



HAL
open science

Synthèse et fonctionnalisation de 2-thiohydantoïnes : interaction et inhibition des nucléosides monophosphate kinases

Sandrine Gosling

► **To cite this version:**

Sandrine Gosling. Synthèse et fonctionnalisation de 2-thiohydantoïnes : interaction et inhibition des nucléosides monophosphate kinases. Autre. Université d'Orléans, 2011. Français. NNT : 2011ORLE2028 . tel-01249519

HAL Id: tel-01249519

<https://theses.hal.science/tel-01249519>

Submitted on 4 Jan 2016

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

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

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Institut de Chimie Organique et Analytique – UMR 6005

THÈSE

présentée par:

Sandrine GOSLING

soutenue le: 14 Novembre 2011

pour obtenir le grade de: **Docteur de l'Université d'Orléans**

Discipline: Chimie Organique

**SYNTHÈSE ET FONCTIONNALISATION DE 2-
THIOHYDANTOINES.
INTERACTION ET INHIBITION DES
NUCLEOSIDES MONOPHOSPHATE KINASES**

THÈSE dirigée par:

M. Arnaud TATIBOUET

Professeur, Université d'Orléans

RAPPORTEURS:

M. Benoît JOSEPH

Professeur, Université Claude Bernard - Lyon 1

Mme. Mihaela GULEA

HDR, Université de Caen Basse-Normandie

JURY:

M. Patrick ROLLIN

Professeur, Université d'Orléans

Président du jury

M. Benoît JOSEPH

Professeur, Université Claude Bernard - Lyon 1

M. Arnaud TATIBOUET

Professeur, Université d'Orléans

M. Sylvain ROUTIER

Professeur, Université d'Orléans

Mme. Mihaela GULEA

HDR, Université de Caen Basse-Normandie

Mme. Chahrazade EL AMRI

HDR, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI

*A mes parents,
A Thibaut,*

Remerciements

Ce travail de doctorat a été réalisé au sein de l'Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA, UMR-CNRS 6005), à l'Université d'Orléans sous la direction du Professeur Arnaud Tatibouët. Je tiens à remercier M. le Professeur Olivier Martin, Directeur de l'ICOA, pour m'avoir accueillie au sein de ce laboratoire.

Je remercie également l'Agence Nationale pour la Recherche, le CNRS et la région Centre pour leur soutien financier.

Je souhaite, en premier lieu, exprimer mes sincères remerciements à mon directeur de thèse M. le Professeur Arnaud Tatibouët pour m'avoir accueillie dans son équipe, encadrée et donné l'opportunité de travailler sur ce projet. Ce travail n'aurait pu aboutir sans sa disponibilité, son soutien, ses précieux conseils et sa sympathie durant ces trois années. Merci pour tout.

Je remercie également M. le Professeur Patrick Rollin pour son accueil au sein du laboratoire, ses conseils tout au long de ma thèse et pour sa convivialité.

Je souhaite remercier M. Benoît Joseph, Professeur à l'Université Claude Bernard ainsi que Mme. Mihaela Gulea, Chargée de Recherche à l'Université de Caen Basse-Normandie pour avoir accepté de juger ce travail et pour me faire l'honneur de faire partie de mon jury.

Mes remerciements s'adressent également à M. Sylvain Routier, Professeur à l'Université d'Orléans et à Mme. Chahrazade El Amri, Maître de Conférences à l'Université Pierre et Marie Curie qui me font l'honneur de siéger parmi les membres de mon jury.

Je tiens à remercier Mme. Michèle Reboud-Ravaux, Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie pour m'avoir accueillie et permis de réaliser des tests biologiques au sein de l'équipe de Biologie Cellulaire du Vieillessement dirigée par le Pr. Bertrand Friguet.

Je remercie particulièrement Mme. Chahrazade El Amri de m'avoir encadrée, donné les moyens de réaliser ces tests biologiques ainsi que pour sa disponibilité, son aide précieuse et sa sympathie.

Je n'oublie pas de remercier Audrey Desvergnès et Xavier Maréchal d'avoir réalisé les tests d'inhibition sur le protéasome, de m'avoir initiée à la biologie cellulaire et de leur disponibilité. Je les remercie également ainsi que Laure Dufau pour leur accueil chaleureux au sein du laboratoire de biologie.

Je tiens à remercier très chaleureusement tous mes collègues de l'ICOA pour leur accueil, leur aide, leurs précieux conseils et les bons moments passés ensemble au travail mais également en dehors du travail. Merci particulièrement à mes collègues du labo 1: Ana Catarina, Deimante, Sophie, Estelle, Jolanta, Julie, Ana Cristina, Cinzia, Carlo, Anna, Irene, Giulia, Elena, Marie, Sabine, Vilija, Gina, Maria, Marta, Maria Grazia, Justine qui m'ont permis de travailler dans une ambiance sympathique.

Je ne saurais oublier Marie-Madeleine, Yann, Jean-Marie, Laoges, Stéphane pour leur aide au quotidien et leur grande disponibilité.

Enfin, mes remerciements les plus profonds vont à ma famille qui a cru en moi, qui m'a soutenue et encouragée et tout particulièrement à Thibaut et surtout à mes parents qui ont toujours été très présents, en toutes circonstances, durant ces trois années.

Table des abréviations

A

Ac:	acétyle
AChE:	acétylcholinestérase
ACN:	acétonitrile
ADN:	acide désoxyribonucléique
AK:	adénylate kinase
Ar:	aryle
ATP:	adénosine triphosphate

B

BINAP:	2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphthyle
Bn:	benzyle
Boc:	<i>tert</i> -butoxycarbone

C

CBz:	benzyloxycarbone
CCM:	chromatographie sur couche mince
Cdc7:	cell division cycle 7
CDK:	cyclin-dépendent kinase
CMI:	concentration minimale inhibitrice
CMPK:	cytidine monophosphate kinase
CuAAC:	copper (I) catalysed azide-alkyne cycloaddition
CuMeSal:	3-méthylsalicylate de cuivre (I)
CuTc:	thiophène-2-carboxylate de cuivre (I)

D

DC:	dichroïsme circulaire
DCM:	dichlorométhane
dCMP:	déoxycytidine monophosphate
DMAP:	4-(<i>N,N</i> -diméthylamino)pyridine
DME:	1,2-diméthoxyéthane
DMF:	diméthylformamide
DMSO:	<i>N,N</i> -diméthylsulfoxyde
dppp:	1,3-bis(diphénylphosphino)propane
2,4-DNPH:	2,4-dinitrophénylhydrazine

E

EC ₅₀ :	half maximal effective concentration
éq.:	équivalent

F

FGFR1: fibroblast growth factor receptor 1

G

GUK: guanylate kinase

GMPK: guanylate monophosphate kinase

H

Hétar: hétéroaromatique

h ν : irradiation photochimique

HMBC: heteronuclear multiple bond correlation

HPLC: high performance liquid chromatography

HSV: herpes simplex virus

Hz: hertz

I

ITC: isothiocyanate

ITU: isothiourée

J

JAK: Janus Kinase ou Just Another Kinase

L

L: ligand

M

Mant-ATP: 3'-O-(N-méthylanthraniloyl)-ATP

MAPK: mitogen-activated protein kinase

mCPBA: acide méta-chloroperbenzoïque

Me: méthyle

min: minute

Ms: mésyle ou méthanesulfonyle

MW: microwaves

N

NOESY: Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

NMPK: nucléosides monophosphate kinases

N-MFA: *N*-méthylformamide

P

PDB: Protein Data Bank

Pd₂dba₃: tris(dibenzylidèneacétone) dipalladium (0)

PEG: polyéthylène glycol

Ph: phényle

Piv: pivalyle
PMB: *p*-méthoxybenzyle
Pt/C: nanoparticules de platine sur charbon

R

Raf: rapidly accelerated fibrosarcoma
RMN: résonance magnétique nucléaire

S

Ser: sérine
SN₂: substitution nucléophile de type 2

T

TA: température ambiante
TBAI: iodure de tétra-*n*-butylammonium
TBDMS: *tert*-butyldiméthylsilyle
3TCMP: lamivudine monophosphate
Tf : trifluorométhanesulfonate ou triflate
THF: tétrahydrofurane
Thr: thréonine
TMPK: thymidilate monophosphate kinase
TMS : triméthylsilyle et tétraméthylsilane
TosMIC: tosylméthyl isonitrile
Tyr: tyrosine

U

UCK: uridine cytidine kinase
UMPK: uridine monophosphate kinase

V

VIH: virus d'immunodéficience humaine

Sommaire

Remerciements	3
Table des abréviations	5
Introduction Générale	15
I- Contexte du projet: chimie bio-organique combinatoire pour la synthèse d'inhibiteurs de Nucléosides Monophosphate Kinases	17
I-1 La chimie dynamique combinatoire	17
I-1-a) Principe général.....	17
I-1-b) Fonctions chimiques réactives	18
I-1-c) Approches cinétique et thermodynamique de la chimie combinatoire	20
I-1-d) Choix des fonctions chimiques réactives	21
I-2 Enzymes cibles: les Nucléosides Monophosphate Kinases (NMPK)	21
I-2-a) Définition des protéines kinases.....	21
I-2-b) Les Nucléosides Monophosphate Kinases (NMPK).....	22
I-2-c) L'Uridine Cytidine Kinase (UMP/CMP Kinase) et ses substrats	22
I-3 Perspective de synthèse des ligands	23
I-3-a) Les analogues de nucléosides.....	24
I-3-b) Pharmacomodulation d'analogues d'ATP	25
I-3-c) Elaboration de bisubstrats: espaceurs et association <i>in situ</i> par les fonctions réactives.....	25
II- Objectifs de mes travaux de recherche	26
II-1 Objectifs de synthèse	27
II-1-a) Synthèse des 2-thiohydantoïnes.....	28
II-1-b) Accès aux imidazoles tétrasubstitués.....	31
II-2 Tests biologiques	32
CHAPITRE 1:	
Synthèse et fonctionnalisation des 2-thiohydantoïnes par la méthode de Schlack-Kumpf...33	
Introduction	35
I- Formation du noyau 2-thiohydantoïne: réaction de Schlack-Kumpf.....	36
I-1 Synthèse de la 1-acétyl-2-thiohydantoïne	36
I-2 Réaction de Schlack-Kumpf appliquée à divers acides aminés	37
II- Fonctionnalisation du noyau 2-thiohydantoïne	39
II-1 Mise au point de la synthèse de la 2-(benzylsulfanyl)-1- <i>tert</i> -butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one 12	39
II-2 Application à la fonctionnalisation des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes issues de divers acides aminés	41
II-3 Oxydation du thiocarbonyle en position 2	44

II-3-a) Désulfuration oxydante directe	44
II-3-b) Désulfuration oxydante indirecte.....	45
II-4 Réactivité du carbonyle en position 4	46
II-4-a) O-Trifluorométhanesulfonylation	46
II-4-b) O-Silylation	47
II-4-c) Formation de 2,4-dithiohydantoïnes à partir de 2-thiohydantoïnes	47
II-5 Condensation de Knœvenagel.....	51
II-5-a) Condensation du <i>p</i> -anisaldéhyde sur des dérivés de 2-thiohydantoïne	52
II-5-b) Application de la méthode à la fonctionnalisation des 2-thiohydantoïnes avec divers aldéhydes	55
III- Couplages pallado-catalysés de type Suzuki-Liebeskind-Srogl.....	58
III-1 Couplages sur les dérivés des 2-thiohydantoïnes issues de la condensation de Schlack-Kumpf avec divers acides aminés	61
III-1-a) Tentatives de couplage direct	61
III-1-b) Tentatives de couplage sur la fonction thioéther.....	61
III-2 Couplages sur les dérivés de (4 <i>Z</i>)-2-benzylsulfanyl-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1 <i>H</i> -imidazol-5-one	62
III-2-a) Synthèse de la (4 <i>Z</i>)-1-benzyl-4-(4-méthoxybenzylidène)-2-(4-méthoxyphényl)-4,5-dihydro-1 <i>H</i> -imidazol-5-one 46	62
III-2-b) Optimisation du couplage de Liebeskind-Srogl	64
III-2-c) Couplage de Liebeskind-Srogl sur la fonction thiourée	66
Conclusion	67
CHAPITRE 2:	
Synthèse et fonctionnalisation des 2-thiohydantoïnes par la méthode d'Edman.....	69
Introduction	71
I- Synthèse de 2-thiohydantoïnes à partir d'azotures: réaction domino de Staudinger-aza-Wittig-cyclisation	73
I-1 Formation des 2-thiohydantoïnes <i>N</i> -3 substituées à partir de la glycine.....	74
I-1-a) Azotures monosaccharidiques.....	75
I-1-b) Azoture issu du carbonate de glycérol	75
I-1-c) Azidosulfanes	76
I-1-d) Résultats obtenus pour la formation des 2-thiohydantoïnes	77
I-2 Condensation du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane avec divers acides aminés	78
II- Couplages de type Liebeskind-Srogl	79
II-1 Tentatives de couplage direct.....	80
II-2 Tentatives de couplage indirect.....	80
II-2-a) S-Benzylation en position 2	80
II-2-b) Essais de couplage	82

III- Vers la synthèse d'imidazoles	82
III-1 Fonctionnalisation en position 5	83
III-1-a) O-Trifluorométhanesulfonylation.....	83
III-1-b) Chloration en position 5	84
III-2 Réaction de chloroformylation	86
IV- Bilan de la méthode de synthèse d'Edman	87
IV-1 Formation du cycle initial, la 2-thiohydantoïne	87
IV-2 Synthèse des 2-thiohydantoïnes C-4 insaturées	88
IV-3 Couplages de Liebeskind-Srogl.....	89
Conclusion	90
CHAPITRE 3:	
Les imidazoles à partir des 2-thiohydantoïnes.....	93
I- Introduction sur les imidazoles	95
I-1 Produits naturels	95
I-2 Activités biologiques des imidazoles	96
I-2-a) Activités biologiques.....	97
I-2-b) Inhibiteurs de kinases.....	99
I-3 Méthodes de synthèse des imidazoles	101
I-3-a) Réaction de Debus-Radziszewski	102
I-3-b) Réaction de Van Leusen	103
I-3-c) A partir d'amidines	104
I-3-d) Synthèse d'imidazoles bicycliques	105
I-3-e) A partir d'un β -cétoamide	106
I-3-f) Réaction de Wallach	107
I-3-g) Synthèse d'imidazoles à partir de divers hétérocycles	107
II- Synthèse d'imidazoles par la réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold	109
II-1 A partir de la 2-(benzylsulfanyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one 67	110
II-2 A partir de la 3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one 58	113
III- Etude de la réactivité du formyle en position 4.....	115
III-1 Réaction avec des supernucléophiles.....	116
III-1-a) Réaction avec des O-alkylhydroxylamines	116
III-1-b) Réaction avec des hydrazines.....	118
III-1-c) Formation d'imine et amine via la condensation de Staudinger-Aza-Wittig	119
III-2 Réduction en alcool	120
III-3 Réaction de Wittig	120
III-4 Réaction de Corey-Fuchs.....	121

IV- Couplages pallado-catalysés	122
IV-1 Couplage de Suzuki en position 5	123
IV-1-a) Optimisation des conditions de couplage	123
IV-1-b) Couplage avec divers acides boroniques	127
IV-2 Couplages en position 2	128
Conclusion	131
CHAPITRE 4:	
Propriétés biologiques des dérivés synthétisés	133
I- Introduction et rappel des objectifs des évaluations biologiques.....	135
I-1 Les protéines kinases.....	135
I-1-a) Généralités sur les kinases.....	135
I-1-b) Inhibiteurs de protéines kinases	137
I-1-c) Site ATP comme cible biologique	140
I-2 Enzymes cibles: les Nucléosides Monophosphate Kinases (NMPK)	143
I-2-a) Voie de récupération des nucléosides	144
I-2-b) L'UMP-CMPK	145
I-2-c) La thymidylate kinase (TMPK)	146
I-2-d) Les adenyates kinases (AMPK 1-6).....	146
I-2-f) La guanylate kinase (GMPK)	147
I-3 Objectifs des évaluations biologiques	147
I-3-a) Evaluation de l'affinité pour le site ATP des NMP kinases.....	147
I-3-b) Evaluation des activités biologiques	148
I-3-c) Inhibition du protéasome.....	148
II- Recherche de ligands du site ATP des NMPK	148
II-1 Etude conformationnelle en dichroïsme circulaire	148
II-1-a) Molécules testées	149
II-1-b) Résultats et discussion	150
II-2 Test fluorimétrique de compétition utilisant la sonde Mant-ATP	154
II-2-a) Molécules testées	155
II-2-b) Mesure des pourcentages de déplacement du Mant-ATP.....	156
II-2-c) Affinité des molécules testées pour le site ATP	157
II-3 Identification des molécules d'intérêt	157
II-4 Modélisation des dérivés les plus affins au sein de la poche ATP des NMP kinases	158
III- Mesure des activités biologiques.....	160
III-1 Tests de cytotoxicité sur cellules HeLa et HEK-293.....	160
III-1-a) Test de cytotoxicité sur cellules cancéreuses HeLa.....	160

III-1-b) Tests de cytotoxicité sur les cellules HEK-293.....	165
III-2 Tests antimicrobiens	165
IV- Inhibition du protéasome	166
IV-1 Introduction sur le protéasome	166
IV-1-a) Généralités sur le protéasome.....	166
IV-1-b) Ciblage thérapeutique du protéasome	168
IV-1-c) Inhibiteurs du protéasome	169
IV-2 Résultats et discussion.....	170
Conclusion	170
Conclusion générale	173
I- Analogues d'accepteur de phosphate.....	175
II- Mimes d'ATP	176
III- Couplage de l'accepteur et du donneur de phosphate	179
Partie expérimentale	181
I- Matériel et méthodes.....	183
I-1 Réactifs et solvants.....	183
I-2 Méthodes et appareils d'analyse.....	183
II- Descriptions des molécules	185
Tests biologiques: Matériel et méthodes	285
I- Recherche de ligands du site ATP des NMPK	287
I-1 Etude conformationnelle en dichroïsme circulaire.....	287
I-2 Test fluorimétrique de compétition utilisant la sonde Mant-ATP.....	288
I-3 Modélisation des 2-thiohydantoïnes dans les sites actifs des NMPK	289
II- Mesure des activités biologiques	290
II-1 Tests de cytotoxicité	290
II-1-a) Lignées et cultures cellulaires	290
II-1-b) Test XTT.....	291
II-2- Tests antimicrobiens	293
II-2-a) Souches et cultures bactériennes.....	293
II-2-b) Tests antimicrobiens	293
III- Tests d'inhibition sur le protéasome	294
III-1 Tests in vitro: mesure des activités enzymatiques, méthodes spectrales (fluorescence et spectrométrie).....	294
III-2 Détermination de l'IC ₅₀ et du mécanisme d'inhibition.....	295
Bibliographie.....	297

Introduction Générale

I- Contexte du projet: chimie bio-organique combinatoire pour la synthèse d'inhibiteurs de Nucléosides Monophosphate Kinases

La découverte de nouvelles substances bioactives en vue d'une application thérapeutique nécessite la synthèse de séries de composés soumis à des tests biologiques sur une cible donnée.

Dans ce contexte, la chimie dynamique combinatoire constitue un outil performant pour évaluer l'impact biologique de molécules actives sur une cible enzymatique d'importance.

En effet, une enzyme est une matrice dont la caractéristique catalytique peut être exploitée pour la formation et la sélection d'un inhibiteur affin par couplage *in situ* réversible ou irréversible de deux synthons différents.

L'objectif de ce projet est orienté vers la synthèse d'inhibiteurs et de substrats alternatifs de kinases tels que des analogues de nucléosides connus pour leur efficacité dans le traitement de pathologies cancéreuses ou virales.

L'exploration de cette chimie *in situ* dynamique combinatoire nécessite l'élaboration de trois sous-ensembles distincts: la préparation des mimes d'accepteurs de phosphate, la conception des analogues de donneurs et l'étude du couplage *in situ* avec l'enzyme.

I-1 La chimie dynamique combinatoire

I-1-a) Principe général

La chimie combinatoire est un concept thérapeutique novateur qui permet la synthèse rapide d'un grand nombre de molécules. Cette technique révolutionne depuis une vingtaine d'années les méthodes de travail en chimie médicinale,¹ notamment au sein des industries pharmaceutiques répondant à leur besoin de découvrir rapidement des molécules actives et garantissant ainsi leur productivité et leur compétitivité.

Cette stratégie implique la synthèse combinatoire d'une collection ou bibliothèque de molécules qui, soumises au criblage biologique pour une activité donnée, permettent d'identifier d'éventuels composés actifs.

Alors que la chimie combinatoire est fondée sur des bibliothèques de molécules pré-synthétisées, la chimie dynamique combinatoire met en œuvre des couplages réversibles entre deux entités pour obtenir une sélection *in situ* d'inhibiteurs potentiels. Les constituants exprimés parmi tous ceux qui sont accessibles présentent la plus forte affinité avec la cible biologique, c'est-à-dire la meilleure reconnaissance moléculaire entre récepteur et substrat. Par ce processus, la synthèse effective des constituants d'une bibliothèque combinatoire est

¹ a) Weber, L. *Drug Discov. Today* **2004**, *1*, 261-267. b) Lehn, J.M.; Eliseev, A.V. *Science* **2001**, *291*, 2331-2332. c) Terrett, N.K.; Gardner, M.; Gordon, D.W.; Kobylecki R.J.; Steele, J. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8135-8173. d) Wilson, A.J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4011.

évitée en laissant la cible effectuer elle-même l'assemblage de l'inhibiteur optimal (Schéma 1).²

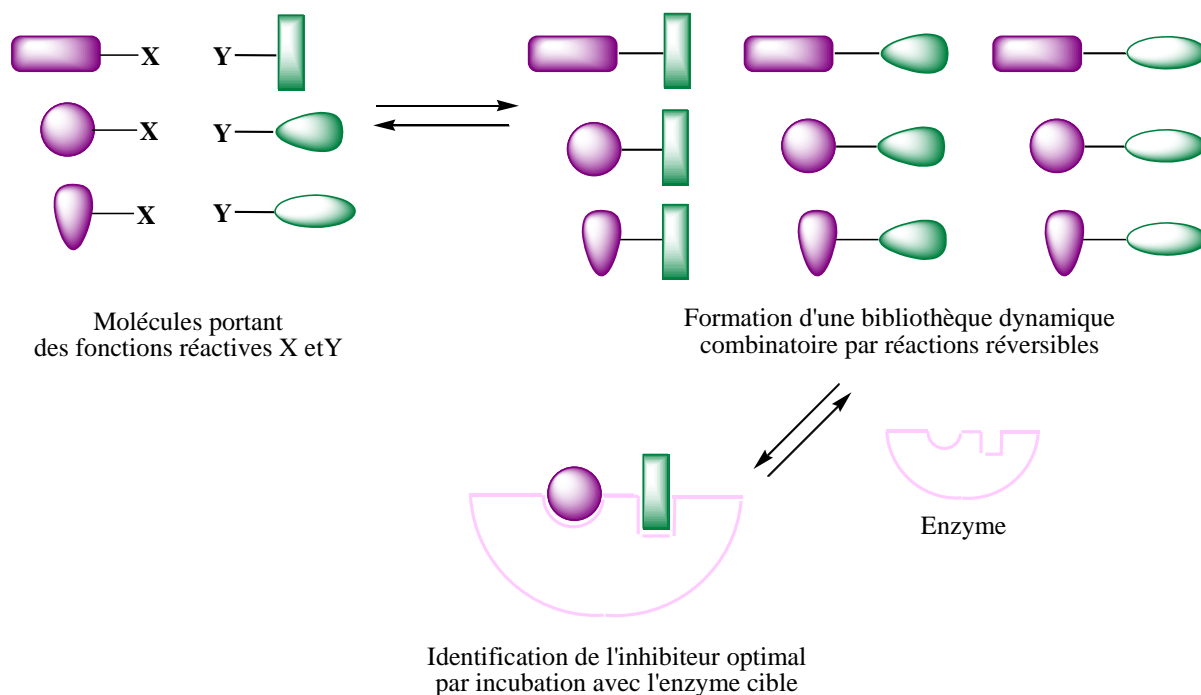


Schéma 1: Concept d'association dynamique

Dans le cadre de notre projet, les analogues et les mimes de substrats s'associent à l'intérieur de la poche enzymatique de la kinase et sont liés selon le type de fonction par réactions réversibles ou irréversibles.

1-1-b) Fonctions chimiques réactives

Le couplage chimique nécessite des fonctions bio-compatibles stables et réactives à pH physiologique. Un faible nombre de fonctions réactives sont compatibles dans un tel environnement.

- La fonction azoture

La « click chemistry » est un concept de chimie introduit par Sharpless en 2001³ permettant de générer rapidement des molécules par association irréversible de petites unités. Une des réactions les plus connues dans le domaine de la click est la cycloaddition de

² a) Lehn, J.M. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2455-2463. b) Mamidyala, S.K.; Finn, M.G. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1252-1261.

³ Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004–2021.

Huisgen 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azoture catalysée par le cuivre (I) pour donner un 1,2,3-triazole.

Cette réaction de cycloaddition a tout d'abord été découverte par Huisgen en 1961⁴ générant un mélange des triazoles 1,4 et 1,5 disubstitués (Schéma 2).

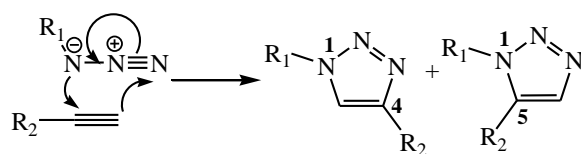


Schéma 2: Formation de 1,2,3-triazole *via* la réaction de cycloaddition de Huisgen 1,3-dipolaire

Ce n'est qu'en 2002 que la variante de la réaction de Huisgen introduisant la catalyse au cuivre (I) a été décrite premièrement par Meldal pour la synthèse de peptidotriazoles sur support solide⁵ et peu de temps après par Sharpless.⁶ Cette découverte constitue une avancée considérable puisque l'utilisation du cuivre (I) permet de générer sélectivement le triazole 1,4 disubstitué. La réaction de Huisgen est alors préférentiellement renommée « Copper (I) catalysed azide-alkyne cycloaddition » ou CuAAC (Schéma 3). Cette réaction compatible avec les réactions physiologiques est souvent utilisée dans de nombreux domaines de la chimie organique tels que la chimie combinatoire appliquée au développement de médicaments.⁷

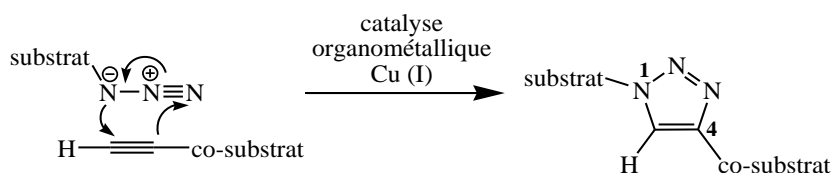


Schéma 3: Réaction de Huisgen catalysée au cuivre (I), (CuAAC)

- **La fonction thiol**

La fonction thiol est plus « flexible » que la fonction azoture et possède un panel de réactivités variées qui peuvent être utilisées dans des réactions de ligation réversibles et irréversibles *in situ*.

Le soufre pouvant jouer le rôle de nucléophile, de groupe partant et possédant également des propriétés d'oxydo-réduction constitue un excellent centre réactif pour de nombreuses réactions chimiosélectives au sein de la poche enzymatique et ne nécessite pas de catalyse acide, basique ou métallique (Schéma 4).

⁴ Huisgen, R. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357-396.

⁵ Tornøe, C.W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057–3064.

⁶ Rostovstev, V.; Green L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.

⁷ Kolb, H.C.; Sharpless, K.B. *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 1128-1137.

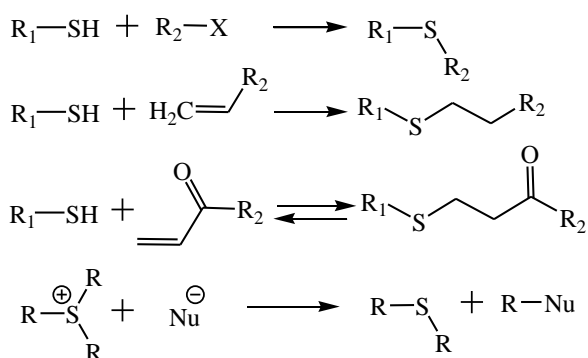
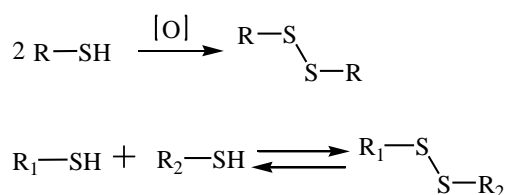
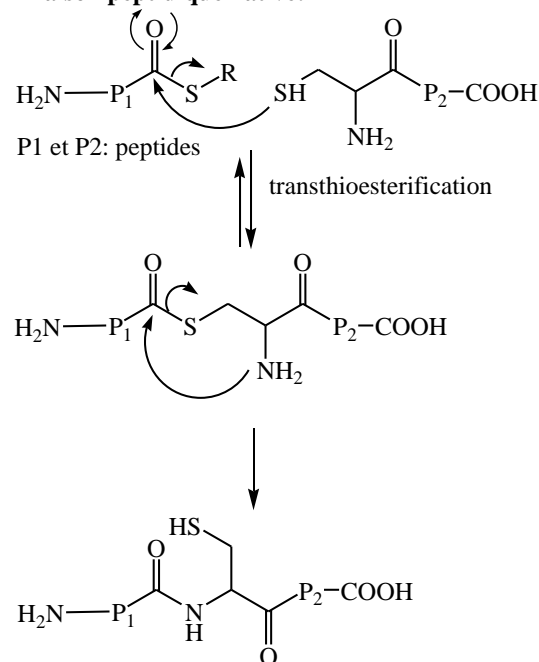
Thioéthers:**Disulfures:****Liaison peptidique native:**

Schéma 4: Réactions d'association réversible ou irréversible utilisant le fonction thiol

I-1-c) Approches cinétique et thermodynamique de la chimie combinatoire

Récemment Sharpless⁸ a appliqué la réaction de Huisgen à la « click chemistry *in situ* » où l'acétylcholinestérase (AChE) permet la réaction de deux synthons de manière combinatoire et sélective accédant ainsi à de nouveaux inhibiteurs ayant des constantes de dissociation de l'ordre du *femtomolaire*.

Ainsi dans le cadre de notre projet, le concept de « click chemistry » ou le couplage peptidique natif permettrait de générer par une approche cinétique des inhibiteurs optimisés *via* des couplages chimiosélectifs *in situ* irréversibles à partir d'un panel d'analogues de substrats donneur et accepteur de phosphate.

D'autre part, une approche dynamique combinatoire a été proposée par Greaney et al.⁹ utilisant la réaction d'addition de Michael réversible d'un thiol sur une cétone α,β -insaturée. Il a été ainsi montré qu'une bibliothèque d'accepteurs de Michael réagissant avec le glutathion en présence de la glutathion-transférase mène à la formation sélective d'un puissant inhibiteur de l'enzyme.

Dans notre cas cette réaction réversible d'addition de Michael appliquée aux cétones insaturées pourrait être élargie à un panel d'accepteurs modifiés ayant un groupe

⁸ a) Manetsch, R.; Krasiński, A.; Radić, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K.B.; Kolb, H.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12809-12818. b) Krasiński, A.; Radić, Z.; Manetsch, R.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K.B.; Kolb, H.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6686-6692. c) Lewis, W.G.; Green, L.G.; Grynszpan, F.; Radić, Z.; Carlier, P.L.; Taylor, P.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1053-1057.

⁹ a) Shi, B.; Greaney, M.F. *Chem. Commun.* **2005**, 886-888. b) Shi, B.; Stevenson, R.; Campopiano, D.J.; Greaney, M.F. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8459-8467. c) Ladame, S.; Whitney, A.M.; Balasubramanian, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5736-5739.

électroattracteur carboxylate, sulfonate ou phosphonate.¹⁰ La fonction acceptrice pourrait aussi être une fonction isothiocyanate (ITC), celle-ci ayant montré des propriétés réversibles sur des additions de thiol.

I-1-d) Choix des fonctions chimiques réactives

Des associations réversibles ou irréversibles sont envisageables pour former des inhibiteurs diversifiés et fonctionnalisés. Ainsi, des réactions de couplage peptidique natifs, de Huisgen ou encore d'addition de Michael présentent un potentiel important pour l'obtention des ces composés (Schéma 5).

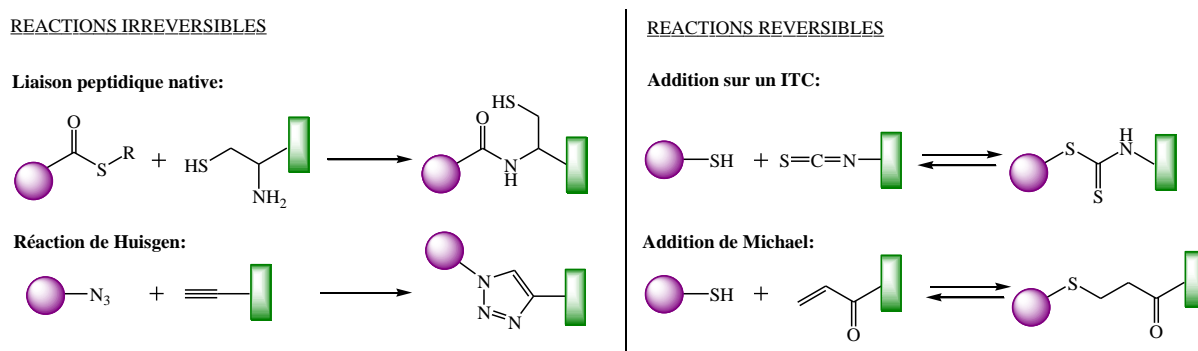


Schéma 5: Ensemble de fonctions testées et utilisées pour ce projet

Ces fonctions seraient ensuite ancrées sur des structures à trois carbones dérivées du glycérol ou de dimères issus de monosaccharides afin de créer les espaceurs nécessaires à l'élaboration des molécules de ce projet.

I-2 Enzymes cibles: les Nucléosides Monophosphate Kinases (NMPK)

I-2-a) Définition des protéines kinases

Les kinases sont des enzymes du groupe des transférase qui catalysent la réaction de phosphorylation par addition d'un groupement phosphate à une molécule cible, le substrat, pouvant être une protéine, un sucre ou un nucléoside.

¹⁰ a) Aucagne, V.; Lorin, C.; Tatibouët, A.; Rollin, P. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4349-4352. b) Chery, F.; Pillard, C.; Tatibouët, A.; De Lucchi, O.; Rollin, P. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5141-5151.

I-2-b) Les Nucléosides Monophosphate Kinases (NMPK)

Les Nucléosides Monophosphate Kinases (NMPK) appartiennent à la famille des phosphotransférases catalysant le transfert d'un groupement phosphate de l'adénosine triphosphate (ATP) vers un nucléotide ou déoxynucléotide monophosphate.¹¹ Les NMPK sont au nombre de cinq chez l'Homme: la thymidilate kinase (TMPK), l'UMP-CMP kinase (UCK), 5 isoenzymes d'adénylate kinase (AK) et différentes guanylates kinases (GUK). Ces enzymes sont notamment impliquées dans la voie de récupération des nucléosides servant à la synthèse de nucléotides tissulaires et catalysent la deuxième étape de phosphorylation de ces nucléotides.

I-2-c) L'Uridine Cytidine Kinase (UMP/CMP Kinase) et ses substrats

Deux types de pyrimidine nucléoside monophosphate kinases sont présentes dans les cellules des mammifères: la thymidylate kinase (TMP kinase) et l'uridine cytidine kinase (UMP-CMP kinase). La TMP kinase phosphoryle la dTMP et la dUMP alors que l'UMP-CMP kinase phosphoryle avec la même efficacité la CMP et l'UMP ainsi que la dCMP et la dUMP.¹²

Ces deux kinases peuvent également phosphoryler des analogues structuraux de pyrimidine nucléosides utilisés dans le traitement de pathologies cancéreuses ou d'infections virales telle que par exemple le virus d'immunodéficience humaine (VIH).

L'enzyme plus particulièrement étudiée dans ce projet de chimie combinatoire est l'uridine cytidine monophosphate kinase principalement localisée dans le cytosol des cellules humaines.¹³

Cette enzyme qui transfère un phosphate de l'ATP vers un nucléotide monophosphate présente deux sous unités contenant chacune une poche nucléotidique: une pour l'ATP (donneur de phosphate) et une poche CMP (accepteur de phosphate). La spécificité du substrat est plus importante pour l'accepteur que pour le donneur comme l'indique le nom de l'enzyme.

Cette kinase permet notamment de phosphoryler des acyclo phosphonucléosides tels que le Cidofovir utilisé dans le traitement de l'infection au cytomégalovirus.¹⁴

En 1999, le gène de l'UMP-CMP kinase humaine a été cloné, exprimé et caractérisé pour la première fois par Van Rompay¹⁵ afin d'étudier la voie d'activation de cette enzyme impliquée dans la phosphorylation d'analogues nucléosidiques.

Récemment, la réactivité de l'UMP-CMP kinase pour ses substrats naturels et pour des analogues nucléosidiques tels que la L-3TCMP a été réévaluée par l'équipe de Deville-

¹¹ Knowles, J.R. *Ann. Rev. Biochem.* **1980**, *49*, 877-919.

¹² Arima, T.; Akiyoshi, H.; Fujii, S. *Cancer Res.* **1977**, *37*, 1593-1597.

¹³ Liou, J-Y.; Dutschman, G.E.; Lam, W. et al. *Cancer Res.* **2002**, *62*, 1624-1631.

¹⁴ Cihlar, T.; Chen, M.S. *Mol. Pharm.* **1996**, *50*, 1502-1510.

¹⁵ Van Rompay, A.R.; Johansson, M.; Karlsson, A. *Mol. Pharm.* **1999**, *56*, 562-569.

Bonne¹⁶ apportant ainsi des précisions sur la spécificité de substrats de cette enzyme. La reconnaissance de la dCMP et de la 3TCMP par le site accepteur indique des possibilités de modification structurales sur le ribose (Figure 1).

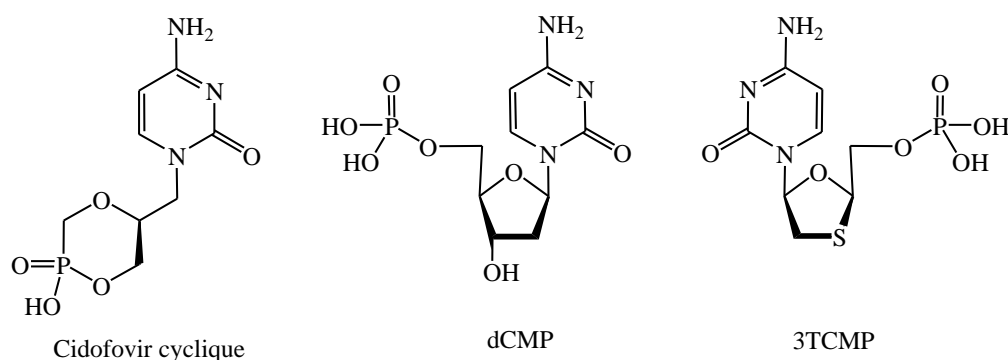


Figure 1: Analogues nucléosidiques et substrats alternatifs de l'UMP-CMP kinase

I-3 Perspective de synthèse des ligands

En résumé, ce projet de chimie combinatoire *in situ* nécessite l'assemblage de trois sous-ensembles (Figure 2):

- Les analogues de nucléosides (accepteurs de phosphate) centrés sur une modulation du monosaccharide substitué par des dimères de glycérol modifiés.
- Les mimes de donneurs de phosphate nécessitant une modulation de l'adénosine basés sur un pharmacophore, la 2-thiohydantoïne, reconnu dans la conception de molécules actives vis-à-vis des kinases et développé autour d'une chimie du palladium élaborée au laboratoire.
- Les couplages réversibles et irréversibles associés aux études enzymatiques et aux méthodes d'analyse par HPLC, spectrométrie de masse et RMN.

¹⁶ Pasti, C.; Gallois-Montbrun, S.; Munier-Lehmann, H.; Véron, M.; Gilles, A.M.; Deville-Bonne, D. *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 1784-1790.

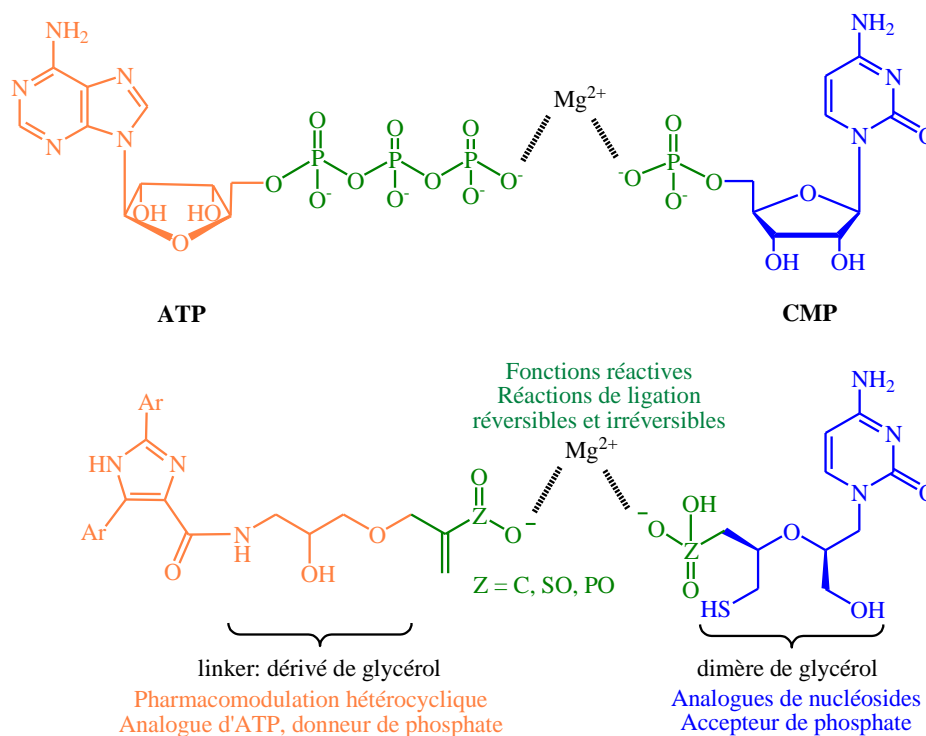


Figure 2: Vue d'ensemble des chimies impliquées pour l'association de deux substrats au sein du site actif de l'UCK

I-3-a) Les analogues de nucléosides

La base nucléique et la charpente saccharidique sont indispensables à la reconnaissance par l'enzyme, ainsi seule une légère modification pourrait être réalisée au niveau de la base nucléique. La cytidine et le Cidofovir seraient utilisés comme modèle où le ribose a été remplacé par une structure de type glycérol pour accéder à des analogues d'accepteurs de phosphate (Figure 3).¹⁷

Exemples d'analogues d'accepteurs de phosphate:

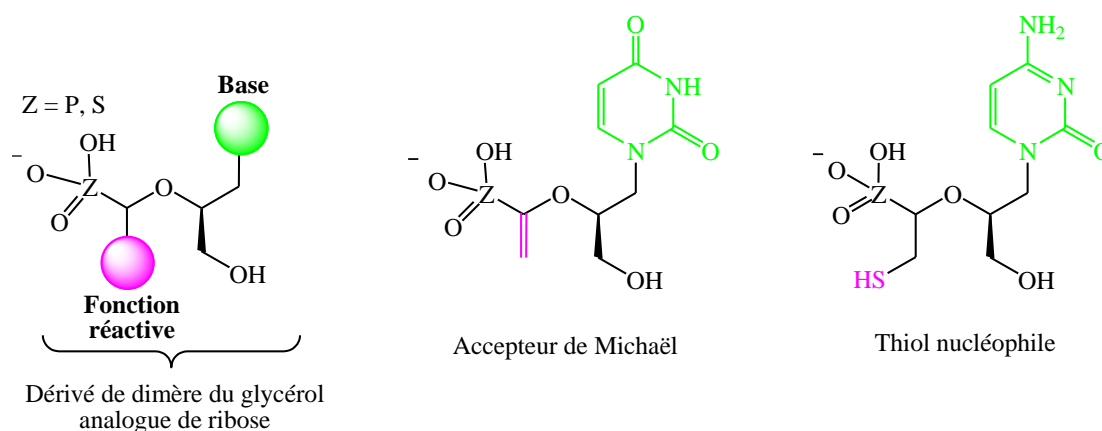


Figure 3: Modèle d'un analogue de CMP et exemples d'analogues de substrats

¹⁷ Girniene, J.; Apremont, G.; Tatibouët, A.; Sackus, A.; Rollin, P. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2609-2619.

I-3-b) Pharmacomodulation d'analogues d'ATP

Les analogues de donneurs de phosphate seraient synthétisés par pharmacomodulation d'un hétérocycle azoté mimant l'adénine et jouant le rôle de l'ATP au sein de la poche enzymatique. Ainsi, de nombreuses modifications structurales pourraient dans ce cas être réalisées.

I-3-c) Elaboration de bisubstrats: espaceurs et association in situ par les fonctions réactives

Le but ultime de ce projet réside dans l'élaboration de ligands de NMPK bisubstrats grâce à la présence de fonctions réactives sur l'accepteur de phosphate et sur l'analogue d'ATP. Ces bisubstrats ont notamment été développés dans le but de constituer des outils permettant de comprendre certains mécanismes enzymatiques et peuvent également présenter un intérêt thérapeutique en tant qu'inhibiteurs de protéines kinases.

Un ligand bisubstrat est constitué de deux entités généralement connectées par un linker chacune ciblant une partie du site actif de l'enzyme. Ce type de ligand présente l'avantage de générer de nombreuses interactions avec l'enzyme induisant une meilleure affinité et sélectivité par rapport à des inhibiteurs compétitifs de l'ATP. Depuis 1970, des bisubstrats ciblant le site accepteur de phosphate et le site ATP donneur des protéines kinases ont été développés. Ces ligands résultent généralement de l'association d'un fragment mime d'ATP et d'un analogue peptidique connectés par un espaceur (Figure 4).¹⁸

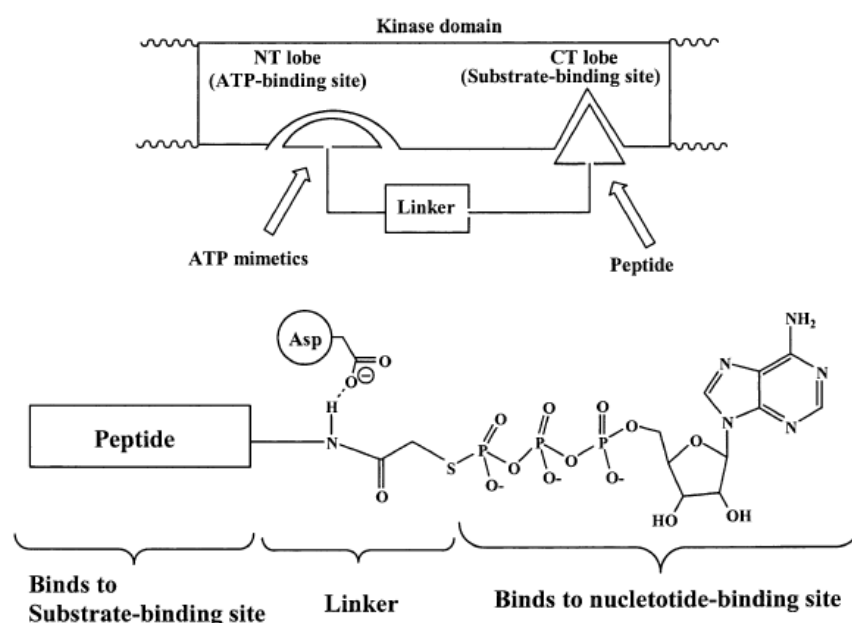


Figure 4: Elaboration de ligands bisubstrats pour l'IRK (Insuline Receptor Kinase)^{18a}

¹⁸ a) Parang, K.; Cole, P.A. *Pharmacol. Ther.* **2002**, *93*, 145-157. b) Lavogina, D.; Enkvist, E.; Uri, A. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 23-24. c) Uri, A.; Lust, M.; Vaasa, A.; Lavogina, D.; Viht, K.; Enkvist, E. *Biochim. Biophys. Acta* **2010**, *1804*, 541-546.

mort cellulaire. La dérégulation de l'activité des kinases est une cause fréquente de cancer. Les récents progrès de la biologie moléculaire ont permis de créer une nouvelle classe de composés dont l'action est directement ciblée sur l'inhibition de la prolifération cellulaire, les métastases, l'angiogénèse et la survie tumorale. Ainsi, lors de cette thèse, nous avons tenté de développer des molécules en nous basant sur les informations trouvées dans la littérature à propos de l'inhibition des kinases et du développement d'agents anticancéreux.¹⁹

La poche de reconnaissance du site ATP donneur peut être divisée en plusieurs régions hydrophiles et hydrophobes permettant la sélectivité de l'inhibiteur. A partir de cela, nous avons donc tenté de développer des molécules actives. Bien que de nombreux et puissants inhibiteurs de kinases aient été largement étudiés et développés, peu de travaux semblent avoir été réalisés sur les NMP kinases.²⁰

II-1 Objectifs de synthèse

La synthèse de molécules tri-aromatiques a été considérée en se basant sur les résultats précédemment obtenus concernant la mise au point de composés cytotoxiques sur des cellules cancéreuses.²¹ Les couplages pallado-catalysés récemment développés au laboratoire autour de la chimie du soufre²² ont été envisagés comme voie d'accès à ces molécules polycycliques (Schéma 7).

¹⁹ Fabbro, D. et al. *Pharmacol. Ther.* **2002**, *93*, 79–98.

²⁰ a) Noronha, G. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 602-608. b) Miyazaki, Y.; Nakano, M.; Sato, H.; Truesdale, A.T.; Stuart, J.D.; Nartey, E.N.; Hightower, K.E.; Kane-Carson, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 250-254. c) Noble, M.; Endicott, J.; Johnson, L. *Science*, **2004**, *303*, 1800-1805.

²¹ a) Jacquemard, U.; Routier, S.; Tatibouët, A.; Laine, W.; Bal, C.; Bailly, C.; Merour, J.Y. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1476-1483. b) Dias, N.; Jacquemard, U.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Goossens, J.F.; Bailly, C.; Routier, S.; Mérou, J.Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1206-1213. c) Jacquemard, U.; Routier, S.; Dias, N.; Lansiaux, A.; Goossens, J.F.; Bailly, C.; Mérou, J.-Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1087-1095.

²² a) Alphonse, F.A.; Suzenet, F.; Keromnes, A.; Lebret, B.; Guillaumet, G. *Synthesis* **2004**, 2893-2899. b) Alphonse, F. A.; Suzenet, F.; Keromnes, A.; Lebret, B.; Guillaumet, G. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 803-805. c) Leconte, N.; Pellegatti, L.; Tatibouët, A.; Suzenet, F.; Rollin, P.; Guillaumet, G. *Synthesis* **2007**, 857-864.

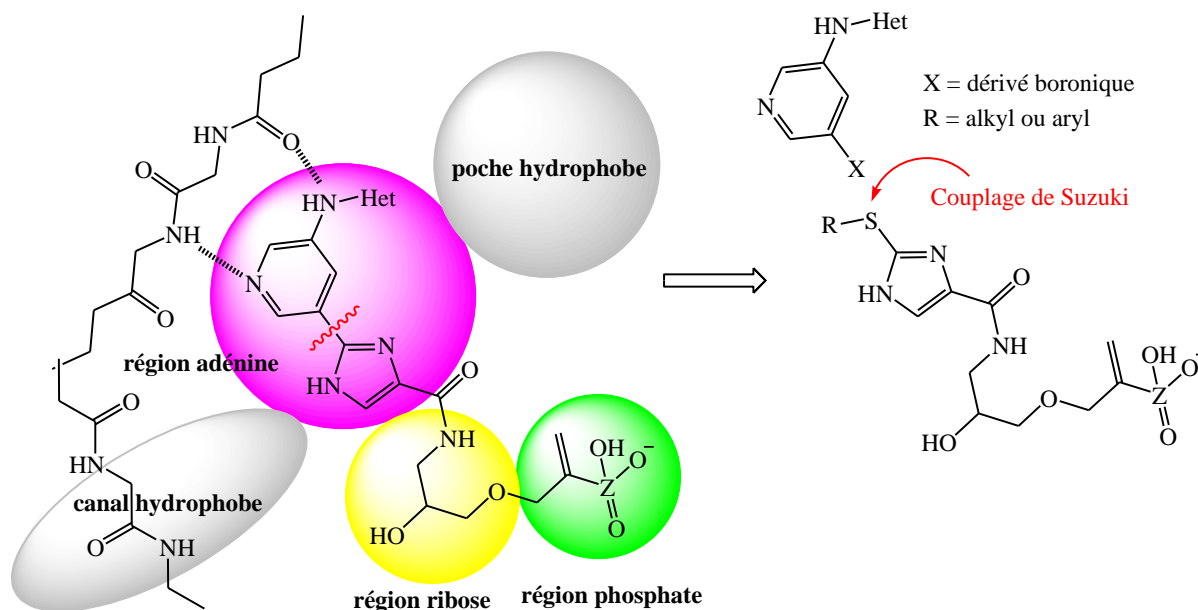


Schéma 7: Modèle tri-aromatique pour les analogues d'ATP utilisant des couplages pallado-catalysés

II-1-a) Synthèse des 2-thiohydantoïnes

Le premier objectif de synthèse a été orienté vers les dérivés de la 2-thiohydantoïne décrits pour leur activité dans le traitement du cancer de la prostate,²³ comme agents anti-angiogéniques²⁴ ou encore comme inhibiteurs de kinases telles que Cdc7²⁵ et FGFR1.²⁶

Ce noyau azoté et soufré présente de nombreuses possibilités de fonctionnalisations et permettrait l'accès à des structures de base pour les couplages de type Suzuki. Des structures dérivées du glycérol, mimes de ribose et de phosphate, pourraient être ancrées sur ces molécules tri-aromatiques (Schéma 8).

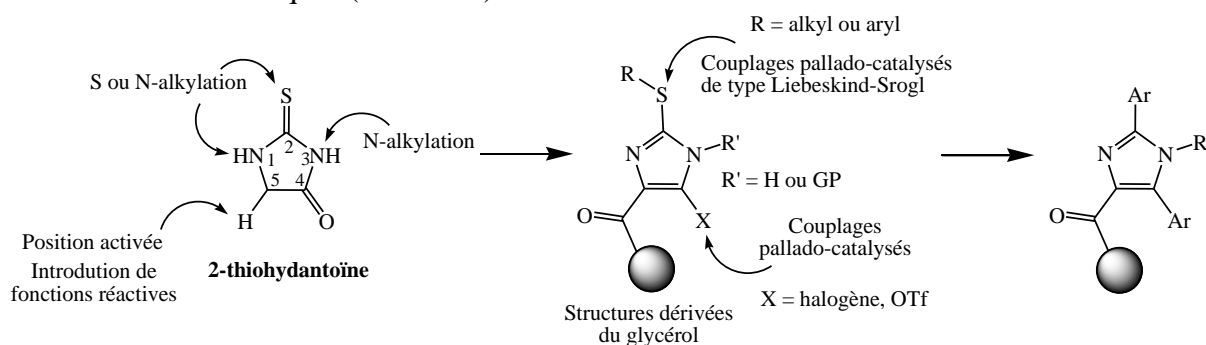


Schéma 8: Possibilités de pharmacomodulation du noyau 2-thiohydantoïne

²³ a) Jung, M.E.; Ouk, S.; Yoo, D.; Sawyers, C.L.; Chen, C.; Tran, C.; Wongvipat, J. *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 2779-2796. b) Yoshino, H. and al. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 8150-8157.

²⁴ Liu, Y.; Wu, J.; Ho, P-Y.; Chen, L-C.; Chen, C-T.; Liang, Y-C.; Cheng, C-K.; Lee, W.S. *Cancer Letters* **2008**, *271*, 294-305.

²⁵ Ermoli, A. and al. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 4380-4390.

²⁶ Ravindranathan, K.P.; Mandiyan, V.; Ekkati, A.R.; Bae, J.H.; Schlessinger, J.; Jorgensen, W.L. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1662-1672.

La 2-thiohydantoïne est un hétérocycle azoté dont la structure a été pour la première fois élucidée en 1879 par Liebermann et Lange (Figure 5).^{27, 28}

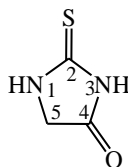


Figure 5: Structure de la 2-thiohydantoïne

Cet hétérocycle a été synthétisé pour la première fois par Aschan en 1883²⁹ et a largement été étudié depuis. De nombreuses voies de synthèses ont été employées, la plupart impliquant la condensation d'un α -amino acide avec un dérivé thiocyanique.

La méthode de Schlack-Kumpf (1926)³⁰ constitue une des plus anciennes voies de synthèse et sera plus amplement développée dans le chapitre 1. La méthode d'Edman (1950)³¹ très utilisée encore de nos jours sera détaillée et utilisée dans le chapitre 2.

Les autres méthodes de synthèse développées ces dernières années sont diverses et variées. Les 2-thiohydantoïnes peuvent par exemple être obtenues par condensation d'un isothiocyanate (ITC) dérivé d'un acide aminé avec une amine, une hydrazine,³² ou encore un hydrazide.³³ L'ITC provient en général d'un azoture soit par réaction d'aza-Wittig avec le disulfure de carbone (CS₂),³⁴ soit par réduction de l'azoture en amine puis réaction avec le thiophosgène (CSCl₂).³⁵ Une autre technique consiste à faire réagir une thiourée avec un acide aminé,^{36, 37} ou un composé di-carbonylé.³⁸ Dans ce dernier cas, des 2-thiohydantoïnes 5,5-disubstituées peuvent être obtenues par extension de la méthode de synthèse de Biltz.³⁹

²⁷ Ware, E. *Chem. Rev.* **1950**, *46*, 403-470.

²⁸ Liebermann, C.; Lange, A. *Ber.* **1879**, *12*, 1588-95.

²⁹ Aschan, O. *Ber.* **1883**, *16*, 1544-1545.

³⁰ Schlack, P.; Kumpf, W. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **1926**, *154*, 125.

³¹ Edman, P. *Acta Chem. Scand.* **1950**, *4*, 283-293.

³² a) Floch, L.; Oremus, V.; Kovac, M. *Molecules* **1999**, *4*, 279-286. b) Ding, M.W., Fu, B.Q., Yuan, J.Z. *Heteroat. Chem.* **2005**, *16*, 76-80. c) Yuan, J.Z.; Wei, J.J.; Ding, M.W. *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 2921-2925.

³³ a) Bouzroua, S.; Hammal, L.; Nedjar-Kolli, B.; Balegroune, F.; Hamadène, M.; Poulain, S. *Synth. Commun.* **2007**, *38*, 448-455. b) Bentarzi, Y.; Nedjar-Kolli, B.; Plas, A.; Chalard, P.; Troin, Y. *Arkivoc* **2010**, *X*, 328-337.

³⁴ a) Sun, Y.S.; Gao, L.P.; Ding, M.W. *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 1185-1191. b) Xiang, F.; Zhang, S.; Lu, C.; Chen, Z.; Yang, G. *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 953-960.

³⁵ a) Gasch, C.; Salameh, B.A.B.; Pradera, M.A.; Fuentes, J. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8615-8617. b) Fuentes, J.; Salameh, B.A.B.; Angeles Predera, M.; Fernandez de Cordoba, F.J.; Gasch, C. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 97-111.

c) Gasch, C.; Illangua, J.M.; Merino-Montiel, P.; Fuentes, J. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 4149-4155.

³⁶ a) Wang, Z.D.; Sheikh, S.O.; Zhang, Y. *Molecules* **2006**, *11*, 739-750.

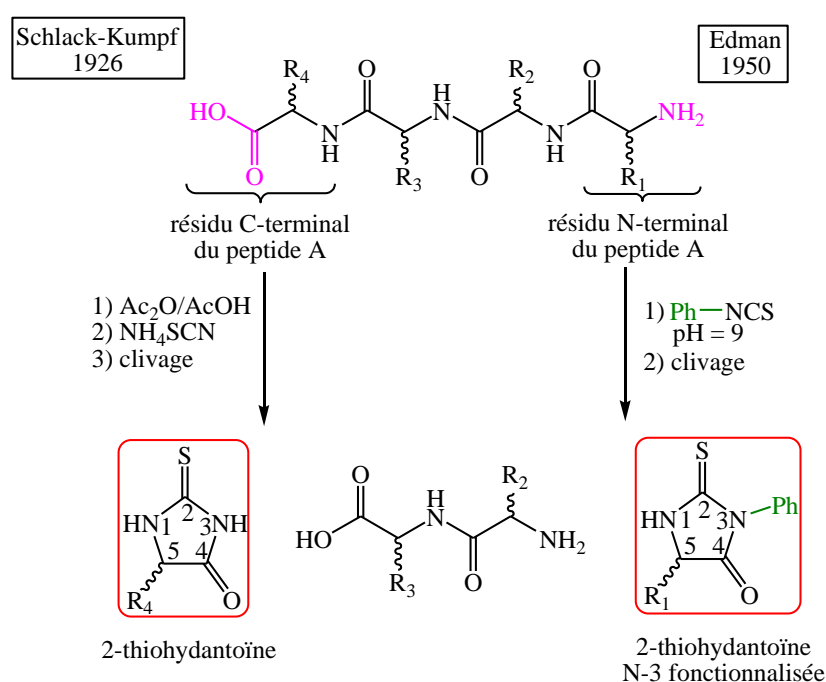
³⁷ Marton, J.; Enisz, J.; Hosztafi, S.; Timar, T. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 148-152.

³⁸ Muccioli, G. G.; Poupaert, J. H.; Wouters, J.; Norberg, B.; Poppitz, W.; Scriba, G.K.E.; Lambert, D. M. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 1301-1307. b) Muccioli, G.G.; Fazio, N.; Scriba, G.K.E.; Poppitz, W.; Cannata, F.; Poupaert, J.H.; Wouters, J.; Lambert, D.M. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 417-425.

³⁹ a) Biltz, H. *Ber.* **1907**, *40*, 4806-4826. b) Biltz, H. *Ber.* **1908**, *41*, 1379-1393.

D'autres méthodes impliquant notamment la condensation d'un amino amide avec le thiocarbonyl diimidazole,⁴⁰ d'un α -haloacide avec une thiosemicarbazone,⁴¹ ou encore la synthèse de spirothiohydantoïnes⁴² ont été développées. Enfin de nouvelles techniques telles que la synthèse sur polyéthylène glycol (PEG) aux micro-ondes⁴³ ou bien sur support solide⁴⁴ ont également été mises au point.

Dans l'objectif de synthétiser des 2-thiohydantoïnes, deux voies de préparation issues de méthodes chimiques classiques, elles-mêmes provenant de techniques d'analyse peptidique, ont été abordées (Schéma 9).



Dans une première approche, la réaction de Schlack-Kumpf a été étudiée afin d'obtenir des 2-thiohydantoïnes C-5 fonctionnalisées par condensation d'un acide aminé avec le thiocyanate d'ammonium en présence d'anhydride acétique.³⁰ Une seconde approche, s'appuyant sur la méthode d'Edman nous a permis d'élaborer une nouvelle stratégie pour aboutir à des 2-thiohydantoïnes N-3 substituées ainsi que C-5 fonctionnalisées par réaction d'un acide aminé avec un isothiocyanate en milieu basique.³¹

⁴⁰ a) Nefzi, A.; Giulianotti, M.A.; Houghten, R.A. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2283–2287. b) Wang, X.J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 273–276.

⁴¹ a) Thanusu, J.; Kanagarajan, V.; Gopalakrishnan, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 713–717. b) Raghuvanshi, S.D.; Singh, K.N. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem* **2010**, *185*, 2243–2248.

⁴² Somsák, L.; Nagy, V.; Docsa, T.; Tóth, B.; Gergely, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 405–408.

⁴³ Lin, M.J.; Sun, C.M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8739–8742.

⁴⁴ Bhalay, G.; Cowell, D.; Hone, N.D.; Scobie, M.; Baxter, A.D. *Mol. Diversity* **1998**, *3*, 195–198.

Ces deux voies de synthèse ont été exploitées pour étudier, comprendre et tirer avantage de la réactivité et de la fonctionnalisation sélective de ces hétérocycles notamment par des couplages de type Liebeskind-Srogl.

II-1-b) Accès aux imidazoles tétrasubstitués

Les études précédentes nous ont permis de développer un second objectif de synthèse vers la formation de dérivés d'imidazole tri- et tétrasubstitués à partir des 2-thiohydantoïnes précédemment obtenues. En effet, ce noyau aromatique a été étudié notamment comme inhibiteur de protéines kinases variées telles que les kinases cycline-dépendantes (CDK)⁴⁵, les Raf kinases⁴⁶ et également de p38 MAP kinases.⁴⁷

La réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold a constitué l'étape clé de synthèse permettant de transformer un cycle 2-thiohydantoïne en un cycle de type imidazole par chloroformylation (Schéma 10).

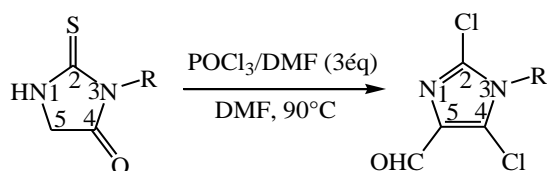


Schéma 10: Synthèse d'imidazoles par la réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold

Ce nouveau noyau hétéroaromatique a été par la suite polyfonctionnalisé par modulation du substituant sur l'azote en position 3, du groupe fonctionnel formyle en position 4 et des atomes de chlore en positions 2 et 5, notamment par la mise en œuvre de couplages pallado-catalysés.

La synthèse des dérivés à noyau 2-thiohydantoïne et imidazole portant divers groupes fonctionnels nécessaires au couplage *in situ* avec les mimes d'accepteurs de phosphate et à l'activité enzymatique a permis l'accès à une bibliothèque de composés sur lesquels des tests biologiques ont été réalisés.

⁴⁵ a) Jones, C.D.; Andrews, D.M.; Barker, A.J.; Blades, K.; Daunt, P.; East, S.; Geh, C.; Graham, M.A.; Johnson, K.M.; Loddick, S.A.; McFarland, H.M.; McGregor, A.; Moss, L.; Rudge, D.A.; Simpson, P.B.; Swain, M.L.; Tam, K.Y.; Tucker, J.A.; Walker, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6369-6373. b) Jones, C.D.; Andrews, D.M.; Barker, A.J.; Blades, K.; Byth, K.F.; Finlay, R.V.; Geh, C.; Green, C.P.; Johannsen, M.; Walker, M.; Weir, H.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6486-6489.

⁴⁶ Dean, D.K.; Takle, A.K.; Wilson, D.M. **2007**, patent 7199137.

⁴⁷ a) Adam, J.L. and al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2867-2870. b) Laufer, S.; Hauser, D.; Stegmiller, D.; Bracht, C.; Ruff, K.; Schattel, V.; Albrecht, W.; Koch, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6671-6675.

II-2 Tests biologiques

Le premier objectif de ces tests biologiques consistait à évaluer l'affinité de l'ensemble des molécules synthétisées pour le site ATP des enzymes cibles, les nucléosides monophosphate kinases et ainsi de dégager une relation structure-affinité.

Par ailleurs, la modélisation des structures d'intérêt au sein du site ATP de l'enzyme en complément des autres techniques a permis d'évaluer l'insertion des molécules au sein de la poche enzymatique.

Parallèlement à l'étude centrale précédente, la cytotoxicité des molécules préparées a été testée sur des souches de cellules cancéreuses ainsi que des souches bactériennes. Cette étude apporte un regard important sur leur potentiel thérapeutique.

De façon plus anecdotique, les composés ont été testés en tant qu'inhibiteurs du protéasome humain, cible d'intérêt dans certaines pathologies cancéreuses.

Ces travaux de thèse présentent divers objectifs: chimique tout d'abord, par la conception de nouveaux hétérocycles utilisant la mise au point de nouvelles méthodologies de synthèse dans le domaine de la chimie du soufre et de la chimie organométallique pallado-catalysée, ainsi que biochimique par l'originalité de la cible biologique, les nucléosides monophosphate kinases, pour lesquelles peu d'inhibiteurs ont été développés.

CHAPITRE 1:

**Synthèse et fonctionnalisation
des 2-thiohydantoïnes par la
méthode de Schlack-Kumpf**

Introduction

Schlack et Kumpf ont développé en 1926 une méthode de séquençage des peptides par la partie C-terminale connue sous le nom de la méthode au thiocyanate.³⁰ Parmi les méthodes connues, elle constitue l'une des plus anciennes.

Elle correspond à l'activation de l'acide carboxylique C-terminal d'un peptide par l'anhydride acétique suivie de la condensation avec l'ion thiocyanate permettant la formation de la 2-thiohydantoïne peptidique via un intermédiaire oxazolone. Enfin, l'hydrolyse libère l'acide aminé C-terminal sous la forme d'un dérivé 2-thiohydantoïne (Schéma 11).^{48, 49} Le cycle suivant permettra une nouvelle séquence de dégradation aboutissant à nouveau à l'obtention d'une 2-thiohydantoïne caractéristique du nouvel amino-acide.

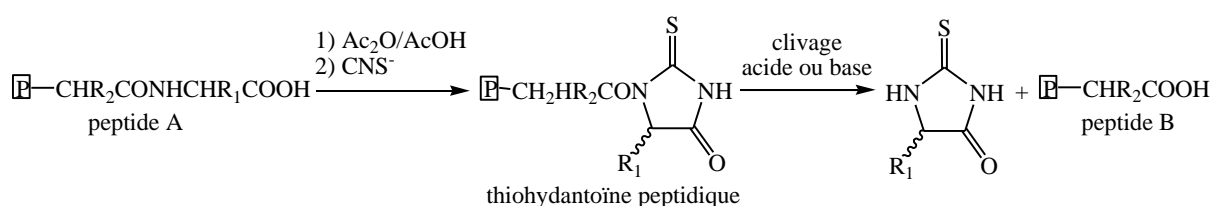


Schéma 11: Dégradation d'un peptide basée sur la méthode de Schlack-Kumpf

Les conditions de Schlack-Kumpf permettent d'obtenir des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes (ou 1-acétyl-2-thiooximidazolidin-4-one) fonctionnalisées en position 5 selon la nature de l'acide aminé condensé avec le thiocyanate d'ammonium (Schéma 12).

Cette condensation avait déjà été réalisée au début du XX^{ème} siècle par Johnson⁵⁰ et a été largement utilisée par diverses équipes ces trente dernières années.⁵¹ En effet, cette méthode rapide et aisée est de plus applicable à un grand nombre d'acides aminés.

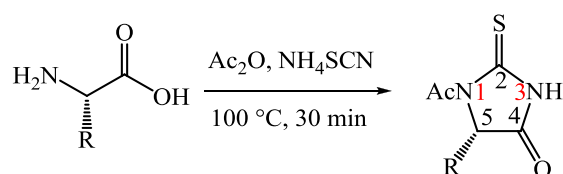


Schéma 12: Synthèse de dérivés de 1-acétyl-2-thiohydantoïne par la réaction de Schlack-Kumpf

⁴⁸ a) Duggan, B.M.; Laslett, R.L.; Wilshire J.F.K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 541-550. (b) Casagrande, F.; Duggan, B.M.; Kirkpatrick, A.; Laslett, R.L.; Wilshire J.F.K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 551-560. c) Liu, Y.; Liang, S. *J. Protein Chem.* **2001**, *20*, 535-541.

⁴⁹ Reyes, S.; Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2507-2509.

⁵⁰ a) Johnson, T.B.; Nicolet, B.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1911**, *33*, 1973-1978. b) Johnson, T.B.; Scott, W.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1913**, *36*, 1130-1136.

⁵¹ a) Thielemann, H.Z. *Chem.* **1978**, *18*, 174. b) Villemin, D.; Ricard, M. *Synth. Commun.* **1987**, *17*, 283-289. c) Marton, J.; Enisz, J.; Hosztafi, S.; Timar, T. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 148-152. d) Wyzlic, I.M. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 4541-4547. d) Davis, R. A.; Aalbersberg, W.; Meo, S.; Moreira da Rocha, R.; Irelan, C. M. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3263-3269.

Le mécanisme de la réaction (Schéma 13) est basé sur celui décrit pour la dégradation des peptides.

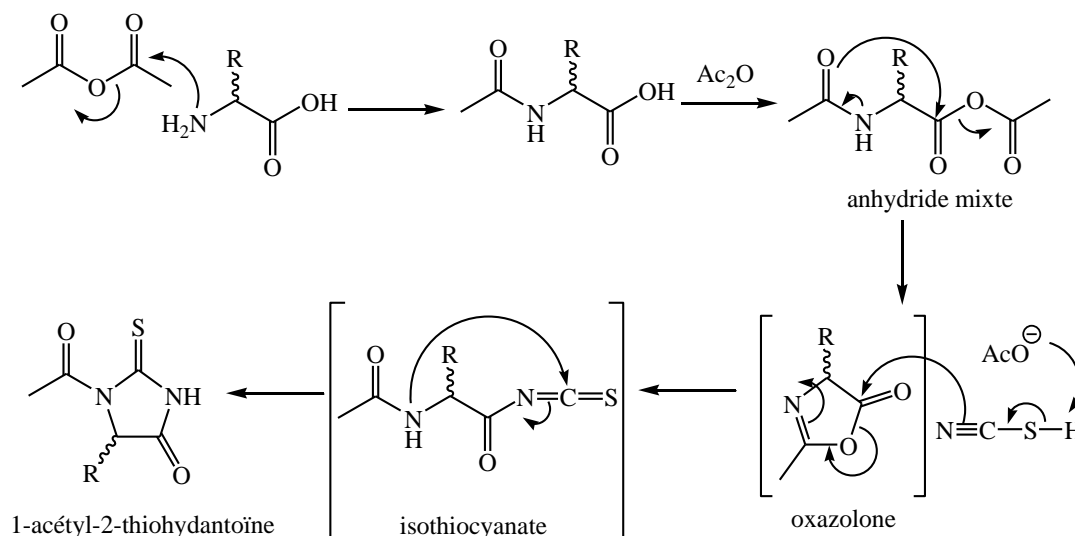


Schéma 13: Mécanisme de la réaction de Schlack-Kumpf

La fonction carboxylate de l'acide aminé est activée par l'anhydride acétique sous forme d'anhydride mixte qui se cyclise pour donner un intermédiaire oxazolone. L'acide thiocyanique attaque le carbonyl de cet intermédiaire entraînant l'ouverture du cycle et générant un isothiocyanate. Finalement, celui-ci se cyclise pour aboutir à la 1-acétyl-2-thiohydantoïne.

Après avoir synthétisé les 1-acétyl-2-thiohydantoïnes par la méthode de Schlack-Kumpf, la réactivité des dérivés obtenus a été étudiée par fonctionnalisation des divers sommets de la molécule.

I- Formation du noyau 2-thiohydantoïne: réaction de Schlack-Kumpf

I-1 Synthèse de la 1-acétyl-2-thiohydantoïne

Pour notre étude, les conditions développées par Burges et Reyes peuvent être utilisées pour la synthèse du noyau initial: la 1-acétyl-2-thiohydantoïne. Dans un premier temps cette réaction a été réalisée avec la glycine (Schéma 14).⁴⁹

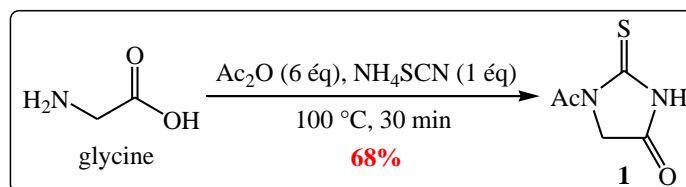


Schéma 14: Synthèse de la 1-acétyl-2-thiohydantoïne

La 1-acétyl-2-thiohydantoïne **1** a été formée avec un rendement satisfaisant de 68%. Les valeurs obtenues par RMN du proton sont conformes à celles données par la littérature confirmant ainsi la structure du produit synthétisé.

I-2 Réaction de Schlack-Kumpf appliquée à divers acides aminés

La réaction de Schlack-Kumpf a ensuite été appliquée à divers acides aminés de la série L tels que l'alanine, la phénylalanine⁴⁹ ainsi qu'à la thréonine, la sérine, la tyrosine, la lysine, l'histidine, l'arginine et le tryptophane qui présentent des chaînes latérales avec des fonctions variées.⁴⁸ La fonctionnalisation du cycle 2-thiohydantoïne en position 5 est ainsi obtenue (Schéma 15).

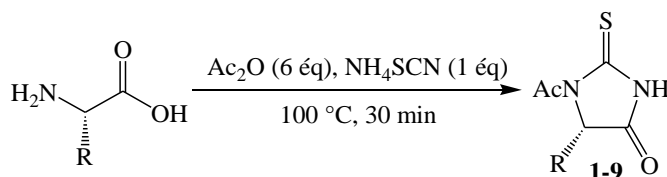


Schéma 15: Formation de 1-acétyl-2-thiohydantoïnes fonctionnalisées en position 5

Cette réaction a été testée avec neuf acides aminés de la série L (Tableau 1).

Acides aminés	R	Composé obtenu: R	Rendement
glycine	H	H (1)	68%
L-cystéine	CH ₂ -SH	CH ₂ -S-Ac (2)	20%
L-lysine	C ₄ H ₈ -NH ₂	C ₄ H ₈ -NH-Ac (3)	51%
acide L-aspartique	CH ₂ -COOMe	CH ₂ -COOMe (4)	53%
L-phénylalanine	CH ₂ -Ph	CH ₂ -Ph (5)	76%
L-méthionine	(CH ₂) ₂ -S-CH ₃	(CH ₂) ₂ -S-CH ₃ (6)	76%

Acides aminés	R	Composé obtenu: R	Rendement
L-tyrosine	CH ₂ -(C ₆ H ₄)-OH	CH ₂ -(C ₆ H ₄)-O-Ac (7)	19%
L-sérine	CH ₂ -OH	double liaison: CH ₂ (8)	7%
L-tryptophane	CH ₂ -3-indolyl	CH ₂ -3-indolyl (9)	72%

Tableau 1: Synthèse de 1-acétyl-2-thiohydantoïnes à partir de divers acides aminés

Les meilleurs rendements sont obtenus avec les acides aminés ne présentant pas de fonction sur la chaîne latérale (L-phénylalanine, L-tryptophane, L-méthionine). Les acides aminés ayant une fonction protique (L-cystéine, L-lysine, L-tyrosine) conduisent à la formation des 2-thiohydantoïnes **2**, **3** et **7** avec leurs fonctions latérales S, N ou O-acétylées avec de moins bons rendements. D'autre part, la 2-thiohydantoïne n'a pu être formée avec l'acide L-aspartique alors que l'ester méthylique de celui-ci permet d'obtenir le produit souhaité **4** avec un rendement moyen de 53%.

La réaction réalisée avec la L-sérine peu stable mène avec un faible rendement à la 5-méthylène-2-thiohydantoïne **8**, produit résultant d'une réaction de déshydratation conduisant à une double liaison exocyclique en position 5 (Schéma 16).

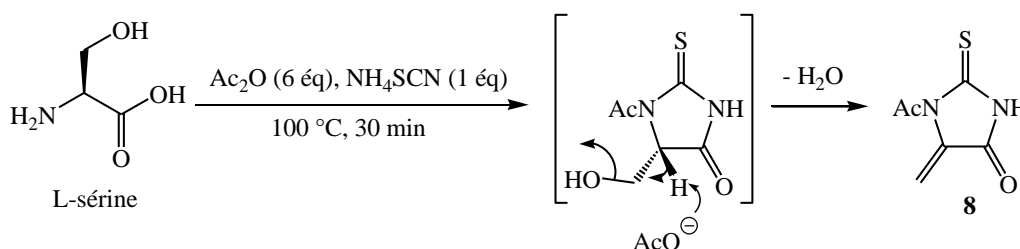


Schéma 16: Formation de la 5-exométhylène-2-thiohydantoïne à partir de la L-sérine

Les rendements obtenus avec les acides aminés portant notamment des fonctions alcool et thiol sont faibles. Dans le cas de la L-cystéine, des essais de condensation sont alors réalisés en acétylant la fonction thiol au préalable.⁵² Le rendement de la réaction de condensation est alors de 73% au lieu de 20% lorsque la fonction thiol n'est pas acétylée (Schéma 17). Dans ce dernier cas, la formation de sous produits tels que la cystine est envisageable.

⁵² Sungwon, L. and Rosazza, J.P.N. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 365-368.

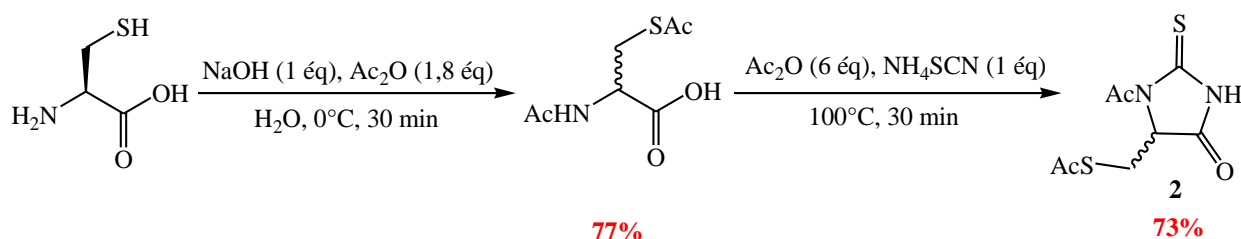


Schéma 17: N,S-acétylation de la L-cystéine et formation de la 1-acétyl-2-thiohydantoïne 2 correspondante

Les 1-acétyl-2-thiohydantoïnes qui ont pu être obtenues avec un rendement satisfaisant nous ont permis de développer leur fonctionnalisation ultérieure.

II- Fonctionnalisation du noyau 2-thiohydantoïne

La réactivité des molécules obtenues par la réaction de Schlack-Kumpf a été étudiée grâce à des essais de fonctionnalisation sur les différentes positions du cycle 2-thiohydantoïne.

Cette étude a été réalisée dans l'objectif d'engager les composés ainsi synthétisés dans des couplages pallado-catalysés de type Liebeskind-Srogl.

II-1 Mise au point de la synthèse de la 2-(benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one 12

Nous avons dans un premier temps abordé la réactivité de la partie « nord » de la 2-thiohydantoïne et plus particulièrement la fonction thioamide par des réactions de N- ou de S-fonctionnalisation.

Les premiers essais de réactivité ont été réalisés sur la 1-acétyl-2-thiohydantoïne dans le but de synthétiser la 2-benzylsulfanyl-1-tert-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one 12 (Schéma 18).

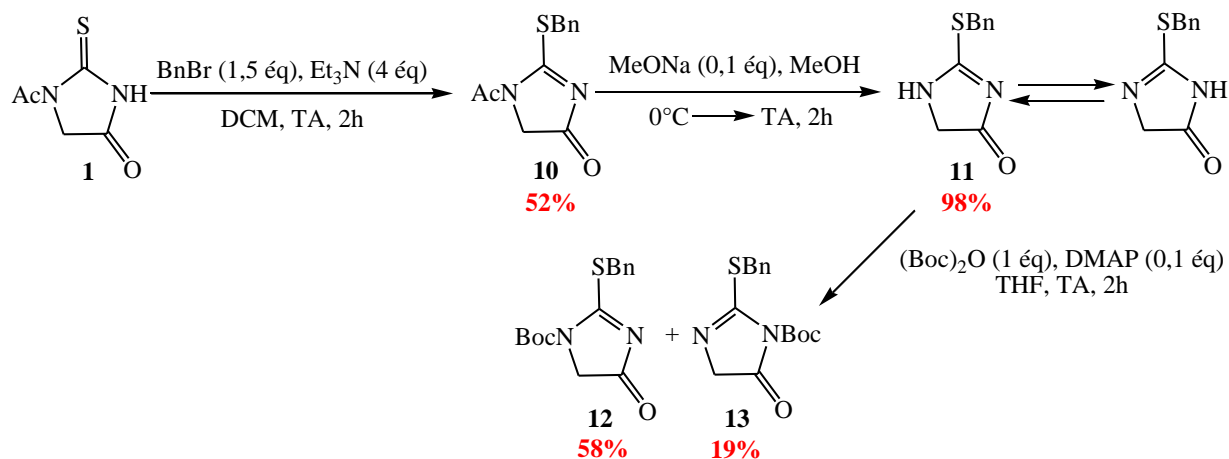


Schéma 18: Essai de fonctionnalisation de la 1-acétyl-2-thiohydantoïne

La première étape de benzylation⁵³ présente un rendement moyen de 52%. La réaction de désacétylation catalysée au méthanolate de sodium,⁵⁴ très efficace avec un rendement quasi quantitatif, aboutit à la formation d'une molécule présentant deux prototropes. Cet équilibre est illustré lors de l'étape suivante. La protection à l'azote par un groupement *tert*-butoxycarbonyl,⁵⁵ conduit à la formation des deux isomères N₁-Boc **12** et N₃-Boc **13** confirmant la présence d'un équilibre en solution.

Les différents essais réalisés en faisant varier la base utilisée dans la réaction de protection n'ont pas permis de favoriser la formation d'un isomère par rapport à l'autre. En effet, le composé N₁-Boc est en général obtenu avec un rendement de l'ordre de 60% alors que l'isomère N₃-Boc est formé à environ 20%. Ces deux molécules sont séparables par chromatographie flash sur colonne de silice et ont pu être caractérisées notamment par RMN du proton et du carbone. En effet, pour l'isomère *tert*-butoxycarbonylé sur la position N₁, les déplacements chimiques des carbones en positions 2 et 4 sont comparables aux valeurs obtenues pour la 1-acétyl-2-thiohydantoïne. Dans le cas de l'isomère N₃ *tert*-butoxycarbonylé, un net blindage des carbones 2 et 4 est observé.

Afin de contourner ces problèmes d'isomérisation, une nouvelle stratégie de synthèse a été élaborée (Schéma 19).

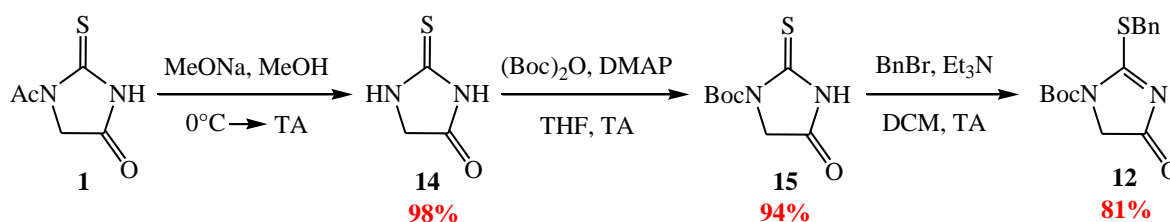


Schéma 19: Synthèse de la 2-(benzylsulfanyl)-1-*tert*-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one **12**

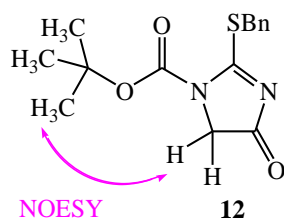
Nous avons envisagé une acylation directe de la 2-thiohydantoïne après désacétylation quantitative. Dans ce cas, nous constatons que la protection de l'azote se fait sélectivement en position 1. En effet, celui-ci est moins encombré et plus réactif que l'azote en position 3 dont le doublet est plus délocalisé du fait de la proximité du carbonyle en position 4 et du thiocarbonyle en position 2.

Enfin, la structure de la dernière molécule a pu être confirmée par l'observation d'un couplage en RMN 2D NOESY entre les protons méthyléniques en position 5 et ceux des méthyles du groupement *tert*-butoxycarbonyle en position 1 (Figure 6).

⁵³ Chih-Ming Yeh and Chung-Ming Sun *Tetrahedron. Lett.* **1999**, *40*, 7247-7250.

⁵⁴ Mémoire présenté par Cathy Préville UQAM **2007**.

⁵⁵ Kruger, H.G.; Mdluli, P.S. *Struct. Chem.* **2006**, *17*, 121-125.


 Figure 6: Couplage NOESY des protons méthyléniques avec les protons du *t*Bu

II-2 Application à la fonctionnalisation des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes issues de divers acides aminés

Après optimisation, cette voie de synthèse a été appliquée à la fonctionnalisation des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes substituées en position 5, obtenues à partir de la condensation des différents acides aminés avec le thiocyanate d'ammonium (Schéma 20).

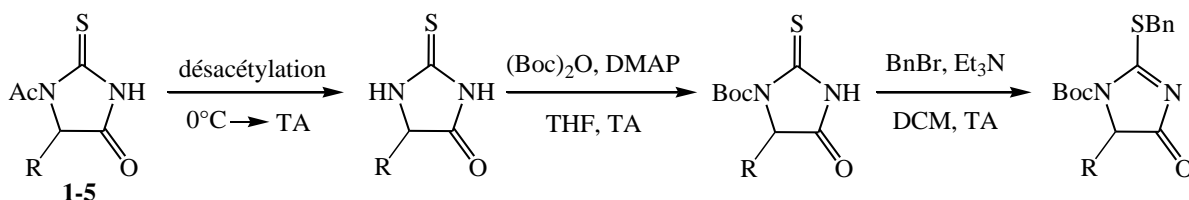


Schéma 20: Fonctionnalisation des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes issues des divers acides aminés

Seuls les cinq acides aminés présentant les meilleurs rendements de condensation ont été engagés dans cette séquence de réactions (Tableau 2).

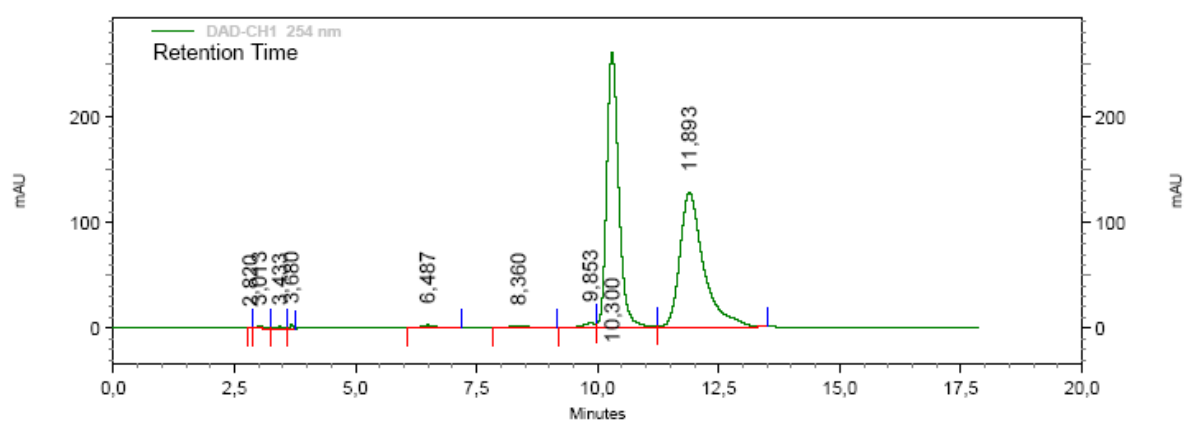
R	Schlack-Kumpf		Désacétylation	Protection par le Boc	Benzylation
	Composé obtenu	Rdt			
H L-glycine	H	68%	98% (14)	94% (15)	81% (12)
CH ₂ -S-Ac L-cystéine	CH ₂ -S-Ac	73%	46% ^{a)} (16)	73% (17)	/
(CH ₂) ₄ -NH ₂ L-lysine	(CH ₂) ₄ -NH-Ac	51%	80% (18)	99% (19)	81% (20)
CH ₂ -COOMe L-acide aspartique	CH ₂ -COOMe	53%	96% (21)	88% (22)	98% (23)
CH ₂ -Ph L-phénylalanine	CH ₂ -Ph	76%	87% (24)	96% (25)	86% (26)

a) déprotection réalisée en présence d'acétate d'hydrazine

Tableau 2: Fonctionnalisation des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes

Les composés désacétylés ont généralement été obtenus avec de bons rendements. Pour la L-cystéine, l'application de la méthanolyse n'est pas sélective ; la déprotection sélective à l'azote a été réalisée en utilisant l'acétate d'hydrazine, le rendement de la réaction n'excédant pas 46%.

Les pouvoirs rotatoires des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes issues de la condensation des acides aminés de série L avec le thiocyanate d'ammonium présentent des valeurs variables. Après désacétylation, les pouvoirs rotatoires de tous les composés se sont révélés proches de zéro laissant penser à une racémisation due aux conditions basiques de déprotection. A titre d'exemple, la 5-benzyl-2-thiohydantoïne **24** a donc été analysée sur colonne HPLC chirale afin de vérifier les proportions de chaque énantiomère. Préalablement la molécule a été préparée en série racémique dans les mêmes conditions que précédemment afin d'avoir un composé de référence.



Conditions d'analyse:

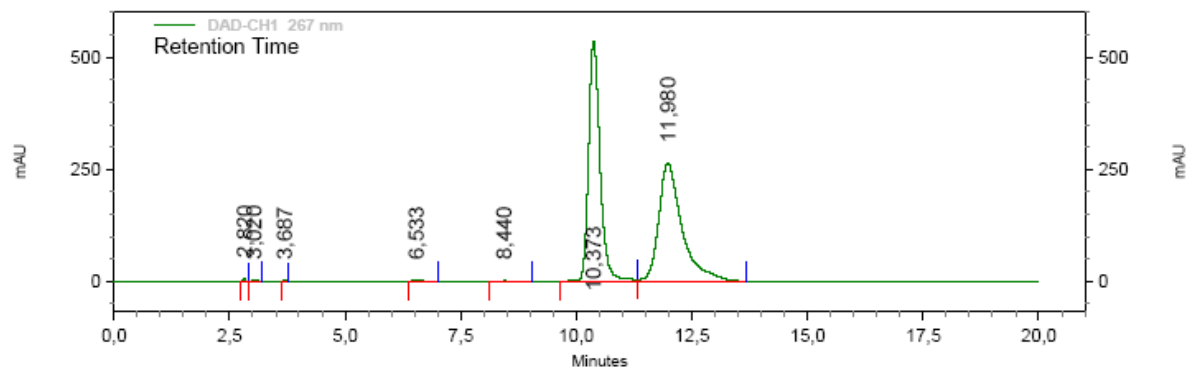
Colonne: chiralpack IA + pré-colonne (250*4.6mm)

Concentration de l'échantillon: 0,2 mg/mL dans Heptane / EtOH ; injection: 20 μ L

Phase mobile: A: 80% n-Heptane; B: 20% Ethanol; Débit: 1mL/min; T = 25 °C

Figure 7: Chromatogramme en phase chirale de la 5-benzyl-2-thiohydantoïne racémique

Le chromatogramme de la 5-benzyl-2-thiohydantoïne (Figure 7) indique la présence de 50,5% d'un énantiomère et de 49,5% de l'autre ce qui correspond à un ratio énantiomérique négligeable comme attendu.



Conditions d'analyse:

Colonne: chiralpack IA + pré-colonne (250*4.6mm)

Concentration de l'échantillon: 0,2 mg/mL dans Heptane / EtOH ; injection: 20 μ L

Phase mobile: A: 80% n-Heptane; B: 20% Ethanol; Débit: 1mL/min; T = 25 °C

Figure 8: Chromatogramme en phase chirale de la 5-benzyl-2-thiohydantoïne issue de la L-phénylalanine

Le chromatogramme de la Figure 8 confirme les valeurs des pouvoirs rotatoires obtenues. En effet, par comparaison avec le chromatogramme du composé racémique de référence (Figure 7), nous pouvons constater que notre composé **24** a bien subi une racémisation lors de l'étape de déacétylation puisque les deux énantiomères sont présents en proportion sensiblement identique.

Tenant compte de ce phénomène, toutes les 2-thiohydantoïnes ont été sélectivement N-1 *tert*-butoxycarbonylées avec de très bons rendements. La S-benzylation a également été réalisée avec de bons rendements préférentiellement à la N-benzylation dans les conditions utilisées. Concernant la L-cystéine, le dérivé S-benzylé n'a pu être obtenu, du fait de l'instabilité de la molécule dans les conditions de réaction utilisées.

A titre comparatif, nous avons également réalisé la S-méthylation de la 5-benzyl-1-*tert*-butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one **25** dans des conditions classiques nécessitant un halogénure d'alkyle en milieu basique.⁵⁶ La molécule S-alkylée **27** a été obtenue avec un rendement de 80% dans les mêmes conditions que les thiobenzylations décrites précédemment (Schéma 21).

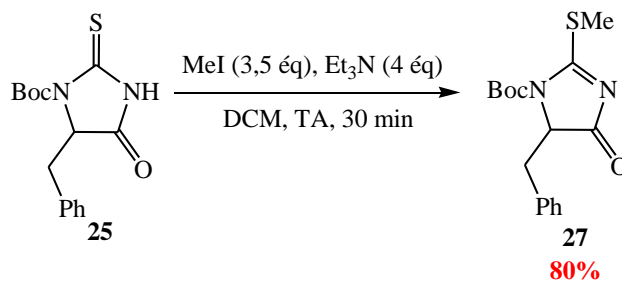


Schéma 21: Thiométhylation de la 5-benzyl-1-*tert*-butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one **25**

⁵⁶ a) Papeo, G.; Posteri, H.; Borghi, D.; Varasi, M. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5641-5644. b) Kumar, R.; Chauhan P. M. S. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5475-5479.

Un ensemble de molécules fonctionnalisées a ainsi été obtenu. Celles-ci seront entre autre soumises à des réactions telles que des couplages pallado-catalysés de type Liebeskind-Srogl.

II-3 Oxydation du thiocarbonyle en position 2

Les 2-thiohydantoïnes sont des composés facilement accessibles par condensation d'un acide aminé avec une source de thiocyanate et à partir desquelles il est possible d'obtenir l'hydantoïne correspondante par oxydation désulfurante.

Les premières désulfurations de 2-thiohydantoïnes 5,5-disubstituées ont été réalisées en solution aqueuse de dibrome par Bailey dans les années 1900. Suite à cela, de nombreuses désulfurations ont été effectuées sur des 2-thiohydantoïnes diversement substituées en présence d'agents oxydants tels que le permanganate de potassium en milieu basique, l'acide nitrique dilué, l'hypochlorite de sodium, l'acide chloroacétique, le chlorure d'hydrogène en solution aqueuse ou alcoolique, le peroxyde d'hydrogène ammoniacal ou encore l'hydroxyde de sodium concentré en présence de sulfate de fer.^{27, 57}

Plus récemment des réactions de désulfuration oxydante ont été réalisées de manière directe sur le thiocarbonyle⁵⁸ ou de manière indirecte sur des groupes alkylsulfanyle.⁵⁹

II-3-a) Désulfuration oxydante directe

Nous avons dans un premier temps tenté d'appliquer les conditions décrites par Muccioli^{58a} utilisant le peroxyde d'hydrogène dans un mélange acide acétique / DMF à température ambiante. Nos essais se sont avérés infructueux sur divers dérivés de la 2-thiohydantoïne, nous avons alors appliqué les conditions développées au laboratoire pour la désulfuration des oxazolidine-2-thiones (Schéma 22, Tableau 3).⁶⁰

⁵⁷ a) Markwald, W.; Neumark, M.; Stelzner, R. *Ber.* **1891**, *24*, 3278-3298. b) Bailey, J. R. *Am. Chem. J.* **1902**, *28*, 386-403. c) Bailey, J. R., Randolph, C. P. *Ber.* **1908**, *41*, 2494-505.

⁵⁸ a) Muccioli, G.G.; Fazio, N.; Scriba, G.K.; Poppitz, W.; Cannata, F.; Poupaert, J.H.; Wouters, J.; Lambert, D.M. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 417-425. b) Shiozaki, M. *Carbohydrate Res.* **2001**, *335*, 147-150.

⁵⁹ a) Gibson, C. L.; La Rosa, S.; Suckling, C. J. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1909-1918. b) Sato, M.; Kaneko, C.; Iwaoka, T.; Kobayashi, Y.; Iida, T. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 699-700.

⁶⁰ a) Girniene, J.; Tatibouët, A.; Sackus, A.; Yang, J.; Holman, G. D.; Rollin, P. *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 711-719. b) Simao, A. C. *Thèse de doctorat* **2009**, Université d'Orléans.

La désulfuration a lieu en présence de *m*CPBA, en effet, dans ces conditions le soufre peut être oxydé en sulfoxyde ou sulfone instables et sensibles à l'attaque nucléophile de l'eau présente dans le milieu réactionnel.

II-4 Réactivité du carbonyle en position 4

II-4-a) O-Trifluorométhanesulfonylation

La O-trifluorométhanesulfonylation du carbonyle en position 4 de la 2-thiohydantoïne a été tentée (Schéma 24) afin de réaliser des couplages de Suzuki par la suite comme cela a été fait sur des hétérocycles azotés de type pyrazole ou pyrrole.^{61, 62}

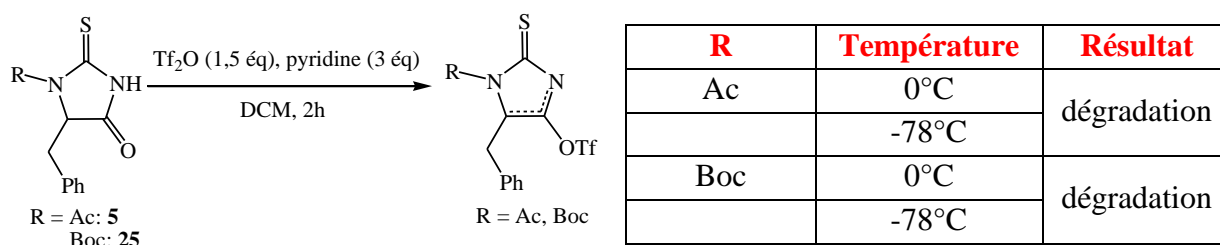


Schéma 24: Tentative de O-trifluorométhanesulfonylation

N'obtenant aucun résultat concluant, la réaction a par la suite été réalisée sur des dérivés S-benzylés et protégés en position 1 par un groupement *tert*-butoxycarbonyle, à 0°C puis à -78°C (Schéma 25).

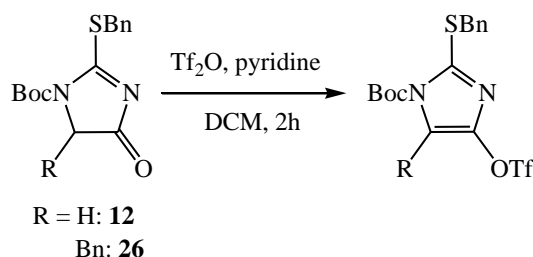


Schéma 25: Essai de O-trifluorométhanesulfonylation sur des 2-benzylsulfanylhydantoïnes N-protégées

La transformation du produit de départ est observée mais le produit formé en faible quantité n'a pu être caractérisé ; par ailleurs celui-ci se dégrade rapidement.

⁶¹ Dvorak, A. C.; Rudolph, A. D.; Ma, S.; Carruthers, N. I. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4188-4190.

⁶² Ohe, T.; Miyaura, N.; Suzuki, A. *J. Org. Chem.* **1992**, *58*, 2201-2208.

II-4-b) O-Silylation

Les essais de O-trifluorométhanesulfonylation n'ayant pas été concluants, nous avons essayé une seconde réaction de O-fonctionnalisation par silylation sélective (Schéma 26).

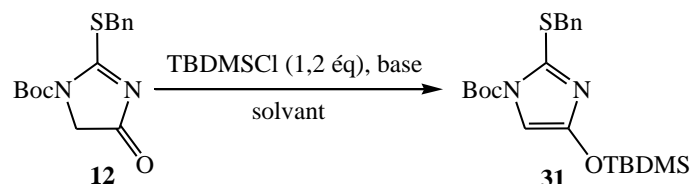


Schéma 26: Tentatives de O-silylation en position 4 de la 2-(benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one 12

Diverses conditions ont été testées (Tableau 4), ce type de réaction n'étant pas décrite dans la littérature sur des hétéocycles ayant une structure proche de la 2-thiohydantoïne.

Base	Solvant	Température	Rendement
DMAP (0,1 équ)	pyridine	TA	pas de réaction
NaH 60% (1,5 équ)	DMF	TA	pas de réaction
<i>t</i> BuOK (1,5 équ)	THF	-78°C à TA	pas de réaction
LDA (1,5 équ)	THF	-78°C à TA	dégradation
<i>n</i> BuLi 1,8M (1 équ.)	THF	-78°C à TA	22%
<i>n</i> BuLi 1,8M (1,5 équ.)	THF	-78°C à TA	31%
<i>n</i> BuLi 1,8M (2 équ.)	THF	-78°C à TA	15% ^{a)}

a) rendement obtenu après deux purifications

Tableau 4: Conditions réactionnelles testées pour la O-silylation en position 4 du composé 12

Cette réaction nécessite l'utilisation d'une base forte telle que le *n*-butyllithium pour générer l'énolate et ainsi piéger l'anion sous la forme d'un éther d'énol silylé. Cependant, le composé 31 ayant tendance à se dégrader, les rendements obtenus sont relativement faibles.

II-4-c) Formation de 2,4-dithiohydantoïnes à partir de 2-thiohydantoïnes

Les hydantoïnes 5,5-substituées telles que la 5-éthyl-5-phénylhydantoïne (Nirvanol) et la 5,5-diphénylhydantoïne (Dilantin), utilisées comme antiépileptiques, sont des composés présentant un intérêt thérapeutique certain.²⁷ Les analogues 2,4-dithiohydantoïne, moins répandus, sont depuis peu également étudiés.⁶³

⁶³ Hamad Elgazwy, A.S.S.; Atta-Allha, S.R.; Keshk, S.M.A.S. *Monatsh. Chem.* **2009**, *140*, 243–249.

• **Réaction entre un α -aminonitrile et le disulfure de carbone**

La réaction de Bucherer-Bergs permet la formation d'une hydantoïne 5,5-disubstituée par réaction entre un dérivé carbonylé, le carbonate d'ammonium et le cyanure de potassium ou encore une cyanhydrine préformée et le carbonate d'ammonium (Schéma 27).

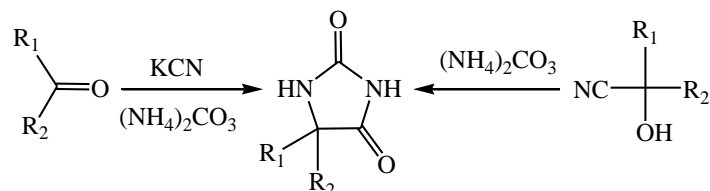


Schéma 27: Formation d'une hydantoïne par la réaction de Bucherer-Bergs

En 1929, Bergs prépara un certain nombre d'hydantoïnes 5-substituées à partir de cétones et d'aldéhydes variés démontrant ainsi l'efficacité de la réaction.⁶⁴ Plus tard, en 1934, Bucherer optimisa cette méthode, utilisant des températures et pressions plus basses. De plus, il mit en évidence la possibilité de former des hydantoïnes à partir de cyanhydrines réagissant avec le carbonate d'ammonium ou encore d' α -aminonitriles en présence de dioxyde de carbone. Le mécanisme suivant fut alors proposé (Schéma 28).⁶⁵

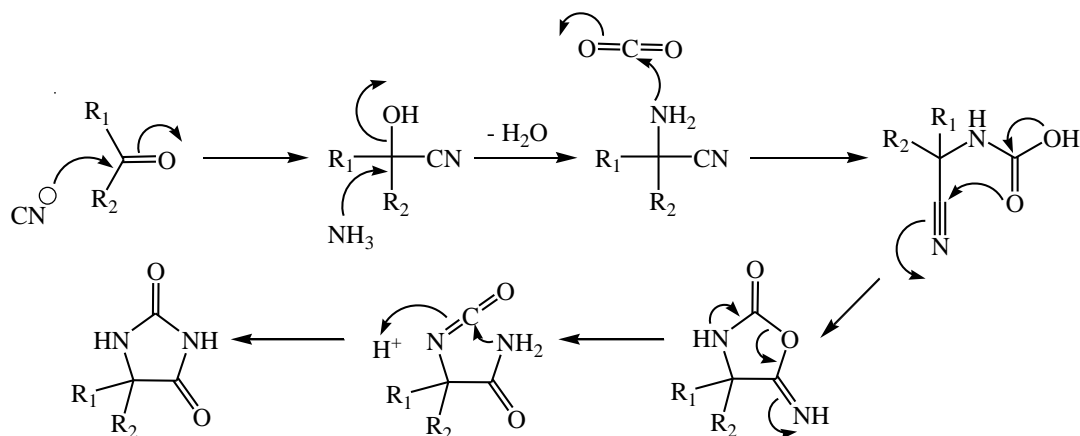


Schéma 28: Mécanisme de la réaction de Bucherer-Bergs

L'addition du KCN sur le composé carbonylé pour former une cyanhydrine est suivie d'une substitution nucléophile S_N2 par NH_3 pour former un aminonitrile. Le mécanisme se poursuit par une addition nucléophile de l'aminonitrile sur le CO_2 formant un acide cyano-carbamique qui se cyclise intramoléculairement en 5-imino-oxazolidin-2-one. Celle-ci subit alors un réarrangement en hydantoïne *via* un intermédiaire isocyanate.

⁶⁴ Bergs, H. *German patent 1929*, 566,094; *Chem. Abstr.* **1933**, 27, 1001. Voir aussi ref. 25.

⁶⁵ a) Bucherer, H.T.; Barsch, H. *J. Prakt. Chem.* **1934**, 140, 151-171. b) Bucherer, H.T.; Brandt, W. *J. Prakt. Chem.* **1934**, 140, 129-150. c) Bucherer, H.T.; Fishbeck, H. *J. Prakt. Chem.* **1934**, 140, 69-89. d) Bucherer, H.T.; Lieb, V.A. *J. Prakt. Chem.* **1934**, 141, 5-43. e) Bucherer, H.T.; Steiner, W. *J. Prakt. Chem.* **1934**, 140, 291-316. Voir aussi ref. 27.

Cette réaction est largement utilisée de nos jours pour la synthèse d'hydantoïnes 5,5-disubstituées à visée thérapeutique⁶⁶ et a été développée afin d'élargir la diversité des molécules accessibles par cette méthode.⁶⁷

La réaction de Bucherer-Bergs modifiée d'un α -aminonitrile avec le disulfure de carbone au lieu du dioxyde de carbone a été développée pour synthétiser des 2,4-dithiohydantoïnes 5,5-disubstituées (Schéma 29).⁶⁸

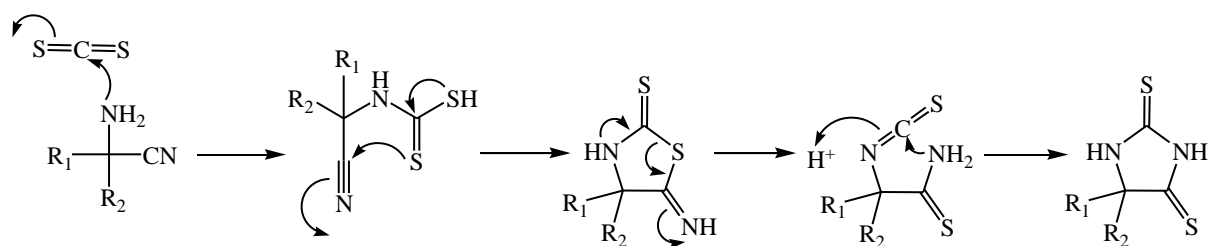


Schéma 29: Mécanisme de la formation de 2,4-dithiohydantoïnes 5,5-disubstituées à partir d' α -aminonitriles par la réaction de Bucherer-Bergs modifiée

De plus, Carrington⁶⁹ a réalisé cette réaction directement à partir des cétones afin de former la 2,4-dithiohydantoïne en présence de disulfure de carbone, de chlorure d'ammonium et de cyanure de sodium utilisant le méthanol, l'éthanol ou le benzène comme solvant (Schéma 30).

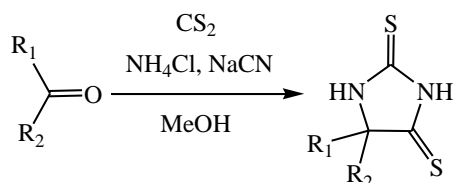


Schéma 30: Synthèse de 2,4-dithiohydantoïnes 5,5-disubstituées à partir de composés carbonyles par la réaction de Bucherer-Bergs modifiée

- **Réaction utilisant le réactif de Lawesson**

La réaction de thionation peut être réalisée de diverses manières, avec du sulfure d'hydrogène en présence d'acide chlorhydrique, avec du pentasulfure de phosphore ou avec des réactifs de thionation tels que le réactif de Lawesson, de Belleau ou de Davy (Figure 9).

⁶⁶ Gallienne, E.; Muccioli, G.G.; Lambert, D.M.; Shipman, M. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 6495-6497.

⁶⁷ Montagne, C.; Shipman, M. *Synlett* **2006**, 2203-2206.

⁶⁸ a) Carrington, H.C. *British patent* **1939**, 512,629; *Chem. Abstr.* **1941**, 35, 758. b) Cook, A. H.; Heilbron, I. M.; Levy, A.L. *J. Chem. Soc.* **1947**, 1598-1609. c) Chubb, F.L.; Edward, J.T. *Can. J. Chem.* **1981**, 59, 2724-2728.

⁶⁹ Carrington, H.C. *J. Chem. Soc.* **1947**, 681-683.

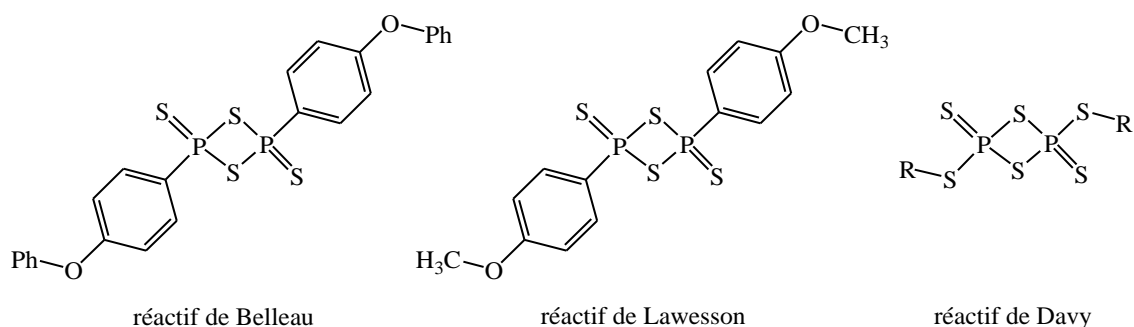


Figure 9: Réactifs utilisés pour la réaction de thionation par ordre de réactivité

Le réactif de Lawesson permet la thionation efficace d'une large variété de composés carbonylés.⁷⁰

La réaction se déroule selon le mécanisme décrit (Schéma 31). L'ouverture du cycle central de manière thermique permet de générer l'ylure de dithiophosphine pouvant réagir avec la fonction carbonyle pour former un intermédiaire thiaoxaphosphétane. La formation d'une double liaison stable phosphore-oxygène conduit alors au produit thiocarbonylé.^{70d}

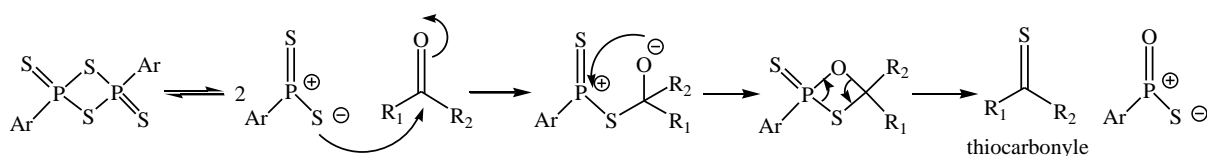


Schéma 31: Mécanisme de thionation avec le réactif de Lawesson

L'utilisation du P_2S_5 et du réactif de Lawesson sont les deux méthodes les plus utilisées pour la thionation des hydantoïnes ou 2-thiohydantoïnes en 2,4-dithiohydantoïnes.⁷¹

Le réactif de Lawesson, simple d'emploi, soluble dans la plupart des solvants organiques est plus réactif que le P_2S_5 et présente un large champ d'action. Nous avons donc testé la réactivité sur certaines 2-thiohydantoïnes synthétisées précédemment (Tableau 5) afin d'obtenir les 2,4-dithiohydantoïnes correspondantes.

⁷⁰ a) Pedersen, B.S.; Scheibye, S.; Nilson, N.H.; Lawesson, S.O. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1978**, *87*, 223–228. b) Thomsen, I.; Clausen, K.; Scheibye, S.; Lawesson, S.O. *Org. Synth.* **1984**, *62*, 158-163. c) Cherkasov, R.A.; Kutyrev, G.A.; Pudovik, A.N. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 2567-2624. d) Cava, M.P.; Levinson, M.I. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5061-5087.

⁷¹ a) Perova, T.V. *Khim. Geterotsikl. Soedin.* **1968**, *4*, 806-807. b) Sacripante, G.; Edward, J.T. *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 1982-1987. c) Marinov, M. et al. *Croat. Chem. Acta* **2005**, *78*, 9–16.

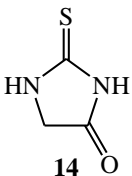
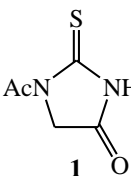
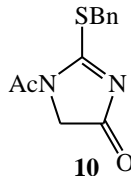
			
Toluène, reflux	dégradation	dégradation	dégradation
THF, reflux	pas de réaction	pas de réaction	mélange de composés

Tableau 5: Tentatives d'obtention de 2,4-dithiohydantoïnes à partir de 2-thiohydantoïnes avec le réactif de Lawesson

Les conditions testées n'ont pas permis d'obtenir les 2,4-dithiohydantoïnes et la thionation du carbonyle en position 4. Une alternative serait alors d'utiliser P₂S₅ dans le dioxane comme décrit par Perova.^{71a}

II-5 Condensation de Knœvenagel

Bien que nous ayons d'ores et déjà réussi à préparer des 2-thiohydantoïnes substituées en position 5 à partir de divers α -amino acides grâce à la réaction de Schlack-Kumpf, il nous a semblé intéressant d'élargir la diversité des molécules accessibles, notamment par condensation d'aldéhydes sur des dérivés de 2-thiohydantoïne ayant un méthylène activé en position 5 par réaction de Knœvenagel. Les structures possèdent ainsi un degré d'hybridation en position 5, différent des thiohydantoïnes précédemment préparées.

Les premières condensations d'aldéhydes aromatiques sur des hydantoïnes et des 2-thiohydantoïnes ont été réalisées au début du 20^{ème} siècle en présence d'acétate de sodium et d'anhydride acétique dans l'acide acétique glacial.^{25, 72} Par la suite, cette réaction a été développée avec une large diversité de composés carbonyles.²⁷

Depuis les 30 dernières années la réaction de Knœvenagel appliquée aux 2-thiohydantoïnes a été réalisée avec des aldéhydes aromatiques,⁷³ hétéoaromatiques,⁷⁴ des cétones cycliques et acycliques,⁷⁵ et des cétones et aldéhydes α,β -insaturés.⁷⁶

Cette réaction a également été utilisée dans le but de synthétiser des molécules d'intérêt thérapeutique telles que des dérivés du 3-formylchromone,⁷⁷ ou encore de la leucettamine B jouant un rôle de médiateur de l'inflammation.⁷⁸

⁷² a) Wheeler, H.L.; Hoffman, C. *Am. Chem. J.* **1911**, *46*, 368-383. b) Wheeler, H.L.; Brautlecht, C. *Am. Chem. J.* **1911**, *46*, 446-451. c) Johnson, T.B.; Scorn, W.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1915**, *37*, 1846-1856.

⁷³ a) Unangst, P.C.; Connor, D.T.; Cetenko, W.A.; Sorenson, R.J.; Kostlan, C.R.; Sircar, J.C.; Wright, C.D.; Schrier, D.J.; Dyer, R.D. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 322-328. b) Khodair, A.I.; El-barbary, A.A.; Abbas, Y.A.; Imam, D.R. *Phosphorus, Sulfur* **2001**, *170*, 261-278.

⁷⁴ a) Chowdhry, M.M.; Mingos, M.P.; White, A.J.P.; Williams, D.J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 3495-3504. b) Rajamaki, S.; Innitzer, A.; Falciani, C.; Tintori, C.; Christ, F.; Witvrouw, M.; Debyser, Z.; Massa, S.; Botta, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 3615-3618.

⁷⁵ Chérouvrier, J.R.; Boissel, J.; Carreaux, F.; Bazureau, J.P. *Green Chem.* **2001**, *3*, 165-169.

⁷⁶ Kiec-Kononowicz, K.; Karolak-Wojciechowska, J.; Michalak, B.; Pękala, E.; Schumacher, B.; Mülleret, C.E. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 205-218.

D'autres réactifs peuvent être utilisés pour synthétiser des 2-thiohydantoïnes C-5 insaturées comme l'a montré Nicolet⁷⁹ en utilisant la phénylhydrazone de l'acétaldéhyde permettant ainsi la préparation d'un dérivé aliphatique.

Plus récemment, la réaction réalisée en présence d'un aldéhyde aromatique et d'éthanolamine dans l'éthanol a révélé la possibilité d'utiliser une base de Schiff comme espèce réactive.³⁷ Par la suite, dans le but d'accéder à des dérivés de leucettamine B, Bazureau a développé une méthodologie de synthèse des 2-thiohydantoïnes C-5 insaturées avec des aldimines par chauffage micro-ondes sans solvant (Schéma 32).⁷⁸

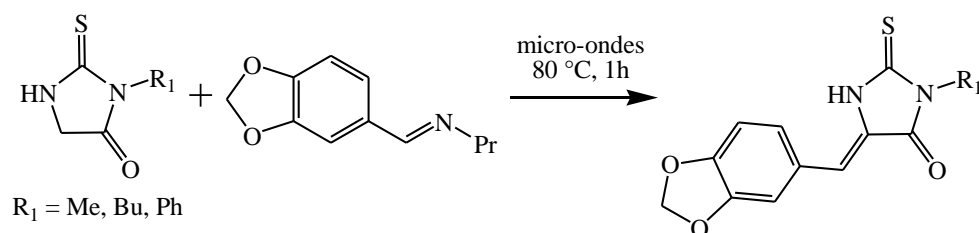


Schéma 32: Application de la réaction de Knœvenagel à la synthèse de dérivés de leucettamine B

Nous avons appliqué la réaction de Knœvenagel à la fonctionnalisation de nos 2-thiohydantoïnes afin d'exemplifier la bibliothèque des molécules accessibles par cette méthode.

II-5-a) Condensation du p-anisalaldéhyde sur des dérivés de 2-thiohydantoïne

De nombreuses conditions ont été développées pour réaliser la réaction de Knœvenagel.³⁷ Parmi celles-ci la condensation d'aldéhydes aromatiques sur la 2-thiohydantoïne a été effectuée dans l'acide acétique en présence d'acétate de sodium⁸⁰ ou de pipéridine.⁸¹ Cette méthode de synthèse utilisant en général une base organique comme catalyseur reste une des plus utilisées. De récentes optimisations de la réaction ont été réalisées en présence d'un acide de Lewis comme catalyseur⁸² ou par chauffage aux micro-ondes sans solvant.⁷⁸

⁷⁷ Lacova, M.; Gasparova, R.; Loos, D.; Liptay, T. et Pronayova, N. *Molecules* **2000**, *5*, 167-178. b) Aly, Y.L. *Phosphorus, Sulfur* **2005**, *180*, 1-18.

⁷⁸ a) Chérourvrièr, J.R.; Carreaux, F. et Bazureau, J.P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3581–3584. b) Debdab, M ; et al. *Heterocycles* **2009**, *78*, 1191-1203.

⁷⁹ Nicolet, B.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1915**, *37*, 2763-2766.

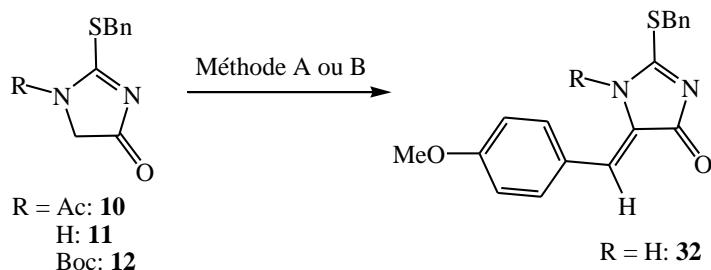
⁸⁰ Alberti, C.G.; Vercellone, A. *Ger. Pat.* **1958**, 1 038 050; *Chem. Abstr.* **1961**, *55*, 2689c.

⁸¹ Thielemann, H. *Sci. Pharm.* **1971**, *39*, 8-15.

⁸² Gregg, B.T.; Earley, W.G.; Golden, K.C.; Quinn, J.F.; Razzano, D.A.; Rennells W.M. *Synthesis* **2006**, *24*, 4200-4204.

• **Mise au point de la synthèse de la (4Z)-2-benzylsulfanyl-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one 32**

Nous avons utilisé la réaction de Knœvenagel selon 2 méthodes, pour la condensation du *p*-anisaldéhyde sur des molécules non protégées ou N-protégées (Schéma 33).



Méthode A: *p*-anisaldéhyde (1,1 éq), AcONa (4,3 éq), AcOH, reflux, 2h
Méthode B: *p*-anisaldéhyde (1,1 éq), NH₄OAc (1,2 éq), toluène, reflux, 2h

Schéma 33: Condensation du *p*-anisaldéhyde en position 5 de 2-thiohydantoïnes

Conditions réactionnelles	Composé de départ: R	Composé obtenu: R	Rendement
Méthode A	Boc	H	71%
	Ac	H	83%
	H	H	56%
Méthode B	Boc	H	42%
	Ac	H	34%
	H	H	40%

Tableau 6: Résultats obtenus avec les 2 méthodes de condensations

Les deux types de conditions employées ont généré les composés N-déprotégés (Tableau 6). Les meilleurs rendements ont cependant été obtenus avec la méthode A qui a donc été utilisée pour poursuivre les essais de condensation.

La condensation du *p*-anisaldéhyde ayant été réalisée, nous avons souhaité réintroduire un groupement protecteur sur l'un des azotes dans la perspective des essais de couplages pallado-catalysés. La réaction a été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment (Schéma 34).⁵⁵

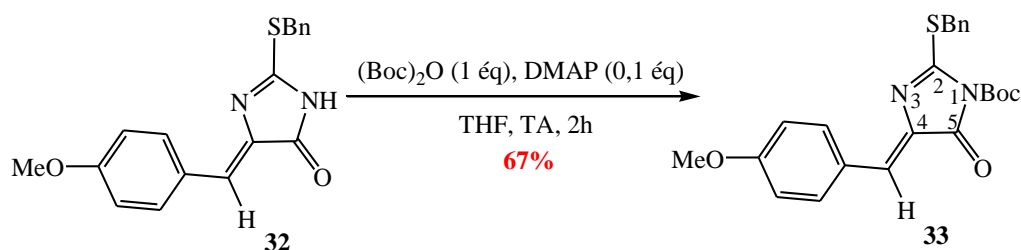


Schéma 34: N-*tert*-butoxycarbonylation de l'imidazolone 32

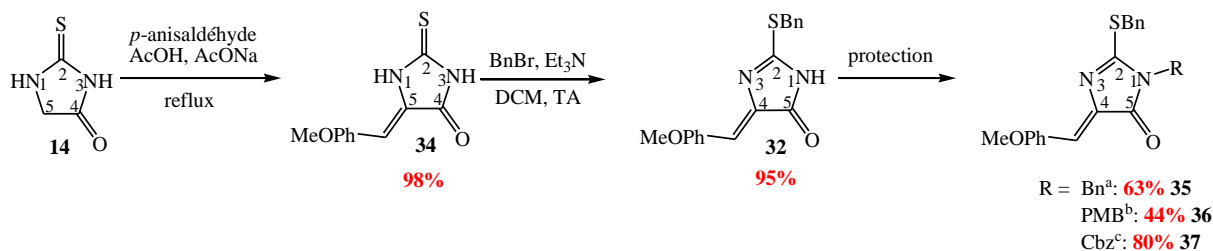
La condensation de Knœvenagel est réalisée en premier lieu sur la 2-thiohydantoïne, la molécule **34** est ensuite régiosélectivement S-benzylée pour être dans un troisième temps N-acylée. Cette séquence permet d'obtenir la molécule **33** fonctionnalisée avec un rendement global satisfaisant de 62%. La comparaison des spectres RMN du proton et du carbone a confirmé la structure obtenue par cette voie de synthèse déterminée précédemment par RMN NOESY et HMBC.

Il est important de noter que le *p*-anisaldéhyde initialement condensé en C-5, se trouve en position 4 après la thiobenzylation, l'ordre de numérotation du cycle s'en trouvant modifié.

• **Synthèse des (4Z)-2-benzylsulfanyl-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-ones N-1 protégées**

Afin d'obtenir divers dérivés de 2-benzylsulfanylimidazolones C-4 insaturées, différents groupements protecteurs sont introduits en N-1 du cycle; leur stabilité sera observée dans les conditions de couplage de Liebeskind-Srogl utilisées par la suite.

La séquence réalisée pour la synthèse de l'imidazolone **33** (Schéma 35) est donc reprise en introduisant cette fois les groupes protecteurs benzyloxycarbone (Cbz),⁸⁴ benzyle (Bn)⁸⁵ et *p*-méthoxybenzyle (PMB) (Schéma 36).⁸⁶



a: BnBr (1,5 éq), NaH 60% (4 éq), THF, TA, 2h
 b: PMBCl (3,2 éq), NaH 60% (5,5 éq), TBAI (0,1 éq), THF, TA, 4h
 c: CbzCl (1,2 éq), Et₃N (4 éq), DCM, TA, 6h

Schéma 36: Synthèse des imidazol-5-one N-1 protégées

La séquence de réactions mise au point nous a permis d'accéder aux 2-benzylsulfanyl-imidazolones N-1 protégées **35**, **36** et **37** avec des rendements de 64%, 44% et 80% respectivement.

II-5-b) Application de la méthode à la fonctionnalisation des 2-thiohydantoïnes avec divers aldéhydes

Les composés comportant des motifs hydantoïne ou thiohydantoïne ont été identifiés comme présentant des activités biologiques diverses.

⁸⁴ Ishizuka, T.; Katahira, T.; Seo, R.; Matsunaga, H.; Kunieda, T. *Tetrahedron Letters*, **2004**, *45*, 9327-9330

⁸⁵ Khodair, A.I.; Gesson, J.P.; El-Ashry, E.S.H. *Phosphorus, Sulfur* **2004**, *179*, 2653-2665.

⁸⁶ Hakogi, T.; Yamaoto, T.; Fujii, S.; Ikeda, K.; Katsumura, S. *Tetrahedron Letters*, **2006**, *47*, 2627-2630.

Parmi les spiro-hydantoïnes ou spiro-thiohydantoïnes décrites dans la littérature,⁸⁷ la glucopyranosylidène-spiro-thiohydantoïne est reconnue comme étant un bon inhibiteur de glycogène phosphorylase.⁸⁸ L'hydantocidine est un herbicide, sa modification par phosphorylation en position 5'-OH inhibe l'adénylosuccinate synthase impliquée dans la voie de synthèse *de novo* des purines.⁸⁹ D'autre part, des 2-thiohydantoïne nucléosides ont été synthétisés en utilisant des réactions de N- et de S-glycosylation. Ces molécules se sont avérées être actives contre les virus herpétiques HSV-1 et HSV-2 et présentent un large spectre d'activités antitumorales sur cellules humaines.⁹⁰

La réaction d'une β -dicétone avec un ose non protégé en solution aqueuse basique a été décrite dans les années 2000 afin d'accéder à des dérivés C-glycosides.⁹¹ La condensation de Knœvenagel entre un monosaccharide et une 2-thiohydantoïne permettrait d'accéder à des molécules substituées de manière originale en position 5.

Afin d'étudier la réactivité du méthylène en position 5, différents aldéhydes (aromatique avec un groupement électro-attracteur, hétéroaromatique, aliphatique primaire, secondaire, tertiaire et monosaccharidique) ont été condensés sur la 2-thiohydantoïne **14** selon les conditions utilisées précédemment (Schéma 37).

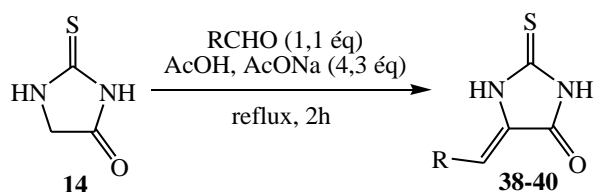


Schéma 37: Condensation de Knœvenagel avec divers aldéhydes

Les résultats obtenus pour les essais de condensation de Knœvenagel sont présentés dans le Tableau 7.

⁸⁷ a) Postel, D.; Nguyen Van Nhien, A.; Villa, P.; Ronco, G. *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 1499–1502. b) Gasch, C.; Illangua, J.M.; Merino-Montiel, P.; Fuentes, J. *Tetrahedron* **2009**, 65, 4149–4155.

⁸⁸ a) Osz, E.; Somsak, L.; Szilagyi, L.; Kovacs, L.; Docsa, T.; Toth, B.; Gergely, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1385–1390. b) Somsak, L.; Kovacs, L.; Toth, M.; Osz, E.; Szilágyi, L.; Györgydeák, Z.; Dinya, Z.; Docsa, T.; Tóth, B.; Gergely, P. *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 2843–2848.

⁸⁹ Renard, A.; Kotera, M.; Brochier, M.C.; Lhomme, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1831–1840.

⁹⁰ Khodair, A.I.A.; El Ashry, E.S.H.; Al-Masoudi, N.A.L. *Monatsh. Chem.* **2004**, 135, 1061–1079.

⁹¹ a) Rodrigues, F.; Canac, Y.; Lubineau, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2000**, 2049–2050. b) Riemann, I.; Padopoulos, M.A.; Knorst, M.; Fessner, W.D. *Aust. J. Chem.* **2002**, 55, 147–154. c) Hersant, Y.; Abou-Jneid, R.; Canac, Y.; Lubineau, A.; Philippe, M.; Semeria, D.; Radisson, X.; Sherrmann, M-C. *Carbohydr. Res.* **2004**, 339, 741–745.

Entrées	R	Condensation de Knoevenagel
1	4-NO ₂ Ph	97% (38)
2	4-pyridyl	dégradation
3	CH ₃	6% (39)
4	cyclohexanyl	62% (40)
5	(CH ₃) ₃ C	pas de réaction
6	D-arabinofuranose	pas de réaction
7	2,5-anhydro-D-mannose	pas de réaction

Tableau 7: Résultats obtenus pour la condensation de Knoevenagel avec divers aldéhydes

La condensation avec le *p*-nitrobenzaldéhyde fonctionne très bien avec un rendement quasi quantitatif de 97% (entrée 1) alors que la dégradation du milieu réactionnel est observée pour le 4-pyridine carboxaldéhyde (entrée 2).

Concernant les aldéhydes aliphatiques (entrées 3-5), la 2-thiohydantoïne **40** a été obtenue par condensation du cyclohexanecarboxaldéhyde avec un rendement satisfaisant de 62% (entrée 4). La réaction réalisée avec l'acétaldéhyde aboutit à la formation du composé **39** avec un très faible rendement de 6% (entrée 3) et la condensation du pivalaldéhyde n'a pas été possible (entrée 5).

Pour le D-arabinofuranose (entrée 6), différentes conditions réactionnelles ont été testées (Tableau 8), tout d'abord des conditions classiques de condensation de Knoevenagel puis les conditions utilisées par Lubineau pour la synthèse des β-C-glycosyl cétones.^{91a}

Base	Solvant	Température	Résultat
AcONa	AcOH	80°C	pas de réaction
AcONa	AcOH	reflux	pas de réaction
AcONa	toluène	reflux	pas de réaction
Na ₂ CO ₃	H ₂ O	90°C	dégradation
NaHCO ₃	H ₂ O	90°C	dégradation

Tableau 8: Conditions réactionnelles testées pour la condensation de Knoevenagel entre la 2-thiohydantoïne 14 et le D-arabinofuranose

La réaction de Miyaura-Suzuki⁹⁶ est une réaction de couplage pallado-catalysée entre un dérivé boronique et un dérivé halogéné en présence d'une base et d'un catalyseur au palladium qui permet la création d'une liaison carbone – carbone.

La réaction de Liebeskind-Srogl (Schéma 39) est une modification des couplages pallado-catalysés de type Suzuki entre un dérivé boronique et un thioester faisant intervenir un cofacteur au cuivre en quantité stoechiométrique et ne nécessitant pas de base.

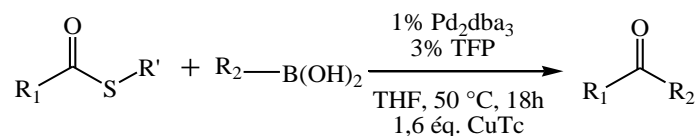


Schéma 39: Réaction de couplage pallado-catalysé de Suzuki décrite par Liebeskind et Srogl en 2000

Liebeskind a proposé un mécanisme⁹⁷ décrit Schéma 40. Après l'étape d'addition oxydante, le thiophène carboxylate de cuivre (CuTc) se chélate à l'espèce organopalladiée (1) par l'intermédiaire du soufre. Lors de l'étape de transmétallation, le CuTc forme un complexe (3) avec l'acide boronique favorisant le transfert du groupement R du bore vers le palladium. Par un mécanisme concerté, le cuivre active le départ du groupement thioalkyle pour former l'espèce organopalladiée (4). Le composé souhaité est obtenu après élimination réductrice avec régénération de l'espèce catalytique.

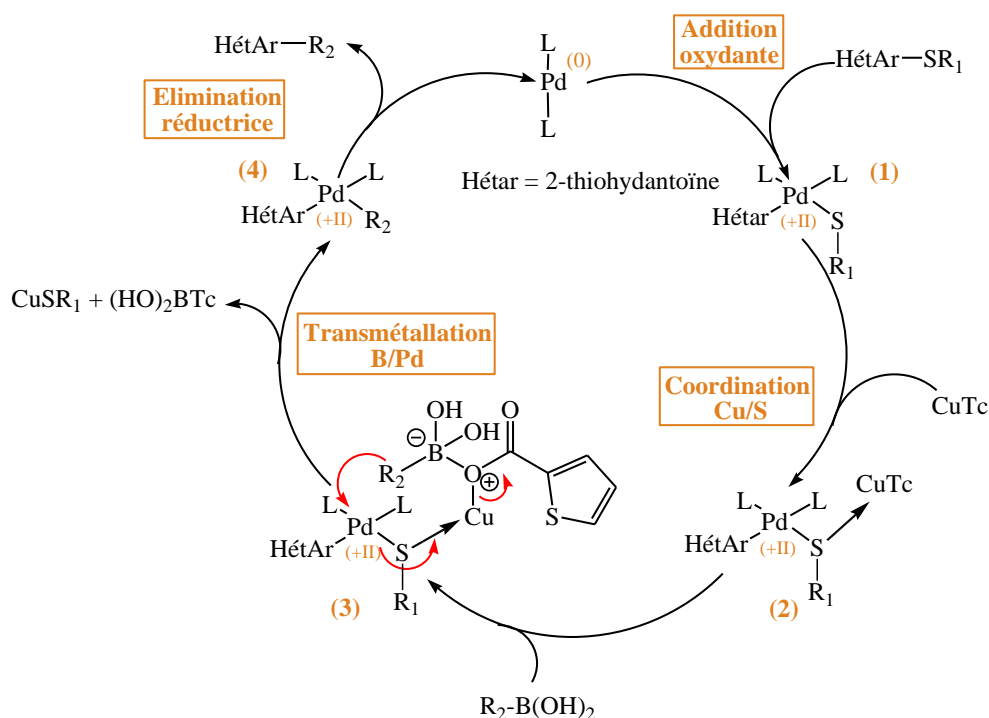


Schéma 40: Cycle catalytique du couplage de Liebeskind-Srogl

⁹⁴ a) Silva, S.; Sylla, B.; Suzenet, F.; Tatibouët, A.; Rauter, A.P.; Rollin, P. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 853-856. b) Mehta, V.P.; Sharma, A.; Van der Eycken, E. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1147-1150.

⁹⁵ Liebeskind, L.S.; Srogl, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11260-11261.

⁹⁶ Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437-3440.

⁹⁷ Savarin, C.; Srogl, J.; Liebeskind, L.S. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 91-93.

Dans le cycle catalytique du couplage de Suzuki classique, la base permet d'augmenter le caractère nucléophile du dérivé boronique en formant *in situ* un borate favorisant l'étape de transmétallation. Dans le cas du couplage de Liebeskind-Srogl, la réaction se fait en milieu non basique puisque l'anion carboxylate se complexe au bore pour former un complexe indispensable à la transmétallation.

Cette méthodologie novatrice présente l'avantage d'avoir lieu en milieu neutre. Elle a permis la synthèse d'une importante variété de molécules par couplage de dérivés boroniques avec des thioesters,⁹⁵ des thioalcynes,⁹⁷ des thioéthers hétéroaromatiques,^{98, 22c} des amidines⁹⁹ et des thiocyanates.¹⁰⁰ Celle-ci a également pu être appliquée à la synthèse totale de produits naturels.¹⁰¹

En 2004, Kappe a réalisé la réaction de Liebeskind-Srogl sous activation micro-ondes pour effectuer un « couplage direct » sur une thiourée (Schéma 41)¹⁰² puis a étendu celle-ci aux thioamides.¹⁰³ Ces conditions ont entre autres été utilisées à partir d'oxazoline- et d'oxazolidine-2-thiones au sein de notre laboratoire.¹⁰⁴

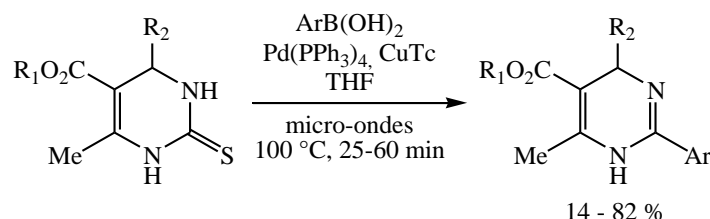


Schéma 41: Couplage de Liebeskind-Srogl direct sous activation micro-ondes par Kappe

De nouvelles conditions de couplage des thioesters avec des acides boroniques ont récemment été mises au point. La réaction présente l'avantage d'être réalisée sans palladium, avec du cuivre en quantité catalytique et en milieu aérobie.¹⁰⁵

Les couplages de Liebeskind-Srogl sur les 2-thiohydantoïnes ont été peu étudiés, nous avons donc choisi d'explorer cette réaction afin de fonctionnaliser les dérivés de 2-thiohydantoïnes précédemment synthétisés.

⁹⁸ a) Liebeskind, L.S.; Srogl, J. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 979-981. b) Alphonse, F.A.; Suzenet, F.; Keromnes, A.; Lebre, B.; Guillaumet, G. *Synlett* **2002**, 447-450.

⁹⁹ Carrie L. Kusturin, C.L.; Liebeskind, L.S.; Neumann W.L. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 983-985.

¹⁰⁰ Zhang, Z.; Srogl, J. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4331-4333.

¹⁰¹ a) Morita, A.; Kuwahara, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1613-1616. b) Yang, H.; Liebeskind, L.S. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2993-2995.

¹⁰² Lengar, A.; Kappe, C.O. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 771-774.

¹⁰³ a) Prokopcova, H.; Kappe, C.O. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4440-4448. b) Arshad, N.; Hashim J.; Kappe C. O. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5118-5121.

¹⁰⁴ Silva, S.; Tardy, S.; Routier, S.; Suzenet, F.; Tatibouët, A.; Rauter, A. P.; Rollin, P. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5583-5586.

¹⁰⁵ Villalobos, J.M.; Srogl, J.; Liebeskind, L.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15734-15735.

III-1 Couplages sur les dérivés des 2-thiohydantoïnes issues de la condensation de Schlack-Kumpf avec divers acides aminés

III-1-a) Tentatives de couplage direct

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés aux réactions de couplage réalisées directement sur la fonction thiourée de la 2-thiohydantoïne. Les conditions utilisées sont celles précédemment développées au laboratoire:¹⁰⁴ en présence d'acide 4-méthoxyphénylboronique, de palladium tétrakis(triphénylphosphine) (Pd(PPh₃)₄) et d'un cofacteur au cuivre (I) le thiophène carboxylate de cuivre (CuTc) ou le 3-méthylsalicylate de cuivre (CuMeSal) (Schéma 42).

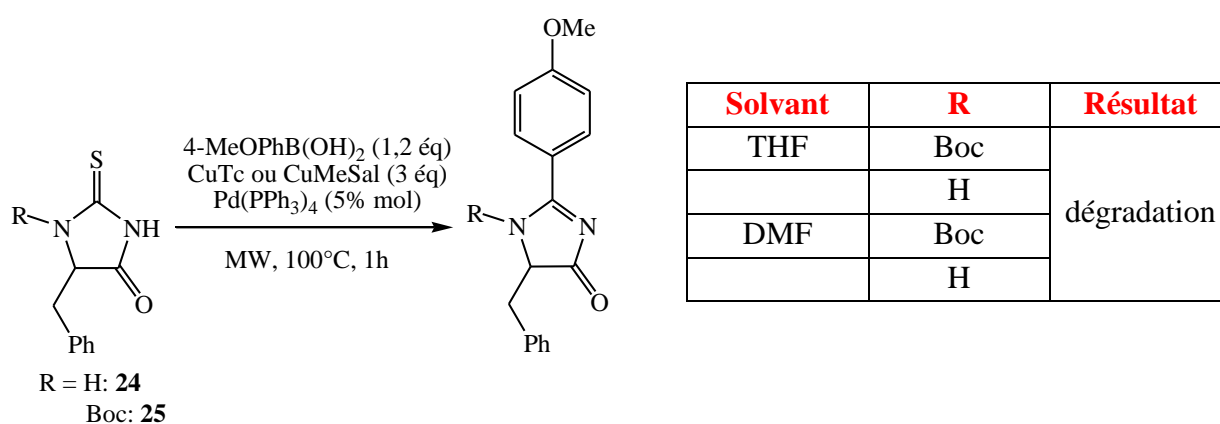


Schéma 42: Essais de couplage direct sur la 5-benzyl-2-thiohydantoïne

Dans tous les cas nous observons la dégradation du composé de départ ce qui nous a amenés à tester les conditions réactionnelles initialement mises au point par Liebeskind et Srogl.

III-1-b) Tentatives de couplage sur la fonction thioéther

Nous nous sommes dans un second temps intéressés au couplage de Suzuki entre les dérivés alkylsulfanyle et un acide boronique décrits par Liebeskind.⁹⁸ Ces réactions ont été explorées au laboratoire sur des structures de types 1,3-oxazoline-2-thione et 1,3-oxazolidine-2-thione,¹⁰⁴ nous avons donc essayé d'adapter les conditions réactionnelles aux 2-thiohydantoïnes précédemment obtenues.

La réaction a en premier lieu été testée sur des 2-alkylthioimidazolinones issues de la L-phénylalanine, en utilisant une activation aux micro-ondes (Schéma 43).

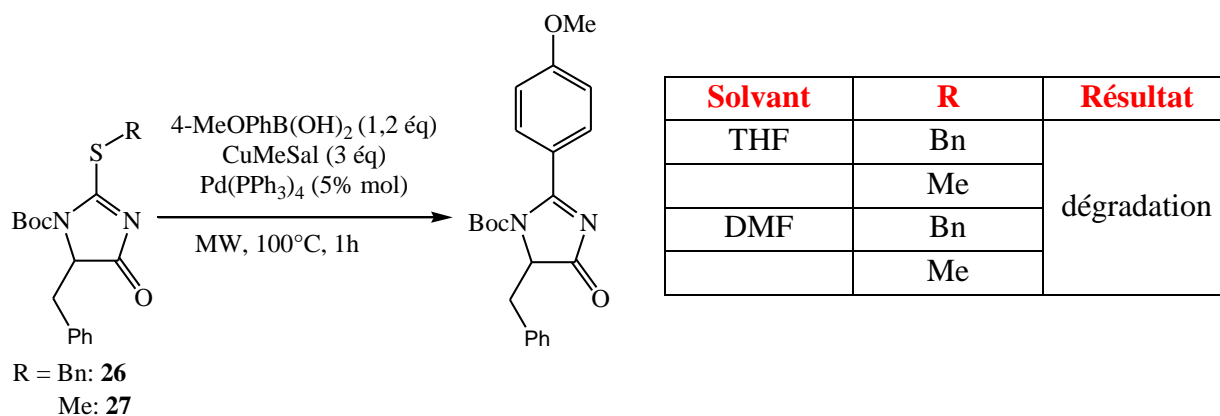


Schéma 43: Tentatives de couplage de Liebeskind-Srogl sur des dérivés de la 5-benzyl-2-thiohydantoïne

Comme précédemment, le produit de couplage n'a pas été détecté. Nous avons donc envisagé de tester cette réaction sur les dérivés C-4 insaturés de 2-thiohydantoïnes.

III-2 Couplages sur les dérivés de (4Z)-2-benzylsulfanyl-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one

Le couplage de Liebeskind-Srogl sur une 2-thiohydantoïne C-4 insaturée a été réalisé en 2005 avec des acides boroniques aromatiques en présence de palladium tétrakis(triphénylphosphine).¹⁰⁶

Aucune des tentatives précédentes n'ayant conduit au couplage attendu, nous avons émis l'hypothèse de la nécessité d'une hybridation sp^2 en position 4 et ainsi testé les molécules obtenues suite à la condensation du *p*-anisaldéhyde sur la 2-thiohydantoïne par réaction de Knoevenagel.

III-2-a) Synthèse de la (4Z)-1-benzyl-4-(4-méthoxybenzylidène)-2-(4-méthoxyphényl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **46**

Les premiers essais de couplage avec l'acide 4-méthoxyphénylboronique ont été réalisés dans les conditions décrites par Kappe en présence de palladium tétrakis(triphénylphosphine) en quantité catalytique et de 3 équivalents de CuTc (Schéma 44).^{103a}

¹⁰⁶ Oumouch, S.; Bourotte, M.; Schmitt, M.; Bourguignon, J.J. *Synthesis* **2005**, 25-27.

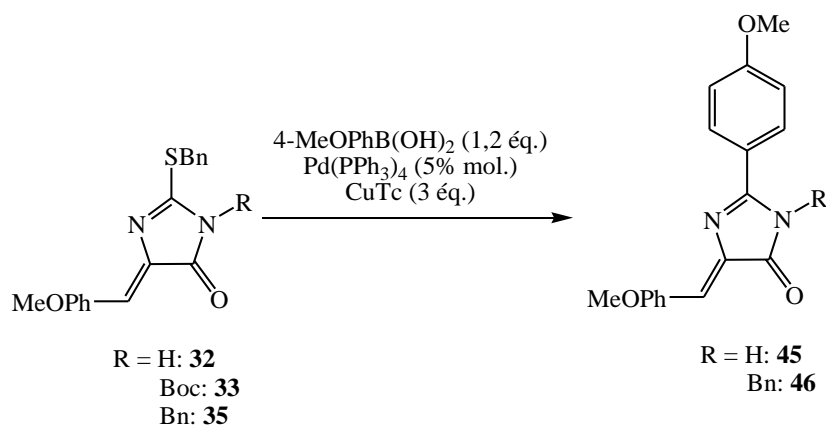


Schéma 44: Couplage de Liebeskind-Srogl sur des 2-thiohydantoïnes C-4 insaturées

Différentes conditions réactionnelles faisant varier le type de chauffage et le solvant ont été testées sur des 2-thiohydantoïnes non protégées en position 1, *N-tert*-butoxycarboxylées ou bien *N*-benzylées (Tableau 9).

R	Chauffage micro-ondes (1 h)		Chauffage thermique (24 h)	
	THF (60°C)	DMF (130°C)	THF (reflux)	DMF (130°)
H	9%	36%	10%	11%
Boc	5%, R = H	7%, R = H	6%, R = H	9%, R = H
Bn	45%	31%	51%	12%

Tableau 9: Conditions testées pour la réaction de couplage de Liebeskind-Srogl sur les 2-thiohydantoïnes C-4 insaturées

Contrairement aux essais réalisés avec les 5-benzyl-2-thiohydantoïnes issues de la réaction de Schlack-Kumpf, les tentatives de couplage avec les 4-exométhylène-2-thiohydantoïnes semblent donner quelques résultats encourageants confirmant notre hypothèse sur l'influence de la nature du carbone (sp^3 ou sp^2) en position 5 ou 4 respectivement.

Les résultats obtenus avec la 2-alkylthioimidazolone non protégée en position 1 ne sont pas très concluants. Le groupe protecteur *tert*-butoxycarboxyle ne favorise guère la réaction de couplage de par son instabilité. C'est le produit déprotégé qui est isolé et ce avec un rendement dans certain cas nettement plus faible.

L'introduction d'un groupement protecteur plus stable permet la formation du produit couplé avec des rendements satisfaisants. Cette observation met en évidence l'importance de la nature du groupement protecteur pour permettre la réaction.

Par ailleurs, la réaction réalisée au sein du THF est nettement plus propre que dans le DMF et présente un meilleur rendement dans le cas d'une protection par le groupe benzyle.

Enfin, bien que le chauffage aux micro-ondes donne des résultats satisfaisants, le mélange réactionnel brut est nettement plus complexe que dans le cas d'un chauffage thermique

classique. Nous avons donc opté pour cette activation thermique et ainsi simplifié les purifications des molécules.

La réaction de Liebeskind-Srogl sur la molécule **35**, dans les conditions testées au reflux du THF, conduit de manière satisfaisante à la formation de la (4Z)-1-benzyl-4-(4-méthoxybenzylidène)-2-(4-méthoxyphényl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **46** avec un rendement de 51%.

Ces résultats encourageants nous ont incités à poursuivre les essais de couplage sur cette molécule pour déterminer les conditions optimales de la réaction notamment au niveau du catalyseur au palladium et du co-catalyseur au cuivre, afin d'améliorer le rendement de la transformation.

III-2-b) Optimisation du couplage de Liebeskind-Srogl

La présence d'un groupe protecteur de type alkyle nous a permis de réaliser le couplage dans les conditions de Liebeskind-Srogl.¹⁰⁷ Nous avons fait varier le système catalytique composé d'un complexe de palladium et de ligands phosphine (Schéma 45) pour essayer d'améliorer le rendement de la réaction.

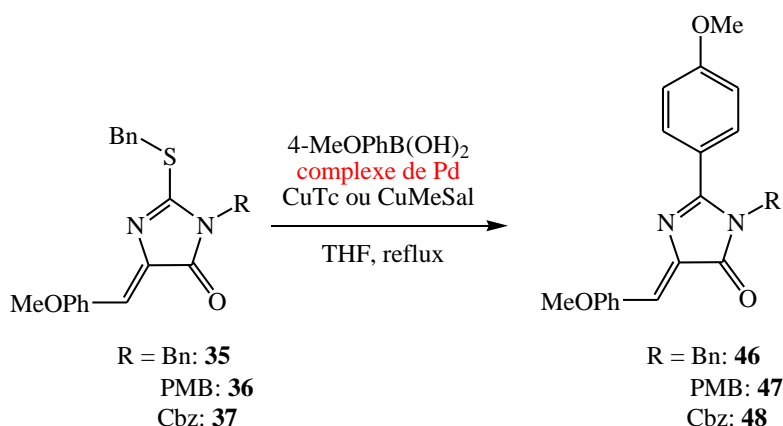


Schéma 45: Couplage de Liebeskind-Srogl, variation du système catalytique au palladium

Un certain nombre de paramètres ont été modifiés: divers complexes de palladium ont été testés, l'adduit de cuivre modifié (le CuTc a été remplacé par le CuMeSal) et nous avons augmenté la quantité de palladium jusqu'à 10% molaire (Tableau 10).

¹⁰⁷ Gosling, S.; Rollin, P.; Tatibouët, A. *Synthesis* **2011**, 22, 3649-3660.

Entrée	R	Palladium, quantité	Cuivre (3 éq.)	Rendement
1	Bn	Pd(PPh ₃) ₄ , 5% mol	CuTc	51%
2		Pd ₂ dba ₃ , 5% mol	CuTc	63%
3		Pd ₂ dba ₃ , 5% mol TFP, 10% mol	CuTc	61%
4		Pd ₂ dba ₃ , 5% mol PPh ₃ , 10% mol	CuTc	53%
5		PdCl ₂ , 5% mol PPh ₃ , 10% mol	CuTc	14%
6		Pd(OAc) ₂ , 5% mol PPh ₃ , 10% mol	CuTc	52%
7		Pd(PPh ₃) ₄ , 5% mol	CuMeSal	47%
8		Pd(PPh ₃) ₄ , 5% mol	CuTc	55% ^{a)}
9		Pd(PPh ₃) ₄ , 5% mol	CuTc	40% ^{b)}
10		Pd(PPh ₃) ₄ , 2×5% mol	CuTc	52%
11		Pd(PPh ₃) ₄ , 10% mol	CuTc	51%
12	PMB	Pd(PPh ₃) ₄ , 5% mol	CuTc	47%
13		Pd(PPh ₃) ₄ , 2×5% mol	CuTc	52%
14		Pd(PPh ₃) ₄ , 10% mol	CuTc	61%
15	Cbz	Pd(PPh ₃) ₄ , 5% mol	CuTc	50%
16		Pd(PPh ₃) ₄ , 10% mol	CuTc	69%

a) 2,2 éq d'acide boronique

b) ajout de 1,2 éq de Na₂CO₃

Tableau 10: Conditions testées pour l'optimisation du couplage de Liebeskind-Srogl

Nous avons tout d'abord déterminé le meilleur système catalytique (catalyseur/ligand) et la quantité de catalyseur à utiliser sur la molécule N-1 benzylée **35** (entrées 1-11).

L'utilisation du tris(dibenzylidèneacétone) dipalladium (0) (Pd₂dba₃) (entrée 2) permet d'améliorer le rendement obtenu avec le tétrakis(triphénylphosphine) palladium (0). L'ajout de 10% molaire de tri(2-furyl)phosphine (TFP) ou de triphénylphosphine (PPh₃) (entrées 3-4) n'engendre pas de changement significatif. Malgré de meilleurs rendements la purification du produit de couplage pose plus de difficultés avec le Pd₂dba₃ qui est par ailleurs plus coûteux que le Pd(PPh₃)₄.

L'utilisation du système PdCl₂/PPh₃ (entrée 5) ne favorise pas la réaction puisque le rendement chute à 14% alors que le système Pd(OAc)₂/PPh₃ (entrée 6) donne un rendement de l'ordre de 50% comme pour le tétrakis(triphénylphosphine) palladium (0).

Le tétrakis(triphénylphosphine) palladium (0) paraît être le catalyseur à employer, l'utilisation du CuMeSal à la place du CuTc (entrée 7), l'ajout d'un équivalent d'acide boronique (entrée 8) ou encore d'une base minérale (entrée 9) n'influent pas significativement sur le rendement.

Enfin, si le fait de rajouter 5% de catalyseur au milieu du temps de réaction (entrée 10) ne change rien, l'introduction initiale de 10% molaire de palladium (entrées 11-14-16) permet d'obtenir le produit de couplage avec de meilleurs rendements pour les molécules N-*p*-méthoxybenzylées **47** et N-benzyloxycarbonylées **48**.

III-2-c) Couplage de Liebeskind-Srogl sur la fonction thiourée

Nous avons précédemment réussi à mettre au point des conditions de couplage de type Liebeskind-Srogl sur des (4*Z*)-2-benzylsulfanyl-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one N-1 protégées. Une autre possibilité serait de réaliser un couplage direct sur la molécule ayant une fonction thiourée (Schéma 46).

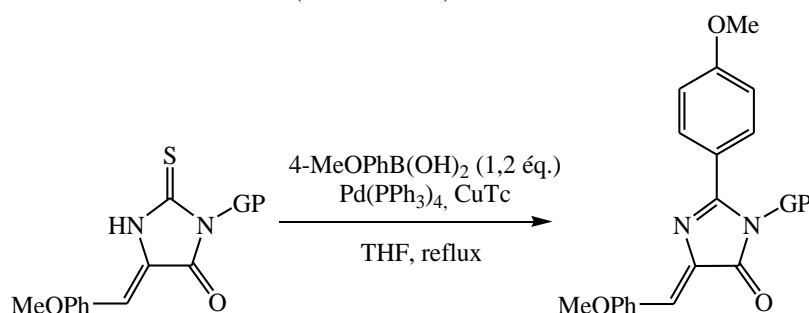


Schéma 46: Couplage de Liebeskind-Srogl direct

Cependant, la méthodologie développée (Schéma 36, page 51) ne permet pas d'accéder à ces molécules. Après avoir réalisé la condensation du *p*-anisaldéhyde en position 5, la N-alkylation sélective par des groupes protecteurs similaires n'a pas été possible.

Nous avons choisi une autre approche de synthèse nécessitant la préparation d'une 2-thiohydantoïne préalablement N-3 alkylée sur laquelle nous avons réalisé la condensation de Knoevenagel (Schéma 47).

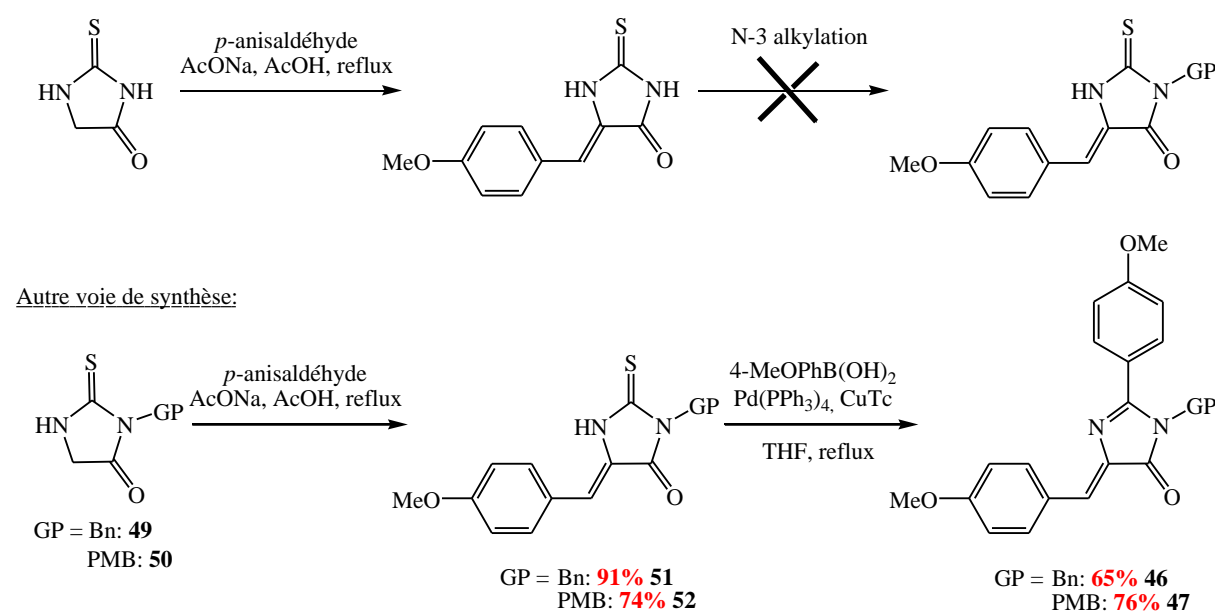


Schéma 47: Autre approche de synthèse utilisée pour le couplage direct de Liebeskind-Srogl

Le couplage de Liebeskind-Srogl, directement réalisé sur la fonction thiourée dans les conditions optimisées précédemment, nous a permis d'aboutir aux composés **46** et **47** souhaités avec de meilleurs rendements que le couplage réalisé sur la molécule thiobenzylée.

Conclusion

Un grand nombre de méthodes ont été décrites dans la littérature pour synthétiser les 2-thiohydantoïnes et leurs dérivés. Ici, notre étude de la méthode décrite par Schlack et Kumpf a dans un premier temps permis de synthétiser des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes issues de divers acides aminés puis de les fonctionnaliser de manière sélective par condensation de Knœvenagel, S-alkylation et N-protection successives.

L'obtention d'un panel de molécules nous a permis dans un deuxième temps d'étudier leur réactivité vis-à-vis du couplage de type Liebeskind-Srogl. Seules les molécules présentant une double liaison exo en C-4 ont permis d'aboutir aux composés couplés mettant en avant la nécessité d'un carbone d'hybridation sp^2 sur cette position.

Enfin, le couplage de Liebeskind-Srogl a été réalisé directement sur le segment thioamide d'imidazol-4-ones N-3 protégées. La synthèse de ces molécules nécessite une nouvelle approche, utilisant une 2-thiohydantoïne N-3 fonctionnalisée obtenue par la réaction d'Edman (Schéma 48).

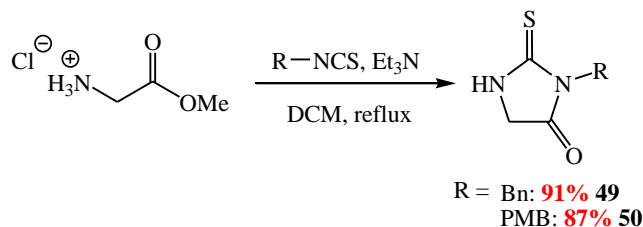


Schéma 48: Synthèse de la 3-benzyl-2-thiohydantoïne **49** et de la 3-(4-méthoxybenzyl)-2-thiohydantoïne **50** par la méthode d'Edman

Cette méthode permettant l'accès à des 2-thiohydantoïnes N-3 fonctionnalisées avec de bons rendements dans les cas de l'isothiocyanate de benzyle et de *p*-méthoxybenzyle sera étudiée et étendue dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 2:

Synthèse et fonctionnalisation des 2-thiohydantoïnes par la méthode d'Edman

Introduction

La méthode de synthèse de Schlack-Kumpf développée précédemment a permis d'obtenir des 1-acétyl-2-thiohydantoïnes fonctionnalisées en position 5. Les études suivantes de couplage pallado-catalysé (réaction de Liebeskind-Srogl) sur les dérivés obtenus, nous ont montré les différentes possibilités de réactivité. Il semble au vu des résultats précédents que la réactivité d'une thiourée soit plus intéressante. C'est pourquoi, dans ce chapitre, nous avons voulu accéder aux 2-thiohydantoïnes N-3 alkylées selon une approche d'Edman modifiée.

La dégradation d'Edman est une méthode de séquençage des peptides impliquant la condensation en milieu alcalin de l'isothiocyanate de phényle (appelé réactif d'Edman) avec le résidu N-terminal d'une chaîne polypeptidique. Un dérivé phenylthiourée est obtenu, il libère par thiolysé intramoléculaire en milieu acide, une thiazolinone et un peptide N-terminal. Celle-ci subit en solution aqueuse acide un réarrangement en phénylthiohydantoïne. Le reste de la chaîne polypeptidique pourra être engagé dans un second cycle de dégradation d'Edman (Schéma 49).¹⁰⁸

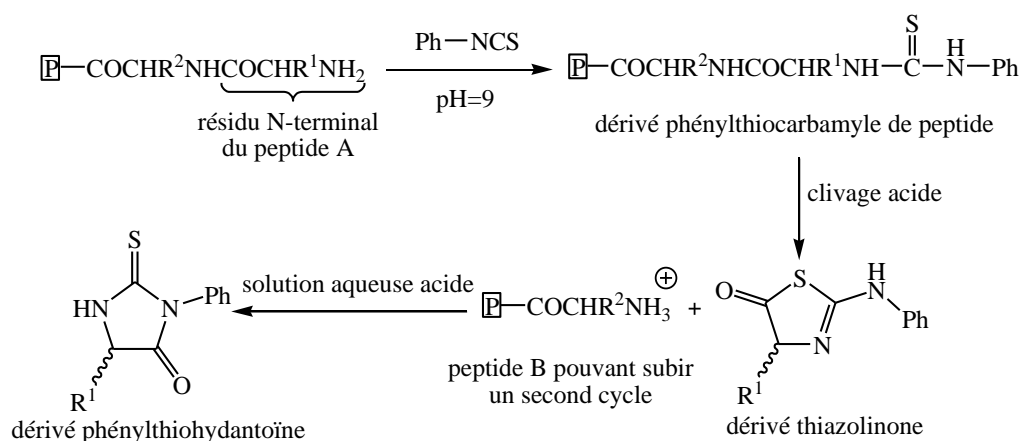


Schéma 49: séquençage d'un peptide par la méthode d'Edman

L'utilisation de la méthode de dégradation d'Edman permet la synthèse de l'hétérocycle 2-thiohydantoïne par condensation d'un isothiocyanate sur un acide aminé selon le mécanisme décrit ci-dessous (Schéma 50).

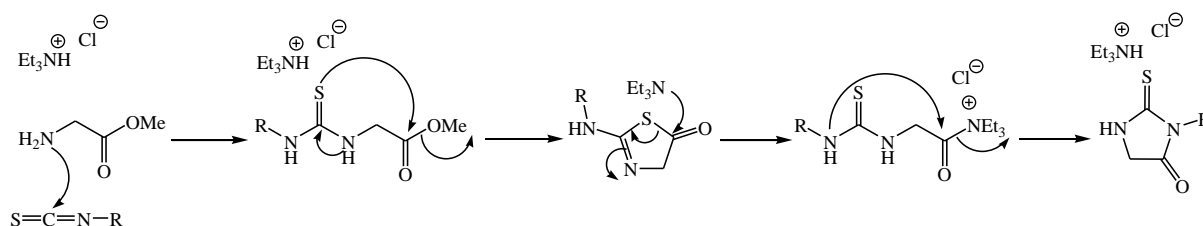


Schéma 50: Mécanisme de la réaction de condensation d'Edman

¹⁰⁸ a) Edman, P. *Acta Chem. Scand.* **1950**, 4, 283–293. b) Edman, P; Begg, G. *Eur. J. Biochem.* **1967**, 1, 80-91.

Dès 1883²⁹ Ashan fut le premier à décrire la synthèse d'une 2-thiohydantoïne par condensation d'un isothiocyanate (ITC) avec un acide aminé. La méthode fut par la suite exemplifiée par Brautlecht¹⁰⁹ sur une gamme d' α -amino-acides. Cette approche qui fut appliquée au séquençage des peptides et des protéines^{108, 110} est encore d'actualité puisqu'elle est appliquée à la synthèse sur support solide de peptides marqués au fluor.¹¹¹

Cette méthode, développée au milieu du 20^{ème} siècle, a ces dernières années été adaptée à la synthèse de 2-thiohydantoïnes fonctionnalisées essentiellement à partir d'aryl ITC,¹¹² d'alkyl ITC,¹¹³ et d'allyl ITC.¹¹⁴ D'autres ITC moins courants ont été utilisés, ancrés sur des dialkylaminoalkyl,¹¹⁵ des charpentes saccharidiques⁹⁰ (Schéma 51) ou encore le 4-antipyrinyle.¹¹⁶

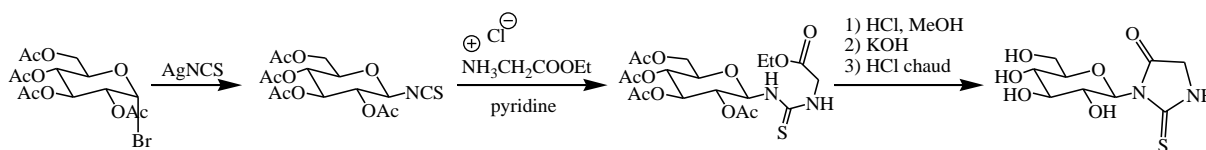


Schéma 51: Synthèse de β -D-glucopyranosyl 2-thiohydantoïne

Enfin, cette technique, par son efficacité, a été appliquée en chimie combinatoire¹¹⁷ car elle permet la synthèse rapide et efficace de bibliothèques de molécules destinées à être testées sur des cibles biologiques et présente donc un véritable intérêt en chimie thérapeutique.

Dans ce chapitre, nous avons élaboré une méthode de synthèse des 2-thiohydantoïnes adaptée de celle d'Edman, en utilisant une approche « one pot » à partir d'azotures, afin d'enrichir et de diversifier la série de molécules précédemment obtenue.

¹⁰⁹ Brautlecht, C.A. *J. Biol. Chem.* **1911**, *10*, 139-146.

¹¹⁰ Reith, W.S.; Waldron, N.M. *Biochem. J.* **1954**, *56*, 116-120.

¹¹¹ Jullian, M.; Hernandez, A.; Maurras, A.; Puget, K.; Amblard, M.; Martinez, J.; Subra, G. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 260-263.

¹¹² a) LeTiran, A.; Stables, J.P.; Kohn, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2696-2708. b) Wolfe, D.M.; Schreiner, P.R. *Synthesis* **2002**, *13*, 2002-2008. c) Li, J.P.; Ma, C.H.; Qu, G.R. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 1203-1208. d) Lanman, B.A.; Overman L.E. *Heterocycles* **2006**, *70*, 557-570. e) Cernak, T. A.; Gleason, J.L. *Heterocycles* **2007**, *71*, 117-134. f) Yoshino, H. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 8150-8157.

¹¹³ a) Chérouvrier, J.R.; Carreaux, F.; Bazureau, J.P. *Molecules* **2004**, *9*, 867-875. b) Teng, X. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *15*, 5039-5044. c) Aguilar-Moncayo, M.; Ortiz-Mellet, C.; Garcia Fernandez, J.M.; Garcia-Moreno, M.I. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3595-3598.

¹¹⁴ a) Takahashi, A.; Matsuoka, H.; Ozawa Y.; Uda, Y. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 5037. b) Takahashi, A.; Matsuoka, H.; Uda, Y. *Environ. Mutagen Res.* **2004**, *26*, 1-8.

¹¹⁵ Henichart, J. P.; Bernier J. L. *Synthesis* **1980**, 311-312.

¹¹⁶ Ma, C.M.; Li, J.P.; Zhen, P.Z. *Heterocycles* **2005**, *65*, 359-364.

¹¹⁷ a) Sim, M.M.; Ganesan, A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3230-3235. b) Yeh, W.B. et al. *Mol. Diversity* **2003**, *7*, 185-198. c) Renault, S.; Bertrand, S.; Carreaux, F.; Bazureau, J.P. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 935-942.

I- Synthèse de 2-thiohydantoïnes à partir d'azotures: réaction domino de Staudinger-aza-Wittig-cyclisation

En 1919, Staudinger et Meyer préparèrent l'imino-phosphorane ($\text{PhN}=\text{PPh}_3$), analogue azoté du réactif de Wittig, qui fût le premier exemple de réactif d'aza-Wittig.¹¹⁸ Ce réactif peut réagir sur un composé carbonylé pour aboutir à l'imine correspondante (Schéma 52).

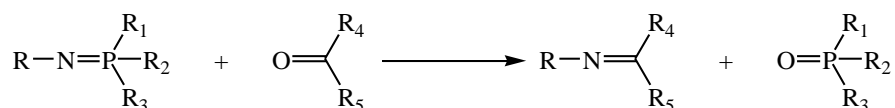


Schéma 52: Réaction d'aza-Wittig

L'imino-phosphorane peut également réagir avec du disulfure de carbone (CS_2) pour conduire à la formation d'un isothiocyanate (Schéma 53).

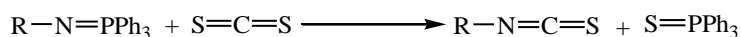


Schéma 53: Obtention d'un isothiocyanate par la réaction d'aza-Wittig avec le CS_2

La synthèse d'ITC, groupement réactif entrant en jeu dans des réactions tandem ou domino, trouve notamment son application dans la synthèse de produits naturels¹¹⁹ et d'hétérocycles variés.¹²⁰

Ainsi, la 2-thiohydantoïne peut être formée par réaction domino de Staudinger-aza-Wittig-cyclisation. La plupart du temps, l'azoture se trouve en β d'un ester permettant ensuite la formation du cycle par réaction avec une amine³⁴ comme l'a fait Molina pour la synthèse de dérivés d'aplysinsine (Schéma 54).¹²¹

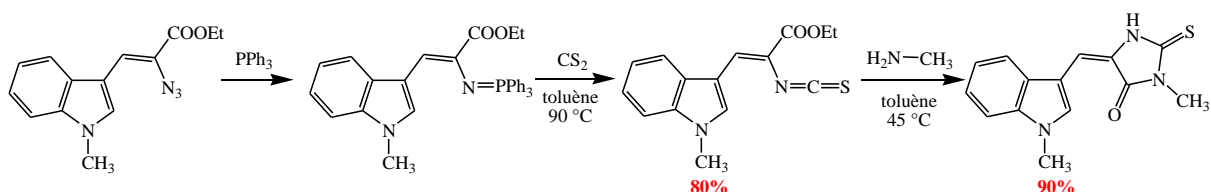


Schéma 54: Synthèse d'un dérivé de l'Aplysinsine par réaction domino de Staudinger-aza-Wittig-cyclisation

La méthodologie que nous avons développée au laboratoire est l'inverse de la précédente. Elle utilise la réaction de Staudinger-aza-Wittig sur des azotures diversement substitués pour conduire à l'ITC qui est condensé sur un acide aminé (Schéma 55).

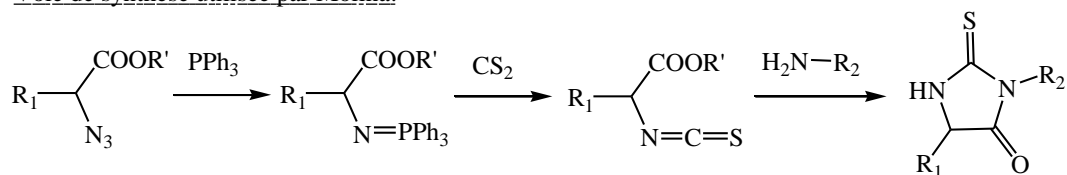
¹¹⁸ Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635.

¹¹⁹ Fresneda, P.M.; Molina, P. *Synlett* **2004**, 1-17.

¹²⁰ Palacios, F.; Alonso, C.; Aparicio, D.; Rubiales, G.; De Los Santos, J.M. *Tetrahedron* **2007**, 63, 523-575.

¹²¹ Molina, P.; Fresneda, P.M.; Almedros, P. *Tetrahedron. Lett.* **1992**, 33, 4491-4494.

Voie de synthèse utilisée par Molina:



Voie de synthèse développée:

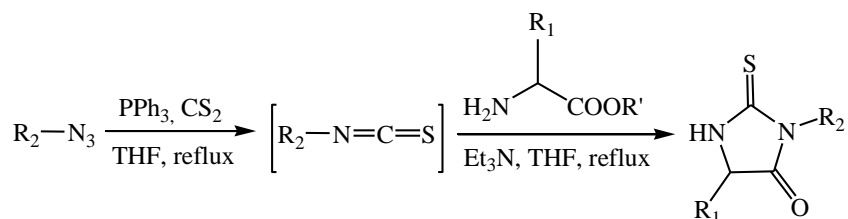


Schéma 55: Synthèse de la 2-thiohydantoïne par deux approches différentes

Cette méthode présente l'avantage de pouvoir être réalisée quasiment en un seul pot. En effet, l'ITC formé en une étape n'est pas isolé, le milieu réactionnel est uniquement concentré à l'évaporateur rotatif et l'acide aminé est ensuite directement ajouté en solution dans le THF en présence de triéthylamine.

Afin d'évaluer l'efficacité de cette méthode d'accès aux 2-thiohydantoïnes, divers azotures ont été engagés dans cette réaction.

I-1 Formation des 2-thiohydantoïnes N-3 substituées à partir de la glycine

Des 2-thiohydantoïnes N-3 substituées ont été formées par condensation d'azotures d'alkyle sur la glycine selon la réaction décrite Schéma 56.

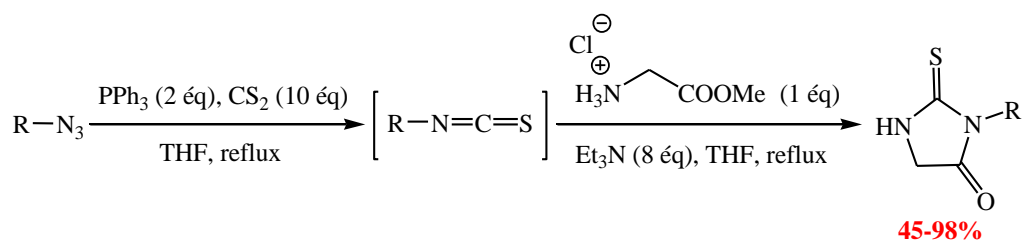


Schéma 56: Synthèse de 2-thiohydantoïnes par réaction domino de Staudinger-aza-Wittig-cyclisation avec la glycine

Nous avons essayé de former les 2-thiohydantoïnes à partir d'azotures primaires hydrophiles de type monosaccharidique et dérivés du carbonate de glycérol ou hydrophobes tels que des azidosulfanes. Des azotures secondaires plus encombrés ont également été testés dans cette réaction.

I-1-a) Azotures monosaccharidiques

Les azotures dérivés de monosaccharides avaient été obtenus précédemment au laboratoire par réaction de Garegg donnant le dérivé iodé puis par substitution nucléophile avec l'azote de sodium (Schéma 57).

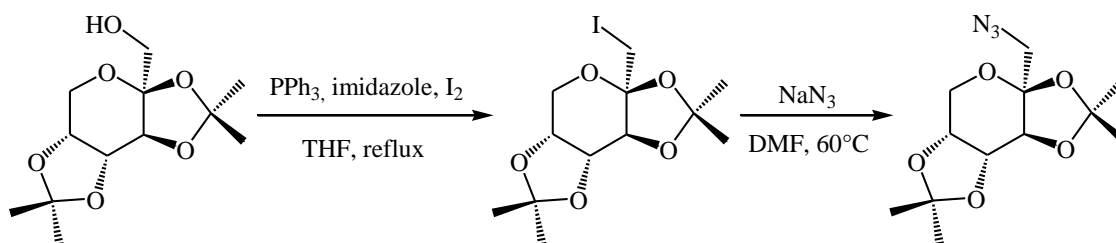
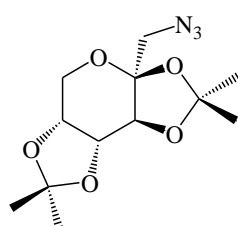
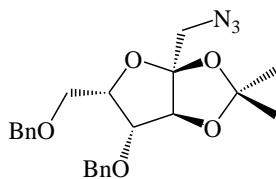


Schéma 57: Synthèse de l'azoture issu du D-fructopyranose par la réaction de Garegg

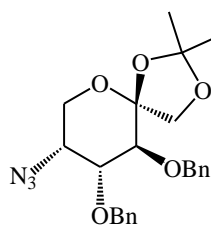
La réaction a été testée par condensation des azotures primaires provenant du D-fructopyranose et du L-sorbofuranose et des azotures secondaires issus du D-fructopyranose et du L-sorbofuranose (Figure 11).

Azotures primaires:

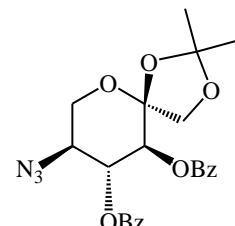
D-fructopyranose



L-sorbofuranose

Azotures secondaires:

D-fructopyranose



L-sorbofuranose

Figure 11: Monosaccharides engagés dans la réaction de Staudinger-aza-Wittig-cyclisation

I-1-b) Azoture issu du carbonate de glycérol

Le glycérol ou propane-1,2,3-triol est un sous-produit de la production industrielle de savons, de surfactants ou de biocarburants par transestérification d'huile végétale. Ce triol largement accessible peut être valorisé en tant qu'agent hydratant, solvant ou lubrifiant dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire entre autres.¹²² Le carbonate de glycérol peut être obtenu à partir du glycérol, sa synthèse et sa réactivité ont été explorées au

¹²² Cassel, S.; Debaig, C.; Benvegnu, T.; Chaimbault, P.; Lafosse, M.; Plusquellec, D.; Rollin P. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 875-896.

laboratoire afin de développer des synthons pour la glycochimie orientée vers la chimie verte et la chimie renouvelable.¹²³

Le carbonate de glycérol est un précurseur de nombreuses fonctions réactives, son ancrage sur le cycle 2-thiohydantoïne permettrait d'accéder par substitution nucléophile à des chaînes carbonées C-3 dérivées du glycérol (Schéma 58).

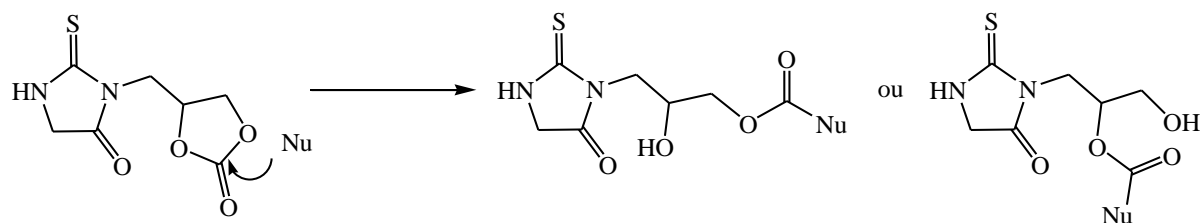


Schéma 58: Obtention de chaînes carbonées dérivées du glycérol à partir du carbonate de glycérol

L'azoture du carbonate de glycérol a été obtenu comme précédemment par réaction de Garegg puis substitution nucléophile par l'azoture de sodium (Schéma 59).

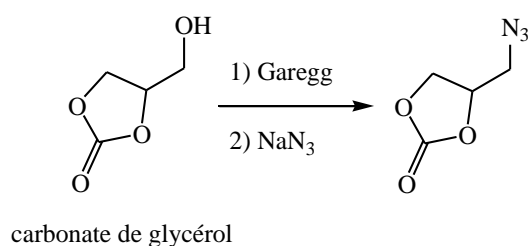


Schéma 59: Azoture du carbonate de glycérol obtenu par la réaction de Garegg

I-1-c) Azidosulfanes

La méthode de synthèse des azidosulfanes a été mise au point au laboratoire.¹²⁴ La première étape consiste à former l'alcool par substitution nucléophile du thiol sur le chloroalcool. L'alcool est ensuite activé sous forme de mésylate afin de permettre la substitution nucléophile par l'azoture de sodium (Schéma 60).¹²⁵

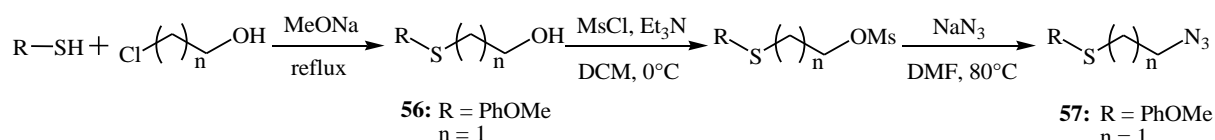


Schéma 60: Synthèse des azidosulfanes mise au point au laboratoire

¹²³ Simao, A.C.; Lynikaite-Pukleviciene, B.; Rousseau, C.; Tatibouët, A.; Cassel, S.; Sackus, A.; Rauter, A.P.; Rollin, P. *Lett. Org. Chem.* **2006**, *3*, 744–748. b) Rousseau, J.; Rousseau, C.; Lynikaite, B.; Sackus, A.; De Leon, C.; Rollin, P.; Tatibouët, A. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 8571.

¹²⁴ J. Schleiss *Thèse de doctorat*, Université d'Orléans **2009**.

¹²⁵ Conrad, P.C.; Kwiatkowski, P.L.; Fuchs, F.L. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 586-591.

Le (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** a été synthétisé à partir du *p*-méthoxythiophénol et du chloroéthanol comme décrit Schéma 60 avec un rendement de 80%. Des azidosulfanes de longueurs de chaîne carbonée variables et diversement substitués ont été condensés avec la glycine (Figure 12).

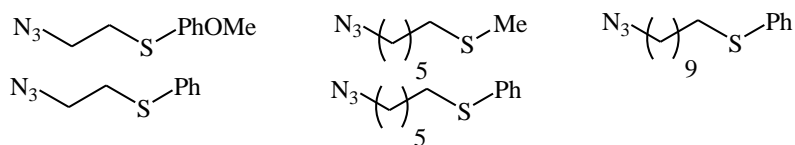


Figure 12: Azidosulfanes condensés avec la glycine

I-1-d) Résultats obtenus pour la formation des 2-thiohydantoïnes

Les rendements obtenus pour la réaction décrite Schéma 56 sont donnés dans le Tableau 11.

Entrée	Azotures	Composé obtenu	Rendement
1			71%
2			45%
3		mélange de composés	/
4		mélange de composés	/
5			68%
6	$N_3-(CH_2)_2-S-PhOMe$	2-thiohydantoin 58	98%

Entrée	Azotures	Composé obtenu	Rendement
7	N ₃ -(CH ₂) ₂ -S-Ph	2-thiohydantoïne 59	81%
8	N ₃ -(CH ₂) ₆ -S-Ph	2-thiohydantoïne 60	86%
9	N ₃ -(CH ₂) ₆ -S-Me	2-thiohydantoïne 61	85%
10	N ₃ -(CH ₂) ₁₀ -S-Ph	2-thiohydantoïne 62	72%

Tableau 11: Rendements obtenus pour la condensation des 2-thiohydantoïnes

Les 2-thiohydantoïnes ont pu être obtenues à partir d'azotures primaires hydrophiles (entrées 1,2 et 5) et hydrophobes (entrées 6-10).

Les composés **53** et **54** issus de la condensation d'azotures monosaccharidiques (entrées 1 et 2) ont été obtenus avec des rendements satisfaisants de l'ordre de 50% à 70%. L'azoture du carbonate de glycérol (entrée 5), pouvant être sensible à l'hydrolyse, a conduit à la 2-thiohydantoïne **55** avec un rendement 68%, ouvrant ainsi une voie d'accès à de potentiels composés N-3 fonctionnalisés par une chaîne carbonée dérivée du glycérol.

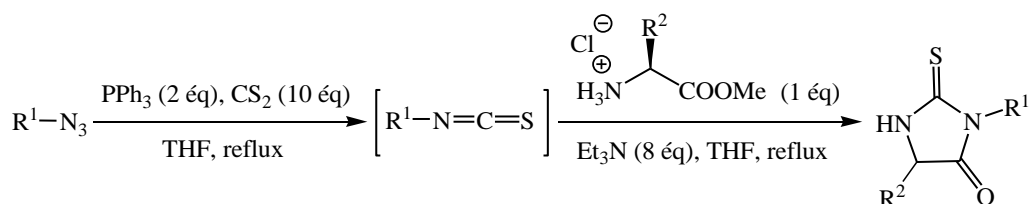
De très bons rendements compris entre 70 et 98% ont été obtenus avec les azidosulfanes (entrées 6-10) peu encombrés et très réactifs quelque soit la longueur de la chaîne carbonée et la nature du substituant sur le soufre.

En revanche, la méthodologie ne semble pas applicable au cas des azotures secondaires saccharidiques (entrées 3-4), la formation des 2-thiohydantoïnes n'a pu être observée probablement à cause de l'encombrement stérique dû à la proximité du monosaccharide gênant la cyclisation.

La 3-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one **58** a été synthétisée avec un rendement quasi quantitatif à partir du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57**, nous avons donc essayé de condenser ce dernier avec d'autres acides aminés.

I-2 Condensation du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** avec divers acides aminés

Après avoir réalisé la synthèse de 2-thiohydantoïnes N-3 substituées par condensation d'azotures variés sur l'ester méthylique de la glycine, l'utilisation de divers acides aminés a permis d'introduire un groupement fonctionnel en position 5 (Schéma 61) .



Sch\u00e9ma 61: Formation de 2-thiohydanto\u00efnes N-3 et C-5 fonctionnalis\u00e9es

Une étape préalable d'estérification a été réalisée dans des conditions classiques avec du chlorure de thionyle sur la L-phénylalanine et le L-tryptophane. La L-lysine a été estérifiée et N-*tert*-butoxycarbonylée comme décrit dans la littérature (Schéma 62).¹²⁶

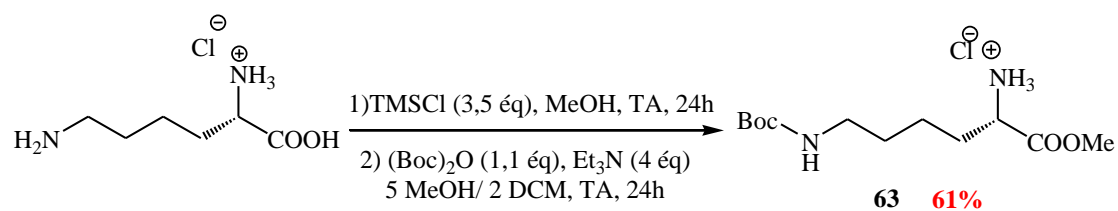


Schéma 62: Estérification et N-*tert*-butoxycarbonylation de la L-lysine

La réaction de condensation a été effectuée dans les mêmes conditions que précédemment et a permis d'obtenir à partir du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** les molécules ci-dessous (Figure 13).

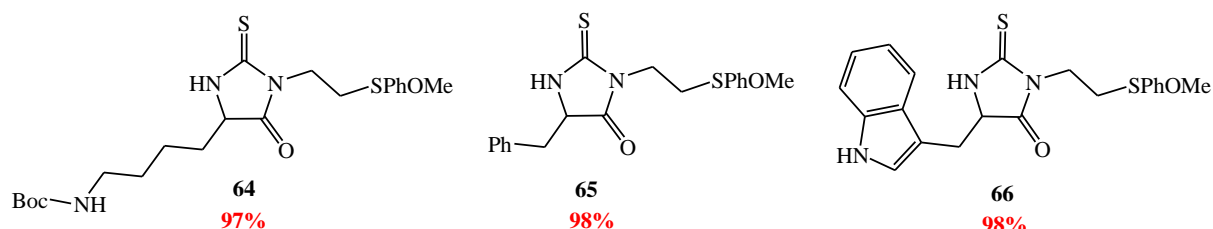


Figure 13: Rendements des 2-thiohydantoïnes obtenues par condensation du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** avec la L-lysine, la L-phénylalanine et le L-tryptophane

Les molécules **64**, **65** et **66** sont synthétisées une fois encore avec d'excellents rendements. Ainsi, la méthodologie développée a permis d'accéder à des 2-thiohydantoïnes N-3 substituées mais également C-5 fonctionnalisées.

II- Couplages de type Liebeskind-Srogl

Dans ce chapitre à l'image du précédent, les 2-thiohydantoïnes sont fonctionnalisées dans le but de tester leur réactivité vis-à-vis des couplages pallado-catalysés impliquant une fonction thiol, de type Liebeskind-Srogl notamment.

Nous avons ici réussi, avec la méthode d'Edman, à synthétiser des 2-thiohydantoïnes N-3 substituées et C-5 fonctionnalisées sur lesquelles nous avons pu explorer les conditions de couplage direct. Nous avons été amenés par la suite à procéder à la S-benylation de ces molécules pour compléter les essais de couplage et comprendre la réactivité de ces composés.

¹²⁶ Mi-Sun, P. et al. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2009**, *30*, 1187-1189

II-1 Tentatives de couplage direct

Les conditions permettant de réaliser le couplage sur la fonction thioamide (chapitre 1 (Schéma 46)) ont été appliquées sur certaines molécules précédemment synthétisées (Schéma 63).

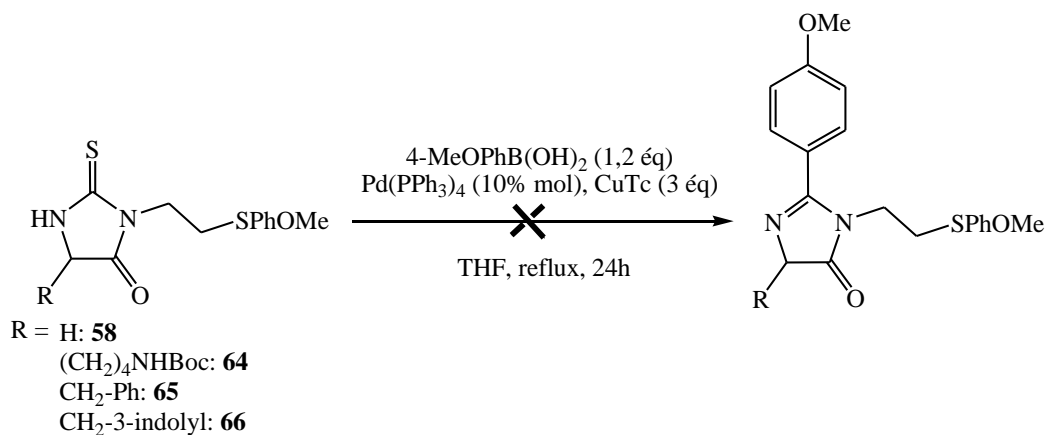


Schéma 63: Tentatives de couplage direct sur les 2-thiohydantoïnes C-5 fonctionnalisées

Quelque soit la 2-thiohydantoïne testée, la réaction de Liebeskind-Srogl s'est avérée infructueuse. Seule la dégradation du substrat a été observée. La thiofonctionnalisation sous la forme d'un dérivé 2-alkylsulfanyl des 2-thiohydantoïnes constitue une alternative à cette méthode de couplage directe.

II-2 Tentatives de couplage indirect

II-2-a) S-benzylation en position 2

Les essais de couplage nécessitent au préalable de benzyler sélectivement l'atome de soufre en position 2. La benzylation a été testée sur la 5-benzyl-3-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one **65** en utilisant la méthode employée dans le chapitre 1, c'est-à-dire avec du bromure de benzyle en présence de triéthylamine (Schéma 64).

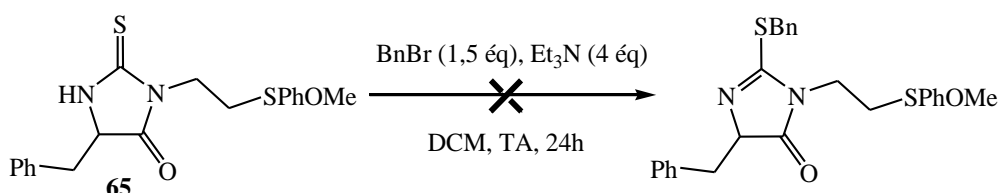


Schéma 64: Tentative de S-benzylation de la 5-benzyl-3-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one **65**

Dans ces conditions, seule une partie du produit de départ est transformé en un mélange de composés non caractérisés. Ceci nous a donc conduit à optimiser la réaction en faisant varier la base et le solvant (Tableau 12).

	Et₃N	NaH	NaHCO₃	K₂CO₃
DMF	pas de réaction	21%	36%	plusieurs composés
DCM	plusieurs composés et produit de départ	24%	66%	58%
MeCN	pas de réaction	plusieurs composés et produit de départ	plusieurs composés et produit de départ	37%

Tableau 12: Optimisation des conditions de S-benylation

Le meilleur rendement a été obtenu avec l'hydrogénocarbonate de sodium dans le dichlorométhane, de plus l'ajout d'un équivalent d'agent de transfert de phase (TBAI) a permis de diminuer le temps de réaction de 72 à 48 heures.

La benzylation thiosélective est réalisée sur les quatre molécules issues de la condensation du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** avec la glycine, la L-phénylalanine, la L-lysine et le L-tryptophane (Schéma 65).

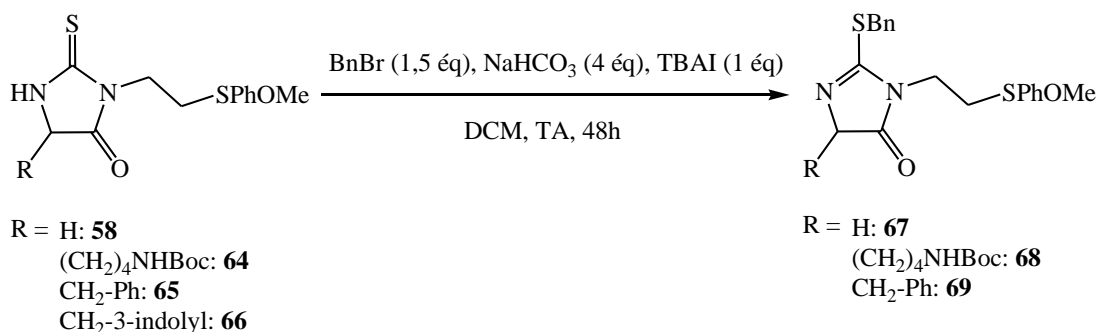


Schéma 65: S-benylation des 2-thiohydantoïnes C-5 fonctionnalisées

Les rendements obtenus sont résumés dans le Tableau 13 ci-dessous.

2-thiohydantoïnes: R	S-benylation: rendements
H	69% (67)
(CH ₂) ₄ -NH-Boc	53% ^{a)} (68)
CH ₂ -Ph	66% (69)
CH ₂ -3-indolyl	produit de départ

a) la base utilisée est le NaH

Tableau 13: Rendements de la S-benylation des 2-thiohydantoïnes C-5 fonctionnalisées

Les conditions optimisées sont applicables à la 3-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-2-thioimidazolidin-4-one **65** mais ne fonctionnent pas avec les 2-thiohydantoïnes **64** et **66** issues de la L-lysine et du L-tryptophane. Dans le cas de la L-lysine, c'est l'emploi de l'hydrure de sodium comme base qui a permis d'obtenir le produit S-benzylé avec un rendement raisonnable de 53%. En revanche pour le dérivé issu du L-tryptophane, l'alkylation sélective au soufre, malgré de nombreux essais n'a pas conduit au composé attendu.

II-2-b) Essais de couplage

Les essais de couplage sur les trois 2-benzylsulfanylhydantoïnes peuvent à présent être réalisés en appliquant les conditions optimisées et décrites au chapitre 1 (Schéma 66).

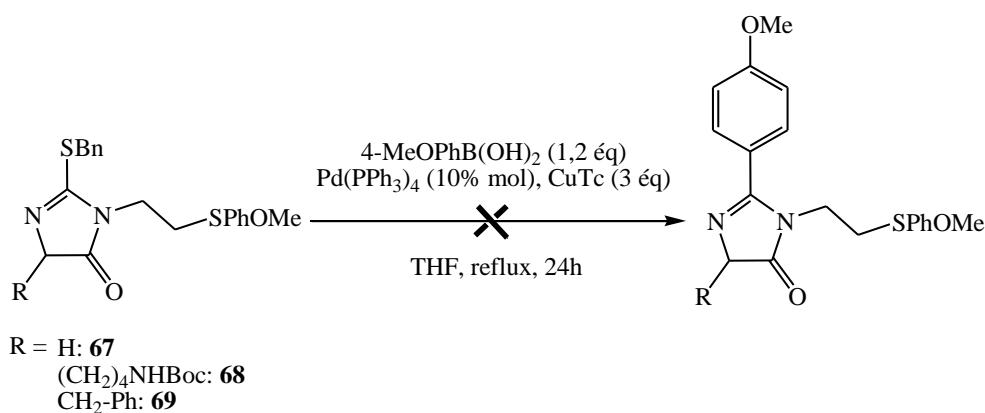


Schéma 66: Tentatives de couplage sur les 2-thiobenzylhydantoïnes

Nous retrouvons comme précédemment des soucis de réactivité avec pour les trois alkylsulfanylimidazolinones une dégradation observée du milieu réactionnel.

Les tentatives de couplage de type Liebeskind-Srogl ne sont guère efficaces. Elles confirment l'observation faite précédemment au chapitre 1. Lorsque ces molécules possèdent un carbone d'hybridation sp³ en position 5 (ou 4 selon la molécule) la réaction de Liebeskind-Srogl ne semble pas possible.

III- Vers la synthèse d'imidazoles

Le chapitre 1 ainsi que la partie précédente nous ont montré la nécessité d'utiliser des molécules insaturées en position C-4 pour obtenir des réactions de couplage concluantes. La présence d'un carbone sp² en position 4 paraît donc primordial au bon fonctionnement de cette réaction pallado-catalysée. Dans cette optique nous avons alors essayé de préparer des structures imidazoliques à partir des 2-thiohydantoïnes précédentes.

III-1 Fonctionnalisation en position 5

III-1-a) O-Trifluorométhanesulfonylation

La O-trifluorométhanesulfonylation de la position 5 a été le premier choix permettant d'aromatiser le cycle et de réaliser des couplages de Suzuki classiques (Schéma 67).⁹⁶

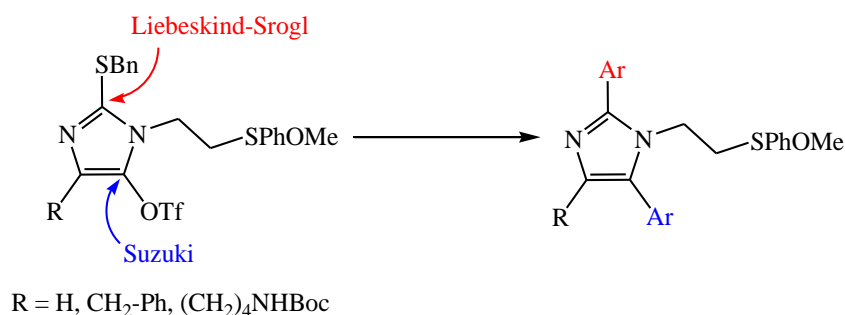


Schéma 67: Fonctionnalisation du cycle imidazole par couplages de Liebeskind-Srogl et de Suzuki sur un triflate

Les couplages pallado-catalysés de type Suzuki impliquent la réaction d'un dérivé boronique avec usuellement un composé halogéné.

Cette réaction fonctionne également en présence d'un groupement triflate au lieu d'un halogène sur un large panel de composés⁶² tels que des aryl ou des vinyl triflates,¹²⁷ des lactames,¹²⁸ des lactones,¹²⁹ des cétones cycliques,¹³⁰ ou encore plus récemment des alkyl cyanhydrines.¹³¹

Des composés hétéroaromatiques comme des indazoles,¹³² des pyrroles¹³³ ou des pyrazoles,¹³⁴ ont également été engagés dans ce type de couplage. Des essais sur les 2-thiohydantoïnes ont donc été réalisés nécessitant la formation du O-triflate au préalable (Schéma 68).

¹²⁷ a) Ohe, T.; Miyaura, N.; Suzuki, A. *Synlett* **1990**, 221-223. b) Ishiyama, T.; Itoh, Y.; Kitano, T.; Miyaura, N. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3447-3450. c) Littke, A.F.; Dai, C.; Fu, G.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 4020-4028.

¹²⁸ Occhiato, E.G.; Trabocchi, A.; Guarna, A. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2459-2465.

¹²⁹ Cakir, S.P.; Mead, K.T. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2451-2454. b) Yao, M.L.; Deng, M.Z. *Heteroatom. Chem.* **2000**, 11, 380-382.

¹³⁰ Itoh, T.; Mase, T.; Nishikata, T.; Iyama, T.; Tachikawa, H.; Kobayashi, Y.; Yamamoto, Y.; Miyaura, N. *Tetrahedron* **2006**, 62, 9610-9621.

¹³¹ He, A.; Falck, J.R. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 2524-2525.

¹³² Patel, M. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 3217-3220.

¹³³ D'Alessio, R.; Rossi, A. *Synlett* **1996**, 513-514.

¹³⁴ Dvorak, C.A.; Rudolph, D.A.; Ma, S.; Carruther, N.I. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 4188-4190.

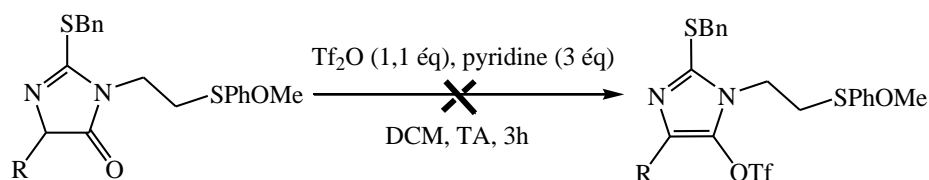
R = H: **67**(CH₂)₄NHBoc: **68**CH₂-Ph: **69**

Schéma 68: O-Trifluorométhanesulfonylation des 2-benzylsulfanylhyaantoïnes

Dans ce cas nous avons observé la transformation du composé de départ mais nous n'avons pu isoler et caractériser le produit de trifluorométhanesulfonylation. La sensibilité d'un tel éther d'énol, même sur une structure aromatique est connue. Ceci nous a incité à engager directement la réaction de couplage de Suzuki dans les conditions décrites (Schéma 69),^{133, 134} en présence d'un acide boronique, de palladium tétrakis(triphénylphosphine) comme catalyseur et d'une base.

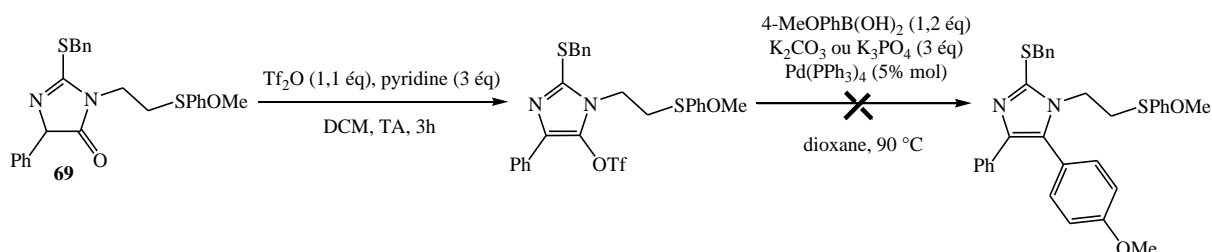


Schéma 69: Tentatives de couplage de Suzuki sur l'imidazole O-triflylé

La consommation du composé de départ **69** a également été observée, deux essais de couplages ont été réalisés avec deux bases différentes, le carbonate de potassium (K₂CO₃) et le phosphate de potassium (K₃PO₄) mais aucun produit n'a pu être identifié.

III-1-b) Chloration en position 5

La O-trifluorométhanesulfonylation n'ayant pas été concluante, une stratégie similaire a alors été explorée en introduisant un atome de chlore en position 5 permettant de réaliser des couplages de Liebeskind-Srogl mais également de Suzuki (Schéma 70).

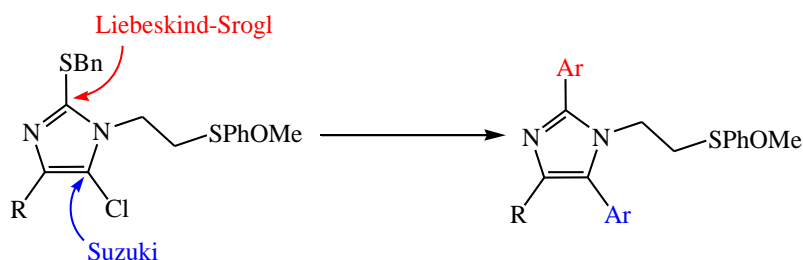
R = H, CH₂-Ph, (CH₂)₄NHBoc

Schéma 70: Couplages de Liebeskind-Srogl et de Suzuki sur le 2-benzylsulfanyl-5-chloro-imidazole

Les couplages de Suzuki sur des molécules portant un chlore, ont été largement étudiés car les composés chlorés sont peu chers et généralement aisément accessibles.¹³⁵ Cependant la réactivité observée est moindre par rapport à des partenaires iode, brome et également triflate. L'emploi de conditions plus rigoureuses,¹³⁶ de ligands phosphine particuliers¹³⁷ ou bien la présence d'un groupement électroattracteur en alpha de l'halogène facilitant la réaction d'addition oxydante¹³⁸ est bien souvent nécessaire. Ce couplage a été réalisé sur des structures variées de type aryle,^{127c, 139} aromatique¹³⁷ et hétéroaromatique¹⁴⁰ et de type alkyle.¹⁴¹

Nous avons dans un premier temps préparé le 5-chloroimidazole. Les α -chloroénamines- β -disubstituées peuvent être obtenues en présence d'oxychlorure de phosphore (POCl_3), préférentiellement à d'autres agents de chloration comme le chlorure de thionyle (SOCl_2) ou le di- ou tri-phosgène (Schéma 71).¹⁴²

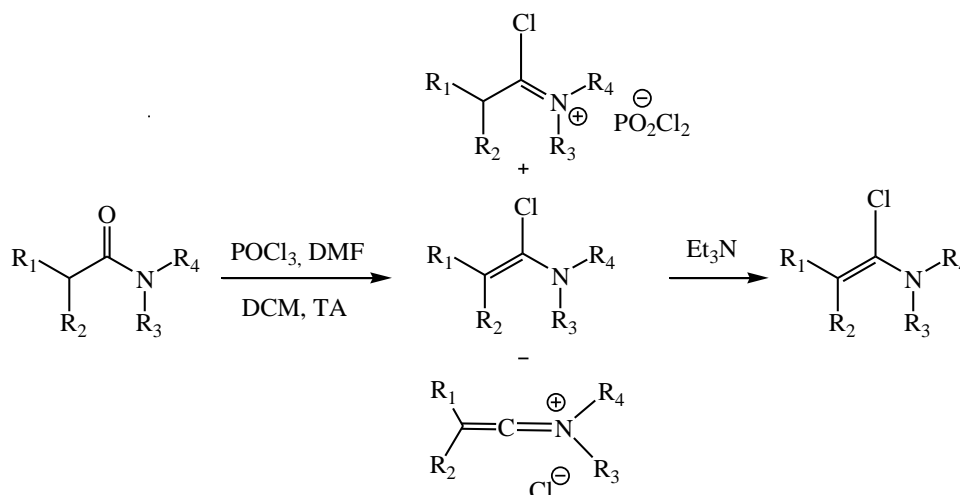


Schéma 71: Synthèse d' α -chloroénamines- β -disubstituées

Le réactif POCl_3 a également été utilisé pour la chloration de systèmes aromatiques tels des 2-indolinones,¹⁴³ des pyridazinones¹⁴⁴ ou des quinazolinones.¹⁴⁵

¹³⁵ Littke, A.F.; Fu, G.C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 4176-4211.

¹³⁶ Glasnov, T.N.; Stadlbauer, W.; Kappe, C.O. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3864-3870.

¹³⁷ a) Dai, Q.; Gao, W.; Liu, D.; Kapes, L.M.; Zhang, X. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3928-3934. b) Song, C. et al. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7438-7446. c) Alonso, D.A.; Civicos, J.F.; Najera, C. *Synlett* **2009**, 3011-3015.

¹³⁸ Hesse, S.; Kirsch, G. *Synthesis* **2001**, *5*, 755-758.

¹³⁹ a) Littke, A.F.; Fu, G.C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3387-3388. b) Dreher, S.D.; Lim, S.E.; Sandrock, D.L.; Molander, G.A. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3626-3631.

¹⁴⁰ a) Ban, H.; Muraoka, M.; Ohashi, N. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6021-6023. b) Jung, J.Y.; Taher, A.; Hossain, S.; Jin, M.J. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, *31*, 3010-3012.

¹⁴¹ Gonzalez-Bobes, F.; Fu, G.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5360-5361.

¹⁴² Ghosez, L.; George-Koch, I.; Patini, L.; Houtekie, M.; Bovy, P.; Nshimyumukiza, P.; Phan, T. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 9207-9222.

¹⁴³ a) Kubo, A.; Nakai, T. *Synthesis* **1980**, 365-366. b) Kubo, A.; Uchino, K. *Heterocycles* **1981**, *16*, 1441-1443.

¹⁴⁴ Ghani, E.A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, *64*, 2032-2034.

¹⁴⁵ a) Ife, R.J. et al. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2763-2773. b) Bridges, A.J. et al. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 267-276.

Nous avons donc engagé les benzylsulfanylimidazolinones **68** et **69**, C-4 fonctionnalisées à partir de la L-phénylalanine ou de la L-lysine, dans des réactions de chloration au POCl₃ au reflux en présence ou non de DMF comme décrit dans la littérature (Schéma 72). Le choix de l'utilisation d'une structure benzylsulfanylyle a été réalisé sur la base d'une « préorientation » du cycle vers la structure aromatique de l'imidazole pour ainsi favoriser la réactivité.

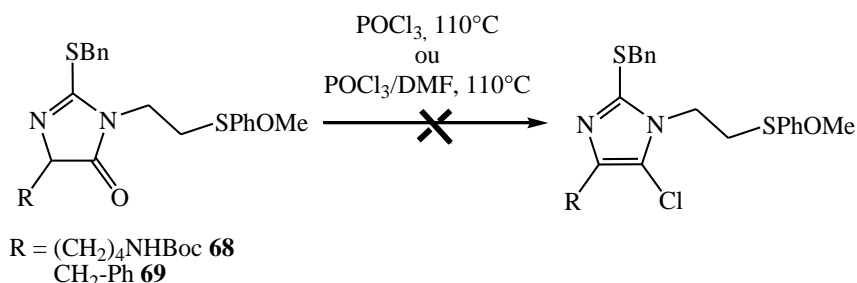


Schéma 72: Tentatives de chloration des 2-benzylsulfanylylhydantoïnes **68** et **69** C-4 fonctionnalisées

Malgré ce choix, la chloration en position 5 n'a pas été observée, le milieu réactionnel étant en premier lieu fortement dégradé. Le couplage de Suzuki n'a donc pu être réalisé par la suite.

III-2 Réaction de chloroformylation

Les difficultés précédentes de chloration sur les benzylsulfanylimidazolinones, nous ont amenés à réaliser la réaction sur l'hétérocycle le plus simple, ne présentant aucun substituant en position 4. L'application de cette réaction sur la 2-(benzylsulfanylyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **67** nous a permis de former le cycle imidazole, d'insérer l'atome de chlore en bonne position et de plus, de fonctionnaliser la position 4 par un groupe formyle (Schéma 73).

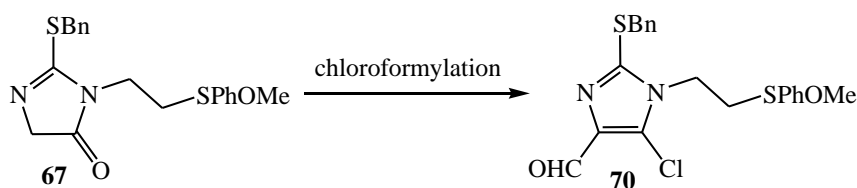


Schéma 73: Chloroformylation sur l'imidazol-5-one **67**

Cette réaction de chloroformylation a été réalisée dans les conditions classiques de Vilsmeier-Haack-Arnold. La formation du cycle imidazole à partir de la 2-benzylsulfanylylhydantoïne et sa fonctionnalisation ont fait l'objet du chapitre 3.

IV- Bilan de la méthode de synthèse d'Edman

Ce chapitre nous a permis d'aborder une méthode de synthèse classique des 2-thiohydantoïnes et de l'améliorer. Ceci nous donne la possibilité de réaliser une comparaison avec la méthode de Schlack-Kumpf précédemment étudiée au chapitre 1.

IV-1 Formation du cycle initial, la 2-thiohydantoïne

Concernant la formation des 2-thiohydantoïnes, les deux méthodes, par condensation avec divers acides aminés, ont permis de fonctionnaliser l'hétérocycle en position 5 selon la nature de la chaîne de l'acide aminé. La méthode d'Edman a montré un net avantage en permettant d'éviter les aléas des sites de fonctionnalisation et d'accéder à des 2-thiohydantoïnes N-3 substituées par des groupements variés hydrophiles, hydrophobes, aromatiques ou aliphatiques (Schéma 74).

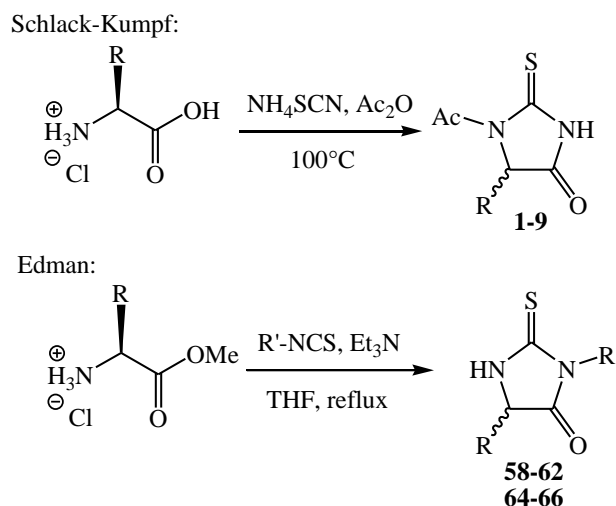


Schéma 74: Synthèse du cycle 2-thiohydantoïne par les méthodes de Schlack-Kumpf et d'Edman

Les rendements de condensation de l'espèce thiocyanique avec quatre acides aminés comparés à la réaction d'un isothiocyanate sont présentés dans le Tableau 14.

Acides aminés	R	Schlack-Kumpf	Edman R' = (CH ₂) ₂ SPhOMe
glycine	H	68% (1)	98% (58)
L-lysine	(CH ₂) ₄ -NH ₂	51% (3)	97% (64)
L-phénylalanine	CH ₂ -Ph	76% (5)	98% (65)
L-tryptophane	CH ₂ -3-indolyl	72% (9)	98% (66)

Tableau 14: Rendements obtenus pour la condensation d'un isothiocyanate avec quatre acides aminés

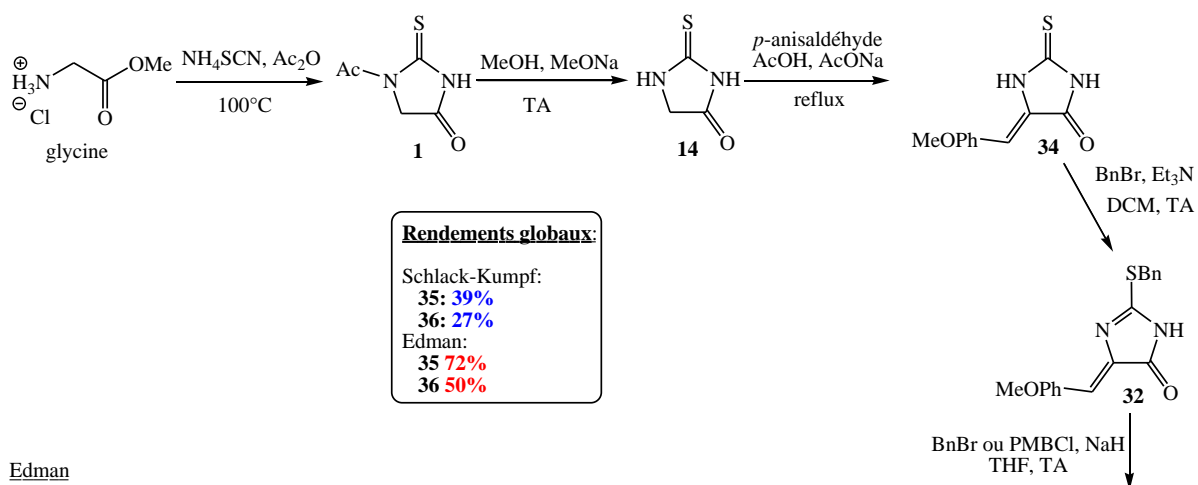
Les résultats montrent que, pour la formation du cycle 2-thiohydantoïne, les meilleurs rendements, quasi quantitatifs, sont obtenus en utilisant la méthode d'Edman, en apportant de surcroît une méthode de synthèse plus douce.

IV-2 Synthèse des 2-thiohydantoïnes C-4 insaturées

Les deux voies de synthèse appliquées à la glycine, nous ont permis d'accéder à des 2-thiohydantoïnes possédant un méthylène activé en position 4. Ce site méthylène a été mis à profit pour réaliser des réactions de type Knoevenagel sur un aldéhyde et ainsi insérer une insaturation en position C-4.

La Schéma 75 permet de comparer les deux voies de synthèse aboutissant aux mêmes molécules, la (4Z)-1-benzyl-2-benzylsulfanyl-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **35** et la (4Z)-2-(benzylsulfanyl)-1-(4-méthoxybenzyl)-4-(4-méthoxyphényl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **36**, sur lesquelles des couplages de type Liebeskind-Srogl ont pu être réalisés.

Schlack-Kumpf



Edman

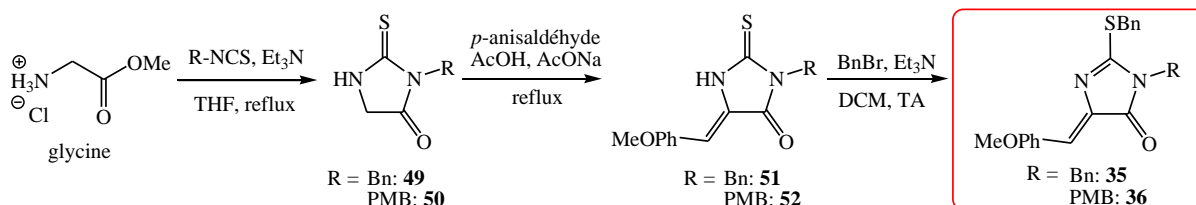


Schéma 75: Synthèse de 2-thiohydantoïnes C-4 insaturées par les méthodes de Schlack-Kumpf et d'Edman

Dans cette séquence de réactions, il apparaît de façon évidente que la méthode de Schlack-Kumpf nécessite deux étapes de synthèse de plus que la méthode d'Edman.

Les rendements obtenus pour les deux voies de synthèse sont présentés dans le Tableau 15.

	Schlack-Kumpf		Edman	
	R = Bn	R = PMB	R = Bn	R = PMB
2-thiohydantoïne	68% (1)		91% (49)	87% (50)
déacétylation	98% (14)		/	/
Knœvenagel	98% (34)		91% (51)	74% (52)
S-benzylation	95% (32)		87% (35)	73% (36)
N-alkylation	63% (35)	44% (36)	/	/
Rendement global	39%	27%	72%	50%

Tableau 15: Rendements obtenus par la méthode de Schlack-Kumpf et par la méthode d'Edman

Les rendements globaux obtenus avec la méthode de Schlack-Kumpf sont nettement inférieurs car celle-ci nécessite un plus grand nombre d'étapes de synthèse. La séquence de réactions par cette approche présente quatre premières étapes réalisées sur un même synthon. Le synthon obtenu peut être différencié à la dernière étape d'alkylation. Cette approche paraît alors plus avantageuse si l'on souhaite fonctionnaliser de façon variée la molécule.

La méthode d'Edman, est beaucoup plus avantageuse en considérant le nombre d'étapes et le rendement global. Cette approche nécessite cependant de concevoir la totalité de la voie de synthèse pour chaque molécule, la N-fonctionnalisation dépendant de l'isothiocyanate utilisé lors de la première étape. Pourtant cette méthode est très avantageuse, car nous avons pu réaliser la synthèse d'hétérocycles à partir d'un nombre important d'azotures sans isoler l'intermédiaire isothiocyanate, et la condensation dans des conditions douces.

IV-3 Couplages de Liebeskind-Srogl

Seules les 2-thiohydantoïnes présentant une insaturation en position 4 ont conduit aux produits de couplage de type Liebeskind-Srogl attendus.

Le couplage de Liebeskind-Srogl a pu être réalisé soit sur des molécules N-1 protégées et benzylsulfanylées en position 2 soit directement sur le groupe thioamide des molécules N-3 substituées (Schéma 76).

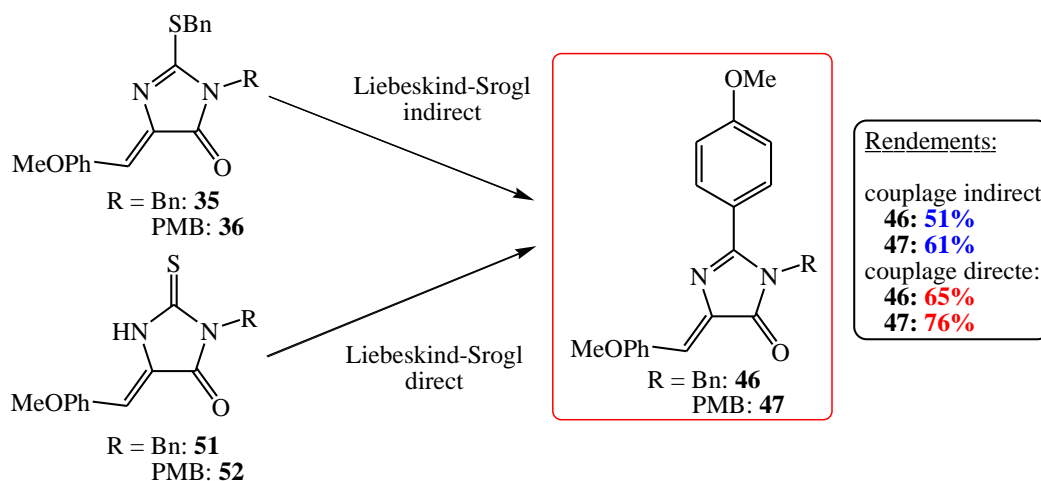


Schéma 76: Rendements obtenus par couplage de Liebeskind-Srogl direct et indirect sur des dérivés de 2-thiohydantoïnes

Nous avons alors comparé les rendements obtenus par les deux méthodes de couplage de Liebeskind-Srogl (Tableau 16).

	Couplage indirect	Couplage direct
R = Bn	51% (46)	65% (46)
R = PMB	61% (47)	76% (47)

Tableau 16: Rendements obtenus pour les couplages de Liebeskind-Srogl directs et indirects

La technique qui consiste à réaliser le couplage de Liebeskind-Srogl directement sur la fonction thioamide du composé présente de meilleurs rendements. Les molécules nécessaires à ce type de couplage n'ont pu être obtenues que par la méthode d'Edman ce qui démontre à nouveau l'utilité de cette approche.

Conclusion

Dans ce deuxième chapitre nous avons mis au point une nouvelle méthodologie de synthèse des 2-thiohydantoïnes par condensation d'azotures variés sur divers acides aminés. Cette méthode, dérivée de celle d'Edman, a pu être favorablement comparée à l'approche de Schlack-Kumpf étudiée dans le chapitre 1.

Nous avons pu accéder avec de très bons rendements à des 2-thiohydantoïnes portant sur l'azote en position 3, des groupements de nature variée (hydrophiles ou hydrophobes, aromatiques ou aliphatiques) et également fonctionnalisées en position 5 selon la nature de l'acide aminé utilisé.

Lors des réactions de couplage pallado-catalysé de type Liebskind-Srogl, les molécules synthétisées, possédant un carbone de nature sp^3 en position 4 ont confirmé les résultats obtenus dans le chapitre précédent sur des structures similaires.

En effet, ce type de réaction ne semble fonctionner que sur des 2-thiohydantoïnes C-4 insaturées. La voie de synthèse utilisant la condensation d'Edman a l'avantage du moins grand nombre d'étapes et a permis d'obtenir les composés couplés avec de meilleurs rendements.

La nécessité d'une insaturation en position 4 pour réaliser la formation de liaison C-C par couplage (type Suzuki, Stille etc...) nous a conduit à explorer l'accessibilité au cycle imidazole à partir des 2-thiohydantoïnes. Les essais en partie infructueux nous ont amenés à réaliser une réaction de chloroformylation sur les positions 4 et 5 par réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold. Cette voie de synthèse nous a permis un accès simple à la charpente imidazole dont la réactivité fera l'objet du chapitre 3.

CHAPITRE 3:

Les imidazoles à partir des 2~thiohydantoïnes

I- Introduction sur les imidazoles

La synthèse et la fonctionnalisation des 2-thiohydantoïnes par deux approches différentes, celle de Schlack-Kumpf et celle d'Edman, ont été décrites dans les deux premiers chapitres. Ce troisième chapitre est consacré à la préparation et la fonctionnalisation de cycles imidazoles tétrasubstitués.

L'imidazole est un petit hétérocycle aromatique présent dans de nombreuses molécules du métabolisme et de constitution telle que la L-histidine, acide aminé essentiel (Figure 14).

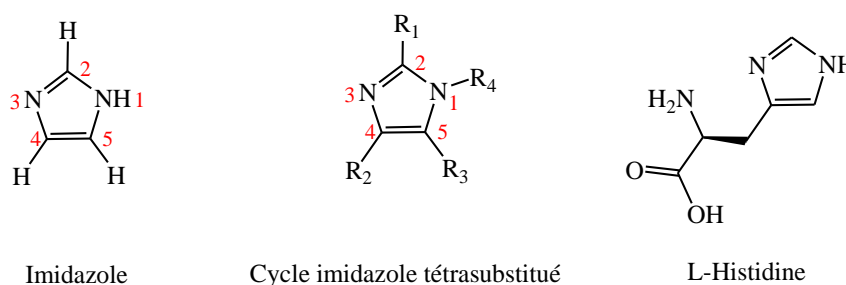


Figure 14: Structures de type imidazole

I-1 Produits naturels

Le motif imidazole est souvent présent dans des alcaloïdes marins biologiquement actifs.

Ainsi, l'oroïdine,¹⁴⁶ la sceptrine,^{147,148} l'ageliférine¹⁴⁸ et l'axinellamine¹⁴⁹ sont des pyrroloimidazoles possédant respectivement des propriétés anticancéreuses, antibactériennes et antivirales.

Dans la même famille, la stevensine¹⁵⁰ et l'hyménine¹⁵¹ possèdent un bicyclic fusionné de type pyrroloazépine (Figure 15).

¹⁴⁶ Daninos-Zeghai, S.; Al Mourabit, A.; Ahond, A.; Poupat, C.; Potier, P. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 7605-7614.

¹⁴⁷ O'Malley, D.P.; Li, K.; Maue, M.; Zografos, A.L.; Baran, P.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4762-4775.

¹⁴⁸ Cipres, A.; O'Malley, D.P.; Li, K.; Finlay, D.; Baran, P.S.; Vuori, K. *ACS Chem. Biol.* **2010**, *5*, 95-202.

¹⁴⁹ a) Sivappa, R.; Hernandez, N.M.; He, Y.; Lovely, C.J. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3861-3864. b) Seiple, I.B.; Su, S.; Young, I.S.; Nakamura, A.; Yamaguchi, J.; Jørgensen, L.; Rodriguez, R.A.; O'Malley, D.P.; Gaich, T.; Köck, M.; Baran, P.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 14710-14726.

¹⁵⁰ a) Xu, Y-Z.; Yakushijin, K.; Horne, D.A. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8121-8124. b) Andrade, P.; Willoughby, R.; Pomponi, S.A.; Kerr, R.G. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 4775-4778.

¹⁵¹ a) Xu, Y-Z.; Phan, G.; Yakushijin, K.; Horne, D.A. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 351-354. b) Xu, Y-Z.; Yakushijin, K.; Horne, D.A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 456-464.

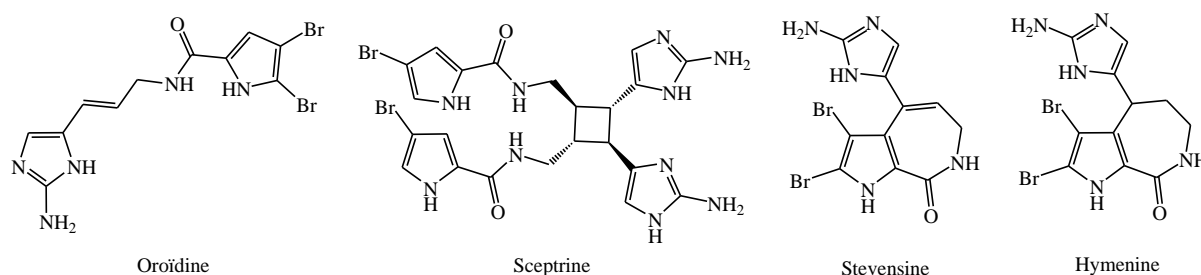


Figure 15: Alcaloïdes marins de type imidazole

Comme les composés précédents, les dragmacidines représentent une famille d'alcaloïdes isolée d'éponges marines.¹⁵²

Les dragmacidines A, B et C sont des bis-indoles possédant une structure centrale pipérazine alors que les dragmacidines D,¹⁵³ E¹⁵⁴ et F,¹⁵⁵ de structure plus complexes, incluent un motif amino imidazole leur conférant un large spectre d'activités biologiques (Figure 16).

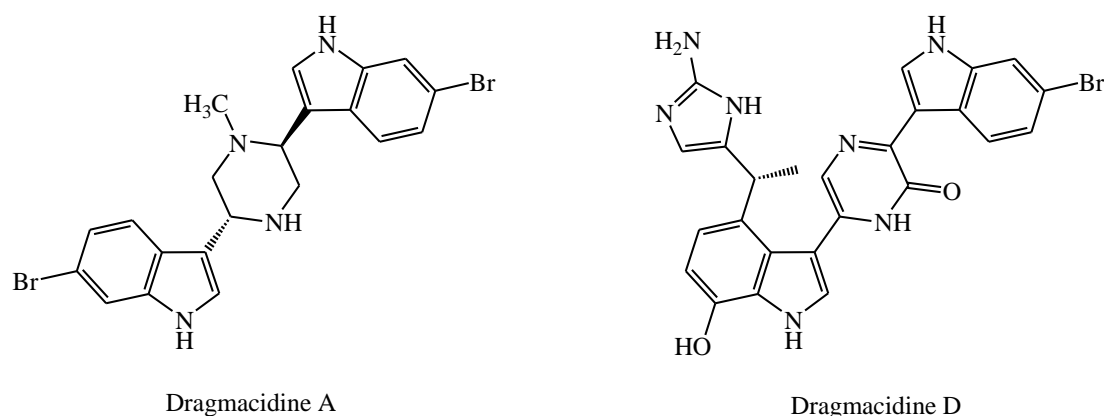


Figure 16: Structures des Dragmacidines A et D

I-2 Activités biologiques des imidazoles

Un grand nombre de molécules bioactives possèdent une sous-unité imidazole au sein de leur structure.¹⁵⁶ Les activités sont variées: antihypertenseur, anti-oxydant, antimicrobiens entre autre mais également inhibiteur de kinases, propriété qui a retenue notre attention dans le cadre de ce projet. Quelques structures et activités thérapeutiques sont présentées ci-dessous.

¹⁵² a) Morris, S.A.; Andersen, R.J. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 715-720. b) Cutignano, A.; Bifulco, G.; Bruno, I.; Casapullo, A.; Gomez-Paloma, L.; Riccio, R. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3743-3748.

¹⁵³ Garg, N.K.; Sarpong, R.; Stoltz, B.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13179-13184.

¹⁵⁴ a) Feldman, K.S.; Ngermeesri, P. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5449-5452. b) Huntley, R.J.; Funk, R.L. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4775-4778.

¹⁵⁵ a) Garg, N.K.; Caspi, D.D.; Stoltz, B.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9553-9553. b) Garg, N.K.; Caspi, D.D.; Stoltz, B.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5970-5978.

¹⁵⁶ Abdel-Wahab, B.F.; Awad, G.E.A.; Badria, F.A. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1505-1511.

- **Antimicrobiens**

Les imidazoles sont également largement employés comme antimicrobiens,¹⁶⁰ pour leurs activités multiples à la fois antibactérienne, antiparasitaire et antifongique.

Ainsi, de nombreux antifongiques ont été développés et mis sur le marché lors des 30 dernières années. Les molécules les plus connues sont le miconazole, le ketoconazole, l'éconazole et le clotrimazole qui se sont révélés être à large spectre d'activité (Figure 19).¹⁶¹ Cependant, le développement de souches résistantes nécessite la recherche perpétuelle de nouveaux antifongiques.¹⁶²

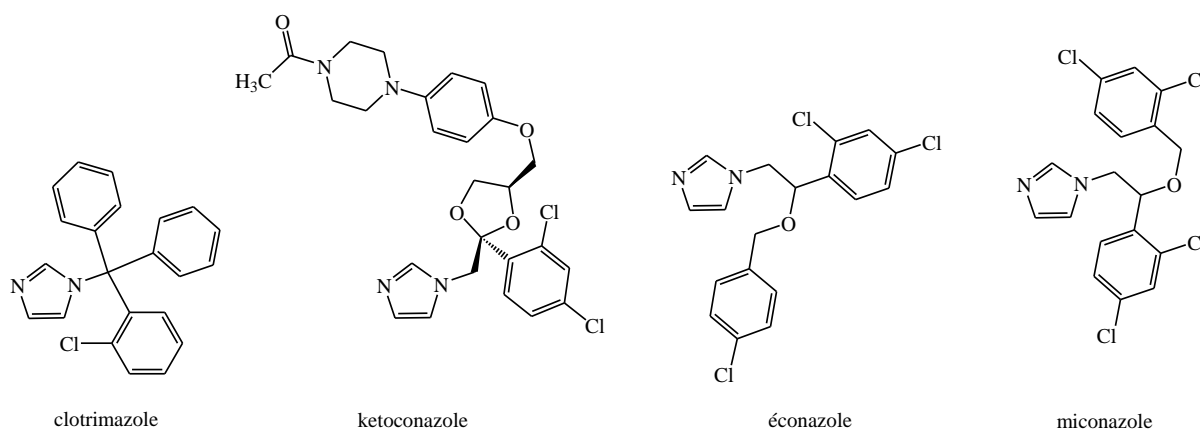


Figure 19: Structures d'antifongiques de type imidazole

Parmi les dérivés d'imidazole antimicrobiens, les nitroimidazoles représentent un ensemble de composés possédant des propriétés antiparasitaires et antibactériennes spécifiques contre les germes anaérobies.¹⁶³

En 1953, Maeda isole d'un *Streptomyces* l'azomicyne ou le 2-nitroimidazole,¹⁶⁴ antibiotique ayant de nombreuses propriétés antiparasitaires qui mènera par la suite à la synthèse de divers dérivés. Ainsi le métronidazole a été développé en 1960, à la suite duquel d'autres médicaments tels que le tinidazole, le secnidazole ou encore l'ornidazole ont été commercialisés (Figure 20).

¹⁶⁰ a) Dawane, B.S. et al. *Org. Commun.* **2010**, 3, 22-29. b) Aridoss, G.; Balasubramanian, S.; Parthiban, P.; Kabilan, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, 41, 268-275.

¹⁶¹ a) Heeres, J.; Backx, L.J.J.; Mostmans, J.H.; Cutsem, J.V. *J. Med. Chem.* **1979**, 22, 1003-1005. b) Strippoli, V.; Piacentini, A.; D'Auria, F.D.; Simonetti, N. *Infection* **1997**, 25, 303-306.

¹⁶² a) Gündoğdu-Karaburun, N.; Benkli, K.; Tunalı, Y.; Ucucu, U.; Demirayak, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, 41, 651-656. b) Emami, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 141-146.

¹⁶³ Mital, A. *Sci. Pharm.* **2009**, 77, 497-520.

¹⁶⁴ Maeda, K.; Osato, T.; Umesawa, H. *J. Antibiot. Ser. A.* **1953**, 6, 182.

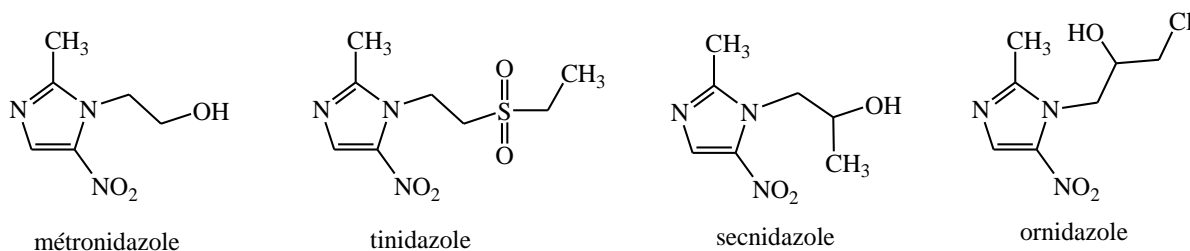


Figure 20: 5-Nitroimidazoles antiparasitaires et antibactériens

Le caractère mutagène potentielle et la possibilité d'apparition de résistances pouvant limiter l'efficacité de ces médicaments ont encouragé la mise au point de nouveaux analogues.¹⁶⁵

1-2-b) Inhibiteurs de kinases

Les molécules comportant un motif imidazole ont également trouvé comme application l'inhibition de diverses kinases. Ces enzymes, et particulièrement leur site ATP, sont ciblés pour le développement de nouveaux traitements anticancéreux.¹⁶⁶

- **Kinases diverses**

Les inhibiteurs contenant un noyau imidazole ont fait l'objet d'étude sur diverses classes de protéine kinases à l'image de leur utilisation comme inhibiteurs des Janus protéine tyrosine kinases (JAK)¹⁶⁷ impliquées dans la voie de signalisation des cytokines. Des inhibiteurs de JAK ont également été employés pour leur action contre la leucémie lymphoblastique aiguë.¹⁶⁸

Un autre aspect de leur utilisation consiste à inhiber l'adénosine kinase humaine qui catalyse la phosphorylation de l'adénosine en adénosine monophosphate par le transfert d'un groupement phosphate de l'ATP.¹⁶⁹

Enfin, des imidazoles de type pyrimidine amide ont été récemment développés par AstraZeneca pour inhiber les kinases cycline-dépendantes (Figure 21)^{45, 170} dont l'activité est

¹⁶⁵ a) Vanelle, P.; Crozet, M.P.; Maldonado, J.; Barreau, M. *Eur. J. Med. Chem.* **1991**, *26*, 167-178. b) Upcroft, J.A.; Dunn, L.A.; Wright J.M.; Benakli, K.; Upcroft, P.; Vanelle, P. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 344-347. c) Crozet, M.D.; Bota, C.; Gasquet, M.; Curti, C.; Rémusat, V.; Hutter, S.; Chapelle, O.; Aead, M.; De Méo, M.; Vanelle, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 653-659.

¹⁶⁶ Levitzki, A. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 462-469.

¹⁶⁷ Thomson, J.E.; Cubbon, R.M.; Cummings, R.T.; Wicker, L.S.; Frankshun, R.; Cunningham, B.R.; Cameron, P.M.; Meinke, P.T.; Liverton, N.; Weng, Y.; DeMartino, J.A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1219-1223.

¹⁶⁸ Maydan, N.; Grunberger, T.; Dadi, H.; Shahar, M.; Arpaia, E.; Lapidot, Z.; Leeder, J.S.; Freedman, M.; Cohen, A.; Gazit, A.; Levitzki, A.; Roifman, C.M. *Nature* **1996**, *379*, 645-648.

¹⁶⁹ Butini, S. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1401-1420.

de réguler le cycle cellulaire et qui agissent sur les phénomènes de transcription et de différenciation.

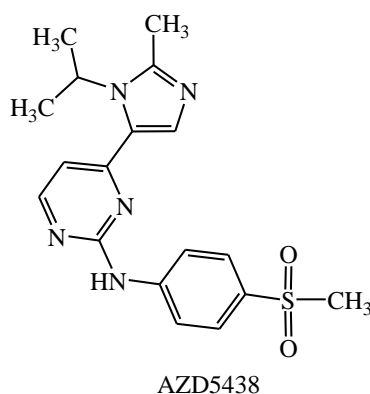


Figure 21: Inhibiteur de kinase cycline-dépendante de type imidazole

- Les mitogen-activated protein (MAP) kinases

Les mitogen-activated protein (MAP) kinases sont une famille de sérine/thréonine protéine kinases impliquée dans les voies de transduction du signal et contrôlant de nombreux phénomènes intra-cellulaires.

Ainsi, la Raf kinase fait partie d'une cascade de map kinases impliquée dans la régulation de la progression et de l'apoptose du cycle cellulaire.¹⁷¹

Glaxo Smith Kline a identifié des imidazoles tri-substitués comme de puissants inhibiteurs de la B-Raf kinase avec une bonne sélectivité (Figure 22)¹⁷² Des pyrazoloimidazoles ont également été identifiés comme étant sélectivement actifs sur la C-Raf kinase dans le cadre de la lutte contre le mélanome.¹⁷³

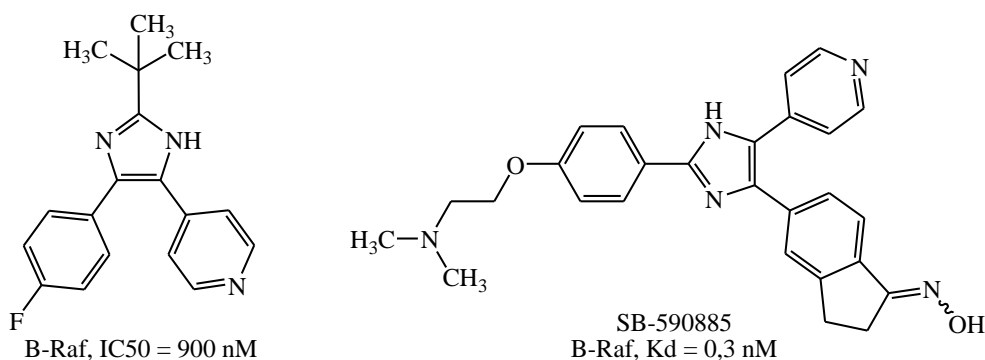


Figure 22: Inhibiteurs de B-Raf kinase développés par AstraZeneca

¹⁷⁰ a) Finley, M.R.V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4442-4446. b) Anderson, M et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5487-5492.

¹⁷¹ Pearson, G.; Robinson, F.; Beers Gibson, T.; Xu, B-E.; Karandikar, M.; Berman, K.; Cobb, M.H. *Endocr. Rev.* **2001**, *22*, 153-183.

¹⁷² Tackle, A.K.; Brown, M.J.B.; Davies, S.; Dean, D.K.; Francis, G.; Gaiba, A.; Hird, A.W.; King, F.D.; Lovell, P.J.; Naylor, A.; Reith, A.D.; Steadman, J.D.; Wilson, D.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 378-381.

¹⁷³ Yu, H.; Jung, Y.; Kim, H.; Lee, J.; Oh, C-H.; Yoo, K.H; Sim, T; Hah, J.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3805-3808.

La p38 MAP kinase est une autre sérine/thréonine kinase faisant partie d'une cascade d'enzymes intervenant dans la biosynthèse des médiateurs de l'inflammation comme les cytokines pro-inflammatoires. La p38 MAP kinase apparaît comme cible thérapeutique potentielle dans le traitement des maladies inflammatoires et constitue une classe d'enzyme pour laquelle des inhibiteurs possédant un noyau imidazole ont été étudiés.¹⁷⁴

En 1994, Lee a mis en évidence les propriétés anti-inflammatoires du composé SB203580 possédant une structure pyridinyl imidazole inhibiteur compétitif de l'ATP¹⁷⁵ à partir de laquelle d'autres molécules « lead » ont été développées (Figure 23).

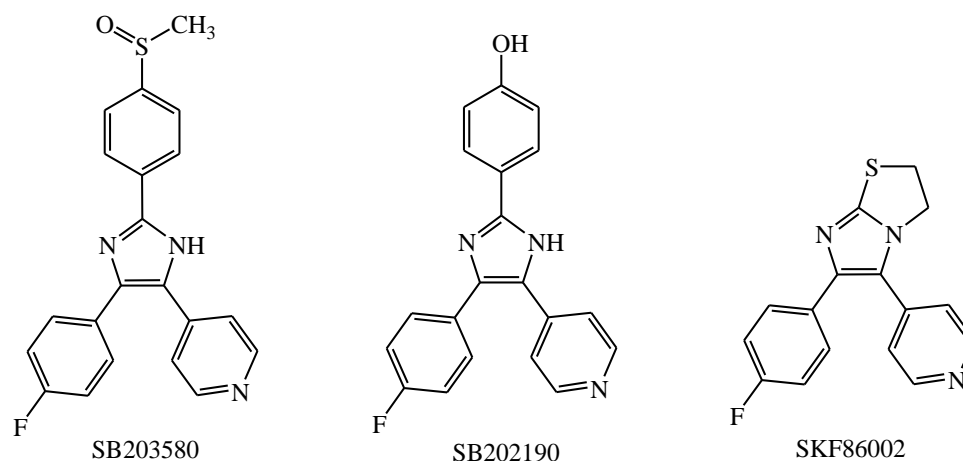


Figure 23: Imidazoles inhibiteurs de p38 map kinase

A partir de ces composés, de nombreuses optimisations structurales¹⁷⁶ ont été réalisées notamment par substitution de la position N-1^{47a} afin d'évaluer entre autre les potentiels d'inhibition des imidazoles 2,4,5-trisubstitués par rapport aux composés tétrasubstitués.^{47b}

Comme nous venons de le voir les imidazoles possèdent de nombreuses propriétés biologiques et entre autres celle d'inhibiteur de kinase, ainsi nous nous sommes intéressés à la synthèse de ces composés dans le but de les tester sur les nucléosides monophosphate kinases, enzymes cibles du projet, en tant qu'analogues d'ATP.

I-3 Méthodes de synthèse des imidazoles

Les méthodes de synthèse de cet hétérocycle sont très nombreuses et il apparaît difficile de toutes les répertorier: dans ce paragraphe nous avons tenté de décrire les plus couramment utilisées.

¹⁷⁴ a) Chen, Z.; Beers Gibson, T.; Robinson, F.; Silvestro, L.; Pearson, G.; Xu, B-E.; Wright, A.; Vanderbilt, C.; Cobb, M.H. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2449-2476. b) English, J.M.; Cobb, M.H. *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 40-45.

¹⁷⁵ Lee, J.C. et al. *Nature* **1994**, *372*, 739-746.

¹⁷⁶ Natarajan, S.R., Doherty, J.B. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 987-1003.

I-3-a) Réaction de Debus-Radziszewski

La synthèse d'un imidazole a été pour la première fois réalisée par Debus¹⁷⁷ en 1858 par réaction d'un glyoxal, d'un aldéhyde et de deux équivalents d'ammoniac puis exemplifiée par Radziszewski¹⁷⁸ à des imidazoles 2,4,5-trisubstitués (Schéma 77) et notamment le 2,4,5-triphénylimidazole ou lophine¹⁷⁹ utilisée pour ses propriétés de photoluminescence.

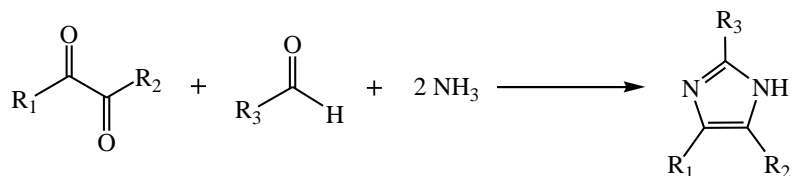


Schéma 77: Réaction de Debus-Radziszewski

Concernant le mécanisme, les deux groupements carbonyles du glyoxal réagissent dans un premier temps avec les deux équivalents d'ammoniac pour former la diimine qui se condense par la suite sur l'aldéhyde.

Cette réaction conduit à la formation de sous-produits et son efficacité est limitée par le rendement. Elle a été optimisée par la suite en utilisant l'acide acétique en présence d'acétate d'ammonium comme source d'ammoniac.¹⁸⁰ Cette méthode est à présent couramment employée associée au chauffage sous micro-ondes.¹⁸¹

D'autre part, l'utilisation d'une amine primaire en présence d'une source d'ammoniac permet d'obtenir un imidazole 1,2,4,5-tétrasubstitué.

De plus avec une dicétone dissymétrique, l'obtention de deux régioisomères en positions 4 et 5 est envisageable (Schéma 78).

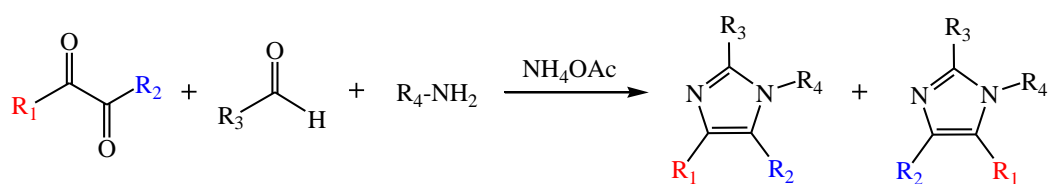


Schéma 78: Formation d'imidazoles tétrasubstitués par la réaction de Debus-Radziszewski

¹⁷⁷ Debus, H. J. *Liebigs Ann. Chem.* **1858**, 107, 199-208.

¹⁷⁸ Radziszewski, B. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1882**, 15, 2706 - 2708.

¹⁷⁹ a) Radziszewski, B., *Ber.* **1882**, 15, 1493. b) Crouch, R.D.; Howard, J.L.; Zile, J.L.; Barker, K.H. *J. Chem. Educ.* **2006**, 83, 1658.

¹⁸⁰ a) Brackeen, M.F.; Stafford, J.A; Feldman, P.L.; Karanewski, P.S. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 1635-1638. b) McKenna, J.M. et al. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 2173-2184. c) Zuliani, V.; Coconcelli, G.; Fantini, M.; Ghiron, C.; Rivara, M. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 4551-4553.

¹⁸¹ a) Wolkenberg, S.E.; Wisnoski, D.D.; Leister, W.H.; Wang, Y.; Zao, Z.; Lindsay, C.W. *Org. Lett.* **2004**, 6, 1453-1456. b) Bratulescu, G. *Synthesis* **2009**, 14, 2319-2320.

Cette méthode a été expérimentée sous diverses conditions. Une des évolutions majeures a consisté en la préparation de noyaux imidazoles préférentiellement 1,2,4,5-tétrasubstitués en utilisant un support solide pour la catalyse acide,¹⁸² ou bien par l'utilisation de conditions sous micro-ondes faisant de cette méthode, l'une des plus efficace.¹⁸³

D'autres exemples se basent sur l'utilisation de liquides ioniques pour une réaction sans catalyseur,¹⁸⁴ ou au contraire une réaction où des catalyseurs peu communs tels que l'iode¹⁸⁵ sont utilisés.

I-3-b) Réaction de Van Leusen

En 1977, Van Leusen¹⁸⁶ a décrit une méthode de synthèse d'imidazoles par cycloaddition d'un tosylméthyl isonitrile (TosMIC) sur une aldimine en milieu basique (Schéma 79).

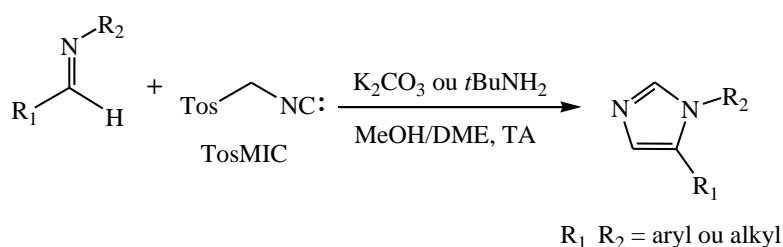


Schéma 79: Réaction de Van Leusen

Le réactif TosMIC, contracte trois groupes fonctionnels, un isonitrile réactif, un méthylène activé et un groupe partant tosylate. Cet ensemble permet la synthèse d'une grande variété d'hétérocycles tels que des oxazoles, indoles, pyrroles, thiazoles, triazoles, imidazoles, etc..

La synthèse de TosMIC substitués¹⁸⁷ a été développée il y a une quinzaine d'années pour permettre l'accès à des imidazoles trisubstitués.

Le mécanisme est intéressant et débute par la déprotonation du méthylène suivi de sa condensation sur l'aldimine dont l'amidure intermédiaire se condense sur l'isonitrile.

¹⁸² a) Sarshar, S.; Siev, D.; Mjalli, A.M.M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 835-838. b) Kantevari, S.; Vuppapapati, S.V.N.; Biradar, D.O.; Nagarapu, L. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2007**, *266*, 109-113. c) Rafiee, E.; Mahdavi, H.; Joshaghani, M. *Mol. Div.* **2011**, *15*, 125-134.

¹⁸³ a) Balalaie, S.; Arabanian, A.; Hashtroudi, M.S. *Monatsch. Chem.* **2000**, *131*, 945-948. b) Balalaie, S.; Hashemi, M.M.; Akhbari, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1709-1711. c) Usyatinsky, A.Y.; Khmelnsky, Y.L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5031-5034. d) Karimi, A.R. et al. *Catal. Commun.* **2006**, *7*, 728-732. e) Sadeghi, B.; Mirjalili, B.B.F.; Hashemi, M.M. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 2575-2577.

¹⁸⁴ a) Siddiqui, S.A.; Narkhede, U.C.; Palimkar, S.S.; Daniel, T.; Lahoti, R.J.; Srinivasan, K.V. *Tetrahedron*, **2006**, *47*, 5029-5031. b) Heravi, M.M.; Derikvand, F.; Bamoharram, F.F. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2007**, *263*, 112-114. c) Nagarapu, L.; Apuri, S.; Kantevari, S. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2007**, *266*, 104-108.

¹⁸⁵ Kidwai, M.; Mothra, P. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1709-1711.

¹⁸⁶ Van Leusen, A.M.; Wildeman, J.; Oldenzel, O. H. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1153-1159.

¹⁸⁷ a) Sisko, J.; Melinger, M.; Sheldrake, P.W.; Baine, N.H. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8113-8116. b) Sisko, J.; Melinger, M. *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74*, 1349-1357.

L'élimination du *p*-toluènesulfinate à partir de l'intermédiaire 4-tosyl-2-imidazoline aboutit à l'imidazole substitué (Schéma 80).

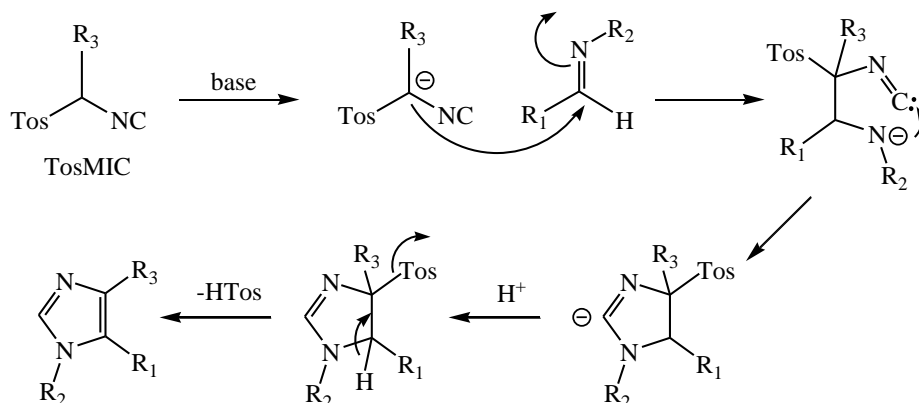


Schéma 80: Mécanisme de la réaction de Van Leusen

Cette méthode consistant à condenser un TosMIC sur une amine¹⁸⁸ a par la suite été exemplifiée à une réaction à trois composants entre un aldéhyde, une amine et le TosMIC, l'imine étant formée *in situ*.¹⁸⁹

Sisko a réalisé la synthèse du 1-(2,2,6,6-tétraméthyl-4-pipéridinyl)-4-(4-fluorophényl)-5-acétylimidazole par la méthode classique et par la méthode « one-pot » avec le même rendement de l'ordre de 80%. La présence d'eau dans le milieu due à la formation de l'imine *in situ* n'affecte pas le rendement. De plus, la formation de l'oxazole comme sous-produit par réaction de l'aldéhyde sur le nitrile est très faible.¹⁹⁰

Cette méthode « one pot » ayant prouvé son efficacité a notamment été exemplifiée sur des amines et aldéhydes chiraux donnant ainsi accès à des imidazoles 1,4- et 4,5-disubstitués énantiomériquement purs.¹⁹¹

1-3-c) A partir d'amidines

Le cycle imidazole peut également être formé par réaction d'amidine¹⁹² ou de guanidine¹⁹³ sur un α -hydroxycarbone ou un α -halocarbonate en présence d'une base (Schéma 81).

¹⁸⁸ Boehm, J.C.; Smietana, J.M.; Sorenson, M.E.; Garigipati, R.S.; Gallagher, T.F.; Sheldrake, P.L.; Bradbeer, J.; Badger, A.M.; Laydon, J.T.; Lee, J.C.; Hilleagass, L.M.; Griswold, D.E.; Breton, J.J.; Chabot-Fletcher, M.C.; Adams, J.L. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3929-3937.

¹⁸⁹ a) Adams, J.L.; Boehm, J.C.; Kassis, S.; Gorycki, P.D.; Webb, E.F.; Hall, R.; Sorenson, M.; Lee, J.C.; Ayrton, A.; Griswold, D.E.; Gallagher, T.E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3111-3116. b) Gracias, V.; Gasiecki, A.F.; Djuric, S.W. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3183-3186.

¹⁹⁰ Sisko, J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4529-4531.

¹⁹¹ Sisko, J.; Kassick, A.J.; Mellinger, M.; Filan, J.J.; Allen, A.; Olsen, M.A. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1516-1524.

¹⁹² a) Shi, Y.-J.; Frey, L.F.; Tschaen, D.M.; Verhoeven, T.R. *Synthetic Commun.* **1993**, *23*, 2623-2630. b) Liverton, N.J. et al. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2180-2190. c) Li, B.; Chiu, C.K.-F.; Hank, R.F.; Murry, J.; Roth, J.;

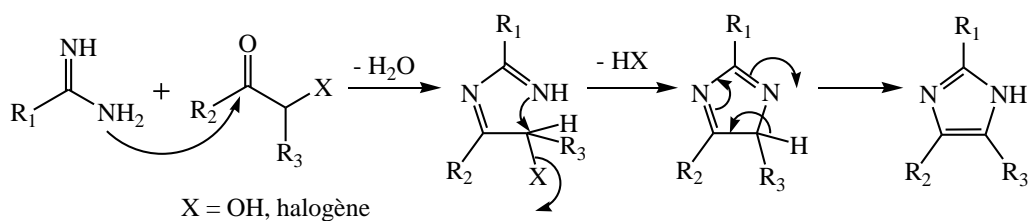


Schéma 81: Formation d'un imidazole par réaction d'une amidine et d'un composé α -hydroxy ou α -halocarbonylé

Une amidine peut également réagir avec un nitrile ou un composé carbonylé α,β -insaturé en milieu basique (Schéma 82).

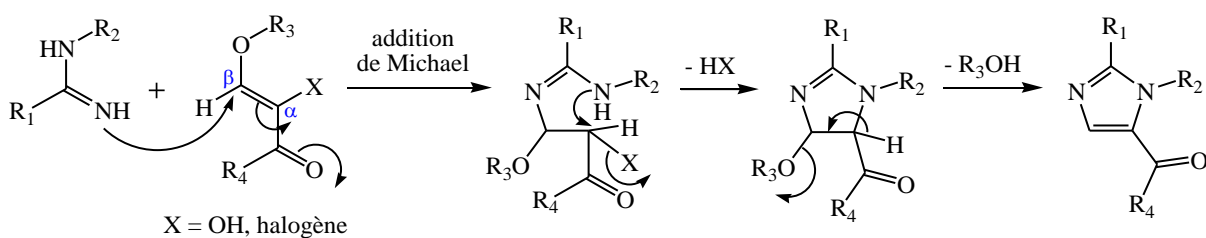


Schéma 82: Synthèse d'imidazole par addition d'aldimine sur un composé α,β -insaturé

Dans ce cas l'addition de type Michael de l'amidine a lieu sur le carbone β portant la fonction alkoxy, la cyclisation s'accompagne de libération d'HX puis la perte de l'alcool aboutit à la formation de l'imidazole.¹⁹⁴

I-3-d) Synthèse d'imidazoles bicycliques

Les benzimidazoles sont des motifs très courants dans les molécules biologiquement actives telles que les antihistaminiques, les antimicrobiens ou les antihypertenseurs (Figure 24).^{173, 195}

Tobiassen, H. *Org. Synth.* **2005**, *81*, 105-111. d) Hirano, K.; Urban, S.; Wang, C.; Glorius, F. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1019-1022.

¹⁹³ Little, T.L.; Weber, S.E. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7299-7305.

¹⁹⁴ a) Shilcrat, S.C.; Mokhallalati, M.K.; Fortunak, J.M.D.; Pridgen, N.L. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8449-8454. b) Szczepankiewicz, B.G.; Rohde, J.J.; Kurukulasuriya, R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1833-1835.

¹⁹⁵ Saha, P.; Ramana, T.; Purkait, N.; Ali, M.A.; Paul, R.; Punniyamurthy, T. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8719-8725.

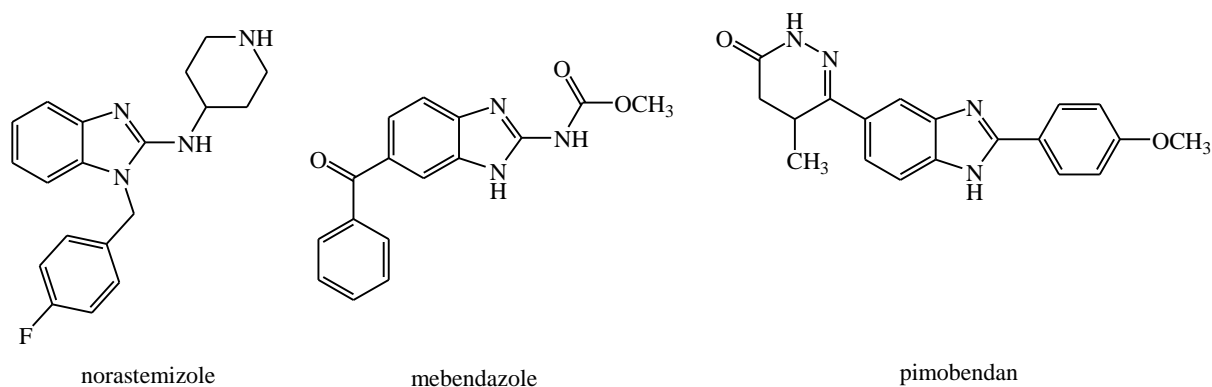


Figure 24: Molécules actives comportant un noyau benzimidazole

Ce type de bicyclic est souvent synthétisé par réaction d'ortho-phenylènediamine sur un composé carbonilé,^{173, 196} un isothiocyanate,¹⁹⁷ ou un nitrile.^{160b} D'autre part, des méthodes de couplage intramoléculaire catalysé au cuivre (II) en milieu basique sans palladium sont depuis peu développées.^{195, 198}

I-3-e) A partir d'un β -cétamide

La cyclisation d'un β -cétamide en présence d'une source d'ammoniac¹⁹⁹ ou d'une amine primaire²⁰⁰ permet de former des imidazoles 1,2,4,5-tétrasubstitués (Schéma 83).

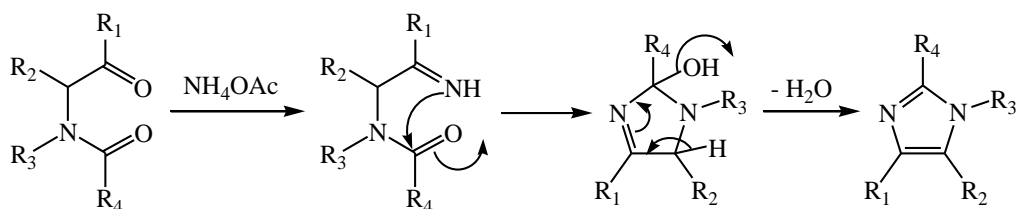


Schéma 83: Synthèse d'imidazoles tétrasubstitués par cyclisation de β -cétamide

De plus, cette technique a pu être développée sur support solide et appliquée à la chimie combinatoire pour la synthèse de bibliothèques de molécules dans le domaine de la chimie thérapeutique.²⁰¹

¹⁹⁶ Navarrete-Vazquez, G. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3985-3991.

¹⁹⁷ Ismail, A. *PhD Thesis* Université de Metz **2011**.

¹⁹⁸ Peng, J. J. *Org. Chem.* **2011**, *76*, 716-719.

¹⁹⁹ Claiborne, C.F.; Liverton, N.J.; Nguyen, K.T. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8939-8942.

²⁰⁰ Frantz, D.E.; Morency, L.; Soheili, A.; Murry, J.A.; Grabowski, E.J.J.; Tillyer, R.D. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 843-846.

²⁰¹ a) Zhang, C.; Moran, E.J.; Woiwode, T.F.; Short, K.M.; Mjalli, A.M.M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 751-754.
b) Lee, H.B.; Balasubramanian, S. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 323-326.

I-3-f) Réaction de Wallach

La réaction de Wallach²⁰² permet de former un 5-chloroimidazole 1,2-disubstitué par chauffage d'un di-amide en présence de PCl_5 ou de POCl_3 selon le mécanisme décrit Schéma 84.

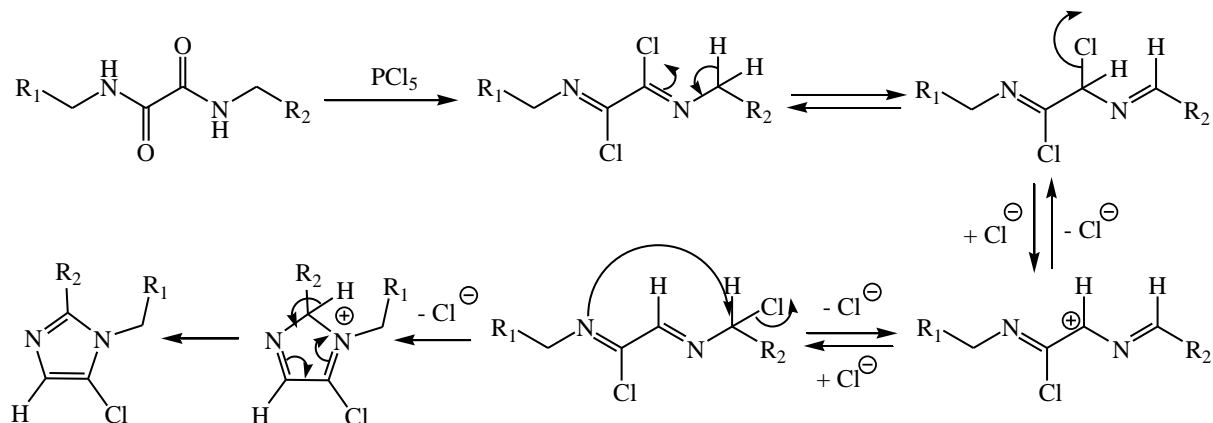


Schéma 84: Mécanisme de la réaction de Wallach

I-3-g) Synthèse d'imidazoles à partir de divers hétérocycles

Les imidazoles ont été préparés, à partir d'une azirine, par réarrangement intramoléculaire²⁰³ ou par expansion de cycle *via* une cycloaddition (Schéma 85).²⁰⁴

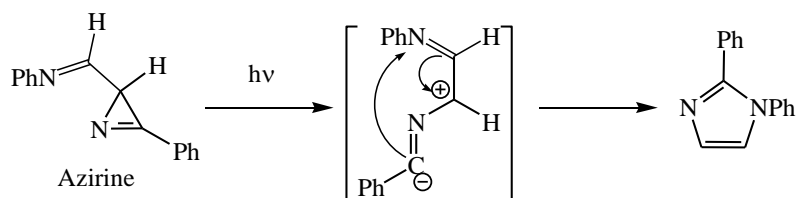


Schéma 85: Formation d'imidazole par réaction de cycloaddition à partir d'azirine

La transannulation catalysée au rhodium des 1,2,3-triazines avec un nitrile a été décrite pour synthétiser des imidazoles 1,2,4-trisubstitués (Schéma 86).²⁰⁵

²⁰² a) Wallach, O. *Ber. Dtsch. Chim. Ber.* **1881**, *14*, 420. b) Benincori, T.; Brenna, E.; Sannicolo, F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 675-679.

²⁰³ Alves, M.J.; Ferreira, P.M.T.; Maia, H.L.S.; Monteiro, L.S.; Gilchrist, T.L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4991-4995.

²⁰⁴ Padwa, A.; Stengel, T. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5991-5993.

²⁰⁵ a) Horneff, T.; Chuprakov, S.; Chernyak, N.; Gevorgyan, V.; Fokin, V.V. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14972-14974. b) Chuprakov, S.; Hwang, F.W.; Gevorgyan, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4757-4759.

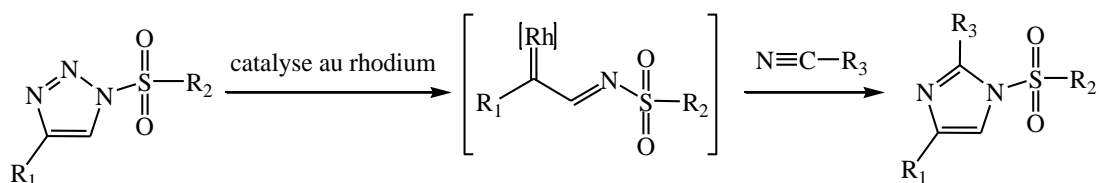


Schéma 86: Formation d'imidazole à partir de 1,2,3-triazines

La conversion d'un 1,2,4-oxadiazole en imidazole par condensation sur un composé dicarboxylé suivi d'un réarrangement a été réalisé en 1974 par Ruccia (Schéma 87).²⁰⁶

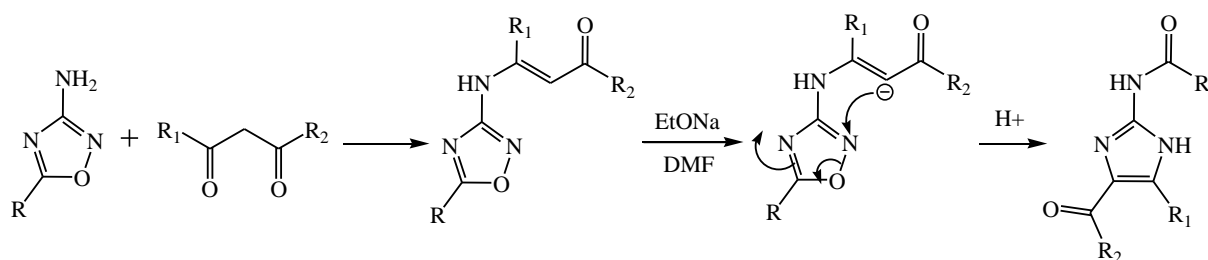


Schéma 87: Formation d'imidazole par réarrangement d'un 1,2,4-oxadiazole

Les imidazoles peuvent également être obtenus à partir d'aminoisoxazole après hydrogénolyse puis cyclisation en milieu basique (Schéma 88).^{45b, 207}

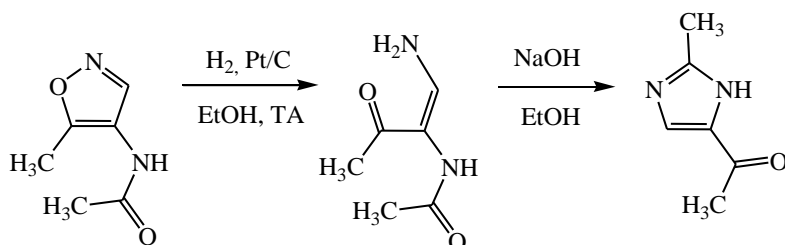


Schéma 88: Formation d'imidazole par hydrogénolyse d'aminoisoxazole puis cyclisation

D'autre part, le chauffage d'une oxazolidine en présence d'ammoniac ou d'une amine primaire a été décrit pour la synthèse d'un imidazole 1,4-disubstitué.²⁰⁸

Enfin, les imidazoles peuvent être formés à partir d'imidazoles-2-thiones par désulfuration oxydante ou désulfuration réductrice au nickel de Raney (Schéma 89),²⁰⁹ eux-mêmes

²⁰⁶ Ruccia, M.; Vivona, N.; Cusmano, G. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 3859-3864.

²⁰⁷ Reiter, L.A. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2714-2726.

²⁰⁸ Horne, D.A.; Yakushijin, K.; Büchi, G. *Heterocycles* **1994**, *39*, 139-153.

²⁰⁹ a) Xi, N.; Xu, S.; Cheng, Y.; Tasker, A.S.; Hungate, R.W., Reider, P.J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7315-7319. b) Wolfe, D.M.; Schreiner, P.R. *Synthesis* **2007**, *13*, 2002-2008.

obtenues à partir des 2-thiohydantoïnes²¹⁰ dont nous avons étudié la synthèse dans les deux premiers chapitres.

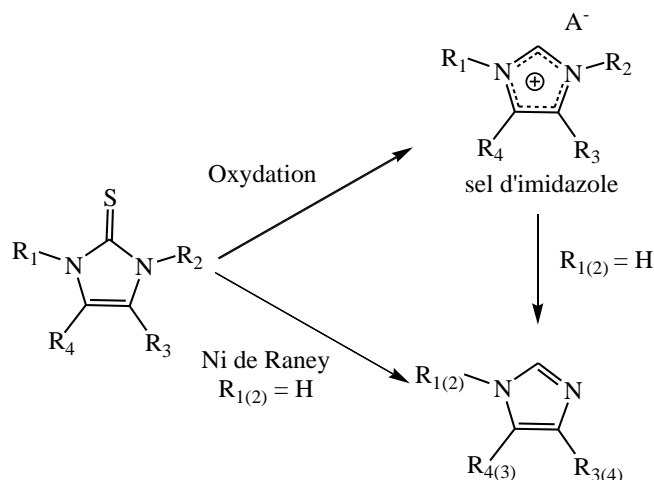


Schéma 89: Obtention d'imidazole par désulfuration oxydante ou réductrice

Comme nous venons de le voir il est possible de synthétiser un imidazole à partir d'une 2-thiohydantoïne par l'intermédiaire d'une imidazole-2-thione.

Dans ce chapitre nous avons développé une méthode donnant accès à des imidazoles à partir de 2-thiohydantoïnes sans passer par l'imidazole-2-thione. La réaction de chloroformylation nous a permis d'obtenir une molécule intermédiaire dont la réactivité a été testée par diverses fonctionnalisations en positions 2, 4 et 5.

II- Synthèse d'imidazoles par la réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold

La réaction de Vilsmeier-Haack²¹¹ permet la formylation d'un arène riche en électron par réaction avec un amide substitué, en générale le diméthylformamide et le trichlorure de phosphore (POCl₃).

Arnold²¹² a par la suite étendu cette réaction à la β -chloroformylation de cétones énolisables. Cette méthode a largement été employée pour la formation de β -chloroacroléines²¹³ sur des cétones substituées,²¹⁴ de cétones cycliques²¹⁵ et divers hétérocycles.²¹⁶

²¹⁰ Garst, M.E.; Dolby, L.J.; Esdandari, S.; Avey, A.A.; Mac Kenzie, V.R.; Muchmore, D.C. **2007** Patent WO2007/041048 A3

²¹¹ a) Vilsmeier, A.; Haack, A. *Ber.* **1927**, *60*, 119. b) Campaigne, E.; Archer, W. L. *Org. Syn.* **1963**, *4*, 331.

²¹² a) Arnold, Z.; Zemlicka, J. *Proc. Chem. Soc.* **1958**, 227. b) Arnold, Z.; Zemlicka, J. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **1959**, *24*, 2385.

²¹³ Marson, C.M. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 3659-3726.

²¹⁴ a) Lilienkampf, A.; Johansson, M.P.; Wahala, K. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3387-3390. b) Thomas, A.D.; Asokan, J. and C.V. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5069-5076.

Le mécanisme de la réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold est décrit Schéma 90. En milieu acide la cétone est en équilibre avec sa forme énol, le doublet d'électrons peut alors attaquer le réactif de Vilsmeier pour former l'aldéhyde sur le carbone α . L'attaque sur un deuxième équivalent de Vilsmeier permet la formation d'un éther d'énol au niveau du carbone β . La β -chloroacroléine est obtenue après substitution nucléophile de cet éther d'énol par l'ion chlorure et hydrolyse de l'immonium en milieu aqueux.

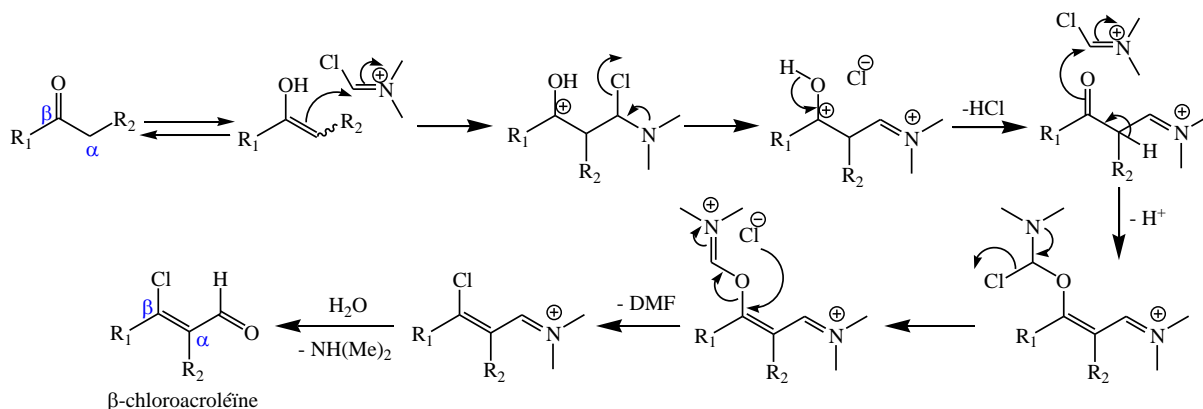


Schéma 90: Mécanisme de la formation de β -chloroacroléine par la réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold

II-1 A partir de la 2-(benzylsulfanyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **67**

La réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold a été appliquée à une hydantoïne²¹⁷ N,N-bisalkylée et a permis la transformation en imidazolone et la formation d'une β -chloroacroléine en positions 4 et 5 avec un rendement de 80%.

Nous nous sommes inspirés de ces résultats, et avons chloroformylé la 2-(benzylsulfanyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **67** dans les mêmes conditions réactionnelles (Schéma 91).

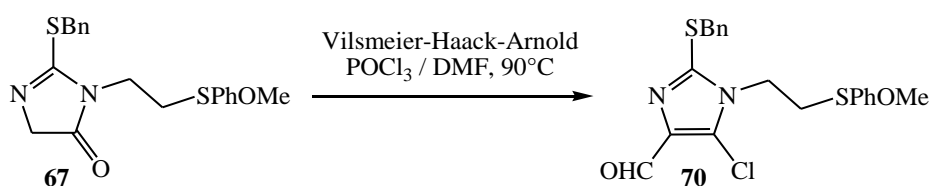


Schéma 91: β -Chloroformylation de l'imidazolone **67** dans les conditions de Vilsmeier-Haack-Arnold

²¹⁵ a) Karlsson, J.O.; Fredj, T. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1921-1923. b) Katritzky, A.R.; Marson, C.M.; Palenik, G.; Koziol, A.E.; Luce, H.; Karelson, M.; Chen, B.-C.; Brey, W. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 3209-3214. c) Giles, P.R.; Marson, C.M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5227-5230. d) Jakobs, A.E.; Christiaens, L. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4842-4844. e) Hesse, S.; Kirsch, G. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1213-1215.

²¹⁶ a) Aki, O; Nakagawa, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, *20*, 1325-1327. b) Park, H.-J.; Lee, K.; Park, S.J.; Anh, B.; Lee, J.-C.; Cho, H.Y.; Lee, K.-I. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *15*, 3307-3312. c) Suarez, M. et al. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 1365-1371. d) Chornous, V.A.; Bratenko, M.K.; Vovk, M.V. *Russ. J. Org. Chem.* **2009**, *45*, 1210-1213.

²¹⁷ a) Baranov, S.N.; Kochkanyan, R.O.; Zharitovskii, A.N.; Belova, G.I.; Radkova, S.S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1975**, *11*, 73. b) Ba, L.A.; Kirsch, G.; Castello, J. *Arkivoc* **2007**, *X*, 374-380.

Nous avons dans un premier temps suivi les conditions décrites dans la littérature et réalisé la réaction avec 10 équivalents de réactif de Vilsmeier par rapport à l'imidazolone (Schéma 92).^{217b}

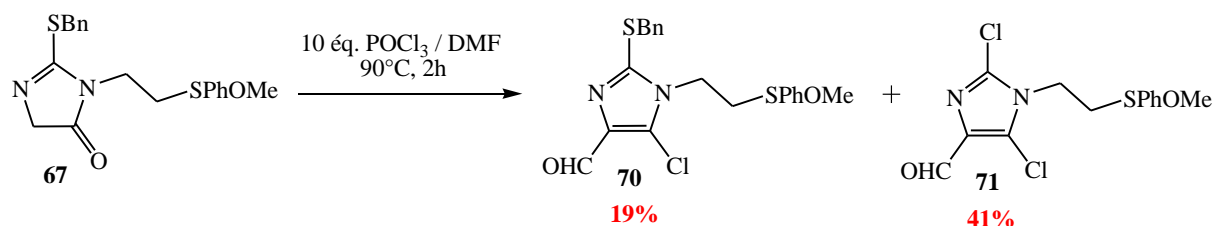


Schéma 92: Conditions initiales de réaction de β -chloroformylation

Dans ces conditions, la transformation de l'imidazolone **67** en imidazole est de 60%. Le produit 2-benzylsulfanyl souhaité **70** est obtenu avec un rendement faible de 19% tandis qu'un composé inattendu, majoritaire est également isolé, le dichloroimidazole **71** avec un rendement de 41%. L'orientation de la sélectivité de la réaction a été réalisée par optimisation des conditions (Tableau 17).

Entrée	Equivalents de Vilsmeier	Solvant	Température	Temps de réaction	Rendement	
					S-Bn	Cl
1	10	DMF	90 °C	5 h	19%	41%
2	10	DCM	reflux	5 h	17%	40%
3	3	DMF	90 °C	5 h	8%	20%
4	1,1	DMF	90 °C	5 h	11%	9%
5	10	DMF	40 °C	5 h	mélange de composés	
6	10	DMF	TA	5 h		
7	10	DMF	90 °C	2 h	39%	9%
8	10	DMF	90 °C	10 h	18%	27%

Tableau 17 : Optimisation des conditions de réaction de Vilsmeier-Haack

La diminution du nombre d'équivalents de réactif de Vilsmeier fait chuter le rendement global à 20% (entrée 4) et ne permet pas d'obtenir de façon sélective le composé souhaité. La modification du solvant de réaction par le dichlorométhane n'apporte aucune nette différence de réactivité (entrée 2). La diminution de la température à 40°C (entrée 5) ou à température ambiante (entrée 6) ne conduit pas à une meilleure réactivité. Dans ces conditions, un mélange de composés inséparables est observé (entrées 5 et 6). La diminution de la durée de réaction à deux heures oriente la réaction vers la formation de l'imidazole monochloré **70** avec un rendement de 39% (entrée 7). Cette réaction produit également le dichloroimidazole **71** avec un rendement de 9%. Au global, le rendement est nettement plus faible. Allonger le temps de réaction à 10h, ne permet pas d'améliorer le rendement ; une dégradation apparaît et diminue celui-ci à 45% au global (entrée 8).

L'optimisation de cette réaction montre une certaine difficulté dans la formation sélective de l'un ou l'autre composé sans affecter le rendement global de la réaction.

Une optimisation supplémentaire a été réalisée sur le réactif de Vilsmeier en variant l'agent de chloration et l'amide source de formylation (Tableau 18).

Réactif de formylation	Equivalents de réactif	Rendement	
		S-Bn	Cl
POCl ₃ / N-MFA	1,1	dégradation	
	3	dégradation	
	10	dégradation	
SOCl ₂ / DMF	1,1	mélange de composés	
	3	mélange de composés	
	10	mélange de composés	
(COCl) ₂ / DMF	1,1	mélange de composés	
	3	19%	28%
	10	30%	46%

Tableau 18: Optimisation du réactif de Vilsmeier

Les résultats obtenus en utilisant le N-méthylformamide (N-MFA) à la place du DMF ou le chlorure de thionyle à la place du POCl₃ ne sont pas concluants. L'utilisation du chlorure d'oxalyle au lieu du POCl₃ permet d'aboutir à un meilleur rendement global de 76%, cependant pour des raisons de facilité de purification, nous avons utilisé préférentiellement le POCl₃. Cette réaction a donc abouti à la formation de deux imidazoles. L'imidazole **70** 2-benzylsulfanyl initialement souhaité doit probablement se former selon le mécanisme détaillé précédemment Schéma 90.

Pour la formation de l'imidazole **71** dichloré en positions 2 et 5, nous avons postulé le mécanisme suivant (Schéma 93). En premier lieu, la formation de cet imidazole provient du composé **70** comme semble l'indiquer l'inversion des proportions lorsque la réaction a une durée moindre.

Nous envisageons l'intervention de l'atome de soufre qui subirait une activation par un troisième équivalent de réactif de Vilsmeier. La formation transitoire d'un ion sulfonium permettrait la substitution nucléophile du thioéther par l'ion chlorure libéré et conduirait à la formation de l'imidazole dichloré en position 2 et 5. Une attaque nucléophile directe d'un ion chlorure est également envisageable dans ce mécanisme.

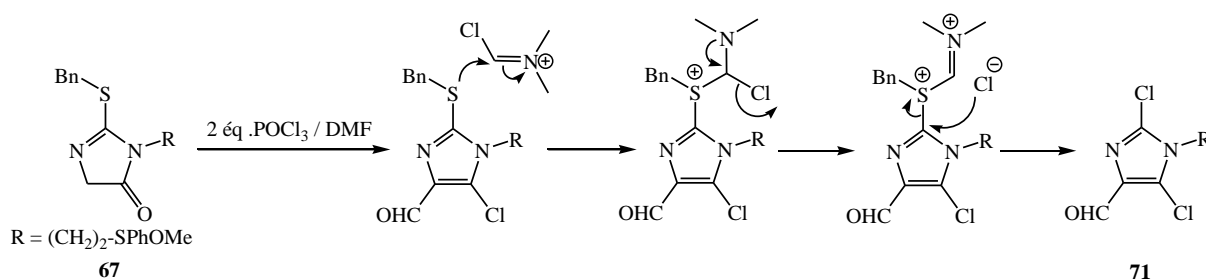


Schéma 93: Mécanisme proposé pour la formation de l'imidazole 71 à partir de la 2-benzylsulfanylimidazolone 67

II-2 A partir de la 3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one 58

La réaction précédente a généré la formation de deux produits avec un rendement global pouvant aller jusqu'à 76% dans le cas de l'emploi du chlorure d'oxalyle comme agent de chloration à la place du POCl₃.

La formation des deux dérivés imidazoliques s'est révélée problématique lors des étapes de purification. Nous souhaitons disposer d'un imidazole en quantité suffisante pour réaliser la suite des études de fonctionnalisation de la molécule, nous avons donc envisagé de réaliser la réaction de chloroformylation sur la 3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one 58. Nous envisageons dans ce cas, la formation directe de l'imidazole 2,5-dichloré 71 (Schéma 94).

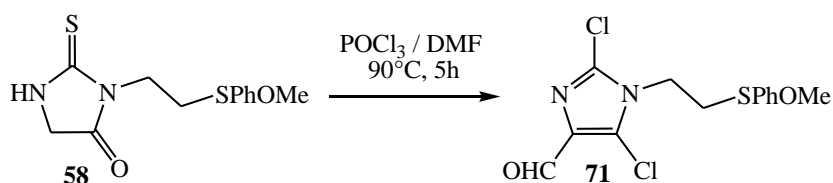


Schéma 94: Formation de l'imidazole 71 à partir de la 3-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-2-thiohydantoïne 58

Cette réaction a été plus efficace que précédemment avec un rendement proche de 70% dans les mêmes conditions. Une optimisation rapide sur le nombre d'équivalents d'agent de chloroformylation nous a permis de diminuer la quantité de réactif de Vilsmeier sans affecter le rendement (Tableau 19).

Equivalents de réactif de Vilsmeier	Rendement
10	69%
3	70%
1,1	56%

Tableau 19: Rendements obtenus en faisant varier le nombre d'équivalents de réactif de Vilsmeier

D'autre part, lors de cette manipulation nous avons pu observer sur CCM la formation du composé N-formylé comme intermédiaire réactionnel et de diméthylthioformamide comme produit de la réaction.

Cet intermédiaire a pu être isolé, identifié et remis en réaction dans les conditions de Vilsmeier utilisées précédemment (Schéma 95).

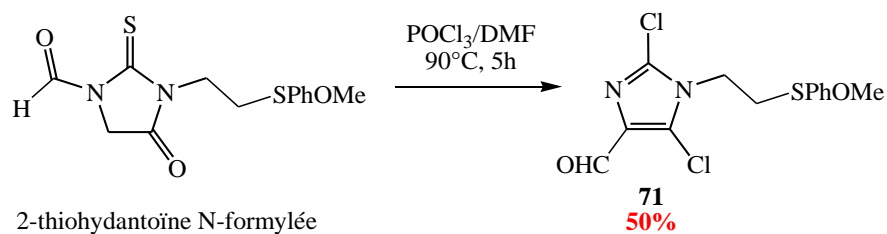


Schéma 95: Formation de l'imidazole 71 à partir de la 2-thiohydantoïne N-formylée

Cette réaction a abouti à la formation du composé 2,5-dichloré **71** souhaité avec un rendement de 50% ce qui confirme l'implication de la 2-thiohydantoïne N-formylée dans le mécanisme réactionnel.

Ces observations nous ont permis de proposer un mécanisme pour la formation de l'imidazole 2,5-dichloré **71** (Schéma 96).

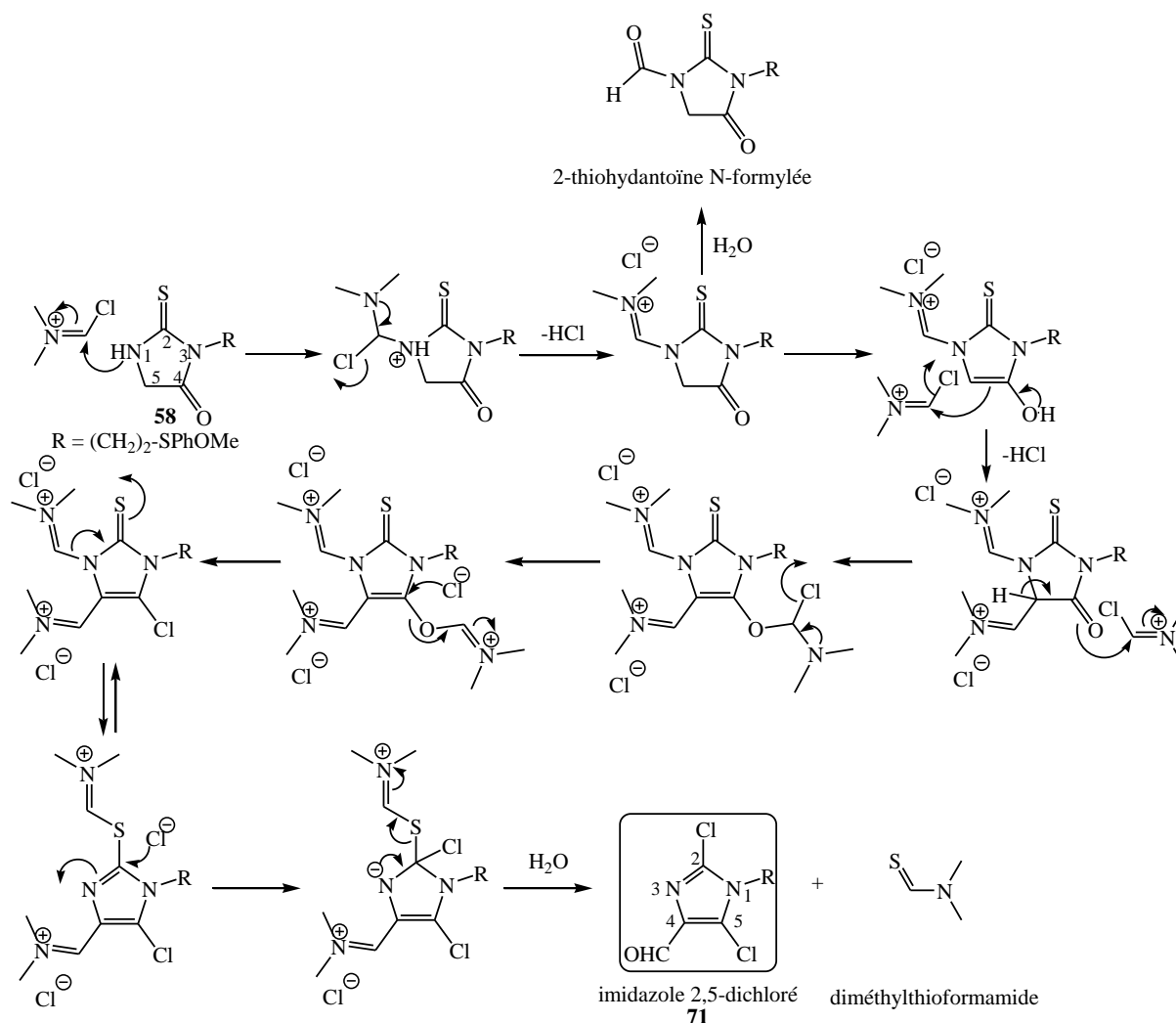


Schéma 96: Mécanisme proposé pour la formation de l'imidazole 2,5-dichloré 71 à partir de la 3-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-2-thiohydantoïne 58

La première attaque sur le réactif de Vilsmeier aurait lieu au niveau de l'azote nucléophile de la fonction thioamide. La présence de ce groupement attracteur d'électrons activerait la réactivité de la position 5 favorisant par suite la formation de la β -chloroacroléine comme nous l'avons vu précédemment sur les positions 4 et 5.

L'accès de façon efficace à ce synthon hautement fonctionnalisé nous a poussé à détailler les possibilités de réactivité de cette molécule notamment par la réactivité du groupe formyle ainsi que par la présence des atomes de chlore en positions 2 et 5.

III- Etude de la réactivité du formyle en position 4

Ces molécules ont été synthétisées dans le but de former des inhibiteurs de NMP kinases par couplage réversibles ou irréversibles *in situ* avec un accepteur de phosphate. Ceci

implique la présence de fonctions réactives entre les deux espèces afin de former divers inhibiteurs potentiels.

La présence d'un formyle en position 4 est une opportunité importante pour avoir accès à des fonctions susceptibles de se lier par réaction chimique à divers analogues d'accepteur de phosphate.

Nous avons testé la réactivité de ce formyle sur les deux imidazoles obtenus précédemment par une série de réactions avec différents groupements fonctionnels.

III-1 Réaction avec des supernucléophiles

La formation de doubles liaisons carbone-azote est relativement aisée à réaliser par réaction d'un aldéhyde ou d'une cétone avec une amine ou un dérivé d'amine. De nombreuses réactions de bioconjugaison sont basées sur ce type de réactivité²¹⁸ comme par exemple la synthèse d'oligonucléotides.²¹⁹

Les hydrazones sont générées par réaction d'un groupe carbonyle et d'une hydrazine alors que les O-alkyloximes sont formées à partir d'un groupe carbonyle et d'une O-alkylhydroxylamine.²²⁰

Les azotures peuvent d'autre part facilement donner lieu à des amines primaires très réactives vis-à-vis des dérivés carbonylés.

Nous avons donc voulu tester la réactivité du formyle comme fonction de conjugaison vis-à-vis des O-alkylhydroxylamines, des hydrazines et d'un azoture dérivé du carbonate de glycérol.

III-1-a) Réaction avec des O-alkylhydroxylamines

La réactivité du dérivé formylé pour la formation d'oximes a été réalisée avec la O-méthylhydroxylamine et la O-benzylhydroxylamine en milieu basique (Schéma 97).

²¹⁸ a) Keith Rose, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 1038–1043. b) Kalia, J. *PhD Thesis* University of Wisconsin-Madison **2008**.

²¹⁹ a) Zatsepin, T.S.; Stetsenko, D.A.; Gait, M.J.; Oretskaya, T.S. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 822-830. b) Zatsepin, T.S.; Stetsenko, D.A.; Gait, M.J.; Oretskaya, T.S. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 471-489. c) Zubin, E.M.; Stetsenko, D.A.; Zatsepin, T.S.; Gait, M.J.; Oretskaya, T.S. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4912-4920.

²²⁰ a) Plate, R.; Jans, C.G.J.M.; Plaum, M.J.M.; De Boer, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1143-1152. b) Waldo, J.P.; Larock, R.C. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5203-5205.

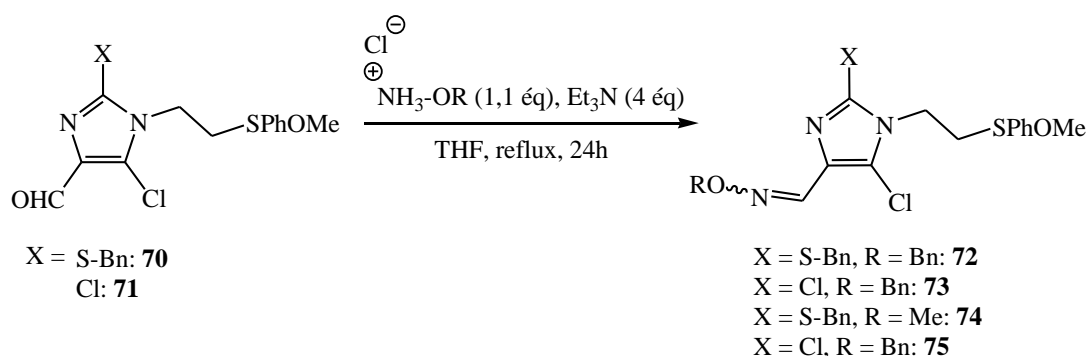


Schéma 97: Formation d'oximes à partir des imidazoles 70 et 71 formylés en position 4

Le Tableau 20 résume les rendements obtenus pour chacun des composés.

X \ R	Bn		Me	
	(E)	(Z)	(E)	(Z)
S-Bn	64% (72)	9%	98 % (74)	0 %
Cl	59% (73)	9%	72 % (75)	0 %

Tableau 20: Rendements des oximes obtenus pour chaque imidazole

Les deux réactions se font avec de bons à excellents rendements. En ce qui concerne la réaction avec la O-benzylhydroxylamine, nous avons pu isoler le composé (E) majoritairement et environ 10% du composé (Z) pour les deux imidazoles. Les deux isomères sont différenciables par la valeur du déplacement chimique du proton méthylénique^{220a} qui est plus déblindé pour l'isomère (E) du fait de l'influence du groupement benzyloxy (Figure 25).

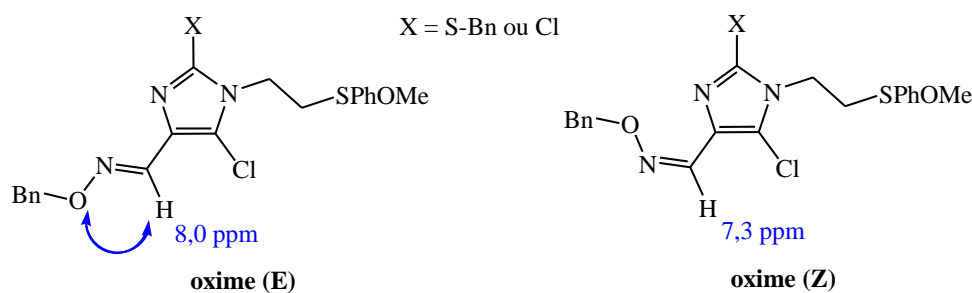


Figure 25: Déplacement chimique du proton méthylénique pour l'oxime (E) et l'oxime (Z)

Pour la réaction avec la méthylhydroxylamine, seul l'isomère (E) a été isolé, le proton de l'aldoxime ayant un déplacement chimique caractéristique d'environ 8,0 ppm.

III-1-b) Réaction avec des hydrazines

La formation d'hydrazones²²¹ et de guanylhydrazones²²² sur des imidazoles a été décrite dans la littérature. Celle-ci implique dans certains cas des réactions de cyclisation intramoléculaire par réaction avec un ester,²²³ un groupement carbonyle²²⁴ ou un nitrile.²²⁵ Dans cette optique nous avons tenté de former des hydrazones à partir d'hydrazines substituées dans les conditions décrites dans la littérature c'est-à-dire dans l'éthanol tout d'abord au reflux puis à température ambiante. Une cyclisation intramoléculaire avait été envisagée éventuellement pour conduire à la formation d'un système hétéroaromatique bicyclique (Schéma 98).

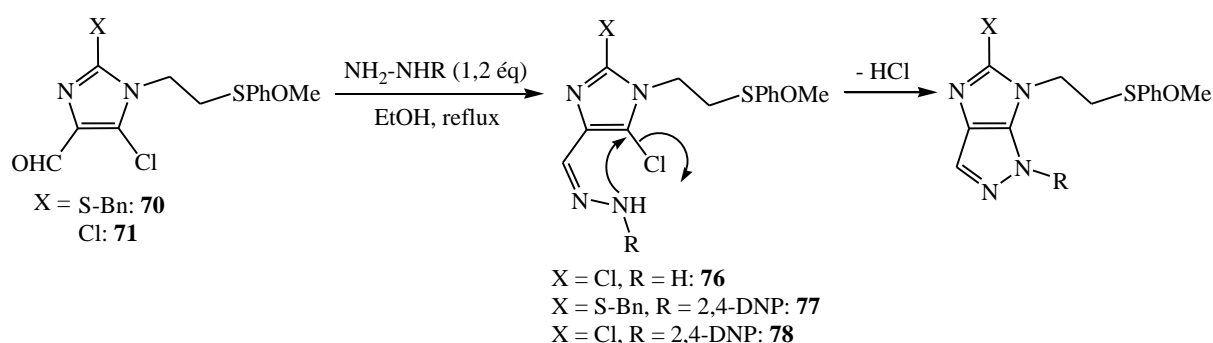


Schéma 98: Formation d'hydrazone à partir des imidazoles 70 et 71 formylés en position 4

Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 21.

X \ R	H (chlorhydrate)	H (hydrate)	Me	Ph	Bn (chlorhydrate)	2,4-DNPH
S-Bn	dégradation	dégradation	dégradation	dégradation	dégradation	99% ^{a)} (77)
Cl	dégradation	36% ^{a)} (76)	dégradation	dégradation	dégradation	24% ^{a)} (78)

a) reflux, hydrazones non cyclisées

Tableau 21: Résultats obtenus pour la formation d'hydrazones à partir d'imidazoles

Les condensations des hydrazines sur les aldéhydes sont globalement peu efficaces. La réactivité est marquée par une forte dégradation et ce, même à température ambiante. Seules les réactions avec l'hydrate d'hydrazine et la 2,4-dinitrophénylhydrazine (2,4-DNPH) ont permis d'obtenir des hydrazones cependant non cyclisées. De façon remarquable, le

²²¹ Kendall, J.D.; Rewcastle, G.W.; Frederick, R.; Mawson, C.; Denny, W.A.; Marshall, E.S.; Baguley, B.C.; Chaussade, C.; Jackson, S.P.; Shepherd, P.R. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 7677-7687.

²²² Andreani, A.; Leoni, A.; Locatelli, A.; Morigi, R.; Rambaldi, M.; Recanatini, M.; Garaliene, V. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 2359-2366.

²²³ Deady, L.W.; Devine, S.M. *J. Heterocyclic Chem.* **2004**, *41*, 549-555.

²²⁴ Chezal, J.M.; Moreau, E.; Chavignon, O.; Lartigues, C.; Blache, Y.; Teulade, J.C. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5869-5878.

²²⁵ Eckhardt, M.; Huel, N.; Langkopf, E.; Himmelsbach, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1931-1934.

rendement de 99% avec la 2,4-DNPH semble résulter de conditions particulières où la précipitation du produit de condensation, insoluble dans le milieu réactionnel, déplace l'équilibre de la réaction et facilite la purification par simple filtration.

III-1-c) Formation d'imine et amine via la condensation de Staudinger-aza-Wittig

La formation d'une imine est un moyen de conjugaison dynamique envisageable. Un premier essai a été réalisé avec l'azoture du carbonate de glycérol sur l'imidazole 2,5-dichloré **71**. Nous avons d'abord tenté d'isoler l'imine formée après la réaction de Staudinger (Schéma 99).

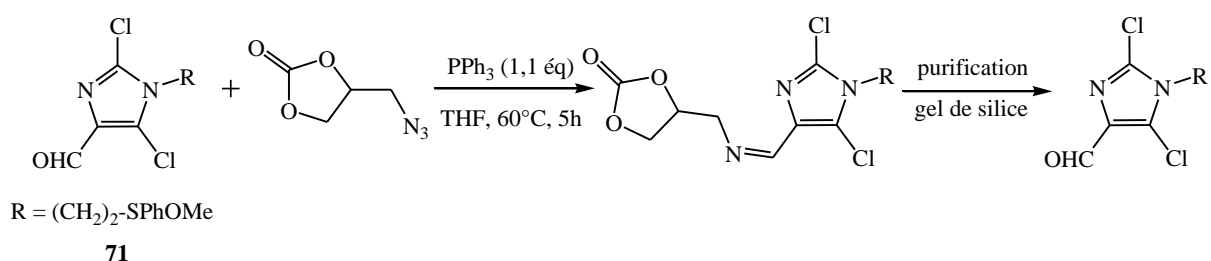


Schéma 99: Tentative de formation de l'imine à partir de l'imidazole **71** par réaction de Staudinger

La RMN du proton du brut réactionnel montre une disparition du proton aldéhydique au profit du proton de l'imine ; celle-ci est alors purifiée par chromatographie sur gel de silice. Cependant, le produit isolé correspond au produit de départ laissant supposer une hydrolyse sur la silice.

Une seconde possibilité consiste à faire réagir le formyle avec l'azoture pour former une amine secondaire *via* une réaction d'amination réductrice.

Le cyanoborohydrure de sodium est un réducteur sélectif des imines par rapport aux carbonyles.²²⁶ L'imine peut être formée à partir de l'azoture par réaction de Staudinger puis réduite au cyanoborohydrure de sodium.

Une deuxième tentative a donc été réalisée « one pot » cette fois. En effet, après la réaction de Staudinger, l'imine peut être directement réduite en amine secondaire en présence de cyanoborohydrure de sodium (Schéma 100).

²²⁶ a) Lane, C.F. *Synthesis* **1975**, 135-146. b) Salter, M.M.; Kobayashi, J.; Shimizu, Y.; Kobayashi, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3533-3536. c) Dangerfield, E.M.; Plunkett, C.H.; Win-Mason, A.L.; Stocker, B.L.; Timmer, M.S.M. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5470-5477.

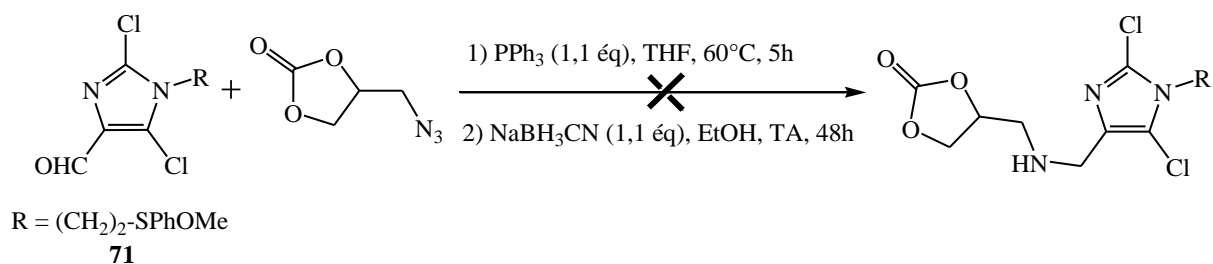


Schéma 100: Tentative de formation de l'amine par réaction « one pot » de Staudinger et amination réductrice

De nouveau, nous avons pu observer la formation de l'imine intermédiaire par RMN du proton. L'addition d'une solution de NaBH₃CN dans l'éthanol directement dans le milieu réactionnel induit une transformation de l'imine. Cependant la fraction majoritaire isolée après chromatographie sur gel de silice semble contenir plusieurs produits qui n'ont pu être identifiés ainsi que de l'oxyde de triphénylphosphine.

III-2 Réduction en alcool

La réduction de l'aldéhyde en position 4 d'un imidazole a déjà été décrite dans la littérature avec du dihydrogène en présence de palladium sur charbon.²²¹

Nous avons préféré réaliser cette réaction avec du borohydrure de sodium (NaBH₄) dans le méthanol à température ambiante (Schéma 101).

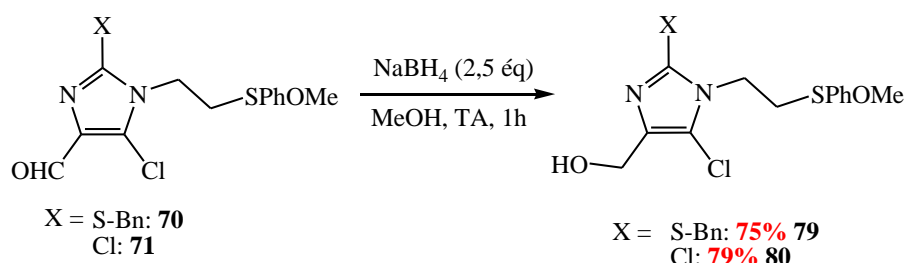


Schéma 101: Réduction du formyle des imidazoles 70 et 71 au borohydrure de sodium

Les alcools **79** et **80** sont obtenus avec de bons rendements de l'ordre de 80% pour les deux imidazoles.

III-3 Réaction de Wittig

La réaction de Wittig²²⁷ permet de former des composés éthyléniques par addition d'un ylure de phosphonium sur un dérivé carbonyle.

²²⁷ Wittig, G.; Schöllkopf, U. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1954**, 87, 1318-1330.

Dans notre cas, nous avons utilisé un ylure de phosphonium stabilisé par un ester comme décrit dans la littérature (Schéma 102),²²⁴ ainsi l'ester α,β insaturé obtenu peut être un précurseur central pour une grande variété de réactions.

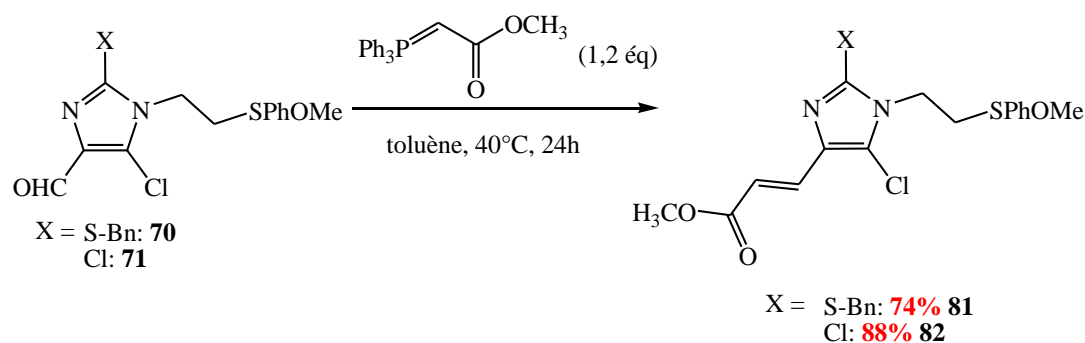


Schéma 102: Formation des alcènes conjugués **81** et **82** par réaction de Wittig

Dans les deux cas, les alcènes **81** et **82** sont obtenus avec de bons rendements et avec une configuration (E), la valeur des constantes de couplage des protons éthyléniques étant de 15,6 Hz.

III-4 Réaction de Corey-Fuchs

La réaction de Corey-Fuchs²²⁸ permet la formation d'un alcyne terminal à partir d'un aldéhyde (Schéma 103).²²⁹ Cette réaction a récemment été réalisée en présence de zinc pour la synthèse de produits naturels.²³⁰

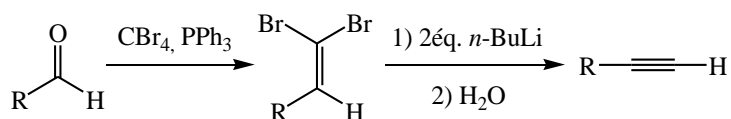


Schéma 103: Réaction de Corey-Fuchs

Cette réaction se réalise en deux étapes consécutives. La première étape est comparable à une réaction de Wittig et mène à un alcène dibromé. La seconde étape est le traitement du dérivé dihalogéné par deux équivalents d'une base lithiée conduisant à une première élimination pour former un alcyne intermédiaire monobromé. Enfin l'alcyne est obtenu suite à un échange halogène métal avec le second équivalent de base suivi d'une hydrolyse (Schéma 104).

²²⁸ Corey, E.J.; Fuchs, P.L. *Tetrahedron Lett.* **1972**, 36, 3769-3772.

²²⁹ Mori, M.; Tonogaki, K.; Kinoshita, A. *Org. Synth.* **2005**, 81, 1-13.

²³⁰ a) Zeng, X.; Zeng, F.; Negishi, E-I. *Org. Lett.* **2004**, 6, 3245-3248. b) Falomir, E; Murga, J.; Carda, M.; Marco, J.A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 539-541.

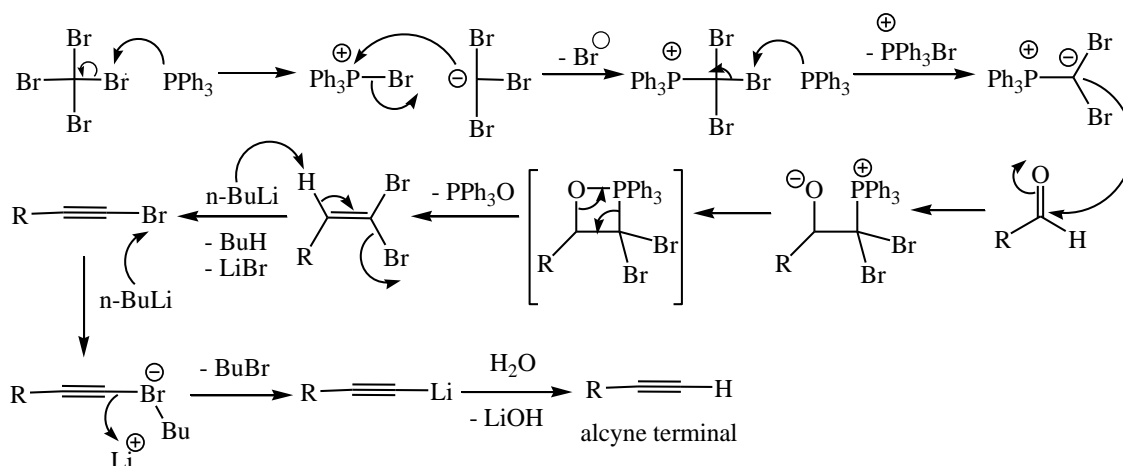
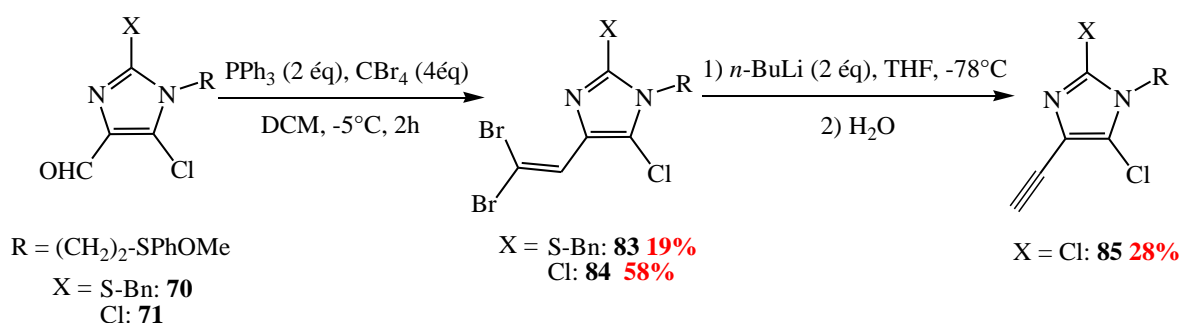


Schéma 104: Mécanisme de la réaction de Corey-Fuchs

Nous avons réalisé la réaction de Corey-Fuchs sur chacun des imidazoles formés précédemment (Schéma 105). Des réactions de cycloaddition avec des azotures constituent une perspective réactionnelle de cet alcyne en position 4.


 Schéma 105: Réaction de Corey-Fuchs sur les imidazoles **70** et **71** formylés en position 4

Les deux précurseurs **70** et **71** ont des réactivités différentes. L'intermédiaire dibromé **84** est obtenu avec un rendement d'environ 60%, ce qui nous a permis de poursuivre la réaction de Corey-Fuchs et de former l'alcyne **85** avec un rendement relativement faible de 28%, et donc un rendement global de 16% à partir de l'aldéhyde **71**. Concernant l'imidazole thiobenzylé **70**, le faible rendement de l'intermédiaire dibromé **83** ne nous a pas permis de poursuivre l'étude jusqu'à l'alcyne. L'accès à cet alcyne directement relié à l'imidazole n'a pas été exploré plus avant.

IV- Couplages pallado-catalysés

Après avoir brièvement exploré la réactivité du groupe formyle en position 4, nous avons abordé les réactions de couplage pallado-catalysé de Suzuki sur les positions 2 et 5.

IV-1 Couplage de Suzuki en position 5

Les couplages de type Suzuki-Miyaura ont été réalisés sur des β -chloroacroléines par Kirsch^{138, 215d}. Les chloroaromatiques sont généralement de moins bons partenaires de couplage que les dérivés iodo-, bromo- et sulfonates car l'énergie nécessaire à l'étape d'addition oxydante est plus importante. Cependant dans le cas des β -chloroacroléines, le chlore est activé en position β par la présence de l'aldéhyde, groupement électroattracteur favorisant la réaction d'addition oxydante.¹³⁸

IV-1-a) Optimisation des conditions de couplage

En premier lieu, nous avons abordé les tests de couplage avec l'acide 4-méthoxyphénylboronique sur le chlore en utilisant les conditions décrites par Kirsch et coll. dans l'eau (Schéma 106).¹³⁸ En ce qui concerne l'imidazole 2,5-dichloré, le chlore en position 5 (en β du formyle) est a priori plus réactif que le chlore en position 2.

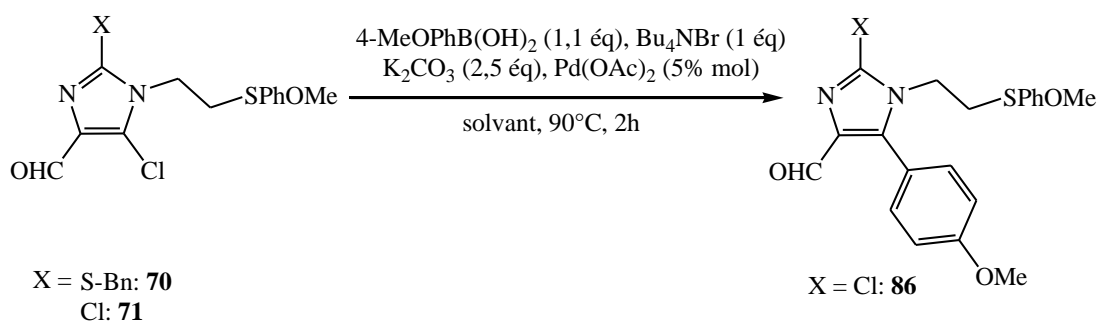


Schéma 106: Couplage de Suzuki sur le chlore en position 5 des imidazoles **70** et **71**

Nous avons testé cette réaction dans différents solvants, les résultats obtenus sont indiqués dans le Tableau 22.

	H₂O	THF	toluène
X = Cl	33% ^{a)}	13% ^{b)}	produit de départ
X = S-Bn	produit de départ	produit de départ	produit de départ

a) 18 % de produit secondaire **87**

b) 4% de produit secondaire **87**

Tableau 22: Résultats obtenus pour le couplage de Suzuki dans différents solvants

Pour l'imidazole **70** thiobenzylé en position 2, nous n'avons pu obtenir le produit couplé. Pour ce composé, l'addition oxydante peut également avoir lieu sur le thiobenzyle comme dans le cas du couplage de Liebeskind-Srogl empêchant la réaction en position 4.

Pour l'imidazole 2,5-dichloré **71**, la réaction de couplage a eu lieu et le produit obtenu **86**, avec un rendement faible de 33% a été cristallisé. Ceci nous a permis de confirmer le site de couplage par analyse radiocristallographique (Figure 26).

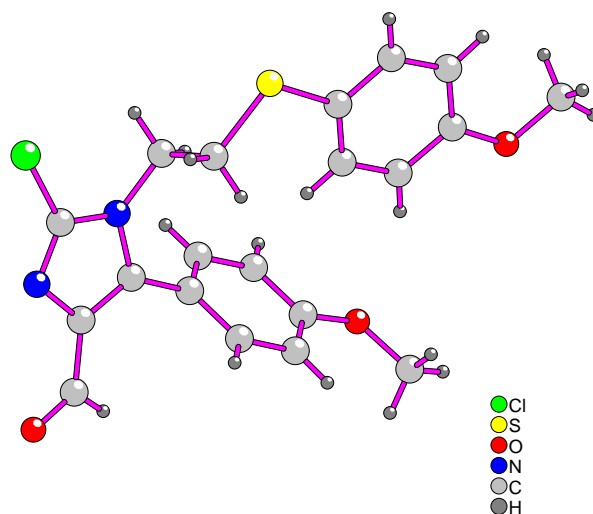


Figure 26: Radiocristallographie de l'imidazole **86** issu du couplage de Suzuki en position 5 avec l'acide *p*-méthoxyphénylboronique

Lors de cette réaction, nous avons observé la formation d'un second composé **87** que nous avons totalement caractérisé par RMN du proton et du carbone ainsi que par spectrométrie de masse basse et haute résolution. Sa structure (notamment par RMN) est très proche du produit de couplage attendu **86**, mais diffère de celui-ci de seulement 16 unités atomiques lors des analyses par spectrométrie de masse. Kirsch et coll. a montré la possibilité d'une insertion d'un atome d'oxygène lors de la formation de la liaison carbone-carbone durant le couplage de Suzuki.²³¹ Nous en avons conclu que notre composé résulterait de cette insertion supplémentaire et serait donc substitué par un groupement *p*-méthoxyphénoxy- en position 5 (Figure 27).

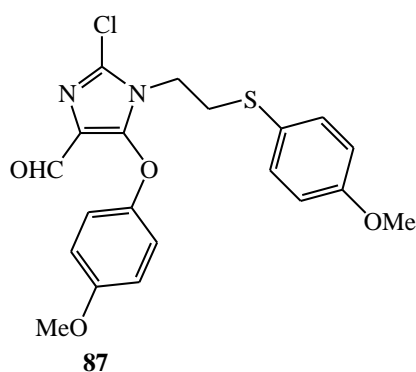


Figure 27: Produit secondaire formé lors du couplage du Suzuki sur l'imidazole 2,5-dichloré **71**

²³¹ Perspicace, E.; Hesse, S.; Kirsch, G.; Yemloul, M.; Lecomte, C. *J. Heterocyclic Chem.* **2009**, *46*, 459-464.

Cette réaction peut être notamment due à la présence de dioxygène dans le solvant. A ce moment là, l'acide *p*-méthoxyphénylboronique est oxydé en *p*-méthoxyphénol²³² qui viendrait substituer le chlore en milieu basique.

L'absence de réactivité du 2-benzylsulfanylimidazole **70** a orienté nos travaux de fonctionnalisation et nous avons poursuivi l'optimisation des conditions de couplage sur le composé 2,5-dichloré **71** en utilisant l'eau comme solvant de réaction (Schéma 107).

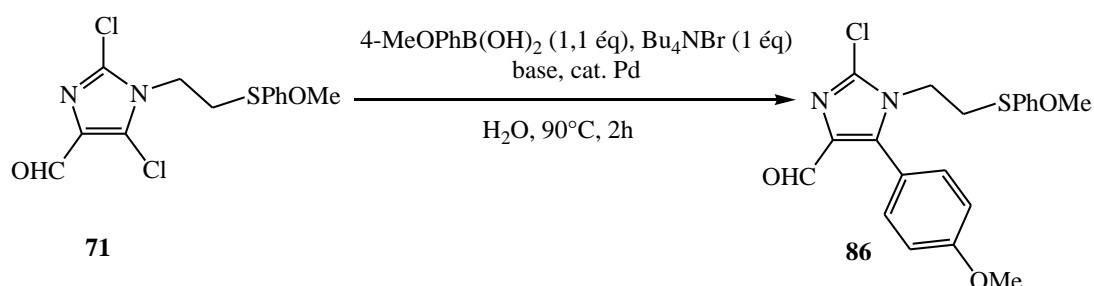


Schéma 107: Optimisation des conditions de couplage de Suzuki sur l'imidazole 2,5-dichloré **71**

Nous avons fait varier la base et le système catalytique palladium / ligands et obtenu les rendements détaillés dans le Tableau 23.

Entrée	Base	Catalyseur	Rendement
1	Na ₂ CO ₃	Pd(OAc) ₂ 5% mol	58%
2	CsCO ₃	Pd(OAc) ₂ 5% mol	31% ^{a)}
3	KOH	Pd(OAc) ₂ 5% mol	22% ^{b)}
4	Na ₂ CO ₃	Pd(OAc) ₂ 10% mol	66%
5	Na ₂ CO ₃	PdCl ₂ 10% mol	65%
6	Na ₂ CO ₃	Pd ₂ dba ₃ 10% mol	63%
7	Na ₂ CO ₃	Pd(PPh ₃) ₄ 10% mol	46% ^{c)}
8	Na₂CO₃	Pd(OAc)₂ 10% mol PPh₃ 20% mol	69%
9	Na ₂ CO ₃	PdCl ₂ 10% mol PPh ₃ 20% mol	63%
10	Na ₂ CO ₃	Pd(OAc) ₂ 10% mol dppp 20% mol	63% ^{d)}
11	Na ₂ CO ₃	PdCl ₂ 10% mol dppp 20% mol	59% ^{e)}

²³² Yoo, K.S.; Yoon, C.H.; Jung, K.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16384-16393.

Entrée	Base	Catalyseur	Rendement
12	Na ₂ CO ₃	Pd(OAc) ₂ 10% mol PPh ₃ 20% mol	61% ^{f)}

- a) 3% de produit secondaire **87**
- b) 11% de produit secondaire **87**
- c) 8% de produit secondaire **87**
- d) 5% de produit secondaire **87**
- e) 4% de produit secondaire **87**
- f) sans Bu₄NBr

Tableau 23: Rendements obtenus pour les différentes conditions de couplage de Suzuki testées

Concernant la base utilisée (entrées 1-3), c'est avec le carbonate de sodium que nous avons obtenu le meilleur rendement, de plus avec le carbonate de césium ou avec l'hydroxyde de potassium, nous avons observé la formation du produit secondaire **87** avec des rendements respectifs de 3% et 11% (Figure 27).

L'augmentation du pourcentage de palladium de 5% à 10% molaire (entrée 4) a permis d'augmenter sensiblement le rendement de 58% à 66% de produit couplé.

Les rendements sont sensiblement du même ordre quelque soit la nature du palladium utilisé (Pd(OAc)₂, PdCl₂, Pd₂dba₃) (entrées 4-6) à l'exception du Pd(PPh₃)₄ (entrée 7). Dans ce cas, le rendement est de 46% et nous avons détecté la formation de 8% de produit secondaire **87**. D'autre part, l'ajout d'un ligand monophosphine tel que le PPh₃ (entrées 8-9) ou diphosphine comme le 1,3-bis(diphénylphosphino)propane (dppp) (entrées 10-11) n'influence guère le rendement de produit de couplage. Cependant l'ajout de dppp au Pd(OAc)₂ ou au PdCl₂, génère la formation d'environ 5% de produit secondaire **87** dans les deux cas (entrées 10-11).

Enfin, la réaction réalisée sans bromure de tétrabutyl ammonium (TBAB) implique une légère diminution de rendement de 69% à 61% (entrée 12).²³³

Les conditions réactionnelles optimisées, c'est-à-dire l'utilisation du carbonate de sodium comme base en présence de Bu₄NBr et de 10% molaire d'acétate de palladium associé à 20% molaire de triphénylphosphine comme ligand, ont permis d'obtenir le produit couplé **86** avec un rendement de 69%. Dans ces conditions, nous n'observons pas la formation du produit secondaire **87**.

²³³ Badone, D.; Baroni, M.; Cardamone, R.; Ielmini, A.; Guzzi, U. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7170-7173.

IV-1-b) Couplage avec divers acides boroniques

Après optimisation des conditions réactionnelles, nous avons testé l'efficacité du couplage de Suzuki en position 5 de l'imidazole 2,5-dichloré **71** avec divers acides boroniques (Schéma 108).

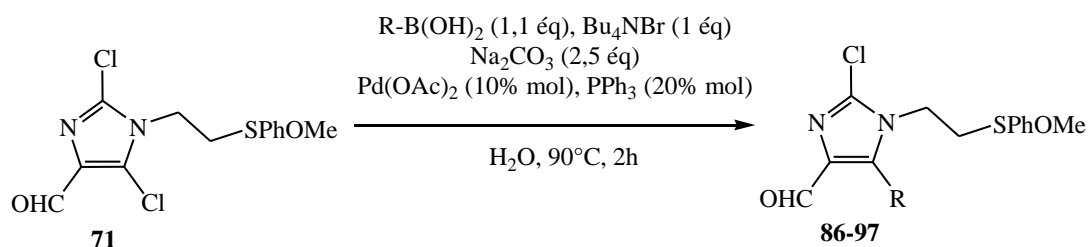


Schéma 108: Couplage de Suzuki sur l'imidazole 2,5-dichloré **71 avec divers acides boroniques**

Nous avons fait varier la nature de l'acide boronique (aromatique, hétéroaromatique, allylique) ainsi que la nature et la position du substituant du cycle aromatique. Nous avons également testé le couplage en présence du phényltrifluoroborate de potassium (PhBF₃K) à la place de l'acide phénylboronique. Les rendements obtenus dans chaque cas sont présentés dans le Tableau 24.

Entrée	R	Rendements
1	4-MeO-Ph (86)	69%
2	3-MeO-Ph (88)	55%
3	2-MeO-Ph (89)	73%
4	4-NO ₂ -Ph (90)	69%
5	4-Br-Ph (91)	31% ^{a)}
6	4-F-Ph (93)	63%
7	2-thiophène (94)	40%
8	2-furan (95)	33%
9	3-pyridine	46% ^{b)}
10	Ph-CH=CH (96)	55%
11	Ph (97)	70%
12	Ph ^{c)}	70%

a) formation du sous-produit **92** à 21%

b) présence d'impuretés

c) couplage réalisé avec le phényltrifluoroborate de potassium

Tableau 24: Rendements obtenus pour les couplages avec divers acides boroniques sur l'imidazole **71**

Les rendements varient entre 60% et 70% pour les acides boroniques aromatiques (entrées 1-6 et 11). Quelle que soit la nature du substituant électrodonneur (entrées 1 et 3) ou électroattracteur (entrées 2, 4-6) ainsi que sa position sur le cycle (entrées 1-3), les

rendements sont très proches. Les éventuelles différences de réactivité ne sont pas sensibles. Une exception est toutefois faite avec le réactif boronique bromé (entrée 5). Dans ce cas le rendement obtenu de 31% est relativement faible (entrée 5). Celui-ci s'explique par un couplage supplémentaire sur le produit **91** avec la formation à 21% d'un produit secondaire **92** (Figure 28).

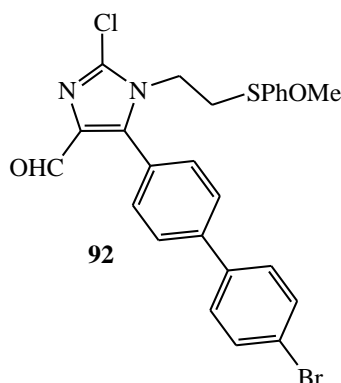


Figure 28: Produit secondaire **92** issu d'un second couplage sur le *p*-bromophényle

Les rendements obtenus avec les acides boroniques hétéroaromatiques sont plus faibles (entrées 7-9). Pour la 3-pyridine, le produit isolé à 46% présente des impuretés qui n'ont pu être éliminées par chromatographie sur gel de silice.

Le couplage avec l'acide boronique vinylique fonctionne avec un rendement de 55% (entrée 10) ce qui est comparable aux rendements obtenus avec les acides boroniques aromatiques.

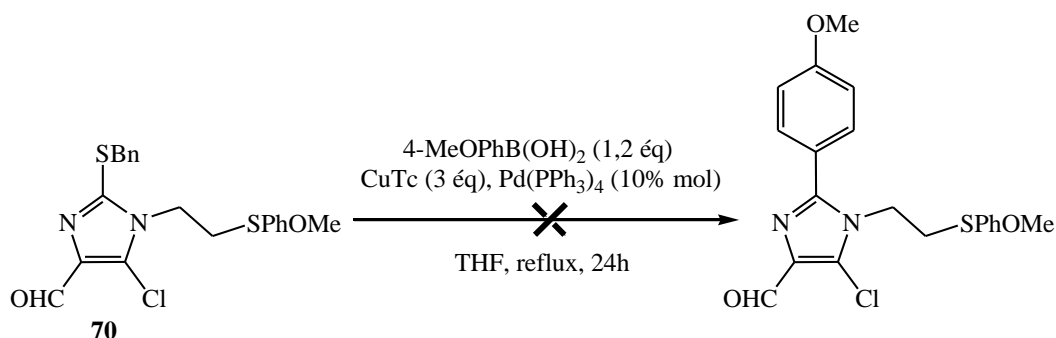
Enfin des organotrifluoroborates sont potentiellement utilisables pour cette réaction à la place des dérivés boroniques.²³⁴ En effet, pour l'acide phénylboronique (entrée 11) comme pour le phényltrifluoroborate de potassium (entrée 12), le rendement obtenu est de 70%.

IV-2 Couplages en position 2

La réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold, nous a permis d'obtenir deux imidazoles, l'un chloré et l'autre thiobenzylé sur la position 2. Après la série de couplages réalisés sur le chlore en position 5, nous avons tenté de fonctionnaliser la position 2.

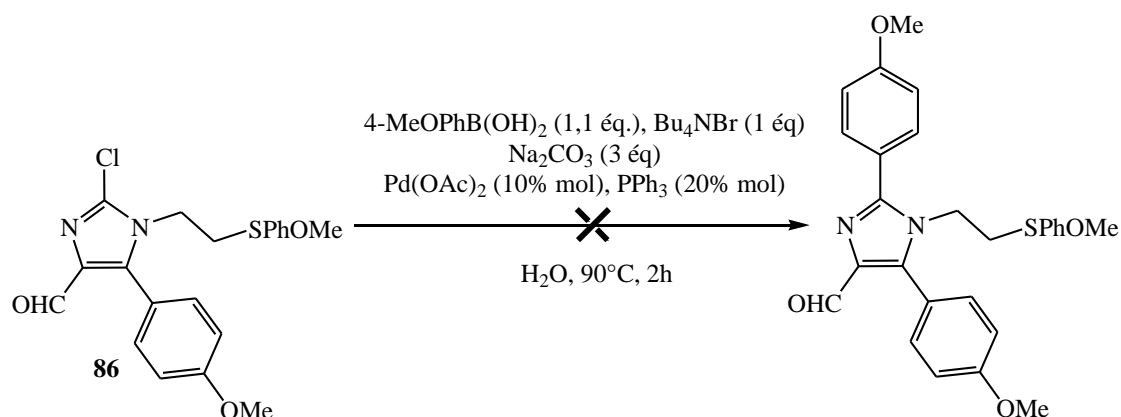
Nous avons dans un premier temps essayé de coupler l'imidazole thiobenzylé **70** à un acide *p*-méthoxyphénylboronique dans les conditions de Liebeskind-Srogl optimisées au chapitre 1 (Schéma 109). Cette réaction avait fonctionné avec des dérivés possédant un carbone de type sp^2 en position 4. La formation d'imidazoles couplés permettrait donc de vérifier cette hypothèse.

²³⁴ Darses, S.; Genet, J-P. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 288-325.

Schéma 109: Essai de couplage de Liebeskind-Srogl sur l'imidazole **70** thiobenzylé en position 2

Ici, 82% du produit de départ **70** a été récupéré après chromatographie sur gel de silice. La présence d'une double liaison exocyclique en position 4 paraît donc indispensable au fonctionnement de cette réaction.

Dans un second temps, des essais de couplages de Suzuki et de Buchwald sur le chlore en position 2 de l'imidazole 2,5-dichloré **71** ont été réalisés. Nous avons voulu introduire un substituant *p*-méthoxyphényle par couplage de Suzuki dans les conditions précédemment optimisées (Schéma 110).

Schéma 110: Tentative de couplage de Suzuki sur le chlore en position 2 de l'imidazole **86**

Ici encore le composé de départ **86** a été isolé avec un rendement de 70%.

Une seconde tentative de fonctionnalisation sur le chlore en position 2 a été réalisée par amination de type Buchwald-Hartwig.²³⁵

Ce couplage pallado-catalysé entre un aryle halogéné et une amine permet de former une liaison carbone-azote en présence d'une base et d'un ligand phosphine (Schéma 111). Son mécanisme implique une réaction d'addition oxydante puis une association entre le complexe de palladium et l'amine et enfin une élimination réductrice.

²³⁵ a) Paul, F.; Patt, J.; Hartwig, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 5969-5970. b) Guram, A.S.; Buchwald, S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7901-7902.

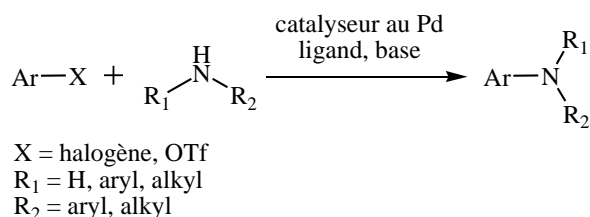


Schéma 111: Couplage de Buchwald-Hartwig

Ce type de couplage a été développé depuis les 15 dernières années sur des aryles chlorés de manière inter²³⁶ et intramoléculaire²³⁷ en présence de catalyseurs²³⁸ et de ligands variés.²³⁹ Pour cette réaction, nous avons réalisé quelques essais dans des conditions inspirées de la littérature (Schéma 112).²⁴⁰

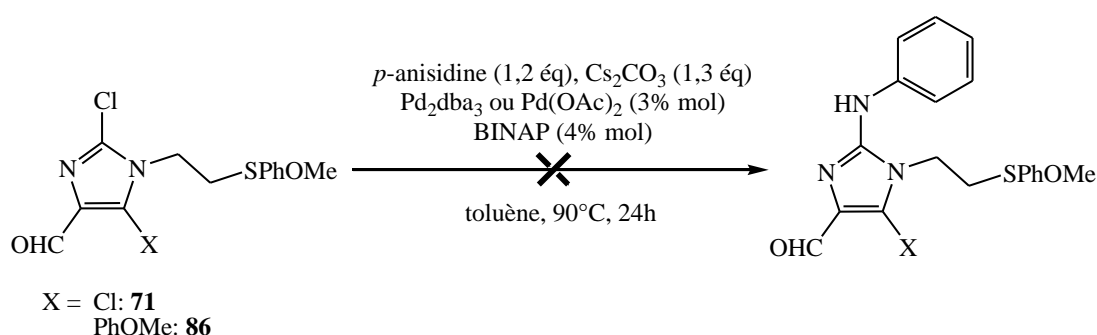


Schéma 112: Tentatives de couplage de Buchwald-Hartwig sur les imidazoles 71 et 86 chlorés en position 2

Dans les deux cas, le produit de départ et le composé issu de la condensation de l'amine sur le formyle en position 4 ont été isolés avec des rendements respectifs aux alentours de 25% et 20%.

Les résultats obtenus suite aux tentatives de couplages de type Suzuki, Liebeskind-Srogl ou Buchwald-Hartwig ont montré la faible réactivité de la position 2 de nos imidazoles **70** et **71** vis-à-vis des réactions pallado-catalysés, d'autres solutions devront donc être envisagées pour fonctionnaliser cette position.

²³⁶ a) Yang, B.H.; Buchwald, S.L. *Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 125-146. b) Zim, D.; Buchwald, S.L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2413-2415. c) Xie, X.; Zhang, T.Y.; Zhang, Z. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6522-6529.

²³⁷ Lebedev, A.Y.; Khartulyari, A.S.; Voskoboynikov, A.Z. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 596-602.

²³⁸ Marion, N.; Escarnot, E.C.; Navarro, O.; Amoroso, D.; Bell, A.; Nolan, S.P. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3816-3821.

²³⁹ Reddy, C.V.; Kingston, J.V.; Verkade, J.G. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3047-3062.

²⁴⁰ a) Nodwell, M.; Pereira, A.; Riffell, J.L.; Zimmermann, C.; Patrick, B.O.; Roberge, M.; Andersen, R.J. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 995-1006. b) Hesse, S.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6534-6539.

Conclusion

Dans ce chapitre nous sommes parvenus à former des cycles imidazoliques en utilisant la réaction de β -chloroformylation de Vilsmeier-Haack-Arnold à partir des 2-thiohydantoïnes que nous avons synthétisées dans le chapitre 2. Cette réaction nous a donné accès à un synthon clé permettant une large gamme de modulations structurales.

Nos molécules sont synthétisées dans le but d'obtenir des inhibiteurs de nucléosides monophosphate kinases par ligature au sein de l'enzyme avec un accepteur de phosphate. Dans cet objectif, le formyle a pu être d'une part directement impliqué dans des réactions d'associations de type carbonyle-amine. D'autre part, il a permis l'accès à des alcènes ou des alcynes pouvant engendrer des réactions de ligature de type addition de Michael ou click chemistry (Schéma 113).

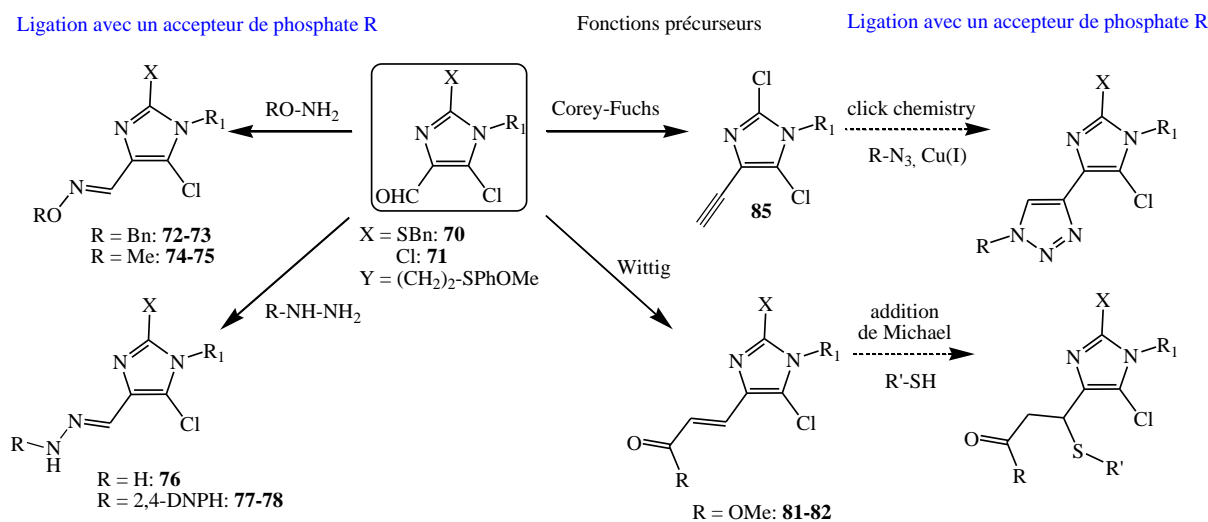


Schéma 113: Réactivité du formyle en position 4 des imidazoles 70 et 71

Nous avons par la suite optimisé le couplage de Suzuki sur le chlore en position 5 afin d'y introduire des substituants aromatiques, hétéroaromatiques et éthyléniques.

Une double fonctionnalisation est alors possible pour cet hétérocycle, en position 4 et 5. Les tentatives pour accéder à une fonctionnalisation en position 2 se sont révélées infructueuses en utilisant les réactions de couplage pallado-catalysées de Suzuki, de Liebeskind-Srogl ou de Buchwald. La réactivité de ce sommet semble difficile et devra utiliser une méthode différente que des couplages pallado-catalysés.

Certaines des 2-thiohydantoïnes synthétisées au chapitre 2 et les imidazoles obtenus au chapitre 3 ont fait l'objet de tests biologiques sur les nucléosides monophosphate kinases. Les résultats obtenus seront détaillés et analysés dans le chapitre 4 suivant.

CHAPITRE 4:

Propriétés biologiques des dérivés synthétisés

I- Introduction et rappel des objectifs des évaluations biologiques

I-1 Les protéines kinases

I-1-a) Généralités sur les kinases

- **La communication cellulaire**

Nos cellules contiennent des systèmes perfectionnés de communications qui captent les messages externes et assurent la transmission fiable de l'information jusqu'aux molécules qui effectuent les réactions ainsi commandées. La transmission d'un signal dans la cellule commence lorsqu'une molécule de signalisation, telle une hormone, se lie à des récepteurs situés à la surface extérieure de la cellule: cette fonction déclenche une cascade d'événements biochimiques (phosphorylation, déphosphorylation, complexation...) qui conduisent le signal à l'intérieur de la cellule. Finalement, le signal atteint sa cible, par exemple un gène de différenciation, de prolifération ou d'apoptose.

- **Définition et rôle des kinases**

La plupart des mécanismes de régulation intracellulaires impliquent des processus de phosphorylation/déphosphorylation par les kinases et les phosphatases.²⁴¹ Parmi les 30 000 gènes du génome humain, plus de 2000 codent pour des enzymes utilisant l'ATP, dont plus de 518 protéines kinases, et un grand nombre de protéines liant l'ATP.

Les kinases sont des enzymes du groupe des transférases catalysant le transfert du groupement phosphate terminal de l'ATP vers un substrat qui peut être une petite molécule, un lipide ou une protéine en présence d'un cation métallique divalent (Mg^{2+}) (Schéma 114).

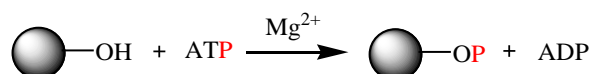


Schéma 114: Transfert d'un groupement phosphate de l'ATP vers un substrat

Les protéines kinases, ont pour but d'activer ou désactiver d'autres protéines devant être régulées lorsqu'elles en reçoivent « le signal ». La modification réalisée par la protéine kinase sur la protéine à réguler consiste généralement au transfert d'un groupe phosphate de l'ATP à un résidu monophosphate (Schéma 115).

²⁴¹ Hunter T. *Cell* **1995**, 80, 225-236.

Cette activation permet la transduction intracellulaire du signal et son relais *via* une cascade de réactions jusqu'au noyau par divers effecteurs.

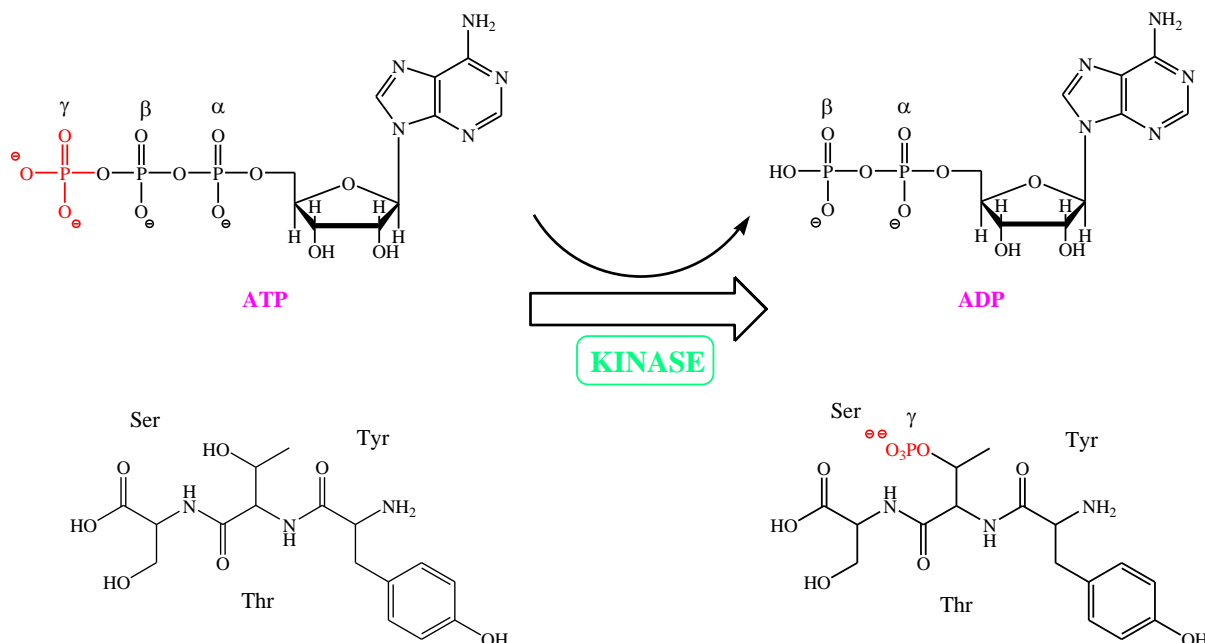
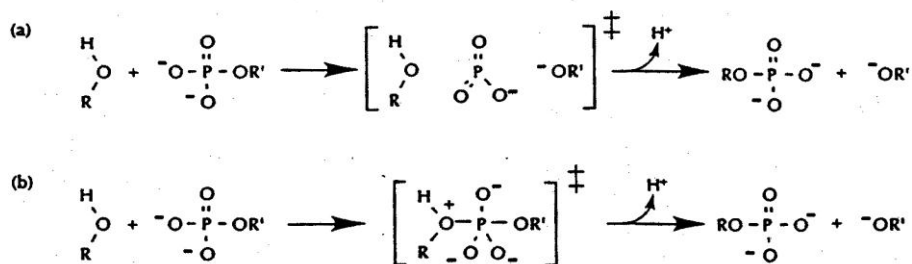


Schéma 115: Réaction de transfert d'un groupement phosphate catalysée par des protéines Ser/Thr ou Tyr kinases

Les nucléotides accepteur et donneur sont liés au sein de l'enzyme de façon à positionner les groupements phosphates l'un en face de l'autre. Leur mécanisme catalytique est non ordonné avec fixation indépendante, chaque substrat se fixant avant la libération de l'autre. L'étape chimique se fait par un transfert en ligne impliquant un intermédiaire plan trigonal bipyramidal (Schéma 116).¹¹

Phosphoryl transfer from ATP to a nucleophile.



Dissociative and associative extremes from the continuum of possible transition states for phosphoryl transfer.

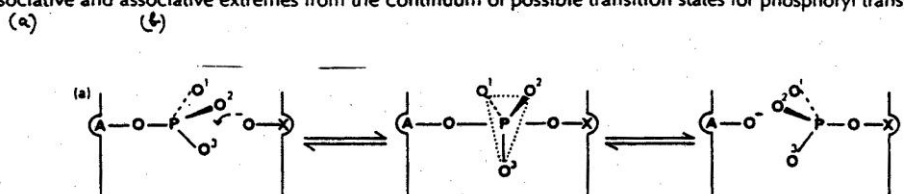


Schéma 116: Mécanismes catalytiques de transfert de phosphate

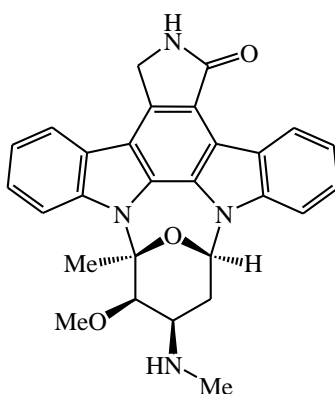
I-1-b) Inhibiteurs de protéines kinases

De nombreuses kinases sont impliquées dans des processus cancérogènes: elles représentent 10% des 300 oncogènes identifiés à ce jour chez l'homme. En général, le caractère oncogène provient de modifications altérant les mécanismes de régulation de la kinase (avec pour effet l'activation constitutive de la kinase).

Elles sont également impliquées dans diverses maladies métaboliques (diabète, hypercholestérolémies,...), d'où l'intérêt de développer des inhibiteurs pharmacologiques de ces kinases.^{19, 20c, 242}

Les inhibiteurs de protéines kinases sont des molécules bloquant ou modulant l'action d'une ou plusieurs kinases. Au cours des 30 dernières années de nombreuses recherches ont été consacrées au développement d'inhibiteurs de tyrosine kinases et de sérine/thréonine kinases.

Dès les années 1980, une première génération d'inhibiteurs non spécifiques a été mise en évidence tel que la staurosporine,²⁴³ alcaloïde isolé de *Streptomyces staurosporeus* en 1977 par Omura (Figure 29).



Staurosporine

Figure 29: Structure de la staurosporine

Puis, vers 1990, les premiers composés présentant une inhibition efficace et sélective des tyrosine kinases ont été synthétisés par la société Pfizer. Les pyrazolo-pyrimidines PP1 et PP2, synthétisées à l'origine pour inhiber l'activation du lymphocyte T, ont montré une surprenante sélectivité sur l'inhibition de tyrosine kinases (Figure 30).²⁴⁴

²⁴² Marsden, B.D.; Knapp, S. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 40-45.

²⁴³ S. Omura et al. *J. Antibiotics* **1977**, *30*, 275

²⁴⁴ Hanke, J.H.; Gartner, J.P.; Dow, R.L.; Changelian, P.S.; Brissette, W.B.; Weringer, E.J.; Pollock, B.A.; Connelly, P.A. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 695.

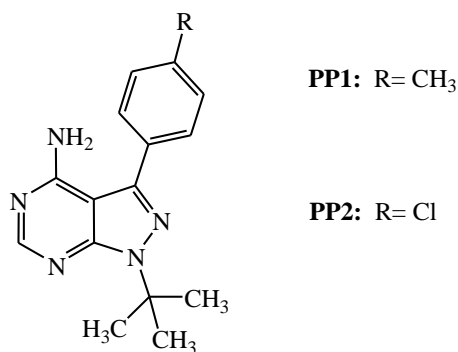


Figure 30: PP1 et PP2 inhibiteurs de tyrosine kinases

Dans les années 2000, Nam²⁴⁵ a décrit l'utilisation du composé PP2 dans le traitement de métastases.

Parallèlement, Novartis a développé des structures pyrrolo-pyrimidine comme le CGP 77675 et des dérivés de l'olomoucine comme le NV-PAAK980 (Figure 31) comme inhibiteurs de tyrosine kinases à visée anticancéreuse et contre l'ostéoporose.²⁴⁶

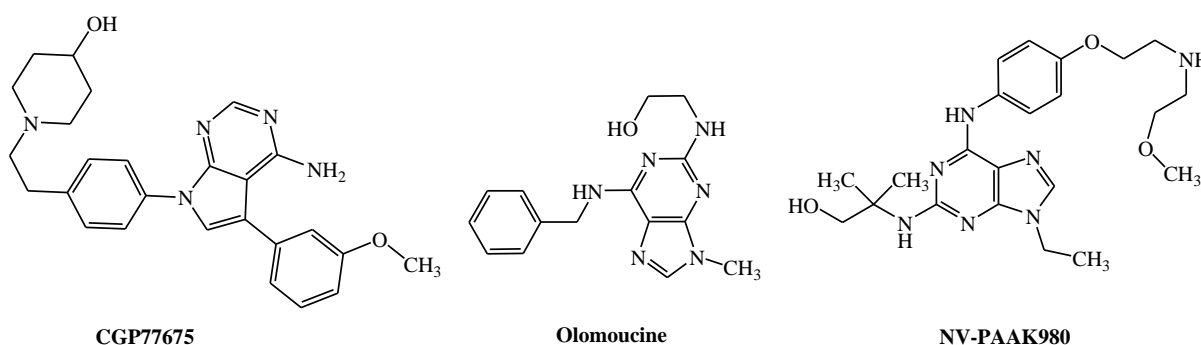


Figure 31: Structures du CGP 77675, de l'Olomoucine et du NV-PAAK 980

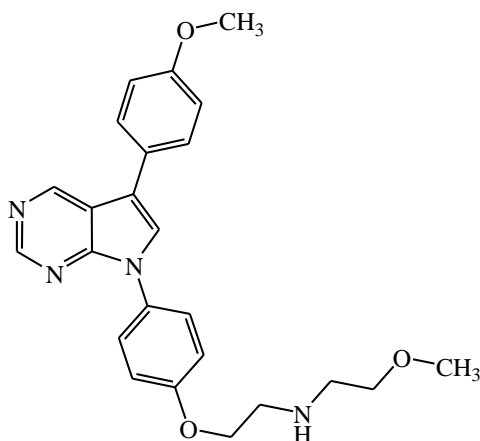
Un autre composé, le CGP 76030 (Figure 32) présente une activité intéressante *in vivo* contre le cancer de la prostate,²⁴⁷ des os et du poumon.²⁴⁸

²⁴⁵ Nam, J.S.; Ino, Y.; Sakamoto, M.; Hirohashi, S. *Clin. Cancer Res.* **2002**, *8*, 2430.

²⁴⁶ Susa, M.; Teti, A. *Drug New Perspective* **2000**, *13*, 169.

²⁴⁷ a) Missbach, M.; Altmann, E.; Widler, L.; Susa, M.; Buchdunger, E.; Mett, H.; Meyer, T.; Green, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 945. b) Altmann, E.; Widler, L.; Missbach, M. *Mini Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 201.

²⁴⁸ Rucci, N.; Recchia, I.; Angelucci, A.; Alamanou, M.; Del Fattore, A.; Fortunati, D.; Susa, M.; Fabbro, D.; Bologna, M.; Teti, A. *J. Pharm. Exp. Ther.* **2006**, *318*, 161.



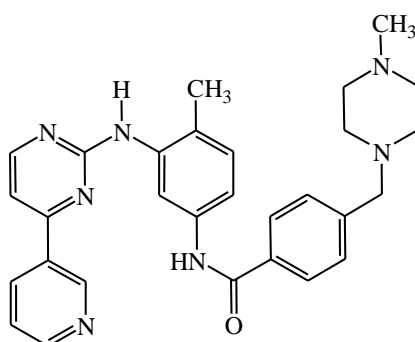
CGP 76030

Figure 32: Structure du CGP 76030

Cette seconde génération d'inhibiteurs a montré une trop faible efficacité et une sélectivité insuffisante pour pouvoir être utilisée comme médicament. Cependant elle s'est révélée être un bon outil d'étude pharmacologique.

La recherche d'inhibiteurs de tyrosine kinases a finalement abouti à la commercialisation de quelques molécules.

La société Novartis a, en 2001, mis sur le marché l'imatinib (Glivec®, STI-571) (Figure 33), inhibiteur de la tyrosine kinase. Ce composé est utilisé pour traiter la leucémie myéloïde chronique (LMC) à chromosome Philadelphie.²⁴⁹



Imatinib

Figure 33: Structure de l'Imatinib (Glivec®)

L'efficacité thérapeutique de cette molécule peu toxique a confirmé les hypothèses de la recherche selon lesquelles la compréhension du mécanisme moléculaire conduisant à la prolifération cellulaire anarchique et de son inhibition est à la base d'une nouvelle thérapie

²⁴⁹ Rowley, J.D. *Nature* **1973**, 243, 290-293.

anticancéreuse ciblée. D'autres produits, tels que le Gefitinib (Iressa®) et l'Erlotinib (Tarceva®) ont été mis plus récemment sur le marché (Figure 34).

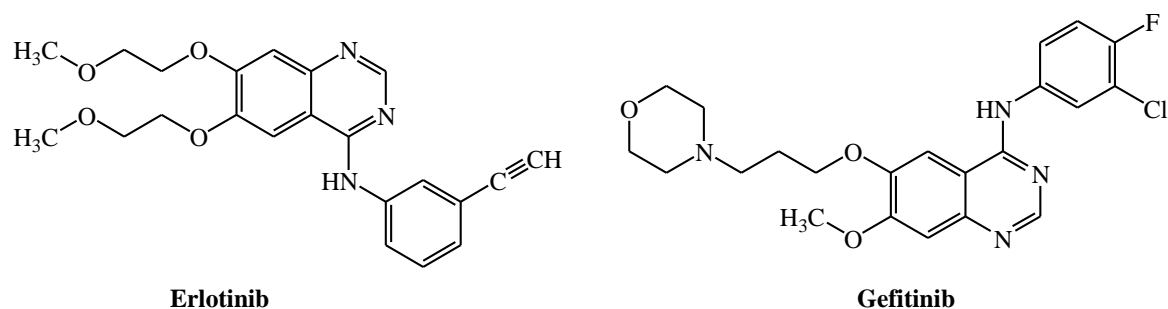


Figure 34: Structure de l'Erlotinib (Tarceva®) et du Gefitinib (Iressa®)

I-1-c) Site ATP comme cible biologique

Les protéines kinases jouent un rôle prédominant dans les voies de transduction du signal gouvernant des processus biochimiques comme le contrôle de la croissance cellulaire, la différenciation ou l'apoptose. Le dérèglement de l'activité enzymatique est une cause fréquente de pathologie cancéreuse, ainsi de nombreux inhibiteurs de kinases ont été développés et mis sur le marché ces 20 dernières années.^{19, 20a, c}

La stratégie de synthèse de nombreux agents anticancéreux est basée sur le modèle de l'ATP comme inhibiteur du site actif de la protéine kinase.^{20b} Les noyaux les plus communément développés sont des composés hétérocycliques azotés: quinazolines (Tarceva®, Iressa®), phénylamino-pyrimidines (Glivec®), pyrido-pyrimidines, pyrrolo-pyridine, purines (olomoucine), pyridinyl-imidazoles, indolin-2-ones, phtalazines, etc.. (Figure 35). Des composés naturels tels que des alcaloïdes et des flavonoïdes ou des dérivés de la straurosporine ont également été étudiés.²⁵⁰ Les dernières études de cristallisation des protéines kinases en présence de leurs substrats ont notamment confirmé l'intérêt du site ATP comme cible biologique.²⁵¹

De plus, les infections bactériennes restent une cause importante de mortalité du fait de l'absence d'éradication des pathogènes, de l'émergence de nouveaux agents infectieux et du développement des thérapies immunosuppressives. La résistance des bactéries aux antibiotiques, qui touche aujourd'hui toutes les familles d'antibiotiques et la quasi totalité des bactéries pathogènes, entraîne des surcoûts importants et conduira à des impasses thérapeutiques en l'absence de nouvelles molécules. Les génomes bactériens codent pour des centaines de protéines fixant l'ATP, jouant un rôle principalement dans l'expression des gènes et le métabolisme cellulaire. Parmi ces protéines, l'ADN gyrase constitue un archétype pour

²⁵⁰ Garcia Echeverria, C.; Traxler, P.; Evans, D.B. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 20-57.

²⁵¹ a) Toledo, L. M.; Lyndon, N. B.; Elbaum, D. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 775-805. b) De Moliner, E. and al. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 1831-1836.

le développement de molécules antibiotiques ciblant le site à ATP,²⁵² cependant de nombreuses autres cibles restent encore à explorer. Dans une revue récente très exhaustive, un état des lieux des inhibiteurs ciblant la poche ATP des enzymes bactériennes est réalisé et des propositions de développement d'inhibiteurs de nouvelle génération sont faites.²⁵³

²⁵² Pommier, Y.; Leo, E.; Zhang, H.; Marchand, C. *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 421-33.

²⁵³ Skedelj, V.; Tomasic, T.; Peterlin Masic, L.; Zega, A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 915-929.

Le site ATP hautement conservé au sein des protéines kinases peut être décomposé en divers sous sites: une région hydrophobe autour de l'adénine où sont générées des liaisons hydrogènes entre les azotes du cycle aromatique et les acides aminés de la protéine, une région hydrophile localisée près du ribose, une région triphosphate et enfin une poche et un canal hydrophobe non nécessaire au binding de l'ATP dans le site mais déterminant pour la sélectivité et l'affinité des inhibiteurs (Figure 36).

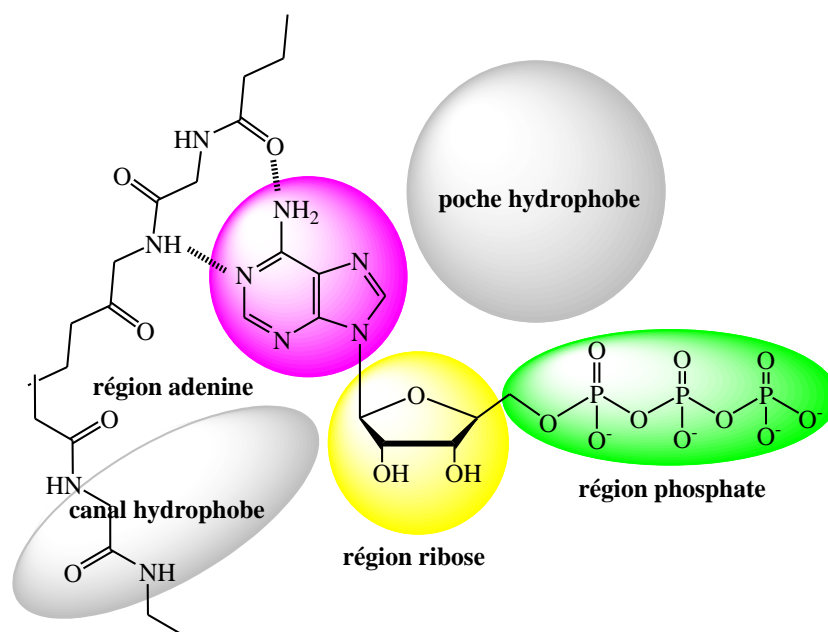


Figure 36: Organisation en sous-sites de la poche ATP des protéines kinases

Du fait du nombre élevé de protéine kinases (> 600) et de la conservation structurale du site ATP, la sélectivité d'une molécule pour une seule kinase apparaît difficile à atteindre. L'enjeu serait alors de déterminer un profil de molécule présentant une sélectivité raisonnable envers une famille de kinases définie.

I-2 Enzymes cibles: les Nucléosides Monophosphate Kinases (NMPK)

Ce projet a pour matrice les Nucléosides Monophosphates Kinases (NMPK), appartenant à la famille des phosphotransférases et catalysant le transfert réversible d'un phosphate d'un nucléotide triphosphate, ici l'ATP, vers un nucléotide monophosphate (NMP, dNMP) en présence d'un cation métallique divalent (Mg^{2+}).

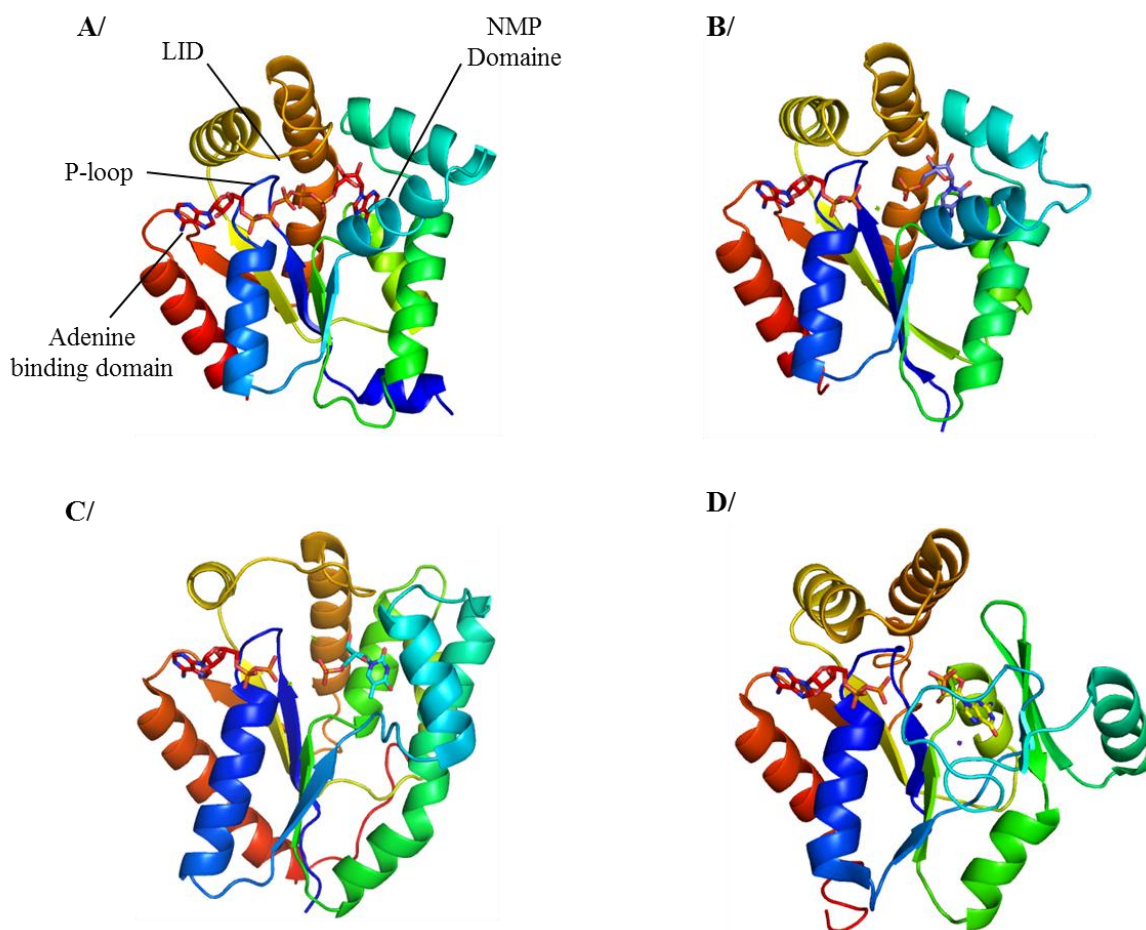
Ces enzymes jouent un rôle important dans la biosynthèse des nucléosides nécessaires à la formation de l'ARN ou l'ADN et impliqués dans diverses voies métaboliques.²⁵⁴

Il existe quatre types de NMP kinases (Figure 37) avec comme substrats respectifs :

- Les adénylates kinases (AMPK 1-6) pour l'AMP et le dAMP

²⁵⁴ a) Johansson, N.G.; Eriksson, S. *Acta Biochim. Pol.* **1996**, *43*, 143-160. b) Deville-Bonne, D. ; El Amri, C. ; Meyer, P. ; Chen, Y. ; Agrofoglio, L.A. ; Janin, J. *Antiviral Research* **2010**, *86*, 101-120.

- Les thymidylates kinases (TMPK) pour le dTMP et le dUMP
- La guanylate kinases (GMPK) pour le GMP et le dGMP
- Les uridylylate-cytidylylate kinases (UMP-CMPK 1-2) pour l'UMP, le dUMP, le CMP et le dCMP



D. Topalis

Figure 37: Repléments tridimensionnels généraux des NMP kinases. A/ AMP kinase 1 humaine complexée à l'Ap5A (rouge) (pdb id 1AKH); B/ UMP-CMP kinase de *Dictyostelium discoideum* complexée à l'ADP (rouge) et au CMP (bleu) (pdb id 2UKD); C/ TMP kinase humaine complexée au dTDP (cyan) et à l'ADP (rouge) (pdb id 1e9e); D/ GMP kinase de souris complexée au GMP (jaune) et à l'ADP (rouge) (pdb id 1LVG).

I-2-a) Voie de récupération des nucléosides

La voie de récupération des nucléosides permet de synthétiser des nucléotides à moindre coût d'énergie par l'utilisation des nucléosides issus de la dégradation des acides nucléiques et de ceux apportés par l'alimentation.

Cette voie métabolique fait intervenir trois grandes familles d'enzymes catalysant le transfert de phosphate d'un nucléotide triphosphate vers un accepteur. La première étape de

phosphorylation est assurée par les désoxynucléosides kinases (TK1, TK2, dGK, dAK) et la deuxième étape par les nucléosides monophosphate kinases (AMPK1-6, TMPK 1-2, GMPK et UMP-CMPK 1-2). Les enzymes impliquées dans les deux premières étapes sont spécifiques de la base. La dernière étape qui permet l'obtention des dérivés triphosphates est assurée par les nucléosides diphosphate kinases (NDPK A et B) et d'autres enzymes de la cellule assurant la synthèse d'ATP comme la phosphoglycérate kinase (Schéma 117). Les analogues de nucléosides utilisés dans les thérapies antivirales et anticancéreuses empruntent cette même voie d'activation avant d'atteindre la polymérase virale.

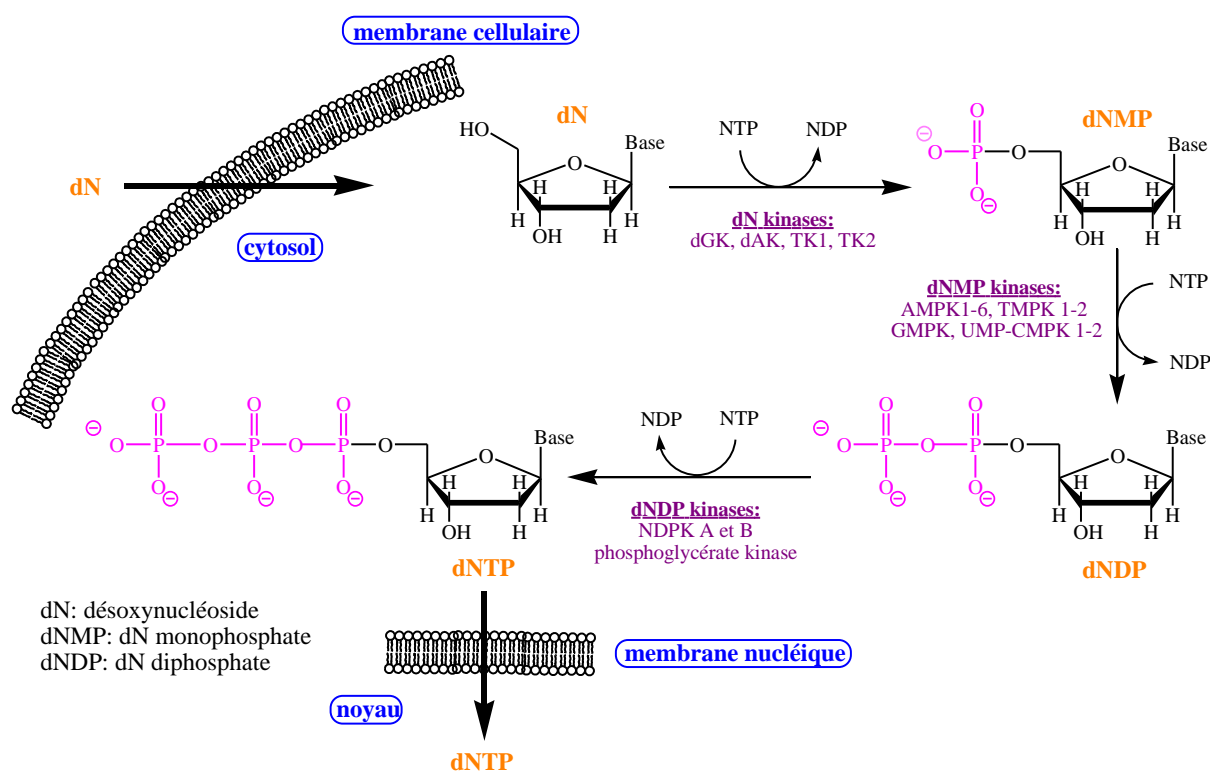


Schéma 117: Voie de récupération des nucléosides

I-2-b) L'UMP-CMPK

Le gène humain de l'UMP-CMPK a été cloné pour la première fois par le groupe d'Anna Karlsson en 1999.¹⁵ C'est une enzyme qui s'apparente énormément aux AMPKs. Elle partage 40% d'identité de séquence avec l'AMPK 1 (cytosolique) et 27% avec l'AMPK 2 (mitochondriale). Elle est capable de phosphoryler le CMP, le dCMP et l'UMP.¹⁶ La structure tridimensionnelle de l'enzyme a été obtenue uniquement sous sa forme non complexée (1TEV). Il s'agit d'un monomère de 228 acides aminés. La forme complexée à l'ADP et au CMP a été obtenue pour l'UMP-CMPK de *Dictyostelium discoideum* (2UKD), un microorganisme eucaryote qui présente beaucoup de similarité avec les cellules animales. Hormis les nucléotides naturels, cette enzyme est capable de phosphoryler un certain nombre d'analogues utilisés dans les traitements contre les leucémies, le cancer du pancréas ainsi que

le SIDA. Les formes monophosphate de l'arabincytidine (araC), de la gemcitabine (dFdC) et de la 3'thiacytidine sont métabolisées par l'UMP-CMPK dans la deuxième étape de phosphorylation. Dans le cadre de la thérapie anti-poxvirus, il a été montré que l'UMP-CMPK était responsable de la première phosphorylation du Cidofovir.¹⁴ Récemment, il a été montré que l'inhibition de l'expression de l'UMP-CMP kinase permettait de potentialiser l'effet de certains anticancéreux utilisés en clinique.²⁵⁵ Dans ce contexte, le développement d'inhibiteurs pourrait être d'un grand intérêt.

I-2-c) La thymidylate kinase (TMPK)

La TMPK a été purifiée pour la première fois à partir de leucocytes issus de patients atteints de leucémie.²⁵⁶ Son gène est localisé sur le chromosome 2 (GenBank®). L'enzyme est un homodimère de 2 × 212 acides aminés. Elle phosphoryle en dérivés diphosphates le dTMP, le dUMP¹² et une série d'analogues anti-VIH de la thymidine tels que l'AZTMP et le d4TMP. Le donneur de phosphate est en général l'ATP, mais dATP, GTP et dGTP peuvent aussi intervenir. La TMPK est impliquée dans la synthèse du TTP, précurseur de l'ADN, nécessaire à la division cellulaire. L'expression de la TMPK est régulée au cours du cycle mitotique, elle est maximale pendant la phase S puis l'enzyme est dégradée pendant la phase M et le début de la phase G1.²⁵⁷ L'activité thymidylate kinase est détectable dans les cellules en division alors qu'elle est très faible dans les cellules au repos. La phosphorylation par la TMP kinase de l'AZTMP est l'une des étapes limitantes de l'activation de la zidovudine.²⁵⁸

I-2-d) Les adénylates kinases (AMPK I-6)

Les adénylates kinases ont été très étudiées depuis les années 80 avec plus de 40 entrées sur la ProteinDataBank (PDB). L'AMPK1 est le premier exemple de protéine mobile où le substrat induit un changement de conformation (induced fit).²⁵⁹ Six isoformes ont été découvertes à ce jour. Elles diffèrent par leur localisation cellulaire et leur distribution tissulaire. Cette famille d'enzymes assure la phosphorylation de l'AMP et du dAMP en leurs dérivés diphosphates.²⁶⁰ Les AMPKs sont des protéines modèles pour l'étude de la dynamique des protéines.²⁶¹ L'AMPK1 cytosolique (ou myokinase) est localisée de façon préférentielle dans les muscles squelettiques, le cerveau et les érythrocytes alors que l'AMPK2 qui se trouve

²⁵⁵ Liou, J-Y.; Lai, H-R.; Hsu, C-H.; Chang, W-L.; Hsieh, M-J.; Huang, Y-C.; Cheng, Y-C. *Biochem. Pharmacol.* **2010**, *79*, 381-388.

²⁵⁶ Nakai, G.S.; Michael, E.; Peterson, M.; Craddock, C.G. *Clin. Chim. Acta* **1966**, *14*, 422-425.

²⁵⁷ a) Chang, Z.F.; Huang, D.Y.; Hsue, N.C. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 21249-21254. b) Liang, P.; Averboukh, L.; Zhu, W.; Haley, T.; Pardee, A.B. *Cell. Growth Differ.* **1995**, *6*, 1333-1338.

²⁵⁸ Lavie, A.; Vetter, I.R.; Konrad, M.; Goody, R.S.; Reinstein, J.; Schlichting, I. *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 601-604.

²⁵⁹ a) Schulz, G.E. et al. *Eur. J. Biochem.* **1986**, *161*, 127-132. b) Vorrhein, C.; Schlauderer, G. J.; Schulz, G. E. *Structure* **1995**, *3*, 483-490.

²⁶⁰ Yan, H.; Tsai, M.D. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1999**, *73*, 103-134.

²⁶¹ a) Bae, E.; Phillips, G.N. Jr. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2006**, *103*, 2132-2137. b) Aden, J.; Wolf-Watz, M.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *129*, 14003-14012.

dans l'espace intermembranaire mitochondriale semble avoir une contribution plus grande dans le foie, les reins, la rate et le cœur. L'AMPK3 est située dans la matrice mitochondriale et est largement distribuée dans les tissus. L'AMPK4 a été découverte dans le système nerveux central (hippocampe, cervelet, neuroépithélium nasal)²⁶² et dans le foie. L'AMPK5 est cytosolique.²⁶³ L'AMPK6 a été découverte dans les cellules de l'axe hypothalamo-hypophysaire et localisée dans le noyau.²⁶⁴

I-2-f) La guanylate kinase (GMPK)

Il existe 4 isoformes de *Nucleotide Phosphorylating Guanosine Kinases* (NP-GUK) mais seule la NP-GUK1, découverte en 1980 a été clonée.²⁶⁵ Cette enzyme de 196 résidus (PM = 21 596) permet la phosphorylation du GMP et du dGMP et est impliquée dans la phosphorylation du ganciclovir-MP et acyclovir-MP produit après activation des nucléosides par HSV-1 TK.²⁶⁶ L'enzyme humaine n'a pas été cristallisée. Par contre, son homologue chez la souris a été cristallisé et sa structure résolue.²⁶⁷ Elles partagent 98% d'identité de séquence et leurs caractéristiques sont probablement très proches. Parallèlement à NP-GUK, il existe une deuxième famille de guanylates kinases attachées à la membrane plasmique et qui participent à l'échafaudage des complexes protéiques. Il s'agit des « *membrane associated guanosine kinase* » ou MA-GUK. Elles possèdent un domaine guanylate kinase dont la séquence est très proche de celle de la GMPK de levure mais sont dépourvues d'activité enzymatique.

I-3 Objectifs des évaluations biologiques

I-3-a) Evaluation de l'affinité pour le site ATP des NMP kinases

Le premier objectif de nos évaluations biologiques était de hiérarchiser l'affinité de l'ensemble des molécules précédemment synthétisées pour le site ATP de notre classe d'enzyme cible, les nucléosides monophosphate kinases et de tenter de dégager une relation structure-affinité. La conservation du site ATP parmi les kinases nous a amené à tester les molécules sur plusieurs NMPK humaines: l'UMP-CMPK, la TMPK, l'AK1 et la GMPK. Cependant, ces enzymes diffèrent de part leur dynamique structurale, en particulier l'AK1 est la NMPK la plus flexible, elle constitue en outre un archétype pour l'impact de la plasticité conformationnelle sur l'activité enzymatique. De ce fait, des capacités d'accommodation

²⁶² Yoneda, T.; Sato, M.; Maeda, M.; Takagi, H. *Mol. Brain Res.* **1998**, *62*, 187-195.

²⁶³ Van Rompay, R.A.; Johansson, M.; Karlsson, A. *Pharmacol. Ther.* **2000**, *87*, 189-198.

²⁶⁴ Ren, H et al. *PNAS* **2005**, *102*, 303-308.

²⁶⁵ a) Dallapiccola, B.; Lungarotti, M.S.; Falorni, A.; Magnani, M.; Dacha, M. *Ann. Genet.* **1980**, *23*, 83-85. b) Brady, W.A.; Kokoris, M.S.; Fitzgibbon, M.; Black, M.E. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 16732-16740.

²⁶⁶ Miller, W. H.; Miller, R. L. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 7204-7207.

²⁶⁷ Sekulic, N.; Shuvalova, L.; Spangenberg, O.; Konrad, M.; Lavie, A. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 30236-30243.

différentielles des mimes ATP synthétisés au sein des divers sites à ATP ont été mises en évidence.

Le dichroïsme circulaire (DC) nous a tout d'abord orientés vers des types de structures susceptibles d'interagir avec l'enzyme. Le test de compétition par mesure de fluorescence utilisant le Mant-ATP (3'-O-(N-méthylanthraniloyle)-ATP) a complété les informations obtenues par dichroïsme circulaire en hiérarchisant l'affinité des structures pour le site ATP des kinases. Nous avons alors pu déterminer si un éventuel changement conformationnel de l'enzyme était corrélé à la présence de la molécule au sein du site donneur.

De plus, la modélisation des structures d'intérêt au sein du site ATP de l'enzyme a été réalisée en complément des techniques spectroscopiques afin de visualiser l'insertion des molécules au sein des poches enzymatiques et de conclure quant aux déterminants structuraux nécessaires.

I-3-b) Evaluation des activités biologiques

Le deuxième objectif consistait à explorer le potentiel thérapeutique (anticancéreux et antimicrobien) de ces molécules en évaluant leur cytotoxicité vis-à-vis de souches de cellules cancéreuses (HeLa), de cellules saines transformées (HEK-293) et sur des souches de bactéries Gram-positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et Gram-négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922).

I-3-c) Inhibition du protéasome

Dans un troisième temps, les composés ont été testés en tant qu'inhibiteurs du protéasome humain cible d'intérêt dans les pathologies cancéreuses du fait de l'effet cytotoxique de certains d'entre eux vis-à-vis des cellules cancéreuses citées précédemment.

II- Recherche de ligands du site ATP des NMPK

II-1 Etude conformationnelle en dichroïsme circulaire

Le site enzymatique des NMP kinases, catalysant le transfert d'un phosphate de l'ATP vers un nucléotide monophosphate, présente deux sous-unités: une poche ATP (donneur de phosphate) et une poche pour l'accepteur de phosphate. Lors du cycle catalytique l'enzyme subit de nombreux changements conformationnels, passant de la forme ouverte en l'absence

de substrat à une forme fermée en présence du donneur et de l'accepteur de phosphate (Figure 38).²⁶⁸

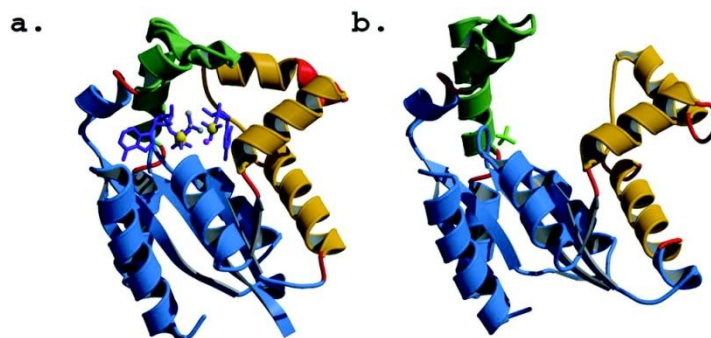


Figure 38: NMP kinases: (a) forme fermée en présence des substrats, activité catalytique (b) forme ouverte en absence de substrat, pas d'activité catalytique.

Le dichroïsme circulaire est une méthode biophysique qui permet d'étudier les modifications de structure secondaire de l'enzyme consécutivement à l'interaction avec un ligand. La bande à 222 nm est caractéristique de la structure secondaire en hélice α de l'enzyme et nous avons donc choisi de l'observer notamment afin de mesurer les changements du pourcentage de structures en hélice. Les NMPKs comme indiqué Figure 38 sont des protéines riches en hélice α . Cette approche nous a, dans un premier temps, permis de détecter l'interaction entre la molécule et la NMPK, la nature de cette interaction restant à définir.

II-1-a) Molécules testées

Les tests ont été réalisés sur trois enzymes: l'AK1, la TMPK et l'UCK choisies à la fois pour leur différence de spécificité de substrats ainsi que pour leur plasticité structurale propre. Pour chacune d'elles les substrats respectifs ainsi qu'un bis-substrat ont été testés puis les mesures ont été faites avec les dérivés de 2-thiohydantoïnes et d'imidazoles solubles dans le tampon à 500 μ M. Dans ces conditions, nous avons ainsi pu tester les molécules représentées sur la Figure 39.

²⁶⁸ Segura-Pen D., Sekulic N., Ort S., Konrad M., Lavie A. *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 33882–33889.

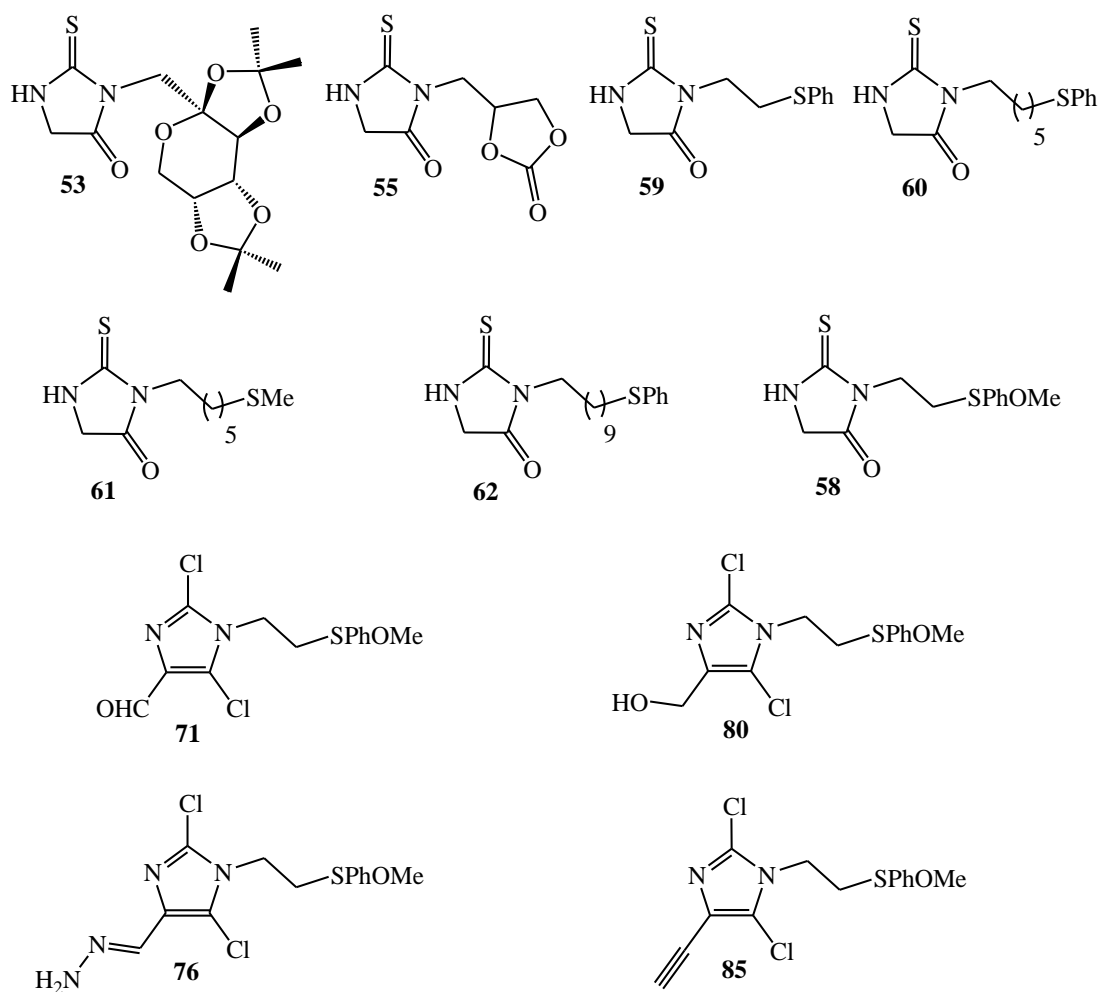


Figure 39: Ligands testés en dichroïsme circulaire

II-1-b) Résultats et discussion

Pour chaque enzyme, les mesures ont été réalisées avec l'enzyme seule, en présence de plusieurs de ses substrats puis comparées aux onze molécules sélectionnées selon à la fois des critères de solubilité et de cohérence structurale. Après traitement des spectres de dichroïsme circulaire, la différence des incréments dichroïques $\Delta\epsilon$ à 222 nm entre l'enzyme complexée au ligand et l'enzyme seule a pu être calculée afin de quantifier la modification structurale subie par l'enzyme (Figure 40, Figure 41, Figure 42).

- UMP/CMP kinase

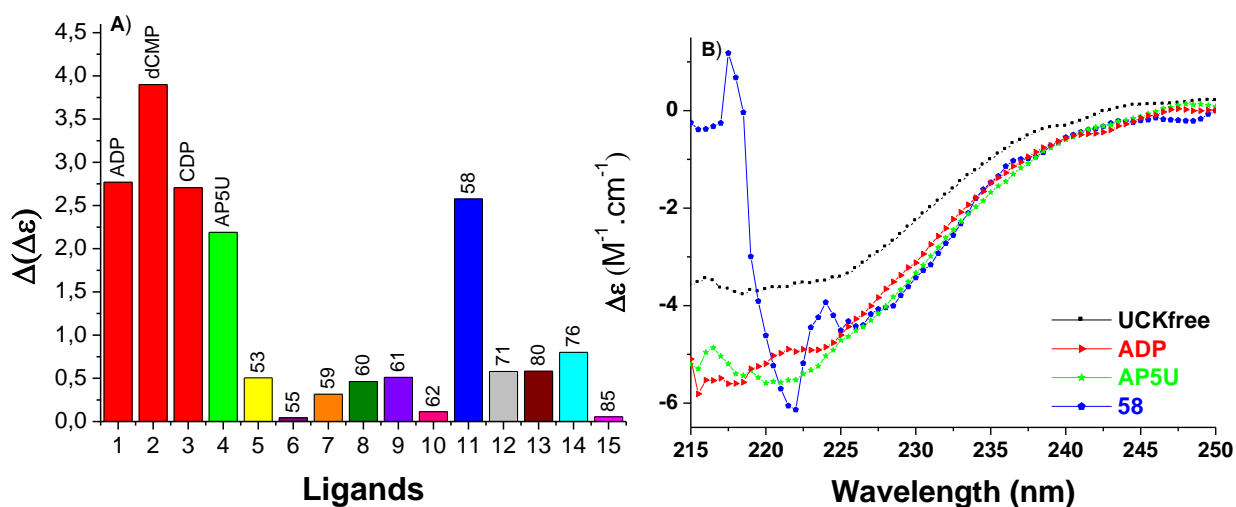


Figure 40: UMP/CMP kinase humaine: A) Histogramme représentant la variation de l'incrément dichroïque à 222 nm pour chaque ligand. B) Spectres de dichroïsme circulaire représentant l'enzyme seule, en présence d'un produit (ADP), un bis-substrat (AP₅U) et le composé 58 induisant une transition structurale notable.

L'ADP, la TMP et la TDP sont respectivement substrat et produit de l'enzyme et l'Ap₅U (P1-(5'-adénosine)-P5-(5'-uridine)-pentaphosphate) est un bis-substrat se liant simultanément aux sites donneur et accepteur. Ces composés en se positionnant dans le site actif provoquent un changement conformationnel de la protéine induisant des variations de $\Delta\epsilon$ notables.

Nous avons alors comparé les valeurs obtenues au sein de la série de molécules sélectionnées. Le composé **58** semble particulièrement interagir avec la protéine, en effet la variation de $\Delta\epsilon$ à 222 nm est de l'ordre de celles mesurées pour les substrats. La molécule **76**, quant à elle, n'induit qu'un faible changement spectral.

- **TMP kinase**

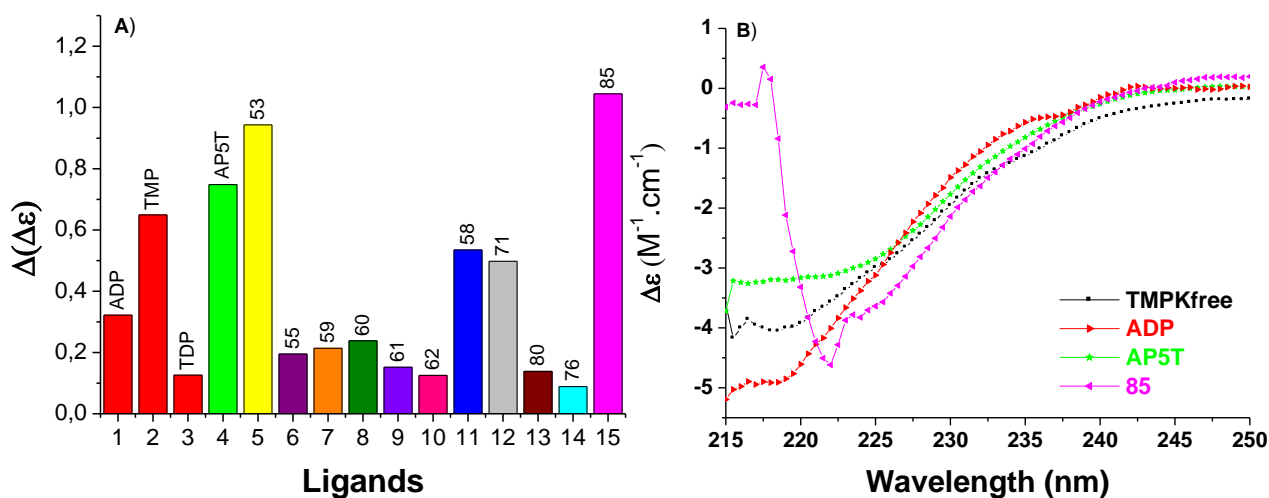


Figure 41: TMP kinase humaine: A) Histogramme représentant la variation de l'incrément dichroïque à 222 nm pour chaque ligand. B) Spectres de dichroïsme circulaire représentant l'enzyme seule, en présence d'un produit (ADP), un bis-substrat (AP₅T) et le composé 85 induisant une transition structurale notable.

Pour la TMPK, nous avons obtenu des résultats assez significatifs pour l'ADP, la TMP et l'AP₅T (P1-(5'-adénosine)-P5-(5'-thymidine)-pentaphosphate) même si la variation de l'intensité de la bande à 222 nm n'est pas très importante pour l'ADP.

Les composés **53** et **85** semblent fortement interagir avec la protéine, en effet les variations de $\Delta\epsilon$ à 222 nm sont même supérieures à celles mesurées pour les substrats. Deux autres molécules sont également affines (**58** et **71**) puisque les valeurs obtenues sont comparables à celles de la TMP.

- AKI

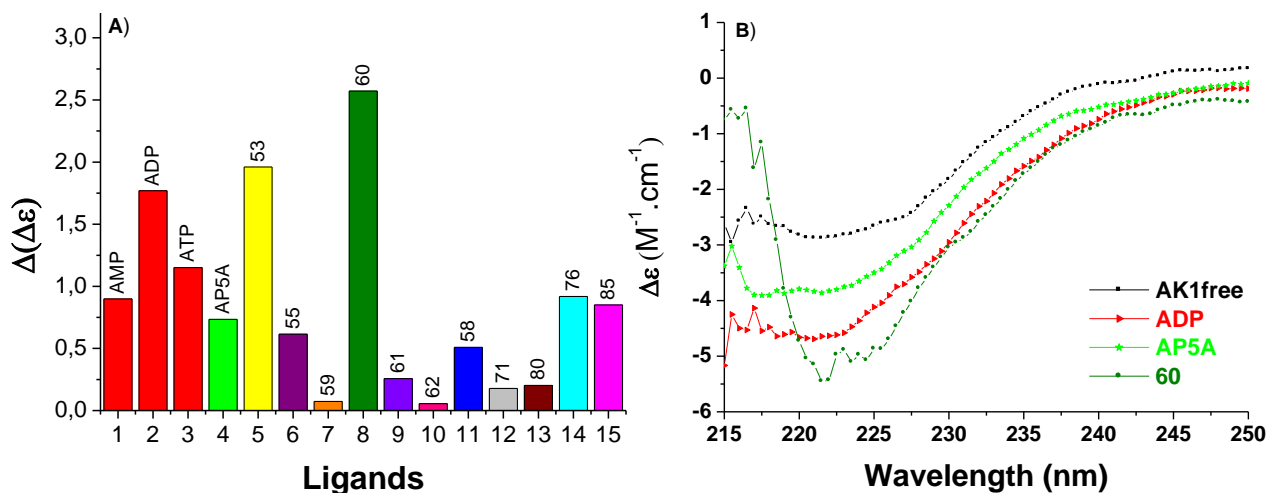


Figure 42: Adénylate kinase humaine: A) Histogramme représentant la variation de l'incrément dichroïque à 222 nm pour chaque ligand. B) Spectres de dichroïsme circulaire représentant l'enzyme seule, en présence d'un produit (ADP), un bis-substrat (AP₅A) et le composé 60 induisant une transition structurale notable.

Concernant l'AK1, comme pour les deux autres enzymes, les valeurs obtenues pour les substrats et l'AP₅A (P1,P5-di(5-adénosine)-pentaphosphate) indiquent une bonne interaction ligand-protéine.

Deux molécules (**53** et **60**) présentent une forte interaction avec l'enzyme puisque la différence des $\Delta\epsilon$ est au moins égale à celle de l'ADP. Les molécules **76** et **85** sont moins affines mais présentent tout de même des valeurs de l'ordre de celles de l'ATP.

En recoupant les résultats qui ont été obtenus pour les trois NMPK, 5 molécules dérivées de 2-thiohydantoïne et d'imidazole semblent plus particulièrement interagir avec cette classe d'enzyme (Figure 43).

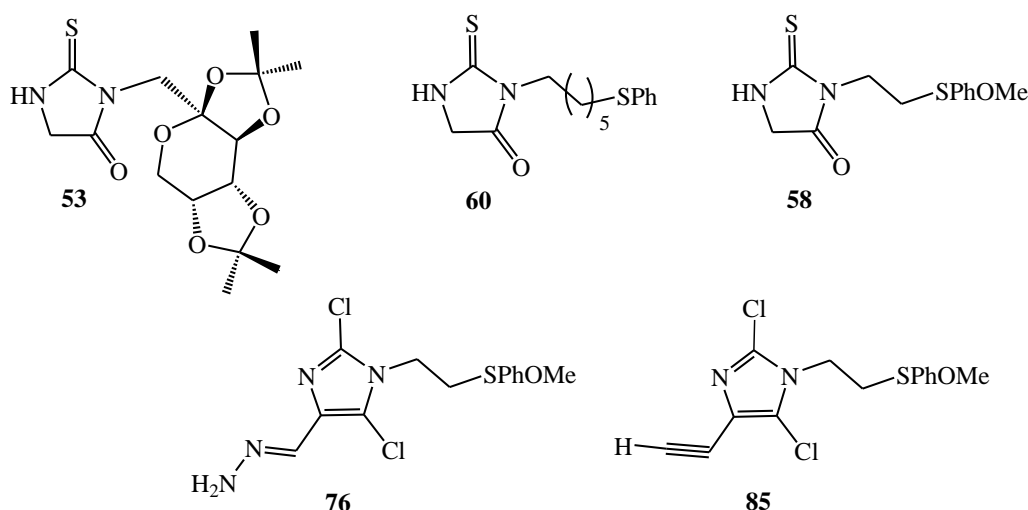


Figure 43: Molécules présentant une bonne interaction avec les NMPK

Ces mesures de dichroïsme circulaire ne nous ont pas donné d'informations quant à la nature de l'interaction des molécules avec la protéine. Nous avons par la suite procédé à des tests fluorimétriques de compétition utilisant le Mant-ATP afin de préciser les résultats précédents et de corréler éventuellement l'interaction observée à une insertion du composé dans le site ATP de la kinase.

II-2 Test fluorimétrique de compétition utilisant la sonde Mant-ATP

L'AP₅U, un bis-substrat du site accepteur et donneur de l'UMP-CMP kinase, est un puissant inhibiteur qui a été cristallisé avec l'enzyme et a montré de fortes interactions de la structure polyphosphate avec la protéine (Figure 44).²⁶⁹

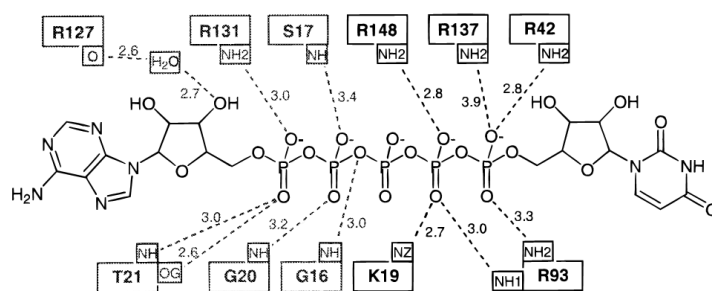


Figure 44: Réseau d'interactions de la structure polyphosphate de l'AP₅U avec les résidus de la poche enzymatique de l'UMP-CMP kinase

A partir de cette observation, Rudolph²⁷⁰ a mis au point un ligand fluorescent de l'enzyme, le (Pβ) MABA-CDP (cytidinediphospho-β-(N⁷-méthylantraniloylaminobutyl)

²⁶⁹ Feldhaus, P.; Frohlich, T.; Goody, R.; Isakov, M.; Schrimmer, H. *Eur. J. Biochem.* **1975**, *57*, 197-204.

²⁷⁰ Rudolph, M.G.; Veit T.J.; Reinstein J. *Protein Sci.* **1999**, *8*, 2697-2704.

phosphoramidate) qui s'associe au site NMP de l'enzyme (Figure 45). La fluorescence de ce composé peut être mesurée lors de son interaction au site actif, celui-ci peut alors être utilisé comme sonde fluorescente lors de tests de compétition avec de potentiels inhibiteurs.

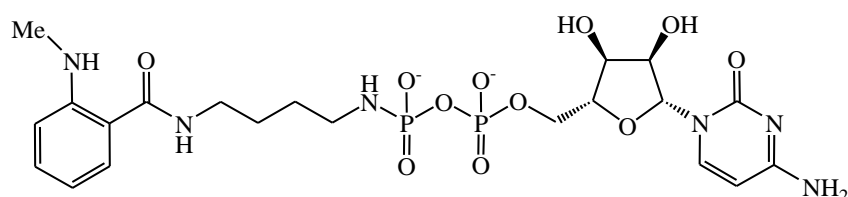


Figure 45: Sonde fluorescente (P β) MABA-CDP

Afin de trouver des ligands potentiels des NMPK, un test de criblage par compétition de fluorescence a été mis au point précédemment utilisant un analogue fluorescent d'ATP, le Mant-ATP (3'-O-(N-méthylantraniloyle)-ATP) qui se lie spécifiquement au site ATP des NMPK comme décrit dans la partie « Matériel et Méthodes ».

Nous avons donc utilisé ce test pour essayer de déterminer les composés susceptibles d'interagir avec le site ATP de quatre NMPK humaine: l'AK1, la TMPK, la GMPK et l'UMP-CMPK.

II-2-a) Molécules testées

Les composés devant entrer en compétition avec le Mant-ATP ont été testés à une concentration finale de 1-2 mM, concentration permettant de révéler l'interaction en saturant le site à ATP. A ces concentrations, un certain nombre de molécules présentent un problème de solubilité, les résultats sont donc détaillés pour six d'entre elles (Figure 46).

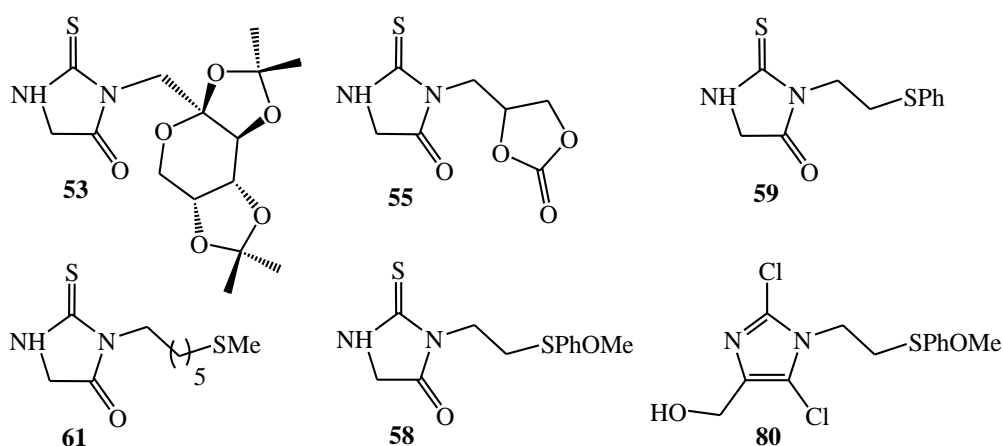


Figure 46: Molécules considérées pour le test de fluorescence avec le Mant-ATP

II-2-b) Mesure des pourcentages de déplacement du Mant-ATP

L'absorbance à 460 nm de chaque molécule dans le tampon a tout d'abord été mesurée afin de vérifier la faible contribution de celle-ci sur la fluorescence mesurée par la suite.

Le pourcentage de déplacement a été calculé par rapport à la fluorescence du Mant-ATP en présence de l'enzyme selon le calcul suivant :

$$\% \text{ Déplacement} = ((F - F_L) / F) \times 100$$

F est la fluorescence du Mant-ATP avec l'enzyme et F_L la fluorescence du Mant-ATP en présence de l'enzyme et d'un ligand.

Les mesures ont, dans un premier temps, été réalisées avec l'ADP et l'ATP (Tableau 25) qui sont des substrats du site donneur des NMPK donc ayant une bonne affinité avec le site actif.

déplacement (%)	AK1	TMPK	GMPK	UCK
ATP	9 ± 1	40 ± 6	24 ± 4	42 ± 6
ADP	7 ± 1	44 ± 7	33 ± 5	39 ± 6

Tableau 25: Pourcentage de déplacement pour les substrats du site ATP

Les pourcentages de déplacement des substrats ne sont pas très élevés en particulier pour l'AK1, ceci est probablement dû au fait d'une dynamique conformationnelle particulière de cette enzyme. Les tests n'ont donc pas été poursuivis sur cette enzyme compte tenu de cette faible sensibilité.

Pour les trois autres enzymes, nous avons réalisé les mesures avec les six dérivés de 2-thiohydantoïne et d'imidazole (Tableau 26).

Déplacement (%)	TMPK	GMPK	UCK
ATP	40 ± 6	24 ± 4	42 ± 6
ADP	44 ± 7	33 ± 5	39 ± 6
53	18 ± 3	2,0 ± 0,3	16 ± 2
55	11 ± 2	5,8 ± 0,9	0
59	3,8 ± 0,6	3,6 ± 0,5	20 ± 3
61	13 ± 2	12 ± 2	10 ± 2
58	3,4 ± 0,5	11 ± 2	0
80	8,2 ± 0,5	0	14 ± 2

Tableau 26: Déplacements du Mant-ATP obtenus pour les 6 molécules testées

II-2-c) Affinité des molécules testées pour le site ATP

Les valeurs des déplacements obtenues pour nos molécules sont à comparer à celles obtenues pour les substrats de l'enzyme soit l'ATP ou l'ADP.

Concernant la TMP kinase, les valeurs des déplacements se situent autour de 40% pour l'ATP et l'ADP. La molécule **53** est la plus intéressante puisqu'elle induit un déplacement de l'ordre de 20%. Une légère affinité est détectée pour les molécules **55** et **61** qui génèrent des déplacements d'environ 10%.

Les valeurs des déplacements pour les substrats de la GMP kinase sont autour de 30%, les composés **58** et **61** présentent des déplacements de l'ordre de 10% ce qui indique une affinité modérée pour le site ATP de cette enzyme.

Les résultats les plus intéressants ont été obtenus avec l'UCK. Les substrats induisent des pourcentages de déplacement d'environ 40%, les molécules **53** et **80** indiquent un déplacement aux alentours de 15% et le composé **59** génère un déplacement proche de 20%.

La comparaison de ces mesures indique de manière qualitative une meilleure affinité des dérivés 2-thiohydantoïne et imidazole pour le site donneur de l'UMP-CMPK (Figure 47) par rapport à la TMPK et à la GMPK. Seule la molécule **61** semble avoir une affinité équivalente pour le site ATP des trois enzymes.

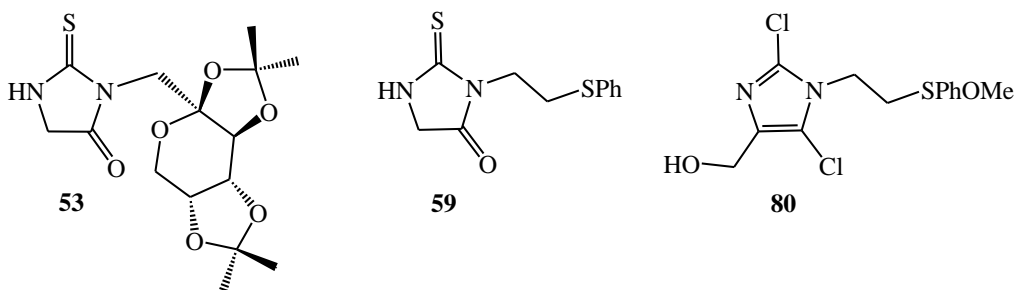


Figure 47: Molécules présentant une bonne affinité pour le site ATP de l'UCK

II-3 Identification des molécules d'intérêt

Les analyses par dichroïsme circulaire et de compétition utilisant la sonde fluorescente Mant-ATP nous ont permis de sélectionner huit structures susceptibles d'interagir avec le site ATP des NMPK.

Il apparaît que les molécules N-3 substituées avec des fonctions hydrophiles (carbonate de glycérol, D-fructopyranose) aussi bien que des fonctions hydrophobes (thioéther) sont tolérées au sein du site enzymatique donneur.

Pour la série 2-thiohydantoïne, la longueur de la chaîne carbonée des molécules possédant un groupement thioéther ne semble pas limiter l'insertion des composés dans le site actif. De plus la molécule hydrophile **53** paraît avoir une particulièrement bonne affinité pour le site ATP de la TMPK et de l'UMP-CMPK.

Les noyaux imidazole dichlorés C-5 fonctionnalisés avec divers groupements (alcool, amine, alcyne) semblent se lier au site ATP.

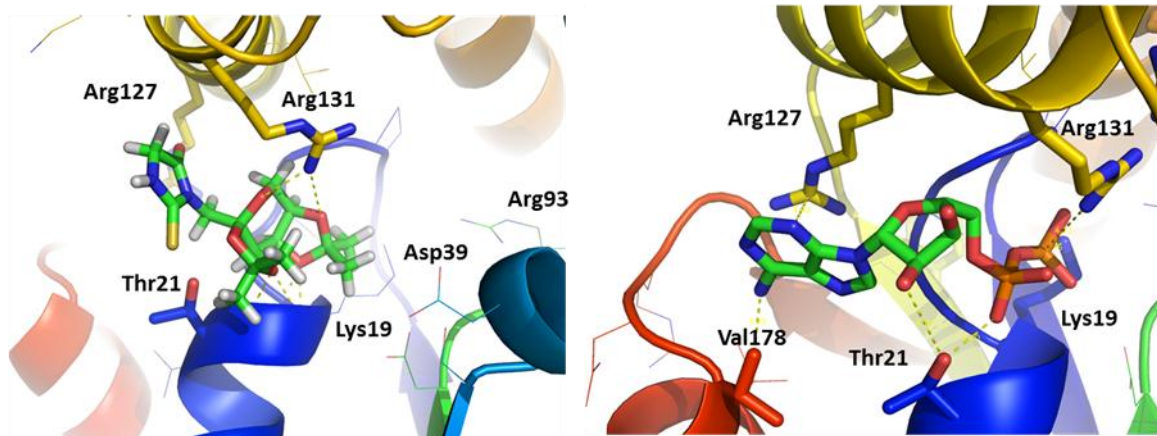
L'obtention d'inhibiteurs optimisés passe par l'utilisation de la variété des fonctions disponibles et permettrait de réaliser des réactions de couplage in situ (click chemistry, addition Michael) avec l'accepteur de phosphate au sein de la poche enzymatique.

II-4 Modélisation des dérivés les plus affins au sein de la poche ATP des NMP kinases

L'ensemble des résultats atteste que la molécule **53** présente la plus grande capacité d'interaction vis-à-vis des sites ATP des NMP kinases humaines testées.

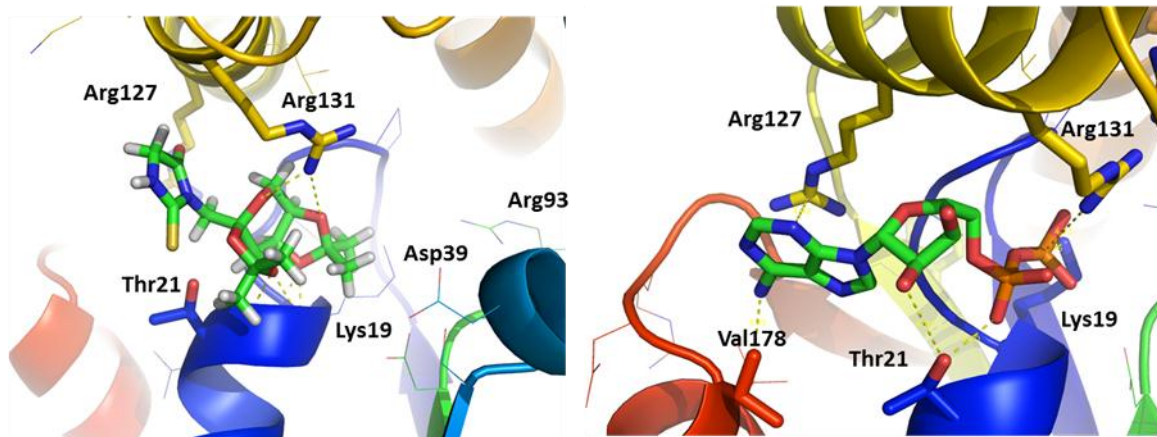
L'arrimage de cette molécule au sein de la poche ATP a pu être réalisé à l'aide du logiciel ARGUS Lab. Cela a permis en outre de visualiser les contacts entre cette 2-thiohydantoïne et chaque NMP kinase considérée (Figure 48). Globalement, on constate que le dérivé **53** se positionne d'une manière proche de l'ATP au sein des différentes NMPK examinées. Toutefois, cette molécule occupe un espace plus restreint compte tenu de son plus faible volume.

A) UMP/CMP kinase + 2-thiohydantoïne 53 UMP/CMP kinase de *Dictyostelium discoideum* * + ADP (pdb id: 2UKD)



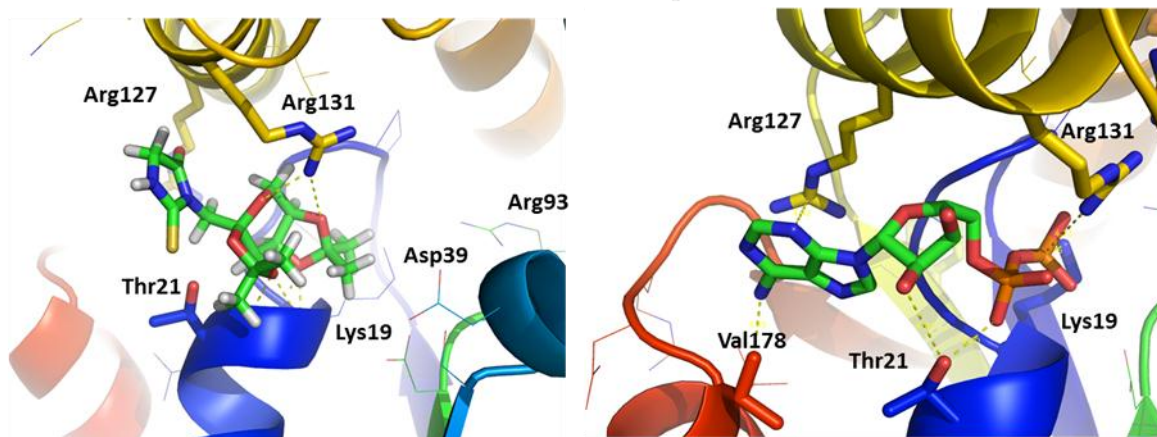
* Idem humaine, structure non publiée

A) UMP/CMP kinase + 2-thiohydantoïne 53 UMP/CMP kinase de *Dictyostelium discoideum* * + ADP (pdb id: 2UKD)



* Idem humaine, structure non publiée

A) UMP/CMP kinase + 2-thiohydantoïne 53 UMP/CMP kinase de *Dictyostelium discoideum* * + ADP (pdb id: 2UKD)



* Idem humaine, structure non publiée

Figure 48: Modélisation de ligands au sein des sites ATP des NMPK: A) Modélisation de la 2-thiohydantoïne 53 au sein du site ATP de l'UMP-CMPK humaine et de l'ADP sein du site ATP de l'UMP-CMPK *Dictyostelium discoideum*. B) Modélisation de la 2-thiohydantoïne 53 et de l'ADP au sein du site ATP de la TMPK humaine. C) Modélisation de la 2-thiohydantoïne 53 et de l'AP5A au sein du site ATP de l'AK1 humaine.

III- Mesure des activités biologiques

Indépendamment des mesures d'interaction réalisées précédemment, des tests de cytotoxicité ont également été mis en œuvre. Nous avons étudié la toxicité des dérivés de 2-thiohydantoïne et d'imidazole sur des lignées de cellules eucaryotes ainsi que sur des souches bactériennes afin d'en cerner le potentiel thérapeutique.

III-1 Tests de cytotoxicité sur cellules HeLa et HEK-293

III-1-a) Test de cytotoxicité sur cellules cancéreuses HeLa

Cette lignée cellulaire a été mise au point pour des recherches sur le cancer. En effet, elle a pour origine des cellules du cervix provenant d'une patiente, Henrietta Lacks, atteinte d'un cancer cervical. Ces cellules cancéreuses, dites immortalisées en culture, se caractérisent par des vitesses de division très grandes.

- Mesure de la cytotoxicité à 100 μ M

Dans un premier criblage, chacune des 28 molécules est testée à 100 μ M, le composé est considéré comme cytotoxique quand le pourcentage de survie cellulaire est inférieur à 50%. Dans ces conditions, douze molécules se sont avérées être cytotoxiques sur les cellules HeLa (Figure 49).

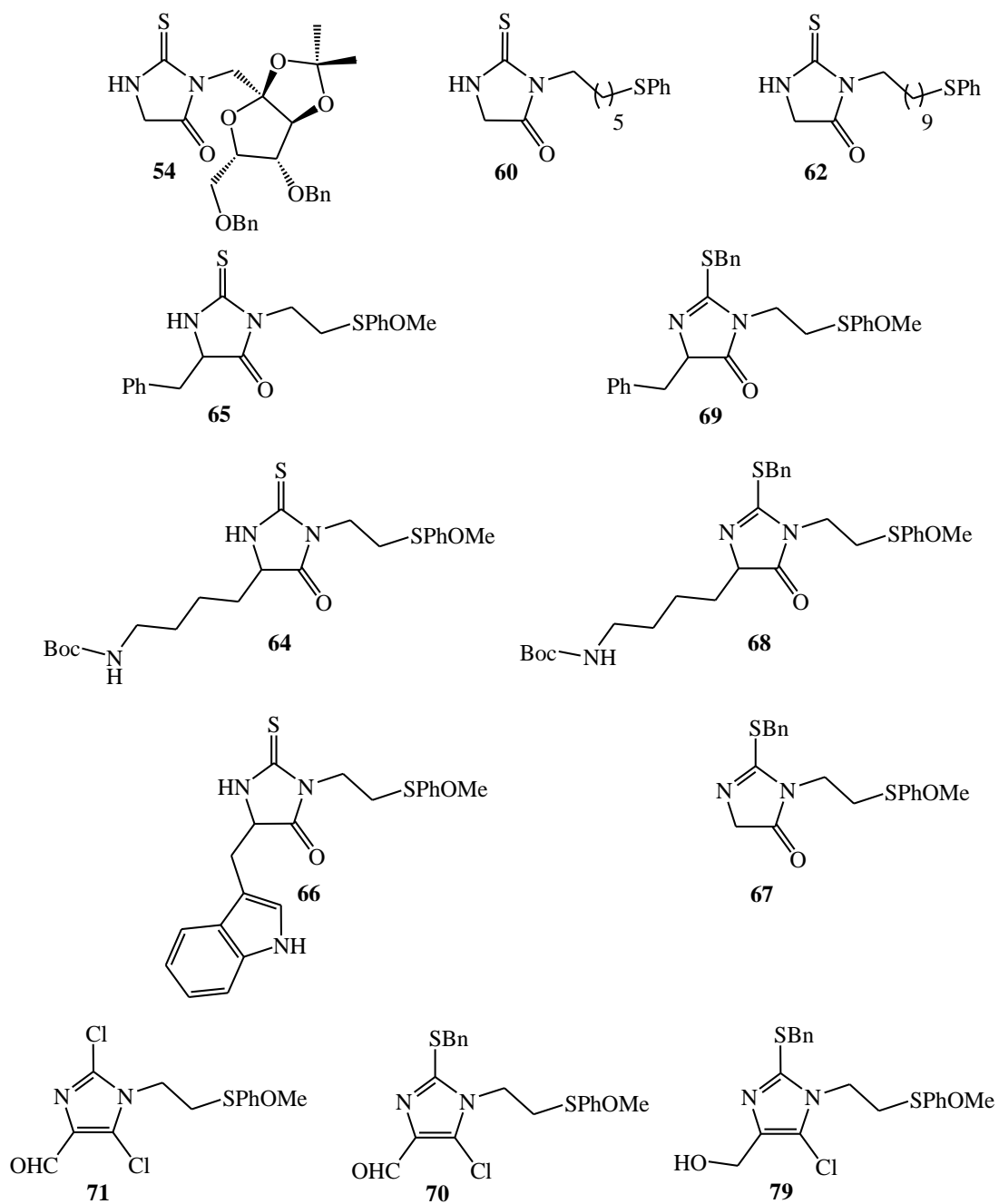


Figure 49: 2-Thiohydantoïnes et imidazoles cytotoxiques à 100 μ M

- Détermination de l' EC_{50}

Les EC_{50} des molécules précédentes ont été déterminés grâce au test XTT à différentes concentrations pour chaque composé (Tableau 27).

Molécules	54	60	62	65	69	64
EC₅₀ (μM)	38 ± 6	18 ± 3	10 ± 2	32 ± 5	8 ± 1	42 ± 6
Molécules	68	66	67	71	70	79
EC₅₀ (μM)	29 ± 4	17 ± 3	42 ± 6	11 ± 2	22 ± 3	79 ± 12

Tableau 27: Valeurs des EC₅₀ des molécules testées

- Relation Structure Activité

L'objectif était de déterminer une relation entre la structure des composés et l'activité cytotoxique de ceux-ci.

Série 2-thiohydantoïnes

Concernant la fonctionnalisation en N-3, aucune cytotoxicité n'a été trouvée pour les trois composés représentés sur la Figure 50.

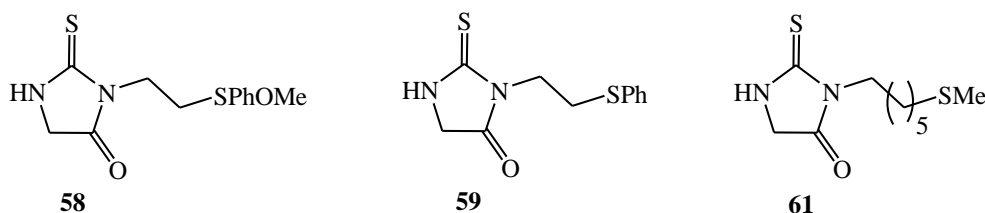


Figure 50: 2-thiohydantoïnes non cytotoxiques

En revanche, les deux molécules suivantes N-3 fonctionnalisées avec des chaînes carbonées plus longues sont cytotoxiques (Figure 51).

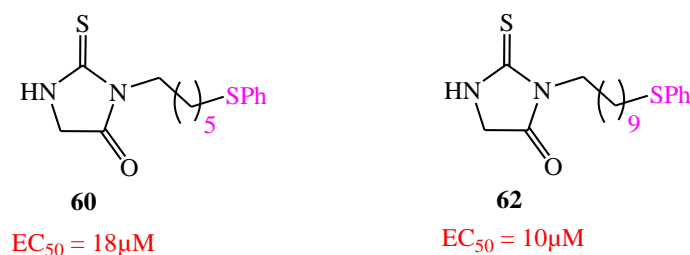


Figure 51: 2-thiohydantoïnes cytotoxiques

Les valeurs des EC₅₀ indiquent que plus la chaîne carbonée est longue plus la molécule est cytotoxique, de plus la présence d'un groupement phényle en bout de chaîne semble également indispensable à cette cytotoxicité.

Les 2-thiohydantoïnes plutôt hydrophiles, dérivée du D-fructopyranose et du carbonate de glycérol ne sont pas cytotoxiques, à l'exception de celle dérivée du L-sorbofuranose qui présente un EC_{50} de 38 μ M (Figure 52).

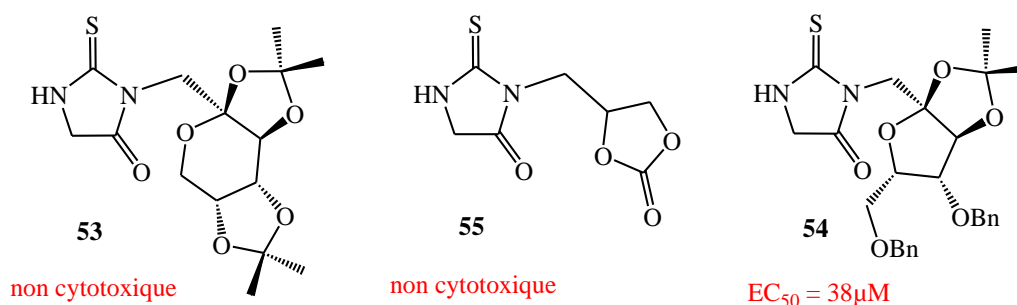


Figure 52: Cytotoxicité des 2-thiohydantoïnes hydrophiles N-3 substituées 53, 54 et 55

D'autre part, les molécules possédant une chaîne latérale en position 5 sont toute cytotoxiques avec des EC_{50} notables (Figure 53).

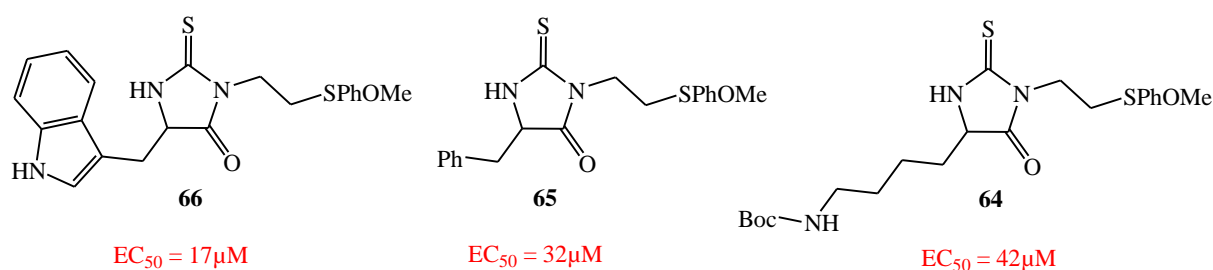


Figure 53: Cytotoxicité des 2-thiohydantoïnes C-5 fonctionnalisées 64, 65 et 66

Enfin, la S-benzylation en position 2 induit une augmentation de la cytotoxicité comme le montre la diminution des valeurs d' EC_{50} des composés suivants (Figure 54).

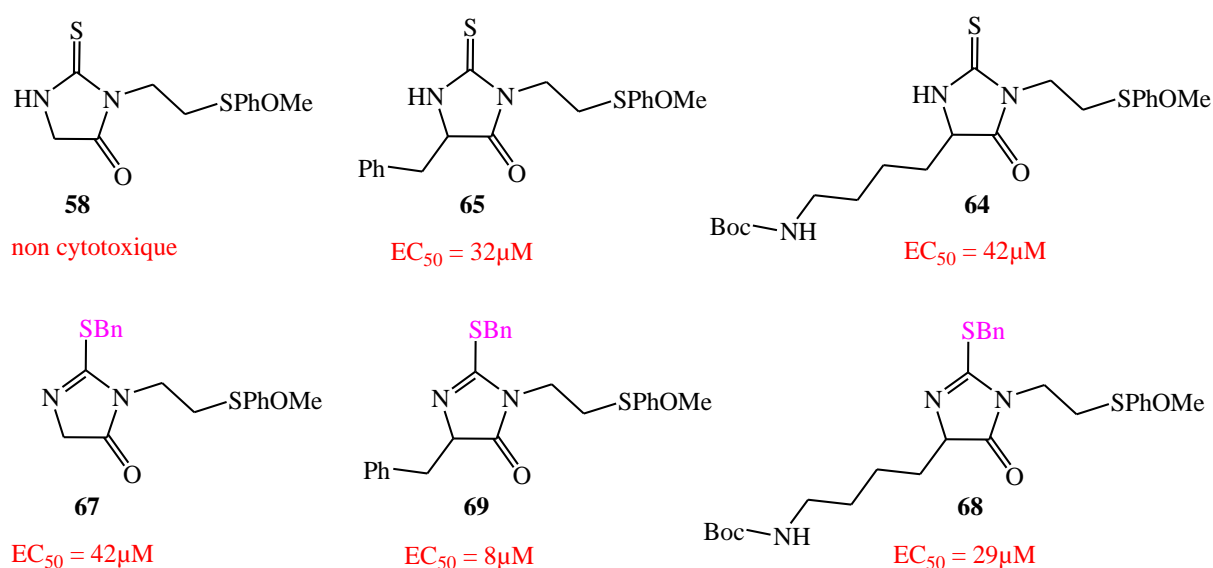


Figure 54: Influence de la thiobenzilation sur la cytotoxicité

Série imidazoles

Pour la série imidazoles, seuls les composés formylés en position 5 sont cytotoxiques. Les dérivés obtenus par réaction avec cet aldéhyde ne sont pas cytotoxiques à l'exception de l'alcool qui a cependant un EC_{50} assez élevé (Figure 55).

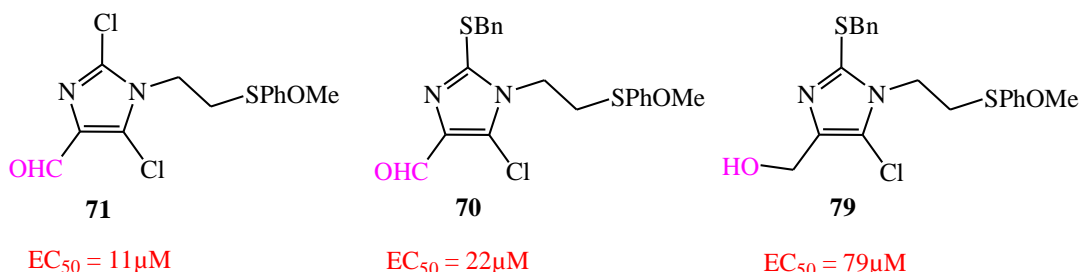


Figure 55: Molécules cytotoxiques pour la série imidazole

Cette série de mesures nous a permis de classer les composés cytotoxiques en relation avec leur structure et de proposer les groupements chimiques déterminants pour cette cytotoxicité.

Pour la série 2-thiohydantoïnes, les molécules les plus toxiques possèdent une longue chaîne carbonée en N-3 terminée par un groupement phényle, une chaîne latérale en position 5 et un groupement benzylsulfanyle en position 2.

Pour la série imidazoles, les deux composés **70** et **71** formylés en position 5 présentent une cytotoxicité élevée.

Les molécules **69** en série thiohydantoïne et **71** en série imidazole présentent des EC_{50} proches de $10\mu M$ (Figure 56). Pour chacune des deux séries, nous avons ainsi une estimation de la structure des molécules à synthétiser pour tendre vers des valeurs d' EC_{50} de l'ordre de $10\mu M$.

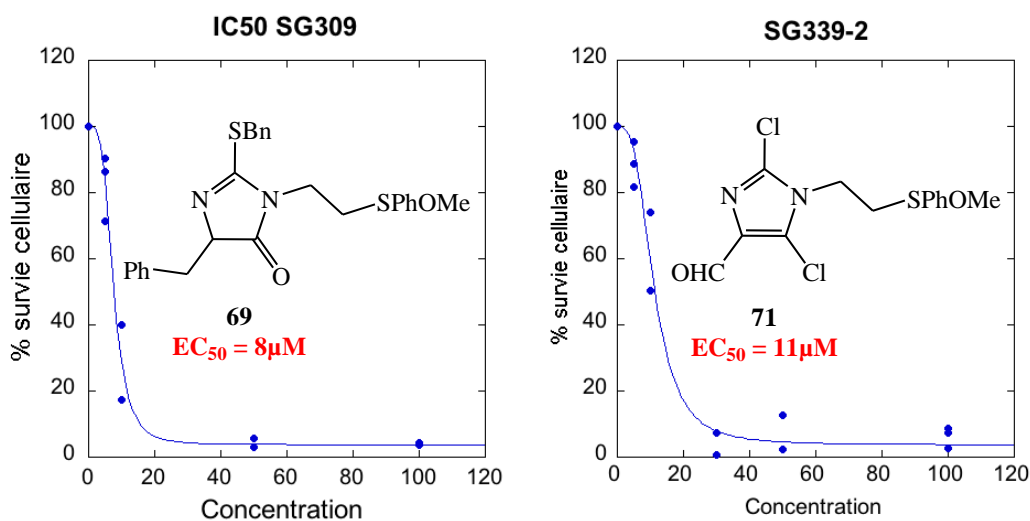


Figure 56: Mesure d' EC_{50} sur cellules HeLa: pourcentage de survie cellulaire en fonction de la concentration en composés **69** et **71**

III-1-b) Tests de cytotoxicité sur les cellules HEK-293

Par soucis de comparaison, l'ensemble des molécules a aussi été testé sur une autre lignée cellulaire transformée du rein. La lignée HEK-293 a été établie à partir de cellules embryonnaires humaines de rein (Human Embryonic Kidney), prélevées sur un fœtus avorté et transformées par un fragment du génome de l'adénovirus 5. Ces cellules ne sont pas des cellules cancéreuses à proprement parler, elles ont été utilisées pour faire la comparaison avec les cellules HeLa.

19 molécules, dont les 12 molécules précédentes, induisent un pourcentage de survie cellulaire inférieur à 50% à 100 μ M et peuvent donc être considérées comme cytotoxiques. Un plus grand nombre de composés sont cytotoxiques sur cellules HEK-293 que sur cellules HeLa.

Les valeurs d'EC₅₀ n'ont pas été toutes mesurées, à titre comparatif pour l'imidazole **71** nous avons obtenu une valeur d'EC₅₀ de 21 μ M ce qui indique une cytotoxicité non négligeable (Figure 57).

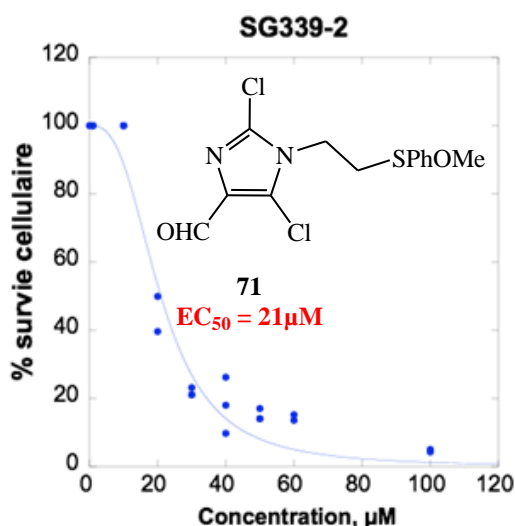


Figure 57: Mesure d'EC₅₀ sur cellules HEK-293: pourcentage de survie cellulaire en fonction de la concentration en composé 71

III-2 Tests antimicrobiens

Les tests de cytotoxicité réalisés sur cellules HeLa et HEK-293 ont mis en évidence un potentiel anti-tumoral de nos molécules. Afin de déterminer si nos 28 composés possèdent également une activité antibactérienne ie une toxicité vis-à-vis de cellules procaryotes, des tests antimicrobiens ont été réalisés sur des souches de bactéries Gram-positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et Gram-négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922).

Pour les deux types de souches, toutes les valeurs de DO₆₃₀ (turbidité de la solution) sont supérieures ou égales à la valeur du témoin négatif c'est-à-dire induisant 100% de

croissance bactérienne. Ainsi nous avons pu conclure que nos composés ne possédaient pas d'activité antibactérienne et agissent sélectivement sur les cellules eucaryotes faisant d'eux des anticancéreux potentiels.

IV- Inhibition du protéasome

IV-1 Introduction sur le protéasome

IV-1-a) Généralités sur le protéasome

Au sein de l'organisme, la dégradation constante des protéines est nécessaire au maintien du bon fonctionnement de notre corps. Par exemple, elle permet le bon déroulement des différentes phases du cycle de la division cellulaire ou l'élimination des protéines anormalement repliées ou endommagées suite à des mutations ou des lésions. Cette protéolyse permet aussi le recyclage des acides aminés nécessaires à la production de nouvelles protéines. Cette dégradation est assurée par de grands complexes constitués de plusieurs enzymes: les protéasomes. Au sein de ceux-ci, six sites actifs, identiques deux à deux, participent à la coupure des protéines en différents endroits.

Ainsi, le protéasome joue un rôle prépondérant dans de nombreux processus biologiques (Figure 58).

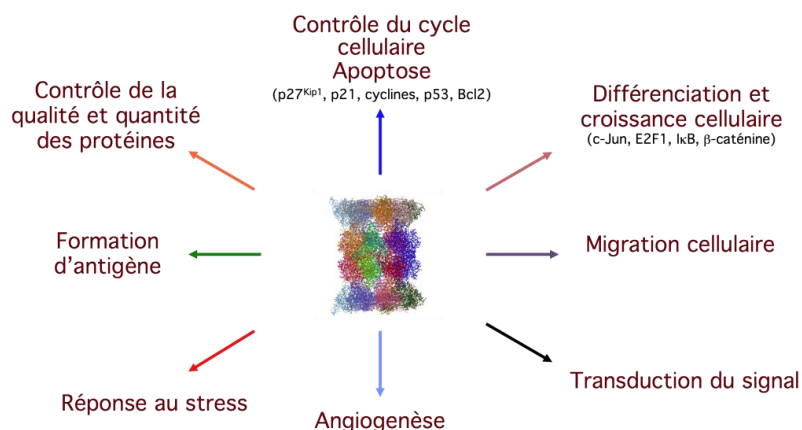


Figure 58: Représentation schématique de l'implication du protéasome dans les processus biologiques

Le protéasome est un complexe multi-protéique ubiquitaire présent chez les eucaryotes dans le cytoplasme et dans le noyau. Le protéasome 26S (2,5 MDa) est formé de deux complexes: la particule catalytique 20S (700 kDa) et deux particules régulatrices 19S (Figure 59).²⁷¹

²⁷¹ Hanna, J.; Finley, D. *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 2854-2861.

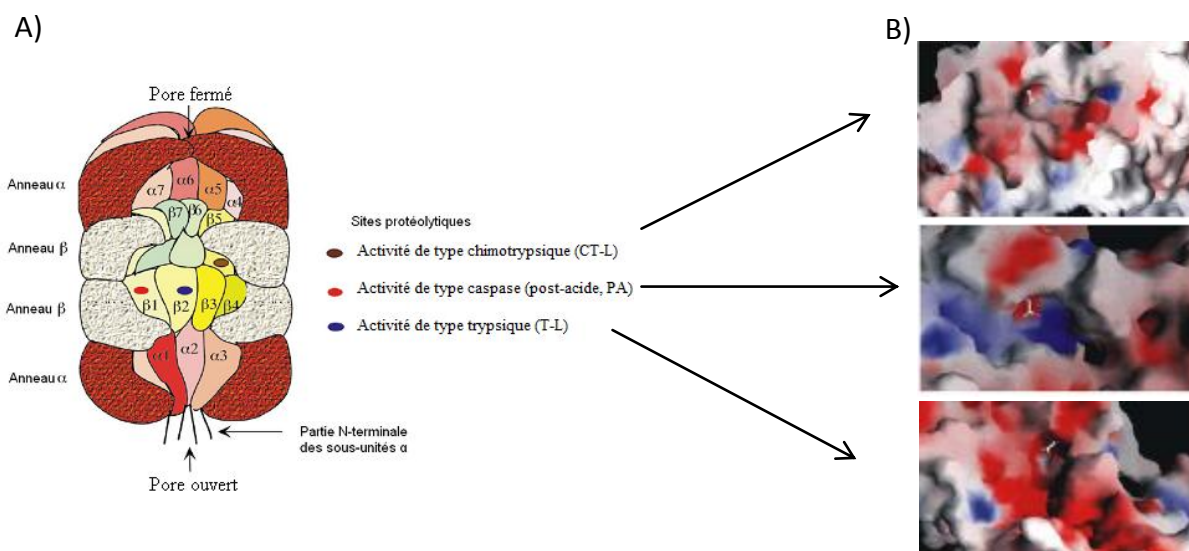


Figure 59: A) Schématisation d'une coupe longitudinale du protéasome 20S eucaryote.²⁷² B) Représentation de la surface des sites actifs en fonction du potentiel électrostatique. Potentiel électrostatique de surface: positif (bleu); négatif (rouge). Le site CT-L est plutôt apolaire ; le site PA est nettement chargé positivement alors que le site T-L est nettement chargé négativement.

Le protéasome appartient à la famille des hydrolases à nucléophile N-terminal (Ntn hydrolases). Ces enzymes utilisent leur résidu N-terminal comme nucléophile afin d'effectuer la catalyse. Le protéasome se distingue cependant en étant l'unique protéase utilisant une thréonine N-terminale. Le mécanisme d'action est particulier²⁷³ (Schéma 118): l'amine N-terminale libre de la thréonine va arracher un proton à une molécule d'eau qui va elle-même pouvoir arracher un proton à l'alcool de la chaîne latérale de la thréonine, ce qui aura pour conséquence de le rendre réactif. L'oxygène O^γ ainsi activé va alors pouvoir réaliser une attaque nucléophile sur le carbonyle de la liaison peptidique sécable du substrat aboutissant à la formation d'un intermédiaire tétraédrique. L'oxyanion de cet intermédiaire est stabilisé par une liaison hydrogène impliquant la glycine 47 (trou oxyanion). L'intermédiaire tétraédrique va évoluer rapidement vers une acyl-enzyme, libérant la partie C-terminale du substrat. L'acyl-enzyme sera ensuite hydrolysée suite à l'activation d'une molécule d'eau, certainement réalisée par l'amine N-terminale de la thréonine active, aboutissant à un nouvel intermédiaire tétraédrique. Ce dernier conduira rapidement à la libération de la partie N-terminale du substrat et à la régénération de la thréonine active.

²⁷² Kisselev A.F.; Goldberg A.L.; *Chem. Biol.* **2001**, 8, 739-758.

²⁷³ a) Bayot, A.; Basse, N.; Lee, I.; Gareil, M.; Pirotte, B.; Bulteau, A.L.; Friguet, B.; Reboud-Ravaux, M. *Biochimie* **2008**, 90, 260-269. b) Marques, A.J.; Palanimurugan, T.; Matias, A.C.; Ramos, P.C.; Dohmen, R.J. *Chem. Rev.* **2009**, 109, 1509-1536.

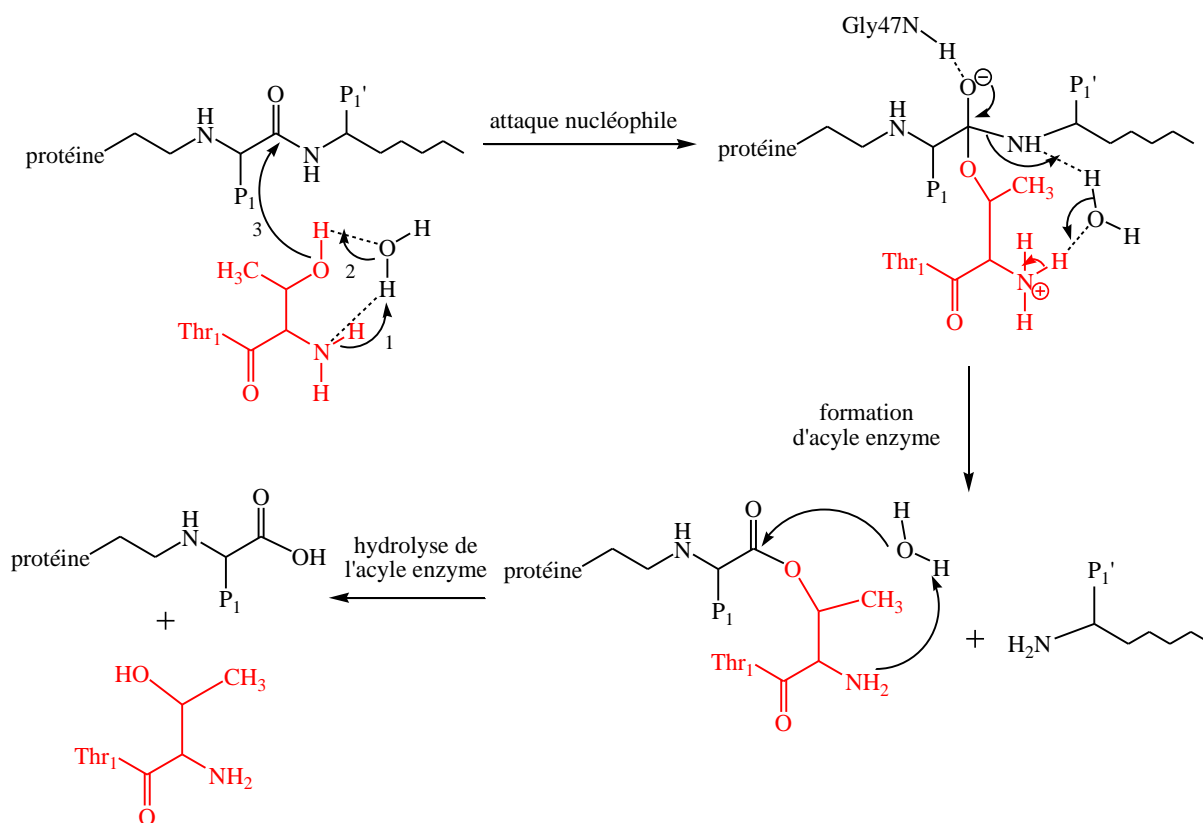


Schéma 118: Schéma du mécanisme d'action postulé du protéasome pour l'hydrolyse des protéines

IV-1-b) Ciblage thérapeutique du protéasome

Le rôle clé joué par le protéasome dans la progression du cycle cellulaire ou dans l'apoptose en fait une cible prometteuse pour la recherche de nouveaux traitements contre le cancer. Notamment, les inhibiteurs du protéasome offrent des opportunités thérapeutiques liées à leur très faible toxicité parce qu'ils induisent sélectivement l'apoptose des cellules tumorales et épargnent les cellules normales.

Un seul inhibiteur est actuellement utilisé en thérapeutique, le bortezomib dans le traitement du myélome multiple et du lymphome du manteau.²⁷⁴

La recherche de nouveaux inhibiteurs du protéasome est très active d'une part parce que des effets secondaires graves ont été décrits lors de l'utilisation du bortezomib, d'autre part parce qu'une grande variété de pathologies peuvent bénéficier de traitements par des inhibiteurs du protéasome. On peut citer par exemple les désordres inflammatoires et immunologiques, l'infarctus du myocarde, les myopathies, les infections bactériennes et virales.²⁷⁵

²⁷⁴ Adams, J. Ed. **2004** *Proteasome inhibitors in cancer therapy*; Humana Press Inc.: Totowa, New Jersey.

²⁷⁵ a) Borissenko, L.; Groll, M. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 687-717. b) Galbiati, F.; Volonté, D.; Minetti, C.; Bregman, D.B.; Lisanti, M.P. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 37702-37711.

IV-1-c) Inhibiteurs du protéasome

Il existe un nombre relativement limité d'inhibiteurs connus du protéasome.^{275a} Ils sont classés en deux grandes familles: les inhibiteurs covalents et les inhibiteurs non covalents, les plus courants d'entre eux sont répertoriés dans le Tableau 28.

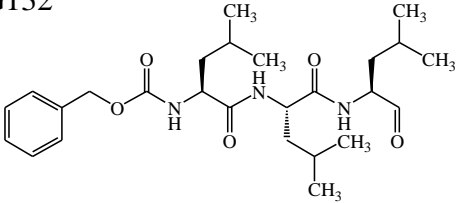
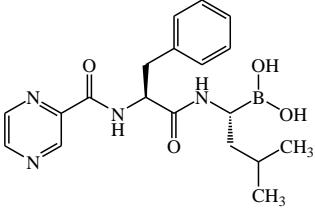
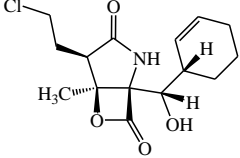
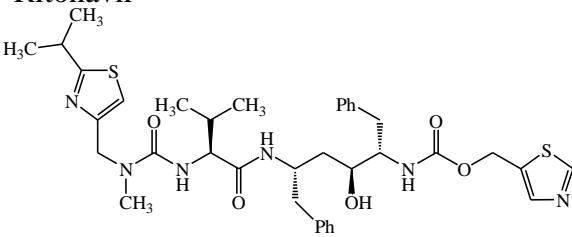
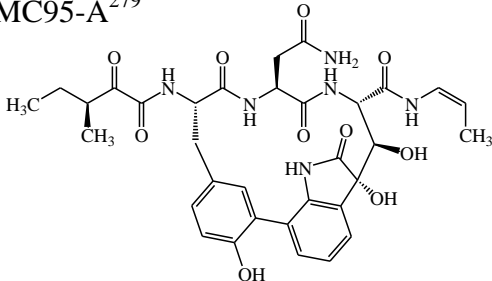
Type d'inhibiteurs	Structure chimique
Inhibiteurs covalents	MG132 ²⁷⁶ 
	Bortezomib (Velcade®) ²⁷⁴ 
	Salinosporamide ²⁷⁷ 
Inhibiteurs non-covalents	Ritonavir ²⁷⁸ 
	TMC95-A ²⁷⁹ 

Tableau 28: Inhibiteurs covalents et non covalents du protéasome

²⁷⁶ Wentz, M.N.; Eibl, G.; Reber, H.A.; Friess, H.; Büchler, M.W.; Hines, O.J. *Oncol. Rep.* **2005**, *14*, 1635-1638.

²⁷⁷ Groll, M.; Huber, R.; Potts, B.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5136-5141.

²⁷⁸ Schmidtke, G.; Holzhütter, H.G.; Bogoy, M.; Kairies, N.; Groll, M.; de Giuli, R.; Emch, S.; Groettrup, M. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 35734-35740.

²⁷⁹ a) Koguchi, Y.; Kohno, J.; Nishio, M.; Takahashi, K.; Okuda, T.; Ohnuki, T.; Komatsubara, S. *J. Antibiot. (Tokyo)* **2000**, *53*, 105-109. b) Kohno, J.; Koguchi, Y.; Nishio, M.; Nakao, K.; Kuroda, M.; Shimizu, R.; Ohnuki, T.; Komatsubara, S. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 990-995.

IV-2 Résultats et discussion

L'ensemble des dérivés de 2-thiohydantoïne et d'imidazole ont été testés sur les trois activités CT-L, P-A et T-L du protéasome 20S humain. Deux structures ont plus particulièrement montré des effets inhibiteurs modérés, un imidazole sur la sous-unité PA et une 2-thiohydantoïne sur la sous-unité T-L (Figure 60).

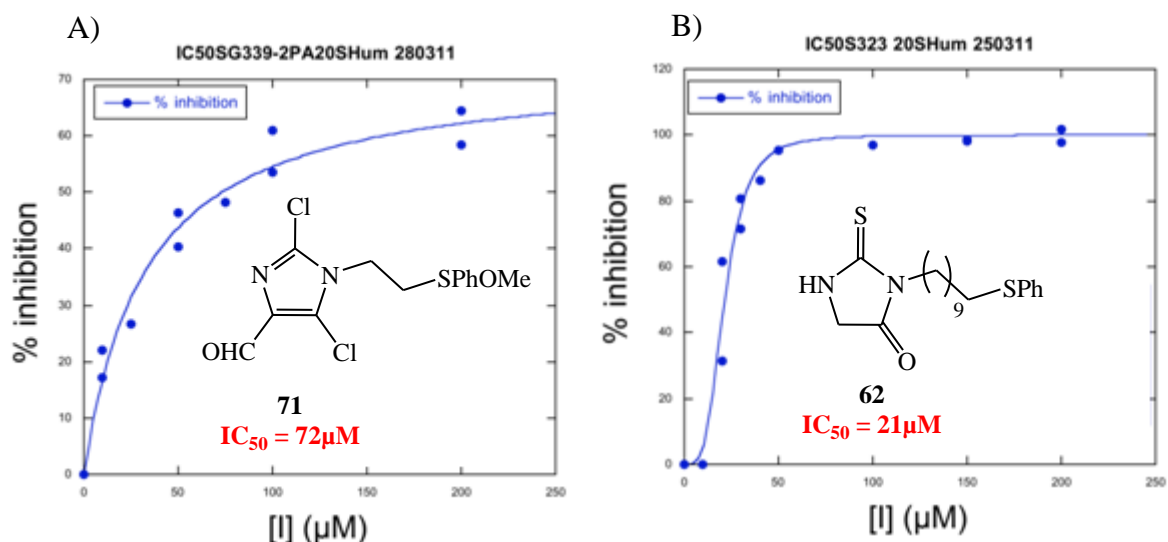


Figure 60: A) Inhibition de l'activité PA du protéasome 20S par l'imidazole 71 B) Inhibition de l'activité T-L du protéasome 20S par la 2-thiohydantoïne 62

Des effets inhibiteurs de l'ordre de 70μM ont été observés pour la molécule **71** sur l'activité PA. Pour le composé **62** l'inhibition sur l'activité T-L se situe autour de 20μM.

Lors de la mesure des activités biologiques nous avons mesuré une cytotoxicité de 11 μM sur cellules HeLa et de 21 μM sur cellules HEK-293 pour l'imidazole **71**. Ces résultats seraient éventuellement à mettre en relation avec la capacité d'inhibition de ce composé sur la sous-unité PA du protéasome étant donné que celui-ci joue un rôle important dans le phénomène d'apoptose.

Conclusion

L'objectif principal de ces tests biologiques était d'établir une hiérarchie de l'affinité des dérivés de 2-thiohydantoïne et d'imidazole vis-à-vis du site ATP des NMPK. Au vu des résultats obtenus à l'aide de la spectroscopie de dichroïsme circulaire et de déplacement de fluorescence de la sonde Mant-ATP une dizaine de structures de type 2-thiohydantoïne et imidazole diversement substituées en N-3 (groupements hydrophiles ou hydrophobes d'encombrement variable) se sont révélés interagir avec le site donneur des NMPK.

Parmi ces structures, les molécules **53** et **85** présentaient les plus grandes affinités vis-à-vis des sites ATP des NMPKs et en particulier de la TMPK humaine (Figure 61).

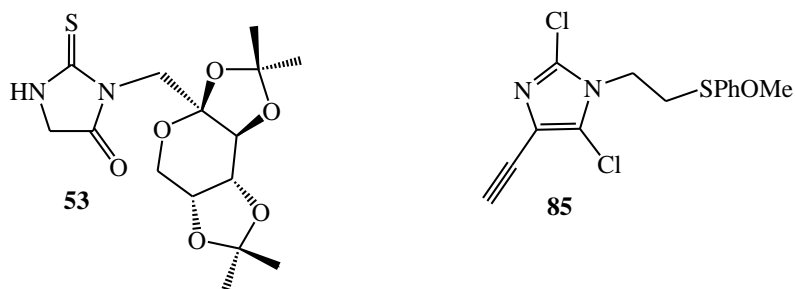


Figure 61: Structures présentant une bonne affinité pour le site ATP des NMPK

La bonne affinité de la 2-thiohydantoïne **53** montre la possibilité d'introduire dans le site actif donneur des molécules relativement encombrée en N-3.

Cependant, la présence d'un groupement hydrophobe sur cette position est également envisageable comme le montre la structure de l'imidazole **85**. De plus, l'alcyne en position 4 représente un point d'ancrage pour une réaction de ligation de « click chemistry » avec un accepteur de phosphate.

Une seconde série de tests nous a permis d'identifier les structures des molécules cytotoxiques sur cellules cancéreuses HeLa et cellules HEK-293.

Les 2-thiohydantoïnes substituées par une chaîne hydrophobe en N-3, une chaîne latérale en C-5 et S-benzylées en position 2 sont les plus cytotoxiques.

Pour la série imidazoles, le formyle en position 4 semble indispensable à la cytotoxicité.

Ainsi, les molécules **69** et **71** présentent des EC_{50} proche des $10\mu\text{M}$ (Figure 62).

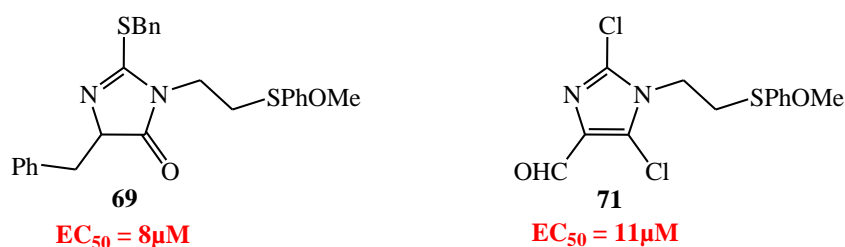


Figure 62: Cytotoxicité des molécules 69 et 71

Nous avons également observé, à titre de comparaison, que l'ensemble des molécules cytotoxiques sur cellules HeLa, l'étaient aussi sur cellules HEK-293.

Enfin, deux molécules se sont révélées être des inhibiteurs modérés du protéasome, la 2-thiohydantoïne **62** sur la sous-unité T-L et l'imidazole **71** sur la sous-unité PA (Figure 63).

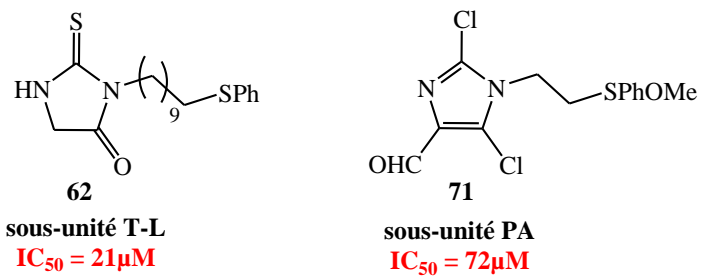


Figure 63: Inhibition des molécules 62 et 71 sur les sous-unités T-L et PA respectivement

Conclusion générale

Ce projet de chimie bio-organique basé sur le concept de chimie dynamique combinatoire avait pour objet de concevoir des inhibiteurs ou ligands de nucléosides monophosphate kinases (NMPK). L'élaboration de ces composés nécessitait la synthèse d'analogues d'accepteur de phosphate et de mimes de donneur de phosphate, le couplage au sein de la matrice enzymatique de ces deux entités par l'intermédiaire de fonctions réactives permettant par la suite d'aboutir à un inhibiteur optimal.

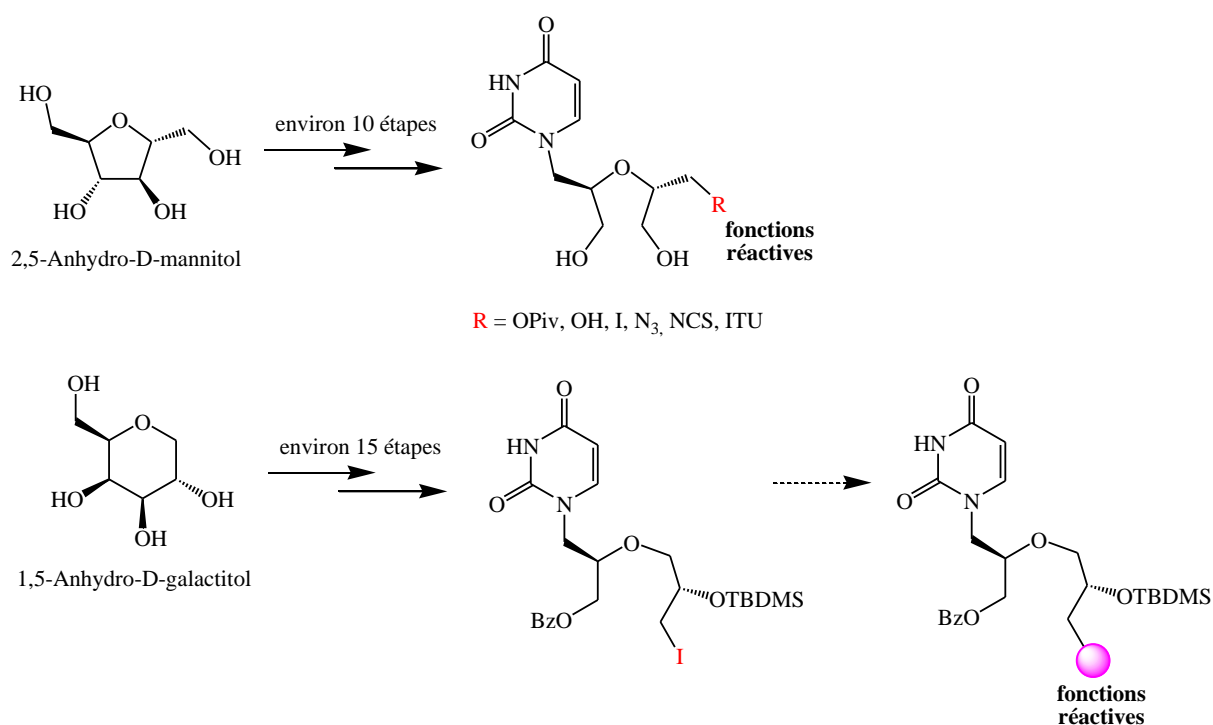
Les molécules obtenues suite au travail de synthèse ont été testées sur les enzymes cibles de notre projet, les NMPK.

De plus des études de cytotoxicité ont été réalisées apportant un regard important sur le potentiel thérapeutique de ces composés.

I- Analogues d'accepteur de phosphate

La synthèse des analogues d'accepteur de phosphate a été réalisée parallèlement à mon travail de thèse au laboratoire par Sophie Raimbault. En se basant sur le modèle de la Cytidine et du Cidofovir, la substitution du ribose par une structure de type glycérol constituait la clé de cette synthèse.

Ainsi un ensemble d'analogues comportant des fonctions réactives nécessaires à la ligation ont été obtenus par fonctionnalisation du 2,5-anhydro-D-mannitol et du 1,5-anhydro-D-galactitol (Schéma 119).



Sch\u00e9ma 119: Analogues de donneur de phosphate obtenus \u00e0 partir du 2,5-anhydro-D-mannitol et du 1,5-anhydro-D-galactitol

Concernant les tests biologiques, les molécules jouant le rôle d'accepteur sont spécifiques de part leur structure d'un type de NMPK et ont été testées sur des pyrimidines NMPK c'est à dire l'UMP-CMP kinase et la TMP kinase.

Toutes les molécules testées ont révélé une inhibition à des degrés divers sur l'UMP-CMPK humaine bien que l'inhibition ne soit pas quantifiable pour certaines. Concernant la TMPK, alors que l'effet inhibiteur est globalement faible sur la TMPK humaine, certains composés se sont avérés actifs sur la TMPK du virus de la vaccine (Figure 64).

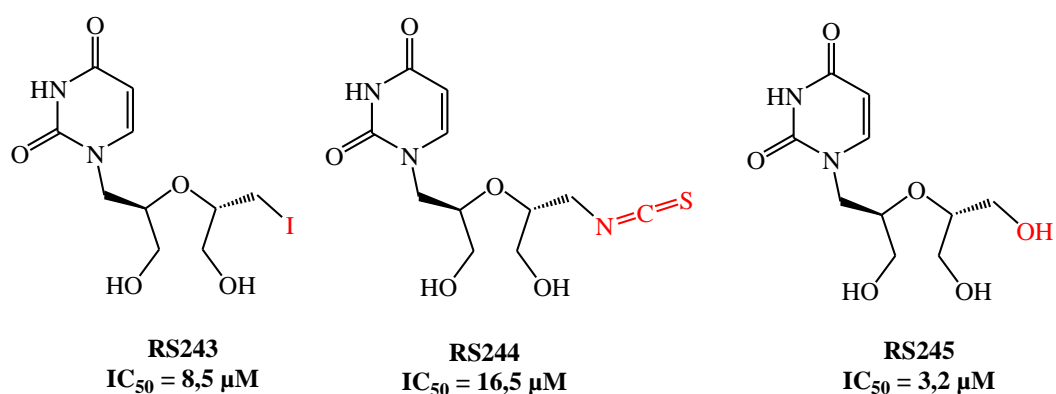


Figure 64: Inhibition de la TMPK du virus de la vaccine par des analogues d'accepteur de phosphate

Enfin, les mesures de cytotoxicité sur cellules HeLa et HEK-293 ont montré que cette série de molécules n'était globalement pas cytotoxique.

II- Mimes d'ATP

La seconde partie du projet a fait l'objet de mon travail de thèse et reposait sur la pharmacomodulation d'un hétérocycle azoté, la 2-thiohydantoïne, mimant l'adénine au sein du site ATP de la poche enzymatique.

Dans le chapitre 1 nous avons pu développer la synthèse et la fonctionnalisation de cet hétérocycle par la méthode de Schlack-Kumpf. Cette approche nous a permis d'étudier en détail la réactivité de ce noyau et d'aboutir à la formation de molécules tri-aromatiques par couplage pallado-catalysé de type Suzuki-Liebeskind-Srogl (Schéma 120).

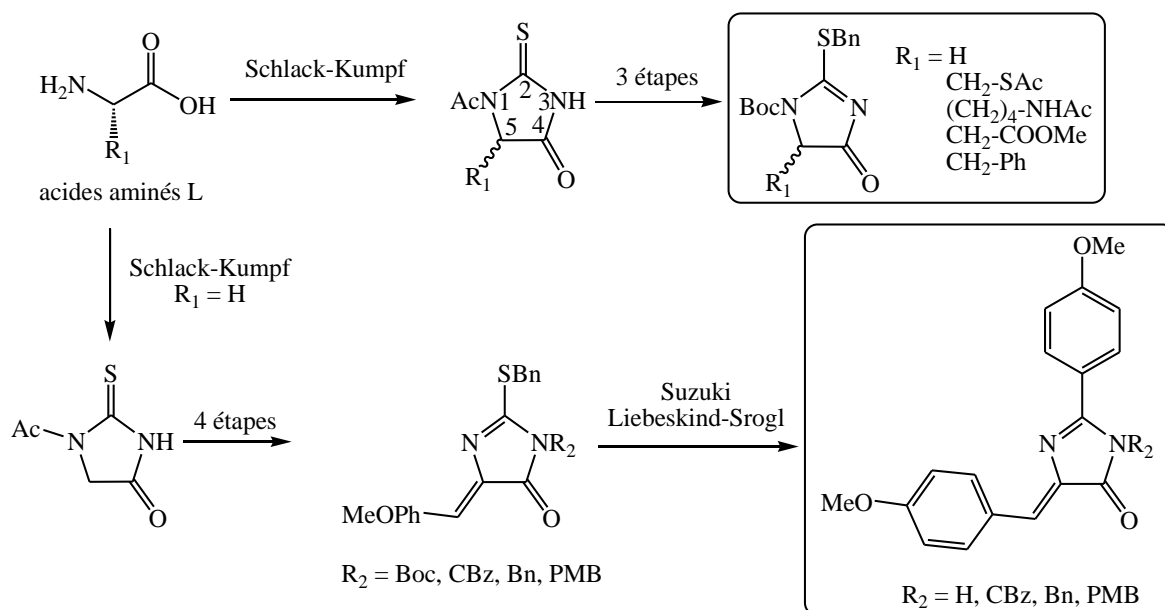


Schéma 120: Synthèse de dérivés de 2-thiohydatoïne en utilisant la méthode de Schlack-Kumpf

Le chapitre 2 nous a permis de diversifier les dérivés de 2-thiohydatoïne en mettant au point une méthode efficace de synthèse à partir d'azotures, conduisant à une modification du protocole d'Edman.

L'obtention des molécules tricycliques synthétisées au chapitre 1 avec un nombre d'étapes moindres et de meilleurs rendements a notamment montré l'efficacité de cette nouvelle voie de synthèse (Schéma 121).

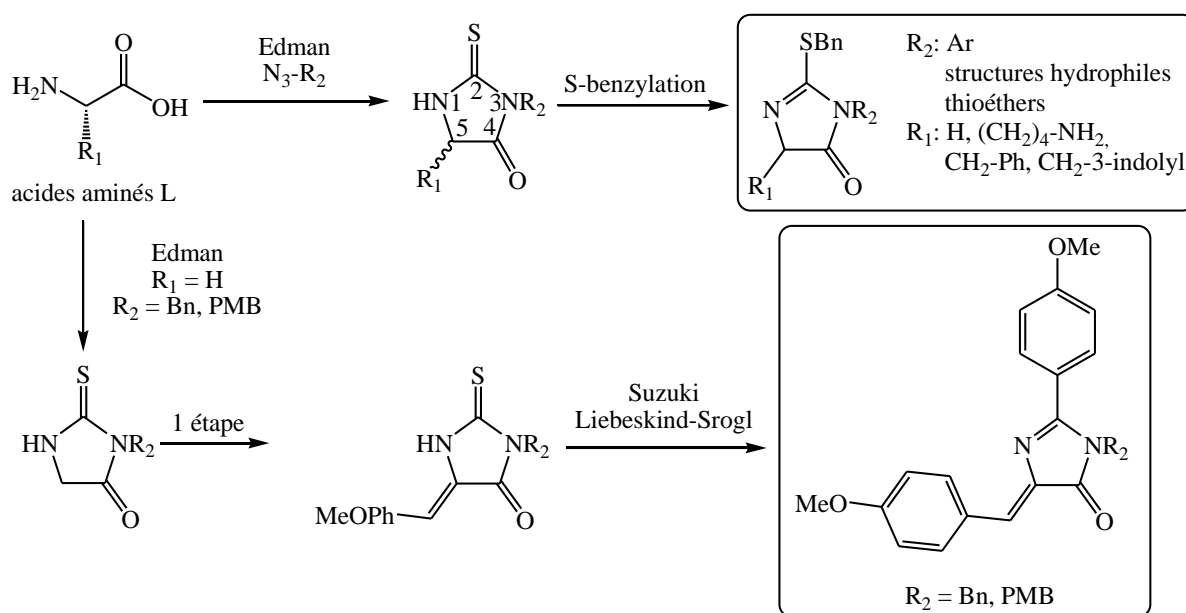


Schéma 121: Synthèse de dérivés de 2-thiohydatoïnes à partir de la méthode adaptée d'Edman

Dans le chapitre 3, nous avons synthétisé de nouvelles structures de type imidazole à partir des 2-thiohydantoïnes formées dans le chapitre 2 en utilisant la réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold.

D'une part, l'ancrage de fonctions réactives nécessaires à la ligation a été réalisé à partir du formyle en position 4.

D'autre part, contrairement à la position 2, peu réactive vis-à-vis des couplages pallado-catalysés, la position 5 est activée par le formyle en C-4 ce qui a permis l'obtention des molécules substituées par couplage de Suzuki classique (Schéma 122).

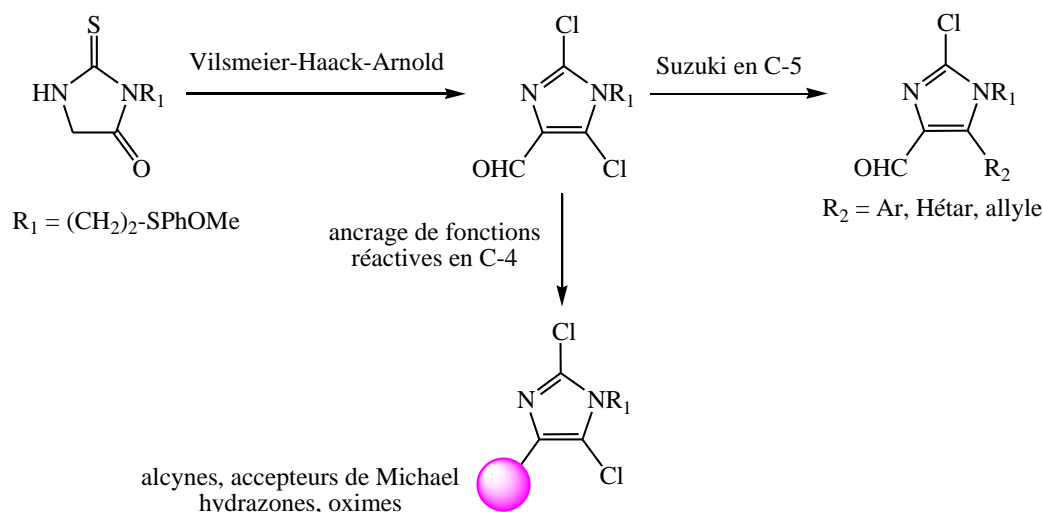


Schéma 122: Accès aux imidazoles à partir des 2-thiohydantoïnes et fonctionnalisation en positions 4 et 5

Dans le dernier chapitre, les dérivés de 2-thiohydantoïne et d'imidazole diversement fonctionnalisés ont été testés sur les NMPK. La spécificité du substrat est plus importante pour l'accepteur que pour le donneur comme l'indique le nom de l'enzyme. De ce fait, contrairement aux analogues d'accepteurs de phosphate, les mimes d'ATP ont pu être testés sur l'adénylate kinase 1 (AK1), la guanylate kinase (GMPK), la tymidilate kinase (TMPK) et l'uridine-cytidine kinase (UMP-CMPK).

L'objectif était d'évaluer de manière qualitative l'affinité des composés synthétisés avec le site donneur des NMPK. Au vu des résultats obtenus, les molécules **53** et **85** se sont avérées particulièrement affines au site ATP des NMPK et notamment de la TMPK humaine (Figure 61).

Parallèlement à cela, des tests de cytotoxicité ont été réalisés sur cellules HeLa et HEK-293, les composés **69** et **71** (Figure 62) ont montré des EC₅₀ de l'ordre de 10 μM pour les cellules HeLa.

De manière totalement distincte, des tests sur le protéasome 20S ont montré des pouvoirs inhibiteurs modérés de la 2-thiohydantoïne **62** sur la sous-unité T-L de l'ordre de 20 μM et de l'imidazole **71** sur la sous-unité P-A autour de 70 μM (Figure 63).

La cytotoxicité de la molécule **71** sur cellules HeLa et HEK-293 serait alors éventuellement à mettre en relation avec sa capacité d'inhibition du protéasome.

III- Couplage de l'accepteur et du donneur de phosphate

Dans la dernière partie de ce projet, nous devons réaliser le couplage entre l'accepteur et le donneur de phosphate afin de créer des inhibiteurs potentiels.

Un potentiel important en termes de réactivité réside dans la fonction azoture ancrée sur les analogues d'accepteurs de phosphate. En effet, celle-ci peut être à l'origine de réactions irréversibles de click chemistry. D'autre part, les fonctions ITC ou amine sont facilement accessibles à partir de l'azoture élargissant les possibilités de réactions (Schéma 123).

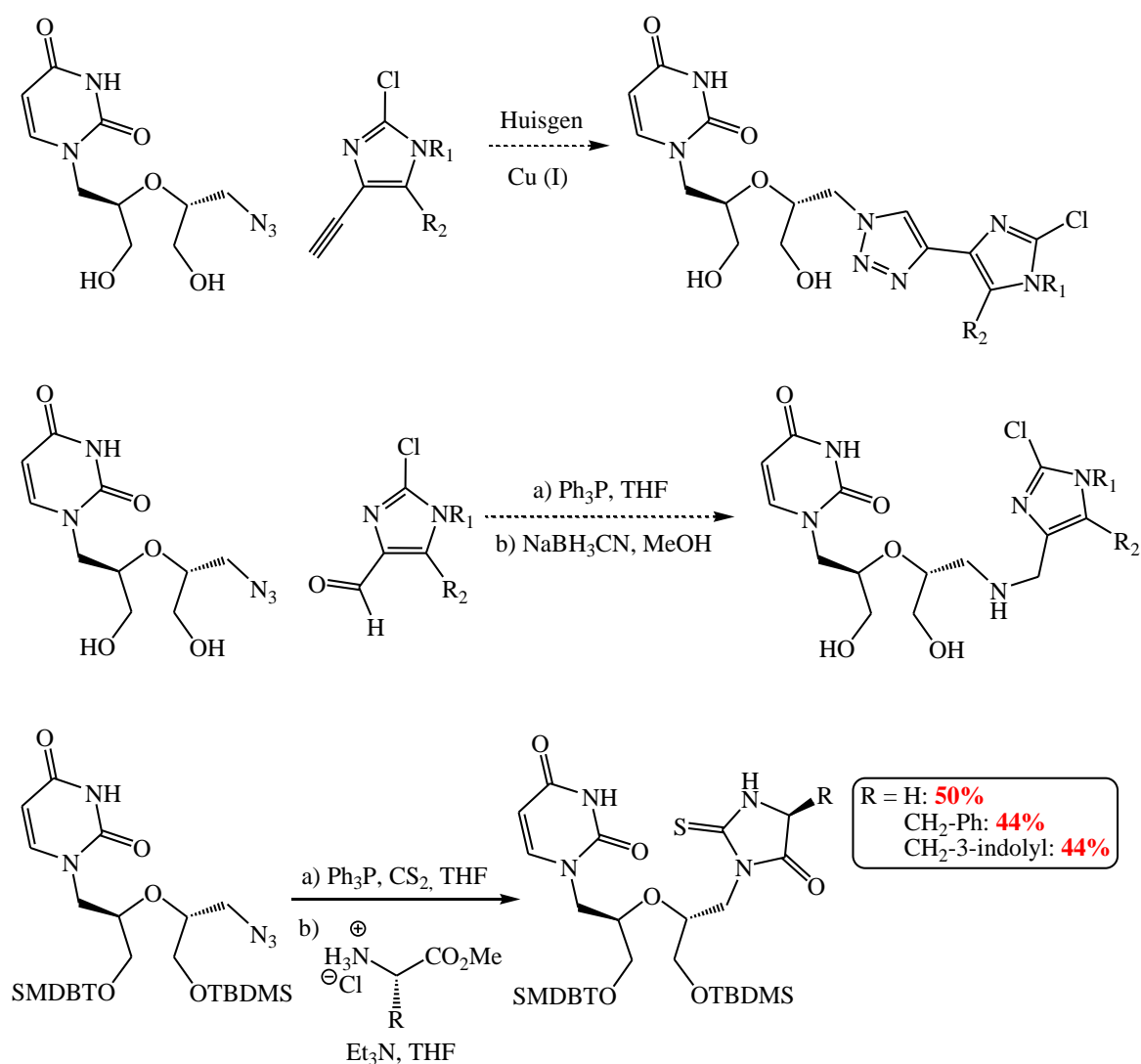


Schéma 123: Réactions de couplages entre l'accepteur et le donneur de phosphate à partir de la fonction azoture

Par manque de temps, nous n'avons pu essayer de coupler l'analogue de nucléosides aux dérivés d'imidazoles par cycloaddition de Huisgen.

Nous avons débuté l'investigation de la réaction de Staudinger suivie d'une amination réductrice permettant l'association des deux entités *via* une amine. Comme détaillé au chapitre 3, l'imine intermédiaire a été formée mais nous ne sommes pas parvenus à isoler l'amine souhaitée.

Enfin, la formation des 2-thiohydantoïnes à partir d'azotures ancrés sur l'accepteur de phosphate par la méthodologie développée au chapitre 2 a permis d'aboutir à des dérivés couplés comportant une base, un linker et un noyau hétéroaromatique. L'obtention d'une série de molécules analogues par modulation des accepteurs de phosphate constitue donc une bonne perspective de synthèse et permettrait de poursuivre et de compléter l'étude sur les NMPK. Cette dernière méthode pourrait permettre de concevoir une sélection *in situ* de la formation de 2-thiohydantoïnes par la réaction d'isothiocyanates et d'esters d'acides aminés au sein des enzymes NMPK.

Partie expérimentale

I- Matériel et méthodes

I-1 Réactifs et solvants

La plupart des réactifs qui ont été utilisés lors de ce doctorat sont commerciaux (Acros, Aldrich, Lancaster, Merck ou Apollo). Le CuMeSal et le CuTc ont été préparés selon les procédures décrites par Liebeskind.^{97, 280}

Les réactions nécessitant des conditions anhydres ont été réalisées dans de la verrerie préalablement séchée à l'étuve à 120°C et sous courant d'argon.

Les solvants utilisés sont de qualité HPLC ou ont été distillés selon les procédés²⁸¹ suivants:

- le dichlorométhane (DCM) a été distillé sur pentoxyde de phosphore (P₂O₅)
- le tétrahydrofurane (THF) a été distillé en présence de sodium et de benzophénone.
- le toluène a été distillé sur dihydruure de calcium (CaH₂)

Le DMF a été séché sur tamis moléculaire 4 Å et le méthanol sur tamis moléculaire 3 Å.

I-2 Méthodes et appareils d'analyses

Les réactions sous micro-ondes ont été effectuées grâce à un appareil Biotage Initiator.

Le suivi des réactions a été réalisé par CCM d'aluminium Merck Silicagel 60 F254 (épaisseur 0,2 mm). La révélation a été faite sous lampe ultra-violet à 254 nm et par traitement chimique adéquat :

- immersion dans une solution de KMnO₄ puis chauffage
- immersion dans une solution d'acide phosphomolybdique puis chauffage
- immersion dans une solution d'acide sulfurique dans l'éthanol puis chauffage
- immersion dans un mélange de diiode et de silice

Les purifications par chromatographie flash sur colonne ont été effectuées sur gel de silice Merck 60N (sphérique, neutre, 40-63µm) sous pression d'azote.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ¹H) et du carbone (RMN ¹³C) ont été réalisés dans des solvants deutériés (CDCl₃ ou DMSO) à 250 MHz sur un appareil Bruker Avance DPX250 et à 400 MHz sur un appareil Bruker Avance II.

Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en parties par million (ppm) par rapport au TMS pris comme référence interne.

²⁸⁰ Zhang, S.; Zhang, D.; Liebeskind, L.S. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 2312-2313.

²⁸¹ Perrin, D.D.; Armarego, W.L.F. in *Purification of laboratory chemicals*, 3rd ed., Pergamon Press, Sydney, **1988**, 391p.

La multiplicité des signaux est représentée de la manière suivante : singulet (s), singulet élargi (sl), doublet (d), doublet dédoublé (dd), triplet (t), quadruplet (q), multiplet (m). Les constantes de couplage J sont exprimées en hertz (Hz).

L'attribution des protons et des carbones a été effectuée grâce à des expériences de corrélation proton-proton et proton-carbone courte et longue distance.

Les spectres infra-rouge (IR) ont été enregistrés par la méthode de Réflexion Totale Atténuée (ATR) sur un appareil Thermo-Nicolet AVATAR 320 AEK0200713.

Les spectres de masse basse résolution (MS) ont été réalisés par ionisation electrospray en mode positif (ESI+) sur un appareil Perkin Elmer Sciex API 300.

Les spectres de masse haute résolution (HRMS) ont été effectués par ionisation electrospray en mode positif (ESI+) sur un spectromètre TOF au centre régional de mesures physiques de Clermont-Ferrand puis à l'ICOA.

Les pouvoirs rotatoires ($[\alpha]_D^{20}$) ont été mesurés à 20°C dans une cuve de longueur 1 dm avec un polarimètre Perkin Elmer 341.

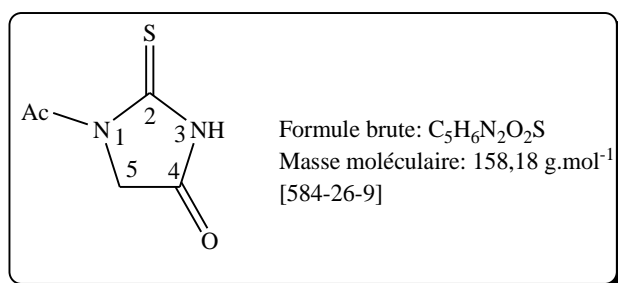
Les points de fusion (Pf) ont été mesurés dans un tube capillaire à l'aide d'un appareil Thermo Scientific 9200 et n'ont pas été corrigés.

II- Description des molécules

Procédure générale A: Synthèse des dérivés 1-acétyl-2-thioxoimidazolidin-4-one:

L'acide aminé (1 éq.) et le thiocyanate d'ammonium (NH₄SCN) (1 éq.) sont introduits dans l'anhydride acétique (6 éq.) dans un ballon à TA. Le mélange est chauffé à 100°C durant 30 min jusqu'à dissolution complète des réactifs. La réaction est alors hydrolysée par addition de 30 mL d'eau glacée et extraite trois fois à l'AcOEt (3 × 20 mL). Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄ et concentrées à l'évaporateur rotatif, le résidu est chromatographié sur gel de silice afin d'obtenir le produit souhaité.

1-Acétyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (1)



La 1-acétyl-2-thioxoimidazolidin-4-one **1** est obtenue à partir de la glycine (5,00 g, 66,6 mmol, 1 éq.) par la procédure générale A. La solution orangée obtenue après chauffage à 100°C durant 30 min est recristallisée dans 20 mL d'un mélange eau/glacée. Le solide cristallin est filtré, rincé à l'eau glacée et séché sous vide pour obtenir le composé attendu sous forme d'un solide orange (7,18 g, 45,4 mmol).

Rendement: 68%

R_f = 0,31 (3 AcOEt / 7 EP)

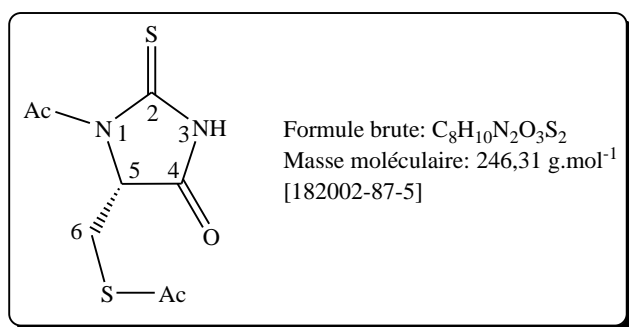
P_f = 167 - 169 °C (lit. P_f = 173 - 174 °C)

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 2,67 (s, 3H, CH₃); 4,39 (s, 2H, H-5); 12,56 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 26,5 (CH₃); 52,1 (C-5); 169,3 (C=O, Ac); 170,3 (C-4); 182,4 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 181,0 [M+Na]⁺.

Reyes S.; Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2507-2509.

(5S)-1-Acétyle-5-[(acétylsulfanyl)méthyl]-2-thioxoimidazolidin-4-one (2)

Suivant la procédure générale A, le composé **2** est obtenu à partir de la L-cystéine (1,00 g, 8,25 mmol, 1 éq.) sous la forme d'un solide jaune pâle (0,42 g, 1,71 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 6 EP / 4 AcOEt.

Rendement: 20%

Rf = 0,62 (1 AcOEt / 1 EP)

Pf = 137 - 139 °C (lit. 138 - 143 °C)

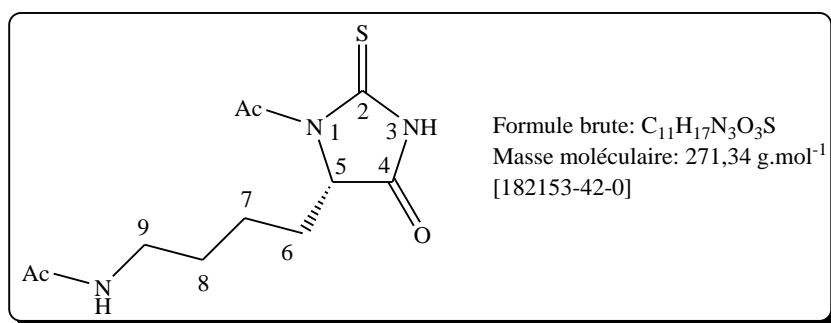
[α]_D²⁰ = + 1 (c = 1,07 MeOH)

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): 2,35 (s, 3H, S-Ac); 2,78 (s, 3H, N-Ac); 3,37 (dd, 1H, *J*_{6a-5} = 2,9 Hz, *J*_{6a-6b} = 14,5 Hz, H-6a); 3,97 (dd, 1H, *J*_{6b-5} = 4,4 Hz, *J*_{6a-6b} = 14,5 Hz, H-6b); 5,09 (dd, 1H, *J*_{5-6a} = 2,9 Hz, *J*_{5-6b} = 4,4 Hz, H-5); 9,23 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (250 MHz, CDCl₃): 27,2 (CH₃, N-Ac); 28,4 (C-6); 30,5 (CH₃, S-Ac); 62,1 (C-5); 169,9 (C=O, N-Ac); 170,3 (C-4); 179,9 (C=O, S-Ac); 193,8 (C-2).

MS (ESI+) *m/z*: 269,0 [M+Na]⁺.

Duggan, B. M.; Laslett, R. L.; Wilshire J. F. K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 541-550.

(5S)-5-(4-Acétamidobutyl)-1-acétyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (3)

Le composé **3** est obtenu à partir de la L-lysine (0,50 g, 3,42 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune (0,47 g, 1,73 mmol) en suivant la procédure générale A et après chromatographie sur gel de silice: 95 CH₂Cl₂ / 5 MeOH.

Rendement: 51%

R_f = 0,45 (95 CH₂Cl₂ / 5 MeOH)

[α]_D²⁰ = + 42 (c = 1,14 CHCl₃)

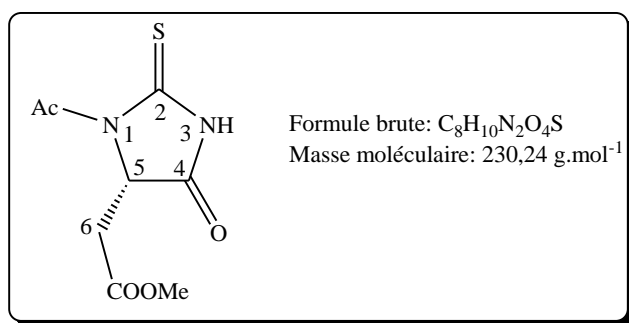
Pf = 132-134 °C (lit. 131 – 133 °C)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,26-1,38 (m, 2H, H-7); 1,48-1,55 (m, 2H, H-8); 1,99 (s, 3H, CH₃CON); 2,05-2,13 (m, 2H, H-6); 2,82 (s, 3H, CH₃CON-1); 3,20 (q, 2H, J = 6,7 Hz, H-9); 4,72 (dd, 1H, J_{5-6a} = 3,2 Hz, J_{5-6b} = 6,7 Hz, H-5); 5,90 (t, 1H, J_{NH-9} = 5,3 Hz, NH-Ac); 10,61 (sl, 1H, N₃-H).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 20,5 (C-7); 23,2 (CH₃, NHAc); 27,6 (CH₃, N-Ac); 28,9 (C-8); 29,5 (C-6); 39,3 (C-9); 62,9 (C-5); 170,4 (C=O, NH-Ac); 170,9 (C=O, N-Ac); 172,4 (C-4); 180,9 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 272,0 [M+H]⁺; 294,0 [M+Na].

Duggan, B. M.; Laslett, R. L.; Wilshire J. F. K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 541-550.

(5S)-1-Acétyle-5-méthoxycarbonylméthyl-2-thioimidazolidin-4-one (4)

Selon la procédure générale A: Le composé **4** est obtenu à partir de l'ester méthylique de l'acide L-aspartique (0,50 g, 3,4 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide blanc (0,42 g, 1,83 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 53%

Rf = 0,68 (1 AcOEt / 1 EP)

Pf = 119-122 °C

$[\alpha]_D^{20} = -1$ (c = 1,07 MeOH)

IR (produit pur) : 1178-1209 (C-N); 1461 (N-C=S); 1676 (C=O Ac); 1737 (C=O ester); 1766 (C=O cycle); 3125 (NH).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): 2,81 (s, 3H, N-Ac); 3,11 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 3,4$ Hz, $J_{6a-6b} = 17,8$ Hz, H-6a); 3,43 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 4,7$ Hz, $J_{6a-6b} = 17,8$ Hz, H-6b); 3,69 (s, 3H, OCH₃); 4,84 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 3,4$ Hz, $J_{5-6b} = 4,7$ Hz, H-5); 9,51 (sl, 1H, NH).

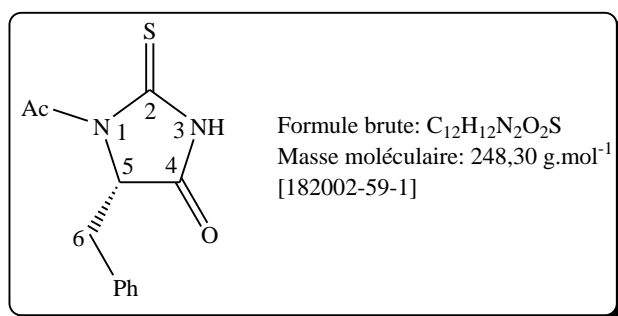
RMN ¹³C (250 MHz, CDCl₃): 27,5 (CH₃, N-Ac); 33,6 (C-6); 52,4 (OCH₃); 59,5 (C-5); 169,7 (C=O, N-Ac); 170,8 (C-4); 171,1 (CO₂Me); 180,7 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 253,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) m/z:

[M-C₂H₂O+H]⁺ calculé pour C₆H₉N₂O₃S: 189,03284, trouvé: 189,03282;

[M+Na]⁺ calculé pour C₈H₁₀N₂NaO₄S: 253,02535, trouvé: 253,02556.

(5S)-1-Acétyle-5-benzyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (5)

Selon la procédure générale A: le composé **5** est obtenu à partir de la L-phénylalanine (5,00 g, 30,3 mmol, 1 éq.). Le résidu est chromatographié sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt pour obtenir le composé souhaité sous forme d'un solide jaune pâle (5,74 g, 23,1 mmol).

Rendement: 76%

Rf = 0, 38 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 166 - 168 °C (lit. 168 - 169 °C)

$[\alpha]_D^{20} = +21$ (c = 1,10 CHCl₃)

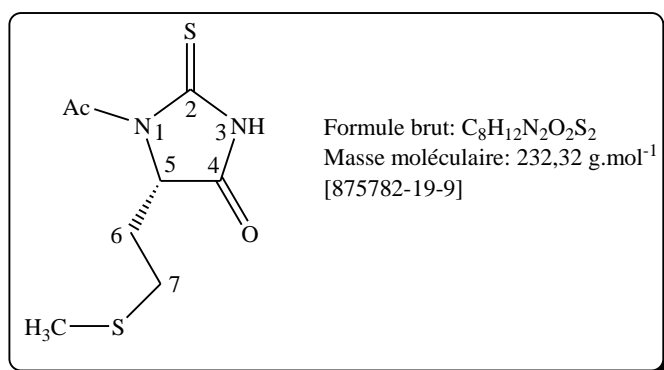
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,78 (s, 3H, CH₃); 3,29 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 2,5$ Hz, $J_{6a-6b} = 14,0$ Hz, H-6a); 3,58 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 5,9$ Hz, $J_{6a-6b} = 14,0$ Hz, H-6b); 5,01 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 2,5$ Hz, $J_{5-6b} = 5,9$ Hz, H-5); 7,02-7,04 (m, 2H, H-Ph); 7,25-7,27 (m, 3H, H-Ph); 8,54 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 27,5 (CH₃); 35,1 (C-6); 64,2 (C-5); 127,8 , 128,7 , 129,4 (CH, Ph); 133,1 (Cq, Ph); 170,5 (C=O, N-Ac); 170,9 (C-4); 179,6 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 245,0 [M-C₂H₂O+K]⁺.

Duggan, B. M.; Laslett, R. L.; Wilshire J. F. K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 541-550.

Reyes S.; Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2507-2509.

(5S)-1-Acétyle-5-[2-(méthylsulfanyl)éthyl]-2-thioxoimidazolidin-4-one (6)

Selon la procédure A, le composé **6** est obtenu à partir de la L-méthionine (0,50 g, 3,35 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle (0,59 g, 2,54 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 76%

Rf = 0,53 (3 AcOEt / 7 EP)

$[\alpha]_D^{20} = +43$ ($c = 1,13$ MeOH)

Pf = 99 - 101 °C (lit. 102 - 103 °C)

IR (produit pur): 1184-1214 (C-N); 1454 (N-C=S); 1678 (C=O Ac); 1748 (C=O cycle); 3114 (NH).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,08 (s, 3H, N-Ac); 2,36-2,62 (m, 4H, H-6 et H-7); 2,83 (s, 3H, S- CH_3); 4,88 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 3,4$ Hz, $J_{5-6b} = 6,5$ Hz, H-5); 9,32 (sl, 1H, NH).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 15,2 (S- CH_3); 27,5 (CH_3 , N-Ac); 28,4 ($2 \times \text{CH}_2$, C-6 et C-7); 62,1 (C-5); 170,4 (C=O, N-Ac); 171,8 (C-4); 180,1 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 213,0 $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}+\text{Na}]^+$.

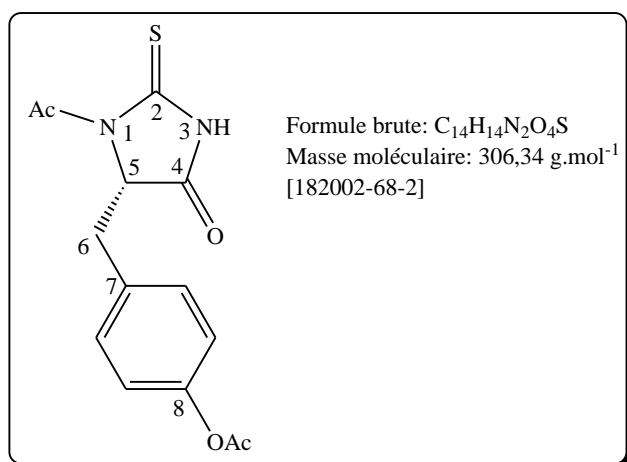
HRMS (ESI+) m/z:

$[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_2 + \text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OS}_2$: 191,03073, trouvé: 191,03080;

$[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$: 233,04130, trouvé: 233,04120;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2\text{Na}$: 255,02324, trouvé: 255,02328.

Swan, J. M. *Aust. J. Chem.* **1952**, *4*, 711-720.

(5S)-5-(4-Acétoxybenzyl)-1-acétyl-2-thioimidazolidin-4-one (7)

Le composé **7** est obtenu à partir de la L-tyrosine (0,50 g, 2,76 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune (0,16 g, 0,52 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 6 EP / 4 AcOEt.

Rendement: 19%

$[\alpha]_D^{20} = +34$ (c = 0,96 MeOH)

Rf = 0,76 (1 AcOEt / 1 EP)

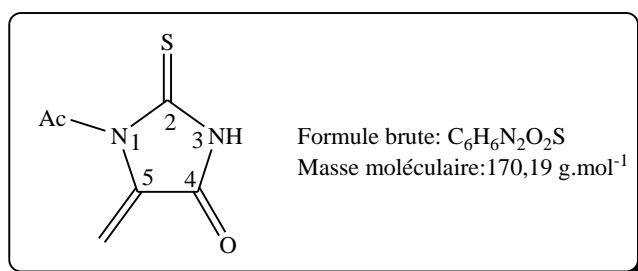
Pf = 134-136 °C (lit. 137 - 139 °C)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,26 (s, 3H, O-Ac); 2,78 (s, 3H, N-Ac); 3,27 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 2,5$ Hz, $J_{6a-6b} = 14,1$ Hz, H-6a); 3,55 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 5,8$ Hz, $J_{6a-6b} = 14,1$ Hz, H-6b); 4,98 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 2,5$ Hz, $J_{5-6b} = 5,8$ Hz, H-5); 6,99 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, H-Ar); 7,05 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, H-Ar); 8,97 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 21,1 (CH₃, O-Ac); 27,5 (CH₃, N-Ac); 34,6 (C-6); 64,1 (C-5); 121,8 (2 × CH, Ar); 130,4 (2 × CH, Ar); 130,8 (C-7); 150,2 (C-8); 169,3 (C=O, O-Ac); 170,6 (C=O, N-Ac); 171,1 (C-4); 179,7 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 307,0 [M+H]⁺; 329,0 [M+Na]⁺.

Duggan, B. M.; Laslett, R. L.; Wilshire J. F. K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 541-550.

1-Acétvl-5-méthylidène-2-thioimidazolidin-4-one (8)

Le composé **8** est obtenu à partir de la L-sérine (1,00 g, 9,52 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide blanc (109 mg, 0,47 mmol) après purification sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 7%

Rf = 0,27 (8 EP / 2 AcOEt)

Pf = 223 - 225 °C

IR (produit pur): 1200-1135 (C-N); 1458 (N-C=S); 1679 (C=O Ac); 1746 (C=O cycle); 3120 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,91 (s, 3H, CH₃); 5,95 (s, 1H, H-6a); 6,49 (s, 1H, H-6b); 9,02 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 29,0 (CH₃); 109,7 (C-6); 134,1 (C-5); 161,1 (C-4); 170,7 (C=O, N-Ac); 210,5 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 253,0 [M+Na]⁺.

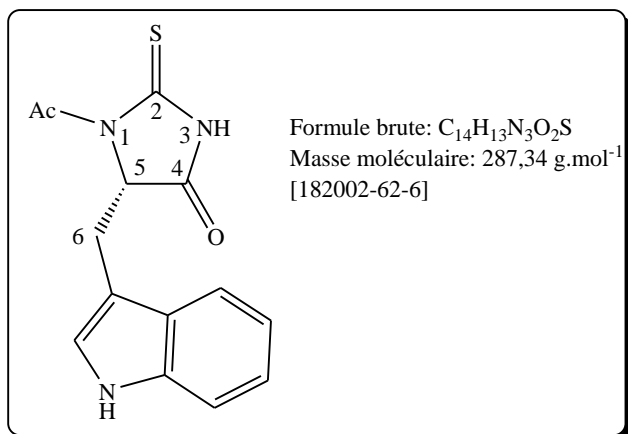
HRMS (ESI+) m/z:

[2M+H]⁺ calculé pour C₁₂H₁₂N₄NaO₄S₂: 363,01922, trouvé: 363,01914;

[3M+H]⁺ calculé pour C₁₈H₁₉N₆O₆S₃: 511,05227, trouvé: 511,05193;

[3M+NH₄]⁺ calculé pour C₁₈H₂₂N₇O₆S₃: 528,07882, trouvé: 528,07878;

[3M+Na]⁺ calculé pour C₁₈H₁₈N₆NaO₆S₃: 533,03422, trouvé: 533,03424.

(5S)-1-Acétyle-5-(1H-indol-3-ylméthyl)-2-thioimidazolidin-4-one (9)

Le composé **9** est obtenu à partir du L-tryptophane (0,50 g, 2,45 mmol, 1 éq.), sous forme d'une huile jaune (0,51 g, 1,77 mmol) en suivant la procédure générale A et après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 72%

R_f = 0,26 (3 AcOEt / 7 EP)

[α]_D²⁰ = + 69 (c = 1,07 MeOH)

Pf = 177-179 °C (lit. 183 - 185 °C)

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 2,67 (s, 3H, CH₃); 3,31 (dd, 1H, *J*_{6a-5} = 2,4 Hz, *J*_{6a-6b} = 14,8 Hz, H-6a); 3,54 (dd, 1H, *J*_{6b-5} = 5,5 Hz, *J*_{6a-6b} = 14,8 Hz, H-6b); 4,98 (dd, 1H, *J*_{5-6a} = 2,4 Hz, *J*_{5-6b} = 5,5 Hz, H-5); 6,94-6,98 (m, 2H, H-indolyl); 7,03-7,07 (m, 1H, H-indolyl); 7,31-7,36 (m, 2H, H-indolyl); 12,29 (sl, 1H, NH thiohydantoïne); 10,95 (sl, 1H, NH indolyl).

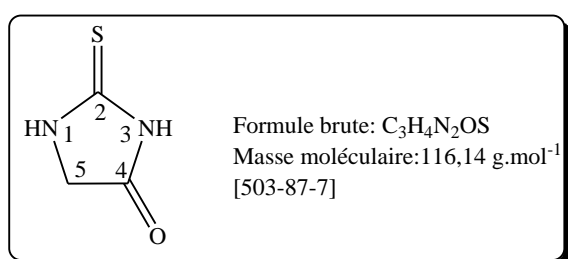
RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 24,6 (C-6); 27,4 (CH₃); 63,6 (C-5); 106,3 (Cq, indolyl); 111,4, 117,9, 118,6, 121,0, 124,1 (CH, indolyl); 127,3, 135,8 (Cq, indolyl); 170,0 (C=O, N-Ac); 173,2 (C-4); 182,4 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 310,0 [M+Na]⁺.

Duggan, B. M.; Laslett, R. L.; Wilshire J. F. K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 541-550.

Procédure générale B: Déacétylation des dérivés 1-acétyl-2-thioimidazolidin-4-one:

Le dérivé 1-acétyl-2-thiohydantoïne (1 mmol, 1 éq.) est dissous dans du méthanol (10 mL) anhydre séché sur tamis 3Å sous argon à température ambiante. Le sodium solide est ajouté à 0°C en quantité catalytique (0,1 mmol, 0,1 éq.) jusqu'à pH = 9-10. Le milieu réactionnel est alors agité à température ambiante durant 2 h. La réaction est ensuite neutralisée à l'Amberlite® IR120 H⁺ jusqu'à pH neutre. Celle-ci est ôtée par filtration et rincée au méthanol. Le filtrat est concentré afin d'obtenir un brut réactionnel qui est chromatographié sur gel de silice.

2-Thioimidazolidin-4-one / 2-Thiohydantoïne (14)

Le composé **14** est obtenu à partir de la 1-acétyl-2-thioimidazolidin-4-one **1** (1,00 g, 6,32 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide brun (0,72 g, 6,20 mmol) en suivant la procédure générale B de déacétylation de la 1-acétyl-2-thiohydantoïne et après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 98%

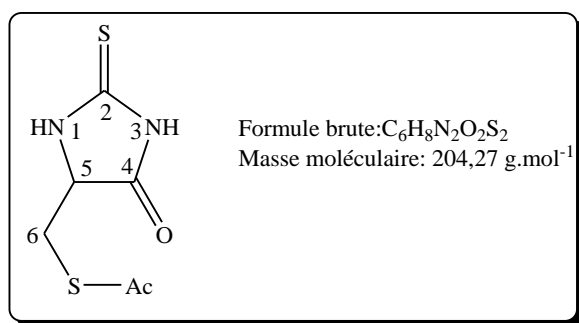
R_f = 0,13 (1 AcOEt / 1 EP)

P_f = 228 – 230 °C

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 4,07 (s, 2H, H-5); 9,83 (sl, 1H, N₁-H); 11,63 (sl, 1H, N₃-H).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 50,2 (C-5); 174,5 (C-4); 183,3 (C-2).

Reyes S.; Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2507-2509.

5-[(Acétylsulfanyl)méthyl]-2-thioxoimidazolidin-4-one (16)

La (5S)-1-acétyl-5-[(acétylsulfanyl)méthyl]-2-thioxoimidazolidin-4-one **2** (150 mg, 0,61 mmol, 1 éq.) est solubilisée au sein du DMF (3 mL) sous argon à TA. L'acétate d'hydrazine (56,0 mg, 0,61 mmol, 1 éq.) est ajouté et le tout est agité durant une heure. Le milieu réactionnel est ensuite dilué avec 20 mL d'eau et extrait à l'AcOEt ($3 \times 20 \text{ mL}$). Les phases organiques sont réunies, lavées à l'eau ($2 \times 10 \text{ mL}$), séchées au $MgSO_4$ et concentrées à l'évaporateur rotatif. Le résidu est chromatographié sur gel de silice: 6 EP / 4 AcOEt pour obtenir le composé souhaité sous forme d'un solide jaune pâle (56,7 mg, 0,28 mmol).

Rendement: 46%

Rf = 0,33 (1 AcOEt / 1 EP)

Pf = 152 – 154 °C

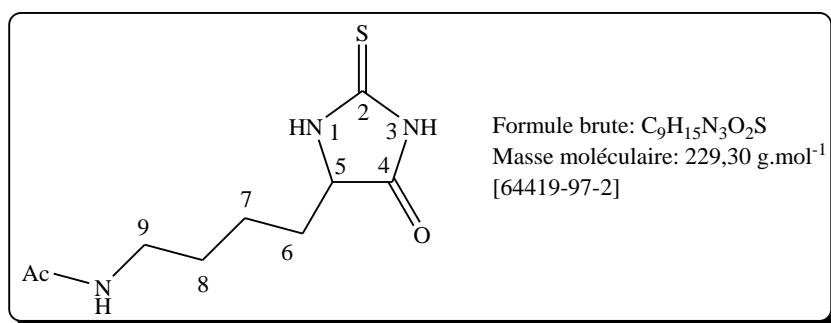
IR (produit pur): 1174-1231 (C-N); 1535 (N-C=S); 1690 (C=O Ac); 1734 (C=O cycle); 3150 (NH).

RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$): 2,35 (s, 3H, CH_3); 3,24 (d, 2H, $J_{6-5} = 5,0 \text{ Hz}$, H-6); 4,51 (t, 1H, $J_{5-6} = 5,0 \text{ Hz}$, H-5); 10,02 (sl, 1H, N_1-H); 11,76 (sl, 1H, N_3-H).

RMN ^{13}C (400 MHz, $DMSO-d_6$): 28,6 (C-6); 30,5 (CH_3); 59,6 (C-5); 174,6 (C-4); 182,9 (C=O, S-Ac); 193,7 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 227,0 $[M+Na]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[M+H]^+$ calculé pour $C_6H_9N_2O_2S_2$: 205,01000, trouvé: 205,01017.

5-(4-Acétamidobutyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (18)

Le composé **18** est obtenu à partir de la (5S)-5-(4-acétamidobutyl)-1-acétyl-2-thioxoimidazolidin-4-one **3** (200 mg, 0,74 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle (135 mg, 0,59 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 95 CH_2Cl_2 / 5 MeOH.

Rendement: 80%

Rf = 0,28 (90 CH_2Cl_2 / 10 MeOH)

Pf = 188 – 191 °C

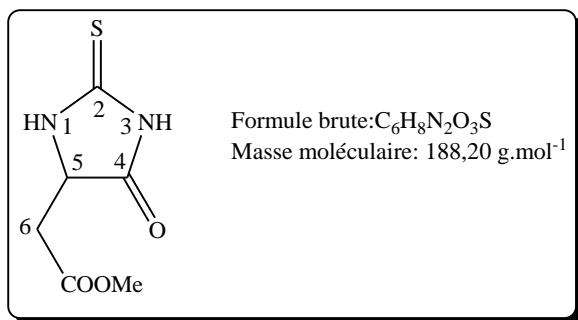
IR (produit pur): 1164-1211 (C-N); 1536 (N-C=S); 1636 (C=O Ac); 1729 (C=O cycle); 3078 (NH-hydantoïne); 3378 (NH-lysine).

RMN ^1H (250 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 1,25-1,44 (m, 4H, H-7 et H-8); 1,49-1,75 (m, 2H, H-6); 1,77 (s, 3H, CH_3); 2,99 (q, 2H, J_{9-8} et NH = 6,2 Hz, H-9); 4,19 (t, 1H, J_{5-6} = 5,7 Hz, H-5); 7,79 (t, 1H, $J_{\text{NH-9}}$ = 5,2 Hz, NH lysine); 10,04 (sl, 1H, $\text{N}_1\text{-H}$); 11,64 (sl, 1H, $\text{N}_3\text{-H}$).

RMN ^{13}C (250 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): 21,5 (C-7); 22,5 (CH_3); 28,6 (C-8); 30,2 (C-6); 38,2 (C-9); 60,4 (C-5); 168,9 (C=O, N-Ac lysine); 176,5 (C-4); 182,3 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 230,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Casagrande F.; Duggan B. M.; Kirkpatrick A.; Laslett R. L.; Wilshire J. F. K. *Aust. J. Chem.*, **1996**, 49, 551-560.

5-Méthoxycarbonylméthyl-2-thioimidazolidin-4-one (21)

Le composé **21** est obtenu à partir de la (5*S*)-1-acétyl-5-méthoxycarbonylméthyl-2-thioimidazolidin-4-one **4** (100 mg, 0,43 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide blanc (70,7 mg, 0,38 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 87%

R_f = 0,28 (1 AcOEt / 1 EP)

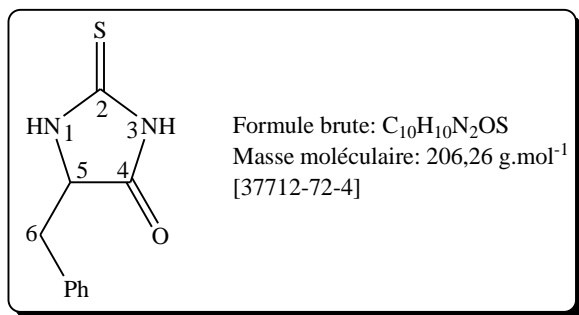
Pf = 165 – 168 °C

IR (produit pur): 1169-1256 (C-N); 1530 (N-C=S); 1725 (C=O ester); 1725 (C=O cycle); 3154 (NH).

RMN ¹H (250 MHz, DMSO-*d*₆): 2,77 (d, 1H, $J_{6a-5} = 5,2 \text{ Hz}$, H-6a); 2,79 (d, 1H, $J_{6b-5} = 5,2 \text{ Hz}$, H-6b); 3,61 (s, 3H, CH₃); 4,46 (t, 1H, $J_{5-6} = 5,2 \text{ Hz}$, H-5); 9,93 (sl, 1H, N₁-H); 11,72 (sl, 1H, N₃-H).

RMN ¹³C (250 MHz, DMSO-*d*₆): 34,1 (C-6); 51,7 (CH₃); 56,9 (C-5); 169,4 (C-4); 175,6 (CO₂Me); 182,9 (C-2).

HRMS (ESI+) *m/z*: [M+H]⁺ calculé pour C₆H₉N₂O₃S: 189,03284, trouvé: 189,03281.

5-Benzyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (24)

Le composé **24** est obtenu par désacétylation de la (5S)-1-acétyl-5-benzyl-2-thioxoimidazolidin-4-one **5** (1,00 g, 4,03 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide blanc (0,72 g, 3,48 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 87%

Rf = 0,45 (1 AcOEt / 1 EP)

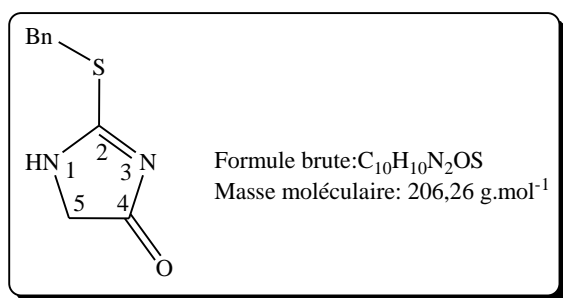
Pf = 179 – 180 °C (lit. 183 – 184 °C)

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 2,98 (d, 2H, *J*₆₋₅ = 4,9 Hz, H-6); 4,55 (t, 1H, *J*₅₋₆ = 4,9 Hz, H-5); 7,16-7,29 (m, 5H, H-Ph); 10,06 (sl, 1H, N₁-H); 11,43 (sl, 1H, N₃-H).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 35,6 (C-6); 61,3 (C-5); 126,7, 128,0, 129,5 (CH, Ph); 134,9 (Cq, Ph); 175,6 (C-4); 182,1 (C-2).

MS (ESI+) *m/z*: 207,0 [M+H]⁺.

Casagrande F.; Duggan B. M.; Kirkpatrick A.; Laslett R. L.; Wilshire J. F. K. *Aust. J. Chem.*, **1996**, *49*, 551-560.

2-(Benzylsulfanyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one (11)

Le composé **11** est obtenu par désacétylation de la 1-acétyl-2-(benzylsulfanyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one **10** (1,00 g, 4,0 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune (0,81 g, 3,93 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 90 DCM / 10 MeOH.

Rendement: 98%

Rf = 0,38 (90 DCM / 10 MeOH)

Pf = 113-115 °C

IR (produit pur): 1225-1157 (C-N); 1430 (N-C-S); 1667 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 4,03 (s, 2H, H-5); 4,40 (s, 2H, CH₂ Bn); 7,25-7,42 (m, 5H, H-Ph); 9,68-11,26 (sl, 1H, N₁-H/N₃-H).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 32,4 (CH₂, Bn); 59,0 (C-5); 127,2, 128,4, 128,9 (CH, Ph); 137,2 (Cq, Ph); 160,0 (C-4); 181,7 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 207,0 [M+H]⁺.

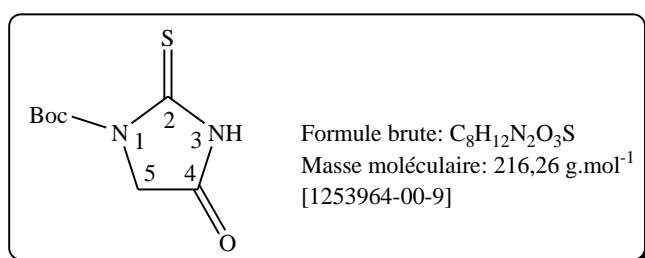
HRMS (ESI+) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₁₀H₁₁N₂OS: 207,05866, trouvé: 207,05868;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₀H₁₀N₂NaOS: 229,04060, trouvé: 229,04053.

Procédure générale C: N-tert-butoxycarbonyl protection des dérivés 2-thioimidazolidin-4-one:

Le dérivé 2-thioimidazolidin-4-one (1 mmol, 1 éq.) est dissous dans le THF (20 mL) sous argon, à température ambiante. Le dicarbonate de di-*tert*-butyle ((Boc)₂O) (1 mmol, 1 éq.) et la diméthylaminopyridine (DMAP) (0,1 mmol, 0,1 éq.) sont ajoutés et le tout est agité durant 2 h à TA. Le milieu réactionnel est alors concentré pour obtenir un résidu chromatographié sur gel de silice.

1-tert-Butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one (15)

Le composé **15** est obtenu à partir de la 2-thioimidazolidin-4-one **14** (2,00 g, 17,2 mmol, 1 éq.) par la procédure générale C sous forme d'un solide jaune pâle (3,53 g, 16,3 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 95 DCM / 5 MeOH.

Rendement: 95%

R_f = 0,68 (1 AcOEt / 1 EP)

Pf = 145-146 °C

IR (produit pur): 1144-1217 (C-N); 1460 (N-C=S); 1719 (C=O *t*Bu); 1750 (C=O cycle); 3227 (NH).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): 1,56 (s, 9H, *t*Bu); 4,41 (s, 2H, H-5); 9,01 (sl, 1H, N₃-H).

RMN ¹³C (250 MHz, CDCl₃): 27,9 (3 × CH₃, *t*Bu); 52,7 (C-5); 85,6 (Cq, *t*Bu); 148,3 (C=O, *t*Bu); 168,2 (C-4); 178,5 (C-2).

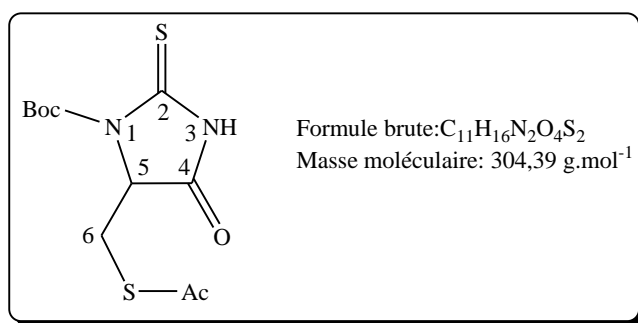
MS (ESI⁺) m/z: 217,0 [M+H]⁺; 239,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z:

[M-C₅H₈O₂+Na]⁺ calculé pour C₃H₄N₂NaOS: 138,99365, trouvé: 138,99362;

[M-C₄H₈+H]⁺ calculé pour C₄H₅N₂O₃S: 161,00154, trouvé: 161,00149;

[M+Na]⁺ calculé pour C₈H₁₂N₂NaO₃S: 239,04608, trouvé: 239,04617.

5-[(Acétylsulfanyl)méthyl]-1-tert-butoxycarbonyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (17)

Le composé **17** est obtenu à partir de la 5-[(acétylsulfanyl)méthyl]-2-thioxoimidazolidin-4-one **16** (50,0 mg, 0,24 mmol, 1 éq.) sous forme d'une huile jaune (54,1 mg, 0,18 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 74%

Rf = 0,62 (1 AcOEt / 1 EP)

IR (produit pur): 1140-1226 (C-N); 1444 (N-C=S); 1702 (C=O *t*Bu); 1753 (C=O cycle); 3262 (NH).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 1,61 (s, 9H, *t*Bu); 2,35 (s, 3H, S-Ac); 3,42 (d, 1H, $J_{6a-6b} = 12,6$ Hz, H-6a); 3,90 (d, 1H, $J_{6a-6b} = 12,6$ Hz, H-6b); 4,84 (s, 1H, H-5); 8,92 (sl, 1H, NH).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 27,9 ($3 \times \text{CH}_3$, *t*Bu); 28,9 (C-6); 30,5 (CH_3 , SAc); 62,6 (C-5); 85,9 (Cq, *t*Bu); 169,8 (C=O, *t*Bu); 178,3 (C-4); 193,2 (C=O, SAc); 201,3 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 305,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 327,0 $[\text{M}+\text{Na}]$.

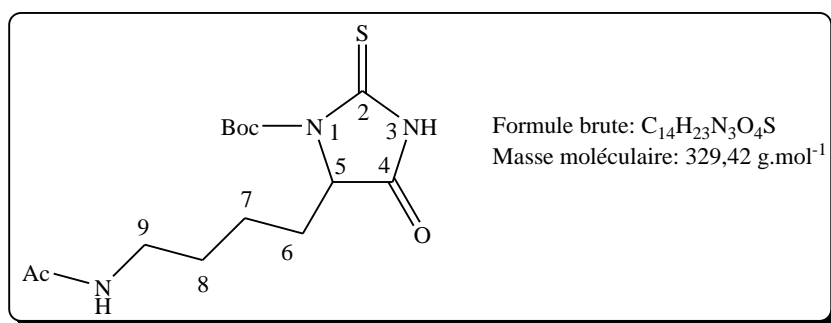
HRMS (ESI+) m/z:

$[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_2\text{OS}_2$: 162,99943, trouvé: 169,99966;

$[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$: 205,01000, trouvé: 205,01027;

$[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{NaO}_2\text{S}_2$: 226,99194, trouvé: 226,99212;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{NaO}_4\text{S}_2$: 327,04437, trouvé: 327,04458.

5-(4-Acétamidobutyl)-1-tert-butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one (19)

Le composé **19** est obtenu à partir de la 5-(4-acétamidobutyl)-2-thioimidazolidin-4-one **18** (100 mg, 0,44 mmol, 1 éq.) sous forme d'une huile translucide (140 mg, 0,42 mmol) après chromatographie sur gel de silice: AcOEt.

Rendement: 97%

Rf = 0,20 (95 CH_2Cl_2 / 5 MeOH)

IR (produit pur): 1145-1238 (C-N); 1442 (N-C=S); 1629 (C=O *t*Bu); 1745 (C=O cycle); 2931 (NH).

RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$): 1,26-1,48 (m, 4H, H-7 et H-8); 1,56 (s, 9H, *t*Bu); 1,98 (s, 3H, N-Ac); 2,04-2,11 (m, 2H, H-6); 3,23 (q, 2H, $J_{9-NH} = J_{9-8} = 6,5 \text{ Hz}$, H-9); 4,56 (t, 1H, $J_{5-6} = 4,8 \text{ Hz}$, H-5); 5,76 (t, 1H, $J_{NH-9} = 5,1 \text{ Hz}$, NHCO); 9,92 (sl, 1H, N_3 -H).

RMN ^{13}C (250 MHz, $CDCl_3$): 20,5 (C-7); 23,3 (CH_3 , Ac); 28,0 ($3 \times CH_3$, *t*Bu); 29,0 (C-8); 30,1 (C-6); 39,2 (C-9); 63,2 (C-5); 85,4 (Cq, *t*Bu); 148,5 (C=O, *t*Bu); 170,6 (C=O, N-Ac); 172,0 (C-4); 179,2 (C-2).

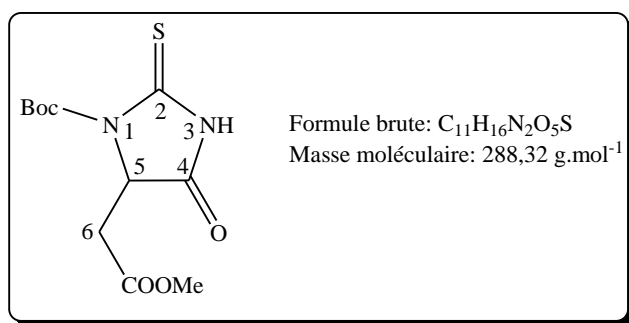
MS (ESI+) m/z: 330,0 $[M+H]^+$; 352,0 $[M+Na]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

$[M-C_5H_8O_2+H]^+$ calculé pour $C_9H_{16}N_3O_2S$: 230,09577, trouvé: 230,09590;

$[M-C_5H_8O_2+Na]^+$ calculé pour $C_9H_{15}N_3NaO_2S$: 252,07772, trouvé: 252,07775;

$[M+Na]^+$ calculé pour $C_{14}H_{23}N_3NaO_4S$: 352,13080, trouvé: 352,13035.

1-tert-Butoxycarbonyl-5-(méthoxycarbonylméthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (22)

Le composé **22** est obtenu à partir de la 5-(méthoxycarbonylméthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one **21** (60 mg, 0,32 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune (80,5 mg, 0,28 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 87%

Rf = 0,57 (1 AcOEt / 1 EP)

Pf = 127-128 °C

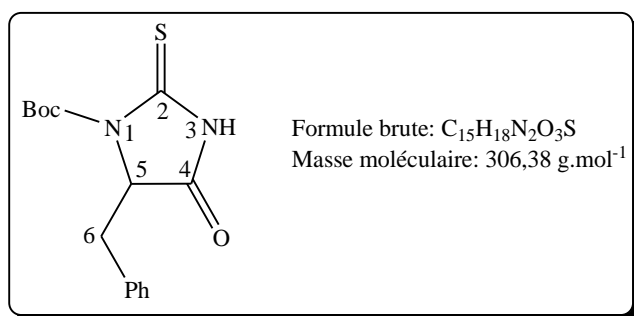
IR (produit pur): 1144-1214 (C-N); 1455 (N-C=S); 1694 (C=O Boc); 1734 (C=O ester); 1768 (C=O cycle); 3256 (NH).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): 1,57 (s, 9H, *t*Bu); 3,12 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 3,2$ Hz, $J_{6a-6b} = 17,2$ Hz, H-6a); 3,26 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 5,2$ Hz, $J_{6a-6b} = 17,2$ Hz, H-6b); 3,71 (s, 3H, CH₃ ester); 4,70 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 3,2$ Hz, $J_{5-6b} = 5,2$ Hz, H-5); 8,95 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (250 MHz, CDCl₃): 28,0 (3 × CH₃, *t*Bu); 34,5 (C-6); 52,5 (CH₃, ester); 59,8 (C-5); 85,8 (Cq, *t*Bu); 148,5 (C=O, *t*Bu); 169,0 (C-4); 170,6 (C=O, ester); 178,8 (C-2).

MS (ESI+) *m/z*: 289,0 [M+H]⁺; 311,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) *m/z*: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₁H₁₆N₂NaO₅S: 311,06721, trouvé: 311,06732.

5-Benzyl-1-tert-butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one (25)

Le composé **25** est obtenu à partir de la 5-benzyl-2-thioimidazolidin-4-one **24** (300 mg, 1,45 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle (426 mg, 1,39 mmol) après purification sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 96%

Rf = 0,30 (1 AcOEt / 1 EP)

Pf = 98-100 °C

IR (produit pur): 1139-1224 (C-N); 1439 (N-C=S); 1739 (C=O cycle); 1739 (C=O *t*Bu); 3245 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,64 (s, 9H, *t*Bu); 3,29 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 2,8$ Hz, $J_{6a-6b} = 14,1$ Hz, H-6a); 3,49 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 5,7$ Hz, $J_{6a-6b} = 14,1$ Hz, H-6b); 4,81 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 2,8$ Hz, $J_{5-6b} = 5,7$ Hz, H-5); 7,07-7,09 (m, 2H, H-Ph); 7,25-7,27 (m, 3H, H-Ph); 8,64 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 28,1 (3 × CH₃, *t*Bu); 35,9 (C-6); 64,4 (C-5); 85,5 (Cq, *t*Bu); 127,8, 128,8, 129,5 (CH, Ph) ; 132,9 (Cq, Ph); 148,5 (C=O, *t*Bu); 170,9 (C-4); 178,1 (C-2).

MS (ESI+) *m/z*: 307,0 [M+H]⁺; 329,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) *m/z*:

[M-C₅H₈O₂+H]⁺ calculé pour C₁₀H₁₁N₂OS: 207,05866, trouvé: 207,05888;

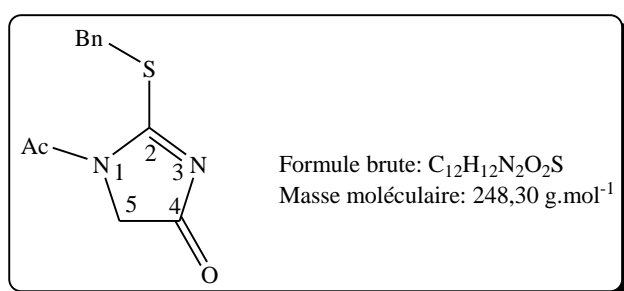
[M-C₅H₈O₂+Na]⁺ calculé pour C₁₀H₁₀N₂NaOS: 229,04060, trouvé: 229,04078;

[M-C₄H₈+H]⁺ calculé pour C₁₁H₁₁N₂O₃S: 251,04849, trouvé: 251,04863;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₅H₁₈N₂NaO₃S: 329,09303, trouvé: 329,09333.

Procédure générale D: S-benzylation des dérivés 2-thioimidazolidin-4-one:

Le dérivé 2-thioimidazolidin-4-one (1 mmol, 1 éq.) est dissous au sein du DCM (15 mL) sous argon, à température ambiante. La triéthylamine (4 éq.) suivi de BnBr (1,5 éq.) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est mis sous agitation durant 2h à TA. Il est ensuite concentré à l'évaporateur rotatif afin d'obtenir un brut de réaction qui est purifié par chromatographie sur gel de silice.

1-Acétyl-2-(benzylsulfanyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one (10)

La molécule **10** est obtenue à partir de la 1-acétyl-2-thioimidazolidin-4-one **1** (4,00 g, 25,2 mmol, 1 éq.) en suivant le mode opératoire général D sous forme d'un solide jaune (3,19 g, 12,8 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 51%

Rf = 0,26 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 149-151 °C

IR (produit pur): 1171-1226 (C-N); 1377 (C-S); 1449 (N=C-S); 1698 (C=O Ac); 1731 (C=O cycle).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): 2,25 (s, 3H, CH₃); 4,32 (s, 2H, H-5); 4,41 (s, 2H, CH₂ Bn); 7,27-7,41 (m, 5H, H-Ph).

RMN ¹³C (250 MHz, CDCl₃): 23,8 (CH₃); 37,9 (CH₂, Bn); 52,7 (C-5); 127,8, 128,7, 129,3 (CH, Ph); 134,9 (Cq, Ph); 166,9 (C=O, Ac); 182,0 (C-4); 184,9 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 249,0 [M+H]⁺; 271,0 [M+Na]⁺.

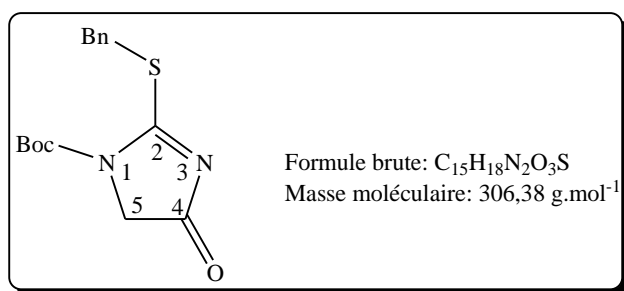
HRMS (ESI+) m/z:

[M-C₂H₂O+H]⁺ calculé pour C₁₀H₁₁N₂OS: 207,05866, trouvé: 207,05871;

[M-C₂H₂O+Na]⁺ calculé pour C₁₀H₁₀N₂NaOS: 229,04060, trouvé: 229,04048;

[M+H]⁺ calculé pour C₁₂H₁₃N₂O₂S: 249,06922, trouvé: 249,06933;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₂H₁₂N₂NaO₂S: 271,05117, trouvé: 271,05120.

2-(Benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one (12)

Le composé **12** est obtenu à partir de la 1-*tert*-butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one **15** (3,00 g, 13,87 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide brun (4,03 g, 13,2 mmol) après chromatographie sur gel de silice: DCM.

Rendement: 95%

R_f = 0,55 (1 AcOEt / 1 EP)

Pf = 124-126 °C

IR (produit pur): 1146-1255 (C-N); 1456 (N-C-S); 1716 (C=O *t*Bu); 1716 (C=O cycle).

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): 1,53 (s, 9H, *t*Bu); 4,23 (s, 2H, H-5); 4,45 (s, 2H, CH₂ Bn); 7,26-7,43 (m, 5H, H-Ph).

RMN ¹³C (250 MHz, CDCl₃): 28,0 (3 × CH₃, *t*Bu); 37,3 (CH₂, Bn); 52,6 (C-5); 85,6 (Cq, *t*Bu); 127,9, 128,7, 129,4 (CH, Ph); 135,2 (Cq, Ph); 148,2 (C=O, *t*Bu); 182,0 (C-4); 184,9 (C-2).

MS (ESI⁺) *m/z*: 307,0 [M+H]⁺; 329,0 [M+Na]⁺.

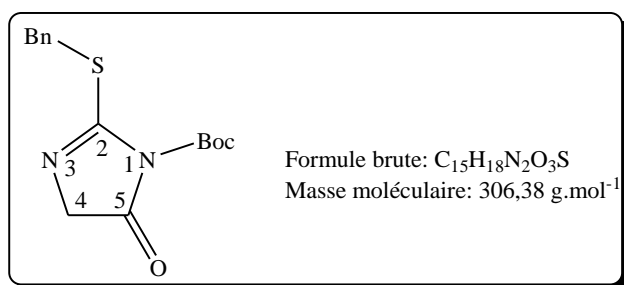
HRMS (ESI⁺) *m/z*:

[M-C₄H₈+H]⁺ calculé pour C₁₁H₁₁N₂O₃S: 251,04849, trouvé: 251,04860;

[M-C₄H₈+Na]⁺ calculé pour C₁₁H₁₀N₂NaO₃S: 273,03043, trouvé: 273,03045;

[M+H]⁺ calculé pour C₁₅H₁₉N₂O₃S: 307,11109, trouvé: 307,11123;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₅H₁₈N₂NaO₃S: 329,09303, trouvé: 329,09302.

2-(Benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (13)

Le composé **13** est obtenu à partir de la 2-(benzylsulfanyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one **11** (100 mg, 0,49 mmol, 1 éq.) en suivant la procédure générale C sous forme d'un solide jaune (42,2 mg, 0,14 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 28%

R_f = 0,77 (1 EP / 1 AcOEt)

P_f = 133-135 °C

IR (produit pur): 1151-1309 (C-N); 1575 (N-C-S); 1731 (C=O *t*Bu); 1790 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,47 (s, 9H, *t*Bu); 4,12 (s, 2H, H-4); 4,18 (s, 2H, CH₂ Bn); 7,16-7,30 (m, 5H, H-Ph).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 27,7 (3 × CH₃, *t*Bu); 35,2 (CH₂, Bn); 59,0 (C-4); 85,9 (Cq, *t*Bu); 127,3, 128,4, 129,1 (CH, Ph); 135,8 (Cq, Ph); 147,2 (C=O, *t*Bu); 160,1 (C-5); 174,9 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 307,0 [M+H]⁺; 329,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) m/z:

[M-C₅H₈O₂+H]⁺ calculé pour C₁₀H₁₁N₂OS: 207,05866, trouvé: 207,05877;

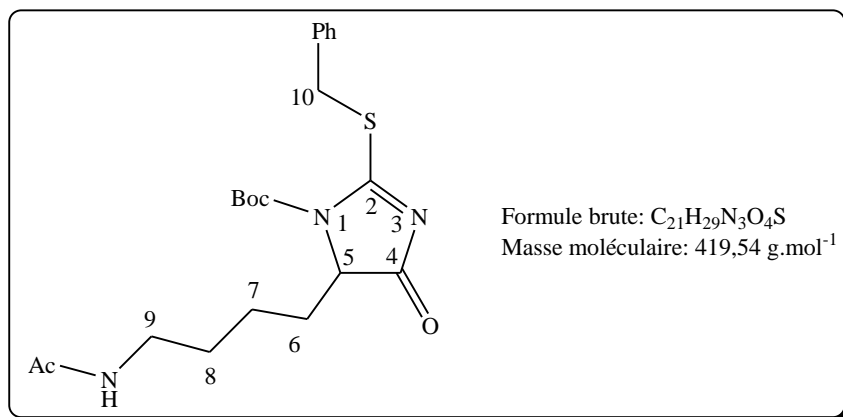
[M-C₅H₈O₂+Na]⁺ calculé pour C₁₀H₁₀N₂NaOS: 229,04060, trouvé: 229,04066;

[M+H]⁺ calculé pour C₁₅H₁₉N₂O₃S: 307,11109, trouvé: 307,11098;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₅H₁₈N₂NaO₃S: 329,09303, trouvé: 329,09312;

[2M+Na]⁺ calculé pour C₃₀H₃₆N₄NaO₆S₂: 635,19685, trouvé: 635,19681.

5-(4-Acétamidobutyl)-2-(benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one (20)



Le composé **20** est obtenu à partir de la 5-(4-acétamidobutyl)-1-tert-butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one **19** (150 mg, 0,46 mmol, 1 éq.) sous forme d'une huile translucide (150 mg, 0,36 mmol) après chromatographie sur gel de silice à l'AcOEt.

Rendement: 78%

R_f = 0,40 (90 CH₂Cl₂ / 10 MeOH)

IR (produit pur): 1145-1242 (C-N); 1439 (N-C-S); 1652 (C=O *t*Bu); 1652 (C=O Ac); 1720 (C=O cycle); 3305 (NH lysine).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,22-1,38 (m, 2H, H-7); 1,47-1,52 (m, 2H, H-8); 1,54 (s, 9H, *t*Bu); 1,96 (s, 3H, N-Ac); 2,03-2,10 (m, 2H, H-6); 3,22 (qd, 2H, $J_{9-8} = J_{9-NH} = 6,9 \text{ Hz}$, $J_{9a-9b} = 2,9 \text{ Hz}$, H-9); 4,31 (t, 1H, $J_{5-6} = 4,9 \text{ Hz}$, H-5); 4,43 (dd, 1H, $J_{10a-10b} = 13,2 \text{ Hz}$, H-10a); 4,47 (dd, 1H, $J_{10b-10a} = 13,2 \text{ Hz}$, H-10b); 5,63 (sl, 1H, NHAc); 7,27-7,41 (m, 5H, H-Ph).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 20,3 (C-7); 23,3 (CH₃, N-Ac); 28,0 (3 × CH₃, *t*Bu); 28,9 (C-8); 29,7 (C-6); 37,9 (CH₂, Bn); 39,1 (C-9); 63,2 (C-5); 85,7 (Cq, *t*Bu); 127,9, 128,7, 129,4 (CH, Ph); 135,0 (Cq, Ph); 148,3 (C=O, *t*Bu); 170,1 (C=O, N-Ac); 184,9 (C-4); 185,4 (C-2).

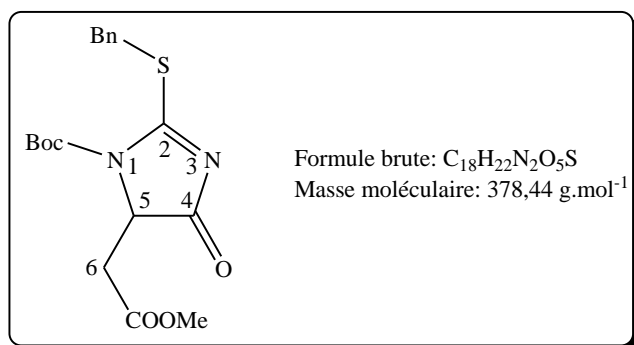
MS (ESI+) m/z: 420,0 [M+H]⁺; 442,5 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) m/z:

[M-C₅H₈O₂+H]⁺ calculé pour C₁₆H₂₂N₃O₂S: 320,14272, trouvé: 320,14279;

[M+H]⁺ calculé pour C₂₁H₃₀N₃O₄S: 420,19515, trouvé: 420,19502;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₁H₂₉N₃NaO₄S: 442,17710, trouvé: 442,17606.

2-(Benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-5-(méthoxycarbonylméthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one (23)

Le composé **23** est obtenu à partir de la 1-*tert*-butoxycarbonyl-5-(méthoxycarbonylméthyl)-2-thioimidazolidin-4-one **22** (50 mg, 0,17 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle (63,0 mg, 0,17 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 95 CH_2Cl_2 / 5 MeOH.

Rendement: 98%

Rf = 0,54 (95 CH_2Cl_2 / 5 MeOH)

Pf = 142 – 144 °C

IR (produit pur): 1142-1256 (C-N); 1450 (N-C=S); 1723 (C=O *t*Bu); 1723 (C=O ester); 1723 (C=O cycle).

RMN ^1H (250 MHz, CDCl_3): 1,53 (s, 9H, *t*Bu); 3,08 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 3,7 \text{ Hz}$, $J_{6a-6b} = 16,8 \text{ Hz}$, H-6a); 3,18 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 5,3 \text{ Hz}$, $J_{6a-6b} = 16,8 \text{ Hz}$, H-6b); 3,65 (s, 3H, ester); 4,45 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 3,7 \text{ Hz}$, $J_{5-6b} = 5,3 \text{ Hz}$, H-5); 4,48 (s, 2H, CH_2 Bn); 7,27-7,43 (m, 5H, H-Ph).

RMN ^{13}C (250 MHz, CDCl_3): 27,9 ($3 \times \text{CH}_3$, *t*Bu); 34,8 (C-6); 37,9 (CH_2 , Bn); 52,1 (CH_3 ester); 59,4 (C-5); 85,1 (Cq, *t*Bu); 127,8, 128,7, 129,4 (CH, Ph); 135,2 (Cq, Ph); 148,2 (C=O, *t*Bu); 169,1 (C-4); 184,0 (C=O, ester); 185,1 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 379,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 401,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

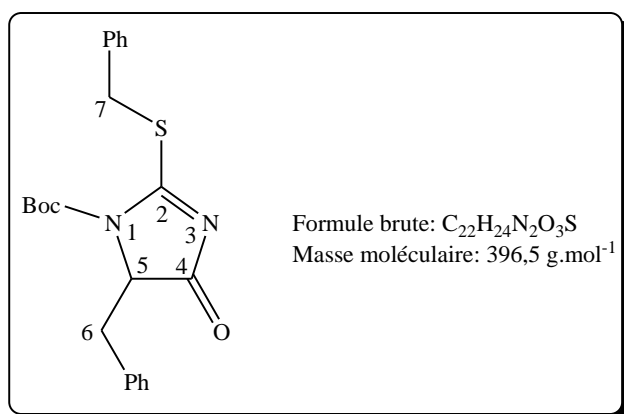
$[\text{M}-\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: 279,07979, trouvé: 279,08004;

$[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: 323,06962, trouvé: 323,06963;

$[\text{M}-\text{C}_4\text{H}_8+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{S}$: 345,05156, trouvé: 345,05157;

$[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: 379,13222, trouvé: 379,13223;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{NaO}_5\text{S}$: 401,11416, trouvé: 401,11410.

5-Benzyl-2-(benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one (26)

Le composé **26** est obtenu à partir de la 5-benzyl-1-tert-butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one **25** (240 mg, 0,78 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle (283 mg, 0,71 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 91%

Rf = 0,26 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 132 - 135 °C

IR (produit pur): 1147-1266 (C-N); 1437 (N-C-S); 1719 (C=O *t*Bu); 1719 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,60 (s, 9H, *t*Bu); 3,34 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 2,7$ Hz, $J_{6a-6b} = 13,8$ Hz, H-6a); 3,43 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 5,8$ Hz, $J_{6a-6b} = 13,8$ Hz, H-6b); 4,21 (dd, 1H, $J_{7a-7b} = 13,4$ Hz, H-7a); 4,27 (dd, 1H, $J_{7b-7a} = 13,4$ Hz, H-7b); 4,53 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 2,7$ Hz, $J_{5-6b} = 5,8$ Hz, H-5); 7,06-7,27 (m, 10H, H-Ph).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 28,1 (3 × CH₃, *t*Bu); 36,1 (C-6); 37,5 (C-7); 64,3 (C-5); 85,7 (Cq, *t*Bu); 127,4, 127,7, 128,5, 128,6, 129,2, 129,4 (CH, Ph); 133,6, 135,3 (Cq, Ph); 148,3 (C=O, *t*Bu); 184,7 (C-4); 184,9 (C-2).

MS (ESI⁺) m/z: 397,0 [M+H]⁺; 419,0 [M+Na]⁺.

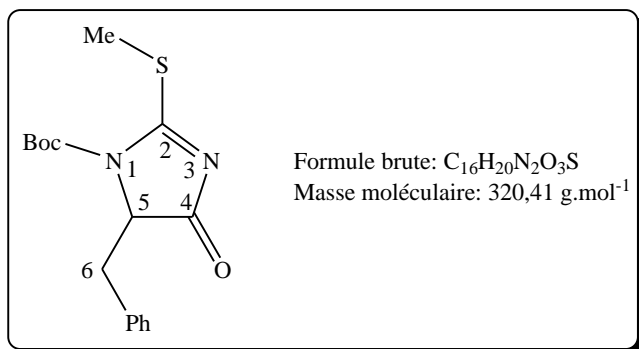
HRMS (ESI⁺) m/z:

[M-C₄H₈+H]⁺ calculé pour C₁₈H₁₇N₂O₃S: 341,09544, trouvé: 341,09560;

[M-C₄H₈+Na]⁺ calculé pour C₁₈H₁₆N₂NaO₃S: 363,07738, trouvé: 363,07738;

[M+H]⁺ calculé pour C₂₂H₂₅N₂O₃S: 397,15804, trouvé: 397,15813;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₂H₂₄N₂NaO₃S: 419,13998, trouvé: 419,14014.

5-Benzyl-1-tert-butoxycarbonyl-2-(méthylsulfanyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one (27)

Dans un ballon, sous argon la Et₃N (0,65 mmol, 4 éq.) et l'iodure de méthyle (0,56 mmol, 3,5 éq.) sont ajoutés à une solution de 5-benzyl-1-tert-butoxycarbonyl-2-thioimidazolidin-4-one **25** (50,0 mg, 0,16 mmol, 1 éq.) dans le DCM (5 mL). Le milieu réactionnel est agité à TA durant 30 min puis concentré sous vide. Le produit **27** est obtenu après purification par chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt, sous la forme d'un solide blanc (41,7 mg, 0,13 mmol).

Rendement: 80%

Rf = 0,50 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 108 - 111 °C

IR (produit pur): 1141-1258 (C-N); 1455 (N-C=S); 1719 (C=O *t*Bu); 1719 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,62 (s, 9H, *t*Bu); 2,38 (s, 3H, S-CH₃); 3,33 (dd, 1H, *J*_{6a-5} = 2,7 Hz, *J*_{6a-6b} = 13,8 Hz, H-6a); 3,43 (dd, 1H, *J*_{6b-5} = 5,9 Hz, *J*_{6a-6b} = 13,8 Hz, H-6b); 4,53 (dd, 1H, *J*_{5-6a} = 2,7 Hz, *J*_{5-6b} = 5,9 Hz, H-5); 7,06-7,27 (m, 5H, Ph-H).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 16,1 (CH₃, S-CH₃); 28,1 (3 × CH₃, *t*Bu); 36,0 (C-6); 64,4 (C-5); 85,6 (Cq, *t*Bu); 127,3, 128,5, 129,3 (CH, Ph); 133,7 (Cq, Ph); 148,3 (C=O, *t*Bu); 184,6 (C-4); 185,9 (C-2).

MS (ESI+) *m/z*: 321,5 [M+H]⁺; 345,0 [M+Na]⁺.

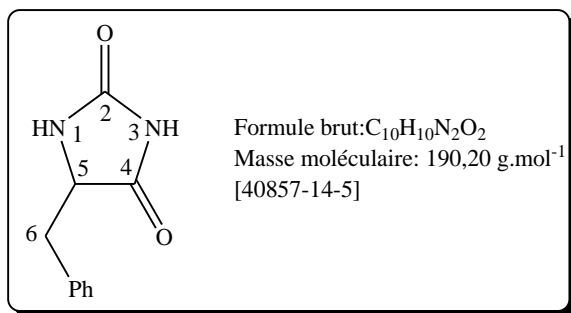
HRMS (ESI+) *m/z*:

[M-C₄H₈+H]⁺ calculé pour C₁₂H₁₃N₂O₃S: 265,06414, trouvé: 265,06428;

[M-C₄H₈+Na]⁺ calculé pour C₁₂H₁₂N₂NaO₃S: 287,04608, trouvé: 287,04619;

[M+H]⁺ calculé pour C₁₆H₂₁N₂O₃S: 321,12674, trouvé: 321,12656;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₆H₂₀N₂NaO₃S: 343,10868, trouvé: 343,10858.

5-Benzylimidazolidine-2,4-dione (28)

La 5-benzyl-2-thioimidazolidin-4-one **24** (200 mg, 0,97 mmol, 1 éq.) est dissoute dans un mélange ACN (3,0 mL) / H_2O (2,0 mL) dans un ballon à TA. $NaHCO_3$ (163 mg, 1,94 mmol, 2 éq.) et H_2O_2 30% (0,20 mL) sont ajoutés et la solution est agitée durant 30 min. Le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif et le composé **28** est obtenu après chromatographie sur gel de silice: 9 DCM / 1 MeOH, sous forme d'un solide jaune (79,9 mg, 0,42 mmol).

Rendement: 43%

Rf = 0,52 (90 DCM / 10 MeOH)

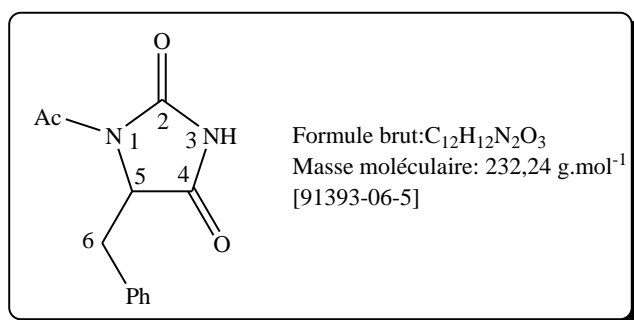
Pf = 185 – 188 °C (lit. 192 °C)

RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$): 2,93 (m, 2H, H-6); 4,33 (t, 1H, $J_{5-6} = 5,0 \text{ Hz}$, H-5); 7,18-7,30 (m, 5H, H-Ph); 7,91 (sl, 1H, N_1-H); 10,42 (sl, 1H, N_3-H).

RMN ^{13}C (400 MHz, $DMSO-d_6$): 36,3 (C-6); 58,3 (C-5); 126,7, 128,0, 129,6 (CH, Ph); 135,5 (Cq, Ph); 157,03 (C-2); 175,1 (C-4).

MS (ESI+) m/z: 213,0 $[M+Na]^+$.

Patching S. G. *J. Label. Compd. Radiopharm.* **2011**, *54*, 110-114.

1-Acétyl-5-benzylimidazolidine-2,4-dione (29)

Le mCPBA 77% (541 mg, 2,415 mmol, 3 éq.) est ajouté à une solution de 1-acétyl-5-benzyl-2-thioimidazolidin-4-one **5** (200mg, 0,805 mmol, 1 éq.) dans le DCM (20 mL) dans un ballon sous argon à TA. Le milieu réactionnel est agité durant 30 min puis concentré à l'évaporateur rotatif. Le composé **29** est obtenu après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt, sous forme d'un solide blanc (87,4 mg, 0,38 mmol).

Rendement: 47%

Rf = 0,64 (95 DCM / 5 MeOH)

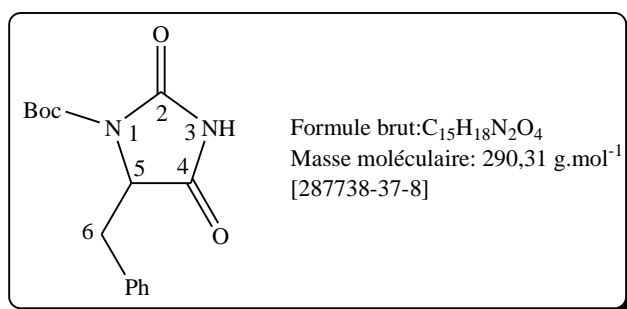
Pf = 141 – 142 °C

IR (produit pur): 1241-1288 (C-N); 1643 (C=O Ac); 1705 (C=O cycle); 3057 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,39 (s, 3H, CH₃); 3,23 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 2,6$ Hz, $J_{6a-6b} = 13,8$ Hz, H-6a); 3,35 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 5,7$ Hz, $J_{6a-6b} = 13,8$ Hz, H-6b); 4,76 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 2,6$ Hz, $J_{5-6b} = 5,7$ Hz, H-5); 6,98-7,00 (m, 2H, H-Ph); 7,22-7,31 (m, 3H, H-Ph); 11,36 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 24,6 (CH₃); 33,7 (C-6); 60,3 (C-5); 127,1, 128,3, 129,3 (CH, Ph); 134,3 (Cq, Ph); 154,0 (C-2); 168,9 (C=O, Ac); 171,8 (C-4).

MS (ESI+) m/z: 233,0 [M+H]⁺.

5-Benzyl-1-tert-butoxycarbonyl-2,4-dioximidazolidine (30)

La 5-benzyl-1-*tert*-butoxycarbonyl-2-thioxoimidazolidin-4-one **25** (50,0 mg, 0,16 mmol, 1 éq.) est dissoute dans un mélange ACN (0,6 mL) / H₂O (0,4 mL) dans un ballon à TA. NaHCO₃ (27,0 mg, 0,32 mmol, 2 éq.) et H₂O₂ 30% (0,03 mL) sont ajoutés et la solution est agitée durant 30 min. Le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif et le composé **30** est obtenu après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt, sous forme d'un solide blanc (32,6 mg, 0,11 mmol).

Rendement : 69%

Rf = 0,30 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 126 – 129 °C

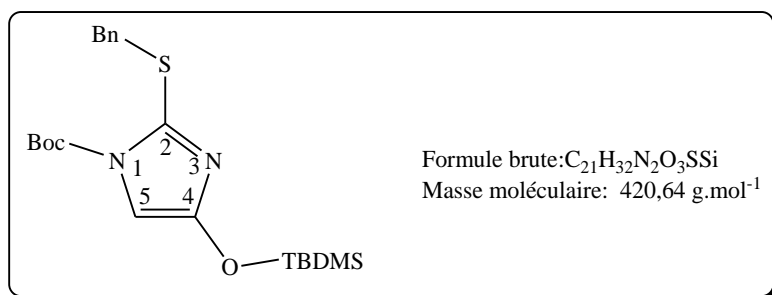
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 1,51 (s, 9H, *t*Bu); 3,11 (dd, 1H, $J_{6a-5} = 2,4$ Hz, $J_{6a-6b} = 13,8$ Hz, H-6a); 3,29 (dd, 1H, $J_{6b-5} = 5,8$ Hz, $J_{6a-6b} = 13,8$ Hz, H-6b); 4,62 (dd, 1H, $J_{5-6a} = 2,4$ Hz, $J_{5-6b} = 5,8$ Hz, H-5); 7,00-7,02 (m, 2H, H-Ph); 7,22-7,31 (m, 3H, H-Ph); 8,64 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 28,2 (3 × CH₃, *t*Bu); 34,9 (C-6); 61,6 (C-5); 82,8 (Cq, *t*Bu); 127,5, 128,8, 129,9 (CH, Ph); 135,1 (Cq, Ph); 148,9 (C=O, *t*Bu); 154,2 (C-2); 173,6 (C-4).

MS (ESI+) *m/z*: 291,5 [M+H]⁺.

Takeuchi Y.; Kirihara K.; Kirk K. L.; Shibata N. *Chem. Commun.*, **2000**, 785-786.

2-(Benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4-(tert-butyldiméthylsilyloxy)-1H-imidazole
(31)



Une solution de *n*-butyllithium (1,8 M dans hexane) (0,27 mL, 0,49 mmol, 1,5 équ.) est additionnée à une solution de 2-(benzylsulfanyl)-1-*tert*-butoxycarbonyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-one **12** (100 mg, 0,33 mmol, 1 équ.) dans le THF (2 mL), dans un ballon sous argon à -78 °C, le tout est agité durant une heure. Le *tert*-butyldiméthylchlorosilane (59 mg, 0,39 mmol, 1,2 équ.) est ajouté et la solution est agitée durant 4h. Le milieu réactionnel est hydrolysé puis extrait à l'AcOEt (3 × 10 mL). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ et concentrées à l'évaporateur rotatif. Le composé **31** est obtenu après chromatographie sur gel de silice: 99 EP / 1 AcOEt, sous forme d'une huile incolore (42,2 mg, 0,10 mmol).

Rendement: 31 %

Rf = 0,40 (95 EP / 5 AcOEt)

IR (produit pur): 1152-1359 (C-N); 1601 (N=C-S); 1744 (C=O Boc).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 0,25 (s, 6H, 2 × Si-CH₃); 0,97 (s, 9H, Si-*t*Bu); 1,57 (s, 9H, O-*t*Bu); 4,38 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,57 (s, 1H, H-5); 7,24-7,29 (m, 3H, H-Ph); 7,42-7,44 (m, 2H, H-Ph).

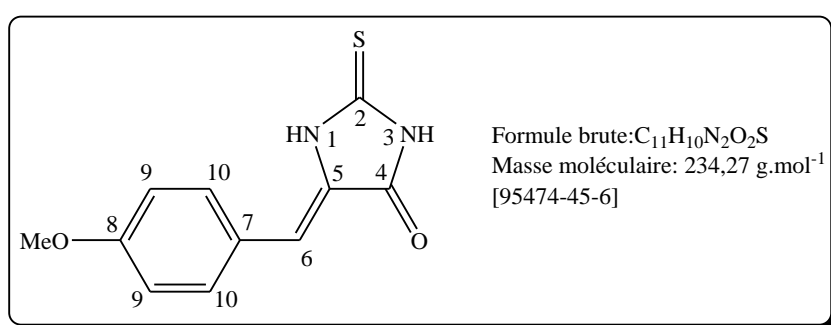
RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): - 4,4 (2 × Si-CH₃); 18,2 (Cq, Si-*t*Bu); 25,8 (3 × CH₃, Si-*t*Bu); 27,9 (3 × CH₃, O-*t*Bu); 36,2 (CH₂, Bn); 85,3 (Cq, O-*t*Bu); 98,5 (C-5); 127,2, 128,4 129,2 (CH, Ph); 137,1 (Cq, Ph); 142,2 (C-4); 147,9 (C=O, *t*Bu); 151,6 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 321,0 [M-C₅H₈O₂+H]⁺; 365 [M-C₄H₈+H]⁺; 421,0 [M+H]⁺.

Procédure générale E: Condensation d'aldéhyde en position 5 des dérivés 2-thioimidazolidin-4-one:

Le dérivé 2-thioimidazolidin-4-one (1,0 mmol, 1 éq.) et l'aldéhyde (1,1 mmol, 1,1 éq.) sont introduits dans un ballon sous argon, à TA. L'acétate de sodium (4,3 mmol, 4,3 éq.) et l'acide acétique (2 mL) sont ajoutés. La solution obtenue est portée au reflux durant 2h. Le milieu réactionnel est ensuite dilué à l'AcOEt (30 mL) puis lavé à l'eau (3 × 30 mL). La phase organique est séchée au MgSO₄ puis concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est chromatographié sur gel de silice.

(5Z)-5-(4-Méthoxybenzylidène)-2-thioimidazolidin-4-one (34)



La molécule **34** est obtenue à partir de la 2-thioimidazolidin-4-one **14** (2,00 g, 17,2 mmol, 1 éq.) et du *p*-méthoxybenzaldéhyde (2,32 mL, 18,9 mmol, 1,1 éq.) en suivant la procédure générale E sous forme d'un solide jaune (3,17 g, 13,5 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 98%

R_f = 0,36 (7 EP / 3 AcOEt)

P_f = 267 - 268 °C

IR (produit pur): 1170 (C-O ether); 1258 (C-N); 1482-1596 (N-C=S); 1720 (C=O cycle); 3140 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 3,81 (s, 3H, OCH₃); 6,46 (s, 1H, H-6); 6,98 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-9); 7,33 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,8 Hz, H-10); 12,07 (sl, 1H, NH); 12,26 (sl, 1H, NH).

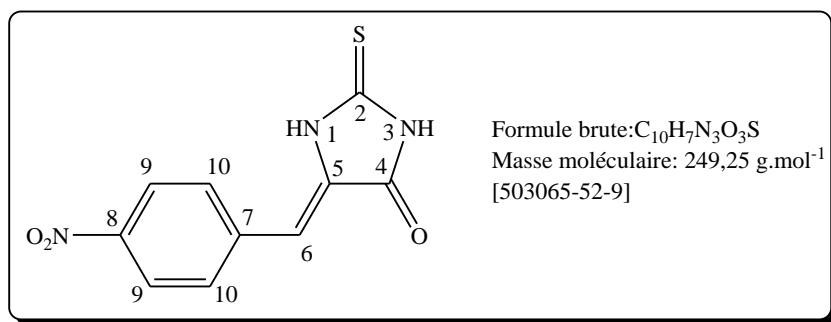
RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 55,3 (OCH₃); 112,1 (C-6); 114,3 (C-9); 124,8 (C-7); 125,8 (C-5); 132,1 (C-10); 160,2 (C-8); 165,7 (C-4); 178,5 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 235,0 [M+H]⁺.

HRMS (ESI+) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₁₁H₁₁N₂O₂S: 235,05357, trouvé: 235,05371;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₁H₁₀N₂NaO₂S: 257,03552, trouvé: 257,03548.

(5Z)-5-(4-Nitrobenzylidène)-2-thioimidazolidin-4-one (38)

La molécule **38** est obtenue à partir de la 2-thioimidazolidin-4-one **14** (100 mg, 0,86 mmol, 1 éq.) et du *p*-nitrobenzaldéhyde (143 mg, 0,95 mmol, 1,1 éq.) sous forme d'un solide jaune (209 mg, 0,84 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 97%

R_f = 0,68 (1 EP / 1 AcOEt)

P_f (Td) = 292 – 295 °C (lit. 294 °C)

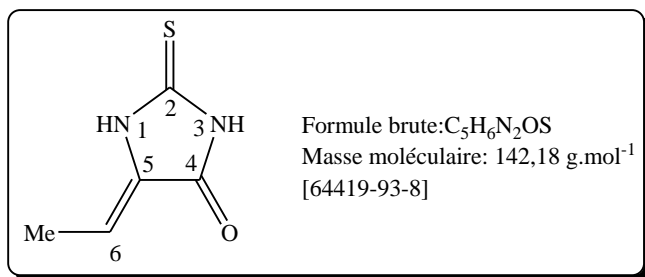
IR (produit pur): 1253 (C-N); 1338-1518 (NO₂); 1481-1518 (N-C=S); 1743 (C=O cycle); 3208 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 6,55 (s, 1H, H-6); 7,96 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,8 Hz, H-10); 8,21 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-9); 12,42 (sl, 1H, NH); 12,56 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 107,9 (C-6); 123,6 (C-9); 130,2 (C-7); 130,8 (C-10); 139,1 (C-5); 146,6 (C-8); 165,6 (C-4); 180,0 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 250,0 [M+H]⁺.

Santos L. C. et al. *Heterocyclic Communication*, **2005**, *11*, 121-128.

(5Z)-5-Ethylidène-2-thioimidazolidin-4-one (39)

La molécule **39** est obtenue à partir de la 2-thioimidazolidin-4-one **14** (100 mg, 0,86 mmol, 1 éq.) et de l'acétaldéhyde (0,06 mL, 0,95 mmol, 1,1 éq.) sous forme d'un solide brun (6,90 mg, 0,05 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 6%

Rf = 0,53 (1 EP / 1 AcOEt)

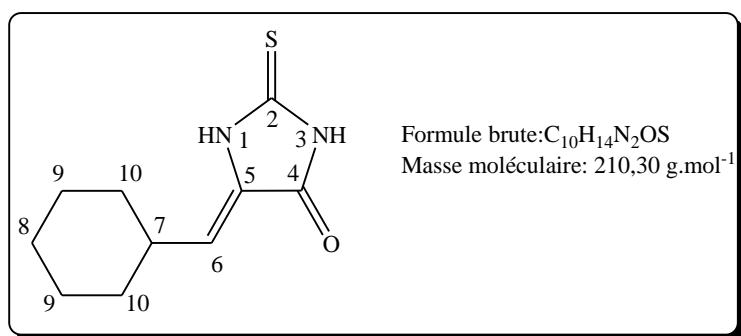
Pf = 258 – 260 °C (lit. 264 - 269 °C)

RMN ¹H (250 MHz, DMSO-*d*₆): 1,86 (d, 3H, $J_{\text{Me-6}} = 7,7$ Hz, CH₃); 5,71 (q, 1H, $J_{6\text{-Me}} = 7,7$ Hz, H-6); 11,92 (sl, 1H, NH); 12,06 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (250 MHz, DMSO-*d*₆): 12,5 (CH₃); 111,7 (C-6); 131,7 (C-5); 164,1 (C-4); 177,9 (C-2).

MS (ESI+) *m/z*: 143,0 [M+H]⁺.

Duggan, B. M.; Laslett, R. L.; Wilshire J. F. K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 541-550.

(5Z)-5-Cyclohexylméthylidène-2-thioimidazolidin-4-one (40)

Le composé **40** est obtenu à partir de la 2-thioimidazolidin-4-one **14** (100 mg, 0,86 mmol, 1 éq.) et du cyclohexane carboxaldéhyde (0,11 mL, 0,95 mmol, 1,1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle (112 mg, 0,53 mmol) après chromatographie su gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 62%

R_f = 0,79 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 195 – 197 °C

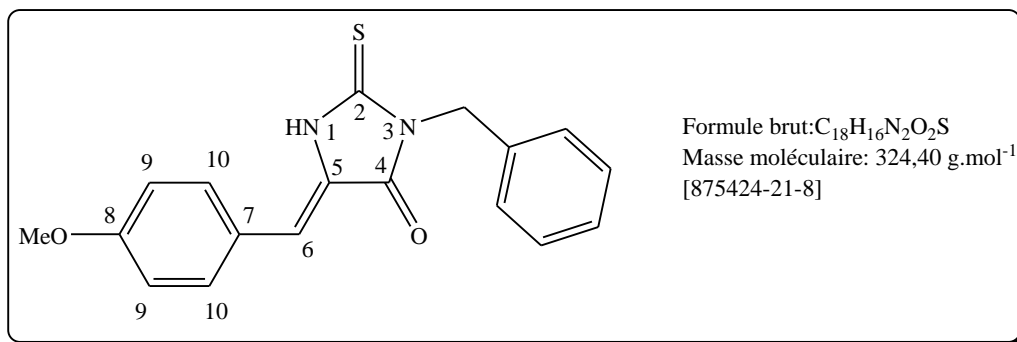
IR (produit pur): 1217 (C-N); 1389 (CH₂ cycle); 1530 (N-C=S); 1678 (C=C); 1728 (C=O cycle); 2849-2921 (CH₂ cycle); 3136 (NH).

RMN ¹H (250 MHz, DMSO-*d*₆): 1,08-1,35 (m, 5H, CH₂ cyclo); 1,59-1,69 (m, 5H, CH₂ cyclo); 2,55-2,59 (m, 1H, CH cyclo); 5,51 (d, 1H, *J*₆₋₇ = 10,3 Hz, H-6); 11,91 (sl, 1H, NH); 12,07 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (250 MHz, DMSO-*d*₆): 24,8 (C-9); 25,1 (C-8); 31,5 (C-10); 35,2 (C-7); 121,1 (C-6); 129,3 (C-5); 164,6 (C-4); 177,9 (C-2).

MS (ESI+) *m/z*: 211,0 [M+H]⁺.

HRMS (ESI+) *m/z*: [M+H]⁺ calculé pour C₁₀H₁₅N₂OS: 211,08996, trouvé: 211,08995.

(5Z)-3-Benzyl-5-(4-méthoxybenzylidène)-2-thioxoimidazolidin-4-one (51)

La molécule **51** est obtenue à partir de la 3-benzyl-2-thioxoimidazolidin-4-one **49** (2,00 g, 9,70 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune (2,86 g, 8,82 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 91%

Rf = 0,31 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 209 - 211 °C

IR (produit pur): 1233-1254 (C-N); 1437-1456-1594 (N-C=S); 1725 (C=O cycle); 3240 (NH).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): 3,82 (s, 3H, OCH₃); 5,01 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,65 (s, 1H, H-6); 7,00 (d, 2H, $J_{9-10} = 8,7 \text{ Hz}$, H-9); 7,26-7,33 (m, 5H, H-Ph); 7,78 (d, 2H, $J_{10-9} = 8,7\text{Hz}$, H-10); 12,42 (sl, 1H, NH).

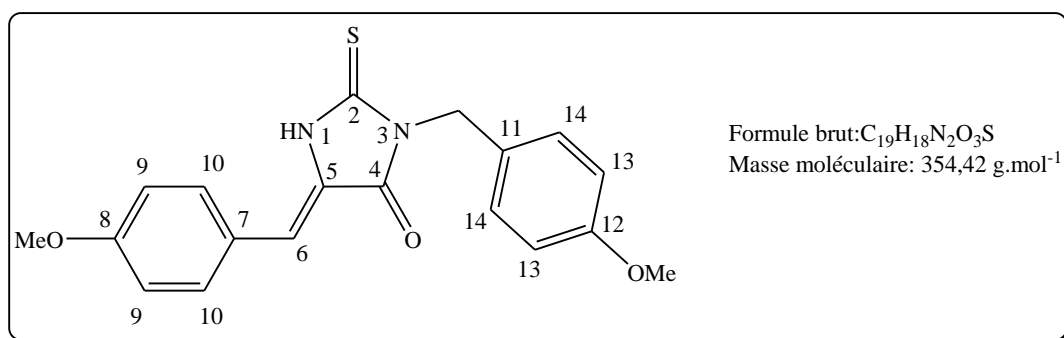
RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO- d_6): 43,6 (CH₂, Bn); 55,3 (OCH₃); 113,9 (C-6); 114,3 (C-9); 124,0 (C-7); 124,7 (C-5); 127,3, 127,4, 128,3 (CH, Ph); 132,3 (C-10); 160,4 (C-8); 163,9 (C-4); 177,9 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 347,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour $C_{18}H_{17}N_2O_2S$: 325,10052, trouvé: 325,10066;

[M+Na]⁺ calculé pour $C_{18}H_{16}N_2NaO_2S$: 347,08247, trouvé: 347,08230.

(5Z)-3-(4-Méthoxybenzyl)-5-(4-méthoxybenzylidène)-2-thioimidazolidin-4-one (52)

La molécule **52** est obtenue à partir de la 3-(4-méthoxyphényl)-2-thioimidazolidin-4-one **50** (240 mg, 1,02 mmol, 1 éq.) après chromatographie sur gel de silice: 9 EP / 1 AcOEt sous forme d'un solide jaune (266 mg, 0,75 mmol).

Rendement: 74%

Rf = 0,67 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 237 - 239 °C

IR (produit pur): 1175-1272 (C-N); 1461-1512-1602 (N-C=S); 1730 (C=O); 3219 (NH).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 3,77 (s, 3H, OCH_3); 3,84 (s, 3H, OCH_3); 5,03 (s, 2H, CH_2 PMB); 6,69 (s, 1H, H-6); 6,83 (d, 2H, $J_{13-14} = 8,6 \text{ Hz}$, H-13); 6,94 (d, 2H, $J_{9-10} = 8,8 \text{ Hz}$, H-9); 7,38 (d, 2H, $J_{10-9} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,46 (d, 2H, $J_{13-14} = 8,6 \text{ Hz}$, H-14); 8,98 (sl, 1H, NH).

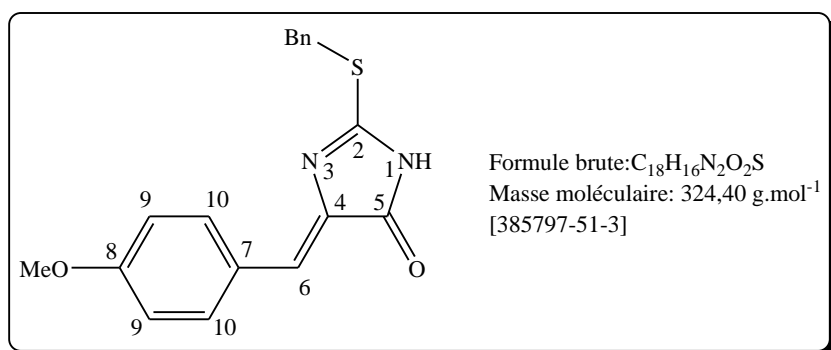
RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 44,2 (CH_2 , PMB); 55,2, 55,4 ($2 \times \text{CH}_3$, OCH_3); 113,8 (C-13); 114,1 (C-6); 115,0 (C-9); 124,7 (C-5); 125,2 (C-7); 127,8 (C-11); 130,4 (C-14); 131,0 (C-10); 159,3 (C-12); 160,9 (C-8); 163,7 (C-4); 177,5 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 355,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 377,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

$[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$: 355,11109, trouvé: 355,11118;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{NaO}_3\text{S}$: 377,09303, trouvé: 377,09292.

(4Z)-2-(Benzylsulfanyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (32)

Le composé **32** est obtenu à partir de la (5Z)-5-(4-méthoxybenzylidène)-2-thioimidazolidin-4-one **34** (130 mg, 0,56 mmol, 1 éq.) en suivant la procédure générale D de S-benzoylation des dérivés 2-thioimidazolidin-4-one après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt sous forme d'un solide jaune (173 mg, 0,53 mmol).

Rendement: 95%

R_f = 0,24 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 199 - 201 °C

IR (produit pur): 1250-1298 (C-N); 1511-1558 (N=C-S); 1734 (C=O cycle); 2980 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 3,81 (s, 3H, OCH₃); 4,56 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,74 (s, 1H, H-6); 7,03 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-9); 7,25-7,52 (m, 5H, H-Ph); 8,19 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,8 Hz, H-10); 11,72 (sl, 1H, NH).

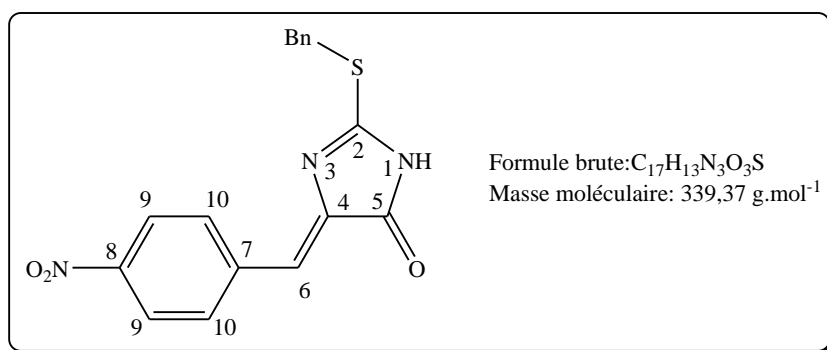
RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 33,3 (CH₂, Bn); 55,2 (OCH₃); 114,2 (C-9); 121,4 (C-6); 126,9 (C-7); 127,5, 128,5, 128,9 (CH, Ph); 133,3 (C-10); 137,1 (C-4); 137,3 (Cq, Ph); 160,4 (C-8); 162,1 (C-5); 170,4 (C-2).

MS (ESI⁺) m/z: 325,0 [M+H]⁺; 347,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₁₈H₁₇N₂O₂S: 325,10052, trouvé: 325,10073;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₈H₁₆N₂NaO₂S: 347,08247, trouvé: 347,08253.

(4Z)-2-(Benzylsulfanyl)-4-(4-nitrobenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (41)

La molécule **41** est obtenue à partir de la (5Z)-5-(4-nitrobenzylidène)-2-thioxoimidazolidin-4-one **38** (100 mg, 0,40 mmol, 1 éq.) en suivant la procédure générale D sous forme d'un solide jaune (114 mg, 0,33 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 84%

R_f = 0,45 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 243 - 245 °C

IR (produit pur): 1180 (C-N); 1335-1598 (NO₂); 1498 (N=C-S); 1713 (C=O cycle); 3062 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 4,61 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,84 (s, 1H, H-6); 7,27-7,36 (m, 3H, Ph-H); 7,52-7,55 (m, 2H, H-Ph); 8,27 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,9 Hz, H-9); 8,44 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,9 Hz, H-10); 12,06 (sl, 1H, NH).

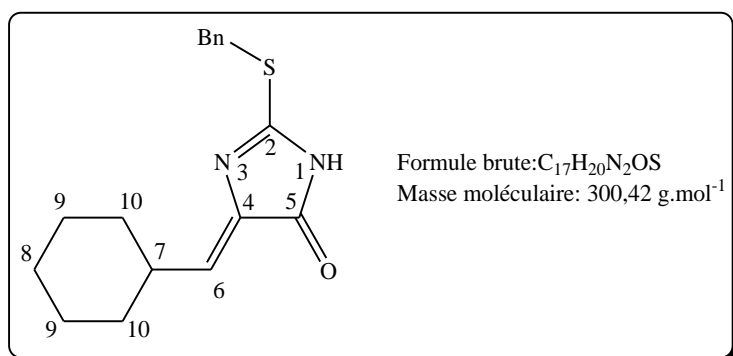
RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 33,5 (CH₂, Bn); 117,4 (C-6); 123,6 (C-9); 127,5, 128,5, 129,0 (CH, Ph); 132,0 (C-10); 136,8 (C-4); 140,0 (Cq, Ph); 141,6 (C-7); 146,7 (C-8); 167,3 (C-5); 170,2 (C-2).

MS (ESI+) *m/z*: 340,0 [M+H]⁺.

HRMS (ESI+) *m/z*:

[M+H]⁺ calculé pour C₁₇H₁₄N₃O₃S: 340,07504, trouvé: 340,07508;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₇H₁₃N₃NaO₃S: 362,05698, trouvé: 362,05691.

(4Z)-2-(Benzylsulfanyl)-4-(4-cyclohexylméthylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (42)

La molécule **42** est obtenue à partir du (5Z)-5-(4-cyclohexylméthylidène)-2-thioxoimidazolidin-4-one **40** (88,0 mg, 0,42 mmol, 1 éq.) en suivant la procédure générale D sous forme d'un solide blanc (69,1 mg, 0,23 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 9 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 55%

R_f = 0,50 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 146 – 148 °C

IR (produit pur): 1169 (C-N); 1411 (CH₂ cycle); 1524 (N-C=S); 1651 (C=C); 1719 (C=O cycle); 2845-2919 (CH₂ cycle); 3084 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 1,15-1,38 (m, 5H, CH₂ cyclo); 1,63-1,74 (m, 5H, CH₂ cyclo); 2,80-2,87 (m, 1H, CH cyclo); 4,43 (s, 2H, CH₂ Bn); 5,93 (d, 1H, *J*₆₋₇ = 9,5 Hz, H-6); 7,26-7,33 (m, 3H, H-Ph); 7,45-7,47 (m, 2H, H-Ph); 11,56 (sl, 1H, NH).

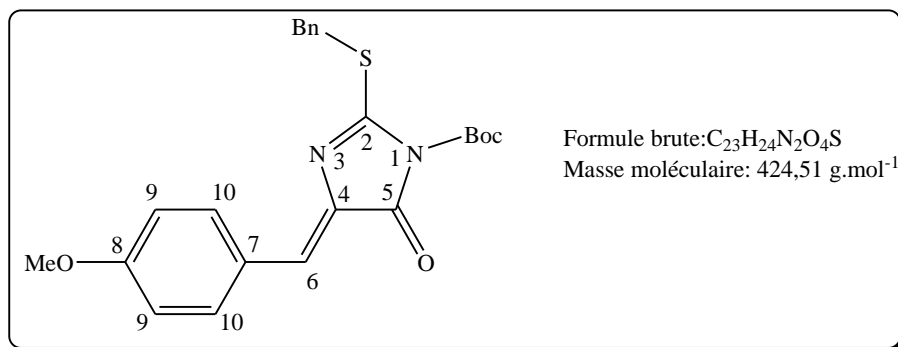
RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 25,0 (C-9); 25,3 (C-8); 31,6 (C-10); 33,0 (CH₂, Bn); 36,3 (C-7); 127,3, 128,3, 129,2 (CH, Ph); 132,7 (C-6); 137,0 (C-4); 140,0 (Cq, Ph); 161,2 (C-5); 169,3 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 301,5 [M+H]⁺; 323,5 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₁₇H₂₁N₂OS: 301,13691, trouvé: 301,13703;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₇H₂₀N₂NaOS: 323,11886, trouvé: 323,11888.

(4Z)-2-(Benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (33)

La molécule **33** est obtenue à partir de la (4Z)-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **32** (72,5 mg, 0,22 mmol, 1 éq.) en suivant la procédure générale C sous forme de solide jaune (63,8 mg, 0,15 mmol) et par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 67%

Rf = 0,58 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 149 - 151 °C

IR (produit pur): 1249-1297 (C-N); 1512-1558 (N=C-S); 1734 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,53 (s, 9H, *t*Bu); 3,78 (s, 3H, OCH₃); 4,41 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,86 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-9); 6,87 (s, 1H, H-6); 7,18-7,28 (m, 5H, H-Ph); 8,04 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,8 Hz, H-10).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 27,9 (3 × CH₃, *t*Bu); 36,0 (CH₂, Bn); 55,4 (OCH₃); 86,0 (Cq, *t*Bu); 114,3 (C-9); 125,5 (C-6); 127,0 (C-7); 127,6, 128,6, 129,2 (CH, Ph); 133,9 (C-10); 135,0 (C-5); 135,9 (Cq, Ph); 147,7 (C=O, *t*Bu); 159,8 (C-8); 161,4 (C-4); 165,6 (C-2).

MS (ESI⁺) *m/z*: 425,5 [M+H]⁺; 447,5 [M+Na]⁺.

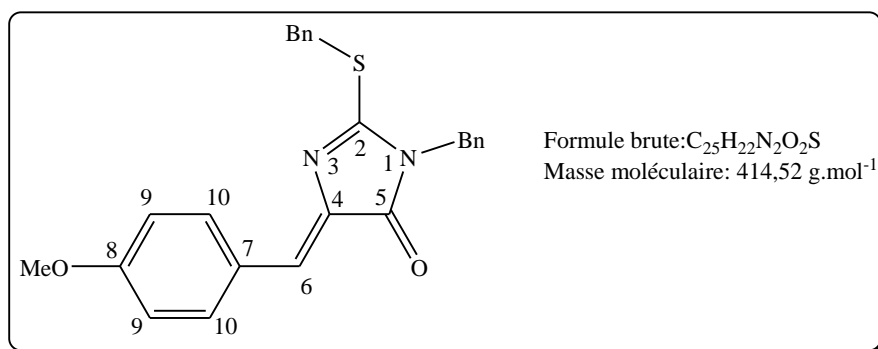
HRMS (ESI⁺) *m/z*:

[M-C₅H₈O₂+H]⁺ calculé pour C₁₈H₁₇N₂O₂S: 325,10052, trouvé: 325,10058;

[M-C₅H₈O₂+Na]⁺ calculé pour C₁₈H₁₆N₂NaO₂S: 347,08247, trouvé: 347,08247;

[M+H]⁺ calculé pour C₂₃H₂₅N₂O₄S: 425,15295, trouvé: 425,15299;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₃H₂₄N₂NaO₄S: 447,13490, trouvé: 447,13487.

(4Z)- 1-Benzyl-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (35)

La molécule **35** est obtenue à partir de la (5Z)-3-benzyl-5-(4-méthoxybenzylidène)-2-thioimidazolidin-4-one **51** (2,00 g, 6,17 mmol, 1 éq.) en suivant la procédure générale D de S-benzylation sous forme d'un solide jaune (2,23 g, 5,38 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 87%

R_f = 0,55 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 146 - 149 °C

IR (produit pur): 1173-1252 (C-N); 1496-1598 (N=C-S); 1700 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,85 (s, 3H, OCH₃); 4,55 (s, 2H, SCH₂ Bn); 4,76 (s, 2H, NCH₂ Bn); 6,94 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-9); 7,00 (s, 1H, H-6); 7,25-7,44 (m, 10H, H-Ph); 8,15 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,8 Hz, H-10).

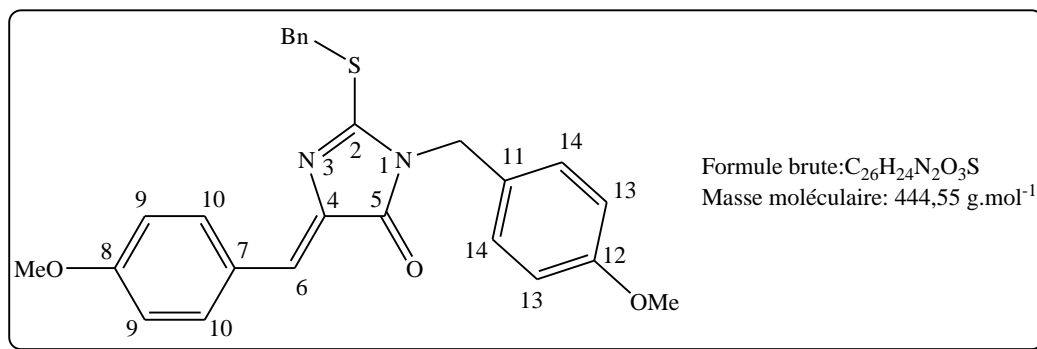
RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 35,1 (CH₂, S-Bn); 44,2 (CH₂, N-Bn); 55,3 (OCH₃); 114,2 (C-9); 124,6 (C-6); 127,4 (C-7); 127,7, 127,8, 128,6, 128,7, 129,2 (CH, Ph); 133,8 (C-10); 135,7 (C-4); 136,0, 136,5 (2 × C_q, Ph); 161,1 (C-8); 162,6 (C-5); 169,8 (C-2).

MS (ESI⁺) m/z: 415,0 [M+H]⁺; 437,5 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₂₅H₂₃N₂O₂S: 415,14748, found: 415,14765;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₅H₂₂N₂NaO₂S: 437,12942, found: 437,12932.

(4Z)-2-(Benzylsulfanyl)-1-(4-méthoxybenzyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (36)

La (4Z)-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **32** (500 mg, 1,54 mmol, 1 éq.) est introduite dans le THF (7,5 mL) dans un ballon sous argon, refroidi à 0°C. L'iodure de tétrabutylammonium (57,0 mg, 0,15 mmol, 0,1 éq.), le NaH 60% (203 mg, 8,47 mmol, 5,5 éq.) et le chlorure de *p*-méthoxybenzyle (0,65 mL, 4,93 mmol, 3,2 éq.) sont ajoutés à 0°C. Le tout est agité à TA durant 4h. Le NaH en excès est alors neutralisé avec de 30 mL d'eau glacée et le produit est extrait à l'AcOEt (3 × 20 mL). La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ et concentrée à l'évaporateur rotatif. Le composé obtenu **36** est purifié par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, sous la forme d'une huile jaune (166 mg, 0,37 mmol).

Rendement : 44%

Rf = 0,47 (7 EP / 3 AcOEt)

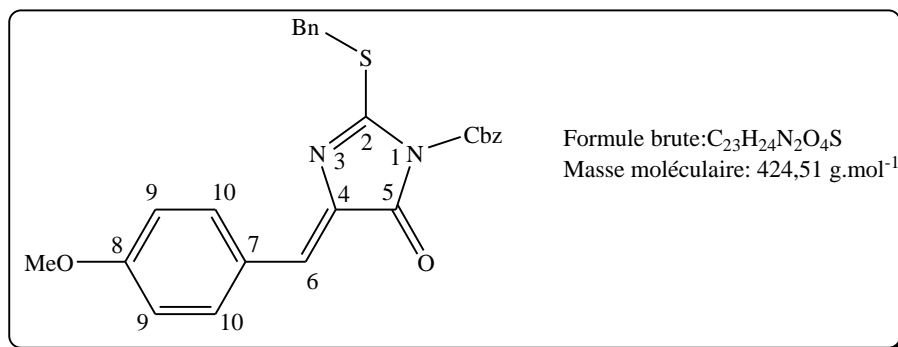
IR (produit pur): 1171-1261 (C-N); 1510-1594 (N=C-S); 1700 (C=O cycle).

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): 3,76 (s, 3H, OCH_3); 3,84 (s, 3H, OCH_3); 4,55 (s, 2H, CH_2 Bn); 4,69 (s, 2H, CH_2 PhOMe); 6,82 (d, 2H, $J_{13-14} = 8,5 \text{ Hz}$, H-13); 6,94 (d, 2H, $J_{9-10} = 8,8 \text{ Hz}$, H-9); 6,98 (s, 1H, H-6); 7,24 (d, 2H, $J_{13-14} = 8,5 \text{ Hz}$, H-14); 7,23-7,45 (m, 5H, H-Ph); 8,14 (d, 2H, $J_{10-9} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10).

RMN ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$): 35,1 (CH_2 , Bn); 43,7 (CH_2 , PMB); 55,2, 55,3 ($2 \times OCH_3$); 114,0 (C-13) ; 114,2 (C-9); 124,4 (C-6); 127,4, 127,9 (C-7 et C-11); 127,8, 128,7, 129,2 (CH, Ph); 129,3 (C-14); 133,7 (C-10); 136,0 (C-4); 136,6 (Cq, Ph); 159,2, 161,0 (C-8 et C-12); 162,6 (C-5); 169,8 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 445,5 $[M+H]^+$; 467,5 $[M+Na]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[M+H]^+$ calculé pour $C_{26}H_{25}N_2O_3S$: 445,15804, trouvé: 445,15819.

(4Z)-1-Benzloxycarbonyl-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (37)

La (4Z)-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **32** (100 mg, 0,31 mmol, 1 éq.) est solubilisée dans le DCM (4 mL) sous argon et la solution refroidie à 0°C. Le chloroformiate de benzyle (0,06 mL, 0,37 mmol, 1,2 éq.) suivi de la triéthylamine (0,18 mL, 1,23 mmol, 4 éq.) sont ajoutés à 0°C. Le milieu réactionnel est ensuite agité à TA durant 6 h. Il est alors concentré à l'évaporateur rotatif et chromatographié sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, pour obtenir le composé **37** sous forme d'un solide jaune (105 mg, 0,23 mmol).

Rendement: 74%

Rf = 0,41 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 160 - 162 °C

IR (produit pur): 1304-1261 (C-N); 1508-1595 (N=C-S); 1738 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,86 (s, 3H, OCH₃); 4,48 (s, 2H, CH₂ Bn); 5,40 (s, 2H, CH₂ Cbz); 6,94 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-9); 6,98 (s, 1H, H-6); 7,25-7,49 (m, 10H, H-Ph); 8,11 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,8 Hz, H-10).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 36,0 (CH₂, Bn); 55,4 (OCH₃); 69,2 (CH₂, Cbz); 114,3 (C-9); 126,2 (C-6); 126,9 (C-7); 127,7, 128,2, 128,6, 128,6, 128,7, 129,2 (CH, Ph); 134,0 (C-10); 134,3 (C-4); 134,6, 135,8 (2 × C_q, Ph); 149,5 (C=O, Cbz); 159,4 (C-8); 161,5 (C-4); 165,2 (C-2).

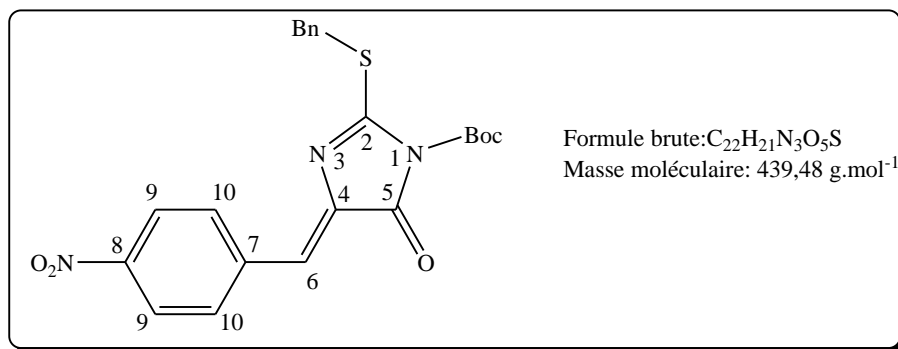
MS (ESI⁺) *m/z*: 459,5 [M+H]⁺.

HRMS (ESI⁺) *m/z*:

[M-CO₂+H]⁺ calculé pour C₂₅H₂₃N₂O₂S: 415,14748, trouvé: 415,14734;

[M+H]⁺ calculé pour C₂₆H₂₃N₂O₄S: 459,13730, trouvé: 459,13724;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₆H₂₂N₂NaO₄S: 481,11925, trouvé: 481,11927.

(4Z)-2-(Benzylsulfanyl)-1-tert-butoxycarbonyl-4-(4-nitrobenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (43)

La molécule **43** est obtenue à partir de la (4Z)-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-nitrobenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **41** (50 mg, 0,15 mmol, 1 éq.) en suivant la procédure générale C, sous la forme d'un solide jaune (63,5 mg, 0,14 mmol), après chromatographie sur gel de silice: 9 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 98%

R_f = 0,76 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 146 – 148 °C

IR (produit pur): 1154 (C-N); 1303-1340 (NO₂); 1483 (N=C-S); 1744 (C=O).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,54 (s, 9H, *t*Bu); 4,54 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,99 (s, 1H, H-6); 7,27-7,54 (m, 5H, H-Ph); 8,27 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,9 Hz, H-9); 8,42 (d, 2H, *J*₁₀₋₉ = 8,9 Hz, H-10).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 27,5 (3 × CH₃, *t*Bu); 35,2 (CH₂, Bn); 85,7 (Cq, *t*Bu); 119,9 (C-6); 123,7 (C-9); 127,5, 128,5, 129,1 (CH, Ph); 132,3 (C-10); 136,2 (C-4); 139,0 (Cq, Ph); 140,2 (C-7); 146,7 (C-8); 147,1 (C=O, *t*Bu); 164,1, 164,6 (C-2 et C-5).

MS (ESI+) m/z: 440,5 [M+H]⁺; 467,5 [M+Na]⁺.

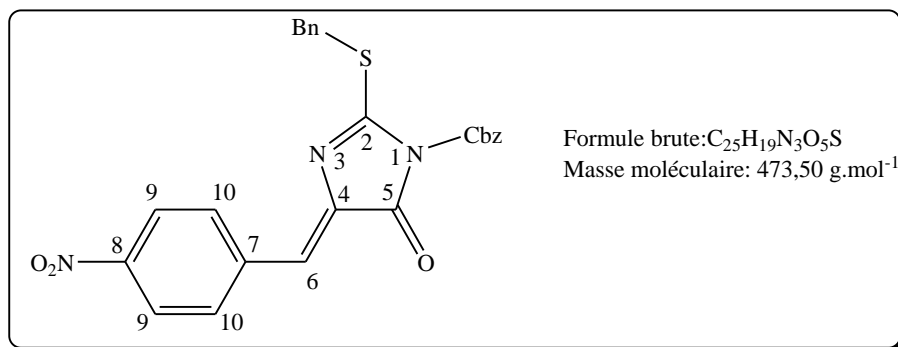
HRMS (ESI+) m/z:

[M-C₅H₈O₂+H]⁺ calculé pour C₁₇H₁₄N₃O₃S: 340,07504, trouvé: 340,07497;

[M-C₅H₈O₂+Na]⁺ calculé pour C₁₇H₁₃N₃NaO₃S: 362,05698, trouvé: 362,05690;

[M+H]⁺ calculé pour C₂₂H₂₂N₃O₅S: 440,12747, trouvé: 440,12730;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₂H₂₁N₃NaO₅S: 462,10941, trouvé: 462,10950.

(4Z)-1-Benzoyloxycarbonyl-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-nitrobenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (44)

La (4Z)-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-nitrobenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **41** (50 mg, 0,15 mmol, 1 éq.) est introduite dans un ballon, sous argon, puis dissoute dans du DCM (4 mL) et refroidie à 0°C. Le chloroformiate de benzyle (0,03 mL, 0,18 mmol, 1,2 éq.) suivi de la triéthylamine (0,08 mL, 0,59 mmol, 4 éq.) sont ajoutés à 0°C. Le milieu réactionnel est ensuite agité à TA durant 6h. Il est alors concentré à l'évaporateur rotatif et chromatographié sur gel de silice: 9 EP / 1 AcOEt pour permettre la purification du composé souhaité sous forme d'un solide jaune (57,8 mg, 0,12 mmol).

Rendement: 83%

Rf = 0,63 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 205 – 207 °C

IR (produit pur): 1303 (NO₂ ou C-N); 1483 (N=C-S); 1737 (C=O).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 4,50 (s, 2H, CH₂ Bn); 5,43 (s, 2H, CH₂ Cbz); 6,95 (s, 1H, H-6); 7,26-7,50 (m, 10H, H-Ph et H-Cbz); 8,24 (s, 4H, H-9 et H-10).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 36,3 (CH₂, Bn); 69,6 (CH₂, Cbz); 121,6 (C-6); 123,8 (C-9); 127,9, 128,4, 128,7, 128,8, 128,8, 129,1 (CH, Ph et Cbz); 132,2 (C-10); 134,0 (Cq, Cbz); 135,2 (C-4); 138,8 (Cq, Ph); 140,0 (C-7); 147,8 (C-8); 149,1 (C=O, Cbz); 2 × 164,4 (C-2 et C-5).

MS (ESI+) m/z: 340,5 [M-Cbz+H]⁺.

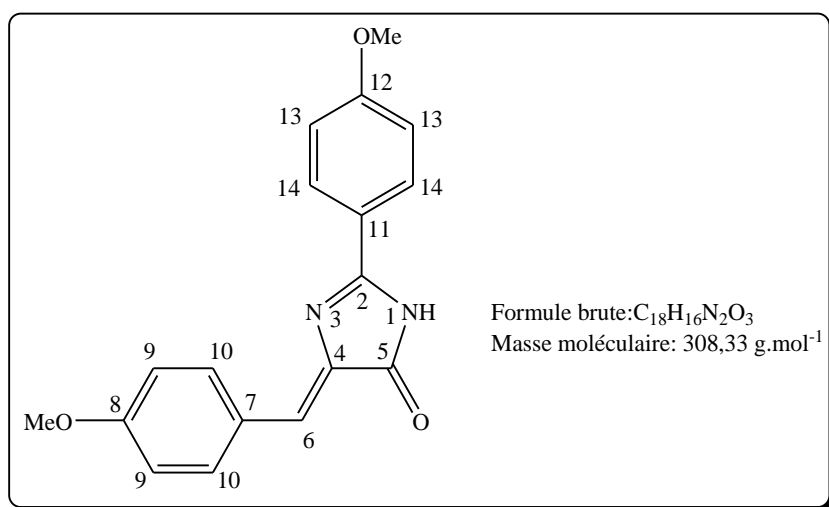
HRMS (ESI+) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₂₅H₂₀N₃O₅S: 474,11182, trouvé: 474,11159;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₅H₁₉N₃NaO₅S: 496,09376, trouvé: 496,09372.

Procédure générale F: Réaction de couplage de Liebeskind-Srogl:

Le tétrakis(triphénylphosphine) palladium (0) Pd(PPh₃)₄ (0,1 mmol, 0,1 éq.), le thiophène-2-carboxylate de cuivre (CuTC) (3 mmol, 3 éq.) et l'acide 4-méthoxyphénylboronique (1,2 mmol, 1,2 éq.) sont ajoutés à une solution d'imidazol-5-one N-3 fonctionnalisée (1 mmol, 1 equiv.) dans le THF (10 mL), sous argon à TA. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux durant 24h puis dilué avec 20 mL d'AcOEt et lavé avec une solution saturée de NaHCO₃ (3 × 50 mL). La phase organique est filtrée sur Celite® et concentrée à l'évaporateur rotatif. Le résidu est alors chromatographié sur gel de silice.

(4Z)-4-(4-Méthoxybenzylidène)-2-(4-méthoxyphényl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (45)

Le composé **45** est obtenu à partir de la (4Z)-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **32** (60,0 mg, 0,19 mmol, 1 éq.) selon la procédure générale F, sous la forme d'une huile jaune (20,3 mg, 0,07 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 36%

R_f = 0,25 (99 DCM/ 1 MeOH)

P_f = 264 - 266 °C

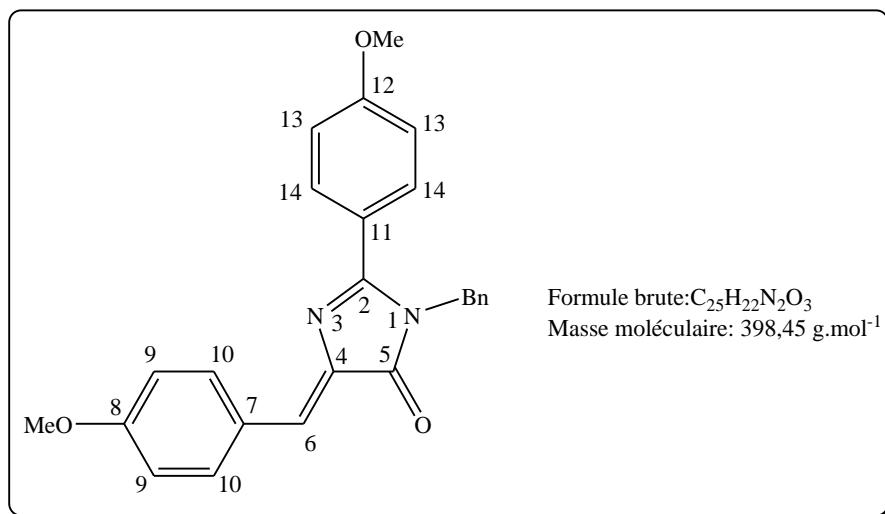
IR (produit pur): 1252-1171 (C-N); 1596-1504 (N=C-S); 1699 (C=O cycle); 2956 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,83 (s, 3H, OCH₃); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 6,92 (s, 1H, H-6); 7,05 (d, 2H, *J*₁₃₋₁₄ = 8,8 Hz, H-13); 7,14 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-9); 8,11 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-10); 8,28 (d, 2H, *J*₁₃₋₁₄ = 8,8 Hz, H-14); 11,91 (sl, 1H, NH).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 55,3, 55,6 ($2 \times \text{OCH}_3$); 114,4, 114,5 (C-9 et C-13); 120,4 (C-11); 123,9 (C-6); 127,3 (C-7); 129,1 (C-10); 133,8 (C-4 et C-14); 159,9 (C-2); 160,6, 162,5 (C-8 et C-12); 172,1 (C-5).

MS (ESI+) m/z: 309,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$: 309,12337, trouvé: 309,12349.

(4Z)-1-(Benzyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-2-(4-méthoxyphényl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (46)

Le composé **46** est obtenu partir de la (4Z)-1-benzyl-2-(benzylsulfanyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **35** (150 mg, 0,36 mmol, 1 éq.) selon la procédure générale F, sous la forme d'une huile jaune (89,9 mg, 0,23 mmol) après purification par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 62%

R_f = 0,24 (7 EP/ 3 AcOEt)

Pf = 90 - 92 °C

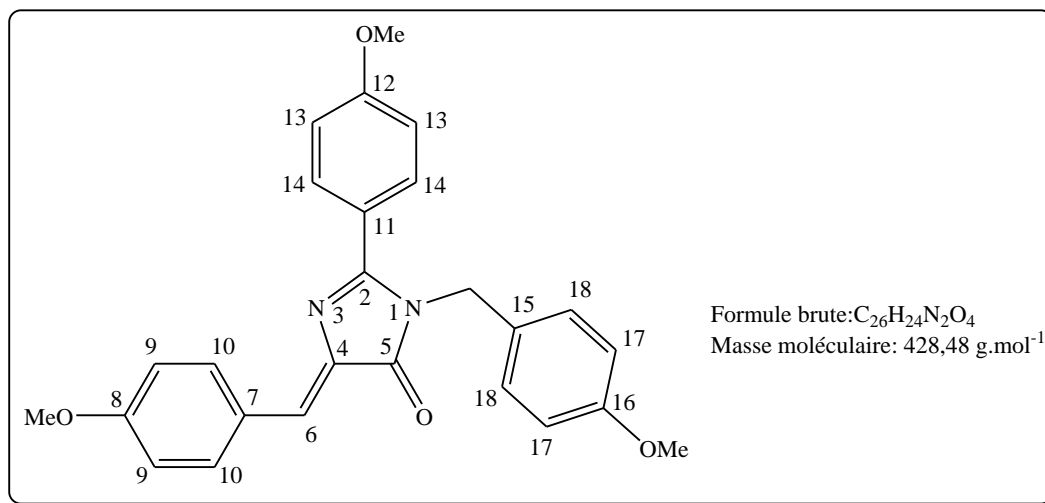
IR (produit pur): 1250 (C-N); 1502-1597 (-C=N-); 1704 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,83 (s, 3H, OCH₃); 3,85 (s, 3H, OCH₃); 4,97 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,91 (d, 2H, $J_{13-14} = 8,8 \text{ Hz}$, H-13); 6,95 (d, 2H, $J_{9-10} = 8,8 \text{ Hz}$, H-9); 7,16-7,18 (m, 2H, H-Ph); 7,29 (s, 1H, H-6); 7,25-7,31 (m, 3H, H-Ph); 7,65 (d, 2H, $J_{14-13} = 8,8 \text{ Hz}$, H-14); 8,23 (d, 2H, $J_{10-9} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 55,3, 55,4 (2 × CH₃, OCH₃); 114,1 (C-13); 114,3 (C-9); 121,7 (C-11); 126,5 (CH, Ph); 127,4 (C-4); 127,5 (CH, Ph); 128,3 (C-6); 128,8 (CH, Ph); 130,3 (C-14); 134,4 (C-10); 136,8 (Cq, Ph); 136,9 (C-7); 161,1 (C-2); 161,4 (C-8); 162,0 (C-12); 171,9 (C-5).

MS (ESI⁺) m/z: 399,0 [M+H]⁺; 421,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M + H]⁺ calculé pour C₂₅H₂₃N₂O₃: 399,17032, trouvé: 399,17054.

(4Z)-1-(4-Méthoxybenzyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-2-(4-méthoxyphényl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (47)

Le composé **47** est obtenu à partir de la (4Z)-2-(benzylsulfanyl)-1-(4-méthoxybenzyl)-4-(4-méthoxybenzylidène)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **36** (160 mg, 0,36 mmol, 1 éq.) selon la procédure F, sous la forme d'un solide jaune (93,4 mg, 0,22 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 61%

R_f = 0,21 (7 EP/ 3 AcOEt)

Pf = 74 – 76 °C

IR (produit pur): 1174-1249 (C-N); 1507-1600 (-C=N-); 1703 (C=O cycle).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,77 (s, 3H, OCH₃); 3,85 (s, 6H, 2 × OCH₃); 4,91 (s, 2H, CH₂ PMB); 6,83 (d, 2H, *J*₁₃₋₁₄ = 8,7 Hz, H-13); 6,93 (d, 2H, *J*₁₇₋₁₈ = 8,8 Hz, H-17); 6,96 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-9); 7,09 (d, 2H, *J*₁₃₋₁₄ = 8,7 Hz, H-14); 7,24 (s, 1H, H-6); 7,67 (d, 2H, *J*₁₇₋₁₈ = 8,8 Hz, H-18); 8,23 (d, 2H, *J*₉₋₁₀ = 8,8 Hz, H-10).

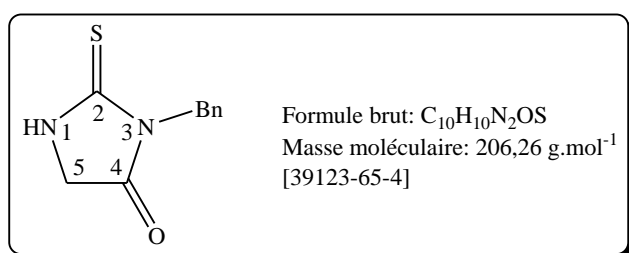
RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 44,8 (CH₂, PMB); 55,2, 55,3, 55,4 (3 × OCH₃); 114,1, 114,2, 114,3 (C-9, C-13 et C-17); 121,8 (C-11); 127,4 (C-7); 128,0 (C-14); 128,2 (C-6); 128,9 (C-15); 130,4 (C-18); 134,4 (C-10); 137,0 (C-4); 158,9 (C-2); 161,2, 161,4, 162,0 (C-8, C-12 et C-16); 171,9 (C-5).

MS (ESI+) m/z: 429,0 [M+H]⁺.

HRMS (ESI+) m/z: [M+H]⁺ calculé pour C₂₆H₂₅N₂O₄: 429,18088, trouvé: 429,18105.

Procédure générale G: Condensation entre l'ester méthylique de la glycine et un isothiocyanate (ITC):

Sous argon et à TA, l'ester méthylique de la glycine (1 mmol, 1 éq.) et la triéthylamine (1 mmol, 1 éq.) sont mis en suspension dans le DCM (2,5 mL). L'isothiocyanate (1 mmol, 1 éq.) est alors ajouté et le milieu réactionnel obtenu est porté à reflux durant 4h. Celui-ci est alors concentré à sec puis remis en suspension avec 30 mL de DCM et lavé avec 30 mL d'eau. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée afin d'obtenir un solide qui est chromatographié sur gel de silice.

3-Benzyl-2-thioxoimidazolidin-4-one (49)

Le composé **49** est obtenu à partir de l'ester méthylique de la glycine (2,00 g, 15,9 mmol, 1 éq.) et de l'isothiocyanate de benzyle (2,12 mL, 15,9 mmol, 1 éq.) selon la procédure G sous la forme d'un solide jaune (3,00 g, 14,5 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 9 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 91%

Rf = 0,15 (7 EP/ 3 AcOEt)

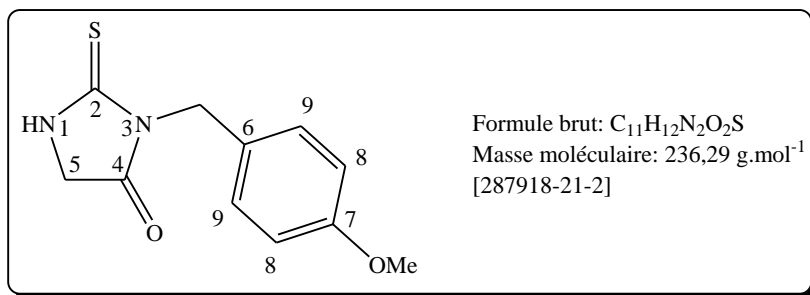
Pf = 143°C - 144°C

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 4,21 (s, 2H, H-5); 4,87 (s, 2H, CH₂ Bn); 7,24-7,32 (m, 5H, H-Ph); 10,29 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 43,2 (CH₂Ph); 48,4 (C-5); 127,2, 127,4, 128,2 (CH, Ph); 136,3 (Cq, Ph); 172,6 (C-4); 183,2 (C-2).

MS (ESI⁺) m/z: 207,5 [M+H]⁺; 229,5 [M+Na]⁺.

Wolfe, D. M.; Schreiner, P. R. *Synthesis* **2007**, 2002-2008.

3-(4-Méthoxyphényl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (50)

Le composé **50** est obtenu à partir de l'ester méthylique de la glycine (150 mg, 1,19 mmol, 1 éq.) et de l'isothiocyanate de *p*-méthoxybenzyle (214 mg, 1,194 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune (246 mg, 1,04 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 87%

R_f = 0,44 (4 EP/ 6 AcOEt)

Pf = 177 - 179 °C

IR (produit pur): 1169-1242 (C-N); 1510 (N-C=S); 1734 (C=O cycle); 3200 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 3,72 (s, 3H, OCH₃); 4,18 (s, 2H, H-5); 4,79 (s, 2H, CH₂ PMB); 6,87 (d, 2H, *J*_{8,9} = 8,7 Hz, H-8); 7,28 (d, 2H, *J*_{8,9} = 8,7 Hz, H-9); 10,24 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 43,7 (CH₂, PMB); 48,4 (C-5); 55,0 (OCH₃); 113,6 (C-8); 128,4 (C-6); 129,2 (C-9); 158,5 (C-7); 172,5 (C-4); 183,2 (C-2).

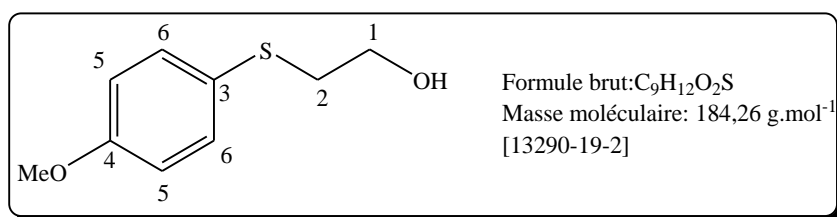
MS (ESI+) m/z: 237,5 [M+H]⁺.

HRMS (ESI+) m/z:

[M-C₃H₄N₂OS+H]⁺ calculé pour C₈H₉O: 121,06479, trouvé: 121,06483;

[M+H]⁺ calculé pour C₁₁H₁₃N₂O₂S: 237,06922, trouvé: 237,06919;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₁H₁₂N₂NaO₂S: 259,05117, trouvé: 259,05131.

2-(4-Méthoxyphénylsulfanyl)éthanol (56)

Le *p*-méthoxythiophénol (10,0 g, 71,3 mmol, 1éq.) et le chloroéthanol (8,61 g, 107 mmol, 1,5éq.) sont ajoutés à une solution de méthanolate de sodium (1,64 g, 71,3 mmol, 1éq. de sodium dans 70 mL de MeOH). La solution est chauffé au reflux durant 4h, jusqu'à disparition du méthoxythiophénol. De l'eau (50 mL) est alors ajoutée au milieu réactionnel qui est extrait au DCM (3 × 30 mL). Les phases organiques sont réunies, séchées sur $MgSO_4$ puis concentrées à l'évaporateur rotatif. Le composé est chromatographié sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOE, pour obtenir le produit **56** sous forme d'un solide blanc (13,1 g, 71,2 mmol).

Rendement: quantitatif

Rf = 0,38 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 42 – 43 °C

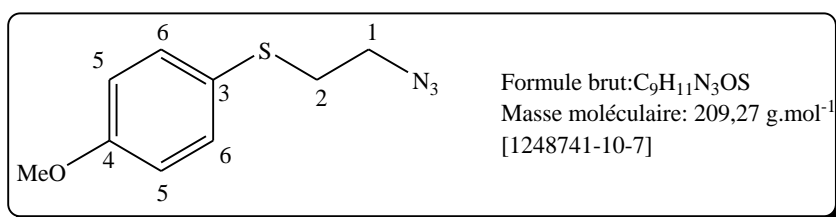
IR (produit pur): 1240 (C-OH); 3279 (OH).

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$): 2,15 (t, 1H, $J_{OH-1} = 6,2 \text{ Hz}$, OH); 2,99 (t, 2H, $J_{1-2} = 5,9 \text{ Hz}$, H-2); 3,67 (q, 2H, $J_{1-2/OH} = 5,9 \text{ Hz}$, H-1); 3,80 (s, 3H, OCH_3); 6,85 (d, 2H, $J_{5-6} = 8,8 \text{ Hz}$, H-5); 7,38 (d, 2H, $J_{5-6} = 8,8 \text{ Hz}$, H-6).

RMN ^{13}C (400 MHz, $CDCl_3$): 39,3 (C-2); 55,3 (OCH_3); 60,0 (C-1); 114,7 (C-5); 124,6 (C-3); 134,1 (C-6); 159,4 (C-3).

MS (ESI+) m/z: 185,0 $[M+H]^+$; 207,0 $[M+Na]^+$.

Cao Y. Q. et al *Synth. Commun.*, **2008**, 38, 1325-1332.

(2-Azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane (57)

Le 2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthanol **56** (10,0 g, 54,3 mmol, 1 éq.) est introduit dans le DCM (80 mL) dans un ballon refroidi à 0°C. La triéthylamine (19,1 mL, 136 mmol, 2,5 éq.) et le chlorure de mésyle (6,31 mL, 81,5 mmol, 1,5 éq.) sont ajoutés et le tout est agité à 0°C durant 2h. De l'eau (50 mL) est alors ajoutée au milieu réactionnel qui est extrait au DCM (3 × 40 mL). Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄ puis concentrées à l'évaporateur rotatif. L'huile jaune obtenue est ensuite mise en solution dans le DMF (80 mL), l'azoture de sodium (10,6 g, 163 mmol, 3 éq.) est ajouté et la solution est chauffée au reflux durant une heure. Le milieu réactionnel est dilué à l'eau (200 mL) et extrait au DCM (3 × 50 mL). Après lavage à l'eau (3 × 100 mL), les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄ puis concentrées à l'évaporateur rotatif.

Le résidu est chromatographié sur gel de silice: 97 EP / 3 AcOEt, afin d'obtenir le composé **57** (9,19 g, 43,9 mmol) sous forme d'un liquide translucide.

Rendement: 81%

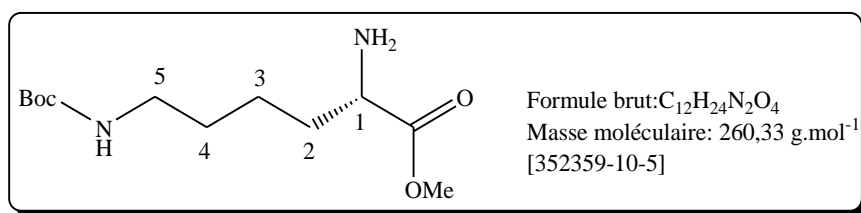
R_f = 0,40 (95 EP / 5 AcOEt)

IR (produit pur): 1243 (C-OMe); 2096 (N₃).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,97 (t, 2H, J₁₋₂ = 7,0 Hz, H-2); 3,38 (t 2H, J₁₋₂ = 7,0 Hz, H-1); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 6,86 (d, 2H, J₅₋₆ = 8,8 Hz, H-5); 7,40 (d, 2H, J₅₋₆ = 8,8 Hz, H-6).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 35,3 (C-2); 50,3 (C-1); 55,3 (OCH₃); 114,8 (C-5); 124,5 (C-3); 134,3 (C-6); 159,5 (C-4).

MS (ESI+) m/z: 210,0 [M+H]⁺.

N-(tert-Butoxycarbonyl)-L-lysine methylester (63)

La L-lysine (1,00 g, 5,475 mmol, 1 éq.) est mise en suspension dans le méthanol (50 mL) sous argon, à TA. Le chlorure de thionyle (1,39 mL, 1,92 mmol, 3,5 éq.) est alors ajouté. La solution obtenue est agitée à TA durant 24h. Le milieu réactionnel est alors concentré à l'évaporateur rotatif, le solide blanc obtenu est remis en solution dans un mélange dichlorométhane / méthanol (50 mL / 20 mL) à TA. La triéthylamine (3,08 mL, 21,9 mmol, 4 éq.) et le (Boc)₂O (1,31 g, 6,02 mmol, 1,1 éq.) sont ajoutés et le mélange obtenu est agité à TA durant 24h. Le milieu réactionnel est concentré à l'évaporateur rotatif puis le résidu obtenu est chromatographié sur gel de silice à l'AcOEt pour conduire à l'acide aminé **63** (876 mg, 3,36 mmol) sous la forme d'une huile incolore.

Rendement: 61%

R_f = 0,15 (9 AcOEt/ 1 MeOH)

[α]_D = -10 (c = 0,54 MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,32-1,36 (m, 2H, H-3); 1,42 (s, 9H, *t*Bu); 1,42-1,48 (m, 2H, H-4); 1,50-1,59 (m, 1H, H-2a); 1,66-1,75 (m, 1H, H-2b); 3,05-3,09 (m, 2H, H-5); 3,39-3,42 (m, 1H, H-1); 3,67 (s, 3H, OCH₃); 4,63 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 22,8 (C-3); 28,3 (CH₃, *t*Bu); 29,7 (C-4); 34,4 (C-2); 40,2 (C-5); 51,9 (OCH₃); 54,2 (C-1); 78,9 (C_q, *t*Bu); 155,9 (C=O, *t*Bu); 176,4 (C=O, ester).

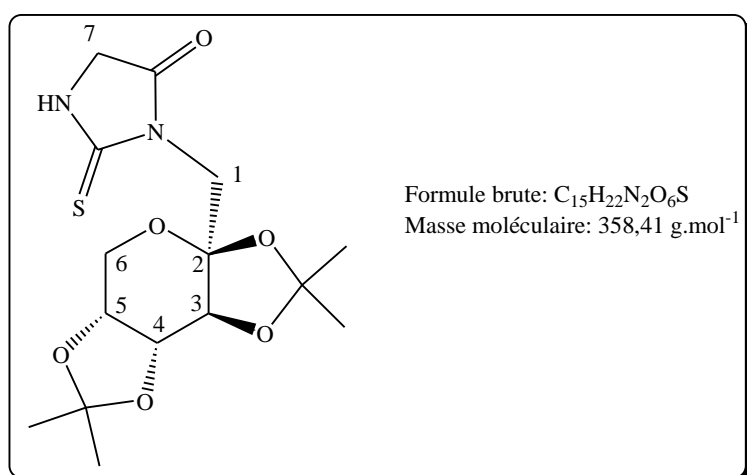
MS (ESI+) m/z: 261,0 [M+H]⁺.

Bull. Korean. Chem. Soc. **2009**, 30, 1187-1189.

Procédure générale H: formation des dérivés 2-thioimidazolidin-4-one à partir d'un azoture:

Dans un ballon, sous argon, l'azoture d'alkyle (1 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans du THF (1 mL) à TA. La triphénylphosphine (2 mmol, 2 éq.) et le disulfure de carbone (10 mmol, 10 éq.) sont ajoutés. Le mélange obtenu est chauffé au reflux jusqu'à la consommation complète de l'azoture initial et la formation de l'isothiocyanate. Le milieu réactionnel est alors concentré à l'évaporateur rotatif puis remis en solution dans du THF (1 mL) en présence de l'ester méthylique de l'acide aminé choisi (1 mmol, 1 éq.) et de triéthylamine (8 mmol, 8 éq.). La solution est à nouveau chauffée au reflux jusqu'à transformation de l'isothiocyanate. Le milieu réactionnel est ensuite concentré à l'évaporateur rotatif puis chromatographié sur gel de silice.

1-Déoxy-2,3;4,5-di-O-isopropylidène-1-N-(2-thioimidazolidin-5-onyl)- β-D-fructopyranose (53)



La 2-thiohydantoïne **53** est obtenue à partir du 1-azido-1-déoxy-2,3;4,5-di-O-isopropylidène-β-D-fructopyranose (100 mg, 0,35 mmol, 1 éq.) en suivant la procédure générale H et après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt. Le produit **53** (89,2 mg, 0,25 mmol) souhaité est obtenu sous forme d'un solide blanc.

Rendement: 71%

Rf = 0,20 (1 EP / 1 AcOEt)

[α]_D²⁰ = - 10 (c = 0,85 CHCl₃)

Pf = (Td) 210°C - 211°C

IR (produit pur): 1065 (C-O); 1171-1210-1250 (C-N); 1510 (N-C=S); 1748 (C=O); 3293 (NH).

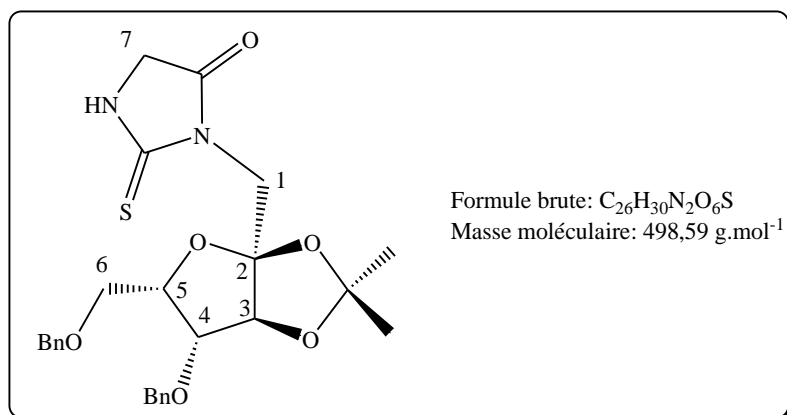
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 1,33 (s, 3H, CH_3); 1,34 (s, 3H, CH_3); 1,47 (s, 3H, CH_3); 1,50 (s, 3H, CH_3); 3,72 (d, 1H, $J_{6a-6b} = 13,0$ Hz, H-6a); 3,83 (dd, 1H, $J_{6a-6b} = 13,0$ Hz, $J_{6b-5} = 2,0$ Hz, H-6b); 4,10 (s, 2H, H-7); 4,13 (d, 1H, $J_{7a-7b} = 14,3$ Hz, H-1a); 4,17 (dd, 1H, $J_{4-5} = 7,8$ Hz, $J_{6b-5} = 2,0$ Hz, H-5); 4,18 (d, 1H, $J_{7a-7b} = 14,3$ Hz, H-1b); 4,56 (dd, 1H, $J_{3-4} = 2,7$ Hz, $J_{4-5} = 7,8$ Hz, H-4); 4,81 (d, 1H, $J_{3-4} = 2,7$ Hz, H-3); 7,70 (sl, 1H, NH).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 24,1, 25,0, 25,8, 26,1 ($4 \times \text{CH}_3$); 46,6 (C-1); 48,3 (C-7); 61,6 (C-6); 70,3 (C-5); 70,5 (C-4); 71,6 (C-3); 103,0 (C-2); 108,5, 109,0 (Cq, *iPr*); 171,7 (C=O); 185,4 (C=S).

MS (ESI+) m/z: 359,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 381,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NaN}_2\text{O}_6\text{S}$: 381,1096, trouvé: 381,1098.

4,6-di-*O*-Benzyl-1-déoxy-2,3-*O*-isopropylidène-1-*N*-(2-thioxoimidazolidin-5-onyl)- β -D-fructopyranose (54)



Le composé **54** est obtenu selon la procédure H à partir du 1-azido-4,6-di-*O*-benzyl-1-déoxy-2,3-*O*-isopropylidène- β -D-fructopyranose (100 mg, 0,24 mmol, 1 éq.) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt. Le produit est obtenu sous forme d'une huile jaune (52,8 mg, 0,11 mmol).

Rendement: 45%

R_f = 0,67 (1 EP / 1 AcOEt)

[α]_D²⁰ = + 32 (c = 0,83 CHCl₃)

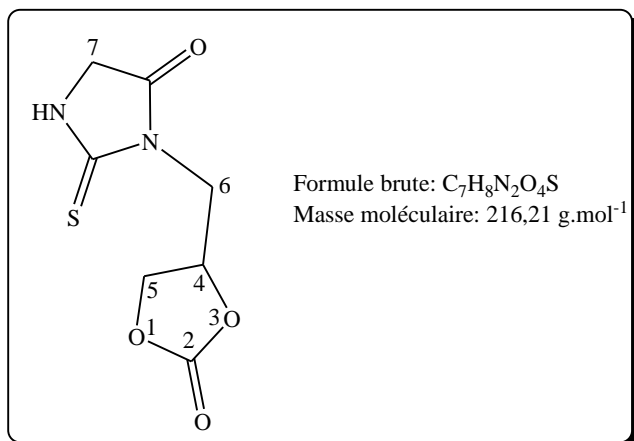
IR (produit pur): 1063 (C-O); 1256-1347 (C-N); 1511 (N-C=S); 1750 (C=O); 3290 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,44 (s, 3H, CH₃); 1,49 (s, 3H, CH₃); 3,31 (d, 1H, J_{7a-7b} = 19,0 Hz, H-7a); 3,47 (d, 1H, J_{7a-7b} = 19,0 Hz, H-7b); 3,69 (dd, 1H, J_{6a-6b} = 9,8 Hz, J_{6a-5} = 5,9 Hz, H-6a); 3,75 (dd, 1H, J_{6a-6b} = 9,8 Hz, J_{6a-5} = 6,7 Hz, H-6b); 3,92 (d, 1H, J_{4-5} = 3,1 Hz, H-4); 4,23 (dd, 1H, J = 14,3 Hz, Ha CH₂Ph); 4,33 (dd, 1H, J = 14,3 Hz, Hb CH₂Ph); 4,40 (d, 1H, J_{1a-1b} = 10,7 Hz, H-1a); 4,40-4,44 (m, 1H, H-5); 4,55 (d, 1H, J = 12,0 Hz, Ha CH₂Ph); 4,58 (d, 1H, J_{1a-1b} = 10,7 Hz, H-1b); 4,64 (dd, 1H, J = 12,0 Hz, Ha CH₂Ph); 5,28 (s, 1H, H-3); 6,60 (sl, 1H, NH); 7,29-7,35 (m, 10H, Ph-H).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 26,3, 26,9 (2 \times CH₃); 44,5 (CH₂, Bn); 48,0 (C-7); 67,2 (C-6); 72,6 (C-1); 73,5 (CH, Ph); 79,6 (C-5); 82,1 (C-4); 82,6 (C-3); 111,4, 113,5 (Cq, C-2 et *i*Pr); 127,6, 127,8, 128,0, 128,1, 128,3, 128,3 (CH, Ph); 137,8, 138,1 (Cq, Ph); 171,0 (C=O); 185,1 (C=S).

MS (ESI⁺) m/z: 499,5 [M+H]⁺; 521,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₂₆H₃₀NaN₂O₆S: 521,1722, trouvé: 521,1729.

3-(((S)-2-Oxo-1,3-dioxolan-4-yl)méthyl)-2-thioimidazolidin-4-one (55)

La molécule **55** est obtenue à partir de la 4-azidométhyl-1,3-dioxolan-2-one (100 mg, 0,70 mmol, 1 éq.) après purification par chromatographie sur gel de silice: 3 EP / 7 AcOEt. Le produit est obtenu sous forme d'un solide blanc (103 mg, 0,48 mmol).

Rendement: 68%

R_f = 0,23 (3 EP / 7 AcOEt)

Pf = 150°C - 151°C (Td)

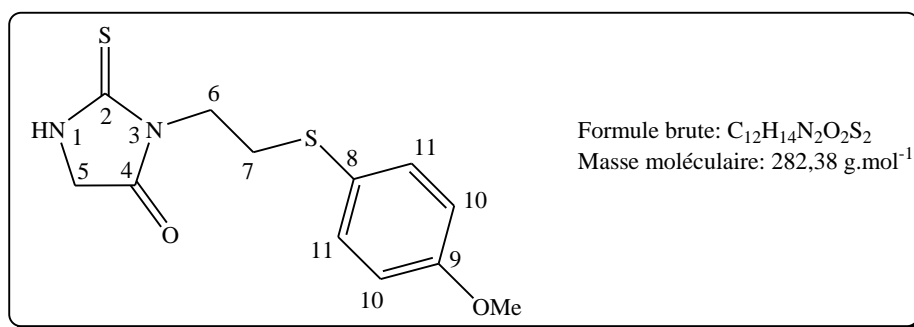
IR (produit pur): 1081 (C-O); 1180 (C-N); 1511 (N-C=S); 1733 (O-C=O); 1765 (C=O); 3337 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 3,94 (dd, 1H, *J*_{5a-5b} = 14,4 Hz, *J*_{5a-4} = 5,1 Hz, H-5a); 4,08 (dd, 1H, *J*_{5a-5b} = 14,4 Hz, *J*_{5b-4} = 7,2 Hz, H-5b); 4,17 (s, 2H, H-7); 4,38 (dd, 1H, *J*_{6a-6b} = 8,6 Hz, *J*_{6a-4} = 6,0 Hz, H-6a); 4,56 (t, 1H, *J*_{6b-6a/4} = 8,3 Hz, H-6b); 5,00-5,07 (m, 1H, H-4); 10,35 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 41,9 (C-5); 48,4 (C-7); 67,4 (C-6); 73,4 (C-4); 154,2 (O-C=O); 172,7 (C=O); 182,8 (C=S).

MS (ESI+) *m/z*: 217,0 [M+H]⁺; 239,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) *m/z*: [M+Na]⁺ calculé pour C₇H₈N₂NaO₄S: 239,0102, trouvé: 239,0103.

3-(2-(4-Méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (58)

Le composé **58** est obtenu à partir du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** (3,30 g, 15,8 mmol, 1 éq.) après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt. Le produit est obtenu sous la forme d'un solide jaune (4,22 g, 14,9 mmol).

Rendement: 95%

Rf = 0,21 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 114 - 115 °C

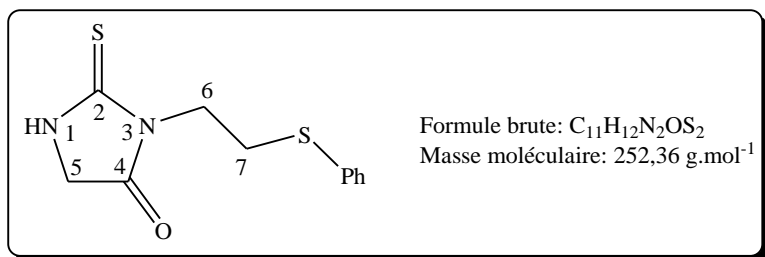
IR (produit pur): 1145-1230 (C-O ou C-N); 1494-1514 (N-C=S); 1746 (C=O); 3311 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,16 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,1$ Hz, H-7); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 3,97 (s, 2H, H-5); 4,00 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,1$ Hz, H-6); 6,85 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8$ Hz, H-10); 7,43 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8$ Hz, H-11).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 32,2 (C-7); 40,9 (C-6); 48,3 (C-5); 55,3 (OCH₃); 114,6 (C-10); 125,0 (C-8); 133,1 (C-11); 159,1 (C-9); 171,2 (C-4); 184,5 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 283,0 [M+H]⁺; 305,0 [M+Na]⁺.

HRMS m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₂H₁₄N₂NaO₂S₂: 305,0394, trouvé: 305,0409.

3-(2-(Phénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (59)

Le composé **59** est obtenu à partir du (2-azidoéthyl)(phényl)sulfane (200 mg, 1,12 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune (229 mg, 0,91 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 81%

R_f = 0,15 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 131 - 132 °C

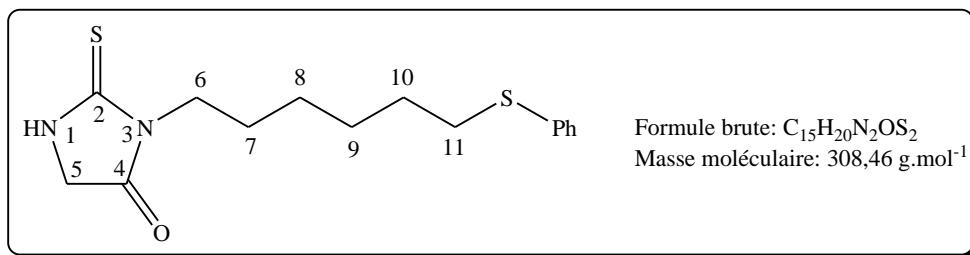
IR (produit pur): 1146-1343 (C-N); 1513 (N-C=S); 1730 (C=O); 3280 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,27 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,2 Hz, H-7); 3,95 (s, 2H, H-5); 4,07 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,2 Hz, H-6); 7,18-7,32 (m, 3H, H-Ph); 7,41 (sl, 1H, NH); 7,43-7,46 (m, 2H, H-Ph).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 30,3 (C-7); 40,8 (C-6); 48,3 (C-5); 126,3, 129,0, 129,3 (CH, Ph); 134,9 (Cq, Ph); 171,3 (C-4); 184,4 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 253,0 [M+H]⁺; 275,0 [M+Na]⁺; 291,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI+) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₁H₁₂NaN₂OS₂: 275,0289, trouvé: 275,0302.

3-(6-(Phénylsulfanyl)hexyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (60)

Le composé **60** est obtenu à partir du (6-azidohexyl)(phényl)sulfane (200 mg, 0,85 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune (225 mg, 0,73 mmol) après purification sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 86%

Rf = 0,39 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 89 - 90 °C

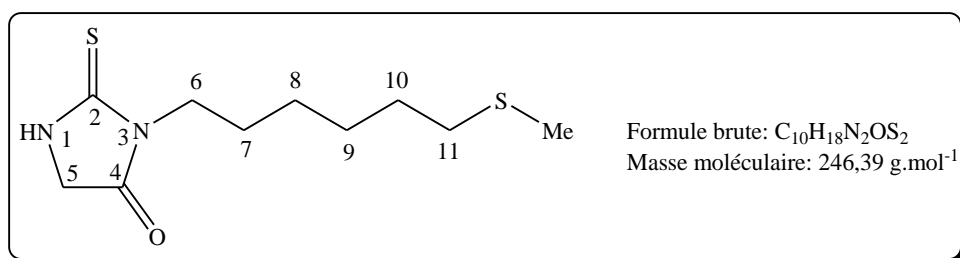
IR (produit pur): 1134-1345 (C-N); 1514 (N-C=S); 1733 (C=O); 3281 (NH).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 1,31-1,39 (m, 2H, H-8); 1,44-1,51 (m, 2H, H-9); 1,62-1,72 (m, 4H, H-7 et H-10); 2,91 (t, 2H, $J_{10-11} = 7,4 \text{ Hz}$, H-11); 3,79 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,4 \text{ Hz}$, H-6); 7,14-7,33 (m, 5H, H-Ph); 7,47 (sl, 1H, NH).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 26,2 (C-8); 27,4 (C-7); 28,3 (C-9); 28,9 (C-10); 33,4 (C-11); 41,2 (C-6); 48,3 (C-5); 125,7, 128,8, 128,8 (CH, Ph); 136,8 (Cq, Ph); 171,5 (C-4); 185,1 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 309,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 331,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 347,0 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $C_{15}H_{20}N_2NaOS_2$: 331,0915, trouvé: 331,0928.

3-(6-(Méthylthio)hexyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (61)

Le composé **61** est obtenu à partir du (6-azidohexyl)(méthyl)sulfane (200 mg, 1,15 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle (241 mg, 0,98 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 85%

Rf = 0,39 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 64 - 65 °C

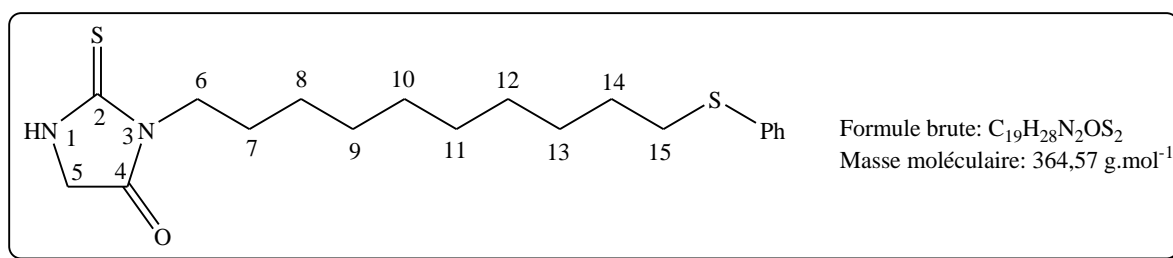
IR (produit pur): 1131-1348 (C-N); 1504 (N-C=S); 1710 (C=O); 3275 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,31-1,36 (m, 2H, H-8); 1,38-1,46 (m, 2H, H-9); 1,55-1,63 (m, 4H, H-10); 1,65-1,71 (m, 4H, H-7); 2,08 (s, 3H, CH₃), 2,47 (t, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 7,4 Hz, H-11); 3,79 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,4 Hz, H-6); 4,06 (s, 2H, H-5); 7,53 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 15,5 (CH₃); 26,3 (C-8); 27,4 (C-7); 28,2 (C-9); 28,9 (C-10); 34,1 (C-11); 41,2 (C-6); 48,4 (C-5); 171,5 (C-4); 185,1 (C-2).

MS (ESI⁺) *m/z*: 247,0 [M+H]⁺; 269,0 [M+Na]⁺; 285,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₀H₁₈N₂NaOS₂: 269,0758, trouvé: 269,0766.

3-(10-(Phénylsulfanyl)décyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (62)

Le composé **62** est obtenu à partir du (10-azidodécyl)(phényl)sulfane (200 mg, 0,69 mmol, 1 éq.) sous forme d'un solide blanc (180 mg, 0,49 mmol) après purification par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement : 72%

R_f = 0,50 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 89 - 90 °C

IR (produit pur): 1133-1346 (C-N); 1535 (N-C=S); 1741 (C=O); 3153 (NH).

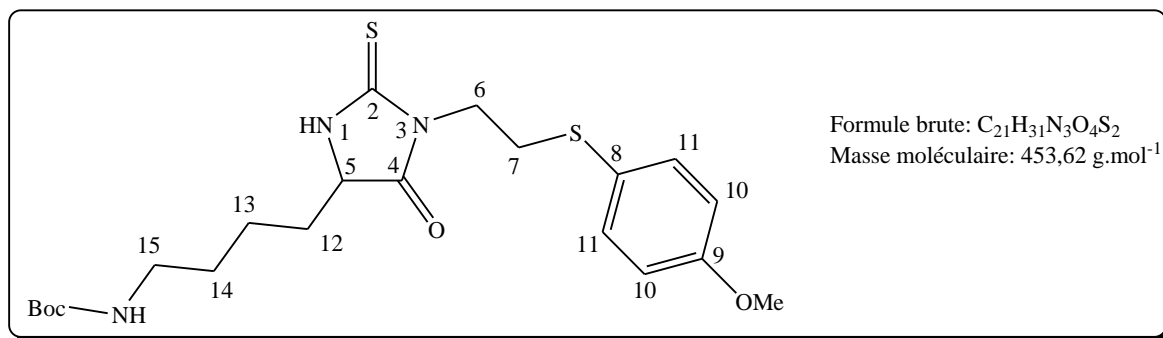
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,27-1,31 (m, 10H, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12); 1,37-1,43 (m, 2H, H-13); 1,60-1,64 (m, 2H, H-14); 1,66-1,68 (m, 2H, H-7); 2,91 (t, 2H, $J_{14-15} = 7,5 \text{ Hz}$, H-15); 3,79 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,5 \text{ Hz}$, H-6); 4,05 (s, 2H, H-5); 7,13-7,18 (m, 1H, H-Ph); 7,25-7,33 (m, 5H, H-Ph et NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 26,7 (CH₂); 27,5 (C-7) ; 28,8 (C-13) ; 29,1 (C-14) ; 29,1 (2 CH₂); 29,3 (2 CH₂); 33,5 (C-15); 41,4 (C-6); 48,3 (C-5); 125,6, 128,8, 128,8 (CH, Ph); 137,0 (C_q, Ph); 171,5 (C-4); 185,2 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 365,0 [M+H]⁺; 387,0 [M+Na]⁺; 403,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI+) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₉H₂₈N₂NaOS₂: 387,1541, trouvé: 387,1554.

5-(4-*tert*-Butoxycarbonamidobutyl)-3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (64)



Le composé **64** est obtenu à partir du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** (466 mg, 2,23 mmol, 1 éq.) et de l'ester méthylique de la N-(*tert*-butoxycarbonyl)-L-lysine **63** (580 mg, 2,23 mmol, 1 éq.) sous la forme d'une huile translucide (978 mg, 2,16 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 97%

Rf = 0,30 (1 EP / 1 AcOEt)

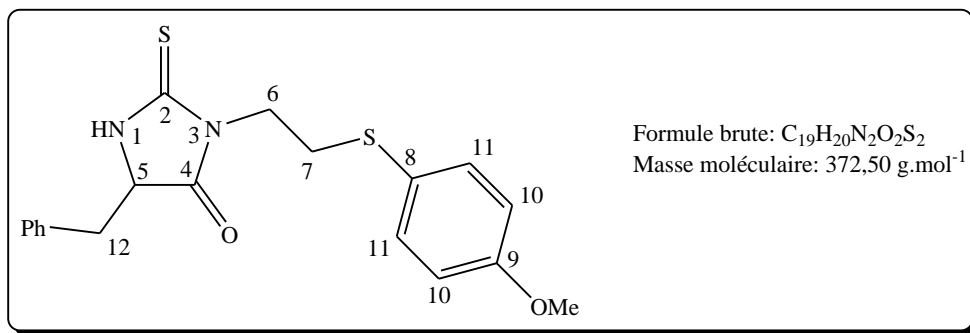
IR (produit pur): 1152-1242 (C-O ou C-N); 1404-1494 (N-C=S); 1684 (C=O *t*Bu); 1744 (C=O cycle); 3271 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 1,37-1,39 (m, 2H, H-13); 1,44 (s, 9H, *t*Bu); 1,47-1,52 (m, 2H, H-14); 1,69-1,78 (m, 1H, Ha-12); 1,89-1,95 (m, 1H, Hb-12); 3,08-3,12 (m, 2H, H-15); 3,12-3,15 (m, 2H, H-7); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 3,95-3,97 (m, 2H, H-6); 3,98-4,03 (m, 1H, H-5); 4,61 (sl, 1H, NH-Boc); 6,85 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-10); 7,42 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-11).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 21,7 (C-13); 28,4 (3 × CH₃, *t*Bu); 29,5 (C-14); 30,6 (C-12); 32,6 (C-7); 39,8 (C-15); 40,5 (C-6); 55,3 (OCH₃); 59,1 (C-5); 79,5 (Cq, *t*Bu); 114,6 (C-10); 125,1 (C-8); 133,1 (C-11); 156,2 (C=O, *t*Bu); 159,1 (C-9); 174,0 (C-4); 183,5 (C-2).

MS (ESI⁺) m/z: 454,0 [M+H]⁺; 476,0 [M+Na]⁺; 492,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₂₁H₃₁N₃NaO₄S₂: 476,1654, trouvé: 476,1660.

5-Benzyl-3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (65)

Le composé **65** est obtenu à partir du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** (1,12 g, 5,37 mmol, 1 éq.) et de l'ester méthylique de la L-phénylalanine (1,16 g, 5,37 mmol, 1 éq.) sous la forme d'un solide blanc (1,99 g, 5,34 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: quantitatif

Rf = 0,44 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 97 - 98 °C

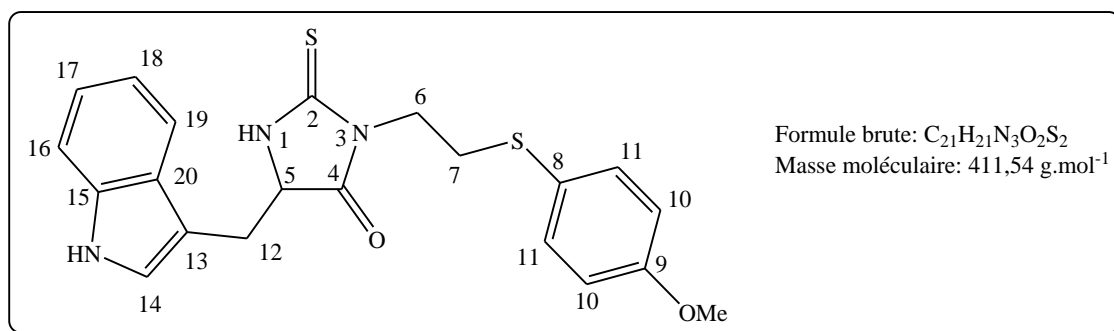
IR (produit pur): 1176-1240 (C-O ou C-N); 1518-1573 (N-C=S); 1737 (C=O); 3180 (NH).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,83 (dd, 1H, $J_{12a-5} = 8,9 \text{ Hz}$, $J_{12a-12b} = 14,0 \text{ Hz}$, H-12a); 2,91-3,03 (m, 2H, H-7); 3,27 (dd, 1H, $J_{12b-5} = 3,8 \text{ Hz}$, $J_{12a-12b} = 14,0 \text{ Hz}$, H-12b); 3,79 (s, 3H, OCH_3); 3,91 (t, 1H, $J_{6-7} = 7,2 \text{ Hz}$, H-6); 4,24 (dd, 1H, $J_{12b-5} = 3,8 \text{ Hz}$, $J_{12a-5} = 8,9 \text{ Hz}$, H-5); 6,86 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,17-7,34 (m, 5H, H-Ph); 7,42 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 32,0 (C-7); 37,4 (C-12); 40,7 (C-6); 55,3 (OCH_3); 60,4 (C-5); 114,6 (C-10); 125,0 (C-8); 127,7, 129,0, 129,1 (CH, Ph); 132,9 (C-11); 134,6 (Cq, Ph); 159,0 (C-9); 173,0 (C-4); 183,2 (C-2).

MS (ESI+) m/z: 373,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 395,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{NaO}_2\text{S}_2$: 395,0864, trouvé: 395,0863.

5-(1H-Indol-3-ylméthyl)-3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (66)

Le composé **66** est obtenu à partir du (2-azidoéthyl)(4-méthoxyphényl)sulfane **57** (150 mg, 0,72 mmol, 1 éq.) et de l'ester méthylique du L-tryptophane (183 mg, 0,72 mmol, 1 éq.) sous la forme d'un solide jaune (275 mg, 0,67 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 93%

Rf = 0,50 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 61 - 62 °C

IR (produit pur): 1150-1241 (C-O ou C-N); 1493-1517 (N-C=S); 1738 (C=O); 3184 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,83-2,90 (m, 1H, H-7a); 2,92-2,99 (m, 1H, H-7b); 3,03 (dd, 1H, $J_{12a-5} = 9,0$ Hz, $J_{12a-12b} = 14,7$ Hz, H-12a); 3,42 (dd, 1H, $J_{12b-5} = 3,8$ Hz, $J_{12a-12b} = 14,7$ Hz, H-12b); 3,78 (s, 3H, OCH₃); 3,90 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,2$ Hz, H-6); 4,29 (dd, 1H, $J_{12b-5} = 3,8$ Hz, $J_{12a-5} = 9,0$ Hz, H-5); 6,86 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7$ Hz, H-10); 7,06 (d, 1H, $J_{14-NH} = 2,3$ Hz, H-14); 7,15 (t, 1H, $J_{18-17} = J_{18-19} = 7,5$ Hz, H-18); 7,23 (t, 1H, $J_{17-16} = J_{17-18} = 8,1$ Hz, H-17); 7,23 (sl, 1H, NH); 7,36 (d, 1H, $J_{16-17} = 8,1$ Hz, H-16); 7,38 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7$ Hz, H-11); 7,58 (d, 1H, $J_{18-19} = 7,5$ Hz, H-19); 8,15 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 27,7 (C-12); 31,9 (C-7); 40,5 (C-6); 55,3 (OCH₃); 59,8 (C-5); 108,8 (C-13); 111,4 (C-16); 114,6 (C-10); 118,4 (C-19); 120,1 (C-18); 122,7 (C-17); 123,2 (C-14); 125,1 (C-8); 126,6 (C-20); 132,9 (C-11); 136,2 (C-15); 159,0 (C-9); 173,4 (C-4); 183,2 (C-2).

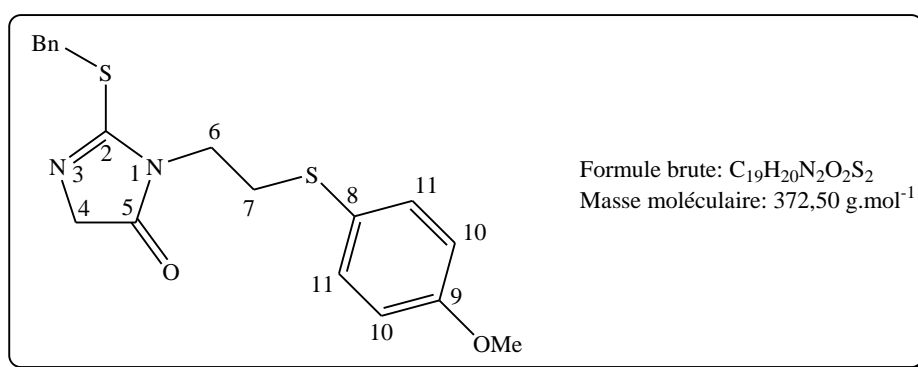
MS (ESI⁺) m/z: 434,0 [M+Na]⁺; 450,5 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₂₁H₂₁N₃NaO₂S₂: 434,0973, trouvé: 434,0986.

Procédure générale I: S-Benzylation des dérivés 3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one:

A une solution de 3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one (1 mmol, 1 équ.) dans le DCM (10 mL) sont ajoutés le NaHCO₃ (1 mmol, 1 équ.), l'iodure de tétrabutylammonium (TBAI) (1,2 mmol, 1,2 équ.) puis le bromométhylbenzène (1,2 mmol, 1,2 équ.) à TA. Le milieu réactionnel est agité à TA durant 48h puis concentré à l'évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est alors chromatographié sur gel de silice.

2-(Benzysulfanyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (67)



Le composé **67** est obtenu à partir de la 3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one **58** (100 mg, 0,35 mmol, 1 équ.) selon la procédure générale I, sous forme d'une huile jaune (91,0 mg, 0,24 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 69%

R_f = 0,37 (7 EP / 3 AcOEt)

IR (produit pur): 1140-1242 (C-O ou C-N); 1493-1568 (N-C=S); 1729 (C=O).

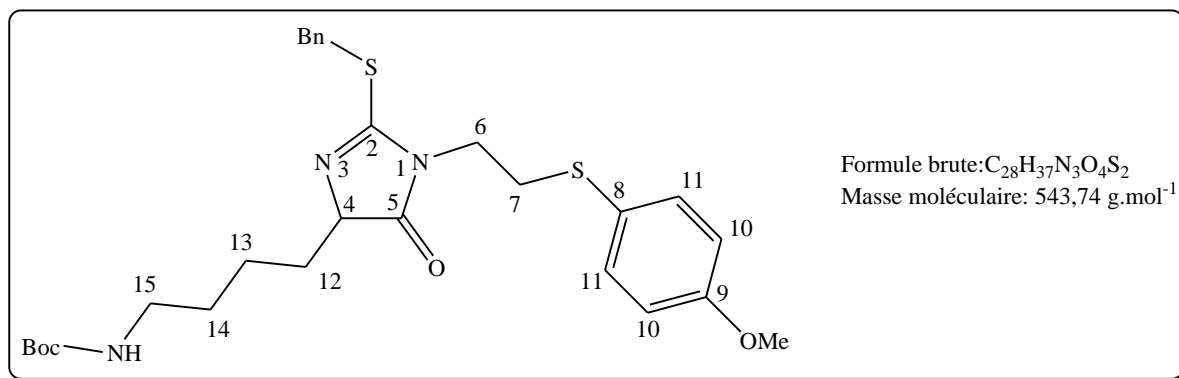
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,01 (t, 2H, J₆₋₇ = 7,3 Hz, H-7); 3,63 (t, 2H, J₆₋₇ = 7,3 Hz, H-6); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 4,07 (s, 2H, H-4); 4,37 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,81 (d, 2H, J₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-10); 7,30-7,39 (m, 7H, H-11 et H-Ph).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 33,4 (C-7); 34,4 (CH₂, Bn); 40,5 (C-6); 55,3 (OCH₃); 58,9 (C-4); 114,7 (C-10); 124,7 (C-8); 127,8, 128,7, 129,1 (CH, Ph); 133,5 (C-11); 135,8 (Cq, Ph); 159,3 (C-9); 162,5 (C-2); 179,7 (C-5).

MS (ESI⁺) m/z: 373,0 [M+H]⁺; 395,0 [M+Na]⁺; 411,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+H]⁺ calculé pour C₁₉H₂₁N₂O₂S₂: 373,1044, trouvé: 373,1045.

2-(Benzylsulfanyl)-4-(4-*tert*-Butoxycarbonylamidobutyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (68)



Le composé **65** est obtenu à partir de la 5-(4-*tert*-butoxycarbonamidobutyl)-3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioxoimidazolidin-4-one **64** (90 mg, 0,20 mmol, 1 éq.) par la procédure générale I en remplaçant le NaHCO_3 par du NaH 60%. Le produit est obtenu sous forme d'une huile incolore (57,5 mg, 0,11 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 1 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 53%

R_f = 0,36 (1 EP / 1 AcOEt)

IR (produit pur): 1169-1243 (C-O ou C-N); 1494-1567 (N-C=S); 1709 (C=O); 3366 (NH).

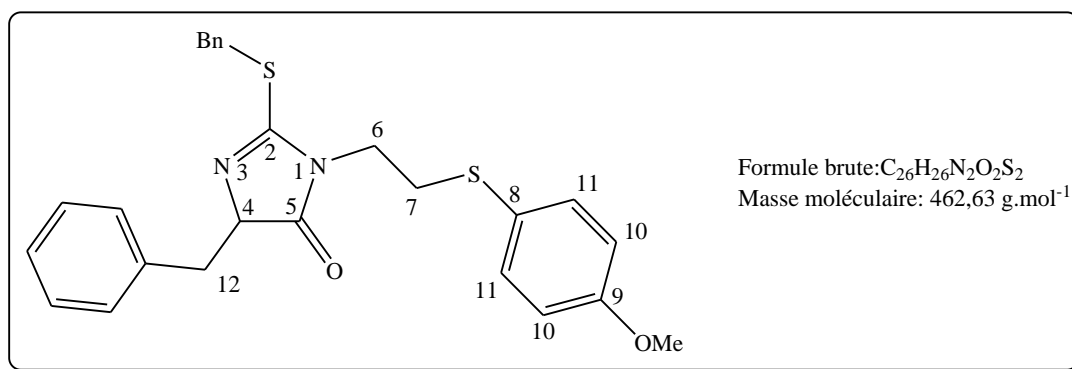
RMN ¹H (400 MHz, CDCl_3): 1,36-1,40 (m, 2H, H-13); 1,43 (s, 9H, *t*Bu); 1,47-1,51 (m, 2H, H-14); 1,59-1,68 (m, 1H, H-12a); 1,85-1,93 (m, 1H, H-12b); 2,98 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,2 \text{ Hz}$, H-7); 3,09-3,11 (m, 2H, H-15); 3,59 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,2 \text{ Hz}$, H-6); 3,76 (s, 3H, OCH_3); 3,98 (dd, 1H, $J_{4-12a} = 7,3 \text{ Hz}$, $J_{4-12b} = 5,2 \text{ Hz}$, H-4); 4,33 (d, 1H, $J = 13,2 \text{ Hz}$, Ha CH_2 Bn); 4,40 (d, 1H, $J = 13,2 \text{ Hz}$, Hb CH_2 Bn); 4,59 (sl, 1H, NH); 6,81 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,27-7,38 (m, 5H, H-Ph); 7,37 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl_3): 22,4 (C-13); 28,4 ($3 \times \text{CH}_3$, *t*Bu); 29,7 (C-14); 31,0 (C-12); 33,5 (C-7); 34,3 (CH_2 , Bn); 40,2 (C-15); 40,2 (C-6); 55,2 (OCH_3); 68,5 (C-4); 79,0 (Cq, *t*Bu); 114,6 (C-10); 124,6 (C-8); 127,7, 128,6, 129,1 (CH, Ph); 133,5 (C-11); 135,9 (Cq, Ph); 155,9 (C=O, *t*Bu); 159,2 (C-9); 160,7 (C-2); 181,0 (C-5).

MS (ESI⁺) m/z : 544,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS (ESI⁺) m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{ClN}_3\text{NaO}_4\text{S}_2$: 566,2123, trouvé: 566,2123.

4-Benzyl-2-(benzylsulfanyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one (69)



Le composé **69** est obtenu à partir de la 4-benzyl-3-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2-thioimidazolidin-4-one **65** (100 mg, 0,27 mmol, 1 éq.) par la procédure générale I de S-benzylation, sous forme d'une huile translucide (82,2 mg, 0,18 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 66%

Rf = 0,61 (6 EP / 4 AcOEt)

IR (produit pur): 1244 (C-O ou C-N); 1493-1566 (N-C=S); 1726 (C=O).

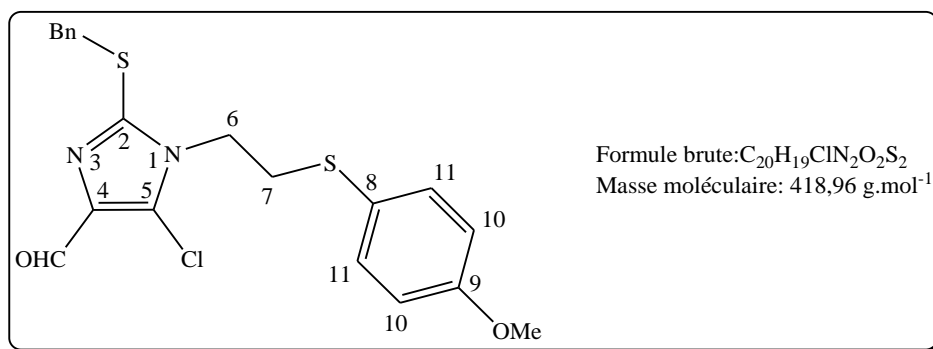
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,51-2,64 (m, 2H, H-7); 3,01 (dd, 1H, $J_{12a-4} = 6,3 \text{ Hz}$, $J_{12a-12b} = 13,7 \text{ Hz}$, H-12a); 3,25 (dd, 1H, $J_{12b-4} = 4,5 \text{ Hz}$, $J_{12a-12b} = 13,7 \text{ Hz}$, H-12b); 3,28-3,35 (m, 1H, H-6a); 3,45-3,52 (m, 1H, H-6b); 3,76 (s, 3H, OCH_3); 4,29 (dd, 1H, $J_{12b-4} = 4,5 \text{ Hz}$, $J_{12b-4} = 6,3 \text{ Hz}$, H-4); 4,31 (d, 1H, $J = 13,3 \text{ Hz}$, Ha CH_2 Bn); 4,41 (d, 1H, $J = 13,3 \text{ Hz}$, Hb CH_2 Bn); 6,81 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7 \text{ Hz}$, H-10); 7,12-7,21 (m, 5H, H-Ph); 7,30 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7 \text{ Hz}$, H-11); 7,32-7,36 (m, 5H, H-Ph).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 32,6 (C-7); 34,3 (CH_2 , Bn); 37,2 (C-12); 40,0 (C-6); 55,3 (OCH_3); 69,3 (C-4); 114,6 (C-10); 124,6 (C-8); 127,7, 127,9, 128,6, 129,1, 129,8, 133,2 (CH, Ph); 133,2 (C-11); 135,9, 136,1 (Cq, Ph); 159,2 (C-9); 161,0 (C-2); 181,0 (C-5).

MS (ESI+) m/z: 463,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 385,5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 501,5 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$: 463,1514, trouvé: 463,1519.

2-(Benzylsulfanyl)-5-chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (70)



Le $POCl_3$ (5,8 mL, 62,5 mmol, 10 éq.) est ajouté goutte à goutte au DMF (4,8 mL, 62,5 mmol, 10 éq.) à 0°C dans un ballon sous argon, le tout est agité durant 30 minutes afin de former le réactif de Vilsmeier-Haack. Une solution de 2-(benzylsulfanyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **67** (2,33 g, 6,25 mmol, 1 éq.) dans le DMF (15 mL) est alors ajoutée à l'aide d'une canule au réactif préalablement formé et la solution est agitée à 90°C durant 4h. Le milieu réactionnel est alors versé sur un mélange eau / glace (60 mL) et ajusté à $\text{pH} = 4$ avec de l'acétate de sodium. Le produit est extrait au DCM ($3 \times 50 \text{ mL}$), les phases organiques sont réunies, séchées sur $MgSO_4$ et concentrées à l'évaporateur rotatif. Le résidu est chromatographié sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, pour obtenir le produit **70** sous la forme d'une huile jaune (494 mg, 1,18 mmol).

Rendement: 19%

Rf = 0,56 (6 EP / 4 AcOEt)

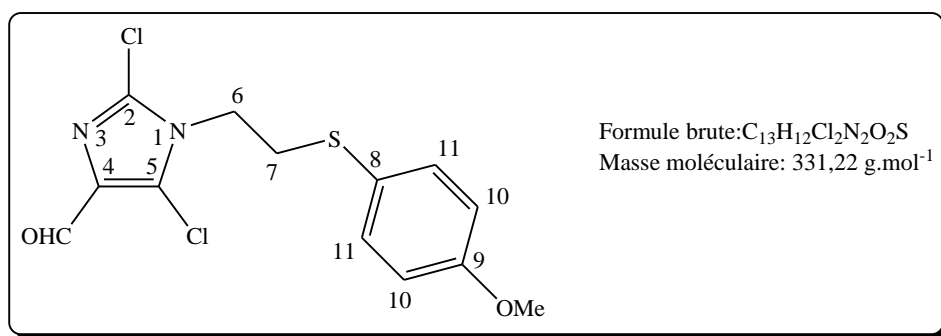
IR (produit pur): 824 (C-Cl); 1243 (C-N); 1493 (N=C-S); 1685 (HC=O).

RMN ^1H (250 MHz, $CDCl_3$): 2,86 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,6 \text{ Hz}$, H-7); 3,79 (s, 3H, OCH_3); 3,90 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,6 \text{ Hz}$, H-6); 4,32 (s, 2H, $CH_2 \text{ Bn}$); 6,83 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,9 \text{ Hz}$, H-10); 7,17-7,34 (m, 5H, H-Ph); 7,32 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,9 \text{ Hz}$, H-11); 9,83 (s, 1H, CHO).

RMN ^{13}C (250 MHz, $CDCl_3$): 34,0 (C-7); 38,7 (CH_2 , Bn); 44,2 (C-6); 55,4 (OCH_3); 114,8 (C-10); 123,8 (C-8); 127,8, 128,7, 128,8 (CH, Ph); 133,9 (C-11); 135,9 (C-4); 136,6 (C-5); 143,9 (C-2); 159,6 (C-9); 182,9 (HC=O).

MS (ESI+) m/z: 429,0 $[M+H]^+$; 442,0 $[M+Na]^+$; 458,0 $[M+K]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[M+Na]^+$ calculé pour $C_{20}H_{19}ClN_2NaO_2S_2$: 441,0474, trouvé: 441,0481.

2,5-Dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (71)

Le composé **71** est également obtenu à partir de la 2-(benzysulfanyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-4,5-dihydro-1H-imidazol-5-one **67** (2,33 g, 6,25 mmol, 1 éq.) par le mode opératoire décrit précédemment pour la synthèse de la molécule **70**. La chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, permet d'obtenir le 1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2,5-dichloro-1H-imidazole-4-carbaldéhyde **71** sous forme d'une huile jaune (855mg, 2,58 mmol).

Rendement: 41%

R_f = 0,44 (6 EP / 4 AcOEt)

IR (produit pur): 824 (C-Cl); 1243 (C-N); 1493 (N=C-S); 1689 (HC=O).

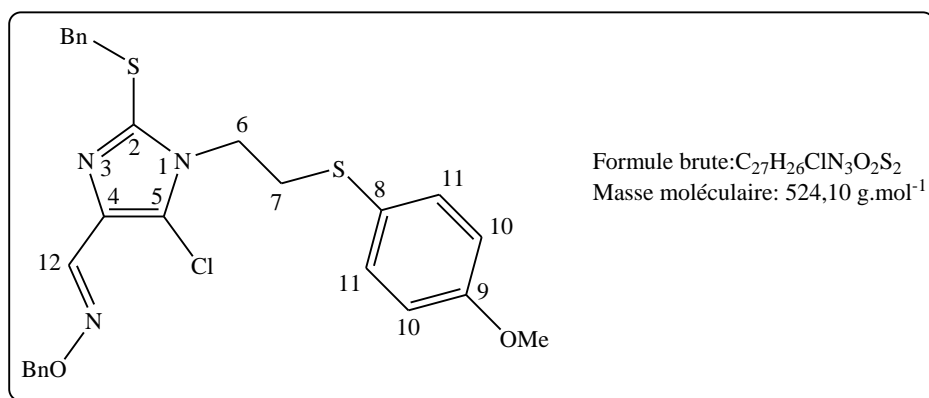
RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃): 3,13 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,4 \text{ Hz}$, H-7); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 4,17 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,4 \text{ Hz}$, H-6); 6,86 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,9 \text{ Hz}$, H-10); 7,38 (d, 2H, $J_{9-10} = 8,9 \text{ Hz}$, H-10); 9,75 (s, 1H, CHO).

RMN ¹³C (250 MHz, CDCl₃): 34,0 (C-7); 38,7 (CH₂, Bn); 44,6 (C-6); 55,4 (OCH₃); 114,9 (C-10); 123,4 (C-8); 133,5, 133,6 (C-2 et C-5); 134,6 (C-4); 159,7 (C-9); 182,6 (C_q, HC=O).

MS (ESI⁺) m/z: 332,5 [M+H]⁺; 354,5 [M+Na]⁺; 370,5 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₃H₁₂Cl₂N₂NaO₂S: 352,9894, trouvé: 352,9887.

2-(Benzylsulfanyl)-5-chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldehyde-O-benzyl-oxime (72)



L'imidazole **70** (55,0 mg, 0,13 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans le THF (2 mL) sous argon à TA. La triéthylamine (0,07 mL, 0,53 mmol, 4 éq.) et le chlorure de benzyl-hydroxylamine (23,0 mg, 0,14 mmol, 1,1 éq.) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est agité à reflux durant 24h. Le composé **72** est obtenu après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, sous la forme d'une huile jaune (44,1 mg, 0,084 mmol).

Rendement: 64%

Rf = 0,71 (6 EP / 4 AcOEt)

IR (produit pur): 826-1027 (C-Cl); 1244 (C-N); 1493-1592 (N=C-S).

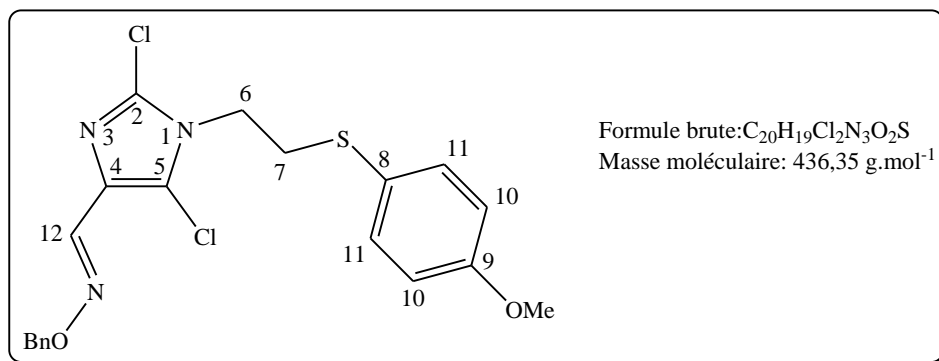
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,75 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-7); 3,78 (s, 3H, OCH_3); 3,81 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-6); 4,23 (s, 2H, $\text{SCH}_2 \text{ Bn}$); 5,25 (s, 2H, $\text{OCH}_2 \text{ Bn}$); 6,83 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,11-7,13 (m, 2H, H-Ph); 7,23-7,25 (m, 3H, H-Ph); 7,31 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11); 7,34-7,44 (m, 5H, H-Ph); 8,08 (s, 1H, H-12).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,2 (C-7); 39,6 (CH_2 , SBn); 44,2 (C-6); 55,3 (OCH_3); 76,6 (CH_2 , OBn); 114,7 (C-10); 119,1 (C-4); 124,1 (C-8); 127,6, 127,9, 128,4, 128,5, 128,6, 128,8 (CH, Ph); 130,8 (C-5); 133,8 (C-11); 137,0, 137,3 (Cq, Ph); 141,0 (C-12); 142,0 (C-2); 159,5 (C-9).

MS (ESI+) m/z: 525,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{ClN}_3\text{NaO}_2\text{S}_2$: 546,1053, trouvé: 546,1032.

2,5-Dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldehyde-O-benzyl-oxime (73)



L'imidazole **71** (95 mg, 0,287 mmol, 1 éq.) est dissous dans le THF (4 mL) sous argon à TA. La triéthylamine (0,16 mL, 1,147 mmol, 4 éq.) et le chlorure de benzyl-hydroxylamine (50 mg, 0,316 mmol, 1,1 éq.) sont ensuite ajoutés et la solution obtenue est portée au reflux durant 24h. Le composé **73** est obtenu (74 mg, 0,170 mmol) par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, sous la forme d'une huile jaune.

Rendement: 59%

R_f = 0,62 (6EP / 4AcOEt)

IR (produit pur): 826-1026 (C-Cl) ; 1244 (C-N) ; 1493-1591 (N=C-Cl).

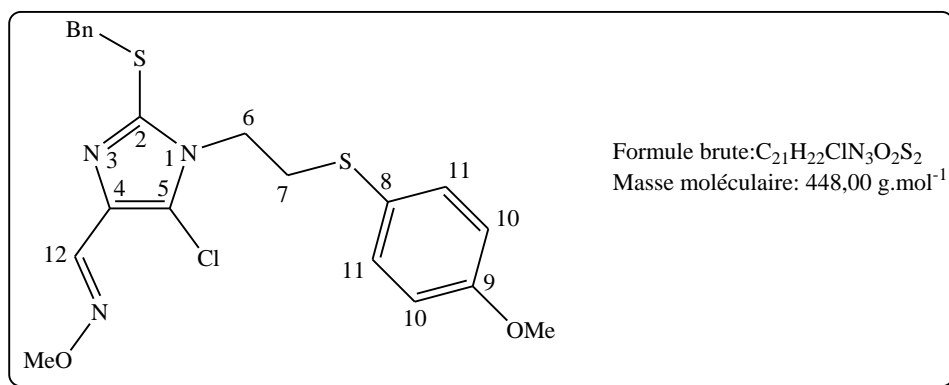
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,06 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,6 \text{ Hz}$, H-7); 3,78 (s, 3H, OCH₃); 4,07 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-6); 5,22 (s, 2H, OCH₂ Bn); 6,84 (d, 2H, $J_{8-9} = 8,8 \text{ Hz}$, H-9); 7,29-7,41 (m, 7H, H-8 et H-Ph); 7,99 (s, 1H, H-12).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,2 (C-7); 44,5 (C-6); 55,3 (OCH₃); 76,7 (CH₂, OBn); 114,8 (C-9); 118,4 (C-4); 123,7 (C-10); 127,9, 128,3, 128,4 (CH, Ph); 129,6 (C-5); 132,6 (Cq, Ph); 133,8 (C-8); 137,1 (C-2); 139,9 (C-12); 159,6 (C-11).

MS (ESI⁺) m/z: 437,0 [M+H]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: calculé pour C₂₀H₁₉Cl₂N₃O₂S [M+Na]⁺: 458,0473, trouvé: 458,0489.

2-(Benzylsulfanyl)-5-chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldehyde-O-méthyl-oxime (74)



L'imidazole **70** (52,0 mg, 0,12 mmol, 1 éq.) est dissous dans le THF (2 mL) sous argon à TA. La triéthylamine (0,07 mL, 0,50 mmol, 4 éq.) suivi du chlorure de *O*-méthyl-hydroxylamine (12,0 mg, 0,14 mmol, 1,1 éq.) sont ajoutés et la solution est agitée au reflux durant 24h. Le composé **74** (54,7 mg, 0,12 mmol) est obtenu par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt sous la forme d'une huile jaune.

Rendement: quantitatif

Rf = 0,44 (7 EP / 3 AcOEt)

IR (produit pur): 827-1031 (C-Cl); 1244 (C-N); 1493-1592 (N=C-S).

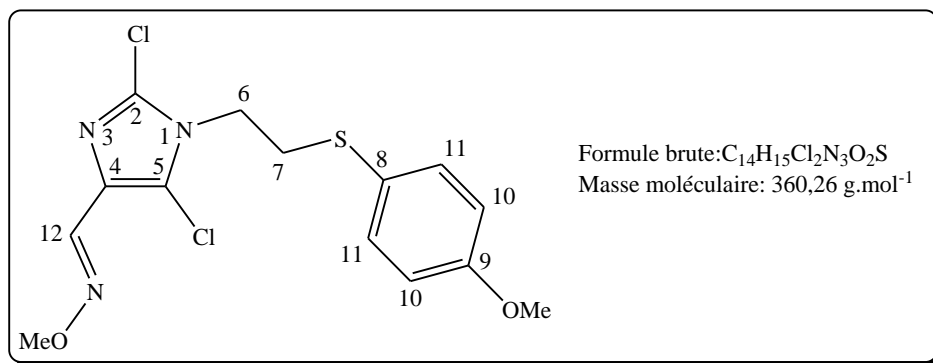
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,76 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-7); 3,79 (s, 3H, Ar-OCH₃); 3,81 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-6); 4,00 (s, 3H, N-OCH₃); 4,23 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,83 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,11-7,13 (m, 2H, H-Ph); 7,23-7,25 (m, 3H, H-Ph); 7,31 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11); 8,00 (s, 1H, H-12).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,2 (C-7); 39,6 (CH₂, Bn); 44,2 (C-6); 55,3 (CH₃, Ar-OCH₃); 62,2 (CH₃, N-OCH₃); 114,7 (C-10); 119,0 (C-4); 124,1 (C-8); 127,6, 128,6, 128,8 (CH, Ph); 130,7 (C-5); 133,8 (C-11); 137,0 (Cq, Ph); 140,4 (C-12); 142,1 (C-2); 159,4 (C-9).

MS (ESI⁺) *m/z*: 449,0 [M+H]⁺; 471,0 [M+Na]⁺; 487,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: [M+Na]⁺ calculé pour $C_{21}H_{22}ClN_3NaO_2S_2$: 470,0740, trouvé: 470,0751.

2,5-Dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde-O-méthyl-oxime (75)



Dans un ballon, sous argon, l'imidazole **71** (83,0 mg, 0,25 mmol, 1 éq.) est solubilisé dans le THF (4mL) à TA. La triéthylamine (0,14 mL, 1,00 mmol, 4 éq.) suivie du chlorure de méthylhydroxylamine (23,0 mg, 0,28 mmol, 1,1 éq.) sont ajoutés. La solution résultante est portée au reflux durant 24h. Le composé **75** (64,9 mg, 0,18 mmol) est obtenu par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, sous forme d'une huile jaune.

Rendement: 72%

Rf = 0,55 (7 EP / 3 AcOEt)

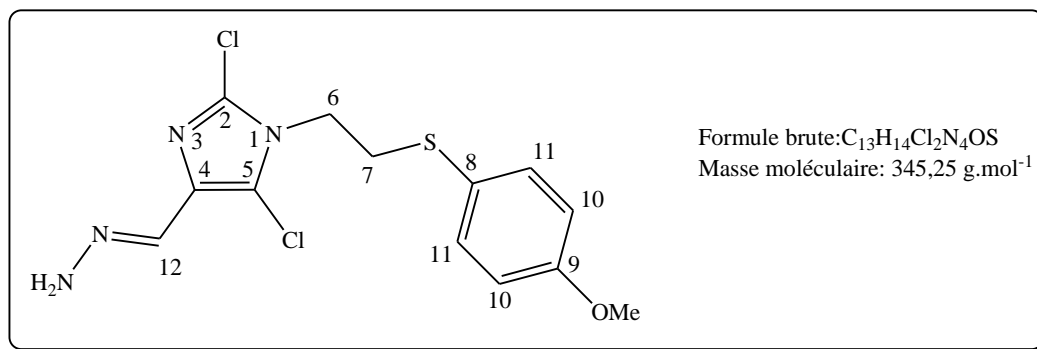
IR (produit pur): 826-1030 (C-Cl); 1244 (C-N); 1462-1592 (N=C-Cl).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 3,07 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,6 \text{ Hz}$, H-7); 3,79 (s, 3H, Ar-OCH₃); 3,96 (s, 3H, N-OCH₃); 4,08 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,6 \text{ Hz}$, H-6); 6,84 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,37 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11); 7,89 (s, 1H, H-12).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,2 (C-7); 44,5 (C-6); 55,3 (CH₃, Ar-OCH₃); 62,3 (CH₃, N-OCH₃); 114,8 (C-10); 118,3 (C-4); 123,7 (C-8); 129,6 (C-5); 132,7 (C-2); 133,9 (C-11); 139,3 (C-12); 159,6 (C-8).

MS (ESI⁺) m/z: 361,0 [M+H]⁺; 383,0 [M+Na]⁺; 399,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour $C_{14}H_{15}Cl_2N_3NaO_2S$: 382,0160, trouvé: 382,0171.

(E)-1-(2,5-Dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazol-4-yl)méthylène)hydrazide (76)

L'hydrate d'hydrazine (8 μL , 0,18 mmol, 1,2 éq.) est ajoutée à une solution d'imidazole **71** (50,0 mg, 0,15 mmol, 1éq.) dans l'éthanol (2 mL), à TA. Le mélange est porté au reflux durant 1h. Le composé **76** (16,8 mg, 0,05 mmol) est obtenu sous forme d'une huile jaune après purification sur colonne de silice: 4 EP / 6 AcOEt.

Rendement: 33%

R_f = 0,57 (3 EP / 7 AcOEt)

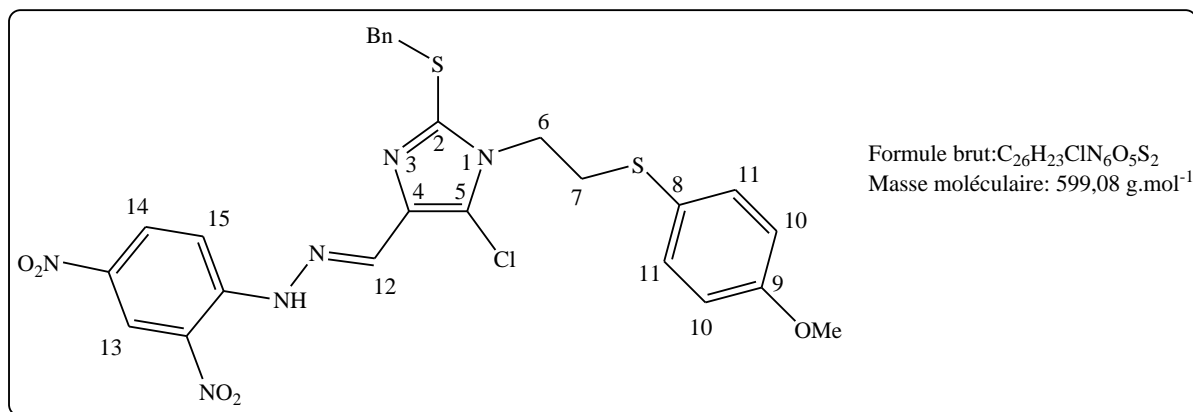
IR (produit pur): 827 (C-Cl); 1243 (C-N); 1493 (N=C-Cl); 1591 (C=C); 3404 (NH₂).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,09 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,5 \text{ Hz}$, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 4,13 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,5 \text{ Hz}$, H-6); 6,86 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 6,89 (s, 1H, H-12); 7,25 (sl, 1H, NH); 7,38 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,2 (C-7); 44,6 (C-6); 55,4 (OCH₃); 114,8 (C-10); 116,3 (C-4); 123,7 (C-8); 124,6 (C-12); 129,9 (C-5); 131,8 (C-2); 133,8 (C-11); 159,7 (C-9).

MS (ESI⁺) m/z: 346,0 [M+H]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₃H₁₄Cl₂N₄NaOS: 367,0163, trouvé: 367,0171.

(E)-1-(2-(Benzylsulfanyl)-1-(2-(4-méthoxyphénylthio)éthyl)-5-chloro-1H-imidazol-4-yl)méthylène)-2-(2,4-dinitrophényl)hydrazide (77)

Dans un ballon, sous argon, l'imidazole **70** (70,0 mg, 0,167 mmol, 1 éq.) est solubilisée dans l'éthanol (2 mL) à TA. La 2,4-DNPH (57,0 mg, 0,20 mmol, 1,2 éq.) et une solution concentrée à 37% de HCl (0,08 mL) sont ajoutés, le milieu réactionnel est alors chauffé au reflux durant une heure. Le composé **77** (99 mg, 0,165 mmol) précipite sous la forme d'un solide orange filtré sur Büchner.

Rendement: 99%

R_f = 0,57 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 170 - 171 °C

IR (produit pur): 1247 (C-N); 1310-1328 (NO₂); 1493-1509 (N=C-S); 1584-1613 (NO₂).

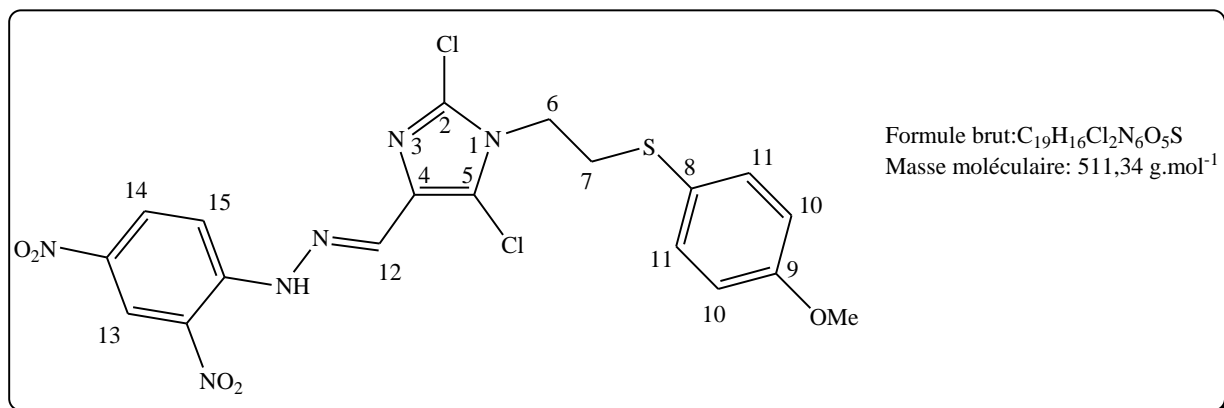
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,87 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,5 \text{ Hz}$, H-7); 3,76 (s, 3H, OCH₃); 4,00 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,5 \text{ Hz}$, H-6); 6,82 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,24-7,26 (m, 5H, H-Ph); 7,33 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11); 7,35 (s, 1H, H-12); 8,15 (d, 1H, $J_{15-14} = 9,6 \text{ Hz}$, H-15); 8,31 (dd, 1H, $J_{14-15} = 9,6 \text{ Hz}$ et $J_{14-13} = 2,4 \text{ Hz}$, H-14); 9,14 (d, 1H, $J_{13-14} = 2,4 \text{ Hz}$, H-13); 14,18 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,1 (C-7); 38,3 (CH₂, Bn); 44,7 (C-6); 55,3 (OCH₃); 114,7 (C-10); 116,7 (C-15); 120,8 (C-4); 123,4 (C-13); 123,8 (C-8); 127,7, 128,7, 128,9 (CH, Ph); 129,5 (C-14); 129,9 (C-5); 131,4 (C-12); 133,8 (C-11); 136,8 (Cq, Ph); 137,9 (Cq, NO₂); 142,9 (C-2); 145,4 (Cq, NH); 159,6 (Cq, C-9).

MS (ESI⁺) m/z: 600,0 [M+H]⁺; 622,0 [M+Na]⁺; 638,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₂₆H₂₃ClN₆NaO₅S₂: 621,0758, trouvé: 621,0780.

(E)-1-(2,5-Dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazol-4-yl)méthylène)-2-(2,4-dinitrophényl)hydrazide (78)



L'imidazole **71** (64,0 mg, 0,19 mmol, 1 éq.) est dissous dans l'éthanol (2 mL) à TA. La 2,4-DNPH (66,0 mg, 0,23 mmol, 1,2 éq.) suivie d'une solution concentrée à 37% de HCl (0,10 mL) sont ajoutés. La solution obtenue est alors chauffée au reflux de l'éthanol durant une heure. Le composé **78** (23,6 mg, 0,046 mmol) précipite sous forme d'un solide orange qui est filtré sur Büchner.

Rendement: 24 %

Rf = 0,44 (7 EP / 3 AcOEt)

Pf = 179 -181 °C

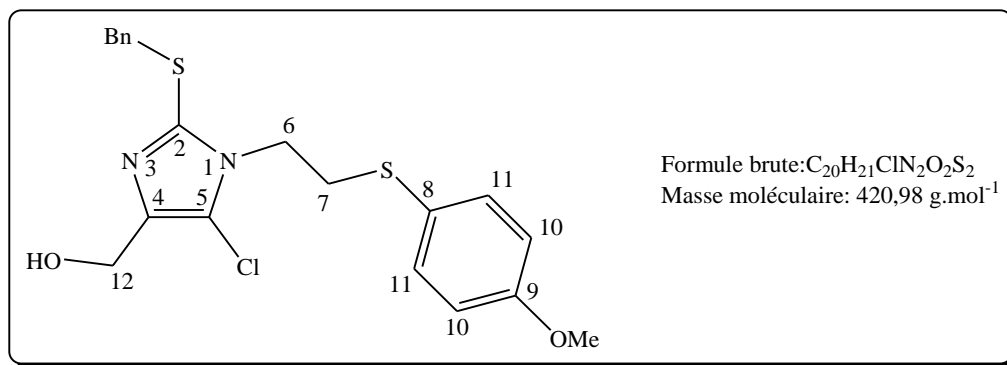
IR (produit pur): 1243 (C-N); 1307-1327 (NO₂); 1493-1508 (N=C-Cl); 1584-1613 (NO₂).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): 3,33 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 6,5 Hz, H-7); 3,59 (s, 3H, OCH₃); 4,27 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 6,5 Hz, H-6); 6,81 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-10); 7,30 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-11); 7,42 (s, 1H, H-12); 8,04 (d, 1H, *J*₁₅₋₁₄ = 9,6 Hz, H-15); 8,48 (dd, 1H, *J*₁₄₋₁₅ = 9,6 Hz et *J*₁₄₋₁₃ = 2,6 Hz, H-14); 8,90 (d, 1H, *J*₁₃₋₁₄ = 2,6 Hz, H-13); 13,87 (sl, 1H, NH).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO-*d*₆): 32,4 (C-7); 45,3 (C-6); 54,9 (OCH₃); 114,6 (C-10); 116,1 (C-15); 121,1 (C-4); 122,8 (C-13); 123,7 (C-8); 129,2 (C-2 et C-5); 129,8 (C-14); 131,0 (C-12); 131,8 (Cq, NO₂); 131,8 (C-11); 137,4 (Cq, NO₂); 144,6 (Cq, NH); 158,5 (C-9).

MS (ESI+) m/z: 512,0 [M+H]⁺; 534,0 [M+Na]⁺; 550,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI+) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₉H₁₆Cl₂N₆NaO₅S: 533,0178, trouvé: 533,0185.

2-(Benzylsulfanyl)-5-chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazol-4-yl)méthanol (79)

Le borohydrure de sodium (15,0 mg, 0,39 mmol, 2,5 éq.) est ajouté à 0°C, sous argon, à une solution d'imidazole **70** (65,0 mg, 0,16 mmol, 1 éq.) dans le MeOH (2 mL). Le milieu réactionnel est agité à TA durant 1h. Le composé **79** est obtenu par chromatographie sur gel de silice: 4 EP / 6 AcOEt, sous forme d'une huile translucide (49,2 mg, 0,12 mmol).

Rendement: 75%

Rf = 0,41 (3 EP / 7 AcOEt)

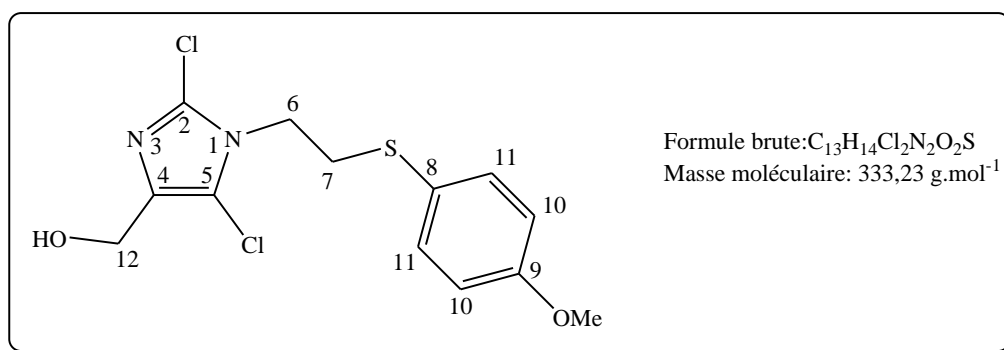
IR (produit pur): 825-1024 (C-Cl); 1243 (C-N); 1493-1591 (N=C-S); 3252 (OH).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,71 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,7 \text{ Hz}$, H-7); 3,76 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,7 \text{ Hz}$, H-6); 3,79 (s, 3H, OCH_3); 4,12 (s, 2H, $\text{CH}_2 \text{ Bn}$); 4,56 (s, 2H, H-12); 6,83 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,04-7,07 (m, 2H, H-Ph); 7,22-7,23 (m, 3H, H-Ph); 7,30 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,2 (C-7); 40,1 (CH_2 , Bn); 44,3 (C-6); 55,3 (OCH_3); 56,2 (C-12); 114,6 (C-10); 115,6 (C-4); 124,2 (C-8); 127,6, 128,6, 128,7 (CH, Ph); 133,7 (C-11); 137,2, 137,8 (Cq, C-5 et Bn); 139,5 (C-2); 159,4 (C-9).

MS (ESI+) m/z: 422,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{NaO}_2\text{S}_2$: 443,0631, trouvé: 443,0626.

2,5-Dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazol-4-yl)méthanol (80)

Le borohydrure de sodium (20,0 mg, 0,53 mmol, 2,5 éq.) est ajouté à 0°C, sous argon, à une solution d'imidazole **71** (70,0 mg, 0,21 mmol, 1 éq.) dans le MeOH (2 mL). Le milieu réactionnel est alors agité à TA durant 1h. Le composé **80** est obtenu (55,7 mg, 0,17 mmol) par chromatographie sur gel de silice: 4 EP / 6 AcOEt, sous forme d'une huile translucide.

Rendement: 81%

Rf = 0,47 (3 EP / 7 AcOEt)

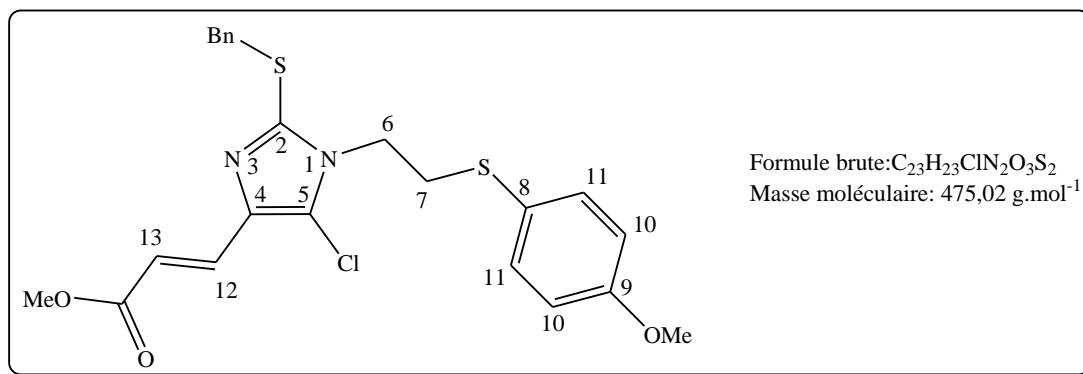
IR (produit pur): 825-1023 (C-Cl); 1243 (C-N); 1493-1591 (N=C-Cl); 3323 (OH).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,06 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,7 \text{ Hz}$, H-7); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 4,05 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,7 \text{ Hz}$, H-6); 4,46 (s, 2H, H-12); 6,86 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,38 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,2 (C-7); 44,4 (C-6); 55,3 (OCH₃); 55,9 (C-12); 114,7 (C-10); 115,1 (C-4); 123,8 (C-8); 130,5 (C-5); 133,7 (C-11); 136,2 (C-2); 159,5 (C-9).

MS (ESI+) m/z: 334,0 [M+H]⁺; 356,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₃H₁₄Cl₂N₂NaO₂S: 355,0051, trouvé: 355,0055.

(E)-Méthyl-3-(2-(benzylsulfanyl)-5-chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazol-4-yl)acrylate (81)

L'imidazole **70** (50,0 mg, 0,12 mmol, 1 éq.) est introduit dans le toluène (2 mL) dans un ballon à TA. L'acétate de méthyl(triphénylphosphoranylidène) (48,0 mg, 0,14 mmol, 1,2 éq.) est alors ajouté. La réaction est agitée à TA durant 24h. Le composé **81** (41,7 mg, 0,09 mmol) est purifié par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, sous forme d'une huile jaune.

Rendement: 74%

R_f = 0,61 (7 EP / 3 AcOEt)

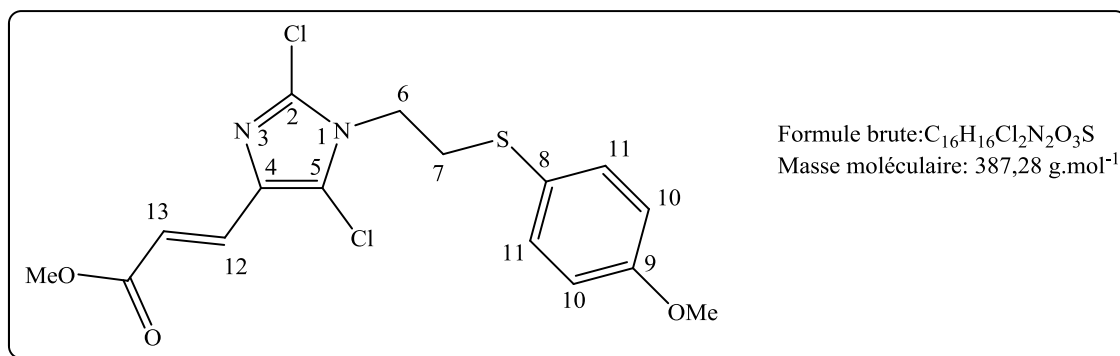
IR (produit pur): 827 (C-Cl); 1244-1162 (C-N/C-O); 1493 (N=C-S); 1654 (C=C); 1709 (C=O ester).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,82 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,7$ Hz, H-7); 3,78 (s, 3H, Ar-OCH₃); 3,79 (s, 3H, OCH₃ ester); 3,82 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,7$ Hz, H-6); 4,25 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,65 (d, 1H, $J_{12-13} = 15,6$ Hz, H-13); 6,82 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8$ Hz, H-10); 7,16-7,18 (m, 2H, H-Ph); 7,24-7,26 (m, 3H, H-Ph); 7,31 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8$ Hz, H-11); 7,48 (d, 1H, $J_{12-13} = 15,6$ Hz, H-12).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,2 (C-7); 39,0 (CH₂, Bn); 44,4 (C-6); 51,6 (OCH₃ ester); 55,3 (CH₃, Ar-OCH₃); 114,7 (C-10); 116,8 (C-13); 120,4 (C-4); 124,0 (C-8); 127,7, 128,6, 128,8 (CH, Ph); 132,6 (C-12); 133,7 (C-11); 133,8 (C-5); 137,1 (C_q, Ph); 142,5 (C-2); 159,5 (C-9); 167,8 (C=O).

MS (ESI+) m/z: 476,0 [M+H]⁺; 498,0 [M+Na]⁺; 514,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI+) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₂₃H₂₃ClN₂NaO₃S₂: 497,0736, trouvé: 497,0736.

(E)-Méthyl-3-(2,5-dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazol-4-yl)acrylate (82)

L'imidazole **71** (75,0 mg, 0,23 mmol, 1 éq.) est introduit dans le toluène (4 mL) dans un ballon à TA. L'acétate de méthyl(triphénylphosphoranylidène) (91,0 mg, 0,27 mmol, 1,2 éq.) est alors ajouté. Le milieu réactionnel est agité à TA durant 24h. Le composé **82** (76,9 mg, 0,20 mmol) est obtenu par chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt, sous forme d'une huile jaune.

Rendement: 88%

R_f = 0,50 (7 EP / 3 AcOEt)

IR (produit pur): 827 (C-Cl); 1163-1243 (C-N/C-O); 1493 (N=C-Cl); 1639 (C=C); 1710 (C=O ester).

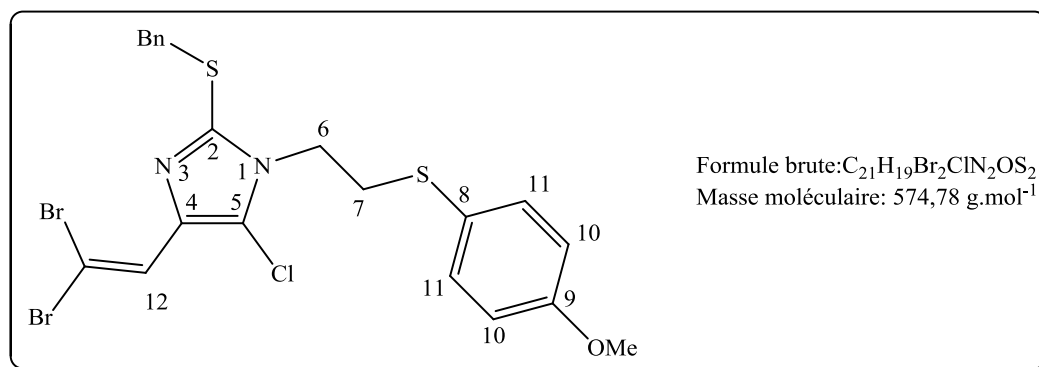
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,09 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,5 Hz, H-7); 3,77 (s, 3H, CO₂CH₃); 3,79 (s, 3H, Ar-OCH₃); 4,10 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,5 Hz, H-6); 6,54 (d, 1H, *J*₁₂₋₁₃ = 15,6 Hz, H-13); 6,85 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-10); 7,37 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-11); 7,41 (d, 1H, *J*₁₂₋₁₃ = 15,6 Hz, H-12).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,2 (C-7); 44,7 (C-6); 51,6 (OCH₃, ester); 55,3 (CH₃, Ar-OCH₃); 114,8 (C-10); 117,6 (C-13); 119,8 (C-4); 123,6 (C-8); 131,8 (C-12); 132,7 (C-2); 132,7 (C-5); 133,7 (C-11); 159,6 (C-9); 167,4 (C=O, ester).

MS (ESI+) m/z: 388,0 [M+H]⁺; 410,0 [M+Na]⁺; 426,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI+) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₆H₁₆Cl₂N₂NaO₃S: 409,0156, trouvé: 409,0143.

2-(Benzylsulfanyl)-4-(2,2-dibromovinyl)-5-chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole (83)



La triphénylphosphine (69,0 mg, 0,26 mmol, 2 éq.) est ajoutée à une solution de tétrabromure de carbone (174 mg, 0,525 mmol, 4 éq.) dans le DCM (2 mL) dans un ballon sous argon refroidie à -5°C. L'imidazole **70** (55,0 mg, 0,13 mmol, 1 éq.) dissous dans le DCM (2 mL) est alors ajouté à l'aide d'une canule et la solution est agitée à TA durant 2h. Le composé **83** est obtenu après chromatographie sur gel silice: 9 EP / 1 AcOEt, sous forme d'une huile jaune (14,6 mg, 0,025 mmol).

Rendement: 19%

R_f = 0,52 (8 EP / 2 AcOEt)

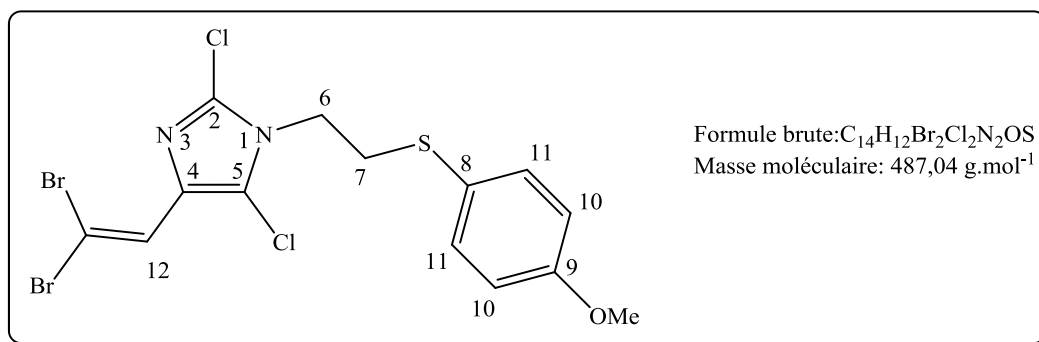
IR (produit pur): 825 (C-Cl/C-Br); 1244 (C-N); 1492 (N=C-S).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,79 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,7 Hz, H-7); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 3,83 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,7 Hz, H-6); 4,26 (s, 2H, CH₂ Bn); 6,83 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-10); 7,19-7,26 (m, 6H, H-12 et H-Ph); 7,31 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-11).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,1 (C-7); 38,9 (CH₂Ph); 44,4 (C-6); 55,4 (OCH₃); 88,8 (Cq, CBr₂); 114,7 (C-10); 117,8 (C-4); 124,1 (C-8); 125,8 (C-12); 127,6, 128,6, 128,9 (CH, Ph); 133,4 (Cq, Ph); 133,8 (C-11); 137,4 (C-5); 141,1 (C-2); 159,5 (C-9).

MS (ESI⁺) *m/z*: 576,0 [M+H]⁺; 598,0 [M+Na]⁺; 614,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) *m/z*: [M+H]⁺ calculé pour C₂₁H₂₀Br₂ClN₂OS: 572,9072, trouvé: 572,9091.

4-(2,2-Dibromovinyl)-2,5-dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole (84)

Dans un ballon, sous argon, la triphénylphosphine (158 mg, 0,60 mmol, 2 éq.) est ajoutée à une solution de tétrabromure de carbone (100 mg, 0,30 mmol, 4 éq.) dans le DCM (2 mL) refroidie à -5°C. Le 1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-2,5-dichloro-1H-imidazole-4-carbaldéhyde **71** (50,0 mg, 0,15 mmol, 1 éq.) dissous dans le DCM (2 mL) est alors ajouté à l'aide d'une canule et le tout est agité à TA durant 2h. Le composé **84** (42,3 mg, 0,09 mmol) est obtenu après chromatographie sur gel de silice: 9 EP / 1 AcOEt sous forme d'une huile jaune.

Rendement: 58%

R_f = 0,60 (8 EP / 2 AcOEt)

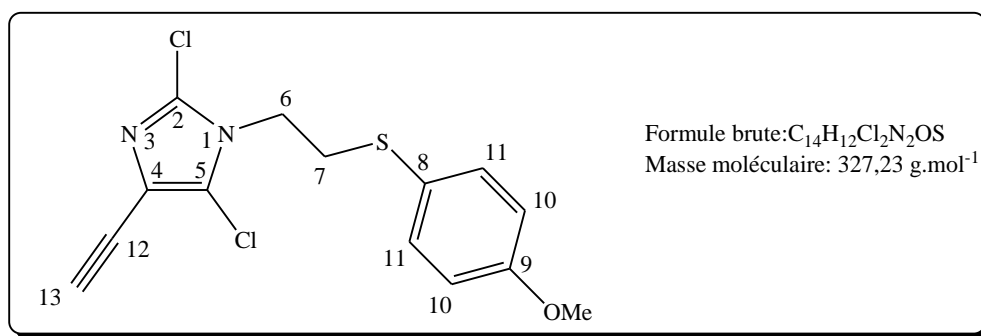
IR (produit pur): 825 (C-Cl/C-Br); 1244 (C-N); 1493 (N=C-Cl).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,07 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,5 Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 4,07 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,5 Hz, H-6); 6,85 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,5 Hz, H-10); 7,17 (s, 1H, H-12); 7,37 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,5 Hz, H-11).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,3 (C-7); 44,8 (C-6); 55,3 (OCH₃); 89,5 (Cq, CBr₂); 114,9 (C-10); 117,5 (C-4); 123,7 (C-8); 125,0 (C-12); 131,4 (C-5); 135,7 (C-2); 133,9 (C-11); 159,6 (C-9).

MS (ESI⁺) m/z: 488,0 [M+H]⁺; 510,0 [M+Na]⁺; 526,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z: [M+Na]⁺ calculé pour C₁₄H₁₂Br₂Cl₂N₂NaOS: 506,8312, trouvé: 506,8327.

2,5-Dichloro-4-éthynyl-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole (85)

Le 1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-4-(2,2-dibromovinyl)-2,5-dichloro-1H-imidazole **84** (35,0 mg, 0,072 mmol, 1 éq.) est introduit dans le THF (2 mL) dans un ballon sous argon refroidi à -78°C . Une solution de *n*BuLi (2,5 M dans l'hexane) (0,08 mL, 0,219 mmol, 3 éq.) est ajoutée, puis la réaction est agitée durant une heure à -78°C . Le composé **85** (6,7 mg, 0,002 mmol) est obtenu sous forme d'une huile jaune après chromatographie sur gel de silice: 9 EP / 1 AcOEt.

Rendement: 28%

R_f = 0,44 (8 EP / 2 AcOEt)

IR (produit pur): 826 (C-Cl); 1244 (C-N); 1493 (N=C-Cl) ; 3286 ($\equiv\text{C-H}$).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 3,07 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,6 \text{ Hz}$, H-7); 3,24 (s, 1H, H-13); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,08 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,6 \text{ Hz}$, H-6); 6,87 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,38 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,2 (C-7); 45,0 (C-6); 55,4 (OCH_3); 74,0 (C-12); 81,3 (C-13); 100,0 (C-4); 114,9 (C-10); 120,0 (C-5); 123,7 (C-8); 130,9 (C-2); 133,9 (C-11); 159,7 (C-9).

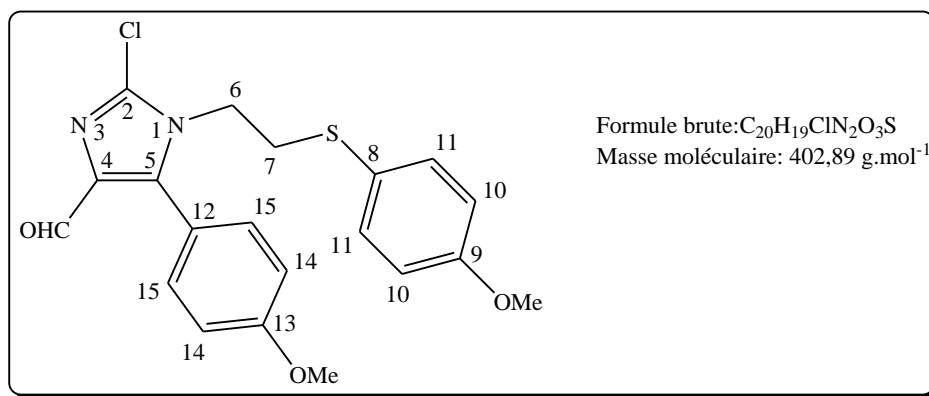
MS (ESI+) m/z: 328,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 350,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 366,0 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{NaOS}$: 348,9945, trouvé: 348,9947.

Procédure générale J: Couplage de Suzuki sur le 2,5-dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde 71:

Le 2,5-dichloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (1 mmol, 1 éq.) **71**, l'acide boronique (1,1 mmol, 1,1 éq.), le bromure de tétrabutylammonium (1 mmol, 1 éq.), la triphénylphosphine (0,2 mmol, 0,2 éq.), l'acétate de palladium (II) (0,1 mmol, 0,1 éq.) et le carbonate de sodium (2,5 mmol, 2,5 éq.) sont mis en suspension dans de l'eau distillée (2 mL). Le milieu réactionnel est agité pendant 2h à 90°C puis dilué à l'eau (10 mL) et extrait à l'AcOEt (3 × 20 mL). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ puis concentrées à l'évaporateur rotatif. Le composé souhaité est obtenu après chromatographie sur gel de silice.

2-Chloro-5-(4-méthoxyphényl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (86)



Le composé **86** est obtenu selon la procédure générale J entre l'imidazole **71** (87,0 mg, 0,26 mmol, 1 éq.) et l'acide 4-méthoxyphényle boronique (44,0 mg, 0,29 mmol, 1,1 éq.) sous forme d'un solide blanc (72,9 mg, 0,18 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 69 %

Rf = 0,31 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 106 – 109 °C

IR (produit pur): 1246 (C-N); 1493 (N=C-Cl); 1685 (CHO).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,89 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9$ Hz, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 3,88 (s, 3H, OCH₃); 4,03 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9$ Hz, H-6); 6,75 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8$ Hz, H-10); 6,92 (d, 2H, $J_{14-15} = 8,8$ Hz, H-14); 7,14 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8$ Hz, H-11); 7,18 (d, 2H, $J_{14-15} = 8,8$ Hz, H-15); 9,58 (s, 1H, CHO).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,5 (C-7); 44,2 (C-6); 55,3 ($2 \times \text{OCH}_3$); 114,5, 114,7 (C-10 et C-14); 118,0 (C-12); 123,5 (C-8); 131,4 (C-15); 133,9 (C-11); 135,0, 136,8 (C-4 et C-5); 141,9 (C-2); 159,6, 160,9 (C-9 et C-13), 183,5 (CHO).

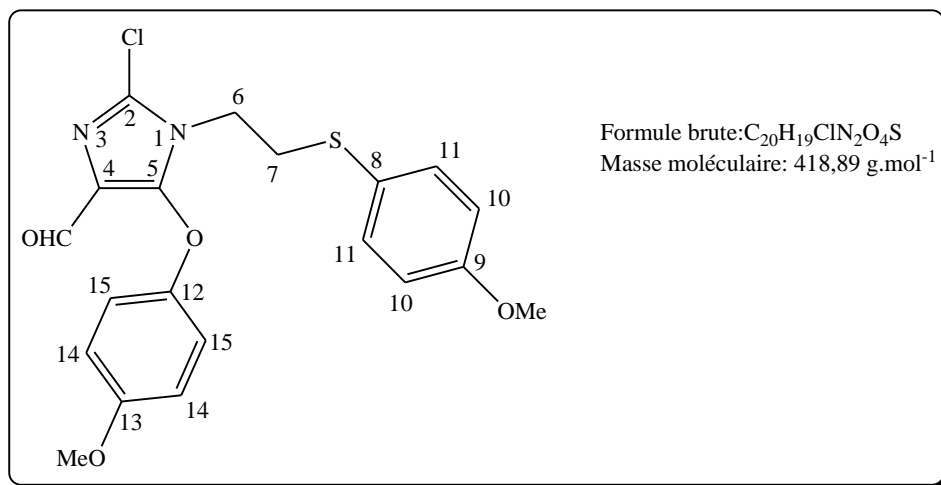
MS (ESI+) m/z: 403,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 425,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 441,0 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

$[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$: 403,08777, trouvé: 403,08666;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{NaO}_3\text{S}$: 425,06971, trouvé: 425,06829.

2-Chloro-5-(4-méthoxyphénoxy)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (87)



Le composé **87** est un sous produit du couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (65,0 mg, 0,20 mmol, 1 éq.) et l'acide 4-méthoxyphényle boronique (33,0 mg, 0,22 mmol, 1,1 éq.). Il est obtenu sous forme d'une huile jaune (15,0 mg, 0,036 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 18 %

R_f = 0,43 (1 EP / 1 AcOEt)

IR (produit pur): 1245 (C-N); 1493 (N=C-Cl); 1684 (CHO).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,06 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,4 Hz, H-7); 3,79 (s, 2 × 3H, 2 × OCH₃); 4,01 (t, 2H, *J*₆₋₇ = 7,4 Hz, H-6); 6,80-6,88 (m, 6H, H-10, H-14, H-15); 7,32 (d, 2H, *J*₁₀₋₁₁ = 8,8 Hz, H-11); 9,34 (s, 1H, CHO).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,4 (C-7); 43,3 (C-6); 55,3, 55,7 (2 × OCH₃); 114,9, 115,1, 117,3 (C-10, C-14 et C-15); 123,7, 124,6, 129,1 (C-4, C-5 et C-8); 134,0 (C-11); 150,0 (C-12); 159,7, 156,7 (C-9 et C-13). 181,5 (CHO).

MS (ESI⁺) m/z: 419,0 [M+H]⁺; 441,0 [M+Na]⁺; 457,0 [M+K]⁺.

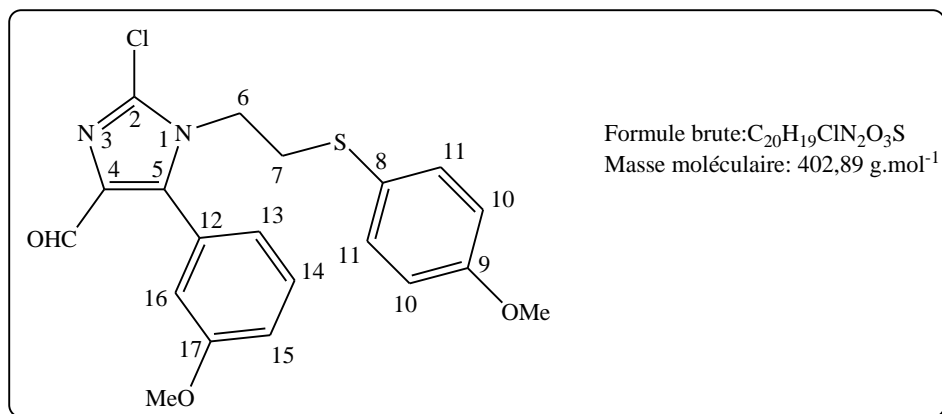
HRMS (ESI⁺) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₂₀H₂₀ClN₂O₄S: 419,08268, trouvé: 419,08309;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₀H₁₉ClN₂NaO₄S: 441,06463, trouvé: 441,06496;

[M+K]⁺ calculé pour C₂₀H₁₉ClKN₂O₄S: 457,03856, trouvé: 457,03887.

2-Chloro-5-(3-méthoxyphényl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (88)



Le composé **88** est obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (86,0 mg, 0,26 mmol, 1 éq.) et l'acide 3-méthoxyphényle boronique (43,0 mg, 0,28 mmol, 1,1 éq.) sous forme d'un solide blanc (57,4 mg, 0,14 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 55 %

Rf = 0,33 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 112 – 114 °C

IR (produit pur): 1244 (C-N); 1481 (N=C-Cl); 1686 (CHO).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,87 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-7); 3,79 (s, $2 \times 3\text{H}$, $2 \times \text{OCH}_3$); 4,04 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-6); 6,73 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 6,77 (s, 1H, H-16); 6,83 (d, 1H, $J_{14-15} = 7,5 \text{ Hz}$, H-15); 7,02 (dd, 1H, $J_{13-14} = 8,4 \text{ Hz}$, $J_{13-15/16} = 1,9 \text{ Hz}$, H-13); 7,11 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11); 7,34 (t, 1H, $J_{14-13/15} = 8,0 \text{ Hz}$, H-14); 9,57 (s, 1H, CHO).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,5 (C-7); 44,4 (C-6); 55,3 ($2 \times \text{OCH}_3$); 114,7 (C-10); 115,5 (C-16); 115,8 (C-13); 122,2 (C-15); 123,4 (C-8); 127,3 (C-12); 130,1 (C-11); 135,2, 136,8 (C-4 et C-5); 141,8 (C-2); 159,5, 159,7 (C-9 et C-17), 183,2 (CHO).

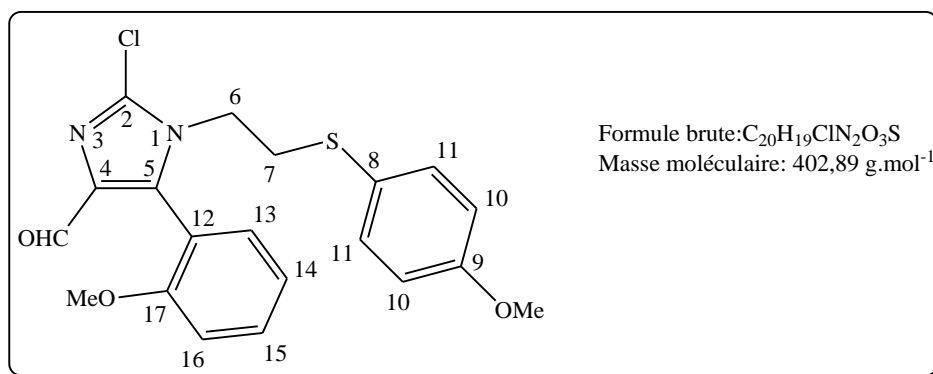
MS (ESI+) m/z: 403,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 425,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

$[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$: 403,08777, trouvé: 403,08836;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{ClN}_2\text{NaO}_3\text{S}$: 425,06971, trouvé: 425,07022.

2-Chloro-5-(2-méthoxyphényl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (89)



Le composé **89** est obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (85,0 mg, 0,26 mmol, 1 éq.) et l'acide 2-méthoxyphényle boronique (43,0 mg, 0,28 mmol, 1,1 éq.) sous forme d'un solide blanc (75,3 mg, 0,19 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 73 %

Rf = 0,32 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 118 – 120 °C

IR (produit pur): 1247 (C-N); 1480 (N=C-Cl); 1688 (CHO).

RMN ¹H (400 MHz, $CDCl_3$): 2,86 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-7); 3,70 (s, 3H, OCH_3); 3,80 (s, 1H, OCH_3); 3,84-4,04 (m, 2H, H-6); 6,73 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 6,93 (d, 1H, $J_{16-15} = 8,3 \text{ Hz}$, H-16); 7,04 (td, 1H, $J_{14-13/15} = 7,5 \text{ Hz}$, $J_{14-16} = 0,8 \text{ Hz}$, H-14); 7,10 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11); 7,18 (dd, 1H, $J_{13-14} = 7,5 \text{ Hz}$, $J_{13-15} = 1,6 \text{ Hz}$, H-13); 7,47-7,52 (m, 1H, H-15); 9,52 (s, 1H, CHO).

RMN ¹³C (400 MHz, $CDCl_3$): 34,1 (C-7); 44,6 (C-6); 55,3, 55,4 ($2 \times OCH_3$); 111,3 (C-16); 114,7 (C-10); 114,9 (C-12); 120,9 (C-14); 123,7 (C-8); 132,2 (C-15); 132,7 (C-16); 133,6 (C-11); 135,1, 137,0 (C-4 et C-5); 139,2 (C-2), 157,1 (C-17); 159,3 (C-9), 183,3 (CHO).

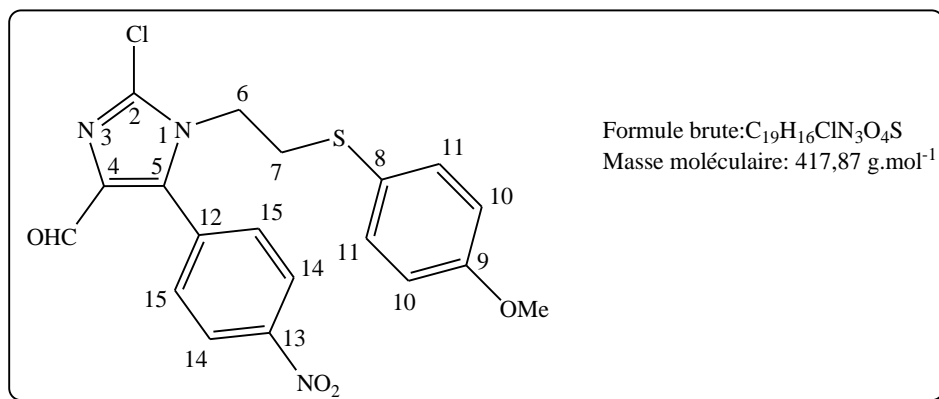
MS (ESI+) m/z: 403,0 $[M+H]^+$; 425,0 $[M+Na]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

$[M+H]^+$ calculé pour $C_{20}H_{20}ClN_2O_3S$: 403,08777, trouvé: 403,08808;

$[M+Na]^+$ calculé pour $C_{20}H_{19}ClN_2NaO_3S$: 425,06971, trouvé: 425,06998.

2-Chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-5-(4-nitrophényl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (90)



Le composé **90** est obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (73,0 mg, 0,22 mmol, 1 éq.) et l'acide 4-nitrophényle boronique (41,0 mg, 0,24 mmol, 1,1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle (64,1 mg, 0,15 mmol) après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 69 %

Rf = 0,29 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 115- 117 °C

IR (produit pur): 1242 (C-N); 1491 (N=C-Cl); 1519 (NO₂); 1688 (CHO).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,89 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-7); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 4,05 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-6); 6,71 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,11 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11); 7,42 (d, 2H, $J_{14-15} = 8,8 \text{ Hz}$, H-15); 8,19 (d, 2H, $J_{14-15} = 8,8 \text{ Hz}$, H-14); 9,67 (s, 1H, CHO).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,8 (C-7); 44,3 (C-6); 55,3 (OCH₃); 114,7 (C-10); 123,0 (C-8); 123,8 (C-14); 131,1 (C-15); 132,9 (C-12); 134,2 (C-11); 135,0, 136,9, 137,0 (C-2, C-4 et C-5); 148,4 (C-9); 159,9 (C-13); 184,2 (CHO).

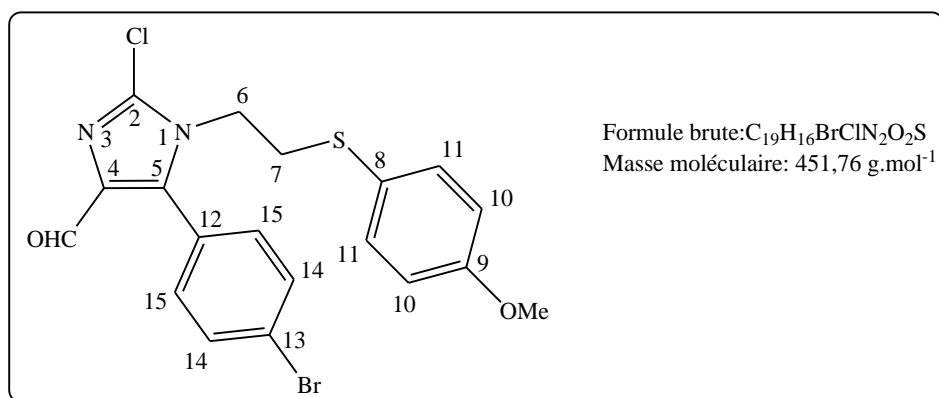
MS (ESI⁺) m/z: 418,0 [M+H]⁺; 440,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₁₉H₁₇ClN₃O₄S: 418,06228, trouvé: 418,06224;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₉H₁₆ClN₃NaO₄S: 440,04423, trouvé: 440,04422.

5-(4-Bromophényl)-2-chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (91)



La molécule **91** (34,4 mg, 0,076 mmol) est obtenue par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (80,0 mg, 0,24 mmol, 1 éq.) et l'acide 4-bromophényle boronique (53,0 mg, 0,27 mmol, 1,1 éq.) sous forme d'un solide jaune pâle après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 31 %

Rf = 0,43 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 120 – 122 °C

IR (produit pur): 1241 (C-N); 1482 (N=C-Cl); 1683 (CHO).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,88 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-7); 3,83 (s, 3H, OCH_3); 4,02 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-6); 6,77 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,6 \text{ Hz}$, H-10); 7,10 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,6 \text{ Hz}$, H-11); 7,12 (d, 2H, $J_{14-15} = 8,3 \text{ Hz}$, H-15); 7,54 (d, 2H, $J_{14-15} = 8,3 \text{ Hz}$, H-14); 9,62 (s, 1H, CHO).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,6 (C-7); 44,3 (C-6); 55,4 (OCH_3); 114,8 (C-10); 123,3 (C-8); 124,8, 125,3 (C-12 et C-13); 131,5 (C-15); 132,3 (C-14); 133,9 (C-11); 135,2, 136,9 (C-4 et C-5); 139,5 (C-2); 159,7 (C-9); 183,7 (CHO).

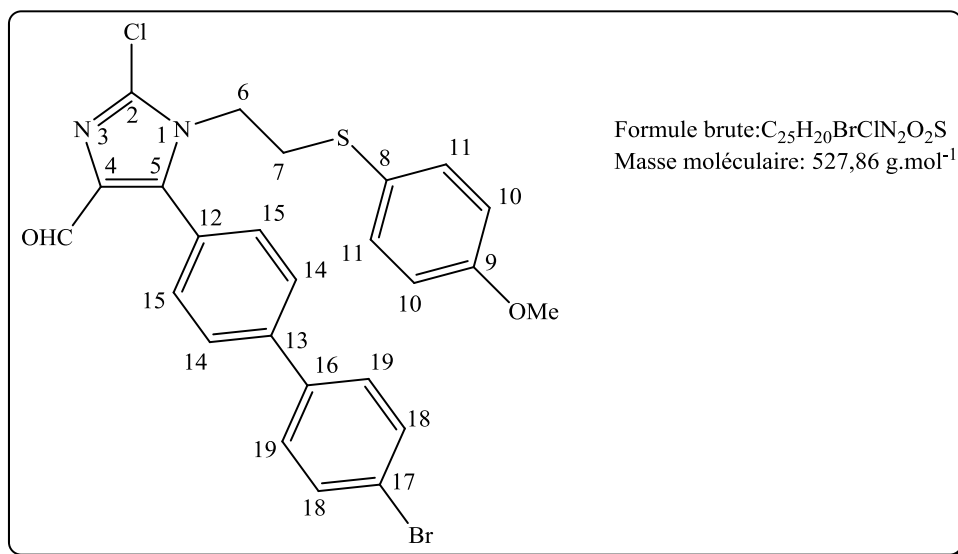
MS (ESI $^+$) m/z: 451,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 473,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI $^+$) m/z:

$[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $C_{19}H_{17}BrClN_2O_2S$: 450,98772, trouvé: 450,98781;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $C_{19}H_{16}BrClN_2NaO_2S$: 472,96966, trouvé: 472,96982.

5-(4-(4-Bromophényl)phényl)-2-chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (92)



Ce produit **92** (27,0 mg, 0,051 mmol) est un produit secondaire obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (80,0 mg, 0,24 mmol, 1 éq.) et l'acide 4-bromophényle boronique (53,0 mg, 0,27 mmol, 1,1 éq.) et isolé sous la forme d'un solide blanc après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 21 %

Rf = 0,43 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 97 – 100 °C

IR (produit pur): 1241 (C-N); 1476 (N=C-Cl); 1679 (CHO).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,94 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-7); 3,63 (s, 3H, OCH_3); 4,08 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-6); 6,70 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7 \text{ Hz}$, H-10); 7,14 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7 \text{ Hz}$, H-11); 7,50 (d, 2H, $J_{18-19} = 8,2 \text{ Hz}$, H-19); 7,59 (d, 2H, $J_{14-15} = 8,5 \text{ Hz}$, H-14); 7,63 (d, 2H, $J_{18-19} = 8,2 \text{ Hz}$, H-18); 7,68 (d, 2H, $J_{14-15} = 8,5 \text{ Hz}$, H-15); 9,65 (s, 1H, CHO).

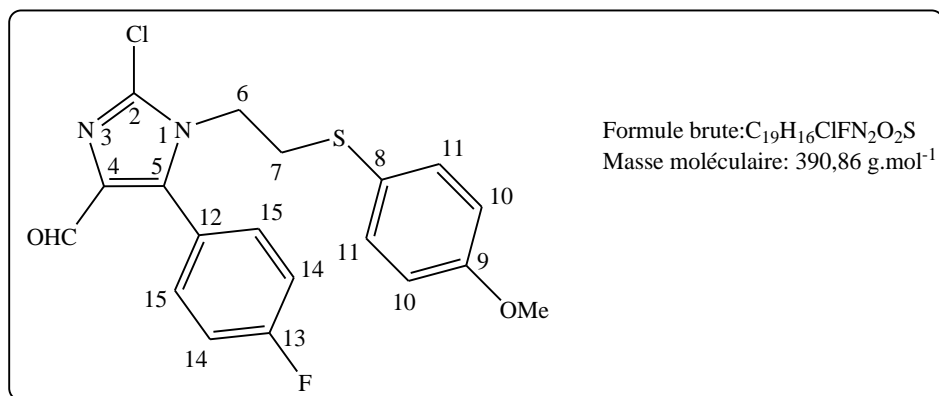
RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,7 (C-7); 44,4 (C-6); 55,2 (OCH_3); 114,7 (C-10); 122,5 (C-17); 123,5 (C-8); 125,5 (C-12); 127,3 (C-18); 128,7 (C-14); 130,6 (C-19); 132,2 (C-15); 134,1 (C-11); 135,3, 136,9 (C-4 et C-5); 138,5 (C-2); 140,9, 141,6 (C-13 et C-16); 159,6 (C-9); 183,7 (CHO).

MS (ESI+) m/z: 527,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 549,5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

$[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $C_{25}H_{20}BrClN_2O_2S$: 527,01902, trouvé: 527,01947;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $C_{25}H_{20}BrClN_2NaO_2S$: 549,00096, trouvé: 549,00157.

2-Chloro-5-(4-fluorophényl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (93)

Le composé **93** (58,6 mg, 0,15 mmol) est obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (79,0 mg, 0,24 mmol, 1 éq.) et l'acide 4-fluorophényle boronique (37,0 mg, 0,26 mmol, 1,1 éq.) et isolé sous la forme d'un solide blanc après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 63 %

Rf = 0,39 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 116 – 118 °C

IR (produit pur): 1238 (C-N); 1477 (N=C-Cl); 1668 (CHO).

RMN ¹H (400 MHz, $CDCl_3$): 2,87 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,02 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-6); 6,76 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,07-7,14 (m, 4H, H-11 et H-14); 7,23-7,26 (m, 2H, H-15); 9,59 (s, 1H, CHO).

RMN ¹³C (400 MHz, $CDCl_3$): 34,6 (C-7); 44,2 (C-6); 55,2 (OCH_3); 114,7 (C-10); 116,2 (d, $J = 0,22 \text{ Hz}$, C-14); 122,2 (d, $J = 0,03 \text{ Hz}$, C-12); 123,2 (C-8); 132,0 (d, $J = 0,08 \text{ Hz}$, C-15); 134,1 (C-11); 135,1, 136,8 (C-4 et C-5); 139,9 (C-2); 159,7 (C-9); 163,6 (d, $J = 2,5 \text{ Hz}$, C-13); 183,5 (CHO).

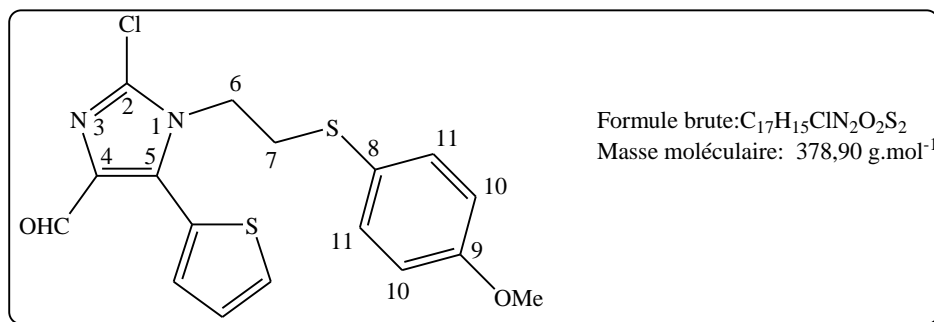
MS (ESI+) m/z: 391,0 $[M+H]^+$; 413,0 $[M+Na]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

$[M+H]^+$ calculé pour $C_{19}H_{17}ClFN_2O_2S$: 391,06778, trouvé: 391,06833;

$[M+Na]^+$ calculé pour $C_{19}H_{16}ClFN_2NaO_2S$: 413,04973 trouvé: 413,05017.

2-Chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-5-(thiophène-2-yl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (94)



Le composé **94** (37,1 mg, 0,10 mmol) est obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (80,0 mg, 0,24 mmol, 1 éq.) et l'acide 2-thiophène boronique (34,0 mg, 0,27 mmol, 1,1 éq.) et isolé sous la forme d'un solide jaune après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 40 %

Rf = 0,48 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 90 – 92 °C

IR (produit pur): 1240 (C-N); 1492 (N=C-Cl); 1685 (CHO).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): 2,98 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-7); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,13 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-6); 6,80 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-10); 7,11-7,13 (m, 2H, CH thiophène); 7,24 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,8 \text{ Hz}$, H-11); 7,53-7,54 (m, 1H, CH thiophène); 9,68 (s, 1H, CHO).

RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3): 34,8 (C-7); 44,8 (C-6); 55,4 (OCH_3); 114,8 (C-10); 123,5 (C-8); 125,2 (Cq thiophène); 127,8, 129,7, 131,5 (CH thiophène); 134,3 (C-11); 134,4, 136,0 (C-4 et C-5); 138,1 (C-2); 159,7 (C-9); 183,1 (CHO).

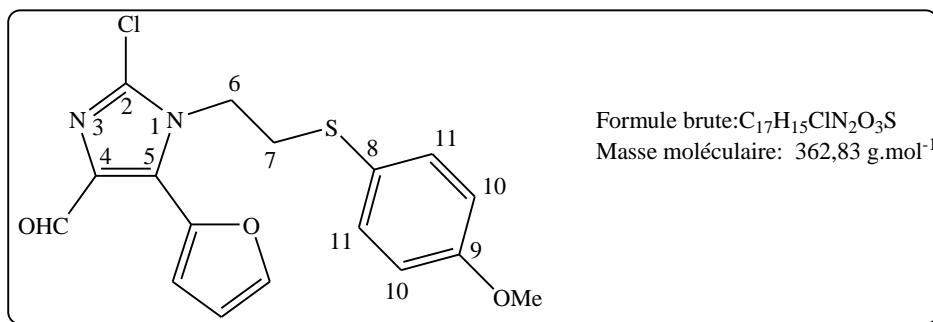
MS (ESI+) m/z: 379,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 401,0 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 417,0 $[\text{M}+\text{K}]^+$.

HRMS (ESI+) m/z:

$[\text{M}+\text{H}]^+$ calculé pour $C_{17}H_{15}ClN_2O_2S_2$: 379,03362, trouvé: 379,03375;

$[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculé pour $C_{17}H_{15}ClN_2NaO_2S_2$: 401,01557, trouvé: 401,01568.

2-Chloro-5-(furan-2-yl)-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (95)



Le composé **95** (29,0 mg, 0,08 mmol) est obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (80,0 mg, 0,24 mmol, 1 éq.) et l'acide 2-furane boronique (30,0 mg, 0,27 mmol, 1,1 éq.) et isolé sous la forme d'une huile jaune après chromatographie sur gel de silice (7 EP / 3 AcOEt).

Rendement: 33 %

R_f = 0,47 (1 EP / 1 AcOEt)

IR (produit pur): 1238 (C-N); 1492 (N=C-Cl); 1680 (CHO).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,07 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-7); 3,82 (s, 3H, OCH₃); 4,34 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-6); 6,51-6,52 (m, 1H, CH furan); 7,86 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,6 \text{ Hz}$, H-10); 7,18 (s, 1H, CH furan); 7,34-7,38 (m, 3H, H-11 et CH furan); 9,82 (s, 1H, CHO).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,8 (C-7); 46,3 (C-6); 55,4 (OCH₃); 111,9 (CH furan); 114,8 (C-10); 115,2 (CH furan); 123,8 (C-8); 129,6 (C_q furan); 134,5 (C-11); 135,5, 136,1 (C-4 et C-5); 140,9 (C-2); 144,2 (CH furan); 159,7 (C-9); 183,9 (CHO).

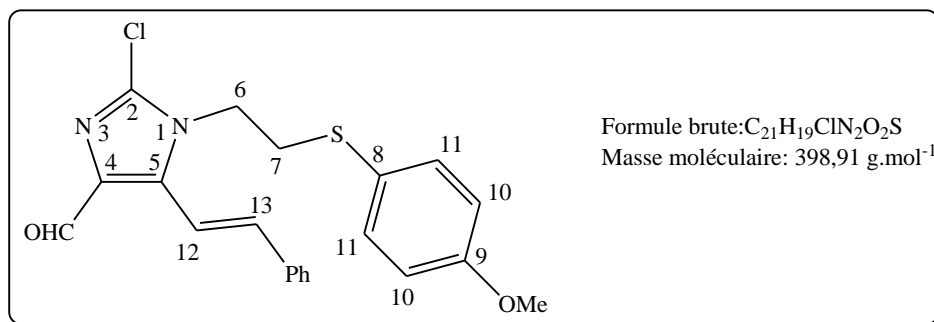
MS (ESI⁺) m/z: 363,0 [M+H]⁺; 385,0 [M+Na]⁺; 401,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₁₇H₁₆ClN₂O₃S: 463,05647, trouvé: 363,05670;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₇H₁₅ClN₂NaO₃S: 385,03841, trouvé: 385,03856.

2-Chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-5-styryl-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (96)



Le composé **96** (53,2 mg, 0,13 mmol) est obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (80,0 mg, 0,24 mmol, 1 équ.) et l'acide trans-2-phénylvinyle boronique (39,0 mg, 0,27 mmol, 1,1 équ.) et isolé sous la forme d'une huile jaune après chromatographie sur gel de silice: 8 EP / 2 AcOEt.

Rendement: 55 %

R_f = 0,52 (1 EP / 1 AcOEt)

IR (produit pur): 1244 (C-N); 1492 (N=C-Cl); 1676 (CHO).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 3,09 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8 \text{ Hz}$, H-7); 3,76 (s, 3H, OCH₃); 4,19 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,9 \text{ Hz}$, H-6); 6,71 (d, $J_{12-13} = 16,3 \text{ Hz}$, H-12); 6,81 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7 \text{ Hz}$, H-10); 7,33-7,36 (m, 7H, H-11 et H-Ph); 7,62 (d, $J_{12-13} = 16,3 \text{ Hz}$, H-13); 9,58 (s, 1H, CHO).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,4 (C-7); 44,7 (C-6); 55,3 (OCH₃); 111,6 (C-12); 115,0 (C-10); 123,5 (C-8); 127,2, 128,8, 129,3 (CH, Ph); 134,1 (C-11); 134,4 (Cq, Ph); 135,6, 136,7 (C-4 et C-5); 137,6 (C-2); 138,4 (C-13); 159,7 (C-9); 184,8 (CHO).

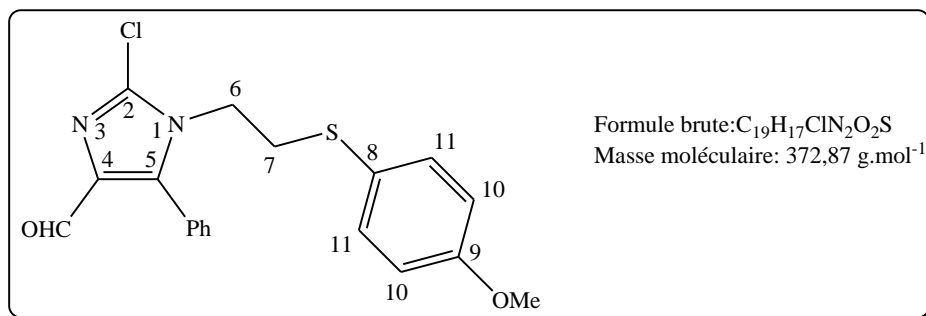
MS (ESI⁺) m/z: 399,0 [M+H]⁺; 421,0 [M+Na]⁺; 437,0 [M+K]⁺.

HRMS (ESI⁺) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₂₁H₂₀ClN₂O₂S: 399,09285, trouvé: 399,09321;

[M+Na]⁺ calculé pour C₂₁H₁₉ClN₂NaO₂S: 421,07480, trouvé: 421,07510.

2-Chloro-1-(2-(4-méthoxyphénylsulfanyl)éthyl)-5-phényl-1H-imidazole-4-carbaldéhyde (97)



Le composé **97** (44,4 mg, 0,12 mmol) est obtenu par couplage de Suzuki entre l'imidazole **71** (56,0 mg, 0,17 mmol, 1 éq.) et l'acide phényle boronique (23,0 mg, 0,19 mmol, 1,1 éq.) et isolé sous la forme d'une huile jaune après chromatographie sur gel de silice: 7 EP / 3 AcOEt.

Rendement: 70 %

Rf = 0,46 (1 EP / 1 AcOEt)

Pf = 108 – 110 °C

IR (produit pur): 1243 (C-N); 1488 (N=C-Cl); 1685 (CHO).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 2,89 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8$ Hz, H-7); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 4,05 (t, 2H, $J_{6-7} = 7,8$ Hz, H-6); 6,74 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7$ Hz, H-10); 7,12 (d, 2H, $J_{10-11} = 8,7$ Hz, H-11); 7,26-7,28 (m, 2H, H-Ph); 7,42-7,53 (m, 3H, H-Ph); 9,58 (s, 1H, CHO).

RMN ¹³C (400 MHz, CDCl₃): 34,6 (C-7); 44,3 (C-6); 55,3 (OCH₃); 114,7 (C-10); 123,5 (C-8); 126,2 (Cq, Ph); 129,0, 130,0, 130,2 (CH, Ph); 133,9 (C-11); 135,2, 136,9 (C-4 et C-5); 141,9 (C-2); 159,5 (C-9); 183,3 (CHO).

MS (ESI+) m/z: 373,0 [M+H]⁺; 395,0 [M+Na]⁺.

HRMS (ESI+) m/z:

[M+H]⁺ calculé pour C₁₉H₁₈ClN₂O₂S: 373,07720, trouvé: 373,07734;

[M+Na]⁺ calculé pour C₁₉H₁₇ClN₂NaO₂S: 395,05915, trouvé: 395,05940.

Tests biologiques:
Matériel et méthodes

Dans un premier temps, les molécules ont été mises en solution dans le DMSO à une concentration de 100mM.

Pour chaque molécule, une solution diluée à 10mM a ensuite été réalisée dans le DMSO, les thiohydantoïnes n'étant pas soluble dans l'eau.

Le pH de chaque solution a été vérifié et se situe entre 5 et 6 ce qui est tout à fait compatible avec nos expériences.

I- Recherche de ligands du site ATP des NMPK

I-1 Etude conformationnelle en dichroïsme circulaire

Le dichroïsme circulaire (CD) est une spectroscopie d'absorption dans l'UV proche et lointain qui donne des informations sur la structure des macromolécules biologiques en solution. Un échantillon possédant un chromophore chiral ou placé dans un environnement asymétrique, absorbe différemment une onde polarisée circulaire gauche et une onde polarisée circulaire droite (Figure 65). Le spectre dichroïque correspond à la différence d'absorbance entre ces deux types de lumière, pour chaque longueur d'onde. On peut la formaliser par:

$$\Delta A = \Delta \epsilon \times l \times C$$

$\Delta A = A_G - A_D$ est la différence d'absorbance

$\Delta \epsilon$ est la valeur de la différence des coefficients d'extinction molaire droite et gauche et est caractéristique de l'échantillon

l est la longueur du trajet optique et C la concentration du composé analysé

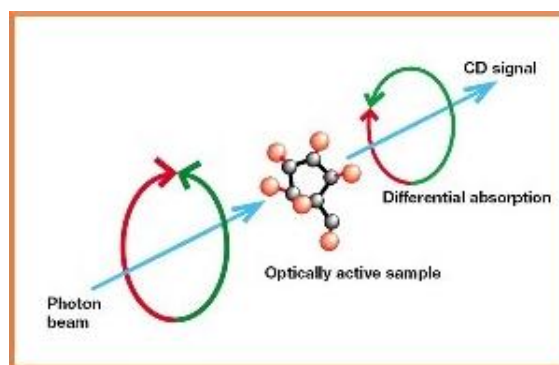


Figure 65: Principe du dichroïsme circulaire: mesure de la différence d'absorbance d'une onde polarisée circulairement droite ou gauche

L'évaluation de la structure secondaire est la principale utilisation du DC dans l'étude des protéines. La mesure du dichroïsme circulaire dans l'UV lointain (180-260 nm, zone d'absorption de la liaison peptidique) contient des informations sur leur structure secondaire (hélices α , feuillets β , tours et structures désordonnées). Le chromophore dans ce cas est le groupement amide de la liaison peptidique. Il est placé entre deux carbones asymétriques: les carbones α des deux acides aminés voisins. Les groupements peptidiques (ou plans

peptidiques) sont orientés suivant des angles ϕ et ψ caractéristiques des différents types de structures secondaires. L'allure des spectres de DC varie donc suivant le type de repliement en hélice α , feuillet β , coude et aperiodique (random) (Figure 66). Des méthodes de « déconvolution » des spectres de DC permettent de quantifier ces différents éléments de structure secondaire.

Les signaux dichroïques dans l'UV proche (250-330 nm, zone d'absorption des acides aminés aromatiques) fournissent des informations sur l'environnement de ces acides aminés aromatiques. Cette technique permet aussi l'étude de l'effet de l'environnement sur la structure d'une molécule (pH, dénaturation par les détergents, température, effet de ligand, interactions moléculaires..).

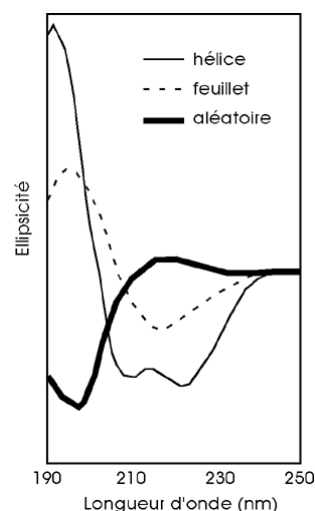


Figure 66: Spectres caractéristiques des différents types de structures rencontrées chez les peptides

Les spectres de dichroïsme circulaire ont été enregistrés entre 190 et 340 nm tous les 0,5nm sur un spectropolarimètre Jobin-Yvon Mark VI piloté par le logiciel CDMAX. Les cuves utilisées sont en quartz et ont un trajet optique de 0,1cm. Les solutions (230 μ L) ont été préparées dans un tampon Tris-HCl 1mM pH=7,5 où la concentration de l'enzyme est de 5 μ M et celle du ligand de 500 μ M.

Les spectres obtenus ont été traités à l'aide d'un logiciel de déconvolution. Le signal du tampon (Tris-HCl 1mM pH=7,5) est soustrait, le spectre est alors lissé et converti en $\Delta\epsilon$ ($M^{-1}.cm^{-1}$) par résidu. Le pourcentage d'hélice α de l'enzyme peut être obtenu en multipliant par -10 l'intensité de la bande à 222 nm.

I-2 Test fluorimétrique de compétition utilisant la sonde Mant-ATP

Un test fluorimétrique avec le Mant-ATP (3'-O-(N-méthylanthraniloyle) ATP) (Figure 67) a été utilisé pour étudier l'interaction entre le site ATP des NMP kinases et des ligands.

Le Mant-ATP (Jena Biosciences™) est un analogue d'ATP portant le fluorophore sur le 3'OH du ribose et utilisé comme marqueur du site donneur.

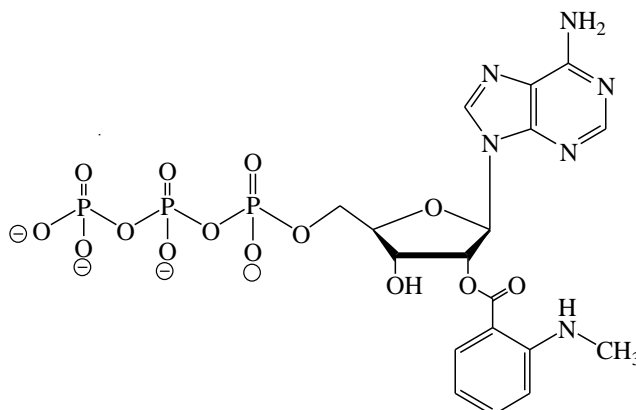


Figure 67: Structure du Mant-ATP

Le spectre d'émission du Mant-ATP a été mesuré dans le tampon suivant: 50 mM Tris HCl pH 7,5, 5 mM MgCl₂, 50 mM KCl et 5% glycérol et présente un maximum à 460 nm après excitation à 340 nm.

Les mesures ont été réalisées dans les conditions suivantes précédemment mise au point:

- Mant-ATP: 2,5 μM
- Enzyme: 7,5 μM
- Composé testé: 2 mM

Chaque mesure a été réalisée dans 200 μL de tampon et répétée deux ou trois fois. La plaque noire 96 puits (COSTAR3915) est alors lue avec un lecteur spectrophotométrique (FLUOstar OPTIMA-BMG LABTECH).

Dans un premier temps, nous avons mesuré l'absorbance à 460 nm du Mant-ATP seul. L'addition de l'enzyme produit une exaltation de fluorescence due à la fixation du Mant-ATP sur le site ATP. Enfin l'addition d'un ligand, par exemple l'ADP, ramène le niveau de fluorescence à un niveau proche de celui du Mant-ATP seul, ce qui montre la spécificité de fixation du Mant-ATP au site donneur de l'enzyme. La mesure de l'absorbance permet alors de déterminer le pourcentage de déplacement du Mant-ATP par le ligand.

I-3 Modélisation des 2-thiohydantoïnes dans les sites actifs des NMPK

Les dérivés de 2-thiohydantoïne ont été dessinés en utilisant le logiciel ChemDraw. Ces structures 2D ont été converties en fichier mol, ainsi les liaisons chimiques et les hybridations des atomes ont pu être vérifiées avec le logiciel ArgusLab (<http://www.arguslab.com/arguslab40.htm>) et les molécules visualisées en 3D avec le logiciel PyMOL. Le docking des molécules au sein du site ATP des diverses NMPK a été réalisé à l'aide du logiciel ArgusLab en définissant à la fois le ligand et le site ATP au sein de

l'enzyme étudiée. La précision du docking a été mise en « high » et la modélisation a été effectuée en mode « flexible ligand » permettant la rotation autour des liaisons des différents groupements portés par le ligand. Les complexes obtenus ont été enregistrés en fichier pdb et visualisés avec PyMOL et le logiciel Molegro. Des figures représentant la molécule dans le site ATP de l'enzyme ont alors pu être générées.

II- Mesure des activités biologiques

II-1 Tests de cytotoxicité

II-1-a) Lignées et cultures cellulaires

Deux lignées cellulaires ont été utilisées pour les tests de cytotoxicité:

- des cellules HeLa (Henrietta Lack) qui est une lignée de cellule humaine du cancer du col de l'utérus immortalisée
- des cellules HEK-293 (Human Embryonic Kidney)

Ces deux souches sont cultivées de la même manière dans le milieu DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, Invitrogen) complet (DMEM complété avec 10% de sérum de veau fœtal, de la pénicilline (100 µg/mL) et de la streptomycine (100 µg/mL).

Pour cela 1 mL de cellules, conservées à -80°C en présence de DMSO dans du sérum de veau fœtal est doucement réchauffé puis dilué dans 9 mL de DMEM complet. Les cellules homogénéisées par aspiration-refoulement sont centrifugées pendant 5 minutes à 200 g et le surnageant, contenant le DMSO, est éliminé. Le culot cellulaire est suspendu dans 10 mL de DMEM complet puis transféré dans une flasque de culture dans laquelle sont ajoutés également 10 mL de DMEM complet. La flasque est ensuite mise à incuber à 37 °C sous atmosphère humide avec 5% de CO₂.

Lorsque les cellules arrivent à confluence, elles sont repiquées pour maintenir la lignée cellulaire. Pour cela, le milieu est d'abord retiré et le tapis cellulaire est lavé avec du tampon PBS (phosphate buffer salin: 150 mM NaCl, 100 mM PO₄, pH = 7,0). Les cellules sont décollées de la paroi de la flasque par action de la trypsine + EDTA (0,05% dans du DMEM) ; elles peuvent être récoltées et transférées dans une nouvelle flasque avec du DMEM complet frais après comptage sur cellule de Malassez. Une flasque est ensemencée avec environ 10⁶ cellules dans 20 mL de milieu. La nouvelle flasque est ensuite incubée dans les mêmes conditions que précédemment.

Pour conserver les cellules, des cellules arrivées à confluence sont récupérées par la méthode précédente. Celles-ci sont alors centrifugées à 200 g pendant 10 minutes à 4 °C. Le culot cellulaire est ensuite suspendu dans 6 mL de sérum de veau fœtal froid additionné

de DMSO (10% v/v). Cette suspension est répartie dans des tubes stériles par fraction de 1mL et les tubes sont stockés à -80 °C.

II-1-b) Test XTT

- **Principe**

Le test XTT est un moyen de déterminer la cytotoxicité d'une molécule sur une lignée de cellules cancéreuses HeLa ou HEK-293 par mesure de l'absorbance du révélateur XTT à 485 nm.

En effet, seules les mitochondries des cellules vivantes sont capables de réduire le sel de tétrazolium XTT (2,3-bis(2-méthoxy-4-nitro-5-sulfo-phenyl)-2H-tétrazolium-5-carboxanilide) en formazan qui est un composé orange (Schéma 124) dont l'intensité colorimétrique peut être mesurée. Celle-ci est donc directement proportionnelle au nombre de cellules vivantes.

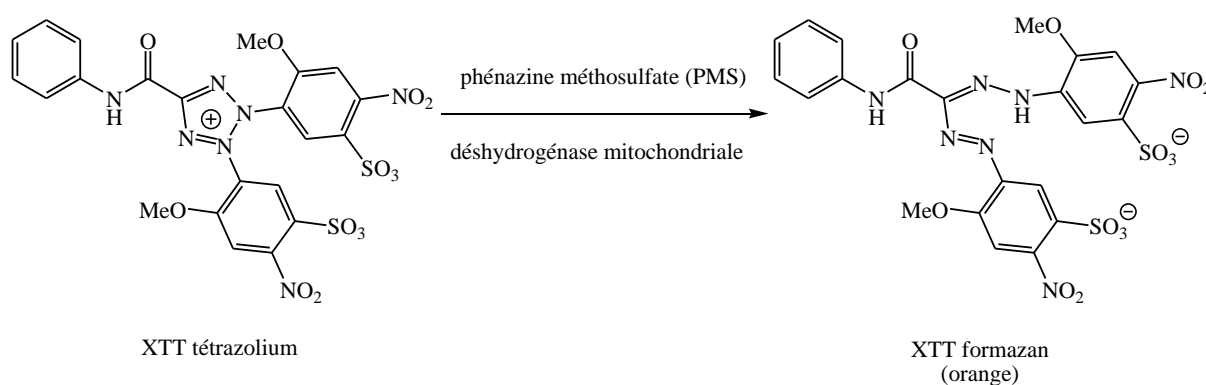


Schéma 124: Réduction du XTT par les déshydrogénases mitochondriales

- **Comptage des cellules et culture sur plaque 96 puits**

Dans un premier temps, les cellules utilisées à confluence doivent être comptées à l'aide d'une plaque de Malassez. Le nombre de cellules présentes dans 1 µL de solution mère est ainsi déterminé, la dilution est ensuite réalisée de manière à obtenir une concentration de 50 cellules par µL. La suspension de cellules (50 cellules/µL) estensemencée dans une plaque 96 puits (COSTAR 3596), 100 µL par puits (5000 cellules). Les cellules sont incubées à l'étuve à 37°C dans un milieu DMEM contenant 10% de sérum de veau fœtal durant 20 heures.

- **Dépôt des inhibiteurs**

Au bout de 20 heures de culture, les inhibiteurs sont déposés sur la plaque à la concentration souhaitée, trois répétitions étant nécessaires pour chaque molécule. Pour les témoins, trois puits sont remplis avec uniquement du DMSO.

La plaque est laissée 48 heures en incubation à l'étuve à 37 °C.

- **Dépôt de l'XTT**

Après 48 heures d'incubation, la plaque peut être révélée avec l'XTT. Pour cela, une solution de milieu de culture sans rouge phénol (DMEM-F12) contenant 0,3 mg/mL d'XTT et 8,3 µM de phénazine métosulfate (PMS) est préparée.

Le milieu de culture contenant du rouge phénol est alors remplacé par le mélange DMEM F12-XTT-PMS. Les cellules sont incubées 3 heures à l'étuve à 37 °C, temps nécessaire à la réduction du XTT par les déshydrogénases mitochondriales fonctionnelles faisant apparaître une coloration jaune orangée.

- **Lecture de la plaque**

La plaque est lue après trois heures à l'étuve, la coloration devant normalement être suffisante. La lecture d'absorbance a été réalisée avec un lecteur spectrophotométrique (FLUOstar OPTIMA-BMG LABTECH) à la DO 485 nm.

Pour chaque puits nous avons alors pu déterminer le pourcentage de survie cellulaire après correction de la mesure (XTT seul) et calcul du rapport au témoin (DMSO moins l'XTT seul). La molécule est considérée comme cytotoxique quand le pourcentage de survie cellulaire est inférieur à 50%.

- **Détermination de l'EC₅₀**

Les courbes d'évolution du pourcentage de cellules vivantes en fonction de la concentration d'inhibiteurs ont ainsi été obtenues. Elles sont ajustées à l'équation 1 afin d'obtenir la valeur du paramètre EC₅₀, la concentration d'inhibiteur permettant 50% de survie cellulaire.

$$\% \text{ Survie cellulaire} = 100 - (E_{\max} \times C^n) / (C^n + EC_{50}^n) \text{ (éq. 1)}$$

E est la mort cellulaire (%), E_{max} est le maximum de mort cellulaire (%)

C est la concentration en inhibiteurs

II-2- Tests antimicrobiens

II-2-a) Souches et cultures bactériennes

L'activité antibactérienne des molécules a été évaluée sur des souches de bactéries Gram-positif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et Gram-négatif (*Escherichia coli* ATCC 25922).

Les bactéries utilisées sont cultivées dans du milieu LB (Liura Broth : Bacto tryptone 10 g/L, extrait de levure 10 g/L, NaCl 5 g/L, pH = 7,2). Elles sont conservées à -80 °C dans 30% de glycérol. Une fois sorties du congélateur, les bactéries sont dispersées sur un milieu solide (LB + agar en boîte de pétri) à l'aide d'une baguette stérile. Elles sont ensuite incubées toute la nuit à 37°C jusqu'à apparition de colonies distinctes.

II-2-b) Tests antimicrobiens

Une colonie isolée à partir d'une boîte de Pétri LB-agar préalablementensemencée, est mise en culture dans 4 mL de milieu LB. Après incubation pendant 2-3 heures, sous agitation (250 rpm) à 37 °C le milieu de la culture en phase exponentielle de croissance est remplacé après centrifugation 1000 g / 10 min par du milieu Mueller Hinton. La culture bactérienne est ensuite diluée (toujours dans le milieu Mueller Hinton) afin d'obtenir une concentration de 10⁶ cfu/mL (colony forming unit/mL) correspondant à une DO 630 nm d'environ 0,005.

La suspension bactérienne (10⁶ cfu/mL) est incubée avec deux concentrations de molécule (50 et 100 µM) dans des plaques 96 puits stériles (volume final = 100 µL).

Les témoins positifs (100 % d'inhibition de croissance) et négatif (100 % de croissance bactérienne) sont obtenus en remplaçant la molécule par du formaldéhyde 0,7% (concentration finale) et de l'eau stérile, respectivement. Tous les tests sont réalisés en triplet. Après incubation de la plaque 18 heures à 37 °C et sous agitation (150 rpm), l'inhibition de la croissance bactérienne est mesurée en déterminant la DO 630 nm (turbidité de la solution) à l'aide d'un lecteur spectrophotométrique (Asys Hitech UVM 340).

La CMI (concentration minimale inhibitrice), qui est définie comme étant la plus faible concentration de molécules inhibant toute croissance bactérienne, est finalement déterminée.

III- Tests d'inhibition sur le protéasome

III-1 Tests in vitro: mesure des activités enzymatiques, méthodes spectrales (fluorescence et spectrométrie)

Les activités enzymatiques ont été mesurées grâce au spectrofluorimètre lecteur de plaque multipuits BMG Fluostar piloté par Optima et équipé d'un dispositif thermostation par effet Pelletier.

Le pH des tampons a été mesuré à l'aide d'un pH mètre Hanna, pH213 microprocessor pH-meter équipé d'une électrode de type B.

Les tests ont été réalisés sur du protéasome 20S d'humain purifié provenant de Boston Biochem. Il est utilisé avec une concentration finale de 0,3 nM.

L'enzyme est incubée avec 1 μ L d'inhibiteur ou de DMSO pendant 15 min, dans le tampon correspondant (Tableau 29) dans un volume total de 100 μ L à 37 °C. La réaction est déclenchée par l'ajout du substrat et suivie pendant 45 min. La libération des groupes fluorescents (AMC (Amino Methyl Coumarine), β NA) est détectée en utilisant les longueurs d'ondes suivantes : $\lambda_{\text{ex}} = 360$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 460$ nm (AMC) ; $\lambda_{\text{ex}} = 340$ nm, $\lambda_{\text{em}} = 405$ nm (β NA).

Activité	Substrat	Tampon
CT-L	Suc-LLVY-AMC	Tris-HCl 20 mM, pH 8 Glycérol 10%
PA	Z-LLE- β NA	SDS 0,01% DMSO 3%
T-L	Boc-LRR-AMC	Tris-HCl 20 mM, pH 8 Glycérol 10% DMSO 3%

Tableau 29: Conditions de mesures des activités peptidasiques des différentes catégories de protéasome 20S.

Les vitesses initiales V_i d'hydrolyse de substrats fluorescents par le protéasome 20S humain sont calculées par le spectrofluorimètre (BMG Fluostar) à partir des cinétiques d'hydrolyse des substrats suivies pendant 45 min. On mesure au moins deux fois chaque vitesse initiale (erreur standard < 7%).

Les activités CT-L et PA du protéasome 20S d'humain sont mesurées en présence de SDS 0,01%, le dodécylsulfate de sodium (SDS) est couramment utilisé pour activer le protéasome 20S. En ce qui concerne l'activité T-L le SDS ne peut être utilisé car il précipite en présence de l'arginine du substrat Boc-LRR-AMC. En se plaçant à pH 8, on arrive tout de même à avoir une bonne activité.

III-2 Détermination de l'IC₅₀ et du mécanisme d'inhibition

L'évolution de l'effet inhibiteur du composé étudié (en %) en fonction de sa concentration suit généralement l'équation 2 (hyperbole-Michaelis-Menten):

$$\% \text{ Inhibition} = 100 \times [I] / (IC_{50} + [I]) \text{ (éq. 2)}$$

où [I] est la concentration d'inhibiteur, le paramètre IC₅₀ correspond à la concentration d'inhibiteur conduisant à 50% d'inhibition.

Lorsque l'inhibition est coopérative, les points expérimentaux s'ajustent à la courbe décrite par l'équation 3 (sigmoïde) :

$$\% \text{ Inhibition} = 100 \times [I]^{n_H} / (IC_{50}^{n_H} + [I]^{n_H}) \text{ (éq. 3)}$$

où n_H est le nombre de Hill

Le K_i a été mesuré pour l'activité inhibée par la molécule, trois concentrations d'inhibiteurs et quatre concentrations de substrats sont utilisées. Le mécanisme est obtenu grâce aux trois représentations: Michaelis-Menten, Eadie-Hofstee et Lineweaver-Burck.

Bibliographie

1. a) Weber, L. *Drug Discov. Today* **2004**, *1*, 261-267. b) Lehn, J.M.; Eliseev, A.V. *Sciences* **2001**, *291*, 2331-2332. c) Terrett, N.K.; Gardner, M.; Gordon, D.W.; Kobylecki R.J.; Steele, J. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8135-8173. d) Wilson, A.J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4011.
2. a) Lehn, J.M. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 2455-2463. b) Mamidyala, S.K.; Finn, M.G. *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 1252-1261.
3. Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
4. Huisgen, R. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 357-396.
5. Tornøe, C.W.; Christensen, C.; Meldal, M. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
6. Rostovstev, V.; Green L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
7. Kolb, H.C.; Sharpless, K.B. *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 1128-1137.
8. a) Manetsch, R.; Krasiński, A.; Radić, Z.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K.B.; Kolb, H.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12809-12818. b) Krasiński, A.; Radić, Z.; Manetsch, R.; Raushel, J.; Taylor, P.; Sharpless, K.B.; Kolb, H.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6686-6692. c) Lewis, W.G.; Green, L.G.; Grynszpan, F.; Radić, Z.; Carlier, P.L.; Taylor, P.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1053-1057.
9. a) Shi, B.; Greaney, M.F. *Chem. Commun.* **2005**, 886. b) Shi, B.; Stevenson, R.; Campopiano, D.J.; Greaney, M.F. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8459. c) Ladame, S.; Whitney, A.M.; Balasubramanian, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5736-5739.
10. a) Aucagne, V.; Lorin, C.; Tatibouët, A.; Rollin, P. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4349-4352. b) Chery, F.; Pillard, C.; Tatibouët, A.; De Lucchi, O.; Rollin, P. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 5141-5151.
11. Knowles, J.R. *Ann. Rev. Biochem.* **1980**, *49*, 877-919.
12. Arima, T.; Akiyoshi, H.; Fujii, S. *Cancer Res.* **1977**, *37*, 1593-1597.
13. Liou, J.-Y.; Dutschman, G.E.; Lam, W. et al. *Cancer Res.* **2002**, *62*, 1624-1631.
14. Cihlar, T.; Chen, M.S. *Mol. Pharm.* **1996**, *50*, 1502-1510.
15. Van Rompay, A.R.; Johansson, M.; Karlsson, A. *Mol. Pharm.* **1999**, *56*, 562-569.
16. Pasti, C.; Gallois-Montbrun, S.; Munier-Lehmann, H.; Véron, M.; Gilles, A.M.; Deville-Bonne, D. *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 1784-1790.
17. Girniene, J.; Apremont, G.; Tatibouët, A.; Sackus, A.; Rollin, P. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2609-2619.
18. a) Parang, K.; Cole, P.A. *Pharmacol. Ther.* **2002**, *93*, 145-157. b) Lavogina, D.; Enkvist, E.; Uri, A. *ChemMedChem* **2010**, *5*, 23-24. c) Uri, A.; Lust, M.; Vaasa, A.; Lavogina, D.; Viht, K.; Enkvist, E. *Biochim. Biophys. Acta* **2010**, *1804*, 541-546.
19. Fabbro, D. et al. *Pharmacol. Ther.* **2002**, *93*, 79-98.
20. a) Noronha, G. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 602-608. b) Miyazaki, Y.; Nakano, M.; Sato, H.; Truesdale, A.T.; Stuart, J.D.; Nartey, E.N.; Hightower, K.E.; Kane-Carson, L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 250-254. c) Noble, M.; Endicott, J.; Johnson, L. *Science*, **2004**, *303*, 1800-1805.

21. a) Jacquemard, U.; Routier, S.; Tatibouët, A.; Laine, W.; Bal, C.; Bailly, C.; Merour, J.Y. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1476-1483. b) Dias, N.; Jacquemard, U.; Baldeyrou, B.; Lansiaux, A.; Goossens, J.F.; Bailly, C.; Routier, S.; Mérou, J.Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1206-1213. c) Jacquemard, U.; Routier, S.; Dias, N.; Lansiaux, A.; Goossens, J.F.; Bailly, C.; Mérou, J-Y. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 1087-1095.
22. a) Alphonse, F.A.; Suzenet, F.; Keromnes, A.; Lebret, B.; Guillaumet, G. *Synthesis* **2004**, 2893-2899. b) Alphonse, F. A.; Suzenet, F.; Keromnes, A.; Lebret, B.; Guillaumet, G. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 803-805. c) Leconte, N.; Pellegatti, L.; Tatibouët, A.; Suzenet, F.; Rollin, P.; Guillaumet, G. *Synthesis* **2007**, 857-864.
23. a) Jung, M.E.; Ouk, S.; Yoo, D.; Sawyers, C.L.; Chen, C.; Tran, C.; Wongvipat, J. *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 2779-2796. b) Yoshino, H. and al. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 8150-8157.
24. Liu, Y.; Wu, J.; Ho, P-Y.; Chen, L-C.; Chen, C-T.; Liang, Y-C.; Cheng, C-K.; Lee, W.S. *Cancer Letters* **2008**, *271*, 294-305.
25. Ermoli, A. and al. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 4380-4390.
26. Ravindranathan, K.P.; Mandiyan, V.; Ekkati, A.R.; Bae, J.H.; Schlessinger, J.; Jorgensen, W.L. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 1662-1672.
27. Ware, E. *Chem. Rev.* **1950**, *46*, 403-470.
28. Liebermann, C.; Lange, A. *Ber.* **1879**, *12*, 1588-95.
29. Aschan, O. *Ber.* **1883**, *16*, 1544-1545.
30. Schlack, P.; Kumpf, W. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **1926**, *154*, 125.
31. Edman, P. *Acta Chem. Scand.* **1950**, *4*, 283-293.
32. a) Floch, L.; Oremus, V.; Kovac, M. *Molecules* **1999**, *4*, 279-286. b) Ding, M.W., Fu, B.Q., Yuan, J.Z. *Heteroat. Chem.* **2005**, *16*, 76-80. c) Yuan, J.Z.; Wei, J.J.; Ding, M.W. *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 2921-2925.
33. a) Bouzroua, S.; Hammal, L.; Nedjar-Kolli, B.; Balegroune, F.; Hamadène, M.; Poulain, S. *Synth. Comm.* **2007**, *38*, 448-455. b) Bentarzi, Y.; Nedjar-Kolli, B.; Plas, A.; Chalard, P.; Troin, Y. *Arkivoc* **2010**, *X*, 328-337.
34. a) Sun, Y.S.; Gao, L.P.; Ding, M.W. *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 1185-1191. b) Xiang, F.; Zhang, S.; Lu, C.; Chen, Z.; Yang, G. *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 953-960.
35. a) Gasch, C.; Salameh, B.A.B.; Pradera, M.A.; Fuentes, J. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 8615-8617. b) Fuentes, J.; Salameh, B.A.B.; Angeles Predera, M.; Fernandez de Cordoba, F.J.; Gasch, C. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 97-111. c) Gasch, C.; Illangua, J.M.; Merino-Montiel, P.; Fuentes, J. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 4149-4155.
36. a) Wang, Z.D.; Sheikh, S.O.; Zhang, Y. *Molecules* **2006**, *11*, 739-750.
37. Marton, J.; Enisz, J.; Hosztafi, S.; Timar, T. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 148-152.
38. Muccioli, G. G.; Poupaert, J. H.; Wouters, J.; Norberg, B.; Poppitz, W.; Scriba, G.K.E.; Lambert, D. M. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 1301-1307. b) Muccioli, G.G.; Fazio, N.; Scriba, G.K.E.; Poppitz, W.; Cannata, F.; Poupaert, J.H.; Wouters, J.; Lambert, D.M. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 417-425.
39. a) Biltz, H. *Ber.* **1907**, *40*, 4806-4826. b) Biltz, H. *Ber.* **1908**, *41*, 1379-1393.
40. a) Nefzi, A.; Giulianotti, M.A.; Houghten, R.A. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 2283-2287. b) Wang, X.J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 273-276.

41. a) Thanusu, J.; Kanagarajan, V.; Gopalakrishnan, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 713-717. b) Raghuvanshi, S.D.; Singh, K.N. *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements* **2010**, *185*, 2243-2248.
42. Somsák, L.; Nagy, V.; Docsa, T.; Tóth, B.; Gergely, P. *Tetrahedron: Asymmetry* **2000**, *11*, 405-408.
43. Lin, M.J.; Sun, C.M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 8739-8742.
44. Bhalay, G.; Cowell, D.; Hone, N.D.; Scobie, M.; Baxter, A.D. *Mol. Diversity* **1998**, *3*, 195-198.
45. a) Jones, C.D.; Andrews, D.M.; Barker, A.J.; Blades, K.; Daunt, P.; East, S.; Geh, C.; Graham, M.A.; Johnson, K.M.; Loddick, S.A.; McFarland, H.M.; McGregor, A.; Moss, L.; Rudge, D.A.; Simpson, P.B.; Swain, M.L.; Tam, K.Y.; Tucker, J.A.; Walker, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6369-6373. b) Jones, C.D.; Andrews, D.M.; Barker, A.J.; Blades, K.; Byth, K.F.; Finlay, R.V.; Geh, C.; Green, C.P.; Johannsen, M.; Walker, M.; Weir, H.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 6486-6489.
46. Dean, D.K.; Takle, A.K.; Wilson, D.M. **2007**, patent 7199137.
47. a) Adam, J.L. and al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2867-2870. b) Laufer, S.; Hauser, D.; Stegmiller, D.; Bracht, C.; Ruff, K.; Schattel, V.; Albrecht, W.; Koch, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6671-6675.
48. a) Duggan, B.M.; Laslett, R.L.; Wilshire J.F.K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 541-550. (b) Casagranda, F.; Duggan, B.M.; Kirkpatrick, A.; Laslett, R.L.; Wilshire J.F.K. *Aust. J. Chem.* **1996**, *49*, 551-560. c) Liu, Y.; Liang, S. *J. Protein Chem.* **2001**, *20*, 535-541.
49. Reyes, S.; Burgess, K. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2507-2509.
50. a) Johnson, T.B.; Nicolet, B.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1911**, *33*, 1973-1978. b) Johnson, T.B.; Scott, W.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1913**, *36*, 1130-1136.
51. a) Thielemann, H.Z. *Chem.* **1978**, *18*, 174. b) Villemin, D.; Ricard, M. *Synth. Commun.* **1987**, *17*, 283-289. c) Marton, J.; Enisz, J.; Hosztafi, S.; Timar, T. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 148-152. d) Wyzlic, I.M. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 4541-4547. d) Davis, R. A.; Aalbersberg, W.; Meo, S.; Moreira da Rocha, R.; Irelan, C. M. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3263-3269.
52. Sungwon, L. and Rosazza, J.P.N. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 365-368.
53. Chih-Ming Yeh and Chung-Ming Sun *Tetrahedron. Lett.* **1999**, *40*, 7247-7250.
54. Mémoire présenté par Cathy Préville UQAM **2007**.
55. Kruger, H.G.; Mdluli, P.S. *Struct. Chem.* **2006**, *17*, 121-125.
56. a) Papeo, G.; Posterl, H.; Borghi, D.; Varasi, M. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5641-5644. b) Kumar, R.; Chauhan P. M. S. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5475-5479.
57. a) Markwald, W.; Neumark, M.; Stelzner, R. *Ber.* **1891**, *24*, 3278-3298. b) Bailey, J. R. *Am. Chem. J.* **1902**, *28*, 386-403. c) Bailey, J. R., Randolph, C. P. *Ber.* **1908**, *41*, 2494-505.
58. a) Muccioli, G.G.; Fazio, N.; Scriba, G.K.; Poppitz, W.; Cannata, F.; Poupaert, J.H.; Wouters, J.; Lambert, D.M. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 417-425. b) Shiozaki, M. *Carbohydrate Res.* **2001**, *335*, 147-150.
59. a) Gibson, C. L.; La Rosa, S.; Suckling, C. J. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1909-1918. b) Sato, M.; Kaneko, C.; Iwaoka, T.; Kobayashi, Y.; Iida, T. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 699-700.
60. Simao, A. C. *Thèse de doctorat* **2009**, Université d'Orléans.

61. Dvorak, A. C.; Rudolph, A. D.; Ma, S.; Carruthers, N. I. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4188-4190.
62. Ohe, T.; Miyaura, N.; Suzuki, A. *J. Org. Chem.* **1992**, *58*, 2201-2208.
63. Hamad Elgazwy, A.S.S.; Atta-Allha, S.R.; Keshk, S.M.A.S. *Monatsh Chem.* **2009**, *140*, 243-249.
64. Bergs, H. *German patent* **1929**, 566,094; *Chem. Abstr.* **1933**, *27*, 1001. Voir aussi ref. 25.
65. a) Bucherer, H.T.; Barsch, H. *J. Prakt. Chem.* **1934**, *140*, 151-171. b) Bucherer, H.T.; Brandt, W. *J. Prakt. Chem.* **1934**, *140*, 129-150. c) Bucherer, H.T.; Fishbeck, H. *J. Prakt. Chem.* **1934**, *140*, 69-89. c) Bucherer, H.T.; Lieb, V.A. *J. Prakt. Chem.* **1934**, *141*, 5-43. d) Bucherer, H.T.; Steiner, W. *J. Prakt. Chem.* **1934**, *140*, 291-316. Voir aussi ref. 27.
66. Gallienne, E.; Muccioli, G.G.; Lambert, D.M.; Shipman, M. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6495-6497.
67. Montagne, C.; Shipman, M. *Synlett* **2006**, 2203-2206.
68. a) Carrington, H.C. *British patent* **1939**, 512,629; *Chem. Abstr.* **1941**, *35*, 758. b) Cook, A. H.; Heilbron, I. M.; Levy, A.L. *J. Chem. Soc.* **1947**, 1598-1609. c) Chubb, F.L.; Edward, J.T. *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 2724-2728.
69. Carrington, H.C. *J. Chem. Soc.* **1947**, 681-683.
70. a) Pedersen, B.S.; Scheibye, S.; Nilson, N.H.; Lawesson, S.O. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1978**, *87*, 223-228. b) Thomsen, I.; Clausen, K.; Scheibye, S.; Lawesson, S.O. *Org. Synth.* **1984**, *62*, 158-163. c) Cherkasov, R.A.; Kutyrev, G.A.; Pudovik, A.N. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 2567-2624. d) Cava, M.P.; Levinson, M.I. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5061-5087.
71. a) Perova, T.V. *Khimiya Geterotsiklicheskikh Soedinenii* **1968**, *4*, 806-807. b) Sacripante, G.; Edward, J.T. *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 1982-1987. c) Marinov, M. et al. *Croat. Chem. Acta* **2005**, *78*, 9-16.
72. a) Wheeler, H.L.; Hoffman, C. *Am. Chem. J.* **1911**, *46*, 368-383. b) Wheeler, H.L.; Brautlecht, C. *Am. Chem. J.* **1911**, *46*, 446-451. c) Johnson, T.B.; Scorn, W.M. *J. Am. Chem. Soc.* **1915**, *37*, 1846-1856. Voir aussi réf. 25.
73. a) Unangst, P.C.; Connor, D.T.; Cetenko, W.A.; Sorenson, R.J.; Kostlan, C.R.; Sircar, J.C.; Wright, C.D.; Schrier, D.J.; Dyer, R.D. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 322-328. b) Khodair, A.I.; El-barbary, A.A.; Abbas, Y.A.; Imam, D.R. *Phosphorus, Sulfur and Silicon* **2001**, *170*, 261-278.
74. a) Chowdhry, M.M.; Mingos, M.P.; White, A.J.P.; Williams, D.J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 3495-3504. b) Rajamaki, S.; Innitzer, A.; Falciani, C.; Tintori, C.; Christ, F.; Witvrouw, M.; Debyser, Z.; Massa, S.; Botta, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 3615-3618.
75. Chérouvrier, J.R.; Boissel, J.; Carreaux, F.; Bazureau, J.P. *Green Chem.* **2001**, *3*, 165-169.
76. Kiec-Kononowicz, K.; Karolak-Wojciechowska, J.; Michalak, B.; Pękala, E.; Schumacher, B.; Mülleret, C.E. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, *39*, 205-218.
77. Lacova, M.; Gasparova, R.; Loos, D.; Liptay, T. et Pronayova, N. *Molecules* **2000**, *5*, 167-178. b) Aly, Y.L. *Phosphorus, Sulfur and Silicon* **2005**, *180*, 1-18.
78. a) Chérouvrier, J.R.; Carreaux, F. et Bazureau, J.P. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3581-3584. b) Debdab, M ; et al. *Heterocycles* **2009**, *78*, 1191-1203.
79. Nicolet, B.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1915**, *37*, 2763-2766.
80. Alberti, C.G.; Vercellone, A. *Ger. Pat.* **1958**, 1 038 050; *Chem. Abstr.* **1961**, *55*, 2689c.

- 81.** Thielemann, H. *Sci. Pharm.* **1971**, *39*, 8-15.
- 82.** Gregg, B.T.; Earley, W.G.; Golden, K.C.; Quinn, J.F.; Razzano, D.A.; Rennells W.M. *Synthesis* **2006**, *24*, 4200-4204.
- 83.** Jakse, R.; Kroselj, V.; Recnik, S.; Sorsak, G.; Svete, J.; Stanovnik, B.; Grdadolnik, S. G. *Z. Naturforsch.* **2002**, *57b*, 453-459.
- 84.** Ishizuka, T.; Katahira, T.; Seo, R.; Matsunaga, H.; Kunieda, T. *Tetrahedron Letters*, **2004**, *45*, 9327-9330
- 85.** Khodair, A.I.; Gesson, J.P.; El-Ashry, E.S.H. *Phosphorus, Sulfur and Silicon* **2004**, *179*, 2653-2665.
- 86.** Hakogi, T.; Yamaoto, T.; Fujii, S.; Ikeda, K.; Katsumura, S. *Tetrahedron Letters*, **2006**, *47*, 2627-2630.
- 87.** a) Postel, D.; Nguyen Van Nhien, A.; Villa, P.; Ronco, G. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1499-1502. b) Gasch, C.; Illangua, J.M.; Merino-Montiel, P.; Fuentes, J. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 4149-4155.
- 88.** a) Osz, E.; Somsak, L.; Szilagyi, L.; Kovacs, L.; Docsa, T.; Toth, B.; Gergely, P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 1385-1390. b) Somsak, L.; Kovacs, L.; Toth, M.; Osz, E.; Szilágyi, L.; Györgydeák, Z.; Dinya, Z.; Docsa, T.; Tóth, B.; Gergely, P. *J. Med. Chem.*, **2001**, *44*, 2843-2848.
- 89.** Renard, A.; Kotera, M.; Brochier, M.C.; Lhomme, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 1831-1840.
- 90.** Khodair, A.I.A.; El Ashry, E.S.H.; Al-Masoudi, N.A.L. *Monatsh. Chem.* **2004**, *135*, 1061-1079.
- 91.** a) Rodrigues, F.; Canac, Y.; Lubineau, A. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **2000**, 2049-2050. b) Riemann, I.; Padopoulos, M.A.; Knorst, M.; Fessner, W.D. *Aust. J. Chem.* **2002**, *55*, 147-154. c) Hersant, Y.; Abou-Jneid, R.; Canac, Y.; Lubineau, A.; Philippe, M.; Semeria, D.; Radisson, X.; Sherrmann, M-C. *Carbohydrate Res.* **2004**, *339*, 741-745.
- 92.** Cassel, S.; Debaig, C.; Benvegnu, T.; Chaimbault, P.; Lafosse, M.; Plusquellec, D.; Rollin, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 875-896.
- 93.** a) Egi, M.; Liebeskind, L.S. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 801-802. b) Alphonse, F.-A.; Suzenet, F.; Keromnes, A.; Lebret, B.; Guillaumet, G. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 803-805. c) Sun, Q.; Suzenet, F.; Guillaumet, G. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3473-3476.
- 94.** a) Silva, S.; Sylla, B.; Suzenet, F.; Tatibouët, A.; Reuter, A.P.; Rollin, P. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 853-856. b) Mehta, V.P.; Sharma, A.; Van der Eycken, E. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1147-1150.
- 95.** Liebeskind, L.S.; Srogl, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 11260-11261.
- 96.** Miyaura, N.; Yamada, K.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *20*, 3437-3440.
- 97.** Savarin, C.; Srogl, J.; Liebeskind, L.S. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 91-93.
- 98.** a) Liebeskind, L.S.; Srogl, J. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 979-981. b) Alphonse, F.A.; Suzenet, F.; Keromnes, A.; Lebret, B.; Guillaumet, G. *Synlett* **2002**, 447-450.
- 99.** Carrie L. Kusturin, C.L.; Liebeskind, L.S.; Neumann W.L. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 983-985.
- 100.** Zhang, Z.; Srogl, J. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4331-4333.
- 101.** a) Morita, A.; Kuwahara, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 1613-1616. b) Yang, H.; Liebeskind, L.S. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2993-2995.
- 102.** Lengar, A.; Kappe, C.O. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 771-774.

103. a) Prokopcova, H.; Kappe, C.O. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4440-4448. b) Arshad, N.; Hashim J.; Kappe C. O. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5118-5121.
104. Silva, S.; Tardy, S.; Routier, S.; Suzenet, F.; Tatibouët, A.; Rauter, A. P.; Rollin, P. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 5583-5586.
105. Villalobos, J.M.; Srogl, J.; Liebeskind, L.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15734-15735.
106. Oumouch, S.; Bourotte, M.; Schmitt, M.; Bourguignon, J.J. *Synthesis* **2005**, 25-27.
107. Gosling, S.; Rollin, P.; Tatibouët, A. *Synthesis* **2011**, *22*, 3649-3660.
108. a) Edman, P. *Acta Chem. Scand.* **1950**, *4*, 283-293. b) Edman, P.; Begg, G. *Eur. J. Biochem.* **1967**, *1*, 80-91.
109. Brautlecht, C.A. *J. Biol. Chem.* **1911**, *10*, 139-146.
110. Reith, W.S.; Waldron, N.M. *Biochem. J.* **1954**, *56*, 116-120.
111. Jullian, M.; Hernandez, A.; Maurras, A.; Puget, K.; Amblard, M.; Martinez, J.; Subra, G. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 260-263.
112. a) LeTiran, A.; Stables, J.P.; Kohn, H. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 2696-2708. b) Wolfe, D.M.; Schreiner, P.R. *Synthesis* **2002**, *13*, 2002-2008. c) Li, J.P.; Ma, C.H.; Qu, G.R. *Synth. Commun.* **2005**, *35*, 1203-1208. d) Lanman, B.A.; Overman L.E. *Heterocycles* **2006**, *70*, 557-570. e) Cernak, T. A.; Gleason, J.L. *Heterocycles* **2007**, *71*, 117-134. f) Yoshino, H. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 8150-8157.
113. a) Chérouvrier, J.R.; Carreaux, F.; Bazureau, J.P. *Molecules* **2004**, *9*, 867-875. b) Teng, X. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *15*, 5039-5044. c) Aguilar-Moncayo, M.; Ortiz-Mellet, C.; Garcia Fernandez, J.M.; Garcia-Moreno, M.I. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 3595-3598.
114. a) Takahashi, A.; Matsuoka, H.; Ozawa Y.; Uda, Y. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 5037. b) Takahashi, A.; Matsuoka, H.; Uda, Y. *Environ. Mutagen Res.* **2004**, *26*, 1-8.
115. Henichart, J. P.; Bernier J. L. *Synthesis* **1980**, 311-312.
116. Ma, C.M.; Li, J.P.; Zhen, P.Z. *Heterocycles* **2005**, *65*, 359-364.
117. a) Sim, M.M.; Ganesan, A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3230-3235. b) Yeh, W.B. et al. *Mol. Diversity* **2003**, *7*, 185-198. c) Renault, S.; Bertrand, S.; Carreaux, F.; Bazureau, J.P. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9*, 935-942.
118. Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635.
119. Fresneda, P.M.; Molina, P. *Synlett* **2004**, 1-17.
120. Palacios, F.; Alonso, C.; Aparicio, D.; Rubiales, G.; De Los Santos, J.M. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 523-575.
121. Molina, P.; Fresneda, P.M.; Almendros, P. *Tetrahedron. Lett.* **1992**, *33*, 4491-4494.
122. Cassel, S.; Debaig, C.; Benvegnu, T.; Chaimbault, P.; Lafosse, M.; Plusquellec, D.; Rollin, P. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 875-896.
123. Simao, A.C.; Lynikaite-Pukleviciene, B.; Rousseau, C.; Tatibouët, A.; Cassel, S.; Sackus, A.; Rauter, A.P.; Rollin, P. *Lett. Org. Chem.* **2006**, *3*, 744-748. b) Rousseau, J.; Rousseau C.; Lynikaite, B.; Sackus, A.; De Leon, C.; Rollin, P.; Tatibouët, A. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 8571.
124. J. Schleiss *PhD Thesis*, Université d'Orléans **2009**.
125. Conrad, P.C.; Kwiatkowski, P.L.; Fuchs, F.L. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 586-591.
126. Mi-Sun, P. et al. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2009**, *30*, 1187-1189

127. a) Ohe, T.; Miyaura, N.; Suzuki, A. *Synlett* **1990**, 221-223. b) Ishiyama, T.; Itoh, Y.; Kitano, T.; Miyaura, N. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3447-3450. c) Littke, A.F.; Dai, C.; Fu, G.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 4020-4028.
128. Occhiato, E.G.; Trabocchi, A.; Guarna, A. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 2459-2465.
129. Cakir, S.P.; Mead, K.T. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2451-2454. b) Yao, M.L.; Deng, M.Z. *Heteroatom. Chem.* **2000**, 11, 380-382.
130. Itoh, T.; Mase, T.; Nishikata, T.; Iyama, T.; Tachikawa, H.; Kobayashi, Y.; Yamamoto, Y.; Miyaura, N. *Tetrahedron* **2006**, 62, 9610-9621.
131. He, A.; Falck, J.R. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 2524-2525.
132. Patel, M. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 3217-3220.
133. D'Alessio, R.; Rossi, A. *Synlett* **1996**, 513-514.
134. Dvorak, C.A.; Rudolph, D.A.; Ma, S.; Carruther, N.I. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 4188-4190.
135. Littke, A.F.; Fu, G.C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 4176-4211.
136. Glasnov, T.N.; Stadlbauer, W.; Kappe, C.O. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 3864-3870.
137. a) Dai, Q.; Gao, W.; Liu, D.; Kapes, L.M.; Zhang, X. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 3928-3934. b) Song, C. et al. *Tetrahedron* **2005**, 61, 7438-7446. c) Alonso, D.A.; Civicos, J.F.; Najera, C. *Synlett* **2009**, 3011-3015.
138. Hesse, S.; Kirsch, G. *Synthesis* **2001**, 5, 755-758.
139. a) Littke, A.F.; Fu, G.C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 3387-3388. b) Dreher, S.D.; Lim, S.E.; Sandrock, D.L.; Molander, G.A. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3626-3631.
140. a) Ban, H.; Muraoka, M.; Ohashi, N. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6021-6023. b) Jung, J.Y.; Taher, A.; Hossain, S.; Jin, M.J. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, 31, 3010-3012.
141. Gonzalez-Bobes, F.; Fu, G.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 5360-5361.
142. Ghosez, L.; George-Koch, I.; Patini, L.; Houtekie, M.; Bovy, P.; Nshimyumukiza, P.; Phan, T. *Tetrahedron* **1998**, 54, 9207-9222.
143. a) Kubo, A.; Nakai, T. *Synthesis* **1980**, 365-366. b) Kubo, A.; Uchino, K. *Heterocycles* **1981**, 16, 1441-1443.
144. Ghani, E.A. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1991**, 64, 2032-2034.
145. a) Ife, R.J. et al. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 2763-2773. b) Bridges, A.J. et al. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 267-276.
146. Daninos-Zeghai, S.; AI Mourabit, A.; Ahond, A.; Poupat, C.; Potier, P. *Tetrahedron* **1997**, 53, 7605-7614.
147. O'Malley, D.P.; Li, K.; Maue, M.; Zografos, A.L.; Baran, P.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 4762-4775.
148. Cipres, A.; O'Malley, D.P.; Li, K.; Finlay, D.; Baran, P.S.; Vuori, K. *ACS Chem. Biol.* **2010**, 5, 95-202.
149. a) Sivappa, R.; Hernandez, N.M.; He, Y.; Lovely, C.J. *Org. Lett.* **2007**, 9, 3861-3864. b) Seiple, I.B.; Su, S.; Young, I.S.; Nakamura, A.; Yamaguchi, J.; Jørgensen, L.; Rodriguez, R.A.; O'Malley, D.P.; Gaich, T.; Köck, M.; Baran, P.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 14710-14726.
150. a) Xu, Y-Z.; Yakushijin, K.; Horne, D.A. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8121-8124. b) Andrade, P.; Willoughby, R.; Pomponi, S.A.; Kerr, R.G. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 4775-4778.

151. a) Xu, Y-Z.; Phan, G.; Yakushijin, K.; Horne, D.A. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 351-354. b) Xu, Y-Z.; Yakushijin, K.; Horne, D.A. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 456-464.
152. a) Morris, S.A.; Andersen, R.J. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 715-720. b) Cutignano, A.; Bifulco, G.; Bruno, I.; Casapullo, A.; Gomez-Paloma, L.; Riccio, R. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3743-3748.
153. Garg, N.K.; Sarpong, R.; Stoltz, B.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13179-13184.
154. a) Feldman, K.S.; Ngermmeesri, P. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5449-5452. b) Huntley, R.J.; Funk, R.L. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4775-4778.
155. a) Garg, N.K.; Caspi, D.D.; Stoltz, B.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9553-9553. b) Garg, N.K.; Caspi, D.D.; Stoltz, B.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5970-5978.
156. Abdel-Wahab, B.F, Awad, G.E.A.; Badria, F.A. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 1505-1511.
157. Larsen, R.D. et al. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 6391-6394.
158. Shilcrat, S.C.; Mokhallalati, M.K.; Fortunak, J.M.D.; Pridgen, L.N. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8449-8454.
159. a) Babizhayev, M.A. *Life Sciences* **2006**, *78*, 2343-2357. b) Soujanya, Y.; Sastry, G.N. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2109-2112.
160. a) Dawane, B.S. et al. *Org. Commun.* **2010**, *3*, 22-29. b) Aridoss, G.; Balasubramanian, S.; Parthiban, P.; Kabilan, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 268-275.
161. a) Heeres, J.; Backx, L.J.J.; Mostmans, J.H.; Cutsem, J.V. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 1003-1005. b) Strippoli, V.; Piacentini, A.; D'Auria, F.D.; Simonetti, N. *Infection* **1997**, *25*, 303-306.
162. a) Gündoğdu-Karaburun, N.; Benkli, K.; Tunali, Y.; Ucucu, U.; Demirayak, S. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 651-656. b) Emami, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 141-146.
163. Mital, A. *Sci. Pharm.* **2009**, *77*, 497-520.
164. Maeda, K.; Osato, T.; Umesawa, H. *J. Antibiot. Ser. A.* **1953**, *6*, 182.
165. a) Vanelle, P.; Crozet, M.P.; Maldonado, J.; Barreau, M. *Eur. J. Med. Chem.* **1991**, *26*, 167-178. b) Upcroft, J.A.; Dunn, L.A.; Wright J.M.; Benakli, K.; Upcroft, P.; Vanelle, P. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 344-347. c) Crozet, M.D.; Bota, C.; Gasquet, M.; Curti, C.; Rémusat, V.; Hutter, S.; Chapelle, O.; Aeras, M.; De Méo, M.; Vanelle, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 653-659.
166. Levitzki, A. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 462-469.
167. Thomson, J.E.; Cubbon, R.M.; Cummings, R.T.; Wicker, L.S.; Frankshun, R.; Cunningham, B.R.; Cameron, P.M.; Meinke, P.T.; Liverton, N.; Weng, Y.; DeMartino, J.A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1219-1223.
168. Maydan, N.; Grunberger, T.; Dadi, H.; Shahar, M.; Arpaia, E.; Lapidot, Z.; Leeder, J.S.; Freedman, M.; Cohen, A.; Gazit, A.; Levitzki, A.; Roifman, C.M. *Nature* **1996**, *379*, 645-648.
169. Butini, S. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1401-1420.
170. a) Finley, M.R.V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 4442-4446. b) Anderson, M et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5487-5492.
171. Pearson, G.; Robinson, F.; Beers Gibson, T.; Xu, B-E.; Karandikar, M.; Berman, K.; Cobb, M.H. *Endocr. Rev.* **2001**, *22*, 153-183.

- 172.** Tackle, A.K.; Brown, M.J.B.; Davies, S.; Dean, D.K.; Francis, G.; Gaiba, A.; Hird, A.W.; King, F.D.; Lovell, P.J.; Naylor, A.; Reith, A.D.; Steadman, J.D.; Wilson, D.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 378-381.
- 173.** Yu, H.; Jung, Y.; Kim, H.; Lee, J.; Oh, C-H.; Yoo, K.H.; Sim, T.; Hah, J.M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3805-3808.
- 174.** a) Chen, Z.; Beers Gibson, T.; Robinson, F.; Silvestro, L.; Pearson, G.; Xu, B-E.; Wright, A.; Vanderbilt, C.; Cobb, M.H. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2449-2476. b) English, J.M.; Cobb, M.H. *Trends Pharmacol. Sci.* **2002**, *23*, 40-45.
- 175.** Lee, J.C. et al. *Nature* **1994**, *372*, 739-746.
- 176.** Natarajan, S.R., Doherty, J.B. *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, *5*, 987-1003.
- 177.** Debus, H. *J. Liebigs Ann. Chem.* **1858**, *107*, 199-208.
- 178.** Radziszewski, B. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1882**, *15*, 2706 - 2708.
- 179.** a) Radziszewski, B., *Ber.* **1882**, *15*, 1493. b) Crouch, R.D.; Howard, J.L.; Zile, J.L.; Barker, K.H. *J. Chem. Educ.* **2006**, *83*, 1658.
- 180.** a) Brackeen, M.F.; Stafford, J.A.; Feldman, P.L.; Karanewski, P.S. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1635-1638. b) McKenna, J.M. et al. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2173-2184. c) Zuliani, V.; Cocconcelli, G.; Fantini, M.; Ghiron, C.; Rivara, M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 4551-4553.
- 181.** a) Wolkenberg, S.E.; Wisnoski, D.D.; Leister, W.H.; Wang, Y.; Zao, Z.; Lindsay, C.W. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1453-1456. b) Bratulescu, G. *Synthesis* **2009**, *14*, 2319-2320.
- 182.** a) Sarshar, S.; Siev, D.; Mjalli, A.M.M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 835-838. b) Kantevari, S.; Vuppalapati, S.V.N.; Biradar, D.O.; Nagarapu, L. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2007**, *266*, 109-113. c) Rafiee, E.; Mahdavi, H.; Joshaghani, M. *Mol. Div.* **2011**, *15*, 125-134.
- 183.** a) Balalaie, S.; Arabanian, A.; Hashtroudi, M.S. *Monatsch. Chem.* **2000**, *131*, 945-948. b) Balalaie, S.; Hashemi, M.M.; Akhbari, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1709-1711. c) Usyatinsky, A.Y.; Khmel'nitsky, Y.L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5031-5034. d) Karimi, A.R. et al. *Catal. Commun.* **2006**, *7*, 728-732. e) Sadeghi, B.; Mirjalili, B.B.F.; Hashemi, M.M. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 2575-2577.
- 184.** a) Siddiqui, S.A.; Narkhede, U.C.; Palimkar, S.S.; Daniel, T.; Lahoti, R.J.; Srinivasan, K.V. *Tetrahedron*, **2006**, *47*, 5029-5031. b) Heravi, M.M.; Derikvand, F.; Bamoharram, F.F. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2007**, *263*, 112-114. c) Nagarapu, L.; Apuri, S.; Kantevari, S. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2007**, *266*, 104-108.
- 185.** Kidwai, M.; Mothsra, P. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1709-1711.
- 186.** Van Leusen, A.M.; Wildeman, J.; Oldenziel, O. H. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1153-1159.
- 187.** a) Sisko, J.; Melinger, M.; Sheldrake, P.W.; Baine, N.H. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 8113-8116. b) Sisko, J.; Melinger, M. *Pure Appl. Chem.* **2002**, *74*, 1349-1357.
- 188.** Boehm, J.C.; Smietana, J.M.; Sorenson, M.E.; Garigipati, R.S.; Gallagher, T.F.; Sheldrake, P.L.; Bradbeer, J.; Badger, A.M.; Laydon, J.T.; Lee, J.C.; Hillegass, L.M.; Griswold, D.E.; Breton, J.J.; Chabot-Fletcher, M.C.; Adams, J.L. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3929-3937.
- 189.** a) Adams, J.L.; Boehm, J.C.; Kassis, S.; Gorycki, P.D.; Webb, E.F.; Hall, R.; Sorenson, M.; Lee, J.C.; Ayrton, A.; Griswold, D.E.; Gallagher, T.E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 3111-3116. b) Gracias, V.; Gasiecki, A.F.; Djuric, S.W. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3183-3186.
- 190.** Sisko, J. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4529-4531.

- 191.** Sisko, J.; Kassick, A.J.; Mellinger, M.; Filan, J.J.; Allen, A.; Olsen, M.A. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1516-1524.
- 192.** a) Shi, Y.-J.; Frey, L.F.; Tschaen, D.M.; Verhoeven, T.R. *Synthetic Commun.* **1993**, *23*, 2623-2630. b) Liverton, N.J. et al. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2180-2190. c) Li, B.; Chiu, C.K.-F.; Hank, R.F.; Murry, J.; Roth, J.; Tobiassen, H. *Org. Synth.* **2005**, *81*, 105-111. d) Hirano, K.; Urban, S.; Wang, C.; Glorius, F. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 1019-1022.
- 193.** Little, T.L.; Weber, S.E. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7299-7305.
- 194.** a) Shilcrat, S.C.; Mokhallalati, M.K.; Fortunak, J.M.D.; Pridgen, N.L. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 8449-8454. b) Szczepankiewicz, B.G.; Rohde, J.J.; Kurukulasuriya, R. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1833-1835.
- 195.** Saha, P.; Ramana, T.; Purkait, N.; Ali, M.A.; Paul, R.; Punniyamurthy, T. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8719-8725.
- 196.** Navarrete-Vazquez, G. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3985-3991.
- 197.** Ismail, A. *PhD Thesis* Université de Metz **2011**.
- 198.** Peng, J. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 716-719.
- 199.** Claiborne, C.F.; Liverton, N.J.; Nguyen, K.T. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8939-8942.
- 200.** Frantz, D.E.; Morency, L.; Soheili, A.; Murry, J.A.; Grabowski, E.J.J.; Tillyer, R.D. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 843-846.
- 201.** a) Zhang, C.; Moran, E.J.; Woiwode, T.F.; Short, K.M.; Mjalli, A.M.M. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 751-754. b) Lee, H.B.; Balasubramanian, S. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 323-326.
- 202.** a) Wallach, O. *Ber.Dtsch.Chim.Ber.* **1881**, *14*, 420. b) Benincori, T.; Brenna, E.; Sannicolo, F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 675-679.
- 203.** Alves, M.J.; Ferreira, P.M.T.; Maia, H.L.S.; Monteiro, L.S.; Gilchrist, T.L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4991-4995.
- 204.** Padwa, A.; Stengel, T. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5991-5993.
- 205.** a) Horneff, T.; Chuprakov, S.; Chernyak, N.; Gevorgyan, V.; Fokin, V.V. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14972-14974. b) Chuprakov, S.; Hwang, F.W.; Gevorgyan, V. *Ang. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4757-4759.
- 206.** Ruccia, M.; Vivona, N.; Cusmano, G. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 3859-3864.
- 207.** Reiter, L.A. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2714-2726.
- 208.** Horne, D.A.; Yakushijin, K.; Büchi, G. *Heterocycles* **1994**, *39*, 139-153.
- 209.** a) Xi, N.; Xu, S.; Cheng, Y.; Tasker, A.S.; Hungate, R.W., Reider, P.J. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7315-7319. b) Wolfe, D.M.; Schreiner, P.R. *Synthesis* **2007**, *13*, 2002-2008.
- 210.** Garst, M.E.; Dolby, L.J.; Esdandiari, S.; Avey, A.A.; Mac Kenzie, V.R.; Muchmore, D.C. **2007** Patent WO2007/041048 A3
- 211.** a) Vilsmeier, A.; Haack, A. *Ber.* **1927**, *60*, 119. b) Campaigne, E.; Archer, W. L. *Org. Syn.* **1963**, *4*, 331.
- 212.** a) Arnold, Z.; Zemlicka, J. *Proc. Chem. Soc.* **1958**, 227. b) Arnold, Z.; Zemlicka, J. *Collect.Czech. Chem. Commun.* **1959**, *24*, 2385.
- 213.** Marson, C.M. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 3659-3726.
- 214.** a) Lilienkamp, A.; Johansson, M.P.; Wahala, K. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3387-3390. b) Thomas, A.D.; Asokan, J. and C.V. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5069-5076.
- 215.** a) Karlsson, J.O.; Fredj, T. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 1921-1923. b) Katritzky, A.R.; Marson, C.M.; Palenik, G.; Koziol, A.E.; Luce, H.; Karelson, M.; Chen, B.-C.; Brey, W.

- Tetrahedron* **1988**, *44*, 3209-3214. c) Giles, P.R.; Marson, C.M. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5227-5230. d) Jakobs, A.E.; Christiaens, L. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4842-4844. e) Hesse, S.; Kirsch, G. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1213-1215.
- 216.** a) Aki, O; Nakagawa, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1972**, *20*, 1325-1327. b) Park, H-J.; Lee, K.; Park, S.J.; Anh, B.; Lee, J-C.; Cho, H.Y.; Lee, K-I. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *15*, 3307-3312. c) Suarez, M. et al. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 1365-1371. d) Chornous, V.A.; Bratenko, M.K.; Vovk, M.V. *Russ. J. Org. Chem.* **2009**, *45*, 1210-1213.
- 217.** a) Baranov, S.N.; Kochkanyan, R.O.; Zarithovskii, A.N.; Belova, G.I.; Radkova, S.S. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1975**, *11*, 73. b) Ba, L.A.; Kirsch, G.; Castello, J. *Arkivoc* **2007**, *X*, 374-380.
- 218.** a) Keith Rose, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 1038-1043. b) Kalia, J. *PhD Thesis University of Wisconsin-Madison* **2008**.
- 219.** a) Zatsëpin, T.S.; Stetsenko, D.A.; Gait, M.J.; Oretskaya, T.S. *Bioconjugate Chem.* **2002**, *13*, 822-830. b) Zatsëpin, T.S.; Stetsenko, D.A.; Gait, M.J.; Oretskaya, T.S. *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 471-489. c) Zubin, E.M.; Stetsenko, D.A.; Zatsëpin, T.S.; Gait, M.J.; Oretskaya, T.S. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4912-4920.
- 220.** a) Plate, R.; Jans, C.G.J.M.; Plaum, M.J.M.; De Boer, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1143-1152. b) Waldo, J.P.; Larock, R.C. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5203-5205.
- 221.** Kendall, J.D.; Rewcastle, G.W.; Frederick, R.; Mawson, C.; Denny, W.A.; Marshall, E.S.; Baguley, B.C.; Chaussade, C.; Jackson, S.P.; Shepherd, P.R. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 7677-7687.
- 222.** Andreani, A.; Leoni, A.; Locatelli, A.; Morigi, R.; Rambaldi, M.; Recanatini, M.; Garaliene, V. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 2359-2366.
- 223.** Deady, L.W.; Devine, S.M. *J. Heterocyclic Chem.* **2004**, *41*, 549-555.
- 224.** Chezal, J.M.; Moreau, E.; Chavignon, O.; Lartigue, C.; Blache, Y.; Teulade, J.C. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 5869-5878.
- 225.** Eckhardt, M.; Huel, N.; Langkopf, E.; Himmelsbach, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 1931-1934.
- 226.** a) Lane, C.F. *Synthesis* **1975**, 135-146. b) Salter, M.M.; Kobayashi, J.; Shimizu, Y.; Kobayashi, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3533-3536. c) Dangerfield, E.M.; Plunkett, C.H.; Win-Mason, A.L.; Stocker, B.L.; Timmer, M.S.M. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5470-5477.
- 227.** Wittig, G.; Schöllkopf, U. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1954**, *87*, 1318-1330.
- 228.** Corey, E.J.; Fuchs, P.L. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *36*, 3769-3772.
- 229.** Mori, M.; Tonogaki, K.; Kinoshita, A. *Org. Synth.* **2005**, *81*, 1-13.
- 230.** a) Zeng, X.; Zeng, F.; Negishi, E-I. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3245-3248. b) Falomir, E; Murga, J.; Carda, M.; Marco, J.A. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 539-541.
- 231.** Perspicace, E.; Hesse, S.; Kirsch, G.; Yemloul, M.; Lecomte, C. *J. Het. Chem.* **2009**, *46*, 459-464.
- 232.** Yoo, K.S.; Yoon, C.H.; Jung, K.W. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 16384-16393.
- 233.** Badone, D.; Baroni, M.; Cardamone, R.; Ielmini, A.; Guzzi, U. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7170-7173.
- 234.** Darses, S.; Genet, J-P. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 288-325.
- 235.** a) Paul, F.; Patt, J.; Hartwig, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 5969-5970. b) Guram, A.S.; Buchwald, S.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7901-7902.

- 236.** a) Yang, B.H.; Buchwald, S.L. *Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 125-146. b) Zim, D.; Buchwald, S.L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2413-2415. c) Xie, X.; Zhang, T.Y.; Zhang, Z. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6522-6529.
- 237.** Lebedev, A.Y.; Khartulyari, A.S.; Voskoboynikov, A.Z. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 596-602.
- 238.** Marion, N.; Escarnot, E.C.; Navarro, O.; Amoroso, D.; Bell, A.; Nolan, S.P. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3816-3821.
- 239.** Reddy, C.V.; Kingston, J.V.; Verkade, J.G. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 3047-3062.
- 240.** a) Nodwell, M.; Pereira, A.; Riffell, J.L.; Zimmermann, C.; Patrick, B.O.; Roberge, M.; Andersen, R.J. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 995-1006. b) Hesse, S.; Kirsch, G. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6534, 6539.
- 241.** Hunter T. *Cell* **1995**, *80*, 225-236.
- 242.** Marsden, B.D.; Knapp, S. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 40-45.
- 243.** S. Omura et al. *J. Antibiotics* **1977**, *30*, 275
- 244.** Hanke, J.H.; Gartner, J.P.; Dow, R.L.; Changelian, P.S.; Brissette, W.B.; Weringer, E.J.; Pollock, B.A.; Connelly, P.A. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 695.
- 245.** Nam, J.S.; Ino, Y.; Sakamoto, M.; Hirohashi, S. *Clin. Cancer Res.* **2002**, *8*, 2430.
- 246.** Susa, M.; Teti, A. *Drug New Perspective* **2000**, *13*, 169.
- 247.** a) Missbach, M.; Altmann, E.; Widler, L.; Susa, M.; Buchdunger, E.; Mett, H.; Meyer, T.; Green, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 945. b) Altmann, E.; Widler, L.; Missbach, M. *Mini Rev. Med. Chem.* **2002**, *2*, 201.
- 248.** Rucci, N.; Recchia, I.; Angelucci, A.; Alamanou, M.; Del Fattore, A.; Fortunati, D.; Susa, M.; Fabbro, D.; Bologna, M.; Teti, A. *J. Pharm. Exp. Ther.* **2006**, *318*, 161.
- 249.** Rowley, J.D. *Nature* **1973**, *243*, 290-293.
- 250.** Garcia Echeverria, C.; Traxler, P.; Evans, D.B. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 20-57.
- 251.** a) Toledo, L. M.; Lyndon, N. B.; Elbaum, D. *Curr. Med. Chem.* **1999**, *6*, 775-805. b) De Moliner, E. and al. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 1831-1836.
- 252.** Pommier, Y.; Leo, E.; Zhang, H.; Marchand, C. *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 421-33.
- 253.** Skedelj, V.; Tomasic, T.; Peterlin Masic, L.; Zega, A. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 915-929.
- 254.** a) Johansson, N.G.; Eriksson, S. *Acta Biochim. Pol.* **1996**, *43*, 143-160. b) Deville-Bonne, D.; El Amri, C.; Meyer, P.; Chen, Y.; Agrofoglio, L.A.; Janin, J. *Antiviral Research* **2010**, *86*, 101-120.
- 255.** Liou, J-Y.; Lai, H-R.; Hsu, C-H.; Chang, W-L.; Hsieh, M-J.; Huang, Y-C.; Cheng, Y-C. *Biochem. Pharmacol.* **2010**, *79*, 381-388.
- 256.** Nakai, G.S.; Michael, E.; Peterson, M.; Craddock, C.G. *Clin. Chim. Acta* **1966**, *14*, 422-425.
- 257.** a) Chang, Z.F.; Huang, D.Y.; Hsue, N.C. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 21249-21254. b) Liang, P.; Averboukh, L.; Zhu, W.; Haley, T.; Pardee, A.B. *Cell. Growth Differ.* **1995**, *6*, 1333-1338.
- 258.** Lavie, A.; Vetter, I.R.; Konrad, M.; Goody, R.S.; Reinstein, J.; Schlichting, I. *Nat. Struct. Biol.* **1997**, *4*, 601-604.
- 259.** a) Schulz, G.E. et al. *Eur. J. Biochem.* **1986**, *161*, 127-132. b) Vonnrhein, C.; Schlauderer, G. J.; Schulz, G. E. *Structure* **1995**, *3*, 483-490.
- 260.** Yan, H.; Tsai, M.D. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1999**, *73*, 103-134.

261. a) Bae, E.; Phillips, G.N. Jr. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2006**, *103*, 2132-2137. b) Aden, J.; Wolf-Watz, M.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *129*, 14003-14012.
262. Yoneda, T.; Sato, M.; Maeda, M.; Takagi, H. *Mol. Brain Res.* **1998**, *62*, 187-195.
263. Van Rompay, R.A.; Johansson, M.; Karlsson, A. *Pharmacol. Ther.* **2000**, *87*, 189-198.
264. Ren, H et al. *PNAS* **2005**, *102*, 303-308.
265. a) Dallapiccola, B.; Lungarotti, M.S.; Falorni, A.; Magnani, M.; Dacha, M. *Ann. Genet.* **1980**, *23*, 83-85. b) Brady, W.A.; Kokoris, M.S.; Fitzgibbon, M.; Black, M.E. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 16732-16740.
266. Miller, W. H.; Miller, R. L. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 7204-7207.
267. Sekulic, N.; Shuvalova, L.; Spangenberg, O.; Konrad, M.; Lavie, A. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 30236-30243.
268. Segura-Pen D., Sekulic N., Ort S., Konrad M., Lavie A. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 33882-33889.
269. Feldhaus, P.; Frohlich, T.; Goody, R.; Isakov, M.; Schrimmer, H. *Eur. J. Biochem.* **1975**, *57*, 197-204.
270. Rudolph, M.G.; Veit T.J.; Reinstein J. *Protein Sci.* **1999**, *8*, 2697-2704.
271. Hanna, J.; Finley, D. *FEBS Lett.* **2007**, *581*, 2854-2861.
272. Kisselev A.F.; Goldberg A.L.; *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 739-758.
273. a) Bayot, A.; Basse, N.; Lee, I.; Gareil, M.; Pirotte, B.; Bulteau, A.L.; Friguier, B.; Reboud-Ravaux, M. *Biochimie* **2008**, *90*, 260-269. b) Marques, A.J.; Palanimurugan, T.; Matias, A.C.; Ramos, P.C.; Dohmen, R.J. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 1509-1536.
274. Adams, J. Ed. **2004** *Proteasome inhibitors in cancer therapy*; Humana Press Inc.: Totowa, New Jersey.
275. a) Borissenko, L.; Groll, M. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 687-717. b) Galbiati, F.; Volonté, D.; Minetti, C.; Bregman, D.B.; Lisanti, M.P. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 37702-37711.
276. Wenthe, M.N.; Eibl, G.; Reber, H.A.; Friess, H.; Büchler, M.W.; Hines, O.J. *Oncol. Rep.* **2005**, *14*, 1635-1638.
277. Groll, M.; Huber, R.; Potts, B.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5136-5141.
278. Schmidtke, G.; Holzhütter, H.G.; Bogyo, M.; Kairies, N.; Groll, M.; de Giuli, R.; Emch, S.; Groettrup, M. *J Biol Chem.* **1999**, *274*, 35734-35740.
279. a) Koguchi, Y.; Kohno, J.; Nishio, M.; Takahashi, K.; Okuda, T.; Ohnuki, T.; Komatsubara, S. *J. Antibiot. (Tokyo)* **2000**, *53*, 105-109. b) Kohno, J.; Koguchi, Y.; Nishio, M.; Nakao, K.; Kuroda, M.; Shimizu, R.; Ohnuki, T.; Komatsubara, S. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 990.
280. Zhang, S.; Zhang, D.; Liebeskind, L.S. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 2312-2313.
281. Perrin, D.D.; Armarego, W.L.F. in *Purification of laboratory chemicals*, 3rd ed., Pergamon Press, Sydney, **1988**, 391p.

Sandrine GOSLING

SYNTHESE ET FONCTIONNALISATION DE 2-THIOHYDANTOINES. INTERACTION ET INHIBITION DES NUCLEOSIDES MONOPHOSPHATE KINASES

La découverte de nouvelles substances thérapeutiques nécessite la synthèse de série de molécules soumises au criblage biologique sur une cible donnée. Ce projet de recherche a pour objectif de développer des inhibiteurs de nucléosides monophosphate kinases (NMPK) en se basant sur le concept de chimie dynamique combinatoire *in situ*.

La synthèse de ces molécules a nécessité l'association *via* des fonctions réactives d'un analogue d'accepteur de phosphate et d'un mime d'ATP donneur de phosphate. La mise au point de ce dernier a fait l'objet de ce travail de thèse et a été orientée vers la pharmacomodulation d'un hétérocycle azoté et soufré: la 2-thiohydantoïne. La synthèse de ce composé a été réalisée par la méthode de Schlack-Kumpf et par celle d'Edman provenant de techniques d'analyses peptidiques. Ces deux voies ont été exploitées pour étudier la réactivité et la fonctionnalisation sélective de cet hétérocycle notamment par des couplages de type Suzuki. La réaction de Vilsmeier-Haack-Arnold a par la suite constitué l'étape clé permettant de transformer un cycle 2-thiohydantoïne en un cycle de type imidazole qui a pu être fonctionnalisé en diverses positions.

La synthèse de dérivés 2-thiohydantoïne et imidazole diversement substitués par des groupements utiles, au couplage *in situ* avec les analogues d'accepteur de phosphate ainsi qu'à l'affinité enzymatique a permis l'accès à une bibliothèque de molécules. Des tests biologiques ont permis d'évaluer leur affinité vis-à-vis de plusieurs NMPK ainsi que leur cytotoxicité sur cellules cancéreuses ; cet ensemble de résultats permettant de trouver les déterminants nécessaires à l'activité biologique.

Mots clés: 2-thiohydantoïne; imidazole; Schlack-Kumpf; Edman; nucléosides monophosphate kinases

SYNTHESIS AND FUNCTIONALIZATION OF 2-THIOHYDANTOINS. INTERACTION AND INHIBITION OF NUCLEOSIDE MONOPHOSPHATE KINASES

New therapeutical compounds determination requires the formation of a library of molecules and their screening on specific biological targets. The aim of this project was to design new inhibitors targeting nucleoside monophosphate kinases (NMPK) based on *in situ* dynamic combinatorial chemistry.

These molecules were synthesized by ligation between analogues of phosphate acceptors and donors on which reactive functions were introduced. The topic of this PhD was to develop the ATP mimetics using chemical transformation and pharmacomodulation of a small heterocycle: 2-thiohydantoin. Its synthesis was achieved using the Schlack-Kumpf and the Edman methods initially develop for peptidic analysis. These two pathways have been explored in order to study the reactivities and the selective functionalizations of the heterocycle allowing for example Suzuki cross coupling reactions. Furthermore we used the Vilsmeier-Haack-Arnold reaction as a key step to the formation of a highly substituted imidazole ring directly from a 2-thiohydantoin.

The synthesis of 2-thiohydantoin and imidazole derivatives, on which reactive groups for the *in situ* coupling reactions and the enzymatic affinity have been introduced, leads to a library of molecules. Their affinity toward to ATP donor site of NMPK and their toxicity on cancer cells were evaluated by biological tests.

Keywords: 2-thiohydantoin; imidazole; Schlack-Kumpf; Edman; nucleoside monophosphate kinase



**ICOA - Institut de Chimie Organique et Analytique
UMR 6005 - UFR Sciences
rue de Chartres - BP6759
45067 Orléans Cedex 2 - France**

