, $J = 4.5$ Hz, 3H, H13) ; 2.70 (m, 1H, H15) ; 2.99-3.32 (m, 2H, H10) ; 4.59 (m, 1H, H11) ; 7.01 (m, 1H, H6) ; 7.07 (m, 1H, H5) ; 7.37 (m, 2H, H24) ; 7.50 (m, 2H, H24, H7) ; 7.62 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, NH(CO12)) ; 7.67 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H4) ; 7.73 (m, 2H, H24) ; 11.20 (s, 1H, NH_{indole})

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm): 22.6 ; 23.2 (C18) ; 25.4 (C13) ; 25.9 (C17) ; 27.9 (C22) ; 28.8 (C10) ; 38.2 (C19) ; 40.0 (C15) ; 41.3 (C16) ; 54.3 (C11) ; 79.9 (C21) ; 107.9 (C3) ; 111.2 (C7) ; 118.8 (C6) ; 119.5 (C4) ; 121.7 (C5) ; 127.5 ; 128.3 ; 128.9 (C24) ; 129.3 (C9) ; 133.0 (C23) ; 135.4 (C2) ; 136.1 (C8) ; 171.1 (CO12) ; 171.7 (CO20) ; 173.7 (CO14)

UV (MeOH): λ_{max} (nm): 306, 240, 222, 200

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3383 (NH), 3286 (NH), 2925 (CH), 1727 (CO), 1639 (CO), 1547, 1525, 1450, 1366, 1300, 1252, 1150, 838, 767, 741, 692

Point de fusion : 82-84°C

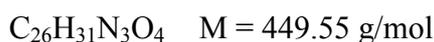
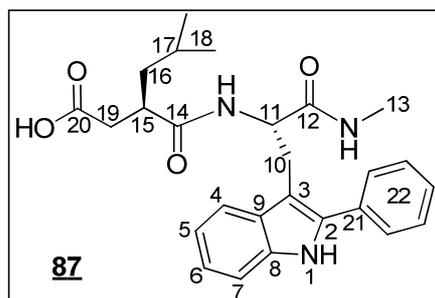
Masse (IC) : $[M+H]^+$ 506.28 (100), 450 (29)

Analyse élémentaire pour $C_{30}H_{39}N_3O_4, 0.5 H_2O$:

% calculés : C : 70.01 ; H : 7.83 ; N : 8.16

% mesurés : C : 70.40 ; H : 8.10 ; N : 8.18
 $[\alpha]_{\text{D}}^{21}$: +21 (c=0.60, DMSO)

Préparation de l'acide 3-(*R*)-[1-(méthylcarbamoyl)-2-(*S*)-(2-phényl-1*H*-indol-3-yl)-éthylcarbamoyl]-5-méthyl hexanoïque **87**



Mode opératoire

L'ester **118** (197 mg, 1 éq, 0.39 mmol) est dissous dans 2 mL (10 mL/g d'ester) de CH_2Cl_2 distillé et 0.5 mL de TFA (2.5 mL/g d'ester), puis est ajouté à la solution une pointe de spatule de dithiothréitol à 0°C. La solution est agitée 15 min à cette température, puis 3 heures à température ambiante le solvant est alors évaporé, puis 219 mg (0.39 mmol) d'une huile sont récupérés, soit 100% de rendement.

Analyses physico-chimiques

RMN 1H (DMSO- d_6) : δ (ppm): 0.78 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H, H18) , 0.85 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H, H18) ; 1.11 (m, 1H, H16) ; 1.37 (m, 2H, H17, H16) ; 2.23 (m, 2H, H19) ; 2.39 (d, $J = 3.9$ Hz, 3H, H13) ; 2.71 (m, 1H, H15) ; 3.18 (m, 2H, H10) ; 4.59 (m, 1H, H11) ; 7.00 (m, 1H, H6) ; 7.10 (m, 1H, H5) ; 7.37 (m, 2H, H22) ; 7.50 (m, 2H, H22, H7) ; 7.61 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H, NH(CO12)) ; 7.68 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H4) ; 7.74 (m, 2H, H22) ; 8.05 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, NH(CO14)) ; 11.20 (s, 1H, NH_{indole}) ; 12.14 (m, 1H, OH)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : δ (ppm): 22.5 ; 23.1 (C18) ; 25.4 (C13) ; 25.9 (C17) ; 28.6 (C10) ; 37.1 (C19) ; 39.9 (C15) ; 41.3 (C16) ; 54.3 (C11) ; 108.0 (C3) ; 111.2 (C7) ; 118.8 (C6) ; 119.5 (C4) ; 121.7 (C5) ; 127.5 ; 128.2 ; 128.8 (C22) ; 129.3 (C9) ; 132.9 (C21) ; 135.3 (C2) ; 136.1 (C8) ; 171.6 (CO12) ; 173.4 (CO14) ; 174.0 (CO20)

UV (MeOH): λ_{max} (nm): 306, 239, 223, 198

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3568 (OH), 3286 (NH), 3057 (NH), 2952 (CH), 1701 (CO), 1635 (CO), 1538, 1454, 1247, 917, 763, 741, 697

Point de fusion : 197-198°C

Masse (IC) : $[M+H]^+$ 450.26 (100), 419 (25), 218 (15)

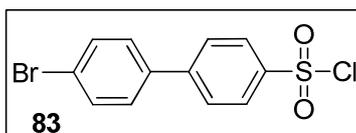
Analyse élémentaire pour $C_{26}H_{31}N_3O_4$:

% calculés : C : 69.47 ; H : 6.95 ; N : 9.35

% mesurés : C : 69.11 ; H : 7.28 ; N : 9.25

$[\alpha]^{21}_D$: +36.5 (c=1.17, DMSO)

Préparation du chlorure de 4-(4'-bromophényl)-phénylesulfonyle **83**



$C_{12}H_8BrClO_2S$

$M = 331.62 \text{ g/mol}$

Mode opératoire

Le 4-bromobiphényle (10 g, 1 éq, 42.9 mmol) est dissous dans 100 mL de chloroforme. L'acide chlorosulfonique (8 mL) est ajouté goutte-à-goutte avec une ampoule à brome surmontée d'un bulleur. La solution est agitée 24 heures à température ambiante, puis le solvant est évaporé. Le solide blanc est repris dans un minimum d'acétate d'éthyle, puis du cyclohexane est ajouté. Les cristaux obtenus sont filtrés et lavés avec du cyclohexane. Des cristaux translucides sont récupérés (12.6 g, 38.0 mmol, 88% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H (Acétone- d_6): δ (ppm): 7.74 (m, 4H, CH) ; 8.06 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 2H, CH) ; 8.20 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 2H, CH)

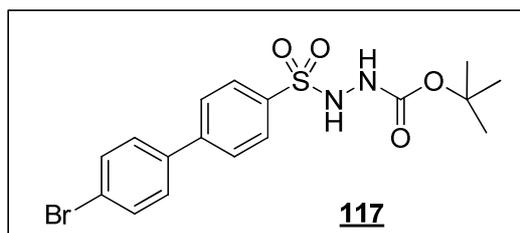
RMN ^{13}C (Acétone- d_6): δ (ppm): 124.1 ; 128.5 ; 129.2 ; 130.3 ; 133.1 ; 138.2 ; 143.7 ; 147.8 (C_{Ph})

IR (KBr) : ν (cm^{-1}): 1567, 1367 (SO_2), 1174 (SO_2), 810, 770, 586

UV (MeOH) : λ_{max} (nm) : 207, 229, 274, 282, 290

Point de fusion : 115-118°C

Préparation du *tert*-butyl 2-(4'-bromobiphényl-4-ylsulfonyl)hydrazinecarboxylate **117**



$C_{17}H_{19}BrN_2O_4S$

$M = 427.3 \text{ g/mol}$

Mode opératoire

Du *tert*-butylcarbazate (1.59 g, 1 éq, 12.0 mmol) est dissous dans 20 mL de THF fraîchement distillé sur sodium et 2 mL de triéthylamine (1.2 éq, 14.4 mmol) sont ajoutés. Une solution contenant 4g (1 éq, 12 mmol) de chlorure de 4-(4'-bromophényl)-phénylsulfonyle **83** dans 20 mL de THF distillé est alors ajoutée, goutte-à-goutte, au mélange réactionnel à 0°C. La solution jaune commence à prendre en masse au bout de 10 minutes. La suspension est agitée pendant 24 heures à température ambiante, puis le solvant est évaporé. Le brut est repris avec du dichlorométhane et la solution obtenue est lavée avec une solution HCl (1N), NaHCO₃ (1N), puis séchée sur MgSO₄. Le produit cristallise sous forme d'un solide blanc dans du dichlorométhane (3.51 g, 8.2 mmol, 68% de rendement).

Analyses physico-chimiques

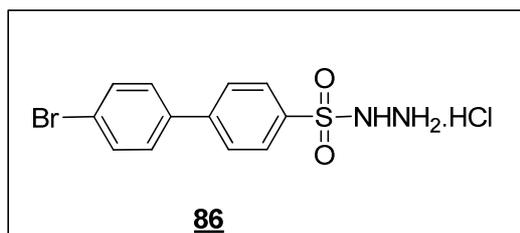
RMN ¹H (CDCl₃) : δ (ppm) : 1.22 (s, 9H, Boc) ; 6.59 (sl, 2H, NH) ; 7.43 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}) ; 7.61 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}) ; 7.68 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}) ; 7.99 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar})

RMN ¹³C (DMSO) : δ (ppm) : 27.9 (3CH₃, Boc) ; 79.8 (CtBu) ; 122.3 ; 127.2 ; 128.7 ; 129.3 ; 129.5 ; 132.3 ; 138.0 ; 138.3 ; 143.2

IR (KBr): ν (cm⁻¹): 3212 (NH), 2976 (CH₃), 1698 (CO), 1590, 1334 (SO₂), 1159 (SO₂), 993, 812, 622

Point de fusion : 158-159 °C

Préparation du 4'-bromobiphényl-4-sulfonylhydrazide **86**



Mode opératoire

L'hydrazine protégée **117** (5.0 g, 1 éq, 23.81 mmol) est dissoute dans 100 mL d'une solution de dioxane chlorhydrique ($c = 4.1 \text{ mol/L}$). 10 mL de méthanol sont ajoutés pour une meilleure dissolution. La précipitation est presque immédiate. Les cristaux blancs sont filtrés sur un verre fritté et rincés avec de l'éther. Finalement, 3.1 g (21.16 mmol) de cristaux sont isolés, soit 89% de rendement.

Analyses physico-chimiques

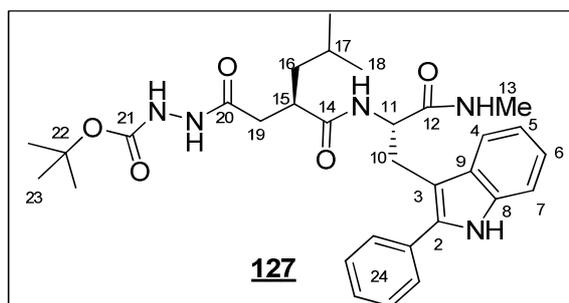
RMN 1H (DMSO): δ (ppm): 7.92 (s, 4H, CH_{ar}) ; 7.95 (s, 4H, CH_{ar})

RMN ^{13}C (DMSO): δ (ppm): 122.5 ; 127.6 ; 128.8 ; 129.4 ; 132.3 ; 136.8 ; 137.8 ; 143.8

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3417, 1638, 1325 (SO_2), 1162 (SO_2), 999, 809, 770.

Point de fusion : 207-209°C

Préparation du *tert*-butyl 2-((*R*)-5-méthyl-3-((*S*)-1-(méthylamino)-1-oxo-3-(2-phényl-1*H*-indol-3-yl)propan-2-ylcarbamoyle)hexanoyl)hydrazinecarboxylate **127**



Mode opératoire

Dans 6 mL de THF distillé, 175 mg d'acide **87** (1 éq, 0.39 mmol) sont dissous puis 129 mg (1.2 éq, 0.48 mmol) de DMTMM sont ajoutés. La solution est agitée 30 minutes à température ambiante, puis 47 μ L (1.1 éq, 0.43 mmol) de NMM et 106 mg (2 éq, 0.8 mmol) de *tert*-butylcarbamate sont ajoutés au milieu réactionnel. La suspension est agitée une nuit à température ambiante. Le solvant est alors évaporé et le mélange est repris avec du CH_2Cl_2 , lavé successivement avec des solutions aqueuses de $NaHCO_3$ à 5% et d'acide citrique à 5% puis, de NaCl saturée. La phase organique résultante est séchée ($MgSO_4$) et le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : Cyclohexane/ $AcOEt$, 1 : 1) et 187.7 mg (0.33 mmol) de solide blanc sont isolés, soit un rendement de 85%.

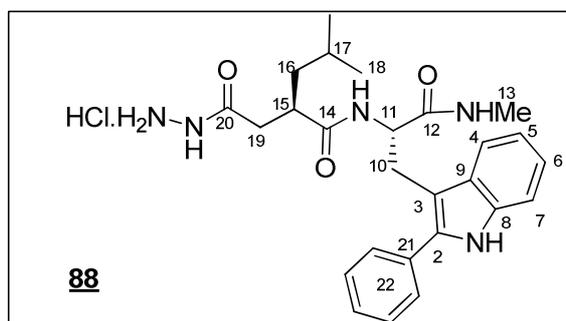
Analyses physico-chimiques

RMN 1H (CD_3OD) : δ (ppm) : 0.75 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, H18) et 0.81 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H, H18) ; 1.10 (m, 1H, $CH(CH_2iBu)$) ; 1.36 (m, 1H, $CHiBu$) ; 1.42 (m, 10H, $CH(CH_2iBu)$, $3CH_3iBu$) ; 2.23 (m, 2H, $CH_2(CONHNH)$) ; 2.45 (s, 3H, $NHMe$) ; 2.7 (m, 1H, CH) ; 3.33 (m, 1H, $CH(CH_2Trp)$) ; 3.45 (m, 1H, $CH(CH_2Trp)$) ; 4.61 (m, 1H, CH_{Trp}) ; 7.00 (t, $J = 6.9$ Hz 1H, CH_{ar}) ; 7.1 (t, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH_{indole}) ; 7.36 (m, 2H, CH_{ar} , CH_{indole}) ; 7.48 (m, 2H, CH_{ar}) ; 7.67 (m, 3H, CH_{ar} , $2CH_{indole}$)

RMN ^{13}C (CD_3OD) : δ (ppm): 22.4 ; 23.2 (C18) ; 26.4 (C13) ; 26.7 (C17) ; 28.5 (C23, C10) ; 37.5 (C19) ; 42.3 (C15, C16) ; 55.8 (C11) ; 81.7 (C22) ; 108.3 (C3) ; 112.0 (C7) ; 120.1 (C6 C4) ; 122.8 (C5) ; 128.5, 129.3 ; 129.9 (C24) ; 130.5 (C9) ; 134.5 (C24) ; 137.1 (C2) ; 137.6 (C8) ; 157.7 (CO21) ; 173.5 (C12) ; 174.1 (CO14) ; 176.9 (CO20)

Masse (IC) : $[M+H]^+$ 564.4 (100), 508.4 (50), 432.4 (25)

Préparation du (*R*)-2-(2-hydrazinyl-2-oxoethyl)-4-méthyl-*N*-((*S*)-1-(méthylamino)-1-oxo-3-(2-phényl-1*H*-indol-3-yl)propan-2-yl)pentanamide **88**



$C_{26}H_{34}ClN_5O_3$

$M = 500.1 \text{ g/mol}$

Mode opératoire

L'hydrazine protégée **127** (27.7 mg, 1 éq, 0.05 mmol) est dissoute dans 2 mL d'une solution de dioxane chlorhydrique ($c = 4.1 \text{ mol/L}$). La précipitation est presque immédiate. Les cristaux blancs sont filtrés sur un verre fritté et rincés avec de l'éther. Finalement, 25 mg (0.05 mmol) sont isolés, soit 100% de rendement.

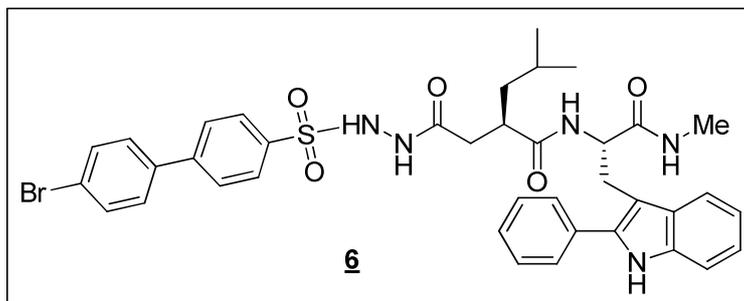
Analyses physico-chimiques

RMN ^1H (CD_3OD) : δ (ppm): 0.79 (d, $J = 6.2 \text{ Hz}$, 3H, H18) ; 0.84 (d, $J = 6.2 \text{ Hz}$, 3H, H18) ; 1.10 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_2i\text{Bu})$) ; 1.36 (m, 2H, $\text{CH}(\text{CH}_2i\text{Bu})$, CH_2iBu) ; 2.32 (m, 2H, $\text{CH}_2(\text{CONHNH})$) ; 2.44 (s, 3H, NHMe) ; 2.8 (m, 1H, CH) ; 3.73 (m, 2H, CH_2Trp) 4.61 (m, 1H, CH_{Trp}) ; 7.00 (t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H, CH_{ar}) ; 7.1 (t, $J = 7.2 \text{ Hz}$ 1H, $\text{CH}_{\text{indole}}$) ; 7.36 (m, 2H, CH_{ar} $\text{CH}_{\text{indole}}$) ; 7.47 (m, 2H, CH_{ar}) ; 7.66 (m, 3H, CH_{ar} , $2\text{CH}_{\text{indole}}$)

RMN ^{13}C (CD_3OD) : δ (ppm): 20.9 ; 21.7 (C18) ; 24.8 (C13) ; 25.1 (C17) ; 29.1 (C10) ; 36.4 (C19) ; 40.7 (C15, C16) ; 54.2 (C11) ; 106.5 (C3) ; 110.4 (C7) ; 118.4 (C6, C4) ; 121.2 (C5) ; 126.1 ; 126.8 ; 127.6 ; 128.9 (C22) ; 130.6 (C9) ; 132.8 (C21) ; 135.5 (C2) ; 136.0 (C8) ; 172.3 (C12) ; 175.3 (CO14)

Masse (IC): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 465.3 (100), 294.2 (30)

Préparation du (*R*)-2-(2-(2-(4'-bromobiphényl-4-ylsulfonyl)hydrazinyl)-2-oxoéthyl)-4-méthyl-*N*-((*S*)-1-(méthylamino)-1-oxo-3-(2-phényl-1*H*-indol-3-yl)propan-2-yl)pentanamide **6**



Mode opératoire

Dans 2 mL de THF anhydre, 42 mg d'acide **87** (1 éq, 0.09 mmol) sont dissous, puis 38 mg (1.5 éq, 0.14 mmol) de DMTMM et 25 μL de NMM (2.5 éq, 0.23 mmol) sont ajoutés. Dans un deuxième ballon, 84 mg (2.5 éq, 0.23 mmol) du composé **86** dans 1 mL de THF distillé sont dissous et ajouter 15 μL de NMM (1.5 éq, 0.14 mmol) sont ajoutés. Les deux suspensions sont agitées 15 minutes à température ambiante, puis le ballon contenant le composé **86** est versé dans le premier ballon. La suspension est agitée 5 heures à température ambiante. Le solvant est alors évaporé et le mélange est repris avec du CH_2Cl_2 , lavé successivement avec des solutions aqueuses de NaHCO_3 à 5% et d'acide citrique à 5%. La phase organique résultante est séchée (MgSO_4) et le produit brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 99 : 1 puis 98 : 2) pour donner 24 mg (0.03 mmol) d'un solide amorphe, soit un rendement de 35%.

Analyses physico-chimiques

RMN ^1H (Acétone- d_6): δ (ppm): 0.68–0.74 (m, 6H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.79 (m, 1H, $\text{CH}_2\text{—CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.25–1.28 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{—CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.06–2.10 (m, 2H, NH—CO—CH_2), 2.38 (s, 3H, CO—NH—CH_3), 2.42–2.50 (m, 1H, $\text{CH—CH}_2\text{—CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.16–3.18 (m, 2H, $\text{CH—CH}_2\text{—indole}$), 4.52–4.53 (m, 1H, $\text{CH—CH}_2\text{—indole}$), 6.99–7.92 (m, 17H, H_{aryl} , H_{indole})

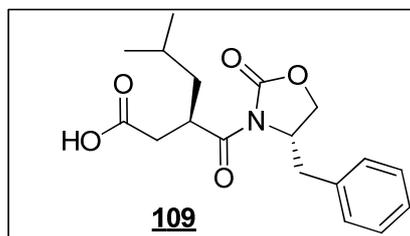
RMN ^{13}C (Acétone- d_6): δ (ppm): 22.4 ; 23.3 ; 26.4 ; 26.7 ; 28.9 ; 37.1 ; 42.0 ; 42.2 ; 55.7 ; 108.2 ; 112.0 ; 120.0 ; 120.1 ; 122.9 ; 128.2 ; 128.5 ; 129.3 ; 129.9 ; 130.0 ; 130.6 ; 133.2 ; 133.3 ; 134.5 ; 137.1 ; 137.7 ; 168.4 ; 173.9 ; 176.6

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3256 (NH), 3057 (NH), 2919, (CH), 1633 (CO), 1508, 1340 (SO_2), 1161 (SO_2), 1094, 806, 700

SMHR (IE ; M^+) calculée 780.1819, observée 780.1831

$[\alpha]_D^{21}$: +8 (c=0.25, MeOH)

Préparation de l'acide (*R*)-3-((*S*)-4-benzyl-2-oxooxazolidine-3-carbonyl)-5-méthylhexanoïque **109**



$C_{18}H_{23}NO_5$ $M = 333.40$ g/mol

Mode opératoire

L'ester **107** (500 mg, 1 éq, 1.28 mmol) dans 5 mL (10 mL/g d'ester) de CH_2Cl_2 distillé et 1.25 mL de TFA (2.5 mL/g d'ester), puis est ajouté à la solution une pointe de spatule de dithiothréitol à 0°C. La solution est agitée une heure à température ambiante, puis le solvant est évaporé, 465 mg (1.28 mmol) d'une huile sont récupérés, soit 100% de rendement.

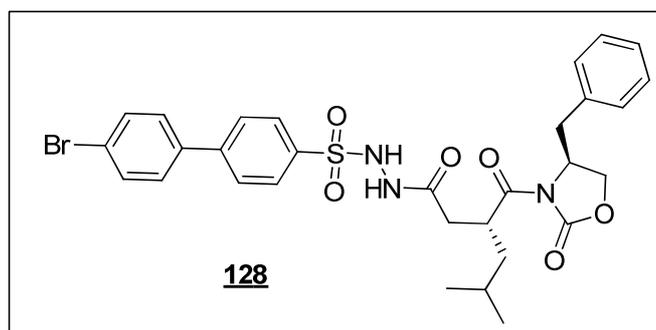
Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm): 0.93 (m, 6H, CH_3) ; 1.30-1.39 (m, 1H, $CH(CH_2iBu)$) ; 1.46-1.63 (m, 2H, $CH(CH_2iBu)$, $\underline{CH}(CH_3)_2$) ; 2.59 (dd, $J = 4.1$ Hz, $J = 17.3$ Hz, 1H, $CH(CH_2CO_2H)$) ; 2.72 (dd, $J = 9.7$ Hz, $J = 13.4$ Hz, 2H, $CH(CH_2Ph)$, $CH(CH_2CO_2H)$) ; 2.88 (dd, $J = 10.5$ Hz, $J = 17.3$ Hz, 1H, $CH(CH_2CO_2H)$) ; 3.26 (dd, $J = 2.7$ Hz, $J = 13.4$ Hz, 1H, $CH(CH_2Ph)$) ; 4.16 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H, CH_2O) ; 4.26 (m, 1H, $CH(CO)$) ; 4.64 (m, 1H, CH) ; 7.21-7.34 (m, 5H, CH_{Ph}) ; 9.30 (sl, 1H, OH)

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm): 21.2; 23.1 (2 CH_3) ; 25.4 (CH) ; 31.9 ($\underline{CH}_2(CO_2tBu)$) ; 35.1 (CH_{2Ph}) ; 35.4 ($\underline{CH}(CO)$) ; 40.6 (CH_2) ; 55.3 (CH) ; 65.7 (CH_2O) ; 126.9 ; 128.7 ; 129.3 (CH_{Ph}) ; 135.2 (C_{Ph}) ; 152.9 (CO_2) ; 171.3 ($CHCO$) ; 176.4 (CO_2H)

Masse (IC) : $[M+H]^+$ 333.01 ; 156 (M-auxiliaire chiral)

Préparation du *N'*-((*R*)-3-((*S*)-4-benzyl-2-oxooxazolidine-3-carbonyl)-5-méthylhexanoyl)-4'-bromobiphenyl-4-sulfonylhydrazide 128



$C_{30}H_{32}BrN_3O_6S$ $M = 642.6 \text{ g/mol}$

Mode Opératoire

Identique à celui décrit pour le composé **118**

Réactifs : 12 mL de THF, 400 mg (1 éq, 1.2 mmol) de l'acide **109**, 0.4 mL (3 éq, 3.6 mmol) de NMM, 398 mg (1.2 éq, 1.44 mmol) de DMTMM et 654 mg (1.5 éq, 1.6 mmol) de l'amine **86** sont mélangés. 24h d'agitation à température ambiante. Après extraction avec du CH_2Cl_2 et une première chromatographie sur gel de silice (éluant : $CH_2Cl_2/MeOH$ 99 : 1) suivi d'une chromatographie sur gel de silice flash (éluant : Cyclohexane/AcOEt, 7 : 3), permet d'isoler 56 mg (0.08 mmol) de composé **128** (8% de rendement).

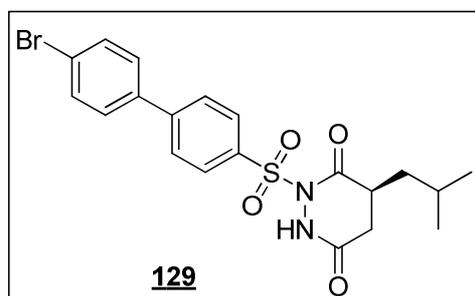
Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm): 0.75 (d, $J = 6.3 \text{ Hz}$, 3H, CH_3iBu) ; 0.77 (d, $J = 6.3 \text{ Hz}$, 3H, CH_3iBu) ; 1.15 (m, 1H, $CH(CH_2iBu)$) ; 1.42 (m, 2H, $CH(CH_2iBu)$, $CHiBu$) ; 2.23 (dd, $J = 4.4 \text{ Hz}$, $J = 15.7 \text{ Hz}$, 1H, $CH(CH_2CONHNH)$) ; 2.55 (m, 2H, $CH(CH_2Ph)$, $CH(CH_2CONHNH)$) ; 2.92 (dd, $J = 3.3 \text{ Hz}$, $J = 13.5 \text{ Hz}$, 1H, $CH(CH_2Ph)$) ; 4.00 (m, 3H, $CH(CO)$ et CH_2O) ; 4.45 (m, 1H, CH) ; 6.9 (m, 2H, CH_{Ph}) ; 7.15 (m, 3H, CH_{Ph}) ; 7.3 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}) ; 7.40 (d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}) ; 7.53 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}) ; 7.89 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 2H, CH_{ar}) ; 8.01 (d, $J = 5.4 \text{ Hz}$, 1H, NH)

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm): 21.5 ; 23.1 ($2CH_3$) ; 25.5 ($CHiBu$) ; 35.1 ($CH_2(CONHNH)$) ; 36.6 (CH_2Ph) ; 37.1 ($CH(CO)$) ; 40.6 (CH_2iBu) ; 55.3 (CH) ; 65.7 (CH_2O) ; 122.8 ; 128.5 ; 128.6 ; 128.8 ; 129.05 ; 131.9 ; 135.05 (C_{Ph}) ; 137.6 ; 145.1 ; 152.9 (CO_2) ; 169.9 ($CONHNH$) ; 176.4 ($CONCO$)

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 2952 (CH_3), 2862, 1774 (CO), 1731, 1695 (CO), 1349 (SO_2), 1168 (SO_2)

Préparation de la (S)-1-(4'-bromobiphényl-4-ylsulfonyl)-5-isobutyltétrahydropyridazine-3,6-dione 129



$C_{20}H_{21}BrN_2O_4S$ $M = 465.4 \text{ g/mol}$

Mode opératoire

Dans 4 mL de THF anhydre sont ajoutés successivement, 262 mg (1 éq, 0.79 mmol) de l'acide **109**, 0.345 mL (4 éq, 3.1 mmol) de NMM et 261 mg (1.2 éq, 0.94 mmol) de DMTMM. La suspension blanche est agitée pendant 15 minutes à température ambiante, puis 314.3 mg (1.1 éq, 0.86 mmol) de l'amine **86** sont ajoutés. Après 24h d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé, puis le brut est repris au chloroforme. La phase organique est lavée par des solutions aqueuses de NaCl saturée et d'eau distillée, puis séchée sur $MgSO_4$ et évaporée. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice (éluant : $CH_2Cl_2/MeOH$ 99 : 1) ce qui permet d'isoler 72 mg (0.15 mmol) de composé **129** (19% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm): 0.90 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3iBu) ; 0.94 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3iBu) ; 1.40 (m, 1H, $CH(CH_2iBu)$) ; 1.72 (m, 2H, $CH(CH_2iBu)$, $CHiBu$) ; 2.45 (m, 1H, $CH(CH_2CONNH)$) ; 2.91 (m, 2H, $CHCONNH$, $CH(CH_2CONNH)$) ; 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH_{ar}) ; 7.60 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH_{ar}) ; 7.69 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH_{ar}) ; 8.01 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, CH_{ar})

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm): 21.5 ; 22.9 (2 CH_3) ; 25.7 ($CHiBu$) ; 33.1 ($CH_2(CONNH)$) ; 36.4 ($CHCO$) ; 40.3 (CH_2iBu) ; 123.1 ; 128.8 ; 128.9 ; 132.2 ; 137.3 ; 137.9 ; 145.4 (C_{ar}) ; 172.7 ; 176.1

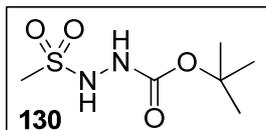
Masse (IC): $[M+H]^+$: 464 (80), 407.9 (80), 294.9 (100)

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3200 (NH), 2958 (CH_3), 2856, 2355, 1789, 1728 (CO), 1343 (SO_2), 1162 (SO_2), 731 (C-Br).

Point de fusion : 120-122°C

$[\alpha]_D^{21}$: -3 (c=1, $CHCl_3$)

Préparation du *N*'-(*tert*-butyloxycarbonyl)-méthyl-sulfonylhydrazide **130**



Mode opératoire

Deux grammes (1 éq, 15.1 mmol) de *tert*-butylcarbazate sont dissous dans 60 mL d'éther contenant 2.3 mL (1.1 éq, 16.1 mmol) de triéthylamine et laisser le milieu réactionnel est refroidi à 0°C. Une solution de 1.15 mL (1 éq, 15.1 mmol) de chlorure de méthanesulfonyle dans 15 mL d'éther est alors ajoutée, goutte-à-goutte, au mélange réactionnel, toujours à 0°C. La solution jaune commence à prendre en masse au bout de 10 minutes. La solution est agitée 1h à 0°C puis 1h supplémentaire à température ambiante. Les cristaux blancs obtenus sont filtrés sur un verre fritté. Le filtrat donne un deuxième jet de cristaux incolores. Finalement, 2.1 g (9.9 mmol) sont isolés, soit 65% de rendement.

Analyses physico-chimiques

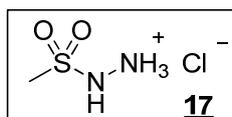
RMN 1H (DMSO- d_6): δ (ppm): 1.43 (s, 9H, 3CH₃) ; 3.92 (s, 3H, CH₃) ; 9.16 (s, 1H, NH(CO₂)) ; 9.23 (sl, 1H, NH(SO₂))

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): δ (ppm): 28.2 (3CH₃) ; 39.7 (CH₃) ; 80.1 (C(*t*Bu)) ; 155.5 (CO)

IR (KBr): ν (cm⁻¹): 3324 (NH), 3256 (NH), 2986, 1715 (CO), 1511, 1331 (SO₂), 1155 (SO₂)

Point de fusion : 63-65°C

Préparation du chlorure de méthanesulfonylhydrazinium **17**



Mode opératoire

L'hydrazine protégée **130** 2.1 g (1 éq, 9.9 mmol) est dissoute dans 30 mL d'une solution d'éther chlorhydrique ($c = 4.1 \text{ mol/L}$). 15 mL d'un mélange CH_2Cl_2 /méthanol (2 : 8) sont ajoutés pour une meilleure dissolution. La précipitation est presque immédiate. Les cristaux blancs sont filtrés sur un verre fritté et rincés avec de l'éther. Finalement, 1.22 g (8.3 mmol) sont isolés, soit 85% de rendement.

Analyses physico-chimiques

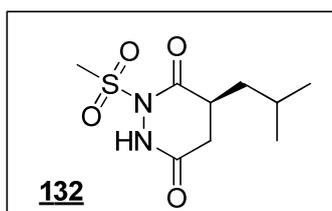
RMN ^1H (DMSO- d_6): δ (ppm): 3.31 (s, 3H, CH_3) ; 6.51 (sl, 3H, NH_3) ; 10.11 (sl, 1H, NH)

RMN ^{13}C (DMSO- d_6): δ (ppm): 40.2 (CH_3)

IR (KBr) : ν (cm^{-1}) = 3419 (NH), 3216 (NH), 2855 (CH), 1344 (SO_2), 1159 (SO_2)

Point de fusion : 65-68°C

Préparation du ((S)-5-isobutyl-1-(méthylsulfonyl) tétrahydropyridazine-3,6-dione **132**



C₉H₁₆N₂O₄S M = 243.8 g/mol

Mode opératoire

Dans 4 mL de THF anhydre sont ajoutés successivement, 262 mg (1 éq, 0.79 mmol) de l'acide **109**, 0.345 mL (4 éq, 3.1 mmol) de NMM et 261 mg (1.2 éq, 0.94 mmol) de DMTMM. La suspension blanche est agitée pendant 15 minutes à température ambiante, puis 126.6 mg (1.1 éq, 0.86 mmol) de l'amine **17** sont ajoutés. Après 24h d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé, puis le brut est repris au chloroforme. La phase organique est lavée par des solutions aqueuses de NaCl saturée et d'eau distillée, puis séchée sur MgSO₄ et évaporée. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : CH₂Cl₂/AcOEt 95 : 5) puis par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant Ether de pétrole/AcOEt 7 : 3) ce qui permet d'isoler 33 mg (0.13 mmol) de composé **132** (17% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN ¹H (CDCl₃) : δ (ppm) : 0,94 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH₃*i*Bu) ; 0.97 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH₃*i*Bu) ; 1.46 (m, 1H, CH(CH₂*i*Bu)) ; 1.8 (m, 2H, CH(CH₂*i*Bu), CH*i*Bu) ; 2.50 (m, 1H, CH(CH₂CONNH)) ; 2.95 (m, 2H, CHCONNH, CH(CH₂CONNH)) ; 3.23 (s, 3H, CH₃SO₂) ; 7.48 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, CH_{ar})

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ (ppm): 22.0 ; 24.0 (2CH₃) ; 25.7 (CH*i*Bu) ; 33.5 (CH₂(CONNH)) ; 37.0 (CHCO) ; 40.1 (CH₂*i*Bu) ; 44.1 (CH₃SO₂) ; 173.1 ; 176.1

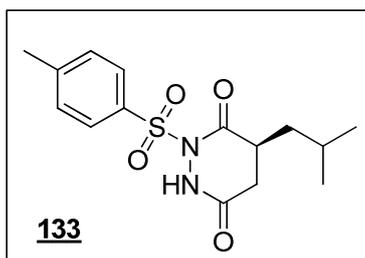
Masse (IC): [M+H]⁺ 248.08 (20), 192.00 (100), 169.08 (80)

IR (KBr): ν (cm⁻¹): 3441 (NH), 3212 (NH), 2952 (CH₃), 1777, 1725 (CO), 1349 (SO₂), 1153 (SO₂).

Point de fusion : 101-103°C

[α]_D²¹ : -7 (c=1, CHCl₃)

Péparation du (S)-5-isobutyl-1-tosyltétrahydropyridazine-3,6-dione **133**



$C_{15}H_{20}N_2O_4S$ $M = 324.4$ g/mol

Mode opératoire

Dans 4 mL de THF anhydre sont ajoutés successivement, 296 mg (1 éq, 0.88 mmol) de l'acide **109**, 0.389 mL (4 éq, 3.55 mmol) de NMM et 294 mg (1.2 éq, 1.06 mmol) de DMTMM. La suspension blanche est agitée pendant 15 minutes à température ambiante, puis 186.7 mg (1.1 éq, 0.97 mmol) de l'amine **39** sont ajoutés. Après 24h d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé, puis le brut est repris au chloroforme. La phase organique est lavée par des solutions aqueuses de NaCl saturée et d'eau distillée, puis séchée sur $MgSO_4$ et évaporée. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : $CH_2Cl_2/MeOH$ 99 : 1) puis par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant $CH_2Cl_2/AcOEt$ 99 : 1) ce qui permet d'isoler 80 mg (0.24 mmol) de composé **133** (27% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm) : 0,91 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3iBu) ; 0,96 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_3iBu) ; 1,37 (m, 1H, $CH(CH_2iBu)$) ; 1,74 (m, 2H, $CH(CH_2iBu)$, $CHiBu$) ; 2,44 (m, 4H, $CH(CH_2CONNH)$, $CH_3-C_6H_4$) ; 2,90 (m, 2H, $CHCONNH$, $CH(CH_2CONNH)$) ; 3,23 (s, 3H, CH_3SO_2) ; 6,96 (sl, 1H, NH) ; 7,33 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, CH_{ar}) ; 7,82 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, CH_{ar})

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) : 21.5 (CH_3iBu) ; 21.7 ($CH_3-C_6H_4$) ; 22.8 (CH_3iBu) ; 25.7 ($CHiBu$) ; 33.0 ($CH_2(CONNH)$) ; 36.4 ($CHCO$) ; 40.5 (CH_2iBu) ; 44.1 (CH_3SO_2) ; 128.3 ; 129.7 (CH_{ar}) ; 171.9 ; 175.6

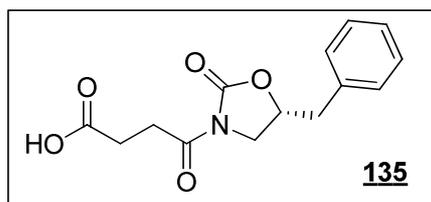
Masse (IC): $[M+H]^+$ 324.12 (15), 268.03 (100), 154.99 (100)

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 2946 (CH_3), 1725 (CO), 1349 (SO_2), 1168 (SO_2), 1087, 815

Point de fusion : 124-126°C

$[\alpha]_D^{21}$: -1 ($c = 0.4$, $CHCl_3$)

Préparation de l'acide (*R*)-4-(5-benzyl-2-oxazolidin-3-yl)-4-oxobutanoïque **135**



$C_{14}H_{15}NO_5$ M 277.3 g/mol

Mode opératoire

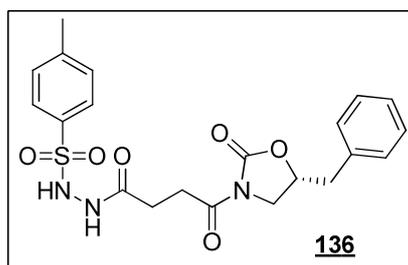
Dans 20 mL de THF fraîchement distillé, 1 g (5.6 mmol, 1 éq.) d'oxazolidinone **104** sont dissous, puis refroidis à -78°C sous N_2 . 2.25 mL de *n*-butyllithium (2.5 M, 5.6 mmol, 1 éq.) sont ajoutés à la solution goutte-à-goutte. Le mélange est agité 1 heure à -78°C , puis une solution contenant 560 mg (5.6 mmol, 1 éq.) d'anhydride succinique dans 10 mL de THF distillé est ajoutée goutte-à-goutte à cette même température. La solution est agitée à cette température pendant une heure puis laissée lentement revenir à température ambiante et agitée une nuit à cette température. Le mélange est alors neutralisé avec une solution aqueuse de NH_4Cl à 30%. Le solvant est évaporé et la phase aqueuse est extraite avec AcOEt. La phase aqueuse est acidifié jusque pH 1 avec une solution d'HCl (2N) puis extraite trois fois avec de l'acétate d'éthyle. Cette phase organique est séchée, puis évaporée. 920 mg (3.3 mmol) sont obtenus, soit 60% de rendement.

Analyses physico-chimiques

RMN ^1H (CDCl_3): δ (ppm): 2.77 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, $\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})$) ; 3.25 (m, 3H, CH_2CONCO , $\text{CH}(\text{CH}_2\text{Ph})$) ; 4.20 (m, 2H, CH_2O) ; 4.67 (m, 1H, CH) ; 7.29 (m, 5H, CH_{ar})

Masse (IC): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 277.10 (40), 177.08 (60), 149.02 (80)

Préparation du (*R*)-*N'*-(4-(5-benzyl-2-oxazolidin-3-yl)-4-oxobutanoyl)-4-methylbenzenesulfonylhydrazide **136**



$C_{21}H_{23}N_3O_6S$ $M = 445.6$ g/mol

Mode opératoire

Dans 3 mL de THF anhydre sont ajoutés successivement, 188 mg (1 éq, 0.67 mmol) de l'acide **135**, 0.297 mL (4 éq, 2.71 mmol) de NMM et 225 mg (1.2 éq, 0.81 mmol) de DMTMM. La suspension blanche est agitée pendant 15 minutes à température ambiante, puis 139 mg (1.1 éq, 0.97 mmol) de l'amine **39** sont ajoutés. Après 24h d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé, puis le brut est repris au chloroforme. La phase organique est lavée par des solutions aqueuses de NaCl saturée et d'eau distillée, puis séchée sur $MgSO_4$ et évaporée. Le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (éluant : Ether de pétrole/ AcOEt 7 : 3) ce qui permet d'isoler 101 mg d'une fraction contenant le composé voulu. Le produit est recristallisé dans un mélange éther de pétrole/ CH_2Cl_2 et 55 mg (0.12 mmol) de composé **136** sont obtenus (19% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm) : 2.37 (s, 3H, $CH_3-C_6H_4$) ; 2.44 (m, 2H, $CH(CH_2CONNH)$) ; 2.75 (m, 1H, $CH(CH_2Ph)$) ; 3.10 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H, CH_2CONCO_2) ; 3.20 (dd, $J = 2.6$ Hz, $J = 13.3$ Hz, 1H, $CH(CH_2Ph)$) ; 4.15 (m, 2H, CH_2O) ; 4.63 (m, 1H, CH) ; 7.15 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H, CH_{ar}) ; 7.32 (m, 5H, CH_{ar} , CH_{tosyl}) ; 7.55 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, NH) ; 7.80 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_{tosyl}) ; 8.57 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H, NH)

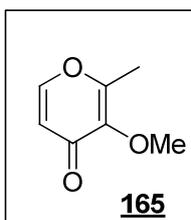
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ (ppm) : 21.6 ($CH_3-C_6H_4$) ; 27.7 ($CH_2CONHNH$) ; 30.8 ($CH_2(CONCO_2)$) ; 37.6 (CH_2Ph) ; 55.02 (CH) ; 66.4 (CH_2O) ; 127.3 ; 128.1 ; 128.4 ; 128.9 ; 129.3 ; 129.7 ; 135.0 ; 144.9 ; 153.4 (CH_{ar}) ; 170.6 (CO) ; 171.8 (CO) ; 172.9 (CO)

Masse (IC): $[M+H]^+$: 268.03 (100), 155.90 (100)

IR (KBr): ν (cm^{-1}): 3429 (NH), 1635 (CO), 1162 (SO_2).

Point de fusion : 164°C

Préparation du 3-méthoxy-2-méthyl-4H-pyran-4-one **165**



$C_7H_8O_3$ $M = 140.1 \text{ g/mol}$

Ref : Youngmin Ma *et al. J. Med. Chem.*, **2004**, 25, 6349-6362

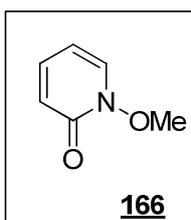
Mode opératoire

A une solution de maltol (12.6 g, 0.1 mol, 1 éq) dans 62 mL de KOH 10% est ajouté à 0°C du Me_2SO_4 (11.3 mL, 0.11 mol, 1 éq) goutte-à-goutte. La solution est agitée 1h30 à température ambiante puis extraite trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, lavées avec des solutions aqueuses de KOH (5%), et d'eau distillée, séchées puis évaporées pour donner 9.98 g (0.07 mol) d'une huile rouge (72% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm) : 2.30 (s, 3H, CH_3) ; 3.83 (s, 3H, OCH_3) ; 6.32 (d, $J_1 = 4.8 \text{ Hz}$, 1H, $CHCO$) ; 7.60 (d, $J = 4.8 \text{ Hz}$, 1H, CHO)

Préparation du 1-méthoxypyridine-2-one 166



$C_6H_7O_2N$

$M = 125.1 \text{ g/mol}$

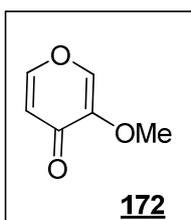
Mode opératoire

A une solution d'hydroxypyronne (1 g, 9 mmol, 1 éq) dans 20 mL de méthanol sont ajoutés du MeI (0.67 mL, 10.8 mmol, 1.2 éq) et du K_2CO_3 (2.48 g, 18 mmol, 2 éq). La solution est agitée une nuit à reflux puis la suspension est filtrée pour enlever l'excès de base, et le solvant est évaporé. Le brut est repris avec du dichlorométhane et le précipité est filtré. Le filtrat est évaporé et 500 mg d'une huile orange sont obtenus (42% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ (ppm) : 4.07 (s, 3H, OCH_3) ; 6.13 (td, $J_1 = 2.0 \text{ Hz}$, $J_2 = 5.6 \text{ Hz}$, 1H) ; 6.6 (d, $J = 8 \text{ Hz}$, 1H) ; 7.3 (m, 1H) ; 7.51 (dd, $J_1 = 1.6 \text{ Hz}$, $J_2 = 5.6 \text{ Hz}$, 1H)

Préparation du 3-methoxy-4H-pyran-4-one **172**



Ref : Liu Z.D. *et al. J. Med. Chem.* **1999**; 42 (23): 4814-4823

Mode opératoire

L'alcool furfurylique (19.6 g, 0.2 mol, 1 éq) est dissous dans du méthanol (160 mL) et du $NaHCO_3$ (37 g, 0.44 mmol, 2 éq) est ajouté à cette solution et le mélange est refroidi à $-40^\circ C$. Une solution de Br_2 (35.2 g, 0.22 mol, 1.1 éq) dans 80 mL de méthanol est ajoutée goutte-à-goutte pendant 1 heure et 20 minutes à $-40^\circ C$. Le mélange est agité 2 heures à température ambiante puis filtré et concentré. Le brut est repris avec du toluène et filtré sur bouchon de silice. Le produit **169** est obtenu après distillation sous pression réduite ($65^\circ C$, 1 mm de Hg) sous forme d'une huile jaune (23.3 g, 73% de rendement).

Le produit **169** (23.3 g, 0.14 mol, 1 éq) est dissous dans 9 mL de méthanol et ajouté goutte-à-goutte à une solution d'acide formique (116 mL, 3.02 mol, 21 éq) dans 6 mL de méthanol. Après l'addition la solution est versée dans 300 mL d'eau puis extraite 6 fois avec du chloroforme. Les phases organiques sont réunies puis extraites avec des solutions aqueuses de $NaHCO_3$ et de $NaCl$ saturée. Le produit **170** est obtenu après distillation sous pression réduite ($38^\circ C$, 1 mm de Hg) sous forme d'une huile incolore (6.35 g, 34% de rendement).

Le composé **179** (6.35g, 49.6 mmol, 1 éq) est dissous dans du dichlorométhane (20 mL) et refroidi à $0^\circ C$, puis sont ajoutés une solution de Br_2 (2.54 mL, 49.6 mmol, 1 éq) dans 5 mL de dichlorométhane et de la triéthylamine (6.9 mL, 49.6 mmol, 1 éq) goutte-à-goutte. La solution est agitée 2 heures à température ambiante puis du toluène est ajouté et la suspension filtrée. Le filtrat est lavé avec des solutions aqueuses de $NaHCO_3$ et de $NaCl$ saturée puis séché et concentré pour donner le composé **171** (5.66 g, 55% de rendement).

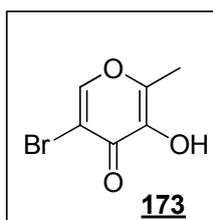
Finalement, le produit **171** (5.6 g) est dissous dans 30 mL de TFA et agité à reflux pendant 2 heures. Le TFA est évaporé et le brut est repris plusieurs fois avec du méthanol et réévaporé. L'huile noire obtenue et passé sur charbon actif et un filtrat rouge est obtenue. Ce dernier est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant CH_2Cl_2 100% à 95/5 $CH_2Cl_2/MeOH$) et un solide rouge est récupéré (1.35 g, 44% de rendement).

A une solution d'acide pyroméconique **161** (500 mg, 4.46 mmol, 1 éq) dans 2.5 mL de KOH 10% est ajouté à $0^\circ C$ du Me_2SO_4 (1.1 mL, 10.7 mmol, 2.4 éq) goutte-à-goutte. La solution est agitée 16 heures à température ambiante puis extraite trois fois avec du dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies, lavées avec des solutions aqueuses de KOH (5%), et d'eau distillée, séchées puis évaporées pour donner 215 mg (1.7 mmol) du composé **172** (38% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN ^1H (CDCl_3) : δ (ppm) : 3.77 (s, 3H, OCH_3) ; 6.41 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, CHCO) ; 7.58 (s, 1H, CHCOMe) ; 7.71 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, CHO)

Préparation du 5-bromo-3-hydroxy-2-méthyl-4H-pyran-4-one **173**



$C_6H_5O_3Br$

$M = 205.1 \text{ g/mol}$

Ref : James H. Looker *et al. J. Org. Chem.*, **1979**, *19*, 3408-3410

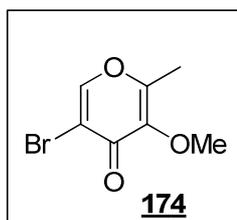
Mode opératoire

Dans un tricol surmonté d'un réfrigérant, d'une ampoule à brome et d'un bouchon est placée une solution de maltol (6 g, 47.6 mmol, 1 éq) dans 50 mL de tétrachloroéthane. La solution est portée à reflux puis du brome (4.8 mL, 95.2 mmol, 2 éq) est ajouté goutte-à-goutte en 20 minutes. La solution est agitée 5 heures à reflux puis le solvant est évaporé. Le brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant CH_2Cl_2) pour donner 3.96 g (19.3 mmol) de produit **173** (40% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H (DMSO): δ (ppm): 2.25 (s, 3H, CH_3) ; 8.60 (s, 1H, CH)

Préparation du 5-bromo-3-methoxy-2-methyl-4H-pyran-4-one **174**



$C_7H_7O_3Br$

$M = 219.0 \text{ g/mol}$

Ref : James H. Looker *et al.* *J. Org. Chem.*, **1979**, *19*, 3408-3410

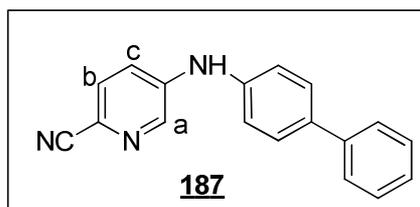
Mode opératoire

Le composé **173** (3.9 g, 19.02 mmol, 1 éq) est dissous dans 70 mL d'acétone sous atmosphère inerte. A cette solution est ajouté du K_2CO_3 (14.45 g, 104.6 mmol, 5.5 éq.) puis le mélange est porté à reflux avant d'ajouter du Me_2SO_4 (1.8 mL, 19.02 mmol, 1 éq). La solution est agitée 20 heures à reflux puis le solvant est évaporé et le brut purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant CH_2Cl_2). Une huile jaune est obtenue (2.06 g, 9.5 mmol, 50% de rendement).

Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CHCl_3$): δ (ppm): 2.33 (s, 3H, CH_3) ; 3.88 (s, 3H, OCH_3) ; 8.00 (s, 1H, CH)

Préparation du 5-(biphenyl-4-ylamino)picolinonitrile **187**



Mode opératoire

A une solution de 5-amino-2-pyridinecarbonitrile **181** (500 mg, 4.2 mmol) dans du dioxane (20 mL) sont ajoutés successivement le 4-bromobiphényle (998 mg, 4.2 mmol, 1 eq.), le xantphos (170 mg, 0.29 mmol, 7 mol %), le carbonate de césium (2.46 g, 7.55 mmol, 1.8 eq.) et le Pd (OAc)₂ (56.5 mg, 0.25 mmol, 6 mol%). La suspension est agitée à 110°C pendant une heure sous atmosphère inerte. Après avoir laissé refroidir jusqu'à température ambiante, de l'eau est ajoutée au milieu et la suspension est extraite trois fois avec du chloroforme. La phase organique est séchée puis évaporée et le brut est recristallisé dans un mélange Ether/CH₂Cl₂ (10/1) pour donner 985 mg d'un solide jaune (87% de rendement).

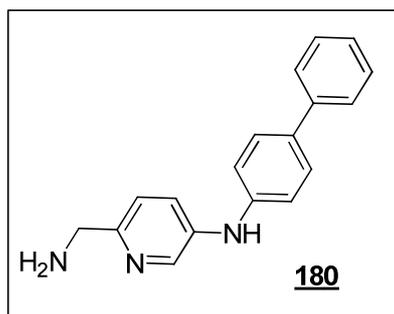
Analyses physico-chimiques

RMN ¹H (DMSO) : δ (ppm) : 7.31 (m, 3H) ; 7.43 (t, $J = 8\text{Hz}$, 2H) ; 7.5 (dd, $J_1 = 8.8 \text{ Hz}$, $J_2 = 2.8 \text{ Hz}$, 1H) ; 7.65 (t, $J = 8 \text{ Hz}$, 3H, Hc) ; 7.75 (d, $J = 8.4 \text{ Hz}$, 1H, Hc) ; 8.38 (d, $J = 2.4 \text{ Hz}$, Hb) ; 9.29 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (DMSO) : δ (ppm) : 119.3 ; 120.7 ; 126.8 ; 127.7 ; 128.4 ; 129.6 ; 130.6 ; 135.2 ; 140.1 ; 140.2 ; 144.4

ESI-MS(+): m/z 272.33 [M+H]⁺.

Préparation du 6-(aminométhyl)-N-(biphényl-4-yl)pyridin-3-amine **180**



Mode opératoire

A une solution de 5-(biphényl-4-ylamino)picolinonitrile **187** (500 mg, 1.81 mmol) dans 18 mL de THF anhydre à 0°C est ajoutée, goutte-à-goutte, une solution de $LiAlH_4$ (105 mg, 2.76 mmol, 1.5 équ.) dans 2 mL de THF anhydre. La suspension est agitée 17 heures à température ambiante puis la réaction est arrêtée à 0°C par ajout de 0.1 mL d'eau distillée, 0.1 mL de NaOH (1M) et 0.3 mL d'eau. Après 20 min, un excès de K_2CO_3 anhydre est ajouté afin de sécher le brut. Le filtrat est séché puis purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (solvant: 20%MeOH/ 1% NH_4OH /DCM) pour donner 310 mg d'un solide orange (63% de rendement).

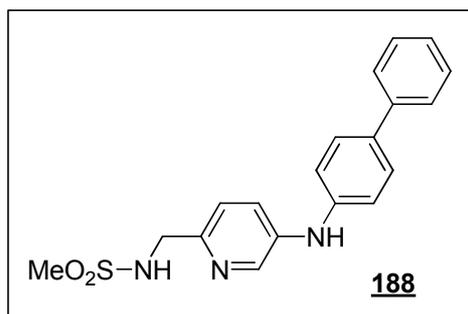
Analyses physico-chimiques

RMN 1H ($CDCl_3$): δ (ppm) : 3.92 (s, 2H, CH_2) ; 5.87 (s, NH) ; 7.11(d, $J = 8 \text{ Hz}$, 2H) ; 7.18 (d, $J = 8 \text{ Hz}$, 1H) ; 7.31 (t, $J = 7 \text{ Hz}$, 1H) ; 7.40-7.46 (m, 3H) ; 7.51 (d, $J = 10.5 \text{ Hz}$, 2H) ; 7.55 (d, $J = 9 \text{ Hz}$, 2H) ; 8.37 (s, 1H, Ha).

^{13}C NMR ($CDCl_3$) : δ (ppm) : 47.2 ; 118.0 ; 121.9 ; 125.3 ; 126.8 ; 127.0 ; 128.3 ; 129.0 ; 134.6 ; 138.5 ; 140.0 ; 140.8 ; 142.0 ; 153.8

ESI-MS(+): m/z 276.00 $[M+H]^+$; 259.30 $[M-NH_2]^+$

Préparation du *N*-((5-(biphényl-4-ylamino)pyridin-2-yl)méthyl)méthanesulfonamide **188**



Mode opératoire

A une solution de la 6-(aminométhyl)-*N*-(biphényl-4-yl)pyridin-3-amine **180** (100 mg, 0.36 mmol) dans 2 mL de dichlorométhane anhydre à 0°C sont ajoutés de la pyridine (58.5 μ L, 0.72 mmol, 2 éq.) et du chlorure de mésyle (42.4 μ L, 0.54 mmol, 1.5 éq.) goutte-à-goutte. La suspension est agitée pendant 24 heures à température ambiante puis extraite avec des solutions de HCl (1N) et d'eau distillée. Un solide jaune précipite dans la phase organique. Ce précipité est filtré et rincé avec du dichlorométhane pour donner 37 mg (0.10 mmol) de produit **188** soit 30% de rendement.

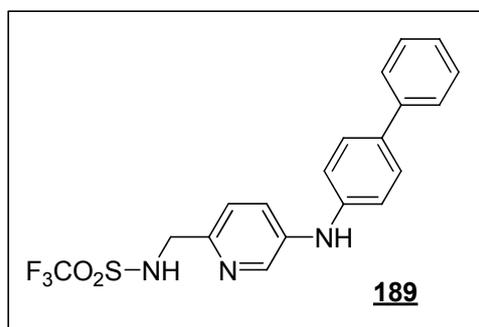
Analyses physico-chimiques

RMN 1H (CD₃OD): δ (ppm) : 3.07 (s, 3H, CH₃) ; 4.53 (s, 2H, CH₂) ; 7.33(m, 3H) ; 7.42 (t, J = 7.6 Hz, 2H) ; 7.60 (d, J = 7.2 Hz, 2H) ; 7.66 (d, J = 8.4 Hz, 2H) ; 7.83 (d, J = 8.8 Hz, 1H) ; 8.1 (dd, J₁ = 8.8 Hz, J₂ = 2.4 Hz, 1H) ; 8.25 (d, J = 2.8 Hz, 1H).

RMN ^{13}C (CD₃OD): δ (ppm): 38.7 (CH₃) ; 42.8 (CH₂) ; 120.9 ; 125.7 ; 126.5 ; 126.9 ; 127.1 ; 128.1 ; 128.8 ; 130.6 ; 137.4 ; 138.7 ; 140.3 ; 141.7 ; 144.2

ESI-MS(+): m/z 354.12 [M+H]⁺·259.33 [M-NH₂SO₂Me]⁺

Préparation du *N*-((5-(biphényl-4-ylamino)pyridin-2-yl)méthyl)-1,1,1-trifluorométhanesulfonamide 189



$C_{19}H_{16}F_3N_3O_2S$ $M = 407.4 \text{ g/mol}$

Mode opératoire

A une solution de 6-(aminométhyl)-*N*-(biphényl-4-yl)pyridin-3-amine **180** (100 mg, 0.36 mmol) dans 2 mL de dichlorométhane anhydre à 0°C sont ajoutés la pyridine (58.5 μL , 0.72 mmol, 2 éq.) et le chlorure de trifluorométhane sulfonyle (58.1 μL , 0.54 mmol, 1.5 éq.) goutte-à-goutte. La suspension est agitée pendant 24 heures à température ambiante puis extraite avec des solutions de HCl (1N) et d'eau distillée. La phase organique est séchée, évaporée puis le brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant : CH_2Cl_2 / MeOH, 98 : 2) pour donner un solide jaune pâle (54 mg, 37% de rendement).

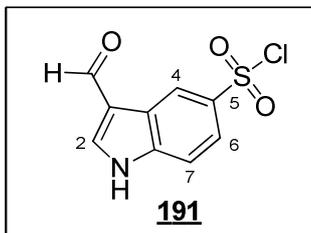
Analyses physico-chimiques

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) : 4.49 (s, 2H, CH_2) ; 5.87 (br s, 1H, NH) ; 7.16 (m, 3H) ; 7.33 (t, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 1H) ; 7.45 (m, 3H) ; 7.57 (m, 4H) ; 8.30 (d, $J = 2 \text{ Hz}$, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm): 29.95 ; 47.57 ; 119.23 ; 124.52 ; 126.88 ; 127.24 ; 128.50 ; 129.06 ; 135.83 ; 138.77 ; 139.99 ; 140.63 ; 140.67 ; 145.46

ESI-MS(+): m/z 408.09 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 259.32 $[\text{M}-\text{NH}_2\text{SO}_2\text{CF}_3]^+$

Préparation du chlorure de 3-formyl-1H-indole-5-sulfonyle **191**



$C_9H_6NO_3S$

$M = 243.7 \text{ g/mol}$

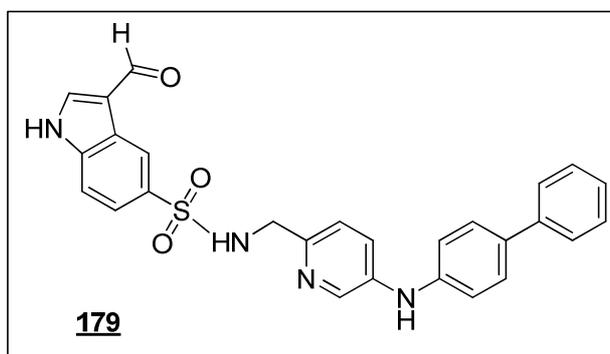
Mode opératoire

L'indole-3-carboxaldehyde (500 mg, 3.44 mmol, 1 éq.) est ajouté par portion à 0°C à 3 mL d'acide chlorosulfonique. La solution est agitée 2 heures à température ambiante, puis versée dans de la glace pilée. Le précipité est filtré et purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant THF / Hexane, 5/5) pour donner 205 mg (0.84 mmol) du composé **191** (24% yield).

Analyses physico-chimiques

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) : δ (ppm) : 7.40 (d, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 1H, CH-6) ; 7.52 (d, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 1H, CH-7) ; 8.28 (d, $J = 2.4 \text{ Hz}$, 1H, CH-2) ; 8.38 (s, 1H, CH-4) ; 9.91 (s, 1H, H_{CHO}) ; 12.1 (sl, 1H, NH)

Préparation du *N*-((5-(biphényl-4-ylamino)pyridin-2-yl)méthyl)-3-formyl-1H-indole-5-sulfonamide **179**



$C_{27}H_{22}N_4O_3S$

$M = 483.6 \text{ g/mol}$

Mode opératoire

A une solution de 6-(aminométhyl)-*N*-(biphényl-4-yl)pyridin-3-amine **180** (100 mg, 0.36 mmol) dans 5 mL de THF anhydre à 0°C est ajouté la pyridine (58.5 μL , 0.72 mmol, 2 eq). Une solution de **191** (133 mg, 0.54 mmol, 1.5 eq .) dans 2 mL de THF anhydre est ajouté goutte-à-goutte. La suspension est agitée pendant 24 heures à température ambiante puis extraite avec des solutions aqueuses de HCl (1N) et d'eau distillée. Un solide précipite dans la phase organique. Ce précipité est filtré et purifié par chromatographie sur colonne de silice flash (éluant CH_2Cl_2 / MeOH, 96 : 4) pour donner 64 mg (0.13 mmol) du composé **179** (37% de rendement).

Analyses physico-chimiques

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) : 4.14 (s, 2H, CH_2) ; 7.00 (d, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 3H) ; 7.16 (sl, 1H, NH) ; 7.29 (t, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 3H) ; 7.40 (m, 3H) ; 7.52 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 3H) ; 7.58 (m, 4H) ; 7.73 (d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 1H) ; 8.23 (sl, 1H, NH) ; 8.61 (sl, 1H, NH) ; 9.94 (s, 1H, H_{CHO})

$\text{ESI-MS}(+)$: m/z 483.07 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$

LC-MS : 97% pure

BIBLIOGRAPHIE

1. MARGARET L. PATTERSON SJA, VERA KNAUPER, GILLIAN MURPHY
Specific collagenolysis by gelatinase A, MMP-2, is determined by the
hemopexin domain and not the fibronectin-like domain
FEBS Letters 2001; 503: 158-162
2. J.-L. BEAUDEUX PG, E. BRUCKERT, M.-J. FOGLIETTI, M.J. CHAPMAN
Métalloprotéases matricielles et athérosclérose. Perspectives thérapeutiques
Annales de Biologie Clinique 2003; 61 (2): 147-158
3. WHITTAKER M, FLOYD CD, BROWN P, GEARING AJH
Design and Therapeutic Application of Matrix Metalloproteinase Inhibitors
Chem. Rev. 1999; 99 (9): 2735-2776
4. FINGLETON B
Matrix metalloproteinases as valid clinical targets
Current Pharmaceutical Design 2007; 13 (3): 333-346
5. CORBITT CA, LIN J, LINDSEY ML
Mechanisms to inhibit matrix metalloproteinase activity: where are we in the development of
clinically relevant inhibitors?
Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery 2007; 2 (2): 135-142
6. JACOBSEN FE, LEWIS JA, COHEN SM
The design of inhibitors for medicinally relevant metalloproteins
ChemMedChem 2007; 2 (2): 152-171
7. MARCQ V, MIRAND C, DECARME M, EMONARD H, HORNEBECK W
MMPs inhibitors: New succinylhydroxamates with selective inhibition of MMP-2 over MMP-
3
Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003; 13 (17): 2843-2846
8. AUGÉ F, HORNEBECK W, DECARME M, LARONZE J-Y
Improved gelatinase A selectivity by novel zinc binding groups containing galardin
derivatives
Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003; 13 (10): 1783-1786
9. DOUR GL
Synthèse de nouveaux inhibiteurs de métalloprotéinases matricielles (MMP)
Th 3^o cycle: Pharm, Science du Médicament: Reims: 2005; 206
10. HINMAN RL
Base strengths of some alkylhydrazines
J. Org. Chem. 1958; 23: 1587-1588
11. CREMLYN RJ
Chlorosulfonic Acid: A Versatile Reagent
Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2002

12. CUSACK NJ, REESE CB, RISIUS AC, ROOZPEIKAR B
2,4,6-Tri-isopropylbenzenesulfonyl hydrazide: a convenient source of di-imide
Tetrahedron 1976; 32 (17): 2157-2162
13. KOIDE Y, UEMOTO K, HASEGAWA T, SADA T, MURAKAMI A, TAKASUGI H, SAKURAI A, MOCHIZUKI N, TAKAHASHI A, NISHIDA A
Pharmacophore-Based Design of Sphingosine 1-phosphate-3 Receptor Antagonists That Include a 3,4-Dialkoxybenzophenone Scaffold
J. Med. Chem. 2007; 50 (3): 442-454
14. UNO H, KUROKAWA M, MASUDA Y, NISHIMURA H
Studies on 3-substituted 1,2-benzisoxazole derivatives. 6. Syntheses of 3-(sulfamoylmethyl)-1,2-benzisoxazole derivatives and their anticonvulsant activities
J. Med. Chem. 1979; 22 (2): 180-183
15. PRAKASH GKS, MATHEW T, PANJA C, OLAH GA
Chlorotrimethylsilane-nitrate salts as oxidants: Direct oxidative conversion of thiols and disulfides to sulfonyl chlorides
J. Org. Chem. 2007; 72 (15): 5847-5850
16. CAVILL JL, ELLIOTT RL, EVANS G, JONES IL, PLATTS JA, RUDA AM, TOMKINSON NCO
The α -effect in iminium ion catalysis
Tetrahedron 2005; 62 (2-3): 410-421
17. UNO H, KUROKAWA M, MASUDA Y, NISHIMURA H
Studies on 3-substituted 1,2-benzisoxazole derivatives. 6. Syntheses of 3-(sulfamoylmethyl)-1,2-benzisoxazole derivatives and their anticonvulsant activities
J. Med. Chem. 1979; 22 (2): 180-183
18. HRUBIEC RT, SHYAM K, COSBY LA, SARTORELLI AC
Synthesis and evaluation of 1-(arylsulfonyl)-2-[(methoxycarbonyl)sulfonyl]-1-methylhydrazines as antineoplastic agents
J. Med. Chem. 1986; 29 (9): 1777-1779
19. ZHAO N, LI Y, WANG Y, WANG J
A facile and efficient synthesis of aryl toluenesulfonylhydrazides and aryl toluenesulfonates under solvent-free conditions
J. Sulf. Chem. 2006; 27 (5): 427-432
20. SHYAM K, HRUBIEC RT, FURUBAYASHI R, COSBY LA, SARTORELLI AC
1,2-Bis(sulfonyl)hydrazines. 3. Effects of structural modification on antineoplastic activity
J. Med. Chem. 1987; 30 (11): 2157-2161
21. SHYAM K, PENKETH PG, DIVO AA, LOOMIS RH, PATTON CL, SARTORELLI AC
Synthesis and evaluation of 1,2,2-tris(sulfonyl)hydrazines as antineoplastic and trypanocidal agents
J. Med. Chem. 1990; 33 (8): 2259-2264

22. LEMAL DM, RAVE TW, MCGREGOR SD
The decomposition of certain 1,1-disubstituted 2-arenesulfonylhydrazine salts
J. Am. Chem. Soc. 1963; 85 (13): 1944-1948
23. SATO T, HOMMA I
Reactions of tosylhydrazide derivatives having olefinic groups
Bull. Chem. Soc. Jpn. 1971; 44 (7): 1885-1891
24. ABDEL-ALEEM AM, ABDEL-GHAFFAR AF
Quinazolinone derivatives of etiological interest. II. Synthesis and antibacterial activity of certain 3-aryl-2-(b-arylsulfonylhydrazinomethyl)-4(3H)-quinazolinones
Ind. J. Pharm. Sci 1980; 42 (3): 79-81
25. MITSUNOBU OY, Y.
Bull. Chem. Soc. Jpn. 1967; 40: 2380-2382
26. MYERS AG, ZHENG B
New and Stereospecific Synthesis of Allenes in a Single Step from Propargylic Alcohols
J. Am. Chem. Soc. 1996; 118 (18): 4492-4493
27. LEGENTIL L, BENEL L, BERTRAND V, LESUR B, DELFOURNE E
Synthesis and Antitumor Characterization of Pyrazolic Analogues of the Marine Pyrroloquinoline Alkaloids: Wakayin and Tsitsikammamines
J. Med. Chem. 2006; 49 (10): 2979-2988
28. WU P-L, PENG S-Y, MAGRATH J
Tosylhydrazines by the reduction of tosylhydrazones with triethylsilane in trifluoroacetic acid
Synthesis 1996; (2): 249-252
29. KAMAL A, KHAN MNA, REDDY KS, ROHINI K
Synthesis of a new class of 2-anilino substituted nicotinyl arylsulfonylhydrazides as potential anticancer and antibacterial agents
Bioorg. Med. Chem. 2007; 15 (2): 1004-1013
30. HILPERT H
Practical approaches to the matrix metalloproteinase inhibitor Trocade (Ro 32-3555) and to the TNF- α converting enzyme inhibitor Ro 32-7315
Tetrahedron 2001; 57 (36): 7675-7683
31. AHN JH, SHIN MS, JUN MA, JUNG SH, KANG SK, KIM KR, RHEE SD, KANG NS, KIM SY, SOHN S-K, KIM SG, JIN MS, LEE JO, CHEON HG, KIM SS
Synthesis, biological evaluation and structural determination of b-aminoacyl-containing cyclic hydrazine derivatives as dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitors
Bioorg. Med. Chem. Lett. 2007; 17 (9): 2622-2628
32. REINECKE MG, BROWN ES
Another rearrangement during the photolysis of lithium 3-[(p-tolylsulfonyl)amino]-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-one
J. Org. Chem. 1988; 53 (1): 208-210

33. SAMMIS GM, FLAMME EM, XIE H, HO DM, SORENSEN EJ
Design, Synthesis, and Reactivity of 1-Hydrazinodienes for Use in Organic Synthesis
J. Am. Chem. Soc. 2005; 127 (24): 8612-8613
34. HAMEURLAINE A, ABRAMOV MA, DEHAEN W
Formation of new heterocycles by intramolecular cyclization reactions of alkynethiolates with nitrogen nucleophiles
Tetrahedron Lett. 2002; 43 (6): 1015-1017
35. ZHOU Y, MURPHY DE, SUN Z, GREGOR VE
Novel parallel synthesis of N-(4-oxo-2-substituted-4H-quinazolin-3-yl)-substituted sulfonamides
Tetrahedron Lett. 2004; 45 (43): 8049-8051
36. CHAN WY, BERTHELETTE C
A mild, efficient method for the synthesis of aromatic and aliphatic sulfonamides
Tetrahedron Lett. 2002; 43 (25): 4537-4540
37. SHYAM K, PENKETH PG, LOOMIS RH, ROSE WC, SARTORELLI AC
Antitumor 2-(Aminocarbonyl)-1,2-bis(methylsulfonyl)-1-(2-chloroethyl)-hydrazines
J. Med. Chem. 1996; 39 (3): 796-801
38. NEWMAN MS, CAFLISH EG, JR.
Effect of surfaces on the McFadyen-Stevens aldehyde synthesis; an improved procedure
J. Am. Chem. Soc. 1958; 80: 862-864
39. HENDRICKSON JB, STERNBACH DD
Mild oxidation of alkyl halides to aldehyde derivatives
J. Org. Chem. 1975; 40 (23): 3450-3452
40. RUBINSTEIN H, SKARBEK JE, FEVER H
Reactions of 3-carboxyacryloylhydrazines and the formation of meleimides, isomaleimides, and pyridazinones
J. Org. Chem. 1971; 36 (22): 3372-3376
41. PHILLIPS RS, COHEN LA
Intramolecular general acid and general base catalyses in the hydrolysis of 2-halotryptophans and their analogs
J. Am. Chem. Soc. 1986; 108 (8): 2023-2030
42. SCHMIDT* U, WEINBRENNER S
Preparation of 2-Bromo-5-hydroxytryptophans
Synthesis 1996; (01): 28-30
43. CHU L, FISHER MH, GOULET MT, WYVRATT MJ
Synthesis of 2-aryltryptamines with palladium catalyzed cross-coupling of 2-bromotryptamines and arylboronic acids
Tetrahedron Lett. 1997; 38 (22): 3871-3874

44. LEVY DE, LAPIERRE F, LIANG W, YE W, LANGE CW, LI X, GROBELNY D, CASABONNE M, TYRRELL D, HOLME K, NADZAN A, GALARDY RE
Matrix Metalloproteinase Inhibitors: A Structure Activity Study
J. Med. Chem. 1998; 41 (2): 199-223
45. BECKETT* RP, CRIMMIN M, DAVIS M, SPAVOLD Z
A Short Diastereoselective Synthesis of 2,3-Disubstituted Succinates
Synlett 1993; (02): 137-138
46. LEWIS N, MCKILLOP A, TAYLOR RJK, WATSON RJ
A Simple and Efficient Procedure for the Preparation of Chiral 2-Oxazolidinones from $\hat{\pm}$ -Amino Acids
Synth. Commun. 1995; 25 (4): 561 - 568
47. O'BRIEN PM, ORTWINE DF, PAVLOVSKY AG, PICARD JA, SLISKOVIC DR, ROTH BD, DYER RD, JOHNSON LL, MAN CF, HALLAK H
Structure-Activity Relationships and Pharmacokinetic Analysis for a Series of Potent, Systemically Available Biphenylsulfonamide Matrix Metalloproteinase Inhibitors
J. Med. Chem. 2000; 43 (2): 156-166
48. KUNISHIMA M, KAWACHI C, MONTA J, TERAOKA K, IWASAKI F, TANI S
4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methyl-morpholinium chloride: an efficient condensing agent leading to the formation of amides and esters
Tetrahedron 1999; 55 (46): 13159-13170
49. HAN S-Y, KIM Y-A
Recent development of peptide coupling reagents in organic synthesis
Tetrahedron 2004; 60 (11): 2447-2467
50. LEDOUR G, MOROY G, ROUFFET M, BOURGUET E, GUILLAUME D, DECARME M, ELMOURABIT H, AUGÉ F, ALIX AJP, LARONZE J-Y, BELLON G, HORNEBECK W, SAPI J
Introduction of the 4-(4-bromophenyl)benzenesulfonyl group to hydrazide analogs of Ilomastat leads to potent gelatinase B (MMP-9) inhibitors with improved selectivity
Bioorg. Med. Chem. 2008; 16 (18): 8745-8759
51. LEE CY, W.; PARR, R.
Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density
Phys. Rev. B 1988; 37: 785-789
52. HAY PJ, WADT WR
Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg
The Journal of Chemical Physics 1985; 82 (1): 270-283

53. WADT WR, HAY PJ
Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for main group elements Na to Bi
The Journal of Chemical Physics 1985; 82 (1): 284-298
54. HAY PJ, WADT WR
Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals
The Journal of Chemical Physics 1985; 82 (1): 299-310
55. PUERTA DT, COHEN SM
Elucidating Drug-Metalloprotein Interactions with Tris(pyrazolyl)borate Model Complexes
Inorg. Chem. 2002; 41 (20): 5075-5082
56. PUERTA DT, MONGAN J, TRAN BL, MCCAMMON JA, COHEN SM
Potent, Selective Pyrone-Based Inhibitors of Stromelysin-1
J. Am. Chem. Soc. 2005; 127 (41): 14148-14149
57. CHENG F, ZHANG R, LUO X, SHEN J, LI X, GU J, ZHU W, SAGI I, JI R, CHEN K, JIANG H
Quantum Chemistry Study on the Interaction of the Exogenous Ligands and the Catalytic Zinc Ion in Matrix Metalloproteinases
J. Phys. Chem. B 2002; 106 (17): 4552-4559
58. MA Y, LUO W, QUINN PJ, LIU Z, HIDER RC
Design, Synthesis, Physicochemical Properties, and Evaluation of Novel Iron Chelators with Fluorescent Sensors
J. Med. Chem. 2004; 47 (25): 6349-6362
59. LIU ZD, KHODR HH, LIU DY, LU SL, HIDER RC
Synthesis, Physicochemical Characterization, and Biological Evaluation of 2-(1'-Hydroxyalkyl)-3-hydroxypyridin-4-ones: Novel Iron Chelators with Enhanced pFe³⁺ Values
J. Med. Chem. 1999; 42 (23): 4814-4823
60. HENDRICKSON KM, GEUE JP, WYNESS O, LINCOLN SF, WARD AD
Coordination and Fluorescence of the Intracellular Zn²⁺ Probe [2-methyl-8-(4-Toluenesulfonamido)-6-quinolyloxy]acetic Acid (Zinquin A) in Ternary Zn²⁺ Complexes
J. Am. Chem. Soc. 2003; 125 (13): 3889-3895
61. QUEIROZ M-JRP, FERREIRA ICFR, CALHELHA RC, ESTEVINHO LM
Synthesis and antioxidant activity evaluation of new 7-aryl or 7-heteroaryl-amino-2,3-dimethylbenzo[b]thiophenes obtained by Buchwald-Hartwig C-N cross-coupling
Bioorg. Med. Chem. 2007; 15 (4): 1788-1794

62. WILES JA, SONG Y, WANG Q, LUCIEN E, HASHIMOTO A, CHENG J, MARLOR CW, OU Y, PODOS SD, THANASSI JA, THOMA CL, DESHPANDE M, PUCCI MJ, BRADBURY BJ

Biological evaluation of isothiazoloquinolones containing aromatic heterocycles at the 7-position: In vitro activity of a series of potent antibacterial agents that are effective against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Bioorg. Med. Chem. Lett. 2006; 16 (5): 1277-1281

Résumé :

Les métalloprotéinases matricielles (MMP) forment une famille d'environ 28 enzymes calcium et zinc dépendantes impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire. Les MMP jouent un rôle prépondérant dans le remodelage et la dégradation de la matrice extracellulaire et sont impliquées dans divers processus pathologiques comme le cancer.

Nos recherches se sont portées sur la synthèse d'un inhibiteur de MMP possédant une fonction sulfonylehydrazide. Trois approches synthétiques ont été étudiées. Après avoir évalué l'activité inhibitrice de ce composé sur différentes MMP, une étude théorique a été menée afin d'étudier le mode de chélation de la fonction sulfonylehydrazide sur le zinc. De la conception *in silico* aux tests biologiques, en passant par la synthèse, une seconde étude a permis de générer trois inhibiteurs de MMP possédant un squelette de type sulfaminopyridine et une activité de l'ordre du micromolaire.

Mots Clés : Métalloprotéinases matricielles, inhibiteurs, synthèse chimique, sulfonylehydrazide, couplage peptidique, calculs théoriques.
