

N° d'ordre : 3099

THESE

présentée à

L'UNIVERSITE DE BORDEAUX 1
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

par **Marie SCHULER**

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

Spécialité : CHIMIE-ORGANIQUE

CONCEPTION & SYNTHÈSE

D'ACTIVATEURS DE LA PROTEINE

PROAPOPTOTIQUE BAX

Soutenue le mercredi 14 décembre 2005

Après avis de :

Mme J. MARCHAND-BRYNAERT *Professeur de l'Université Catholique de Louvain (Belgique)* **(Rapporteur)**

M. S. RAULT *Professeur de l'Université de Caen* **(Rapporteur)**

Devant la commission d'examen formée de :

Mme J. MARCHAND-BRYNAERT *Professeur de l'Université Catholique de Louvain (Belgique)* **(Rapporteur)**

M. M. S. RAULT *Professeur de l'Université de Caen* **(Rapporteur)**

S. QUIDEAU *Professeur de l'Université Bordeaux 1*

C. JARRY *Professeur de l'Université Bordeaux 2*

M. LAGUERRE *Directeur de Recherche CNRS, Université Bordeaux 1*

L. GHOSEZ *Professeur associé de l'Université Bordeaux 1* **(Directeur de thèse)**

Ce manuscrit met un terme à cinq années de travail au sein de l'Institut Européen de Chimie et Biologie tout d'abord à l'ENSCP puis dans le nouveau bâtiment.

Je tiens à remercier le Pr Léon Ghosez et le Dr Jean-Jacques Toulmé pour m'avoir accueillie au sein de l'institut et pour m'avoir permis d'y réaliser, tout d'abord mon stage de DEA, puis ce travail de thèse. Merci également au Pr Jean-Marie Schmitter.

Je tiens à remercier chaleureusement tous les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et m'avoir donné l'opportunité d'avoir avec eux une discussion scientifique très enrichissante. Le Dr Michel Laguerre pour avoir accepté de présider ce jury, Mme Jacqueline Marchand-Brynaert et Mr Sylvain Rault pour avoir fait le déplacement et accepté de rapporter ce travail. Enfin, les Prs Stéphane Quideau et Christian Jarry pour avoir bien voulu faire partie de ce jury.

Mes plus profonds remerciements iront au Pr Léon Ghosez pour m'avoir accepté dans son laboratoire et pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet si intéressant, à l'interface de la chimie et de la biologie. Vous m'avez fait confiance pour le poursuivre à l'occasion de cette thèse et vous avez su me garder sur le "droit" chemin de la synthèse quand je m'égarais vers la biologie! Merci pour vos conseils, nos discussions très enrichissantes, pour votre grande patience et surtout votre humanité. Merci enfin pour avoir bien voulu prendre le temps de corriger pleinement ce manuscrit autant de fois qu'il l'aura fallu. Et enfin, je vous remercie de nous avoir fait connaître quelques uns des meilleurs restaurants de Bordeaux!

Je tiens à remercier plus longuement le Dr Michel Laguerre pour avoir pris le temps de m'initier au monde mystérieux de la modélisation moléculaire. Merci pour ta disponibilité et ton aide précieuse.

Je remercie également les Drs François Ichas et Francesca De Giorgi-Ichas pour m'avoir permis de comprendre un peu mieux les mécanismes compliqués de l'apoptose. Merci également au Dr Jean Dessolin : nous avons fait nos premiers pas de "biologistes" ensemble devant le cytomètre de flux, merci pour ton aide et ta disponibilité.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Katell Bathany pour les nombreuses analyses de spectrométrie de masse qu'elle a réalisées pour moi. Nos discussions vont me manquer. Merci également à Axelle Grélard pour tout le temps qu'elle consacre à nous venir en aide lors de l'utilisation du spectromètre RMN et pour tout ce qu'elle fait pour nous rendre son utilisation plus facile. Dommage que le 300 MHz arrive un peu tard pour moi...Je retiendrais plus particulièrement nos sorties piscine-restau chinois, tes conseils sur la grossesse et l'accouchement et nos longues discussions bachelor & cie!!! Nous garderons toujours en commun l'amour du chocolat sous toutes ses formes!

Un grand merci à toute l'équipe administrative : Véronique Chassaing, Stéphanie & Stéphanie, Sandra et plus particulièrement Annie pour sa bonne humeur et son dévouement sans égal à l'équipe Ghosez...Merci également à Emmanuel et à Gérard pour avoir plusieurs fois sauvé mon ordinateur d'une situation périlleuse dans les moments les plus difficiles...Merci également à Thierry pour sa gentillesse inégalable.

Je continuerai en ayant une pensée pour les Anciens de l'IECB (avec un grand A) : Céline E., Maya, Damien, Boubou, Cécile S., Christina, l'équipe belge Fred & Laurence, Eric P., Jeroen, Eric Tam, Thomas L., Fred, Ivan, Brigitte, Jez, Elise, Connor...

Un immense merci aux trois compères : Régis que dire...merci pour ton amitié, bonne chance pour le futur et oui, une vie pas compliquée ça existe... Nordine, j'ai appris énormément à

tes côtés, autant du point de vue scientifique que personnel, j'espère que tout va bien pour toi. Je garderais longtemps en mémoire quelques soirées inoubliables. Enfin Céline, ma voisine de paillasse, collègue de gym, merci pour ta présence et toutes nos longues discussions : bonne chance dans ta recherche de travail et à très bientôt sur MSN...

En vrac j'essaierai de citer tous ceux que j'ai pu croiser, en essayant de n'oublier personne : Renaud, Cécile G., Guillaume R., Alex, Christel & Victor (les bons conseils de tonton Victor), Carlos, A², Jo, Julien, Seb, Benoît, Nada, Anne, Sabine, Wissam, Céline DC, Aurélie (bonne chance pour la suite...), Nathalie, Simona (pour m'avoir appris l'indispensable en italien), Lucie (bonne chance dans tous tes projets), Wei Zhu et Na Sun, Beth (pour son légendaire brownie en particulier...), Laurence, Adéline et Céline mes collègues de souffrance à la gym. Merci aux biologistes, ces gens pas si différents que ça finalement? Fred, Margo et Guerric, dommage qu'on ait fait connaissance un peu tard.

Merci aux "petits" derniers : Claude, Michaël, Gosia, Gildas (le 12, oui c'est sûr cette fois-ci je m'en vais...), Manu (bonne chance pour la suite et merci pour les recettes de cuisine! et fais attention aux "aiguilles" ça pique!), Xavier (courage mais oui une thèse ça se rédige en 2 mois...),

Un merci tout particulier à Stéphane pour nos discussions réconfortantes pendant l'été quand tout le monde est en vacances et qu'il faut rester rédiger..., à Carole ma collègue de badminton et de piscine (non tu peux y retourner c'est bon tu vas pas te faire mal), à Reiko pour sa bonne humeur et pour les gâteaux de la pause de 17h (très important pour le moral des troupes!), à Cécile pour nos longues discussions, les sorties sportives piscine ou footing et les aller-retour bordeaux-pau bien animés! A Nico et Yoyo, les petits stagiaires qui sont devenus grands pour la bonne ambiance qu'ils ont mis dans le labo. A Yann pour les pauses café et les dépannages informatiques. A Thomas, le catalan, pour sa bonne humeur permanente (???) et son aide en informatique même s'il ronchonne beaucoup : et surtout pour sa capacité à écouter les gens inégalable!!!! Bonne chance pour la suite et courage la chimie organique c'est pas si terrible. Merci à Aurélie, présente depuis le début aussi, merci pour les soirées mémorables citées plus haut et pour nos discussions. Merci à Delphine D. (garde toujours ton sourire et ne te laisse pas faire...). Un grand merci à Claire, ma voisine de bureau des derniers jours et secrétaire à ses moments perdus, compagne de footing occasionnelle et de McDo toujours présente!! Bonne chance pour la suite, n'oublies pas de continuer à aller papoter au 2^{ème} et à bientôt à Manchester...Enfin merci à Anne-Laure pour son amitié et sa bonne humeur permanente, je crois que j'ai trouvé une remplaçante pour ce qui est des éclats de rire...bonne chance pour la thèse, courage la Suisse c'est pas si loin et tu es attendue à Oxford.

Un énoooooooooorme merci aux survivants de l'équipe Ghosez...Peter pour ton flegme hollandais et ta capacité à boire 10 cafés par jour, Jean-Christophe pour ses conseils toujours bienvenus et bien sûr le dernier mais pas le moindre, Arno, le moralisateur, le spécialiste de la blague Carambar, le proCPE, mais t'inquiètes pas on t'aime bien quand même! Bonne chance en Allemagne et ne bois pas trop de bière sinon tu sais ce qui t'attend...

Merci à ceux qui sont toujours été présents dans les moments difficiles comme les moments heureux : Delphine et Xavier, Isa, Nadège, Caro & Bruno, Odile, Pierrot et Bixente.

Merci à ma famille pour m'avoir soutenue dans mes choix et pour être toujours présente.

Et enfin un grand merci à Loïc, pour son immense patience, ses conseils, son soutien dans les moments difficiles et sa présence quotidienne, j'espère pouvoir faire de même pour toi très bientôt...courage tu vois on y arrive au bout finalement....

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| <u>CHAPITRE 1</u> : INTRODUCTION ----- | 1 |
| I.1 - L'APOPTOSE ----- | 2 |
| I.1.1 - Définition----- | 2 |
| I.1.2 - Mécanisme----- | 3 |
| I.1.2.1 - Généralités----- | 3 |
| I.1.2.2 - Principales voies d'induction----- | 5 |
| I.1.2.3 - La régulation de l'apoptose en tant qu'approche thérapeutique----- | 7 |
| I.2 - LES PROTEINES DE LA FAMILLE BCL-2 ----- | 11 |
| I.2.1 - Présentation----- | 11 |
| I.2.2 - Structures et Propriétés----- | 11 |
| I.2.2.1 - Relations structure-fonction----- | 12 |
| <i>I.2.2.1.1 - Structures</i> ----- | 12 |
| <i>I.2.2.1.2 - Formation d'homo- et hétérodimères</i> ----- | 15 |
| <i>I.2.2.1.3 - Localisation</i> ----- | 16 |
| <i>I.2.2.1.4 - Formation de pores transmembranaires</i> ----- | 16 |
| I.2.2.2 - Mécanisme d'action : quelques hypothèses----- | 17 |
| I.2.3 - Les inhibiteurs des protéines antiapoptotiques de la famille Bcl-2----- | 19 |
| | |
| <u>CHAPITRE 2</u> : BAX COMME CIBLE THERAPEUTIQUE ----- | 23 |
| | |
| II.1- STRUCTURE & LOCALISATION AU COURS DE L'APOPTOSE ----- | 24 |
| II.1.1 - Structure tridimensionnelle----- | 24 |
| II.1.2 - Comportement & Propriétés au cours de l'apoptose----- | 27 |
| II.1.2.1 - Localisation de Bax dans la cellule----- | 27 |
| II.1.2.2 - Formation d'oligomères----- | 28 |
| II.2- CHANGEMENT CONFORMATIONNEL DE BAX AU COURS DE L'APOPTOSE ----- | 29 |
| II.2.1 - Mise en évidence----- | 29 |
| II.2.2 - Identification des zones de la protéine impliquées----- | 30 |
| II.2.3 - Libération des facteurs proapoptotiques mitochondriaux----- | 32 |
| II.3 - SITE ACTIF DE LA PROTEINE POUR LE CHANGEMENT CONFORMATIONNEL ----- | 35 |
| II.3.1 - Récapitulatif----- | 35 |
| II.3.2 - Délimitation du site actif----- | 36 |
| II.3.3 - Les modulateurs de Bax dans la littérature----- | 39 |
| II.3.4 - Projet de thèse----- | 41 |

CHAPITRE 3 : CONCEPTION D'ACTIVATEURS DE BAX PAR MODELISATION MOLECULAIRE- 43

| | |
|--|----|
| III.1 - MODELISATION MOLECULAIRE : DESCRIPTION DES METHODES ----- | 44 |
| III.1.1 - Généralités ----- | 44 |
| III.1.2 - Principe de la mécanique moléculaire ----- | 44 |
| III.1.3 - L'Analyse conformationnelle ----- | 46 |
| III.2 - HYPOTHESES DE TRAVAIL ----- | 48 |
| III.3 - CONCEPTION DES CIBLES PAR MODELISATION MOLECULAIRE ----- | 55 |
| III.3.1 - Introduction ----- | 55 |
| III.3.2 - Conception des structures et recherche conformationnelle ----- | 56 |
| III.3.2.1 - Premières générations de structures ----- | 56 |
| III.3.2.2 - Les molécules tricycliques ----- | 58 |
| III.3.3 - "Docking" automatique sur la protéine ----- | 60 |
| III.3.3.1 - Principe ----- | 60 |
| III.3.3.2 - Résultats ----- | 61 |
| III.4 - SELECTION DES CIBLES ----- | 64 |

CHAPITRE 4 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE & STRATEGIE DE SYNTHESE ----- 67

| | |
|--|----|
| IV.1- OBJECTIF & STRATEGIE ----- | 68 |
| IV.2 - REVUE DE LA LITTERATURE ----- | 69 |
| IV.2.1 - Généralités ----- | 69 |
| IV.2.2 - Stratégies de Synthèse ----- | 73 |
| IV.2.2.1 - Stratégie $ABC \Rightarrow AC \Rightarrow C$ ----- | 73 |
| IV.2.2.2 - Stratégie $ABC \Rightarrow BC$ ----- | 77 |
| IV.2.2.3 - Stratégie $ABC \Rightarrow C$ ----- | 78 |
| IV.2.2.4 - Stratégie $ABC \Rightarrow C \Rightarrow S$ ----- | 79 |
| IV.3 - CHOIX D'UNE STRATEGIE DE SYNTHESE ----- | 81 |
| IV.3.1 - Schéma rétrosynthétique ----- | 81 |
| IV.3.2 - Formation du squelette tricyclique ----- | 82 |
| IV.3.2.1 - Cyclisation de type Friedel-Crafts ----- | 82 |
| IV.3.2.2 - Cyclisation par métathèse ----- | 83 |
| IV.3.2.3 - β -arylation catalysée par un acide de Lewis silylé ----- | 87 |
| IV.4 - PLAN DE TRAVAIL ----- | 91 |

| | |
|--|-----|
| <u>CHAPITRE 5</u> : SYNTHÈSE DES DÉRIVÉS 1,2,3,4-TÉTRAHYDROQUINOLÉINE ----- | 93 |
| V.1 - OBJECTIFS ----- | 94 |
| V.2- SYNTHÈSE DE 120 : PRÉCÉDENTS DANS LA LITTÉRATURE ----- | 94 |
| V.2.1 - Voie 1 : <i>Via</i> un intermédiaire 2,3-dihydroquinoléin-4-one 166 ----- | 95 |
| V.2.2 - Voie 2 : <i>Via</i> la 1,2-dihydroquinoléine correspondante 169 ----- | 96 |
| V.3 - RESULTATS ----- | 97 |
| V.3.1 - Voie 1 ----- | 97 |
| V.3.1.1 - Synthèse de l'acide 184 ----- | 97 |
| V.3.1.2 - Cyclisation de l'acide 184 en 185 ----- | 98 |
| V.3.1.2.1 - <i>Cyclodéshydratation par l'acide polyphosphorique</i> ----- | 98 |
| V.3.1.2.2 - <i>Essais de cyclisation d'un anhydride mixte</i> ----- | 99 |
| V.3.1.2.3 - <i>Essais de cyclisation en présence de sels de terres rares</i> ----- | 100 |
| V.3.1.3 - Réduction de 185 en 120 ----- | 103 |
| V.3.2 - Voie 2 ----- | 104 |
| V.3.2.1 - Synthèse des dérivés 7-hydroxy 170 et 7-méthoxy 171 ----- | 104 |
| V.3.2.2 - Mise au point des conditions de détosylation ----- | 106 |
| V.3.2.2.1 - <i>Dérivé 7-hydroxy 170</i> ----- | 106 |
| V.3.2.2.1 - <i>Dérivé 7-méthoxy 171</i> ----- | 109 |
| V.3.2.3 - Variation du groupement protecteur de l'amine ----- | 110 |
| V.4 - CONCLUSION ----- | 112 |
| | |
| <u>CHAPITRE 6</u> : SYNTHÈSE DES PYRIDOQUINOLÉINES ----- | 115 |
| VI.1 - RAPPEL DES VOIES DE SYNTHÈSE ENVISAGÉES ----- | 116 |
| VI.2 - VOIE A : CYCLISATION PAR β-ARYLATION INTRAMOLÉCULAIRE ----- | 117 |
| VI.2.1 - Données de la littérature ----- | 117 |
| VI.2.2 - Etude modèle sur un dérivé de l'anisidine ----- | 119 |
| VI.2.2.1 - Synthèse du dérivé acryloylanilide 214 ----- | 119 |
| VI.2.2.2 - Etude de la cyclisation ----- | 120 |
| VI.2.3 - Application au substrat ----- | 124 |
| VI.2.3.1 - Synthèse du réactif 157 ----- | 124 |
| VI.2.3.2 - Essais de β -arylation ----- | 125 |
| VI.3 - VOIE B : CYCLISATION PAR MÉTATHÈSE (RCM) ----- | 126 |
| VI.3.1 - Présentation ----- | 126 |
| VI.3.2 - Synthèse de 139 ----- | 127 |
| VI.3.2.1 - Généralités sur l'ortholithiation ----- | 127 |
| VI.3.2.2 - Synthèse des précurseurs de l'ortholithiation ----- | 130 |
| VI.3.2.2.1 - $R^1 = Alloc$ ou Piv et $R^2 = TIPS$ ----- | 130 |
| VI.3.2.2.2 - $R^1 = Boc$, $R^2 = TIPS$ ----- | 131 |
| VI.3.2.2.3 - $R^1 = Boc$, $R^2 = MOM$ ----- | 134 |
| VI.3.2.2.4 - <i>Récapitulatif</i> ----- | 135 |

| | |
|--|------------|
| VI.3.2.3 - Essais d'ortholithiation sur 237 (N-Alloc/O-TIPS) ----- | 136 |
| VI.3.2.4 - Essais d'ortholithiation sur 236 (N-Piv/O-TIPS) ----- | 137 |
| VI.3.2.5 - Essais d'ortholithiation sur 242 (N-Boc/O-MOM) ----- | 138 |
| VI.4 - VOIE C : ACYLATION INTRAMOLECULAIRE DE FRIEDEL-CRAFTS ----- | 139 |
| VI.4.1 - Schéma de synthèse ----- | 139 |
| VI.4.2 - Synthèse du composé 122 ----- | 140 |
| VI.4.3 - Réduction de 122 en 123 ----- | 141 |
| VI.4.3.1 - Par la méthode de Wolff-Kishner ----- | 142 |
| VI.4.3.2 - Réaction de Shapiro ----- | 142 |
| VI.4.3.3 - <i>Via</i> le triflate 251 ----- | 145 |
| VI.4.3.4 - Réduction de la double liaison du dérivé 161 ----- | 146 |
| VI.4.4 - Synthèse de 122 avec TIPS comme groupe protecteur ----- | 147 |
| VI.4.4.1 - Introduction ----- | 147 |
| VI.4.4.2 - Résultats ----- | 147 |
| VI.5 - CONCLUSION ----- | 148 |
| | |
| <u>CHAPITRE 7</u> : INTRODUCTION DES SUBSTITUANTS AROMATIQUES ----- | 149 |
| | |
| VII.1 - INTRODUCTION ----- | 150 |
| | |
| VII.2 - VOIE A ----- | 151 |
| | |
| VII.3 - VOIE B ----- | 152 |
| VII.3.1 - Introduction ----- | 152 |
| VII.3.2 - Synthèse de 267 ----- | 153 |
| VII.3.2.1 - Bibliographie ----- | 153 |
| VII.3.2.2 - Résultats ----- | 156 |
| VII.3.2.2.1 - <i>N,O</i> -acétals de cétène silylés 265 ----- | 156 |
| VII.3.2.2.2 - <i>N,O</i> -acétals de cétène alkylés 273 ----- | 157 |
| VII.3.2.3 - Conclusion ----- | 159 |
| | |
| VII.4 - VOIE C ----- | 159 |
| VII.4.1 - Bibliographie ----- | 159 |
| VII.4.2 - Réactions Modèles ----- | 168 |
| VII.4.2.1 - Couplage avec le bromobenzène ----- | 168 |
| VII.4.2.2 - Couplage avec le 3-bromoindole 329 ----- | 169 |
| VII.4.3 - Application au substrat 123 ----- | 170 |
| | |
| VII.5 - LIBERATION DE LA FONCTION PHENOL ----- | 171 |
| VII.5.1 - Composé 332 ----- | 171 |
| VII.5.2 - Composé 262 ----- | 172 |
| VII.5.2.1 - Protection de la fonction éno1 ----- | 172 |
| VII.5.2.2 - Clivage de l'éther aromatique ----- | 172 |
| VII.5.2.3 - Autres essais au départ de 262 ----- | 174 |

| | |
|--|------------|
| VII.5.3 - Composé dibenzylé 263----- | 174 |
| VII.5.4 - Proposition de mécanisme----- | 176 |
| VII.6 - ESSAIS DE FIXATION D'UNE CHAÎNE SUR LE PHENOL----- | 178 |
| VII.6.1 - Etude Modèle----- | 178 |
| VII.6.2 - <i>O</i> -alkylation du lactame 335----- | 180 |
| | |
| <u>CHAPITRE 8</u> : CONCLUSION & PERSPECTIVES----- | 183 |
| | |
| VIII.1 - BILAN DES SYNTHÈSES ----- | 184 |
| | |
| VIII.2 - PERSPECTIVES----- | 186 |
| VIII.2.1 - Synthèse de 349, 26 et 352----- | 186 |
| VIII.2.2 - Synthèse de dérivés----- | 187 |
| VIII.2.3 - Optimisation du schéma de synthèse ----- | 187 |
| | |
| VIII.3 - PRINCIPE DES TESTS BIOLOGIQUES ----- | 188 |
| | |
| VIII.4 - EVOLUTION DU PROJET ----- | 190 |
| VIII.4.1 - Influence de peptides mimant une portion de l'hélice $\alpha 9$ ----- | 190 |
| VIII.4.2 - Etude de la fonction de l'hélice $\alpha 9$ ----- | 192 |
| VIII.4.3 - Rôles des acides aminés Glu90, Arg94 et Asp98----- | 192 |
| | |
| VIII.5 - CONCLUSION GÉNÉRALE----- | 193 |
| | |
| <u>CHAPITRE 9</u> : PARTIE EXPERIMENTALE ----- | 195 |
| | |
| IX.1 - GENERALITES ----- | 196 |
| IX.1.1 - Modélisation Moléculaire ----- | 196 |
| IX.1.2 - Solvants et Réactifs ----- | 196 |
| IX.1.3 - Purifications et Analyses----- | 197 |
| IX.1.3.1 - <i>Techniques de purification</i> ----- | 197 |
| IX.1.3.2 - <i>Analyses</i> ----- | 198 |
| IX.1.4 - Remarques Générales ----- | 199 |
| | |
| IX.2 - MODES OPERATOIRES----- | 200 |
| IX.2.1 - Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 et 145 ----- | 200 |
| 3-(3-méthoxyanilino)propanoate de méthyle 183----- | 200 |
| Acide 3-(3-méthoxyanilino)propanoïque 184----- | 201 |
| 3-(3-méthoxytosylanilino)propanoate de méthyle 191 ----- | 202 |
| Acide 3-(3-méthoxytosylanilino)propanoïque 192----- | 203 |
| 7-méthoxy-2,3-dihydro-4(1 <i>H</i>)-quinoléinone 185----- | 204 |
| N-tosyl-3- <i>m</i> -anisidine 180----- | 205 |

| | |
|---|------------|
| 7-méthoxy- <i>N</i> -tosyl-1,2-dihydroquinoléine 173 | 206 |
| 7-méthoxy- <i>N</i> -tosyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 171 | 208 |
| 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 | 209 |
| <i>N</i> -tosyl-3-aminophénol 197 | 210 |
| <i>N</i> -tosyl-1,2-dihydro-7-quinoléinol 172 | 212 |
| <i>N</i> -tosyl-1,2,3,4-tétrahydro-7-quinoléinol 170 | 214 |
| 1,2,3,4-tétrahydro-7-quinoléinol 145 | 215 |
| 2,2,2-trifluoro- <i>N</i> -(3-méthoxyphényl)acétamide 202 | 217 |
| 2,2,2-trifluoro-1-[7-méthoxy-1(2 <i>H</i>)-quinoléinyl]-1-éthanone 205 | 218 |
| IX.2.2 - Synthèse des pyridoquinoléines 122, 123 et 161 | 220 |
| <i>IX.2.2.1 - Electrocyclisation de type Nazarov</i> | 220 |
| <i>N</i> -(2-chloro-5-méthoxyphényl)acrylamide 214 | 220 |
| <i>N</i> -(2-chloro-4-[3-(2-chloro-4-méthylanilino)-3-oxopropyl]-5-méthoxyphényl)acrylamide 218 | 221 |
| <i>N</i> -acryloyl-7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 157 | 222 |
| <i>IX.2.2.1 - Synthèse des précurseurs pour l'olthiation</i> | 223 |
| 7-[(triisopropylsilyl)oxy]-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 235 | 223 |
| <i>N</i> -allyloxycarbonyl-7-[(triisopropylsilyl)oxy]-3,4-dihydro-1(2 <i>H</i>)-quinoléine 237 | 224 |
| <i>N</i> -pivaloyl-7-[(triisopropylsilyl)oxy]-3,4-dihydro-1(2 <i>H</i>)-quinoléine 236 | 225 |
| tert-butyl-7-[(tert-butoxycarbonyl)oxy]-3,4-dihydro-1(2 <i>H</i>)-quinoléinecarboxylate 241 | 226 |
| tert-butyl-7-hydroxy-3,4-dihydro-1(2 <i>H</i>)-quinoléinecarboxylate 239 | 227 |
| tert-butyl 7-[(triisopropylsilyl)oxy]-3,4-dihydro-1(2 <i>H</i>)-quinoléinecarboxylate 238 | 228 |
| tert-butyl-7-(méthoxyméthoxy)-3,4-dihydro-1(2 <i>H</i>)-quinoléinecarboxylate 242 | 229 |
| <i>IX.2.2.3 - Acylation intramoléculaire de Friedel-Crafts</i> | 230 |
| <i>N</i> -éthylmalonyl-7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 249 | 230 |
| <i>N</i> -éthylmalonyl-7-[(triisopropylsilyl)oxy]-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 252 | 231 |
| 7-hydroxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 122 | 232 |
| <i>N</i> -(3-hydroxy-10-méthoxy-6,7-dihydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-1-ylidène)-4-méthylbenzènesulfonohydrazide 250 | 233 |
| 7-trifluorométhanesulfonyloxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 251 | 234 |
| 8-méthoxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 161 | 235 |
| 8-méthoxy-2,3,6,7-tétrahydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 123 | 237 |
| IX.2.3 - Introduction des substituants aromatiques | 238 |
| <i>IX.2.3.1 - Substituants benzylés</i> | 238 |
| 6-benzyl-7-hydroxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 262 | 238 |
| 2,2-dibenzyl-10-méthoxy-6,7-dihydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléine-1,3(2 <i>H</i>)-dione 263 | 239 |
| <i>IX.2.3.2 - α-arylation catalysée au palladium</i> | 240 |
| <i>N</i> -(triisopropylsilyl)indole 328 | 240 |
| 3-bromo- <i>N</i> -(triisopropylsilyl)indole 329 | 241 |
| <i>N</i> -méthyl-3-phényl-2-pipéridinone 326 | 242 |
| <i>N</i> -méthyl-3-[1-(triisopropylsilyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl]-2-pipéridinone 330 | 243 |
| 3-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)-1-méthyl-2-pipéridinone 331 | 244 |
| 8-méthoxy-6-phényl-2,3,6,7-tétrahydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 332 | 245 |
| 8-méthoxy-6-[1-(triisopropylsilyl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl]-2,3,6,7-tétrahydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 333 | 246 |

| | |
|--|-----|
| 6-(1 <i>H</i> -indol-3-yl)-8-méthoxy-2,3,6,7-tétrahydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 334 | 248 |
| IX.2.4 - Libération de la fonction phénol | 249 |
| 2,2-dibenzyl-10-hydroxy-6,7-dihydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-1,3(2 <i>H</i>)-dione 339 | 249 |
| 6-benzyl-8-méthoxy-5-oxo-2,3-dihydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-7-yl pivalate 336 | 250 |
| 8-hydroxy-6-phényl-2,3,6,7-tétrahydro-1 <i>H</i> ,5 <i>H</i> -pyrido[3,2,1- <i>ij</i>]quinoléin-5-one 335 | 251 |
| | |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 253 |
| | |
| ANNEXES | 265 |

ABREVIATIONS ET SYMBOLES

| | | | |
|------------------------------------|--|-------------------|---|
| Å | : angström | COSY | : correlation spectroscopy |
| Ac | : acétyle | <i>d</i> | : doublet |
| AcOH | : acide acétique | Da | : dalton |
| AcOEt | : acétate d'éthyle | dba | : dibenzylidèneacétone |
| ADN | : acide désoxyribonucléique | DIBALH | : hydrure de diisobutylaluminium |
| AE | : analyse élémentaire | DIEA | : diisopropyléthylamine (<i>i</i> Pr ₂ NEt) |
| AlCl ₃ | : trichlorure d'aluminium | <i>dl</i> | : doublet large |
| Alloc | : allyloxycarbonyle | <i>dt</i> | : doublet de triplets |
| AL | : acide de Lewis | δ | : déplacement chimique |
| Alk | : alkyle | Δ | : chauffage |
| AMBER | : assisted model building with energy refinement | <i>dd</i> | : doublet de doublet |
| APTS | : acide p-toluènesulfonique | DIABLO | : direct IAP binding protein with low pI |
| APP | : acide polyphosphorique | DMAP | : 4-diméthylaminopyridine |
| aq. | : aqueux | DME | : diméthoxyéthane |
| Ar | : aryle | DMF | : <i>N,N</i> -diméthylformamide |
| ATP | : adénosine triphosphate | DMSO | : diméthylsulfoxyde |
| BH | : Bcl-2 homology domain | DTBMP | : di- <i>t</i> -butylméthylpyridine |
| BINAP | : 2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtalène | DTPF | : 1,1'-bis (di- <i>o</i> -tolylphosphino) ferrocene |
| BIP | : Bax inhibiting peptides | E ⁺ | : agent électrophile |
| Bn | : benzyle | éq. | : équivalent molaire |
| Boc | : <i>t</i> -butoxycarbonyle | ESI | : électrospray |
| Bu | : butyle | Et | : éthyle |
| caspase | : cysteinyl aspartic acid proteases | Et ₂ O | : éther diéthylique |
| Cat. | : catalyseur ou catalytique | FAB | : fast atom bombardment |
| cc | : concentré | FADD | : fas associated death domain |
| CCl ₄ | : tétrachlorure de carbone | fs | : femtoseconde (10 ⁻¹⁵ s) |
| CCM | : chromatographie sur couche mince | g | : gramme |
| CDCl ₃ | : chloroforme deutéré | GMD | : groupe métallant directeur |
| CHCl ₃ | : chloroforme | GFP | : green fluorescent protein |
| CH ₂ Cl ₂ | : dichlorométhane (ou DCM) | h | : heure |
| CF ₃ CO ₂ H | : acide trifluoroacétique | HMBC | : heteronuclear multiple bond correlation |
| CF ₃ CO ₂ Et | : trifluoroacétate d'éthyle | HMDS | : hexaméthyldisilazane |
| CPG | : chromatographie en phase gazeuse | HMPA | : hexaméthylphosphoramide |
| CuCl ₂ | : dichlorure de cuivre | HRMS | : spectrométrie de masse haute résolution |
| Cy | : cyclohexyle | HSQC | : heteronuclear single quantum correlation |

hv : irradiation lumineuse
 Hz : hertz
*i*Pr : isopropyle
 Pr : propyle
 IAP : inhibitor of apoptosis proteases
 IMDAF : intramolecular diels-alder reaction of furans
 IR : infra-rouge
 IUPAC : international union of pure and applied chemistry
 j : jour
 J : constante de couplage
 kDa : kilodalton
 L : litre
 LDA : diisopropylamidure de lithium
 LiCA : isopropylcyclohexylamidure de lithium
 LiHMDS : hexaméthylidisilazane de lithium
 LiTMP : tétraméthylpipéridineamidure de lithium
 lit. : littérature
 m : moyen ou multiplet
 M : mol.L-1
 [M+H]⁺ : ion moléculaire
m : méta
ma : massif
m-CPBA : acide *m*-chloroperbenzoïque
 Me : méthyle
 MHz : mégaHertz
 min : minute
 mol : mole
 mmol : milimole
 μmol : micromole
 MOM : méthoxyméthyle
 NBS : *N*-bromosuccinimide
 NGF : nerve growth factor
 NOE : nuclear overhauser effect
 Nu⁻ : agent nucléophile
o : ortho
p : para

Ph : phényle
 PhNTf₂ : *N*-phényltrifluorométhane sulfonylimide
 Piv. : pivaloyle
 ppm : partie par million
q : quadruplet
quint. : quintuplet
 RCM : ring closing metathesis
 rdt : rendement
 Rf : rapport frontal
 RMN : résonance magnétique nucléaire
 RMSD : root mean square deviation
s : singulet
 SAR : relations structure-activité
 sat. : saturé
sl : singulet large
 SM : spectrométrie de masse
 SMAC : second mitochondria derived activator of caspases
t : triplet
t.a. : température ambiante
 TBAF : fluorure de tétrabutylammonium
 TBDMS : *t*-butyldiméthylsilyle
 Tbf : *t*-butylformamide
 T_{éb.} : température d'ébullition
 TNF : tumor necrosis factor
 Tf : trifluorométhanesulfonyle
 TFA : acide trifluoroacétique
 Tf₂N : triflimide
 TfO : triflate
 T_{fus.} : température de fusion
 THF : tétrahydrofurane
 TIPS : triisopropylsilyle
 TM : transmembranaire
 TMEDA : tétraméthyléthylènediamine
 TMS : triméthylsilyle
 Tol. : tolyl
 Ts : tosyle (*p*-toluènesulfonyle)
 UV : ultraviolet
 VIH : virus d'immunodéficiência humaine

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

I.1 - L'Apoptose

I.1.1 - Définition

L'apoptose ou mort cellulaire programmée est un processus physiologique indispensable au bon fonctionnement de l'organisme et au maintien de l'équilibre tissulaire. Elle permet d'éliminer les cellules indésirables ou défectueuses et de contrôler la prolifération cellulaire au cours du développement et du vieillissement du corps humain. Le terme "apoptose" a été introduit en 1972, par opposition à celui de "nécrose".¹ La nécrose est un processus passif qui apparaît après un dommage tissulaire : les différents organites de la cellule sont répandus dans l'espace extracellulaire ce qui entraîne une réaction inflammatoire de l'organisme. L'apoptose est qualifiée de phénomène actif, elle peut être déclenchée par un grand nombre de stimuli extra- ou intracellulaires et provoque un rétrécissement de la cellule qui se fragmente en corps apoptotiques, qui sont alors phagocytés et ainsi éliminés "proprement", sans réponse inflammatoire.² La manifestation de l'un ou l'autre de ces deux types de mort cellulaire dépend du type de cellule ainsi que de la nature et de l'intensité du stimulus reçu.

A ce jour, de nombreuses maladies sont associées à des dysfonctionnements de l'apoptose (VIH, cancer, maladies neurodégénératives...). Le cancer, par exemple, peut être considéré comme une pathologie avec un défaut d'apoptose où la nette augmentation du nombre de cellules tumorales est le résultat d'une vitesse de croissance accélérée de ces cellules et d'une diminution du processus apoptotique.² A l'inverse, les maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer présentent un excès d'apoptose : en effet, la mort prématurée de neurones spécifiques peut conduire à une perte de mémoire irréversible, à des mouvements musculaires incontrôlés ou à des comportements dépressifs.

Moduler l'apoptose de façon positive ou négative, est une stratégie prometteuse pour le développement de nouvelles thérapies. Pour cela, il est indispensable d'élucider et de comprendre les mécanismes complexes qui régissent le déroulement de ce "suicide cellulaire" ainsi que ses dérèglements.

¹ Kerr, J. F. ; Wyllie, A. H. ; Currie, A. R. *Br. J. Cancer* 1972, 26, 239-257.

² Sartorius, U. ; Schmitz, I. ; Krammer, P. H. *Chem. Bio. Chem.* 2001, 2, 20-29.

I.1.2 - Mécanisme

I.1.2.1 - Généralités

L'apoptose peut être vue comme une cascade complexe d'évènements ordonnés, contrôlés par l'expression régulée de gènes spécifiques. La plupart des changements morphologiques observés lors de l'apoptose sont causés par une famille de protéases qui sont activées spécifiquement dans les cellules apoptotiques : les **caspases** (Cysteiny-Aspartic acid-proteases).³ Douze sont connues chez l'homme actuellement, elles sont numérotées dans l'ordre de leur identification ; les deux tiers environ sont impliqués dans le processus apoptotique.⁴ Ces protéases, dont le site actif est une cystéine, clivent sélectivement un lot de protéines cibles à une ou plusieurs positions de leur séquence primaire, toujours après un résidu acide aspartique. Elles reconnaissent leur substrat grâce à la présence d'une séquence térapeptidique spécifique située en aval de l'acide aspartique en question. Les caspases sont synthétisées sous forme de **procaspases** inactives, divisées en trois domaines : un prodomaine *N*-terminal de longueur variable, une large sous unité α d'environ 20 kDa puis une petite sous unité β de 10 kDa. L'activation d'une caspase consiste à séparer la petite sous unité de la grande afin de former un complexe hétérotétramérique de deux sous unités α et deux sous unités β (Figure 1).

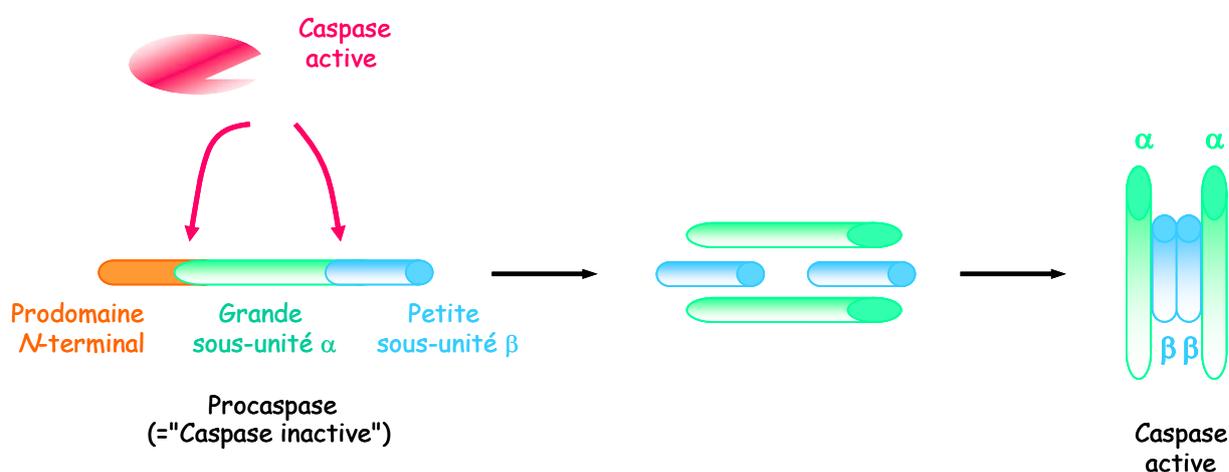


Figure 1 : activation d'une procaspase effectrice par une caspase initiatrice.

³ Denault, J.-B. ; Salvesen, G. S. *Chem. Rev.* 2002, 102, 4489-4499.

⁴ Philchenkov, A. J. *Cell. Mol. Med.* 2004, 8, 432-444.

Chapitre 1 : Introduction.

La classe des caspases impliquée dans l'apoptose est divisée en deux sous-groupes,⁴ en fonction de la longueur et de la séquence du prodomaine *N*-terminal :

➤ les caspases à long prodomaine (> 100 acides aminés) : elles sont activées *via* des protéines adaptatrices ou par autoactivation. Ce sont les **caspases initiatrices** (2, 8, 9 et 10) ;

➤ les caspases à court prodomaine (< 30 acides aminés) ou **caspases effectrices** (3, 6 et 7) : elles sont activées par les caspases initiatrices ou par d'autres protéases et sont responsables de la plupart des changements morphologiques de la cellule car elles clivent un certain nombre de protéines indispensables à sa survie.

De manière générale, les procaspases effectrices sont activées par les caspases initiatrices. Ces dernières sont elles mêmes activées par des récepteurs spécifiques, suite à la formation de complexes multiprotéiques (cf. I.1.2.2 - pour l'activation des caspases -8 et -9 ; Figure 2) ou par une variété de stimuli tels que divers agents chimiothérapeutiques.

Le processus apoptotique peut alors être divisé en trois phases :^{5,6}

✦ la phase d'initiation : la réponse apoptotique est provoquée par un ensemble de stimuli de différentes natures. Ce peut être un signal externe délivré *via* un récepteur de surface, l'exposition à un agent chimique ou physique (radiations, rayonnements UVs...) mais également un signal provenant de la cellule elle-même comme le stress oxydatif ou la présence de mutations ou de défauts dans l'ADN ;

✦ la phase de régulation : des voies de signalisation différentes sont activées selon la nature du stimulus ainsi que des régulateurs positifs ou négatifs des protéases. La perturbation de l'équilibre entre ces derniers conduira ou non à l'activation des caspases ;

✦ la phase d'exécution ou de dégradation, qui dépend de l'activation des caspases et, en particulier, de la caspase-3. Elle se déroule rapidement et aboutit à la "digestion" complète de la cellule.

Les mécanismes moléculaires conduisant à l'activation des caspases sont très complexes, mais deux voies majeures se dégagent.

⁵ Vaux, D. L. ; Strasser, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996, 93, 2239-2244.

⁶ Lartigue, L. Mécanismes d'activation de la protéine proapoptotique Bax, Thèse de doctorat : Université Bordeaux 2, 2003, 209 pages.

1.1.2.2 - Principales voies d'induction

Chez les mammifères, l'apoptose peut avoir lieu selon deux voies biochimiques majeures : la voie extrinsèque et la voie intrinsèque (Figure 2).

La **voie extrinsèque** est initiée par l'activation de récepteurs spécifiques appelés "récepteurs de mort", appartenant à la famille des récepteurs au TNF (Tumor Necrosis Factor) et au NGF (Nerve Growth Factor). La fixation du ligand sur son récepteur à la surface de la cellule induit la formation d'un complexe multiprotéique comprenant également la protéine adaptatrice FADD (Fas-associated death domain) et la procaspase-8. Celle-ci est alors activée en caspase-8, ce qui déclenche la cascade apoptotique responsable de l'acquisition des signes morphologiques de l'apoptose.

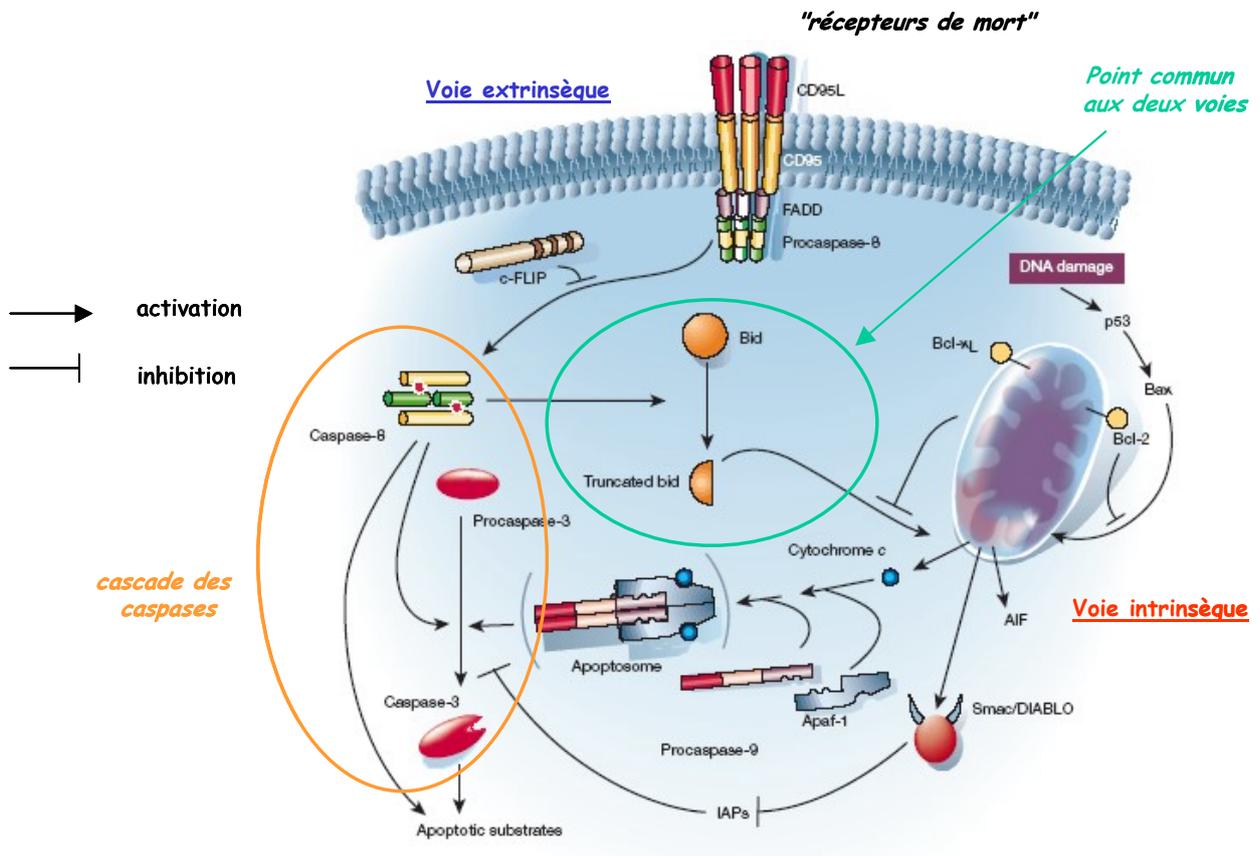


Figure 2 : les deux voies majeures de l'apoptose chez les mammifères (d'après Hengartner *et al.*⁷).

⁷ Hengartner, M. O. *Nature* 2000, 407, 770-776.

Chapitre 1 : Introduction.

La **voie intrinsèque**, ou voie mitochondriale, est initiée en réponse à des dommages extracellulaires ou internes comme des altérations de l'ADN. Elle est régulée par les protéines de la famille Bcl-2. L'ensemble de ces protéines pro- et antiapoptotiques sont localisées à proximité de la mitochondrie et contrôlent la libération, depuis l'espace intermembranaire mitochondrial vers le cytosol, d'un ensemble de facteurs proapoptotiques tels que le cytochrome c et la protéine SMAC (Second Mitochondria-derived Activator of Caspases) aussi appelée DIABLO (Direct IAP-Binding protein with Low pI). La libération du cytochrome c est un évènement clé de cette voie, elle a pour conséquence directe l'activation de la caspase-9 : la procaspase-9 se combine avec le cytochrome c et la protéine Apaf-1 pour former, selon un processus ATP-dépendant, un complexe supramoléculaire appelé **apoptosome**. Ce complexe multiprotéique provoque l'activation de la caspase-9 qui va, à son tour, activer les caspases effectrices -3 et -7 (Figure 3).

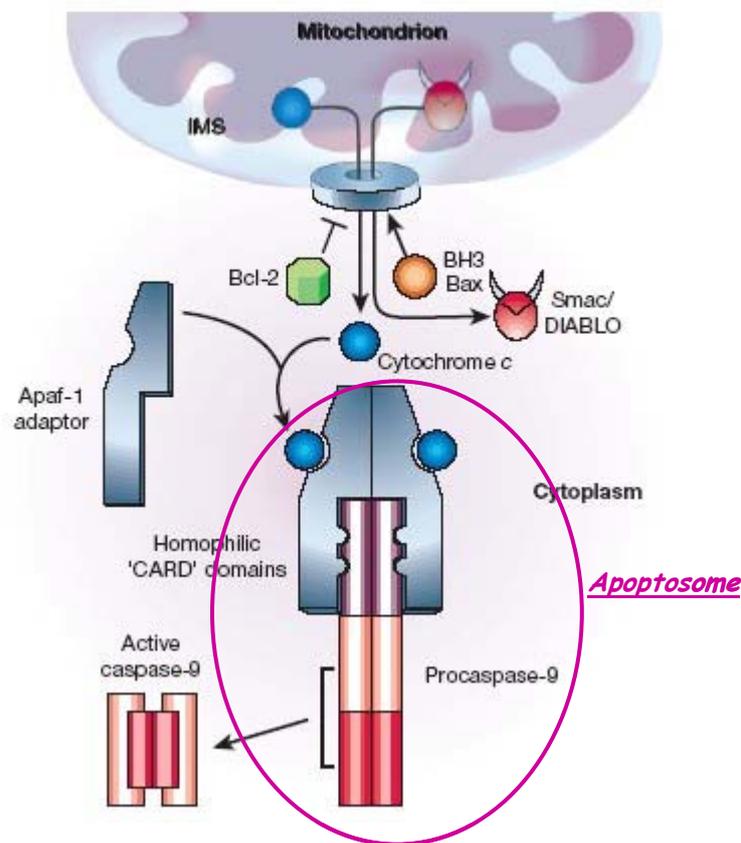


Figure 3 : voie mitochondriale (intrinsèque) et formation de l'apoptosome (d'après Nicholson *et al.*⁸).

Ces deux voies d'induction convergent au niveau de l'activation de la caspase-3. D'autres caspases effectrices sont par la suite activées en cascade, ce qui conduit progressivement au

⁸ Nicholson, D. W. *Nature* 2000, 407, 810-816.

Chapitre 1 : Introduction.

démantèlement et à l'élimination de la cellule. L'activation de la caspase-3 peut être inhibée par les protéines IAPs (Inhibitor of Apoptosis Proteases), qui sont elles-mêmes inhibées par la libération de Smac/DIABLO depuis la mitochondrie. La voie extrinsèque peut aussi rejoindre la voie intrinsèque par l'intermédiaire de Bid, une protéine proapoptotique de la famille Bcl-2. En effet, la caspase-8 peut cliver Bid au niveau de sa partie *N*-terminale pour générer *t*-Bid, une forme activée de Bid, capable d'interagir avec les autres protéines de la famille Bcl-2 et de provoquer la libération du cytochrome c.^{7,9}

Le phénomène de mort cellulaire programmée fait intervenir de multiples processus biologiques et biochimiques qui ne sont pas encore complètement élucidés. Cependant, les principaux acteurs de ce programme semblent avoir été découverts et la mise en évidence de leur structure moléculaire et de leur mode d'action est une étape indispensable à la compréhension et la régulation du phénomène.

1.1.2.3 - La régulation de l'apoptose en tant qu'approche thérapeutique

Les nombreuses études sur la compréhension du déroulement de l'apoptose ont été accompagnées de travaux en nombre croissant sur le développement de thérapies anti- ou proapoptotiques. En effet, les possibilités de modulation du processus sont immenses tant les cibles moléculaires sont nombreuses. L'une des principales stratégies consiste à perturber les interactions spécifiques protéine-protéine au sein de la cellule.⁸ Plusieurs facteurs clés peuvent ainsi être modulés :

✦ les caspases : ce sont des cibles très attrayantes pour l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques, vu leur rôle central au cœur du processus, ce qui n'a pas échappé aux industries pharmaceutiques.^{4,7} Deux approches peuvent être envisagées.

La première consiste à bloquer l'activation des caspases à l'aide d'inhibiteurs synthétiques, afin de préserver les cellules dans le cas des pathologies caractérisées par un excès d'apoptose. Typiquement, les inhibiteurs sont conçus comme des pseudosubstrats tri- ou tétrapeptidiques reproduisant la séquence spécifiquement reconnue par la caspase ciblée. Ce motif est couplé à une fonction aldéhyde (ou cétone), qui réagit de manière réversible (ou irréversible) avec la fonction thiol du résidu cystéine contenu dans le site actif de la protéase. Quelques uns des composés les plus prometteurs sont représentés ci-dessous (Figure 4) : les dérivés 1 à 3 sont développés par des

⁹ Sharpe, J. C. ; Arnoult, D. ; Youle, R. J. *Biochim. Biophys. Acta* 2004, 1644, 107-113.

Chapitre 1 : Introduction.

industries pharmaceutiques (Vertex Pharmaceuticals Inc.,^{10a} Pfizer,^{10b} Maxim Pharmaceuticals Inc.^{10c,11}), les substances 4¹² et 5¹³ sont issues de la recherche académique. Ce sont principalement des inhibiteurs de la caspase-3, dont l'efficacité cytoprotectrice a été mise en évidence sur différents modèles d'induction apoptotique. Certains de ces produits entrent en phase d'essais cliniques (VX-740, VX-765, IDN-6556) et les premiers résultats laissent envisager le futur développement de nouveaux modulateurs effectifs des caspases.

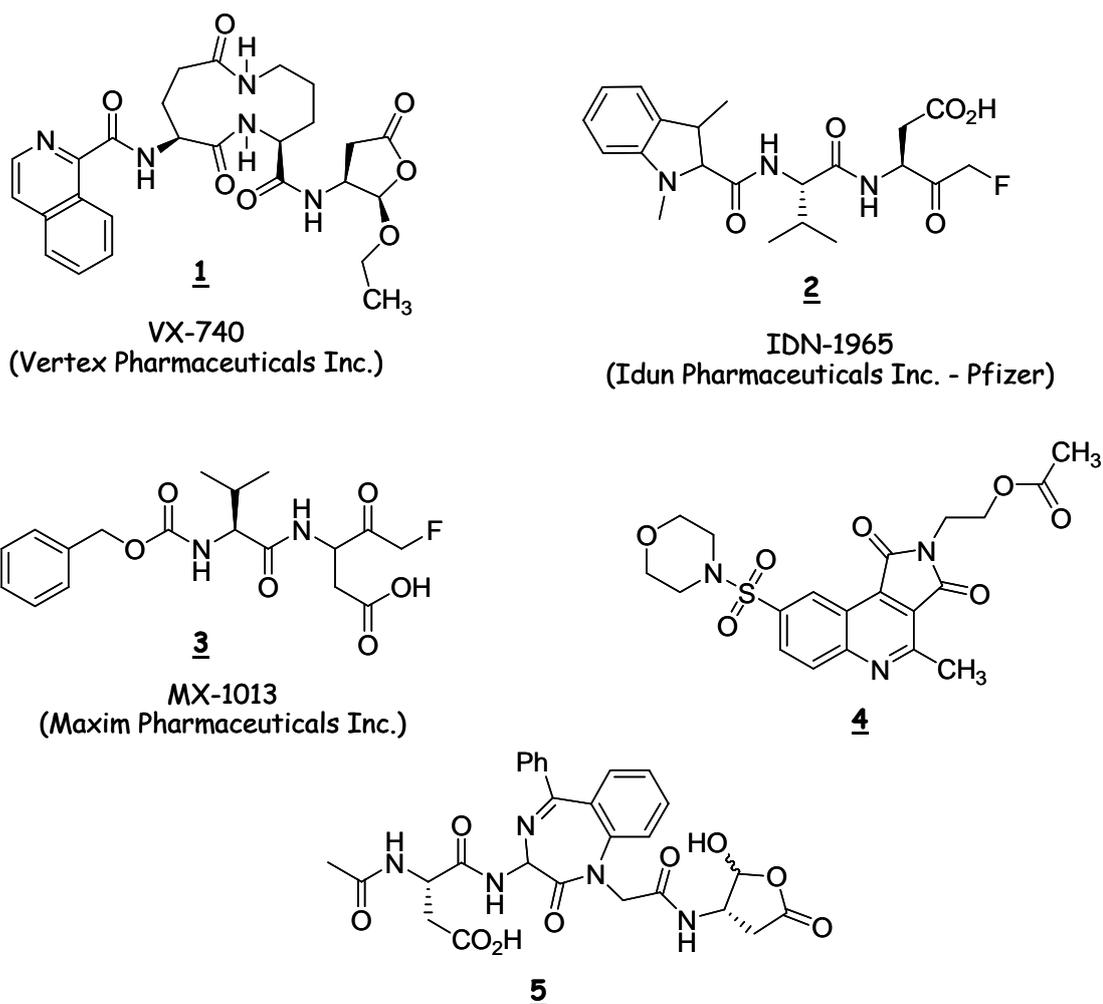


Figure 4 : exemples d'inhibiteurs synthétiques des caspases.

¹⁰ a) <http://www.vpharm.com> ; b) <http://www.pfizer.com> ; c) <http://www.maxim.com> ;
d) <http://www.merckfrosst.ca>.

¹¹ Yang, W. ; Guastella, J. ; Huang, J.-C. ; Wang, Y. ; Zhang, L. ; Xue, D. ; Tran, M. ; Woodward, R. ; Kasibhatla, S. ; Tseng, B. ; Drewe, J. ; Cai, S. X. *Br. J. Pharmacol.* 2003, 140, 402-412.

¹² a) Kravchenko, D. V. ; Kysil, V. V. ; Ilyn, A. P. ; Tkachenko, S. E. ; Maliarchouk, S. ; Okun, I. M. ; Ivachtchenko, A. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 1841-1845 ; b) Kravchenko, D. V. ; Kuzovkova, Y. A. ; Kysil, V. M. ; Tkachenko, S. E. ; Maliarchouk, S. ; Okun, I. M. ; Balakin, K. V. ; Ivachtchenko, A. V. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 3680-3683.

¹³ a) Micale, N. ; Vairagoundar, R. ; Yakovlev, A. G. ; Kozikowski, A. P. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 6455-6458.

Chapitre 1 : Introduction.

D'autres groupes continuent dans cette voie,¹⁴ soit par criblage de banques de molécules, soit par synthèse de dérivés peptidomimétiques préalablement conçus à l'aide de la modélisation moléculaire.

La deuxième approche consiste à activer sélectivement les caspases afin de restaurer l'apoptose lorsqu'elle est déficiente ou bien de tuer les cellules cancéreuses. Là aussi plusieurs composés ont émergé comme le MX-2060^{10b} (Maxim Pharmaceutical Inc./Pfizer), qui est un activateur spécifique de la caspase-3. Les chercheurs de Merck Frosst^{10d} synthétisent des peptides contenant des motifs arginine-glycine-aspartate qui activent également la caspase-3.

✦ les protéines de la famille Bcl-2 : ces protéines sont parmi les plus étudiées du processus apoptotique.¹⁵ Bien que leur mécanisme d'action reste encore mal défini, elles sont également au centre du processus car le rapport entre les membres pro- et antiapoptotiques contrôle la libération du cytochrome c. L'une des stratégies envisagées est la suppression des gènes codant pour l'une ou l'autre de ces protéines, mais le principal défi consiste à développer des agents pharmacologiques capables d'inhiber ou de provoquer l'apoptose à ce niveau précoce du processus. Les protéines Bcl-2 et Bcl-x_L sont intensivement étudiées en ce sens (cf. 1.2.3 -).

✦ les IAPs : nous avons vu précédemment que la libération de Smac dans le cytoplasme inhibe les IAPs et rétablit l'apoptose.⁸ Récemment, plusieurs équipes se sont attachées à concevoir puis à synthétiser des petites molécules organiques, non peptidiques, de structure analogue à celle de SMAC,^{16,17} dans le but de déclencher l'apoptose dans les cellules cancéreuses (6 - Figure 5). Cette stratégie est très intéressante car elle permet d'agir à un point où les deux voies de signalisation de l'apoptose se rejoignent. En particulier, la protéine XIAP, qui est le plus fort inhibiteur de toute la famille, est une cible très étudiée et déjà, des petites molécules non

¹⁴ a) Fattorusso, R. ; Jung, D. ; Crowell, K. J. ; Forino, M. ; Pellecchia, M. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 1649-1656; b) Goode D. R. ; Sharma A. K. ; Hergenrother P. J. *Org. Lett.* 2005, 7, 3529-3532; c) Zhang, H.-Z. ; Kasibhatla, S. ; Kuemmerle, J. ; Kemnitzer, W. ; Ollis-Mason, K. ; Qiu, L. ; Crogan-Grundy, C. ; Tseng, B. ; Drewe, J. ; Cai, S. X. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 5215-5223; d) Becker, J. W. ; Rotonda, J. ; Soisson, S. M. ; Aspiotis, R. ; Bayly, C. ; Francoeur, S. ; Gallant, M. ; Garcia-Calvo, M. ; Giroux, A. ; Grimm, E. ; Han, Y. ; McKay, D. ; Nicholson, D. W. ; Peterson, E. ; Renaud, J. ; Roy, S. ; Thornberry, N. ; Zamboni, R. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 2466-2474.

¹⁵ Adams, J. M. ; Cory, S. *Science* 1998, 281, 1322-1326.

¹⁶ Li, L. ; Thomas, R. M. ; Suzuki, H. ; De Brabander, J. K. ; Wang, X. ; Harran, P. G. *Science* 2004, 305, 1471-1474.

¹⁷ Park, C.-M. ; Sun, C. ; Olejniczak, E. T. ; Wilson, A. E. ; Meadows, R. P. ; Betz, S. F. ; Elmore, S. W. ; Fesik, S. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 771-775.

peptidiques inhibitrices de XIAP ont montré une activité prometteuse en restaurant l'apoptose *via* l'activation de la caspase-9, dans certaines lignées cellulaires cancéreuses (7 et 8 - Figure 5).^{18,19}

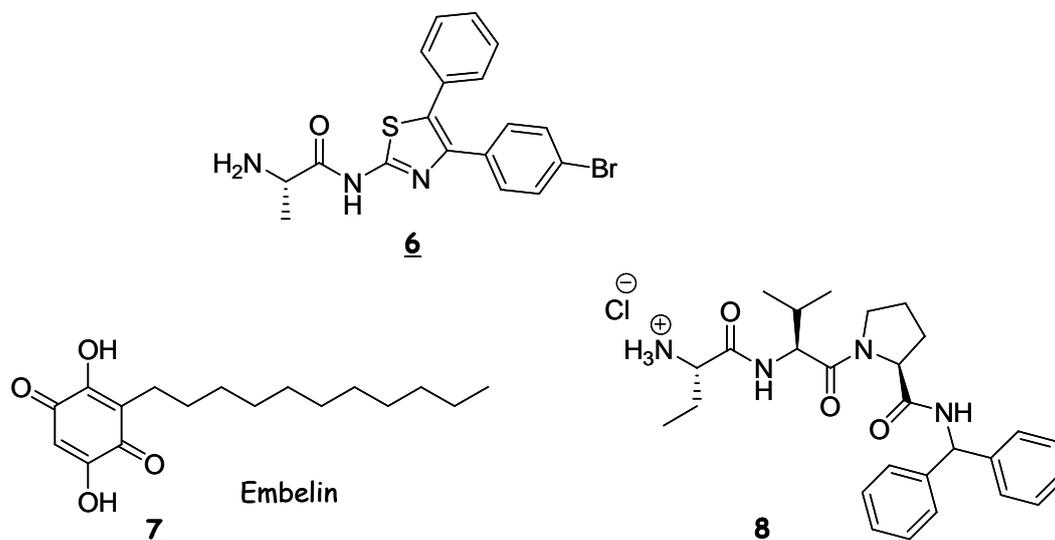


Figure 5 : exemples d'inhibiteurs de XIAP.

Si, à ce jour, aucune de ces stratégies n'a encore donné lieu à une application clinique, les approches thérapeutiques basées sur l'apoptose sont très prometteuses. Il faut bien sûr garder à l'esprit que de nombreuses améliorations devront être apportées car la plupart de ces inhibiteurs ne sont pas forcément complètement sélectifs et risquent donc de causer des dommages collatéraux. De plus, il n'est pas certain qu'une cellule préservée de la mort se développe normalement par la suite. Dans tous les cas, l'efficacité de ces différentes stratégies sera renforcée par l'utilisation combinée de thérapies ciblant l'apoptose avec des approches plus conventionnelles (chimio- et radiothérapies).

Pour notre part, nous avons choisi de nous intéresser aux protéines de la famille Bcl-2.

¹⁸ Sun, H. ; Nikolovska-Coleska, Z. ; Chen, J. ; Yang, C. -Y. ; Tomita, Y. ; Pan, H. ; Yoshioka, Y. ; Krajewski, K. ; Roller, P. P. ; Wang, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 793-797.

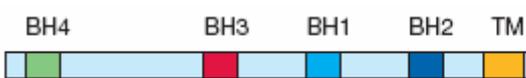
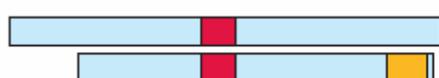
¹⁹ a) Nikolovska-Coleska, Z. ; Xu, L. ; Hu, Z. ; Tomita, Y. ; Li, P. ; Roller, P. P. ; Wang, R. ; Fang, X. ; Guo, R. ; Zhang, M. ; Lippman, M. E. ; Yang, D. ; Wang, S. *J. Med. Chem.* 2004, 47, 2430-2440; b) Sun, H. ; Nikolovska-Coleska, Z. ; Chen, J. ; Yang, C.-Y. ; Wang, S. *Tetrahedron Lett.* 2005, 46, 7015-7018.

I.2 - Les protéines de la famille Bcl-2

I.2.1 - Présentation

La famille des protéines Bcl-2 est constituée d'au moins 12 membres chez l'homme, qui possèdent dans leur séquence primaire des enchaînements d'acides aminés communs, appelés "Bcl-2 homology domain" (BH). Elle est divisée en trois groupes selon que ses membres possèdent de un à quatre de ces domaines et selon leur activité apoptotique (Tableau 1).

Tableau 1 : Classement hiérarchique des protéines de la famille Bcl-2.⁷

| Groupe | Description | Domaines BH | Fonction | Exemples |
|--------|---|-----------------------|----------------------|-----------------------------------|
| I |  Bcl-2 | BH1, BH2, BH3, BH4 | anti- apoptotique | Bcl-2, Bcl-x _L . |
| II |  Bax | BH1, BH2, BH3 | pro- apoptotique | Bax, Bak, Bcl-x _S . |
| III |  Bid Bik | BH3 | pro- apoptotique | Bid, Bad, Bik. |

La grande majorité de ces protéines possèdent sur son extrémité C-terminale un domaine transmembranaire, appelé TM, qui est supposé conférer à son détenteur un certain tropisme membranaire (membranes mitochondriale, nucléaire, du réticulum endoplasmique...). Certaines protéines du groupe III ne partagent qu'un seul domaine d'homologie avec les autres groupes, le domaine BH3, c'est pourquoi elles sont appelées "BH3-only".

I.2.2 - Structures et Propriétés

Les protéines de la famille Bcl-2 régulent l'apoptose en partie grâce au contrôle de la libération de plusieurs facteurs proapoptotiques, comme le cytochrome c, par la mitochondrie. Par exemple, Bcl-2 et Bcl-x_L empêchent sa libération dans le cytosol tandis que Bax la déclenche. Ces protéines possèdent des propriétés particulières comme la faculté de former des homo- et hétérodimères, mais également des pores ou des canaux ioniques dans les membranes synthétiques.

Chapitre 1 : Introduction.

Ces différentes propriétés pourraient expliquer certains aspects de leur comportement au cours du processus apoptotique.²⁰ A partir de diverses observations structurales, plusieurs mécanismes ont pu être envisagés.

1.2.2.1 - Relations structure-fonction

Les études structurales des protéines de la famille Bcl-2 ont permis une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires régissant l'apoptose, ainsi que de leur mode d'interaction les unes avec les autres.

1.2.2.1.1 - Structures :²¹

La première structure d'un des membres de la famille Bcl-2 décrite dans la littérature a été celle de Bcl-x_L, déterminée par cristallographie des rayons X et par RMN.^{22,23} Les auteurs ont travaillé sur une forme biologiquement active de la protéine, sans le domaine transmembranaire C-terminal. Bcl-x_L est constituée de huit hélices **amphipatiques** (un peptide est dit amphipatique ou amphiphile lorsqu'il contient à la fois des acides aminés hydrophiles et hydrophobes). Ces huit hélices sont reliées entre elles par des boucles de longueur variable (**Figure 6**). Deux hélices centrales $\alpha 5$ et $\alpha 6$, majoritairement hydrophobes, forment le coeur de la protéine et sont entourées des hélices $\alpha 1$ et $\alpha 2$ d'une part, puis $\alpha 3$ et $\alpha 4$ d'autre part. Il faut noter également la présence d'une longue boucle non structurée en solution, entre les hélices $\alpha 1$ et $\alpha 2$: elle ne semble pas essentielle à l'activité de la protéine car sa suppression n'a pas d'effet notable sur le rôle antiapoptotique de la protéine. Enfin, les domaines BH1 à BH3 sont proches dans l'espace et forment une poche hydrophobe à la surface de la protéine.

²⁰ Vander Heiden, M. G. ; Thompson, C. B. *Nat. Cell Biol.* **1999**, *1*, E209-E216.

²¹ Petros, A. M. ; Olejniczak, E. T. ; Fesik, S. W. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1644*, 83-94.

²² Muchmore, S. W. ; Sattler, M. ; Liang, H. ; Meadows, R. P. ; Harlan, J. E. ; Yoon, H. ; Nettlesheim, D. ; Chang, B. S. ; Thompson, C. B. *et al. Nature* **1996**, *381*, 335-341.

²³ Aritomi, M. ; Kunishima, N. ; Inohara, N. ; Ishibashi, Y. ; Ohta, S. ; Morikawa, K. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 27886-27892.

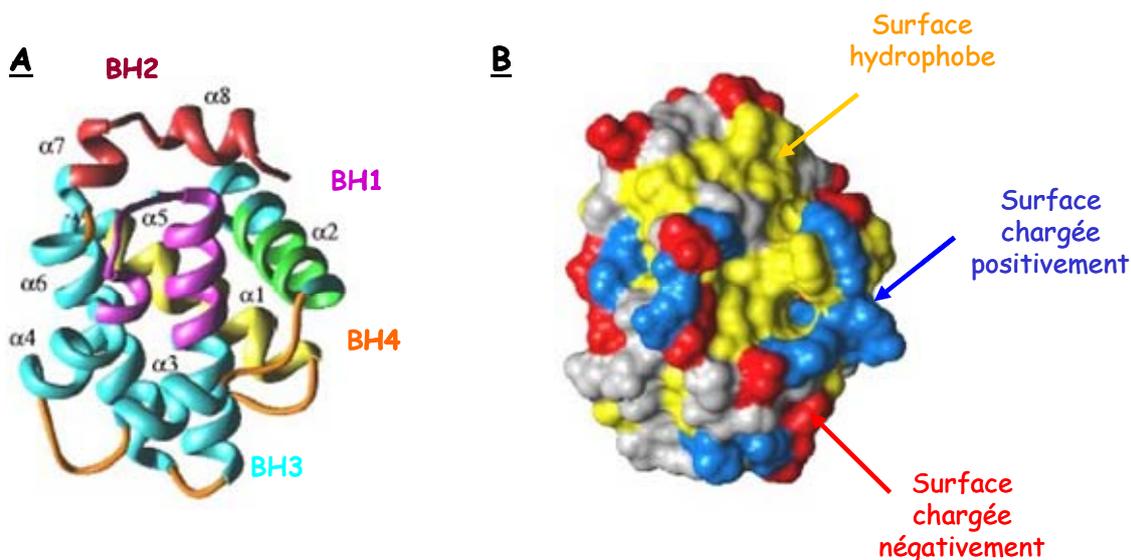


Figure 6 : structures en rubans de Bcl-x_L (A) et représentation des surfaces hydrophobes et électrostatiques (B) (d'après Petros *et al.*²¹).

La structure tridimensionnelle de Bcl-2²⁴ a également été déterminée : plus exactement deux isoformes de Bcl-2 ont été étudiées ; elles ont été obtenues par suppression de 11 acides aminés du domaine C-terminal et par remplacement de la boucle qui lie $\alpha 1$ et $\alpha 2$ par celle présente dans Bcl-x_L, ceci afin d'améliorer la solubilité de la protéine dans les conditions de l'étude RMN. La structure est très similaire à celle de Bcl-x_L puisqu'elle est constituée de huit hélices amphipatiques avec une poche hydrophobe de surface. La topologie et la répartition globale des charges électrostatiques au niveau de la poche hydrophobe diffèrent cependant entre les deux protéines.²¹

Les protéines de la famille Bcl-2 sont connues pour leur aptitude à former des hétérodimères entre membres pro- et antiapoptotiques.¹⁵ Pour ce qui est des membres antiapoptotiques, plusieurs domaines BH semblent être fortement impliqués dans la dimérisation alors que seule une petite portion du domaine BH3 des protéines proapoptotiques serait suffisante.²⁵ Afin de mieux comprendre les interactions spécifiques entre les deux partenaires, Fesik *et al.*²⁶ ont déterminé la structure RMN en solution du complexe formé par Bcl-x_L et un peptide de 16 résidus dérivé du domaine BH3 de la protéine proapoptotique Bak (résidus 72 à 87). La structure

²⁴ Petros, A. M. ; Medek, A. ; Nettlesheim, D. G. ; Kim, D. H. ; Yoon, H. S. ; Swift, K. ; Matayoshi, E. D. ; Oltersdorf, T. ; Fesik, S. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 3012-3017.

²⁵ Chittenden, T. *Cancer Cell* 2002, 2, 165-166.

²⁶ Sattler, M. ; Liang, H. ; Nettlesheim, D. ; Meadows, R. P. ; Harlan, J. E. ; Eberstadt, M. ; Yoon, H. S. ; Shuker, S. B. ; Chang, B. S. ; Minn, A. J. ; Thompson, C. B. ; Fesik, S. W. *Science* 1997, 275, 983-986.

tridimensionnelle de Bcl-x_L dans le complexe est très similaire à celle de la protéine libre. Le peptide se lie à la protéine au niveau de la poche hydrophobe de surface que forment les domaines BH1 à BH3 de Bcl-x_L. Lors de la formation du complexe, il adopte une conformation en hélice α , alors qu'il n'était pas structuré auparavant. Plusieurs acides aminés hydrophobes du peptide établissent un contact avec ceux de la poche de reconnaissance, ces interactions sont renforcées par des contributions électrostatiques, en particulier entre six acides aminés : deux résidus arginine et un résidu acide glutamique de Bcl-x_L interagissent avec deux acides aspartique et une arginine du peptide dérivé de Bak (*cf. annexe p. 265 pour les formules des acides aminés*) (Figure 7).

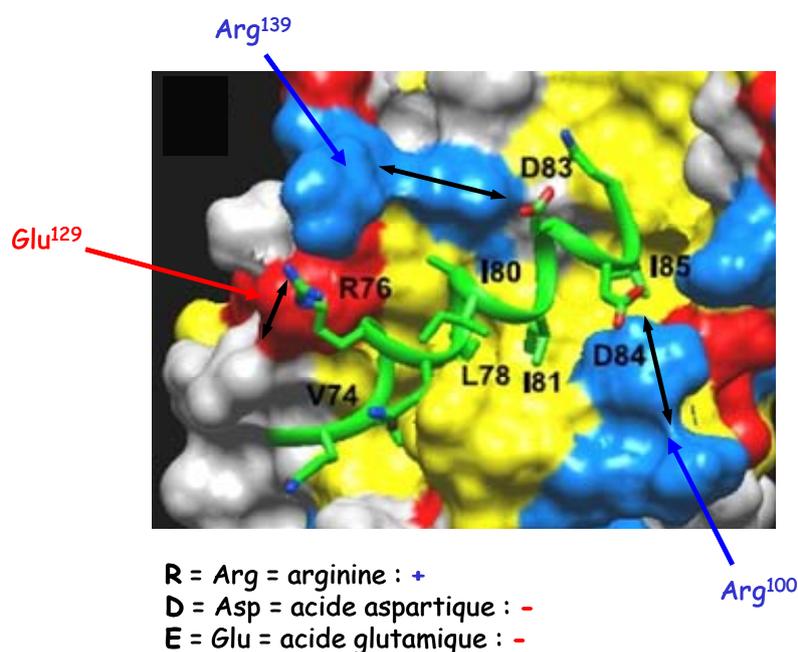


Figure 7 : représentation en rubans du complexe Bcl-x_L / peptide dérivé de Bak (A) et interactions électrostatiques au niveau de la poche hydrophobe (B) (d'après Petros *et al.*²¹).

La structure du complexe formé par Bcl-x_L et un peptide dérivé du domaine BH3 de Bad²⁷ a également été décrite. Des observations similaires ont pu être faites, à la différence que la séquence du peptide dérivé de Bad comporte 25 acides aminés au lieu de 16 pour Bak. A première vue, ces résidus supplémentaires n'ont pas pour objectif de générer des interactions stabilisantes supplémentaires mais sont plutôt responsables de la capacité du peptide à se structurer en hélice α ou non.

²⁷ Petros, A. M. ; Nettlesheim, D. G. ; Wang, Y. ; Olejniczak, E. T. ; Meadows, R. P. ; Mack, J. ; Swift, K. ; Matayoshi, E. D. ; Zhang, H. ; Thompson, C. B. ; Fesik, S. W. *Protein Sci.* 2000, 9, 2528-2534.

Chapitre 1 : Introduction.

Il existe encore d'autres exemples de structures des protéines de la famille Bcl-2 dans la littérature : la structure de Bid en solution a été résolue par RMN^{28,29} et la structure de la protéine proapoptotique Bax a été également déterminée par RMN³⁰ (cf. chapitre 2 - II.1.1 -). Cette dernière présente de grandes similitudes avec Bcl-2 et Bcl-x_L : la principale différence réside dans le fait que l'hélice C-terminale transmembranaire $\alpha 9$ repose dans sa propre cavité hydrophobe, bloquant ainsi la disponibilité de cette région vis-à-vis d'une éventuelle hétérodimérisation avec un autre membre de la famille, en conditions non apoptotiques.

Ainsi, malgré des séquences et des fonctions différentes, les protéines de la famille Bcl-2 possèdent de grandes similitudes structurales.

1.2.2.1.2 - Formation d'homo- et d'hétérodimères :

Les membres proapoptotiques de la famille Bcl-2 sont capables de former des hétérodimères avec les protéines antiapoptotiques, ce qui annule leurs propriétés respectives. Nous avons vu précédemment que les protéines antiapoptotiques possédaient une poche hydrophobe de surface délimitée par les domaines BH1, BH2 et BH3 : celle-ci est supposée être le site d'interaction avec le domaine BH3 des membres proapoptotiques comme Bax et Bak lors de l'hétérodimérisation. La plupart des membres de la famille Bcl-2 peuvent également former des homodimères, en particulier la protéine Bax forme des oligomères à la surface de la mitochondrie.³¹ Letai *et al.*³² ont proposé un modèle selon lequel l'équilibre entre ces différentes protéines serait régulé comme un "rhéostat" :

✦ après induction de l'apoptose, si la quantité de membres antiapoptotiques (Bcl-2, Bcl-x_L) est supérieure à celle des protéines proapoptotiques (Bax, Bad, Bid), l'apoptose est bloquée par la formation des hétérodimères de type Bcl-2/Bax ;

✦ au contraire s'il y a un excès de membres proapoptotiques par rapport aux sites de séquestration disponibles (Bcl-2 et Bcl-x_L), la cascade apoptotique est déclenchée *via* la formation d'homodimères Bax/Bax par exemple.

²⁸ McDonnell, J. M. ; Fushman, D. ; Milliman, C. L. ; Korsmeyer, S. J. ; Cowburn, D. *Cell* **1999**, *96*, 625-634.

²⁹ Chou, J. J. ; Li, H. ; Salvesen, G. S. ; Yuan, J. ; Wagner, G. *Cell* **1999**, *96*, 615-624.

³⁰ Suzuki, M. ; Youle, R. J. ; Tjandra, N. *Cell* **2000**, *103*, 645-654.

³¹ Hsu, Y.-T. ; Youle, R. J. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 10777-10783.

³² Letai, A. ; Bassik, M. C. ; Walensky, L. D. ; Sorcinelli, M. D. ; Weiler, S. ; Korsmeyer, S. J. *Cancer Cell* **2002**, *2*, 183-192.

1.2.2.1.3 - Localisation :³³

La distribution des membres pro- et antiapoptotiques est différente selon que les cellules sont saines ou apoptotiques.

Les deux tiers de la protéine Bcl-2 sont localisés sur la membrane du réticulum endoplasmique et le tiers restant se situe sur la membrane mitochondriale externe dans les cellules saines. Bcl-x_L peut être trouvée aussi bien sous une forme soluble, quasiment cytosolique, que sous une forme complètement intégrée à la membrane mitochondriale. Elle montre en effet une réelle spécificité pour cette dernière, contrairement à Bcl-2. A la suite d'un stimulus de mort, une relocalisation de ces deux protéines, depuis le cytosol vers la mitochondrie, est observée.

Les membres proapoptotiques, quant à eux, ont été initialement décrits comme quasi-totalement cytosoliques dans les cellules saines puis dirigés vers la mitochondrie suite au déclenchement de l'apoptose. En réalité Bak, par exemple, est insérée en majorité dans la membrane mitochondriale externe et, dans une proportion moindre, dans la membrane du réticulum endoplasmique. Il a également été montré que Bax pouvait être localisée au niveau du réticulum endoplasmique dans les cellules saines, mais elle reste à 60% sous forme soluble et cytosolique. Elle ne se relocalise au niveau de la membrane mitochondriale externe que suite à un stimulus apoptotique. Toutes ces protéines, exceptées quelques unes du groupe III, possèdent un domaine C-terminal hydrophobe transmembranaire, qui pourrait être responsable de leur adressage puis de leur ancrage au niveau de la membrane mitochondriale.

1.2.2.1.4 - Formation de pores transmembranaires :

Une autre particularité de ces protéines est leur grande similitude structurale avec certaines toxines bactériennes comme la toxine diphtérique (*Diphtheria Toxin*) et les colicines. Ces protéines sont connues pour leur aptitude à former des pores transmembranaires³⁴ qui proviendrait de la présence de trois cavités hydrophobes autour de deux hélices centrales principalement hydrophobes (Figure 8). Ces caractéristiques sont parfaitement retrouvées dans les structures des protéines telles que Bcl-2, Bcl-x_L ou Bax. Les hélices centrales $\alpha 5$ et $\alpha 6$ sont suffisamment longues pour traverser une bicouche lipidique ; de plus, la concentration de charges positives au sommet de

³³ Schinzel, A. ; Kaufmann, T. ; Borner, C. *Biochim. Biophys. Acta* 2004, 1644, 95-105.

³⁴ London, E. *Biochim. Biophys. Acta* 1992, 1113, 25-51.

la poche hydrophobe de surface permettrait d'interagir électrostatiquement avec les charges négatives de la surface membranaire mitochondriale.^{23,35} Sur la base de ces observations, il a été postulé que les protéines Bcl-2 pouvaient former des pores dans les membranes.

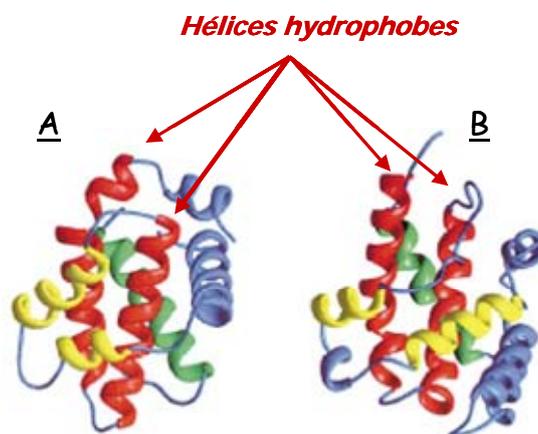


Figure 8 : Comparaison des structures de Bcl-x_L (A) et du domaine de formation de pore de la toxine diphtérique (B) (d'après Fesik *et al.*³⁵).

Effectivement, il a été montré par la suite que les protéines Bcl-x_L,³⁶ Bcl-2³⁷ et Bax³⁸ pouvaient former des canaux ioniques lorsqu'elles étaient insérées dans des bicouches lipidiques synthétiques.^{35,39} Le rôle joué par ces pores dans la régulation de l'apoptose n'est pas encore tout à fait clair, cependant des hypothèses sont émises quant à leur implication dans la perturbation de l'intégrité de la membrane mitochondriale et dans la libération du cytochrome c.

1.2.2.2 - Mécanisme d'action : quelques hypothèses

La résolution des structures tridimensionnelles de plusieurs membres des protéines de la famille Bcl-2, combinée avec la mise en évidence de quelques-unes de leurs propriétés caractéristiques, permet d'avancer plusieurs hypothèses sur leur mode d'action au sein du processus

³⁵ Fesik, S. W. *Cell* 2000, 103, 273-282.

³⁶ Minn, A. J. ; Velez, P. ; Schendel, S. L. ; Liang, H. ; Muchmore, S. W. ; Fesik, S. W. ; Fill, M. ; Thompson, C. B. *Nature* 1997, 385, 353-357.

³⁷ Schendel, S. L. ; Xie, Z. ; Montal, M. O. ; Matsuyama, S. ; Montal, M. ; Reed, J. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 5113-5118.

³⁸ a) Antonsson, B. ; Conti, F. ; Ciavatta, A. ; Montessuit, S. ; Lewis, S. ; Martinou, I. ; Bernasconi, L. ; Bernard, A. ; Mermod, J.-J. ; Mazzei, G. ; Maundrell, K. ; Gambale, F. ; Sadoul, R. ; Martinou, J.-C. *Science* 1997, 277, 370-372 ;
b) Epand, R. F. ; Martinou, J.-C. ; Montessuit, S. ; Epand, R. M. ; Yip, C. M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002, 298, 744-749.

³⁹ Garcia-Saez, A. J. ; Mingarro, I. ; Perez-Paya, E. ; Salgado, J. *Biochemistry* 2004, 43, 10930-10943.

apoptotique au niveau de la mitochondrie (Figure 9). La plupart d'entre elles repose sur la formation de pores ou de larges canaux conducteurs d'ions par une (ou plusieurs) protéine(s) de type Bcl-2, associée(s) ou non avec d'autres protéines.

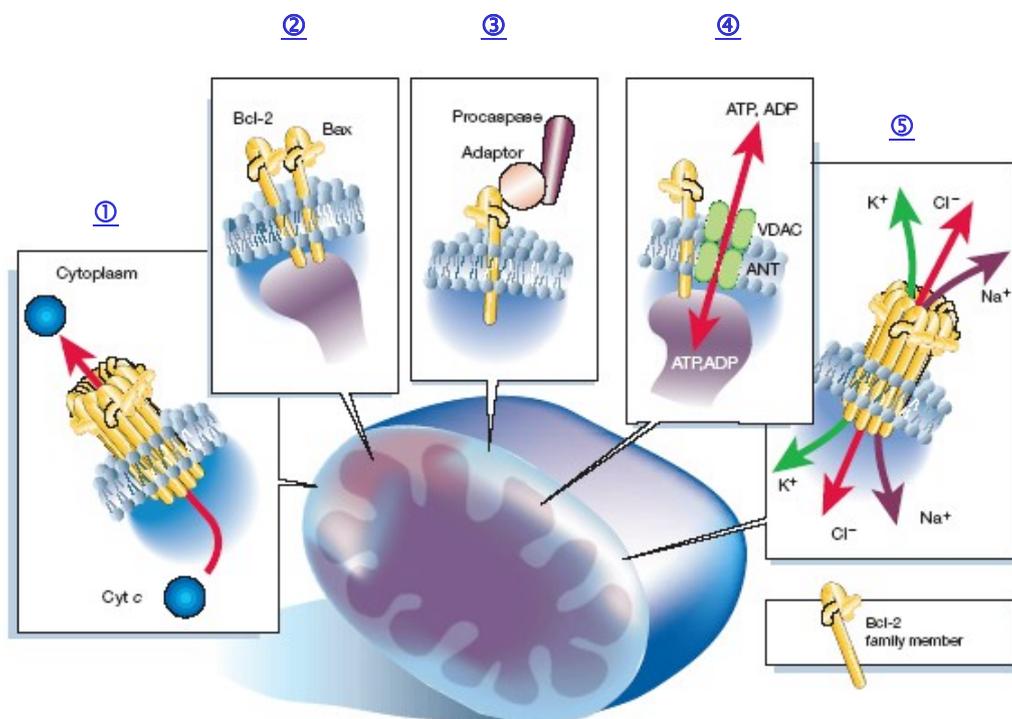


Figure 9 : régulation de la libération du cytochrome c par les protéines de la famille Bcl-2 (d'après Hengartner *et al.*⁷).

Il pourrait, par exemple, se former un pore par lequel le cytochrome c et d'autres protéines s'échapperaient de l'espace intermembranaire mitochondrial (1). Une autre possibilité serait la création de canaux, voire de pores transmembranaires mitochondriaux grâce à l'hétérodimérisation des protéines Bcl-2 et Bax, suite à un stimulus proapoptotique (2). Les protéines Bcl-2 pourraient également : réguler directement les caspases, au niveau de la membrane mitochondriale *via* une protéine adaptatrice (3) ou bien recruter d'autres protéines de la membrane externe mitochondriale pour former ensemble un large canal (4). Enfin, une dernière hypothèse est que l'oligomérisation de ces protéines crée un canal conducteur d'ions faiblement sélectif (5). L'ensemble des mécanismes présentés ci-dessus n'est pas exhaustif et aucun de ces modèles n'a pu être validé de façon définitive.

L'ensemble de ces données structurales et, en particulier la détermination des structures des complexes formés par Bcl-x_L avec les peptides dérivés de Bak et de Bad, a permis la conception puis la synthèse d'inhibiteurs des protéines de type Bcl-2.

I.2.3 - Les inhibiteurs des protéines antiapoptotiques de la famille Bcl-2

Dans certains cancers, le taux des protéines régulatrices de l'apoptose est souvent altéré de façon à permettre aux cellules tumorales de rester en vie malgré le déclenchement du processus apoptotique. Par exemple, la protéine Bcl-2 est surexprimée dans de nombreux cancers et est impliquée dans la résistance aux traitements par radiothérapie et par chimiothérapie. Elle représente donc une cible attractive pour le traitement des cancers pour lesquels elle est surexprimée ou bien ceux pour lesquels les thérapies traditionnelles ont échoué. De ce fait, plusieurs groupes se sont intéressés à Bcl-2 et Bcl-x_L en tant que cibles thérapeutiques, avec pour but de concevoir et de synthétiser des inhibiteurs de ces protéines qui permettraient, en bloquant leur fonction antiapoptotique, de restaurer le processus apoptotique normal dans les cellules cancéreuses.⁴⁰ Pour cela, ils se sont appuyés sur les données structurales apportées par les structures tridimensionnelles de Bcl-2 et Bcl-x_L afin de rechercher des ligands non peptidiques de la poche hydrophobe de ces protéines. La grande majorité de ces études sont basées sur le criblage informatique de banques de molécules préexistantes ou bien sur la conception *in silico* de petites molécules organiques (Figure 11) :

✦ Wang *et al.*⁴⁰ ont ainsi découvert HA14-1 (9 - Figure 11), une molécule organique de 409 g.mol⁻¹ comme ligand non peptidique de la poche hydrophobe de Bcl-2. Les tests *in vitro* ont montré que ce nouvel inhibiteur se lie à la surface de Bcl-2 et induit l'apoptose par activation des caspases-9 puis -3 selon une voie différente de la voie extrinsèque ;

✦ Tzung *et al.*^{41,42} se sont basés sur le fait que les protéines Bcl-2 pouvaient affecter l'intégrité de la mitochondrie. Ils ont donc émis l'hypothèse que les petites molécules organiques, connues jusqu'ici comme inhibiteurs de la respiration mitochondriale, pourraient également déclencher l'apoptose. Ils ont ainsi montré que l'Antimycine A (10 - Figure 11), un inhibiteur du transfert électronique mitochondrial, se lie à la poche hydrophobe de Bcl-x_L, entrant ainsi en compétition avec le domaine BH3 des membres proapoptotiques (Figure 10). Ce composé inhibe

⁴⁰ Wang, J.-L. ; Liu, D. ; Zhang, Z.-J. ; Shan, S. ; Han, X. ; Srinivasula, S. M. ; Croce, C. M. ; Alnemri, E. S. ; Huang, Z. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000, 97, 7124-7129.

⁴¹ Tzung, S.-P. ; Kim, K. M. ; Basanez, G. ; Giedt, C. D. ; Simon, J. ; Zimmerberg, J. ; Zhang, K. Y. J. ; Hockenbery, D. M. *Nat. Cell Biol.* 2001, 3, 183-192.

⁴² Kim, K. M. ; Giedt, C. D. ; Basanez, G. ; O'Neil, J. W. ; Hill, J. J. ; Han, Y.-H. ; Tzung, S.-P. ; Zimmerberg, J. ; Hockenbery, D. M. ; Zhang, K. Y. J. *Biochemistry* 2001, 40, 4911-4922.

également la capacité de Bcl-x_L à former des pores transmembranaires et induit l'apoptose, sans qu'un réel lien de cause à effet entre les deux événements ait cependant été trouvé ;

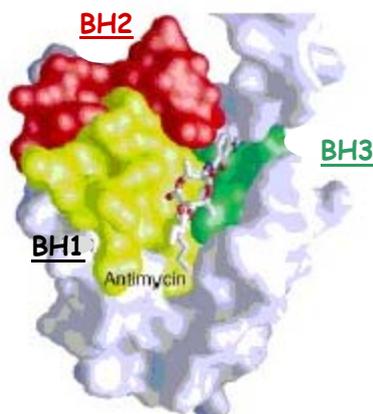


Figure 10 : modélisation du complexe formé par l'Antimycine A et la poche hydrophobe de Bcl-x_L (d'après Tzung *et al.*⁴¹).

✦ Degterev *et al.*^{43,44} se sont attachés à l'étude de l'interaction entre le domaine BH3 des protéines proapoptotiques et la poche hydrophobe de Bcl-x_L. Par criblage d'une base de molécules, ils ont eux aussi mis en évidence une classe de composés : les BH3Is (11 et 12 - Figure 11) qui empêchent l'hétérodimérisation et permettent ainsi à la protéine proapoptotique, précédemment séquestrée, d'être libérée et donc d'induire l'apoptose ;

✦ Enyedy *et al.*⁴⁵ ont également appliqué le criblage informatique de la banque du National Cancer Institute (NCI), en se focalisant sur le site d'interaction domaine BH3/poche hydrophobe de Bcl-2. Sur 206 876 composés testés, un composé actif avec le plus faible IC₅₀ (10 μM) a été retenu (13 - Figure 11). Il induit l'apoptose dans les cellules cancéreuses surexprimant Bcl-2. Des études RMN ont montré qu'il se liait à Bcl-x_L d'une manière comparable à celles des peptides BH3 dérivés de Bak et Bad.

⁴³ Degterev, A. ; Lugovskoy, A. ; Cardone, M. ; Mulley, B. ; Wagner, G. ; Mitchison, T. ; Yuan, J. *Nat. Cell Biol.* 2001, 3, 173-182.

⁴⁴ Lugovskoy, A. A. ; Degterev, A. I. ; Fahmy, A. F. ; Zhou, P. ; Gross, J. D. ; Yuan, J. ; Wagner, G. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 1234-1240.

⁴⁵ Enyedy, I. J. ; Ling, Y. ; Nacro, K. ; Tomita, Y. ; Wu, X. ; Cao, Y. ; Guo, R. ; Li, B. ; Zhu, X. ; Huang, Y. ; Long, Y.-Q. ; Roller, P. P. ; Yang, D. ; Wang, S. *J. Med. Chem.* 2001, 44, 4313-4324.

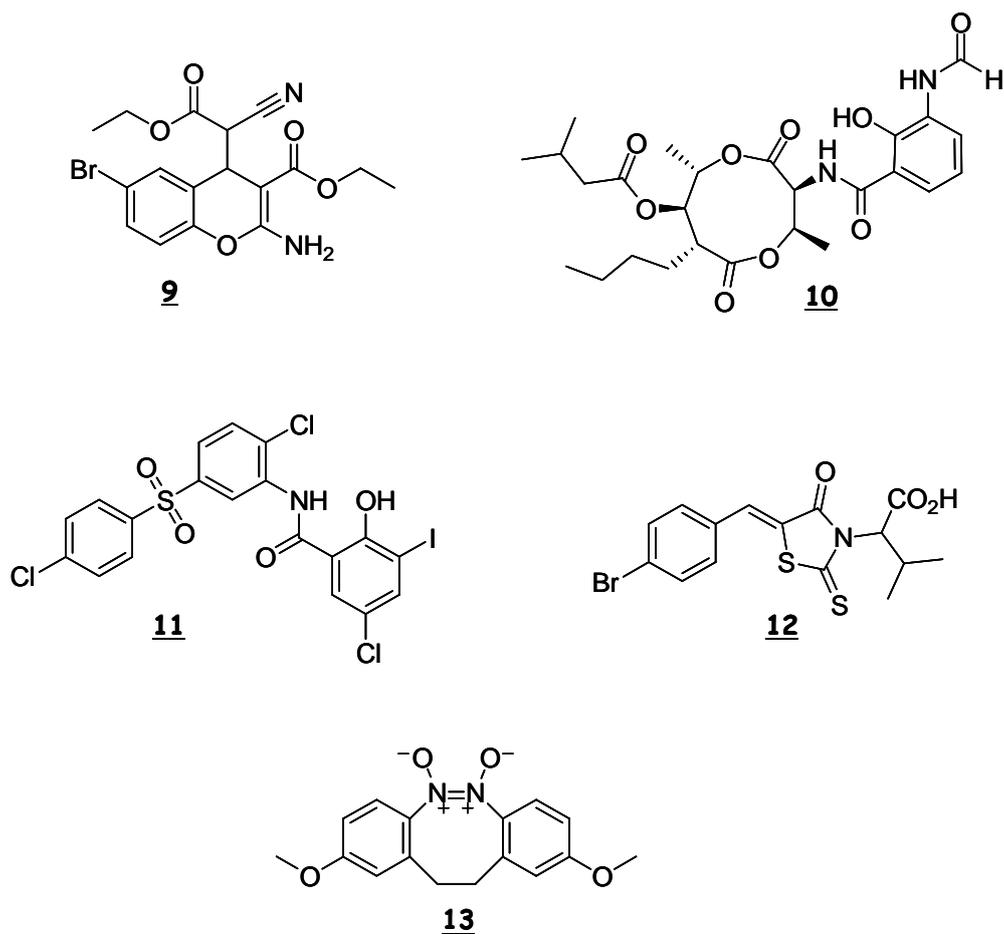


Figure 11 : quelques inhibiteurs de Bcl-2 et de Bcl-x_L.⁴⁰⁻⁴⁵

D'autres études concernant la conception d'inhibiteurs de Bcl-x_L et Bcl-2 sont en cours.^{46,47,48} La stratégie principalement utilisée consiste à mimer les interactions Bcl-x_L/peptide BH3 par modification structurale de peptides bien définis afin de trouver des ligands pouvant entrer en compétition avec les peptides BH3 au niveau de la poche hydrophobe.

⁴⁶ a) Chin, J. W. ; Schepartz, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, 40, 3806-3809 ; b) Kutzki, O. ; Park, H. S. ; Ernst, J. T. ; Orner, B. P. ; Yin, H. ; Hamilton, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 11838-11839 ; c) Gemperli, A. C. ; Rutledge, S. E. ; Maranda, A. ; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 1596-1597.

⁴⁷ a) Ernst, J. T. ; Becerril, J. ; Park, H. S. ; Yin, H. ; Hamilton, A. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 535-539 ; b) Yin, H. ; Hamilton, A. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2004, 14, 1375-1379 ; c) Yin, H. ; Lee, G.-I. ; Sedey, K. A. ; Rodriguez, J. M. ; Wang, H.-G. ; Sebti, S. M. ; Hamilton, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 5463-5468 ; d) Yin, H. ; Lee, G.-I. ; Sedey, K. A. ; Kutzki, O. ; Park, H. S. ; Orner, B. P. ; Ernst, J. T. ; Wang, H.-G. ; Sebti, S. M. ; Hamilton, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 10191-10196.

⁴⁸ Wang, D. ; Liao, W. ; Arora, P. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 6525-6529.

Chapitre 1 : Introduction.

Ces exemples montrent que, si peu d'inhibiteurs des membres de la famille Bcl-2 ont été découverts à ce jour, ils représentent cependant un point de départ encourageant pour le développement d'une nouvelle classe d'agents proapoptotiques. Les protéines de la famille Bcl-2 restent des cibles thérapeutiques très prometteuses. La découverte de petites molécules organiques capables de se lier à ces protéines devrait faciliter la compréhension des événements moléculaires responsables de la régulation de l'apoptose. Parmi les protéines de la famille Bcl-2, les membres proapoptotiques, et en particulier la protéine Bax, constituent une source d'intérêt croissant pour les chimistes et les biologistes à la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques. C'est cette cible particulière sur laquelle nous avons porté notre attention au cours de ce travail.

CHAPITRE 2

BAX COMME CIBLE THERAPEUTIQUE

La protéine Bax est un membre proapoptotique du groupe II de la famille Bcl-2 : elle accélère le processus de mort cellulaire programmée en provoquant la libération du cytochrome c et d'autres facteurs mitochondriaux. Son mode d'action fait l'objet de nombreuses études aux résultats souvent controversés.

II.1 - Structure & Localisation au cours de l'apoptose

II.1.1 - Structure tridimensionnelle³⁰

Bax est le premier membre proapoptotique de la famille Bcl-2 à avoir été mis en évidence par le groupe de Korsmeyer en 1993.⁴⁹ C'est une protéine d'environ 21 kDa, dont la séquence primaire est composée de 192 acides aminés. Comme Bcl-2 et Bcl-x_L, elle possède les domaines BH1, BH2 et BH3, mais pas de domaine BH4. L'hélice $\alpha 9$ C-terminale est constituée de 21 acides aminés hydrophobes qui forment un domaine transmembranaire putatif (Figure 12).⁵⁰

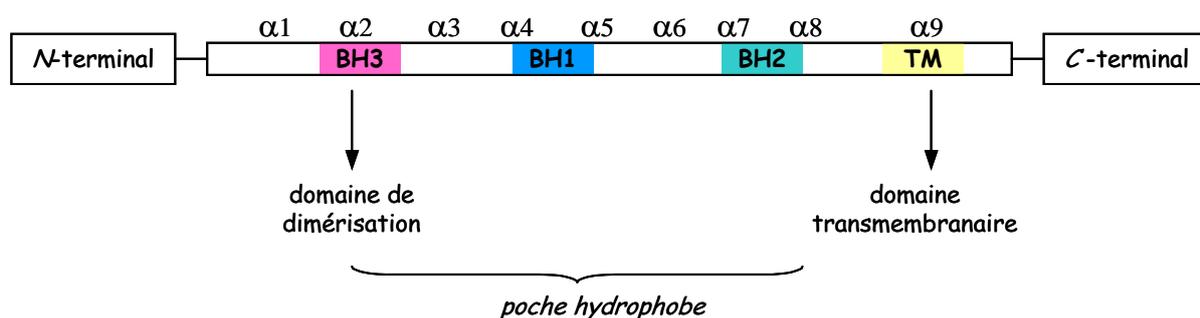


Figure 12 : répartition des différents domaines BH et TM en fonction de la séquence primaire de Bax.

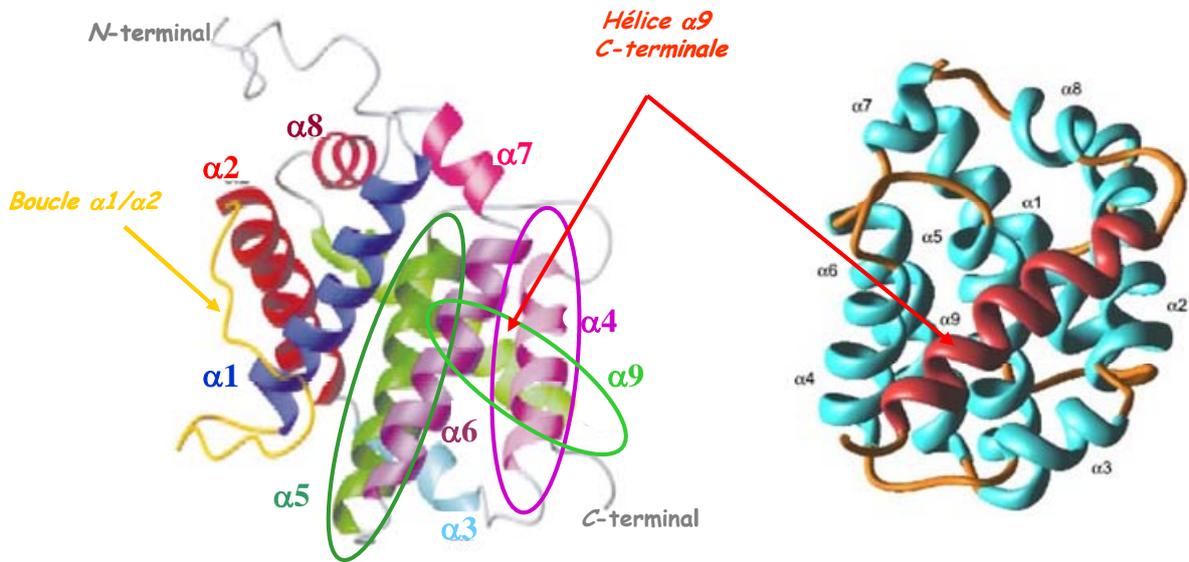
La structure tridimensionnelle de Bax en solution a été établie par RMN en 2000, par Suzuki, Tjandra et Youle.³⁰ La structure tertiaire de la protéine est assez similaire à celles de Bcl-x_L et Bcl-2 (cf. I.2.2.1-) et ce malgré seulement 20% d'homologie de séquence primaire (concentrée principalement dans les domaines BH1, BH2 et BH3). En effet, Bax est constituée de 8 hélices amphipatiques entourant une hélice centrale $\alpha 5$ principalement hydrophobe (Figure 13). Une longue boucle peu structurée relie également les hélices $\alpha 1$ et $\alpha 2$. Les domaines BH1, BH2 et BH3 forment une poche hydrophobe à la surface de la protéine de la même manière que pour Bcl-x_L et

⁴⁹ Oltvai, Z. N. ; Milliman, C. L. ; Korsmeyer, S. J. *Cell* **1993**, *74*, 609-619.

⁵⁰ Nguyen, M. ; Branton, P. E. ; Walton, P. A. ; Oltvai, Z. N. ; Korsmeyer, S. J. ; Shore, G. C. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 16521-16524.

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

Bcl-2. Le domaine BH3, supposé nécessaire pour les phénomènes de dimérisation, est localisé au niveau de l'hélice $\alpha 2$. Les 12 résidus de la partie *N*-terminale sont très flexibles et ne sont pas structurés en solution. Enfin, la caractéristique structurale majeure de Bax est la position de l'hélice $\alpha 9$, qui correspond au domaine transmembranaire : elle repose dans la poche hydrophobe de surface, de la même manière que le peptide BH3 dérivé de Bak, mais dans la direction opposée.



Cet arrangement particulier de l'hélice $\alpha 9$ a plusieurs conséquences :

1) une très bonne solubilité de la protéine dans le cytoplasme : la présence de l'hélice $\alpha 9$ dissimule les résidus hydrophobes de la poche de surface mais également ses propres résidus hydrophobes, qui tendent à s'orienter vers l'intérieur de la poche afin de créer des interactions favorables. La séquence de l'hélice *C*-terminale est également riche en acides aminés polaires (Thr172, Thr174, Thr182, Ser184, Thr186) qui sont tous, à l'exception de la sérine en position 184, orientés vers l'extérieur de l'hélice et donc exposés au solvant (Figure 14). La conformation "fermée" de Bax permet ainsi de réduire la surface hydrophobe exposée et favorise le contact entre les acides aminés polaires et le solvant : ceci augmente fortement sa solubilité et est cohérent avec sa localisation quasi-totalement cytosolique dans les cellules non apoptotiques.

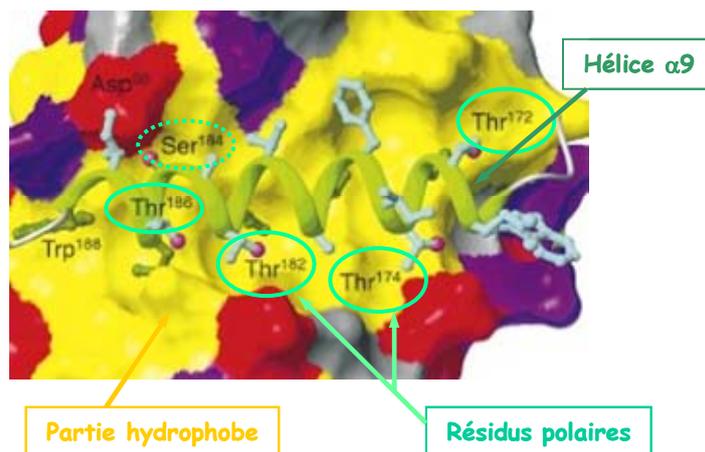


Figure 14 : positionnement de l'hélice $\alpha 9$ (en vert) dans la poche hydrophobe (en jaune)
(d'après Suzuki *et al.*³⁰)

2) le blocage du domaine BH3 : nous avons vu, lors de l'étude du complexe Bcl-x_L/peptide dérivé de Bak (cf. chapitre 1 - I.2.2.1-),²⁶ que les chaînes latérales des résidus hydrophobes de la poche de surface étaient en partie responsables de la stabilisation du complexe, aidées en cela par quelques interactions électrostatiques entre acides aminés chargés. Or, le domaine BH3 de Bax est situé au niveau de l'hélice $\alpha 2$ dont les résidus hydrophobes sont masqués par l'hélice $\alpha 9$. Pour exposer ces résidus et les rendre disponibles, il faudrait un changement conformationnel au cours duquel $\alpha 9$ se désengage de la poche hydrophobe et $\alpha 2$ tourne autour de son axe. La plupart des interactions rompues seraient des interactions polaires et hydrophobes, et cette rotation conduirait à une conformation énergétiquement très instable de la protéine, ce qui suppose des réarrangements supplémentaires d'autres parties de la protéine pour compenser. Il est très peu probable qu'un autre membre de la famille Bcl-2, voulant dimériser avec Bax, puisse entrer en compétition, *via* son domaine BH3, avec le domaine C-terminal, tant que la protéine reste dans cette conformation. Donc, la dimérisation, selon ce modèle, semble impossible dans le cytoplasme, sans qu'un stimulus provoque le désengagement de l'hélice $\alpha 9$ et ainsi l'exposition de la poche hydrophobe.

Ces conclusions sont compatibles avec les précédentes observations du groupe de Youle,^{30,31,51} selon lesquelles, dans les conditions non-apoptotiques, Bax est localisée dans le cytosol

⁵¹ Wolter, K. G. ; Hsu, Y.-T. ; Smith, C. L. ; Nechushtan, A. ; Xi, X.-G. ; Youle, R. J. *J. Cell Biol.* 1997, 139, 1281-1292.

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

sous forme totalement monomérique. Certains groupes⁵² décrivent cependant une localisation mitochondriale, dans laquelle Bax serait faiblement attachée à la surface de la membrane.

Par rapport à Bcl-2 et Bcl-x_L, Bax adopte un comportement très particulier au cours de l'apoptose. Elle se relocalise le long de la membrane mitochondriale et la formation d'homo- et d'hétérodimères est observée. Ces observations impliquent un profond changement structural de la protéine suite à un stimulus de mort.

II.1.2 - Comportement & Propriétés au cours de l'apoptose

II.1.2.1 - Localisation de Bax dans la cellule

L'équipe de R.J. Youle^{51,53} s'est intéressée à la localisation cellulaire de Bax avant et après induction de l'apoptose. Pour cela, ils ont créé une protéine chimère en liant au résidu *N*-terminal de Bax une protéine fluorescente, la "Green Fluorescent Protein" (GFP),⁵⁴ qui permet de suivre la localisation de Bax dans la cellule vivante et en temps réel par microscopie confocale.

Nous avons vu (cf. chapitre 1 - I.2.2.1-) que les protéines Bcl-2 et Bcl-x_L étaient principalement localisées au niveau des membranes du réticulum endoplasmique et de la mitochondrie, aussi bien dans les cellules saines qu'apoptotiques.³³ Au contraire, Youle^{51,53} a montré que Bax était majoritairement sous forme soluble et répartie de façon diffuse dans le cytosol des cellules saines. Suite au déclenchement artificiel de l'apoptose, elle subit un changement de distribution pour devenir totalement localisée et liée à la mitochondrie. Les premiers signes morphologiques de l'apoptose sont observés à peine 30 minutes après le début de la redistribution de Bax. La principale hypothèse envisagée est, qu'une fois relocalisée à la surface de la mitochondrie, Bax s'insère dans la membrane mitochondriale externe grâce au domaine transmembranaire de l'hélice $\alpha 9$. Ainsi, l'hélice *C*-terminale jouerait le rôle d'ancre transmembranaire.

⁵² Desagher, S. ; Osen-Sand, A. ; Nichols, A. ; Eskes, R. ; Montessuit, S. ; Lauper, S. ; Maundrell, K. ; Antonsson, B. ; Martinou, J.-C. *J. Cell Biol.* **1999**, *144*, 891-901.

⁵³ Nechushtan, A. ; Smith, C. L. ; Hsu, Y. T. ; Youle, R. J. *EMBO J.* **1999**, *18*, 2330-2341.

⁵⁴ Zimmer, M. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 759-781.

II.1.2.2 - Formation d'oligomères

Nous avons également vu que, dans les cellules non apoptotiques, Bax ne formait pas de dimères. Ceci est expliqué par le fait que son domaine BH3 est masqué par l'hélice $\alpha 9$ dans la conformation inactive. Cependant, il a été montré que Bax formait des hétérodimères avec Bcl-x_L ainsi que des homodimères, voire des assemblages plus gros (oligomères), en présence de différents détergents.³¹ Le groupe de Martinou⁵⁵ a également observé la formation de complexes de Bax, de haut poids moléculaire (96 kDa à 260 kDa), suite à la redistribution de la protéine le long de la membrane mitochondriale. La structure de ces complexes serait en réalité composée d'oligomères de 6 à 8 molécules de Bax. Ce processus d'oligomérisation a été confirmé ultérieurement grâce aux études de microscopie confocale menées par Youle⁵³ puis au moyen d'imagerie subcellulaire sur des cellules vivantes.⁵⁶ L'oligomérisation de Bax à la surface de la mitochondrie succède à sa relocalisation depuis le cytoplasme, et précède la libération de cytochrome c (Figure 15).

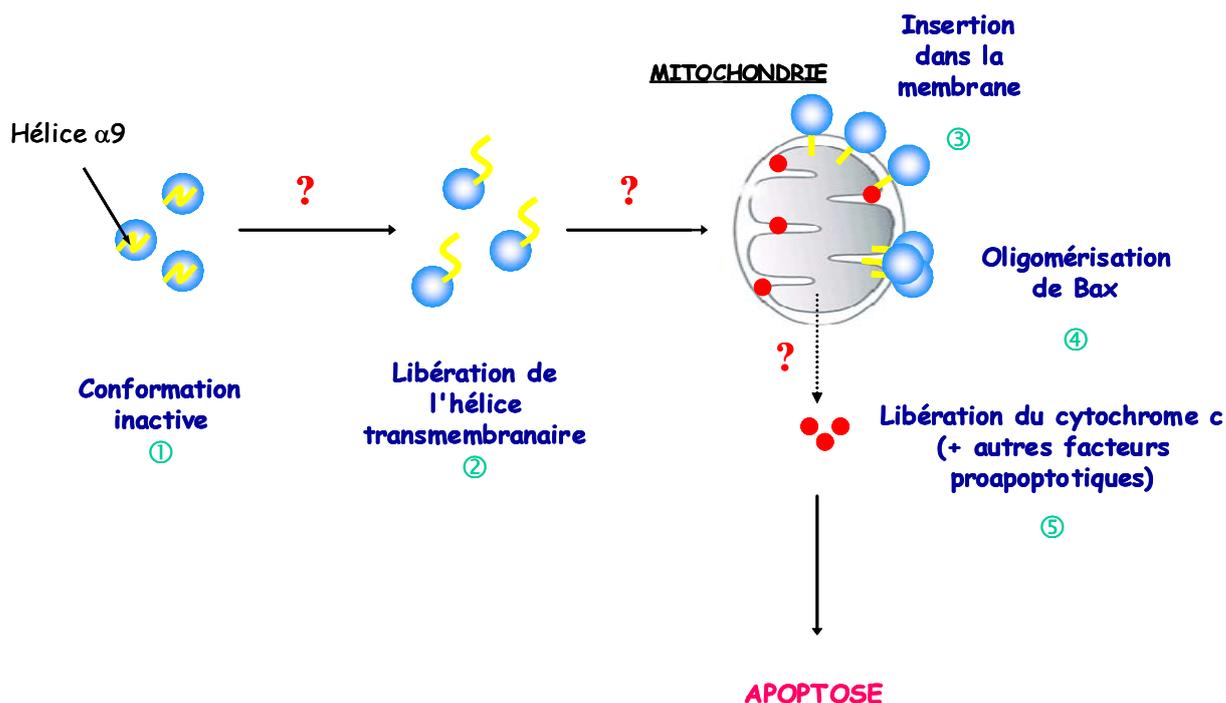


Figure 15 : comportement simplifié de Bax au cours de l'apoptose.

⁵⁵ Antonsson, B. ; Montessuit, S. ; Sanchez, B. ; Martinou, J. C. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 11615-11623.

⁵⁶ De Giorgi, F. ; Lartigue, L. ; Bauer, M. K. A. ; Schubert, A. ; Grimm, S. ; Hanson, G. T. ; Remington, S. J. ; Youle, R. J. ; Ichas, F. *FASEB J.* 2002, 16, 607-609.

L'évolution du comportement et des propriétés de Bax au fil du processus apoptotique, implique des modifications profondes de sa structure tridimensionnelle et suggère l'existence de deux conformations dont une seule serait "active".

II.2 - Changement conformationnel de Bax au cours de l'apoptose

II.2.1 - Mise en évidence

Les observations précédentes ont mis en évidence l'insertion de l'hélice α_9 dans la membrane mitochondriale qui est rapidement suivie par la formation d'oligomères de Bax. Ces deux événements peuvent être inhibés par les protéines Bcl-x_L et Bcl-2, probablement *via* la formation d'hétérodimères.

Il faut, pour que ces deux événements aient lieu, que le domaine BH3 (hélice α_2) soit accessible afin d'interagir avec la poche hydrophobe d'une autre protéine pro- ou antiapoptotique et que l'hélice α_9 se désengage de la poche hydrophobe pour s'insérer dans la membrane mitochondriale. Les études RMN menées par Suzuki et Youle³⁰ ont montré que ce type de réarrangement de la structure de Bax impliquait des modifications au niveau d'autres parties de la protéine :

- ✦ la rotation de l'hélice α_2 autour de son axe (nécessaire à la libération de α_9) provoque une rupture de la poche hydrophobe formée par les hélices α_1 , α_4 , α_5 et α_6 et donc une déstabilisation énergétique. Pour compenser, ces hélices vont être obligées de trouver un nouvel arrangement plus favorable ;

- ✦ une partie de l'hélice α_1 (résidus 13 à 19 du domaine *N*-terminal), est masquée dans la forme cytosolique de Bax : en effet elle n'est pas accessible aux anticorps qui lui sont spécifiques. En revanche, elle le devient une fois la protéine insérée dans la mitochondrie.⁵³ Il apparaît donc que cette portion de l'hélice *N*-terminale subisse, elle aussi un ou plusieurs changements structuraux, suite à un stimulus apoptotique.

Le changement conformationnel subi par la conformation "inactive" cytosolique de Bax est schématisé sur la **figure 16** : seul le désengagement de l'hélice *C*-terminale α_9 de la poche hydrophobe est représenté. Cette représentation permet de mieux visualiser l'exposition du domaine BH3, mais elle ne rend pas compte des autres modifications subies par la protéine.

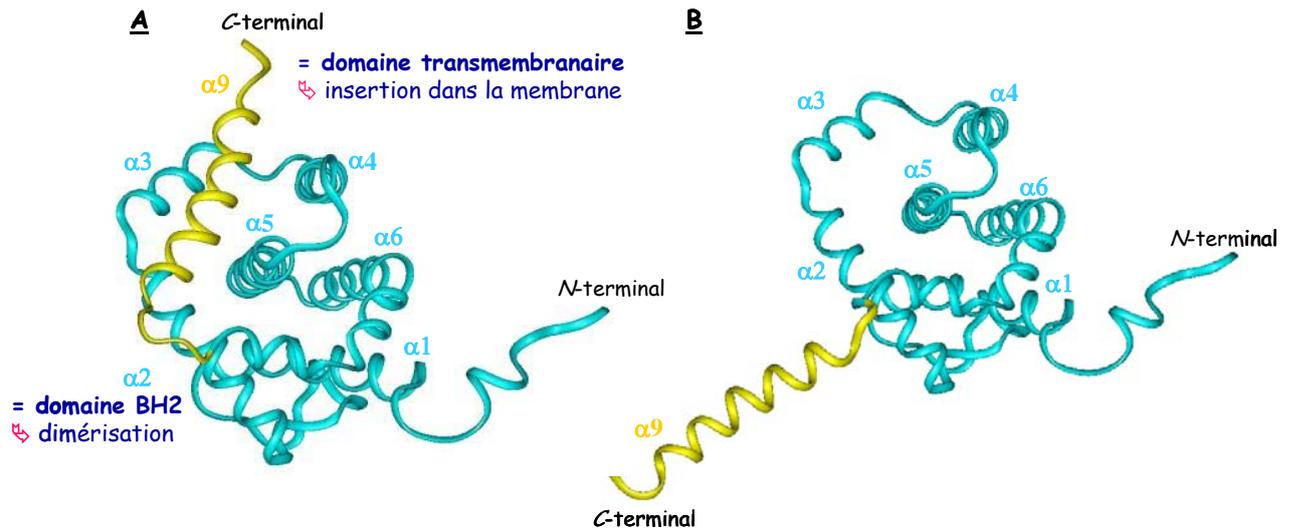


Figure 16 : modèle de représentation des conformations "fermée-inactive" (A) et "ouverte-active" (B) de Bax (générées à l'aide du logiciel INSIGHT II).

Ainsi, le comportement de Bax suite à un stimulus apoptotique implique de profonds bouleversements structuraux afin de générer une conformation "active" de la protéine. De telles modifications sont coûteuses en énergie et ne peuvent intervenir sans un stimulus externe et une force motrice qui déplace le processus vers un état énergétiquement plus favorable. La formation des oligomères pourrait être cette force motrice. Les mécanismes qui régissent ce changement conformationnel ne sont pas encore élucidés mais le rôle de certaines régions de la protéine a pu être mis en évidence. Cependant, certains résultats sont encore sujet à controverse.

II.2.2 - Identification des zones de la protéine impliquées

La nature de la séquence d'adressage de la protéine à la mitochondrie et de celle responsable de l'insertion dans la membrane sont des questions sans réponse, qui sont cependant fondamentales pour la compréhension des mécanismes régissant l'apoptose. La séquence responsable du signal d'adressage n'a pas encore été clairement identifiée : certains la situent au niveau du domaine C-terminal^{53,57} et d'autres, plutôt au niveau du N-terminal.^{58,59}

⁵⁷ Schinzel, A. ; Kaufmann, T. ; Schuler, M. ; Martinalbo, J. ; Grubb, D. ; Borner, C. *J. Cell Biol.* 2004, 164, 1021-1032.

⁵⁸ Goping, I. S. ; Gross, A. ; Lavoie, J. N. ; Nguyen, M. ; Jemmerson, R. ; Roth, K. ; Korsmeyer, S. J. ; Shore, G. C. *J. Cell Biol.* 1998, 143, 207-215.

⁵⁹ Cartron, P.-F. ; Priault, M. ; Oliver, L. ; Meflah, K. ; Manon, S. ; Vallette, F. M. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 11633-11641.

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

Les travaux de Youle^{51,53} ont montré que la suppression de 21, 10 ou même 5 acides aminés sur les 21 qui composent l'hélice C-terminale $\alpha 9$ donne lieu à une protéine totalement cytosolique, qui ne se relocalise plus sous l'action d'un stimulus apoptotique et ne provoque plus l'apoptose. Elle joue donc un rôle crucial dans l'ancrage mitochondrial de Bax. Cependant, elle ne représente pas une séquence d'adressage à la mitochondrie en soi, car les 21 derniers acides aminés, fusionnés à la GFP, ne se localisent pas le long de la membrane mitochondriale, même suite à une induction apoptotique.

D'autre part, il a été montré que la protéine Bax, sans les 19 résidus du domaine N-terminal, était insérée à la mitochondrie.⁵⁸ Ceci pourrait signifier que le domaine N-terminal régule en partie l'activité de l'hélice C-terminale et sa capacité à s'insérer ou non dans la membrane mitochondriale.

Le groupe de Vallette propose un autre modèle dans lequel le domaine N-terminal sert lui-même de séquence d'adressage (résidus 20 à 37). La partie C-terminale serait simplement impliquée dans le contrôle de la conformation inactive de Bax et de la libération de la partie N-terminale. L'insertion mitochondriale serait réalisée par d'autres domaines de la protéine.^{60,61}

Cependant, Schinzel *et al.*⁵⁷ ont montré que le domaine N-terminal n'était pas suffisant pour induire l'activation et l'adressage de Bax dans les conditions physiologiques. En revanche, la plus longue séquence C-terminale testée par Youle,^{51,53} augmentée de deux acides aminés (23 au total donc) est nécessaire et suffisante pour provoquer la relocalisation de Bax à la mitochondrie. Leurs résultats les amènent à la conclusion que la séquence N-terminale présentée par Cartron *et al.*⁶¹ pourrait servir de séquence d'adressage lors des études sur des modèles *in vitro* mais que dans les conditions physiologiques, c'est l'hélice $\alpha 9$ qui remplirait ce rôle. Le domaine N-terminal peut accélérer le phénomène mais pas le provoquer à lui seul. Au cours de ces travaux et, suite à différentes expériences de mutation des acides aminés et de modélisation moléculaire, ils ont identifié un nouvel acide aminé crucial pour le déploiement de l'hélice C-terminale : il s'agit de la proline168, le premier acide aminé dans la boucle précédant l'hélice $\alpha 9$. Si elle est supprimée, le changement conformationnel n'a pas lieu. Par contre, si Pro168 est présente alors que la séquence N-terminale est supprimée, le changement conformationnel a toujours lieu. Le tryptophane170, premier acide aminé de l'hélice $\alpha 9$ proche de Pro168, semble coopérer avec la proline dans la

⁶⁰ Cartron, P.-F. ; Moreau, C. ; Oliver, L. ; Mayat, E. ; Meflah, K. ; Vallette, F. M. *FEBS Letters* 2002, 512, 95-100.

⁶¹ Cartron, P.-F. ; Arokium, H. ; Oliver, L. ; Meflah, K. ; Manon, S. ; Vallette, F. M. *J. Biol. Chem.* 2005, 280, 10587-10598.

régulation de l'exposition du domaine *N*-terminal et l'ouverture de l'hélice *C*-terminale pour l'adressage mitochondrial (Figure 17).

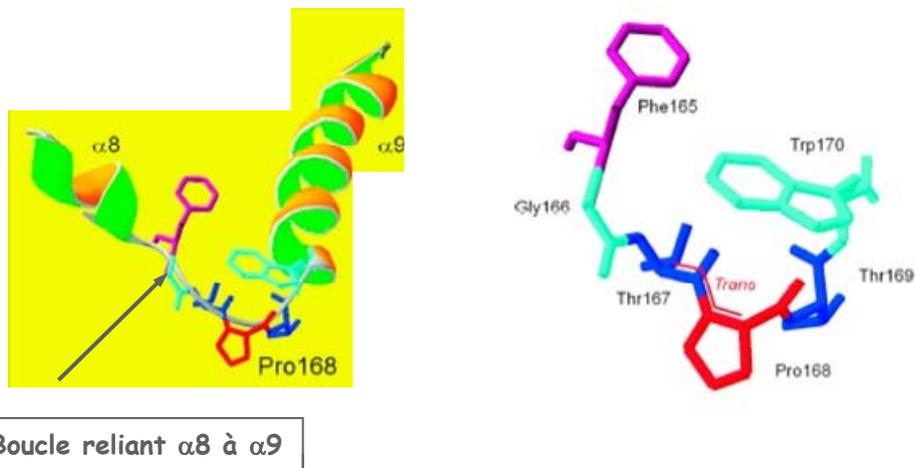


Figure 17 : modélisation de la structure en solution de Bax dans la région $\alpha 8$ - $\alpha 9$ (d'après Schinzel *et al.*⁵⁷)

Le mécanisme de régulation du changement conformationnel *via* la proline168 en est encore au stade de l'hypothèse. Dans le cytosol des cellules saines, la partie *N*-terminale serait liée à Pro168 de manière inconnue (directement, protéine de liaison, modification post-traductionnelle...) et interagirait avec l'hélice *C*-terminale, l'empêchant ainsi de sortir de la poche hydrophobe. En réponse à un stimulus apoptotique, cette interaction serait rompue ce qui conduirait à l'exposition du domaine *N*-terminal et à l'activation de Bax. Toutefois, cette étape ne semble pas suffisante pour provoquer la libération de l'hélice $\alpha 9$: un facteur supplémentaire est nécessaire afin d'agir sur Pro168 (et peut être Trp170) et fournir l'énergie nécessaire à l'ouverture de l'hélice *C*-terminale ainsi que son adressage à la mitochondrie. Il est à noter également que la proline168 est en conformation *trans* dans la forme fermée de Bax ; une isomérisation en sa forme *cis* pourrait être à l'origine de l'ouverture de l'hélice (Figure 17).

II.2.3 - Libération des facteurs proapoptotiques mitochondriaux^{9, 62,63}

Une fois localisée au niveau de la membrane mitochondriale externe, Bax forme des oligomères.⁶ Le domaine BH3 de Bax peut s'insérer dans la poche hydrophobe vide d'une autre molécule de Bax pour former des homodimères, mais il peut également y avoir formation

⁶² Antonsson, B. *Mol. Cell. Biochem.* 2004, 256/257, 141-155.

⁶³ Lucken-Ardjomande, S. ; Martinou, J.-C. *C. R. Biologies* 2005, 328, 616-631.

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

d'hétérodimères Bax/Bcl-x_L ou encore Bid/Bax (*t*Bid provoque le changement conformationnel de Bax ainsi que l'induction de l'apoptose *in vitro* et *in vivo*).^{9,64} La formation de ces oligomères précède la libération, entre autres facteurs mitochondriaux, du cytochrome c.

Deux mécanismes principaux^{65,66} ont été proposés, pour expliquer la libération des différents facteurs proapoptotiques par la mitochondrie (**Figure 18**) :

- ✦ le premier modèle suppose une rupture physique de la membrane mitochondriale externe, suite à un gonflement de la matrice mitochondriale (modèle 1) ;
- ✦ la deuxième hypothèse repose sur l'observation que Bax est capable de former des pores transmembranaires ou des canaux conducteurs d'ions *in vitro*.^{37,38,39} Suite à son insertion et à son oligomérisation au niveau de la membrane mitochondriale, Bax formerait des pores (seule ou en association avec d'autres protéines mitochondriales, des protéines de la famille Bcl-2 voire des lipides), suffisamment larges pour permettre aux facteurs proapoptotiques, dont le cytochrome c, d'être libérés dans le cytoplasme (modèle 2).

⁶⁴ Eskes, R. ; Desagher, S. ; Antonsson, B. ; Martinou, J.-C. *Mol. Cell. Biol.* 2000, 20, 929-935.

⁶⁵ Martinou, J.-C. ; Desagher, S. ; Antonsson, B. *Nat. Cell Biol.* 2000, 2, E41-E43.

⁶⁶ Lim, M. L. R. ; Lum, M.-G. ; Hansen, T. M. ; Roucou, X. ; Nagley, P. *J. Biomed. Sci.* 2002, 9, 488-506.

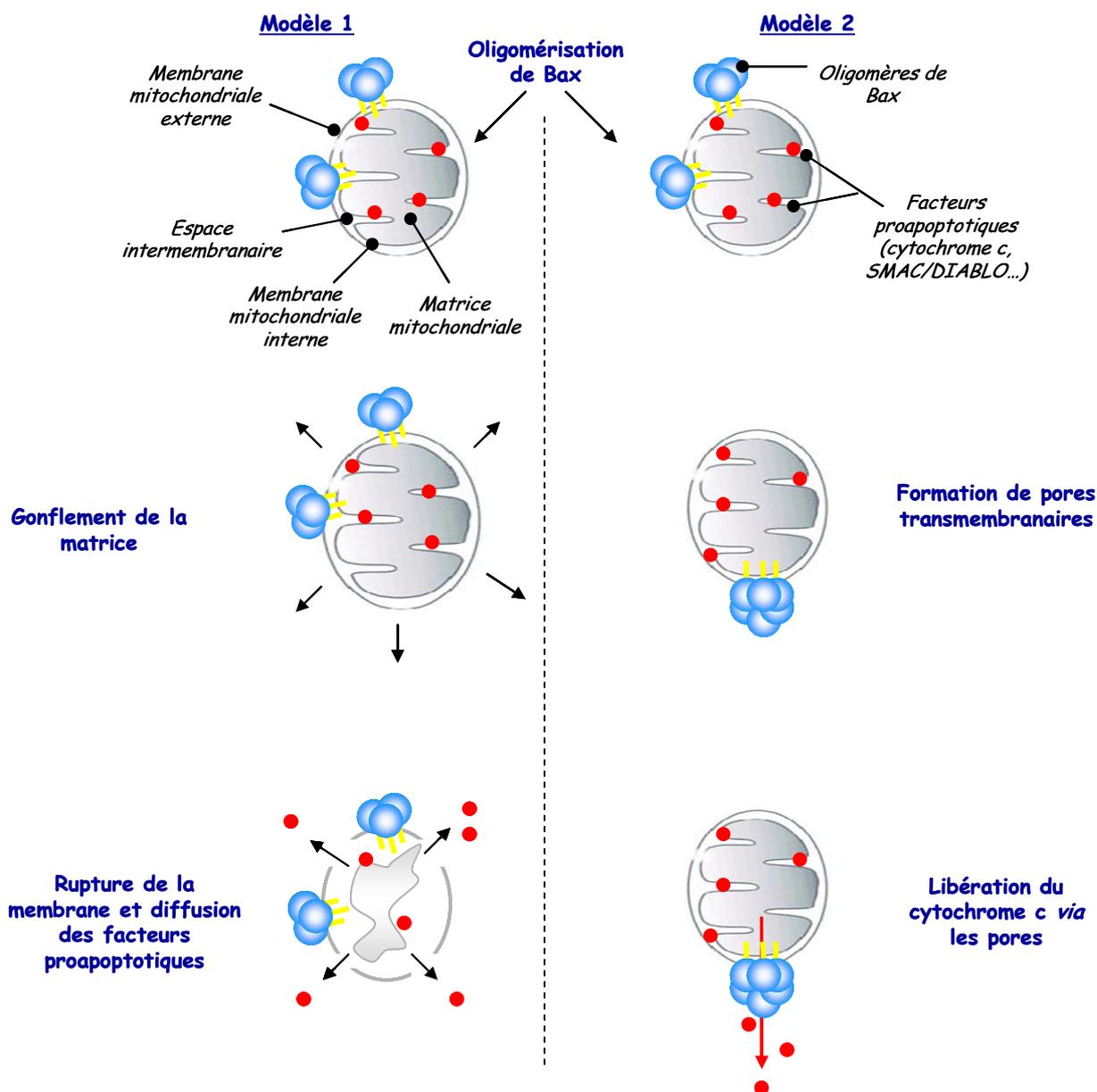


Figure 18 : modèles proposés pour expliquer la libération du cytochrome c (et autres facteurs mitochondriaux proapoptiques) suite à l'oligomérisation de Bax.

Des études ayant pour but de comprendre l'implication de la protéine Bax dans la libération du cytochrome c, ont mis en avant le rôle clé des hélices $\alpha 5$ et $\alpha 6$ pour son insertion dans la membrane mitochondriale.⁶⁷ En effet, la suppression des hélices $\alpha 5$ et $\alpha 6$ empêche l'insertion de Bax, la libération de SMAC et diminue la libération du cytochrome c. Les recherches sur la nature des interactions entre les protéines de la famille Bcl-2 et les bicouches lipidiques ont pu mettre en

⁶⁷ Heimlich, G. ; McKinnon, A. D. ; Bernardo, K. ; Brdiczka, D. ; Reed, J. C. ; Kain, R. ; Kroenke, M. ; Jurgensmeier, J. M. *Biochemical J.* 2004, 378, 247-255.

évidence quatre domaines transmembranaires pour Bax : $\alpha 1$, $\alpha 5$, $\alpha 6$ et $\alpha 9$. Les hélices $\alpha 5$ et $\alpha 6$ pourraient former le pore transmembranaire, car elles s'insèrent selon un modèle en épingle à cheveux : l'hélice $\alpha 5$ en premier, de façon à stabiliser l'hélice $\alpha 6$, moins hydrophobe, par complémentarité de charges par exemple. L'hélice C-terminale assurerait le premier contact avec la membrane mitochondriale et l'insertion serait ensuite stabilisée et renforcée par les hélices $\alpha 5$ et $\alpha 6$ (Figure 19). D'autres recherches sur la nature (composition, taille...) du pore ainsi formé sont en cours.⁶⁸

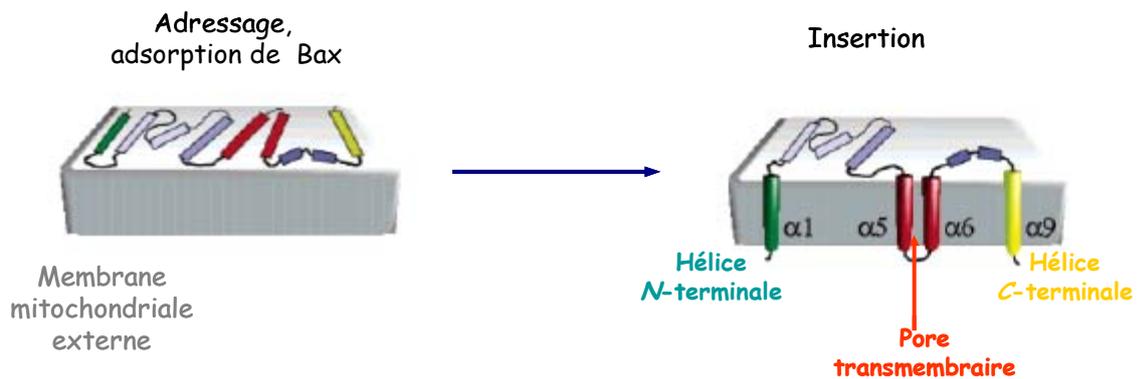


Figure 19 : modèle d'insertion des hélices transmembranaires de Bax dans la mitochondrie.³⁸

Suite à ces observations, il apparaît évident que le changement conformationnel subi par la protéine Bax au cours de l'apoptose est un événement majeur dans la régulation du processus. Les hypothèses sur les causes, le mécanisme et les conséquences de ces modifications structurales sont nombreuses et certains résultats font encore l'objet de discussions. Dans ce contexte, il nous a semblé important de nous intéresser à cette étape en particulier.

II.3 - Site actif de la protéine pour le changement conformationnel

II.3.1 - Récapitulatif

Le paragraphe précédent a mis en évidence la complexité du mécanisme par lequel Bax induit l'apoptose. Malgré le grand nombre de facteurs impliqués, nous avons pu voir l'importance de certains domaines de la protéine considérés comme essentiels à sa fonction proapoptotique :

⁶⁸ Garcia-Saez, A. J. ; Coraiola, M. ; Dalla Serra, M. ; Mingarro, I. ; Menestrina, G. ; Salgado, J. *Biophys. J.* 2005, 88, 3976-3990.

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

- ✦ le domaine transmembranaire C-terminal localisé au niveau de l'hélice $\alpha 9$, impliqué dans la localisation intracellulaire de la protéine, son adressage mitochondrial et probablement son insertion dans la membrane externe ;
- ✦ les hélices $\alpha 2$ à $\alpha 5$ qui forment la poche hydrophobe dans laquelle repose l'hélice $\alpha 9$;
- ✦ le domaine BH3 (hélice $\alpha 2$) nécessaire pour les processus de dimérisation et d'oligomérisation ;
- ✦ la partie N-terminale (hélice $\alpha 1$) qui semble jouer plusieurs rôles, dont celui de réguler la libération de l'hélice $\alpha 9$.

Les connaissances actuelles permettent d'envisager le scénario suivant : suite à un stimulus apoptotique, l'hélice C-terminale jusqu'alors séquestrée dans la poche hydrophobe de surface, se désengage de ce site de liaison. Survient alors un changement conformationnel de la protéine qui modifie et expose d'autres régions de la protéine comme le domaine N-terminal et/ou le domaine BH3. Bax migre à travers le cytosol pour se localiser complètement à la mitochondrie, par insertion de son hélice $\alpha 9$ transmembranaire dans la membrane mitochondriale. Elle est probablement assistée en cela par les hélices $\alpha 5$ et $\alpha 6$. La protéine forme alors des agrégats à la surface de la mitochondrie, qui peuvent être des hétérodimères avec d'autres membres de la famille Bcl-2 ou bien des homodimères, voire des assemblages plus gros comme des oligomères. En réponse à ce phénomène de multimérisation, les facteurs proapoptotiques (cytochrome c, SMAC...) sont relargués dans le cytosol depuis l'espace intermembranaire mitochondrial, *via* la formation de pores ou de canaux ioniques. Si le changement conformationnel n'a pas lieu et que Bax reste en conformation fermée, l'apoptose n'a pas lieu.

Nous avons cherché la manière dont nous pouvions interagir avec Bax de façon à **provoquer son changement conformationnel et ainsi induire l'apoptose**. Nous nous sommes appuyés sur les travaux du groupe de Youle afin de définir le site actif de la protéine pour cette étape-clé.

II.3.2 - Délimitation du site actif

Même avant la résolution de la structure RMN de Bax en solution, les travaux de recherche du groupe de R. J. Youle ont été décisifs pour la compréhension des différentes conformations de Bax. En 1999, ils se sont intéressés au rôle du domaine C-terminal dans la localisation et l'adressage de Bax à la mitochondrie, ainsi que dans l'induction de l'apoptose.⁵³ Ils ont pour cela procédé à une

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

série de mutations successives de chaque acide aminé constituant la séquence de l'hélice $\alpha 9$ et, en particulier, de chacun des 10 acides aminés C-terminaux. Ils ont ainsi mis en évidence le rôle prépondérant de la sérine en position 184 dans la régulation de la localisation cellulaire de Bax (Figure 20) :

✦ si la sérine 184 est supprimée ou substituée par la valine (17) : la protéine devient totalement localisée à la mitochondrie dans les cellules saines. L'apoptose est induite et le mutant Ser/Val s'avère plus toxique que la protéine native ;

✦ si elle est échangée par un acide aminé chargé tel que l'acide aspartique (18), l'acide glutamique (19) ou la lysine (20), Bax est entièrement localisée dans le cytosol dans les cellules saines et il n'y a plus d'apoptose ;

✦ si l'histidine (15) remplace la sérine (14), la protéine adopte le même comportement que la protéine native ;

✦ enfin, si elle est mutée en alanine (16), Bax adopte une distribution intermédiaire où elle est à la fois localisée à la mitochondrie et dans le cytosol.

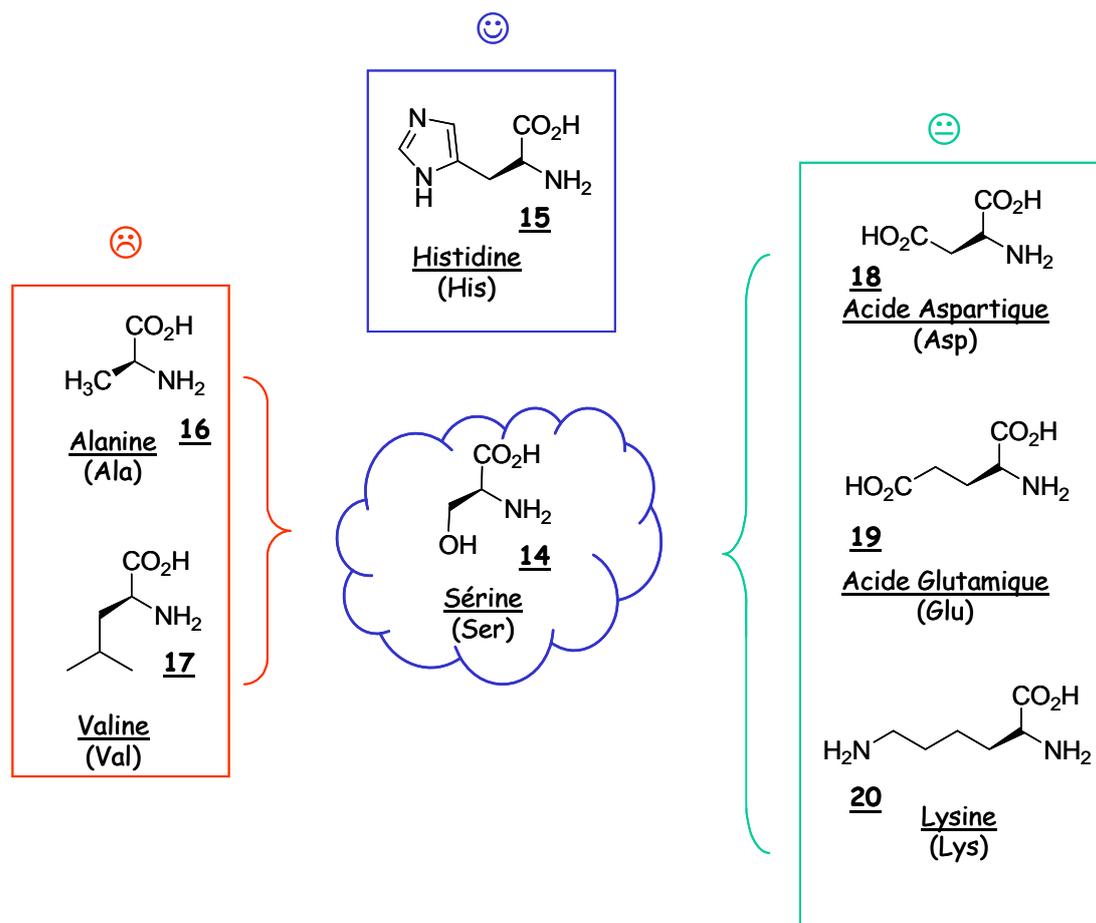


Figure 20 : conséquences des mutations de la sérine par différents acides aminés.

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

Ces expériences ont également montré que la suppression du domaine BH3 n'empêche pas l'insertion de Bax dans la mitochondrie mais qu'il n'y a plus d'apoptose, ce qui laisse supposer que le domaine BH3 est un acteur passif lors du changement conformationnel, mais actif au niveau de l'induction apoptotique.

Comme nous l'avons déjà vu, l'hélice $\alpha 9$ repose dans la poche hydrophobe de surface et les interactions entre le domaine C-terminal et la poche sont essentiellement de nature hydrophobe. Contrairement au modèle proposé par Fesik *et al.*,^{26,27} ces interactions entre résidus hydrophobes ne semblent pas renforcées par des interactions électrostatiques, comme c'est le cas pour les peptides dérivés des domaines BH3 de Bak et Bad, avec Bcl-x_L (cf. 1.2.2.1-). En revanche, la fonction hydroxyle de la chaîne latérale de la sérine 184 est orientée vers le cœur de la protéine et semble former une liaison hydrogène avec la fonction acide carboxylique de l'acide aspartique en position 98 (hélice $\alpha 4$) (Figure 21). Cette interaction primordiale assure probablement le maintien de Bax en conformation fermée.

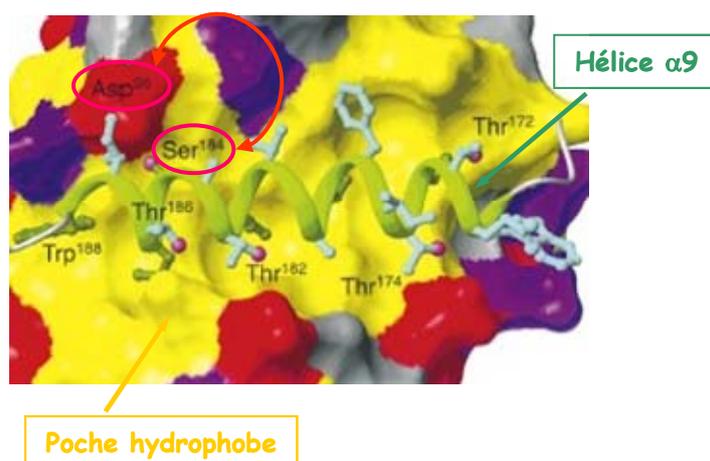


Figure 21 : interaction stabilisante entre Ser184 et Asp98.³⁰

De plus, les observations décrites précédemment, en ce qui concerne le comportement des différents mutants de la protéine native, peuvent alors être expliquées : en effet, suite à la substitution de Ser184 par un acide aminé non donneur de liaisons hydrogène (Val) ou à sa suppression, Bax passe en conformation ouverte et se relocalise aussitôt à la mitochondrie. D'autre part, si un acide aminé chargé remplace Ser184 (Glu, Lys ou Asp), Bax reste en conformation fermée et il n'y a plus ni relocalisation, ni apoptose suite à un stimulus apoptotique. Lorsque Ser184 est mutée par l'histidine, un acide aminé donneur de liaisons hydrogène, la protéine adopte le même comportement que la protéine native. Ces résultats renforcent donc l'hypothèse de la liaison

hydrogène, puisque sa suppression entraîne la dissociation de l'hélice C-terminale de la poche hydrophobe. De même, son remplacement par une liaison forte de type ionique bloque le changement conformationnel.

Dans tous les cas, le rôle essentiel de la sérine184 lors du changement conformationnel subi par Bax a clairement été mis en évidence. Ces premiers résultats vont nous servir de base de travail pour la conception de modulateurs synthétiques du changement conformationnel de Bax.

II.3.3 - Les modulateurs de Bax dans la littérature

Très peu de molécules organiques inhibitrices de la famille Bcl-2 ont été décrites, mis à part quelques composés tricycliques comme inhibiteurs de Bcl-2 (cf I.2.3-).⁴⁰⁻⁴⁸ Par analogie avec ces structures, Bombrun *et al.*⁶⁹ ont testé plusieurs composés carbazoliques dans le but d'évaluer leur capacité à inhiber la libération du cytochrome c, *in vitro*, selon une voie Bid-Bax induite. Le dérivé **21** du 3,6-dibromocarbazole s'est révélé être à la fois un inhibiteur de la libération du cytochrome c déclenchée par Bax et également un inhibiteur de la formation de canaux ioniques dans les liposomes par Bax, *in vitro* (Figure 22). Les composés montrant un fort potentiel inhibiteur ont été modifiés par greffage d'un groupe fluorescent, de façon à pouvoir suivre leur localisation intracellulaire. Ces expériences ont permis de montrer que ces inhibiteurs étaient essentiellement localisés au niveau de la mitochondrie. Ces résultats laissent donc supposer que le composé **21** et ses dérivés inhibent la libération du cytochrome c, en agissant au niveau de la mitochondrie et ce, probablement en empêchant la formation de pores à travers la membrane mitochondriale par Bax.

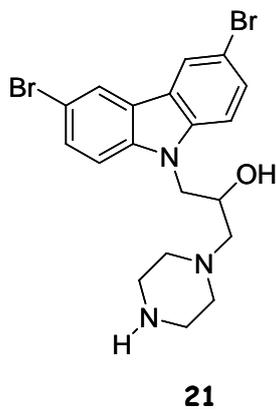


Figure 22 : exemple d'inhibiteur de l'activité de Bax.⁶⁹

⁶⁹ Bombrun, A. ; Gerber, P. ; Casi, G. ; Terradillos, O. ; Antonsson, B. ; Halazy, S. *J. Med. Chem.* 2003, 46, 4365-4368.

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

D'autres inhibiteurs de Bax ont été mis en évidence.⁹ Ce sont, pour la plupart, des protéines ou des peptides naturellement présents dans la cellule, qui agissent en séquestrant Bax dans sa conformation cytosolique et empêchent ainsi sa relocalisation mitochondriale :

✦ l'enzyme Ku70 est une protéine réparatrice de l'ADN, capable d'interagir avec la forme inactive de Bax. Sa surexpression dans la cellule supprime l'apoptose déclenchée par Bax. Il semblerait que le domaine C-terminal de Ku70 interagisse directement avec la partie N-terminale de Bax, la séquestrant ainsi dans le cytosol et empêchant sa relocalisation. Sur la base de ces résultats, Sawada *et al.*^{70,71,72} ont cherché à trouver la plus petite séquence de Ku70 inhibitrice de Bax et ont ainsi mis au point des peptides inhibiteurs. Ces peptides BIP (Bax Inhibiting Peptides) sont constitués, pour les plus efficaces, de cinq acides aminés (Val-Pro-Met-Leu-Lys et Pro-Met-Leu-Lys-Glu) et sont perméables aux membranes cellulaires. Ils sont ainsi capables de se fixer au site de reconnaissance de Ku70 sur Bax et d'inhiber son activité proapoptotique suite à un stimulus de mort ;

✦ la protéine 14-3-3 θ est elle aussi capable de séquestrer Bax dans le cytosol et d'empêcher le changement conformationnel nécessaire à son adressage mitochondrial puis à sa multimérisation. Cette interaction semble impliquer les deux régions N- et C-terminales de Bax et peut être rompue par des mécanismes caspase-dépendants ;⁷³

✦ l'humanine a aussi été remarquée pour son aptitude à se lier spécifiquement avec la conformation "fermée" de Bax et à inhiber son activation. Ce peptide de 24 acides aminés semble stabiliser la forme cytosolique de Bax et protège les cellules de l'apoptose Bax-dépendante lorsque Bax est surexprimée dans la cellule.⁷⁴

Le rôle des ces protéines séquestratrices dans l'activité proapoptotique de Bax n'est pas encore très clair, mais une protéine de ce genre pourrait stabiliser la conformation fermée de Bax

⁷⁰ Sawada, M. ; Sun, W. ; Hayes, P. ; Leskov, K. ; Boothman D. A. ; Matsuyama, S. *Nature Cell Biol.* 2003, 5, 320-329.

⁷¹ Sawada, M. ; Hayes, P. ; Matsuyama, S. *Nat. Cell Biol.* 2003, 5, 352-357.

⁷² Yoshida, T. ; Tomioka, I. ; Nagahara, T. ; Holyst, T. ; Sawada, M. ; Hayes, P. ; Gama, V. ; Okuno, M. ; Chen, Y. ; Abe, Y. ; Kanouchi, T. ; Sasada, H. ; Wang, D. ; Yokota, T. ; Sato, E. ; Matsuyama, S. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 2004, 321, 961-966.

⁷³ Nomura, M. ; Shimizu, S. ; Sugiyama, T. ; Narita, M. ; Ito, T. ; Matsuda, H. ; Tsujimoto, Y. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 2058-2065.

⁷⁴ Guo, B. ; Zhai, D. ; Cabezas, E. ; Welsh, K. ; Nouraini, S. ; Satterthwait A. C. ; Reed J. C. *Nature* 2003, 423, 456-461.

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

dans le cytosol, en interagissant avec l'un des deux domaines C- et N-terminaux, voire les deux. Le clivage de ce type de protéine serait déclenché par le stimulus apoptotique, et ce processus pourrait constituer l'une des premières étapes du changement conformationnel de Bax.

Dans le but de trouver de nouveaux modulateurs de l'activité de Bax, et en complément de l'approche que nous avons menée, le groupe de F. Ichas (IECB)⁶ a développé une stratégie basée sur la recherche de peptides capables de se lier à Bax et d'induire l'apoptose *via* le déclenchement forcé du changement conformationnel. L'idée est de synthétiser des fragments peptidiques très proches de la composition d'une région de l'hélice C-terminale de Bax puis de les introduire dans la cellule. Ces peptides devraient entrer en compétition avec l'hélice $\alpha 9$ pour ce qui est de l'interaction avec la poche hydrophobe. Ces travaux sont actuellement en cours de réalisation, les premiers résultats obtenus seront discutés dans la conclusion de ce manuscrit (cf. chapitre 8 - VIII.4.1-).

II.3.4 - Projet de thèse

Les modulateurs de l'activité proapoptotique de Bax sont peu nombreux et, à ce jour, aucune molécule organique synthétique ayant une activité activatrice ou inhibitrice directe sur Bax n'est connue.

Nous nous sommes fixés comme objectif la conception et la synthèse de petites molécules organiques non peptidiques susceptibles d'influencer le changement conformationnel de Bax au cours de l'apoptose. Nous chercherons des molécules provoquant l'ouverture de l'hélice $\alpha 9$, de façon à pouvoir déclencher artificiellement l'apoptose. Notre stratégie est de concevoir des molécules organiques ayant plus d'affinité pour la poche hydrophobe que l'hélice elle-même ; une fois dans la cellule, la molécule prendrait la place de l'hélice, forçant ainsi son ouverture et induisant le processus apoptotique. Ces molécules devront cibler la zone dans laquelle l'hélice $\alpha 9$ repose, sans avoir aucune affinité avec le domaine BH3, responsable de la multimérisation. En effet, nous ne voulons agir que sur le changement conformationnel, sans altérer le domaine de dimérisation, ce qui aurait probablement pour effet de supprimer l'effet proapoptotique de Bax.

L'évaluation biologique de ces composés pourrait permettre, dans un premier temps, une meilleure compréhension des mécanismes qui régissent l'activité proapoptotique de Bax. Suivant les résultats obtenus, il pourrait alors être possible d'identifier une structure modèle pour la synthèse d'une nouvelle classe de molécules, capable d'induire l'apoptose dans les cellules cancéreuses. Ce

Chapitre 2 : Bax comme cible thérapeutique.

deuxième aspect du travail est une stratégie thérapeutique très prometteuse, pour la restauration ou l'induction forcée de l'apoptose dans les cellules cancéreuses montrant une résistance aux traitements par radio- et/ou chimiothérapie.

La réalisation de ces objectifs implique la conception de structures capables d'agir au niveau du "site actif" de Bax et de supprimer les interactions responsables du repliement de l'hélice $\alpha 9$ dans la cavité hydrophobe. Pour ce faire, nous avons utilisé les outils de la modélisation moléculaire sous la supervision du Dr. M. Laguerre. La deuxième étape est le développement de méthodes de synthèse des cibles. Ces méthodes devraient permettre la préparation d'une collection de molécules, de façon à pouvoir établir des relations structure-activité par la suite.

CONCEPTION D'ACTIVATEURS DE BAX
PAR MODELISATION MOLECULAIRE

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

La conception de nouveaux modulateurs de Bax passe par une étape préliminaire de modélisation moléculaire. Il s'agit d'un outil précieux qui nous a permis de définir les meilleures structures d'activateurs potentiels de Bax, par comparaison avec un modèle préalablement établi d'après la structure du "site actif" de la protéine. Ce chapitre décrira, dans un premier temps, les différentes méthodes que nous avons employées puis les différentes étapes qui nous ont mené aux structures cibles dont nous avons choisi d'entreprendre la synthèse.

III.1 - Modélisation Moléculaire : description des méthodes^{75,76}

III.1.1 - Généralités

La modélisation moléculaire permet de prévoir la structure et la réactivité des molécules. Elle s'est considérablement développée au cours de ces dernières années grâce à l'essor important des moyens informatiques. Les méthodes utilisées peuvent être divisées en trois catégories :

- ✦ les méthodes quantiques, qui reposent sur le calcul des orbitales moléculaires ;
- ✦ la mécanique moléculaire, qui utilise les méthodes semi-empiriques ;
- ✦ la dynamique moléculaire, qui a pour but de calculer les mouvements des molécules, le plus souvent à partir des valeurs d'énergie obtenues par mécanique moléculaire et à l'aide des lois de la mécanique classique.

L'une des limitations actuelles de la mécanique moléculaire est un temps de calcul assez long (de quelques heures à plusieurs semaines) qui croît bien sûr avec la complexité du système à étudier. Cependant, elle est relativement bien adaptée aux molécules organiques et, contrairement à la mécanique quantique, permet de décrire des systèmes comportant plusieurs milliers d'atomes.

III.1.2 - Principe de la mécanique moléculaire

Une molécule peut être définie comme une association d'atomes dont la cohésion dépend des différentes interactions attractives et répulsives entre les atomes. Elle est donc décrite par un système purement mécanique de forces sans tenir compte des interactions entre les électrons et les

⁷⁵ Debord, J. *Introduction à la Modélisation Moléculaire 2004* (http://www.unilim.fr/pages_perso/jean.debord/chimie/chimie.htm).

⁷⁶ Beaurain, F. Les Complexes boucle-boucle ARN : approches par dynamique moléculaire et spectroscopie UV en solution, Thèse de doctorat : Université Bordeaux I, 2003, 171 pages.

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

noyaux. Les atomes sont alors représentés comme des sphères rigides et les liaisons comme des ressorts. La mécanique moléculaire consiste à calculer l'énergie potentielle de ce système. Elle prend en compte les différentes déformations que subissent les liaisons aussi bien que les interactions entre les atomes à courte et longue distance. Par exemple, une molécule à quatre atomes peut subir trois types de déformation à partir de son état initial (A) (Figure 23) : un mouvement de torsion (B) (rotation autour d'une liaison), un mouvement d'étirement (C), dit de "stretching" (allongement ou raccourcissement d'une liaison), ou encore un mouvement de flexion (D) (variation de l'angle entre deux liaisons). La torsion est une interaction 1-4, le "stretching" est une interaction 1-2 et la flexion une interaction 1-3. Une molécule est dite flexible lorsqu'elle possède beaucoup de degrés de liberté : elle peut adopter un grand nombre de conformations résultant de rotations autour des liaisons simples. Ces mouvements sont caractérisés par la variation des valeurs des angles dièdres (angles formés par les plans contenant les liaisons interatomiques).

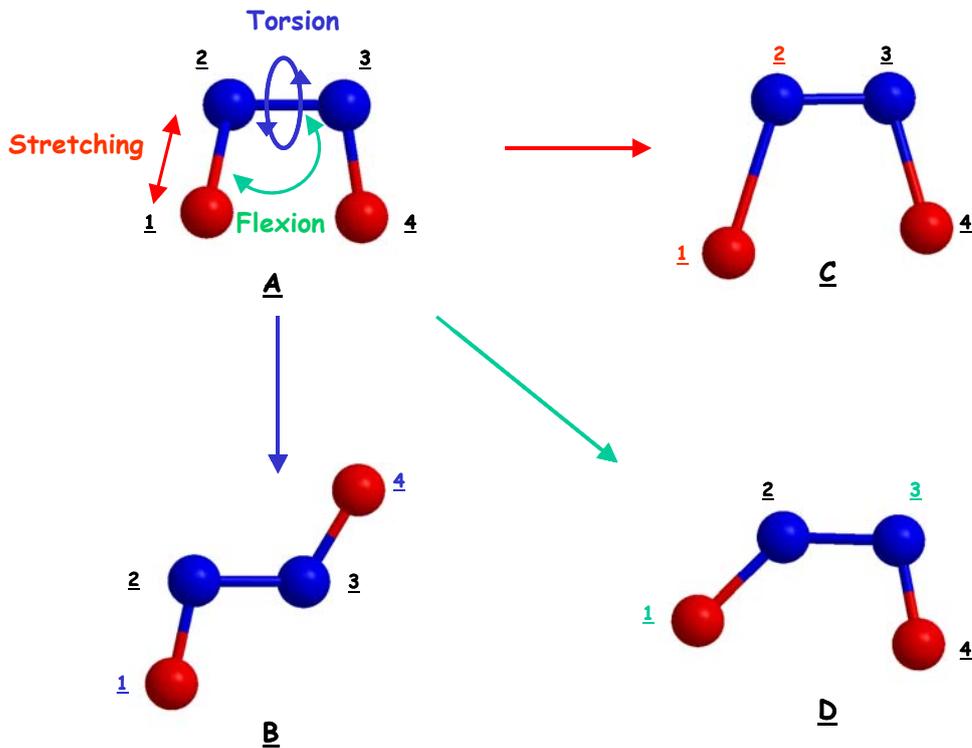


Figure 23 : déformations types d'une molécule à quatre atomes.

L'énergie potentielle d'une molécule (E_p) peut être décrite comme la somme de différents termes :

$$E_p = E_{\text{stretching}} + E_{\text{flexion}} + E_{\text{torsion}} + E_{\text{non-liant}}$$

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

$E_{\text{non-liant}}$ représente l'énergie d'interaction entre atomes non liés, elle prend en compte les interactions de type Van der Waals, les interactions électrostatiques (forces de Coulomb) ainsi que les liaisons hydrogène.

L'ensemble de ces paramètres (constantes de force des ressorts, longueur des liaisons, rayons de Van der Waals, charges, angles...) est introduit dans un fichier appelé **champ de force**. Il existe plusieurs champs de force, utilisés selon le type de structures étudiées, parmi les plus courants CHARMM (protéines), AMBER (protéines, acides nucléiques), MM2, MM3 et MM4 (molécules organiques de petite ou moyenne taille) peuvent être cités.

Lorsque la molécule est dessinée, elle est dans une géométrie tout à fait arbitraire. Il faut donc **minimiser l'énergie** de la structure c'est-à-dire *ramener toutes les valeurs aux valeurs de référence inscrites dans le champ de force*. Le programme fait varier les coordonnées atomiques jusqu'à atteindre un minimum d'énergie potentielle. Les méthodes utilisées sont par exemple :

- ✦ Steepest Descent (SD) : cette méthode utilise la dérivée du premier ordre de l'énergie potentielle par rapport aux coordonnées. Elle permet d'atteindre rapidement le minimum local et est utilisée en cas de géométrie très perturbée, de façon à rétablir les longueurs de liaison et les angles aux valeurs standards tout en minimisant les interactions fortes ;
- ✦ la méthode aux dérivées premières ou Polak Rivière Conjugated Gradient (PRCG) : elle converge lentement pour de gros systèmes mais il n'y a pas de limitation du nombre d'atomes ;
- ✦ Truncated - Newton Conjugate Gradient (TNCG) : elle utilise les dérivées secondes. Il s'agit de la meilleure méthode mais elle est limitée à 1000 atomes.

L'étape suivante est la recherche conformationnelle.

III.1.3 - L'Analyse conformationnelle^{77,78}

Il s'agira ici de localiser tous les minima d'énergie résultant de variations des angles dièdres afin d'identifier les conformations de plus basse énergie ; ceci est d'autant plus important que ce

⁷⁷ NIH, Center for Molecular Modeling. <http://cmm.info.nih.gov/modeling/>.

⁷⁸ Paugan, R. Initiation à la Modélisation Moléculaire 2004.

<http://www.u-psud.fr/orsay/formations/maitrisechimie.nsf/mmcours.htm>.

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

n'est pas forcément la conformation la plus stable, donc majoritaire, qui est la plus active. Mathématiquement, cette étape revient à trouver tous les points où la dérivée première de l'énergie potentielle de la molécule s'annule et où la dérivée seconde est positive. Les trois méthodes principales employées à cet effet sont :

✦ la méthode de recherche systématique : les différentes conformations sont créées par rotations automatiques par paliers, c'est-à-dire selon un certain angle et de manière répétée, autour de chacune des liaisons simples. Chaque angle subit une variation de x° , l'expérimentateur doit spécifier au programme les limites de la gamme de variations (de 0 à 180° par exemple) ainsi que la valeur du pas d'incrément. Pour une molécule possédant n degrés de liberté, il y a donc x^n possibilités. De ce fait, cette méthode est très vite limitée car le nombre de conformations nécessaires pour explorer tout l'espace conformationnel peut très vite devenir excessivement élevé si la molécule possède beaucoup de degrés de liberté. Elle ne s'applique pas aux macromolécules, ni aux macrocycles ou encore aux peptides cycliques. Elle peut en revanche être utilisée pour des peptides de moins de dix résidus ou pour des régions de certaines macromolécules, les chaînes latérales des protéines par exemple ;

✦ la méthode Monte-Carlo : il s'agit d'une méthode statistique qui fait varier les angles au hasard. Un nombre d'essais est choisi entre 0 et $n-1$. Pour chaque essai, tous les angles varient aléatoirement de 0 à 180°, les structures sont ensuite minimisées puis classées par ordre d'énergie. Le calcul reprend jusqu'à ce que le nombre d'essais préalablement défini soit atteint. Chaque conformation doit être trouvée au moins trois fois pour obtenir un classement considéré comme fiable à 95%. Cette méthode est parmi les plus utilisées pour des molécules de taille et de complexité moyennes. Cependant, elle aussi atteint sa limite quand le nombre d'essais devient trop grand, c'est à dire lorsque la molécule possède plus de quinze à vingt degrés de liberté ;

✦ la dynamique moléculaire : elle permet de simuler le mouvement des atomes au cours du temps et ce à partir de l'énergie potentielle calculée par la mécanique moléculaire. Il est ainsi possible d'étudier la trajectoire de chaque atome à partir des forces exercées et de leur masse, à un temps donné. Les expériences se font souvent à haute température, pour résoudre les problèmes conformationnels. En effet, les barrières rotationnelles sont ainsi passées plus vite. En partant d'une conformation optimisée par la mécanique moléculaire et placée au zéro absolu (vitesse des atomes nulle), la température est augmentée progressivement jusqu'à atteindre la température de simulation choisie. Les atomes se mettent en mouvement et acquièrent une certaine énergie cinétique qui permet au système de se déformer et d'explorer tout l'espace

conformationnel. Les atomes sont ensuite ramenés progressivement à l'état de départ. Les vitesses initiales des atomes sont attribuées au hasard. Cette méthode permet d'étudier des systèmes complexes de très haut poids moléculaire comme les protéines.

L'expérience de dynamique peut être effectuée en fonction de différentes variables, comme par exemple à pression ou température constante. Les études à température constante permettent d'explorer l'espace conformationnel disponible à une température donnée. La simulation commence à très haute température, où quasiment toutes les conformations sont accessibles, puis la température est abaissée lentement jusqu'à la valeur désirée. La molécule adopte ainsi une conformation naturelle. La répétition de cette séquence chauffage/refroidissement permet d'atteindre la majeure partie des conformations. Elle est connue sous le nom de **recuit simulé** et a de nombreuses applications. Les expériences à pression constante sont basées sur le même principe.

III.2 - Hypothèses de travail

Dans le chapitre 2, nous avons vu que la conformation de l'hélice C-terminale de Bax jouait un rôle clé dans la localisation, et donc dans l'activité de la protéine au cours du processus apoptotique. Deux types de conformation ont pu être identifiés, une forme "fermée" dans laquelle l'hélice $\alpha 9$ repose dans la poche hydrophobe de surface et une forme "ouverte" où elle se désengage du site de liaison, probablement pour aller s'insérer dans la membrane mitochondriale. Les travaux de Youle ont mis en évidence le rôle crucial de la sérine184 dans le maintien de Bax en conformation fermée, en conditions non apoptotiques (Figure 24).

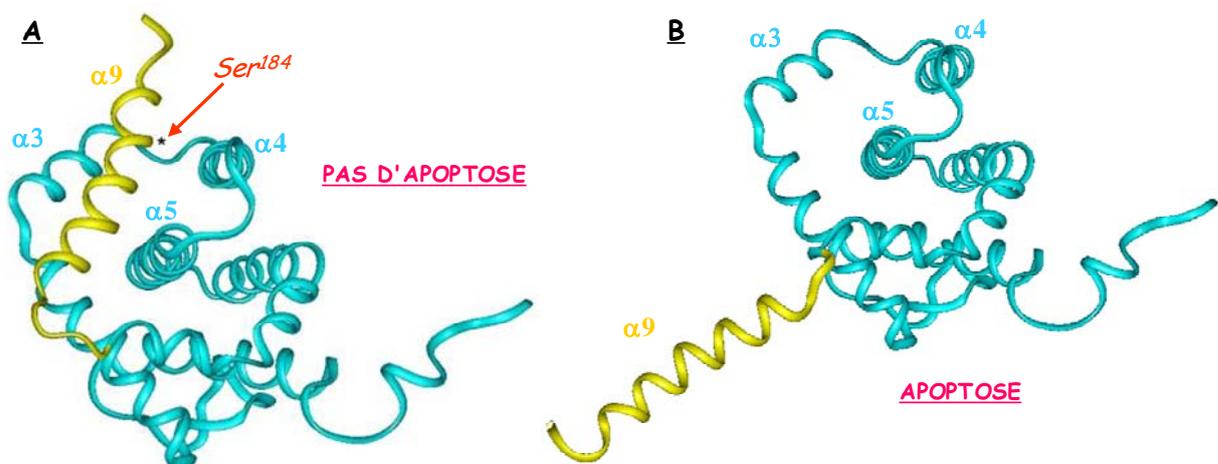
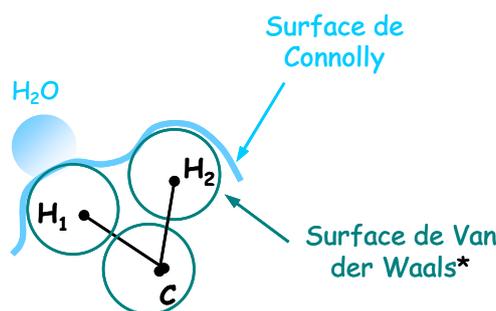


Figure 24 : conformations "fermée" (A) et "ouverte" (B) de Bax.

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

Notre objectif étant de forcer l'ouverture de l'hélice, il nous fallait trouver un (ou plusieurs) ligand(s) capable(s) d'entrer en compétition avec l'hélice $\alpha 9$ pour ce qui est des interactions avec la poche hydrophobe de Bax. Pour concevoir des activateurs spécifiques du changement conformationnel de Bax nous devons connaître la nature des interactions responsables de la forte affinité de l'hélice pour cette poche de surface. Pour cela, nous nous sommes basés sur les travaux de Youle⁵³ ainsi que sur la structure de Bax en solution élucidée par RMN, par Suzuki *et al.*³⁰ Des études de modélisation moléculaire, réalisées sous la direction du Dr. M. Laguerre à l'IECB ont permis de concevoir un squelette de départ à partir duquel les structures cibles seront élaborées. Ces études ont été réalisées à l'aide des logiciels INSIGHT II et Macromodel.

Nous avons tout d'abord généré les *surfaces de Connolly*⁷⁹ (Figure 25) : cela correspond à la surface rendue accessible à une sphère de 1,4 Å de rayon (c'est-à-dire une molécule d'eau) qui se déplacerait le long de "l'enveloppe externe" de la protéine. Cette représentation permet ensuite de mettre en évidence les zones hydrophiles et hydrophobes de la surface d'une macromolécule.



**enveloppe moléculaire englobant les sphères correspondant aux rayons de Van der Waals de chaque atome.*

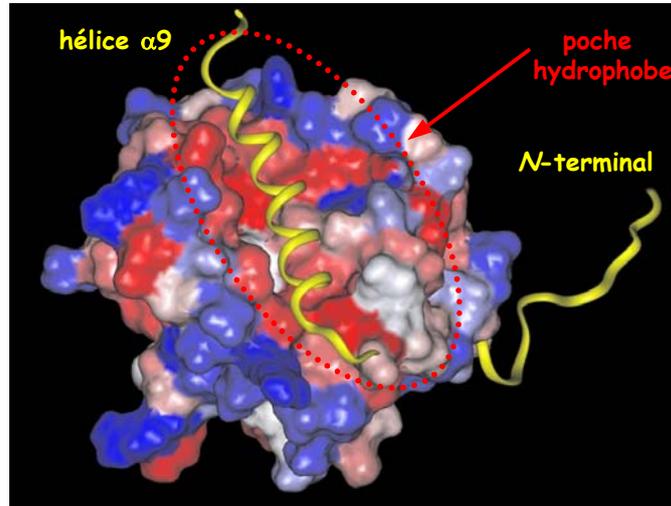
Figure 25 : représentation de la surface de Connolly.

Cette représentation des zones de lipophilie appliquée à la protéine Bax (Figure 26) montre de façon très claire la poche hydrophobe de surface dans laquelle repose l'hélice $\alpha 9$. La composition en acides aminés autour de cette zone est globalement de nature hydrophile, ce qui pourrait expliquer la solubilité de Bax dans le cytoplasme, lorsqu'elle se trouve dans cette conformation (cf. chapitre 2 - II.1.1-). De plus, il est facile d'imaginer combien la conformation obtenue, une fois

⁷⁹ Connolly, M. L. *Science* 1983, 221, 709-713.

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

l'hélice libérée de la poche de liaison, est instable énergétiquement, d'où probablement sa relocalisation mitochondriale.



■ zones lipophiles / hydrophobes
■ zones hydrophiles

Figure 26 : zones lipophiles de la protéine Bax.

Nous avons vu le rôle pivot joué par la sérine184 dans la libération de l'hélice α_9 , *via* l'établissement d'une liaison hydrogène avec l'acide aspartique98 situé sur l'hélice α_4 , dans la poche hydrophobe. La figure ci-après donne une estimation de la distance entre les deux chaînes latérales de Ser184 et Asp98 (Figure 27) : la distance $O_{(Ser)}-O_{(Asp)}$ est de 3,43 Å, ce qui permet d'estimer la distance qui sépare l'hydrogène alcoolique de Ser184 du groupe carboxylate de Asp98, à environ 2,4-2,5 Å [$d(H_{Ser}-O_{Asp}) = d(O_{Ser}-O_{Asp}) - d(O-H)_{Ser}$]. Sachant qu'une liaison hydrogène peut s'établir pour des distances hétéroatome-H allant jusqu'à 3 Å, nous sommes ici dans les bonnes normes. Il faut bien sûr garder à l'esprit qu'il s'agit d'une structure RMN en solution, donc dynamique : la position exacte de cet hydrogène dans l'espace n'est donc pas connue avec certitude (proton échangeable).

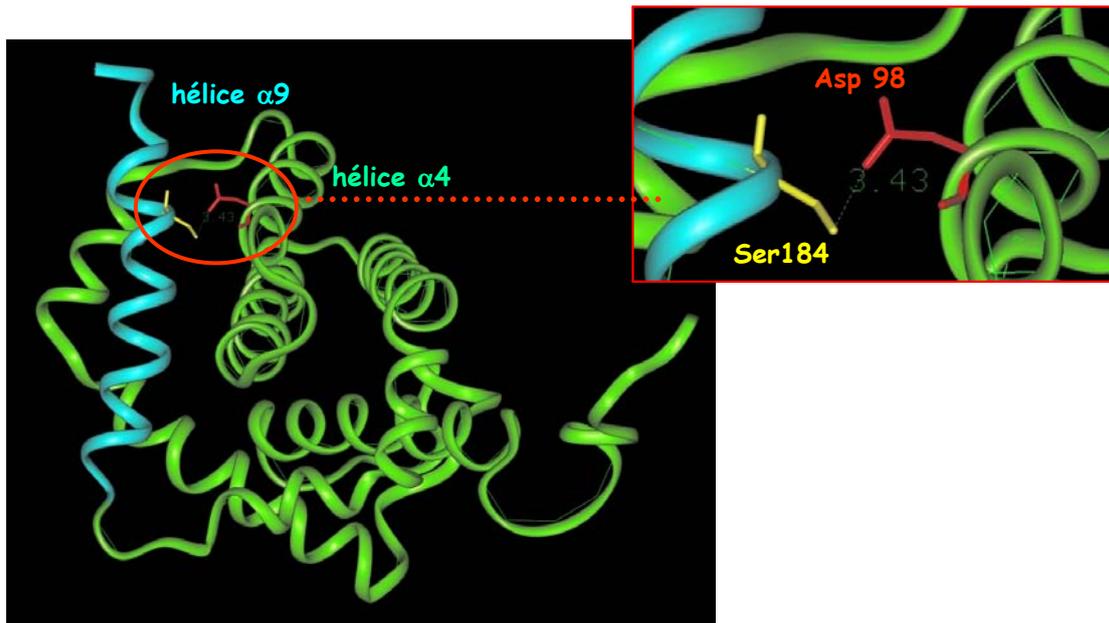


Figure 27 : distance approximative entre Ser184 et Asp98.

Si la formation de cette liaison est rendue impossible par la substitution de Ser184 par un acide aminé non donneur de liaisons hydrogène, la protéine se relocalise aussitôt à la mitochondrie. En revanche, si la sérine est remplacée par un acide aminé chargé comme l'acide aspartique, l'acide glutamique ou la lysine, Bax reste en conformation "fermée" et il n'y a plus apoptose. Pour expliquer ce comportement, nous avons fait l'hypothèse que le résidu chargé introduit établissait une liaison de type ionique avec Asp98 ou avec un autre acide aminé chargé se trouvant à proximité : ce type de liaison est plus forte qu'une liaison hydrogène ($10 < E_{\text{liaison H}} < 50 \text{ kJ.mol}^{-1}$ et $60 < E_{\text{liaison ionique}} < 100 \text{ kJ.mol}^{-1}$). Si l'énergie fournie lors du déclenchement de l'apoptose est insuffisante pour rompre cette interaction, l'hélice C-terminale reste engagée dans la poche hydrophobe et Bax ne peut plus se relocaliser à la mitochondrie. Or, nous avons pu constater la présence de deux acides aminés chargés supplémentaires proches de Asp98 et faisant face à l'hélice $\alpha 9$: Arg94 et Glu90. A eux trois, ces acides aminés font une triade chargée +/-/+, au voisinage de la sérine (Figure 28).

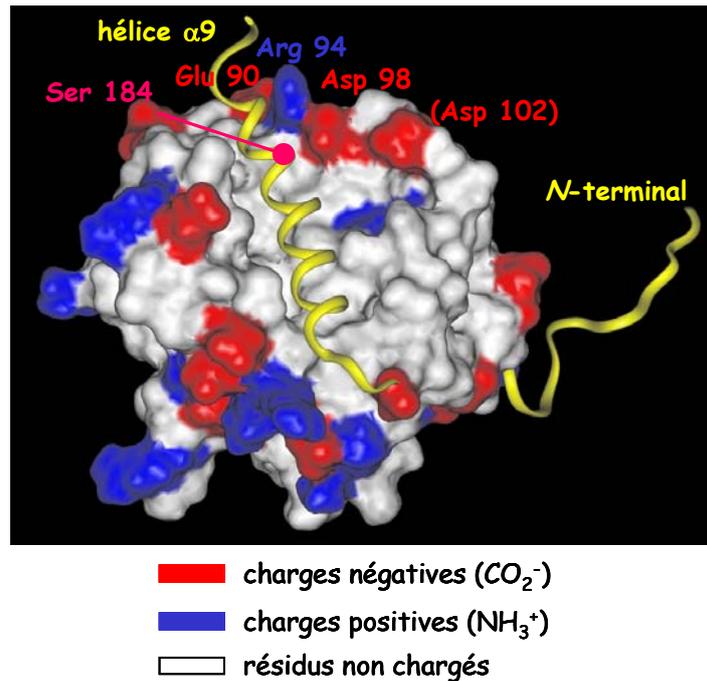


Figure 28 : surfaces électrostatiques - mise en évidence de la triade Glu90/Arg94/Asp98.

Les molécules que nous recherchons doivent reproduire le plus fidèlement possible la structure de l'hélice $\alpha 9$ au voisinage de Ser184. Elles doivent également être capables d'interagir plus fortement avec la poche hydrophobe que l'hélice elle-même, afin de rompre la liaison Ser184-Asp98 et provoquer le désengagement de l'hélice C-terminale. Nous avons donc cherché la séquence minimale requise pour l'interaction, ce qui nous servira de base pour concevoir des analogues synthétiques.

Dans un premier temps, nous avons identifié, les résidus encadrant Ser184 sur l'hélice $\alpha 9$ et faisant face aux acides aminés proches de Asp98, c'est-à-dire les acides aminés dissimulés à l'intérieur de la poche sur trois tours d'hélice successifs : ce sont le tryptophane188, l'isoleucine187 et la leucine181 (Figure 29). Ces trois acides aminés sont hydrophobes ; la sérine représente le seul acide aminé polaire de la séquence.

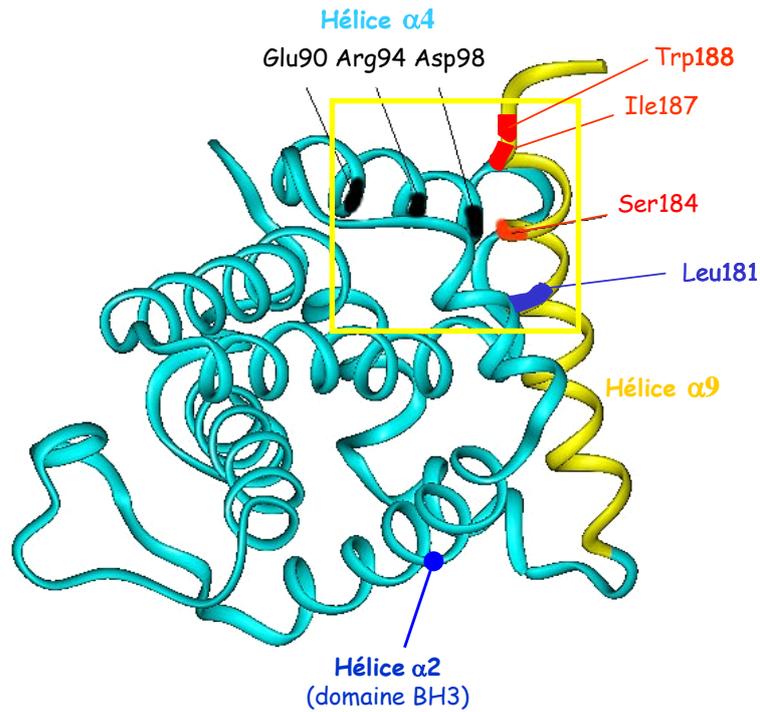


Figure 29 : séquence de la zone d'interactions.

Ces trois acides aminés ont donc été "extraits" en gardant la conformation qu'ils avaient adoptée dans l'hélice $\alpha 9$. Les liaisons de type amide ont donc été rompues, exceptée celle qui permet de lier Trp188 et Ile187, ce sont donc les liens qu'il conviendra de reformer ou de reproduire en premier (Figure 30).

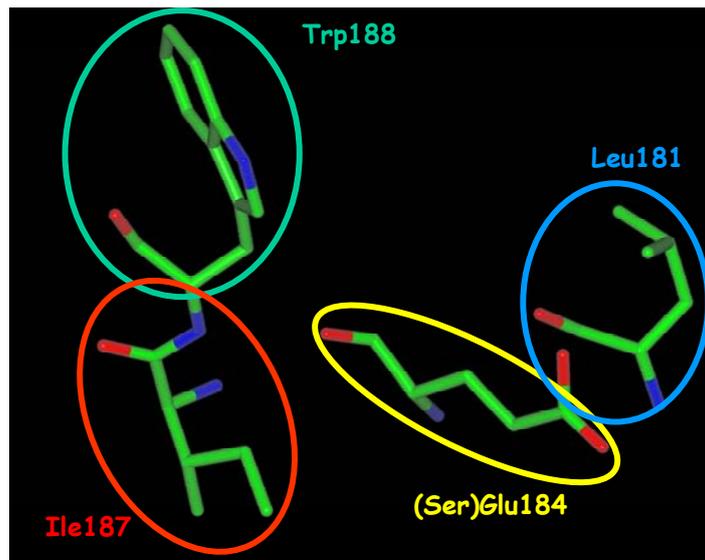


Figure 30 : séquence d'acides aminés isolée de l'hélice $\alpha 9$;
(les atomes d'azote sont représentés en bleu, les atomes d'oxygène en rouge, le squelette carboné en vert. Les hydrogènes ont été omis dans un souci de clarté).

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

Très vite, la leucine181 a été écartée car elle semble trop éloignée de la région voisine de Asp98 pour jouer un rôle important dans la fermeture de l'hélice. En effet, la distance Leu181-Trp188, par exemple, est de 15 Å environ ce qui signifie que, pour relier ces deux résidus, il faudrait générer environ 10 liaisons carbone-carbone, soit un nombre considérable de degrés de liberté supplémentaires. En définitive, il faudrait ajouter de nombreux cycles pour rigidifier convenablement la structure ainsi formée et atteindre une conformation assez stable. Or, la leucine est un acide aminé qui ne possède pas de groupement fonctionnel particulièrement intéressant pour stabiliser l'interaction avec la poche de liaison : la conserver dans notre modèle apporterait donc plus de désagréments, en terme d'hydrophobie, de taille et de solubilité, qu'une réelle contribution positive (cf. III.3.1-). Nous voulions également isoler la plus petite séquence caractéristique, de façon à rester très proche de la "zone de contact" de l'hélice avec la poche hydrophobe et éviter ainsi une interaction forte entre la molécule et le domaine BH3 (ce qui rendrait ce dernier indisponible pour l'oligomérisation de Bax).

Ainsi, la séquence Trp188-Ile187-Ser184 représente l'empreinte naturelle, sur la poche hydrophobe, de la partie de l'hélice $\alpha 9$ que nous supposons être impliquée dans le contrôle de la forme cytosolique de Bax. Ces trois acides aminés devront être présents, au moins en partie, dans les structures que nous concevrons. Pour augmenter l'affinité de ces dernières avec la poche hydrophobe, la sérine184 a été remplacée par un acide glutamique dans le but de favoriser la formation d'une liaison ionique, plus forte que la liaison hydrogène initiale à déplacer. Cette modification est cohérente avec les mutations effectuées par Youle⁵² : il a en effet montré que la substitution de Ser184 par Glu donnait lieu à une conformation inactive, et donc fermée, de Bax (cf. II.3.2-). Il nous reste alors un enchaînement de trois acides aminés susceptibles d'interagir fortement avec la zone de la cavité hydrophobe qui maintient l'hélice $\alpha 9$ en conformation fermée. Ce tripeptide Trp-Ile-Glu définit le squelette de base qui nous servira de modèle pour la conception des nouvelles molécules proapoptotiques (Figure 31).

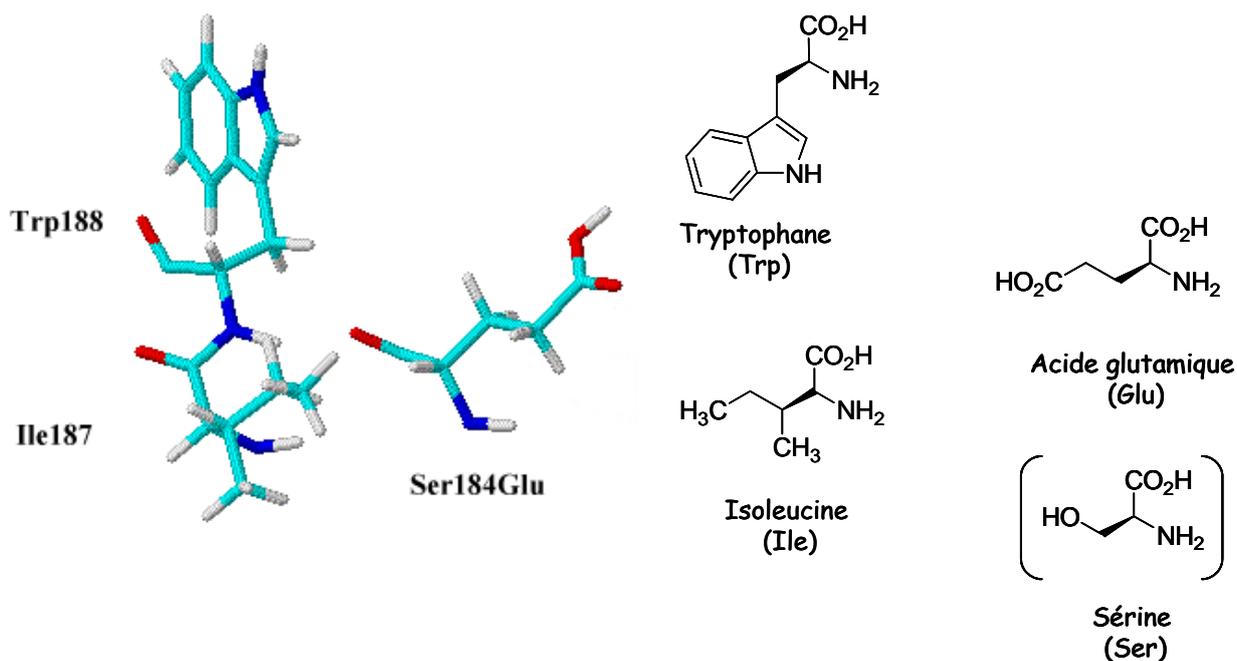


Figure 31 : représentation des 3 résidus modèles (*les atomes d'azote sont représentés en bleu, les atomes d'oxygène en rouge, les hydrogènes en blanc, le squelette carboné en turquoise*).

III.3 - Conception des cibles par modélisation moléculaire

III.3.1 - Introduction

Concevoir des molécules pouvant reproduire ou perturber des interactions protéine-protéine et les développer comme agents pharmaceutiques potentiels efficaces *in vivo*, représentent des tâches qui sont loin d'être triviales. L'idéal est de reproduire les principales caractéristiques de l'un des partenaires, sur une petite molécule organique par exemple.⁸⁰ Plusieurs études ont été réalisées afin de définir les propriétés les plus importantes que doit posséder une molécule pour avoir les meilleures chances de devenir un médicament.

La première condition est évidemment une forte activité envers la cible biologique. La molécule devra être peu toxique et ne pas présenter d'effets secondaires indésirables. Les structures peptidiques, souvent instables métaboliquement, sont à éviter de préférence. Lipinski *et al.*⁸¹ ont proposé une "règle de 5" qui prédit une solubilité et une perméabilité membranaire optimale pour la molécule candidate si :

⁸⁰ Cochran, A. G. *Chem. Biol.* 2000, 7, R85-R94.

⁸¹ Lipinski, C. A. ; Lombardo, F. ; Dominy, B. W. ; Feeney, P. J. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1997, 23, 3-25.

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

- ✦ elle a un poids moléculaire inférieur ou proche de 500 g.mol⁻¹ ;
- ✦ elle est relativement soluble en milieu aqueux (log P < 5) ;
- ✦ elle possède moins de cinq atomes ou groupes donneurs de liaisons hydrogène ;
- ✦ elle possède moins de dix accepteurs de liaisons hydrogène ;
- ✦ elle possède moins de 5 degrés de liberté ceci afin d'éviter une trop grande flexibilité.

Nous devons tenir compte de ces critères lors de la conception de nos modulateurs de l'activité de Bax. Ainsi, nous rechercherons une molécule de petite taille, non-peptidique contenant des éléments structuraux reproduisant les interactions des trois acides aminés Trp188, Ile187 et (Ser)Glu184 identifiés comme jouant un rôle crucial dans le repliement de l'hélice C-terminale. Le travail consiste à relier "artificiellement" ces trois acides aminés en réduisant au maximum le nombre de degrés de liberté, de façon à limiter le nombre de conformations de la molécule pour favoriser les conformations "actives" : l'affinité et la sélectivité de la molécule pour la cible n'en seront que meilleures. Les molécules qui retiendront notre attention seront celles susceptibles d'être obtenues par une voie de synthèse permettant de préparer rapidement des analogues afin de mener une étude de relation structure-activité. La procédure employée a donc été la suivante :

- conception des structures ;
- sélection des meilleurs candidats ;
- minimisation d'énergie pour les substrats retenus ;
- recherche de la conformation de plus basse énergie ;
- superposition avec le tripeptide modèle.

Les molécules retenues après ces étapes ont été analysées par dynamique moléculaire lors d'une expérience de "docking" automatique avec la protéine Bax sans l'hélice $\alpha 9$.

III.3.2 - Conception des structures et recherche conformationnelle

III.3.2.1 - Premières générations de structures

Les trois acides aminés ont été reliés *in silico* en rattachant simplement les atomes d'azote avec les carbones des fonctions carbonyles de façon à former des liaisons amide. Ceci a été fait en restant le plus proche possible de la conformation des acides aminés observée dans l'hélice initiale (les acides aminés ont été "extraits" de l'hélice sans changer leur conformation dans l'hélice). Le tripeptide résultant constitue le modèle sur lequel nous effectuerons la superposition des molécules

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

envisagées de façon à déterminer si elles sont viables ou non (cf. III.3.2.2 - Figure 35). Cette séquence a ainsi servi de point de départ à la conception d'une série de molécules qui ont été optimisées, pour obtenir un nombre réduit d'activateurs potentiels hautement spécifiques. Toutes les structures présentées par la suite ont été étudiées avec le logiciel MacroModel (version 6.5), avec AMBER ou MM3 comme champ de force, TNCG comme méthode de minimisation et la méthode Monte Carlo pour la recherche conformationnelle, dans l'eau comme solvant implicite.

Dans un premier temps, pour limiter le nombre de conformations possible, nous avons relié la partie amide de l'isoleucine avec la chaîne glutamique, puis nous avons "cyclisé" la structure obtenue. Nous avons ensuite fait varier la taille du cycle de 6 à 8 chaînons de même que la position des fonctions amide. L'énergie des cycles a ensuite été minimisée pour ne conserver que la conformation la plus stable de chacun d'entre eux. Ensuite, les substituants ont été introduits, à savoir un noyau indole et la chaîne latérale de l'acide glutamique, en conformité avec le modèle. Ces deux substituants ont été placés à des positions différentes sur le cycle (Figure 32). Quelques exemples de cette première sélection sont représentés ci-dessous : des molécules possédant un cycle à 6 (22) ou 7 chaînons (23) ont ainsi pu être obtenues.

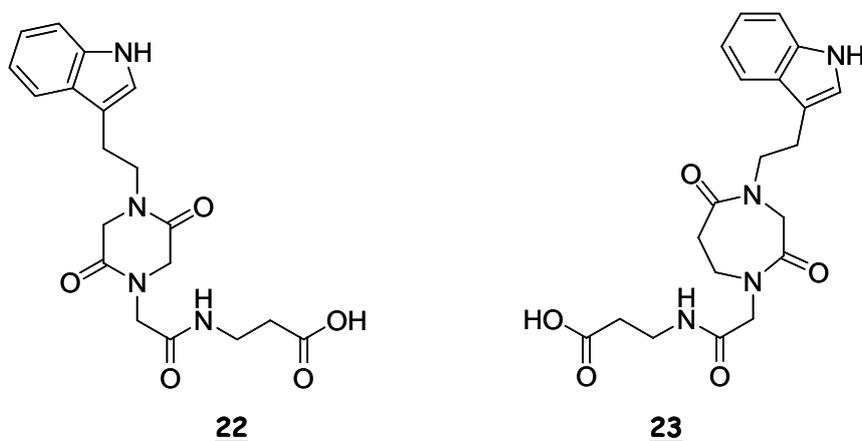


Figure 32 : quelques exemples des premières structures envisagées.

Toutefois, l'analyse conformationnelle de ces molécules nous a conduit à les éliminer. Par exemple, rien que pour la molécule 22, il existe plus de 10^8 conformations possibles! Ce genre de structure n'est donc pas viable : si la molécule retenue peut adopter autant de conformations, elle risque de n'avoir que peu d'affinité pour le site actif de Bax et d'être faiblement sélective.

Il fallait donc diminuer le nombre de degrés de liberté. Nous avons cherché à réduire le nombre de groupements $-CH_2-$ et à augmenter le nombre de cycles (Figure 33).

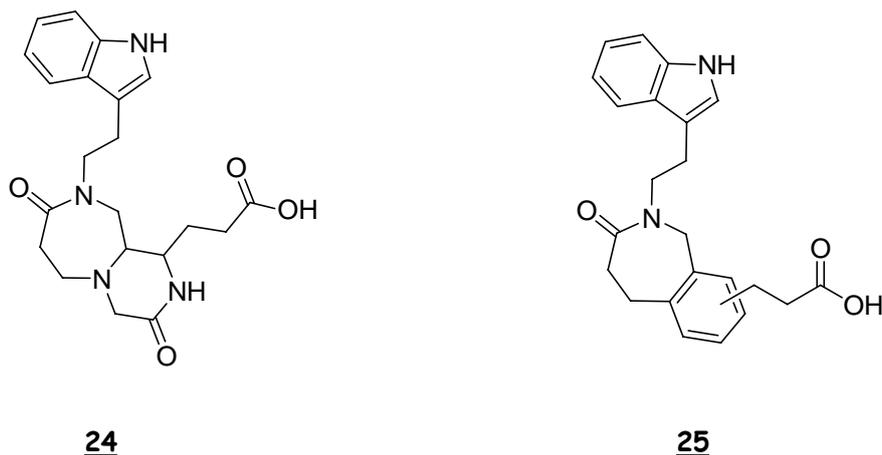


Figure 33 : structures de deuxième génération.

Pour cette deuxième génération de molécules, deux cycles ont été accolés, tout en respectant toujours la présence de liaisons amide, du groupement tryptophane et de la chaîne "glutamique". Nous avons même envisagé de remplacer le cycle à six chaînons (24) par un cycle aromatique (25) ce qui devrait conférer une rigidité accrue à la molécule et pourrait apporter une stabilisation supplémentaire lors de l'interaction dans le site actif, par empilement aromatique avec des acides aminés hydrophobes présents à proximité. Ces structures ont également subi les procédés de minimisation énergétique mais les résultats n'étaient toujours pas satisfaisants, en grande partie à cause de leur trop grande flexibilité. Nous avons donc envisagé une troisième génération de molécules.

III.3.2.2 - Les molécules tricycliques

A la suite de ces résultats, nous avons encore augmenté la rigidité du système au moyen d'un troisième cycle, tout en conservant le noyau aromatique ajouté précédemment (Figure 34). Le système tricyclique a été minimisé avec l'introduction progressive des substituants pour obtenir finalement les molécules de type 26, 27 et 28. Le nombre de conformations est considérablement réduit et les conformations de plus basse énergie ont été localisées.

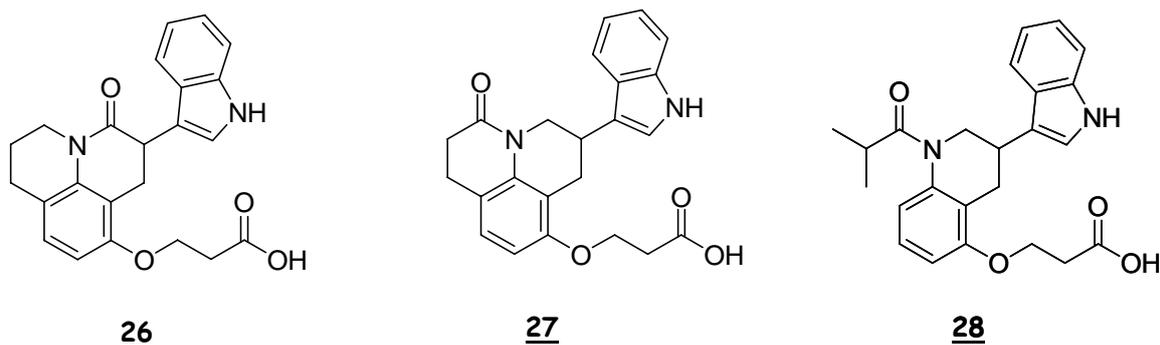


Figure 34 : structures de troisième génération.

Ces conformations ont alors été superposées au tripeptide modèle (Figure 35). Nous pouvons observer une très bonne adéquation entre les molécules 26 et 27 issues de la modélisation et le tripeptide issu du "site actif" de la protéine. Il faut noter l'importance des substituants du squelette tricyclique qui vont probablement orienter et stabiliser les interactions avec la poche hydrophobe.

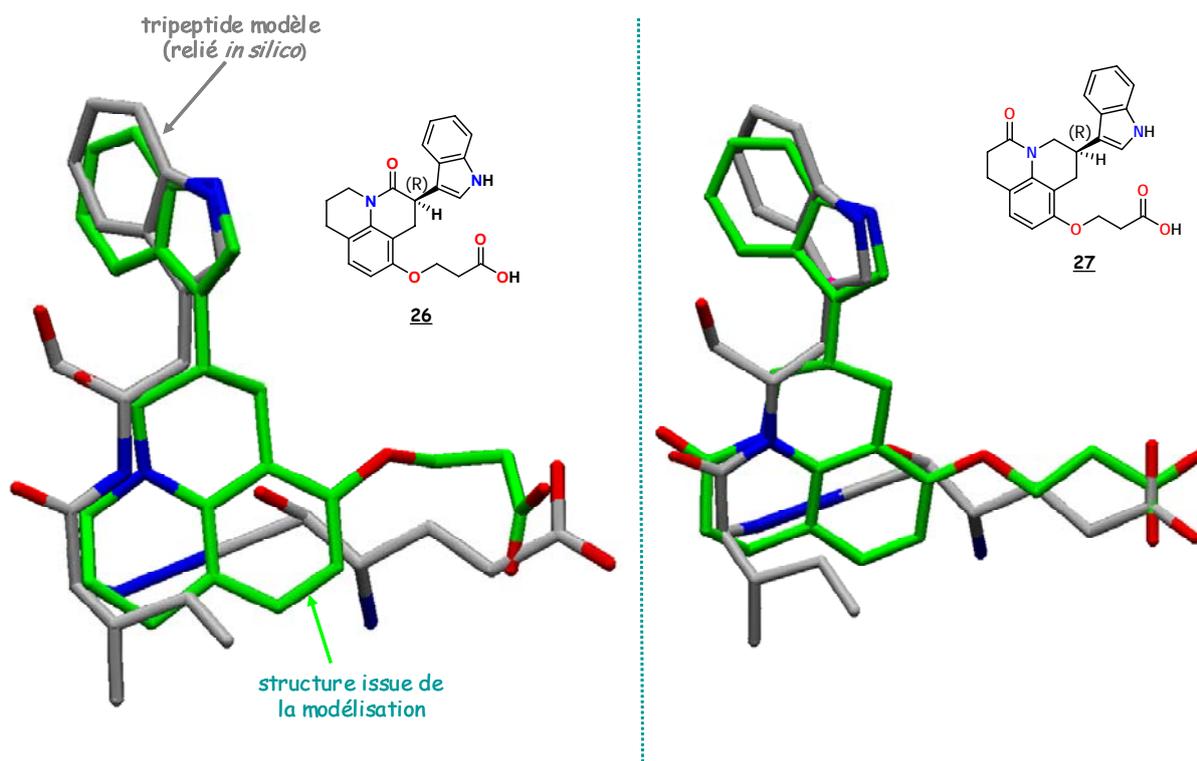


Figure 35 : superposition des molécules 26 et 27 avec le squelette tripeptidique.

Il est important de noter la configuration du carbone asymétrique en alpha de la fonction amide : les deux superpositions de la figure 35 traitent de l'isomère R. Dans un premier temps, nous n'avons pas considéré l'aspect stéréochimique et nous avons choisi de faire la synthèse du mélange

racémique. Cependant, il ne faut pas perdre de vue qu'il est possible que l'isomère S donne également de bons résultats. C'est un point qu'il faudra approfondir dans un deuxième temps. Encouragés par les résultats obtenus lors des premières étapes de minimisation énergétique et de superposition avec le modèle, nous avons réalisé des expériences de "docking" automatique dans lesquelles ces mêmes molécules ont été mises en présence de Bax.

III.3.3 - "Docking" automatique sur la protéine

III.3.3.1 - Principe

Le "docking" automatique est une expérience de dynamique moléculaire qui consiste à laisser la molécule évoluer, autant du point de vue conformationnel que de sa localisation dans l'espace, dans le site actif de la protéine. En effet, il ne faut pas uniquement se fier à la simple superposition car la protéine peut stabiliser une conformation différente de la molécule, même si elle possède une énergie plus élevée. La molécule cible est mise en présence de la protéine Bax (1) sans les 15 premiers acides aminés (domaine *N*-terminal), nous avons vu, en effet, que cette partie n'était pas structurée en solution et (2) sans l'hélice α_9 (résidus 170 à 192) de façon à ce que la molécule puisse interagir avec la poche hydrophobe. Le site actif de la protéine est alors défini par tous les acides aminés ayant au moins un atome à une distance de moins de 10 Å d'un des atomes de la molécule. Le logiciel ne doit pas modifier le squelette de la protéine pendant la simulation, seules les chaînes latérales des acides aminés du site actif sont autorisées à bouger. L'expérience se déroule en deux temps :

- ✦ tout d'abord une étape de minimisation simple : les interactions sont faibles, tous les angles de torsion sont possibles avec un maximum de 180°, les atomes peuvent se déplacer de 3 Å au maximum. Seules les interactions de Van der Waals sont prises en compte à 10% de leur énergie. Les liaisons hydrogène et les interactions électrostatiques sont ignorées. La méthode utilisée est la méthode Monte Carlo, toutes les solutions sont gardées et classées selon leur énergie, les 10 meilleures énergétiquement sont conservées ;

- ✦ dans la deuxième partie de l'expérience, toutes les énergies sont prises en compte y compris les interactions électrostatiques. Les 10 conformations isolées précédemment sont soumises à un recuit simulé (cf. III.1.3-) et sont chauffées à 500 K puis piégées à 300 K. Les conformations rendues accessibles à haute température sont donc gelées. Elles sont de nouveau classées énergétiquement puis les 10 meilleures sont gardées.

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

Cette expérience permet de visualiser la façon dont la molécule cible se positionne dans la protéine. Le site actif est limité à la poche hydrophobe puisque nous ne voulons pas interagir avec le domaine BH3 et risquer de bloquer la multimérisation.

III.3.3.2 - Résultats

Ces expériences ont été réalisées par le Dr M. Laguerre (IECB) à l'aide du module Affinity du logiciel INSIGHT II. Des résultats très intéressants ont ainsi été obtenus puisque, dans la plupart des cas, au moins l'une des quatre premières solutions se positionne à proximité des hélices $\alpha 4$ et/ou $\alpha 5$ à la place qu'occupait l'hélice $\alpha 9$. Il est donc légitime d'envisager que ce type de molécule pourrait se lier avec le site actif de la protéine et ainsi déplacer l'hélice C-terminale de la poche hydrophobe. Les meilleures simulations sont présentées sur les figures ci-après (Figures 36 à 39).

Sur les trois premières figures, il est bien visible que les molécules cibles se positionnent au niveau du site de liaison de l'hélice $\alpha 9$. Sur la Figure 36, la molécule 26 vient se positionner plutôt à proximité de l'hélice $\alpha 3$ dans les deux solutions présentées, mais elle est en interaction directe avec l'hélice $\alpha 4$ dans la solution 4. Sur la Figure 37, l'hélice C-terminale a été rajoutée après la simulation pour clarifier la représentation : il est bien visible que la molécule 27 vient se placer entre l'hélice $\alpha 9$ et les hélices $\alpha 4$ et $\alpha 5$. La molécule 28 adopte le même comportement (Figure 38).

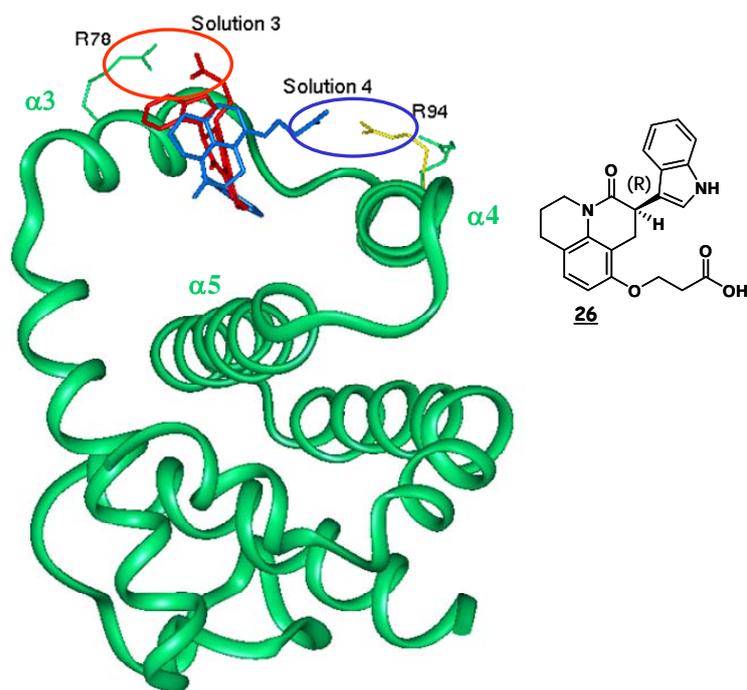


Figure 36 : "docking" automatique de la molécule 26 sur Bax tronquée (solutions 3 & 4).

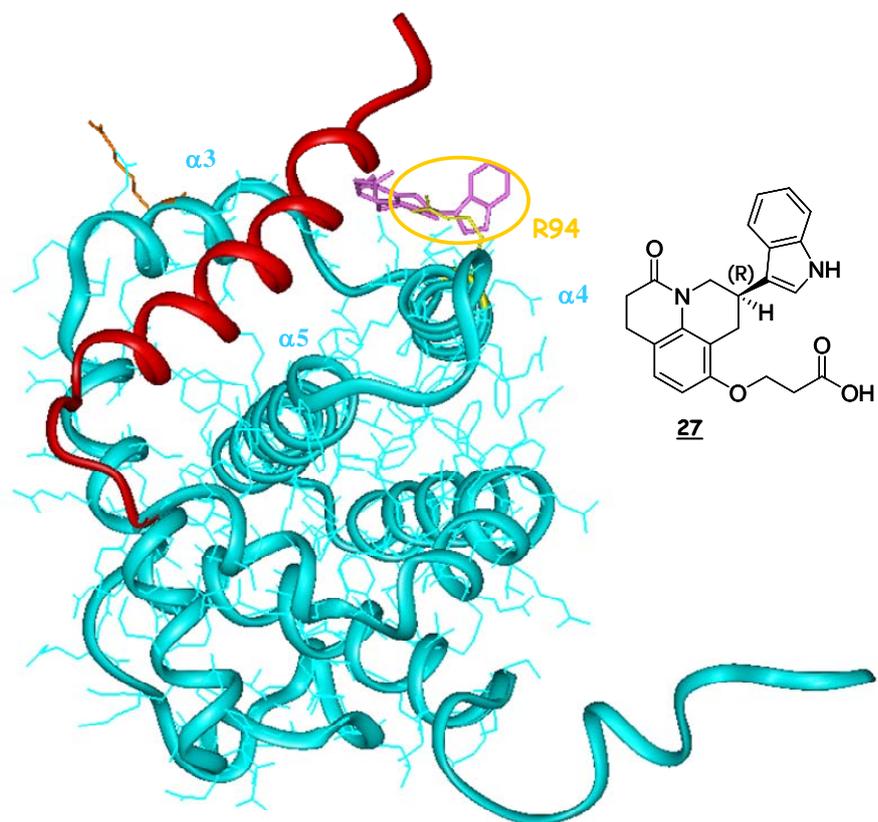


Figure 37 : "docking" automatique de la molécule 27 sur Bax (tronquée).

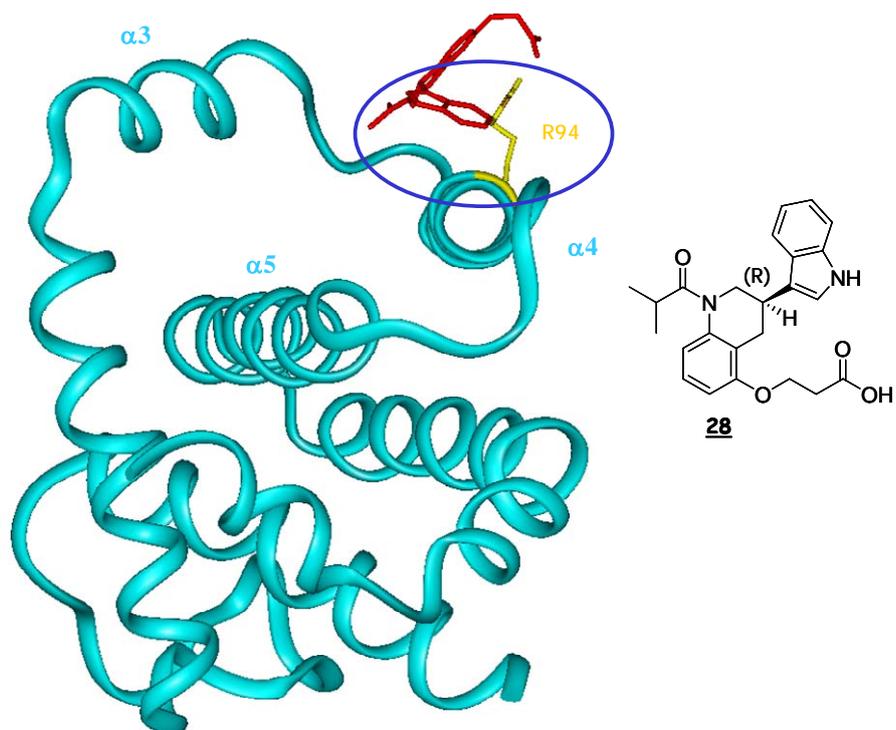


Figure 38 : "docking" automatique de 28 sur Bax (tronquée).

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

Ces figures mettent en évidence des interactions stabilisantes entre la molécule et au moins l'une des hélices délimitant la poche hydrophobe. Dans les trois cas présentés ici, il y a une interaction entre la chaîne mimant l'acide glutamique et la chaîne latérale d'une arginine : l'arginine94 présente sur l'hélice α_4 interagit avec les molécules 26 (solution 4), 27 et 28 (Figures 36, 37 et 38) tandis que l'arginine78 présente sur l'hélice α_3 peut aussi interagir avec la molécule 26 (Figure 36 - solution 3). Il pourrait y avoir établissement d'une liaison ionique entre l'ion carboxylate de la chaîne glutamique et l'arginine protonée, ce qui renforcerait considérablement la position de la cible dans la poche hydrophobe.

Nous avons aussi envisagé le remplacement de l'indole par un autre groupement aromatique : le *m*-hydroxyphényle, un isostère de l'indole. Le résultat de la simulation est également très encourageant (Figure 39). Dans ce cas, une deuxième interaction de type ionique vient s'établir entre la fonction phénol et la chaîne latérale de l'arginine 94, ce qui est tout à fait en accord avec le raisonnement que nous avons mené.

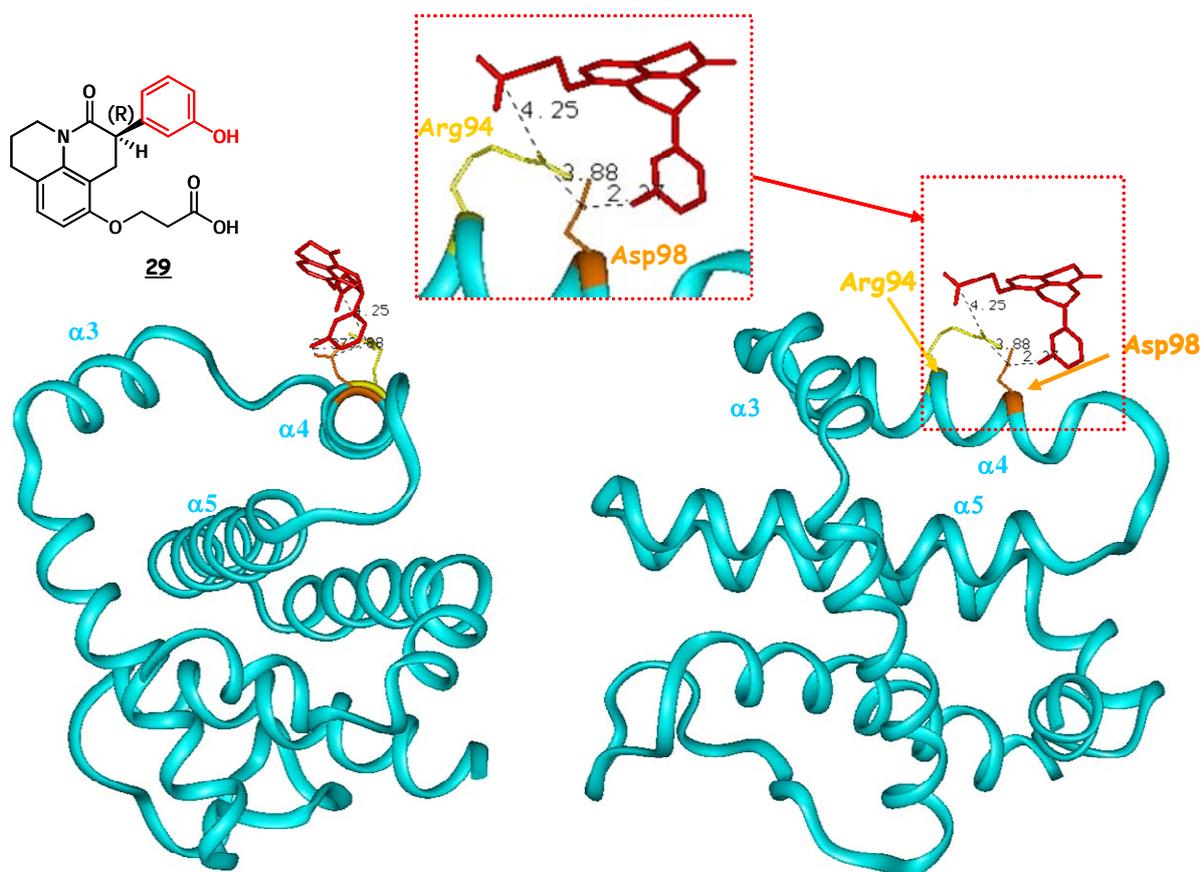


Figure 39 : remplacement de l'indole par le groupe *m*-hydroxyphényle (solution 2).

Le résultat de la simulation de la molécule 29 ouvre des perspectives intéressantes. En effet, il peut être envisagé de remplacer l'indole par d'autres groupements aromatiques isostères ce qui confèrera peut être à la molécule concernée plus d'affinité pour la protéine. La position de la chaîne acide glutamique sur le cycle aromatique a également été étudiée : la position optimale semble être en *meta* (par rapport à l'azote) comme nous pouvions déjà le voir sur la Figure 35.

III.4 - Sélection des cibles

Sur la base des résultats issus de la modélisation, nous avons décidé de synthétiser les molécules 26, 27 et 28 (Figure 40). Comme nous l'avons déjà précisé, nous avons choisi dans un premier temps de synthétiser les mélanges racémiques. L'objectif à plus long terme sera de séparer les deux énantiomères si le racémique montre une activité intéressante, voire de réaliser la synthèse de manière énantiosélective.

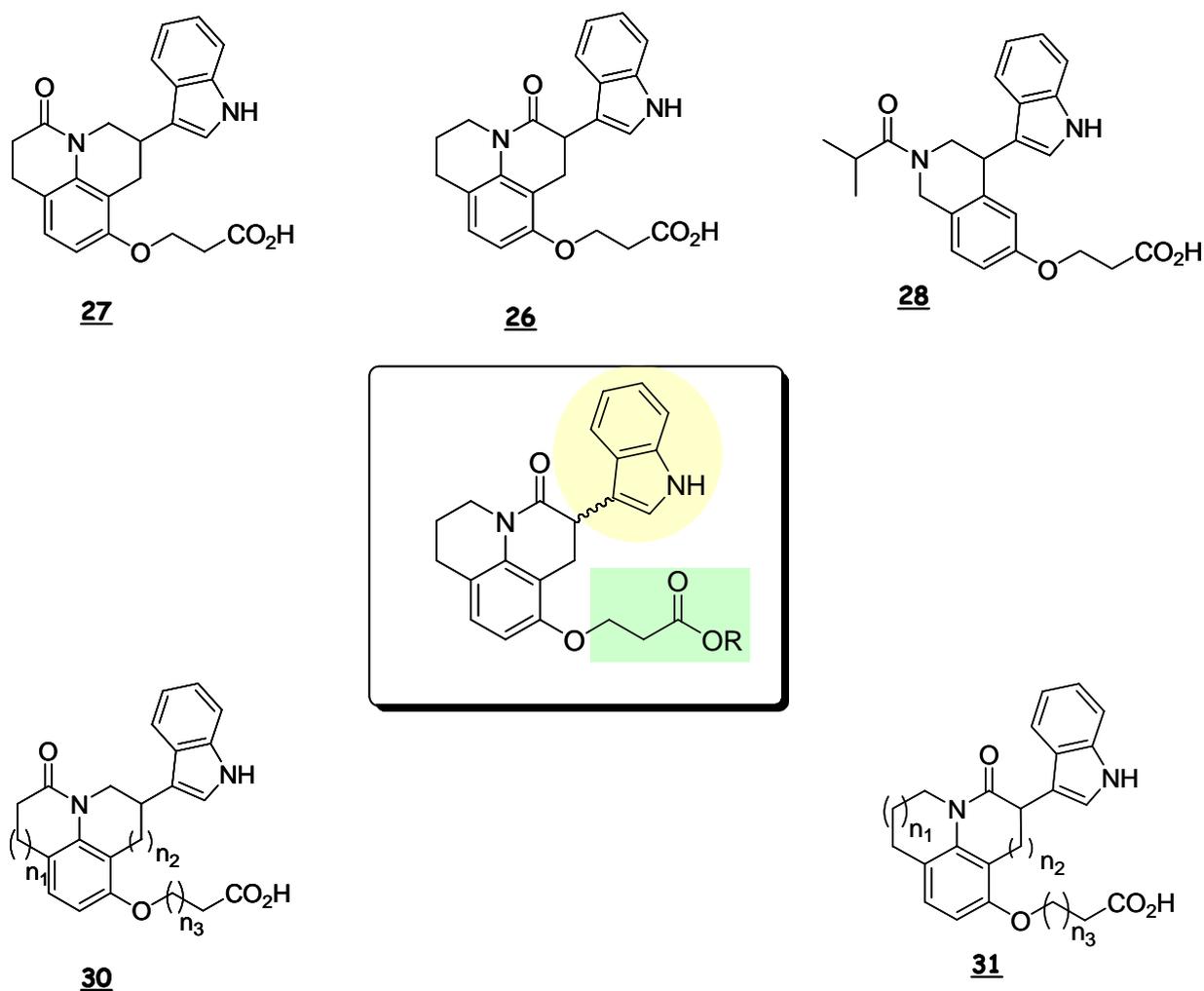


Figure 40 : molécules cibles envisagées.

Chapitre 3 : Conception d'Activateurs de Bax par Modélisation Moléculaire.

Nous nous sommes concentrés dans un premier temps sur les molécules 26 et 27 qui possèdent un squelette identique et ont donné des résultats intéressants suite aux différents calculs effectués. Leur synthèse présente probablement de nombreux points communs qui devraient nous permettre d'accéder rapidement à deux familles différentes. De plus, les possibilités de variations structurales sur ces substrats sont multiples : nature de l'aromatique, longueur de la chaîne "glutamique", nature du groupement polaire terminal, taille des cycles, etc... Une fois les cibles à synthétiser choisies, nous devons déterminer si elles sont connues et décrites dans la littérature. Dans le cas contraire, il faudra envisager une voie de synthèse nous y donnant un accès rapide et permettant d'introduire aisément de la diversité structurale.

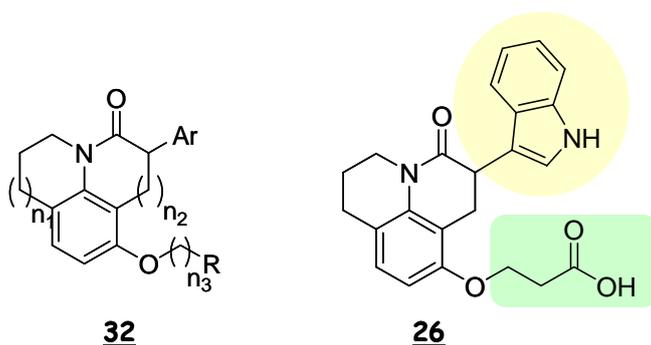
Bien sûr, il faudra garder en mémoire les autres cibles envisagées comme par exemple les molécules bicycliques qu'il sera peut être intéressant de synthétiser par la suite.

CHAPITRE 4

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE & STRATEGIE DE SYNTHESE

IV.1 - Objectif & Stratégie

L'objectif de ce travail est l'élaboration de dérivés de structure générale **32** (Figure 41). La molécule **26** est le prototype de cette classe de composés, sur lequel nous avons réalisé l'essentiel des calculs de modélisation. Toutefois, les voies de synthèse seront conçues de façon à permettre facilement la préparation d'analogues en vue d'une étude des relations entre structure et activité (SAR). La diversité structurale résultera de variations de (1) la taille des cycles, (2) la longueur de l'espaceur, (3) la nature du groupement aromatique et (4) la nature du groupement R.



Ar = aromatique (indole, phényle...)
R = CO₂H, CO₂R, NH₂, NR₂...

Figure 41

Ce type de molécule **32** est original si l'on considère la nature de la substitution. Nous avons conçu une stratégie convergente qui devrait nous donner un accès rapide aux cibles souhaitées (Schéma 1).

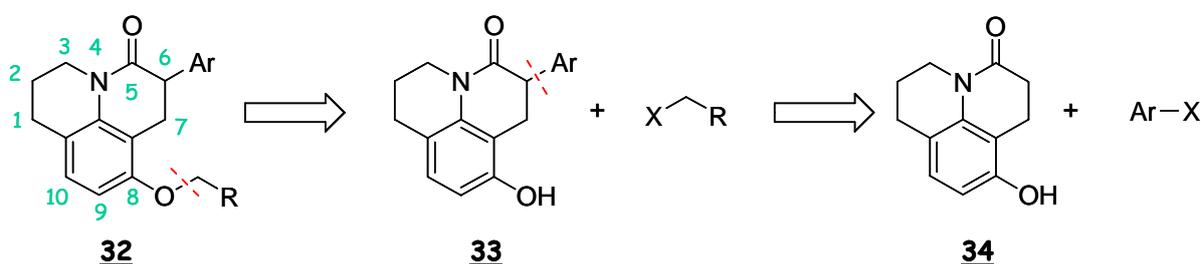


Schéma 1

L'introduction de l'aromatique et de la chaîne alkyle se feraient lors des dernières étapes de la synthèse, de façon à pouvoir aisément diversifier ces substituants et constituer une petite librairie de molécules à partir d'un squelette tricyclique commun. L'introduction d'un groupement aromatique en α d'un amide est bien documentée dans la littérature. De même, la chaîne alkyle

peut être greffée sur une fonction phénol en position 8 du tricycle par les méthodes classiques de formation des éthers phénoliques.⁸² Le squelette tricyclique de base appartient à la famille des tétrahydropyridoquinoléinones, plus précisément aux 2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido [3,2,1-*ij*]-quinoléin-5-ones.

Les paragraphes suivants présentent une revue des principales voies d'accès au squelette 8-hydroxy-2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]-quinoléin-5-one **34**. Nous nous sommes également documentés sur les molécules analogues ou possédant ce motif comme sous-unité structurale.

IV.2 - Revue de la littérature

IV.2.1 - Généralités

Cette étude bibliographique portera sur les systèmes tricycliques des pyrido- et pyrrolo-[3,2, *ij*]-quinoléines qui diffèrent seulement par la taille du cycle A (Figure 42).

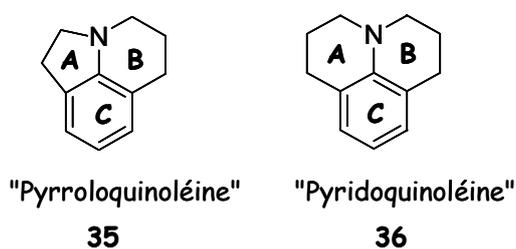


Figure 42

La lilolidine **35** (Figure 43) a été préparée pour la première fois en 1972 par von Braun *et al.*⁸³ (2 étapes, 40% environ). La meilleure méthode est celle de Hallas et Taylor⁸⁴ (3 étapes, 61%). Les dérivés **35a** à **35d** ont également été synthétisés.^{85,86,87}

⁸² cf. chapitre 7 pour les références détaillant plus amplement ces deux types de fonctionnalisation.

⁸³ von Braun ; Heider ; Wyczatkowska *Ber.* **1918**, *51*, 1219.

⁸⁴ Hallas, G. ; Taylor, D. C. *J. Chem. Soc.* **1964**, 1518-1519.

⁸⁵ Rapoport, H. ; Tretter, J. R. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 248-251.

⁸⁶ Rapoport, H. ; Tretter, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 5574-5575.

⁸⁷ Astill, B. D. ; Boekelheide, V. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 316-318.

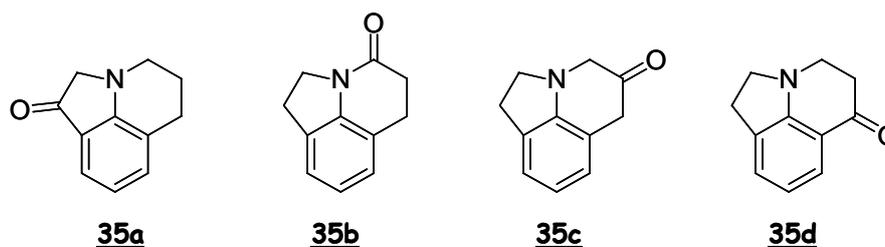


Figure 43 : dérivés de la lolidine.

Le noyau pyrido-[3,2,*ij*]-quinoléine est mieux représenté dans la littérature. La julolidine **36** et la 8-hydroxyjulolidine **37** sont des produits commerciaux (**Figure 44**). La 1-oxojulolidine **38** a été préparée en 1951 par Mann et Smith.⁸⁸ La 3-oxojulolidine **39** et la julolidine **36** ont été synthétisées par Smith et Yu.⁸⁹ Le motif pyridoquinoléine se retrouve également dans des structures telles que celles des coumarines **40** et **41**.

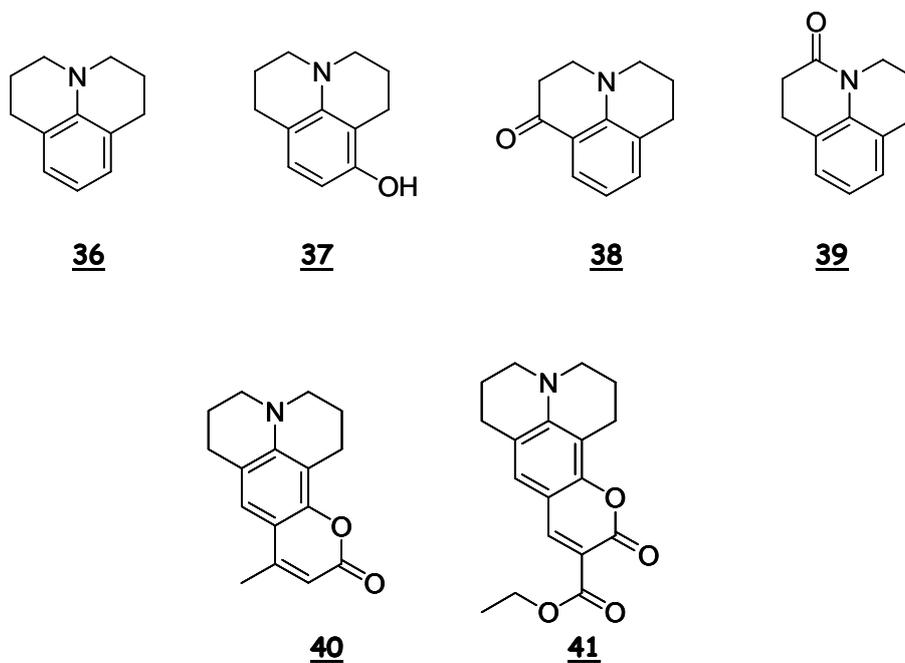


Figure 44 : quelques exemples de structures connues comportant le motif "pyridoquinoléine".

Ces noyaux tricycliques (**Figure 42**) sont également retrouvés dans des structures d'alcaloïdes. Par exemple, une sous-structure "pyridoquinoléinedione" se retrouve dans le composé

⁸⁸ Mann, F. G. ; Smith, B. B. *J. Chem. Soc.* 1951, 1898-1905.

⁸⁹ Smith, P. A. S. ; Yu, T.-Y. *J. Am. Chem. Soc.* 1952, 74, 1096-1098.

42 qui est un intermédiaire dans la synthèse de l'acronycine 43.⁹⁰ L'acronycine est un alcaloïde de la famille des acridones (Figure 45) qui a été isolé en 1948, de l'écorce d'*Acronychia baueri*, un petit arbre australien. Vingt ans plus tard, l'équipe de Svoboda⁹¹ (laboratoires Lilly) a mis en évidence ses propriétés antitumorales. Malheureusement, le produit naturel est trop peu soluble et doit être administré par voie orale à des doses qui entraînent des effets secondaires indésirables. Des analogues synthétiques plus solubles de l'acronycine se sont montrés très prometteurs dans des tests *in vitro* et *in vivo*.⁹²

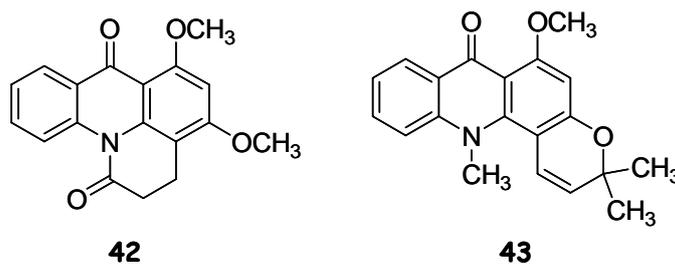


Figure 45 : composés de la famille des acridones.⁹⁰

Le motif "pyrroloquinoléine" est également présent dans la structure des alcaloïdes de la famille des pyrrolophénanthridines. Ces composés sont isolés de diverses variétés d'*Amaryllidaceae*, et un grand nombre d'entre eux présentent des propriétés pharmacologiques intéressantes. Ainsi, la kalbretorine 45, l'ungeremine 46 et son chlorhydrate 47, la lycorine 48, l'oxoassoanine 49, l'anhydrolycorin-7-one 50, ou encore l'hippadine 51 sont actifs contre différents types de tumeurs (Figure 46).^{93, 94, 95}

⁹⁰ Beck, J. R. ; Kwok, R. ; Booher, R. N. ; Brown, A. C. ; Patterson, L. E. ; Pranc, P. ; Rockey, B. ; Pohland, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4706-4710.

⁹¹ Svoboda, G. H. ; Poore, G. A. ; Simpson, P. J. ; Boder, G. B. *J. Pharm. Sci.* **1966**, *55*, 758-768.

⁹² a) Costes, N. ; Le Deit, H. ; Michel, S. ; Tillequin, F. ; Koch, M. ; Pfeiffer, B. ; Renard, P. ; Leonce, S. ; Guilbaud, N. ; Kraus-Berthier, L. ; Pierre, A. ; Atassi, G. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2395-2402. b) Mai, H. D. T. ; Gaslonde, T. ; Michel, S. ; Tillequin, F. ; Koch, M. ; Bongui, J. -B. ; Elomri, A. ; Seguin, E. ; Pfeiffer, B. ; Renard, P. ; David-Cordonnier, M.-H. ; Laine, W. ; Bailly, C. ; Kraus-Berthier, L. ; Leonce, S. ; Hickman, J. A. ; Pierre, A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3072-3082.

⁹³ Zee-Cheng, R. K. Y. ; Yan, S.-J. ; Cheng, C. C. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 199-203.

⁹⁴ Gonzalez, C. ; Perez, D. ; Guitian, E. ; Castedo, L. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6318-6326.

⁹⁵ Padwa, A. ; Dimitroff, M. ; Waterson, A. G. ; Wu, T. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3986-3997.

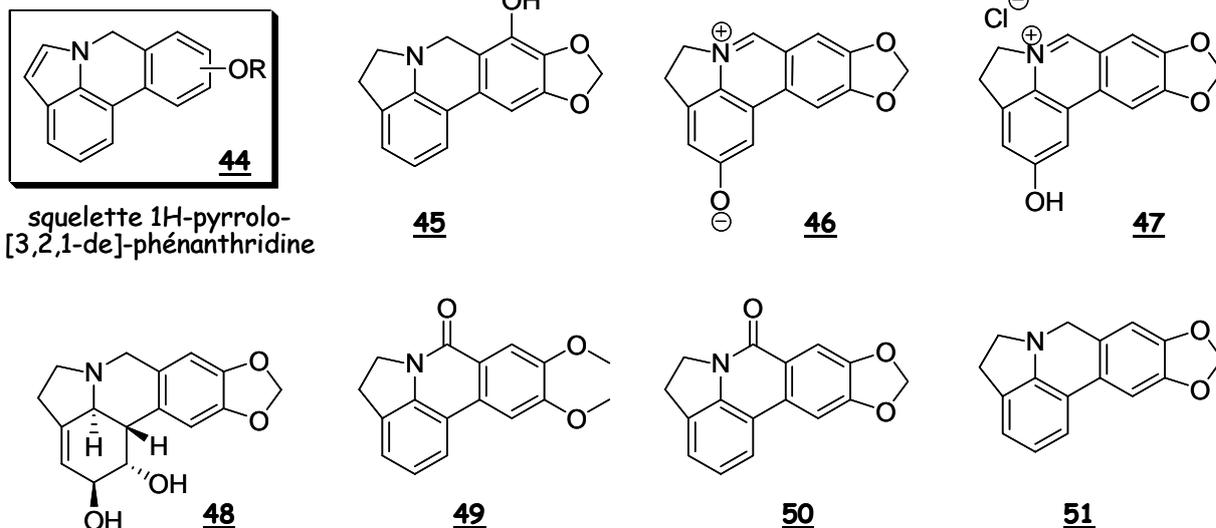


Figure 46

En 1985, Butler *et al.* ont breveté des composés de formule générale 52 pour le traitement d'un certain type d'amnésie (Figure 47).⁹⁶ Les molécules 53 et 54 sont proches des structures qui nous intéressent dans ce travail.

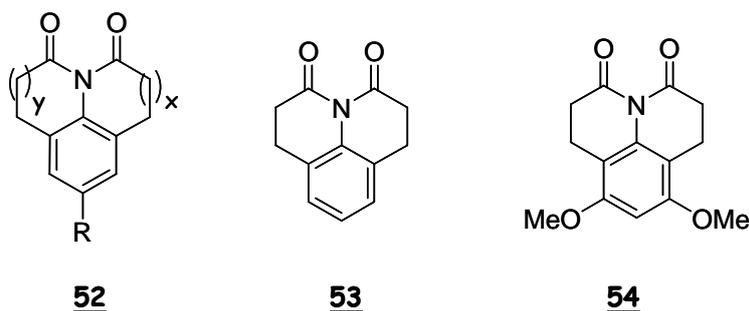


Figure 47 : structure générale des composés benzotricycliques-diones.⁹⁶
($x, y = 0, 1$; $R = H, \text{halogène}, -OH, -OR^1$ ou $-NR^2R^3\dots$)

En 1975, la compagnie Pfizer a déposé une série de brevets sur des dérivés pyrroloquinoléine et pyridoquinoléine de formule générale 55 en tant qu'agents protecteurs du riz contre diverses maladies (Figure 48).⁹⁷ Les composés de structures générales 58a à 59b ont montré

⁹⁶ Butler, D. E. ; Pavia, M. R. ; Hershenson, F. M. ; Brevet : US4530929, 1985 (Warner-Lambert Co., USA).

⁹⁷ a) Bass, R. J. ; Koch, R. C. ; Richards, H. C. ; Thorpe, J. E. ; Brevet : US3917838, 1975 (Pfizer Inc., USA). [Chem. Abstr. 1964, 61, 1831] ; b) Bass, R. J. ; Koch, R. C. ; Richards, H. C. ; Thorpe, J. E. ; Brevet : GB1394373, 1975 (Pfizer Ltd., UK) ; c) Bass, R. J. ; Koch, R. C. ; Richards, H. C. ; Thorpe, J. E. ; Brevet : GB1394374, 1975 (Pfizer Ltd., UK).

une bonne activité protectrice, mais les composés les plus actifs sont finalement ceux possédant les structures les plus simples, à savoir les dérivés de la lilolidine **56** et **57**.⁹⁸

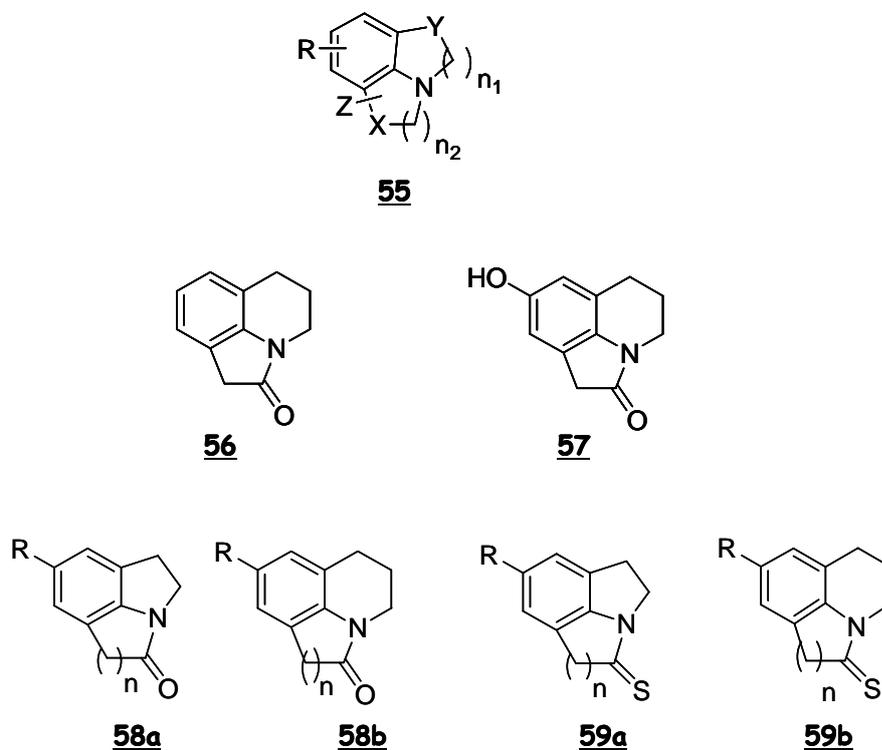


Figure 48

Dans les paragraphes qui suivent, nous décrirons successivement les stratégies de synthèse, recensées dans la littérature, des composés comportant les noyaux de la Figure 42.

IV.2.2 - Stratégies de Synthèse

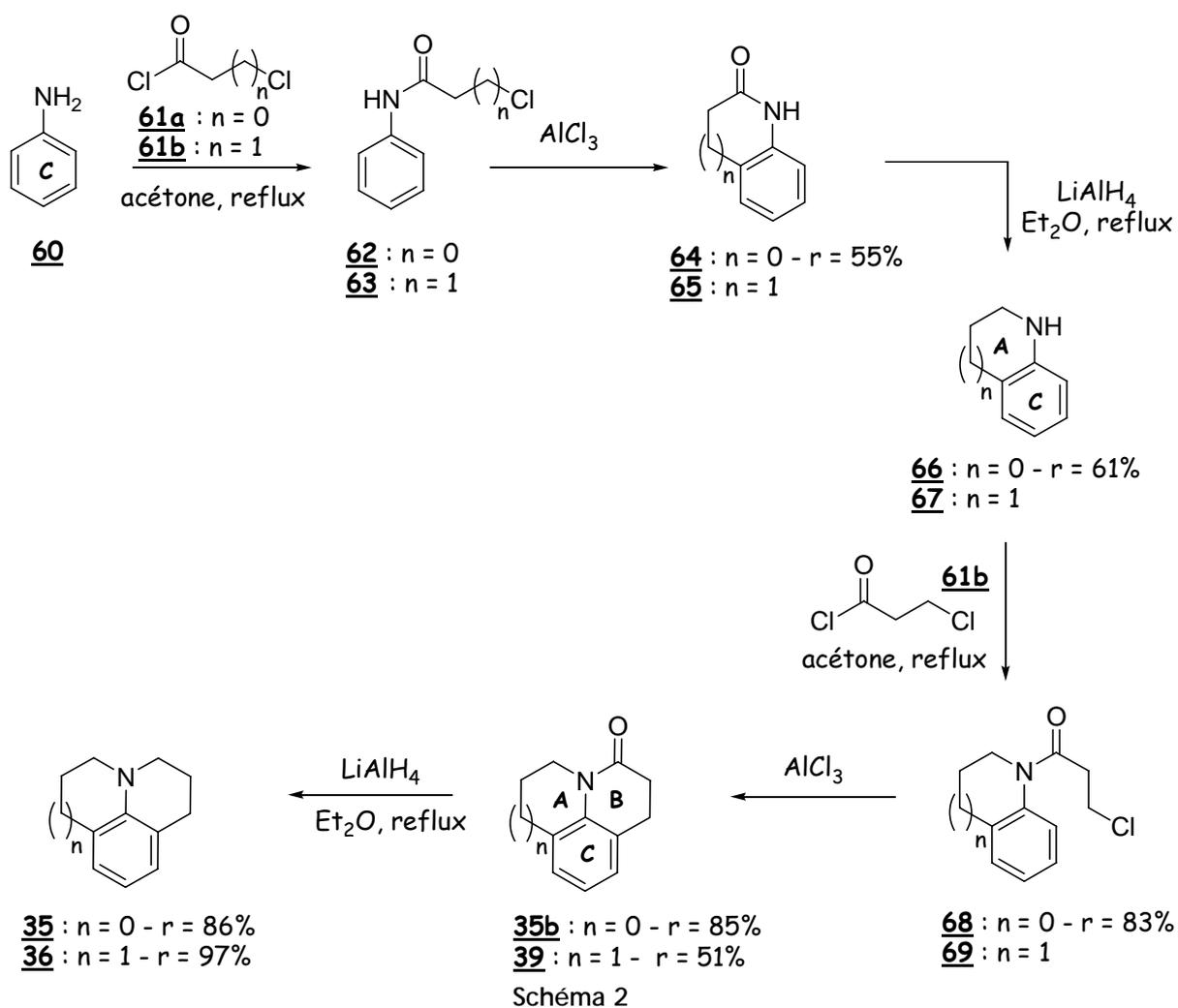
Les différentes voies de synthèse présentées ci-après sont décrites en fonction du schéma rétrosynthétique choisi et donc de l'ordre de construction des différents cycles A, B et C (cf. Figure 42).

IV.2.2.1 - Stratégie ABC \Rightarrow AC \Rightarrow C

Cette stratégie a été utilisée pour la préparation des dérivés de la julolidine **36** par Smith et

⁹⁸ Bass, R. J. ; Koch, R. C. ; Richards, H. C. ; Thorpe, J. E. *J. Agric. Food Chem.* 1981, 29, 576-579.

Yu⁹⁹ et ensuite pour la synthèse de la lilolidine par Hallas et Taylor (Schéma 2).⁹⁹ La même séquence (acylation de l'amine, cyclisation de type Friedel-Crafts puis réduction du carbonyle) appliquée, soit à l'indoléine **66**, soit à la tétrahydroquinoléine **67** conduit respectivement à la lilolidine **35** (rendement global : 61%) ou à la julolidine **36** (rendement global : 49%). Les composés **66** et **67** peuvent également être obtenus à l'aide du même enchaînement réactionnel. Cette stratégie constituera par la suite la méthode de référence pour la synthèse de ce type de molécules.



La chaîne carbonée nécessaire pour construire le cycle B de la julolidine **36** peut également être introduite par cyanoéthylation de la tétrahydroquinoléine **67** (Schéma 3).^{88,89,100} Le produit

⁹⁹ Hallas, G. ; Taylor, D. C. *J. Chem. Soc.* 1964, 1518-1519.

¹⁰⁰ Whitmore, F. C. ; Mosher, H. S. ; Adams, R. R. ; Taylor, R. B. ; Chapin, E. C. ; Weisel, C. ; Yanko, W. *J. Am. Chem. Soc.* 1944, 66, 725-731.

résultant **71** n'a cependant pas pu être cyclisé avec du chlorure d'aluminium selon la méthode mise au point par Clemo et Ramage.¹⁰¹ Cette réaction avait pourtant été décrite auparavant mais il semble que ces résultats ne soient pas reproductibles.^{85,88} Mann et Smith ont trouvé une alternative en réalisant l'hydrolyse basique du nitrile en l'acide correspondant **73** qui a pu être cyclisé en 1-oxojulolidine **38** par action d'anhydride phosphorique au reflux du xylène. Toutefois, le rendement est assez faible (31%).

Les mêmes difficultés ont été rencontrées lors des essais de cyclisation du composé **70**, résultant de la cyanoéthylation de l'indoléine **66**. La cyclisation directe avec le chlorure d'aluminium conduit à un rendement très faible (de 8 à 13%).⁸⁷ En revanche, l'hydrolyse de **70** en acide **72** suivie d'un traitement à l'acide polyphosphorique donne **35d** avec un rendement de 53%.⁸⁵

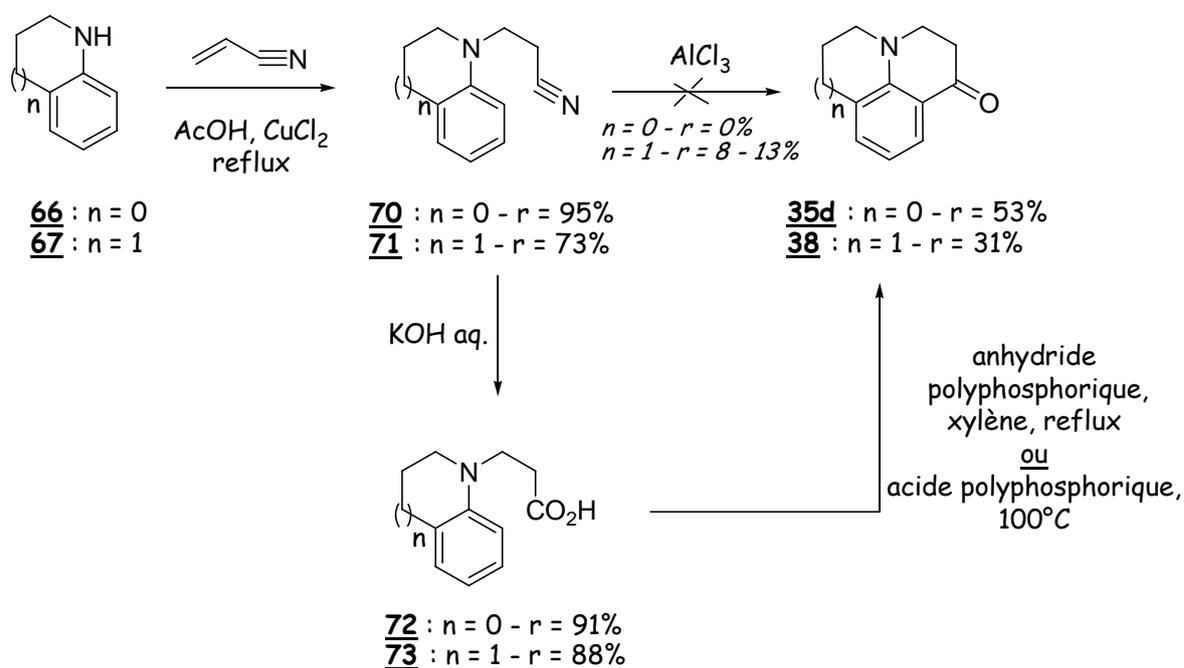


Schéma 3

Une variante de cette stratégie (ABC \Rightarrow AC \Rightarrow C) est décrite dans le Schéma 4.^{88,89,102} Mann et Smith⁸⁸ annoncent un rendement de 49% pour l'étape de cyclisation en présence d'AlCl₃ dans le chlorobenzène. Curieusement, la méthode consistant à hydrolyser le dérivé dinitrile puis à cycliser le diacide obtenu en présence d'anhydride phosphorique n'a donné que de très faibles rendements selon ces auteurs.

¹⁰¹ Clemo, G. R. ; Ramage, G. R. *J. Chem. Soc.* 1931, 49-55.

¹⁰² Cookson, R. C. ; Mann, F. G. *J. Chem. Soc.* 1949, 67-72.

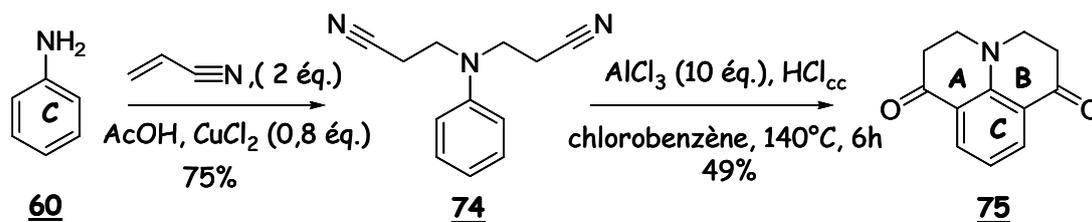


Schéma 4

Cette stratégie a également été employée par Bass *et al.*^{97,98} pour synthétiser les dérivés "pyrrolo-" et "pyridoquinoléine". Ils ont étendu le procédé à la synthèse de composés diversement substitués (Schéma 5). L'utilisation d'un chlorure d'alkylmalonyle conduit à une "pyrroloquinoléinedione" **76** ou "pyridoquinoléinedione" **77**. De même, l'utilisation d'un β -cétoester de type $R^3COCHR^4CO_2C_2H_5$ permet d'obtenir des composés de formule générale **78**. Si l'ester est un dérivé de l'acide malonique, la réaction donne accès à des composés *gem*-disubstitués en α de la fonction amide tel que le composé **79**.

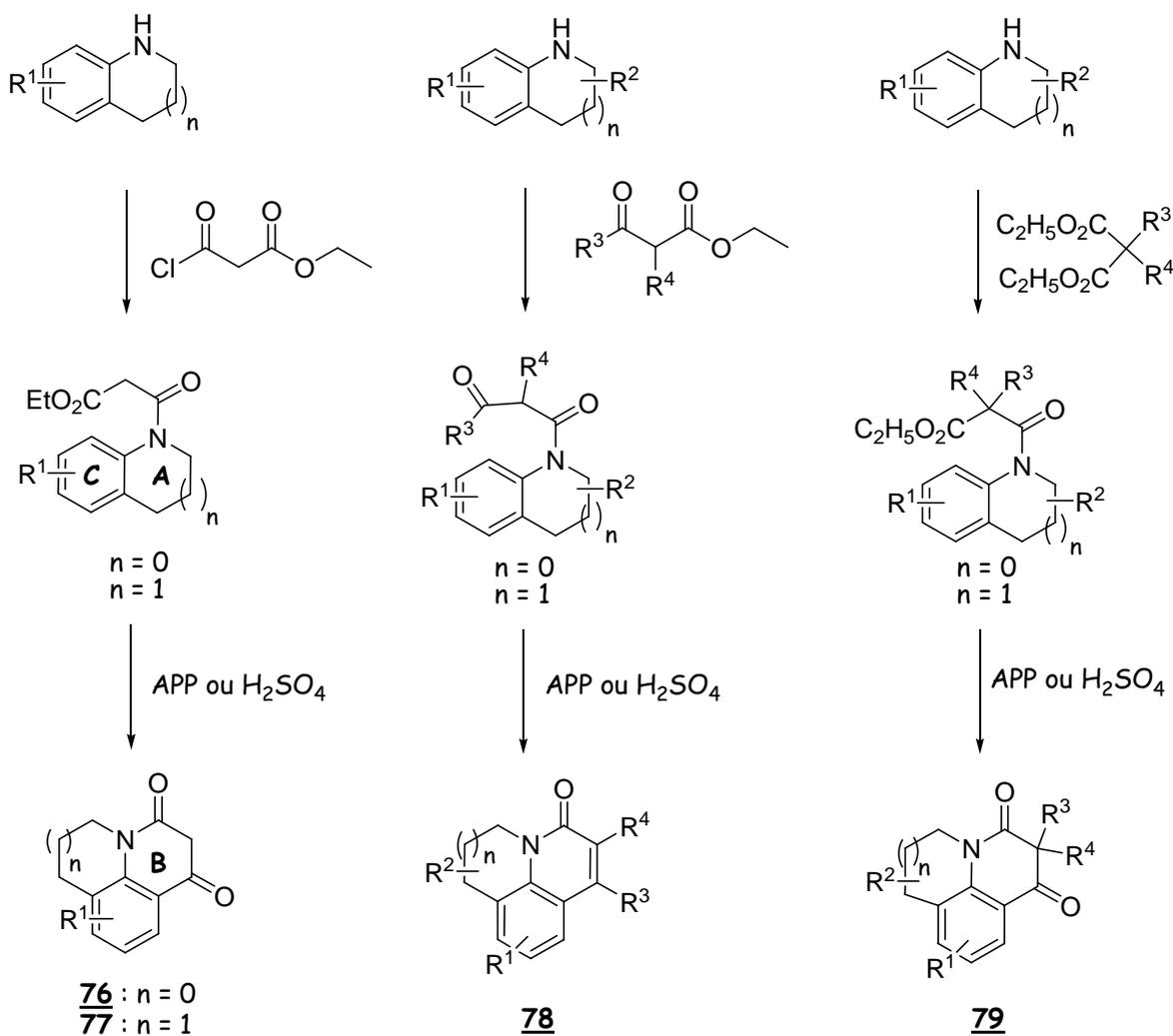


Schéma 5

En général, la voie par le chlorure d'acide donne de meilleurs rendements que la voie *via* un dérivé cyanoéthylé, qui présente aussi l'inconvénient de rajouter une étape.

IV.2.2.2 - Stratégie ABC \Rightarrow BC

Lors d'une étude sur la synthèse d'analogues de l'ungereimine **46**, Zee-Cheng *et al.*⁹³ ont mis au point une voie d'accès efficace à l'intermédiaire pyrrolophénanthridone **81** par cyclisation photochimique du dérivé bromoanilide **80** (Schéma 6).

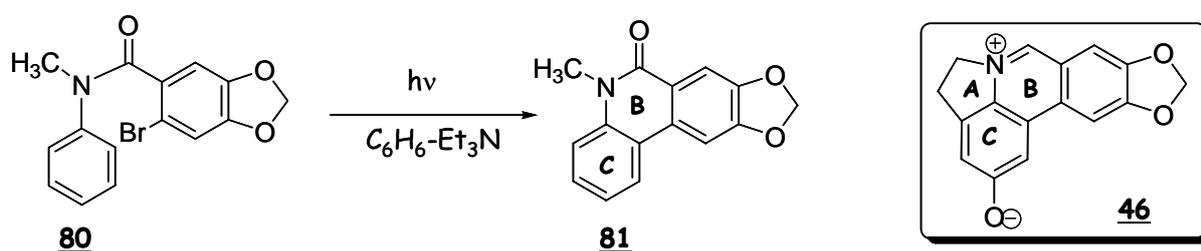


Schéma 6

Cette technique a ensuite été appliquée à la synthèse de plusieurs dérivés phénanthridones comme les composés **87** et **88** (Schéma 7).

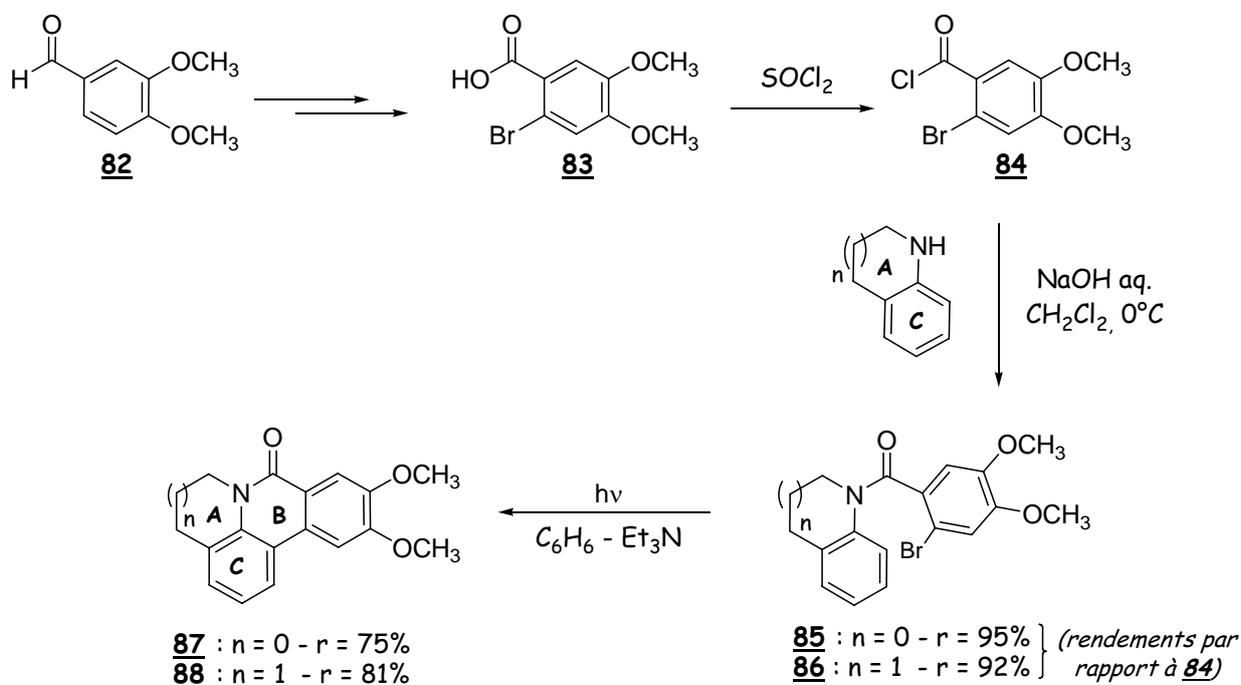
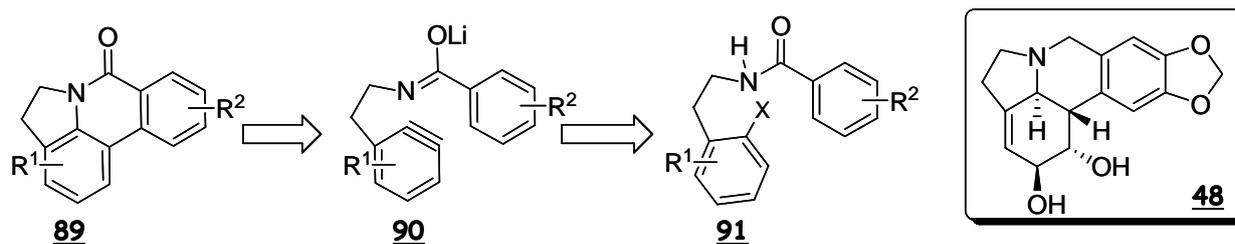


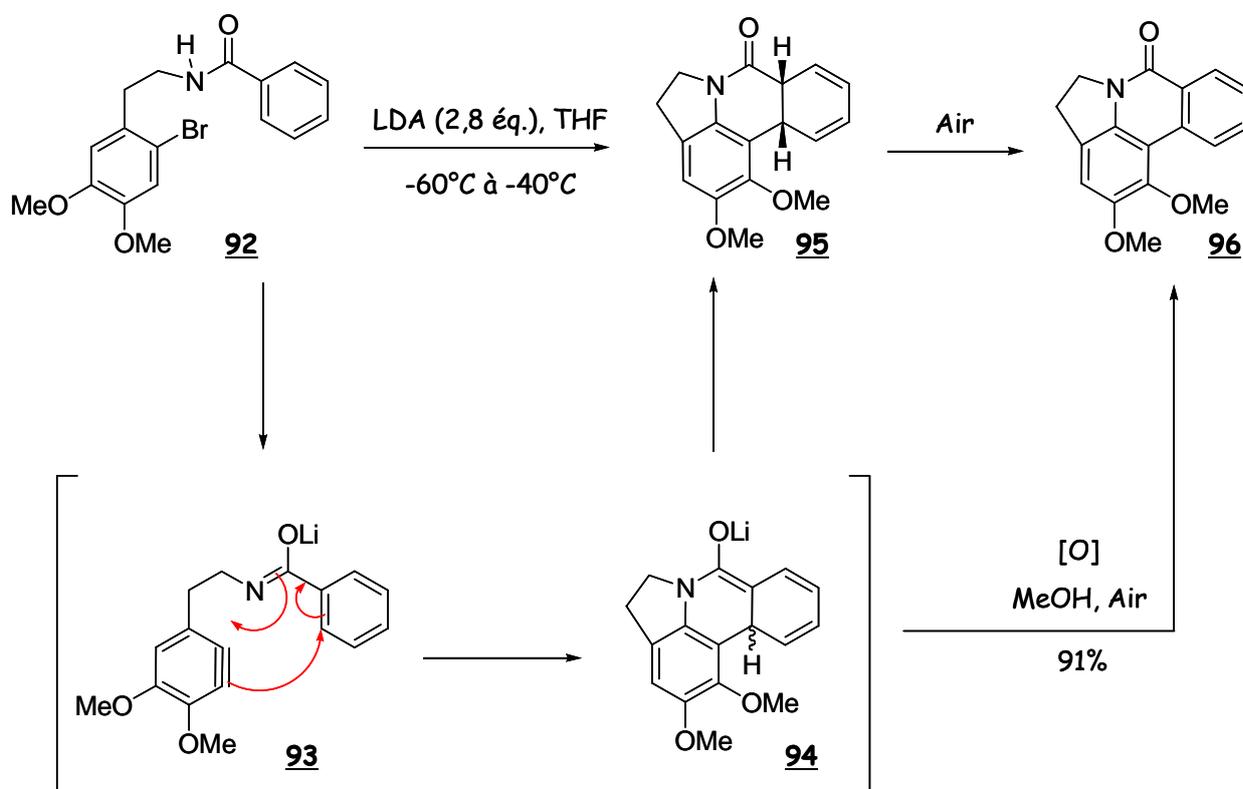
Schéma 7⁹³

IV.2.2.3 - Stratégie ABC \Rightarrow C

Dans cette approche très convergente, les cycles A et B sont construits en une seule étape, en utilisant une réaction d'hétéroDiels-Alder. Une telle stratégie a été utilisée par González *et al.*⁹⁴ pour la synthèse d'analogues de la lycorine **48** (Schéma 8). La génération des deux fonctions réactives se fait par une réaction de déshydrohalogénéation du dérivé aromatique **91** induite par une base qui provoque également l'énolisation de la fonction amide.



Une illustration de cette stratégie est présentée dans le Schéma 9.



La cycloaddition intramoléculaire de Diels-Alder conduit à l'intermédiaire **94** qui, après hydrolyse, se tautomérise en **95**. Celui-ci s'oxyde partiellement pour donner le produit **96** (32%) en mélange avec **95** (37%). L'oxydation directe de l'intermédiaire **94** donne un bien meilleur rendement en composé **96** (91%).

IV.2.2.4 - Stratégie ABC \Rightarrow C \Rightarrow S

La réaction de Diels-Alder intramoléculaire utilisant un furane comme diène, aussi appelée IMDAF (IntraMolecular Diels-Alder reaction of Furans), permet l'accès à des cycles polyoxygénés complexes. Padwa *et al.*⁹⁵ ont développé une méthode de synthèse efficace de dérivés indoléines et tétrahydroquinoléines par cette stratégie (Schéma 10). Ainsi, les dérivés 5-carboxyméthyl-2-amidofurane **97** ou **98**, *N*-alkylés par une chaîne oléfinique, peuvent subir une réaction de Diels-Alder pour donner les cycloadduits **99** ou **100**. Ceux-ci se réarrangent aussitôt en **101** ou **102** puis se réaromatisent pour donner **103** ou **104**.

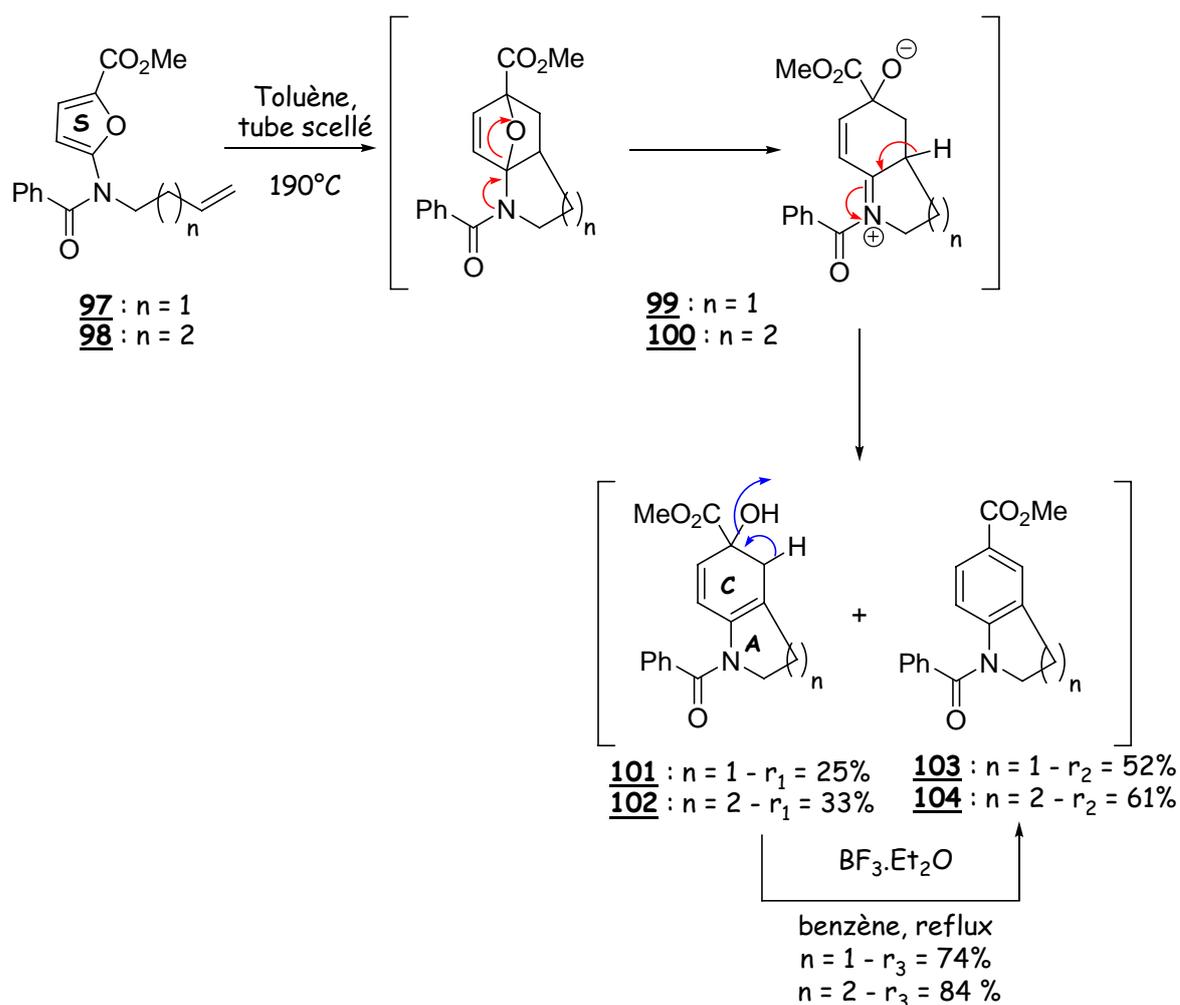


Schéma 10

Cette méthodologie a été validée et optimisée sur de nombreux substrats, elle a ensuite été appliquée à la synthèse des alcaloïdes de type phénanthridine (cf. Figure 46). La stratégie repose sur l'intermédiaire clé dihydroindole **105** : une fois formé par une cyclisation IMDAF du composé **106**, il peut à son tour être cyclisé en utilisant une réaction de couplage biarylique classique de façon à construire le squelette pyrrolophénanthridone **89** (Schéma 11).

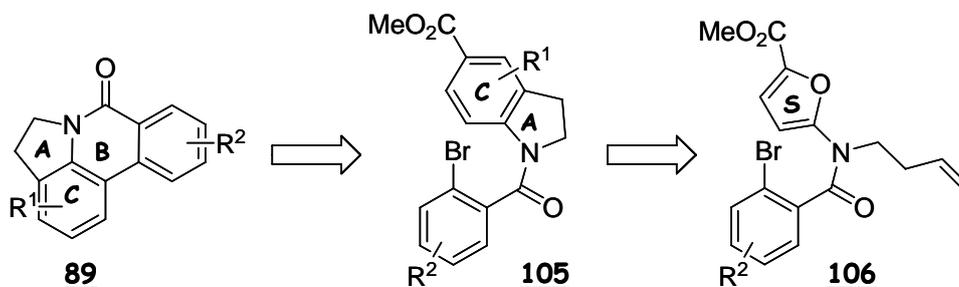


Schéma 11

La synthèse de l'oxoassoanine **49** a été effectuée suivant cette stratégie (Schéma 12). La cyclisation IMDAF de l'intermédiaire **111** conduit au dérivé dihydroindole **112**. La seconde réaction-clé est une cyclisation radicalaire photochimique qui donne le produit tétracyclique **113**. La fonction ester est ensuite réduite en deux étapes pour conduire au produit désiré.

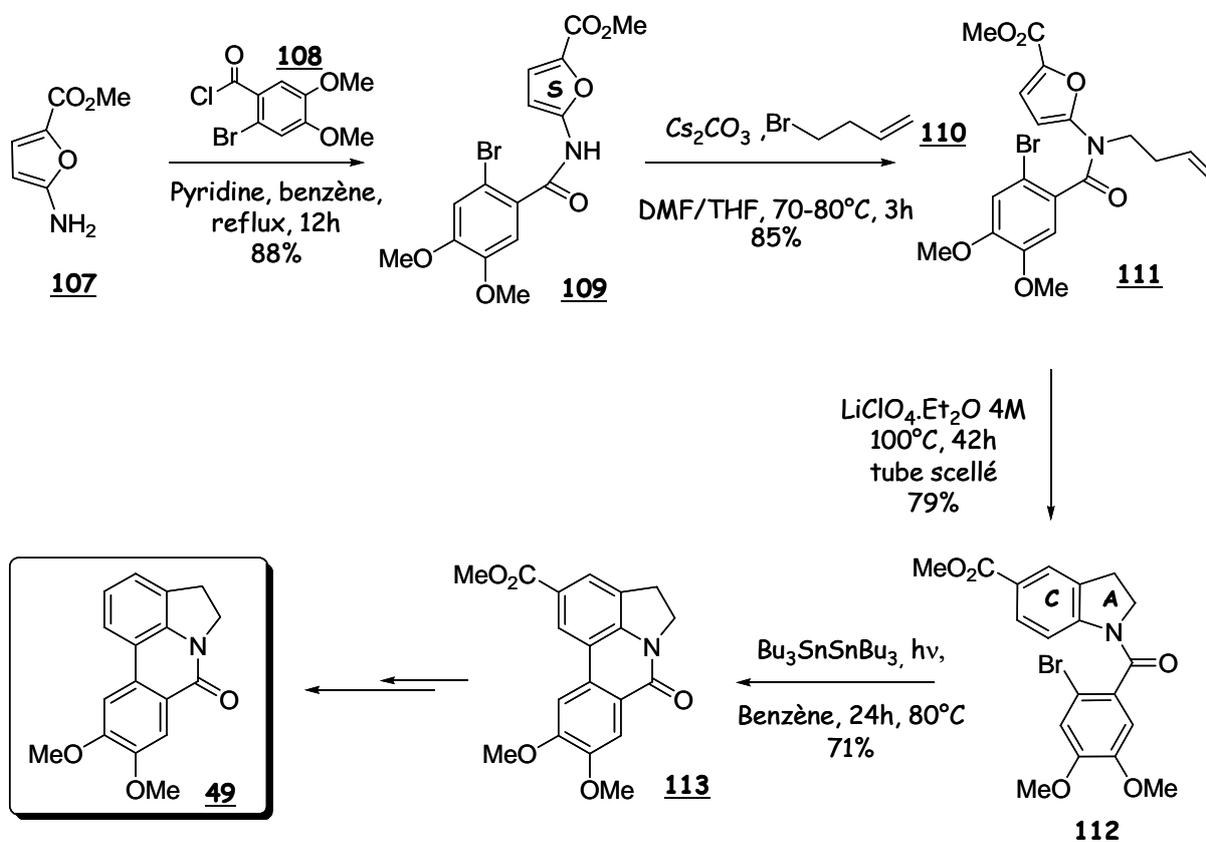


Schéma 12⁹⁵

Des variantes de cette stratégie ont été décrites, en particulier pour l'élaboration du squelette des alcaloïdes de type aspidospermine.¹⁰³

IV.3 - Choix d'une stratégie de synthèse

IV.3.1 - Schéma rétrosynthétique

Notre objectif est la mise au point d'une voie d'accès convergente et flexible à des molécules de structure générale **114**, où Ar est un cycle aromatique ou hétéroaromatique (en particulier un groupement indole ou l'un de ses isostères), et R¹ un atome d'hydrogène ou une chaîne alkyle, portant une fonction terminale polaire de type acide, ester, amide ou encore nitrile (Schéma 13). Ces deux substituants seront à l'origine de la diversité recherchée. Il est donc souhaitable de pouvoir les introduire lors des dernières étapes de la synthèse. L'alkylation de la fonction phénol ne devrait pas poser de problème particulier. De même, il existe maintenant plusieurs moyens d'effectuer une réaction d'arylation en α d'un carbonyle. L'intermédiaire **116**, un dérivé 5-one-8-alkoxy de la julolidine, pourrait être obtenu à partir de la 7-alkoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **117** par l'une des méthodes décrites précédemment (cf. IV.2.2 -).

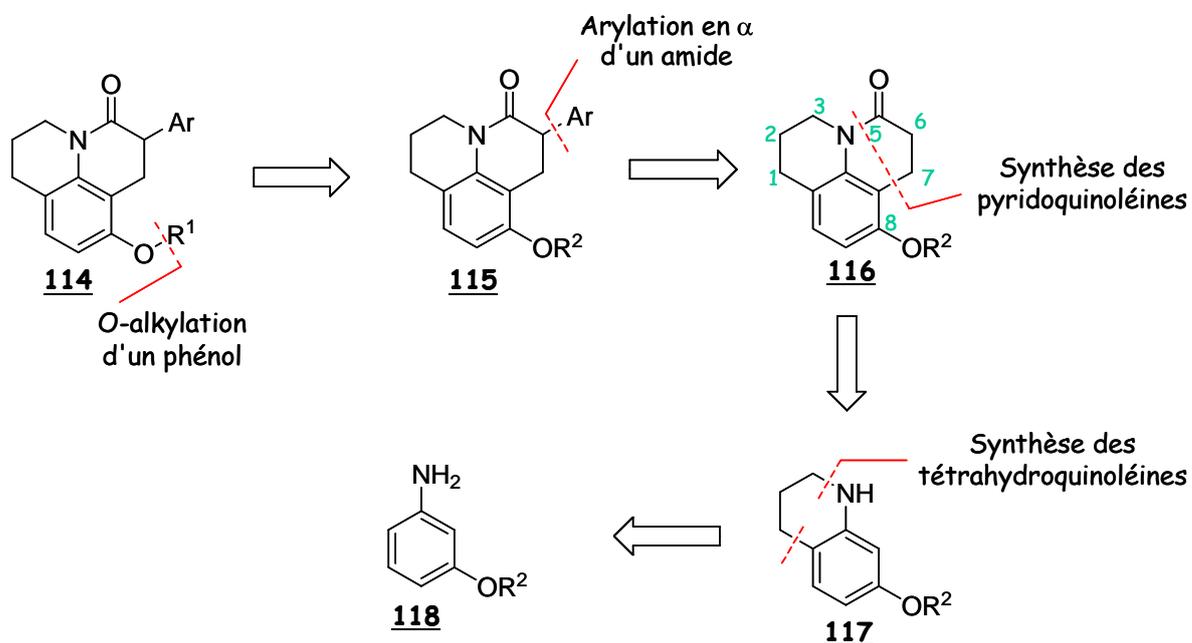


Schéma 13 : proposition de schéma rétrosynthétique.

¹⁰³ Ginn, J. D. ; Lynch, S. M. ; Padwa, A. *Tetrahedron Lett.* 2000, 41, 9387-9391

Ceci établi, il convient de choisir quelle(s) méthode(s) utiliser pour construire le squelette pyridoquinoléine 116.

IV.3.2 - Formation du squelette tricyclique

Les méthodes basées sur des réactions de Diels-Alder intramoléculaires ou sur des cyclisations photochimiques ne peuvent pas être utilisées ici. Elles sont en effet bien adaptées à la préparation des phénanthridines mais le cycle aromatique D est nécessaire au succès des réactions-clé. En revanche, toutes les méthodes de cyclisation d'indoléines ou de quinoléines regroupées dans les brevets de Bass *et al.*⁹⁷ devraient nous être utiles. Cependant, ces méthodes ne se sont pas toujours révélées reproductibles ou adaptables à grande échelle et les rendements sont parfois insuffisants pour une synthèse multi-étapes. Nous avons donc décidé de développer en parallèle de nouvelles méthodes de formation du squelette "pyridoquinoléine".

IV.3.2.1 - Cyclisation de type Friedel-Crafts

Le groupe méthyle a été retenu comme groupement protecteur de la fonction phénol, pour sa résistance en milieu acide et basique fort. Il existe de nombreux réactifs susceptibles d'effectuer la déméthylation de l'éther phénolique par la suite. Le produit de départ de la synthèse sera donc la *m*-anisidine 119 (Schéma 14). La transformation de la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 en 8-méthoxy-2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one 123 sera effectuée par une cyclisation de type Friedel-Crafts (Schémas 2 & 5 - IV.2.2.1-). L'utilisation d'un chlorure d'alkylmalonyle (ClCOCH₂CO₂Alk) devrait permettre l'introduction d'une fonction cétone en position 7 de la pyridoquinoléine (composé 122), ce qui ouvrirait des possibilités de fonctionnalisation du cycle B comme, par exemple, l'introduction d'un groupement aromatique en β du lactame. La cyanoéthylation (Schémas 3 & 4 - IV.2.2.1 -) ne peut pas être utilisée ici car elle ne nous permet pas de créer la fonction lactame.

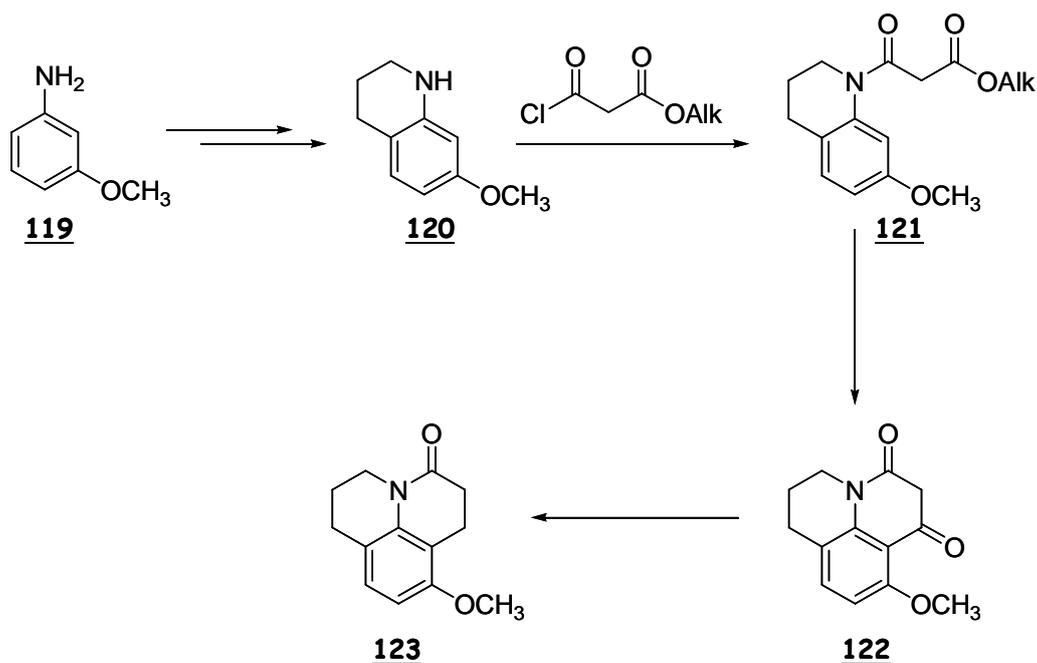


Schéma 14

Cette voie de synthèse nous a semblé la plus adéquate, compte tenu des précédents dans la littérature, nous lui avons donc donné la priorité.

IV.3.2.2 - Cyclisation par métathèse

La métathèse des oléfines est une réaction connue depuis les années 1960 et particulièrement importante en chimie des polymères. Elle n'est devenue un outil important en synthèse organique qu'au début des années 1990.¹⁰⁴ Grubbs et Fu ont publié en 1992 deux articles de référence décrivant l'application de la "Ring-Closing-Metathesis" (RCM) à la synthèse de cycles à cinq, six ou sept chaîons contenant éventuellement des atomes d'azote ou d'oxygène. Le catalyseur était un complexe au molybdène initialement préparé par Schrock.^{105,106} De nombreux groupes se sont intéressés par la suite à l'utilisation de la RCM comme outil dans la synthèse de cycles fonctionnalisés présents dans les structures de produits naturels ou biologiquement actifs.

Le premier exemple d'utilisation de la RCM pour former des hétérocycles azotés a été décrit par Grubbs et Fu : il s'agit de la cyclisation du diène **124a** en présence du catalyseur de Schrock

¹⁰⁴ Deiters, A. ; Martin, S. F. *Chem. Rev.* 2004, 104, 2199-2238.

¹⁰⁵ Fu, G. C. ; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 5426-5427.

¹⁰⁶ Fu, G. C. ; Nguyen, S. T. ; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 9856-9857.

125a pour donner le dihydropyrrole 126a. La réaction a été améliorée plus tard¹⁰⁷ et le diène 124b se cyclise en 126b en présence du catalyseur au ruthénium 125b, découvert par Grubbs, avec un excellent rendement et surtout dans un milieu qui ne nécessite pas d'être anhydre ou sous atmosphère inerte (Schéma 15). J.-M. Campagne et L. Ghosez¹⁰⁸ ont également étudié ce type de dérivé vinylglycine, substitué par un ester méthylique en α de l'azote : la RCM devient possible lorsque l'amine est protégée par un groupement encombrant comme le trityle, en présence du catalyseur 125b (rendement : 70%).

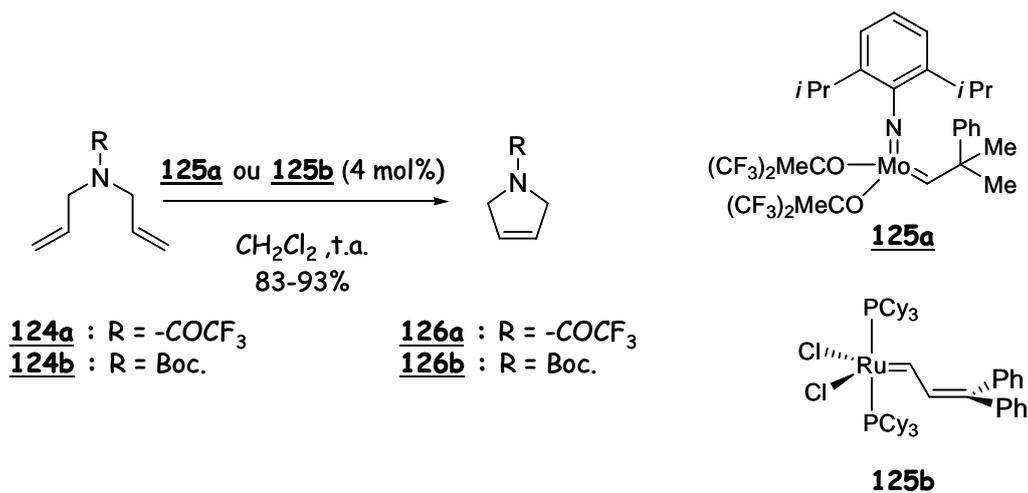


Schéma 15¹⁰⁴

Martin *et al.* ont ensuite été les premiers à démontrer que la RCM pouvait être appliquée à la synthèse d'hétérocycles de type 128 (Schéma 16).¹⁰⁹

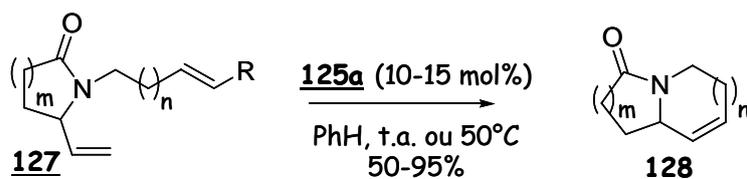


Schéma 16¹⁰⁹

¹⁰⁷ Fu, G. C. ; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 7324-7325.

¹⁰⁸ Campagne, J.-M. ; Ghosez, L. *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 6175-6178.

¹⁰⁹ a) Martin, S. F. ; Liao, Y. ; Chen, H.-J. ; Paetzel, M. ; Ramser, M. N. *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 6005-6008 ;
 b) Martin, S. F. ; Chen, H.-J. ; Courtney, A. K. ; Liao, Y. ; Patzel, M. ; Ramser, M. N. ; Wagman, A. S. *Tetrahedron* 1996, 52, 7251-7264.

En 2002, le même groupe a publié une synthèse totale stéréosélective¹¹⁰ du dihydrocorynanthéol **134**, un alcaloïde de la classe des corynanthéines. Cette synthèse comporte neuf étapes dont deux réactions de métathèse cyclisante (Schéma 17).

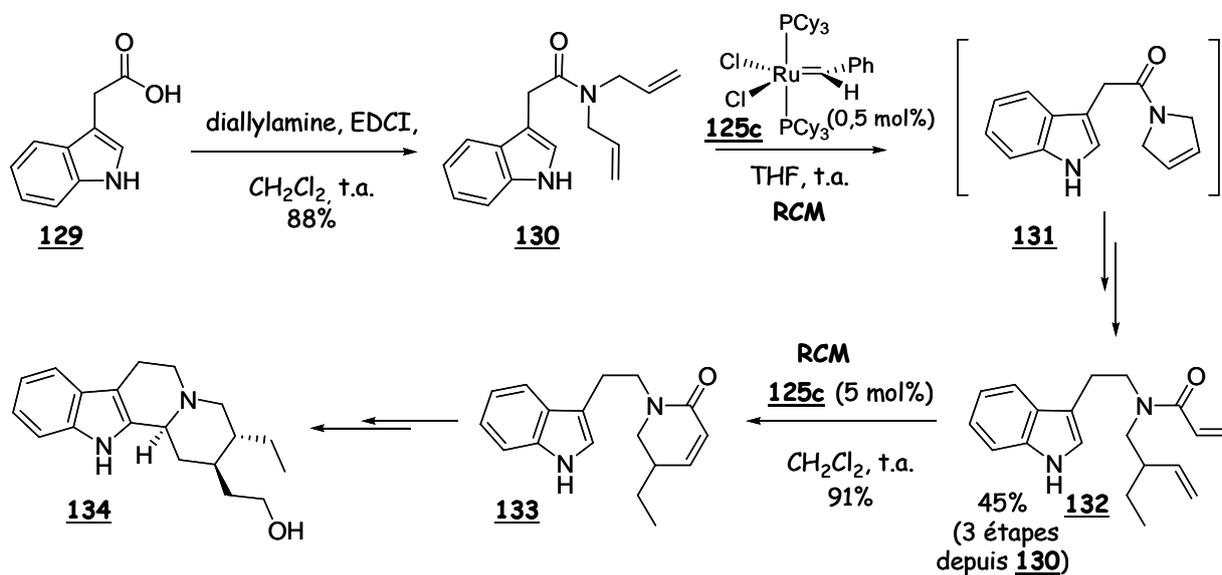


Schéma 17 : synthèse stéréosélective du dihydrocorynanthéol.¹¹⁰

D'autre part, le composé **135**, un intermédiaire clé de la synthèse des pumiliotoxines, est préparé en deux étapes dont une cyclisation par métathèse (Schéma 18).¹¹¹ Il s'agit du premier exemple de RCM utilisée avec succès pour la synthèse d'un alcène trisubstitué contenant le motif indolizidinone.

¹¹⁰ Deiters, A. ; Martin, S. F. *Org. Lett.* 2002, 4, 3243-3245.

¹¹¹ O'Mahony, G. ; Nieuwenhuyzen, M. ; Armstrong, P. ; Stevenson, P. J. *J. Org. Chem.* 2004, 69, 3968-3971.

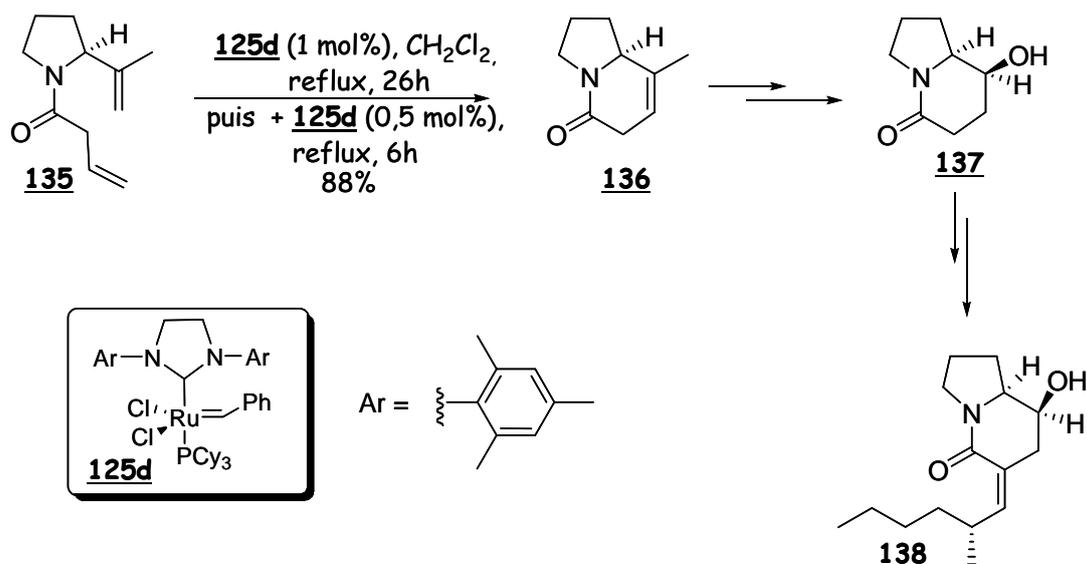


Schéma 18 : synthèse d'un précurseur des Pumiliotoxines.¹¹¹

Rodríguez *et al.*¹¹² ont également développé une méthode efficace de préparation de lactames α,β -insaturés monocycliques et spirocycliques par RCM. Les doubles liaisons conjuguées peuvent être disubstituées, voire trisubstituées à condition que le substituant supplémentaire soit lié au carbone en α : les rendements sont de l'ordre de 90%. Cette méthode ne permet pas la création de doubles liaisons tétrasubstituées.

Ce bref aperçu de la littérature montre l'efficacité de la RCM dans la synthèse de molécules mono- ou polycycliques portant un atome d'azote en jonction de cycle. Ceci nous a encouragé à utiliser la métathèse cyclisante pour former le cycle B du motif pyridoquinoléine (Schéma 19).

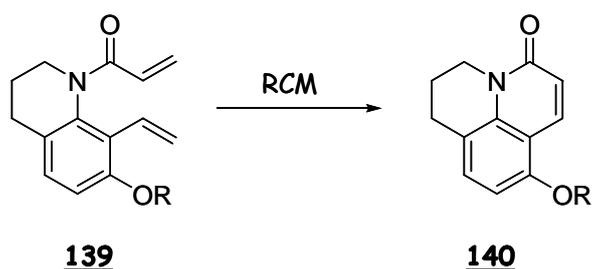


Schéma 19

Ceci impliquait de revoir les premières étapes de la synthèse afin d'accéder au composé **139** correctement fonctionnalisé. La fonction acryloyle peut être introduite facilement par une réaction

¹¹² Rodríguez, S. ; Castillo, E. ; Carda, M. ; Marco, J. A. *Tetrahedron* 2002, 58, 1185-1192.

d'acylation de la fonction amine du composé **141**. Le groupe vinyle pourrait être introduit à l'aide d'un couplage de type Suzuki sur l'intermédiaire **143** ou bien par une réaction de Wittig sur le dérivé **142**. Ces deux types de composés pourraient être obtenus par une réaction d'ortholithiation sur la tétrahydroquinoléine **144**. Celle-ci provient de la 7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **145** qui devra être convenablement protégée au niveau des fonctions amine et phénol par des groupements orienteurs de l'ortholithiation (Schéma 20).

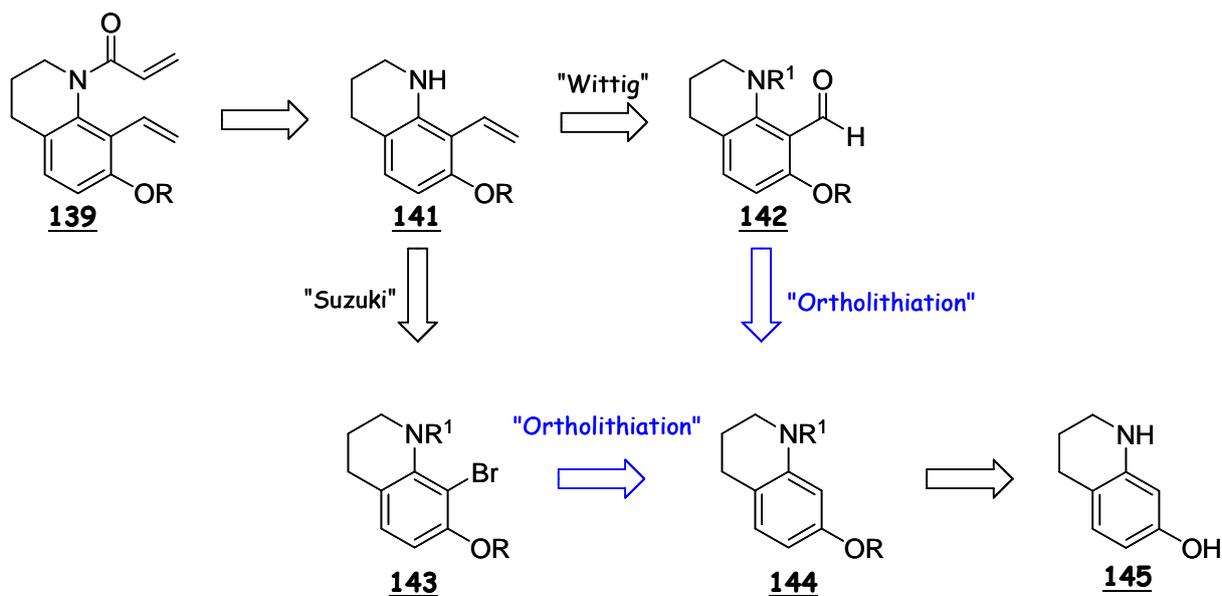


Schéma 20

Si cette voie de synthèse était validée, nous aurions ainsi la possibilité de synthétiser des cycles à six, sept ou huit chaînons en faisant simplement varier la longueur des substituants porteurs des doubles liaisons. La position de la double liaison créée pourra elle aussi être modulée (pour des cycles à plus de 6 chaînons), elle peut également permettre de fonctionnaliser le cycle *via* une addition 1,4- par exemple. Enfin, il est possible d'envisager introduire le groupement aromatique dès cette étape, en utilisant un dérivé du chlorure d'acryloyle substitué en α de la fonction carbonyle par l'aromatique adéquat ou bien l'un de ses précurseurs.

IV.3.2.3 - β -arylation activée par un acide de Lewis silylé

Il existe dans la littérature quelques exemples de β -arylation de composés carbonylés α,β -éthyléniques activées par les acides. Par exemple, Ohwada *et al.* ont réalisé la β -arylation de

dérivés cinnamiques par le benzène (Schéma 21).¹¹³ La réaction ne se déroule qu'en présence d'un acide fort tel que l'acide trifluorométhanesulfonique. Le cinnamaldéhyde **146a** ne donne que 6% de produit **147a**, en revanche la 4-phényl-butèn-2-one **146b** et la chalcone **146c** réagissent avec des rendements de 60% et 83% respectivement. Si l'acidité du milieu est augmentée par ajout de 5% de pentafluorure d'antimoine SbF₅, les temps de réaction diminuent de 24h à 8h mais la proportion de produits secondaires augmente également.

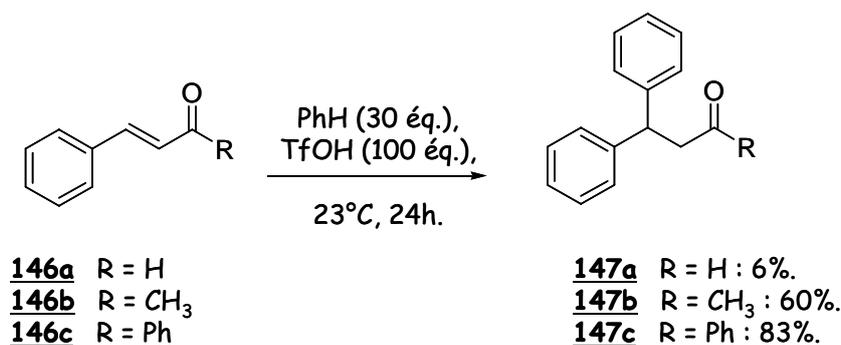


Schéma 21

Hauser *et al.* se sont intéressés à la cyclisation de la 2-(2-méthoxy-4-méthylphényl)-2-cyclohexen-1-one **148** pour former l'hydrophénanthrone **149** (Schéma 22).¹¹⁴ Bien qu'intramoléculaire, cette réaction se fait dans des conditions assez pointues : les acides minéraux comme l'acide sulfurique ou l'acide polyphosphorique et les acides de Lewis comme le trichlorure d'aluminium ou encore le trifluorure de bore (BF₃.Et₂O) n'ont donné lieu à aucune cyclisation. Seul le tétrachlorure de titane en solution dans le dichlorométhane a permis d'obtenir le produit avec un rendement de 50%.

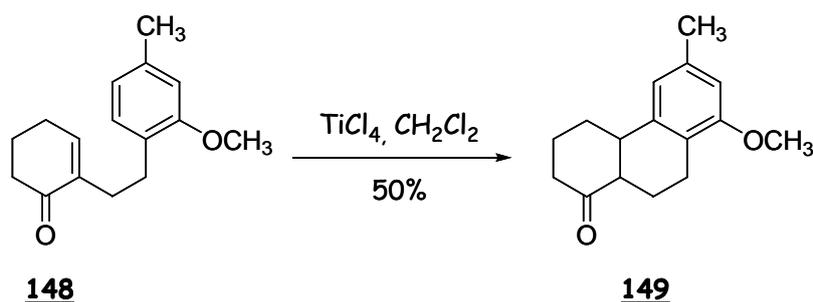
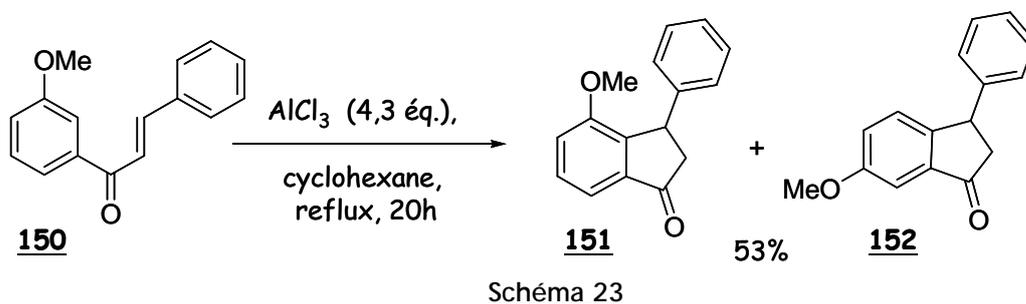


Schéma 22

¹¹³ Ohwada, T. ; Yamagata, N. ; Shudo, K. *J. Am. Chem. Soc.* 1991, 113, 1364-1373.

¹¹⁴ Hauser, F. M. ; Caringal, Y. *J. Org. Chem.* 1990, 55, 555-559.

En revanche, la cyclisation intramoléculaire du dérivé **150**¹¹⁵ pour former les méthoxyindanones **151** et **152** a pu être réalisée en présence de chlorure d'aluminium (Schéma 23).



Au laboratoire, des études ont été réalisées sur la β -arylation et la β -hétéroarylation des dérivés d'acide acrylique activés par les trialkylsilylbis(trifluorométhanesulfonyl)imides (R_3SINTf_2) (Schéma 24).^{116,117} Le triisopropylsilylbis(trifluorométhanesulfonyl)imide $TIPSNTf_2$ s'est révélé meilleur activateur que son homologue $TMSNTf_2$ ou que le triflate de triméthylsilyle $TMSOTf$. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec la 3-acryloyloxazolidinone **153**. Les aromatiques utilisés avec succès sont l'anisole, le vétratole, le 1,3-diméthoxybenzène et même le *m*-xylène et les composés hétéroaromatiques sont le pyrrole, le thiophène, l'indole, le furane et quelques uns de leurs dérivés. La réaction passe par un intermédiaire *N,O*-acétal de cétène silylé **155** qui après traitement aqueux donne l'imide **156**. Les conditions sont particulièrement douces et $TIPSNTf_2$ est un acide de Lewis fort, remarquablement bien toléré par de nombreux groupes fonctionnels.

¹¹⁵ Gaviña, F. ; Costero, A. M. ; Gonzalez, A. M. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 2060-2063.

¹¹⁶ Mathieu, B. "Perfluorosulfonylimides silylés : Nouveaux agents d'activation des composés carbonyles". Thèse de Doctorat : Université Catholique de Louvain, 2001, 365 p.

¹¹⁷ Franc, C. "Fonctionnalisations Sélectives de Composés Aromatiques et Hétéroaromatiques". Thèse de Doctorat : Ecole Polytechnique, 2004, 307 p.

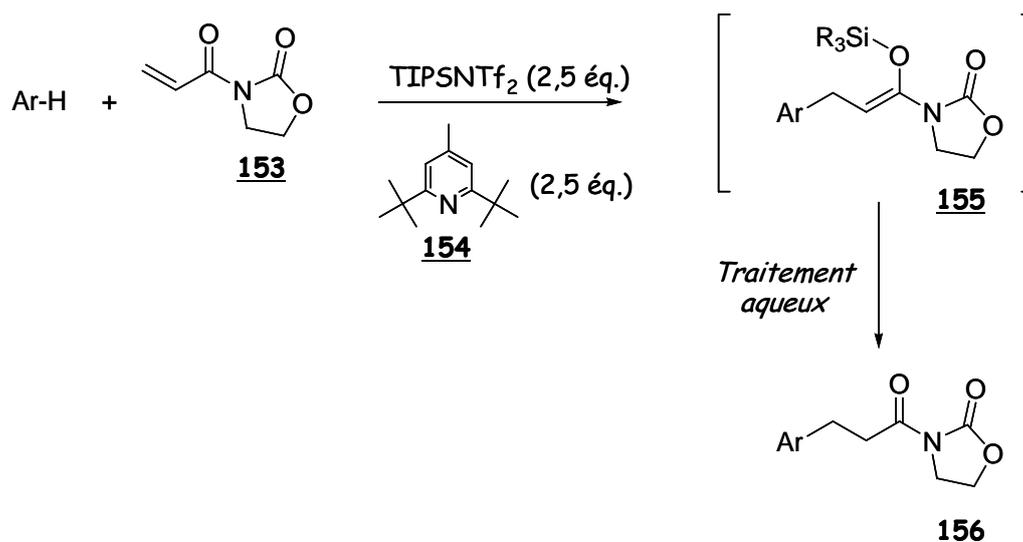


Schéma 24

Ceci nous offrait une nouvelle possibilité de création du cycle B, par arylation intramoléculaire de la *N*-acryloyl-7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **157** (Schéma 25). La cyclisation pourrait être considérée comme une électrocyclisation à 6 électrons de type Nazarov.¹¹⁸

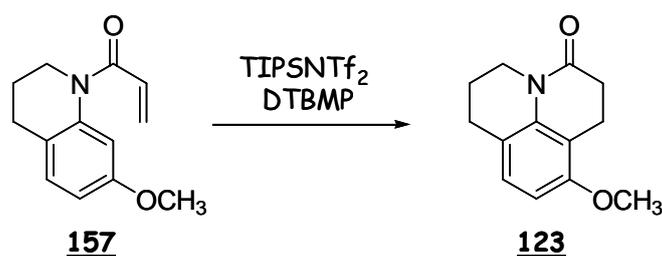


Schéma 25

Le dérivé **157** pourrait aisément être obtenu par acylation de la fonction amine du dérivé tétrahydroquinoléine correspondant avec le chlorure d'acryloyle. La complexation du carbonyle de **157** par l'acide de Lewis TIPSNTf₂ conduit à l'espèce **158**, qui peut alors subir le processus électrocyclique et former le *N,O*-acétal de cétène silylé **159**, qui donnera le dérivé pyridoquinoléine **123** suite au traitement aqueux (Schéma 26).

¹¹⁸ a) Habermas, K. L.; Denmark, S. E. *Org. React.* 1994, 45, 1-158; b) Pellissier, H. *Tetrahedron* 2005, 61, 6479-6517; c) Frontier, A. J.; Collison, C. *Tetrahedron*, 2005, 61, 7577-7606.

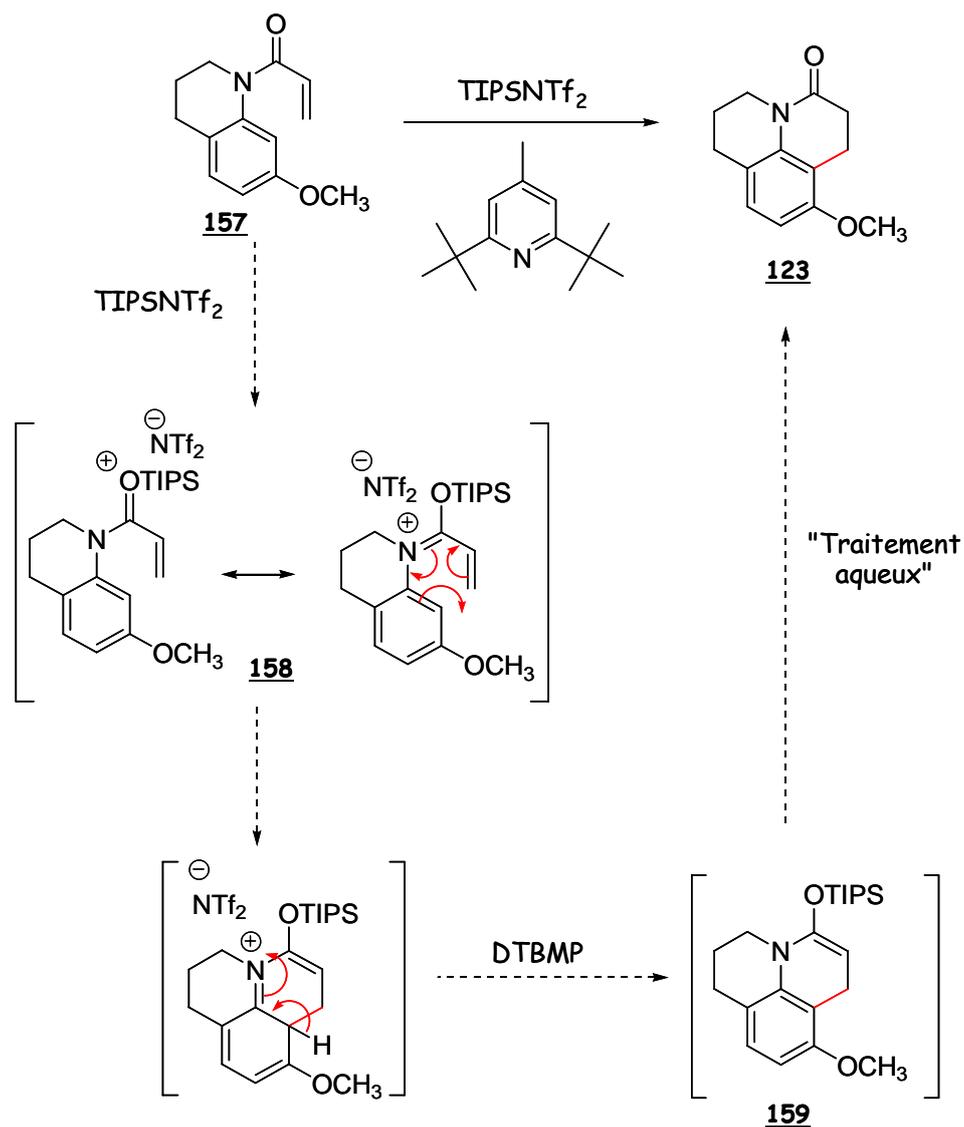


Schéma 26

Dans ce cas également, il pourrait être envisagé d'introduire le groupement aromatique *via* un dérivé du chlorure d'acryloyle, correctement fonctionnalisé en α du carbonyle.

IV.4 - Plan de Travail

Nous avons donc retenu trois méthodes différentes de formation du squelette pyridoquinoléine : elles divergent toutes à partir de la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 (Schéma 27). Le chapitre 5 traitera de la synthèse de ce composé, et du dérivé phénol correspondant ; le chapitre 6 sera consacré aux résultats obtenus par ces trois stratégies puis le chapitre 7 présentera les divers aménagements fonctionnels réalisés sur le squelette ainsi formé.

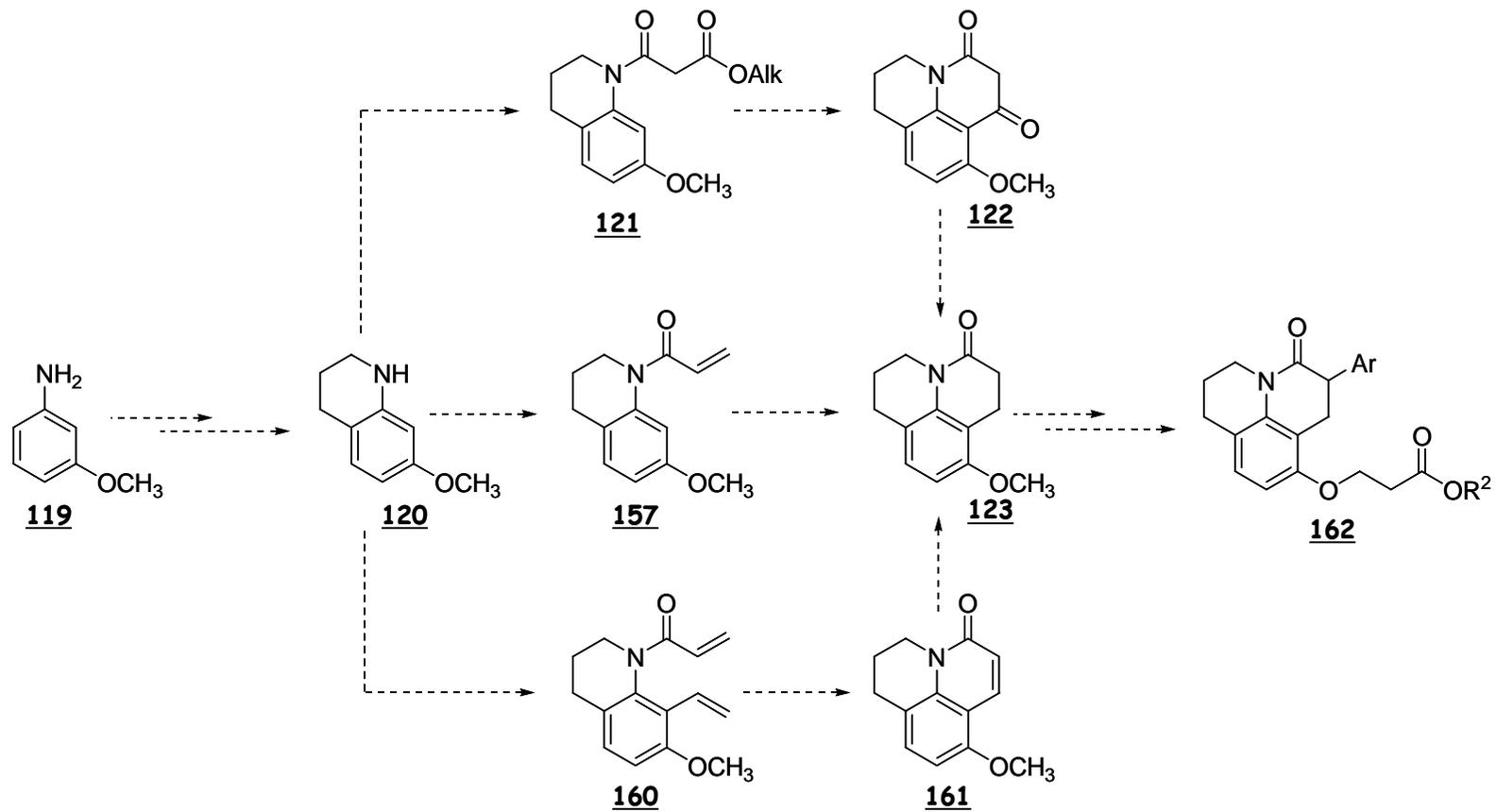


Schéma 27

SYNTHESE DES DERIVES
1,2,3,4-TETRAHYDROQUINOLEINE

V.1 - Objectifs

Dans le chapitre 4, nous avons présenté trois déconnexions possibles pour la formation du squelette pyridoquinoléine. Ces voies de synthèse sont toutes les trois issues du même produit de départ : la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 (Schéma 28).

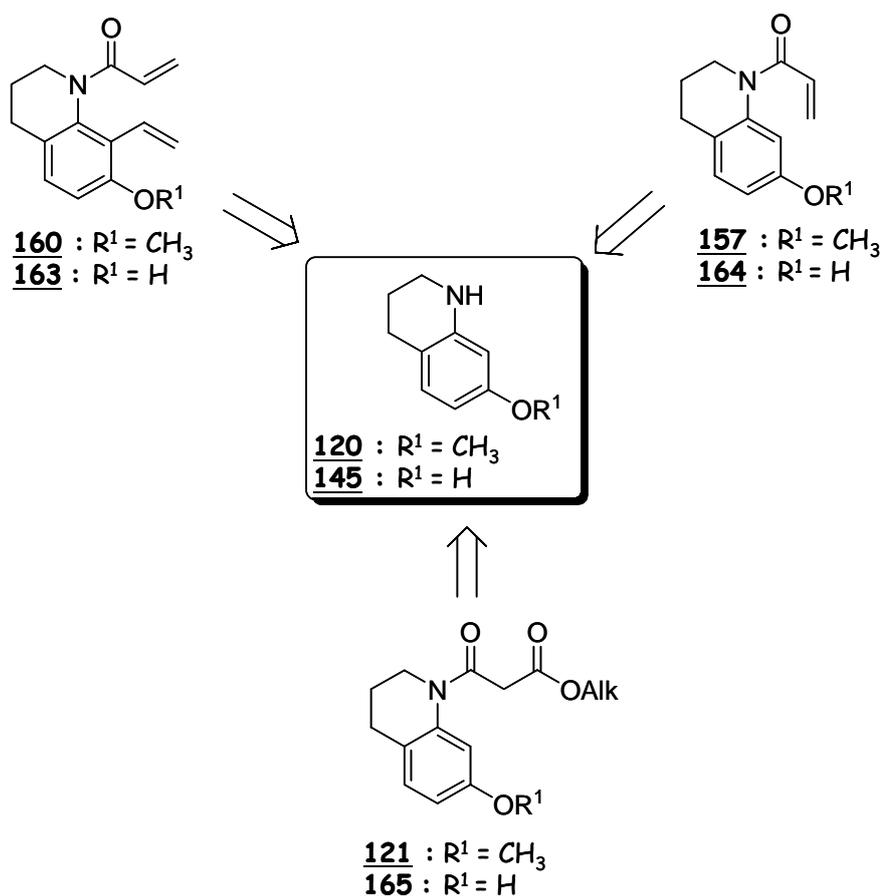


Schéma 28

La synthèse du composé 120 et celle du phénol 145 correspondant sont décrites dans la littérature.

V.2 - Synthèse de 120 : précédents dans la littérature

La préparation des 1,2,3,4-tétrahydroquinoléines est un sujet amplement étudié dans la littérature.¹¹⁹ La synthèse de la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 a principalement été effectuée selon deux stratégies.

¹¹⁹ Katritzky, A. R. ; Rachwal, S. ; Rachwal, B. *Tetrahedron* 1996, 52, 15031-15070.

V.2.1 - Voie 1 : *Via un intermédiaire 2,3-dihydroquinoléin-4-one 167*

Il s'agit de la méthode la plus ancienne et probablement la plus employée (Schéma 29).

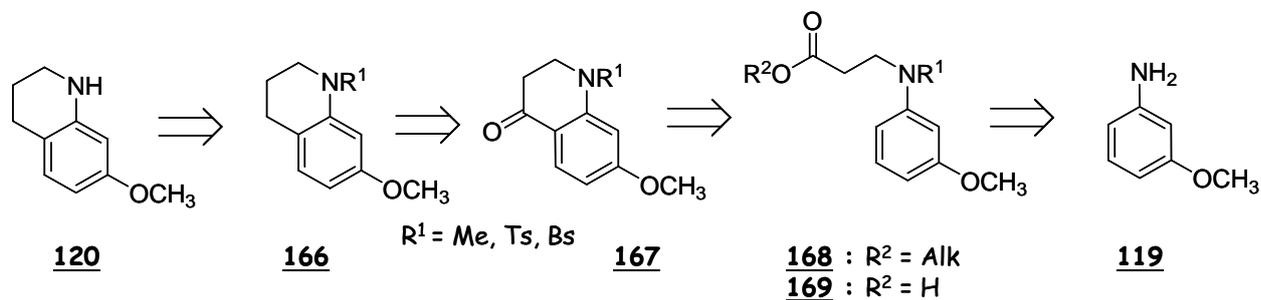


Schéma 29

Le dérivé 2,3-dihydroquinoléin-4-one 167 est obtenu suite à la cyclisation d'un acide β -anilinopropanoïque 169. Deux méthodes sont en général utilisées : (1) une cyclisation du chlorure d'acide correspondant dans les conditions de Friedel-Crafts,^{120,121} et (2) une cyclodéshydratation au moyen d'acide polyphosphorique.^{122,123,124} Ce dernier procédé est plus avantageux car il évite deux étapes (protection/libération de l'amine). Il a été optimisé par Booker-Milburn *et al.*¹²⁴ qui ont décrit cette étape avec le meilleur rendement (61%). L'acide β -anilinopropanoïque 169 peut être synthétisé par hydrolyse de l'ester correspondant 168 (R = Me ou Et) ou bien du dérivé nitrile, issu de la cyanoéthylation de la *m*-anisidine 119.¹²⁵ Il peut également être formé par addition de la *m*-anisidine sur la propiolactone, évitant ainsi l'étape d'hydrolyse.^{122,123}

V.2.2 - Voie 2 : *Via la 1,2-dihydroquinoléine correspondante 173*

Il est également possible de préparer la tétrahydroquinoléine 171 à partir de la 1,2-dihydroquinoléine 173 (Schéma 30), dont la synthèse est décrite.

¹²⁰ Braunholtz, J. T. ; Mann, F. G. *J. Chem. Soc.* 1957, 4166-4173.

¹²¹ Speckamp, W. N. ; Pandit, U. K. ; Huisman, H. O. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* 1963, 82, 39-48.

¹²² Atwal, M. S. ; Bauer, L. ; Dixit, S. N. ; Gearien, J. E. ; Morris, R. W. *J. Med. Chem.* 1965, 8, 566-571.

¹²³ Speckamp, W. N. ; Van Velthuysen, J. A. ; Pandit, U. K. ; Huisman, H. O. *Tetrahedron* 1968, 24, 5881-5891.

¹²⁴ Booker-Milburn, K. I. ; Dunkin, I. R. ; Kelly, F. C. ; Khalaf, A. I. ; Learmonth, D. A. ; Proctor, G. R. ; Scopes, D. I. C. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1997, 3261-3274.

¹²⁵ Merchant, J. R. ; Chothia, D. S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1972, 932-935.

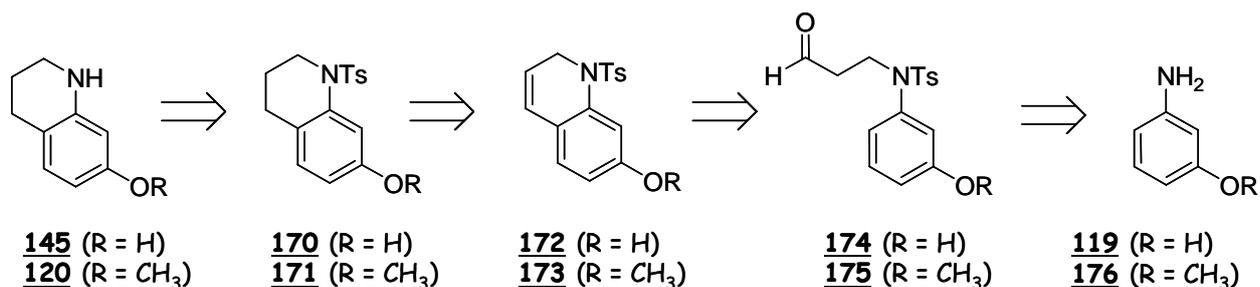
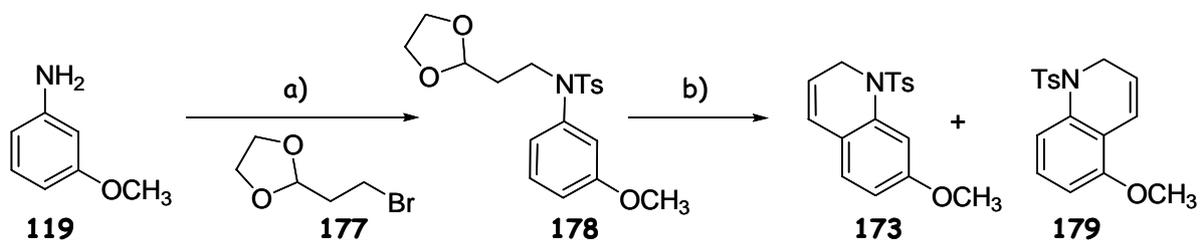


Schéma 30

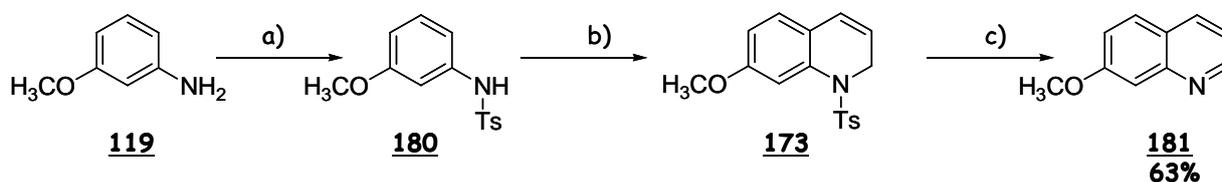
Engler *et al.*^{126,127} ont développé une méthode impliquant l'addition de la *m*-anisidine *N*-protégée sur le bromoacétal de l'acroléine **177** puis la cyclisation de l'intermédiaire **178** ainsi formé. Un mélange des deux isomères *para* et *ortho* (**173/179** : 2/1) est obtenu, avec un rendement global de 30% (Schéma 31).



- a) 1 - *p*-TsCl, pyridine, 80°C, 93% ; 2 - K₂CO₃, **177**, DMF, 80°C, 95% ;
 b) 1 - PhSH, CF₃CO₂H, CH₂Cl₂, 64% ; 2 - *m*-CPBA, CH₂Cl₂ puis dioxane, 90°C, 53%.

Schéma 31

Par la suite, une voie d'accès rapide à différents dérivés quinoléines, applicable à grande échelle et dans des conditions plus douces que la synthèse de Skraup¹²⁸ a été décrite par le groupe de Fukuyama (Schéma 32).¹²⁹ Cette méthode a été brevetée en 2004.¹³⁰



- a) *p*-TsCl, base ; b) 1- Et₃N, MeOH, puis acroléine (5 éq.) ; 2- HCl 3M/THF 1/1, Δ ; c) KOH, DMSO, Δ.

Schéma 32

¹²⁶ Engler, T. A. ; Lynch, K. O. Jr. ; Chai, W. ; Meduna, S. P. *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 2713-2716.

¹²⁷ Engler, T. A. ; LaTessa, K. O. ; Iyengar, R. ; Chai, W. ; Agrios, K. *Bioorg. Med. Chem.* 1996, 4, 1755-1769.

¹²⁸ Skraup, Z. H. ; *Chem. Ber.* 1880, 13, 2086.

¹²⁹ Tokuyama, H. ; Sato, M. ; Ueda, T. ; Fukuyama, T. *Heterocycles* 2001, 54, 105-108.

¹³⁰ a) Fukuyama, T. ; Tokuyama, H. Brevet, Application: US20040034217, 2004, 9 pp. ; b) Fukuyama, T. ; Tokuyama, H. Brevet, US 6,818,777, 2004, 16 pp.

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

L'intermédiaire clé **173** est préparé par une addition de Michael de la *m*-anisidine *N*-protégée sur l'acroléine, suivie d'une cyclisation en milieu acide. Cette dihydroquinoléine est donc obtenue en trois étapes seulement sans purification des intermédiaires réactionnels.^{129,130} Il faudra ensuite mettre au point les conditions d'obtention de **173** en **120** (Schéma 30).

Le paragraphe suivant présente la synthèse de la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **120** et de son analogue 7-hydroxy **145** selon ces deux voies possibles.

V.3 - Résultats

V.3.1 - Voie 1

V.3.1.1 - Synthèse de l'acide **184**

Le 3-(3-méthoxyanilino)propanoate de méthyle **183** a pu être synthétisé avec un rendement de 79% (Lit. : 75%), selon la procédure de Brauholtz *et al.*,¹²⁰ par addition d'un équivalent d'acrylate de méthyle **182** sur la *m*-anisidine **119** en milieu acide (Schéma 33). C'est un produit sensible à la lumière et à la chaleur, mais il est obtenu assez pur pour être utilisé sans purification. La saponification de **183** donne l'acide 3-(3-méthoxyanilino)propanoïque **184** avec un rendement de 91 à 98% (Lit.¹²⁴ : non communiqué).

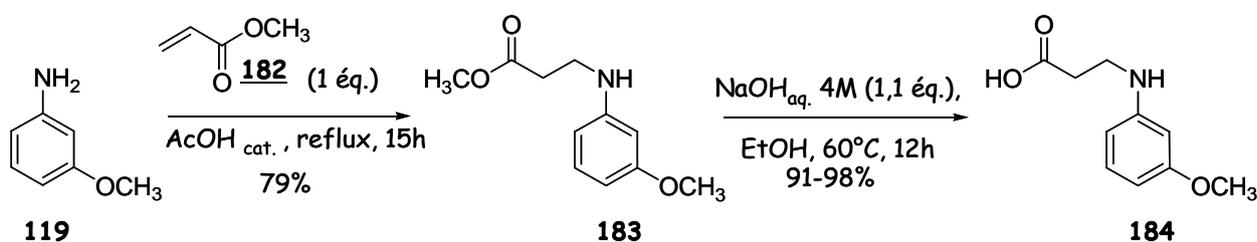


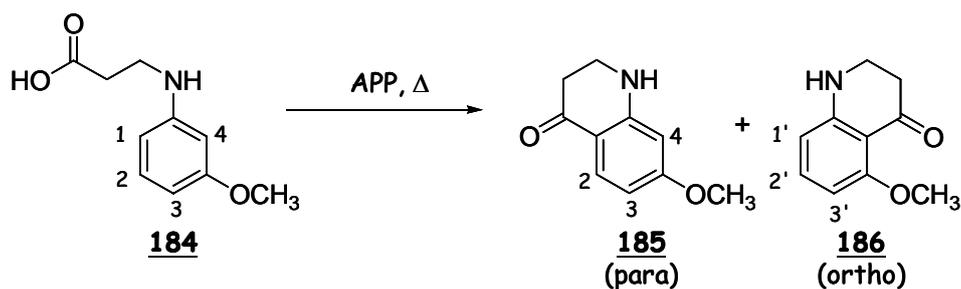
Schéma 33

V.3.1.2 - Cyclisation de l'acide **184** en **185**

V.3.1.2.1 - Cyclodéshydratation par l'acide polyphosphorique :

Nous avons tout d'abord effectué la cyclisation de l'acide **184** au moyen d'acide polyphosphorique (APP) (Tableau 2), en essayant de reproduire les conditions décrites dans la littérature bien que, le plus souvent, les rendements n'étaient pas mentionnés,¹²² ou donnés pour plusieurs étapes successives.¹²³ L'acide **184** possède deux positions *ortho* disponibles (positions 1 et 4), il peut donc y avoir formation des deux isomères **185** et **186**. La position 4 est seulement discriminée de la position 1 par la gêne stérique entre la fonction carbonyle et le groupe méthoxyle.

Tableau 2 : cyclisation de **184** en présence d'APP.



| Entrée | m _{acide} | m _{APP} | Conditions | Traitement [*] | Produit | Rendement |
|--------|--------------------|------------------|---|-------------------------|--|------------------|
| 1 | 26 g | 263 g | 30 min à t.a., 12h à 60°C, 2h à 70-80°C, 1h à 100°C. | <u>A</u> | 185 | 13% |
| 2 | 1,2 g | 11 g | 30 min, 95°C. | <u>B</u> | 185 186 184 | 5% 4% 53% |
| 3 | 2,5 g | 22 g | 1h, 95°C. | <u>B</u> | 185 186 | 39% 9% |
| 4 | 8,4 g | 73 g | 1h, 95°C. | <u>B</u> | 185 186 184 | 25% 7% 34% |
| 5 | 14 g | 168 g | 4h, 120°C. | <u>A</u> | 185 | 24% |
| 6 | 8,8 g | 106 g | 4h, 120°C. | <u>A</u> | 185 | 7% |

* A : glace, ammoniacque, extractions au CHCl₃ ; B : eau glacée, NaOH_{aq.} 40%, extractions au CHCl₃.

Dans les meilleures conditions de la littérature (entrée 1),¹²⁴ le produit **185** est censé précipiter dans une phase aqueuse basique : or, nous n'avons jamais observé cette précipitation. Le produit a cependant pu être récupéré par une longue série d'extractions au chloroforme. Ceci pourrait expliquer le mauvais rendement obtenu (13%, Lit.¹²⁴ : 61%). Il faut ajouter que cette réaction est décrite sur 40 g d'acide **184** et 400 g d'APP, cette différence d'échelle a peut être été défavorable dans notre cas.

Nous nous sommes ensuite inspirés (entrée 2) des conditions décrites par Withopf¹³¹ pour la cyclisation du dérivé 2,5-diméthoxy correspondant. Le mélange est traité avec de la soude puis extrait au chloroforme. Nous récupérons majoritairement le produit de départ **184** (53%) : le produit attendu **185** n'est obtenu qu'avec 5% de rendement. Il est accompagné de 4% de l'isomère 5-méthoxy (isomère *ortho*) **186**. Ces deux isomères ont pu être séparés par chromatographie sur gel

¹³¹ Withopf, P. ; Lackner, H. *Tetrahedron* 1987, 43, 4549-4554.

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

de silice et sont facilement identifiables par RMN ^1H : (1) par la présence de deux doublets (H_2 : 7,81 ppm, $J_{2-3} = 8,8$ Hz ; H_4 : 6,08 ppm, $J_{4-3} = 2$ Hz) et d'un doublet de doublets (H_3 : 6,33 ppm, $J_{3-4} = 2$ Hz et $J_{3-2} = 8,8$ Hz) pour les 3 protons aromatiques de **185** ; (2) de seulement deux pseudotriplets (H_1 et H_3 : 6,22 ppm ; H_2 : 7,18 ppm) pour **186**.¹²⁴ Cependant, il faut noter que ces deux composés ont des rapports frontaux très proches et sont donc difficiles à séparer.

Lorsque la durée de réaction est doublée (entrée 3), le rendement en **185** est de 39%. La proportion en **186** augmente également (9%). En revanche, le produit de départ **184** n'est plus récupéré. Cependant, la même réaction reproduite sur plus grande quantité (4 fois) (entrée 4) donne majoritairement l'acide de départ **184** (34%) ainsi que 25% de **185** dont 10% purs et 15% en mélange avec **186** (7%) qui n'ont pas pu être séparés par chromatographie.

Finalement, lorsque la température est portée à 120°C pendant 4h (entrée 5), seul l'isomère attendu **185** est obtenu à 24%. Même si le rendement est assez modeste, cette procédure a l'avantage d'une plus grande facilité de purification, due à l'absence de l'isomère **186**. Malheureusement, ici également, les conditions ne sont pas reproductibles, sur plus petite échelle cette fois-ci (entrée 6).

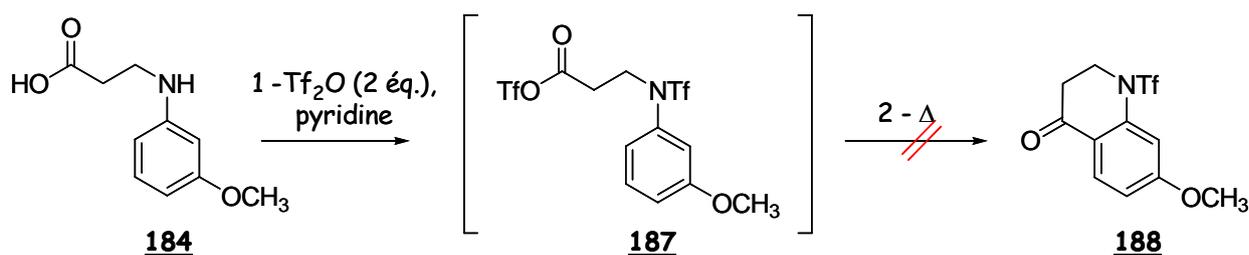
Suite à ces mauvais résultats, nous avons tenté de nouvelles méthodes de cyclisation.

V.3.1.2.2 - Essais de cyclisation d'un anhydride mixte :

La cyclisation de **184** a déjà été réalisée auparavant dans les conditions classiques des acylations de Friedel-Crafts (formation du chlorure d'acide par action de PCl_5 puis cyclisation avec AlCl_3 ou SnCl_4). Cette méthode requiert la protection de l'amine, ce qui rajoute deux étapes. D'autre part, les rendements sont moyens (de 20%¹²⁰ à 53%¹²⁴).

Notre stratégie consiste à former une espèce intermédiaire assez réactive pour cycliser rapidement en évitant, si possible, l'intervention d'un acide de Lewis. Nous avons tenté de synthétiser l'anhydride mixte de l'acide 3-(3-méthoxyanilino)propanoïque **184** et de l'acide triflique. En effet, le groupement triflate exerce un puissant effet inducteur -I qui va fortement exacerber le caractère électrophile du carbone du carbonyle. Cet anhydride a été préparé par traitement de **184** avec de l'anhydride triflique. L'utilisation de 2 équivalents d'anhydride triflique devrait permettre d'activer l'acide et de protéger la fonction amine dans une même étape (Tableau 3).

Tableau 3 : cyclisation *via* la formation de l'anhydride mixte de **184**.



| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|--|--------------|
| 1 | 1- Tf ₂ O (2 éq.), pyridine (2 éq.), 30 min, 0°C, toluène ; 2- 80°C, 12h. | dégradation. |
| 2 | 1- Tf ₂ O (2 éq.), pyridine (solvant), 30 min, 0°C ; 2- t.a., 48h. | dégradation. |
| 3 | 1- Tf ₂ O (2 éq.), pyridine (2 éq.), 1,2-dichloroéthane, 30 min, 0°C ; 2- 80°C, 12h. | dégradation. |

La réaction a tout d'abord été réalisée en présence de 2 équivalents de pyridine dans le toluène ; le milieu réactionnel est chauffé à 80°C après 30 min afin de provoquer la cyclisation de l'anhydride préalablement formé (entrée 1). Le milieu réactionnel se dégrade. La même observation a été faite à température ambiante (entrée 2) ou dans un solvant différent (entrées 2 et 3). Une analyse RMN (¹H, ¹⁹F et ¹³C), réalisée après l'ajout de Tf₂O sur **184**, a permis de mettre en évidence que l'intermédiaire **187** n'était pas formé : seuls des produits de dégradation ont été observés.

V.3.1.2.3 - Essais de cyclisation en présence de sels de terres rares

Les triflates de lanthanides sont connus pour agir en tant qu'acides de Lewis et certains sont même utilisables en milieu aqueux.¹³² Une quantité catalytique de Sc(OTf)₃ se révèle très efficace pour réaliser l'acylation de l'anisole **189** par l'anhydride acétique (rendement : 89%) (Schéma 34).¹³³ Le triflate de scandium s'est avéré plus efficace que les triflates d'ytterbium et d'yttrium pour ce type de réaction.

¹³² Kobayashi, S. "Sc(III) Lewis acids" dans *Lewis acids in Organic Synthesis Vol.2*, Yamamoto, H. Ed., Wiley-VCH, 2000, 883-907.

¹³³ Kawada, A. ; Mitamura, S. ; Kobayashi, S. *Synlett* 1994, 545-546.

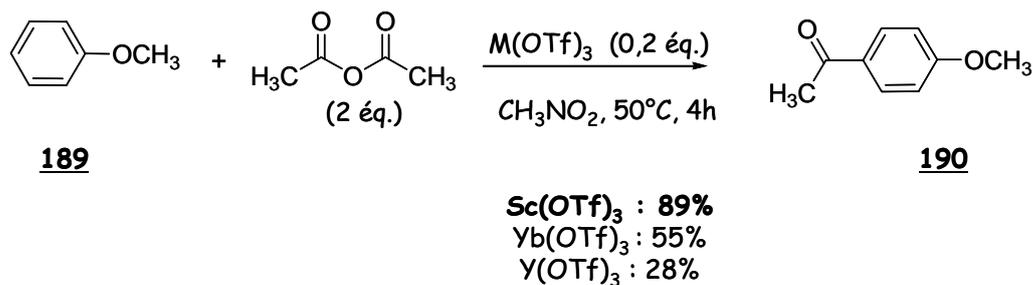


Schéma 34

Le catalyseur est récupéré à plus de 90% par simples extractions de la phase aqueuse, et même après trois utilisations, le rendement en 4-méthoxyacétophénone **190** reste constant (89, 93 et 91%).

Avant d'appliquer cette méthodologie à notre substrat, la fonction amine a d'abord été protégée par un groupement tosylé. L'acide 3-(3-méthoxytosylanilino)propanoïque **192** a été synthétisé à partir de l'ester correspondant **183** selon la méthode décrite par Speckamp *et al.*¹²¹ (Schéma 35).

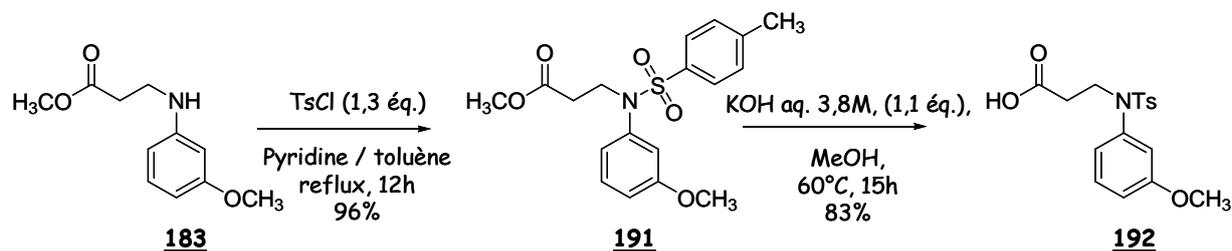
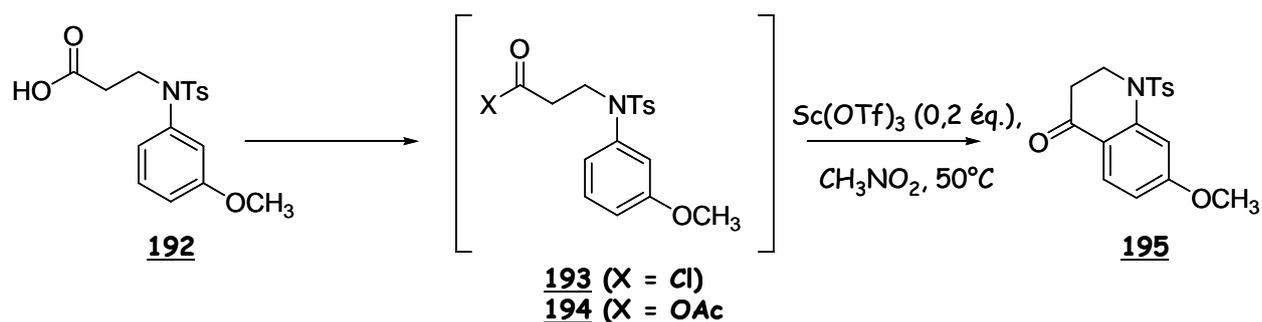


Schéma 35

Le sulfonamide **191** est obtenu avec un rendement brut de 96%, puis engagé sans purification supplémentaire dans l'étape de saponification. L'acide **192** est obtenu avec un rendement de 83%. A l'issue de l'extraction, le produit est suffisamment pur pour être utilisé tel quel (rendement brut à partir de **183** : 79% ; à titre comparatif, Lit.¹²¹ : 89% au départ de l'ester éthylique).

La cyclisation par la méthode de Kobayashi¹³³ se fait à partir d'un anhydride ou d'un chlorure d'acide. L'espèce intermédiaire **193** (ou **194**) a été préparée à partir de **192** puis traitée *in situ* dans les conditions décrites (catalyseur, solvant...) (Tableau 4).

Tableau 4 : cyclisation de **192** en présence de Sc(OTf)₃.



| Entrée | Conditions | Résultats* |
|--------|--|---|
| 1 | 1- Chloroénamine (1 éq.), CH ₂ Cl ₂ , t.a., 2h ; 2- Sc(OTf) ₃ (0,2 éq.), CH ₃ NO ₂ , 50°C, 24h. | 195 : m/z = 332,5 ([M+H] ⁺) ; 192 : m/z = 350,5 ([M+H] ⁺). |
| 2 | Ac ₂ O (1 éq.), Sc(OTf) ₃ (0,2 éq.), CH ₃ NO ₂ , 50°C, 30h. | 195 : 18% (isolé). |
| 3 | 1- KOH (1,1 éq.), EtOH, 80°C, 12h ; 2- Ac ₂ O, t.a., 3h ; 3- Sc(OTf) ₃ (0,2 éq.), CH ₃ NO ₂ , 50°C, 36h. | 195 : 30% (brut). |

* Analyse du mélange réactionnel par spectrométrie de masse (mode electrospray).

Le chlorure d'acide est formé par réaction de **192** avec un équivalent de chloroénamine, un réactif développé au laboratoire,¹³⁴ qui permet de former des chlorures d'acide en conditions neutres (entrée 1). Après 24h en présence du catalyseur, un mélange complexe est obtenu. Le produit de départ est majoritaire ; l'analyse de ce mélange par spectrométrie de masse a cependant mis en évidence la formation de **195** (présence d'un pic à 332,5 ([M+H]⁺)).

Nous avons tenté les mêmes conditions réactionnelles au départ de l'anhydride mixte issu de la réaction de **192** avec l'anhydride acétique. Nous avons tout d'abord mélangé simultanément les réactifs et le catalyseur (entrée 2) mais seule une faible quantité de **195** a pu être isolée (18%). Nous avons alors procédé par étapes : (1) formation du sel de potassium de **192**, (2) formation de l'anhydride, (3) filtration de l'acétate de potassium puis mise en présence du catalyseur (entrée 3). La formation de l'anhydride **194** est confirmée par la présence, sur le spectre RMN ¹H, d'un singulet à 2,19 ppm (CDCl₃) pour le méthyle du groupement acétyle. Cependant, la formation de l'anhydride n'est pas quantitative (environ 80%). Après réaction en présence de Sc(OTf)₃, le rendement en **195**

¹³⁴ a) Ghosez, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1972**, *11*, 852-853; b) Marchand-Brynaert, J. ; Ghosez, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 2869-2870; c) Schmidt, U. ; Leitenberger, V. ; Griesser, H. ; Schmidt, J. ; Meyer, R. *Synthesis* **1992**, 1248-1254.

n'est que de 30% (rendement estimé d'après le spectre RMN du mélange brut). Ces travaux ont été laissés de côté au profit d'une autre voie de synthèse plus efficace (cf. V.3.2.1-).

V.3.1.3 - Réduction de 185 en 120

Le composé 185 a ensuite été réduit dans les conditions décrites par Speckamp *et al.*¹³⁵ Le composé 120 est obtenu avec un rendement de 84% (Lit. : 83%) (Schéma 36). L'apparition d'un quintuplet à 1,92 ppm ($J_1 = J_2 = 5,8$ Hz) sur le spectre RMN ¹H (CDCl₃) de 120 est caractéristique du groupe -CH₂- créé.

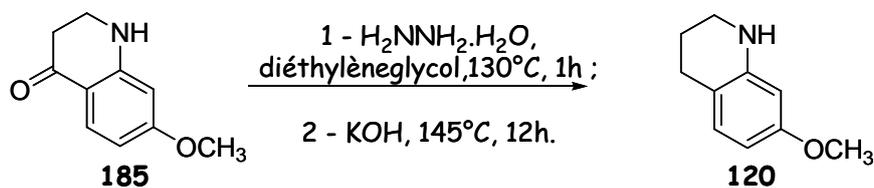


Schéma 36

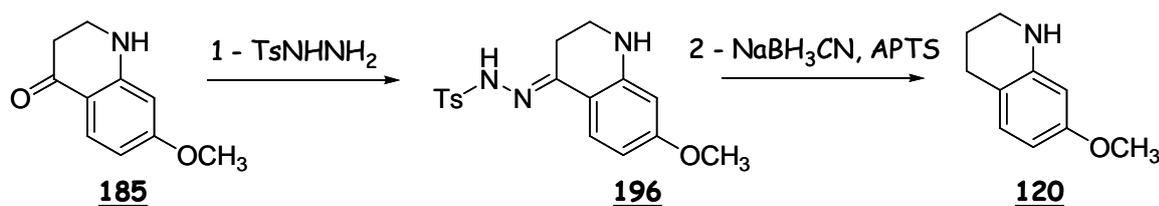
Nous avons également expérimenté des conditions plus douces à savoir la réduction d'une tosylhydrazone au moyen d'un hydrure.¹³⁶ Le dérivé carbonyle 185 a été mis à réagir avec 1,2 équivalents de *p*-tosylhydrazine dans le méthanol durant toute une nuit. La formation de la tosylhydrazone 196 est contrôlée par RMN ¹H (CDCl₃), grâce à la présence des signaux caractéristiques du groupement tosyloxy : deux doublets (7,32 ppm et 7,90 ppm) pour les protons aromatiques et un singulet à 2,42 ppm pour le méthyle.

Cet intermédiaire est ensuite mis en présence d'un excès de NaBH₃CN et d'acide *p*-toluènesulfonique (APTS) (Tableau 5).

¹³⁵ Speckamp, W. N. ; Van Velthuysen, J. A. ; Douw, M. A. ; Pandit, U. K. ; Huisman, H. O. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 5893-5898.

¹³⁶ Hutchins, R. O. : "Reduction of C=X to CH₂ by Wolff-Kishner and Other Hydrazone Methods" dans *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon Press, **1991**, *8*, 327-362.

Tableau 5 : réduction via la tosylhydrazone 196.



| Entrée | Conditions | Rendement (120) |
|--------|---|-----------------|
| 1 | 1- <i>p</i> -TsNHNH ₂ (1,2 éq.), MeOH, reflux, 12h ; 2- NaBH ₃ CN (4 éq.), APTS (1,3 éq.), DMF, 110°C, 3h. | 50-56%. |
| 2 | 1- <i>p</i> -TsNHNH ₂ (1,2 éq.), MeOH, 65°C, 12h ; 2- NaBH ₃ CN (4 éq.), APTS (1,3 éq.), MeOH, reflux, 3h. | 70%. |

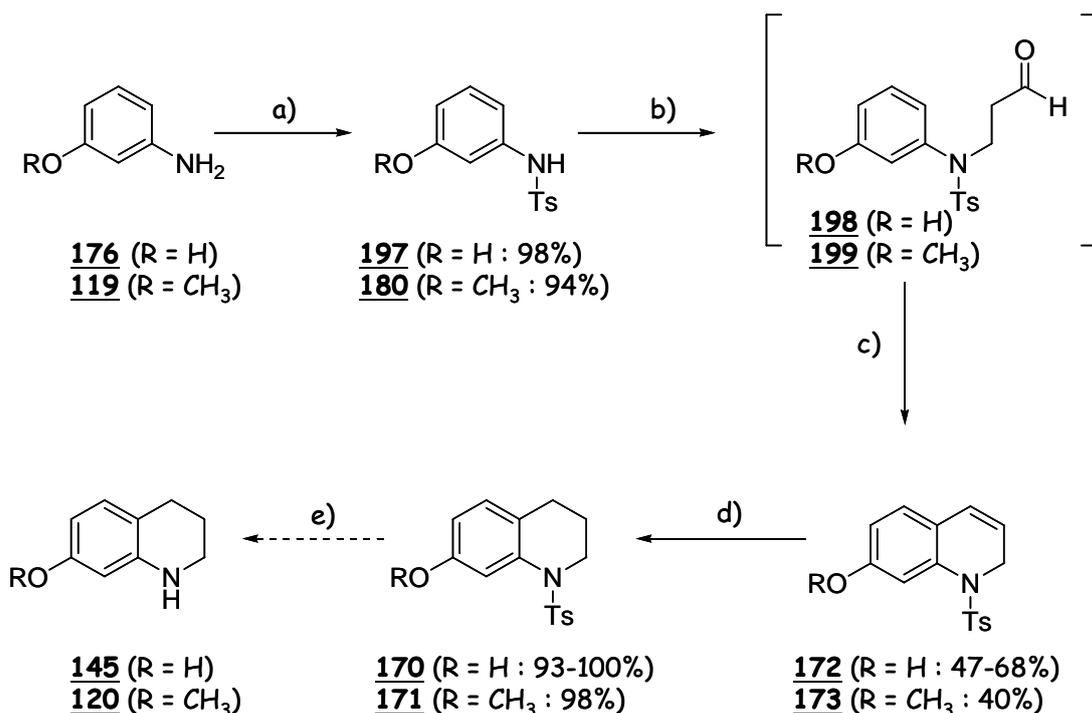
Les meilleures conditions sont réunies lorsque quatre équivalents d'hydrure et 1,3 équivalents d'APTS sont utilisés : le premier équivalent d'acide sert à protoner l'amine libre et le reste catalyse la transformation de la fonction tosylhydrazone. Le rendement est meilleur (70%) lorsque la réaction a lieu dans le méthanol plutôt que dans le *N,N*-diméthylformamide (50-56%).

V.3.2 - Voie 2

V.3.2.1 - Synthèse des dérivés 7-hydroxy 170 et 7-méthoxy 171

Cette deuxième voie repose sur la synthèse des quinoléines décrite par Fukuyama.¹²⁹ Nous avons, dans un premier temps, décidé de reproduire la synthèse¹³⁰ des dérivés 1,2-dihydroquinoléines 172 et 173 (Schéma 37) puis de les hydrogéner en 1,2,3,4-tétrahydroquinoléines 170 et 171.

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.



R = H : a) *p*TsCl (1,1 éq.), pyridine (1,1 éq.), CH₂Cl₂, 0°C puis t.a., 12h ; b) Et₃N (1,1 éq.), MeOH, 0°C puis acroléine (5 éq.), 20 - 30 min ; c) HCl 3M/THF 1/1, 80°C, 30 min ; d) H₂, Pd/C (10% massique), EtOH, t.a., 12h ; e) cf. V.3.2.2.1 -.

R = CH₃ : a) *p*TsCl (1,3 éq.), pyridine, 80°C, 30 min ; b) Et₃N (0,1 éq.), MeOH, 0°C puis acroléine (5 éq.), t.a., 10 min ; c) HCl 3M/THF 1/1, 80°C, 30 min ; d) H₂, Pd/C (10% massique), EtOH, t.a., 12h ; e) cf. V.3.2.2.2-.

Schéma 37

La synthèse du dérivé 7-hydroxy 120, se fait au départ du 3-aminophénol 176 : les conditions de la première étape ont été quelque peu modifiées par rapport à la littérature, la protection de l'amine a été réalisée en présence d'un léger excès de pyridine dans le dichlorométhane au lieu d'utiliser la pyridine en tant que solvant. A l'issue de la réaction, l'ajout d'eau permet de faire précipiter le produit 197 qui peut être récupéré par une simple filtration. Ces conditions sont particulièrement bien adaptées à la transformation de grandes quantités de produit de départ (50 g dans notre cas) : le traitement est plus facile que celui décrit dans la littérature et le rendement reste excellent. Pour la *m*-anisidine 119, la protection de l'azote a lieu au reflux de la pyridine.¹²⁷ La *N*-tosyl-*m*-anisidine 180 est obtenue avec un rendement de 94% (Lit. : 93%) après une purification par chromatographie sur colonne.

L'étape d'addition sur l'acroléine est une étape délicate car (1) il est nécessaire de prendre des précautions pour éviter la polymérisation de l'acroléine et (2) il faut éviter d'atteindre des

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

conditions trop basiques sous peine de provoquer une réaction de rétroMichael de l'intermédiaire **198** (ou **199**). Dans le cas du dérivé 7-hydroxy **197**, 1,1 équivalents de triéthylamine sont utilisés car un équivalent est nécessaire pour déprotoner la fonction phénol. Pour le dérivé 7-méthoxy **180**, 0,1 équivalent de triéthylamine est donc suffisant. L'addition d'acroléine est réalisée à froid puis le produit est récupéré par une extraction liquide-liquide. Le solvant doit impérativement être évaporé à basse température, une petite quantité d'hydroquinone peut également être ajoutée avant l'évaporation de façon à inhiber la polymérisation de l'acroléine restante. Le produit obtenu **198** (ou **199**) est immédiatement réengagé dans l'étape suivante, car il se dégrade au cours du temps. Augmenter la température de 60°C à 80°C nous a permis d'accroître le rendement du dérivé 7-hydroxy **172** de 30% à 47-68%. Le produit de cyclisation est donc obtenu en trois étapes avec un rendement de 67% pour le dérivé 7-hydroxy **172** et de 40% pour le dérivé 7-méthoxy **173**. La séquence ne nécessite qu'une seule purification par chromatographie.

La réduction de la double liaison a pu être réalisée par hydrogénation selon les conditions classiques, en présence de palladium sur charbon dans l'éthanol : le rendement varie de 93 à 100% pour le dérivé 7-hydroxy **170** et est de 98% pour le dérivé 7-méthoxy **171**.

L'étape de déprotection de l'amine s'est, en revanche, révélée plus problématique, en particulier pour le substrat **170**.

V.3.2.2 - Mise au point des conditions de détosylation

V.3.2.2.1 - Dérivé 7-hydroxy **170** :

Il existe plusieurs exemples d'hydrolyse d'un sulfonamide en présence d'acide chlorhydrique concentré et d'acide acétique (rendements : de 75 à 90%) (Schéma 38).^{123,137}

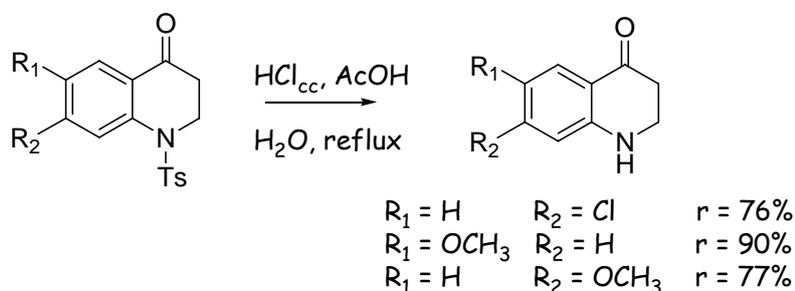


Schéma 38

¹³⁷ Johnson, W. S. ; Woroch, E. L. ; Buell, B. G. *J. Am. Chem. Soc.* 1949, 71, 1901-1905.

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

Nous avons appliqué ces conditions à la *N*-tosyl-7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **170**. Le produit déprotégé **145** a été obtenu avec un rendement brut de 55% mais le produit de départ n'a pas pu être récupéré (Tableau 6 - entrée 1). Nous avons tenté d'optimiser ces conditions (Tableau 6 - entrées 2 à 10).

Tableau 6 : conditions de "déotosylation" pour le dérivé **200**.

| Entrée | Conditions | Résultats | Solubilité |
|--------|---|------------------------|------------|
| 1 | HCl _{cc} , AcOH/H ₂ O 2/1, 100°C, 4h ; [HCl] = 5M. | 46-55% brut (145). | faible |
| 2 | HCl _{dilué} , AcOH/H ₂ O 2/1, 100°C, 5h ; [HCl] = 2M. | 170 (95%). | moyenne |
| 3 | HCl _{cc} , AcOH/EtOH 1/5, 50°C, 3h puis 80°C, 19h ; [HCl] = 1,7M. | 170 (89%). | bonne |
| 4 | HCl _{cc} , AcOH/H ₂ O 4/1, de 50°C à 90°C puis 20h à 90°C ; [HCl] = 2,3M. | 38% (145) + 170 (19%). | moyenne |
| 5 | HCl _{cc} , PrCO ₂ H, 80°C, 12h ; [HCl] = 6M. | 37% (145) + 170 (34%). | bonne |
| 6 | HCl _{cc} , AcOH/H ₂ O/PrCO ₂ H 2/1/2, de 80°C à 100°C puis 12h à 100°C ; [HCl] = 3,4M. | 23% (145) + 170 (70%). | bonne |
| 7 | HCl _{cc} , AcOH/H ₂ O/PrCO ₂ H 2/1/1, 6h, 100°C ; [HCl] = 4,4M. | 58% (145) + 170 (7%). | bonne |
| 8 | Na/naphtalène (3 éq.), 1,2-diméthoxyéthane, -15°C, 2h30 min puis t.a., 1h30 min | 170 (100%). | bonne |
| 9 | RedAl (NaAlH ₂ (OCH ₂ CH ₂ OCH ₃) ₂) (4 éq.), toluène, reflux, 5j. | 170 (25%). | bonne |
| 10 | NaOH 15% (5 éq.), EtOH, reflux, 3j. | 170 (85%). | bonne |
| 11 | KOH 5M, MeOH, TA puis reflux, 3j. | 170 (90%). | bonne |

Dans les premières conditions utilisées, le produit de départ est peu soluble et se dégrade en partie au cours de la réaction. En faisant varier l'acidité du milieu, la durée et la température de réaction de manière à atteindre des conditions réactionnelles plus douces, mais également en tentant d'améliorer la solubilité de **170** (entrées 2 à 4), nous observons soit une absence de réaction soit un rendement plus faible.

L'utilisation d'un acide à plus longue chaîne comme l'acide propanoïque (entrée 5) permet de solubiliser complètement le produit de départ. Même à une concentration en acide assez élevée (6M), le rendement en **145** obtenu reste moyen (37%) ; il est cependant possible de récupérer une partie de **170** (34%). Il a fallu finalement atteindre un compromis entre la solubilité du produit de départ, l'acidité du milieu et les proportions de chacun des solvants : en utilisant un mélange eau/acide acétique/acide propanoïque (entrée 7) dans lequel le composé **170** se solubilise au fur et

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

à mesure que la température augmente, à une concentration en acide d'environ 4 mol.L⁻¹, **145** est obtenu à hauteur de 58% (accompagné de 7% de **170** récupéré).

D'autres conditions^{138,139} ont également été essayées : réduction par Na-naphtalène¹⁴⁰ ou le RedAl¹⁴¹ (entrées 8 et 9), ou encore l'hydrolyse basique¹⁴² (entrées 10 et 11). Toutes ces méthodes n'ont donné lieu à aucune réaction et le produit de départ a été récupéré à plus de 80% excepté avec le RedAl.

Il n'est cependant pas surprenant que nous obtenions de moins bons résultats que dans les exemples du schéma 38. En effet, la présence d'une fonction cétone, conjuguée avec l'aromatique, facilite l'énolisation et l'élimination d'un groupe Ts⁺ (Schéma 39).

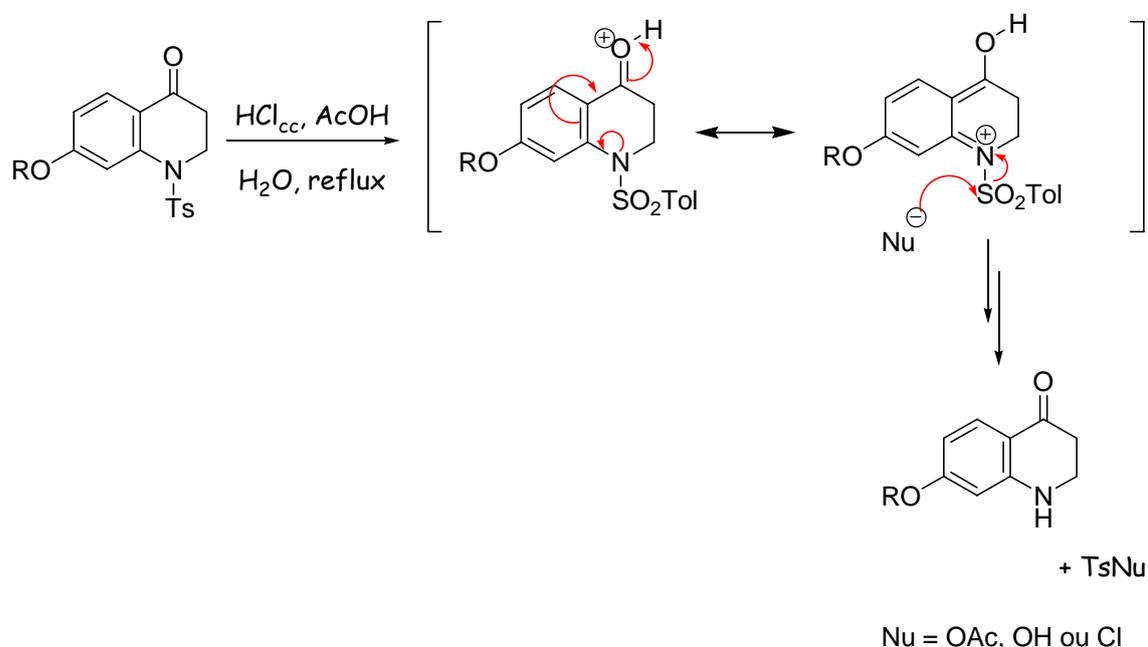


Schéma 39

¹³⁸ Greene, T. W. ; Wuts, P. G. dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, 1999, 603-607.

¹³⁹ Searles, S. Jr. ; Nukina, S. *Chem. Rev.* 1959, 59, 1077-1103.

¹⁴⁰ a) Closson, W. D. ; Wriede, P. ; Bank, S. *J. Am. Chem. Soc.* 1966, 88, 1581-1583; b) Ji, S. ; Gortler, L. B. ; Waring, A. ; Battisti, A. ; Bank, S. ; Closson, W. D. ; Wriede, P. *J. Am. Chem. Soc.*, 1967, 89, 5311-5312 ; c) Morimoto, Y. ; Shirahama, H. *Tetrahedron* 1996, 52, 10631-10652.

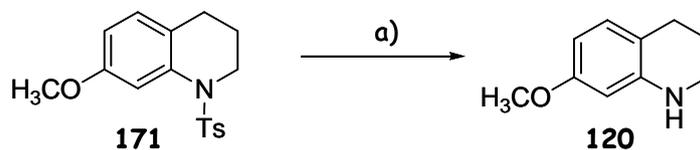
¹⁴¹ Gold, E. H. ; Babad, E. *J. Org. Chem.* 1972, 37, 2208-2210.

¹⁴² Masaguer, C. F. ; Ravina, E. ; Fuyeo, J. *Heterocycles* 1992, 34, 1303-1309.

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

V.3.2.2.1 - Dérivé 7-méthoxy 171 :

Nous avons rencontré beaucoup moins de problèmes avec le dérivé 7-méthoxy 171 : les conditions de l'entrée 6 du tableau précédent ont donné des rendements variant de 70 à 78% (Schéma 40).



a) HCl_{cc} , $\text{AcOH}/\text{PrCO}_2\text{H}/\text{H}_2\text{O}$ 2/4/1, 100°C , 7h, 70-78% ; $[\text{HCl}] = 4,3 \text{ M}$.

Schéma 40

Nous avons également expérimenté une autre méthode inspirée des conditions employées par Tokuyama *et al.*^{129,130} La dernière étape de leur stratégie consiste à transformer le dérivé 1,2-dihydroquinoléine 173 en la quinoléine correspondante 181, par réaction avec un excès de potasse dans le diméthylsulfoxyde à chaud (rendement supérieur à 90%) (Schéma 41).

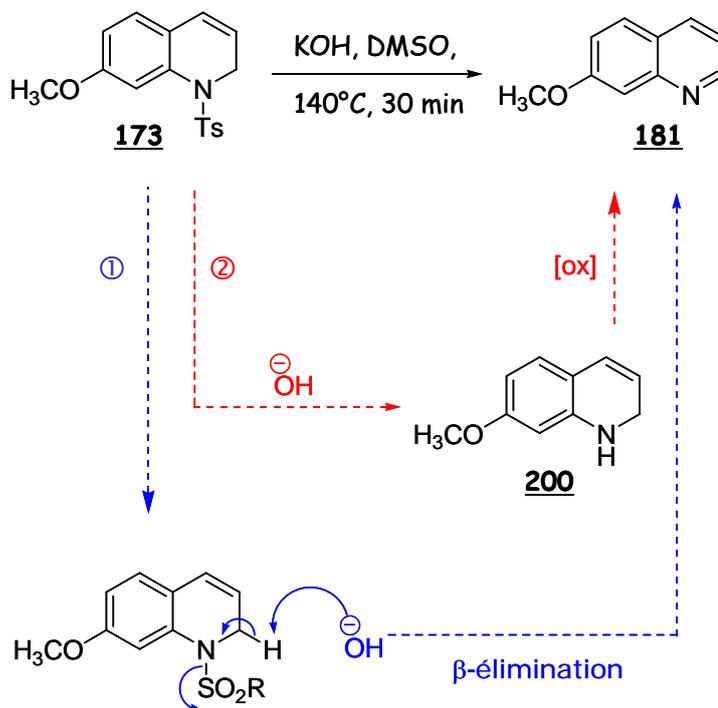


Schéma 41

Deux propositions ont été faites pour expliquer le mécanisme de cette réaction (Schéma 41) :

(1) soit une β -élimination (Voie 1) ;

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

(2) soit une hydrolyse basique, suivie d'une oxydation spontanée pour permettre la réaromatisation en quinoléine (Voie 2).

La *N*-tosyl-7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **173** a été traitée par quatre équivalents de potasse dans le DMSO à 140°C (Schéma 42) : le produit détosylé **120** est obtenu avec un faible rendement de 19%. Lorsque la température est abaissée à 80°C, le rendement est de 33%. Cette valeur reste faible et rend donc la réaction peu attractive du point de vue synthétique.

En revanche, elle nous permet d'éclaircir le mécanisme de la réaction décrite par Fukuyama. En effet, au départ de **171**, la β -élimination (voie 1) aurait conduit à l'imine **201**. Or nous avons bien obtenu le composé **120**, ce qui laisse supposer que le clivage du groupe tosyle se fait selon le mécanisme d'hydrolyse basique, du moins en ce qui nous concerne (voie 2).

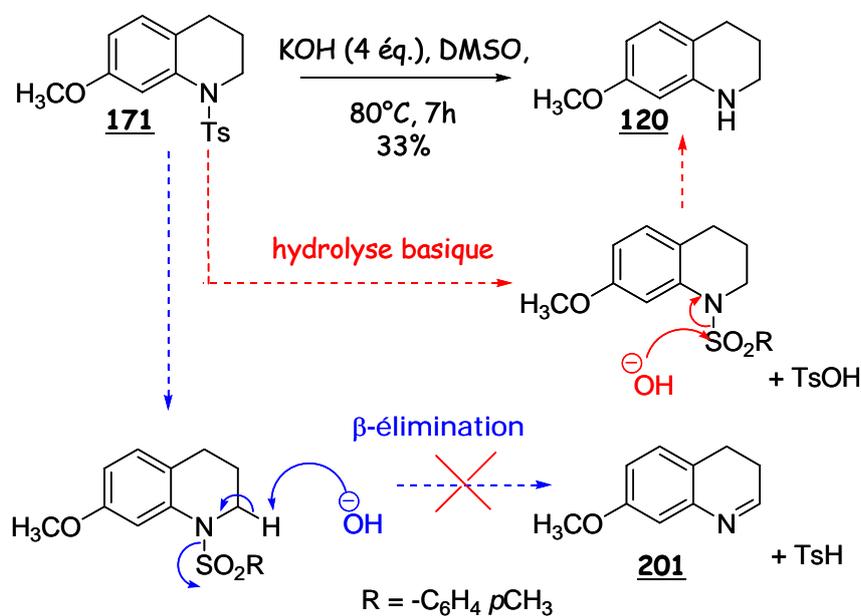


Schéma 42

V.3.2.3 - Variation du groupement protecteur de l'amine

Nous avons également cherché à remplacer le groupe tosyle par un autre groupement protecteur, plus facile à cliver. Ce groupe doit être résistant aux conditions de la réaction de Michael et à celles fortement acides de la cyclisation. Nous avons retenu le groupe trifluoroacétyle CF_3CO- qui est facilement clivé en milieu aqueux basique.

Le 2,2,2-trifluoro-*N*-(3-méthoxyphényl)acétamide **202** a été synthétisé par traitement de la *m*-anisidine **119** par un excès de trifluoroacétate d'éthyle en présence d'une quantité catalytique de

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

4-diméthylaminopyridine (DMAP) dans le THF au reflux, comme décrit dans la littérature¹⁴³ (Schéma 43). Le produit est obtenu avec un rendement de 78% (Lit. 91%).

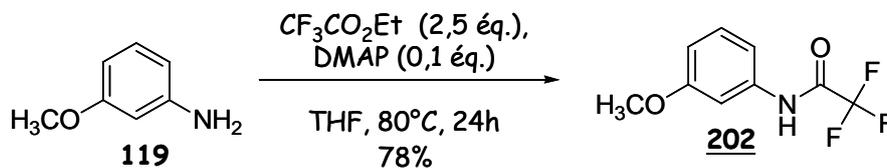


Schéma 43

Nous avons ensuite tenté de former le dérivé dihydroquinoléine correspondant 205 (Schéma 45), mais sans succès. La réaction d'addition conjuguée a bien eu lieu : la formation de l'adduit 203 a été confirmée par la présence d'un triplet à 3,73 ppm ($\text{CH}_2\text{-N}$), d'un triplet à 2,66 ppm (CH_2 en α du CO) et d'un singulet à 9,79 ppm (proton aldéhydique) (RMN ^1H dans le CDCl_3) et également par l'observation d'un pic en spectrométrie de masse à $m/z = 276,5$ (électrospray) qui correspond bien au pic moléculaire ($[\text{M}+\text{H}]^+$) de l'espèce 203. La cyclisation en milieu HCl aqueux a redonné la *m*-anisidine 119. Nous avons supposé que le groupement trifluoroacétate avait été clivé pour générer l'espèce 204, très instable, qui peut facilement subir une réaction de rétroMichael et redonner ainsi les réactifs initiaux.

Tokuyama *et al.*¹²⁹ ont montré que ce type de cyclisation était également possible en présence d'acide trifluorométhanesulfonique dans le dichlorométhane, en particulier pour des substrats peu réactifs comme ceux porteurs de substituants électroattracteurs : ainsi les intermédiaires dérivés de la 3,4-diméthoxyaniline et de la 3-bromoaniline ont pu être cyclisés avec des rendements de 84% et 88% respectivement (l'amine est protégée par un groupe mésyle). La *m*-anisidine n'a pas été testée dans ces conditions. Nous avons placé l'intermédiaire 203 en présence d'un équivalent de TfOH dans le dichlorométhane (Schéma 45) : le rendement en produit brut 205 est de 20% environ. Cette stratégie a donc été laissée de côté.

¹⁴³ Prashad, M. ; Hu, B. ; Har, D. ; Repic, O. ; Blacklock, T. J. *Tetrahedron Lett.* 2000, 41, 9957-9961.

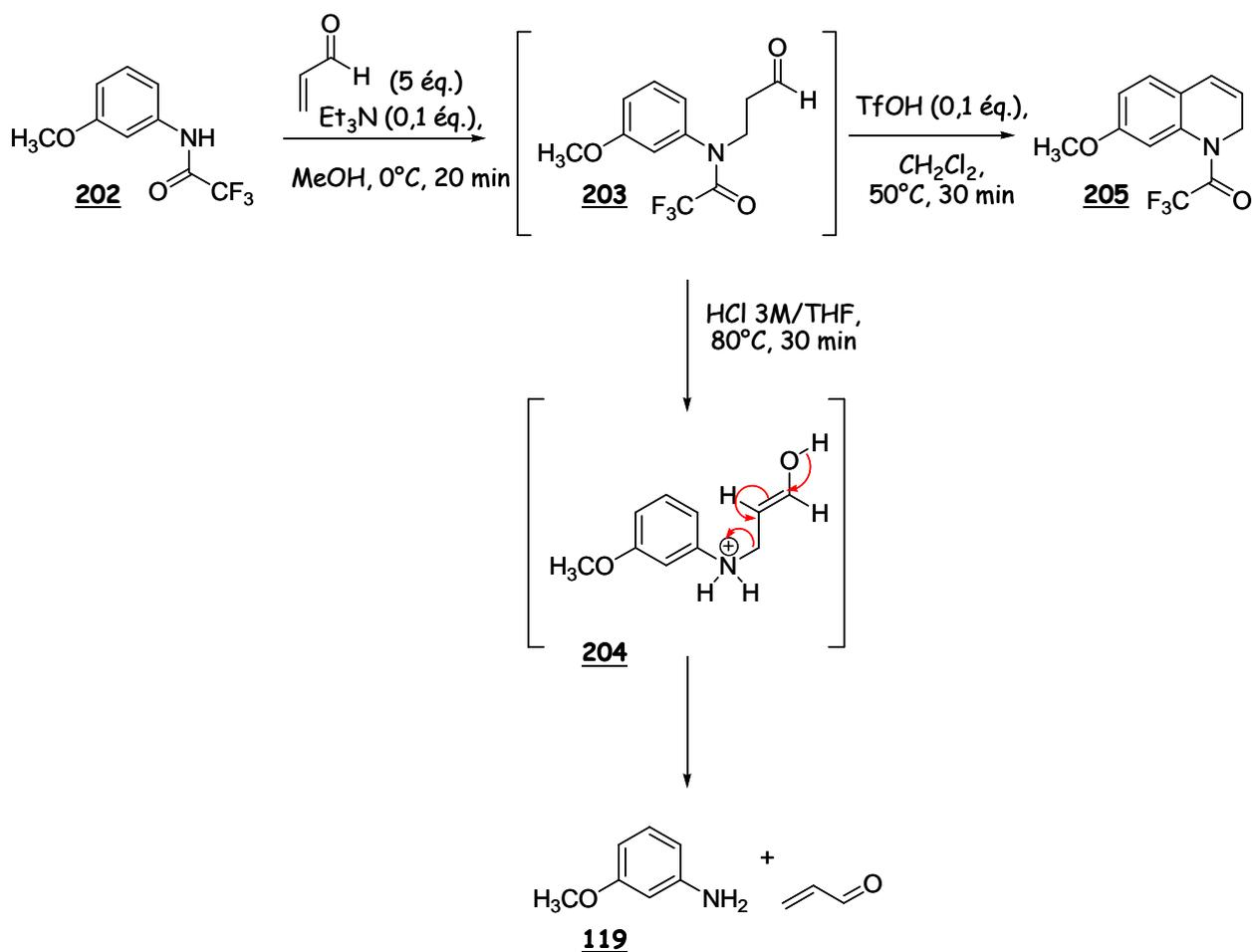


Schéma 45

V.4 - Conclusion

Nous avons donc synthétisé la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 selon deux méthodes différentes en suivant les procédés décrits dans la littérature (Schéma 46).

Les deux stratégies comportent quatre étapes et seulement deux purifications nécessaires. La voie 1 donne un rendement global assez faible de 15%, à cause de l'étape de cyclisation à l'APP dont les rendements sont peu reproductibles si on travaille sur une échelle de plus de 2-3 g d'acide de départ. Cette méthode peut convenir pour synthétiser des petites quantités de produit (de 500 mg à 1 g de produit 120).

La voie 2 quant à elle offre un rendement global de 27% pour le dérivé 120 et de 32% pour 145. Ses principaux inconvénients sont l'étape de clivage du groupe tosyle (pour le dérivé 7-hydroxy) et la séquence addition de Michael-cyclisation, délicate à réaliser et dont le rendement est assez moyen. Cette synthèse a pu être appliquée à la transformation de 20 g de *m*-anisidine en

Chapitre 5 : Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine.

environ 7 g de composé 145. C'est donc celle-ci qui est conseillée pour obtenir rapidement une quantité importante de produit.

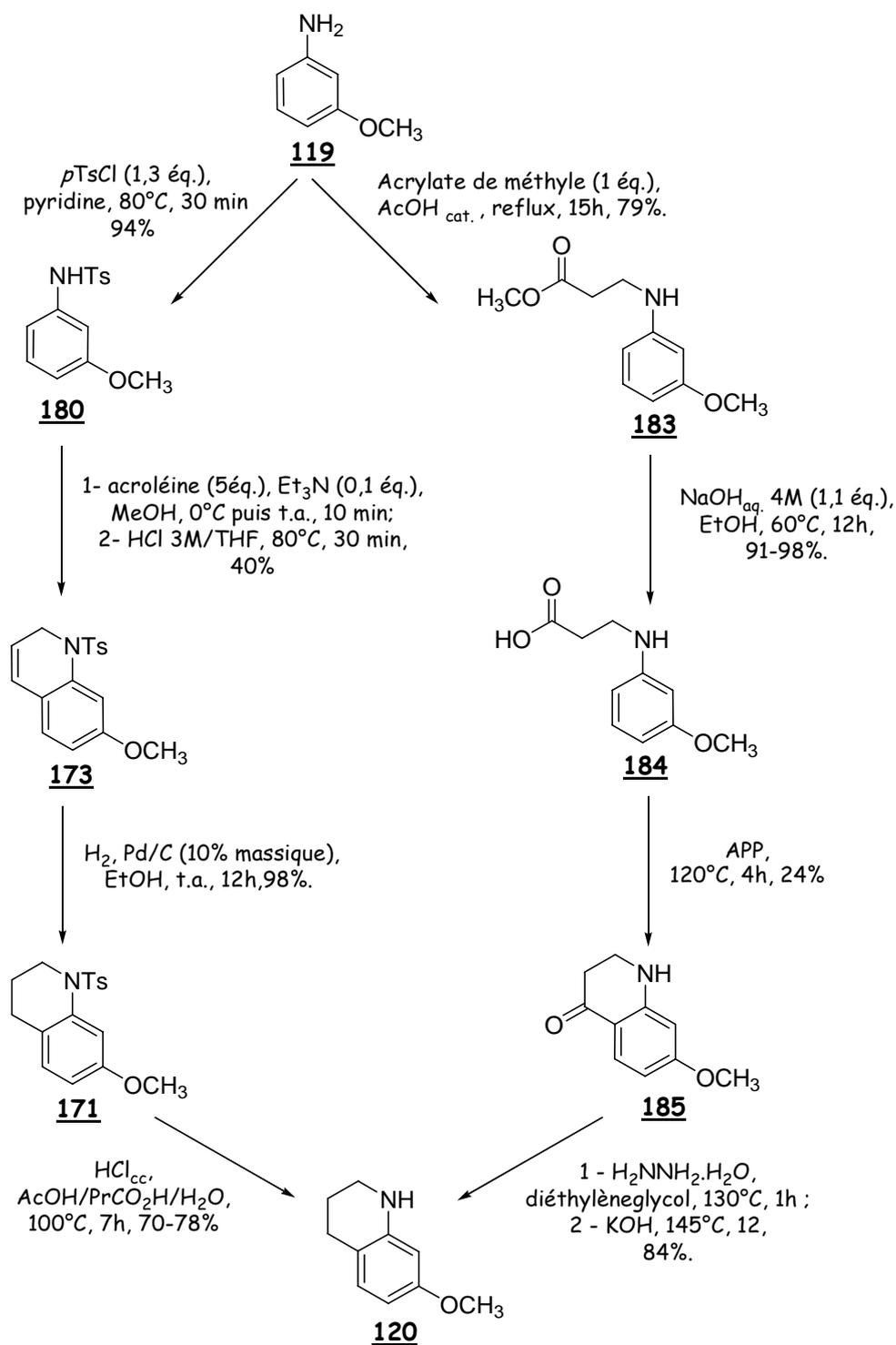


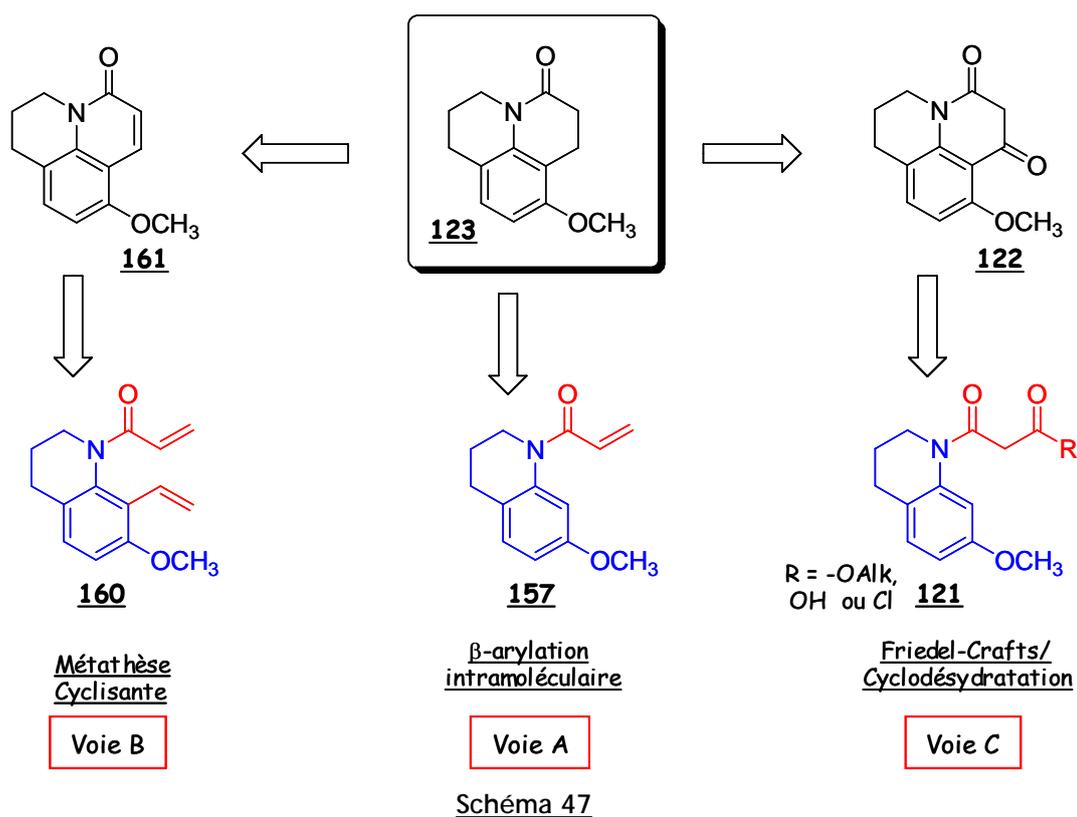
Schéma 46

Le chapitre suivant fera l'objet des différentes stratégies que nous avons explorées afin de construire le troisième cycle du squelette pyridoquinoléine.

SYNTHESE DES PYRIDOQUINOLEINES

VI.1 - Rappel des voies de synthèse envisagées

Au cours du chapitre 4, nous avons décrit les différentes approches envisagées pour la construction du troisième cycle B, à partir de la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120. Les composés 122, 123 et 161 sont des intermédiaires à partir desquels nous pourrions former une série de composés en vue d'une étude SAR (Schéma 47).



Ainsi, le lactame 123 pourrait être obtenu par β -arylation intramoléculaire du dérivé *N*-acryloyle 157 (Voie A) : celui-ci peut être facilement formé à partir de la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120. Une autre voie possible fait intervenir une réaction de métathèse cyclisante sur le composé 160 (Voie B). Celui-ci serait synthétisé *via* une *ortho*lithiation pour introduire un groupement précurseur de la fonction vinyle. Enfin, une acylation intramoléculaire de type Friedel-Crafts sur le dérivé 121 permettrait de former la pyridoquinoléine-5,7-dione 122 (Voie C). Le composé 121 pourra être obtenu par *N*-alkylation de la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 par un chlorure d'acide malonique (ClCOCH₂CO₂R ou ClCOCH₂COCl).

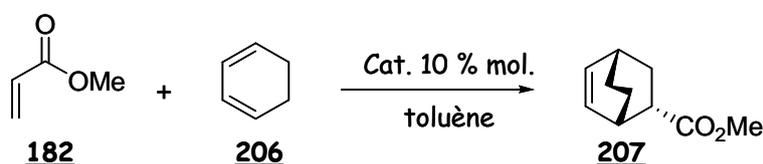
Les deux premières voies sont nouvelles pour la synthèse de ce type de composés. La voie C est la plus classique, des réactions analogues ayant déjà été décrites dans la littérature (cf. chapitre 4 - IV.2.2.1-).

Ce chapitre sera divisé en trois parties traitant (1) de la voie A (β -arylation), (2) de nos travaux préliminaires sur la voie B (métathèse) et enfin (3) de la voie C.

VI.2 - Voie A : cyclisation par β -arylation intramoléculaire

VI.2.1 - Données de la littérature

La réaction de β -arylation d'un dérivé acrylique est décrite dans la littérature (cf. chapitre 4 - IV.3.2.3-). Une nouvelle version de cette réaction a été récemment étudiée au laboratoire par B. Mathieu¹⁴⁴ et C. Franc.¹⁴⁵ Son originalité résulte de l'utilisation de nouveaux acides de Lewis, les dérivés trialkylsilylbis(trifluorométhanesulfonyl)imides R_3SiNTf_2 . Ceux-ci ont une acidité supérieure à celle des triflates correspondants et sont donc de meilleurs activateurs des fonctions carbonyles (Schémas 48 et 49)^{87,144,145}

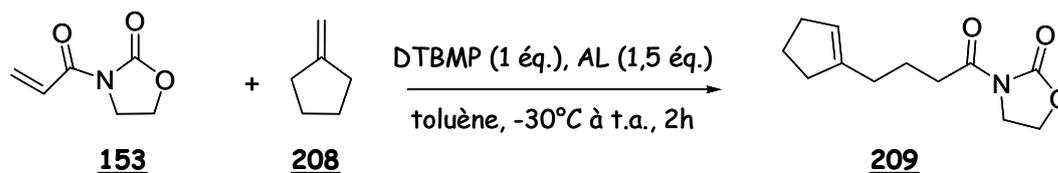


| Entrée | Catalyseur | Conditions | Rendement | Sélectivité <i>endo/exo</i> |
|--------|----------------------|-------------|-----------|-----------------------------|
| 1 | TMSOTf | 1h, 0°C | 0% | - |
| 2 | TMSNTf ₂ | 1h, 0°C | 92% | 98/2 |
| 3 | TIPSNTf ₂ | 5 min, t.a. | 90% | 97/3 |

Schéma 48

¹⁴⁴ Mathieu, B. ; Ghosez, L. *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 5497-5500.

¹⁴⁵ Mathieu, B. ; Ghosez, L. *Tetrahedron* 2002, 58, 8219-8226.



| Entrée | Acide de Lewis (AL) | Rendement |
|--------|----------------------|-----------|
| 1 | TMSOTf | 0% |
| 2 | TMSNTf ₂ | 47% |
| 3 | TIPSNTf ₂ | 56% |

Schéma 49

Un autre point qui différencie les triflimides des triflates correspondants est la variation de l'acidité en fonction de la taille du groupe silyle. Ainsi TIPSNTf₂ s'est révélé plus acide et meilleur catalyseur que TMSNTf₂ alors que l'ordre inverse est observé pour les triflates et tous les autres agents de silylation.¹⁴⁶ Cette augmentation de réactivité avec l'encombrement stérique peut s'expliquer par une plus forte tension interne due à l'encombrement autour du silicium. L'anion NTf₂⁻ étant plus volumineux qu'un groupe carbonyle, il y a une diminution de l'énergie interne en passant de l'imide silylé au carbonyle silylé : cette variation d'énergie est d'autant plus importante que les substituants sur le silicium sont volumineux.

Pour éviter des réactions de dégradation dues à la présence de traces d'HNTf₂ résiduelles, une base comme la di-*tert*butylméthylpyridine (DTBMP) est souvent ajoutée : son principal avantage est qu'elle est trop encombrée pour réagir avec l'agent de silylation.

Ces acides de Lewis ont ensuite été utilisés dans des réactions de β -arylation de dérivés acryliques.¹¹⁷ Les meilleurs résultats ont été obtenus avec la 3-acryloyloxazolidin-2-one 153 et TIPSNTf₂. Ainsi la β -arylation de 153 par le 1,3-diméthoxybenzène 210, après 1h en présence de 2 équivalents de TIPSNTf₂, donne quantitativement le produit d'arylation 211 (Schéma 50). Le 1,3-diméthoxybenzène est utilisé comme solvant.¹¹⁵

¹⁴⁶ Mathieu, B. ; de Fays, L. ; Ghosez, L. *Tetrahedron Lett.* 2000, 41, 9561-9564.

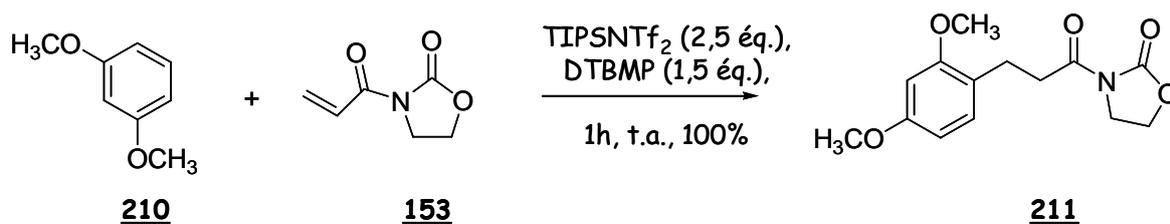


Schéma 50

Nous avons envisagé une version intramoléculaire de cette réaction au départ du lactame **157**, qui peut être obtenu par action du chlorure d'acryloyle **212** sur la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **120** (Schéma 51). Cette réaction peut être considérée comme une électrocyclisation à 6 électrons.

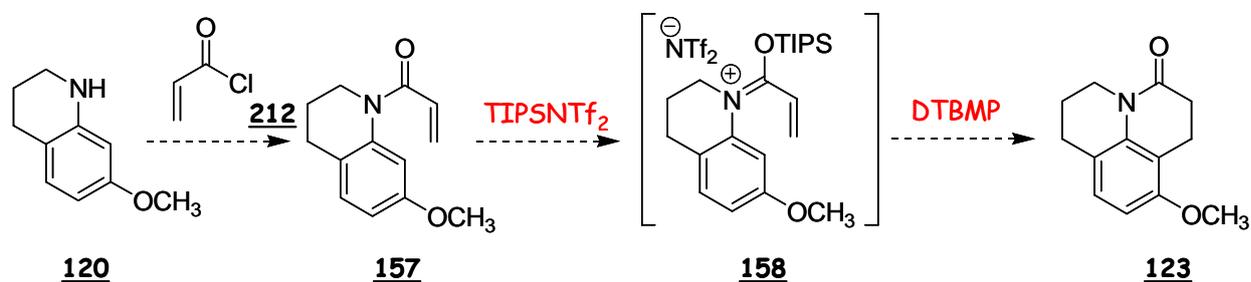


Schéma 51

Nous avons réalisé une étude préliminaire sur la 2-chloro-*m*-anisidine **213**, dont la position 2 du cycle aromatique est bloquée pour empêcher la cyclisation sur ce sommet.

VI.2.2 - Etude modèle sur un dérivé de l'anisidine

VI.2.2.1 - Synthèse du dérivé acryloylanilide **214**

L'aniline **213** est disponible commercialement sous forme de chlorhydrate. Le composé **214** est obtenu facilement par addition d'un léger excès de chlorure d'acryloyle **212** sur **213**, dans le dichlorométhane à température ambiante (Schéma 52). Un excès de base comme la diisopropyléthylamine est nécessaire afin de générer la forme amine, qui est l'espèce réactive, ainsi que pour neutraliser l'acide chlorhydrique formé. Le produit d'addition est obtenu avec un rendement de 72%.

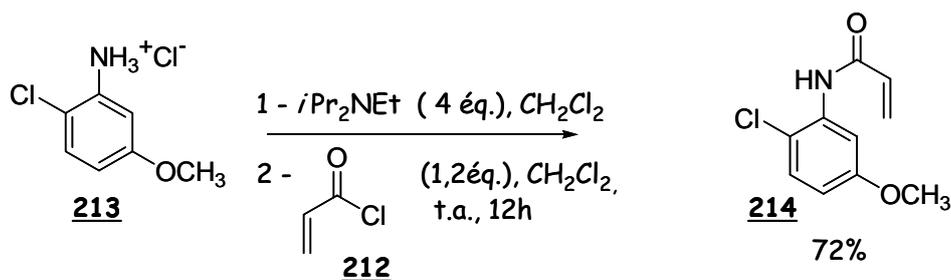


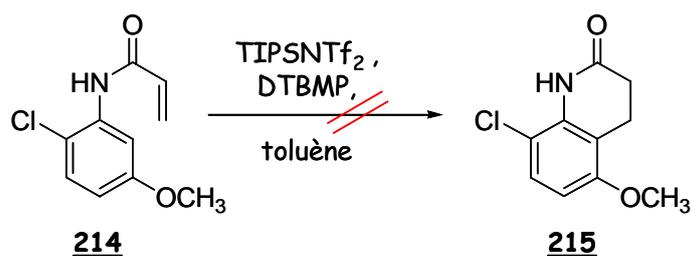
Schéma 52

Il est important de prendre des précautions lors du traitement, du fait de la polymérisation facile des dérivés acryliques. Nous avons pour cela évaporé les solvants à température ambiante, en présence d'une petite quantité d'hydroquinone.

VI.2.2.2 - Etude de la cyclisation

Les différents essais de cyclisation sont décrits dans le tableau ci-après (Tableau 7). La di-*tert*butylméthylpyridine est ajoutée à un excès (2,4 à 2,6 éq.) d'acide de Lewis, généré *in situ* par addition de triisopropylsilane sur l'imide HNTf₂, préalablement séché sur P₂O₅. L'acryloylanilide 214 est ensuite additionné en solution dans le toluène.

Tableau 7 : conditions utilisées pour la réaction de β-arylation de 214.



| Entrée | Conditions | Concentration | Résultats | Observations |
|--------|---|--------------------------------|--------------|---|
| 1 | TIPSNTf ₂ (2,6 éq.), DTBMP (1,5 éq.), toluène, 80°C, 15h. | 0,4 M. | 74% (218) | Addition de la base sur TIPSNTf ₂ puis 214. |
| 2 | TIPSNTf ₂ (2,4 éq.), DTBMP (1,5 éq.), toluène, 1h à t.a. puis 15h à 80°C. | 0,095 M. | 48% (218) | <i>Dilution par 4.</i> Addition de la base sur TIPSNTf ₂ puis 214. |
| 3 | TIPSNTf ₂ (2,2 éq.), DTBMP (2 éq.), toluène, 3h à t.a. puis 3h à 80°C et 15h à 100°C. | 0,024 M. | 214 | <i>Dilution par 16 :</i> Addition de la base sur TIPSNTf ₂ puis 214. |
| 4 | 1-TIPSNTf ₂ (2,4 éq.), 30 min, t.a. 2-DTBMP (2 éq.), toluène, 3h à t.a., 3h à 80°C puis 15h à 100°C. | 0,024 M. | 214 | <i>Dilution par 16 :</i> Formation du complexe TIPSNTf ₂ /214 puis addition sur la base. |
| 5 | TIPSNTf ₂ (2,4 éq.) DTBMP (2 éq.), toluène, 1h à t.a. puis 17h à 80°C. | (Haute Dilution) 0,004M. | 214 | <i>Dilution par 100 :</i> Addition de la base sur TIPSNTf ₂ puis addition <u>très lente</u> de 214. |

Lorsque la réaction est menée dans les conditions utilisées précédemment avec succès (entrée 1),¹¹⁷ le produit de départ a totalement réagi après 15h et nous observons la formation d'un nouveau produit qui n'est pas le produit cyclisé 215. Or, les analyses nous donnent les renseignements suivants :

➤ en RMN ¹H : la présence de deux nouveaux massifs de 2,19 ppm à 2,31 ppm (2H) et de 2,47 ppm à 2,79 ppm (2H) serait cohérente avec la formation du produit 215. Cependant, il existe également deux signaux à 3,79 ppm et 3,81 ppm, intégrant chacun pour 3 protons, ce qui laisse supposer la présence de 2 groupements méthyle. Enfin, huit protons peuvent être recensés dans la région des protons éthyléniques et aromatiques (6,61 ppm à 8,04 ppm).

➤ en RMN ¹³C : dix-sept signaux apparaissent distinctement. Il semble donc que ce composé soit un dimère du produit de départ. Malgré la complexité des spectres RMN, l'analyse des cartes bidimensionnelles (¹H/¹H, ¹³C/¹H) confirme la structure proposée. La majorité des signaux ¹³C est dédoublée en un pic de plus grande intensité et un de plus faible intensité, ce qui laisse supposer l'existence de deux conformères en équilibre ;

➤ le spectre de masse haute résolution donne un pic à m/z = 423,087799 ce qui correspond à un composé de formule brute C₂₀H₂₀N₂O₄Cl₂.

L'analyse détaillée des spectres RMN nous a permis de confirmer l'hypothèse selon laquelle le nouveau produit est bien le dimère 218, qui résulte d'une réaction de β-arylation intermoléculaire entre deux molécules de 214 (Schéma 53). Cette réaction semble donc plus rapide

que la version intramoléculaire, et le produit 218 est obtenu avec un rendement de 74%. La dilution du milieu réactionnel par 4 conduit de nouveau à la formation du produit 218 avec un rendement de 48% (entrée 2). Des dilutions plus élevées ou des changements dans l'ordre d'addition des réactifs suppriment toute réaction (entrées 3 à 5).

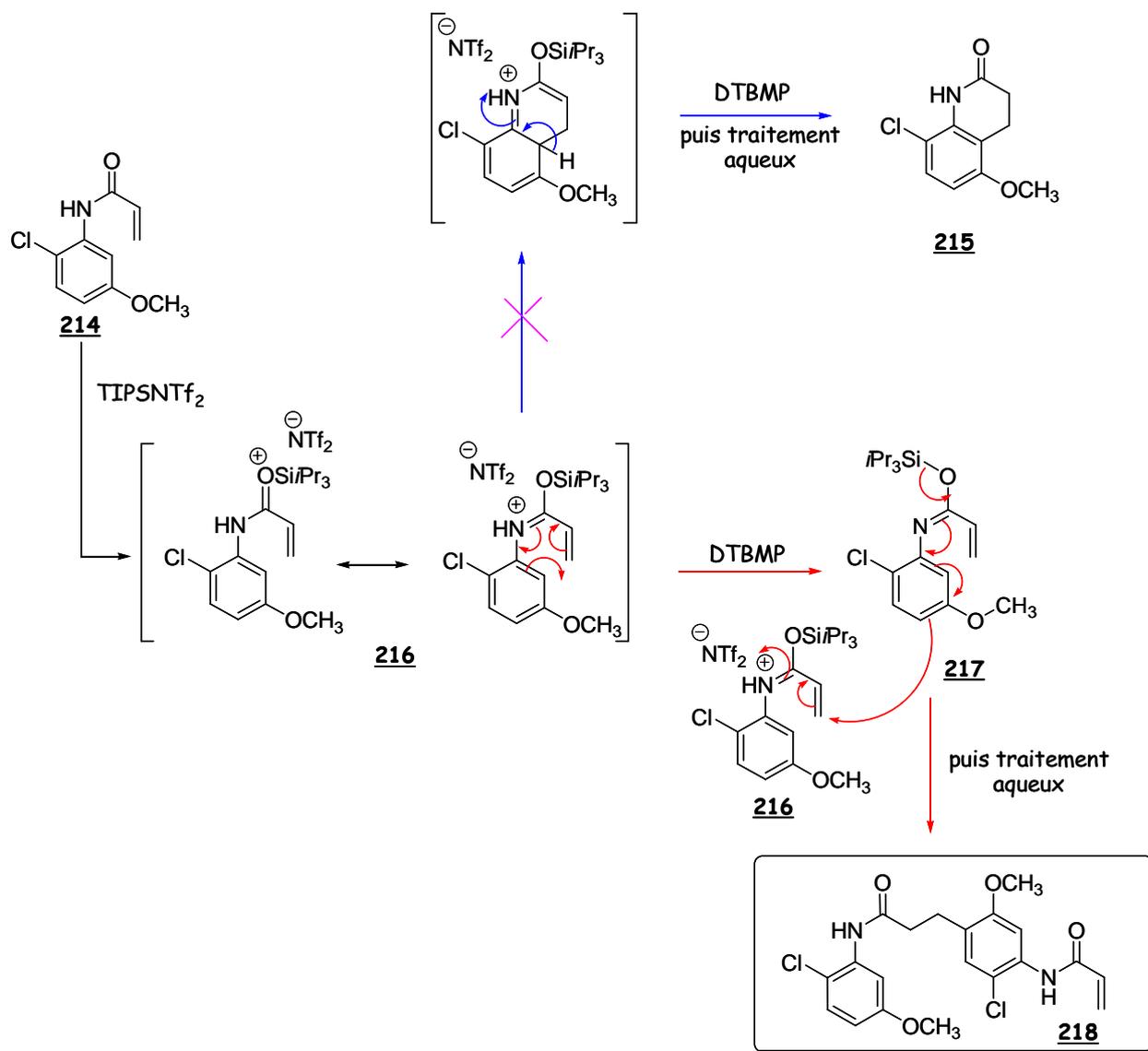


Schéma 53

En présence de l'acide de Lewis TIPSNTf₂, l'acryloylanilide 214 devrait être totalement converti en *N,O*-acétal de cétène correspondant 216 (Schéma 53). Cependant, une petite quantité de base suffirait à déprotoner une fraction de cet intermédiaire pour générer l'espèce nucléophile 217. Celle-ci pourrait alors attaquer la double liaison électrophile d'une autre molécule 216 *via* la position la moins encombrée stériquement (position 4 - Figure 49). Il se trouve également que cette position est doublement activée par les groupes amide et méthoxy.

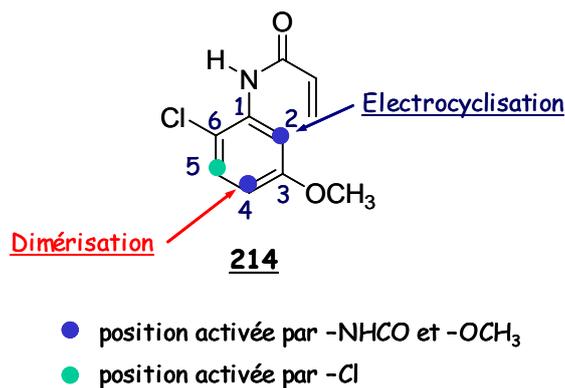


Figure 49

Ce type de dérivé 1-aza-2-siloxybutadiène a pu être isolé et caractérisé par le groupe de Ihara¹⁴⁷ dans le cadre d'une étude sur la synthèse de pipéridinones 221 par cycloaddition d'amides α,β -insaturés 219 avec des dérivés acryliques 220 (Schéma 54). La réaction a lieu en présence de triflate de *tert*butyldiméthylsilyle qui génère *in situ* l'amide silylé α,β -insaturé 222a ou b qui réagit avec l'acrylate d'alkyle pour former la pipéridinone 221. Une analyse structurale a permis d'établir que l'intermédiaire silylé était bien l'espèce *O*-silylée 222a. De plus, la conformation *s-trans* du système conjugué est favorisée, comme l'indique l'effet NOE observé entre le proton éthylénique (1) et le proton aromatique (2).

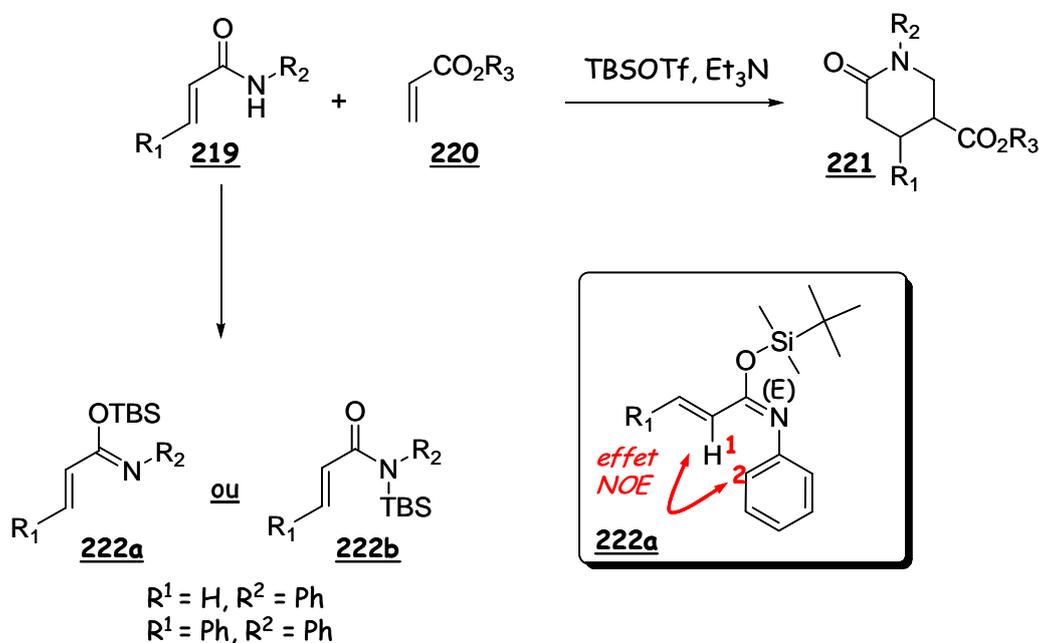


Schéma 54

¹⁴⁷ Takasu, K. ; Nishida, N. ; Ihara, M. *Synthesis* 2004, 2222-2225.

Nous avons représenté ci-dessous quatre conformères possibles pour le composé 217 (Schéma 55). Les deux conformères 217a et 217b sont défavorisés par l'interaction entre l'un des protons de la double liaison et le groupe trialkylsilyyle. Il est donc probable que les conformères 217c et 217d soient les plus stables. Si, comme précédemment, la forme *s-trans* 217c est favorisée, la réaction intermoléculaire supposerait un changement conformationnel (*s-trans* vers *s-cis*) préalablement à la cyclisation. Ce facteur conformationnel pourrait donc contribuer à la préférence pour la réaction intermoléculaire. Des calculs théoriques permettraient de confirmer cette hypothèse.

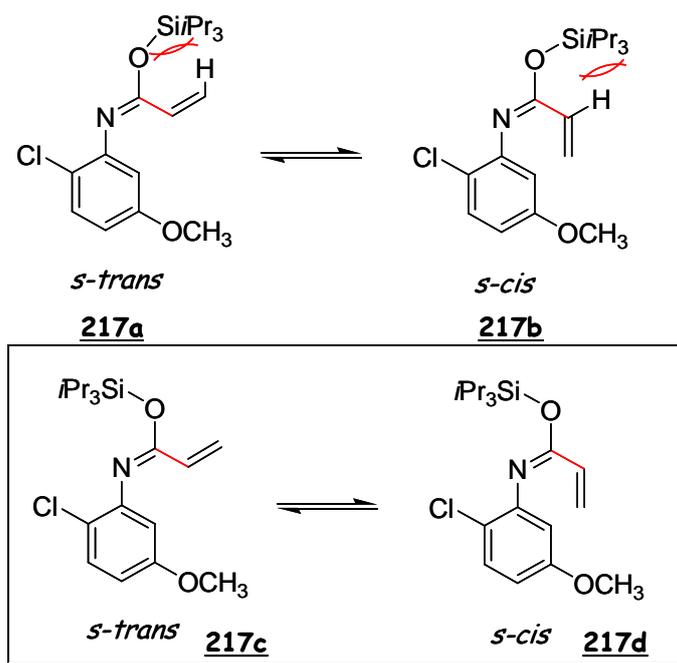


Schéma 55

Le dérivé 157 dont nous avons besoin pour la poursuite de la synthèse, possède une fonction amine tertiaire, il n'y a donc pas d'hydrogène libre permettant la formation d'un azasiloxabutadiène. C'est pourquoi nous avons donc tenté l'application directe de la méthode à ce substrat.

VI.2.3 - Application au substrat

VI.2.3.1 - Synthèse du réactif 157

Le produit 157 est obtenu avec un rendement de 78%, par addition d'un léger excès de chlorure d'acryloyle 211 sur la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120, en présence de deux équivalents de diisopropyléthylamine dans le dichlorométhane (Schéma 56).

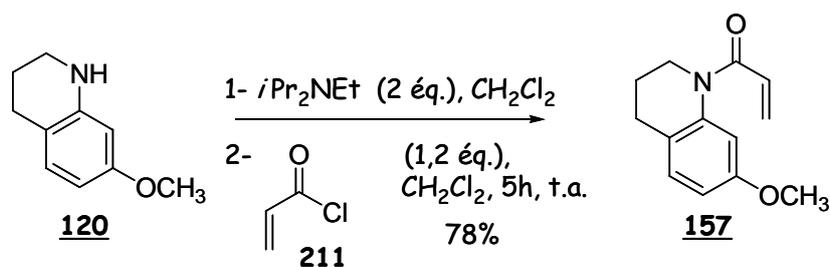
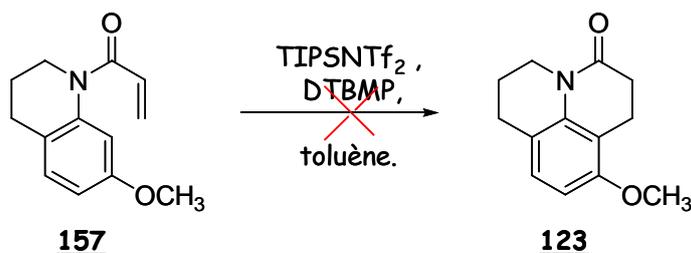


Schéma 56

VI.2.3.2 - Essais de β -arylation

Nous avons ensuite appliqué les conditions réactionnelles testées précédemment au substrat 157 (Tableau 8).

Tableau 8 : tentatives de cyclisation de 157.



| Entrée | Conditions | Concentration | Résultats | Observations |
|--------|--|---------------|-----------|--|
| 1 | TIPSNTf ₂ (2,7 équ.), DTBMP (1,5 équ.), toluène, t.a., 19h puis 80°C, 3h. | 0,3 M. | 157 | Addition de la base sur TIPSNTf ₂ puis de 157. |
| 2 | TIPSNTf ₂ (3 équ.), DTBMP (1,6 équ.), toluène, t.a., 3h puis 80°C, 27h. | 0,2 M. | 157 | Addition de la base sur TIPSNTf ₂ puis de 157. |

Au contraire du composé modèle, 157 ne réagit pas et est récupéré quantitativement (entrées 1 et 2). Dans ce cas, l'amide est tertiaire et il ne peut y avoir de formation d'azasiloxybutadiène (Schéma 57). L'absence de toute réaction résulte sans aucun doute de la désactivation du noyau aromatique du fait de la présence d'un substituant silyloxyiminium. Ces observations sont cohérentes avec l'hypothèse d'une réaction de dimérisation de 214 initiée par la formation d'une espèce azasiloxybutadiène.

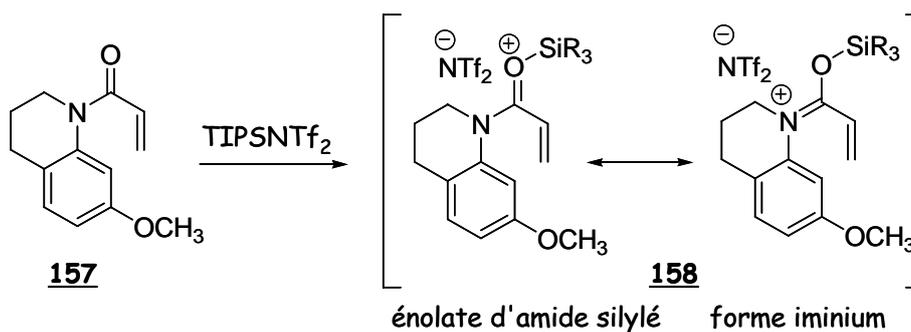


Schéma 57

Nous nous sommes alors tournés vers la voie faisant intervenir une réaction de métathèse cyclisante.

VI.3 - Voie B : cyclisation par métathèse (RCM)

VI.3.1 - Présentation

Nous avons envisagé une voie alternative, basée sur une réaction de métathèse cyclisante (RCM) (Schéma 58). En effet, cette réaction a déjà été utilisée avec succès pour la préparation d'hétérocycles oxygénés ou azotés (cf. chapitre 4 - IV.3.2.2-). Dans le cas présent, elle se ferait à partir de l'intermédiaire 139 contenant un cycle aromatique porteur de quatre substituants vicinaux.

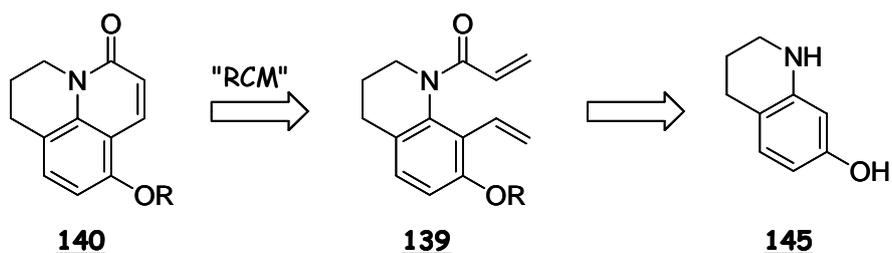


Schéma 58

La difficulté de cette stratégie réside dans la synthèse de cet intermédiaire 139. Nous avons envisagé d'introduire un précurseur du groupe vinylo par une réaction d'*ortholithiation* régiosélective de la tétrahydroquinoléine 141 (Schéma 59). L'électrophile utilisé pour quencher l'*ortholithiation* pourrait être (a) du dibrome (ou du diiode) : la fonction vinylo serait introduite par un couplage de Stille ; (b) un agent de formylation comme le DMF : la double liaison serait alors formée par une réaction de Wittig.

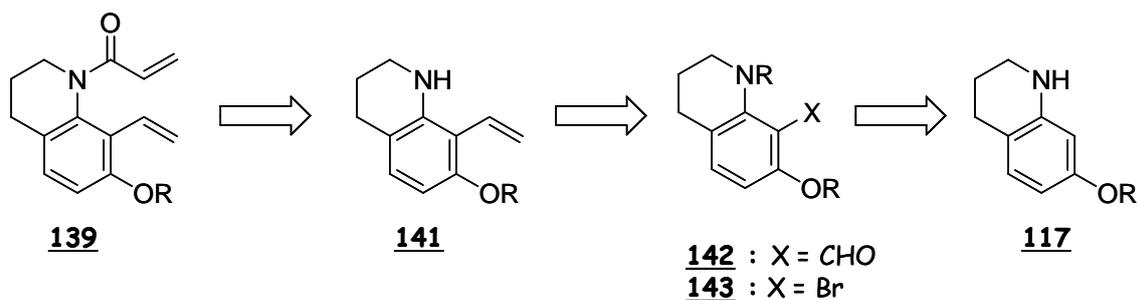


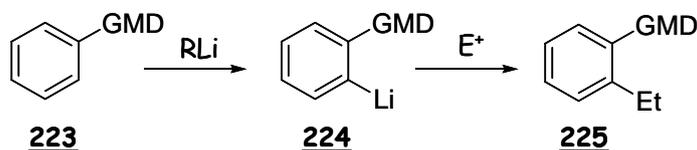
Schéma 59

La fonction acryloyle serait ensuite introduite par couplage entre l'amine libre et le chlorure d'acryloyle. La synthèse du précurseur 139 est décrite dans le paragraphe qui suit. Dans un premier temps, nous expliquerons le choix des groupements protecteurs pour orienter correctement l'*ortholithiation*, puis nous présenterons les essais de fonctionnalisation effectués.

VI.3.2 - Synthèse de 139

VI.3.2.1 - Généralités sur l'*ortholithiation*

L'*ortholithiation* est une réaction couramment utilisée en synthèse organique qui permet la préparation de systèmes substitués sur des positions contiguës^{148,149}. Elle suppose la déprotonation d'un site en *ortho* d'un groupe contenant un hétéroatome par une base lithiée, ce qui conduit à la formation d'une espèce *ortholithiée* 224 (Schéma 60). Cet intermédiaire est ensuite traité par un réactif électrophile pour donner un produit 1,2-disubstitué 225. La présence d'un groupe possédant un hétéroatome, dit *directeur* ou *orienteur*, en *ortho* de la position à fonctionnaliser est indispensable.



GMD = Groupe "Métallant Directeur"

Schéma 60¹⁴⁸

¹⁴⁸ Snieckus, V. *Chem. Rev.* 1990, 90, 879-933.

¹⁴⁹ Gschwend, H. W. ; Rodriguez, H. R. *Organic Reactions*, New York, 1979, 26, 1-360.

Les bases sont le plus souvent des organolithiens car la réaction implique un cation coordinant. Le groupe directeur doit posséder un bon site de coordination pour le cation lithium mais ne doit pas être sensible à l'attaque nucléophile de la base.¹⁴⁸ Les groupes $-SO_2NR_2$, $-SONHR$, $-CONR_2$, $-CONHR$, $-CH_2NR_2$, $-OCH_2CH_3$, $-NHCOR$ ou encore $-NHCO_2R$ sont généralement des groupements fortement *orthodirecteurs*. Les amides dérivés de l'acide pivaloylique¹⁵⁰ ou les carbamates¹⁵¹ comme le *tert*butoxycarbonyle (Boc) sont très souvent employés ; le groupe méthoxyméthyle^{152,153} est également un bon groupe *orthodirecteur*. L'*ortholithiation* peut être vue comme une séquence en trois étapes (Schéma 61) :

- 1- coordination de l'agrégat $(RLi)_n$ à l'hétéroatome du groupe directeur (226 ou 229) ;
- 2- déprotonation de l'hydrogène aromatique pour former l'espèce *ortholithiée* 227 ou 230 ;
- 3- réaction avec l'électrophile.

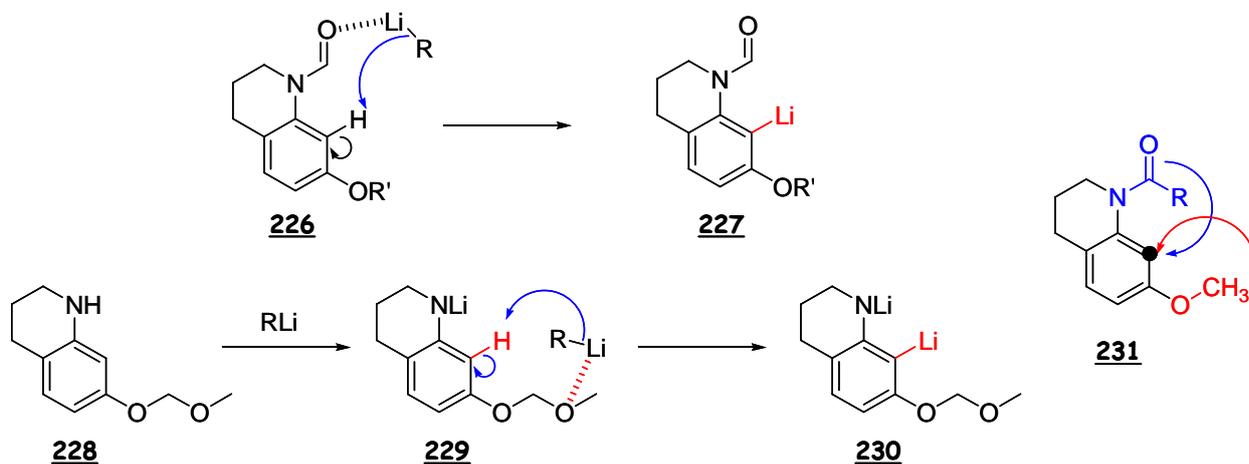


Schéma 61

Il est également possible d'observer des effets coopératifs entre deux groupements qui orientent la réaction sur la même position (Schéma 61 - 231). Les groupes $-NBoc$, $-NCOtBu$ et $-CONEt_2$ montrent une très bonne régiosélectivité en coopération avec $-OCH_3$, $-Cl$ et $-F$.¹⁴⁸

Le choix de l'électrophile utilisé dépend évidemment du groupement fonctionnel à introduire. Certains réactifs d'utilisation courante sont recensés dans le tableau 9.

¹⁵⁰ Fuhrer, W. ; Gschwend, H. W. *J. Org. Chem.* 1979, 44, 1133-1136.

¹⁵¹ Muchowski, J. M. ; Venuti, M. C. *J. Org. Chem.* 1980, 45, 4798-4801.

¹⁵² Winkle, M. R. ; Ronald, R. C. *J. Org. Chem.* 1982, 47, 2101-2108.

¹⁵³ Ronald, R. C. ; Winkle, M. R. *Tetrahedron* 1983, 39, 2031-2042.

Tableau 9 : exemples d'électrophiles utilisés pour l'*o*-lithiation.¹⁴⁸

| Réactif | Groupe fonctionnel introduit |
|---|------------------------------|
| $\text{ICH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, I_2 | -I |
| $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$, Br_2 | -Br |
| Me_3SiCl | -SiMe ₃ |
| CO_2 | -CO ₂ H |
| MeI, EtI | Me, Et |
| HCO_2Et , DMF | -CHO |

A notre connaissance, il existe peu de réactions d'*ortho*-lithiation sur les tétrahydroquinoléines. Les travaux des groupes de Beak¹⁵⁴ et d'Iwao,¹⁵⁵ décrivent des réactions de lithiation quantitatives sur le noyau aromatique. Meyers *et al.*¹⁵⁶ ont montré, quant à eux, qu'il était possible d'inverser complètement la sélectivité de la lithiation : elle a lieu en position 2 de l'hétérocycle lorsque le groupement Boc qui protège l'amine est remplacé par un groupe formamidine (Tbf : *t*BuN=CH-). Nous nous sommes également inspirés des résultats d'Iwao *et al.* :¹⁵⁷ lors de la synthèse totale de la Veitutine 234, ils ont mis au point une étude modèle de l'*ortho*-lithiation de dérivés 1,3,4,5-tétrahydropyrrolo[4,3,2-*de*]quinoléines 232 (Schéma 62).

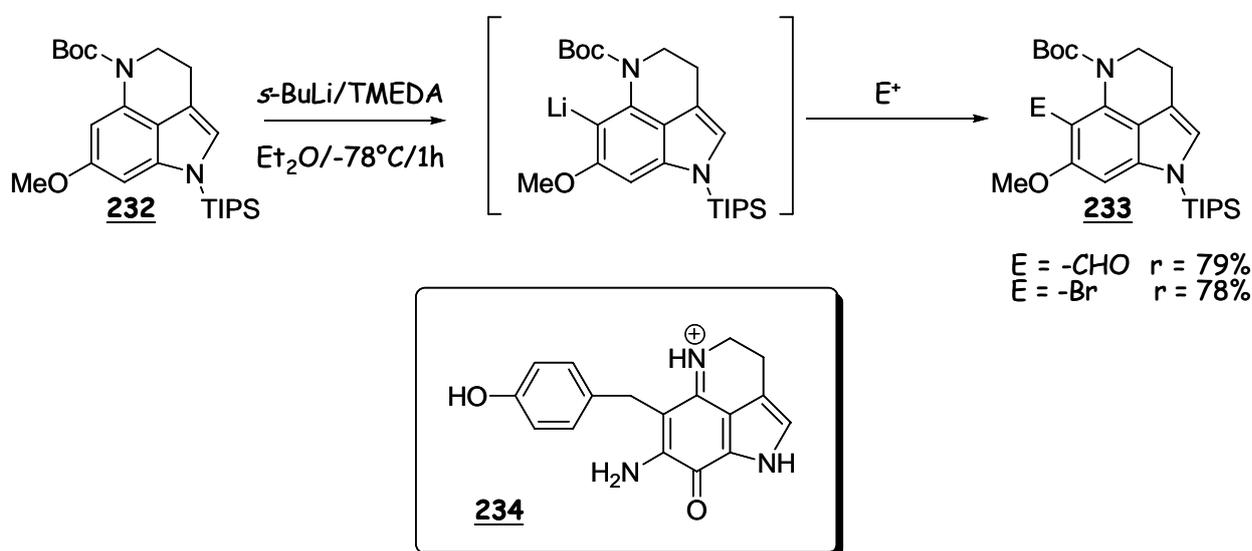


Schéma 62

¹⁵⁴ Beak, P. ; Lee, X.-K. *Tetrahedron Lett.* 1989, 30, 1197-1200.

¹⁵⁵ Iwao, M. ; Kuraishi, T. *Heterocycles* 1992, 34, 1031-1038.

¹⁵⁶ Meyers, A. I. ; Milot, G. *J. Org. Chem.* 1993, 58, 6538-40.

¹⁵⁷ a) Moro-oka, Y. ; Fukuda, T. ; Iwao, M. *Tetrahedron Lett.* 1999, 40, 1713-1716; b) Moro-oka, Y. ; Iwakiri, S. ; Fukuda, T. ; Iwao, M. *Tetrahedron Lett.* 2000, 41, 5225-5228.

La meilleure manière d'obtenir de bons rendements et une régiosélectivité correcte dans une réaction d'*ortholithiation* est d'étudier systématiquement tous les paramètres entrant en jeu afin de rechercher les conditions optimales (groupes directeurs, base, additifs, solvant, température...). Nous avons donc préparé une série de composés porteurs de différents groupes *orthodirecteurs* puis nous avons testé ces produits dans les conditions de l'*ortholithiation*.

VI.3.2.2 - Synthèse des précurseurs de l'*ortholithiation*

VI.3.2.2.1 - $R^1 = \text{Alloc ou Piv}$ et $R^2 = \text{TIPS}$:

Nous avons choisi un groupe trialkylsilyyle pour la protection de la fonction phénol, et en particulier le tri*isopropylsilyl* (TIPS), pour sa bonne stabilité dans différentes conditions réactionnelles.¹⁵⁸ La protection a été faite par ajout d'un excès de chlorure de tri*isopropylsilyl* sur 145, en présence d'un excès d'imidazole dans le dichlorométhane à température ambiante (Schéma 63).¹⁵⁹

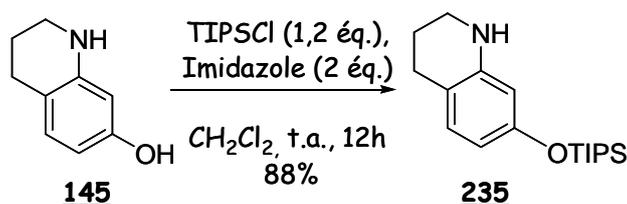


Schéma 63

La réaction est quantitative avec 2 équivalents de TIPSCl et 2 équivalents d'imidazole. Le produit 235 peut alors être utilisé sans purification pour l'étape suivante car la réaction est très propre.

Les carbamates et les amides font partie des meilleurs groupes pour orienter la lithiation en *ortho* d'une aniline.^{150,151} Dans notre cas, le carbamate retenu doit être résistant en conditions fortement basiques, en présence d'électrophiles mais également dans les conditions des réactions de Wittig et/ou du couplage de Stille. Nous avons donc retenu les groupements allyloxycarbone (Alloc), *tert*butoxycarbone (Boc) et pivaloyl (Piv). L'Alloc se déprotège en présence d'une source

¹⁵⁸ Greene, T. W. ; Wuts, P. G. dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, 1999, 273-276.

¹⁵⁹ Kondo, Y. ; Kojima, S. ; Sakamoto, T. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 6507-6511.

de Pd⁰,^{160,161} il ne pourra donc pas être utilisé dans les conditions du couplage de Stille. Le Boc se déprotège en milieu acide fort, mais est stable en présence de base ou de Pd⁰. Le groupement Piv est couramment utilisé dans les *ortholithiations* d'aniline.

Les dérivés *N*-Alloc et *N*-Piv ont été facilement préparés par réaction de 235 avec le chlorure d'acide correspondant, dans le dichlorométhane, en présence d'un léger excès de diisopropyléthylamine (Schéma 64).

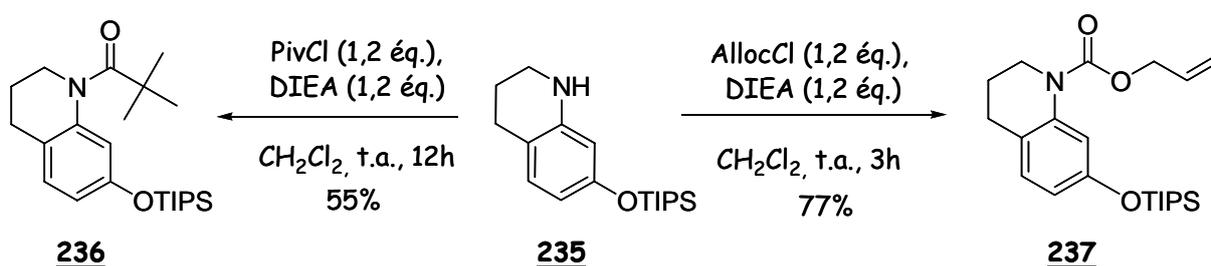


Schéma 64

Le dérivé *N*-Alloc 237 est obtenu avec un bon rendement de 77% et le composé *N*-Piv 236 avec un rendement moyen de 55%, qui pourrait sans doute être amélioré en augmentant les quantités de base et de chlorure d'acide.

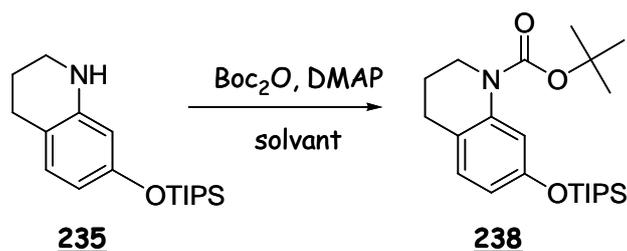
VI.3.2.2.2 - R¹ = Boc, R² = TIPS :

Nous avons tout d'abord tenté d'introduire le groupement Boc sur l'espèce *O*-silylée 235 par la méthode classique utilisant le carbonate de di-*tert*butyle en présence d'une quantité catalytique de DMAP (Tableau 10).¹²²

¹⁶⁰ Dangles, O. ; Guibe, F. ; Balavoine, G. ; Lavielle, S. ; Marquet, A. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 4984-4993.

¹⁶¹ Greene, T. W. ; Wuts, P. G. dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, 1999, 526-528.

Tableau 10 : protection du composé 235 par un Boc.



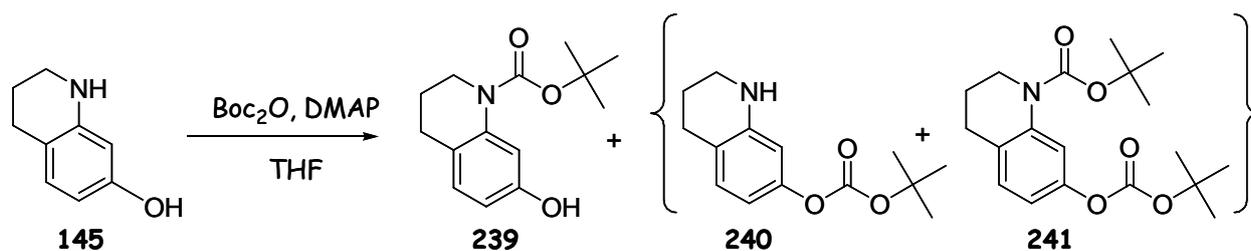
| Entrée | Conditions | Résultats | Commentaires |
|--------|--|---------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | Boc ₂ O (2 éq.), DMAP (0,2 éq.), CH ₂ Cl ₂ , t.a., 5h. | 238 (39%) | problèmes de purification. |
| 2 | DIEA (1,2 éq.), Boc ₂ O (2 éq.), DMAP (0,2 éq.), CH ₂ Cl ₂ , t.a., 12h. | pas de produit. | mélange complexe. |
| 3 | Boc ₂ O (10 éq.), DMAP (0,1 éq.), 1,4-dioxane, t.a., 18h. | 238 (minoritaire). | présence de 238 en SMasse + impureté. |
| 4 | 1- NaH (4 éq.), DMF, 0°C, 30 min 2- Boc ₂ O (5 éq.), DMAP (0,1 éq.), t.a., 6h. | 38% (238) + 239 (non isolé). | conditions trop basiques. |

*analyse par spectrométrie de masse par Electrospray (SMasse).

Ces conditions classiques Boc₂O/DMAP utilisées généralement avec succès, ont conduit à la formation du produit mais avec un faible rendement de 38% (entrée 1). Le mélange contient une impureté que nous n'avons pas pu identifier. L'ajout de 1,2 équivalents de diisopropyléthylamine conduit à un mélange complexe dans lequel 238 n'est pas présent (entrée 2). L'utilisation d'un large excès de Boc₂O dans le 1,4-dioxane s'est également révélée inefficace puisque seule une faible proportion de produit a pu être observée par spectrométrie de masse. Nous avons alors employé des conditions beaucoup plus fortes, en utilisant l'hydrure de sodium comme base, dans le DMF mais là encore seuls 38% de produit pur ont été obtenus. La formation d'un produit secondaire a été constatée, il s'agit du produit protégé sur l'amine mais désilylé au niveau de l'oxygène 239 (entrée 4). Vu le manque de réactivité observé, il est probable que la réaction d'addition de l'amine sur l'anhydride soit très lente au profit de la réaction secondaire de désilylation.

Nous avons émis l'hypothèse que le groupement triisopropylsilyle sur l'oxygène était trop encombrant et gênait l'approche de l'anhydride Boc₂O sur l'amine. Nous avons donc tenté d'introduire le Boc au départ du dérivé phénolique correspondant 145 (Tableau 11).

Tableau 11 : protection de la 7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 145 par un Boc.



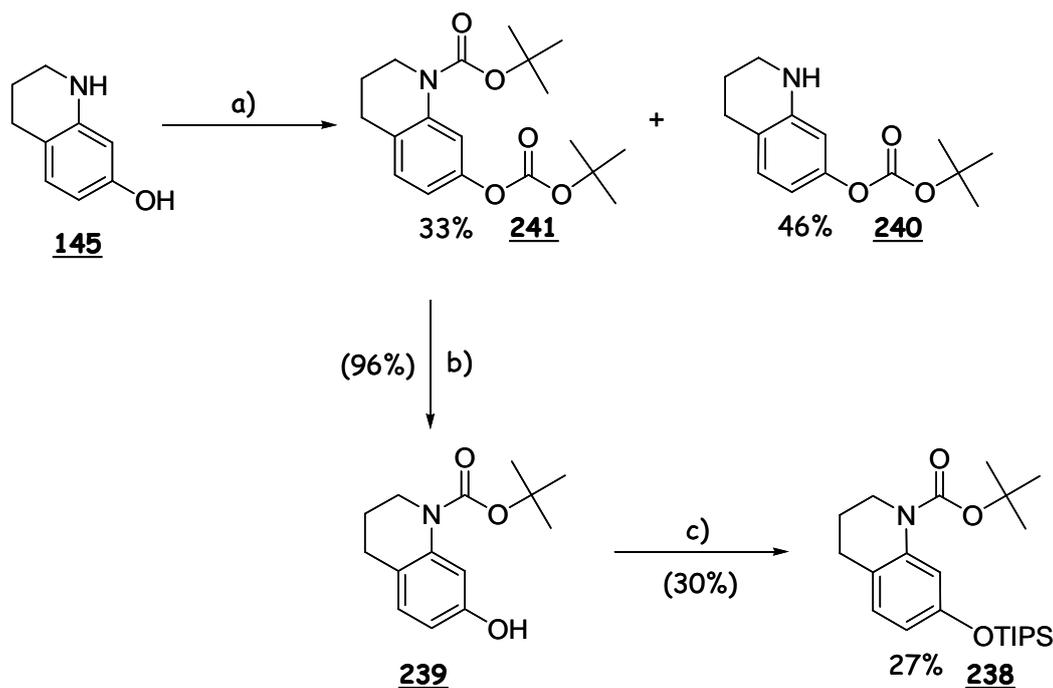
| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|--|---|
| 1 | Boc_2O (2 éq.), DMAP (0,5 éq.), THF, t.a., 5h puis 24h à 40°C. | mélange complexe : présence* de 239 ou 240. |
| 2 | Boc_2O (6 éq.), DMAP (0,1 éq.), THF, reflux, 15h. | 241 (31%) + impuretés. |

*analyse par spectrométrie de masse par Electrospray.

Nous avons constaté que même en chauffant dans le THF à 40°C pendant 24h,^{151,159} un mélange complexe était obtenu. Un nouveau produit se forme cependant, mais est largement minoritaire : par spectrométrie de masse, il ne nous a pas été possible de distinguer s'il s'agissait de 239 ou de 240 (entrée 1). L'augmentation de la quantité de Boc_2O conduit à la formation du produit 241, protégé à la fois sur la fonction phénol et sur la fonction amine (entrée 2). Il est obtenu avec un rendement de 31% accompagné, comme précédemment, d'une impureté difficile à éliminer. Il semble que la fonction phénol soit plus réactive que l'amine et se protège plus facilement que cette dernière.

Nous avons alors repris les travaux de Beavers *et al.*¹⁶² qui ont déposé un brevet sur la synthèse de dérivés quinoléines à usage thérapeutique en tant qu'antagonistes du récepteur H3 de l'histamine. Ils ont notamment synthétisé la *N*-*tert*butoxycarbonyl-7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 239 en deux étapes avec un rendement global de 49% : tout d'abord la protection simultanée des deux fonctions phénol et amine puis la monodéprotection sélective du phénol. Nous avons donc reproduit ces conditions (Schéma 65) : une plus grande quantité de Boc_2O est utilisée et le mélange est porté immédiatement au reflux. Après 12h, il est nécessaire de rajouter des réactifs, probablement pour forcer la réaction, cependant le milieu réactionnel est ensuite laissé à température ambiante. Nous n'avons obtenu dans ces conditions que 21% de produit 241 contre 57% décrit. En laissant la réaction au reflux après le deuxième ajout de Boc_2O , le rendement a pu être porté à 33%.

¹⁶² Beavers, L. S. ; Finley, D. R. ; Gadski, R. A. ; Hipskind, P. A. ; Jesudason, C. D. ; Pickard, R. T. ; Stevens, F. C. ; Eli Lilly and Company, USA; Brevet : WO 2004/026837, 2004, 88 pp.



a) Boc_2O (6 équ.), DMAP (0,1 équ.), THF, reflux, 16h puis + Boc_2O (3 équ.), DMAP (0,1 équ.), reflux, 28h ; b) K_2CO_3 (2 équ.), MeOH, t.a., 15h ; c) TIPSCl (1,2 équ.), imidazole (2 équ.), CH_2Cl_2 , t.a., 12h.

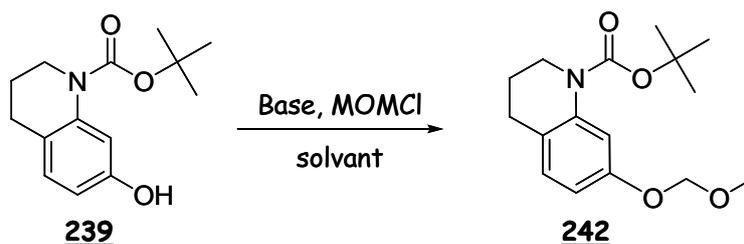
Schéma 65

La fonction phénol est ensuite déprotégée sélectivement par deux équivalents de carbonate de potassium dans le méthanol. Le produit 239 est obtenu avec un rendement brut de 96%. C'est un solide blanc qui est suffisamment propre pour être engagé tel quel dans l'étape de protection suivante (Lit.¹⁶² : 86% après colonne). Celle-ci a été réalisée dans les conditions classiques, à savoir un léger excès de chlorure de triisopropylsilane en présence d'imidazole dans le dichlorométhane. Nous avons été surpris de n'obtenir le produit silylé 238 qu'avec un faible rendement (30% soit 27% au départ de 145) ; cependant, 58% de produit de départ 239 sont récupérés. Nous rencontrons de toute évidence le même problème que lors de nos premiers essais d'introduction du Boc : ici c'est le groupe Boc qui ralentit la réaction avec un agent de silylation volumineux. Nous n'avons pas cherché à améliorer ce rendement, car nous disposions d'assez de produit pour nos essais.

VI.3.2.2.3 - $R^1 = \text{Boc}$, $R^2 = \text{MOM}$:

Le groupe méthoxyméthyle (MOM) est connu pour sa forte capacité à favoriser l'*ortho*lithiation.^{152,152} C'est également un groupe protecteur des phénols et des alcools fréquemment utilisé. L'introduction du groupe MOM a été réalisée sur le composé 239 (Tableau 12).

Tableau 12 : introduction du groupement méthoxyméthyle sur le phénol 239.^{163,164,165}



| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|--|------------|
| 1 | K ₂ CO ₃ (2 éq.), NaI (0,6 éq.), acétone, MOMCl (1,2 éq.), t.a., 2h. | 239. |
| 2 | 1- NaH (1 éq.), DMF, 0°C, 30 min, 2- MOMCl (1,1 éq.), 30 min à 0°C. | 36% (242). |
| 3 | 1- NaH (2 éq.), THF, 0°C, 30 min, 2- MOMCl (1,2 éq.), 30 min à 0°C puis 14h à t.a. | 81% (242). |

Les premières conditions employées sont celles utilisées classiquement pour la protection des phénols (entrée 1). Elles semblent cependant trop douces car le produit de départ 239 est récupéré en totalité. Nous avons alors eu recours à une base plus forte dans un solvant plus dissociant, NaH dans le DMF (entrée 2) : le produit 242 est alors obtenu avec un rendement de 36%. Toutefois, le rendement est meilleur lorsque la réaction est effectuée dans le THF durant toute une nuit (81%).

VI.3.2.2.4 - Récapitulatif :

A ce stade, nous disposons donc de 4 composés présentant les groupes *orthodirecteurs* désirés (Figure 50) :

¹⁶³ Marsilje, T. H. ; Milkiewicz, K. L. ; Hangauer, D. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000, 10, 477-481.

¹⁶⁴ Skowronska-Ptasinska, M. ; Verboom, W. ; Reinhoudt, D. N. *J. Org. Chem.* 1985, 50, 2690-2698.

¹⁶⁵ Hillis, L. R. ; Gould, S. J. *J. Org. Chem.* 1985, 50, 718-719.

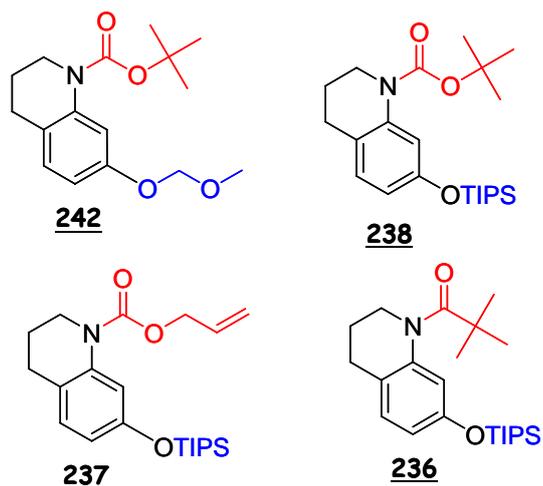
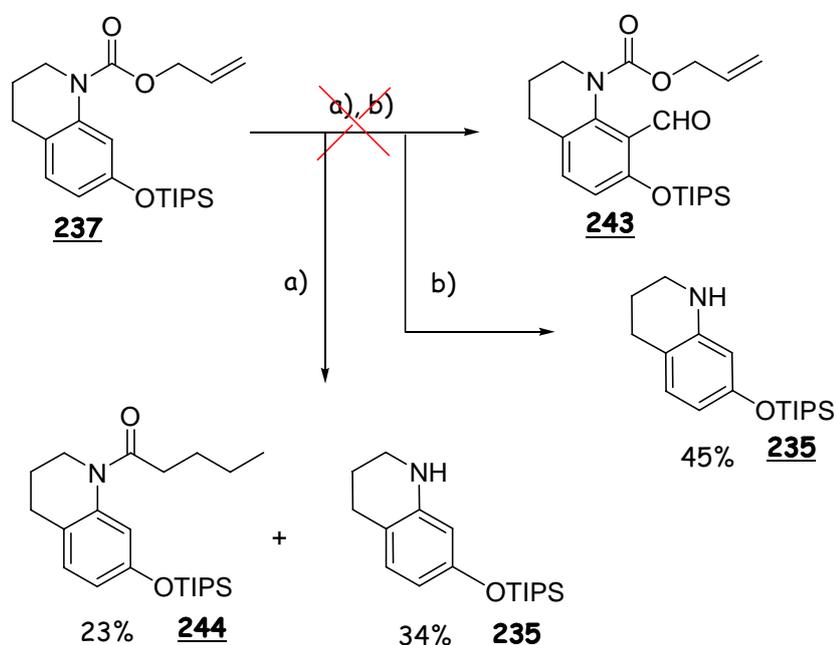


Figure 50

VI.3.2.3 - Essais d'ortholithiation sur 237 (N-Alloc/O-TIPS)

Le premier substrat que nous avons étudié est le produit *N*-Alloc/*O*-TIPS 237 (Schéma 66). Celui-ci a été traité par un excès de *n*-butyllithium dans le THF à -78°C puis le mélange a été porté à -20°C avant d'ajouter l'électrophile. Nous avons choisi le DMF pour permettre l'introduction d'une fonction aldéhyde.



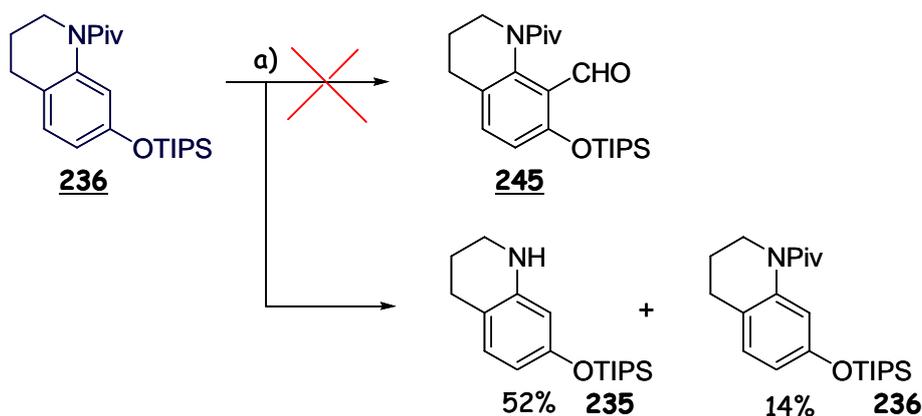
a) 1 - *n*BuLi (2,2 éq.), THF, -78°C, 2h ; 2 - DMF (1,1 éq.), 1h à -20°C puis t.a., 12h ;
 b) 1- *t*BuLi (2 éq.), THF, -78°C, 1h ; 2 - DMF (1 éq.), 30 min à -78°C puis t.a., 24h.

Schéma 66

Les premières conditions n'ont pas conduit au produit attendu 243. Un nouveau produit se forme : il s'agit du composé 244 (23%) qui résulte de l'addition du *n*-butyllithium sur le carbonyle du groupement Alloc. L'amine 235 est également récupérée à 34%. Nous avons donc utilisé une base moins nucléophile, le *t*-BuLi. Dans ce cas, seule la tétrahydroquinoléine 235 est récupérée à hauteur de 45%. La réaction d'addition de la base sur le groupement protecteur a été évitée mais nous avons tout de même observé son clivage. Visiblement, le groupe Alloc n'est pas un bon groupe protecteur pour la réaction d'*ortho*lithiation : il n'est pas assez résistant en présence des bases alkylolithiées.

VI.3.2.4 - Essais d'*ortho*lithiation sur 236 (*N*-Piv/*O*-TIPS)

Dans un deuxième temps, la réaction a été effectuée sur le produit *N*-Piv/*O*-TIPS 236 (Schéma 67).



a) 1 - *n*-BuLi (2 équ.), THF, -78°C, 2h ; 2- DMF (1,1 équ.), -78°C puis t.a., 12h

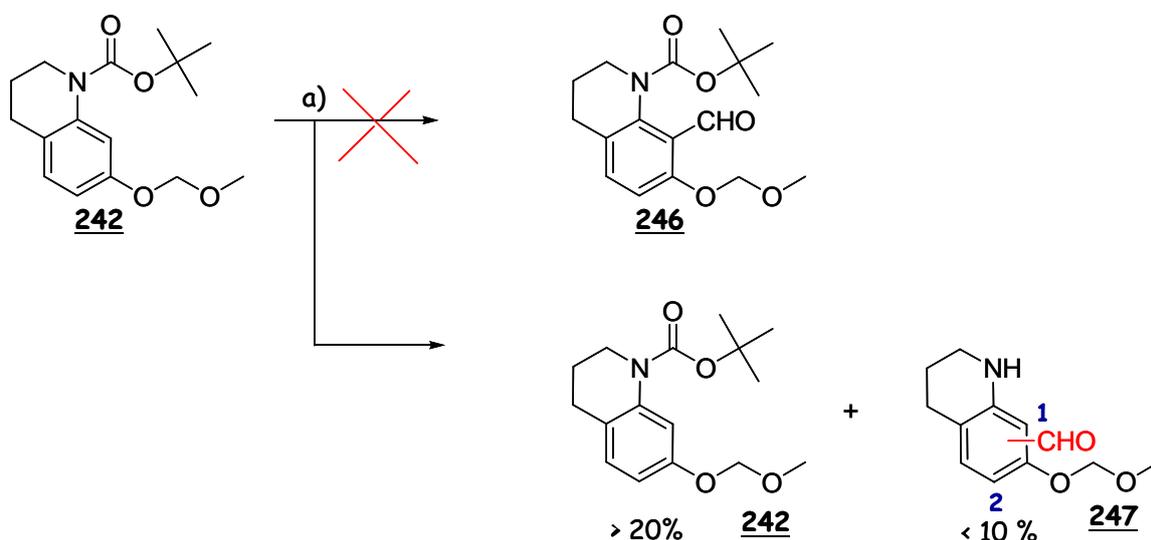
Schéma 67

L'essai d'*ortho*lithiation a été effectué dans les mêmes conditions que précédemment, deux équivalents de *n*-butyllithium ont été additionnés sur 236 à -78°C. Au bout d'une heure, 1 équivalent de DMF est ajouté. Après 12h à température ambiante, le produit obtenu 235 (52%) a perdu le groupement pivaloyle et 14% de produit de départ 236 sont également récupérés. En revanche, aucune trace du composé désiré 245 n'est observée.

La conclusion de ces résultats est que le groupe TIPS est trop encombrant et empêche l'approche soit de l'organolithien, soit de l'électrophile sur la position *ortho*. Nous n'avons donc rien tenté sur le composé *N*-Boc/*O*-TIPS 238 et nous sommes passés au dérivé *N*-Boc/*O*-MOM 242, qui porte un groupe moins volumineux sur l'oxygène du phénol.

VI.3.2.5 - Essais d'ortholithiation sur 242 (*N*-Boc/*O*-MOM)

Dans les conditions utilisées pour les autres dérivés, le produit désiré 246 n'est pas obtenu (Schéma 68). La purification par chromatographie permet d'isoler 20% du produit de départ 242 dans une première fraction ainsi qu'une deuxième contenant un mélange de 242 et d'un nouveau produit.



a) 1 - *n*BuLi (2 éq.), THF, -78°C, 1h ; 2 - DMF (1,3 éq.), 30 min à -78°C puis 20h à t.a.

Schéma 68

D'après les analyses par RMN et spectrométrie de masse, le nouveau produit possède la structure 247 :

➤ le spectre de masse montre la présence de 2 produits différents à $m/z = 316,4$ ($[M+H]^+$: 242) et $222,4$ ($[M+H]^+$: 247).

➤ le spectre RMN 1H du mélange présente un signal à 10,37 ppm caractéristique du proton de l'aldéhyde et seulement deux nouveaux protons aromatiques. Cependant, un seul singulet intégrant pour 9 hydrogènes est observé à 1,53 ppm, correspondant au groupe *tert*butyle de 242. Un singulet large à 9,03 ppm atteste la présence du NH libre. Enfin, il est vraisemblable que le

groupe -CHO ait été introduit sur la position 1 (247 - Schéma 68), du fait de la présence du proton aromatique en 2, sous forme d'un doublet au lieu d'un doublet de doublets si le groupe avait été introduit en position 1. Le signal du deuxième proton aromatique n'est pas assez bien résolu pour permettre de voir sa multiplicité. Pour être sûrs de cette dernière information, il aurait cependant fallu pouvoir séparer les deux constituants de ce mélange.

Ainsi, ces premiers essais d'*ortholithiation* dans des conditions assez simples laissent penser que la réaction est très lente. Ce manque de réactivité pourrait également signifier que la formation de la fonction vinyle par la suite sera elle aussi délicate. Devant ce grand nombre d'incertitudes et sans réelle garantie de succès de cette voie, nous avons décidé d'orienter nos efforts vers la voie C.

VI.4 - Voie C : acylation intramoléculaire de Friedel-Crafts

VI.4.1 - Schéma de synthèse

Au cours du chapitre 4, nous avons décrit les efforts entrepris par le groupe de Bass^{62,63} pour synthétiser des dérivés pyridoquinoléinones (cf. IV.2.2.1 - Schéma 5). Une de leur stratégie consistait à coupler un dérivé 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine avec un β -chlorocétoester puis à le cycliser pour former le dérivé pyridoquinoléine-5,7-dione correspondant. Nous avons appliqué cette méthode à la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 (Schéma 69) : après la condensation avec le chlorure d'éthylmalonyle 248 pour former le composé 249, ce dernier a été cyclisé en présence d'acide polyphosphorique pour donner le composé 122. Deux voies de réduction de la fonction cétone ont été explorées : (1) *via* la réduction de la tosylhydrazone correspondante 250 et (2) au moyen d'un couplage de Stille entre l'hydrure de tributylétain et le triflate 251. Enfin, la réduction de la double liaison du composé 161 nous a donné accès au composé 123.

Nous avons également tenté de développer une voie alternative pour éviter l'utilisation du groupe méthyle comme protection de la fonction phénol.

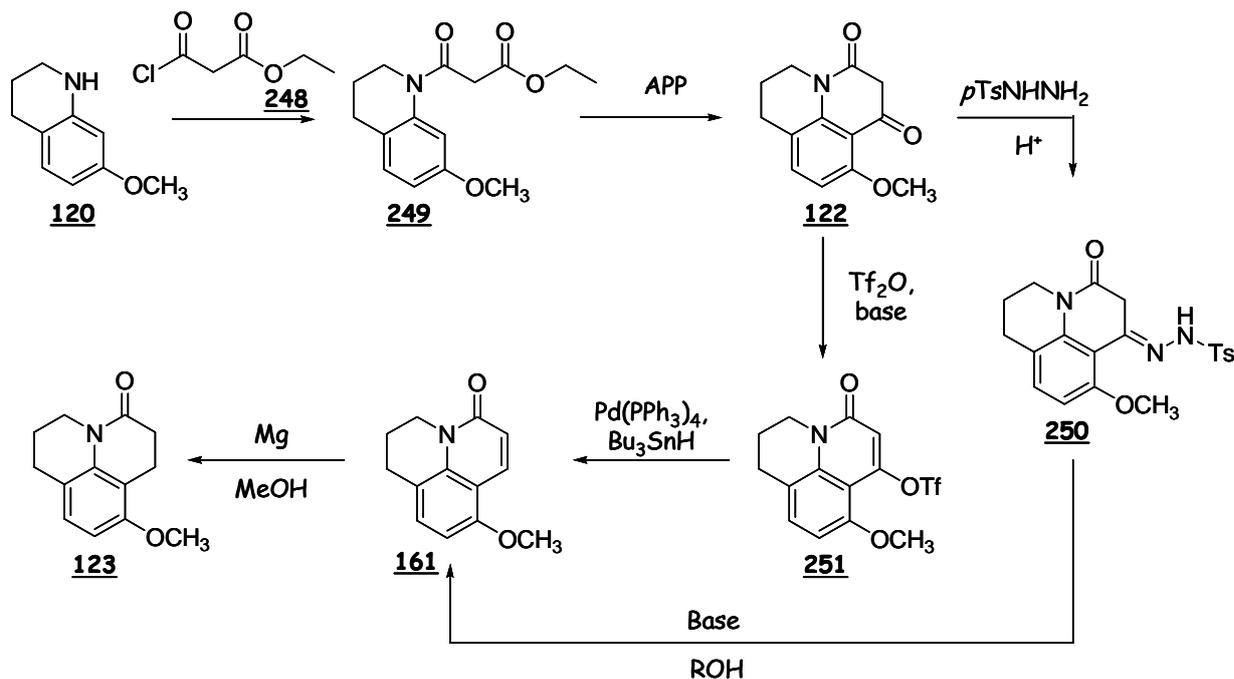


Schéma 69

VI.4.2 - Synthèse du composé 122

Le précurseur nécessaire à la cyclisation 249, est synthétisé par condensation de la tétrahydroquinoléine 120 avec un léger excès de chlorure d'éthylmalonyle, en présence de diisopropyléthylamine comme base (Schéma 70). Le produit de départ est entièrement consommé. Le produit 249 (86%) a été purifié et caractérisé. Par la suite, il a généralement été utilisé sans purification dans l'étape suivante.

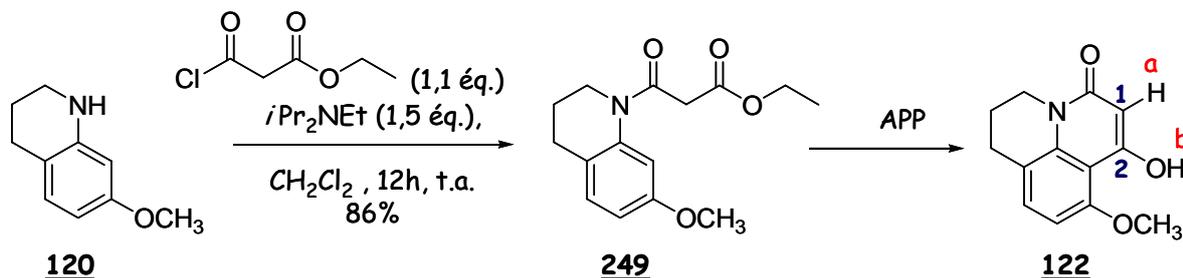


Schéma 70

Pour la cyclisation, nous avons eu recours à l'acide polyphosphorique (Schéma 70 - Tableau 13). Nous nous sommes basés sur l'expérience acquise lors de la synthèse de la 7-méthoxy-1,2,3,4-

tétrahydroquinoléine 120 (cf. chapitre 5 - V.3.1.2.1-), mais dans ce cas-ci, nous avons rencontré beaucoup moins de problèmes au niveau du traitement et de la reproductibilité.

Le produit isolé 122 est sous sa forme tautomère conjuguée (Schéma 70). Ceci est confirmé par la présence, en RMN du proton, d'un singulet à 6,04 ppm pour le proton éthylénique (a) en α de l'amide et d'un singulet à 9,63 ppm pour le proton (b) de la fonction émol. Nous avons également réalisé un spectre ^{13}C J_{mod} , afin de différencier sans ambiguïté les carbones primaires des secondaires, tertiaires et quaternaires : le carbone (1) apparaît nettement comme un -CH- à 99,9 ppm et le carbone quaternaire (2) possède un déplacement caractéristique d'une fonction émol à 163,6 ppm (dans le chloroforme deutéré).

Tableau 13 : conditions de cyclisation de 249 avec l'acide polyphosphorique.

| Entrée | Masse ₍₂₄₉₎ | Masse _{APP} | Conditions | Traitement | Rendement (122) |
|--------|------------------------|----------------------|-------------------------------------|---|-----------------|
| 1 | 0,4 g | 1,8 g | 120°C, 2h. | Na ₂ CO ₃ aq. sat., extractions au CH ₂ Cl ₂ . | 46% |
| 2 | 5,6 g | 26 g | 120°C, 2h. | Na ₂ CO ₃ aq. sat. extractions au CH ₂ Cl ₂ . | 45% |
| 3 | 2,9 g | 7,3 g | 120°C, 2h. | NH ₄ OH aq., extractions au CH ₂ Cl ₂ . | 63% |
| 4 | 5,5 g | 27 g | 60°C, 30 min puis 100°C, 30 min. | NH ₄ OH aq., extractions au CH ₂ Cl ₂ . | 46% |
| 5 | 5,0 g | 31 g | 120°C, 1h. | NH ₄ OH aq., extractions au CH ₂ Cl ₂ . | 56-79% |

Dans l'ensemble, les variations de conditions que nous avons apportées n'ont pas eu d'effet notable sur le rendement qui est de 45% en moyenne (entrées 1 à 4). Le temps de réaction a pu être optimisé et réduit de 2h à 1h, avec un rendement variant entre 56 et 79% (entrée 5).

VI.4.3 - Réduction de 122 en 123

Cette étape consiste à réduire la fonction émol du composé 122 en un groupe méthylène (Schéma 71).

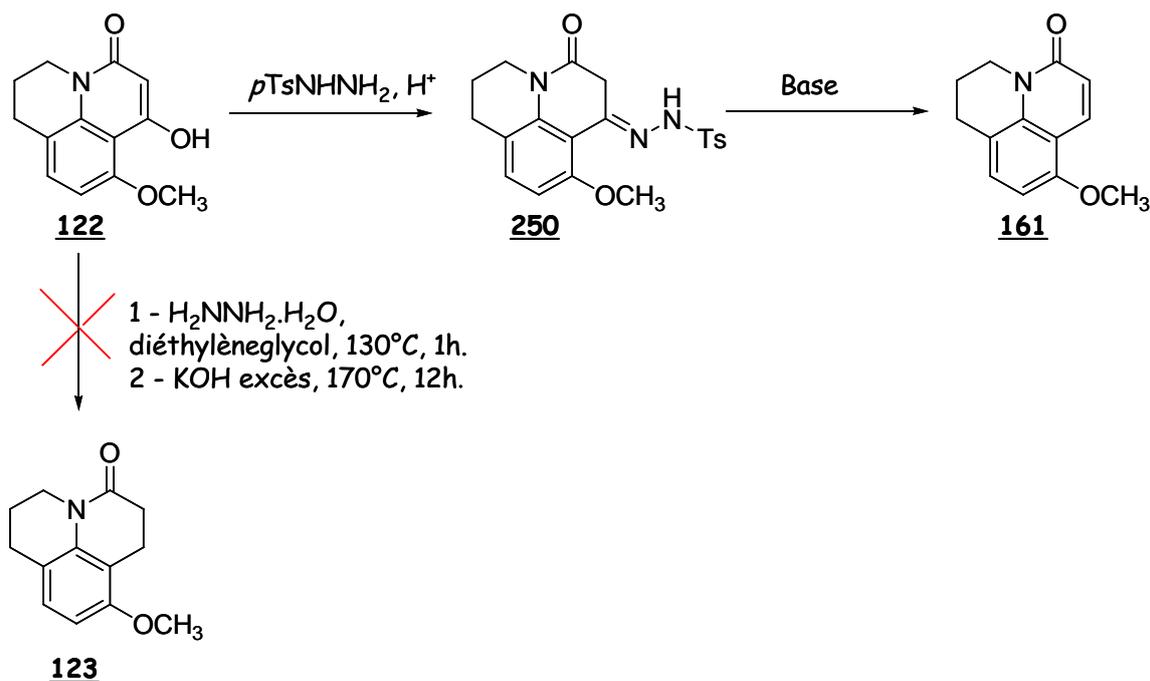


Schéma 71

VI.4.3.1 - Par la méthode de Wolff-Kishner

Dans un premier temps, nous avons tenté une réduction de type Wolff-Kishner selon la procédure que nous avons utilisée pour réduire la 7-méthoxy-2,3-dihydroquinoléin-4-one 185 (cf. V.3.1.3-). Nous n'avons ni obtenu le produit désiré 123, ni même récupéré le produit de départ (Schéma 71).

VI.4.3.2 - Réaction de Shapiro

Suite à l'échec de la méthode précédente, nous avons décidé d'effectuer une réaction de Shapiro sur la tosylhydrazone 250 dérivée du tautomère cétonique de 122 : cette transformation correspondrait à une réduction de la fonction énol en l'oléfine 161 (Schéma 71). Afin de former la tosylhydrazone 250, le composé 122 a été mis en présence de *p*-toluènesulfonylhydrazine en présence d'un acide, dans les conditions décrites ci-après (Tableau 14).

Tableau 14 : formation de la tosylhydrazone 250.

| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|--|--------------------------|
| 1 | p TsNHNH ₂ , (1,2 éq.), MeOH, 65°C, 7h ; + p TsNHNH ₂ (1,1 éq.), 65°C, 14h ; + p TsNHNH ₂ (1,1 éq.), 65°C, 20h. | 122. |
| 2 | p TsNHNH ₂ (1,5 éq.), TfOH _{cat.} , toluène, t.a., 22h. | 250 < 2%. |
| 3 | p TsNHNH ₂ (1,5 éq.), H ₂ SO _{4 cat.} , toluène/MeOH, reflux, 5 jours. | 250 : 45%. 122 : 40%. |
| 4 | p TsNHNH ₂ (2 éq.), EtOH, TfOH (1,2éq.), t.a. puis reflux, 27h ; + p TsNHNH ₂ (1 éq.), 24h, reflux. | 250 : 27%. |
| 5 | p TsNHNH ₂ (2,2 éq.), H ₂ SO _{4 cat.} , 15h, toluène, reflux. | 250 : 47%. |
| 6 | p TsNHNH ₂ (2 éq.), H ₂ SO _{4 cat.} , toluène, reflux, 18h (Deanstark). | 250 : 53%. 122 : 39%. |

Dans tous les cas, la réaction est incomplète. Dans la mesure où ni la tosylhydrazine, ni le produit de la réaction 250 ne sont bien solubles dans le toluène, nous avons ajouté du méthanol au mélange ou même réalisé la réaction dans l'éthanol (entrées 3 et 4). Le meilleur résultat que nous ayons obtenu dans un premier temps est celui de l'entrée 3 mais, même après 5 jours, la réaction n'évolue plus. Nous avons pensé que le produit 250, plus basique que la tosylhydrazine et que 122, consommait l'acide introduit : nous avons donc utilisé celui-ci en excès mais sans succès (entrée 4). Finalement, l'utilisation d'une quantité catalytique d'acide sulfurique dans le toluène, avec un montage de Dean-Stark, permet de former 250 avec un rendement de 53%. Le produit de départ non consommé 122 est également récupéré (entrée 6).

Comme prévu, le produit 250 est sous la forme tautomère 250b de la tosylhydrazone 250a (Figure 51). En effet, le spectre RMN ¹H comporte trois singulets à 5,98 ppm (a), 8,30 ppm (c) et 9,63 ppm (b) et le spectre ¹³C montre également le signal du CH (2) à 92,9 ppm, celui du carbone de la liaison =C-N (3) à 152,0 ppm et celui du C=O (1) à 161,1 ppm (dans le DMSO deutéré).

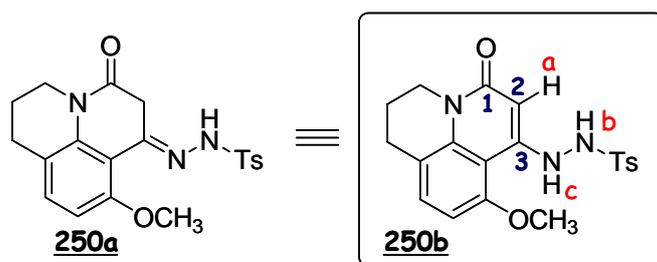


Figure 51

Le composé 250 a ensuite été traité dans les conditions de Shapiro à savoir l'addition de *n*-butyllithium pour donner un anion qui, après élimination de phénylesulfinate et de diazote, donne un anion vinylique qui est ensuite protoné par de l'eau pour fournir l'alcène correspondant (Schéma 71 - Tableau 15).¹⁶⁶

Tableau 15 : conditions de Shapiro sur le composé 250.

| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|---|------------|
| 1 | 1- <i>n</i> -BuLi (2,4 éq.), THF, 0 °C puis 1h à t.a.; 2- H ₂ O. | 250. |
| 2 | NaOH (2,6 éq.), MeOH, 2h à t.a. puis 4h à 70 °C ; + NaOH (2,6 éq.), 12h à 70 °C (C=0,08M). | 161 (58%). |
| 3 | <i>t</i> BuOK (2,2 éq.), MeOH/ <i>t</i> BuOH _{cat.} , 9h à t.a. ; + 2,2 éq. <i>t</i> BuOK, 48h à 70 °C. | 161 (70%). |
| 4 | <i>t</i> BuOK (4 éq.), MeOH/ <i>t</i> BuOH _{cat.} , 43h à 65 °C. (C = 0,07M). | 161 (9%). |
| 5 | <i>t</i> BuOK (4 éq.), MeOH/ <i>t</i> BuOH _{cat.} , 26h à 65 °C. (C = 0,2M). | 161 (21%). |

Il n'y a pas eu réaction dans les conditions classiques de Shapiro (entrée 1). Il est possible que ce soit le cycle aromatique du groupement tosylé qui ait été déprotoné à la place de la tosylhydrazone.¹⁶⁷ Pour éviter ce problème, nous avons eu recours à des bases fortes non lithiées dans un solvant protique (conditions de Bamford-Stevens).¹⁶⁸ La réaction est cependant assez lente et l'ajout de base doit être renouvelé au cours de la réaction afin de forcer les conditions (entrée 2). Le *tert*butanolate de potassium nous a donné un bon rendement mais ces conditions ne se sont pas révélées reproductibles (entrées 3 à 5).

L'étape de déprotonation se fait sur la forme 250a qui n'est pas la forme prépondérante : il se pourrait donc que la prédominance de la forme 250b ralentisse cette étape. C'est pourquoi avons envisagé une autre méthode.

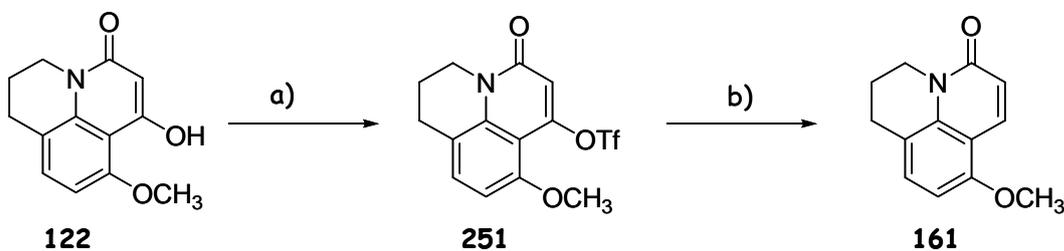
¹⁶⁶ Adlington, R. M. ; Barrett, A. G. M. *Acc. Chem. Res.* 1983, 16, 55-59.

¹⁶⁷ Chamberlin, A. R. ; Stemke, J. E. ; Bond, F. T. *J. Org. Chem.* 1978, 43, 147-154.

¹⁶⁸ Bamford, W. R. ; Stevens, T. S. *J. Chem. Soc.* 1952, 4735-4740.

VI.4.3.3 - Via le triflate 251

Une autre façon de former le dérivé 161 serait d'effectuer un couplage de Stille entre le triflate 251 dérivé de 122 et l'hydruure de tributylétain¹⁶⁹ (Schéma 72).



- a) DTBMP (1,1 éq.), Tf₂O (1,1 éq.), CH₂Cl₂, t.a., 4h, 59% ou LDA (1,2 éq.), THF, -78°C, 10 min puis PhNTf₂ (1,2 éq.), -78°C à t.a. puis 12h à t.a., 61% ;
b) LiCl (3 éq.), Pd(PPh₃)₄ 4 % mol, THF puis Bu₃SnH (2 éq.), addition lente, 70°C, 3h, 60%.

Schéma 72

Le triflate 251 a été synthétisé en traitant l'énol 122 par un léger excès d'anhydride triflique Tf₂O, en présence de di-*tert*butylméthylpyridine, dans le dichlorométhane.¹⁷⁰ Le produit est obtenu avec un rendement de 59%. Pour éviter l'anhydride triflique, il est possible d'utiliser le *N*-phényltrifluorométhanésulfonylimide (PhNTf₂), qui est un réactif cristallin très facile à utiliser et surtout beaucoup moins corrosif.¹⁷¹ Le produit de départ est alors traité par un léger excès de di-*isopropyl*amidure de lithium (LDA) dans le THF à -78°C puis par ce réactif. Le rendement est également de 61%.

Le triflate 251 est ensuite mis en présence d'une quantité catalytique de palladium tétrakis(triphénylphosphine) et de chlorure de lithium.^{172,173} L'addition lente d'hydruure de tributylétain permet d'obtenir l'alcène 161 avec un bon rendement de 62%.

¹⁶⁹ Scott, W. J. ; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* 1986, 108, 3033-3040.

¹⁷⁰ Butera, J. ; Bagli, J. ; Doubleday, W. ; Humber, L. ; Treasurywala, A. ; Loughney, D. ; Sestanjan, K. ; Millen, J. ; Sredy, J. *J. Med. Chem.* 1989, 32, 757-765.

¹⁷¹ Chung, C. W. Y. ; Toy, P. H. *Tetrahedron* 2005, 61, 709-715.

¹⁷² Bannasar, M. L. ; Jimenez, J. -M. ; Vidal, B. ; Sufi, B. A. ; Bosch, J. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 9605-9612.

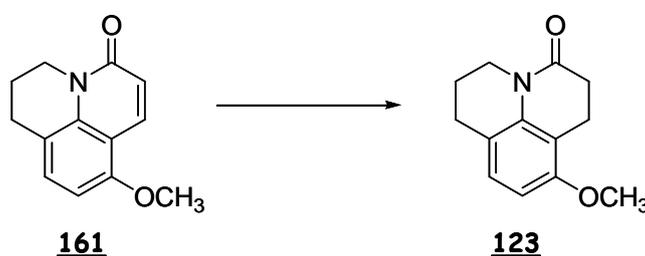
¹⁷³ Stagliano, K. W. ; Malinakova, H. C. *J. Org. Chem.* 1999, 64, 8034-8040.

Les deux méthodes fournissent le composé 161 avec des rendements comparables (environ 37% sur deux étapes). Nous préférons cependant la voie par le triflate qui est plus reproductible que celle utilisant la réaction de Shapiro.

VI.4.3.4 - Réduction de la double liaison du dérivé 161

La dernière transformation à effectuer pour obtenir le squelette tricyclique 123 était la réduction de la double liaison du lactame α,β -insaturé 161. Il existe de nombreuses méthodes pour ce faire.¹⁷⁴ Celles que nous avons tentées sont résumées dans le tableau 16.

Tableau 16 : réduction de la double liaison de 161.



| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|---|---------------|
| 1 | Pd/C (10% massique), H ₂ , MeOH/DMF, 24h à t.a. | 161. |
| 2 | Pd/C (10% massique), H ₂ , AcOH _{cat.} , EtOH, 17h à t.a. | 161. |
| 3 | Mg (10 éq.), MeOH, 30 min aux ultrasons, t.a., puis 4h à t.a. | 123 (48%). |
| 4 | Mg (10 éq.), MeOH, 1h aux ultrasons, t.a. puis 12h à t.a. | 123 (51-71%). |

Nous avons dans un premier temps tenté d'hydrogéner la double liaison (entrée 1) mais sans succès, même en rajoutant un catalyseur acide (entrée 2). En revanche, l'utilisation de magnésium métallique dans le méthanol a été un succès.¹⁷⁵ Le magnésium est utilisé en large excès, de préférence broyé sous forme de poudre. Le métal est activé préalablement aux ultrasons jusqu'à l'obtention d'un précipité noir persistant. Le produit 123 est obtenu avec un rendement qui varie entre 51% et 71% et le produit de départ non consommé peut être récupéré.

¹⁷⁴ Larock, R. C. dans *Comprehensive Organic Transformations : A Guide to Functional Group Preparations*, Second Edition, Wiley-VCH, 1999, 23-26.

¹⁷⁵ a) Brettle, R. ; Shibib, S. M. *Tetrahedron Lett.* 1980, 21, 2915-2916; b) Brettle, R. ; Shibib, S. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1981, 2912-2919; c) Ainscow, R. B. ; Brettle, R. ; Shibib, S. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* 1985, 1781-1786.

VI.4.4 - Synthèse de 122 avec TIPS comme groupe protecteur

VI.4.4.1 - Introduction

Suite aux difficultés rencontrées ultérieurement, lors du clivage de l'éther méthylique du phénol, nous avons été amenés à appliquer la séquence réactionnelle précédemment décrite à la préparation du dérivé TIPS correspondant. Nous sommes partis pour cela de la 7-triisopropylsilyloxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 235 dont nous disposions déjà (cf. VI.3.2.2.1-).

VI.4.4.2 - Résultats

Les conditions mises au point pour le dérivé méthoxy 120 ont été appliquées au dérivé 235 (Schéma 73). Le chlorure d'éthylmalonyle est tout d'abord additionné sur l'amine, en présence de diisopropyléthylamine dans le dichlorométhane. Le produit brut est ensuite engagé sans purification supplémentaire dans l'étape de cyclisation.

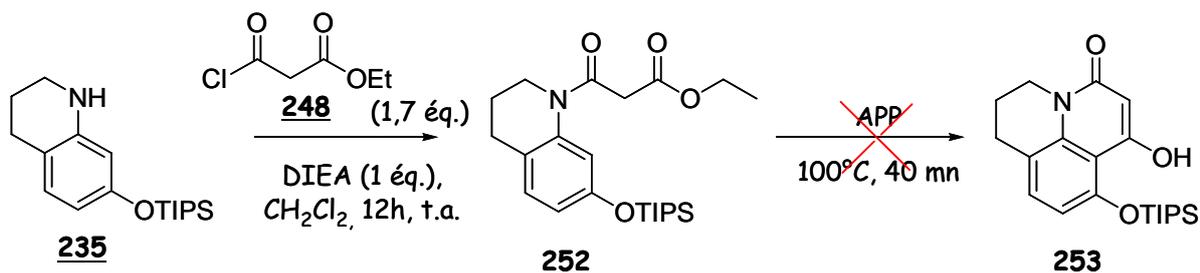


Schéma 73

Seulement 5% de produit de départ 235 ont été récupérés auxquels il faut ajouter 5% du phénol correspondant 145. Aucun autre produit n'a pu être isolé : il reste un produit dans la phase aqueuse (visible sous rayonnement UV, sur CCM) mais il ne correspond pas au produit de départ. Nous avons tenté plusieurs solvants d'extraction, à des pH différents mais sans succès. L'évaporation de la phase aqueuse n'a rien donné non plus, probablement à cause de l'abondance des sels dérivés de l'acide polyphosphorique dont le produit n'a pas pu être séparé.

VI.5 - Conclusion

A ce stade, nous disposons d'une synthèse moyennement efficace de 123 au départ de la 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 (Schéma 74). La synthèse comporte cinq étapes mais le rendement moyen global n'est que de 12%. Dans un premier temps, ceci nous a paru suffisant et nous nous sommes consacrés aux étapes finales susceptibles de conduire aux produits recherchés pour les tests biologiques. Cette voie de synthèse comporte également l'avantage de pouvoir être réalisée assez facilement à grande échelle et elle donne accès rapidement à quatre intermédiaires-clé 122, 251, 161 et 123 : ces dérivés possèdent en effet des fonctionnalités intéressantes pour introduire par la suite de la diversité structurale.

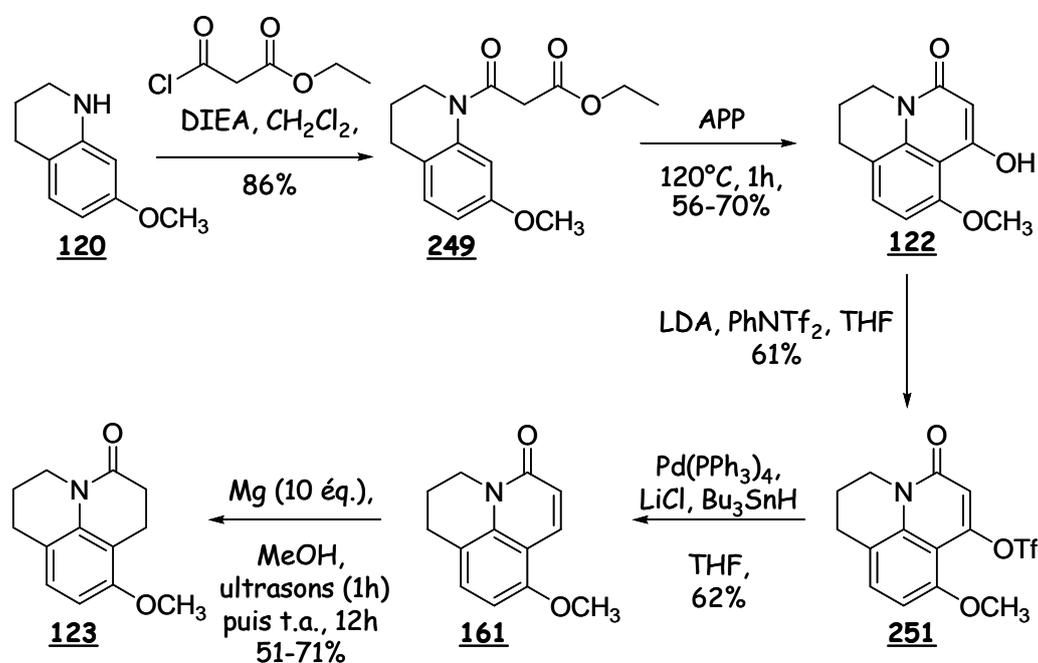


Schéma 74

Nous disposons à présent du squelette pyridoquinoléine 123 sur lequel nous allons pouvoir réaliser les différents aménagements fonctionnels initialement prévus. C'est ce que nous verrons au cours du chapitre 7.

CHAPITRE 7

INTRODUCTION DES SUBSTITUANTS AROMATIQUES

VII.1 - Introduction

Disposant des composés tricycliques **122** et **123** (Schéma 74), il nous restait à (1) introduire un groupement (hétéro)aromatique en α de la fonction amide et (2) greffer une chaîne de type $-(CH_2)_2CO_2R$ sur la fonction phénol.

L'introduction de substituants benzyles ne devrait pas poser de problèmes. Ils pourraient facilement être ajoutés par α -alkylation du lactame **122** (ou **123**) (Schéma 75 - Voie A). Pour l'introduction d'un groupe (hétéro)aryle en α de l'amide, nous avons tout d'abord envisagé de réaliser un couplage de Suzuki entre un dérivé *N,O*-acétal de cétène silylé comme **256** (ou **257**) et un acide arylboronique (Voie B). Une autre possibilité était une réaction d'arylation en α de l'amide par un dérivé aromatique bromé, en présence de palladium (Voie C).

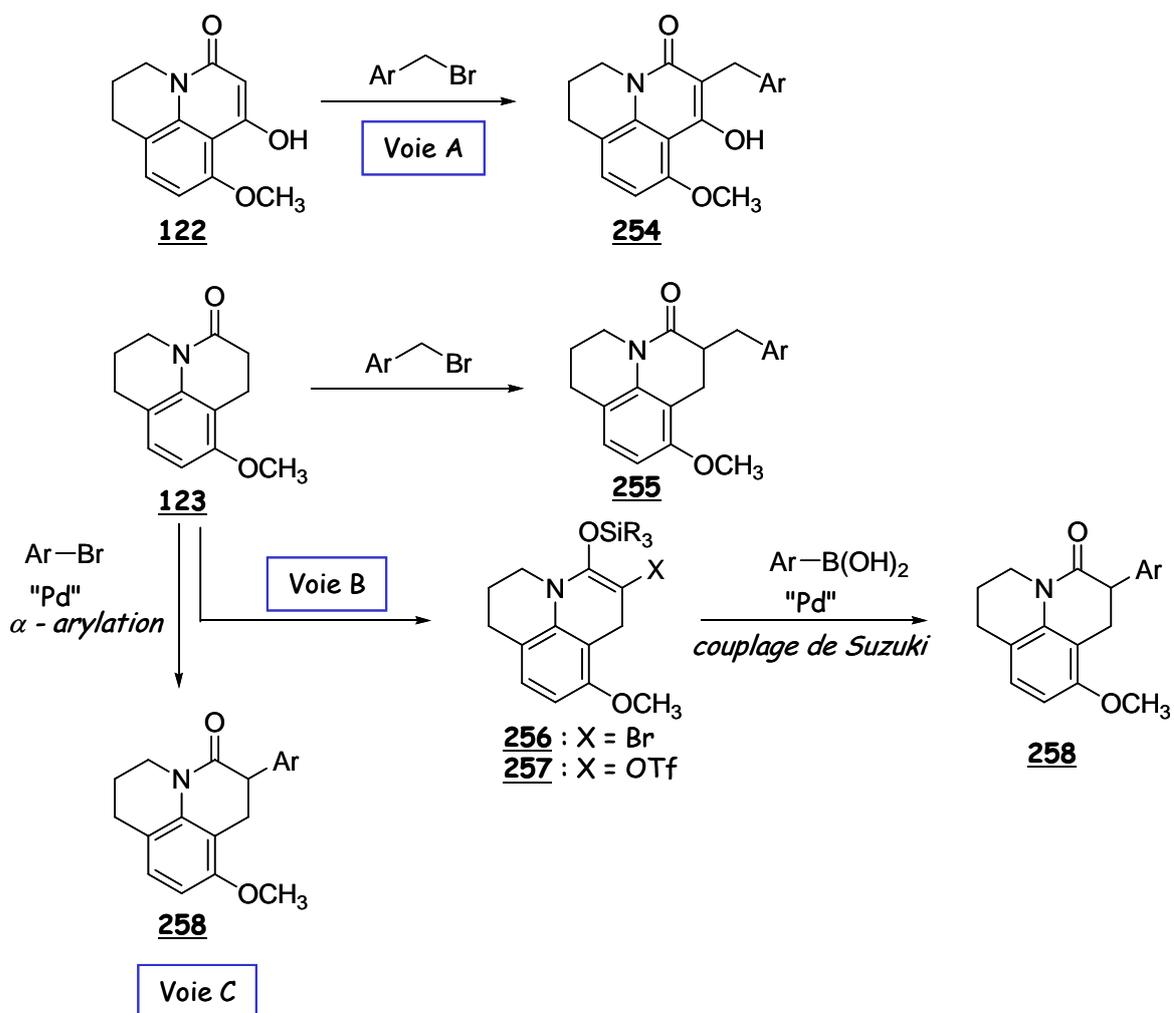


Schéma 75

Une fois l'aromatique introduit, il reste alors à greffer la chaîne mimant l'acide glutamique en position 8 (Schéma 76).

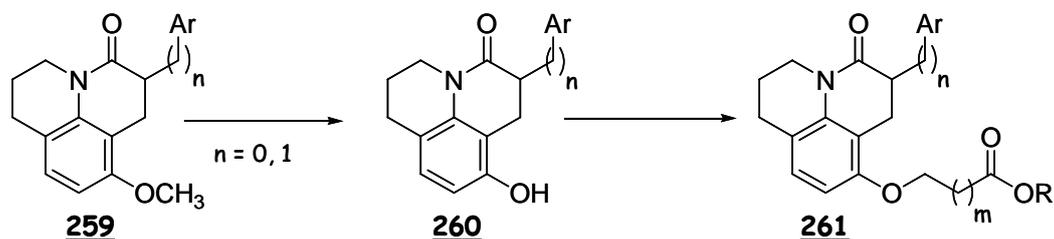
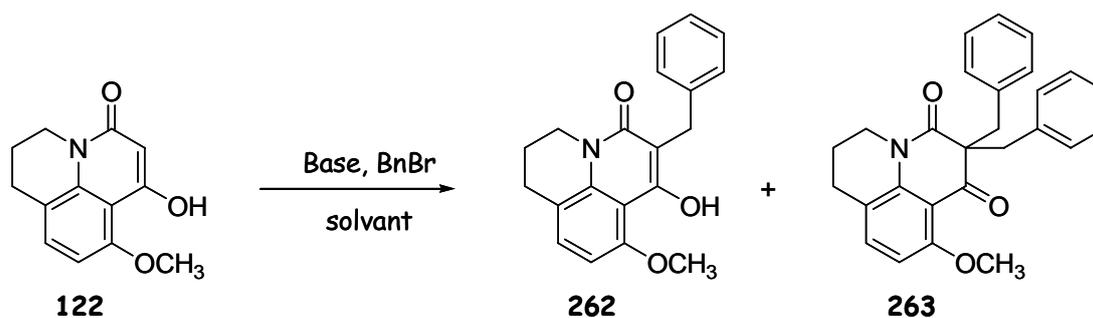


Schéma 76

VII.2 - Voie A

Bien que la modélisation suggère une préférence pour une structure dans laquelle le noyau aromatique est directement attaché au lactame tricyclique, nous avons étudié la synthèse des homologues benzylés car, en principe, ils étaient facilement accessibles par les méthodes classiques de benzylation. Le produit 122 a été traité par une base puis par du bromure de benzyle. La stoechiométrie des réactifs et les conditions réactionnelles sont importantes car ce type de réaction est susceptible de conduire à un mélange de produit monobenzylé 262 et de produit dibenzylé 263 (Tableau 17).

Tableau 17 : conditions de benzylation du composé 122.



| Entrée | Base | Conditions | 262 | 263 |
|--------|---|-------------------------------|-----|-----|
| 1 | NaH (2,6 éq.), DMF, 0°C, 45 min. | BnBr (1,2 éq.), 30 min à t.a. | 0% | 60% |
| 2 | K ₂ CO ₃ (1 éq.), DMF, 0°C, 45 min. | BnBr (1 éq.), 2h à t.a. | 62% | 14% |
| 3 | K ₂ CO ₃ (1,1 éq.), DMF, 0°C, 30 min. | BnBr (1,1 éq.), 3h à t.a. | 25% | 37% |
| 4 | EtONa (1,2 éq.), EtOH, t.a., 45 min. | BnBr (1,2 éq.), 16h à 80°C. | 33% | 35% |

La réaction en présence de 2,6 équivalents d'hydruure de sodium dans le DMF et d'un léger excès de bromure de benzyle (entrée 1) conduit seulement au composé dibenzylé **263** (60%).¹⁷⁶ Par la suite, nous avons utilisé un équivalent de carbonate de potassium et un équivalent de bromure de benzyle (entrée 2). Dans ces conditions, le produit monobenzylé **262** est majoritaire (62%).¹⁷⁷ Si le temps de réaction est augmenté, en présence d'un léger excès de chacun des réactifs, la proportion de produit dibenzylé augmente (entrée 3). Le traitement de **122** par un excès d'éthanolate de sodium dans l'éthanol, suivi de l'addition du bromure de benzyle, ne conduit qu'à 33% de produit monobenzylé **262**.

La benzylation du lactame insaturé **123** (Schéma 75), n'a pas pu être effectuée par manque de temps.

VII.3 - Voie B

VII.3.1 - Introduction

Cette stratégie consiste à introduire le groupement aromatique par un couplage de type Suzuki ou Stille, catalysé au palladium.^{178,179,180,181} Pour ce faire, nous avons pensé former un *N,O*-acétal de cétène silylé comportant un atome de brome **256** (ou un groupement triflate **257**) sur la double liaison (Schéma 77).

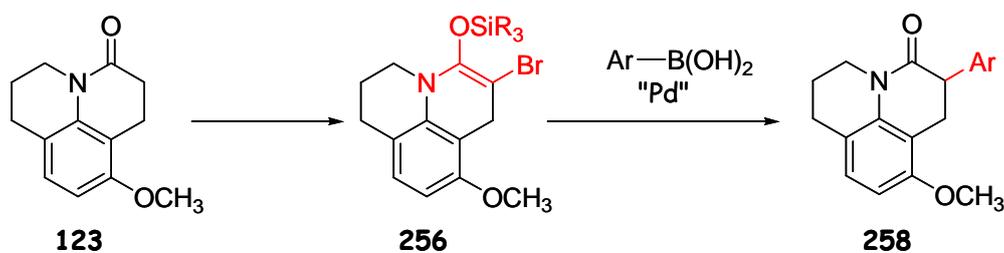


Schéma 77

¹⁷⁶ Guijarro, D. ; Yus, M. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 11445-11456.

¹⁷⁷ Majetich, G. ; Zhang, Y. ; Feltman, T. L. ; Belfoure, V. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 441-444.

¹⁷⁸ a) Miyaura, N. ; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483 ; b) Suzuki, A. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147-168.

¹⁷⁹ a) Farina, V. ; Krishnamurthy, V. ; Scott, W. J. *Org. React.* **1997**, *50*, 1-652; b) Milstein, D. ; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3636-3638; c) Milstein, D. ; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4992-4998.

¹⁸⁰ Stanforth, S. P. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 263-303.

¹⁸¹ Nicolaou, K. C. ; Bulger, P. G. ; Sarlah, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4442-4489.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés au couplage de Suzuki entre le dérivé bromé **256** et un acide arylboronique. Comme il n'existait pas de précédent impliquant un tel dérivé bromé, nous avons testé la réaction sur un modèle simple, la *N*-méthylpipéridinone **264**.

VII.3.2 - Synthèse de **267**

VII.3.2.1 - Bibliographie

La synthèse de la 3-bromo-*N*-méthylpipéridinone **266** n'était pas décrite au moment où ces travaux ont été réalisés, c'est pourquoi nous avons choisi d'introduire l'atome de brome à partir de l'énolate d'amide silylé, puis de former à nouveau un *N,O*-acétal de cétène silylé à partir du dérivé bromé ainsi obtenu (Schéma 78).

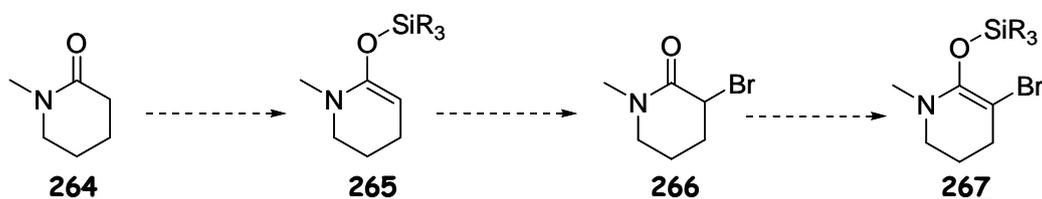


Schéma 78

Il existe très peu d'informations sur la préparation de composés de type **267**. Trost¹⁸² décrit que la silylation de l'énolate de lithium de **264** par le chlorure de diméthylphénylsilyle donne exclusivement le produit *C*-silylé **268** (Schéma 79). Quelques années plus tard, Woodbury *et al.*¹⁸³ montrent que les réactions d'énolates de *N,N*-dialkylamides avec des trialkylchlorosilanes (de -78°C à t.a.) fournissent des mélanges de produit *O*- et *C*-silylés. Ce dernier est majoritaire sauf au départ de la *N*-méthylpipéridinone qui conduit à une majorité de produit *O*-silylé **270** (environ 90%). Toutefois, après le passage sur une colonne de chromatographie en phase gazeuse (CPG), le produit *O*-silylé **270** s'isomérisé en composé *C*-silylé **269** plus stable. Ce dernier représente alors plus de 70% du mélange. Les deux isomères ont pu être isolés par distillation fractionnée.

¹⁸² Trost, B. M. ; Kunz, R. A. *J. Org. Chem.* 1974, 39, 2475-2476.

¹⁸³ Woodbury, R. P. ; Rathke, M. W. *J. Org. Chem.* 1978, 43, 881-884.

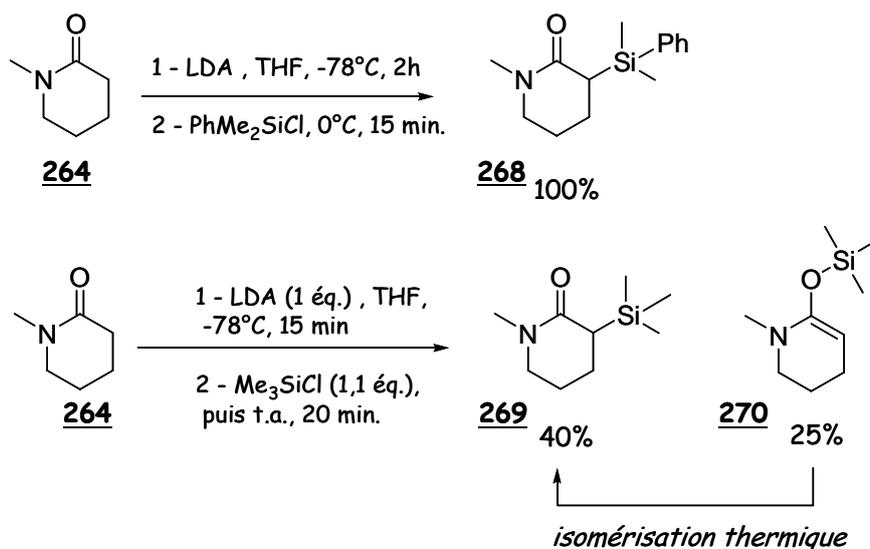
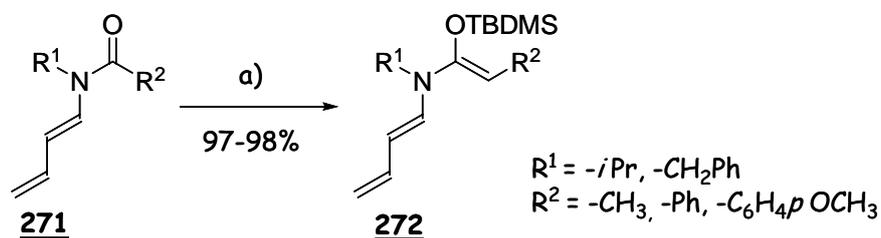


Schéma 79

Plus récemment, le groupe de Neier¹⁸⁴ a préparé une série de dérivés d'acétals de cétène de *N,O*-*tert*butyldiméthylsilyle (Schéma 80) et ce, en s'inspirant des conditions de Rathke décrites plus haut. Aucun de ces dérivés n'a pu être purifié par chromatographie sur colonne de silice ou d'alumine. La purification a donc été effectuée par extraction.



a) LDA (1,2 éq.), THF/HMPA (10/1), -78°C , 10 min puis TBDMSCI (1,4 éq.), -78°C puis 2h à t.a.

Schéma 80

Malgré ces perspectives peu encourageantes, nous avons étudié la formation des *N,O*-acétals de cétène silylés et alkylés dérivés de la *N*-méthylpipéridone 264, en vue de pouvoir éventuellement les utiliser *in situ*.

¹⁸⁴ Franz, A. ; Eschler, P.-Y. ; Tharin, M. ; Neier, R. *Tetrahedron* 1996, 52, 11643-11656.

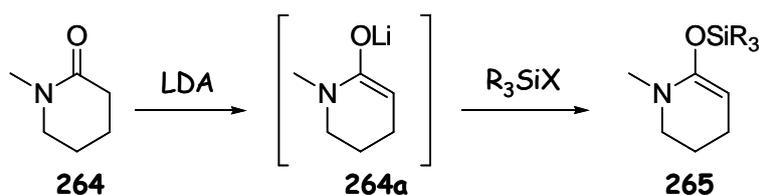
VII.3.2.2 - Résultats

VII.3.2.2.1 - *N,O*-acétals de cétène silylés 265

Méthode 1

Cette méthode consiste à former d'abord l'énolate du lactame **264** puis à effectuer la silylation de **264a** (Tableau 18).

Tableau 18 : tentatives de synthèse des dérivés 265.



| Entrée | Base | Agent silylant | Purification | Résultats |
|--------|------------------------------------|---|---|---------------------------|
| 1 | LDA (1,2 éq.), THF, -78°C, 10 min. | Me ₃ SiCl (1,2 éq.), -78°C, 12h. | + H ₂ O (0°C) et éther puis extraction au pentane. | 264 (non isolé) |
| 2 | LDA (1,2 éq.), THF, -78°C, 10 min. | TBDMSCl (1,1 éq.), -78°C, 3h. | 1 - + NH ₄ Cl aq. sat. et H ₂ O à 0°C puis Et ₂ O ; 2- chromatographie (colonne). | dégradation. |
| 3 | LDA (1,2 éq.), THF, -78°C, 10 min. | TIPSOTf (1,1 éq.), -78°C, 20 min. | 1 - + NH ₄ Cl aq. sat. et H ₂ O à 0°C puis Et ₂ O ; 2- chromatographie (colonne). | dégradation. |

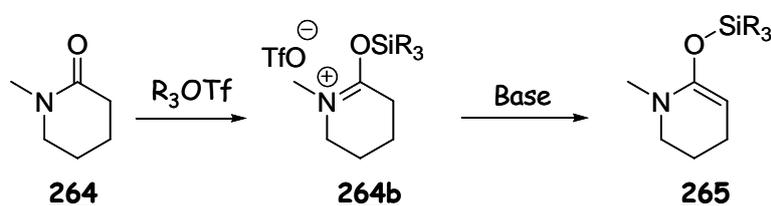
Le produit de départ **264** est déprotoné par un léger excès de LDA dans le THF à basse température, puis l'agent silylant est additionné sur l'énolate ainsi formé. Après une simple extraction au pentane, le produit de départ est récupéré, dans le cas où R est un méthyle (entrée 1). Nous n'avons donc pas pu reproduire les résultats de Woodbury *et al.*,¹⁸³ sans doute en raison de la trop grande sensibilité du dérivé *O*-silylé à l'hydrolyse. Nous avons alors utilisé des dérivés silylés beaucoup plus volumineux pour stabiliser l'acétal de cétène.¹⁸⁵ Nous n'avons cependant pas été à même d'isoler un quelconque produit du mélange complexe obtenu avec le chlorure de *tert*butyldiméthylsilyle (TBDMSCl - entrée 2) ou même avec le triflate de triisopropylsilyle (TIPSOTf - entrée 3).

¹⁸⁵ Magnus, P. ; Lacour, J. ; Coldham, I. ; Mugrage, B. ; Bauta, W. B. *Tetrahedron* 1995, 51, 11087-11110.

Méthode 2

Cette méthode consiste à former en premier un sel d'iminium **264b** par *O*-silylation sélective du lactame **264** puis de déprotomer ce sel par une base en vue d'obtenir **265**. Cette méthode tire avantage de la nucléophilie du lactame qui est suffisante pour réagir avec des agents électrophiles forts comme un triflate de trialkylsilyle. Cette première étape ne peut évidemment générer qu'un composé *O*-silylé. Toutefois, la seconde étape présente l'inconvénient de générer une espèce fortement nucléophile **265**, en présence du sel d'iminium électrophile **264b** qui n'a pas encore réagi. Pour éviter une réaction entre ces deux partenaires, nous avons eu recours à un système biphasique acétonitrile-pentane. Ce système a déjà été employé avec succès au laboratoire, pour la synthèse de dihydropyridines *O*-silylées.¹⁸⁶ Le produit de départ est mis en présence de l'agent silylant puis le solvant est évaporé sous pression réduite et sous atmosphère inerte. Une solution du sel ainsi obtenu dans l'acétonitrile est ensuite additionnée sur une solution de la base dans un mélange pentane-acétonitrile, à basse température. Le produit est isolé par des extractions au pentane sans ajout d'eau (Tableau 19).

Tableau 19 : tentatives de synthèse de **265** par la méthode silylation/déprotonation.



| Entrée | Silylation | Déprotonation | Résultats* |
|--------|--|--|------------|
| 1 | TMSOTf (1 éq.), CDCl ₃ , 5 min, t.a. | LiHMDS (2 éq.), CH ₃ CN/ <i>n</i> -pentane, -30°C, 1h30min. | 264. |
| 2 | TMSOTf (1 éq.), CDCl ₃ , 5 min, t.a. | Me ₃ SiONa (2 éq.), CH ₃ CN/ <i>n</i> -pentane, -30°C, 1h30min. | 264. |
| 3 | TBDMSOTf (1 éq.), CDCl ₃ , 5 min, t.a. | Me ₃ SiONa (2 éq.), CH ₃ CN/ <i>n</i> -pentane, -30°C, 45 min. | 264. |
| 4 | TIPSOTf (1 éq.), CDCl ₃ , 5 min, t.a. | Me ₃ SiONa (2 éq.), CH ₃ CN/ <i>n</i> -pentane, -30°C, 45 min. | 264. |

* non purifié - identifié par RMN.

¹⁸⁶ Trembleau, L. ; Ghosez, L. *Nouveaux Diènes Cycliques pour la Synthèse de Produits Biologiquement Actifs*, travaux non publiés, 2001.

Dans cette série d'expériences, la formation du sel d'iminium a été systématiquement vérifiée, c'est pourquoi la première étape s'est faite dans le chloroforme deutéré distillé. Le spectre RMN atteste sans ambiguïté de la formation de l'iminium de manière quantitative (Figure 52). Dans le spectre proton du sel d'iminium, tous les signaux du produit de départ sont décalés vers des champs plus faibles. Cet effet de déblindage est dû à l'acidité du triflate de trialkylsilyle. Le signal des protons du groupe triméthylsilyyle, quant à lui, apparaît clairement à 0,28 ppm.

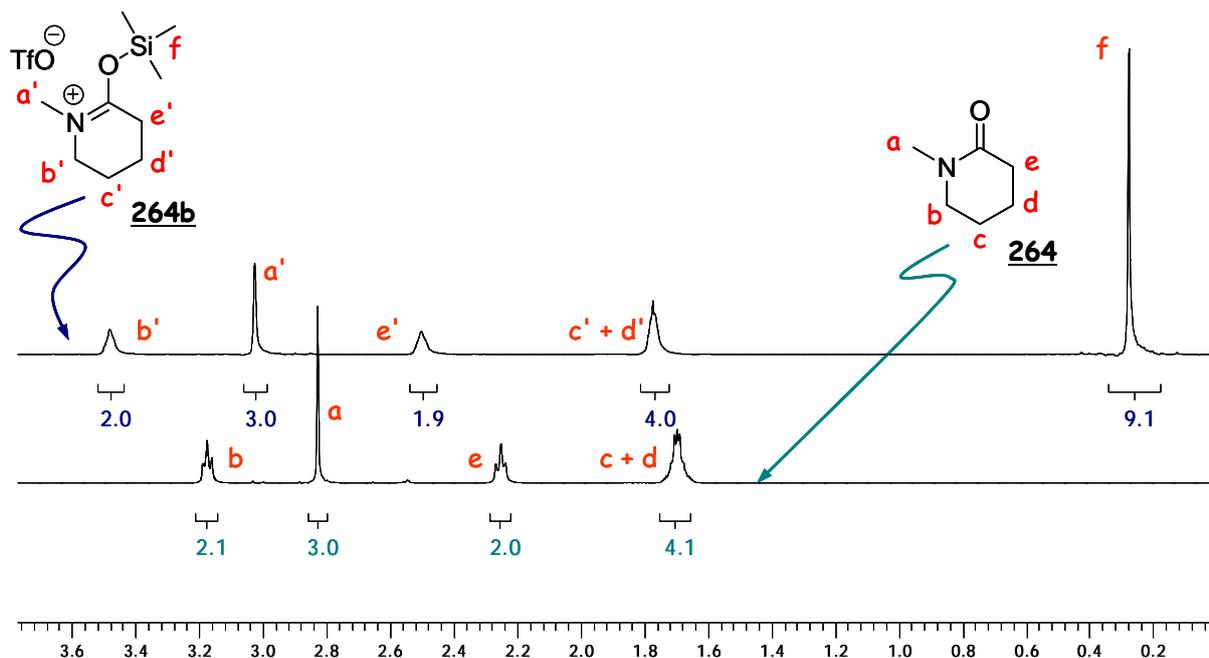
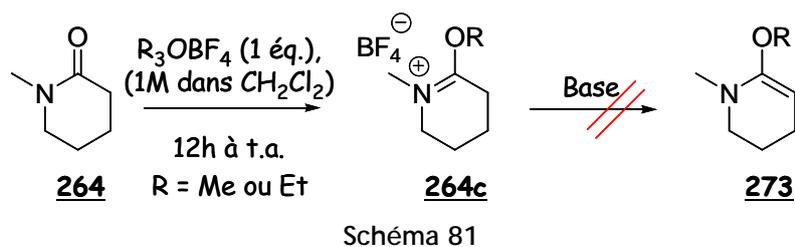


Figure 52 : spectres RMN ^1H du produit de départ et du sel d'iminium **264b** - (400 MHz, CDCl_3 , 25°C).

En revanche, nous n'avons jamais pu isoler le produit **265** résultant de la déprotonation du sel. Il est possible que l'iminium intermédiaire se désilyle très rapidement avant de pouvoir être déprotoné.

VII.3.2.2.2 - *N,O*-acétals de cétène alkylés **273**

Nous avons également appliqué la même séquence réactionnelle en substituant un agent d'alkylation à un agent de silylation, dans le but d'obtenir un *N,O*-acétal de cétène plus résistant vis-à-vis de l'hydrolyse. Le lactame **264** a été mis en présence de l'un des deux sels de Meerwein $\text{Me}_3\text{O}^+ \text{BF}_4^-$ ou $\text{Et}_3\text{O}^+ \text{BF}_4^-$ (Schéma 81).



La formation du sel a été vérifiée par RMN (Figure 53). Même après 12h la réaction n'est cependant pas quantitative, il reste encore environ 20% du lactame de départ. Le sel d'iminium peut être isolé suite à l'évaporation du solvant : c'est un composé plus stable que les dérivés silylés correspondants. Comme précédemment, les signaux sont déblindés par rapport au produit de départ, en réponse à l'introduction du méthyle sur l'oxygène (4,2 ppm). Cependant, nous n'avons jamais réussi à mener à bien l'étape de déprotonation quelque soit la base utilisée (iPr_2NEt , $tBuOK$, LDA...) : le seul composé présent est le produit de départ, nous observons également un début de dégradation du milieu réactionnel. Nous avons tenté de faire la bromation *in situ* sans isoler le composé 264c mais le traitement par le *N*-bromosuccinimide (NBS) n'a conduit à aucun nouveau produit et le lactame de départ n'est pas non plus récupéré.

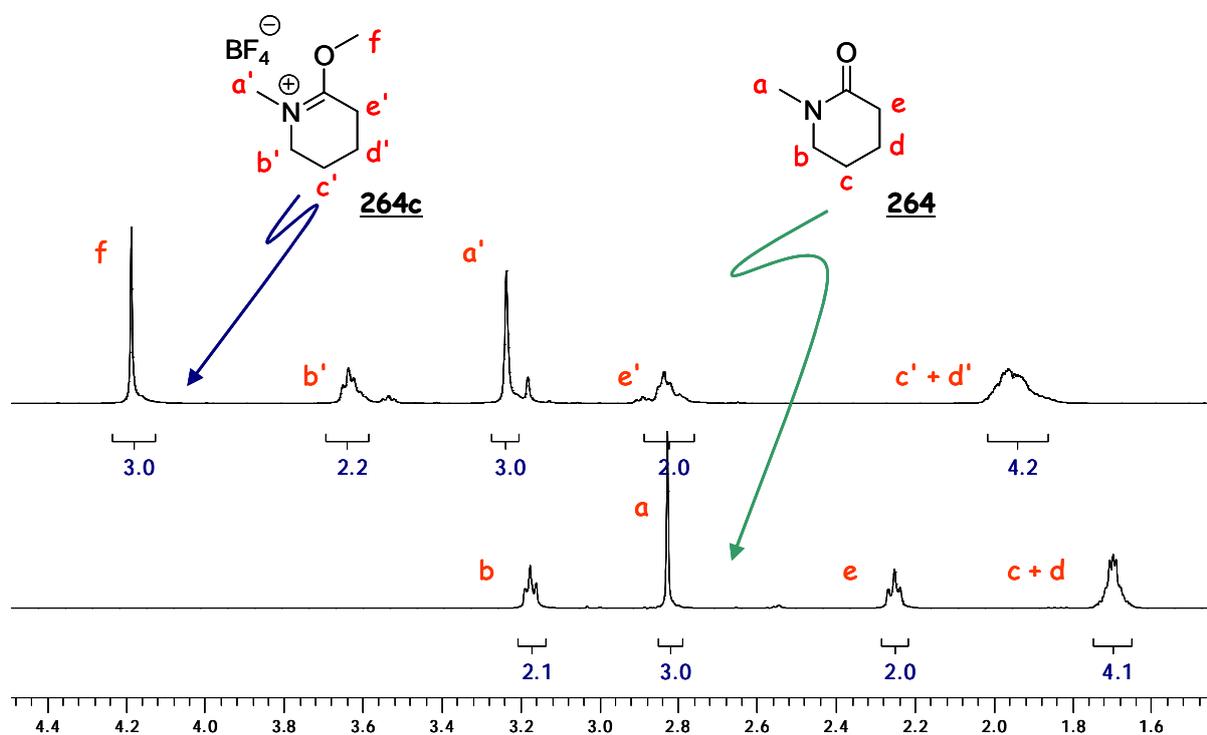
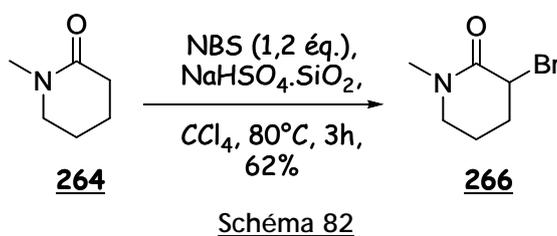


Figure 53 : RMN 1H du sel d'iminium 264c (R = Me) - (400 MHz, $CDCl_3$, 25°C).

Les éthers d'énols étant moins sensibles à l'hydrolyse que leurs analogues silylés, cette absence de résultats laisse supposer qu'il pourrait y avoir une réaction secondaire entre l'iminium et le *N,O*-acétal de cétène nouvellement formé, ce qui expliquerait le début de dégradation observé.

VII.3.2.3 - Conclusion

Récemment, une nouvelle méthode de bromation en α des groupements carbonylés est parue dans la littérature : les auteurs rapportent la monobromation de divers composés carbonylés par action de *N*-bromosuccinimide dans l'éther ou le tétrachlorure de carbone, à l'aide d'un catalyseur hétérogène (hydrogénosulfate de sodium supporté sur silice).¹⁸⁷ En particulier, la 3-bromo-*N*-méthylpipéridinone **266** a pu être synthétisée avec un rendement de 62% (Schéma 82).



Une des perspectives de ce travail serait donc de reproduire cette synthèse puis de tenter la formation du *N,O*-acétal de cétène silylé correspondant. En ce qui nous concerne, compte tenu des difficultés pour synthétiser les précurseurs du couplage et de leur instabilité, nous avons abandonné cette approche.

VII.4 - Voie C

VII.4.1 - Bibliographie

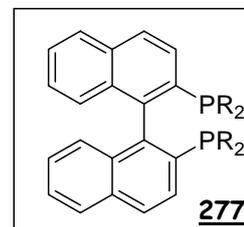
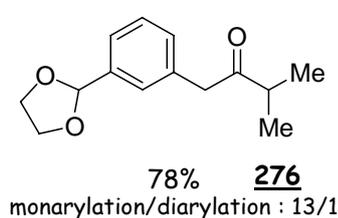
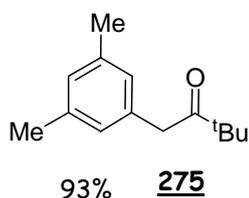
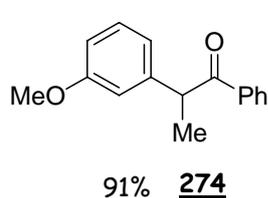
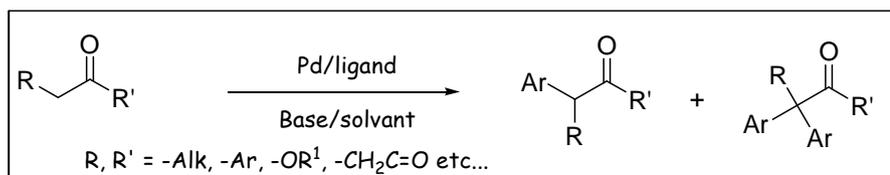
En 1997, les groupes de Buchwald,¹⁸⁸ Miura¹⁸⁹ et Hartwig¹⁹⁰ ont décrit le couplage d'énolates de cétones avec des aromatiques bromés en présence de Pd⁰. Cette nouvelle méthode est régiosélective et présente une grande tolérance vis-à-vis de nombreux groupements fonctionnels (Schéma 83).

¹⁸⁷ Das, B. ; Venkateswarlu, K. ; Mahender, G. ; Mahender, I. *Tetrahedron Lett.* 2005, 46, 3041-3044.

¹⁸⁸ Palucki, M. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 11108-11109.

¹⁸⁹ Satoh, T. ; Kawamura, Y. ; Miura, M. ; Nomura, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1997, 36, 1740-1742.

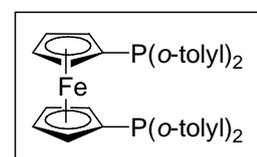
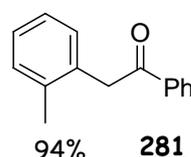
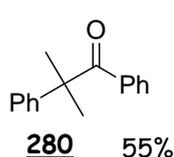
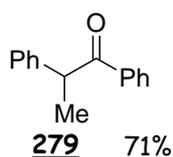
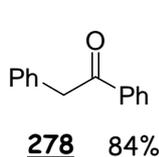
¹⁹⁰ Hamann, B. C. ; Hartwig, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 12382-12383.



R = H : BINAP
R = Tolyl : Tol-BINAP

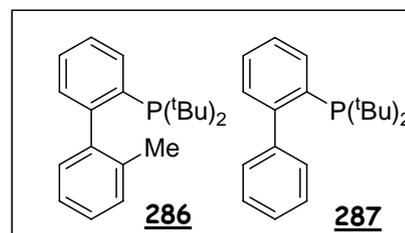
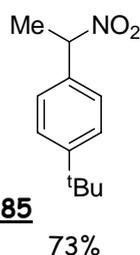
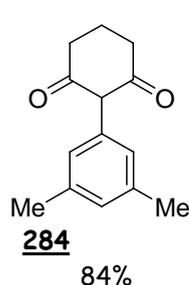
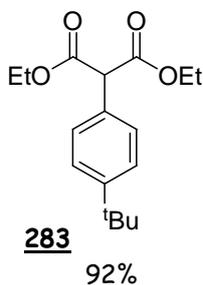
Conditions : cétone (1,2 éq.), ArBr (1 éq.), L (3,6 mol%), NaO^tBu (1,3 éq.), Pd₂(dba)₃ (1,5 mol%), THF, 70°C ; L = BINAP ou TolBINAP.

Palucki et *al.*, 1997



Conditions : DTPF (9 mol%), KHMDS (2,2 éq.), Pd(dba)₂ 7,5 mol%, THF, reflux.

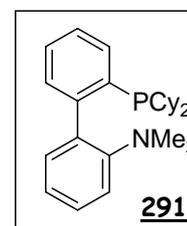
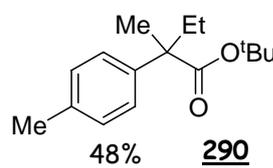
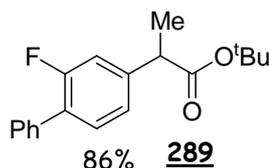
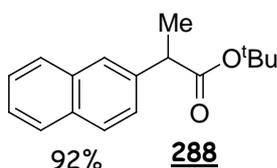
DTPF **282**
Hamann et *al.*, 1997



ligands

Conditions : composé dicarbonylé (1,2 éq.) ou nitroalcane (2 éq.), ArBr (1 éq.), K₃PO₄ (2,3 éq.), ligand/Pd(OAc)₂ 2,2/1, THF ou dioxane, Δ.

Fox et *al.*, 2000



ligand

Conditions : ester (2,3 éq.), ArBr (1 éq.), LiHMDS (2,5 éq.), Pd(OAc)₂ (3 mol%), ligand (6,3 mol%), toluène, 80°C.

Moradi et *al.*, 2001

Schéma 83^{188,190,191,192}

Dans certains cas, une réaction secondaire de diarylation est observée. L' α -arylation catalysée au palladium est rapidement devenue une méthode très générale, pouvant être appliquée aux cétones, aux composés 1,3-dicétoniques, aux malonates, aux nitroalcanes,¹⁹¹ aux esters¹⁹² et à une grande majorité de dérivés des composés carbonylés (Schéma 83).¹⁹³ Buchwald utilise préférentiellement Pd(OAc)₂ ou Pd₂(dba)₃ comme source de Pd⁰, avec des ligands comme le BINAP 277 (R = H) et ses dérivés, en présence de *tert*butanolate de sodium.¹⁸⁸ Hartwig emploie plutôt Pd(dba)₂, des ligands dérivés du ferrocène comme le DTPF 282 et des bases comme NaO^tBu ou KHMDS.^{190,193}

Le groupe de Buchwald^{194,198} a également développé une version asymétrique de ce type de réaction : l'utilisation du ligand chiral 294 permet d'obtenir le composé 293 avec un bon excès énantiomérique dans des conditions relativement douces (Schéma 84).

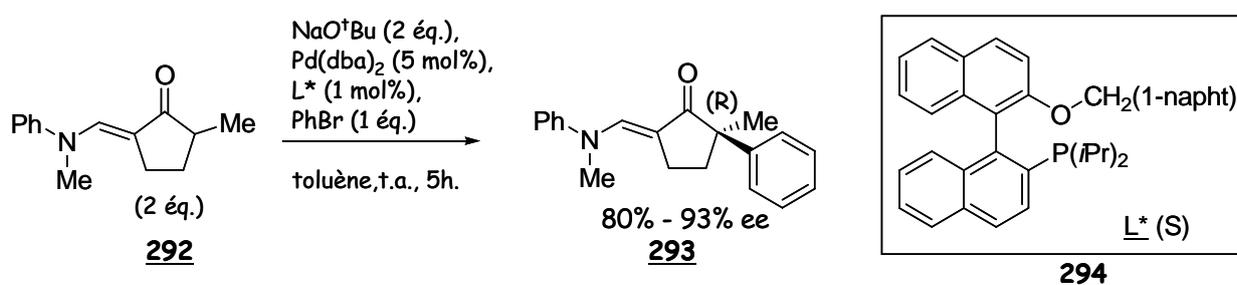


Schéma 84

Hartwig *et al.*¹⁹⁵ ont ensuite étendu cette méthode aux amides. La principale difficulté venait du pKa des amides, qui est plus élevé que celui des cétones, ce qui risquait de ralentir la plupart des étapes du cycle catalytique du couplage désiré. De plus, le pKa de l'énolate 297 est plus élevé que celui du produit monoarylé 296 (33,5 contre 24,5 dans le THF).¹⁹⁶ Celui-ci va donc être déprotoné pour former l'énolate correspondant 298, faisant ainsi diminuer la concentration dans le milieu de l'énolate réactif 297 (Schéma 85). La réaction s'en trouve donc ralentie et la réaction de

¹⁹¹ Fox, J. M. ; Huang, X. ; Chieffi, A. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 1360-1370.

¹⁹² Moradi, W. A. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 7996-8002.

¹⁹³ Culkin D. A. ; Hartwig J. F. *Acc. Chem. Res.* 2003, 36, 234-245.

¹⁹⁴ a) Aahman, J. ; Wolfe, J. P. ; Troutman, M. V. ; Palucki, M. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1998, 120, 1918-1919; b) Hamada, T. ; Chieffi, A. ; Ahman, J. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 1261-1268.

¹⁹⁵ Shaugnessy, K. H. ; Hamman, B. C. ; Hartwig, J. F. *J. Org. Chem.* 1998, 63, 6546-6553.

¹⁹⁶ a) Krom, J. A. ; Streitwieser, A. J. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 6354-6359; b) Bordwell, F. G. *Acc. Chem. Res.* 1988, 21, 456-463.

diarylation entre en compétition. Pour éliminer ce problème, deux équivalents de base sont donc utilisés pour déprotoner à la fois l'amide de départ **295** et le produit monoarylé **296**. Dans le cas des cétones, les pKas de l'énolate et du produit d'arylation sont plus proches donc l'utilisation de 1,2 équivalents de base est suffisante.

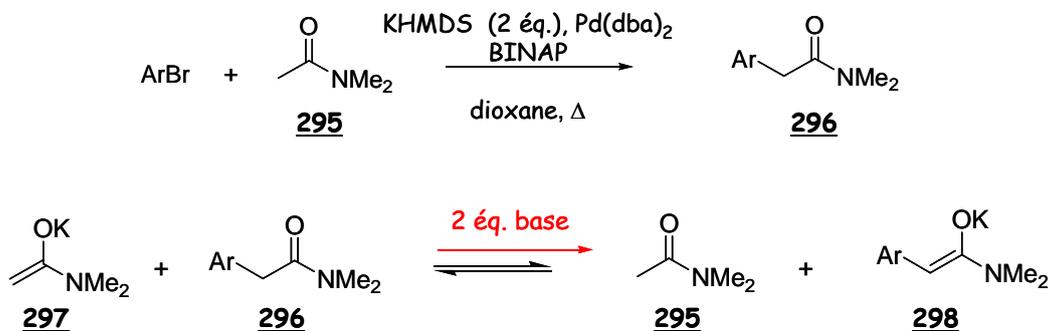


Schéma 85

L' α -arylation des amides est cependant moins générale que celle des cétones : l'arylation des *N,N*-dialkylamides par exemple,¹⁹⁵ conduit à des rendements variant de 24% à 72% (Schéma 86). Elle trouve assez rapidement des limitations : en plus de la diarylation, des réactions secondaires de déshydrohalogénéation de l'aromatique peuvent être observées. Enfin, cette méthode n'est réellement efficace qu'avec des aromatiques neutres (ni pauvres, ni riches en électrons). Quelques applications de cette méthode ont cependant été décrites.¹⁹⁷

¹⁹⁷ a) Freund, R. ; Mederski, W. K. R. *Helv. Chim. Acta* 2000, 83, 1247-1255; b) Honda, T. ; Namiki, H. ; Satoh, F. *Org. Lett.* 2001, 3, 631-633; c) Zhang, T. Y. ; Zhang, H. *Tetrahedron Lett.* 2002, 43, 193-195 ; d) Zhang, T. Y. ; Zhang, H. *Tetrahedron Lett.* 2002, 43, 1363-1365.

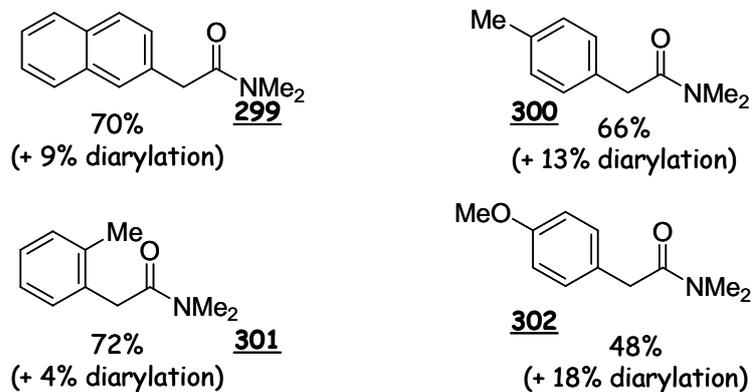
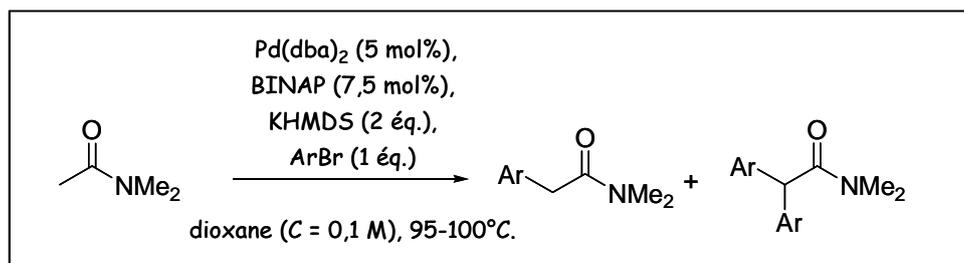


Schéma 86

En revanche, l' α -arylation intramoléculaire d'amides permet la formation de dérivés oxoindoles avec de très bons rendements^{195,198} et a également été développée en version asymétrique (Schéma 87).^{193,198} Les oxoindoles 3,3-disubstitués étant présents dans la structure de nombreux composés biologiquement actifs, cette application est d'une grande importance.

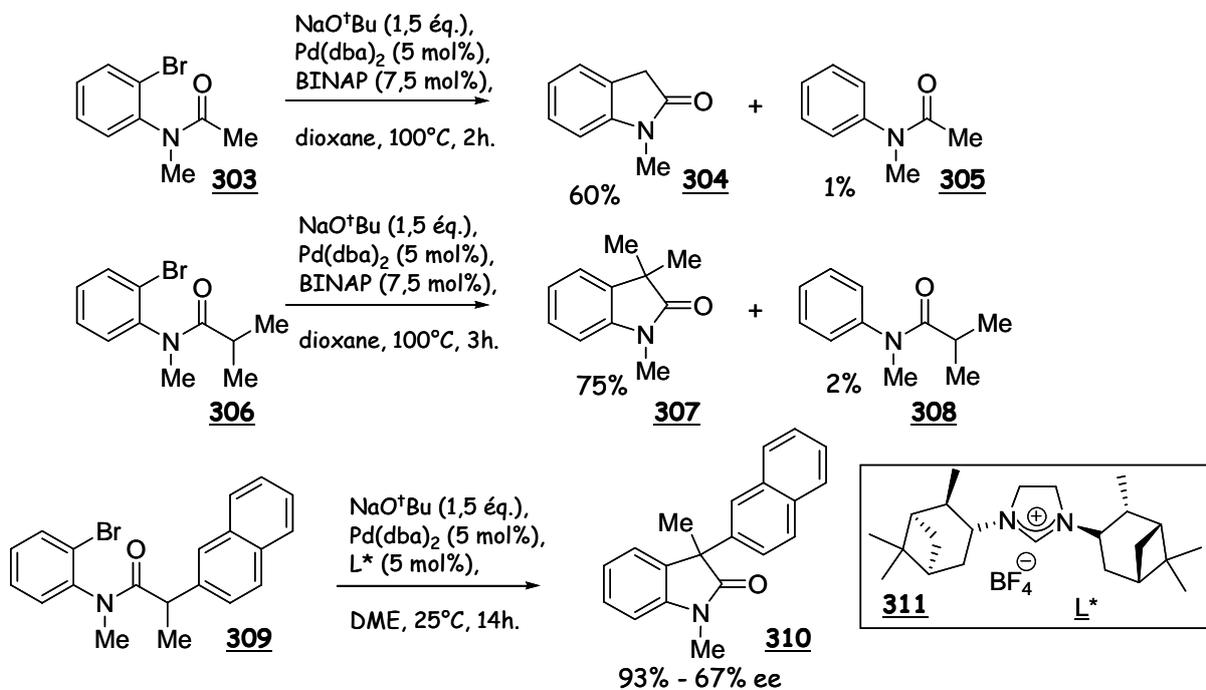


Schéma 87

¹⁹⁸ Lee, S. ; Hartwig, J. F. *J. Org. Chem.* 2001, 66, 3402-3415.

Un premier exemple d' α -arylation de lactames a été décrit par Stewart *et al.*¹⁹⁹ : il consistait à mettre la *N*-méthylpyrrolidinone 312 en présence d'aromatiques halogénés et de 3 à 8 équivalents d'une base forte (LDA, LTMP, LICA ...). Les 3-arylpyrrolidinones correspondantes sont obtenues avec des rendements modérés (15-50%). Avec les halogénures aromatiques substitués, un mélange de plusieurs régioisomères est parfois obtenu. Les auteurs ont supposé un mécanisme réactionnel faisant intervenir un intermédiaire benzyne. Avec la catalyse au Pd⁰, la *N*-méthyl-3-phénylpyrrolidinone 313 est obtenue avec un rendement de 49% (accompagnée de 9% de produit diarylé),¹⁹⁵ contre 35-40% selon la méthode de Stewart (Schéma 88).

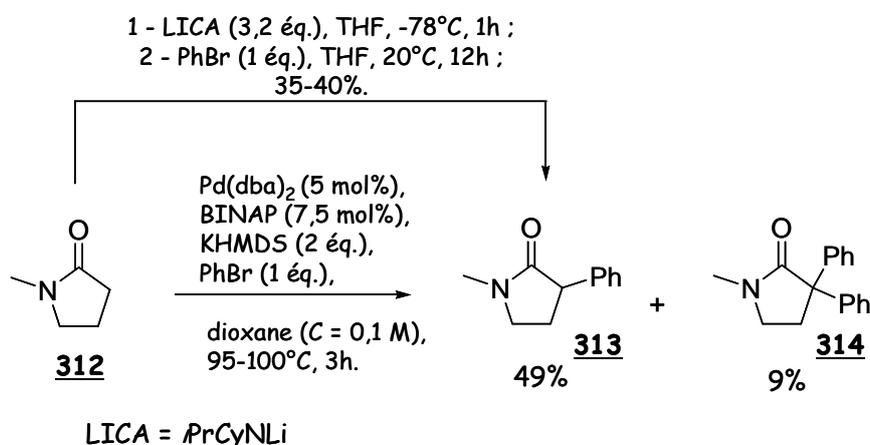


Schéma 88

Cossy *et al.* ont cherché à développer une méthode générale pour l' α -arylation des énolates de pipéridinones.²⁰⁰ Ils ont tout d'abord appliqué les conditions de Buchwald, décrites pour les esters,¹⁹² au cas de la *N*-tosylpipéridinone 315 mais sans succès. L'ajout d'un excès de chlorure de zinc (II) a permis de former la 3-phényl-*N*-tosylpipéridinone 316 avec un rendement de 48% (Schéma 89).^{200,201} L'utilisation de Pd(dba)₂ comme catalyseur et d'un ligand à la fois encombré et riche en électrons a permis de porter le rendement à 92%. La réaction a ensuite été étendue à la *N*-benzylpipéridinone 317 ainsi qu'à une grande variété d'halogénures aromatiques.

¹⁹⁹ Stewart, J. D. ; Fields, S. C. ; Kochhar, K. S. ; Pinnick, H. W. *J. Org. Chem.* 1987, 52, 2110-13.

²⁰⁰ Cossy, J. ; de Filippis, A. ; Gomez Pardo, D. *Org. Lett.* 2003, 5, 3037-3039.

²⁰¹ Hama, T. ; Liu, X. ; Culkin, D. A. ; Hartwig, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 11176-11177.

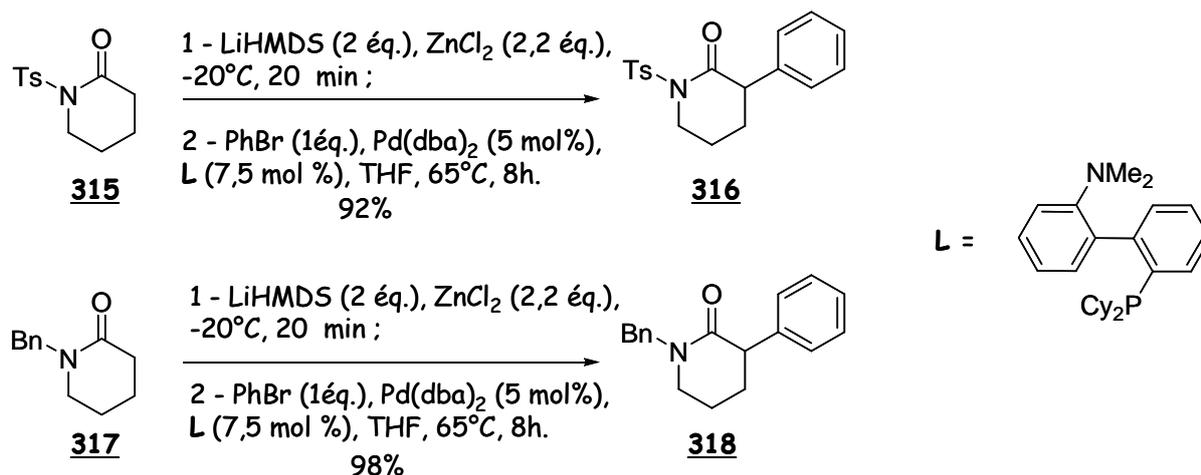


Schéma 89²⁰²

Ces réactions sont sensibles à la nature de la base.²⁰³ En présence de LiHMDS, certains aromatiques plus encombrés ou plus riches en électrons n'avaient donné que de faibles rendements (16 à 40%).²⁰⁰ Or, en présence de 2 équivalents de *n*-butyllithium, ces rendements ont été portés à 70% ou plus. L'hypothèse avancée est que l'utilisation de LiHMDS génère une amine, l'hexaméthylidisylazane (HMDS), qui pourrait complexer l'espèce organométallique réactive et ralentir la réaction. D'une manière générale, lorsque le groupement protecteur sur l'azote est un groupe attracteur d'électrons (tosyle, benzoyle...), la base préconisée est le LiHMDS ; pour un groupe alkyle (benzyle...) ce sera plutôt le *n*-butyllithium.^{204,205} Le tableau 20 présente quelques uns des meilleurs résultats obtenus selon cette nouvelle méthode.

Quelque soit la nature de l'aromatique, riche ou déficient en électrons (entrées 1, 3 et 4,5), les rendements sont très bons, à l'exception près de l'*o*-bromotoluène 322, probablement pour des raisons stériques (entrée 2). Il est bien clair que la meilleure base pour l' α -arylation des dérivés *N*-benzylés est le *sec*-BuLi.

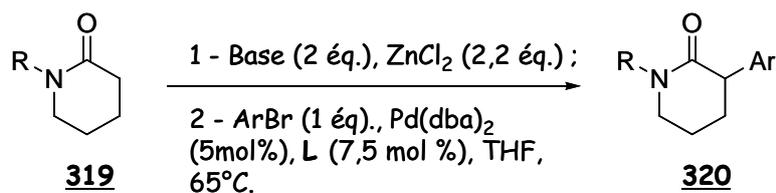
²⁰² L = 2-dicyclohexylphosphino-2'-(*N,N*-diméthylamino)biphényle.

²⁰³ Cossy, J. ; de Filippis, A. ; Gomez Pardo, D. *Synlett* 2003, 14, 2171-2174.

²⁰⁴ de Filippis, A. ; Gomez Pardo, D. ; Cossy, J. *Synthesis*, 2004, 17, 2939-2933.

²⁰⁵ de Filippis, A. ; Gomez Pardo, D. ; Cossy, J. *Tetrahedron* 2004, 60, 17, 9757-9767.

Tableau 20 : α -arylation de 2-pipéridinones avec des aromatiques bromés en présence de $ZnCl_2$.²⁰⁵



| Entrée | ArBr | R | Base | Rendement |
|--------|----------------|----|----------|-----------|
| 1 | 321 | Ts | LiHMDS | 92% |
| | | Bn | LiHMDS | 98% |
| | | | sec-BuLi | - |
| 2 | 322 | Ts | LiHMDS | 41% |
| | | Bn | LiHMDS | 52% |
| | | | sec-BuLi | 98% |
| 3 | 323 | Ts | LiHMDS | 60% |
| | | Bn | LiHMDS | 77% |
| | | | sec-BuLi | 99% |
| 4 | 324 | Ts | LiHMDS | 80% |
| | | Bn | LiHMDS | 50% |
| | | | sec-BuLi | 82% |
| 5 | 325 | Bn | LiHMDS | 57% |
| | | | sec-BuLi | 81% |

Le mécanisme de ce type de couplage est proche de celui proposé pour les cétones mais dans ce cas, l'énolate de zinc remplace l'énolate de lithium (Schéma 90).

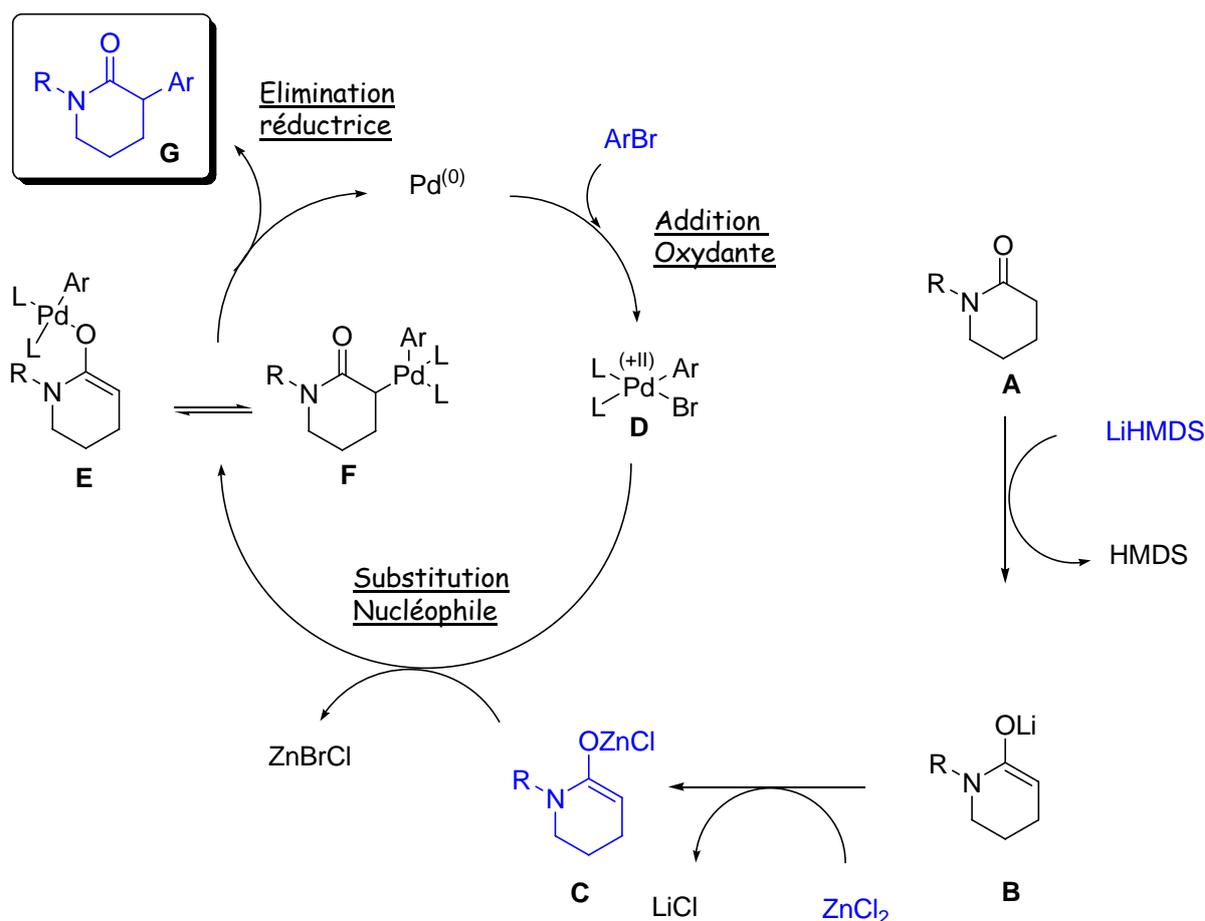


Schéma 90²⁰⁵

Le couplage se fait *via* une séquence "addition oxydante - addition de l'espèce nucléophile - élimination réductrice". L'utilisation du zinc dans les couplages au palladium a été décrite pour la première fois par Negishi²⁰⁶ puis par Fauvarque et Jutand.²⁰⁷ Les dérivés zinciques ont souvent montré une grande réactivité, des régio- et stéréosélectivités élevées, une grande tolérance vis-à-vis de nombreux groupes fonctionnels et relativement peu d'effets négatifs tels que des problèmes de toxicité.^{208,209} En revanche, l'utilisation d'énolates de zinc est très peu documentée. Hartwig²⁰¹ décrit l' α -arylation d'énolates de zinc d'esters et d'amides avec de très bons rendements et sans

²⁰⁶ a) Negishi, E.-I. ; King, A. O. ; Okukado, N. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1821-1823 ; b) King, A. O. ; Okukado, N. ; Negishi, E.-I. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 683-684 ; c) Negishi, E.-I. ; Okukado, N. ; King, A. O. ; Van Horn, D. E. ; Spiegel, B. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2254-2256.

²⁰⁷ a) Fauvarque, J. F. ; Jutand, A. *J. Organomet. Chem.* **1977**, *132*, C17-C19 ; b) Fauvarque, J. F. ; Jutand, A. *J. Organomet. Chem.* **1979**, *177*, 273-281.

²⁰⁸ a) Negishi, E.-I. ; Akiyoshi, K. *Chem. Lett.* **1987**, 1007-1010 ; b) Orsini, F. ; Pelizzoni, F. ; Vallarino, L. M. *J. Organomet. Chem.* **1989**, *367*, 375-382.

²⁰⁹ a) Negishi, E.-I. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 179-194.

b) Negishi, E.-I. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *653*, 34-40.

réaction secondaire de diarylation. Le groupe de J. Cossy a observé de meilleurs résultats avec les énolates de zinc qu'avec les énolates de lithium : ceci peut paraître surprenant dans la mesure où les énolates de zinc sont moins nucléophiles. En revanche, le caractère acide de Lewis du zinc pourrait faciliter la substitution du brome par l'énolate au niveau du complexe organopalladié D. De même, la présence du zinc, qui possède un fort pouvoir coordinant vis-à-vis de l'oxygène, pourrait favoriser l'intermédiaire F, dans lequel le palladium est sur le carbone et non sur l'oxygène, au détriment de l'intermédiaire E. Enfin, les résultats de Cossy *et al.* montrent l'absence de toute réaction secondaire de β -élimination ou de diarylation.

Nous disposons donc d'une méthode tout à fait générale et applicable à notre substrat. Dans un premier temps, nous avons testé la réaction sur la *N*-méthylpipéridinone 264 puis nous l'avons appliquée au noyau tricyclique 123.

VII.4.2 - Réactions Modèles

VII.4.2.1 - Couplage avec le bromobenzène

L' α -arylation du lactame 264 par le bromobenzène a pu être réalisée avec succès dans les conditions décrites par le groupe de Cossy (Schéma 91). Avec deux équivalents de *n*-butyllithium, la 3-phényl-*N*-méthylpipéridinone 326 est obtenue avec un rendement de 61%. Cette valeur a pu être portée à 98% en utilisant le *sec*-butyllithium comme base.

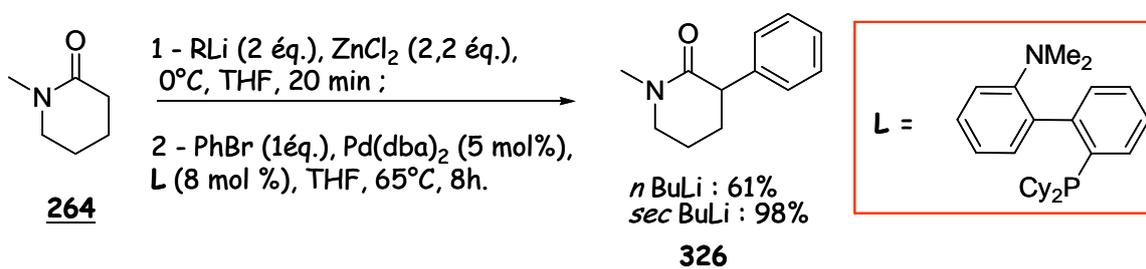


Schéma 91

VII.4.2.2 - Couplage avec le 3-bromoindole 329

Nous avons préalablement synthétisé le 3-bromo-*N*-(triisopropylsilyloxy)indole 329 au départ de l'indole 327, selon une méthode décrite dans la littérature.²¹⁰ L'amine de l'indole est tout d'abord protégée par un groupement TIPS^{211,212} puis le dérivé obtenu 328 est bromé sur la position 3 à l'aide du *N*-bromosuccinimide^{210,213} (Schéma 92). Le composé 329 est obtenu avec un rendement global de 98% (Lit.²¹⁰ : 97%).

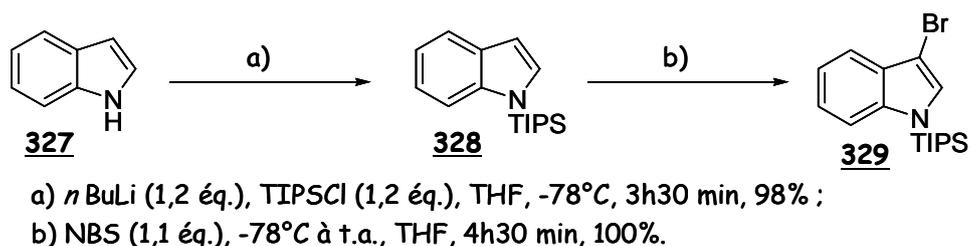


Schéma 92

La réaction de couplage a ensuite été réalisée dans les mêmes conditions qu'avec le bromobenzène (Schéma 93). Le produit de couplage 330 n'est obtenu qu'avec un rendement de 18%. Nous n'avons pas eu le temps d'optimiser le rendement de cette réaction.

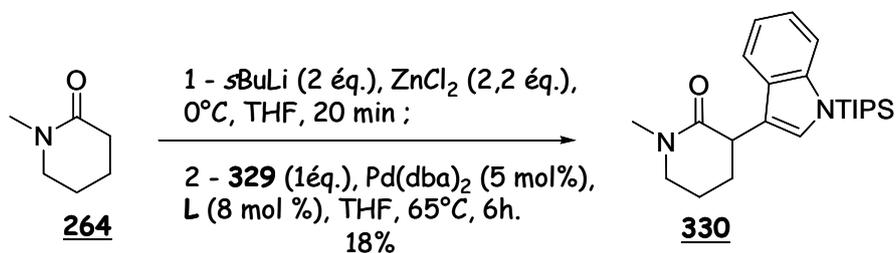


Schéma 93

Le produit 330 a ensuite été traité par 2 équivalents d'une solution de fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) dans le THF²¹⁴ pour former 331 (rendement : 88%) (Schéma 94).

²¹⁰ Amat, M. ; Sathyanarayana, S. ; Hadida, S. ; Bosch, J. *Heterocycles*, 1996, 43, 1713-1718.

²¹¹ Amat, M. ; Hadida, S. ; Sathyanarayana, S. ; Bosch, J. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 10-11.

²¹² Beswick, P. J. ; Greenwood, C. S. ; Mowlem, T. J. ; Nechvatal, G. ; Widdowson, D. A. *Tetrahedron* 1988, 44, 7325-7334.

²¹³ Choshi, T. ; Yamada, S. ; Sugino, E. ; Kuwada, T. ; Hibino, S. *J. Org. Chem.* 1995, 60, 5899-5904.

²¹⁴ Yang, C. -G. ; Liu, G. ; Jiang, B. *J. Org. Chem.* 2002, 67, 9392-9396.

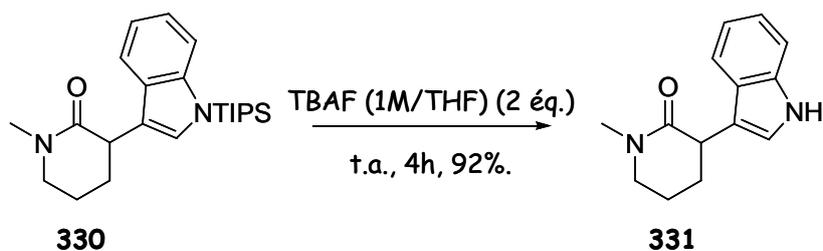


Schéma 94

VII.4.3 - Application au substrat 123

Les α -arylations sur le tricyclic 123 ont été réalisées selon les conditions testées lors de l'étude modèle avec du *sec*-BuLi comme base (Schéma 95).

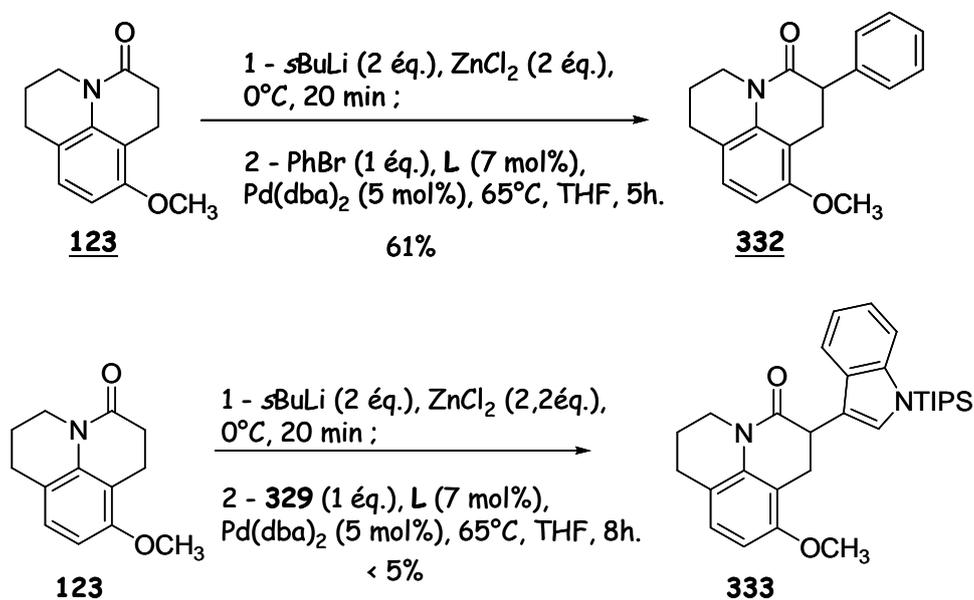


Schéma 95

Le produit 332, issu de l'arylation par le bromobenzène a été obtenu avec un bon rendement (61%). En revanche, le couplage avec le bromoindole 329 nous a donné un très faible rendement (5%). Ce résultat peut être expliqué, en partie seulement, par les difficultés de purification que nous avons rencontrées mais il faut noter que le dérivé indole 329 est récupéré à 80%. Ce type de dérivé indolique silylé n'est peut être pas très stable à la température de la réaction, il serait intéressant de refaire la réaction en changeant la nature du groupement protecteur sur l'amine. Cependant, notre objectif est atteint puisque nous avons correctement fonctionnalisé le tricyclic. Le clivage du groupement TIPS sur le composé 333 a pu être effectué de

la même manière que pour le dérivé de la *N*-méthylpiperidone **330** (Schéma 96). Le rendement en **334** est de 88%.

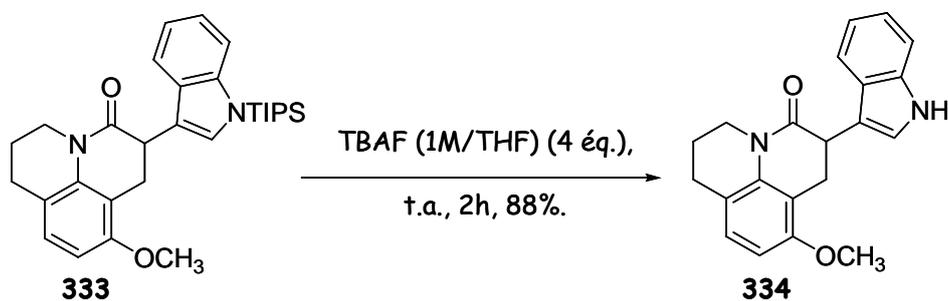


Schéma 96

Comme nous disposons d'une quantité suffisante du dérivé **334** pour les premiers tests biologiques et que le temps nous manquait, nous n'avons pas cherché à améliorer les rendements de la réaction de couplage.

Nous voici proches de la fin de la synthèse : le substituant aromatique a été correctement introduit, il reste donc à additionner la chaîne sur la fonction phénol. Il faudra préalablement déprotéger cette dernière. Par manque de temps et de produit, nous n'avons malheureusement pas pu effectuer ces deux étapes sur le dérivé indole **334**. Les derniers paragraphes ne concernent donc que les dérivés α -phényle **332** et monobenzylé **262**.

VII.5 - Libération de la fonction phénol

VII.5.1 - Composé **332**

Une fois le groupe aromatique en place, l'étape suivante consiste à libérer la fonction phénol. Le composé **335** est obtenu avec un rendement de 77%, suite au traitement de **332** par 5 équivalents de tribromure de bore dans le dichlorométhane (Schéma 97).

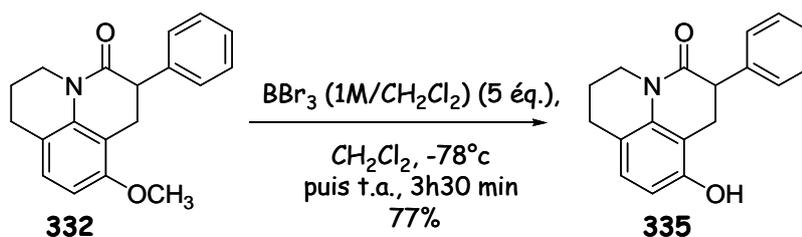


Schéma 97

VII.5.2 - Composé 262

VII.5.2.1 - Protection de la fonction énol

Il s'agissait tout d'abord de protéger la fonction énol du composé 262 car elle est susceptible d'entrer en compétition avec le phénol dans l'étape d'alkylation. Nous avons choisi pour cela le groupement pivaloyle (Schéma 98). Le produit 262 est mis en présence d'un léger excès de triéthylamine, d'une quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine (DMAP) et de deux équivalents de chlorure de pivaloyle dans le dichlorométhane, à température ambiante.²¹⁵ Le produit acylé 336 est obtenu de manière quantitative et utilisé par la suite sans purification supplémentaire.

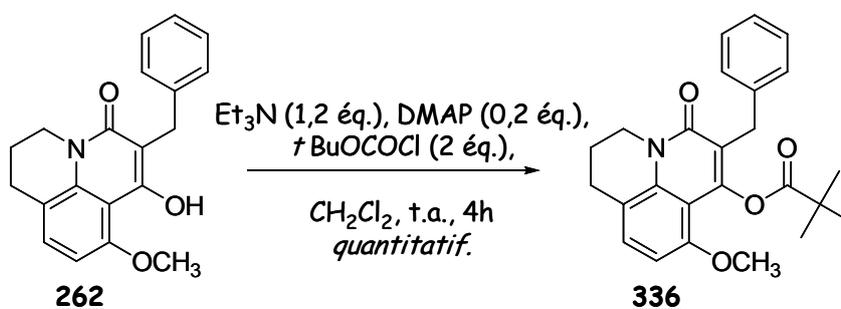


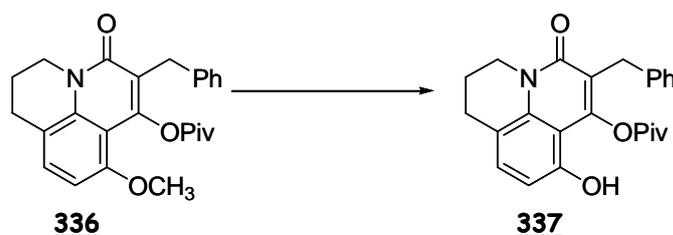
Schéma 98

²¹⁵ Hatano, A. ; Tanaka, K. ; Shiro, M. ; Shionoya, M. *Tetrahedron* 2002, 58, 2965-2972.

VII.5.2.2 - Clivage de l'éther aromatique^{216,217,218}

Nous avons tout d'abord eu recours au tribromure de bore BBr₃²¹⁹ mais notre substrat s'est montré particulièrement résistant (Tableau 21 - entrées 1 à 3).

Tableau 21 : libération de la fonction phénol de **336**.



| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|---|--------------|
| 1 | BBr ₃ (1M/CH ₂ Cl ₂) (1,5 éq.), CH ₂ Cl ₂ , 0°C puis 3h à t.a. | 336 . |
| 2 | BBr ₃ (1M/CH ₂ Cl ₂) (5 éq.), CH ₂ Cl ₂ , 0°C puis 5h à t.a. ; + BBr ₃ (1M/CH ₂ Cl ₂) (5 éq.), 3h à t.a. | 336 . |
| 3 | BBr ₃ (1M/CH ₂ Cl ₂) (10 éq.), CH ₂ Cl ₂ , 0°C, 2h puis 30h au reflux. | 336 . |
| 4 | TMSI (1,3 éq.), CHCl ₃ , 24h à t.a. ; + TMSI (1,3 éq.), 84h (1 semaine) à t.a.. | 336 . |
| 5 | Lil (8 éq.), 2,4,6-collidine, 180°C, 20h. | dégradation. |
| 6 | 1 - TIPSOTf (1 éq.à, THF, 10 min à t.a. ; 2 - Lil (1,5 éq.), collidine, 170°C, 23h ; 3 - + Lil (1,6 éq.), 170°C, 43h. | dégradation. |

L'iodure de triméthylsilyle²²⁰ est décrit comme un réactif efficace pour la déalkylation des esters, éthers et acétals en conditions neutres : dans certains cas, il constitue une alternative à

²¹⁶ a) Greene, T. W. ; Wuts, P. G. dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, 1999, 250-257; b) Larock, R. C. dans *Comprehensive Organic Transformations : A Guide to Functional Group Preparations*, Second Edition, Wiley-VCH, 1999, 249-282.

²¹⁷ a) Kunz, H. ; Waldmann, H. : "Protecting Groups" dans *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon Press, Oxford, New York, Seoul, Tokyo, Trost, B. M. Ed., 1991, 6, 647-696; b) Bhatt, M. V. ; Kulkarni, S. U. *Synthesis* 1983, 249-282.

²¹⁸ Weissman, S. A. ; Zewge, D. *Tetrahedron* 2005, 61, 7833-7863.

²¹⁹ a) McOmie, J. F. W. ; West, D. E. *Org. Syn.* 1973, 5, 412-414; b) Felix, A. M. *J. Org. Chem.* 1974, 39, 1427-1429; c) Miura, Y. ; Yamano, E. ; Miyazawa, A. ; Tashiro, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 1996, 359-364.

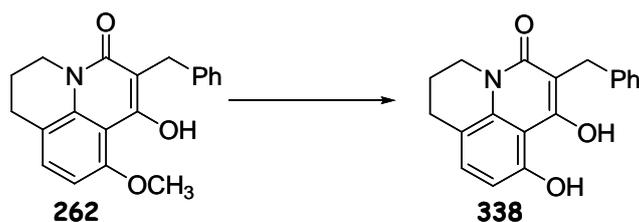
²²⁰ a) Jung, M. E. ; Lyster, M. A. *J. Org. Chem.* 1977, 42, 3761-3764; b) Morita, T. ; Okamoto, Y. ; Sakurai, H. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 1978, 874-875; c) Olah, G. A. ; Narang, S. C. ; Gupta, B. G. B. ; Malhotra, R. *J. Org. Chem.* 1979, 44, 1247-1251.

l'utilisation du tribromure de bore.²²¹ Malheureusement ce réactif est également resté sans effet (entrée 4). Dans chacune de ces expériences, le produit de départ **336** est récupéré quantitativement. Nous avons alors utilisé une méthode plus ancienne consistant à déméthyliser l'éther phénolique au moyen d'iodure de lithium (LiI) dissous dans la collidine.²²² Après chauffage au reflux durant 20h (entrée 5), le milieu réactionnel est complètement dégradé. Nous avons pensé que cette réaction de déméthylation pourrait être facilitée par la transformation de l'amide en iminium par ajout d'un équivalent de triflate de triisopropylsilyle (TIPSOTf). Le composé **336** a donc été mis à réagir avec un équivalent de TIPSOTf : le sel d'iminium est obtenu quantitativement, ceci est confirmé par l'observation, en RMN ¹H, d'un singulet large à 1,05 ppm (18H) et d'un multiplet à 0,86 ppm (3H), caractéristiques du groupement TIPS. Tous les autres signaux subissent un phénomène de déblindage, dû à la complexation de l'acide de Lewis sur l'oxygène. Ce sel est ensuite chauffé au reflux d'une solution d'iodure de lithium dans la collidine (entrée 6). Dans ce cas également, le milieu réactionnel s'est dégradé.

VII.5.2.3 - Autres essais au départ de **262**

Nous avons également fait quelques essais de libération du phénol sur le composé monobenzylé non protégé **262** (Tableau 22).

Tableau 22 : libération de la fonction phénol au départ de **262**.



| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|---|--------------|
| 1 | HBr (30% dans AcOH), AcOH, 11 jours à t.a. | 262 . |
| 2 | HBr (30% dans AcOH), AcOH, 100°C, 21h. | 262 . |
| 3 | HI (47% dans H ₂ O), AcOH, 6h à t.a. puis 100°C, 3 jours. | dégradation. |
| 4 | HI (47% dans H ₂ O), EtOH, 5h à t.a. puis 80°C, 6h, + HCl _{CC} , 80°C, 2 jours. | 262 . |

²²¹ Vickery, E. H. ; Pahler, L. F. ; Eisenbraun, E. J. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 4444-4446.

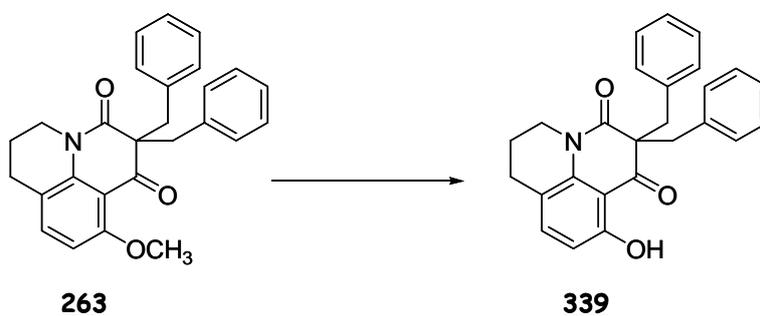
²²² a) Elsinger, F. ; Schreiber, J. ; Eschenmoser, A. *Helv. Chim. Acta* **1960**, *43*, 113-118; b) Harrison, I. T. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1969**, 616.

Le composé **262** a été mis en présence d'une solution d'HBr dans l'acide acétique, en faisant varier la température et le temps de réaction mais sans succès (entrées 1 et 2). L'utilisation d'acide iodhydrique²²³ n'a donné aucun résultat non plus (entrées 3 et 4).

VII.5.3 - Composé dibenzylé **263**

Disposant de quantités non utilisées du composé dibenzylé **263**, nous avons testé d'autres conditions expérimentales pour cette réaction de déméthylation (Tableau 23).

Tableau 23 : essais de déméthylation du composé **263**.



| Entrée | Conditions | Produit(s) |
|--------|--|--|
| 1 | L-Sélectride (1M/THF) (6 éq.), reflux, 3 jours. | dégradation. |
| 2 | DIBAlH (20% dans toluène) (2 éq.), 17h à t.a. puis 4h à 60°C et 18h à 110°C. | 263 (11%) 340 (25% environ). |
| 3 | DIBAlH (20% dans toluène) (6 éq.), 110°C, 12h. | 341 (30% environ) + présence de 340 . |
| 4 | HBr (30% dans AcOH), AcOH, 12h à t.a. | 262 (78%) 339 (22%). |
| 5 | HBr (30% dans AcOH), AcOH, 100°C, 30 min. | 262 (80%). |

L'hydrure de trisécbutylborohydride de lithium (L-sélectride : Li(*s*-Bu)₃BH), s'est révélé être un agent déméthylant efficace pour des dérivés arylméthyléthers^{224,225}. A nouveau, nous obtenons un mélange complexe et le produit de départ n'a pas pu être récupéré (entrée 1). Par contre, l'utilisation de l'hydrure de diisobutylaluminium (DIBAlH : (*i*-Bu)₂AlH),²²⁶ en chauffant progressivement le milieu jusqu'à 110°C, a conduit à la formation d'un nouveau produit **340** (entrée 2). L'hydrure a réduit les deux fonctions carbonyle et amide du produit de départ mais le groupe méthoxyle est intact (Figure 54). Le

²²³ Van Gompel, J. ; Schuster, G. B. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1465-1468.

²²⁴ Majetich, G. ; Zhang, Y. ; Wheless, K. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8727-8730.

²²⁵ Coop, A. ; Janetka, J. W. ; Lewis, J. W. ; Rice, K. C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4392-4396

²²⁶ Winterfeldt, E. *Synthesis* **1975**, 617-630.

rendement en **340** et la quantité de produit de départ récupéré sont faibles (25% et 11%) : il y a une forte dégradation du milieu réactionnel. En présence de 6 équivalents d'hydrure au reflux, la présence du produit **340** a pu être de nouveau observée dans le spectre de masse du mélange brut. De plus, 30% du composé **341** sont isolés : la déméthylation semble donc plus lente et défavorisée par rapport à la réaction de réduction.

Nous avons ensuite chauffé le produit de départ en présence d'acide bromhydrique à 30% dans l'acide acétique (entrées 4 et 5).²²⁷ A température ambiante, le produit **263** subit une réaction de débenzylation pour donner **262** (78%), accompagné de 22% du produit désiré **339**. Au reflux de l'acide acétique, la réaction de débenzylation est complète et **262** est le seul produit isolé (80%).

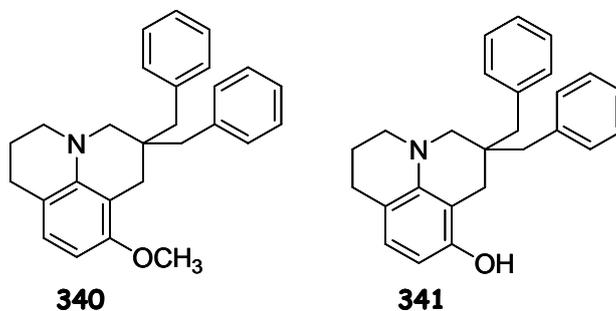


Figure 54

VII.5.4 - Proposition de mécanisme

Cette réaction de débenzylation pourrait s'expliquer par l'attaque nucléophile de l'ion bromure sur l'espèce protonée **263a** conduisant ainsi au dérivé **262**. Ce dernier est stabilisé par la conjugaison de la fonction amide et de la double liaison avec le cycle aromatique (Schéma 99). Cet événement est clairement favorisé par rapport à la déméthylation, d'après les observations précédentes.

²²⁷ a) Doxsee, K. M. ; Feigel, M. ; Stewart, K. D. ; Canary, J. W. ; Knobler, C. B. ; Cram, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3098-3107 ; b) Adam, W. ; Reinhardt, D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1997**, 1453-1463 ; c) Lowden, C. T. ; Bastow, K. F. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5015-5020.

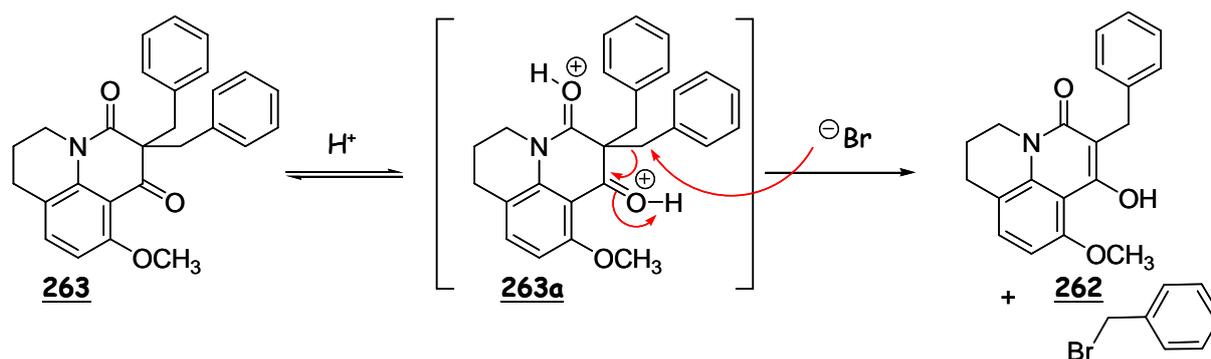


Schéma 99

Une fois le produit monobenzylé formé, il n'y a plus aucune réaction de déméthylation, que ce soit à température ambiante ou au reflux (cf. VII.5.2.3 -). Le composé **262** est totalement conjugué ce qui lui confère une très grande stabilité (Figure 55). Une liaison hydrogène pourrait aussi s'établir entre l'hydrogène de la fonction énonol et l'oxygène du groupement méthoxyle, renforçant ainsi la stabilité de la forme conjuguée.

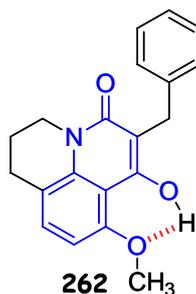
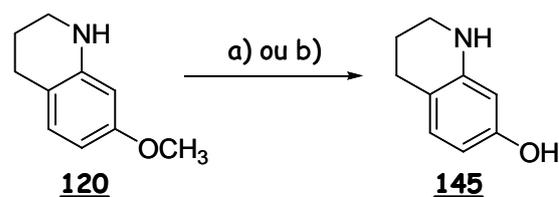


Figure 55

La 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **120** a pu être déprotégée avec succès en présence d'acide bromhydrique ou de tribromure de bore. La 7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **145** est obtenue avec de bons rendements (69% et 67%) (Schéma 100). Ce résultat va dans le sens de l'hypothèse émise précédemment car, dans le cas présent, le groupement $-OCH_3$ est seulement conjugué avec le cycle aromatique.



- a) HBr (30% dans AcOH), AcOH, 100°C, 24h, 69%.
 b) BBr₃ (1M/CH₂Cl₂) (3 éq.), -78°C puis t.a., CH₂Cl₂, 1h, 67%.

Schéma 100

Nous avons donc décidé d'abandonner cette étape de déméthylation. Notre première idée a été de repartir de la 7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **145** mais cette stratégie n'a rien donné (cf. VI.5.4.3 -).

VII.6 - Essais de fixation d'une chaîne sur le phénol

VII.6.1 - Etude modèle

Pour mettre au point les conditions d'introduction de la chaîne, nous avons choisi de travailler sur un composé modèle, la 8-hydroxyjulolidine **342**, dont la structure est assez proche de celle de notre substrat. Notre premier objectif étant le greffage du motif $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$, nous avons tout d'abord fait réagir le composé modèle avec l'acide 3-bromopropanoïque **343** dans l'acétone (Schéma 101). Deux équivalents de carbonate de potassium ont été employés ainsi qu'une quantité catalytique d'iodure de sodium pour réaliser l'échange brome/iode *in situ* et bénéficier ainsi d'un meilleur nucléofuge.

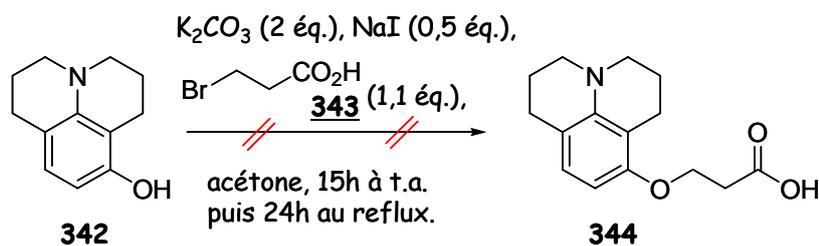
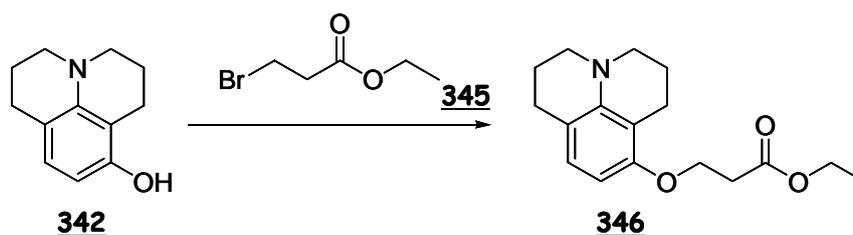


Schéma 101

Dans ces conditions, nous obtenons un mélange complexe et ni le produit attendu **344** ni le produit de départ n'ont pu être récupérés. Les essais suivants ont été réalisés en utilisant le 3-bromopropanoate d'éthyle **345**, afin de s'affranchir d'éventuelles réactions entre le groupement acide terminal et la base. De plus, nous disposerons ainsi au final d'un dérivé supplémentaire à partir duquel il sera facile de générer l'acide, par saponification de la fonction ester.

Plusieurs conditions ont donc été essayées au départ de la 8-hydroxyjulolidine **342**, avec le 3-bromopropanoate d'éthyle **345** (Tableau 24).

Tableau 24 : essais de *O*-alkylation de 342 par le 3-bromopropanoate d'éthyle 345.



| Entrée | Conditions | Résultats |
|--------|---|-----------|
| 1 | K ₂ CO ₃ (1 éq.), KI (0,5 éq.), 345 (1 éq.), acétone, 22h au reflux ; + K ₂ CO ₃ (1,4 éq.), 345 (4 éq.), CH ₃ CN, 22h à 80°C. | 342. |
| 2 | NaH (2 éq.), THF, 0°C, 15 min puis 345 (2 éq.), 2h à t.a. puis 20h au reflux ; + tBuOH _{cat.} , 24h au reflux. | 342. |
| 3 | <i>t</i> BuOK (2 éq.), 345 (2,2 éq.), THF, 4h à t.a. puis 22h au reflux. | 342. |
| 4 | Et ₃ N (2 éq.), DMAP (0,5 éq.), 345 (2 éq.), CHCl ₃ , 3h à t.a. puis 60°C, 19h. | 342. |
| 5 | 1 - NaOMe (1 éq.), MeOH, 1h à t.a. puis évaporation ; 2 - MeOH, acrylate de méthyle (2,3 éq.), 18h à t.a. puis 8h au reflux. | 342. |
| 6 | 1 - NaOMe (1 éq.), MeOH, 1h à t.a. puis évaporation ; 2 - CH ₂ Cl ₂ , 345 (2,2 éq.), 30h à t.a. puis 40°C, 17h + 18-c-6, 22h au reflux. | 342 |

Les conditions les plus simples, à savoir K₂CO₃/KI^{228,229} dans l'acétone ou dans l'acétonitrile (entrée 1) n'ont donné lieu à aucune réaction. L'utilisation de bases plus fortes comme l'hydrure de sodium ou le *tert*butanolate de potassium est également restée sans effet (entrées 2 et 3).²³⁰ La réaction en présence de triéthylamine et de 4-diméthylaminopyridine a également redonné les réactifs de départ (entrée 4). Le composé 342 est systématiquement récupéré de façon quantitative. Nous avons ensuite choisi d'utiliser l'acrylate de méthyle au lieu du dérivé bromé correspondant. Pour éviter une réaction secondaire d'addition de la base sur l'acrylate, nous avons procédé par étapes : le phénolate a tout d'abord été formé, puis mis en présence de l'agent

²²⁸ Tercel, M. ; Stribbling, S. M. ; Sheppard, H. ; Siim, B. G. ; Wu, K. ; Pullen, S. M. ; Botting, K. J. ; Wilson, W. R. ; Denny, W. A. *J. Med. Chem.* 2003, 46, 2132-2151.

²²⁹ Marshall, W. S. ; Goodson, T. ; Cullinan, G. J. ; Swanson-Bean, D. ; Haisch, K. D. ; Rinkema, L. E. ; Fleisch, J. H. *J. Med. Chem.* 1987, 30, 682-689.

²³⁰ a) Gualtieri, F. ; Bottalico, C. ; Calandrella, A. ; Dei, S. ; Giovannoni, M. P. ; Mealli, S. ; Romanelli, M. N. ; Scapecchi, S. ; Teodori, E. *et al. J. Med. Chem.* 1994, 37, 1712-1719; b) Baraldi, P. G. ; Balboni, G. ; Cacciari, B. ; Guiotto, A. ; Manfredini, S. ; Romagnoli, R. ; Spalluto, G. ; Thurston, D. E. ; Howard, P. W. ; Bianchi, N. ; Rutigliano, C. ; Mischiati, C. ; Gambari, R. *J. Med. Chem.* 1999, 42, 5131-5141.

alkylant^{229,231} (entrées 5 et 6). Aucun des essais avec chacun des deux agents alkylants n'a donné de résultats.

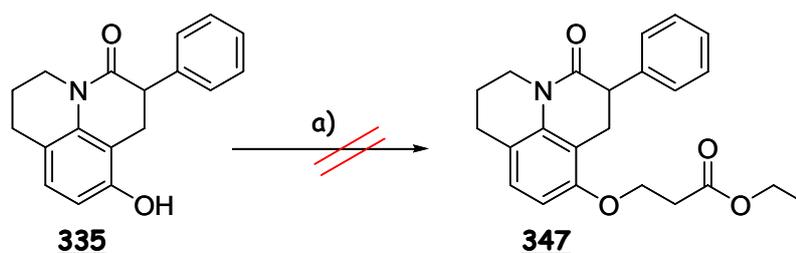
Face à cette absence de réactivité de la 8-hydroxyjulolidine vis-à-vis des différents réactifs employés, plusieurs hypothèses peuvent être émises :

(1) l'anion phénolate est probablement délocalisé sur l'ensemble du cycle aromatique ce qui diminue sa réactivité ;

(2) le caractère basique de l'amine tertiaire de la 8-hydroxyjulolidine 342 est très différent de celui de notre substrat 335 qui comporte une fonction amide (et non amine tertiaire). Si l'amine joue elle-même le rôle de base, la base introduite devient un réactif inutile qui favoriserait l'élimination de la chaîne plutôt que son addition.²²⁹ Une solution à ce problème serait de varier progressivement la quantité de base introduite (par exemple, utiliser 0,5 équivalent d'acrylate de méthyle) mais cela n'a pas pu être fait par manque de temps.

VII.6.2 - O-alkylation du lactame 335

Nous avons tout d'abord travaillé avec le 3-bromopropanoate d'éthyle 345 (Schéma 102).



a) NaH (1,4 éq.), THF, 0°C, 30 min puis Br(CH₂)₂CO₂Et (1,5 éq.), 3h à t.a., 3h au reflux ; + (3 éq.) Br(CH₂)₂CO₂Et, reflux, 25h.

Schéma 102

Le produit de départ 335 a été mis en présence d'un excès d'hydrure de sodium dans le THF, puis 1,5 équivalents de dérivé bromé ont été ajoutés. Aucune réaction n'a été observée, que ce soit à température ambiante ou au reflux (jusqu'à 25h). 3 équivalents d'agent alkylant ont donc été de nouveau additionnés : après 25h de réaction supplémentaires au reflux du THF, seul le produit de

²³¹ Hall, R. H. ; Stern, E. S. *J. Chem. Soc.* 1949, 2035-2037.

départ **335** a été récupéré à seulement 47%. Aucun autre produit n'a pu être identifié. Il est possible que la base déprotone le proton en α de l'amide, il faudrait donc utiliser un plus large excès de base ou bien utiliser une réaction de Mitsunobu pour éviter des conditions trop basiques.

Cette étape de greffage de la chaîne n'est donc pas si triviale qu'elle aurait pu le paraître au premier abord. Nous manquons de produit et de temps pour poursuivre cette étude. Nous avons du prendre la décision de nous arrêter à ce stade et de soumettre les composés **332**, **335** et **334** aux tests biologiques (Figure 56). Ces composés seront évalués pour leur activité vis-à-vis de Bax et leur aptitude à provoquer ou non le changement conformationnel de la protéine.

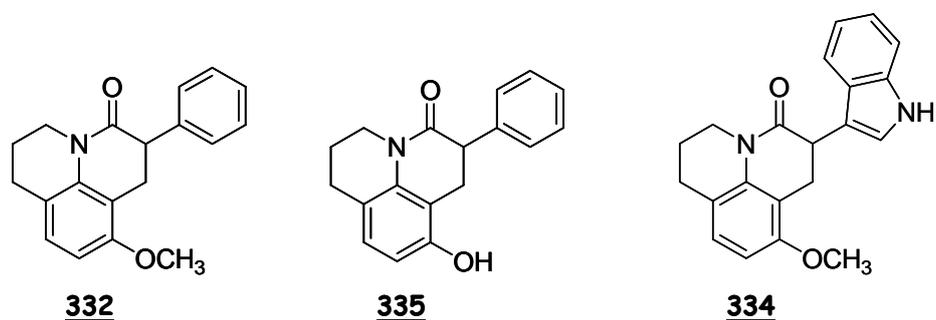


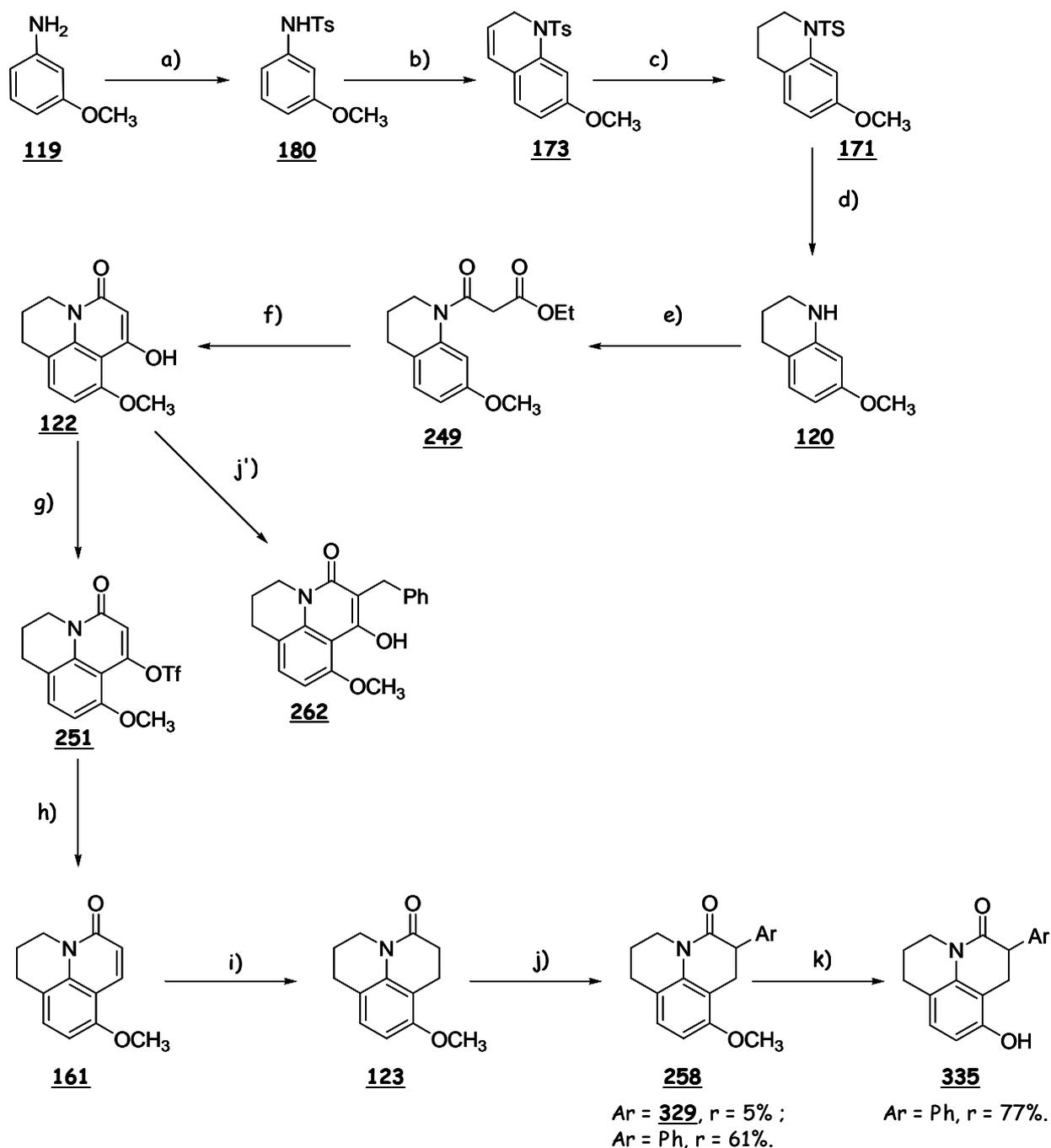
Figure 56

CONCLUSION & PERSPECTIVES

VIII.1 - Bilan des synthèses

Nous avons donc mis au point une voie d'accès aux composés de formule générale **258** (Schéma 103). Deux types de dérivés ont pu être synthétisés : (1) avec un groupe indole en α de l'amide, en 10 étapes avec un rendement global de 0,3% et (2) avec un groupement phényle en α de l'amide, en 10 étapes également avec un rendement global de 4%. Ce dernier dérivé a pu être déprotégé au niveau de la fonction phénol pour donner le composé **335** (77%). La plupart des étapes ont des rendements moyens qu'il faudra optimiser mais globalement cette stratégie est rapide et facile à mettre en oeuvre. Son principal avantage est qu'elle permet d'introduire facilement de la diversité structurale. En effet, l'introduction du groupe aromatique et de la chaîne type glutamique a lieu lors des toutes dernières étapes de la synthèse. Il est également envisageable d'introduire de nouvelles fonctionnalités au niveau des dérivés **122**, **251**, **161** et **123**.

Ainsi, même si nous n'avons pas pu finir la synthèse des dérivés initialement prévus, nous avons mis en place un schéma synthétique grâce auquel nous pourrons synthétiser un grand nombre de dérivés, une fois que (les) dernière(s) étape(s) auront été finalisées.



a) *p*TsCl (1,3 éq.), pyridine, 80°C, 30 min, 94% ; b) 1 - acroléine (5éq.), Et₃N (0,1 éq.), MeOH, 0°C puis t.a., 10 min ; 2 - HCl 3M/THF, 80°C, 30 min, 40% ; c) H₂, Pd/C (10%) 10% massique, EtOH, t.a., 98% ; d) HCl_{cc}, AcOH/PrCO₂H/H₂O, 100°C, 7h, 70-78% ; e) C₅H₇ClO₃ (1,1 éq.), DIEA (1,5 éq.), CH₂Cl₂, t.a., 12h, 86% ; f) APP, 120°C, 1h, 56-70% ; g) LDA (1,2 éq.), PhNTf₂ (1,2 éq.), THF, -78°C à t.a. puis t.a., 6h, 59% ; h) Pd(PPh₃)₄ (4 mol%), LiCl (3 éq.), Bu₃SnH (2 éq.), THF, 70°C, 3h, 62% ; i) Mg (10 éq.), MeOH, ultrasons (1h), puis t.a., 12h, 51-71% ; j) 1 - sec BuLi (2 éq.), ZnCl₂ (2,2éq.), 0°C, 20 min ; 2 - ArBr (1 éq.), L (7 mol%), Pd(dba)₂ (5 mol%), 65°C, THF, 8h ; k) BBr₃ (1M/CH₂Cl₂) (5 éq.), CH₂Cl₂, -78°C puis t.a., 3h30 min ; j') 1 - K₂CO₃ (1 éq.), DMF, 0°C, 45 min ; 2 - BnBr (1 éq.), 2h à t.a. , 62%.

Schéma 103

VIII.2 - Perspectives

VIII.2.1 - Synthèse de 349, 26 et 352

Il s'agira bien entendu, de finir la synthèse des composés 349 et 26 (Schéma 104). Une fois la fonction phénol libérée, la chaîne pourrait être introduite au moyen d'une réaction de Mitsunobu. Il pourrait également être envisagé de réduire la fonction énol du dérivé benzylé 262 (via un couplage avec le triflate correspondant par exemple) de façon à pouvoir effectuer l'étape suivante de déméthylation et former le composé 352.

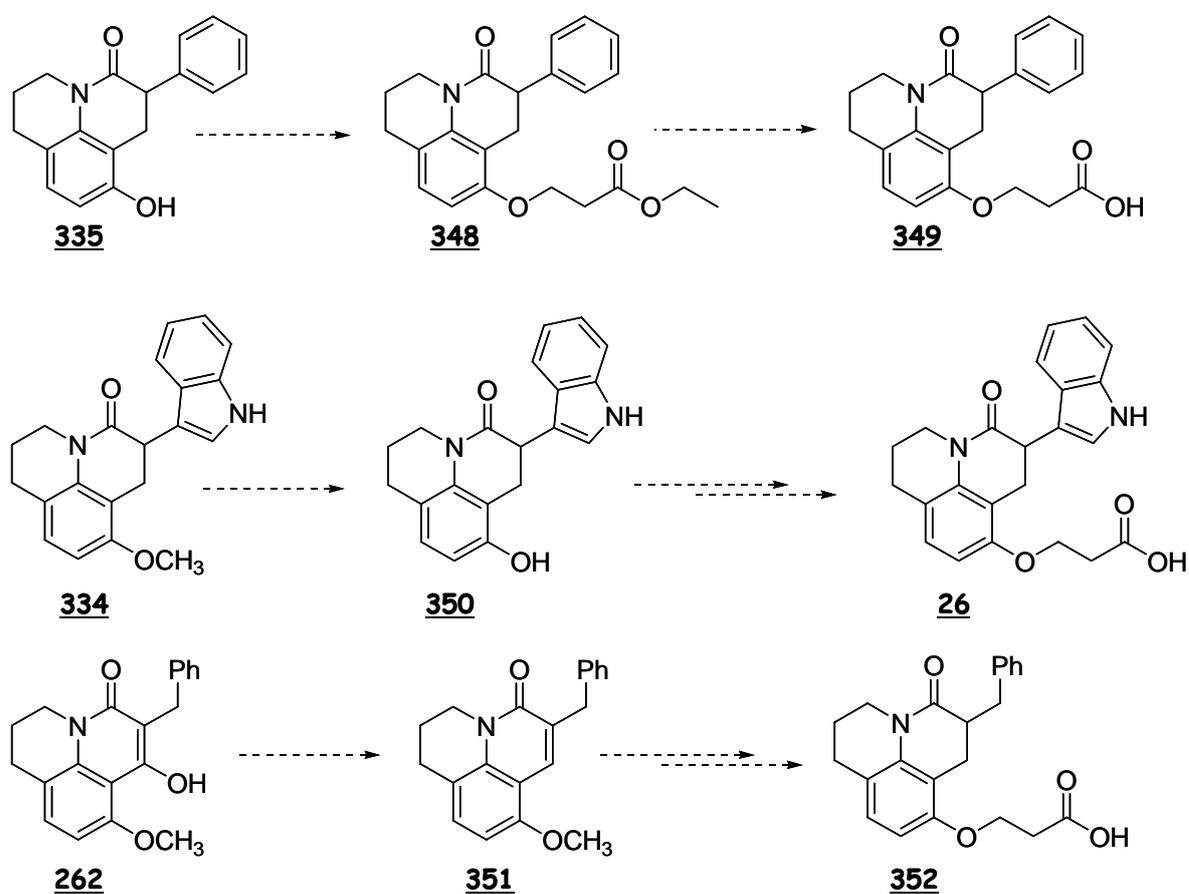


Schéma 104

VIII.2.2 - Synthèse de dérivés

Il faudra ensuite envisager de synthétiser plusieurs dérivés, en faisant varier (1) la nature du groupement aromatique, (2) la longueur de la chaîne et (3) la nature du groupement terminal de cette dernière (Schéma 105).

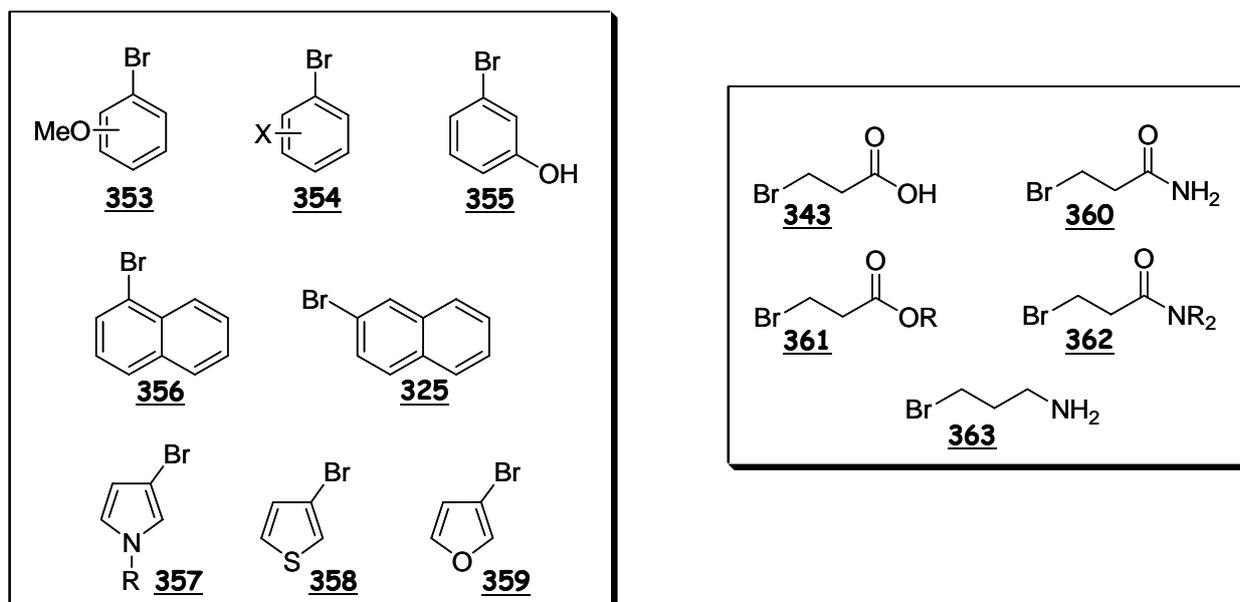
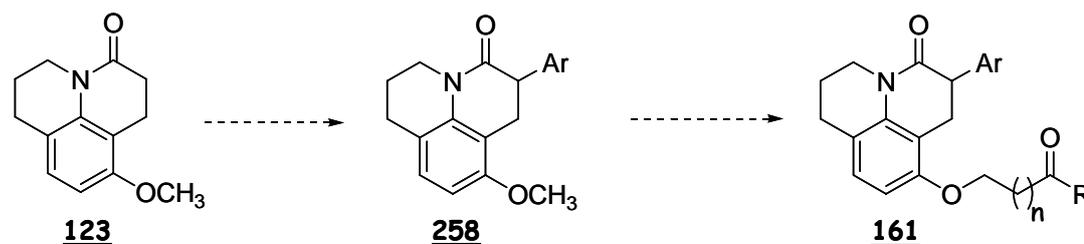


Schéma 105

Ceci devrait permettre d'établir une première étude SAR et de vérifier le bien-fondé de l'hypothèse de départ.

VIII.2.3 - Optimisation du schéma de synthèse

Si les tests biologiques se révélaient concluants, il faudrait alors améliorer le schéma réactionnel, voire même le modifier, afin d'optimiser les étapes limitantes.

VIII.3 - Principe des Tests Biologiques

Le pouvoir proapoptotique des molécules synthétisées pourra être évalué dans les cellules vivantes par cytométrie de flux et microscopie de fluorescence. En fonction des résultats obtenus, les composés sélectionnés seront analysés *in vitro* afin de déterminer leur affinité et leur spécificité pour la protéine Bax. L'équipe de F. Ichas (IECB) a récemment mis au point une nouvelle méthode permettant de détecter l'activation de Bax sur cellules vivantes par cytométrie de flux.^{6,232,233} Ce test permet d'évaluer et de quantifier l'activation de l'apoptose dépendante de Bax dans une population cellulaire à haut débit. Cette procédure constitue donc un outil précieux pour évaluer les propriétés proapoptotiques de n'importe quel composé.

Tout ceci a été rendu possible par la mise au point préalable d'un clone cellulaire qui exprime de façon stable une protéine chimérique Bax-GFP (cf. chapitre 2 - II.1.2.1-). Rappelons que la protéine GFP est une protéine naturellement fluorescente (excitation à 488 nm et émission à 530 nm). Il a bien sûr été vérifié que la protéine GFP n'affecte en rien les propriétés et la localisation de Bax.⁶ L'observation de l'intensité de fluorescence de Bax-GFP se fera donc par cytométrie de flux : un cytomètre de flux (Figure 57) est un spectrofluorimètre multi-longueur d'onde qui permet de numériser la fluorescence de cellules (en l'occurrence à 530 nm) passant dans un faisceau d'excitation laser (488 nm). Le flux de passage est très élevé (de l'ordre de 2000 à 3000 cellules/seconde), ce qui permet d'effectuer, *in vivo*, des mesures individuelles sur de grandes populations de cellules, très rapidement.

²³² Ichas, F. ; De Giorgi-Ichas, F. ; Piazza, P. V. ; Dessolin, J. ; Schembri, L. ; Tomasello, F. ; Lartigue, L. ; INSERM, Brevet : FR0308186, 2005, 30 p.

²³³ Ichas, F. ; De Giorgi-Ichas, F. ; Piazza, P. V. ; Dessolin, J. ; Schembri, L. ; Tomasello, F. ; Lartigue, L. ; INSERM, Brevet : WO2005012913, 2005, *en cours de demande*.



Figure 57 : cytomètre de flux.

En revanche, l'appareil n'offre aucune résolution spatiale, c'est-à-dire qu'il est impossible de savoir où se situe le signal de fluorescence dans la cellule. Cela signifie donc que la localisation de Bax-GFP dans la cellule nous est inaccessible. C'est pour cela que les auteurs de cette procédure ont eu recours à la digitonine : il s'agit d'un composé qui peut perméabiliser sélectivement la membrane plasmique, sans altérer la membrane mitochondriale (elle se lie au cholestérol membranaire qui est totalement absent de la membrane mitochondriale interne), c'est-à-dire la percer de multiples pores qui vont laisser échapper une grande partie du contenu de la cellule. Ainsi deux cellules A et B (Figure 58), soumises à un stimulus apoptotique, ne peuvent pas être différenciées pour ce qui est de la localisation de Bax : l'intensité de fluorescence globale est la même dans les deux cas, comme le montrent les deux graphes correspondants. Une fois soumises à l'action de la digitonine, toutes les protéines Bax-GFP en solution dans le cytoplasme diffusent dans le milieu extracellulaire ce qui provoque une forte diminution de la fluorescence de la cellule : le pic est alors décalé vers la gauche (cellule B'). En revanche, la cellule A', dans laquelle Bax-GFP est relocalisée et ancrée sur la membrane mitochondriale, conserve la même intensité de fluorescence.

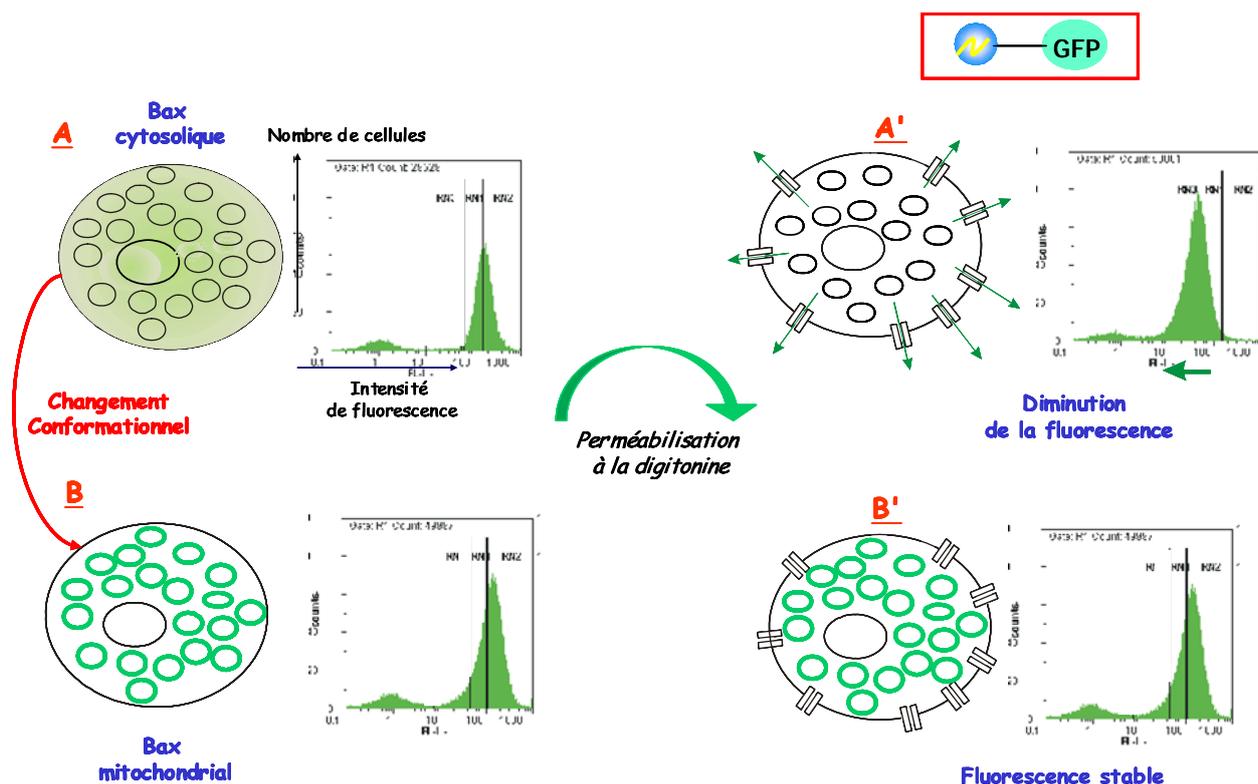


Figure 58 : représentation schématique de l'observation de la localisation cellulaire de Bax-GFP.

Ainsi, cette nouvelle méthode permettra d'évaluer l'aptitude ou non de nos composés à provoquer la relocalisation de Bax du cytosol vers la membrane mitochondriale, et donc leur influence sur son changement conformationnel.

VIII.4 - Evolution du projet

Parallèlement à ce travail basé sur le "Drug-Design", une étude similaire a été menée au sein du groupe de F. Ichas (cf. chapitre 2),⁶ avec une approche plus fondamentale. Nous avons souhaité rapporter ici certains des résultats obtenus, ainsi que les nouvelles hypothèse sur le rôle de Bax qui ont été formulées à l'issue de ces travaux.

VIII.4.1 - Influence de peptides mimant une portion de l'hélice $\alpha 9$

La stratégie est de synthétiser des peptides, répliques d'une partie de l'hélice C-terminale, afin de rompre les interactions existant entre les hélices $\alpha 4$ et $\alpha 9$, au profit de nouvelles

Chapitre 8 : Conclusion & Perspectives.

interactions peptide/ α 4. Ce travail repose sur les mêmes hypothèses, issues de la modélisation moléculaire et de la littérature, que celles sur lesquelles nous nous sommes basées⁵² (cf. chapitre 3). Le principe est donc le suivant :

1- synthèse de peptides, répliques de la séquence de l'hélice α 9 au voisinage de Ser184, en changeant seulement la nature de cet acide aminé. 10 résidus ont été retenus, afin d'établir un compromis entre la séquence minimale nécessaire pour une structuration en hélice α et un encombrement stérique minimum. Quatre décapeptides ont été synthétisés (Figure 59) en changeant la sérine par une lysine, un acide aspartique et un acide glutamique. Ces acides aminés ont été retenus en particulier car ils sont connus pour générer une conformation inactive de Bax, donc une forte affinité de α 9 pour α 4 ;

2 - introduction du peptide dans la cellule : la méthode la plus efficace a été de faire pénétrer le peptide sous forme fusionnée avec un peptide de 16 résidus, la penetratin, qui est capable de traverser les membranes biologiques ;

3 - étude de l'influence du peptide sur la relocalisation de Bax, en particulier par cytométrie de flux.

| | | | |
|---------------------------------|---|-------------------------|------------|
| position sur α 9 : | (181) | (184) | (187)(188) |
| séquence isolée de α 9 : | -Leu-Thr-Ala-Ser-Leu-Thr-Ile-Trp-Lys-Lys- | → vers extrémité C-term | |
| peptide témoin 1 : | Leu-Thr-Ala-Ser-Leu-Thr-Ile-Trp-Lys-Lys | | |
| peptide 2 : | Leu-Thr-Ala-Lys-Leu-Thr-Ile-Trp-Lys-Lys | | |
| peptide 3 : | Leu-Thr-Ala-Asp-Leu-Thr-Ile-Trp-Lys-Lys | | |
| peptide 4 : | Leu-Thr-Ala-Glu-Leu-Thr-Ile-Trp-Lys-Lys | | |

Figure 59 : séquence des décapeptides synthétisés.

Seul le peptide 4 a été testé (mutation de Ser par Glu) : son insertion dans les cellules provoque une relocalisation de GFP-Bax le long de la mitochondrie, dans 30 à 40% des cellules. Ce phénomène est bien dû au peptide et non à la penetratin car cette dernière seule donne un profil de fluorescence différent du précédent. Des études complémentaires restent encore à faire comme, par exemple, vérifier la localisation exacte du peptide par rapport à Bax.

VIII.4.2 - Etude de la fonction de l'hélice $\alpha 9$

Quatre protéines chimériques ont également été préparées : (1) Bax sans les 21 acides aminés C-terminaux, (2) Bax avec les 21 acides aminés C-terminaux d'une autre protéine, (3) les 21 acides aminés C-terminaux de Bax fusionnés à la GFP et (4) la même qu'en (3) mais sans Ser184.

Les analyses par cytométrie de flux et microscopie ont permis d'observer :

- que Bax sans son hélice C-terminale était exclusivement localisée dans le cytosol, que l'apoptose soit induite ou non, mais qu'elle conservait cependant ses propriétés proapoptotiques ;
- que la GFP fusionnée aux acides aminés N-terminaux restait dans le cytosol mais que son analogue sans Ser184 était localisée au niveau de la mitochondrie ;
- que Bax avec une séquence C-terminale différente conservait ses propriétés de multimérisation et son pouvoir proapoptotique.

Ces observations, combinées avec les données de la littérature (cf. chapitres 2) remettent en cause le rôle de l'hélice C-terminale en tant qu'ancre transmembranaire. S'il est évident qu'elle est essentielle à la relocalisation de Bax vers la mitochondrie, elle pourrait être vue plutôt comme une séquence de reconnaissance de la membrane mitochondriale. Le résidu Ser184 semble toujours aussi important, sans pour autant que sa fonction ait été clairement élucidée.

VIII.4.3 - Rôles des acides aminés Glu90, Arg94 et Asp98

La substitution de deux ou trois de ces acides aminés de l'hélice $\alpha 4$, identifiés lors de la modélisation moléculaire comme partenaires potentiels de Ser184, par un acide aminé neutre comme la leucine, conduit à une conformation de Bax complètement localisée à la membrane mitochondriale (toujours suite à un stimulus apoptotique), sous forme agrégée. La phase de latence entre la localisation à la mitochondrie et le déclenchement des phénomènes d'oligomérisation a totalement disparu.

VIII.5 - Conclusion générale

Ainsi la combinaison des études de modélisation moléculaire et des observations résultant des travaux des biologistes a conduit à l'élaboration d'un projet ambitieux, totalement nouveau. Si la synthèse des dérivés cibles s'est avérée plus problématique et plus longue que prévue, l'enjeu reste toujours aussi intéressant. Les connaissances sur le mode d'action de Bax au cours de l'apoptose ont évolué durant ce travail de thèse et l'approche initialement présentée pourrait être remise en cause. Cependant, la mutation des acides aminés 90, 94 et 98 a mis en évidence le rôle crucial de ces résidus dans la rétention de l'hélice $\alpha 9$ dans la cavité hydrophobe. Enfin, les premiers tests peptidiques présentés plus haut vont également dans le sens de nos hypothèses. Les résultats de l'évaluation biologique de nos composés et des dérivés qui vont probablement suivre seront donc attendus avec impatience.

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 9

PARTIE EXPERIMENTALE

IX.1 - Généralités

IX.1.1 - Modélisation Moléculaire

Les calculs ont été effectués sur une station SGI Octane en utilisant le logiciel MacroModel version 6.5. Les minima conformationnels ont été trouvés en utilisant le champ de force modifié MM3 ou AMBER tels qu'ils sont implantés dans MacroModel. Les structures ont été minimisées jusqu'à un RMS de gradient de 0,005 kJ.Å⁻¹.mol⁻¹ *via* la méthode Truncated Newton Conjugated Gradient (TNCG, 500 cycles). L'exploration de l'espace conformationnel a été effectuée en utilisant la méthode Monte-Carlo, telle qu'elle est implantée dans MacroModel. Les options par défaut ont été choisies, à savoir : (1) toutes les liaisons simples non cycliques sont considérées comme libres, les centres chiraux (s'il y en a) sont préservés, tous les cycles flexibles sont ouverts. Afin d'assurer la convergence des calculs, 1500 essais au moins ont été effectués par structure et chaque conformation a été minimisée comme précédemment. Les conformations présentes dans une fenêtre de 50 kJ.mol⁻¹ ont été conservées et chacune a été comparée à toutes celles déjà présentes et considérées comme différente si au moins une paire d'atomes diffère de plus de 0,3 Å. Les essais successifs ont été systématiquement effectués à partir de la conformation la moins fréquente (VdW = 8 Å, électrostatique = 20 Å, liaisons-H = 4 Å). Le solvant utilisé est l'eau, en tant que solvant implicite.

Le docking automatique a été réalisé à l'aide du module Affinity du logiciel INSIGHT II. La simulation est réalisée dans le vide. La protéine Bax est utilisée dans sa conformation telle qu'elle est décrite par Suzuki et *al.*³⁰, sans les domaines *N*-terminal (résidus 1 à 15) et *C*-terminal (résidus 170 à 192). Pour ce qui est de la molécule étudiée, la conformation de départ est celle qui a présenté le plus d'adéquation avec le tripeptide modèle lors de la superposition. Le "site actif" de la protéine est défini par tous les acides aminés de Bax possédant au moins un atome à moins de 10 Å d'un des atomes de la molécule cible. Seules les chaînes latérales du site actif de la protéine précédemment défini sont flexibles. L'expérience a alors lieu en deux temps :

(1) une première étape grossière de recherche de "poses" : un ensemble de conformations est généré aléatoirement par la méthode de Monte-Carlo, suivie, pour chaque conformation, d'une "pose" dans le site actif de la protéine, combinée avec une minimisation simple (méthode par la dérivée première - 500 cycles). Entre chaque essai, le maximum de déplacement autorisé est de 3 Å (par rapport à la position précédente). Les interactions de Van der Waals ne sont prises en compte qu'à 10% de leur valeur et les interactions électrostatiques ainsi que les liaisons hydrogène sont ignorées. Le processus est répété jusqu'à pouvoir isoler 50 solutions viables qui sont ensuite classées énergétiquement, pour ne conserver que les dix meilleures ;

(2) un deuxième essai plus fin : tous les types d'énergie sont de nouveau pris en compte (Van der Waals à 100% et méthode dite "Cell multipole" pour les interactions électrostatiques). Les dix solutions sont de nouveau minimisées (100 cycles) puis chaque conformation est soumise à 50

étapes de "simulated annealing" ou recuit simulé, en refroidissant de 500 K à 300 K en 100 fs. Une dernière minimisation (1000 cycles) permet de reclasser les 10 solutions obtenues.

IX.1.2 - Solvants et Réactifs

Les produits commerciaux ont été utilisés sans purification préalable à l'exception du dichlorure de zinc (ZnCl_2) qui est séché toute une nuit à 100°C sous pression réduite (rampe à vide) et du *N*-bromosuccinimide (NBS) qui est recristallisé dans l'eau (cristaux blancs). La pyridine, la triéthylamine et la diisopropyléthylamine sont séchées à reflux sur hydrure de calcium puis distillées avant emploi.

Les solvants utilisés en synthèse sont séchés à reflux et distillés avant emploi :

- ✦ le dichlorométhane et le chloroforme deutéré sur hydrure de calcium ;
- ✦ le THF est préséché sur potasse, séché à reflux sur sodium/benzophénone puis distillé.
- ✦ le DMF est séché 24h sur tamis moléculaire 3Å, distillé sur hydrure de calcium sous pression réduite puis stocké sur tamis moléculaire 4Å.

Le chloroforme deutéré utilisé pour les analyses RMN est conservé sur tamis moléculaire 4Å.

Les réactions sont réalisées sous atmosphère inerte (argon ou azote).

IX.1.3 - Purifications et Analyses

IX.1.3.1 - Techniques de purification

Le suivi des réactions par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) a été effectué sur des plaques de silicagel MACHEREY-NAGEL POLYGRAM[®] Silica gel 60 F₂₅₄ sur feuille d'aluminium. Les tâches sont visualisées à l'UV (254 nm) et révélées soit au permanganate de potassium (KMnO_4 3 g/ AcOH 5% 100 mL/ H_2O 300 mL/ K_2CO_3 20 g), soit à l'acide phosphomolybdique (20% dans l'éthanol), si nécessaire. Les rapports frontaux (R_f) sont présentés en fonction du système d'éluant utilisé. Les chromatographies sur colonne ont été réalisées sur gel de silice 60 ROCC pour chromatographie éclair (40-63 μm) à l'aide d'air comprimé.

Les distillations sous pression réduite ont été effectuées avec un montage de distillation muni d'une colonne de Vigreux et d'une pompe Edwards allant de 0 torr à 10-3 torr ou d'un appareil de distillation horizontale Büchi Glass oven B-580 (Kugelrohr).

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

IX.1.3.2. - Analyses

IX.1.3.2.1 - Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :

Les spectres RMN proton (^1H), carbone (^{13}C) et fluor (^{19}F) ont été enregistrés sur un spectromètre BRUKER Avance DPX 400 (400 MHz pour le proton, 100 MHz pour le carbone et 376 MHz pour le fluor). Les expériences carbone sont des J_{mod} . Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport aux signaux résiduels des solvants deutérés comme référence (CDCl_3 : $\delta = 7,26$ ppm en proton et 77,23 ppm en carbone ; DMSO-d_6 : $\delta = 2,50$ ppm en proton et 39,51 ppm en carbone). En fluor, les signaux sont exprimés en ppm par rapport au CFCl_3 ($\delta = 0$ ppm dans CDCl_3) comme référence interne. Les constantes de couplage J (en valeurs absolues) sont exprimées en Hz. Pour la multiplicité des signaux, les abréviations suivantes ont été utilisées : *s* pour singulet, *s/* pour singulet large ou *d/* pour doublet large, *d* pour doublet, *dd* pour doublet de doublet, *t* pour triplet, *dt* pour doublet de triplets, *quint.* pour quintuplet, *q* pour quadruplet, *m* pour multiplet et *ma* pour massif.

L'attribution détaillée de certains spectres protons et carbones plus complexes a été réalisée grâce à des expériences 2D :

- COSY $^1\text{H}/^1\text{H}$: corrélations entre protons couplés ;
- HSQC $^1\text{H}/^{13}\text{C}$: corrélations entre carbones et protons directement liés ;
- HMBC $^1\text{H}/^{13}\text{C}$: corrélations entre carbones et protons séparés par deux ou trois liaisons.

IX.1.3.2.2 - Spectroscopie de masse

Basse résolution : les analyses sont effectuées sur un appareil LCQ Advantage (ThermoElectron) qui comporte une source électrospray couplée à un analyseur de type trappe ionique.

Haute résolution : les analyses sont effectuées sur un appareil LCT Premier (Waters) qui comporte une source électrospray couplée à un analyseur de type temps de vol.

Les échantillons sont préparés dans le méthanol pour les deux types d'analyse.

IX.1.3.2.3 - Spectroscopie Infra-rouge (IR) :

Les spectres infrarouge ont été enregistrés sur un appareil Bruker IFS-55 à transformée de Fourier. Les composés huileux ont été analysés sous forme de film entre deux fenêtres de chlorure de sodium. Les échantillons solides ont été analysés sous forme de pastille de bromure de potassium (environ 1 mg de produit pour 99 mg de KBr). Les nombres d'ondes correspondants aux bandes

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

d'absorption caractéristiques sont exprimés en cm^{-1} . L'intensité des signaux est désignée par les lettres F (forte), m (moyen) et f (faible). La largeur est également précisée par la lettre l (large).

IX.1.3.2.4 - Analyses Élémentaires (AE):

Les analyses élémentaires ont été effectuées au Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest (CRMPO - Rennes) et au Service Central d'Analyse du CNRS (Vernaison).

IX.1.3.2.5 - Points de fusion ($T_{\text{fus.}}$):

Les points de fusion ont été mesurés à l'aide d'un appareil Electrothermal IA9100. La lettre "d" à côté de la valeur signifie que le composé se décompose au lieu de fondre.

IX.1.4 - Remarques Générales

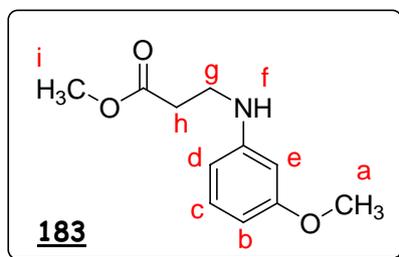
Les noms IUPAC ont été générés à l'aide des logiciels ACDLabs ou Chemdraw Ultra version 8.0. Les produits sont présentés dans l'ordre logique de la synthèse et regroupés par type de stratégie, dans l'ordre des chapitres 5 à 7.

IX. 2 - Modes opératoires

IX.2.1 - Synthèse des dérivés 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 et 145

3-(3-méthoxyanilino)propanoate de méthyle¹²⁰

RN = 42313-49-5



$C_{11}H_{15}NO_3$

M = 209,2 g/mol

Dans un ballon monocol de 100 mL, surmonté d'un réfrigérant, 20 mL (0,18 mol ; 1 éq.) de *m*-anisidine, 16 mL (0,18 mol ; 1 éq.) d'acrylate de méthyle et 7 mL (0,12 mol ; 0,7 éq.) d'acide acétique sont mélangés. Le milieu réactionnel est chauffé au reflux, sous agitation et sous atmosphère inerte, pendant 12h. Après avoir laissé revenir le mélange à température ambiante, les réactifs résiduels sont éliminés sous pression réduite et les dernières traces d'acide acétique sont azéotropées avec du toluène. L'huile marron obtenue est séchée sous vide, avant d'être distillée sous pression réduite (P = 0,8 Torr ; T_{éb.} = 110-120°C), pour conduire à l'ester désiré.

Aspect : huile jaune pâle.

Rendement : 49,8 g ; 79%.

Rf (CH₂Cl₂/MeOH 98/2) : 0,70.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,62 (t, 2H, ³J_{h-g} = 6,4 Hz, CH₂ h) ; 3,44 (t, 2H, ³J_{g-h} = 6,4 Hz, CH₂ g) ; 3,70 (s, 3H, CH₃ i) ; 3,77 (s, 3H, CH₃ a) ; 4,03 (sl, 1H, NH f) ; 6,18 (t, 1H, ⁴J_{e-d} = ⁴J_{e-b} = 2,4 Hz, CH e) ; 6,24 (dd, 1H, ⁴J_{d-e} = 2,4 Hz, ³J_{d-c} = 8 Hz, CH d) ; 6,29 (dd, 1H, ⁴J_{b-e} = 2,4 Hz, ³J_{b-c} = 8 Hz, CH b) ; 7,08 (t, 1H, ³J_{c-d} = ³J_{c-b} = 8 Hz, CH c).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 33,3 (CH₂ h) ; 38,9 (CH₂ g) ; 51,2 (CH₃ i) ; 54,6 (CH₃ a) ; 98,5 (CH e) ; 102,3 (CH b) ; 105,6 (CH d) ; 129,6 (CH c) ; 148,7 (C-N) ; 160,5 (C-O) ; 172,4 (C=O).

SM (ESI⁺) : m/z = 210,49 ([M+H]⁺).

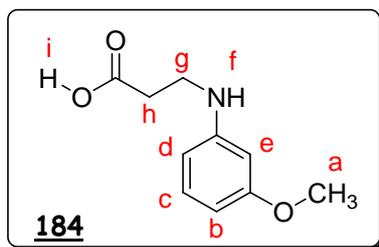
HRMS (ES-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₁H₁₆NO₃ : 210,1130 ; trouvée : 210,1133 ; Δ = 1,3 ppm.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3395 (m, l, ν NH) ; 2999 (f, ν CHAr) ; 2952 (m, ν CH₂) ; 2837 (f, ν OCH₃) ; 1733 (F, ν C=O) ; 1614 (F, ν C=C) ; 1514, 1497 (m, ν C=C) ; 1463 (m) ; 1437 (m) ; 1212 (F, ν C-N) ; 1162 (F) ; 1043 (m, ν C-O) ; 832, 761, 690 (m, γ CH Ar).

^{0,8T}
T_{éb.} : 110-120°C.

Acide 3-(3-méthoxyanilino)propanoïque^{122,125}

RN = 3334-67-6



C₁₀H₁₃NO₃

M = 195,2 g/mol

Dans un ballon monocol de 500 mL, surmonté d'un réfrigérant, une solution de 23,82 g (0,11 mol ; 1 éq.) de 3-(3-méthoxyanilino)propanoate de méthyle **183** dans 20 mL d'éthanol est préparée. 30 mL (0,12 mol ; 1,1 éq.) de potasse sont ensuite additionnés lentement puis le mélange est chauffé à 60°C, sous argon toute une nuit. Le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner un solide beige qui est repris dans 100 mL environ d'eau distillée. Cette solution est acidifiée à pH=2-3 par ajout goutte à goutte d'acide trifluoroacétique. L'acide forme alors une huile non miscible avec l'eau et est isolé par décantation. La phase aqueuse est extraite trois fois au chloroforme, puis les phases organiques sont combinées, lavées avec une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium et séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration et évaporation du solvant sous pression réduite, l'acide est obtenu.

Aspect : huile marron.

Rendement : 21 g ; 98%.

Rf (Cyclo/AcOEt 90/10) : 0,24.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,68 (*t*, 2H, ³J_{h-g} = 6,4 Hz, CH₂ **h**) ; 3,46 (*t*, 2H, ³J_{g-h} = 6,4 Hz, CH₂ **g**) ; 3,77 (*s*, 3H, CH₃ **a**) ; 6,19 (*t*, 1H, ⁴J_{e-d} = ⁴J_{e-b} = 2 Hz, CH **e**) ; 6,26 (*dd*, 1H, ⁴J_{d-e} = 2 Hz, ³J_{d-c} = 8 Hz, CH **d**) ; 6,31 (*dd*, 1H, ⁴J_{b-e} = 2 Hz, ³J_{b-c} = 8 Hz, CH **b**) ; 7,09 (*t*, 1H, ³J_{c-d} = ³J_{c-b} = 8 Hz, CH **c**).

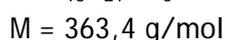
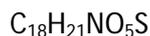
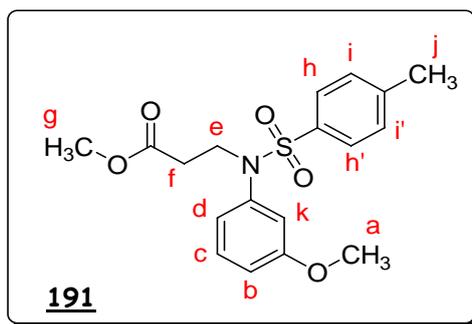
RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 33,6 (CH₂ **h**) ; 39,2 (CH₂ **g**) ; 55,1 (CH₃ **a**) ; 99,3 (CH **e**) ; 103,2 (CH **b**) ; 106,3 (CH **d**) ; 130,1 (CH **c**) ; 148,6 (C-N) ; 160,9 (C-O) ; 177,7 (C=O).

SM (ESI⁺) : m/z = 196,51 ([M+H]⁺).

HRMS (ES-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₀H₁₄NO₃ : 196,0974 ; trouvée : 196,0975 ; Δ = 0,7 ppm.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 3391 (m, l, ν NH) ; 3005 (f, ν CHAr) ; 2935 (m, ν CH₂) ; 2837 (f, ν OCH₃) ; 1715 (F, ν C=O) ; 1613 (F, ν C=C) ; 1557, 1497 (m, ν C=C) ; 1463 (m) ; 1417 (m) ; 1212 (m, ν C-N) ; 1162 (F) ; 1040 (m, ν C-O) ; 830, 761, 689 (m, γ CH Ar).

3-(3-méthoxytosylanilino)propanoate de méthyle¹²¹



A une solution de 5,05 g (0,024 mol ; 1 éq.) de 3-(3-méthoxyanilino)propanoate de méthyle 183 dans 19 mL de pyridine et 9 mL de toluène, sous agitation, sont ajoutés 5,96 g (0,031 mol ; 1,3 éq.) de chlorure de tosylo. La solution vire du jaune à l'orange et un précipité se forme. Le mélange est chauffé au reflux toute une nuit. Le milieu réactionnel est alors laissé revenir à température ambiante et de la glace y est ajoutée. La phase aqueuse est extraite trois fois à l'éther, puis les phases étherées sont combinées. Elles sont lavées une fois par une solution d'HCl dilué, une fois à l'eau, une fois par une solution de soude aqueuse 1M, une fois à l'eau et enfin par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. L'éther est évaporé sous pression réduite pour donner une huile qui est utilisée dans l'étape suivante sans purification supplémentaire.

Aspect : huile orangée.

Rendement : 8,5 g ; 97%.

Rf ($CH_2Cl_2/MeOH$ 98/2) : 0,86.

RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ (ppm) : 2,40 (s, 3H, CH_3 j) ; 2,43 (t, 2H, $^3J_{f-e} = 7,2$ Hz, CH_2 f) ; 3,51 (s, 3H, CH_3 g) ; 3,67 (s, 3H, CH_3 a) ; 3,78 (t, 2H, $^3J_{e-f} = 7,2$ Hz, CH_2 e) ; 6,53 (t, 1H, $^4J_{k-d} = ^4J_{k-b} = 2$ Hz, CH k) ; 6,57 (dd, 1H, $^4J_{d-k} = 2$ Hz, $^3J_{d-c} = 8,4$ Hz, CH d) ; 6,91 (dd, 1H, $^4J_{b-k} = 2$ Hz, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b) ; 7,25 (t, 1H, $^3J_{c-d} = ^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c) ; 7,40 (d, 2H, $^3J_{i-h} = 8,4$ Hz, CH i) ; 7,47 (d, 2H, $^3J_{h-i} = 8,4$ Hz, CH h).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 21,4 (CH_3 j) ; 33,8 (CH_2 f) ; 46,7 (CH_2 e) ; 51,6 (CH_3 g) ; 55,2 (CH_3 a) ; 114,0 (CH k) ; 114,7 (CH b) ; 120,6 (CH d) ; 127,7 (CH h) ; 129,3 (CH i) ; 129,5 (CH c) ; 134,9 (C-S) ; 140,0 (C-N) ; 143,5 (=C-) ; 159,9 (C-O) ; 171,3 (C=O).

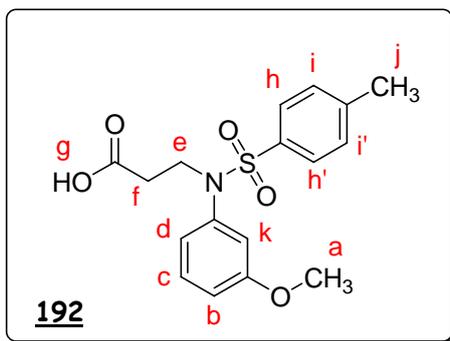
SM (ESI $^+$) : m/z = 364,4 ([M+H] $^+$).

HRMS (ES-[M+H] $^+$) : masse calculée pour $C_{18}H_{22}NO_5S$: 364,1219 ; trouvée : 364,1221 ; $\Delta = 0,6$ ppm.

IR (NaCl, cm^{-1}) : 3001 (f, ν CHAr) ; 2952 (f, ν CH_2) ; 2838 (f, ν OCH_3) ; 1738 (F, ν C=O) ; 1601 (F, ν C=C) ; 1486, 1453 (m, ν C=C) ; 1350 (F, ν SO_2) ; 1093 (F, ν C-O acide) ; 1056 (m) ; 1041 (m) ; 690 (F, ν S-O) ; 655, 577, 548 (m, γ CHAr).

Acide 3-(3-méthoxytosylanilino)propanoïque^{121,124}

RN = 76263-71-3



$C_{17}H_{19}NO_5S$

M = 349,4 g/mol

A une solution de 8,3 g (0,023 mol ; 1 éq.) de 3-(3-méthoxytosylanilino)propanoate de méthyle 191 dans 25 mL de méthanol, sont ajoutés 6,5 mL d'une solution aqueuse de potasse de concentration 3,8M. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à 60°C, sous agitation et sous azote pendant 12h. Après refroidissement à température ambiante, le méthanol est évaporé sous pression réduite pour donner une huile orange visqueuse qui est reprise dans l'eau et acidifiée par une solution d'HCl 10% jusqu'à pH=3. La forme protonée prend alors la forme d'une huile non miscible avec l'eau, qui est ensuite dissoute dans le chloroforme. La phase aqueuse est ainsi extraite trois fois, puis les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium et séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit obtenu est utilisé dans l'étape suivante sans purification supplémentaire.

Aspect : solide marron.

Rendement : 6,8 g ; 84%.

Rf (CH₂Cl₂/MeOH 98/2) : 0,22.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ (ppm) : 2,33 (t, 2H, ³J_{f-e} = 7,2 Hz, CH₂ f) ; 2,40 (s, 3H, CH₃ j) ; 3,67 (s, 3H, CH₃ a) ; 3,74 (t, 2H, ³J_{e-f} = 7,2 Hz, CH₂ e) ; 6,54 (t, 1H, ⁴J_{k-d} = ⁴J_{k-b} = 2 Hz, CH k) ; 6,57 (dd, 1H, ⁴J_{d-k} = 2 Hz, ³J_{d-c} = 8 Hz, CH d) ; 6,91 (dd, 1H, ⁴J_{b-k} = 2 Hz, ³J_{b-c} = 8 Hz, CH b) ; 7,25 (t, 1H, ³J_{c-d} = ³J_{c-b} = 8 Hz, CH c) ; 7,40 (d, 2H, ³J_{i-h} = 8 Hz, CH i) ; 7,47 (d, 2H, ³J_{h-i} = 8 Hz, CH h).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 21,4 (CH₃ j) ; 33,6 (CH₂ f) ; 46,4 (CH₂ e) ; 55,2 (CH₃ a) ; 114,1 (CH k) ; 114,7 (CH b) ; 120,5 (CH d) ; 127,7 (CH h) ; 129,4 (CH i) ; 129,5 (CH c) ; 134,8 (C-S) ; 139,8 (C-N) ; 143,7 (=C-) ; 159,8 (C-O) ; 175,6 (C=O).

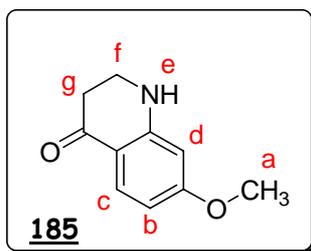
SM (ESI⁺) : m/z = 350,2 ([M+H]⁺).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3287 (F, I, ν OH) ; 3005 (f, ν CHAR) ; 2994 (f) ; 2833 (f, ν OCH₃) ; 1737 (F, ν C=O) ; 1599 (F, ν C=C) ; 1489 (m) ; 1334 (F, ν SO₂) ; 1186 (m) ; 1151 (F, ν C-O acide) ; 1102 (m, ν C-OCH₃) ; 944 (m) ; 831 (m) ; 689 (m, ν S-O) ; 573 (m) ; 546 (m).

T_{fus.} : 91-93°C.

7-méthoxy-2,3-dihydro-4(1H)-quinoléinone^{120,121,124}

RN = 879-56-1



C₁₀H₁₁NO₂

M = 177,2 g/mol

Dans un ballon de 250 mL, 168 g d'acide polyphosphorique sont ajoutés sur 14 g (0,072 mol ; 1 éq.) d'acide 3-(3-méthoxyanilino)propanoïque 184. Le mélange est chauffé à 120°C. Au fur et à mesure que la température augmente, le mélange se liquéfie, les deux réactifs se mélangent et l'agitation devient possible. Au bout de 4h, le milieu réactionnel est devenu rouge vif. Il est alors versé à chaud sur environ 400 mL d'eau glacée, sous vive agitation, puis le pH est ramené à 8-9 par ajout d'une solution aqueuse d'ammoniaque. La phase aqueuse est ensuite extraite 6 fois au chloroforme. Les phases organiques combinées sont lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchées sur sulfate de magnésium. Après une rapide filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut obtenu est purifié par une colonne de chromatographie éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange chloroforme/acétate d'éthyle 95/5.

Aspect : solide jaune (recristallisation dans l'éthanol).

Rendement : 3,06 g ; 24%.

Rf (Cyclo/AcOEt 50/50) : 0,4.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,65 (*t*, 2H, ³J_{g-f} = 6,8 Hz, CH₂ g); 3,56 (*t*, 2H, ³J_{f-g} = 6,8 Hz, CH₂ f); 3,80 (*s*, 3H, CH₃ a); 4,37 (*s*, 1H, NH e); 6,08 (*d*, 1H, ⁴J_{d-b} = 2,4 Hz, CH d); 6,33 (*dd*, 1H, ⁴J_{b-d} = 2,4 Hz, ³J_{b-c} = 8,8 Hz, CH b); 7,81 (*d*, 1H, ³J_{c-b} = 8,8 Hz, CH c).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 37,7 (CH₂ g); 42,2 (CH₂ f); 55,2 (CH₃ a); 97,9 (CH d); 106,6 (CH b); 111,9 (-C=); 129,6 (CH c); 154,0 (C-N); 165,2 (C-O); 192,4 (C=O).

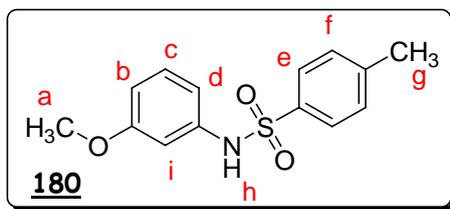
SM (ESI⁺) : m/z = 178,50 ([M+H]⁺).

T_{fus.} : 204°C^d.

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

N-tosyl-3-métaanisidine^{126,127}

RN = 58750-87-1



C₁₄H₁₅NO₃S

M = 277,3 g/mol

Dans un ballon monocol, refroidi par un bain de glace, 4,5 mL (0,04 mol ; 1 éq.) de *m*-anisidine et 10 g (0,05 mol ; 1,25 éq.) de chlorure de tosylo sont mélangés puis 30 mL de pyridine sont ajoutés. Le mélange est ensuite chauffé à 80°C pendant 30 min puis il est laissé revenir à température ambiante et versé sur 50 mL d'eau. La phase aqueuse est extraite par trois fois 50 mL d'acétate d'éthyle puis les phases organiques sont combinées et séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 70/30.

Aspect : solide jaune pâle.

Rendement : 10,7 g ; 94% (Lit. 93%).

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,14.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,37 (s, 3H, CH₃ g) ; 3,73 (s, 3H, CH₃ a) ; 6,60-6,65 (m, 2H, CH b, d) ; 6,70 (t, 1H, ³J₁ = 2 Hz, ³J₂ = 2,4 Hz, CH i) ; 7,00 (sl, 1H, NH h) ; 7,11 (t, 1H, ³J₁ = 8 Hz, ³J₂ = 8,4 Hz, CH c) ; 7,22 (d, 2H, ³J_{f-e} = 8,4 Hz, CH f) ; 7,70 (d, 2H, ³J_{e-f} = 8,4 Hz, CH e).

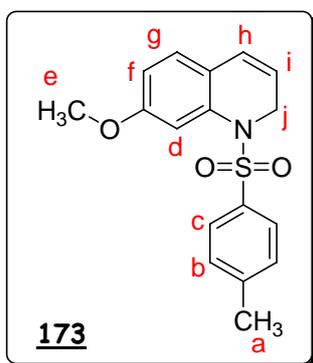
RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 21,3 (CH₃ g) ; 55,1 (CH₃ a) ; 106,4 (CH i) ; 110,4 (CH b) ; 112,9 (CH d) ; 127,1 (CH e) ; 129,5 (CH f) ; 129,8 (CH c) ; 135,8 (=C-S) ; 137,9 (=C-N) ; 143,7 (=C-CH₃) ; 160,0 (C-OCH₃).

AE : C₁₄H₁₅NO₃S, calculée : C 60,63 ; H 5,45 ; N 5,05 ; S 11,56 ;
mesurée : C 60,34 ; H 5,38 ; N 5,19 ; S 11,12.

Tfus. : 64-65°C (Lit. 63-64°C).

7-méthoxy-*N*-tosyl-1,2-dihydroquinoléine^{129,130}

RN = 168648-70-2



$C_{17}H_{17}NO_3S$

M = 315,3 g/mol

Dans un ballon tricol de 1 L, muni d'une ampoule à addition et placé sous atmosphère inerte, une solution de 41,5 g (0,150 mol ; 1 éq.) de *N*-tosyl-3-*m*-anisidine **180** dans 600 mL de méthanol est préparée et maintenue à 0°C par un bain de glace. 2,1 mL (0,015 mol ; 0,1 éq.) de triéthylamine sont ajoutés puis 51 mL (0,755 mol ; 5 éq.) d'acroléine sont ensuite additionnés goutte à goutte via l'ampoule à addition. Dès la fin de l'addition, le mélange est laissé revenir à température ambiante et l'agitation est maintenue pendant 10 min supplémentaires. Le milieu réactionnel est alors dilué par ajout d'acétate d'éthyle et d'une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séparation des deux phases, la phase aqueuse est extraite trois fois à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchées sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé sous pression réduite à basse température pour donner une huile jaune.

Cette huile est dissoute en totalité dans 290 mL de THF, dans un ballon monocol muni d'une ampoule à addition. 290 mL d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 3M sont ensuite ajoutés goutte à goutte via cette ampoule, puis la solution est chauffée à 80°C pendant 40 min sous atmosphère inerte. Le mélange est alors laissé revenir à température ambiante puis neutralisé par ajout de bicarbonate de sodium solide à 0°C. Le produit forme une huile non miscible avec l'eau. Après dilution par ajout d'acétate d'éthyle et séparation des deux phases, la phase aqueuse est extraite deux fois à l'acétate d'éthyle puis les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 90/10.

Aspect : solide jaune.

Rendement : 19,1 g ; 40%.

Rf (Cyclo/AcOEt 70/30) : 0,46.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,34 (s, 3H, CH₃ a) ; 3,86 (s, 3H, CH₃ e) ; 4,41 (dd, 2H, ³J_{j-i} = 4,4 Hz, ⁴J_{j-h} = 1,6 Hz, CH₂ j) ; 5,42-5,46 (m, 1H, CH i) ; 5,98 (dl, 1H, CH h) ; 6,73 (dd, 1H, ³J_{f-g} = 8,4 Hz, ³J_{f-d} = 2,8 Hz, CH f) ; 6,85 (d, 1H, ³J_{g-f} = 8,4 Hz, CH g) ; 7,07 (d, 2H, ³J_{b-c} = 8,4 Hz, CH₂ b) ; 7,30 (d, 1H, ⁴J_{d-f} = 2,8 Hz, CH d) ; 7,33 (d, 2H, ³J_{c-b} = 8,4 Hz, CH c).

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

RMN ^{13}C (CDCl_3 , J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 21,5 (CH_3 a) ; 45,3 (CH_2 j) ; 55,5 (CH_3 e) ; 111,7 (CH d) ; 112,9 (CH f) ; 120,7 (CH h) ; 122,6 ($=\text{C}-$) ; 125,4 (CH g) ; 127,2 (CH i + CH c) ; 129,0 (CH b) ; 136,1 ($=\text{C}-\text{S}$) ; 136,2 ($\text{C}-\text{N}$) ; 143,3 ($=\text{C}-\text{CH}_3$) ; 159,0 ($\text{C}-\text{OCH}_3$).

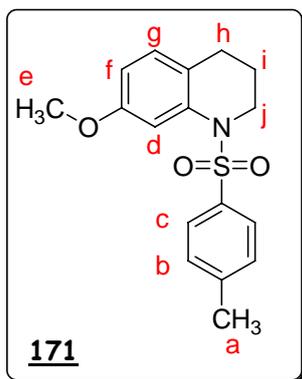
SM (ESI^+) : $m/z = 316,3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

HRMS ($\text{ES} - (\text{M}+\text{Na})^+$) : masse calculée pour $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NNaO}_3\text{S}$: 338,0827 ; mesurée : 338,0812 ; $\Delta = 4,4$ ppm.

IR (KBr , cm^{-1}) : 3089 (f, ν CHAr) ; 2996-2968 (f, ν CH_2) ; 2858 (f, ν OCH_3) ; 1611 (F, ν $\text{C}=\text{C}$) ; 1561, 1495, 1463 (F, ν $\text{C}=\text{C}$ Ar) ; 1349 (F, ν SO_2) ; 1335 (F, ν $\text{C}-\text{N}$) ; 1308 (F) ; 1281 (F) ; 1162 (F, ν $\text{C}-\text{O}$) ; 1091 (m) ; 1061 (m) ; 1042 (m) ; 886 (F) ; 817 (F) ; 692 (F, ν $\text{S}-\text{O}$) ; 653, 584, 560, 544 (m, γ CHAr).

T_{fus} : 93°C.

7-méthoxy-N-tosyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine



$C_{17}H_{19}NO_3S$
M = 317,4 g/mol

Dans un ballon monocol de 1L, une suspension de 11 g (0,035 mol ; 1 éq.) de 7-méthoxy-N-tosyl-1,2-dihydroquinoléine **173** et 1,1 g de palladium 10% sur charbon, dans 500 mL d'éthanol est préparée. Le milieu réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène, sous vive agitation pendant 12h. Le mélange est alors filtré sur célite puis le solvant est évaporé sous pression réduite.

Aspect : solide beige.

Rendement : 10,9 g ; 98%.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,50.

RMN 1H ($(CD_3)_2CO$, 400 MHz), δ (ppm) : 1,63 (*quint.*, 2H, $^3J_{i-j} = ^3J_{i-h} = 6,4$ Hz, CH₂ i) ; 2,38 (s, 3H, CH₃ a) ; 2,42 (t, 2H, $^3J_{h-i} = 6,4$ Hz, CH₂ h) ; 3,77 (s, 3H, CH₃ e) ; 3,80 (t, 2H, $^3J_{j-i} = 6,4$ Hz, CH₂ j) ; 6,66 (*dd*, 1H, $^3J_{f-g} = 8,4$ Hz, $^3J_{f-d} = 2,4$ Hz, CH f) ; 6,94 (d, 1H, $^3J_{g-f} = 8,4$ Hz, CH g) ; 7,31 (d, 2H, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b) ; 7,36 (d, 1H, $^3J_{d-f} = 2,4$ Hz, CH d) ; 7,55 (d, 2H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 21,3 (CH₂ i) ; 21,4 (CH₃ e) ; 25,7 (CH₂ h) ; 46,4 (CH₂ j) ; 55,1 (CH₃ a) ; 109,3 (CH d) ; 111,4 (CH f) ; 122,2 (=C-) ; 126,8 (CH c) ; 129,4 (CH b) ; 129,5 (CH g) ; 136,5 (=C-S) ; 137,3 (C-N) ; 143,4 (=C-CH₃) ; 157,7 (-C-OCH₃).

SM (ESI⁺) : m/z = 318,4 ([M+H]⁺).

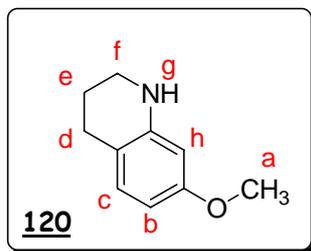
AE : $C_{17}H_{19}NO_3S$, calculée : C 64,33 ; H 6,03 ; N 4,41 ; S 10,10 ;
mesurée : C 64,52 ; H 6,06 ; N 4,52 ; S 9,76.

IR (KBr, cm^{-1}) : 3091 (f, ν CHAr) ; 2991-2883 (f, ν CH₂) ; 2836 (f, ν OCH₃) ; 1613 (F, ν C=C) ; 1573, 1496, 1463 (F, ν C=C Ar) ; 1339 (F, ν C-N) ; 1288 (F, ν SO₂) ; 1164 (F, ν C-O) ; 1133 (m) ; 970 (m) ; 804 (m) ; 793 (F) ; 709 (F) ; 690 (F, ν S-O) ; 661, 600, 579, 548 (m, γ CHAr).

Tfus. : 84°C.

7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine

RN = 19500-61-9



$C_{10}H_{13}NO$

M= 163,2 g/mol

Méthode A :¹³⁵

Dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant, une solution de 3 g (0,017 mol ; 1 éq.) de 7-méthoxy-2,3-dihydro-4(1*H*)-quinoléinone **185** dans 140 mL de diéthylèneglycol est préparée. Lorsque le produit est entièrement dissous dans le solvant et la solution jaune limpide, 56 mL (1,15 mol ; 68 éq.) d'hydrazine monohydrate sont rajoutés et le mélange est chauffé à 130°C pendant 1h sous agitation est sous atmosphère inerte. Après avoir laissé revenir à température ambiante, 30 g (0,53 mol ; 31 éq.) d'hydroxyde de potassium sont ajoutés avec précaution puis la réaction est chauffée progressivement jusqu'à 170°C et ce pendant 12h. Après refroidissement à température ambiante, la réaction est quenchée par ajout de 500 mL d'eau. La phase aqueuse est alors extraite trois fois au toluène. Les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange chloroforme/acétate d'éthyle 96/4 pour donner le produit de réduction sous forme d'une huile jaune (2,34 g ; 84%).

Méthode B :

Dans un ballon monocol de 500 mL, une solution de 2,9 g (0,016 mol ; 1 éq.) de 7-méthoxy-2,3-dihydro-4(1*H*)-quinoléinone **185** dans 200 mL de méthanol est préparée, puis 3,78 g (0,020 mol ; 1,3 éq.) de *p*-toluènesulfonylhydrazide sont ajoutés. La solution jaunit puis devient orange. Elle est chauffée à 65°C pendant 12h, puis 4,26 g (0,068 mol ; 4 éq.) de cyanoborohydrure de sodium et 3,79 g (0,022 mol ; 1,4 éq.) d'acide *p*-toluènesulfonique monohydrate sont ajoutés. Le mélange réactionnel est porté au reflux pendant 8h. Le méthanol est alors évaporé sous pression réduite et le solide obtenu est repris dans l'eau et une solution aqueuse saturée en NaHCO₃. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois au dichlorométhane et les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 70/30. Le produit réduit est obtenu sous forme d'une huile jaune (1,53 g ; 59%).

Méthode C :

Une suspension de 10,9 g (0,034 mol ; 1 éq.) de 7-méthoxy-1-tosyl-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **171** dans 17 mL d'eau, 30 mL d'acide acétique et 20 mL d'acide propanoïque est préparée, puis 37 mL (0,11 mol ; 3,2 éq.) d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 3M sont

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

ajoutés goutte à goutte. Le mélange est chauffé au reflux et peu à peu le milieu réactionnel devient homogène et noircit. Au bout de 7h, la réaction est laissée revenir à température ambiante puis diluée par ajout d'eau. La phase aqueuse est extraite trois fois à l'éther puis les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, puis séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant et évaporation du solvant sous pression réduite, le produit de départ est récupéré (1,6g ; 15%).

La phase aqueuse est ajustée à pH=7 par ajout de carbonate de sodium solide à 0°C, puis elle est extraite trois fois à l'éther. Les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, puis séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol 99/1.

Aspect : huile jaune.

Rendement : 3,9 g ; 70%.

Rf (EP/AcOEt 40/60) : 0,84.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,92 (*quint.*, 2H, ³J_{e-f} = ³J_{e-d} = 5,8 Hz, CH₂ e) ; 2,70 (*t*, 2H, ³J_{d-e} = 5,8 Hz, CH₂ d) ; 3,28 (*t*, 2H, ³J_{f-e} = 5,8 Hz, CH₂ f) ; 3,73 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 3,82 (*sl*, 1H, NH g) ; 6,04 (*d*, 1H, ⁴J_{h-b} = 2,4 Hz, CH h) ; 6,20 (*dd*, 1H, ⁴J_{b-h} = 2,4 Hz, ³J_{b-c} = 8,4 Hz, CH b) ; 6,84 (*d*, 1H, ³J_{c-b} = 8,4 Hz, CH c).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 22,3 (CH₂ e) ; 26,2 (CH₂ d) ; 41,8 (CH₂ f) ; 55,0 (CH₃ a) ; 99,3 (CH h) ; 102,6 (CH b) ; 114,0 (-C=) ; 130,0 (CH c) ; 145,4 (C-N) ; 158,7 (C-O).

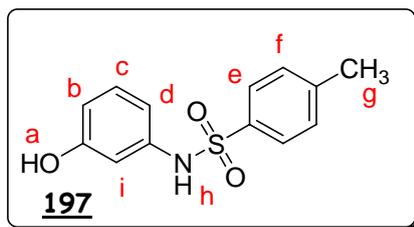
SM (ESI⁺) : m/z = 164,2 ([M+H]⁺).

IR (NaCl, cm⁻¹) : 3404 (f, l, ν NH) ; 2928 (f, ν CH₂) ; 2835 (f, ν OCH₃) ; 1617 (F, ν C=C) ; 1514, 1464 (F, ν C=C Ar) ; 1274 (m, ν C-N) ; 1167 (F, ν C-O) ; 1039 (f) ; 827 (f).

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

N-tosyl-3-aminophénol^{129,130}

RN = 3743-29-1



C₁₃H₁₃NO₃S

M = 263,3 g/mol

A une solution de 50 g (0,46 mol ; 1 éq.) de 3-aminophénol dans 400 mL de dichlorométhane à 0°C, sont ajoutés 40 mL (0,50 mol ; 1,1 éq.) de pyridine puis 96 g (0,50 mol ; 1,1 éq.) de chlorure de tosylo. La solution incolore vire au rose quelques minutes après le mélange des réactifs. Le milieu réactionnel est laissé réchauffer à température ambiante puis sous agitation et sous azote toute une nuit. La réaction est alors stoppée par ajout de 300 mL d'eau environ, le produit précipite après quelques minutes d'agitation, il est filtré sur fritté puis séché sous vide.

Aspect : solide rose.

Rendement : 119 g ; 98%.

Rf (DCM/AcOEt 95/5) : 0,21.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,38 (s, 3H, CH₃ g) ; 6,53 (dd, 1H, ³J_{b-c} = 8 Hz, ³J_{b-i} = 2 Hz, CH b) ; 6,58 (dd, 1H, ³J_{d-c} = 8 Hz, ³J_{d-i} = 2 Hz, CH d) ; 6,68 (t, 1H, ³J_{i-d} = ³J_{i-b} = 2 Hz, CH i) ; 7,07 (t, 1H, ³J_{c-b} = ³J_{c-d} = 8 Hz, CH c) ; 7,23 (d, 2H, ³J_{f-e} = 8,4 Hz, CH f) ; 7,66 (d, 2H, ³J_{e-f} = 8,4 Hz, CH e).

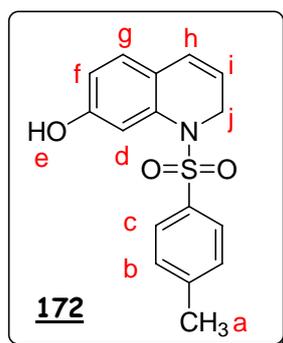
RMN ¹³C (DMSO-d₆, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 22,3 (CH₃ g) ; 110,0 (CH i) ; 113,3 (CH b) ; 113,9 (CH d) ; 129,1 (CH e) ; 131,3 (CH f) ; 131,6 (CH c) ; 139,2 (=C-S) ; 141,3 (C-N) ; 145,7 (=C-CH₃) ; 160,1 (C-OH).

SM (ESI⁺) : m/z = 264,4 ([M+H]⁺).

T_{fus.} : 151-152°C.

N-tosyl-1,2-dihydro-7-quinoléinol^{129,130}

RN = 333383-93-0



C₁₆H₁₅NO₃S
M = 301,3 g/mol

Dans un ballon tricol de 1L, muni d'une ampoule à addition et placé sous atmosphère inerte, une solution de 20 g (0,076 mol ; 1 éq.) de *N*-tosyl-3-aminophénol **197** dans 300 mL de méthanol est préparée et maintenue à 0°C par un bain de glace. 13 mL (0,092 mol ; 1,2 éq.) de triéthylamine sont ajoutés, la solution orange devient jaune. 27 mL (0,40 mol ; 5,2 éq.) d'acroléine sont ensuite additionnés goutte à goutte via l'ampoule à addition. Le mélange est laissé sous agitation pendant 20 min à cette température. Le milieu réactionnel est alors dilué par ajout d'acétate d'éthyle et d'une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séparation des deux phases, la phase aqueuse est extraite deux fois à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques combinées sont concentrées par évaporation du méthanol sous pression réduite à basse température puis les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Elles sont séchées sur sulfate de magnésium et le solvant restant est évaporé sous pression réduite toujours à basse température. Le produit obtenu est séché sous vide pour donner une huile jaune.

Cette huile est dissoute en totalité dans 145 mL de THF dans un ballon monocol, muni d'une ampoule à addition. 145 mL d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 3M sont ensuite ajoutés goutte à goutte via cette ampoule, puis la solution est chauffée à 80°C pendant 30 min. Le mélange est alors laissé revenir à température ambiante puis il est neutralisé par ajout de bicarbonate de sodium solide à 0°C. Après dilution par ajout d'acétate d'éthyle et séparation des deux phases, la phase organique est lavée une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile marron qui est ensuite purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange chloroforme/acétate d'éthyle 98/2.

Aspect : solide jaune.

Rendement : 15,6 g ; 68%.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,13.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,34 (*s*, 3H, CH₃ **a**) ; 4,41 (*d*, 2H, ³J_{j-i} = 2,8 Hz, CH₂ **j**) ; 5,01 (*sl*, 1H, OH) ; 5,44 (*m*, 1H, CH **i**) ; 5,97 (*d*, 1H, ³J_{h-i} = 9,2 Hz, CH **h**) ; 6,69 (*dd*, 1H, ³J_{f-g} = 8 Hz, ³J_{f-d} = 2,4 Hz, CH **f**) ; 6,82 (*d*, 1H, ³J_{g-f} = 8 Hz, CH **g**) ; 7,08 (*d*, 2H, ³J_{b-c} = 8 Hz, CH **b**) ; 7,25 (*sl*, 1H, CH **d**) ; 7,34 (*d*, 2H, ³J_{c-b} = 8 Hz, CH **c**).

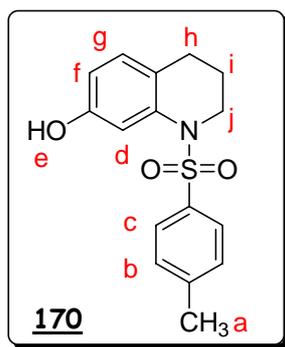
Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

RMN ^{13}C (CDCl_3 , J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 21,5 (CH_3 a) ; 45,3 (CH_2 j) ; 113,7 (CH d) ; 114,0 (CH f) ; 120,4 (CH h) ; 122,4 ($=\text{C}-\text{C}$) ; 125,5 (CH g) ; 127,2 (CH i) ; 127,6 (CH c) ; 129,1 (CH b) ; 135,8 ($=\text{C}-\text{S}$) ; 135,9 ($\text{C}-\text{N}$) ; 143,5 ($=\text{C}-\text{CH}_3$) ; 155,7 ($\text{C}-\text{OH}$).

SM (ESI $^+$) : $m/z = 302,5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

T_{fus} : 132-133°C.

N-tosyl-1,2,3,4-tétrahydro-7-quinoléinol^{128,129}



C₁₆H₁₇NO₃S
M = 303,3 g/mol

Dans un ballon monocol de 100 mL, une suspension de 700 mg (2,3 mmol ; 1 éq.) de N-tosyl-1,2-dihydro-7-quinoléinol **172** et 70 mg de palladium 10% sur charbon, dans 20 mL de méthanol est préparée. Elle est ensuite placée sous atmosphère d'hydrogène pendant 12h. Le milieu réactionnel est alors filtré sur célite et le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner le produit hydrogéné.

Aspect : solide jaune.

Rendement : 729 mg ; 100%.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,19.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,58 (*quint.*, 2H, ³J_{i-j} = ³J_{i-h} = 6 Hz, CH₂ i) ; 2,38 (*s + sl*, 5H, CH₃ a, CH₂ h) ; 3,77 (*t*, 2H, ³J_{j-i} = 6 Hz, CH₂ j) ; 4,97 (*sl*, 1H, OH e) ; 6,60 (*dd*, 1H, ³J_{f-g} = 8,4 Hz, ³J_{f-d} = 2,4 Hz, CH f) ; 6,86 (*d*, 1H, ³J_{g-f} = 8,4 Hz, CH g) ; 7,19 (*d*, 2H, ³J_{b-c} = 8,4 Hz, CH b) ; 7,35 (*d*, 1H, ³J_{d-f} = 2,4 Hz, CH d) ; 7,51 (*d*, 2H, ³J_{c-b} = 8 Hz, CH c).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 21,4 (CH₂ i) ; 21,5 (CH₃ a) ; 25,9 (CH₂ h) ; 46,6 (CH₂ j) ; 111,3 (CH d) ; 112,6 (CH f) ; 122,6 (=C-C) ; 127,0 (CH c) ; 129,6 (CH b) ; 129,9 (CH g) ; 136,4 (=C-S) ; 137,2 (C-N) ; 143,6 (=C-CH₃) ; 154,2 (C-OH).

SM (ESI⁺) : m/z = 304,3 ([M+H]⁺).

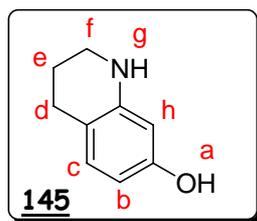
AE : C₁₆H₁₇NO₃S, calculée : C 63,34 ; H 5,65 ; N 4,62 ; S 10,57 ;
mesurée : C 63,27 ; H 5,68 ; N 4,64 ; S 10,13.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3406 (F, l, ν OH) ; 3064 (f, ν CHAR) ; 2952-2881 (f, ν CH₂) ; 2843 (f, ν OCH₃) ; 1612, 1595, 1509, 1489 (F, ν C=C Ar) ; 1329 (F, ν C-N) ; 1228 (F, ν SO₂) ; 1158 (F, ν C-O) ; 974 (F) ; 939 (F) ; 898 (F) ; 865 (F) ; 841 (F) ; 709 (F) ; 691 (F, ν S-O) ; 663, 587, 544, 526 (m, γ CHAR).

T_{fus.} : 152-154°C.

1,2,3,4-tétrahydro-7-quinoléinol

RN = 58196-33-1



$C_9H_{11}NO$

M = 149,2 g/mol

Méthode A :

A une solution de 188 mg (1,15 mmol ; 1 éq.) de 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **120** dans 2 mL d'acide acétique, 3 mL d'acide hydrobromique à 30% dans l'acide acétique sont additionnés goutte à goutte. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation et sous azote, à 100°C pendant 2 jours. De jaune, il vire au rouge au fil du chauffage. La réaction est alors laissée revenir à température ambiante puis elle est quenchée par ajout de 50 mL d'eau. Le pH de la phase aqueuse est ajusté à 7 par ajout d'une solution aqueuse de soude 1M puis elle est extraite quatre fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en sulfite de sodium puis par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile marron qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol 98/2. Le produit déméthylé est obtenu sous la forme d'un solide marron (118 mg ; 69%).

Méthode B :

Une suspension de 10,5g (0,034 mol ; 1 éq.) de *N*-tosyl-7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **170** dans 17 mL d'eau, 30 mL d'acide acétique et 17 mL d'acide propanoïque est préparée, 37 mL (0,11 mol ; 3,2 éq.) d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 3M sont ajoutés goutte à goutte puis le mélange est chauffé progressivement au reflux. La solution devient limpide puis elle noircit au fur et à mesure du chauffage. Après 6h, le milieu est laissé revenir à température ambiante puis dilué par ajout d'eau. La phase aqueuse est extraite trois fois à l'éther. Les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, puis séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant et évaporation du solvant sous pression réduite, le produit de départ est récupéré (750mg ; 10%).

La phase aqueuse est ajustée à pH=7 par ajout de carbonate de sodium solide à 0°C, puis elle est extraite trois fois à l'éther. Les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, puis séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol 99/1.

Aspect : solide marron.

Rendement : 3 g ; 58%.

Rf (DCM/MeOH 95/5) : 0,25.

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 1,91 (*dt*, 2H, $^3J_{e-f} = 5,2$ Hz, $^3J_{e-d} = 6$ Hz, CH_2 e); 2,68 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6$ Hz, CH_2 d); 3,27 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 5,2$ Hz, CH_2 f); 5,97 (*d*, 1H, $^4J_{h-b} = 2,4$ Hz, CH h); 6,09 (*dd*, 1H, $^4J_{b-h} = 2$ Hz, $^3J_{b-c} = 8$ Hz, CH b); 6,78 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8$ Hz, CH c).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 22,1 (CH_2 e); 25,9 (CH_2 d); 41,9 (CH_2 f); 101,9 (CH h); 105,7 (CH b); 114,7 ($-\text{C}=\text{}$); 130,3 (CH c); 144,6 (C-N); 154,6 (C-OH).

SM (ESI^+) : $m/z = 150,3$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

AE : $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}$, calculée : C 72,46 ; H 7,43 ; N 9,39 ;
mesurée : C 72,16 ; H 7,45 ; N 9,19.

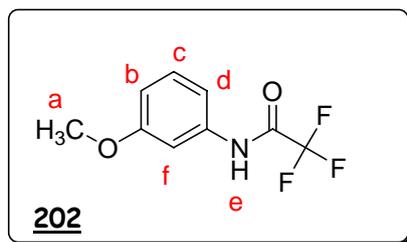
IR (KBr , cm^{-1}) : 3336 (F, l, ν NH) ; 3291 (F, l, ν OH) ; 3022 (f, ν CHAr) ; 2932-2842 (f, ν CH_2) ; 2842 (f, ν OCH_3) ; 1616, 1597, 1519, 1486 (F, ν $\text{C}=\text{C}$ Ar) ; 1468 (F) ; 1436 (F) ; 1327 (F, ν C-N) ; 1172 (F, ν C-O) ; 1117 (m) ; 933 (m) ; 871 (F) ; 838 (F) ; 790 (F) ; 714 (F) ; 633, 593, 531 (m, γ CHAr).

T_{fus} : 88,5 - 89,5 °C (Lit.²³⁴ : 87-91°C).

²³⁴ Field, G.; Hammond, P. R.; Brevet : 5,283,336 ; 1994 ; 7 p.

2,2,2-trifluoro-N-(3-méthoxyphényl)acétamide¹⁴³

RN = 14818-55-4



$C_9H_8F_3NO_2$

M = 219,2 g/mol

A une solution de 6 mL (53 mmol ; 1 éq.) de *m*-anisidine et 648 mg (0,53 mmol ; 0,1 éq.) de 4-(diméthylamino)pyridine dans 40 mL de tétrahydrofurane anhydre, 15,5 mL (0,13 mol ; 2,45 éq.) de trifluoroacétate d'éthyle sont additionnés goutte à goutte puis le mélange est porté au reflux, en chauffant le bain à 75°C. Au bout de 24h, la réaction est laissée revenir à température ambiante puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissous dans l'acétate d'éthyle et la solution est lavée par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 1M et par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Elle est ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée et le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner un solide marron-clair qui est utilisé sans purification supplémentaire pour l'étape suivante.

Aspect : solide marron-clair.

Rendement : 9,1 g ; 78% (Lit.¹⁴³ 91%).

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,43.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 3,82 (s, 3H, CH₃ a) ; 6,79 (dd, 1H, ³J_{b-c} = 8 Hz, ³J_{b-f} = 2 Hz, CH b) ; 7,05 (dl, 1H, ³J_{d-c} = 7,6 Hz, CH d) ; 7,20 - 7,25 (ma, 2H, CH c et f) ; 7,84 (sl, 1H, NH e).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 55,2 (CH₃ a) ; 106,6 (CH f) ; 112,1 (CH b) ; 112,9-111,4-117,1-120,0 (q, ¹J_{C-F} = 286,7 Hz, -CF₃) ; 112,9 (CH d) ; 130,0 (CH c) ; 136,2 (C-N) ; 154,6-155,0-155,4-155,7 (q, ²J_{C-F} = 37,4 Hz, C=O) ; 160,1 (-COCH₃).

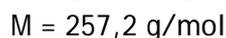
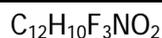
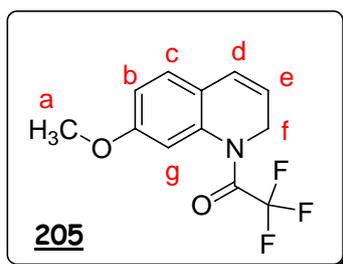
RMN ¹⁹F (CDCl₃, 376 MHz, δ (ppm)/CFCl₃) : -76,28 ppm (s, 3F, CF₃).

SM (ESI⁺) : m/z = 242,5 ([M+Na]⁺).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3282 (F, l, ν NH) ; 3216-3118 (f, ν CHAr) ; 2970 (f, ν CH₂) ; 2844 (f, ν OCH₃) ; 1726 (F, ν C=O) ; 1624 (F) ; 1608 (F) ; 1600 (F) ; 1568 (F) ; 1482 (m) ; 1463 (F) ; 1441 (F) ; 1349 (F) ; 1333 (F, ν C-N) ; 1173 (F, ν C-O) ; 1051 (F, ν C-F) ; 984 (F) ; 866 (F) ; 774 (F, δ C-F) ; 757 (F) ; 725 (F) ; 684 (F) ; 574, 535, 521, 453 (m, γ CHAr).

Tfus. : 73-74°C.

2,2,2-trifluoro-1-[7-méthoxy-1(2H)-quinoléinyl]-1-éthanone



Dans un ballon tricol de 250 mL muni d'une ampoule à addition, d'un septum et d'une arrivée d'azote, une solution de 5,12 g (0,023 mol ; 1 éq.) de 2,2,2-trifluoro-*N*-(3-méthoxyphényl)acétamide **202** dans 90 mL de méthanol est préparée et maintenue à 0°C à l'aide d'un bain de glace. 320 µL (2,27 mmol ; 0,1 éq.) de triéthylamine sont ajoutés puis 7,7 mL (0,11 mol ; 5 éq.) d'acroléine sont additionnés goutte à goutte *via* l'ampoule à addition. L'agitation est maintenue 3h supplémentaires puis le milieu réactionnel est dilué par ajout d'acétate d'éthyle et d'une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séparation des deux phases, la phase aqueuse, devenue verte, est extraite trois fois à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques combinées sont concentrées par évaporation du solvant sous pression réduite à basse température après ajout d'une pointe de spatule d'hydroquinone. Elles sont ensuite séchées sur sulfate de magnésium, filtrées et le reste de solvant est évaporé sous pression réduite à basse température.

6,3 g de produit huileux sont récupérés et redissous dans 105 mL de dichlorométhane anhydre. 203 µL d'acide trifluorométhanesulfonique sont ensuite additionnés goutte à goutte et le mélange est chauffé à 50°C pendant 30 min. Le milieu réactionnel est ensuite laissé refroidir à température ambiante puis dilué par ajout d'acétate d'éthyle et la phase aqueuse est extraite quatre fois à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en bicarbonate de sodium, puis par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium et séchée sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile rouge qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 90/10. Le produit cyclisé est récupéré dans la première fraction mais le produit de départ est obtenu majoritairement, dans la deuxième fraction.

Aspect : solide marron.

Rendement : 765 mg ; 13%.

R_f (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,55.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 3,77 (*s*, 3H, CH₂ f) ; 4,31 (*sl*, 2H, CH₂ f) ; 6,06-6,15 (*m*, 1H, CH e) ; 6,66 (*dl*, 1H, CH d) ; 6,91 (*dd*, 1H, ³J_{b-c} = 8,4 Hz, ³J_{b-g} = 2 Hz, CH b) ; 7,22-7,27 (*ma*, 2H, CH c et g).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 43,5 (*q*, ⁵J_{C-F} = 12,7 Hz ; CH₂ f) ; 55,5 (CH₃ a) ; 106,3 (CH g) ; 111,5 (CH b) ; 112,2-115,0-117,9-120,8 (*q*, ¹J_{C-F} = 285 Hz, -CF₃) ; 112,7 (CH d) ; 127,4 (CH e) ; 129,6 (CH e) ; 136,5 (C-N) ; 155,1 (*sl*, C=O) ; 159,0 (-COCH₃).

RMN ¹⁹F (CDCl₃, 376 MHz, δ (ppm)/CFCl₃) : -68,80 ppm (*s*, 3F, CF₃).

SM (ESI⁺) : m/z = 258,3 ([M+H]⁺).

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

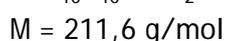
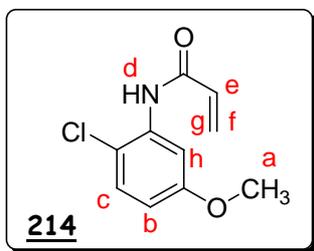
IR (KBr, cm^{-1}) : 3054-3015 (f, ν CHAr) ; 2941 (f, ν CH₂) ; 2843 (f, ν OCH₃) ; 1686 (F, ν C=O) ; 1612 (F, ν C=C) ; 1506, 1465, 1453, 1434 (F, ν C=C Ar) ; 1283 (F, ν C-N) ; 1171 (F, ν C-O) ; 1037 (m, ν C-F) ; 851 (m) ; 752 (m) ; 727 (m) ; 703 (m) ; 614 (m).

T_{fus.} : 78-80°C

IX.2.2 - Synthèse des pyridoquinoléines 122, 123 et 161

IX.2.2.1 - Electrocyclisation de type Nazarov

N-(2-chloro-5-méthoxyphényl)acrylamide



Dans un ballon monocol de 100 mL, une solution de 2 g (10 mmol ; 1 éq.) du chlorhydrate de la 6-chloro-*m*-anisidine dans 50 mL de dichlorométhane est préparée. 7,2 mL (44 mol ; 4,4 éq.) de *N,N*-diisopropyléthylamine puis 1 mL (0,012 mol ; 1,2 éq.) de chlorure d'acryloyle sont ajoutés, puis le mélange est laissé à température ambiante, sous atmosphère inerte pendant 12h. Le milieu réactionnel est alors lavé à l'eau puis avec une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium et une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite, en prenant soin de rester à basse température. Le produit brut obtenu est purifié par chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20.

Aspect : solide beige.

Rendement : 1,5 g ; 71%.

Rf (EP/AcOEt 80/20) : 0,47.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ (ppm) : 3,75 (s, 3H, CH₃ a) ; 5,78 (dd, 1H, ²J_{f-g} = J_{gem} = 1,6 Hz, ³J_{f-e} = J_{cis} = 10 Hz, CH f) ; 6,27 (dd, 1H, ²J_{g-f} = J_{gem} = 1,6 Hz, ³J_{g-e} = J_{trans} = 17,2 Hz, CH g) ; 6,60 (dd, 1H, ³J_{e-f} = J_{cis} = 10 Hz, ³J_{e-g} = J_{trans} = 17,2 Hz, CH e) ; 6,80 (dd, 1H, ⁴J_{b-h} = 2,7 Hz, ³J_{b-c} = 8,9 Hz, CH b) ; 7,40 (d, 1H, ³J_{c-b} = 8,9 Hz, CH c) ; 7,46 (d, 1H, ⁴J_{h-b} = 2,7 Hz, CH h) ; 9,64 (s, 1H, NH d).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 55,3 (CH₃ a) ; 106,5 (CH h) ; 111,2 (CH b) ; 113,9 (-CCl) ; 128,1 (=CH₂ f, g) ; 129,0 (CH e) ; 130,9 (CH c) ; 134,9 (C-N) ; 158,7 (C-OCH₃) ; 163,3 (C=O).

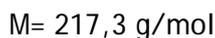
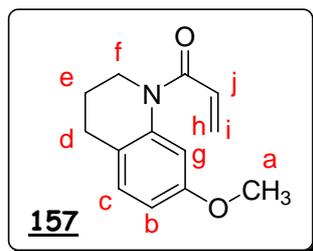
SM (ESI⁺) : m/z = 212,4 ([M+H]⁺).

AE : C₁₀H₁₀ClNO₂, calculée : C 56,75 ; H 4,76 ; Cl 16,75 ; N 6,62 ;
mesurée : C 56,38 ; H 4,92 ; Cl 17,04 ; N 6,53.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3240 (F, I, νNH) ; 3121-3049 (f, νCHAR) ; 3013 (f, ν=CH) ; 2956 (f) ; 2929 (f) ; 2832 (f, νOCH₃) ; 1667 (F, νC=O) ; 1590 (f, νC=C) ; 1541, 1471, 1429 (F, νC=CAr) ; 1404 (F) ; 1224 (F, νC-N) ; 1070 (m, νC-O) ; 1029 (m, νC-Cl) ; 987 (m) ; 959 (m) ; 871, 800, 722 (γCHAR) ; 638 (m).

T_{fus.} : 74 - 75 °C.

N-acryloyl-7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine



A une solution de 80 mg (0,49 mmol ; 1 éq.) de 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 dans 4 mL de dichlorométhane, sont ajoutés 175 μ L (1,00 mmol ; 2,0 éq.) de *N,N*-diisopropyléthylamine puis 50 μ L (0,6 mmol ; 1,2 éq.) de chlorure d'acryloyle. La solution vire au jaune, elle est laissée à température ambiante, sous agitation et sous argon pendant 5h. Le mélange est alors dilué dans le dichlorométhane et lavé par une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium. La phase organique est ensuite lavée trois fois à l'eau, une fois par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium et séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant et évaporation du solvant sous pression réduite, le produit brut est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange éther de pétrole/ acétate d'éthyle 75/25.

Aspect : huile orangée.

Rendement : 83 mg ; 78%.

Rf (EP/AcOEt 70/30) : 0,40.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,95 (*quint.*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6,4$ Hz, CH₂ e) ; 2,67 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6,4$ Hz, CH₂ d) ; 3,77 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 3,84 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 6,4$ Hz, CH₂ f) ; 5,67 (*dd*, 1H, $^2J_{i-h} = J_{gem} = 2$ Hz, $^3J_{i-j} = J_{cis} = 10$ Hz, CH i) ; 6,43 (*dd*, 1H, $^2J_{h-i} = J_{gem} = 2$ Hz, $^3J_{h-j} = J_{trans} = 16,8$ Hz, CH h) ; 6,59 (*dd*, 1H, $^3J_{j-i} = J_{cis} = 10$ Hz, $^3J_{j-h} = J_{trans} = 16,8$ Hz, CH j) ; 6,65 (*sl*, 1H, CH g) ; 6,69 (*dd*, 1H, $^4J_{b-g} = 2,4$ Hz, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b) ; 7,06 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c).

RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 23,8 (CH₂ e) ; 25,9 (CH₂ d) ; 43,1 (CH₂ f) ; 55,2 (CH₃ a) ; 110,6 (CH g) ; 110,7 (CH b) ; 124,8 (-C=) ; 127,3 (=CH₂) ; 128,7 (CH j) ; 129,9 (CH c) ; 138,7 (C-N) ; 157,5 (C-OCH₃) ; 165,5 (C=O).

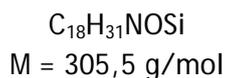
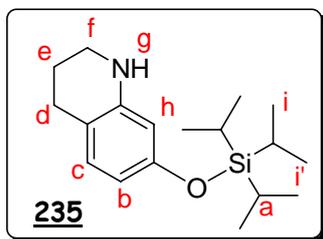
SM (ESI⁺) : m/z = 218,54 ([M+H]⁺).

HRMS (ES-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₃H₁₆NO₂ : 218,1181 ; masse trouvée : 218,1180 ; $\Delta = -0,5$ ppm.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 3000 (f, ν CHAr) ; 2945 (f, ν CH₂) ; 2838 (f, ν OCH₃) ; 1653 (F, ν C=C) ; 1615 (F, ν C=O) ; 1580, 1507, 1445, 1464 (F, ν C=C Ar) ; 1295 (m, ν C-N) ; 1121 (F, ν C-OCH₃) ; 1037 (f) ; 790 (f).

IX.2.2.1 - Synthèse des précurseurs pour l'o-lithiation

7-[(tri*is*opropylsilyl)oxy]-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine



A une solution de 303 mg (2,03 mmol ; 1 éq.) de 1,2,3,4-tétrahydro-7-quinoléinol 145 dans 5 mL de dichlorométhane, 510 μ L (2,38 mmol ; 1,2 éq.) de chlorure de tri*is*opropylsilyle sont additionnés goutte à goutte. 328 mg (4,82 mmol ; 2,4 éq.) d'imidazole sont ensuite ajoutés, puis le mélange réactionnel est laissé agiter à température ambiante sous azote. La solution vire à l'orange et un précipité blanc se forme. La réaction est stoppée au bout de 24h par ajout de 10 mL d'eau. La phase aqueuse est extraite trois fois au dichlorométhane, puis les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium et séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile marron qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice, en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 90/10.

Aspect : huile jaune.

Rendement : 567 mg ; 91%.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,85.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,09 (*dl*, 18H, CH *i*, *i'*) ; 1,16 - 1,27 (*m*, 3H, CH *a*) ; 1,91 (*dt*, 2H, $^3J_{e-f} = 5,6$ Hz, $^3J_{e-d} = 6,4$ Hz, CH₂ *e*) ; 2,68 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6,4$ Hz, CH₂ *d*) ; 3,25 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 5,6$ Hz, CH₂ *f*) ; 3,72 (*sl*, 1H, NH *g*) ; 6,02 (*d*, 1H, $^4J_{h-b} = 2$ Hz, CH *h*) ; 6,15 (*dd*, 1H, $^4J_{b-h} = 2$ Hz, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH *b*) ; 6,75 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH *c*).

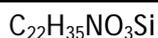
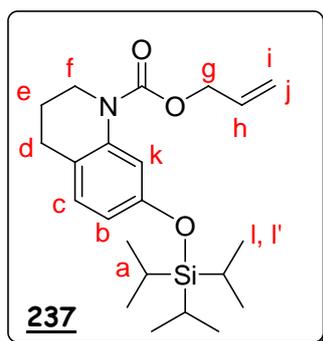
RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 12,7 (CH *a*) ; 18,0 (CH₃ *i*, *i'*) ; 22,4 (CH₂ *e*) ; 26,2 (CH₂ *d*) ; 41,9 (CH₂ *f*) ; 105,4 (CH *h*) ; 108,9 (CH *b*) ; 114,3 (-C=) ; 130,0 (CH *c*) ; 145,3 (C-N) ; 154,8 (C-OSi).

SM (ESI⁺) : m/z = 306,4 ([M+H]⁺).

HRMS (ES-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₈H₃₂NOSi : 305,2253 ; masse trouvée : 306,2257 ; $\Delta = 1,2$ ppm.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 3410 (*f*, *l*, ν NH) ; 2944 (*f*, ν CH₂) ; 2866 (*f*, ν OCH₃) ; 1615, 1580, 1510, 1465 (*F*, ν C=CAr) ; 1274 (*F*, ν C-N) ; 1249 (*F*, ν Si-C) ; 1184 (*F*, ν C-O) ; 1011 (*F*, ν O-Si) ; 883 (*F*, ν Si-C) ; 683 (*m*).

N-allyloxycarbonyl-7-[(tri*is*opropylsilyl)oxy]-3,4-dihydro-1(2H)-quinoléine



M = 389,6 g/mol

A une solution de 540 mg (1,77 mmol ; 1 éq.) de 7-[(tri*is*opropylsilyl)oxy]-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 235 dans 15 mL de dichlorométhane, 400 μ L (2,3 mmol ; 1,3 éq.) de *N,N*-di*is*opropyléthylamine sont additionnés suivis de 320 μ L (3,02 mmol ; 1,7 éq.) de chloroformate d'allyle. La solution vire au vert après l'ajout de la base puis à l'orange après l'ajout du chloroformate. Au bout de 12h à température ambiante, la réaction est quenchée par ajout d'eau et diluée avec du dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite trois fois au dichlorométhane puis les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en $NaHCO_3$ puis par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile incolore qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 98/2.

Aspect : huile incolore.

Rendement : 534 mg ; 77%.

Rf (Cyclo/AcOEt 95/5) : 0,50.

RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm) : 1,09 et 1,11 (s et s, 18H, CH_3 I, I') ; 1,20-1,32 (m, 3H, CH a) ; 1,91 (quint., 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6,3$ Hz, CH_2 e) ; 2,70 (t, 2H, $^3J_{d-e} = 6,3$ Hz, CH_2 d) ; 3,75 (t, 2H, $^3J_{f-e} = 6,3$ Hz, CH_2 f) ; 4,68 (d, 2H, CH_2 g) ; 5,22 (dd, 1H, $^3J_{j-h} = J_{cis} = 10,8$ Hz, $^2J_{j-i} = J_{gem} = 4$ Hz, CH j) ; 5,33 (dd, 1H, $^3J_{i-h} = J_{trans} = 16,8$ Hz, $^2J_{i-j} = J_{gem} = 4$ Hz, CH i) ; 5,92-6,02 (m, 1H, CH h) ; 6,57 (dd, 1H, $^4J_{b-k} = 2$ Hz, $^3J_{b-c} = 8$ Hz, CH b) ; 6,90 (d, 1H, $^3J_{c-b} = 8$ Hz, CH c) ; 7,25 (sl, 1H, CH k).

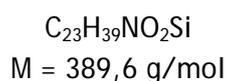
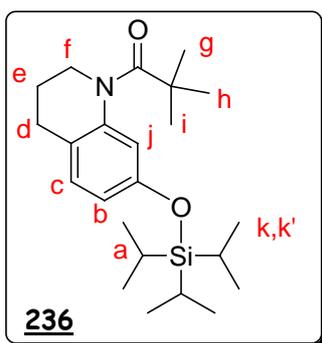
RMN ^{13}C ($CDCl_3$, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 12,5 (CH a) ; 17,9 (CH_3 I, I') ; 23,4 (CH_2 e) ; 26,6 (CH_2 d) ; 44,8 (CH_2 f) ; 66,4 (CH_2 g) ; 115,3 (CH k) ; 115,6 (CH b) ; 117,7 (CH_2 i, j) ; 122,3 (-C=) ; 128,8 (CH c) ; 132,6 (CH h) ; 138,5 (C-N) ; 153,8 (-C-OSi) ; 154,3 (C=O).

SM (ESI $^+$) : m/z = 390,2 ([M+H] $^+$).

HRMS (ESI-[M+H] $^+$) : masse calculée pour $C_{22}H_{35}NO_3Si$: 390,2464 ; masse trouvée : 390,2479 ; $\Delta = 3,7$ ppm.

IR (NaCl, cm^{-1}) : 2944-2892 (f, ν CH_2) ; 2867 (f, ν OCH_3) ; 1707 (F, ν C=O) ; 1611, 1576, 1505, 1463 (F, ν C=Ar) ; 1388 (F, ν C-N) ; 1260 (F, ν Si-C) ; 1131 (F, ν C-O) ; 1131 (F, ν O-Si) ; 883 (F, ν Si-C) ; 824 (m) ; 687 (m).

N-pivaloyl-7-[(tri*isopropylsilyl*)oxy]-3,4-dihydro-1(2*H*)-quinoléine



A une solution de 200 mg (0,65 mmol ; 1 éq.) de 7-[(tri*isopropylsilyl*)oxy]-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 235 dans 5 mL de dichlorométhane, 137 μ L (0,79 mmol ; 1,2 éq.) de *N,N*-di*isopropyl*éthylamine et 97 μ L (0,79 mmol ; 1,2 éq.) de chlorure de pivaloyle sont ajoutés goutte à goutte. La solution incolore est laissée agiter sous atmosphère inerte, à température ambiante pendant 15h. La réaction est alors quenchée par ajout d'eau et diluée par ajout de dichlorométhane. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en bicarbonate de sodium puis par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile incolore. Le produit brut est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 98/2.

Aspect : huile incolore.

Rendement : 139 mg; 54%.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,64.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,09 et 1,11 (*s* et *s*, 18H, CH₃ k, k'); 1,19-1,26 (*m* et *s*, 12H, CH a, CH₃ g, h, i); 1,94 (*quint.*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6,7$ Hz, CH₂ e); 2,65 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6,7$ Hz, CH₂ d); 3,71 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 6,7$ Hz, CH₂ f); 6,64 (*dd*, 1H, $^4J_{b-j} = 2,4$ Hz, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b); 6,89 (*d*, 1H, $^4J_{j-b} = 2,4$ Hz, CH j); 6,95 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c).

RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 12,2 (CH a); 17,5 (CH₃ k, k'); 23,7 (CH₂ e); 25,0 (CH₂ d); 28,7 (CH₃ i, g, h); 40,3 (-C(CH₃)₃); 44,8 (CH₂ f); 116,5 (CH j); 116,7 (CH b); 124,7 (-C=); 128,2 (CH c); 141,5 (C-N); 153,4 (C-OSi), 178,0 (-C=O).

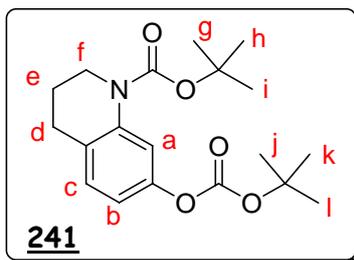
SM (ESI⁺) : m/z = 390,8 ([M+H]⁺).

HRMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₂₃H₄₀NO₂Si : 390,2828 ; trouvée : 390,2837; $\Delta = 2,2$ ppm.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 2944 (f, ν CH₂) ; 2867 (f, ν OCH₃) ; 1654 (F, ν C=O) ; 1608, 1574, 1505, 1496 (F, ν C=CAr) ; 1358 (F, ν C-N) ; 1151 (F, ν C-O) ; 975 (f) ; 882 (f) ; 823 (m) ; 636 (m).

tert-butyl-7-[(tert-butoxycarbonyl)oxy]-3,4-dihydro-1(2H)-quinoléinecarboxylate¹⁶²

RN = 676254-90-3



C₁₉H₂₇NO₅

M = 349,4 g/mol

Une solution de 1,5 g (0,01 mol ; 1 éq.) de 1,2,3,4-tétrahydro-7-quinoléinol 145, 13 g (0,06 mol ; 6 éq.) de di-*tert*-butyl dicarbonate et 122 mg (1 mmol ; 0,1 éq.) de 4-(diméthylamino)pyridine dans 50 mL de tétrahydrofurane est chauffée à reflux pendant 16h. 6,5 g (0,03 mol ; 3 éq.) de di-*tert*-butyl dicarbonate et 141 mg (1,1 mmol ; 0,11 éq.) de 4-(diméthylamino)pyridine sont de nouveau ajoutés et le mélange est laissé 28h supplémentaires au reflux. Le mélange est alors concentré par évaporation du solvant sous pression réduite, puis le résidu obtenu est repris dans le dichlorométhane et lavé une fois à l'eau et une fois par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 90/10.

Aspect : solide blanc.

Rendement : 1,1 g ; 32 %.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,52.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,52 (s, 9H, CH₃ j, k, l) ; 1,54 (s, 9H, CH₃ g, h, i) ; 1,90 (dt., 2H, ³J_{e-f} = 6 Hz, ³J_{e-d} = 6,4 Hz, CH₂ e) ; 2,74 (t, 2H, ³J_{d-e} = 6,4 Hz, CH₂ d) ; 3,69 (t, 2H, ³J_{f-e} = 6 Hz, CH₂ f) ; 6,78 (dd, 1H, ⁴J_{b-a} = 2,4 Hz, ³J_{b-c} = 8,4 Hz, CH b) ; 7,04 (d, 1H, ³J_{c-b} = 8,4 Hz, CH c) ; 7,56 (sl, 1H, CH a).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 23,1 (CH₂ e) ; 27,1 (CH₂ d) ; 27,6 (CH₃ g, h, i) ; 28,2 (CH₃ j, k, l) ; 44,5 (CH₂ f) ; 80,9 (-OC(CH₃ g, h, i)) ; 83,1 (-OC(CH₃ j,k,l)) ; 116,0 (CH a) ; 116,8 (CH b) ; 127,0 (-C=) ; 128,8 (CH c) ; 139,0 (C-N) ; 148,7 (-O-(C=O)) ; 152,0 (-C-OBoc) ; 153,5 (-N-(C=O)-).

SM (ESI⁺) : m/z = 350,6 ([M+H]⁺).

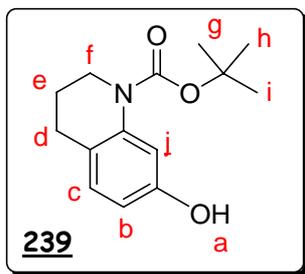
AE : C₁₉H₂₇NO₅, calculée : C 65,31 ; H 7,79 ; N 4,01 ;
mesurée : C 65,17 ; H 7,92 ; N 4,14.

IR (KBr, cm⁻¹) : 2977 (f, ν CH₂) ; 2938 (f, ν CH₃) ; 1754 (F, ν C=O ester) ; 1691 (F, ν C=O carbamate) ; 1611, 1588, 1502, 1455 (F, ν C=CAr) ; 1372 (F, ν C-N) ; 1342 (m) ; 1305 (m) ; 1251 (F) ; 1227 (F) ; 1144 (F, ν C-O) ; 904 (m) ; 879 (m) ; 857 (m).

T_{fus.} : 88-89°C.

tert-butyl-7-hydroxy-3,4-dihydro-1(2H)-quinoléinecarboxylate¹⁶²

RN = 676254-89-0



C₁₄H₁₉NO₃

M = 249,3 g/mol

A une solution de 1,04 g (0,03 mol ; 1 éq.) de *tert*-butyl-7-[(*tert*-butoxycarbonyl)oxy]-3,4-dihydro-1(2H)-quinoléinecarboxylate 241 dans 20 mL de méthanol, 823 mg (0,06 mol ; 2 éq.) de carbonate de potassium sont ajoutés. Le mélange est laissé 15h, sous agitation et sous azote à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite puis le résidu obtenu est repris dans l'eau et l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est extraite trois fois à l'acétate d'éthyle puis les phases organiques combinées sont lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium et séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner le produit désiré qui est utilisé sans purification supplémentaire.

Aspect : solide blanc.

Rendement : 716 mg ; 96 %.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,30.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,53 (s, 9H, CH₃ g, h, i) ; 1,89 (td, 2H, ³J_{e-f} = 6 Hz, ³J_{e-d} = 6,4 Hz, CH₂ e) ; 2,69 (t, 2H, ³J_{d-e} = 6,4 Hz, CH₂ d) ; 3,68 (t, 2H, ³J_{f-e} = 6 Hz, CH₂ f) ; 6,50 (dd, 1H, ⁴J_{b-f} = 2,4 Hz, ³J_{b-c} = 8,4 Hz, CH b) ; 6,92 (d, 1H, ³J_{c-b} = 8,4 Hz, CH c) ; 7,31 (sl, 1H, CH j).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 23,5 (CH₂ e) ; 26,7 (CH₂ d) ; 28,4 (CH₃ g, h, i) ; 44,9 (CH₂ f) ; 81,0 (-C(CH₃)₃) ; 110,6 (CH j) ; 110,9 (CH b) ; 121,6 (-C=) ; 129,2 (CH c) ; 139,0 (C-N) ; 153,9 (C=O) ; 154,0 (-C-OH).

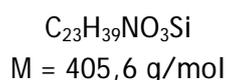
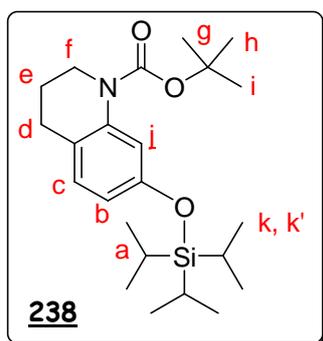
SM (ESI⁺) : m/z = 250,0 ([M+H]⁺).

AE : C₁₄H₁₉NO₃, calculée : C 67,45 ; H 7,68 ; N 5,62 ;
mesurée : C 67,07 ; H 7,68 ; N 5,60.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3400 (F, l, ν OH) ; 3015 (f, ν CHAr) ; 2967-2855 (f, ν CH₂) ; 1662 (F, ν C=O) ; 1614, 1509, 1458 (F, ν C=Car) ; 1385 (F, ν C-N) ; 1166 (F, ν C-O) ; 870 (m) ; 769 (m).

T_{fus.} : 103-104°C.

tert-butyl 7-[(*triisopropylsilyl*)oxy]-3,4-dihydro-1(2*H*)-quinoléinecarboxylate



A une solution de 55 mg (0,22 mmol ; 1 éq.) de *N-tert*butoxy-7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 239 dans 2,5 mL de dichlorométhane, 32 mg (0,47 mmol ; 2,1 éq.) d'imidazole sont ajoutés suivis de 57 μL (0,27 mmol ; 2,2 éq.) de chlorure de *triisopropylsilyl* goutte à goutte. Après quelques minutes, il se forme un précipité puis la réaction est laissée réagir à température ambiante, sous atmosphère d'azote. Après 12h, elle est stoppée par ajout d'eau et diluée avec du dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau, puis par une solution aqueuse saturée en bicarbonate de sodium et par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur MgSO_4 et filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit brut est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 90/10. 32 mg de produit de départ sont récupérés en plus du produit désiré (58%).

Aspect : huile incolore.

Rendement : 26 mg ; 29%.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,48.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 1,09 et 1,11 (*s* et *s*, 18H, CH k, k') ; 1,19-1,30 (*m*, 3H, CH a) ; 1,52 (*s*, 9H, CH_3 g, h, i) ; 1,89 (*td*, 2H, $^3J_{e-f} = 6 \text{ Hz}$, $^3J_{e-d} = 6,4 \text{ Hz}$, CH_2 e) ; 2,68 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6,4 \text{ Hz}$, CH_2 d) ; 3,67 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 6 \text{ Hz}$, CH_2 f) ; 6,52 (*dd*, 1H, $^4J_{b-j} = 2,4 \text{ Hz}$, $^3J_{b-c} = 8 \text{ Hz}$, CH b) ; 6,87 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8 \text{ Hz}$, CH c) ; 7,18 (*sl*, 1H, CH j).

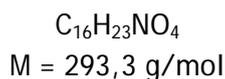
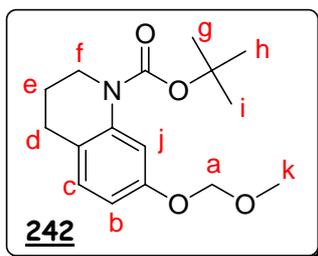
RMN ^{13}C (CDCl_3 , J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 12,6 (CH a) ; 18,0 (CH_3 k, k') ; 23,6 (CH_2 e) ; 26,7 (CH_2 d) ; 29,7 (CH_3 g, h, i) ; 44,5 (CH_2 f) ; 80,6 ($-\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 114,9 (CH j) ; 115,6 (CH b) ; 122,3 ($-\text{C}=\text{C}$) ; 128,7 (CH c) ; 139,3 ($=\text{C}-\text{N}$) ; 153,7 ($-\text{C}-\text{OSi}$) ; 153,8 ($-\text{C}=\text{O}$).

SM (ESI $^+$) : $m/z = 406,5$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) ; 428,5 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$).

HRMS (ESI - ($[\text{M}+\text{H}]^+$)) : masse calculée pour $\text{C}_{23}\text{H}_{40}\text{NO}_3\text{Si}$: 428,2597 ; mesurée : 428,2581 ; $\Delta = 3,7 \text{ ppm}$.

IR (NaCl , cm^{-1}) : 2944 (f, νCH_2) ; 2867 (f, νOCH_3) ; 1703 (F, $\nu \text{C}=\text{O}$) ; 1612, 1576, 1505 (F, $\nu \text{C}=\text{C}(\text{Ar})$) ; 1368 (F, $\nu \text{C}-\text{N}$) ; 1254 (F) ; 1159 (F, $\nu \text{C}-\text{O}$) ; 964 (m) ; 883 (m) ; 830 (m) ; 687 (m, l).

tert-butyl-7-(méthoxyméthoxy)-3,4-dihydro-1(2H)-quinoléinecarboxylate



A une suspension de 128 mg (0,032 mol ; 2 éq.) d'hydrure de sodium dans 10 mL de tétrahydrofurane, maintenue à 0°C sous azote, est ajoutée une solution de 407 mg (0,016 mol ; 1 éq.) de N-*tert*butoxy-7-hydroxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 239 dans 5 mL de tétrahydrofurane. Après 30 min d'agitation, une solution de 146 µL (0,019 mol ; 1,2 éq.) de chlorure de méthylméthylether dans 5 mL de tétrahydrofurane, est additionnée goutte à goutte. Après 30 min à 0°C, la réaction est ramenée à température ambiante et laissée ainsi durant 14h. Elle est alors quenchée par ajout d'eau puis la phase aqueuse est extraite trois fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en bicarbonate de sodium puis par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 95/5.

Aspect : huile incolore.

Rendement : 380 mg ; 81%.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,54.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,53 (s, 9H, CH₃ g, h, i) ; 1,89 (*quint.*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6,4$ Hz, CH₂ e) ; 2,71 (t, 2H, $^3J_{d-e} = 6,4$ Hz, CH₂ d) ; 3,47 (s, 3H, CH₃ k) ; 3,69 (t, 2H, $^3J_{f-e} = 6,4$ Hz, CH₂ f) ; 5,14 (s, 2H, CH₂ a) ; 6,69 (dd, 1H, $^4J_{b-j} = 2,4$ Hz, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b) ; 6,96 (d, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c) ; 7,49 (d, 1H, $^4J_{b-j} = 2,4$ Hz, CH j).

RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 24,0 (CH₂ e) ; 27,3 (CH₂ d) ; 28,8 (CH₃ g, h, i) ; 45,0 (CH₂ f) ; 56,3 (CH₃ k) ; 81,3 (-C(CH₃)₃) ; 95,1 (CH₂ a) ; 112,2 (CH j) ; 112,6 (CH b) ; 123,8 (-C=) ; 129,4 (CH c) ; 139,8 (C-N) ; 154,2 (C=O) ; 155,6 (-C-OH).

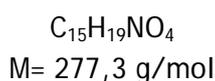
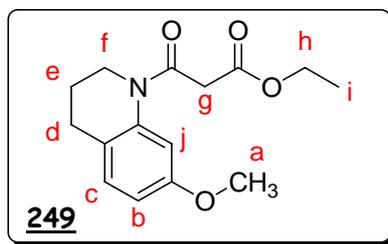
SM (ESI⁺) : m/z = 294,4 ([M+H]⁺).

AE : C₁₆H₂₂NO₄, calculée : C 65,51 ; H 7,90 ; N 4,77 ;
mesurée : C 65,98 ; H 8,17 ; N 4,68.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 2974-2846 (f, ν CH₂) ; 2825 (f, ν CH₃) ; 1698 (F, ν C=O) ; 1615, 1583, 1504, 1478 (F, ν C=CAr) ; 1369 (F, ν C-N) ; 1337 (F) ; 1154 (F, ν C-O phénol) ; 1079 (m) ; 1010 (F, ν C-O) ; 923 (m) ; 892 (m) ; 866 (m) ; 805 (m) ; 767 (m).

IX.2.2.3 - Acylation intramoléculaire de Friedel-Crafts

N-éthylmalonyl-7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine



A une solution de 3,0 g (0,018 mol ; 1 éq.) de 7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 120 dans 150 mL de dichlorométhane, on ajoute 4,2 mL (0,024 mol ; 1,3 éq.) de *N,N*-diisopropyléthylamine. La solution jaune se décolore, 2,9 mL (0,020 mol ; 1,1 éq.) de chlorure d'éthylmalonyle sont alors additionnés goutte à goutte, il se dégage des fumées blanches. Le mélange est laissé 1h sous agitation et sous argon, à température ambiante jusqu'à disparition du produit de départ. Le milieu réactionnel est alors traité par une solution aqueuse saturée en bicarbonate de sodium, puis par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Les phases organiques sont réunies, séchées sur MgSO₄ et filtrées. Le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit obtenu est engagé sans purification supplémentaire dans l'étape suivante.

Aspect : huile jaune-orangé.

Rendement : 5,1 g ; 100%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,55.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,25 (*t*, 3H, ³J_{i-h} = 7,2 Hz, CH₃ i) ; 1,96 (*quint.*, 2H, ³J_{e-f} = ³J_{e-d} = 6,6 Hz, CH₂ e) ; 2,67 (*t*, 2H, ³J_{d-e} = 6,6 Hz, CH₂ d) ; 3,63 (*s*, 2H, CH₂ g) ; 3,77 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 3,73-3,80 (*m*, 2H, CH₂ f) ; 4,16 (*q*, 2H, ³J_{h-i} = 7,2 Hz, CH₂ h) ; 6,71 (*dd*, 1H, ⁴J_{b-j} = 2 Hz, ³J_{b-c} = 8,4 Hz, CH b) ; 6,75-6,82 (*sl*, 1H, CH j) ; 7,05 (*d*, 1H, ³J_{c-b} = 8,4 Hz, CH c).

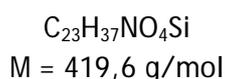
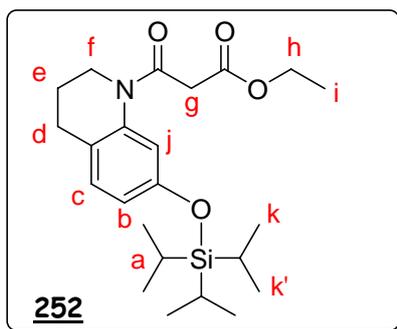
RMN ¹³C (DMSO-d₆, T=55°C, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 13,5 (CH₃ i) ; 23,1 (CH₂ e) ; 25,0 (CH₂ d) ; 41,8 (CH₂ f) ; 54,9 (CH₃ a) ; 60,2 (CH₂ h) ; 109,6 (CH j) ; 111,0 (CH b) ; 128,8 (CH c) ; 138,6 (C-N) ; 157,1 (C-OCH₃) ; 165,1 (N-C=O) ; 167,1 (O-C=O).

SM (ESI⁺) : m/z = 278,56 ([M+H]⁺).

HRMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₅H₂₀NO₄ : 278,1392 ; trouvée : 278,1404 ; Δ = 4,2 ppm.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 2941 (f, ν CH₂) ; 2839 (f, ν OCH₃) ; 1737 (F, ν C=O ester) ; 1655 (F, ν C=O amide) ; 1614, 1583, 1505, 1446 (F, ν C=Car) ; 1389 (F, ν C-N) ; 1165 (F, ν C-O) ; 1034 (F) ; 929 (f) ; 866 (f) ; 866 (m) ; 810 (f).

N-éthylmalonyl-7-[(tri*isopropylsilyl*)oxy]-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine



A une solution de 110 mg (0,36 mmol ; 1 éq.) de 7-[(tri*isopropylsilyl*)oxy]-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine 235 dans 3 mL de dichlorométhane, sont additionnés 63 μ L (0,36 mmol ; 1 éq.) de *N,N*-di*isopropyl*éthylamine fraîchement distillée, puis 80 μ L (0,62 mmol ; 1,7 éq.) de chlorure d'éthylmalonyle goutte à goutte. Des fumées blanches se dégagent et la solution vire au jaune vif. Le milieu réactionnel est laissé réagir sous azote et sous agitation toute une nuit. Il est alors dilué par ajout de dichlorométhane puis la phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en $NaHCO_3$, par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit obtenu est utilisé sans autre purification supplémentaire.

Aspect : huile jaune pâle.

Rendement : 146 mg ; 97%.

Rf (Cyclo/AcOEt 90/10) : 0,58.

RMN 1H (DMSO- d_6 , T=55°C, 400 MHz), δ (ppm) : 1,06 et 1,08 (s et s, 18H, CH_3 k, k') ; 1,15 - 1,29 (ma, 6H, CH a, CH_3 i) ; 1,88 (quint., 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6,4$ Hz, CH_2 e) ; 2,65 (t, 2H, $^3J_{d-e} = 6,4$ Hz, CH_2 d) ; 3,13 (s, 2H, CH_2 g) ; 3,65 (t, 2H, $^3J_{f-e} = 6,4$ Hz, CH_2 f) ; 4,10 (q, 2H, $^3J_{h-i} = 7,2$ Hz, CH_2 h) ; 6,64 (dd, 1H, $^4J_{b-j} = 2,6$ Hz, $^3J_{b-c} = 8,1$ Hz, CH b) ; 7,05 (d, 1H, $^3J_{c-b} = 8,1$ Hz, CH c) ; 7,07-7,10 (sl, 1H, CH j).

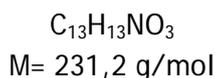
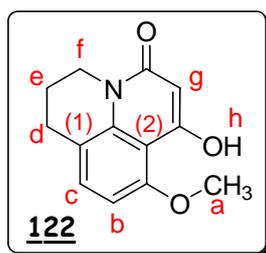
RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , T=55°C, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 11,7 (CH a) ; 13,5 (CH_3 i) ; 17,5 (CH_3 k, k') ; 23,1 (CH_2 e) ; 25,1 (CH_2 d) ; 41,5 (CH_2 f) ; 60,2 (CH_2 h) ; 114,8 (CH j) ; 116,0 (CH b) ; 128,8 (CH c) ; 138,7 (C-N) ; 152,9 (C-OSi) ; 164,9 (N-C=O) ; 167,2 (O-C=O).

SM (ESI $^+$) : m/z = 420,6 ([M+H] $^+$).

HRMS (ESI - ([M+H] $^+$)) : masse calculée pour $C_{23}H_{38}NO_4Si$: 420,2570 ; trouvée : 420,2555 ; $\Delta = 3,5$ ppm.

IR (NaCl, cm^{-1}) : 2945 (f, ν CH_2) ; 2867 (f, ν CH_3) ; 1739 (F, ν C=O ester) ; 1661 (F, ν C=O amide) ; 1610, 1574, 1498, 1464 (F, ν C=Car) ; 1390 (F, ν C-N) ; 1184 (F, ν C-O) ; 957 (f) ; 882 (m, ν O-Si).

7-hydroxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one



15 g d'acide polyphosphorique sont ajoutés sur 2,90 g (10 mmol ; 1 éq.) de *N*-éthylmanonyl-7-méthoxy-1,2,3,4-tétrahydroquinoléine **249** sous agitation et le mélange est chauffé à 120°C pendant 2h. Le mélange des deux huiles s'homogénéise peu à peu et devient jaune puis vire au rouge. La réaction est arrêtée et le mélange est versé immédiatement à chaud, avec précaution sur 200 mL d'eau sous vive agitation. La phase aqueuse est traitée par une solution de NH_4OH de façon à atteindre un pH de 8. Après quatre extractions de la phase aqueuse au dichlorométhane, les phases organiques sont combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchées sur $MgSO_4$. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. L'huile marron obtenue est purifiée par chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol 98/2.

Aspect solide jaune.

Rendement : 1,18 g ; 63%.

R_f (DCM/MeOH 98/2) : 0,35.

RMN 1H ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm) : 2,03 (*quint.*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6$ Hz, CH_2 e) ; 2,90 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6$ Hz, CH_2 d) ; 4,03 (*s*, 3H, CH_3 a) ; 4,13 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 6$ Hz, CH_2 f) ; 6,04 (*s*, 1H, CH g) ; 6,62 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b) ; 7,22 (*s*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c) ; 9,63 (*s*, 1H, OH h).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 20,1 (CH_2 e) ; 27,8 (CH_2 d) ; 42,0 (CH_2 f) ; 56,6 (CH_3 a) ; 99,9 (CH g) ; 102,6 (CH b) ; 105,2 (=C- (2)) ; 119,0 (-C= (1)) ; 138,4 (C-N) ; 155,0 (C-O CH_3) ; 162,2 (C=O) ; 163,6 (C-OH).

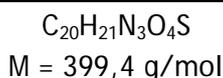
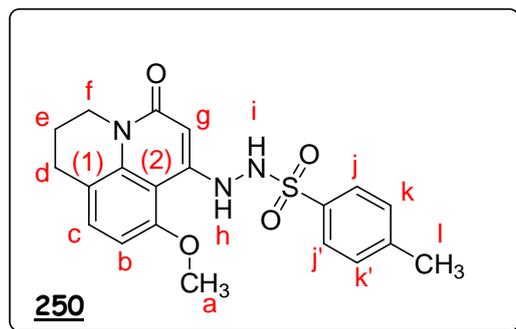
SM (ESI $^+$) : m/z = 232,4 ([M+H] $^+$).

HRMS (ESI-[M+H] $^+$) : masse calculée pour $C_{13}H_{14}NO_3$: 232,0974 ; trouvée : 232,0974 ; $\Delta = 0$ ppm.

IR (KBr, cm^{-1}) : 3268 (F, l, ν OH) ; 3087 (f, ν CHAr) ; 2999-2888 (f, ν CH_2) ; 2870 (f, ν O CH_3) ; 1659 (F, ν C=O) ; 1629, 1586, 1477, 1459 (F, ν C=CAr) ; 1380 (F, ν C-N) ; 1247 (F) ; 1212 (F) ; 1194 (F) ; 1145 (F, ν C-O) ; 1021 (F) ; 829 (m) ; 818 (m) ; 677 (f) ; 661 (F).

T_{fus.} : 121-122°C.

N-(3-hydroxy-10-méthoxy-6,7-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-1-ylidène)-4-méthylbenzènesulfonohydrazide



Dans un ballon monocol, surmonté d'un montage de Dean-Stark et d'un réfrigérant, une solution de 2 g (8,6 mmol ; 1 éq.) de 7-hydroxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one **122** dans 100 mL de toluène anhydre est préparée. 3,22 g (17,3 mmol ; 2 éq.) de *p*-toluènesulfonylhydrazide sont ajoutés ainsi que quelques gouttes d'acide sulfurique. Le mélange est alors chauffé au reflux du toluène, il devient limpide au fur et à mesure que la température augmente puis le produit précipite en cours de réaction. Au bout de 18h la réaction est stoppée et diluée par ajout de dichlorométhane. Le produit est récupéré par filtration sur fritté et lavé plusieurs fois avec du toluène et du dichlorométhane froid. Le filtrat est lavé par une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium, par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séché sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol 99/1. Le produit de départ est également récupéré (785 mg ; 39%). Le précipité et le produit obtenu à l'issue de la colonne sont réunis.

Aspect : poudre blanche.

Rendement : 1,8 g ; 53%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,30.

RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ (ppm) : 1,83 - 1,92 (*m*, 2H, CH₂ e) ; 2,44 (*s*, 3H, CH₃ l) ; 2,82 (*t*, 2H, $^3J_{d-e}$ = 5,6 Hz, CH₂ d) ; 3,56 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 3,92 (*t*, 2H, $^3J_{f-e}$ = 5,6 Hz, CH₂ f) ; 5,98 (*s*, 1H, CH g) ; 6,70 (*d*, 1H, $^3J_{b-c}$ = 8 Hz, CH b) ; 7,30 (*d*, 1H, $^3J_{c-b}$ = 8 Hz, CH c) ; 7,51 (*d*, 2H, $^3J_{k-j}$ = $^3J_{k'-j'}$ = 8 Hz, CH k, k') ; 7,76 (*d*, 2H, $^3J_{j-k}$ = $^3J_{j'-k'}$ = 8 Hz, CH j', j) ; 8,30 (*s*, 1H, NH h) ; 9,63 (*s*, 1H, NH i).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 20,0 (CH₂ e) ; 21 (CH₃ l) ; 27,2 (CH₂ d) ; 41,3 (CH₂ f) ; 56,1 (CH₃ a) ; 92,9 (CH g) ; 102,7 (=C(2)-) ; 103,5 (CH b) ; 117,9 (=C(1)-) ; 127,5 (CH j) ; 130,0 (CH k) ; 130,5 (CH c) ; 134,5(=C-S) ; 138,1 (=C-N) ; 144,1 (=C-CH₃) ; 152,0 (=C-NH) ; 155,1 (C-OCH₃) ; 161,1 (C=O).

SM (ESI⁺) : m/z = 400,3 ([M+H]⁺).

HRMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₂₀H₂₂N₃O₄S : 400,1331 ; trouvée : 400,1316 ; Δ = - 3,8 ppm.

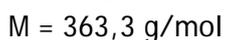
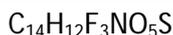
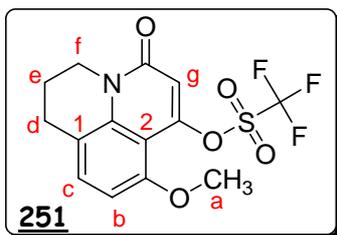
Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

IR (KBr, cm^{-1}) : 3362 (F, l, ν NH) ; 3045 (f, ν CHAr) ; 2940 (f, ν CH₂) ; 2839 (f, ν OCH₃) ; 1621 (F, ν C=O) ; 1600, 1572, 1536 (F, ν C=CAr) ; 1458 (F) ; 1385 (F, ν SO₂) ; 1346 (F, ν C-N) ; 1310 (F) ; 1223 (F) ; 1121 (F, ν C-O) ; 1031 (F) ; 814 (m) ; 801 (m) ; 765 (m) ; 732 (m) ; 694 (m) ; 553 (m).

T_{fus.} : 220°C^d.

7-trifluorométhanesulfonyloxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-

5-one



Une solution de 1,2 g (5 mmol ; 1 éq.) de 7-hydroxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one 122 dans 70 mL de tétrahydrofurane distillé est préparée et maintenue à -78°C, sous azote. 3,1 mL (6 mmol ; 1,2 éq.) d'une solution de lithium diisopropylamide à 2M dans le cyclohexane, sont ajoutés goutte à goutte. Après 10 min d'agitation, une solution de 2,2 g (6 mmol ; 1,2 éq.) de *N*-phényltrifluorométhanesulfonylimide dans 20 mL de tétrahydrofurane distillé est additionnée lentement. Le mélange est laissé remonter à température ambiante puis il est laissé agiter 12h. Il est ensuite quenché par ajout d'une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium puis dilué par ajout d'éther. La phase aqueuse est extraite deux fois à l'éther puis les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par une chromatographie-éclair sur silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 98/2.

Aspect : solide jaune pâle.

Rendement : 1,1 g ; 61%.

Rf (Cyclo/ AcOEt 60/40) : 0,31.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,08 (*td*, 2H, $^3J_{e-f} = 5,6 \text{ Hz}$, $^3J_{e-d} = 6,4 \text{ Hz}$, CH₂ e) ; 2,93 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6,4 \text{ Hz}$, CH₂ d) ; 3,94 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 4,16 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 5,6 \text{ Hz}$, CH₂ f) ; 6,51 (*s*, 1H, CH g) ; 6,69 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8,4 \text{ Hz}$, CH b) ; 7,34 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4 \text{ Hz}$, CH c).

RMN ^{19}F (CDCl₃, 376 MHz), (δ (ppm)/CFCl₃) : -73,92 ppm (*s*, 3H, CF₃).

RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 20,3 (CH₂ e) ; 27,6 (CH₂ d) ; 43,0 (CH₂ f) ; 55,5 (CH₃ a) ; 104,2 (CH g) ; 106,0 (=C- (2)) ; 112,4 (CH b) ; 117,4 (-C= (1)) ; 118,7 (*q*, $J_{C-F} = 320 \text{ Hz}$, CF₃) ; 132,4 (CH c) ; 138,5 (C-N) ; 154,1 (C-O) ; 154,7 (C=O).

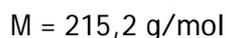
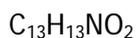
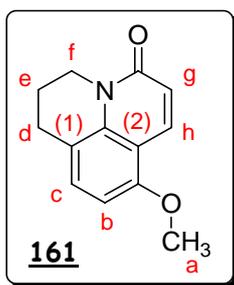
SM (ESI⁺) : $m/z = 364,4$ ([M+H]⁺).

HRMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₄H₁₃F₃NO₅S : 364,0467 ; trouvée : 427,0549 ; $\Delta = 3,1 \text{ ppm}$.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3097-3016 (*f*, ν CHAr) ; 2982-2947 (*f*, ν CH₂) ; 2848 (*f*, ν OCH₃) ; 1661 (*F*, ν C=O) ; 1591, 1483, 1458 (*F*, ν C=Car) ; 1419 (*F*) ; 1389 (*F*, ν SO₂) ; 1338 (*F*, ν C-N) ; 1289 (*F*) ; 1147 (*F*, ν C-O) ; 1029 (*F*, ν C-F) ; 945 (*F*) ; 921 (*F*) ; 907 (*F*) ; 879 (*F*) ; 864 (*F*) ; 835 (*F*) ; 819 (*F*) ; 791 (*F*, δ C-F) ; 737 (*F*, ν S-O) ; 725 (*m*) ; 660 (*m*) ; 599 (*m*).

T_{fus.} : 111-112°C.

8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one



Méthode A :

A une solution de 100 mg (0,25 mmol ; 1 éq.) de *N*-(3-hydroxy-10-méthoxy-6,7-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-1-ylidène)-4-méthylbenzènesulfonohydrazide 250 dans un mélange de 10 mL de *t*BuOH et 3 mL de méthanol, 124 mg (1,10 mmol ; 4,4 éq.) de *tert*-butanolate de potassium sont ajoutés. Le mélange est jaune limpide, il est chauffé à 70°C pendant 48h. La réaction est alors laissée revenir à température ambiante puis les solvants sont évaporés sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris dans le dichlorométhane ce qui permet de faire précipiter le produit de départ qui est alors éliminé par filtration. Le filtrat est lavé par une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium, par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / méthanol 99/1.

Aspect : solide jaune clair.

Rendement : 38 mg ; 70%.

Méthode B :

Dans un ballon monocol de 250 mL, 1,76 g (5 mmol ; 1 éq.) de 7-trifluorométhane sulfonyloxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one 251, 620 mg (0,015 mol ; 3 éq.) de chlorure de lithium et 225 mg (0,19 mmol ; 3,8 mol%) de palladium tétrakis(triphénylphosphine) sont dissous dans 130 mL de tétrahydrofurane anhydre. 2,6 mL (9 mmol ; 1,8 éq.) d'hydruure de tributylétain sont ensuite additionnés goutte à goutte. Le mélange est chauffé à reflux pendant 3h. Le solvant est alors évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 98/2 puis dichlorométhane/ méthanol 99/1. Le produit de départ est récupéré à 30% (540 mg).

Aspect : solide jaune clair.

Rendement : 644 mg ; 60%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,41.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,03 - 2,12 (*m*, 2H, CH₂ e) ; 2,90 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6$ Hz, CH₂ d) ; 3,91 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 4,17 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 6$ Hz, CH₂ f) ; 6,57 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8$ Hz, CH b) ; 6,63 (*d*, 1H, $^3J_{g-h} = J_{cis} = 10$ Hz, CH g) ; 7,21 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8$ Hz, CH c) ; 8,12 (*d*, 1H, $^3J_{h-g} = J_{cis} = 10$ Hz, CH h).

Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

RMN ^{13}C (CDCl_3 , J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 20,9 (CH_2 e) ; 27,1 (CH_2 d) ; 42,3 (CH_2 f) ; 55,7 (CH_3 a) ; 102,2 (CH b) ; 111,2 ($=\text{C}(2)-$) ; 117,0 ($=\text{C}(1)-$) ; 119,4 (CH g) ; 130,1 (CH c) ; 133,3 (CH h) ; 137,5 (C-N) ; 154,6 (C-OCH₃) ; 162,1 (C=O).

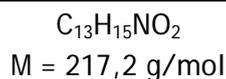
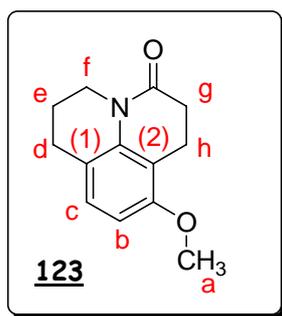
SM (ESI⁺) : m/z = 216,3 ([M+H]⁺).

HRMS (ESI - ([M+H]⁺)) : masse calculée pour $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{NO}_2$: 216,1025 ; mesurée : 216,1033 ; Δ = 3,9 ppm.

IR (KBr, cm^{-1}) : 3050-3017 (f, ν CHAr) ; 2936 (f, ν CH₂) ; 2839 (f, ν OCH₃) ; 1646 (F, ν C=O) ; 1587, 1480, 1439 (F, ν C=CAr) ; 1254 (F, ν C-N) ; 1190 (m) ; 1121 (F, ν C-O) ; 1029 (F) ; 824 (m) ; 804 (m) ; 722 (F) ; 696 (m) ; 542 (F).

T_{fus.} : 110-112°C.

8-méthoxy-2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one



A une solution de 690 mg (3 mmol ; 1 éq.) de 8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one **161** dans 50 mL de méthanol distillé, 780 mg (30 mmol ; 10 éq.) de magnésium en poudre sont ajoutés puis le mélange est porté aux ultrasons pendant 2h environ jusqu'à l'apparition d'un abondant précipité, le milieu réactionnel devient noir. Après 12 h à température ambiante, la réaction est quenchée par ajout de 30 mL d'HCl 1M et de 30 mL d'eau. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois à l'éther puis les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium puis en chlorure de sodium, et séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant et évaporation du solvant sous pression réduite, le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 95/5 puis dichlorométhane/méthanol 98/2.

Aspect : solide beige.

Rendement : 319 mg ; 46%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,52.

RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,91 (*q*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6 \text{ Hz}$, CH₂ e) ; 2,60 (*t*, 2H, $^3J_{h-g} = 7,6 \text{ Hz}$, CH₂ h) ; 2,73 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6 \text{ Hz}$, CH₂ d) ; 2,88 (*t*, 2H, $^3J_{g-h} = 7,6 \text{ Hz}$, CH₂ g) ; 3,82 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 3,85 (*t*, 3H, $^3J_{f-e} = 6 \text{ Hz}$, CH₂ f) ; 6,55 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8,4 \text{ Hz}$, CH b) ; 6,95 (*d*, 1H, $J_{c-b} = 8,4 \text{ Hz}$, CH c).

RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 17,9 (CH₂ h) ; 21,7 (CH₂ e) ; 26,8 (CH₂ d) ; 30,9 (CH₂ g) ; 40,9 (CH₂ f) ; 55,7 (CH₃ a) ; 105,3 (CH b) ; 113,4 (=C(2)-) ; 117,9 (=C(1)-) ; 127,6 (CH c) ; 136,9 (C-N) ; 154,7 (C-OCH₃) ; 169,7 (C=O).

SM (ESI⁺) : $m/z = 218,4$ ([M+H]⁺).

HRMS (ESI - ([M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₃H₁₆NO₂ : 218,1181 ; mesurée : 218,1189 ; $\Delta = 3,6 \text{ ppm}$.

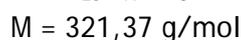
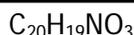
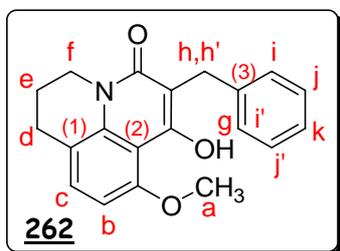
IR (KBr, cm⁻¹) : 2938 (f, ν CH₂) ; 2839 (f, ν OCH₃) ; 1654 (F, ν C=O) ; 1608, 1589, 1493, 1464 (F, ν C=CAr) ; 1381 (F, ν C-N) ; 1339 (F) ; 1267 (m) ; 1176 (m) ; 1136 (F, ν C-O) ; 1087 (F) ; 1049 (m) ; 810 (m).

T_{fus.} : 97-98°C.

IX.2.3 - Introduction des substituants aromatiques

IX.2.3.1 - Substituants benzylés

6-benzyl-7-hydroxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one



Dans un ballon bicol de 25 mL, une suspension de 30 mg (0,13 mmol ; 0,7 éq.) de carbonate de potassium dans 2 mL de *N,N*-diméthylformamide fraîchement distillé, est préparée à 0°C et il lui est additionné lentement une solution de 45 mg (0,2 mmol ; 1 éq.) de 7-hydroxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one **122** dans 2 mL de *N,N*-diméthylformamide, sous agitation et sous atmosphère inerte. Le mélange est laissé sous agitation pendant 45 min puis 24 μL (0,2 mmol ; 1 éq.) de bromure de benzyle sont alors ajoutés goutte à goutte à température ambiante. La solution jaunit, elle est laissée 2h à température ambiante puis le milieu réactionnel est hydrolysé par ajout d'eau goutte à goutte, puis acidifié jusqu'à pH = 2 à l'aide d'une solution aqueuse d'HCl 1,25 M. La phase aqueuse est extraite trois fois au dichlorométhane puis les phases organiques combinées sont lavées trois fois à l'eau, puis une fois par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Elles sont ensuite séchées sur sulfate de magnésium et filtrées. Le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner une huile orange qui est purifiée par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 60/40.

Aspect : solide beige.

Rendement : 39 mg ; 62%.

R_f (DCM/MeOH 98/2) : 0,53.

RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 2,02 (*quint.*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6 \text{ Hz}$, CH₂ e) ; 2,87 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6 \text{ Hz}$, CH₂ d) ; 4,00 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 4,02 (*s*, 2H, CH₂ h,h') ; 4,16 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 6 \text{ Hz}$, CH₂ f) ; 6,59 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8 \text{ Hz}$, CH b) ; 7,11 - 7,24 (*ma*, 4H, CH c, j, j', k) ; 7,46 (*d*, 2H, $^3J_{i,j} = 7,6 \text{ Hz}$, CH i,i') ; 9,91 (*s*, 1H, OH g).

RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 20,6 (CH₂ e) ; 27,8 (CH₂ d) ; 29,4 (CH₂ h) ; 42,4 (CH₂ f) ; 56,5 (CH₃ a) ; 102,5 (CH b) ; 105,1 (=C-Bn) ; 111,1 (=C- (2)) ; 118,6 (-C= (1)) ; 125,5 (CH k) ; 128,0 (CH j) ; 128,8 (CH i) ; 129,2 (CH c) ; 137,0 (-C= (3)) ; 141,3 (C-N) ; 154,6 (C-OCH₃) ; 157,9 (C=O) ; 163,1 (C-OH).

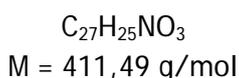
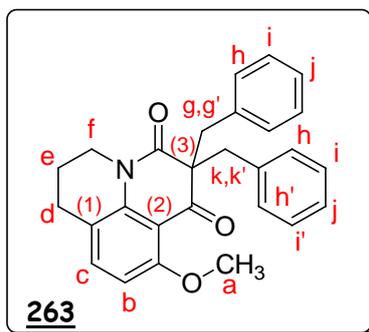
SM (ESI⁺) : m/z = 322,4 ([M+H]⁺).

AE : C₂₀H₁₉NO₃, calculée : C 74,75 ; H 5,96 ; N 4,36 ;
mesurée : C 74,59 ; H 6,24 ; N 4,09.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3306 (F, l, ν OH) ; 3027 (f, ν CHAr) ; 2926 (f, ν CH₂) ; 2845 (f, ν OCH₃) ; 1640 (F, ν C=O) ; 1610, 1583, 1475, 1463 (F, ν C=CAr) ; 1388 (F) ; 1332 (F, ν C-N) ; 1216 (F) ; 1172 (F) ; 1140 (F, ν C-O) ; 1034 (F) ; 796 (m) ; 751 (m) ; 697 (m).

T_{fus.} : 163-164°C.

2,2-dibenzyl-10-méthoxy-6,7-dihydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléine-1,3(2H)-dione



Aspect : solide blanc.

Rendement : 11 mg ; 18%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,78.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,62 (*quint.*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6$ Hz, CH₂ e) ; 2,44 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6$ Hz, CH₂ d) ; 3,41 (*d*, 2H, $^2J = 12,4$ Hz CH₂ g, g' ou k, k') ; 3,43 (*d*, 2H, $^2J = 12,8$ Hz CH₂ k, k' ou g, g') ; 3,70 (*t*, 2H, $^3J_{f-e} = 6$ Hz, CH₂ f) ; 3,88 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 6,38 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b) ; 6,93 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c) ; 6,99 – 7,15 (*ma*, 10H, CH j, h, h', i, i').

RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 20,1 (CH₂ e) ; 27,3 (CH₂ d) ; 29,7 (CH₂ g ou k) ; 42,1 (CH₂ k ou g) ; 45,4 (CH₂ f) ; 56,2 (CH₃ a) ; 64,5 (-C(Bn)₂) ; 105,6 (CH b) ; 112,1 (=C- (2)) ; 116,4 (-C= (1)) ; 126,5 (CH j) ; 127,6 (CH i, i') ; 130,0 (CH h, h') ; 136,0 (CH c) ; 136,5 (-C=(3)) ; 139,9 (C-N) ; 158,5 (C-OCH₃) ; 171,3 (O=C-N) ; 194,7 (C=O).

SM (ESI⁺) : m/z = 412,5 ([M+H]⁺).

AE : C₂₇H₂₅NO₃, calculée : C 78,81 ; H 6,12 ; N 3,40 ;
mesurée : C 78,35 ; H 6,28 ; N 3,26.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3057-3006 (f, ν CHAr) ; 2965-2875 (f, ν CH₂) ; 2839 (f, ν OCH₃) ; 1688 (F, ν C=O cétone) ; 1645 (F, ν C=O amide) ; 1607, 1578, 1487, 1455 (F, ν C=CAr) ; 1378 (F) ; 1367 (F, ν C-N) ; 1148 (F, ν C-O) ; 1040 (F) ; 814 (m) ; 699 (m).

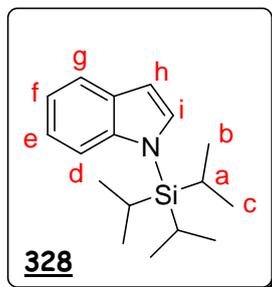
T_{fus.} : 153-154°C.

IX.2.3.2 - α -arylation catalysée au palladium

IX.2.3.2.a - Etude modèle sur la N-méthylpipéridinone

N-(triisopropylsilyl)indole^{211,212}

RN = 123191-00-4



$C_{17}H_{27}NSi$

M = 273,5 g/mol

A une solution de 3 g (26 mmol ; 1 éq.) d'indole dans 120 mL de tétrahydrofurane distillé, maintenue à $-78^{\circ}C$ par un bain acétone/azote liquide, 15 mL (0,03 mol ; 1,15 éq.) d'une solution de *n*-butyllithium à 2,5M dans l'hexane, sont ajoutés goutte à goutte. Après quelques minutes d'agitation, 8 mL (0,037 mol ; 1,42 éq.) de chlorure de triisopropylsilyle sont additionnés lentement puis la réaction est laissée 3h30mn à cette température. Elle est ensuite laissée revenir à température ambiante puis elle est quenchée par ajout d'une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium et diluée par ajout de dichlorométhane. La phase aqueuse est extraite trois fois au dichlorométhane puis les phases organiques sont rassemblées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur sulfate de magnésium et filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 99/1.

Aspect : huile incolore.

Rendement : 6,95 g ; 98%.

Rf (Cyclo/AcOEt 98/2) : 0,57.

RMN 1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ (ppm) : 1,07 et 1,09 (s et s, 18H, CH_3 b et c); 1,67-1,80 (m, 3H, CH a); 6,61 (d, 1H, $^3J_{h-i} = 2,8$ Hz, CH h); 7,01-7,13 (ma, 2H, CH f, e); 7,36 (d, 1H, $^3J_{i-h} = 2,8$ Hz, CH i); 7,50-7,58 (ma, 2H, CH d, g).

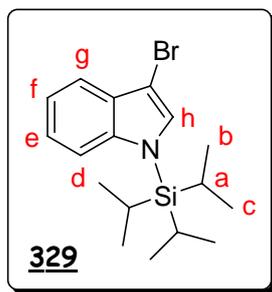
RMN ^{13}C (CDCl $_3$, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 12,8 (CH a); 18,1 (CH_3 b, c); 104,8 (CH h); 113,8 (CH d); 119,7 (CH g); 120,5 (CH f); 121,3 (CH e); 131,0 (CH i); 131,4 (-C=); 140,8 (C-N).

SM (ESI $^+$) : m/z = 274, 1([M+H] $^+$).

HRMS (ESI-[M+H] $^+$) : masse calculée pour $C_{17}H_{28}NSi$: 274,1991 ; mesurée : 274,2003 ; $\Delta = 4,4$ ppm.

3-bromo-*N*-(triisopropylsilyl)indole^{210,213}

RN = 148249-36-9



C₁₇H₂₆BrNSi
M = 351,1 g/mol

A une solution de 3 g (11 mmol ; 1 éq.) de *N*-(triisopropylsilyl)indole 328 dans 50 mL de tétrahydrofurane distillé, maintenue à -78°C par un bain acétone/azote liquide, 2 g (12 mmol ; 1,1 éq.) de *n*-bromosuccinimide recristallisé sont ajoutés. Le mélange est maintenu à cette température pendant 4h30mn puis il est laissé réchauffer à température ambiante. Le milieu réactionnel est alors dilué par ajout d'éther, la phase organique est lavée à l'eau puis par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, et séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant et évaporation du solvant sous pression réduite, le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 99/1.

Aspect : solide blanc (recristallisation dans l'éthanol).

Rendement : 4 g ; 100%.

Rf (Cyclo/AcOEt 98/2) : 0,65.

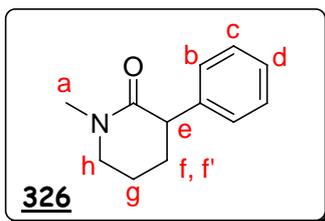
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ (ppm) : 1,07 et 1,09 (s et s, 18H, CH₃ b et c) ; 1,71-1,83 (m, 3H, CH a) ; 7,15-7,26 (ma, 2H, CH f, e) ; 7,44 (d, 1H, ³J_{d-e} = 7,6 Hz, CH d) ; 7,51 (s, 1H, CH h) ; 7,58 (d, ³J_{g-f} = 8,4 Hz, CH g).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 12,8 (CH a) ; 18,0 (CH₃ b, c) ; 93,5 (C-Br) ; 114,1 (CH d) ; 119,1 (CH f) ; 120,5 (CH g) ; 122,5 (CH h) ; 129,7 (CH e) ; 129,9 (-C=) ; 140,1 (C-N).

SM (ESI⁺) : m/z = 352,1 ([M+H]⁺).

N-méthyl-3-phényl-2-pipéridinone

RN = 20538-40-3



$C_{12}H_{15}NO$

$M = 189,2 \text{ g/mol}$

A une solution de 125 μL (1,1 mmol ; 2,2 eq.) de *N*-méthyl-2-pipéridinone dans 2 mL de THF distillé, sous agitation et sous azote maintenue à 0°C, 0,7 mL (1 mmol ; 2 eq.) d'une solution de *sec*butyllithium à 1,4 M dans le cyclohexane est ajouté goutte à goutte puis le mélange est laissé 20 min sous agitation. Une solution de 150 mg (1,1 mmol ; 2,2 eq.) de chlorure de zinc dans 1 mL de THF distillé est ensuite ajoutée goutte à goutte. Après 20 min supplémentaires à 0°C, la solution de l'énolate de zinc est canulée sur une solution de 15 mg (0,038 mmol ; 0,076 eq.) de 2-dicyclohexylphosphino-2'-(*N,N*-diméthylamino)biphényle, 14 mg (0,024 mmol ; 0,048 eq.) de palladium bis(dibenzylidèneacétone) et 53 μL (0,5 mmol ; 1 eq.) de bromobenzène dans 1 mL de THF distillé. La solution est alors chauffée à 65°C pendant 8h puis refroidie à température ambiante. Elle est quenchée par addition d'une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium et est extraite trois fois à l'éther. La phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol 99/1.

Aspect : huile jaune.

Rendement : 93 mg ; 98 %.

Rf (Cyclo/AcOEt 60/40) : 0,20.

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz), δ (ppm) : 1,72 - 2,10 (*ma*, 4H, CH *g*, *f*) ; 2,87 (*s*, 3H, CH₃ *a*) ; 3,26-3,46 (*ma*, 2H, CH₂ *h*) ; 3,56 (*t*, 1H, $^3J_{e-f} = 6,4 \text{ Hz}$, $^3J_{e-f'} = 7,6 \text{ Hz}$, CH *e*) ; 7,12-7,34 (*ma*, 5H, CH *b*, *c* et *d*).

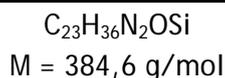
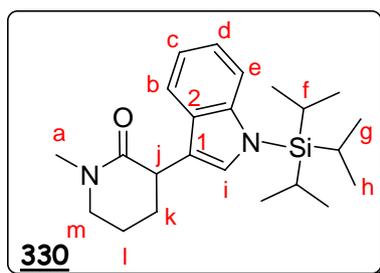
RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 20,7 (CH₂ *g*) ; 30,5 (CH₂ *f*) ; 35,0 (CH₃ *a*) ; 48,5 (CH *e*) ; 50,3 (CH₂ *h*) ; 126,5 (CH *d*) ; 128,2 (CH *b*) ; 128,4 (CH *c*) ; 141,7 (-C=) ; 170,6 (C=O).

SM (ESI⁺) : $m/z = 190,2$ ([M+H]⁺).

HRMS (ES-[M+H]⁺) : masse calculée pour $C_{12}H_{16}NO$: 190,1232 ; mesurée : 190,1232 ; $\Delta = 0,1 \text{ ppm}$.

IR (NaCl, cm^{-1}) : 3027 (*f*, ν CHAr) ; 2936-2865 (*f*, ν CH₂) ; 1638 (*F*, ν C=O) ; 1496 (*m*) ; 1450 (*f*) ; 1399 (*f*) ; 1352 (*f*, ν C-N) ; 1327 (*f*) ; 1244 (*f*) ; 753 (*f*) ; 700 (*m*).

N-méthyl-3-[1-(triisopropylsilyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-pipéridinone



A une solution de 140 μL (1,2 mmol ; 2,1 eq.) de *N*-méthyl-2-pipéridone dans 3 mL de tétrahydrofurane anhydre, à 0°C, sous azote, 0,9 mL (1,2 mmol ; 2,1 eq.) d'une solution de *sec*-butyllithium à 1,4 M dans le cyclohexane est ajouté goutte à goutte puis le mélange est laissé 20 min sous agitation. Une solution de 60 mg (0,44 mmol ; 0,8 eq.) de chlorure de zinc dans 2 mL de tétrahydrofurane anhydre est ensuite ajoutée goutte à goutte. Après 20 min supplémentaires à 0°C, la solution de l'énolate de zinc est canulée sur une solution de 18 mg (46 μmol ; 8 mol%) de 2-dicyclohexylphosphino-2'-(*N,N*-diméthylamino)biphényle, 22 mg (38 μmol ; 6,7 mol%) de palladium bis(dibenzylidèneacétone) et 200 mg (0,57 mmol ; 1 eq.) de 3-bromo-*N*-(triisopropylsilyl)indole dans 2 mL de tétrahydrofurane. La solution est chauffée à 65°C pendant 6h puis refroidie à température ambiante et quenchée par addition d'une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium. La phase aqueuse est extraite trois fois à l'éther. Les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchées sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 70/30.

Aspect : huile jaune

Rendement : 40 mg ; 18%.

R_f (Cyclo/AcOEt 60/40) : 0,23.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,26 (*dl*, 18H, CH₃ g et h) ; 1,60-1,74 (*m*, 3H, CH f) ; 1,75-2,21 (*ma*, 4H, CH₂ k et l) ; 3,06 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 3,41-3,49 (*m*, 2H, CH m) ; 6,97-7,15 (*ma*, 3H, CH c, d et i) ; 7,46 (*d*, 1H, ³J_{b-c} = 7,6 Hz, CH b) ; 7,53 (*d*, 1H, ³J_{e-d} = 8,4 Hz, CH e).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 12,8 (CH f) ; 18,1 (CH₃ g, h) ; 20,8 (CH₂ l) ; 28,7 (CH₂ k) ; 35,1 (CH₃ a) ; 50,2 (CH₂ m) ; 113,9 (CH e) ; 117,8 (-C(1)=) ; 119,0 (CH b) ; 119,3 (CH c) ; 121,2 (CH d) ; 128,9 (CH i) ; 130,1 (-C(2)=) ; 141,4 (=C-N) ; 171,0 (-C=O).

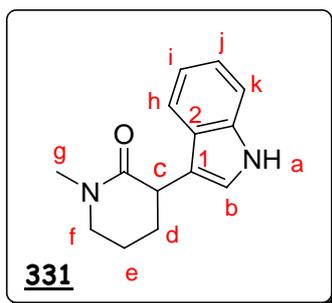
SM (ESI⁺) : m/z = 385,2 ([M+H]⁺) ; 791,1 ([2M+Na]⁺).

HRMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₂₃H₃₇N₂OSi : 385,2675 ; trouvée : 385,2671 ; $\Delta = 1,1 \text{ ppm}$.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 2946 (f, ν CHAr) ; 2867 (f, ν CH₂) ; 1634 (F, ν C=O) ; 1451 (F) ; 1450 (f) ; 1144 (f, ν N-Si) ; 883 (f, ν N-Si) ; 740 (f).

3-(1*H*-indol-3-yl)-1-méthyl-2-pipéridinone

RN = 105073-67-4



C₁₄H₁₆N₂O

M = 228,3 g/mol

A une solution de 11 mg (28,6 μ mol ; 1 eq.) de *N*-méthyl-3-[1-(triisopropylsilyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-pipéridinone 330 dans 1 mL de tétrahydrofurane, 60 μ L (60 μ mol ; 2,1 eq.) d'une solution 1 M de fluorure de tétrabutylammonium dans le THF sont ajoutés puis le mélange est laissé à température ambiante sous atmosphère d'azote. La réaction est quenchée au bout de 3h30min par ajout de quelques gouttes d'une solution aqueuse saturée en bicarbonate de sodium. La phase aqueuse est ensuite extraite trois fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium puis séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par deux colonnes successives de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol 98/2 puis 99/1.

Aspect : huile jaune pâle.

Rendement : 6 mg ; 92%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,20.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,76 - 2,02 (*ma*, 2H, CH e) ; 2,12 - 2,20 (*ma*, 2H, CH₂ d) ; 3,07 (*s*, 3H, CH₃ g) ; 3,34 - 3,50 (*m*, 2H, CH₂ f) ; 3,99 (*t*, 1H, ³J_{c-d} = 6,2 Hz, CH c) ; 6,93 (*d*, 1H, ³J_{b-a} = 1,6 Hz, CH b) ; 7,09 (*t*, 1H, ³J_{j-h} = 8 Hz, ³J_{j-i} = 7,2 Hz, CH j) ; 7,16 (*t*, 1H, ³J_{i-k} = 8 Hz, ³J_{i-j} = 7,2 Hz, CH i) ; 7,33 (*d*, 1H, ³J_{h-i} = 8 Hz, CH h) ; 7,54 (*d*, 1H, ³J_{k-j} = 8 Hz, CH k) ; 8,20 (*sl*, 1H, NH a).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 20,9 (CH₂ e) ; 28,9 (CH₂ d) ; 35,1 (CH₃ g) ; 40,1 (CH c) ; 50,3 (CH₂ f) ; 111,2 (CH h) ; 116,1 (-C(1)=) ; 119,3 (CH k) ; 119,4 (CH j) ; 121,9 (CH i) ; 122,2 (CH b) ; 126,6 (-C(2)=) ; 136,4 (=C-N) ; 171,1 (-C=O).

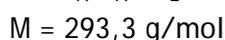
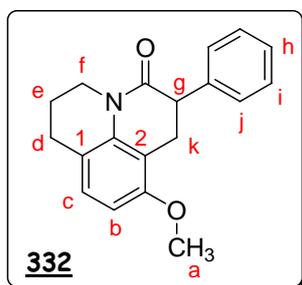
SM (ESI⁺) : m/z = 229, 1 ([M+H]⁺).

HRMS (ES-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₄H₁₇N₂O: 229,1341 ; trouvée : 229,1348 ; Δ = 0,7 ppm.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 3426 (f, l, ν NH) ; 2926 (f, ν CHAR) ; 2857 (f, ν CH₂) ; 1624 (F, ν C=O) ; 1506 (f) ; 1458 (f) ; 1400 (f) ; 1350 (f) ; 741 (f).

X.2.3.1.b - Au départ du lactame 152

8-méthoxy-6-phényl-2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one



Dans un ballon de 10 mL, muni d'un barreau aimanté et d'une arrivée d'azote, une solution de 239 mg (1,1 mmol ; 2,2 éq.) de 8-méthoxy-2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one **123** dans 2 mL de tétrahydrofurane anhydre est préparée et maintenue à 0°C. 0,71 mL (1 mmol ; 2 éq.) d'une solution de *sec*-butyllithium à 1,4 M dans le cyclohexane est ajouté goutte à goutte puis le mélange est laissé 20 mn sous agitation. Une solution de 150 mg (1,1 mmol ; 2,2 éq.) de chlorure de zinc dans 1 mL de tétrahydrofurane est ensuite ajoutée goutte à goutte. Après 20 min supplémentaires à 0°C, la solution de l'énolate de zinc est canulée sur une solution de 17 mg (43 µmol ; 8,6 mol%) de 2-dicyclohexylphosphino-2'-(*N,N*-diméthylamino)biphényle, 24 mg (42 µmol ; 8,3 mol%) de palladium bis(dibenzylidèneacétone) et 53 µL (0,5 mmol ; 1 éq.) de bromobenzène dans 1 mL de tétrahydrofurane anhydre. La solution est alors chauffée à 65°C pendant 5h. Après l'avoir laissé refroidir à température ambiante, elle est quenchée par addition d'une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium et extraite trois fois à l'éther. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 99/1 et enfin dichlorométhane/ méthanol 99/1.

Aspect : solide jaune pâle.

Rendement : 63 mg; 43%.

Rf (DCM/AcOEt 95/5) : 0,70.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,87-2,00 (*quint.*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6,4$ Hz, CH₂ e) ; 2,77 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6,4$ Hz, CH₂ d) ; 3,17 (*dd*, 1H, $^3J_{k'-k} = 16,4$ Hz, $^3J_{k'-g} = 9,4$ Hz, CH k') ; 3,27 (*dd*, 1H, $^3J_{k-k'} = 16,4$ Hz, $^3J_{k-g} = 6,4$ Hz, CH k) ; 3,81 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 3,87-4,02 (*ma*, 3H, CH g, CH₂ f) ; 6,57 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b) ; 6,98 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c) ; 7,22-7,35 (*ma*, 5H, CH h, i, j).

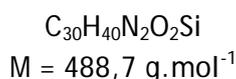
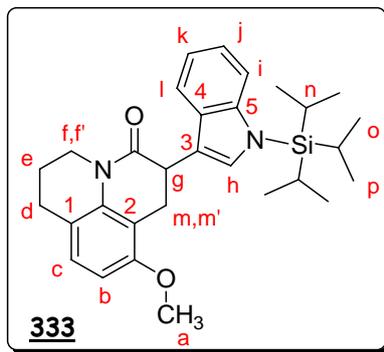
RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 21,7 (CH₂ e) ; 25,3 (CH₂ d) ; 26,7 (CH₂ k) ; 41,3 (CH₂ f) ; 46,1 (CH g) ; 55,6 (CH₃ a) ; 105,3 (CH b) ; 112,5 (=C(2)-) ; 117,6 (=C(1)-) ; 126,9 (CH c) ; 127,7 (CH j) ; 127,9 (CH i) ; 128,4 (CH h) ; 136,5 (-C(=Ph)) ; 139,0 (C-N) ; 154,8 (C-OCH₃) ; 170,0 (C=O).

SM (ESI⁺) : m/z = 294,2 ([M+H]⁺), 316,1 ([M+Na]⁺).

HRMS (ESI - ([M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₉H₂₀NO₂ : 294,1494 ; mesurée : 294,1484 ; $\Delta = 3,4$ ppm.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3062-3020 (f, ν CHAr) ; 2927 (f, ν CH₂) ; 2833 (f, ν OCH₃) ; 1667 (F, ν C=O) ; 1613, 1587, 1494, 1463 (F, ν C=CAr) ; 1385 (F, ν C-N) ; 1312 (F) ; 1259 (m) ; 1236 (m) ; 1130 (F, ν C-O) ; 1021 (F) ; 793 (m) ; 697 (m).

8-méthoxy-6-[1-(triisopropylsilyl)-1H-indol-3-yl]-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléin-5-one



Dans un ballon de 10 mL, muni d'un barreau aimanté et d'une arrivée d'azote, une solution de 454 mg (2,1 mmol ; 2,2 éq.) de 8-méthoxy-2,3,6,7-tétrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinoléin-5-one **123** dans 5 mL de tétrahydrofurane anhydre est préparée et maintenue à 0°C grâce à un bain de glace. 1,36 mL (2 mmol ; 2 éq.) d'une solution de *sec*-butyllithium à 1,4 M dans le cyclohexane sont ajoutés goutte à goutte puis le mélange est laissé 20 min sous agitation. Une solution de 286 mg (2,2 mmol ; 2,2 éq.) de chlorure de zinc sec dans 2 mL de tétrahydrofurane est ensuite ajoutée goutte à goutte. Après 20 min supplémentaires à 0°C, la solution de l'énolate de zinc est canulée sur une solution de 28 mg (71 μmol ; 7,5 mol%) de 2-dicyclohexylphosphino-2'-(*N,N*-diméthylamino)biphényle, 29,8 mg (52 μmol ; 5,5 mol%) de palladiumbis(dibenzylidèneacétone) et 335 mg (0,95 mmol ; 1 éq.) de 3-bromo-*N*-(triisopropylsilyl)indole **329** dans 2 mL de tétrahydrofurane distillé. Le mélange est ensuite chauffé à 65°C pendant 8h puis refroidi à température ambiante. Le milieu réactionnel est quenché par addition d'une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium et extraite trois fois à l'éther. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle de 90/10 à 80/20. Le produit de départ (250 mg) et l'indole de départ (268 mg ; 80%) sont récupérés. Le produit est de nouveau purifié par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane/acétate d'éthyle 97/3.

Aspect : huile jaune pâle.

Rendement : 22 mg ; 5%.

Rf (Cyclo/AcOEt 98/2) : 0,44.

RMN ^1H (CDCl $_3$, 400 MHz), δ (ppm) : 0,99 (*dd*, 18H, CH $_3$ o, p) ; 1,42-1,54 (*m*, 3H, CH n) ; 1,73-1,93 (*ma*, 2H, CH $_2$ e) ; 2,57-2,79 (*ma*, 2H, CH $_2$ d) ; 3,13 (*dd*, 1H, $^3J_{m-g} = 5,6 \text{ Hz}$, $^2J_{m-m'} = 16,4 \text{ Hz}$, CH m) ; 3,45 (*dd*, 1H, $^3J_{m'-g} = 4,5 \text{ Hz}$, $^2J_{m'-m} = 16,4 \text{ Hz}$, CH m') ; 3,62-3,71 (*ma*, 1H, CH f) ; 3,78 (*s*, 3H, CH $_3$ a) ; 4,03-4,10 (*ma*, 1H, CH f') ; 4,17-4,21 (*dd*, 1H, $^3J_{g-m} = 5,6 \text{ Hz}$, $^3J_{g-m'} = 4,5 \text{ Hz}$, CH g) ; 6,54 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8,4 \text{ Hz}$, CH b) ; 6,77 (*s*, 1H, CH h) ; 6,93 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4 \text{ Hz}$, CH c) ; 7,08-7,16 (*ma*, 2H, CH k, j) ; 7,36-7,41 (*dd*, 1H, $^3J_{i,l} = 8,8 \text{ Hz}$, CH i) ; 7,83-7,87 (*dd*, 1H, $^3J_{i,l} = 8,8 \text{ Hz}$, CH l).

RMN ^{13}C (CDCl $_3$, J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 12,7 (CH n) ; 18,0 (CH $_3$ o, p) ; 21,8 (CH $_2$ e) ; 24,3 (CH $_2$ m, m') ; 26,7 (CH $_2$ d) ; 37,9 (CH g) ; 41,1 (CH $_2$ f, f') ; 55,5 (CH $_3$ a) ; 105,2 (CH b) ; 113,1 (=C(2)-) ; 113,6 (CH i) ; 114,8 (=C(3)-) ; 117,7 (=C(1)-) ; 119,5 (CH l) ; 119,6 (CH k) ; 121,4 (CH j) ; 127,4 (CH c) ; 128,3 (CH h) ; 130,5 (=C(4)-) ; 136,6 (=C-N) ; 140,9 (C(5)-N) ; 154,9 (C-OCH $_3$) ; 170,0 (C=O).

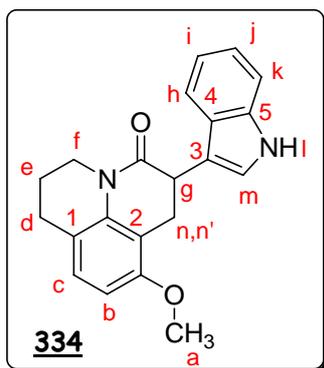
Chapitre 9 : Partie Expérimentale.

SM (ESI⁺) : m/z = 489,3 ([M+H]⁺), 999,0 ([2M+Na]⁺).

HRMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₃₀H₄₁N₂O₂Si : 489,2937 ; mesurée : 489,2949 ; Δ = 2,4 ppm.

IR (NaCl, cm⁻¹) : 2948-2927 (f, ν CH₂) ; 2867 (f, ν OCH₃) ; 1668 (F, ν C=O) ; 1615, 1591, 1495, 1465 (F, ν C=C_{Ar}) ; 1263 (F, ν C-N) ; 1145 (F, ν C-O) ; 1018 (F, ν N-Si) ; 883 (F, ν C-Si) ; 797 (F) ; 741 (F).

6-(1*H*-indol-3-yl)-8-méthoxy-2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*i*]quinoléin-5-one



$$M = 332,4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$$

A une solution de 5 mg (10,2 μmol ; 1 eq.) du dérivé silylé 333 dans 1 mL de tétrahydrofurane, 40 μL (40 μmol ; 3,9 eq.) d'une solution de fluorure de tétrabutylammonium (1M) dans le THF sont ajoutés. Le mélange est laissé à température ambiante sous atmosphère d'azote. La réaction est arrêtée au bout de 2h par ajout de quelques gouttes d'une solution aqueuse saturée en NaHCO_3 . La phase aqueuse est ensuite extraite deux fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont combinées et lavées par une solution aqueuse en chlorure de sodium puis séchées sur sulfate de magnésium. Après filtration du desséchant, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par deux colonnes successives de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 98/2 puis 99/1.

Aspect : huile jaune.

Rendement : 3 mg ; 88%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,40.

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz), δ (ppm) : 1,85-1,96 (*m*, 2H, CH_2 e) ; 2,69-2,78 (*m*, 2H, CH_2 d) ; 3,21-3,38 (*ma*, 2H, CH_2 n, n') ; 3,80 (*s*, 3H, CH_3 a) ; 3,84-4,00 (*ma*, 2H, CH_2 f) ; 4,17 (*t*, 1H, $^3J_{g-n} = 6,4$ Hz, $^3J_{g-n'} = 6,8$ Hz, CH g) ; 6,57 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8,4$ Hz, CH b) ; 6,88 (*sl*, 1H, CH m) ; 6,97 (*d*, 1H, $^3J_{c-b} = 8,4$ Hz, CH c) ; 7,09-7,21 (*ma*, 2H, CH i, j) ; 7,32 (*d*, 1H, $^3J_{k-j} = 7,6$ Hz, CH k) ; 7,79 (*d*, 1H, $^3J_{h-i} = 7,2$ Hz, CH h) ; 7,99 (*sl*, 1H, NH l).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , J_{mod} , 100 MHz), δ (ppm) : 21,7 (CH e) ; 24,7 (CH_2 n) ; 26,8 (CH_2 d) ; 38,1 (CH g) ; 41,3 (CH_2 f) ; 55,7 (CH_3 a) ; 105,3 (CH b) ; 111,0 (CH k) ; 113,0 (-C= (2)) ; 113,6 (-C= (3)) ; 117,7 (-C= (1)) ; 119,6 (CH i) ; 121,5 (CH m) ; 122,0 (CH j) ; 127,0 (=C(4)-) ; 127,6 (CH c) ; 136,1 (C-N (5)) ; 136,6 (C-N) ; 155,0 (C-O CH_3) ; 170,0 (C=O).

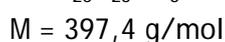
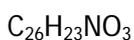
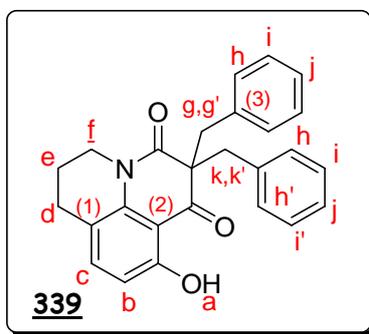
SM (ESI $^+$) : $m/z = 333, 2$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$).

HRMS (ES - ($[\text{M}+\text{H}]^+$)) : masse calculée pour $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2$: 333,1603 ; mesurée : 333,1640 ; $\Delta = 2,4$ ppm.

IR (NaCl, cm^{-1}) : 3308 (f, l, νNH) ; 3058 (f, νCHAr) ; 2956-2927 (f, νCH_2) ; 2855 (f, νOCH_3) ; 1724 (F, $\nu\text{C=O}$) ; 1652, 1616, 1591, 1495 (F, $\nu\text{C=CAr}$) ; 1459 (F) ; 1292 (F, $\nu\text{C-N}$) ; 1142 (F, $\nu\text{C-O}$) ; 967 (F) ; 766 (F).

IX.2.4 - Libération de la fonction phénol

2,2-dibenzyl-10-hydroxy-6,7-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-1,3(2*H*)-dione



Dans un ballon monocol de 25 mL, une suspension de 705 mg (1,7 mmol ; 1 éq.) de 2,2-dibenzyl-10-méthoxy-6,7-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléine-1,3(2*H*)-dione **263** dans 5 mL d'acide acétique est préparée. 7 mL (0,03 mol ; 18 éq.) d'une solution d'acide bromhydrique à 30% dans l'acide acétique sont ensuite ajoutés goutte à goutte, sous agitation et sous azote. La solution devient rouge instantanément. Le mélange est laissé toute la nuit à température ambiante et il vire au jaune. La réaction est alors quenchée en versant le milieu réactionnel sur 30 mL d'eau environ, puis la phase aqueuse est extraite quatre fois au dichlorométhane. Les phases organiques sont ensuite combinées, lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, séchées sur Mg SO₄, filtrées et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/méthanol 98/2.

Aspect : solide jaune.

Rendement : 152 mg ; 22%.

Rf (Cyclo/AcOEt 80/20) : 0,50.

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz), δ (ppm) : 1,52 (*m*, 2H, CH₂ e) ; 2,39 (*t*, 2H, ³J_{d-e} = 5,6 Hz, CH₂ d) ; 3,46 (*d*, 2H, ²J = 12,8 Hz CH g, g' ou k, k') ; 3,50 (*d*, 2H, ²J = 12,4 Hz CH k, k' ou g, g') ; 3,66 (*t*, 2H, ³J_{f-e} = 5,6 Hz, CH₂ f) ; 6,37 (*d*, 1H, ³J_{b-c} = 8,4 Hz, CH b) ; 6,94 - 7,15 (*ma*, 11H, CH c, CH h, h', i, i', j).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 20,0 (CH₂ e) ; 26,7 (CH₂ d) ; 41,5 (CH₂ f) ; 45,8 (CH₂ g, k) ; 63,5 (-C(Bn)₂) ; 107,8 ((=C- (2)) ; 110,9 (CH b) ; 114,0 (-C= (1)) ; 126,8 (CH j) ; 127,9 (CH i) ; 129,5 (CH h) ; 135,7 (-C=(3)) ; 138,1 (C-N) ; 139,1 (CH c) ; 160,8 (C-OH) ; 170,4 (O=C-N) ; 202,6 (C=O).

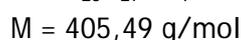
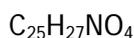
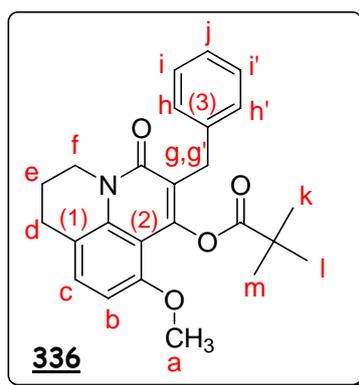
SM (ESI⁺) : m/z = 398,4 ([M+H]⁺).

HRMS (ESI - ([M+H]⁺) : masse calculée pour C₂₆H₂₃NO₃ : 398,1756 ; mesurée : 398,1771 ; Δ = 3,7 ppm.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3544 (f, l, νOH) ; 3029-3003 (f, ν CHAr) ; 2936-2861 (f, ν CH₂) ; 1666 (F, ν C=O cétone) ; 1633 (F, ν C=O amide) ; 1591, 1479, 1455 (F, ν C=Car) ; 1397 (F, ν C-N) ; 1252 (F) ; 1205 (F, ν C-O) ; 798 (F) ; 747 (F) ; 702 (F).

T_{fus.} : 155-156 °C.

6-benzyl-8-méthoxy-5-oxo-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-7-yl pivalate



A une solution de 403 mg (1,25 mmol; 1 éq.) de 6-benzyl-7-hydroxy-8-méthoxy-2,3-dihydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one 262 dans 15 mL de dichlorométhane, sont ajoutés goutte à goutte 180 μ L (1,3 mmol; 1,04 éq.) de triéthylamine et 32 mg (0,261 mmol; 0,2 éq.) de 4-diméthylaminopyridine. Après 5 mn d'agitation, une solution refroidie de 160 μ L (1,3 mmol; 1,04 éq.) de chlorure de pivaloyle dans 3 mL de dichlorométhane est additionnée au mélange précédent. La solution vire de l'orange au jaune. La réaction est laissée sous agitation, et sous argon pendant 12h à température ambiante. Le milieu est alors dilué dans le dichlorométhane, lavé à l'eau, par une solution aqueuse de chlorure de sodium, puis séché sur sulfate de magnésium. Après filtration sur fritté, le solvant est évaporé sous pression réduite pour donner le produit protégé qui est engagé dans l'étape suivante sans subir de purification supplémentaire.

Aspect : solide beige.

Rendement : 510 mg; 100%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,63.

RMN 1H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,39 (*s*, 9H, CH k, l, m) ; 2,03 (*quint.*, 2H, $^3J_{e-f} = ^3J_{e-d} = 6$ Hz, CH₂ e) ; 2,88 (*t*, 2H, $^3J_{d-e} = 6$ Hz, CH₂ d) ; 3,78 (*d*, 1H, $^3J_{g-g'} = 14$ Hz, CH g) ; 3,85 (*s*, 3H, CH₃ a) ; 4,07 (*d*, 1H, $^3J_{g-g'} = 14$ Hz, CH g') ; 4,13 - 4,19 (*m*, 2H, CH₂ f) ; 6,6 (*d*, 1H, $^3J_{b-c} = 8$ Hz, CH b) ; 7,13 - 7,35 (*ma*, 6H, CH c, h, h', j, j', k).

RMN ^{13}C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 20,5 (CH₂ e) ; 27,4 (CH₃ k, l, m) ; 27,8 (CH₂ d) ; 29,6 (C(CH₃)₃) ; 30,5 (CH₂ g) ; 43,1 (CH₂ f) ; 55,8 (CH₃ a) ; 103,8 (CH b) ; 107,3 (=C-Bn) ; 117,2 (=C- (2)) ; 121,2 (-C= (1)) ; 125,9 (CH j) ; 128,2 (CH i, i') ; 128,6 (CH h, h') ; 130,0 (CH c) ; 137,0 (C(3)) ; 139,1 (C-N) ; 152,4 (C-OCH₃) ; 154,7 (C-OPiv) ; 162,1 (N-C=O) ; 175,8 (O-C=O).

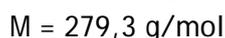
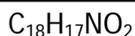
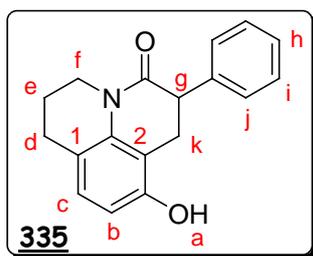
SM (ESI⁺) : m/z = 406,54 ([M+H]⁺).

AE : C₂₅H₂₇NO₄, calculée : C 74,05 ; H 6,71 ; N, 3,45 ;
mesurée : C 74,00 ; H 6,83 ; N 3,33.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3060-3027 (f, ν CHAR) ; 2965-2935 (f, ν CH₂) ; 1754 (F, ν C=O pivaloyle) ; 1646 (F, ν C=O amide) , 1587, 1480, 1468, 1453 (F, ν C=CAr) ; 1384 (F) ; 1313 (F, ν C-N) ; 1276 (F) ; 1257 (F) ; 1140 (F, ν C-O) ; 1119 (F) ; 1026 (F) ; 800 (m) ; 747 (m) ; 697 (m).

T_{fus.} : 134-135°C.

8-hydroxy-6-phényl-2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one



A une solution de 114 mg (0,39 mmol ; 1 éq.) de 8-méthoxy-6-phényl-2,3,6,7-tétrahydro-1*H*,5*H*-pyrido[3,2,1-*ij*]quinoléin-5-one 332 dans 5 mL de dichlorométhane, maintenue à -78°C par un bain acétone/azote liquide, 1,95 mL (1,95 mmol ; 5 éq.) de tribromure de bore sont additionnés goutte à goutte, sous atmosphère d'azote. Le mélange est ensuite laissé revenir à température ambiante. Après 3h30 min de réaction, tout le produit de départ a été consommé, donc la réaction est quenchée par ajout d'eau goutte à goutte puis d'une solution aqueuse d'HCl dilué. La phase aqueuse est extraite trois fois au dichlorométhane et les phases organiques sont combinées, puis lavées par une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. Après séchage sur MgSO₄ et filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par une colonne de chromatographie-éclair sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/acétate d'éthyle 99/1 puis 98/2.

Aspect : solide jaune pâle.

Rendement : 84 mg ; 77%.

Rf (DCM/MeOH 98/2) : 0,54.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz), δ (ppm) : 1,90-2,00 (*m*, 2H, CH₂ e) ; 2,80 (*t*, 2H, ³*J*_{d-e} = 6,4 Hz, CH₂ d) ; 3-3,08 (*ma*, 2H, CH₂ f) ; 3,76-3,86 (*ma*, 2H, CH₂ k) ; 3,98-4,07 (*ma*, 1H, CH g) ; 6,71 (*d*, 1H, ³*J*_{b-c} = 8,4 Hz, CH b) ; 7,04 (*d*, 1H, ³*J*_{c-b} = 8,4 Hz, CH c) ; 7,20-7,38 (*ma*, 5H, CH h, i, j).

RMN ¹³C (CDCl₃, J_{mod}, 100 MHz), δ (ppm) : 21,3 (CH₂ e) ; 26,7 (CH₂ d) ; 27,0 (CH₂ k) ; 41,2 (CH₂ f) ; 46,0 (CH g) ; 116,2 (CH b) ; 117,3 (=C(2)-) ; 123,0 (=C(1)-) ; 127,3 (CH c) ; 128,1 (CH j) ; 128,3 (CH h) ; 128,6 (CH i) ; 136,8 (-C(=Ph)) ; 138,6 (C-N) ; 146,1 (C-OH) ; 169,6 (C=O).

SM (ESI⁺) : m/z = 280,3 ([M+H]⁺).

HRMS (ESI-[M+H]⁺) : masse calculée pour C₁₈H₁₈NO₂ : 280,1338 ; mesurée : 280,1351 ; Δ = 4,8 ppm.

IR (KBr, cm⁻¹) : 3289 (F, l, νOH) ; 3062-3027 (f, ν CHAR) ; 2932 (f, ν CH₂) ; 1638 (F, ν C=O) ; 1614, 1506, 1470, 1458 (F, ν C=Car) ; 1436 (F) ; 1347 (F, ν C-N) ; 1168 (F) ; 1120 (F, ν C-O). 957 (f).

T_{fus.} : 209-211°C.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - Kerr, J. F. ; Wyllie, A. H. ; Currie, A. R. *Br. J. Cancer* **1972**, *26*, 239-257.
- 2 - Sartorius, U. ; Schmitz, I. ; Krammer, P. H. *Chem. Bio. Chem.* **2001**, *2*, 20-29.
- 3 - Denault, J.-B. ; Salvesen, G. S. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4489-4499.
- 4 - Philchenkov, A. *J. Cell. Mol. Med.* **2004**, *8*, 432-444.
- 5 - Vaux, D. L. ; Strasser, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 2239-2244.
- 6 - Lartigue, L. Mécanismes d'activation de la protéine proapoptotique Bax, Thèse de doctorat : Université Bordeaux 2, **2003**, 209 pages.
- 7 - Hengartner, M. O. *Nature* **2000**, *407*, 770-776.
- 8 - Nicholson, D. W. *Nature* **2000**, *407*, 810-816.
- 9 - Sharpe, J. C. ; Arnoult, D. ; Youle, R. J. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1644*, 107-113.
- 10 - a) <http://www.vpharm.com> ; b) <http://www.pfizer.com> ; c) <http://www.maxim.com> ; d) <http://www.merckfrosst.ca>.
- 11 - Yang, W. ; Guastella, J. ; Huang, J.-C. ; Wang, Y. ; Zhang, L. ; Xue, D. ; Tran, M. ; Woodward, R. ; Kasibhatla, S. ; Tseng, B. ; Drewe, J. ; Cai, S. X. *Br. J. Pharmacol.* **2003**, *140*, 402-412.
- 12 - a) Kravchenko, D. V. ; Kysil, V. V. ; Ilyn, A. P. ; Tkachenko, S. E. ; Maliarchouk, S. ; Okun, I. M. ; Ivachtchenko, A. V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1841-1845 ; b) Kravchenko, D. V. ; Kuzovkova, Y. A. ; Kysil, V. M. ; Tkachenko, S. E. ; Maliarchouk, S. ; Okun, I. M. ; Balakin, K. V. ; Ivachtchenko, A.V. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3680-3683.
- 13 - a) Micale, N. ; Vairagoundar, R. ; Yakovlev, A. G. ; Kozikowski, A. P. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6455-6458.
- 14 - a) Fattorusso, R. ; Jung, D. ; Crowell, K. J. ; Forino, M. ; Pellicchia, M. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1649-1656 ; b) Goode D. R. ; Sharma A. K. ; Hergenrother P. *J. Org. Lett.* **2005**, *7*, 3529-3532; c) Zhang, H. -Z. ; Kasibhatla, S. ; Kuemmerle, J. ; Kemnitzer, W. ; Ollis-Mason, K. ; Qiu, L. ; Crogan-Grundy, C. ; Tseng, B. ; Drewe, J. ; Cai, S. X. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5215-5223 ; d) Becker, J. W. ; Rotonda, J. ; Soisson, S. M. ; Aspiotis, R. ; Bayly, C. ; Francoeur, S. ; Gallant, M. ; Garcia-Calvo, M. ; Giroux, A. ; Grimm, E. ; Han, Y. ; McKay, D. ; Nicholson, D. W. ; Peterson, E. ; Renaud, J. ; Roy, S. ; Thornberry, N. ; Zamboni, R. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2466-2474.
- 15 - Adams, J. M. ; Cory, S. *Science* **1998**, *281*, 1322-1326.
- 16 - Li, L. ; Thomas, R. M. ; Suzuki, H. ; De Brabander, J. K. ; Wang, X. ; Harran, P. G. *Science* **2004**, *305*, 1471-1474.
- 17 - Park, C.-M. ; Sun, C. ; Olejniczak, E. T. ; Wilson, A. E. ; Meadows, R. P. ; Betz, S. F. ; Elmore, S. W. ; Fesik, S. W. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 771-775.
- 18 - Sun, H. ; Nikolovska-Coleska, Z. ; Chen, J. ; Yang, C. -Y. ; Tomita, Y. ; Pan, H. ; Yoshioka, Y. ; Krajewski, K. ; Roller, P. P. ; Wang, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 793-797.
- 19 - a) Nikolovska-Coleska, Z. ; Xu, L. ; Hu, Z. ; Tomita, Y. ; Li, P. ; Roller, P. P. ; Wang, R. ; Fang, X. ; Guo, R. ; Zhang, M. ; Lippman, M. E. ; Yang, D. ; Wang, S. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2430-2440; b) Sun, H. ; Nikolovska-Coleska, Z. ; Chen, J. ; Yang, C.-Y. ; Wang, S. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 7015-7018.
- 20 - Vander Heiden, M. G. ; Thompson, C. B. *Nat. Cell Biol.* **1999**, *1*, E209-E216.
- 21 - Petros, A. M. ; Olejniczak, E. T. ; Fesik, S. W. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1644*, 83-94.

- 22 - Muchmore, S. W. ; Sattler, M. ; Liang, H. ; Meadows, R. P. ; Harlan, J. E. ; Yoon, H. ; Nettlesheim, D. ; Chang, B. S. ; Thompson, C. B. *et al. Nature* **1996**, *381*, 335-341.
- 23 - Aritomi, M. ; Kunishima, N. ; Inohara, N. ; Ishibashi, Y. ; Ohta, S. ; Morikawa, K. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 27886-27892.
- 24 - Petros, A. M. ; Medek, A. ; Nettlesheim, D. G. ; Kim, D. H. ; Yoon, H. S. ; Swift, K. ; Matayoshi, E. D. ; Oltersdorf, T. ; Fesik, S. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 3012-3017.
- 25 - Chittenden, T. *Cancer Cell* **2002**, *2*, 165-166.
- 26 - Sattler, M. ; Liang, H. ; Nettlesheim, D. ; Meadows, R. P. ; Harlan, J. E. ; Eberstadt, M. ; Yoon, H. S. ; Shuker, S. B. ; Chang, B. S. ; Minn, A. J. ; Thompson, C. B. ; Fesik, S. W. *Science* **1997**, *275*, 983-986.
- 27 - Petros, A. M. ; Nettlesheim, D. G. ; Wang, Y. ; Olejniczak, E. T. ; Meadows, R. P. ; Mack, J. ; Swift, K. ; Matayoshi, E. D. ; Zhang, H. ; Thompson, C. B. ; Fesik, S. W. *Protein Sci.* **2000**, *9*, 2528-2534.
- 28 - McDonnell, J. M. ; Fushman, D. ; Milliman, C. L. ; Korsmeyer, S. J. ; Cowburn, D. *Cell* **1999**, *96*, 625-634.
- 29 - Chou, J. J. ; Li, H. ; Salvesen, G. S. ; Yuan, J. ; Wagner, G. *Cell* **1999**, *96*, 615-624.
- 30 - Suzuki, M. ; Youle, R. J. ; Tjandra, N. *Cell* **2000**, *103*, 645-654.
- 31 - Hsu, Y.-T. ; Youle, R. J. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 10777-10783.
- 32 - Letai, A. ; Bassik, M. C. ; Walensky, L. D. ; Sorcinelli, M. D. ; Weiler, S. ; Korsmeyer, S. J. *Cancer Cell* **2002**, *2*, 183-192.
- 33 - Schinzel, A. ; Kaufmann, T. ; Borner, C. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1644*, 95-105.
- 34 - London, E. *Biochim. Biophys. Acta* **1992**, *1113*, 25-51.
- 35 - Fesik, S. W. *Cell* **2000**, *103*, 273-282.
- 36 - Minn, A. J. ; Velez, P. ; Schendel, S. L. ; Liang, H. ; Muchmore, S. W. ; Fesik, S. W. ; Fill, M. ; Thompson, C. B. *Nature* **1997**, *385*, 353-357.
- 37 - Schendel, S. L. ; Xie, Z. ; Montal, M. O. ; Matsuyama, S. ; Montal, M. ; Reed, J. C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 5113-5118.
- 38 - a) Antonsson, B. ; Conti, F. ; Ciavatta, A. ; Montessuit, S. ; Lewis, S. ; Martinou, I. ; Bernasconi, L. ; Bernard, A. ; Mermoud, J.-J. ; Mazzei, G. ; Maundrell, K. ; Gambale, F. ; Sadoul, R. ; Martinou, J.-C. *Science* **1997**, *277*, 370-372 ; b) Epand, R. F. ; Martinou, J.-C. ; Montessuit, S. ; Epand, R. M. ; Yip, C. M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2002**, *298*, 744-749.
- 39 - Garcia-Saez, A. J. ; Mingarro, I. ; Perez-Paya, E. ; Salgado, J. *Biochemistry* **2004**, *43*, 10930-10943.
- 40 - Wang, J.-L. ; Liu, D. ; Zhang, Z.-J. ; Shan, S. ; Han, X. ; Srinivasula, S. M. ; Croce, C. M. ; Alnemri, E. S. ; Huang, Z. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 7124-7129.
- 41 - Tzung, S.-P. ; Kim, K. M. ; Basanez, G. ; Giedt, C. D. ; Simon, J. ; Zimmerberg, J. ; Zhang, K. Y. J. ; Hockenbery, D. M. *Nat. Cell Biol.* **2001**, *3*, 183-192.
- 42 - Kim, K. M. ; Giedt, C. D. ; Basanez, G. ; O'Neil, J. W. ; Hill, J. J. ; Han, Y.-H. ; Tzung, S.-P. ; Zimmerberg, J. ; Hockenbery, D. M. ; Zhang, K. Y. J. *Biochemistry* **2001**, *40*, 4911-4922.
- 43 - Degterev, A. ; Lugovskoy, A. ; Cardone, M. ; Mulley, B. ; Wagner, G. ; Mitchison, T. ; Yuan, J. *Nat. Cell Biol.* **2001**, *3*, 173-182.
- 44 - Lugovskoy, A. A. ; Degterev, A. I. ; Fahmy, A. F. ; Zhou, P. ; Gross, J. D. ; Yuan, J. ; Wagner, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1234-1240.

- 45 - Enyedy, I. J. ; Ling, Y. ; Nacro, K. ; Tomita, Y. ; Wu, X. ; Cao, Y. ; Guo, R. ; Li, B. ; Zhu, X. ; Huang, Y. ; Long, Y.-Q. ; Roller, P. P. ; Yang, D. ; Wang, S. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4313-4324.
- 46 - a) Chin, J. W. ; Schepartz, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3806-3809 ; b) Kutzki, O. ; Park, H. S. ; Ernst, J. T. ; Orner, B. P. ; Yin, H. ; Hamilton, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11838-11839 ; c) Gemperli, A. C. ; Rutledge, S. E. ; Maranda, A. ; Schepartz, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1596-1597.
- 47 - a) Ernst, J. T. ; Becerril, J. ; Park, H. S. ; Yin, H. ; Hamilton, A. D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 535-539 ; b) Yin, H. ; Hamilton, A. D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1375-1379 ; c) Yin, H. ; Lee, G.-I. ; Sedey, K. A. ; Rodriguez, J. M. ; Wang, H.-G. ; Sebti, S. M. ; Hamilton, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5463-5468 ; d) Yin, H. ; Lee, G.-I. ; Sedey, K. A. ; Kutzki, O. ; Park, H. S. ; Orner, B. P. ; Ernst, J. T. ; Wang, H.-G. ; Sebti, S. M. ; Hamilton, A. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10191-10196.
- 48 - Wang, D. ; Liao, W. ; Arora, P. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6525-6529.
- 49 - Oltvai, Z. N. ; Milliman, C. L. ; Korsmeyer, S. J. *Cell* **1993**, *74*, 609-619.
- 50 - Nguyen, M. ; Branton, P. E. ; Walton, P. A. ; Oltvai, Z. N. ; Korsmeyer, S. J. ; Shore, G. C. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 16521-16524.
- 51 - Wolter, K. G. ; Hsu, Y.-T. ; Smith, C. L. ; Nechushtan, A. ; Xi, X.-G. ; Youle, R. J. *J. Cell Biol.* **1997**, *139*, 1281-1292.
- 52 - Desagher, S. ; Osen-Sand, A. ; Nichols, A. ; Eskes, R. ; Montessuit, S. ; Lauper, S. ; Maundrell, K. ; Antonsson, B. ; Martinou, J. -C. *J. Cell Biol.* **1999**, *144*, 891-901.
- 53 - Nechushtan, A. ; Smith, C. L. ; Hsu, Y. T. ; Youle, R. J. *EMBO J.* **1999**, *18*, 2330-2341.
- 54 - Zimmer, M. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 759-781.
- 55 - Antonsson, B. ; Montessuit, S. ; Sanchez, B. ; Martinou, J. C. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 11615-11623.
- 56 - De Giorgi, F. ; Lartigue, L. ; Bauer, M. K. A. ; Schubert, A. ; Grimm, S. ; Hanson, G. T. ; Remington, S. J. ; Youle, R. J. ; Ichas, F. *FASEB J.* **2002**, *16*, 607-609.
- 57 - Schinzel, A. ; Kaufmann, T. ; Schuler, M. ; Martinlbo, J. ; Grubb, D. ; Borner, C. *J. Cell Biol.* **2004**, *164*, 1021-1032.
- 58 - Goping, I. S. ; Gross, A. ; Lavoie, J. N. ; Nguyen, M. ; Jemmerson, R. ; Roth, K. ; Korsmeyer, S. J. ; Shore, G. C. *J. Cell Biol.* **1998**, *143*, 207-215.
- 59 - Cartron, P.-F. ; Priault, M. ; Oliver, L. ; Meflah, K. ; Manon, S. ; Vallette, F. M. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 11633-11641.
- 60 - Cartron, P.-F. ; Moreau, C. ; Oliver, L. ; Mayat, E. ; Meflah, K. ; Vallette, F. M. *FEBS Letters* **2002**, *512*, 95-100.
- 61 - Cartron, P.-F. ; Arokium, H. ; Oliver, L. ; Meflah, K. ; Manon, S. ; Vallette, F. M. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 10587-10598.
- 62 - Antonsson, B. *Mol. Cell. Biochem.* **2004**, *256/257*, 141-155.
- 63 - Lucken-Ardjomande, S. ; Martinou, J.-C. *C. R. Biologies* **2005**, *328*, 616-631.
- 64 - Eskes, R. ; Desagher, S. ; Antonsson, B. ; Martinou, J.-C. *Mol. Cell. Biol.* **2000**, *20*, 929-935.
- 65 - Martinou, J.-C. ; Desagher, S. ; Antonsson, B. *Nat. Cell Biol.* **2000**, *2*, E41-E43.
- 66 - Lim, M. L. R. ; Lum, M.-G. ; Hansen, T. M. ; Roucou, X. ; Nagley, P. *J. Biomed. Sci.* **2002**, *9*, 488-506.

- 67 - Heimlich, G. ; McKinnon, A. D. ; Bernardo, K. ; Brdiczka, D. ; Reed, J. C. ; Kain, R. ; Kroenke, M. ; Jurgensmeier, J. M. *Biochemical J.* **2004**, *378*, 247-255.
- 68 - Garcia-Saez, A. J. ; Coraiola, M. ; Dalla Serra, M. ; Mingarro, I. ; Menestrina, G. ; Salgado, J. *Biophys. J.* **2005**, *88*, 3976-3990.
- 69 - Bombrun, A. ; Gerber, P. ; Casi, G. ; Terradillos, O. ; Antonsson, B. ; Halazy, S. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4365-4368.
- 70 - Sawada, M. ; Sun, W. ; Hayes, P. ; Leskov, K. ; Boothman D. A. ; Matsuyama, S. *Nature Cell Biol.* **2003**, *5*, 320-329.
- 71 - Sawada, M. ; Hayes, P. ; Matsuyama, S. *Nat. Cell Biol.* **2003**, *5*, 352-357.
- 72 - Yoshida, T. ; Tomioka, I. ; Nagahara, T. ; Holyst, T. ; Sawada, M. ; Hayes, P. ; Gama, V. ; Okuno, M. ; Chen, Y. ; Abe, Y. ; Kanouchi, T. ; Sasada, H. ; Wang, D. ; Yokota, T. ; Sato, E. ; Matsuyama, S. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2004**, *321*, 961-966.
- 73 - Nomura, M. ; Shimizu, S. ; Sugiyama, T. ; Narita, M. ; Ito, T. ; Matsuda, H. ; Tsujimoto, Y. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 2058-2065.
- 74 - Guo, B. ; Zhai, D. ; Cabezas, E. ; Welsh, K. ; Nouraini, S. ; Satterthwait A. C. ; Reed J. C. *Nature* **2003**, *423*, 456-46
- 75 - Debord, J. *Introduction à la Modélisation Moléculaire* **2004** http://www.unilim.fr/pages_perso/jean.debord/chimie/chimie.htm).
- 76 - Beaurain, F. Les Complexes boucle-boucle ARN : approches par dynamique moléculaire et spectroscopie UV en solution, Thèse de doctorat : Université Bordeaux I, **2003**, 171 pages.
- 77 - NIH, Center for Molecular Modeling. <http://cmm.info.nih.gov/modeling/>.
- 78 - Paugan, R. *Initiation à la Modélisation Moléculaire* **2004** : <http://www.u-psud.fr/orsay/formations/maitrisechimie.nsf/mmcours.htm>.
- 79 - Connolly, M. L. *Science* **1983**, *221*, 709-713.
- 80 - Cochran, A. G. *Chem. Biol.* **2000**, *7*, R85-R94.
- 81 - Lipinski, C. A. ; Lombardo, F. ; Dominy, B. W. ; Feeney, P. J. *Adv. Drug Delivery Rev.* **1997**, *23*, 3-25.
- 82 - cf. chapitre 7 pour les références détaillant plus amplement ces deux types de fonctionnalisation.
- 83 - von Braun ; Heider ; Wyczatkowska *Ber.* **1918**, *51*, 1219.
- 84 - Hallas, G. ; Taylor, D. C. *J. Chem. Soc.* **1964**, 1518-1519.
- 85 - Rapoport, H. ; Tretter, J. R. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 248-251.
- 86 - Rapoport, H. ; Tretter, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 5574-5575.
- 87 - Astill, B. D. ; Boekelheide, V. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 316-318.
- 88 - Mann, F. G. ; Smith, B. B. *J. Chem. Soc.* **1951**, 1898-1905.
- 89 - Smith, P. A. S. ; Yu, T.-Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 1096-1098.
- 90 - Beck, J. R. ; Kwok, R. ; Booher, R. N. ; Brown, A. C. ; Patterson, L. E. ; Pranc, P. ; Rockey, B. ; Pohland, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 4706-4710.
- 91 - Svoboda, G. H. ; Poore, G. A. ; Simpson, P. J. ; Boder, G. B. *J. Pharm. Sci.* **1966**, *55*, 758-768.
- 92 - a) Costes, N. ; Le Deit, H. ; Michel, S. ; Tillequin, F. ; Koch, M. ; Pfeiffer, B. ; Renard, P. ; Leonce, S. ; Guilbaud, N. ; Kraus-Berthier, L. ; Pierre, A. ; Atassi, G. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2395-2402 ; b) Mai, H. D. T. ; Gaslonde, T. ; Michel, S. ; Tillequin, F. ; Koch, M. ; Bongui, J.-B. ; Elomri, A. ; Seguin, E. ;

- Pfeiffer, B. ; Renard, P. ; David-Cordonnier, M.-H. ; Laine, W. ; Bailly, C. ; Kraus-Berthier, L. ; Leonce, S. ; Hickman, J. A. ; Pierre, A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 3072-3082.
- 93 - Zee-Cheng, R. K. Y. ; Yan, S.-J. ; Cheng, C. C. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 199-203.
- 94 - Gonzalez, C. ; Perez, D. ; Guitian, E. ; Castedo, L. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 6318-6326.
- 95 - Padwa, A. ; Dimitroff, M. ; Waterson, A. G. ; Wu, T. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 3986-3997.
- 96 - Butler, D. E. ; Pavia, M. R. ; Hershenson, F. M. ; Brevet : US4530929, **1985** (Warner-Lambert Co., USA).
- 97 - a) Bass, R. J. ; Koch, R. C. ; Richards, H. C. ; Thorpe, J. E. ; Brevet : US3917838, **1975** (Pfizer Inc., USA). [*Chem. Abstr.* **1964**, *61*, 1831] ; b) Bass, R. J. ; Koch, R. C. ; Richards, H. C. ; Thorpe, J. E. ; Brevet : GB1394373, **1975** (Pfizer Ltd., UK) ; c) Bass, R. J. ; Koch, R. C. ; Richards, H. C. ; Thorpe, J. E. ; Brevet : GB1394374, **1975** (Pfizer Ltd., UK).
- 98 - Bass, R. J. ; Koch, R. C. ; Richards, H. C. ; Thorpe, J. E. *J. Agric. Food Chem.* **1981**, *29*, 576-579.
- 99 - Hallas, G. ; Taylor, D. C. *J. Chem. Soc.* **1964**, 1518-1519.
- 100 - Whitmore, F. C. ; Mosher, H. S. ; Adams, R. R. ; Taylor, R. B. ; Chapin, E. C. ; Weisel, C. ; Yanko, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 725-731.
- 101 - Clemo, G. R. ; Ramage, G. R. *J. Chem. Soc.* **1931**, 49-55.
- 102 - Cookson, R. C. ; Mann, F. G. *J. Chem. Soc.* **1949**, 67-72.
- 103 - Ginn, J. D. ; Lynch, S. M. ; Padwa, A. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9387-9391
- 104 - Deiters, A. ; Martin, S. F. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2199-2238.
- 105 - Fu, G. C. ; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5426-5427.
- 106 - Fu, G. C. ; Nguyen, S. T. ; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9856-9857.
- 107 - Fu, G. C. ; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7324-7325.
- 108 - Campagne, J.-M. ; Ghosez, L. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6175-6178.
- 109 - a) Martin, S. F. ; Liao, Y. ; Chen, H.-J. ; Paetzel, M. ; Ramser, M. N. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6005-6008 ; b) Martin, S. F. ; Chen, H.-J. ; Courtney, A. K. ; Liao, Y. ; Patzel, M. ; Ramser, M. N. ; Wagman, A. S. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 7251-7264.
- 110 - Deiters, A. ; Martin, S. F. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3243-3245.
- 111 - O'Mahony, G. ; Nieuwenhuyzen, M. ; Armstrong, P. ; Stevenson, P. J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3968-3971.
- 112 - Rodriguez, S. ; Castillo, E. ; Carda, M. ; Marco, J. A. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 1185-1192.
- 113 - Ohwada, T. ; Yamagata, N. ; Shudo, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1364-1373.
- 114 - Hauser, F. M. ; Caringal, Y. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 555-559.
- 115 - Gaviña, F. ; Costero, A. M. ; Gonzalez, A. M. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 2060-2063.
- 116 - Mathieu, B. "Perfluorosulfonylimides silylés : Nouveaux agents d'activation des composés carbonylés". Thèse de Doctorat : Université Catholique de Louvain, **2001**, 365 p.
- 117 - Franc, C. "Fonctionnalisations Sélectives de Composés Aromatiques et Hétéroaromatiques". Thèse de Doctorat : Ecole Polytechnique, **2004**, 307 p.
- 118 - Habermas, K. L. ; Denmark, S. E. *Org. React.* **1994**, *45*, 1-158; b) Pellissier, H. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 6479-6517; c) Frontier, A. J. ; Collison, C. *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 7577-7606.
- 119 - Katritzky, A. R. ; Rachwal, S. ; Rachwal, B. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 15031-15070.

- 120 - Braunholtz, J. T. ; Mann, F. G. *J. Chem. Soc.* **1957**, 4166-4173.
- 121 - Speckamp, W. N. ; Pandit, U. K. ; Huisman, H. O. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **1963**, *82*, 39-48.
- 122 - Atwal, M. S. ; Bauer, L. ; Dixit, S. N. ; Gearien, J. E. ; Morris, R. W. *J. Med. Chem.* **1965**, *8*, 566-571.
- 123 - Speckamp, W. N. ; Van Velthuysen, J. A. ; Pandit, U. K. ; Huisman, H. O. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 5881-5891.
- 124 - Booker-Milburn, K. I. ; Dunkin, I. R. ; Kelly, F. C. ; Khalaf, A. I. ; Learmonth, D. A. ; Proctor, G. R. ; Scopes, D. I. C. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1997**, 3261-3274.
- 125 - Merchant, J. R. ; Chothia, D. S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1972**, 932-935.
- 126 - Engler, T. A. ; Lynch, K. O. Jr. ; Chai, W. ; Meduna, S. P. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2713-2716.
- 127 - Engler, T. A. ; LaTessa, K. O. ; Iyengar, R. ; Chai, W. ; Agrios, K. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1755-1769.
- 128 - Skraup, Z. H. ; *Chem. Ber.*, **1880**, *13*, 2086.
- 129 - Tokuyama, H. ; Sato, M. ; Ueda, T. ; Fukuyama, T. *Heterocycles* **2001**, *54*, 105-108.
- 130 - Fukuyama, T. ; Tokuyama, H. Brevet, Application: US20040034217, **2004**, 9 pp.; b) Fukuyama, T. ; Tokuyama, H. Brevet, US 6,818,777, **2004**, 16 pp.
- 131 - Withopf, P. ; Lackner, H. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 4549-4554.
- 132 - Kobayashi, S. "Sc(III) Lewis acids" dans *Lewis acids in Organic Synthesis Vol.2*, Yamamoto, H. Ed., Wiley-VCH, **2000**, 883-907.
- 133 - Kawada, A. ; Mitamura, S. ; Kobayashi, S. *Synlett* **1994**, 545-546.
- 134 - a) Ghosez, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1972**, *11*, 852-853 ; b) Marchand-Brynaert, J. ; Ghosez, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 2869-2870 ; c) Schmidt, U. ; Leitenberger, V. ; Griesser, H. ; Schmidt, J. ; Meyer, R. *Synthesis* **1992**, 1248-1254.
- 135 - Speckamp, W. N. ; Van Velthuysen, J. A. ; Douw, M. A. ; Pandit, U. K. ; Huisman, H. O. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 5893-5898.
- 136 - Hutchins, R. O. : "Reduction of C=X to CH₂ by Wolff-Kishner and Other Hydrazone Methods" dans *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon Press, **1991**, *8*, 327-362.
- 137 - Johnson, W. S. ; Woroch, E. L. ; Buell, B. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 1901-1905.
- 138 - Greene, T. W. ; Wuts, P. G. dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, **1999**, 603-607.
- 139 - Searles, S. Jr. ; Nukina, S. *Chem. Rev.* **1959**, *59*, 1077-1103.
- 140 - a) Closson, W. D. ; Wriede, P. ; Bank, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 1581-1583; b) Ji, S. ; Gortler, L. B. ; Waring, A. ; Battisti, A. ; Bank, S. ; Closson, W. D. ; Wriede, P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 5311-5312 ; c) Morimoto, Y. ; Shirahama, H. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 10631-10652.
- 141 - Gold, E. H. ; Babad, E. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 2208-2210.
- 142 - Masaguer, C. F. ; Ravina, E. ; Fuyeo, J. *Heterocycles* **1992**, *34*, 1303-1309.
- 143 - Prashad, M. ; Hu, B. ; Har, D. ; Repic, O. ; Blacklock, T. J. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9957-9961.
- 144 - Mathieu, B. ; Ghosez, L. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5497-5500.
- 145 - Mathieu, B. ; Ghosez, L. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 8219-8226.
- 146 - Mathieu, B. ; de Fays, L. ; Ghosez, L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9561-9564.

- 147 - Takasu, K. ; Nishida, N. ; Ihara, M. *Synthesis* **2004**, 2222-2225.
- 148 - Snieckus, V. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 879-933.
- 149 - Gschwend, H. W. ; Rodriguez, H. R. *Organic Reactions*, New York, **1979**, *26*, 1-360.
- 150 - Fuhrer, W. ; Gschwend, H. W. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1133-1136.
- 151 - Muchowski, J. M. ; Venuti, M. C. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4798-4801.
- 152 - Winkle, M. R. ; Ronald, R. C. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2101-2108.
- 153 - Ronald, R. C. ; Winkle, M. R. *Tetrahedron* **1983**, *39*, 2031-2042.
- 154 - Beak, P. ; Lee, X.-K. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1197-1200.
- 155 - Iwao, M. ; Kuraishi, T. *Heterocycles* **1992**, *34*, 1031-1038.
- 156 - Meyers, A. I. ; Milot, G. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6538-40.
- 157 - a) Moro-oka, Y. ; Fukuda, T. ; Iwao, M. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1713-1716; b) Moro-oka, Y. ; Iwakiri, S. ; Fukuda, T. ; Iwao, M. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5225-5228.
- 158 - Greene, T. W. ; Wuts, P. G. dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, **1999**, 273-276.
- 159 - Kondo, Y. ; Kojima, S. ; Sakamoto, T. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6507-6511.
- 160 - Dangles, O. ; Guibe, F. ; Balavoine, G. ; Lavielle, S. ; Marquet, A. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4984-4993.
- 161 - Greene, T. W. ; Wuts, P. G. dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, **1999**, 526-528.
- 162 - Beavers, L. S. ; Finley, D. R. ; Gadski, R. A. ; Hipskind, P. A. ; Jesudason, C. D. ; Pickard, R. T. ; Stevns, F. C. ; Eli Lilly and Company, USA; Brevet : WO 2004/026837, **2004**, 88 pp.
- 163 - Marsilje, T. H. ; Milkiewicz, K. L. ; Hangauer, D. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 477-481.
- 164 - Skowronska-Ptasinska, M. ; Verboom, W. ; Reinhoudt, D. N. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2690-2698.
- 165 - Hillis, L. R. ; Gould, S. J. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 718-719.
- 166 - Adlington, R. M. ; Barrett, A. G. M. *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 55-59.
- 167 - Chamberlin, A. R. ; Stemke, J. E. ; Bond, F. T. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 147-154.
- 168 - Bamford, W. R. ; Stevens, T. S. *J. Chem. Soc.* **1952**, 4735-4740.
- 169 - Scott, W. J. ; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 3033-3040.
- 170 - Butera, J. ; Bagli, J. ; Doubleday, W. ; Humber, L. ; Treasurywala, A. ; Loughney, D. ; Sestanj, K. ; Millen, J. ; Sredy, J. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 757-765.
- 171 - Chung, C. W. Y. ; Toy, P. H. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 709-715.
- 172 - Bannasar, M. L. ; Jimenez, J. -M. ; Vidal, B. ; Sufi, B. A. ; Bosch, J. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9605-9612.
- 173 - Stagliano, K. W. ; Malinakova, H. C. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 8034-8040.
- 174 - Larock, R. C. dans *Comprehensive Organic Transformations : A Guide to Functional Group Preparations*, Second Edition, Wiley-VCH, **1999**, 23-26.
- 175 - a) Brettle, R. ; Shibib, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2915-2916; b) Brettle, R. ; Shibib, S. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1981**, 2912-2919; c) Ainscow, R. B. ; Brettle, R. ; Shibib, S. M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1985**, 1781-1786.
- 176 - Guijarro, D. ; Yus, M. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 11445-11456.
- 177 - Majetich, G. ; Zhang, Y. ; Feltman, T. L. ; Belfoure, V. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 441-444.

- 178 - Miyaura, N. ; Suzuki, A. *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483 ; b) Suzuki, A. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 147-168.
- 179 - a) Farina, V. ; Krishnamurthy, V. ; Scott, W. J. *Org. React.* **1997**, *50*, 1-652; b) Milstein, D. ; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 3636-3638; c) Milstein, D. ; Stille, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4992-4998.
- 180 - Stanforth, S. P. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 263-303.
- 181 - Nicolaou, K. C. ; Bulger, P. G. ; Sarlah, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 4442-4489.
- 182 - Trost, B. M. ; Kunz, R. A. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 2475-2476.
- 183 - Woodbury, R. P. ; Rathke, M. W. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 881-884.
- 184 - Franz, A. ; Eschler, P.-Y. ; Tharin, M. ; Neier, R. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 11643-11656.
- 185 - Magnus, P. ; Lacour, J. ; Coldham, I. ; Mugrage, B. ; Bauta, W. B. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 11087-11110.
- 186 - Trembleau, L. ; Ghosez, L. *Nouveaux Diènes Cycliques pour la Synthèse de Produits Biologiquement Actifs*, travaux non publiés, **2001**.
- 187 - Das, B. ; Venkateswarlu, K. ; Mahender, G. ; Mahender, I. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 3041-3044.
- 188 - Palucki, M. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11108-11109.
- 189 - Satoh, T. ; Kawamura, Y. ; Miura, M. ; Nomura, M. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 1740-1742.
- 190 - Hamann, B. C. ; Hartwig, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 12382-12383.
- 191 - Fox, J. M. ; Huang, X. ; Chieffi, A. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1360-1370.
- 192 - Moradi, W. A. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7996-8002.
- 193 - Culkin D. A. ; Hartwig J. F. *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 234-245.
- 194 - a) Aahman, J. ; Wolfe, J. P. ; Troutman, M. V. ; Palucki, M. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1918-1919; b) Hamada, T. ; Chieffi, A. ; Ahman, J. ; Buchwald, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1261-1268.
- 195 - Shaugnessy, K. H. ; Hamman, B. C. ; Hartwig, J. F. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6546-6553.
- 196 - Krom, J. A. ; Streitwieser, A. J. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6354-6359; b) Bordwell, F. G. *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*, 456-463.
- 197 - a) Freund, R. ; Mederski, W. K. R. *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1247-1255; b) Honda, T. ; Namiki, H. ; Satoh, F. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 631-633 ; c) Zhang, T. Y. ; Zhang, H. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 193-195 ; d) Zhang, T. Y. ; Zhang, H. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1363-1365.
- 198 - Lee, S. ; Hartwig, J. F. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 3402-3415.
- 199 - Stewart, J. D. ; Fields, S. C. ; Kochhar, K. S. ; Pinnick, H. W. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2110-13.
- 200 - Cossy, J. ; de Filippis, A. ; Gomez Pardo, D. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3037-3039.
- 201 - Hama, T. ; Liu, X. ; Culkin, D. A. ; Hartwig, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11176-11177.
- 202 - L = 2-dicyclohexylphosphino-2'-(N,N-diméthylamino)biphényle.
- 203 - Cossy, J. ; de Filippis, A. ; Gomez Pardo, D. *Synlett* **2003**, *14*, 2171-2174.
- 204 - de Filippis, A. ; Gomez Pardo, D. ; Cossy, J. *Synthesis*, **2004**, *17*, 2939-2933.
- 205 - de Filippis, A. ; Gomez Pardo, D. ; Cossy, J. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 17, 9757-9767.

206 - a) Negishi, E.-I. ; King, A. O. ; Okukado, N. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 1821-1823 ; b) King, A. O. ; Okukado, N. ; Negishi, E.-I. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1977**, 683-684 ; c) Negishi, E.-I.; Okukado, N. ; King, A. O. ; Van Horn, D. E. ; Spiegel, B. I. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 2254-2256.

207 - a) Fauvarque, J. F. ; Jutand, A. *J. Organomet. Chem.* **1977**, *132*, C17-C19 ; b) Fauvarque, J. F. ; Jutand, A. *J. Organomet. Chem.* **1979**, *177*, 273-281.

208 - a) Negishi, E.-I. ; Akiyoshi, K. *Chem. Lett.* **1987**, 1007-1010 ; b) Orsini, F. ; Pelizzoni, F. ; Vallarino, L. M. *J. Organomet. Chem.* **1989**, *367*, 375-382.

209 - Negishi, E.-I. *J. Organomet. Chem.* **1999**, *576*, 179-194.

210 - Negishi, E.-I. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *653*, 34-40.

211 - Amat, M. ; Sathyanarayana, S. ; Hadida, S. ; Bosch, J. *Heterocycles*, **1996**, *43*, 1713-1718.

212 - Amat, M. ; Hadida, S. ; Sathyanarayana, S. ; Bosch, J. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 10-11.

212 - Beswick, P. J. ; Greenwood, C. S. ; Mowlem, T. J. ; Nechvatal, G. ; Widdowson, D. A. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 7325-7334.

213 - Choshi, T. ; Yamada, S. ; Sugino, E. ; Kuwada, T. ; Hibino, S. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5899-5904.

214 - Yang, C. -G. ; Liu, G. ; Jiang, B. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 9392-9396.

215 - Hatano, A. ; Tanaka, K. ; Shiro, M. ; Shionoya, M. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2965-2972.

216 - a) Greene, T. W. ; Wuts, P. G. dans *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley-Interscience, **1999**, 250-257; b) Larock, R. C. dans *Comprehensive Organic Transformations : A Guide to Functional Group Preparations*, Second Edition, Wiley-VCH, **1999**, 249-282.

217 - Kunz, H. ; Waldmann, H. : "Protecting Groups" dans *Comprehensive Organic Synthesis*, Pergamon Press, Oxford, New York, Seoul, Tokyo, Trost, B. M. Ed., **1991**, *6*, 647-696; b) Bhatt, M. V. ; Kulkarni, S. U. *Synthesis* **1983**, 249-282.

218 - Weissman, S. A. ; Zewge, D. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7833-7863.

219 - a) McOmie, J. F. W.; West, D. E. *Org. Syn.* **1973**, *5*, 412-414; b) Felix, A. M. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1427-1429; c) Miura, Y. ; Yamano, E. ; Miyazawa, A. ; Tashiro, M. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1996**, 359-364.

220 - a) Jung, M. E. ; Lyster, M. A. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3761-3764; b) Morita, T. ; Okamoto, Y. ; Sakurai, H. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1978**, 874-875; c) Olah, G. A. ; Narang, S. C. ; Gupta, B. G. B. ; Malhotra, R. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1247-1251.

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

222 - a) Elsinger, F. ; Schreiber, J. ; Eschenmoser, A. *Helv. Chim. Acta* **1960**, *43*, 113-118 ; b) Harrison, I. T. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1969**, 616.

223 - Van Gompel, J. ; Schuster, G. B. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1465-1468.

224 - Majetich, G. ; Zhang, Y. ; Wheless, K. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8727-8730.

225 - Coop, A. ; Janetka, J. W. ; Lewis, J. W.; Rice, K. C. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4392-4396

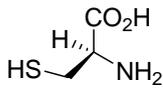
226 - Winterfeldt, E. *Synthesis* **1975**, 617-630.

227 - a) Doxsee, K. M. ; Feigel, M. ; Stewart, K. D. ; Canary, J. W. ; Knobler, C. B. ; Cram, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3098-3107 ; b) Adam, W. ; Reinhardt, D. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1997**, 1453-1463; c) Lowden, C. T. ; Bastow, K. F. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5015-5020.

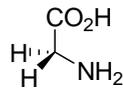
- 228 - Tercel, M. ; Stribbling, S. M. ; Sheppard, H. ; Siim, B. G. ; Wu, K. ; Pullen, S. M. ; Botting, K. J. ; Wilson, W. R. ; Denny, W. A. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 2132-2151.
- 229 - Marshall, W. S. ; Goodson, T. ; Cullinan, G. J. ; Swanson-Bean, D. ; Haisch, K. D. ; Rinkema, L. E. ; Fleisch, J. H. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 682-689.
- 230 - Gualtieri, F. ; Bottalico, C. ; Calandrella, A. ; Dei, S. ; Giovannoni, M. P. ; Mealli, S. ; Romanelli, M. N. ; Scapecchi, S. ; Teodori, E. *et al. J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1712-1719; b) Baraldi, P. G. ; Balboni, G. ; Cacciari, B. ; Guiotto, A. ; Manfredini, S. ; Romagnoli, R. ; Spalluto, G. ; Thurston, D. E. ; Howard, P. W. ; Bianchi, N. ; Rutigliano, C. ; Mischiati, C. ; Gambari, R. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5131-5141.
- 231 - Hall, R. H. ; Stern, E. S. *J. Chem. Soc.* **1949**, 2035-2037.
- 232 - Ichas, F. ; De Giorgi-Ichas, F. ; Piazza, P. V. ; Dessolin, J. ; Schembri, L. ; Tomasello, F. ; Lartigue, L. ; INSERM, Brevet : FR0308186, **2005**, 30 p.
- 233 - Ichas, F. ; De Giorgi-Ichas, F. ; Piazza, P. V. ; Dessolin, J. ; Schembri, L. ; Tomasello, F. ; Lartigue, L. ; INSERM, Brevet : WO2005012913, **2005**, *en cours de demande*.
- 234 - Field, G.; Hammond, P. R.; Brevet : 5,283,336 ; **1994** ; 7 p.

ANNEXES

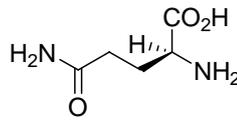
Acides aminés polaires



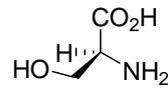
Cystéine
Cys
C



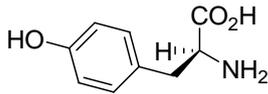
Glycine
Gly
G



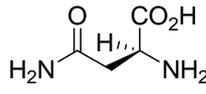
Glutamine
Gln
Q



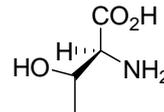
Sérine
Ser
S



Tyrosine
Tyr
Y

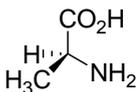


Asparagine
Asn
N

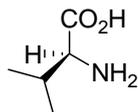


Thréonine
Thr
T

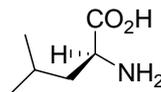
Acides aminés hydrophobes



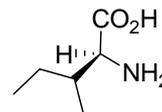
Alanine
Ala
A



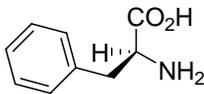
Valine
Val
V



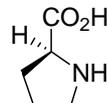
Leucine
Leu
L



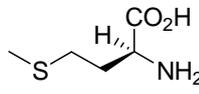
Isoleucine
Ile
I



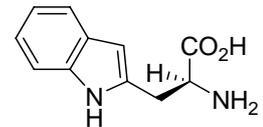
Phénylalanine
Phe
F



Proline
Pro
P

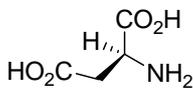


Méthionine
Met
M

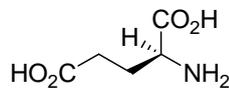


Tryptophane
Trp
W

Acides aminés acides

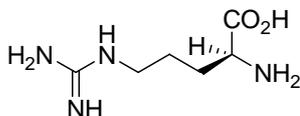


Acide Aspartique
Asp
D

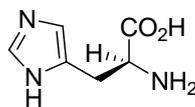


Acide Glutamique
Glu
E

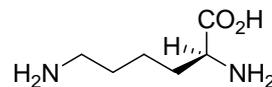
Acides aminés basiques



Arginine
Arg
R



Histidine
His
H



Lysine
Lys
K