

UNIVERSITÉ DE NANTES
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

CONCEPTION, SYNTHÈSE ET ÉVALUATION
PHARMACOLOGIQUE DE NOUVEAUX AZOLÉS À
ACTIVITÉ ANTIFONGIQUE

THÈSE DE DOCTORAT

École doctorale : Biologie Santé
Mention : Sciences de la Vie et de la Santé
Discipline : Pharmacie
Spécialité : Chimie Thérapeutique

*Présentée
et soutenue publiquement par*

Rémi GUILLON

Le 1 octobre 2010, devant le jury ci-dessous

Rapporteurs M. GUEIFFIER Alain, Professeur, Université de Tours
M. RAULT Sylvain, Professeur, Université de Caen

Examineurs M. BESSON Thierry, Professeur, Université de Rouen
M. LE PAPE Patrice, Professeur, Université de Nantes

Directeur de thèse Mme DUFLOS Muriel, Professeur, Université de Nantes

Co-encadrant M. LOGÉ Cédric, Maître de Conférences, Université de Nantes

TABLE DES MATIÈRES

ABRÉVIATIONS	1
PRÉAMBULE	4
INTRODUCTION	5
I – Introduction sur les infections fongiques	6
1 – Généralités sur les infections fongiques	6
1.1- Mycoses superficielles / mycoses systémiques	6
1.2- Les candidoses	7
1.3- Les aspergilloses	7
2- Épidémiologie	9
2.1- Incidence	9
2.2- Les candidémies au CHU de Nantes	10
3- Les facteurs favorisants	11
3.1- Les facteurs intrinsèques liés à l’hôte	11
3.2- Les facteurs extrinsèques et iatrogènes	11
II – Traitements antifongiques : cibles cellulaires et mécanismes de résistance	12
1 – Cibles thérapeutiques des antifongiques et traitements associés	12
2 – Les principaux phénomènes de résistance	13
3 – Les inhibiteurs des fonctions de la paroi membranaire	14
4 – Les inhibiteurs de la biosynthèse d’ARN	16
5 – Les inhibiteurs de la biosynthèse de l’ergostérol agissant sur la lanostérol 14 α - déméthylase	17
5.1- Les azolés	17
5.1.1- Azolés disponibles et mécanisme d’action	17
5.1.2- La résistance chez <i>Candida</i>	20
5.1.3- La résistance chez <i>Aspergillus</i>	22
5.2- Les allylamines	23
6 – Les inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire	24
III – Priorités pour le développement de nouveaux antifongiques	28
IV – Développement et relations structure-activité des azolés	30

OBJECTIFS DE RECHERCHE	40
I – CYP51 : une cible majeure de médicaments dans la superfamille du cytochrome P45041	
II – Les outils informatiques	42
III – Travaux antérieurs réalisés au laboratoire.....	43
IV – Définition des objectifs	45
PARTIE A.....	49
I – Synthèse en série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1 <i>H</i> -indol-5-yl et indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols.....	50
1 – Synthèse en série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1 <i>H</i> -indol-5-ylméthyl)méthylamino]-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol.....	50
1.1- Approche rétrosynthétique.....	50
1.2- Synthèse du 2-(2,4-difluorophényl)-3-méthylamino-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol.....	51
1.3- Synthèse des indole-5-carbaldéhydes	52
1.4- Synthèse des 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1 <i>H</i> -indol-5-ylméthyl)méthylamino]-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	52
2 – Synthèse en série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1 <i>H</i> -indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol.....	53
2.1- Approche rétrosynthétique.....	53
2.2- Préparation des indoles	54
2.2.1- Synthèse du 5 <i>H</i> -1,3-dioxolo[4,5- <i>f</i>]indole	54
2.2.2- Formylation et protection de l'azote indolique	55
2.3- Synthèse des 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1 <i>H</i> -indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	56
3 – Évaluation pharmacologique et discussion en série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1 <i>H</i> -indol-5-yl et indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols.....	57
3.1- Résultats pharmacologiques.....	57
3.2- Analyse des stérols sur la souche <i>Candida albicans</i> CA98001	60
3.3- Etude des relations structure-activité	61
II – Synthèse en série sulfonamide.....	63
1 – Synthèse en série 4-({[2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)benzènesulfonamide	63

1.1- Approche rétrosynthétique	63
1.2- Préparation des 4-(bromométhyl)benzènesulfonamides	63
1.3- Synthèse des 4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)benzènesulfonamides	65
2 – Synthèse en série <i>N</i> -[4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)phényl]alkyl (ou aryl)sulfonamide	66
2.1- Approche rétrosynthétique	66
2.2- Synthèse du 1-[(4-aminobenzyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol	67
2.3- Synthèse des <i>N</i> -[4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)phényl]alkyl (ou aryl)sulfonamides	67
3 – Évaluation pharmacologique et discussion	69
3.1- Résultats pharmacologiques	69
3.2- Analyse des stérols sur la souche <i>Candida albicans</i> CA98001	72
3.3- Évaluation complémentaire sur différentes espèces de <i>Candida</i>	72
3.4- Évaluation complémentaire sur des souches <i>Candida albicans</i> résistantes ou de sensibilité réduite au fluconazole	75
III – Synthèse en série biaryle	79
1 – Approche rétrosynthétique	79
2 – Synthèse des 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl) et (3-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	79
3 – Introduction des cycles (hétéro)aromatiques par couplage de Suzuki	80
3.1- Le couplage de Suzuki	80
3.2- Arylation des composés iodés	83
4 – Synthèse de dérivés 6-aminés du 2-(2,4-difluorophényl)-1-[[4-(pyridin-3-yl)phénylméthyl]méthylamino]-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol	85
4.1- Principe et schéma rétrosynthétique	85
4.2- Formation de l'acide 2-bromopyridin-5-ylboronique	85
4.3- Couplage de Suzuki	86
4.4- Introduction d'amines par substitution nucléophile	87
4.5- Introduction d'amines par couplage organopalladié	87
4.5.1- Le couplage de Buchwald / Hartwig	87
4.5.2- Couplages réalisés	89

4.6- Pharmacomodulation du 1-[[4-(6-aminopyridin-3-yl)phénylméthyl]méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol.....	91
5 – Évaluation pharmacologique et discussion	92
5.1- Résultats pharmacologiques.....	92
5.2- Analyse des stérols sur la souche <i>Candida albicans</i> CA98001	96
5.3- Étude des relations structure-activité	96
5.4- Évaluation complémentaire sur différentes espèces de <i>Candida</i>	97
5.5- Évaluation complémentaire sur des souches <i>Candida albicans</i> résistantes ou de sensibilité réduite au fluconazole	100
IV – Conclusion	101
V – Partie expérimentale	106
PARTIE B	197
I – Principe et objectifs de synthèse	198
II – Synthèse d’analogues en série racémique	199
1 – Le chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium ou sel d’Appel	199
2 – Préparation des thiazoloquinazolinones	201
2.1- Synthèse en série 1,3-thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one.....	201
2.1.1- Aperçu bibliographique	201
2.1.2- Synthèse de la 1,3-thiazolo[5,4- <i>f</i>]quinazolin-9(8 <i>H</i>)-one	204
2.2- Synthèse en série 1,3-thiazolo[4,5- <i>g</i>]quinazolin-8(7 <i>H</i>)-one.....	206
2.2.1- Approche rétrosynthétique.....	206
2.2.2- Synthèse en série 1,3-thiazolo[4,5- <i>g</i>]quinazolin-8(7 <i>H</i>)-one.....	207
2.3- Synthèse en série 1,3-thiazolo[5,4- <i>h</i>]quinazolin-6(7 <i>H</i>)-one.....	211
3 – Synthèse des molécules finales	212
III – Synthèse des analogues de configuration (<i>R,R</i>)	213
1 – Principe et approche rétrosynthétique	213
2 – Synthèse du (2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-2-(2,4-difluorophényl)-3-méthyl-2-[(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxirane	213
3 – Synthèse de l’albaconazole	216
4 – Synthèse des molécules finales	216
5 – Evaluation pharmacologique.....	217
5.1- Résultats pharmacologiques.....	217
5.2- Analyse des stérols sur la souche <i>Candida albicans</i> CA98001	220

5.3- Évaluation complémentaire sur différentes espèces de <i>Candida</i>	220
IV – Conclusion	222
V – Partie expérimentale	223
PARTIE C	268
I – Aperçu bibliographique.....	269
II – Synthèse d’azolés multifonctionnels	269
1 – Principe et approche rétrosynthétique	269
2 – Synthèses de la quinazolinylméthylurée	271
2.1- Synthèse de la 2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3 <i>H</i>)-one	271
2.2- Synthèse de la 3-benzyl-2-(1-bromoéthyl)-6-nitroquinazolin-4(3 <i>H</i>)-one	272
2.3- Préparation de la quinazolinylméthylurée	273
3 – Greffage de la quinazolinylméthylurée sur le pharmacophore	275
III – Evaluation pharmacologique et discussion	279
IV – Partie expérimentale.....	280
CONCLUSION GÉNÉRALE	296
BIBLIOGRAPHIE	299

ABRÉVIATIONS

ABC	ATP binding cassette
AcOH	acide acétique
AcONa	acétate de sodium
ADN	acide désoxyribonucléique
AIBN	2,2'-azobisisobutyronitrile
Ar	aryle
ARN	acide ribonucléique
ATP	adénosine triphosphate
(±)BINAP	(±)-2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle
Bn	benzyle
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyle
Bu	butyle
CCM	chromatographie sur couche mince
CI ₈₀	concentration à laquelle on observe 80% d'inhibition
CMI	concentration minimale inhibitrice
d	doublet
dd	doublet de doublet
ddd	doublet de doublet de doublet
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropyléthylamine
DMF	<i>N,N</i> -diméthylformamide
DMAP	4-(<i>N,N</i> -diméthylamino)pyridine
DMSO	diméthylsulfoxyde
DMSO d ₆	diméthylsulfoxyde deutéré
dppp	1,3-bis(diphénylphosphino)propane
EDC.HCl	1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl)carbodiimide
éq	équivalent
Et ₂ O	éther diéthylique
Et ₃ N	triéthylamine
EtOAc	acétate d'éthyle

EtOH	éthanol
F°C	point de fusion en degré Celsius
5-FC	5-fluorocytosine
FDA	food and drug administration
5-FU	5-fluorouracile
5-FUMP	5-fluoro-uridine monophosphate
HMDS	hexaméthylidisilazane
HMPA	hexaméthylphosphoramide
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
Hz	hertz
iBu	isobutyle
iPr	isopropyle
IR	infrarouge
J	constante de couplage
L	ligand
Litt	littérature
m	multiplet
MeOH	méthanol
MFS	major facilitator superfamily
MO	micro-ondes
MsCl	chlorure de mésyle
NaOEt	éthanolate de sodium
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butyllithium
NMP	<i>N</i> -méthylpyrrolidin-2-one
Nu	nucléophile
<i>p</i>	para
PCC	chlorochromate de pyridinium
Pd ₂ (dba) ₃	tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium
Ph	phényle
PhOPh	diphényléther
PPh ₃	triphénylphosphine
ppm	partie par million

PPTS	<i>para</i> -toluènesulfonate de pyridinium
Pr	propyle
Py	pyridine
q	quadruplet
R _f	rapport frontal
RMN	résonance magnétique nucléaire
s	singulet
se	singulet élargi
sept	septuplet
sext	sextuplet
t	triplet
ta	température ambiante
TBAF	fluorure de tétra(<i>n</i> -butyl)ammonium
<i>t</i> -BuOH	<i>tert</i> -butanol
<i>t</i> -BuOK	<i>tert</i> -butanolate de potassium
<i>t</i> -BuONa	<i>tert</i> -butanolate de sodium
THF	tétrahydrofurane
TMSOI	iodure de triméthylsulfoxonium
TsOH	acide <i>para</i> -toluènesulfonique
UV	ultraviolet
W	watts
XBD	xenobiotic binding domain

PRÉAMBULE

Ce rapport présente les travaux de recherche menés au sein du Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Organique de l'équipe IICiMed de la Faculté de Pharmacie de Nantes.

La thématique de cette thèse porte sur la conception, la synthèse et l'évaluation pharmacologique de nouvelles molécules azolés à activité antifongique.

Les champignons font partis des organismes les plus importants dans le monde, non seulement en raison de leur rôle vital dans les fonctions de l'écosystème, mais aussi en raison de leur influence sur les humains. En effet, il existe un faible nombre de champignons (environ 20) responsables de plus de 99% des infections fongiques humaines. Ces infections ou mycoses sont dues à des champignons micromycètes. Elles peuvent être superficielles touchant l'épiderme et les muqueuses, ou alors plus profondes. Dans ce cas, on parle de mycoses systémiques.

Nous nous intéressons au deuxième cas de figure et notre travail est axé sur la recherche de nouvelles molécules permettant de lutter contre les infections fongiques invasives.

INTRODUCTION

I – Introduction sur les infections fongiques

1 – Généralités sur les infections fongiques

1.1- Mycoses superficielles / mycoses systémiques

Les infections fongiques ou mycoses sont provoquées par des champignons microscopiques appelés aussi micromycètes. Ils provoquent chez l'homme un état pathologique plus ou moins grave. Environ 150 espèces sur les 100 000 connues sont potentiellement pathogènes.

Selon le degré d'invasion du champignon, on distingue deux groupes de mycoses : les **mycoses superficielles** d'origine localisée et les **mycoses systémiques** plus étendues.¹

Deux grands groupes de mycoses superficielles peuvent être constitués : les mycoses à dermatophytes et les mycoses à levures. Les dermatophytes prolifèrent habituellement sur la peau glabre, jamais sur les muqueuses. Ils sont responsables d'atteintes de la peau, du cuir chevelu (teignes) et des ongles (onychomycoses). Les moisissures rencontrées dans l'environnement (*Scopulariopsis*, *Aspergillus*, *Fusarium*) sont rarement impliquées dans des pathologies cutanées, mais elles sont à l'origine d'onychomycoses, en se greffant sur la kératine déjà altérée.

Les mycoses systémiques, quant à elles, se divisent en mycoses systémiques primaires (le champignon est capable de causer des infections chez les personnes saines) et en mycoses systémiques opportunistes (ce n'est qu'à la faveur d'un affaiblissement immunitaire que les champignons transpercent la surface protectrice de la peau ou des muqueuses broncho-alvéolaires et pénètrent dans les tissus sous-jacents et la circulation sanguine, induisant alors une infection). A noter que le diagnostic de ces infections est particulièrement difficile à établir.

L'étendue d'une infection fongique, qu'elle soit d'origine exogène (transmission par l'environnement) ou endogène (champignons déjà présents sur la peau ou les muqueuses), peut être localisée ou généralisée. Autrement dit, soit c'est un tissu spécifique qui est infecté, tel que la peau ou un organe, et il s'agit alors d'une infection bien délimitée, soit le champignon atteint la circulation sanguine et s'attaque à plusieurs organes. Dans ce dernier cas, on dit que l'infection se généralise ou le germe se dissémine. La mycose résultante sera qualifiée de profonde.

Les champignons sont donc responsables d'affections très variées. Pour la compréhension de notre travail, seuls deux types d'infections seront brièvement présentés, les candidoses et les aspergilloses.

¹ Association Française Des Enseignants de Parasitologie, Parasitologie, Mycologie, Ed. C. R., 2002, 494 pages.

1.2- Les candidoses

Les candidoses sont des affections cosmopolites dues à des levures. Les champignons responsables appartiennent au phylum des deutéromycètes, à la classe des blastomycètes et au genre *Candida*. Parmi les différentes espèces en cause, on peut citer *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ou *C. kefyr*.

Le rôle pathogène des *Candida* peut s'exercer au niveau des muqueuses, du revêtement cutané et des viscères. De plus, les candidoses ont un large éventail clinique qu'il s'agisse d'atteintes superficielles ou profondes, avec une fréquence en perpétuelle augmentation.

Les candidoses superficielles peuvent être divisées en trois familles :

- les **candidoses digestives**. Elles correspondent à des atteintes de l'appareil digestif (bouche, œsophage, intestin...). Elles se caractérisent par l'apparition d'un enduit crémeux blanc. Sur la muqueuse buccale, cette prolifération porte le nom de muguet.
- les **candidoses génito-urinaires**. Elles peuvent être présentes aussi bien chez l'homme que chez la femme. Les atteintes vaginales sont les plus fréquentes, se traduisant par l'apparition d'un écoulement purulent et d'un prurit intense. La lésion inflammatoire peut s'étendre au périnée. Ces candidoses sont souvent récidivantes.
- les **candidoses cutanées**. Elles apparaissent dans des zones où la peau est pliée (plis du ventre, sous la poitrine, entre les doigts ou les orteils). On parle alors d'intertrigo qui se caractérise par l'apparition d'une lésion érythémateuse et d'une fissure au niveau du pli cutané.

On distingue essentiellement deux formes de candidose viscérale : les candidoses viscérales aiguës secondaires à une candidémie et se manifestant parfois longtemps après cette dernière et les candidoses viscérales chroniques associées aux traitements par chimiothérapie. Ces dernières se traduisent souvent par une atteinte du foie et de la rate. Ces formes graves mettent en jeu le pronostic vital du patient. La guérison dépendra de la localisation, de l'état physiologique du patient et de la précocité de la prise en charge thérapeutique.

1.3- Les aspergilloses

Les aspergilloses sont dues à des champignons filamenteux (moisissure). Ils appartiennent au phylum des deutéromycètes, à la classe des hyphomycètes et au genre *Aspergillus*. Parmi les différentes espèces en cause, on peut citer *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* ou *A. terreus*.

Introduction

Aspergillus est un champignon « opportuniste ». Il est saprophyte de matières organiques en décomposition. C'est un contaminateur fréquent (salles hospitalières, laboratoires...). En effet, les spores sont véhiculées dans l'espace aérien avec les poussières et sont inhalées par tous les individus. A cause de leur petite taille, les spores atteignent tous les compartiments du poumon. Ce champignon reste totalement inoffensif pour la majorité de la population. Cependant, un petit nombre d'espèces capables de se développer à 37 °C (température du corps humain) peuvent provoquer des mycoses chez l'homme et l'animal. Certains d'entre eux sont mêmes thermotolérants, en particulier *Aspergillus fumigatus* qui peut croître jusqu'à 55°C.

Il existe plusieurs formes d'aspergillose qui vont d'une maladie de type allergique à une infection généralisée gravissime, pouvant entraîner la mort du patient dans 60 à 90% des cas. La sévérité de l'aspergillose dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels les plus importants sont l'état du système immunitaire de la personne infectée, les caractéristiques de la neutropénie et les perturbations de la fonction macrophagique.

La maladie peut prendre essentiellement quatre formes :

- **l'aspergillome**. Le champignon se développe dans une cavité pulmonaire faisant suite à une maladie antérieure (tuberculose par exemple). Les symptômes sont une perte de poids, une toux chronique, de la fatigue et enfin des hémoptysies (chez 50 à 80% des personnes infectées) qui signalent les stades avancés de la mycose. Dans certains cas, une résection chirurgicale associée à un antifongique local est nécessaire.

- **la sinusite aspergillaire**. Elle est localisée au niveau des sinus et entraîne des maux de tête chroniques, des obstructions nasales. Elle est plus grave pour les patients immuno-déficients. Un drainage des sinus ou une intervention chirurgicale sont les deux solutions envisageables.

- **l'aspergillose invasive**. C'est la forme la plus grave de la maladie. Elle touche (i) les sujets greffés, (ii) les patients soumis à un traitement anticancéreux et (iii) plus rarement les patients VIH positifs. Elle se manifeste par de la fièvre, de la toux, des douleurs thoraciques et des difficultés respiratoires. Un scanner du thorax permet de diagnostiquer la maladie. La précocité d'un traitement permet d'augmenter les taux de survie mais la guérison du patient n'atteint que 60% des cas au mieux.

- enfin, une dernière forme de la maladie est **l'aspergillose broncho-pulmonaire allergique**. Elle touche 20% des sujets asthmatiques et les personnes atteintes de mucoviscidose. Ses symptômes sont similaires à un asthme classique (épisodes de malaise, toux et sifflements). Si aucun traitement (corticostéroïdes par aérosol ou voie orale, association d'un antifongique) n'est appliqué le patient encourt un risque de fibrose pulmonaire.

2- Épidémiologie

2.1- Incidence

L'institut de veille sanitaire a coordonné en 2006 une enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales avec un volet sur les traitements anti-infectieux qui avaient pour objectif de décrire les traitements prescrits dans les établissements de santé, y compris les antifongiques.² Cette étude est la plus importante jamais réalisée en France ou à l'étranger et a concerné 2337 établissements de santé, représentant 93,6% des lits d'hospitalisation en France, et incluant 358 353 patients. Elle est proche de l'exhaustivité et fournit une description précise pour un jour donné. Ainsi, 15,87% des patients recevaient un traitement anti-infectieux, dont seulement 0,77% recevaient au moins un antifongique. Une infection nosocomiale (0,30%) était la première indication des traitements antifongiques, devant l'infection communautaire (0,26%) et la prophylaxie des infections opportunistes (0,16%), les indications multiples étant rares (0,03%).

Parmi les patients sous traitement antifongique, les immunodéprimés étaient fortement représentés. De plus, les services concernés relevaient du court séjour, et plus particulièrement de l'hématologie et de la réanimation. Les patients sont souvent hémodialysés, munis de dispositifs invasifs ou perfusés, donc exposés à des pratiques médicales considérées comme facteurs de risque pour les infections fongiques.

Il est à noter que l'analyse comparée des données de 2001 et 2006 montre une stabilité de la prévalence globale des patients traités par antifongiques. Elle masque toutefois des évolutions opposées selon les indications du traitement : si la prévalence des patients traités pour infection communautaire ou nosocomiale a diminué, celle des patients traités pour prophylaxie des infections opportunistes a augmenté. Cette dernière tendance peut être le reflet de l'introduction large des prophylaxies antifongiques en médecine. Elle est à surveiller car si ces prophylaxies ont fait la preuve de leur efficacité, elles exposent toutefois à un risque de développement de résistances.

La prévalence des infections fongiques invasives reste donc faible. Cependant, ces infections sont responsables de sévères complications cliniques pour les sujets immunodéprimés, par exemple pour les patients transplantés, neutropéniques, sous chimiothérapies ou encore infectés par le VIH. De plus, depuis les vingt dernières années, les patients sévèrement malades en soins intensifs (par exemple en chirurgie ou en néonatalogie), émergent comme une autre population à risque. Une étude menée dans les unités de soins intensifs d'hôpitaux chinois révèle que parmi les patients atteints de septicémie sévère, 28,3% présentent une infection fongique invasive.³ Dans ce cas, le taux de mortalité associé est très élevé : 67,8%. Les espèces pathogènes isolées responsables des infections sont majoritairement *Candida* et *Aspergillus*. Ainsi, on retrouve *Candida albicans* (58%), *Candida tropicalis* (17%), *Candida glabrata* (15%), *Candida parapsilosis* (3%) et *Aspergillus fumigatus* (3%).

² Institut de Veille Sanitaire, *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, 2009, 31-32, 353-356.

³ Xie G. et al., *Crit. Care*, 2008, 12 (1), R5.

Introduction

Nous voyons donc que les infections dues aux différentes espèces de *Candida* constituent la principale cause d'infections fongiques invasives. Elles se placent au quatrième rang des infections nosocomiales et entraînent un taux de mortalité de 40%. Les aspergilloses invasives elles, conduisent au décès de 80% des patients infectés.⁴

Il est à noter que la liste des isolats cliniques augmente chaque année et de nouvelles espèces de *Candida* apparaissent, comme *Candida guilliermondii*, *Candida lusitaniae*, *Candida kefyr*, *Candida rugosa*, *Candida famata* ou *Candida dubliniensis*. Cela pourrait s'expliquer par une amélioration des méthodes d'identification des isolats cliniques. Cependant, étant donné l'augmentation du nombre de personnes immunodéprimées avec des états de plus en plus sévères, on peut penser que des espèces non pathogènes émergent maintenant comme pathogènes opportunistes.⁵

2.2- Les candidémies au CHU de Nantes

Une étude a été menée au CHU de Nantes, auquel est associé notre EA 1155, entre mars 2004 et juillet 2009. Sur les 178 épisodes de candidémies (183 isolats et 175 patients) observés, *Candida albicans* (n=99, 54.1%) apparaît au premier rang en terme de fréquence, suivi de *Candida parapsilosis sensu lato* (n=27, 14.8%), *Candida tropicalis* (n=18, 9.8%), *Candida glabrata* (n=17, 9.3%) et *Candida krusei* (n=7, 3.8%). Pour 5 patients, des hémocultures mixtes, associant deux espèces de *Candida* distinctes était retrouvées (*Candida albicans* / *Candida parapsilosis* pour 3 patients et *Candida albicans* / *Candida tropicalis* et *Candida famata* / *Candida lipolytica* pour les deux autres).

La **figure 1** représente la distribution des espèces de *Candida* isolées au CHU. Comme on peut le voir, on constate une augmentation des candidémies entre 2004 et 2009. De plus, excepté *Candida krusei*, la distribution des autres espèces de *Candida* (*Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Candida tropicalis*) a sensiblement augmenté.

⁴ Monk B.C. *et al.*, *Science*, **2008**, 321 (5887), 367-369.

⁵ Pfaller M.A. *et al.*, *Clin. Microbiol. Rev.*, **2007**, 20 (1), 133-163.

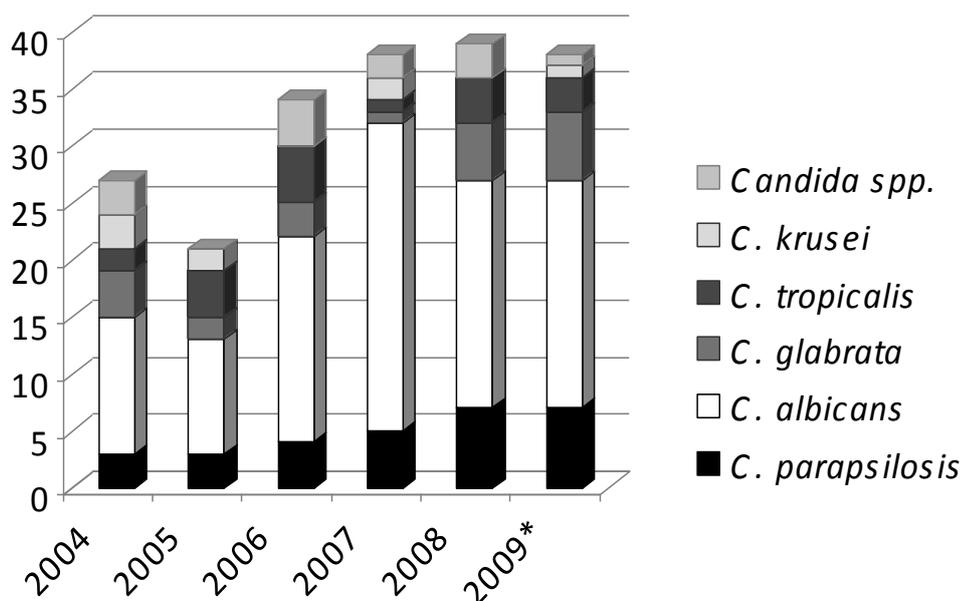


Figure 1 : Distribution des espèces de *Candida* isolées au CHU de Nantes durant la période 2004-2009

3- Les facteurs favorisants

3.1- Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte

Certains facteurs physiologiques peuvent expliquer le développement de la maladie.¹ Le premier d'entre eux est l'âge du sujet. En effet, le nouveau-né ou les personnes âgées sont plus sensibles à *Candida albicans*. Par exemple, le nouveau-né est particulièrement vulnérable à la candidose buccale. Il en est de même chez le sujet âgé porteur de prothèses dentaires. On peut aussi citer la candidose vaginale qui est trois à quatre fois plus fréquente chez la femme enceinte.

Des facteurs d'origine pathologique peuvent également favoriser le développement du champignon. En effet, une maladie sous-jacente favorise et permet le développement d'une mycose latente. C'est ainsi qu'une candidose oropharyngée est souvent à l'origine de la découverte d'un SIDA. Une candidose à répétition sera elle à l'origine de la découverte d'un diabète. Autre exemple, l'*Aspergillus* qui se greffe habituellement sur des lésions bronchiques préexistantes.

3.2- Les facteurs extrinsèques et iatrogènes

Les champignons pathogènes bénéficient pour se développer de l'apparition d'états d'immunosuppression de plus en plus sévères.¹ Ceux-ci sont principalement induits par les chimiothérapies, les greffes de moelle, les traitements immunosuppresseurs utilisés lors des greffes d'organes, les traitements par corticoïdes et l'immunosuppression liée à l'infection au VIH. Par exemple, un traitement immunosuppresseur (antimitotiques, corticoïdes) peut être à l'origine d'une candidose ou d'une aspergillose. Les infections fongiques atteignant les

personnes immunodéprimées sont souvent sévères, rapidement progressives, difficiles à diagnostiquer et à traiter.

Un autre facteur de la prolifération des infections fongiques est lié aux pratiques chirurgicales ou médico-chirurgicales. Ainsi la pose de cathéters veineux ou artériels utilisés pour l'alimentation parentérale ou toute chirurgie peut être à l'origine du développement de la maladie si l'asepsie n'est pas réalisée avec précaution. D'autres actes médicaux comme la ventilation assistée, la chirurgie profonde, l'hémodialyse et l'usage d'antibiotiques à large spectre peuvent également favoriser le développement anarchique du champignon. Enfin, les sujets grièvement brûlés ou les personnes atteintes de leucémie sont des terrains propices au développement des champignons.

II – Traitements antifongiques : cibles cellulaires et mécanismes de résistance

1 – Cibles thérapeutiques des antifongiques et traitements associés

Les champignons sont des eucaryotes, ce qui limite le développement d'antifongiques dont la cible serait intracellulaire et qui auraient un effet délétère pour les cellules eucaryotes de l'hôte. Les traitements antifongiques disponibles actuellement sur le marché et utilisés en thérapeutique pour les infections invasives se répartissent en cinq grandes familles chimiques : les polyènes, les fluoropyrimidines, les azolés, les allylamines et les échinocandines. Trois d'entre elles (polyènes, azolés, allylamines) agissent sur l'ergostérol de la membrane fongique, les fluoropyrimidines interfèrent avec la synthèse de l'ADN et l'ARN des champignons et les échinocandines interviennent au niveau de la paroi fongique (**figure 2**).⁶

Le traitement d'une infection fongique grave peut poser un véritable défi au praticien. Il n'a à sa disposition que peu de molécules antifongiques qui n'ont que trois cibles chez le champignon. Tout en jonglant avec les problèmes de toxicité de certains antifongiques, le praticien doit aussi tenir compte du possible développement de résistances au traitement par les champignons.

⁶ Infections fongiques : résistances, nouvelles modalités thérapeutiques, Ed. optimed, 2003, 170 pages.

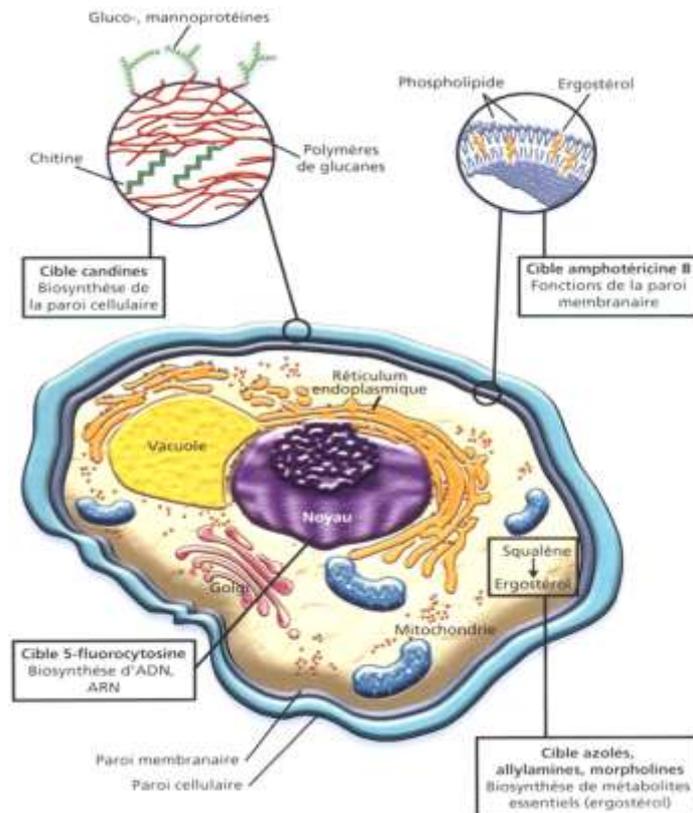


Figure 2 : Cibles principales des antifongiques systémiques

2 – Les principaux phénomènes de résistance

Il existe deux types de résistance. En effet, on distingue la résistance primaire et la résistance secondaire. La résistance primaire ou naturelle se rencontre chez certaines espèces fongiques insensibles à un antifongique donné, ou pour lesquelles les concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'antifongiques sont supérieures aux concentrations utilisables en thérapie. Ce type de résistance est un caractère d'espèce exprimé par tous les individus constituant l'espèce. La résistance secondaire ou acquise se développe chez les champignons qui appartiennent à une espèce a priori sensible. Cette résistance est la conséquence d'un événement survenu préalablement ou pendant le traitement antifongique. Il s'agit d'un caractère de souche, qui n'affecte que de rares individus au sein de l'espèce et qui ne leur confère un avantage sélectif que lorsqu'ils sont exposés à l'antifongique.

Grâce à la mobilisation internationale des chercheurs durant ces vingt dernières années, les mécanismes moléculaires des résistances aux antifongiques sont aujourd'hui mieux connus.⁷ Ainsi, les résistances acquises ont toutes un déterminisme génétique. Elles résultent généralement d'événements mutationnels, ou de la dérégulation de l'expression de certains gènes, ce qui conduit le plus souvent à leur surexpression. Les conséquences de ces événements d'un point de vue cellulaire et les mécanismes mis en jeu par le champignon pour résister à l'antifongique sont multiples et dépendent de l'antifongique utilisé.

⁷ Ghannoum M.A. *et al.*, *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**, 12 (4), 501-517.

La résistance peut donc provenir :

- d'un défaut de transport ou de pénétration de l'antifongique à l'intérieur de la cellule fongique.
- d'un défaut de transformation de l'antifongique en forme active toxique.
- d'une surproduction de la cible cellulaire de l'antifongique.
- d'une modification de la cible, qui conduit à la diminution de son affinité pour l'antifongique.
- d'une disparition de la cible et de son remplacement par le recrutement ou le détournement d'un autre métabolite.
- d'un efflux actif de l'antifongique.

Ces différents mécanismes ne sont pas équivalents en fréquence et en efficacité et quelques uns d'entre eux sont spécifiques de certains antifongiques. Mais il est important de noter que ces mécanismes de résistance sont souvent associés.

Nous nous limiterons à décrire le mécanisme d'action des principaux antifongiques utilisés en traitement systémique, ainsi que les mécanismes moléculaires de résistance le plus souvent rencontrés.⁸

3 – Les inhibiteurs des fonctions de la paroi membranaire

Les inhibiteurs de cette classe font partie de la famille des polyènes. Le représentant de cette famille est l'**amphotéricine B** extraite de *Streptomyces nodosus*, découverte en 1953, développée par Bristol-Myers Squibb et mise sur le marché en 1957 (**figure 3**).

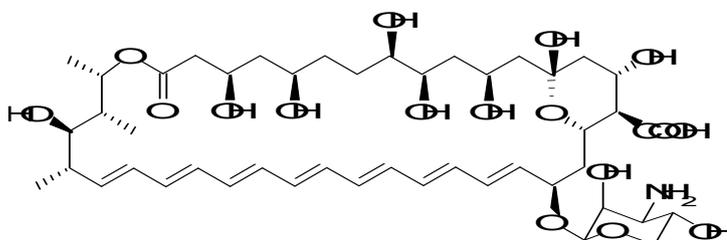


Figure 3 : Structure de l'amphotéricine B (FUNGIZONE®)

La structure de ce macrolide est particulière puisqu'elle est constituée d'un côté lipophile représenté par un enchaînement de sept doubles liaisons, et d'un côté hydrophile (succession de groupes hydroxyles). Enfin, un motif amino-sucre est greffé sur une extrémité.

Son action fongistatique et fongicide est directement liée à sa structure. Elle agit sur la membrane du champignon en se complexant de manière définitive à forte concentration avec l'ergostérol. Elle forme alors des pores et des canaux qui augmentent la perméabilité de la membrane cellulaire. Elle inhibe également la pompe Na^+ / K^+ ce qui se traduit par une fuite de potassium et une entrée massive de sodium aboutissant à la lyse cellulaire. La sélectivité de

⁸ Accoceberry I. *et al.*, *Thérapie*, **2006**, 61 (3), 195-199.

Introduction

cette molécule vis-à-vis des cellules fongiques est due à une plus grande affinité pour l'ergostérol fongique par rapport à l'humain.⁹

L'amphotéricine B a été le médicament « phare » pendant plus de 50 ans pour toutes les infections fongiques invasives. En effet, elle présente un spectre très large et est active sur la plupart des espèces de *Candida* et d'*Aspergillus*.

Malheureusement son usage est limité par sa forte toxicité. En effet, près de 20% des patients présentent une réaction toxique aigüe (fièvre, frissons, tachycardie, hypotension) et 80% subissent une atteinte rénale dose-dépendante. De nouvelles formes galéniques ont été mises au point afin de diminuer la toxicité. Ainsi, l'amphotéricine B est maintenant disponible sous forme liposomale (AMBISOME[®], 1997), en complexe lipidique (ABELCET[®], 1995) ou en dispersion colloïdale (AMPHOCIL[®] ou AMPHOTEC[®], 1996).¹⁰

Depuis l'apparition de l'amphotéricine B, environ 90 polyènes ont été découverts, mais d'importants problèmes de solubilité, de stabilité, de biodisponibilité par voie orale et de toxicité ont empêché leur développement pour un usage clinique.¹¹

Certaines espèces pathogènes sont intrinsèquement résistantes à l'amphotéricine B, comme par exemple *Candida lusitanae*, *Aspergillus terreus* ou les espèces de *Fusarium*.¹² Ces dernières années, on constate dans certains cas une augmentation des concentrations minimales inhibitrices pour des isolats de *Candida krusei*, *Candida glabrata*¹³ ou *Aspergillus fumigatus*.¹⁴ La plupart du temps l'émergence de résistance à l'amphotéricine B apparaît chez des patients immunodéficients, traités en chimiothérapie, ou subissant une longue thérapie avec des antibiotiques et des antifongiques. Par exemple, Nolte et al. décrivent l'isolation de souches de *Candida albicans* résistantes à l'amphotéricine B chez des patients atteints de leucémie.¹⁵ Powderly et al. ont noté une corrélation entre l'échec du traitement à l'amphotéricine B et la résistance *in vitro* de levures isolées chez des patients atteints d'un cancer et présentant une infection fongique invasive.¹⁶ Dans certains cas, la résistance conduit à l'échec du traitement.¹⁷ A noter qu'un traitement antérieur ou simultané aux azolés pourrait entraîner une résistance à l'amphotéricine B.¹⁸ Ce mécanisme serait dû à la modification des stérols et du contenu de la membrane suite à la thérapie aux azolés.

Le principe de la résistance à l'amphotéricine B repose sur un système de disparition de cible en deux étapes. La première consiste en un blocage de la voie de biosynthèse de l'ergostérol de façon à soustraire la cible à l'action de l'antifongique. La deuxième étape est alors nécessaire pour remplacer l'ergostérol dans les membranes par d'autres stérols viables. La résistance à l'amphotéricine B ne résulte donc que des seules mutations des gènes de biosynthèse de l'ergostérol.⁸

⁹ Brajtburg J. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1990**, 34 (2), 183-188.

¹⁰ Thompson III G.R. et al., *Clin. Chest Med.*, **2009**, 30 (2), 203-215.

¹¹ Denning D.W. et al., *Trends Microbiol.*, **2010**, 18 (5), 195-204.

¹² Ellis D., *J. Antimicrob. Chemother.*, **2002**, 49 (s1), 7-10.

¹³ Pfaller M.A. et al., *J. Clin. Microbiol.*, **2004**, 42 (7), 3142-3146.

¹⁴ Messer S.A. et al., *J. Clin. Microbiol.*, **2006**, 44 (5), 1782-1787.

¹⁵ Nolte F. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1997**, 41 (1), 196-199.

¹⁶ William G.P. et al., *Am. J. Med.*, **1988**, 84 (5), 826-832.

¹⁷ Sterling T.R. et al., *Drug Resist. Updates*, **1998**, 1 (3), 161-165.

¹⁸ Schaffner A. et al., *Mycoses*, **1993**, 36 (11-12), 421-424.

Introduction

Un nouveau polyène est actuellement en phase III d'essais cliniques. Il s'agit du **SPK-843** (Laboratoire Kaken Pharmaceutical), un sel diascorbique d'un dérivé semi-synthétique de la partricin A (**figure 4**).

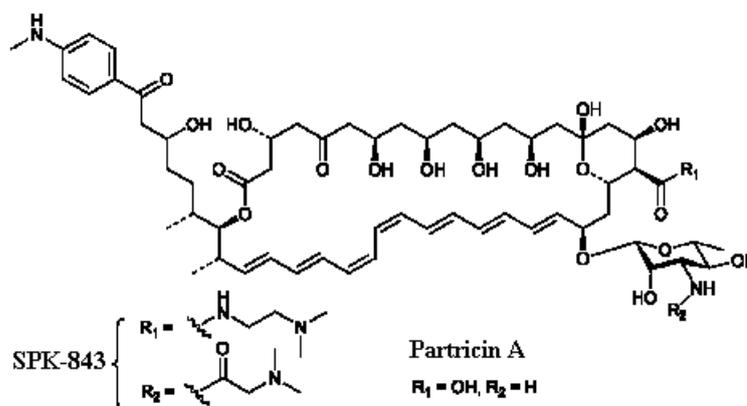


Figure 4 : Structure du **SPK-843** et de la partricin A

Le **SPK-843** possède des activités *in vitro* comparables ou meilleures à celles de l'amphotéricine B sur des espèces de *Candida*, d'*Aspergillus* et sur *Cryptococcus neoformans*. Cette molécule aurait aussi une meilleure solubilité mais peu de données sont actuellement disponibles.¹⁹

4 – Les inhibiteurs de la biosynthèse d'ARN

Dans cette famille, une molécule est utilisée : la **Flucytosine** ou **5-fluorocytosine** (ou 5-FC). Il s'agit d'une pyrimidine fluorée découverte en 1964 par les Laboratoires Roche et approuvée en 1972 (**figure 5**).

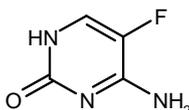


Figure 5 : Structure de la 5-fluorocytosine (ANCOTIL®)

Seuls certains champignons sont sensibles à cette molécule : des prédispositions enzymatiques sont nécessaires pour permettre l'entrée dans la cellule de la 5-FC. En effet, elle est transportée dans la cellule fongique par une cytosine perméase (codée par le gène *FCY2*), et subie ensuite une désamination par l'intermédiaire de la cytosine désaminase (codée par le gène *FCY1*) pour former la 5-fluorouracile (ou 5-FU). Le 5-FU sera ensuite converti en 5-fluoro-uridine monophosphate (5-FUMP) par l'uridine phosphoribosyl transférase codée par le gène *FURI*. Plusieurs activités enzymatiques seront encore nécessaires pour générer différents métabolites fluorés qui vont soit inhiber la thymidylate synthase, une enzyme nécessaire à la synthèse de thymidine, et donc à la réplication de l'ADN, soit être incorporés au niveau des acides ribonucléiques (ARN) messagers et inhiber la synthèse des protéines.⁸

¹⁹ Kakeya H. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2008**, 52 (5), 1868-1870.

De plus, cette molécule est sélective car les cellules humaines ne possèdent pas la cytosine désaminase. Une activité est observée sur de nombreux champignons pathogènes tels que *Candida*, *Cryptococcus*, *Cladosporium*, *Phialophora* et *Saccharomyces*.¹⁰

Quelques champignons sont intrinsèquement résistants à la flucytosine, comme par exemple *Aspergillus*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida glabrata* ou *Candida krusei*.²⁰ La résistance secondaire se développe de plus en plus, surtout en monothérapie, et constitue la cause majeure d'échec du traitement à la flucytosine. Elle apparaît majoritairement sur les espèces de *Candida*.

Les résistances vont provenir de la surexpression de l'enzyme cible thymidylate synthase, ou plus fréquemment de mutations de gènes nécessaires au métabolisme de la 5-FC pour empêcher la conversion en 5-FU. L'inactivation des gènes *FCY1* ou *FURI* confère une résistance totale à la 5-FC, tandis que l'inactivation du gène *FCY2* confère un niveau de résistance moins élevé, mais malgré tout à des concentrations supérieures aux doses thérapeutiques.²¹

En raison d'un spectre d'action limité, de l'émergence rapide de résistances et de nombreux effets secondaires, la 5-FC n'est pas utilisée en monothérapie mais la plupart du temps en combinaison avec l'amphotéricine B.²²

5 – Les inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol agissant sur la lanostérol 14 α -déméthylase

5.1- Les azolés

5.1.1- Azolés disponibles et mécanisme d'action

Les antifongiques agissant sur la biosynthèse de l'ergostérol appartiennent à la famille des azolés. Ils exercent leur action principalement par inhibition de la lanostérol 14 α -déméthylase (CYP51), une enzyme à cytochrome P450 codée par le gène *ERG11*. Cette enzyme intervient dans la longue cascade qui convertit le lanostérol en ergostérol, constituant essentiel de la membrane cytoplasmique fongique (**figure 6**). L'accumulation de lanostérol et de 14 α -méthylstérols à la place de l'ergostérol désorganise, dans la membrane du champignon, l'agencement des chaînes acyle des phospholipides et gêne ainsi les fonctions des systèmes enzymatiques liés à la membrane comme l'ATPase et les enzymes responsables du transfert d'électrons.²³

²⁰ Barchiesi F. *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2000**, 45 (3), 408-409.

²¹ Vanden Bossche H. *et al.*, *Med. Mycol.*, **1994**, 32 (S1), 189-202.

²² Johnson M.D. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, 48 (3), 693-715.

²³ Sheehan D.J. *et al.*, *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**, 12 (1), 40-79.

Introduction

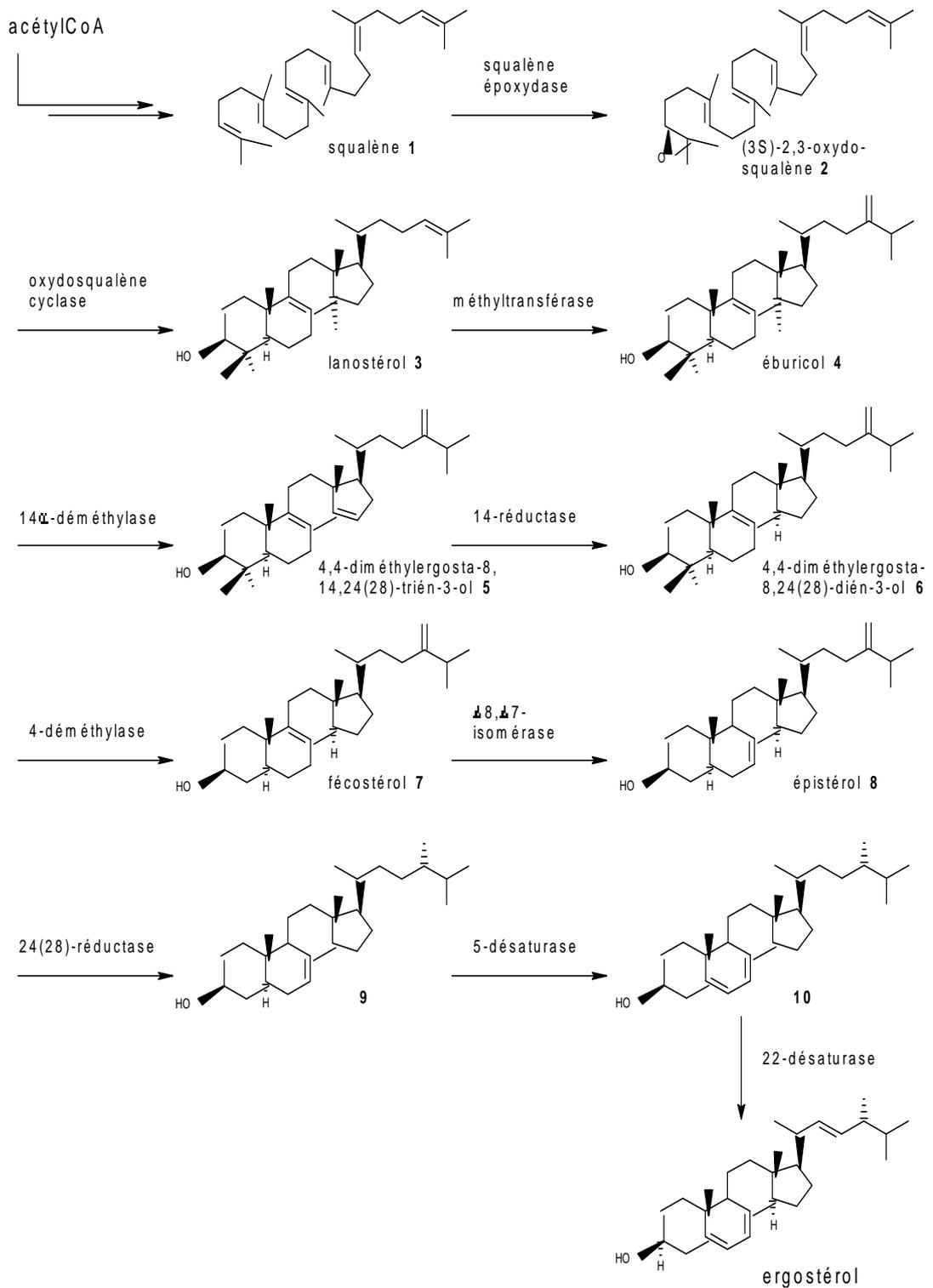


Figure 6 : Biosynthèse de l'ergostérol chez le champignon

La découverte de l'activité antifongique des azolés a constitué une avancée considérable dans la thérapeutique des infections fongiques superficielles et systémiques. Les azolés de première génération sont les imidazolés (**figure 7**).

Introduction

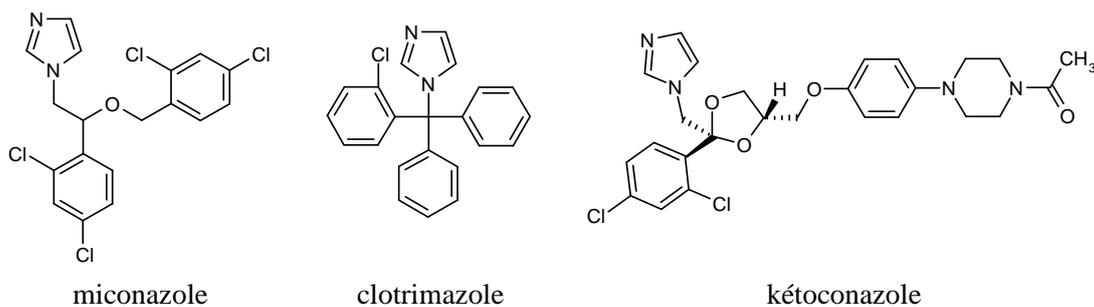


Figure 7 : Azolés de première génération

Le kétoconazole est le premier azolé bien absorbé par voie orale. Cependant, son hépatotoxicité et ses interactions avec de nombreuses molécules limitent son utilisation.

Ainsi, de nouvelles avancées en thérapie fongique furent nécessaires. Le développement des triazolés (fluconazole et itraconazole), plus lentement métabolisés et présentant moins d'effets secondaires ont permis leur utilisation pour le traitement des infections fongiques invasives. De plus, ils furent utilisés massivement en prophylaxie (**figure 8**).

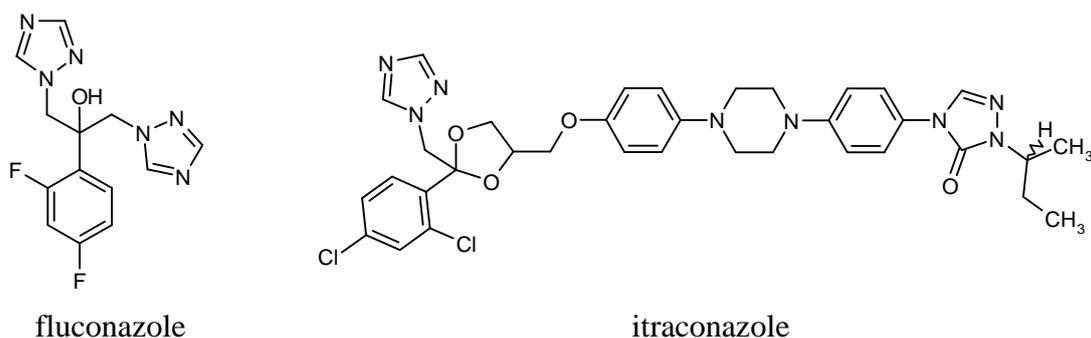


Figure 8 : Azolés de seconde génération

Les recherches incessantes de nouvelles solutions thérapeutiques ont mené à la découverte des azolés de troisième génération. Deux nouvelles molécules triazolées (voriconazole et posaconazole) particulièrement active *in vitro* et à large spectre ont été développées (**figure 9**).

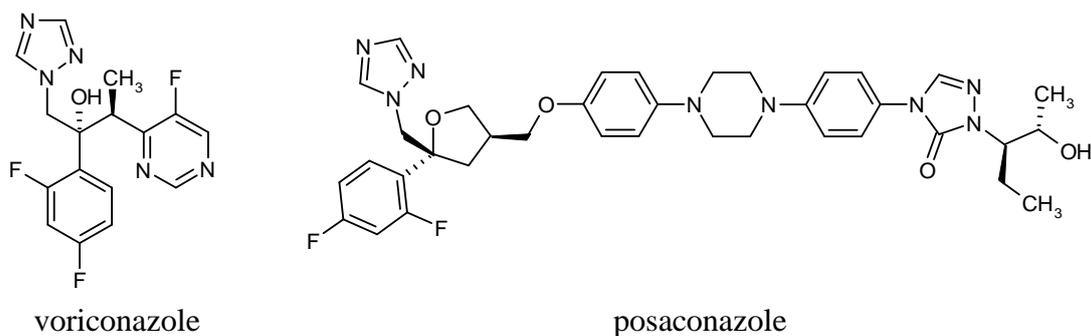


Figure 9 : Azolés de troisième génération

Pour la poursuite de nos travaux, la découverte des azolés et les relations structure-activité de ces composés seront développées ultérieurement page 30.

5.1.2- La résistance chez *Candida*

Les triazolés font partie des agents les plus utilisés en clinique pour le traitement des infections fongiques invasives. Ces molécules présentent des résistances intrinsèques envers certaines espèces de champignons. Ainsi, le fluconazole n'est pas actif sur *Candida krusei*, *Candida glabrata* ou sur les espèces d'*Aspergillus*. L'itraconazole, le voriconazole et le posaconazole, molécules à large spectre montrent seulement une résistance primaire sur *Fusarium*, *Scedosporium* ou sur les Zygomycètes. Mais ces dernières années, l'utilisation massive des azolés à titre curatif ou prophylactique, liée à leur efficacité et à leur faible toxicité pour l'être humain, a fortement contribué à la sélection de résistance.

La résistance des espèces de *Candida* au fluconazole est devenue un problème significatif avec l'épidémie du SIDA et sa prescription large dans le traitement des candidoses muqueuses. Elle a depuis été décrite au cours des candidémies des immunodéprimés non infectés par le VIH et chez des patients en réanimation.²⁴ De plus, des cas de résistance croisée entre le fluconazole et les autres triazolés à large spectre sont rapportés. Elle se retrouve par exemple chez des personnes présentant une fongémie à *Candida glabrata*. Le traitement au voriconazole échoue après une première exposition au fluconazole.^{25,26} Le posaconazole est disponible depuis peu et présente un large spectre notamment sur des souches de *Candida* résistantes aux autres azolés. Cependant, des souches résistantes au posaconazole ont été identifiées²⁷ et des phénomènes de résistance croisée ont été observés.²⁸

Plusieurs mécanismes peuvent être à l'origine de la résistance des triazolés chez *Candida*. Ils peuvent se dérouler séparément mais ils sont souvent associés. Trois principaux mécanismes sont connus et décrits dans la littérature.²⁹

Le premier mécanisme de résistance est l'augmentation de l'efflux. En effet, les cellules fongiques possèdent dans leur membrane plasmique des systèmes d'efflux ayant la capacité d'extraire hors de la cellule une grande variété de composés. D'après les différentes études menées, il est clairement établi que ces systèmes d'efflux opèrent dans la résistance aux azolés. Il s'agirait même du principal mécanisme de résistance. L'activation des pompes d'efflux entraînent ainsi une diminution de la concentration du médicament sur le site d'action. Deux systèmes d'efflux contribuent à la résistance chez *Candida* (**figure 10**). On trouve la famille des transporteurs ATP-binding cassette (ABC), codés par les gènes *CDR* et qui utilisent l'ATP comme source d'énergie pour le transport. Ils ont un large spectre vis-à-vis de la plupart des antifongiques azolés, mais transportent également d'autres molécules antifongiques telles que la terbinafine ou la caspofungine. Le deuxième type de pompe est

²⁴ Charlier C. *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2006**, 57 (3), 384-410.

²⁵ Magill S.S. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, **2006**, 44 (2), 529-535.

²⁶ Panackal A.A. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, **2006**, 44 (5), 1740-1743.

²⁷ Li X. *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2004**, 53 (1), 74-80.

²⁸ Lortholary O. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2007**, 51 (9), 3378-3380.

²⁹ Sanglard D. *et al.*, *FEMS Yeast Res.*, **2009**, 9 (7), 1029-1050.

Introduction

celui de la superfamille des majors facilitators (MFS). Ces pompes sont codées par les gènes *MDR* et fonctionnent par l'intermédiaire d'un gradient de protons à travers la membrane. Ils ont un spectre réduit vis-à-vis des azolés, avec pour seul substrat le fluconazole.³⁰

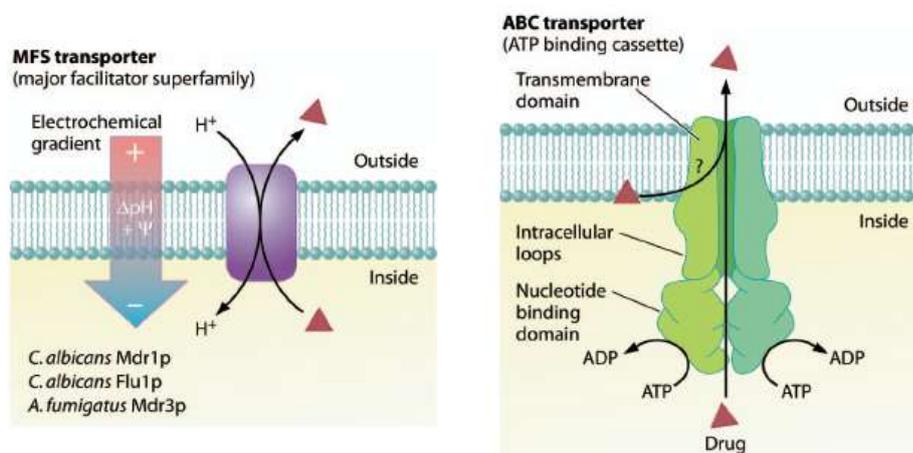


Figure 10 : Représentation schématique des transporteurs ABC et MFS

En situation normale, les transporteurs de type MDR ou CDR sont exprimés à un niveau de base dans la cellule fongique, même quand elle n'est pas exposée à un antifongique. La résistance résulte de la surexpression de ces gènes codants et de l'accumulation des pompes dans la membrane.

Le deuxième mécanisme se déclenche à la suite de mutations ponctuelles du gène *ERG11* conduisant ainsi à une perte d'affinité. En effet, des altérations de l'enzyme, causées par des mutations d'*ERG11*, ont été décrites comme source de résistance chez les azolés. De nombreuses études ont été menées et à ce jour plus de 140 acides aminés différents sont impliqués lors de mutations chez des isolats cliniques de *Candida albicans*.³¹ Ce grand polymorphisme génétique suggère donc que la lanostérol-14 α -déméthylase est hautement tolérante aux changements structuraux. Cependant, la plupart de ces mutations, bien qu'elles soient dispersées, se retrouvent dans trois « hot spot » régions, allant des acides aminés 105 à 165, 266 à 287 et 405 à 488.³² Mais il est clair que la participation de chaque mutation à la résistance aux azolés est difficile à établir car ces mutations ont souvent lieu en combinaisons (de 2 à 4 mutations simultanées).

Pour les champignons pathogènes, une des méthodes pour contourner l'inhibition des azolés est d'augmenter le nombre de copies de la cible CYP51 par surexpression du gène correspondant *ERG11*.³³ L'azolé ne peut alors inhiber toutes les copies et les concentrations thérapeutiques usuelles ne peuvent bloquer la synthèse de l'ergostérol. La surexpression du gène *ERG11* peut être étudiée par amplification du gène, augmentation du taux de

³⁰ Morschhäuser J., *Fungal Genet. Biol.*, **2010**, 47 (2), 94-106.

³¹ Morio F. et al., *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2010**, 66 (4), 373-384.

³² Marichal P. et al., *Microbiology*, **1999**, 145 (10), 2701-2713.

³³ Lopez-Ribot J.L. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1998**, 42 (11), 2932-2937.

transcription ou par dégradation des produits du gène. Cependant ce mécanisme participe peu à la résistance chez *Candida* car seulement des concentrations modestes en enzymes ont été décrites.³⁴

5.1.3- La résistance chez *Aspergillus*

Plusieurs études indiquent que l'apparition de résistance aux azolés chez des espèces d'*Aspergillus* est peu commune.³⁵ Cependant, il s'agit d'un phénomène qui prend de l'ampleur. L'itraconazole, prescrit depuis plus de 15 ans pour le traitement des aspergilloses invasives, est actuellement la principale source de résistances acquises. La prévalence de cette résistance n'est pas précisément connue, mais il semble que ce soit un phénomène assez rare avant 2000, aux alentours de 1 ou 2%, actuellement en augmentation, avec pour conséquence un échec thérapeutique.³⁶ Récemment, des isolats cliniques d'*Aspergillus fumigatus* résistants à plusieurs triazolés (itraconazole, voriconazole, posaconazole) ont été décrits.^{37,38}

Le principal mécanisme de résistance chez *Aspergillus fumigatus* implique des modifications de la cible des azolés par mutation ponctuelle.³⁹ Chez *Aspergillus fumigatus*, la 14 α -déméthylase est codée par deux gènes : *CYP51A* et *CYP51B*.⁴⁰ Des isolats cliniques présentant des mutations ponctuelles sur le gène *CYP51A* ont été isolés. Ces mutations confèrent des profils de susceptibilité différents aux triazolés. Par exemple, une mutation de la glycine 54 entraîne une résistance à l'itraconazole et au posaconazole et non au voriconazole.^{41,42} Le changement de cet acide aminé perturberait les interactions effectuées par les longues chaînes latérales du posaconazole et de l'itraconazole.

Par contre, la mutation de la méthionine 220 est caractérisée par de fortes CMI pour l'itraconazole, le voriconazole et le posaconazole.⁴³ De même, la mutation de la leucine 98 récemment décrite mène à une résistance croisée à tous les azolés. A noter que cette mutation est toujours combinée à une surexpression du gène *CYP51A* (provoquée par des mutations dans la région promotrice).^{44,45} Les autres mutations ponctuelles décrites concernent la glycine 138 et la glycine 448. Elles sont associées à une résistance croisée au voriconazole et au ravuconazole, avec une diminution plus faible de la sensibilité à l'itraconazole et au posaconazole.⁴⁶ Ces différentes mutations sont résumées sur la **figure 11**.³⁶

³⁴ Kanafani Z.A. *et al.*, *Clin. Infect. Dis.*, **2008**, 46 (1), 120-128.

³⁵ Pfaller M.A. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, **2008**, 46 (8), 2568-2572.

³⁶ Alanio A. *et al.*, *Antibiotiques*, **2010**, 12 (2), 114-119.

³⁷ Howard S.J. *et al.*, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2006**, 28 (5), 450-453.

³⁸ Snelders E. *et al.*, *PLoS Med.*, **2008**, 5 (11), 1629-1637.

³⁹ Verweij P.E. *et al.*, *Lancet Infect. Dis.*, **2009**, 9 (12), 789-795.

⁴⁰ Mellado E. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, **2001**, 39 (7), 2431-2438.

⁴¹ Diaz-Guerra T.M. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, 47 (3), 1120-1124.

⁴² Mann P.A. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, 47 (2), 577-581.

⁴³ Garcia-Effron G. *et al.*, *J. Clin. Microbiol.*, **2008**, 46 (4), 1200-1206.

⁴⁴ Mellado E. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2007**, 51 (6), 1897-1904.

⁴⁵ Rodriguez-Tudela J.L. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2008**, 52 (7), 2468-2472.

⁴⁶ Howard S. *et al.*, *Emerg. Infect. Dis.*, **2009**, 15 (7), 1068-1076.

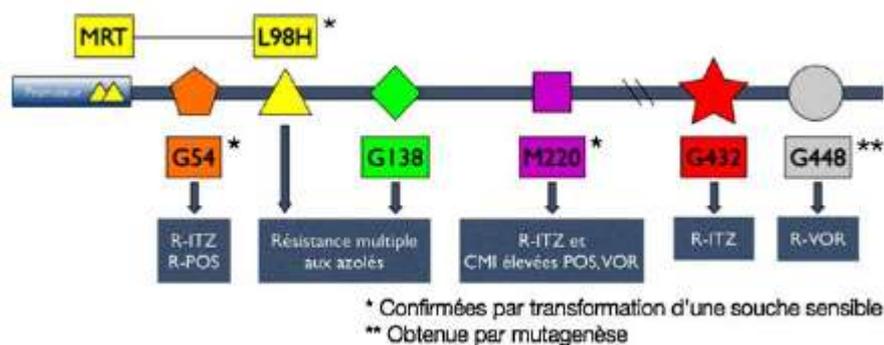


Figure 11 : Mutations du gène *CYP51A* décrites chez *Aspergillus fumigatus*

Etonnamment, la mutation L98H et la surexpression de *CYP51A* ont été retrouvés chez des isolats d'origine environnementale. Snelders *et al.* pensent que la résistance aux azolés ne se développe pas lors du traitement d'un patient mais dans l'environnement non médical. Les azolés fongicides utilisés pour le traitement et la protection des plantes en seraient à l'origine.³⁸ En effet, des isolats d'*Aspergillus fumigatus* résistants aux azolés utilisés en thérapeutique ont été retrouvés dans certains sols et compost.⁴⁷

Un autre mécanisme de résistance possible chez *Aspergillus fumigatus* est l'augmentation de l'efflux. Chez *Aspergillus fumigatus*, il existe 49 transporteurs ABC et 278 transporteurs MFS. La diminution de la concentration intracellulaire en itraconazole due à une augmentation de l'efflux a été décrite pour plusieurs isolats d'*Aspergillus fumigatus* résistants.^{37,48} Cependant, la compréhension exacte du rôle des transporteurs chez *Aspergillus* demandent des études supplémentaires. En effet, des recherches récentes ont démontré qu'en dépit du grand nombre de gènes codant pour les pompes d'efflux, il y aurait un manque de spécificité dans leur fonction. De plus, il a été montré que la surexpression des gènes codant pour les transporteurs coexiste avec des mutations sur le gène codant pour la 14 α -déméthylase.⁴⁹

5.2- Les allylamines

D'autres familles de composés inhibent la biosynthèse de l'ergostérol membranaire, il s'agit des allylamines. Les deux représentants majeurs de cette famille sont la **naftifine** et la **terbinafine** (figure 12).

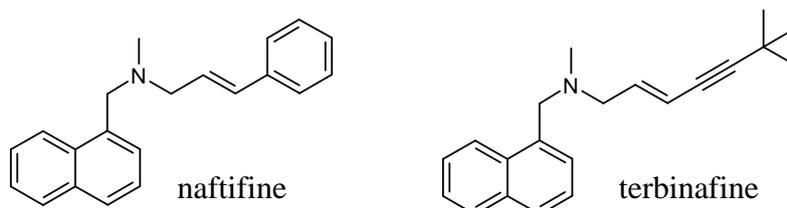


Figure 12 : Structures de la terbinafine (LAMISIL[®]) et de la naftifine

⁴⁷ Snelders E. *et al.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **2009**, 75 (12), 4053-4057.

⁴⁸ Manavathu E.K. *et al.*, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **1999**, 12 (3), 213-219.

⁴⁹ da Silva Ferreira M.E. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, 48 (11), 4405-4413.

La Naftifine a été développée comme agent topique.⁵⁰ Son potentiel antifongique et son succès ont conduit à de nouvelles recherches pour trouver de nouveaux agents à usage systémique. Mais seule la terbinafine (Novartis) a émergé avec une combinaison d'efficacité et de sécurité nécessaire à un candidat médicament.⁵¹ Elle possède une action fongistatique en inhibant la synthèse de l'ergostérol au stade de l'époxydation du squalène par la squalène époxydase. Contrairement aux dérivés azolés, la terbinafine n'interfère pas avec les systèmes enzymatiques cytochrome P450 3A-dépendants. Elle possède une activité *in vitro* sur une grande variété de champignons : dermatophytes, champignons filamenteux (*Aspergillus*), champignons dimorphiques (*Blastomyces dermatitidis*, *Histoplasma capsulatum*) et les levures (*Candida*, *Cryptococcus*). Toutefois, ce sont les dermatophytes qui ont la plus grande sensibilité au médicament.⁵² De nombreux laboratoires ont essayé de développer de nouvelles allylamines mais sans succès depuis plus de 20 ans.

6 – Les inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire

Les échinocandines sont constituées d'un cœur hexapeptidique cyclique lié à une chaîne latérale lipidique variable. Elles inhibent la synthèse du bêta (1,3)-D-glucane, constituant essentiel de la membrane cellulaire de la plupart des champignons (**figure 13**). La déplétion en glucane de la paroi cellulaire et l'instabilité osmotique entraînent finalement la lyse de la cellule fongique.⁵³

L'un des principaux avantages de cette classe est leur très bonne activité *in vitro*, *in vivo* chez l'animal et en clinique, sur *Candida*, *Aspergillus*, et plus particulièrement sur les souches résistantes aux azolés et aux polyènes. Les échinocandines sont fongicides *in vitro* et *in vivo* sur *Candida* et fongistatiques sur *Aspergillus*. Bien qu'elles soient fongistatiques sur *Aspergillus*, elles induisent un changement morphologique chez le champignon et diminuent le risque d'aspergillose invasive.¹¹

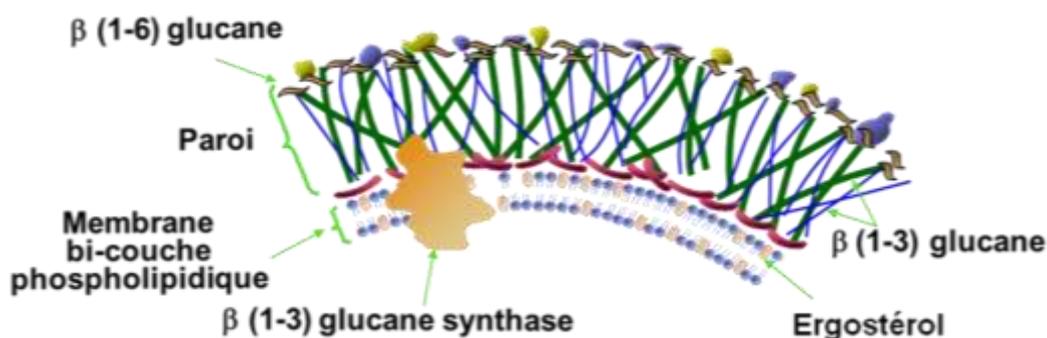


Figure 13 : Structure de la membrane cellulaire du champignon

⁵⁰ Georgopoulos A. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1981**, 19 (3), 386-389.

⁵¹ Petranyi G. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1987**, 31 (9), 1365-1368.

⁵² Ryder N. *et al.*, *Rev. Contemp. Pharmacother.*, **1997**, 8, 275-288.

⁵³ Denning D.W., *Lancet*, **2003**, 362 (9390), 1142-1151.

Introduction

Les échinocandines possèdent un excellent profil de tolérance et relativement peu d'interactions médicamenteuses par rapport aux azolés, ce qui en fait une alternative intéressante. Cependant, leur administration exclusivement intraveineuse et leur coût élevé, limitent leur utilisation à des infections non traitables par voie orale ou réfractaires aux traitements classiques.

La première échinocandine isolée est l'échinocandine B en 1974 d'une culture d'*Aspergillus nidulans*. Cette molécule fut ensuite chimiquement modifiée car très hémolytique, pour donner la cilofungine développée dans les années 1980. Celle-ci a été utilisée pour traiter un faible nombre de patients mais de nombreux effets toxiques interrompirent son développement.⁵⁴

La première échinocandine ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché en 2001 est la **caspofungine** découverte par les Laboratoires Merck (**figure 14**).

Le spectre d'activité de la caspofungine se limite aux espèces de *Candida*, de *Saccharomyces* et d'*Aspergillus*. Elle est indiquée pour le traitement empirique des infections fongiques chez les patients neutropéniques, contre les candidémies de l'œsophage, et contre les aspergilloses invasives non sensibles aux traitements habituels. Elle est aussi utilisée pour le traitement des candidémies et contre quelques infections à *Candida* spécifiques (abcès intra-abdominal, péritonite ou infection de la plèvre).⁵⁵

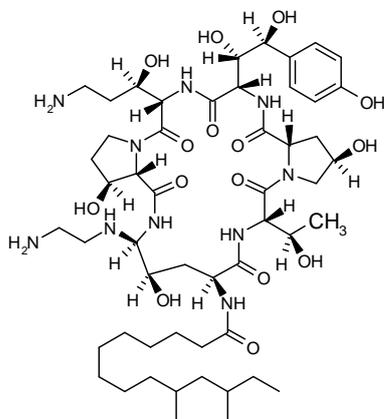


Figure 14 : Structure de la caspofungine (CANCIDAS®)

La **micafungine** est un dérivé semi-synthétique d'un composé naturel isolé de *Coleophoma empedri* (**figure 15**). Elle est développée par Astellas Pharma et a obtenu son autorisation de mise sur le marché en 2005 pour les Etats-Unis et en 2008 pour l'Europe.

⁵⁴ Lacroix C. *et al.*, *Médecine et Maladies Infectieuses*, **2003**, 33 (4), 183-191.

⁵⁵ Das S. *et al.*, *Indian Pediatr.*, **2009**, 46, 225-231.

Introduction

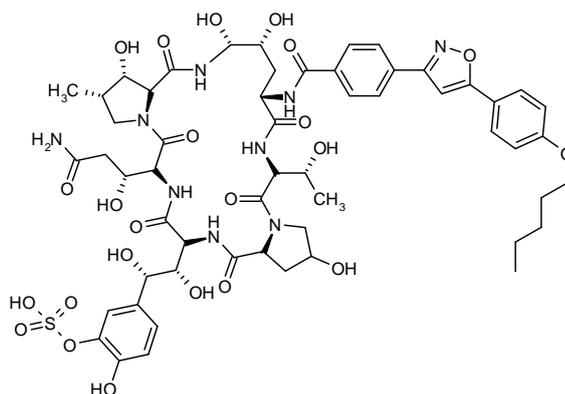


Figure 15 : Structure de la micafungine (MYCAMINE®)

Cette molécule est fongicide sur les espèces de *Candida*, fongistatique sur les espèces d'*Aspergillus* et ne démontre aucune activité sur les zygomycètes et sur *Cryptococcus*. Elle est efficace dans le traitement des candidoses disséminées, des infections œsophagiennes et depuis peu à titre prophylactique pour les infections à *Candida* pour les greffés de cellules souches hématopoïétiques.⁵⁵ Elle fait l'objet de plusieurs études ouvertes dans le traitement des aspergilloses et candidoses invasives.⁵⁶

L'**anidulafungine** est une échinocandine semi-synthétique, synthétisée à partir d'un produit de fermentation d'*Aspergillus nidulans* (**figure 16**). Elle est développée par les Laboratoires Pfizer et a obtenu son autorisation de mise sur le marché en 2006 pour les Etats-Unis (ERAXIX®) et en 2007 pour l'Europe (ECALTA®).

L'anidulafungine est très active *in vitro* sur de nombreuses espèces de *Candida*, notamment celles résistantes aux azolés (*Candida krusei*), à l'amphotéricine B (*Candida lusitanae*) ou aux autres échinocandines (*Candida parapsilosis*), ainsi que sur différentes espèces d'*Aspergillus*. Cette molécule est utilisée pour le traitement des candidoses œsophagiques mais sa principale utilisation sera pour les candidoses et aspergilloses invasives chez l'adulte non neutropénique.⁵⁷

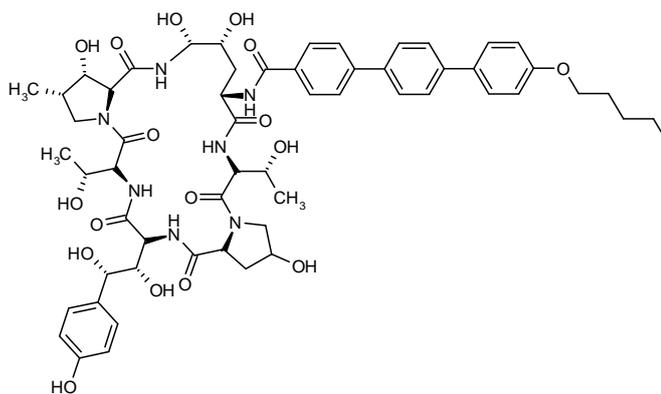


Figure 16 : Structure de l'anidulafungine

⁵⁶ Bormann A. *et al.*, *Drug. Des. Devel. Ther.*, **2009**, 3, 295-302.

⁵⁷ Lanternier F. *et al.*, *Médecine et Maladies Infectieuses*, **2010**, 40 (8), 440-448.

Introduction

Parmi les échinocandines, une nouvelle molécule est en cours de développement : l'**aminocandine** (HMR-3270) (**figure 17**). Elle est développée par Novexel (Astra Zeneca) et fait actuellement l'objet d'études précliniques.

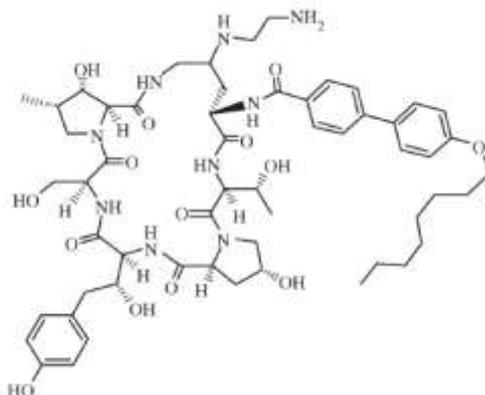


Figure 17 : Structure de l'aminocandine

L'aminocandine est un produit semi-synthétique de la fermentation *d'Aspergillus sydowi*. Sa structure chimique présente quelques similitudes avec les autres échinocandines. Cette molécule présente une très bonne activité contre différentes espèces de *Candida* et *d'Aspergillus*, y compris les isolats résistants aux azolés et à l'amphotéricine B.

Un avantage potentiel est sa longue demi-vie, permettant un espacement des doses, élément à considérer pour des molécules disponibles uniquement par voie parentérale.⁵⁸

Les échinocandines présentent une résistance primaire sur les espèces de *Cryptococcus*, *Scedosporium*, *Fusarium* et sur les zygomycètes. Les isolats de *Candida parapsilosis* et *Candida guilliermondii* présentent des CMI plus hautes que les autres espèces de *Candida*. Les données cliniques disponibles indiquent que toutes les espèces de *Candida* répondent de façon similaire au traitement des échinocandines (caspofungine, micafungine et anidulafungine). Or l'infection à *Candida parapsilosis* persiste lors d'un traitement à la caspofungine.⁵⁹

Ces molécules étant disponibles seulement depuis quelques années, peu de données sur les phénomènes de résistance sont disponibles. Cependant, de récentes publications rapportent l'émergence de résistance lors du traitement d'infection œsophagique à *Candida albicans*,^{60,61} lors de candidémies⁶² ou lors d'endocardite.⁶³ Des cas de résistance existent aussi lors d'aspergillose invasive de patients greffés de cellules souches hématopoïétiques.⁶⁴ Un cas de résistance à la caspofungine chez *Aspergillus flavus* est mentionné pour un patient greffé du cœur.⁶⁵ Si les aspects *in vitro* de la résistance à la caspofungine commencent à être

⁵⁸ Bretagne S., *Antibiotiques*, **2009**, 11 (3), 133-141.

⁵⁹ Mora-Duarte J. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, **2002**, 347 (25), 2020-2029.

⁶⁰ Laverdiere M. *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2006**, 57 (4), 705-708.

⁶¹ Baixench M.-T. *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2007**, 59 (6), 1076-1083.

⁶² Krogh-Madsen M. *et al.*, *Clin. Infect. Dis.*, **2006**, 42 (7), 938-944.

⁶³ Moudgal V. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2005**, 49 (2), 767-769.

⁶⁴ Madureira A. *et al.*, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2007**, 30 (6), 551-554.

⁶⁵ Eschertzhuber S. *et al.*, *Transpl. Infect. Dis.*, **2008**, 10 (3), 190-192.

élucidés, on ne sait pas encore quelle sera la fréquence de résistance en clinique, ni quels seront les mécanismes privilégiés.

III – Priorités pour le développement de nouveaux antifongiques

Actuellement, l'arsenal thérapeutique est en plein essor. En effet, ces dernières années ont vu l'apparition de nouvelles molécules plus efficaces et de plus large spectre dans des classes d'antifongiques connues (triazolés), le développement de nouvelles galéniques pour des médicaments anciens (formes lipidiques de l'amphotéricine B) et l'apparition d'une nouvelle classe d'antifongiques (échinocandines). Cependant, malgré ces nouvelles solutions, le taux d'échec des traitements antifongiques reste élevé. En effet, le taux de mortalité des infections fongiques invasives reste très important, particulièrement pour les infections causées par les champignons filamenteux (*Aspergillus*). Parmi les explications possibles, on peut citer l'implication de nouvelles espèces fongiques chez les patients immunodéprimés et l'apparition de résistances des champignons sous traitements antifongiques. D'autres causes d'échecs sont à rechercher du côté de la pharmacologie avec des problèmes de biodisponibilité, de toxicité, d'absence de forme orale pour des traitements au long cours et des interactions médicamenteuses.⁵⁸

Il est donc clair qu'il existe un réel besoin de nouvelles molécules antifongiques pour un usage clinique. Récemment, D.W. Denning et W.W. Hope décrivent les priorités pour le développement de nouveaux antifongiques.¹¹ Ainsi, ces agents doivent être :

- actifs sur les espèces communes de *Candida* (y compris les souches résistantes aux triazolés) et administrables par voie orale.

- actifs sur les espèces d'*Aspergillus* (y compris les souches résistantes aux triazolés) et administrables par voie orale et parentérale. Idéalement, ces composés doivent avoir peu d'interactions médicamenteuses et permettre le traitement des patients avec des dysfonctionnements rénaux et hépatiques.

- actifs sur *Cryptococcus neoformans* et administrables par voie orale ou parentérale.

- actifs sur des espèces rares mais importantes médicalement (par exemple *Mucor*, *Scedosporium* ou *Fusarium*).

D'après les auteurs, les nouveaux antifongiques ne doivent pas avoir nécessairement un spectre large, mais d'excellentes activités sur *Candida* et *Aspergillus* pour un retour économique significatif.

Toutes ces observations laissent à penser que la recherche de nouvelles molécules azolés pour le traitement des infections fongiques invasives est toujours d'actualité.

De plus, en 2008, B.C. Monk et A. Goffeau proposent de combattre la résistance et les différents mécanismes mis en jeu par la synthèse de nouveaux azolés multifonctionnels.⁴ Ces molécules seraient capables d'inhiber la synthèse de l'ergostérol mais aussi les pompes d'efflux et les facteurs de transcription induisant l'expression de ces dernières. Le principe d'action de ces nouveaux composés est présenté sur la **figure 18**.

Introduction

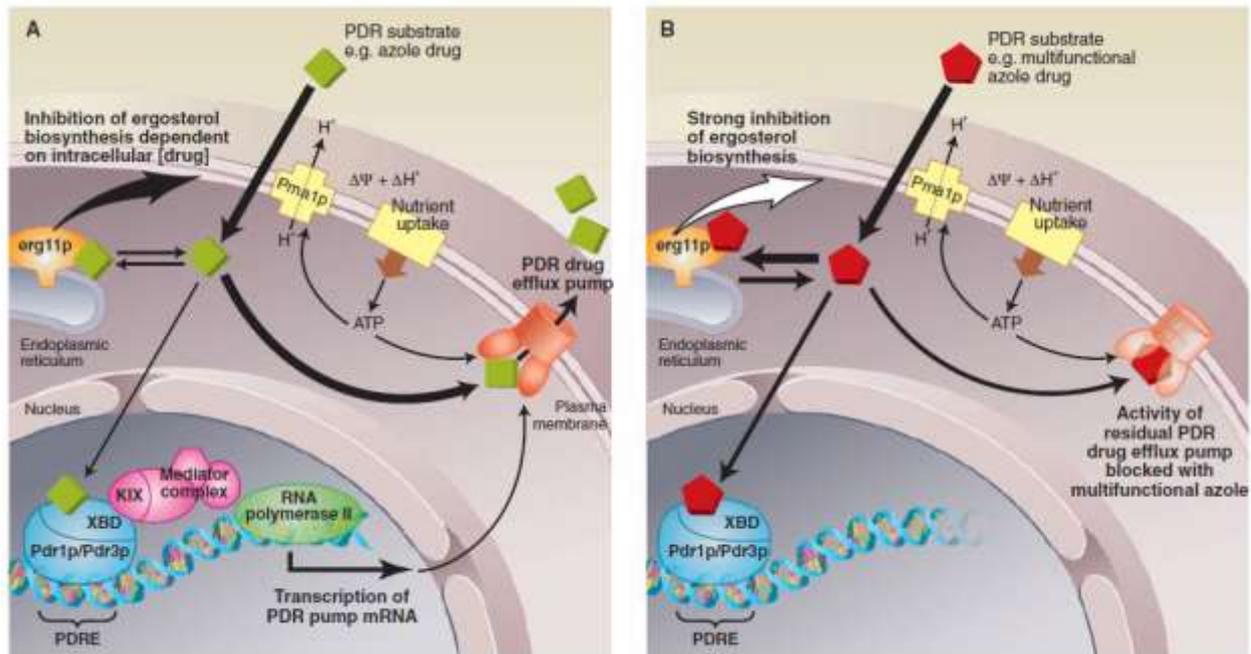


Figure 18 : Développement d'azolés multifonctionnels

Dans les cellules résistantes aux azolés, il existe un fort degré de transcription des gènes codant pour les pompes d'efflux. Ce phénomène implique le recrutement de l'ARN polymérase II, qui dépend de l'interaction entre l'azolé et les facteurs de transcription. Cette activation fait intervenir le domaine XBD (xenobiotic binding domain). Les pompes d'efflux réduisent alors la concentration intracellulaire de la molécule active, diminuant ainsi l'inhibition de la cible (**figure A**). Dans le nouveau modèle, l'azolé multifonctionnel serait capable de se lier au XBD et bloquer ainsi l'expression des gènes des pompes d'efflux. De plus, il pourrait aussi inhiber directement les pompes d'efflux par occupation d'un site de fixation. La concentration intracellulaire serait alors suffisante pour bloquer la synthèse de l'ergostérol (**figure B**).

L'inhibition de la synthèse d'ergostérol resterait donc la première cible de ces nouvelles molécules. Cependant, l'introduction de nouveaux substituants pourrait permettre l'inhibition du domaine XBD et le blocage des pompes d'efflux. Les auteurs suggèrent donc le développement de nouvelles structures par modification du scaffold des azolés. En minimisant l'activité des pompes d'efflux, ces composés transformeraient les azolés fongistatiques en puissants fongicides.

IV – Développement et relations structure-activité des azolés

La recherche antimycosique chez Janssen Pharmaceutica a débuté en 1962.⁶⁶ De nombreuses structures ont été étudiées, mais il est apparu rapidement, après établissement d'une stratégie de screening *in vitro* et *in vivo*, que le noyau imidazole offrait de larges possibilités. Ces études ont conduit au développement du **miconazole** (DAKTARIN[®]) en 1969 (**figure 19**).

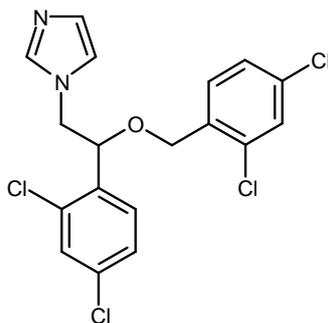


Figure 19 : Structure du miconazole

Le miconazole est un antifongique à large spectre, actif sur les dermatophytes, les levures et les moisissures. *In vivo*, il était actif en application topique dans toutes les mycoses superficielles. Cette molécule a pu être utilisée avec succès dans les mycoses profondes en administration parentérale. Le miconazole est une molécule très lipophile avec une mauvaise absorption au niveau de l'intestin et une métabolisation rapide dans le foie. Une administration autre que par voie intraveineuse est donc inappropriée pour le traitement des infections fongiques invasives. En effet, administré par voie orale, ce composé était aussi actif sur des lésions situées à distance causées par des champignons divers, mais la dose était trop élevée pour être commode et exemptes d'effets secondaires.⁶⁷

Les recherches entreprises par Janssen menèrent à la découverte du **kétoconazole** en 1981 (**figure 20**). Les scientifiques remarquèrent que les imidazolés contenant un noyau dioxolane possédaient une activité antifongique *in vitro*. Par analogie avec le miconazole, le potentiel fut augmenté par introduction d'une chaîne latérale alkylaryle. Finalement, la partie alkyle fut modifiée par mise en place d'un éther aromatique.⁶⁸

⁶⁶ Van Cutsem J. *et al.*, *Médecine et Maladies Infectieuses*, **1984**, 14 (11), 510-517.

⁶⁷ Sneader W., *Drug Discovery : A History*, Ed. Wiley and Sons, **2005**, 472 pages.

⁶⁸ *Comprehensive Medicinal Chemistry II Volume 7 : Therapeutic Areas II: Cancer, Infectious Diseases, Inflammation & Immunology and Dermatology*, Ed. Elsevier Science, **2006**, 1060 pages.

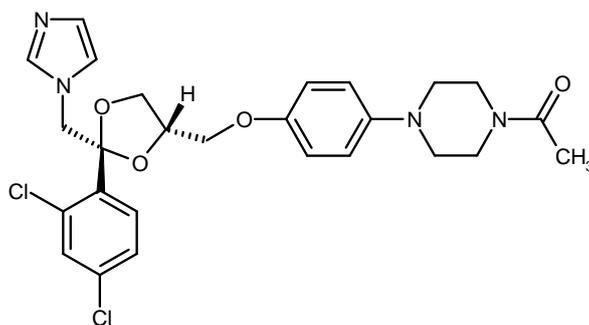


Figure 20 : Structure du kétoconazole (NIZORAL[®])

La forme active du kétoconazole correspond à l'isomère (2*S*, 4*R*). Son spectre d'action recouvre les dermatophytes, les levures (*Candida*, *Cryptococcus*) et les champignons dimorphiques (*Histoplasma*, *Paracoccidioïdes*, *Blastomyces*) mais il n'agit pas sur *Aspergillus*. Cette activité antifongique varie en fonction de la concentration : elle est fongistatique à faibles doses (10^{-9} M) et fongicide à fortes doses (10^{-5} et 10^{-4} M).

Il s'agit du premier imidazolé à large spectre administrable par voie orale. Il est fortement métabolisé par le foie et excrété sous une forme inactive dans la bile, avec une très faible quantité de produit retrouvée sous forme inchangée dans les urines. Son taux de fixation aux protéines plasmatiques est supérieur à 90%. Le kétoconazole inhibe aussi la synthèse des stéroïdes humains par action sur d'autres systèmes enzymatiques à cytochrome P450 (CYP17, CYP19, CYP26) et plusieurs effets secondaires ont été constatés : hépatotoxicité, nausées, vomissements.⁶⁹

Les problèmes de toxicité rencontrés lors de thérapie au kétoconazole ont conduit à la recherche d'un second groupe de dérivés azolés, les triazolés. Ainsi, les chercheurs de Janssen ont remplacé le cycle imidazole du kétoconazole par un triazole, moins sensible aux attaques nucléophiles. Les composés obtenus présentent alors une meilleure stabilité métabolique. Le **terconazole** est le premier triazolé commercialisé, utilisé notamment pour le traitement topique des candidoses vaginales (**figure 21**). Cependant, il causait des problèmes de photosensibilité chez certains patients.⁶⁷

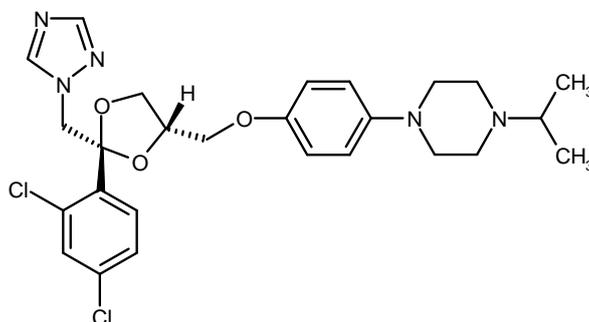


Figure 21 : Structure du terconazole

⁶⁹ Stevens D.A., *Infect. Dis. Clin. Pract.*, **2004**, 12 (2), 81-92.

Introduction

Des études supplémentaires sur les substituants du noyau pipérazine du terconazole conduirent à la découverte d'une série de triazolones à large spectre *in vitro* et *in vivo*. Une *N*-alkylation de la triazolone se révéla essentiel pour une activité orale, et l'introduction d'une ramification entraîna une forte augmentation de l'activité systémique.⁶⁸ Ainsi en 1992, la FDA (Food and Drug Administration) approuve l'**itraconazole** (SPORANOX[®]), développé par Janssen-Cilag (**figure 22**).

Le composé actif est un mélange des quatre diastéréoisomères : (2*S*,4*R*,2'*R*)-ITC, (2*S*,4*R*,2'*S*)-ITC, (2*R*,4*S*,2'*R*)-ITC et (2*R*,4*S*,2'*S*)-ITC. Selon ses caractéristiques stéréochimiques le composé n'a pas le même métabolisme. Il n'y a pas de règle précise et le comportement de l'itraconazole dépend de la cible.⁷⁰

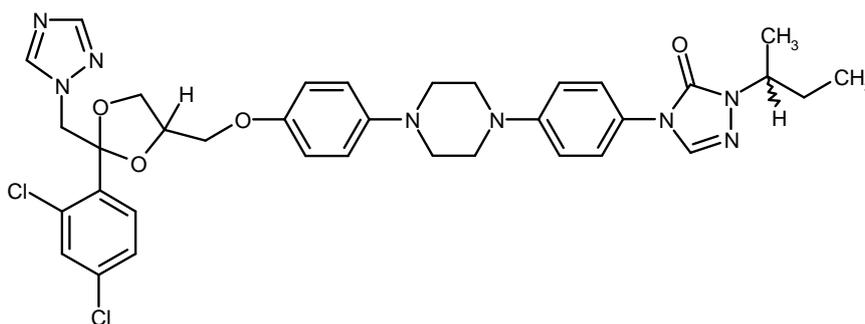


Figure 22 : Structure de l'itraconazole

L'itraconazole possède un large spectre et il est le premier azolé actif sur *Aspergillus*. Il s'agit d'une molécule hautement lipophile, avec un taux de fixation aux protéines plasmatiques très élevé, et avec une diffusion tissulaire importante. L'itraconazole est métabolisé principalement dans le foie pour produire plus de 30 métabolites. Le métabolite majoritaire, l'hydroxy-itraconazole (par oxydation du 1-méthylpropyle) présente des concentrations plasmatiques plus élevées et des activités *in vitro* similaires à l'itraconazole.⁷¹

Dans un premier temps, l'itraconazole a été introduit seulement sous forme de capsule. Cette formulation a été très utilisée pour le traitement des onychomycoses, des infections fongiques superficielles et invasives (candidoses et aspergilloses). L'efficacité prophylactique a été démontrée dans de nombreux cas, notamment pour des patients neutropéniques ou infectés par le VIH. Cependant, l'absorption peut être variable et un environnement gastrique acide et la présence de nourriture sont nécessaires pour une biodisponibilité optimale. De faibles concentrations sanguines (< 500 ng / mL) ont été associées à l'échec de traitements. Une nouvelle formulation orale, contenant l'excipient hydroxypropyl- β -cyclodextrine, a été développée (approuvée en 1997 par la FDA). Cet excipient, un oligosaccharide cyclique de molécules de glucose, est hydrophile à l'extérieur et hydrophobe à l'intérieur. Ainsi, la cavité hydrophobe accepte l'itraconazole lipophile, facilitant la solubilisation et la livraison du complexe. Lorsque les capsules et la formulation orale sont comparées, la biodisponibilité est environ 60% supérieure dans le cas de la formulation orale. Récemment une formulation intraveineuse a été développée. Elle permet pour des patients sévèrement atteints (stade

⁷⁰ Kunze K.L. *et al.*, *Drug Metab. Dispos.*, **2006**, 34 (4), 583-590.

⁷¹ Hostetler J.S. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1993**, 37 (10), 2224-2227.

Introduction

terminal du VIH ou en soins intensifs) d'atteindre des concentrations plasmatiques stables et hautes en 2-3 jours (1-2 semaines pour les capsules).⁷²

Les thérapies longues à l'itraconazole sont généralement bien tolérées, sans effets secondaires sérieux.⁶⁹

De leur côté, les Laboratoires Schering-Plough ont entrepris de nombreuses recherches afin de découvrir un agent antifongique administrable par voie orale avec des activités comparable au fluconazole sur *Candida*.⁷³ Cette molécule devait être également active sur des souches résistantes au fluconazole (*Candida glabrata* et *Candida krusei*) ainsi que sur *Aspergillus*. De plus, elle devait être supérieure à l'itraconazole, sans toxicité et sans actions sur les enzymes humaines à cytochromes P450.

D'après leurs observations, le cycle 1,3-dioxolane devait être remplacé car sujet à une instabilité sous conditions acides dans l'estomac. Ils synthétisèrent alors de nombreuses molécules en série racémique présentant un hétérocycle oxygéné à 4, 5 ou 6 chaînons et la chaîne latérale de l'itraconazole. La détermination des activités mena à la sélection du composé SCH 45012 (**figure 23**). Cette molécule possède trois centres de chiralité, avec les carbones C3 et C5 en configuration cis l'un de l'autre. Il s'agit donc d'un mélange de quatre stéréoisomères. La synthèse et l'évaluation pharmacologique de chacun de ces quatre isomères a permis d'éliminer les composés de configurations 5*S* inactifs. Les molécules de configuration 5*R* sont toutes les deux aussi actives, suggérant que la stéréochimie de la chaîne latérale n'a pas d'importance.

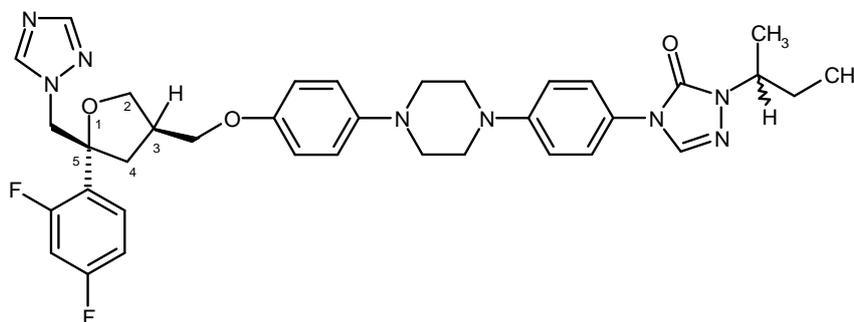


Figure 23 : Structure du SCH 45012

Afin de supprimer un centre de chiralité et de simplifier la synthèse, le composé SCH 51048 fut synthétisé (**figure 24**).

⁷² Maertens J., *Clin. Microbiol. Infect.*, **2004**, 10 (s1), 1-10.

⁷³ Comprehensive Medicinal Chemistry II Volume 8 : Case Histories, Ed. Elsevier Science, **2006**, 644 pages.

Introduction

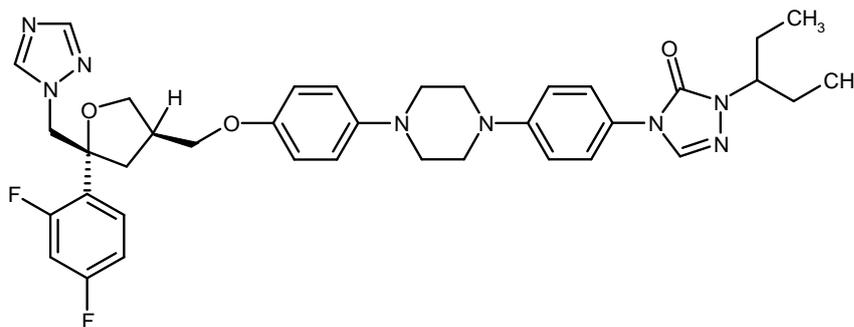


Figure 24: Structure du SCH 51048

Cette molécule s'est avérée plus active que les précédentes avec un spectre d'activité large. L'évaluation *in vivo* du SCH 51048 produit un métabolite hydroxylé actif. Des études ayant démontré que cette hydroxylation s'effectuait sur la chaîne latérale, tous les isomères possibles furent synthétisés. C'est ainsi que sur la base de son spectre d'activité et de ces propriétés pharmacocinétiques, le **posaconazole** a été sélectionné comme candidat clinique (figure 25).

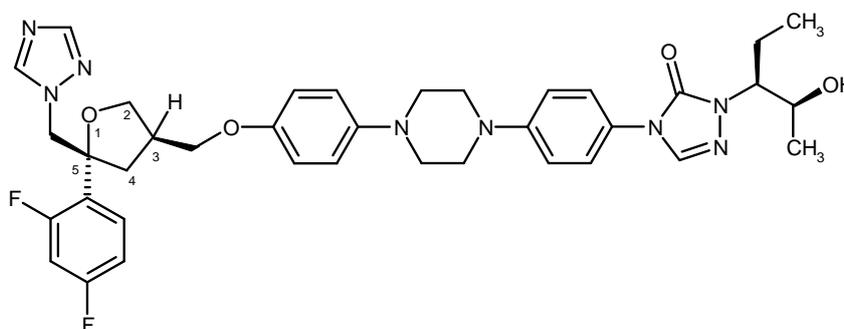


Figure 25: Structure du posaconazole

Le posaconazole (NOXAFIL[®]) est disponible en Europe depuis 2005 et aux Etats-Unis depuis 2006. Le posaconazole présente un spectre antifongique large et une activité *in vitro* voisine du voriconazole. Ainsi, il est actif sur *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Fusarium*, sur les champignons dimorphiques, les dermatophytes et les zygomycètes. Son activité est fongistatique sur *Candida* et fongicide sur *Aspergillus*.⁷⁴

Il est utilisé pour le traitement de seconde ligne (échec ou intolérance du traitement de référence) des candidoses oropharyngées (cas de résistance au fluconazole et / ou à l'itraconazole), des aspergilloses invasives (cas de résistance à l'amphotéricine B et / ou à l'itraconazole), des fusarioses (cas de résistance à l'amphotéricine B), des chromoblastomycoses (cas de résistance à l'itraconazole), des coccidioidomycoses (cas de résistance à l'amphotéricine B, à l'itraconazole ou au fluconazole). Il est aussi approuvé à titre prophylactique pour les aspergilloses invasives et les candidoses disséminées chez les patients sévèrement immunodéprimés.⁷⁵

Le posaconazole est administré par voie orale sous forme de capsule ou de suspension buvable. La biodisponibilité des formes orales est voisine de 85% quand le médicament est

⁷⁴ Morris M.I., *Am. J. Health. Syst. Pharm.*, **2009**, 66 (3), 225-236.

⁷⁵ Paugam A., *Médecine et Maladies Infectieuses*, **2007**, 37 (2), 71-76.

Introduction

administré au cours d'un repas, l'absorption étant augmentée si le repas est riche en graisses et si la dose journalière est fractionnée en au moins deux prises.⁷⁶ Actuellement, aucune formulation par voie intraveineuse n'est disponible, celle-ci étant indispensable pour les traitements d'urgence. A ce jour, les effets secondaires sont modestes. Des anomalies des enzymes hépatiques peuvent apparaître, comme pour les autres azolés, mais les interactions médicamenteuses sont moins nombreuses.⁷⁷

Parallèlement, en 1978, les Laboratoires Pfizer initient un programme de recherche d'un nouvel antifongique pour le traitement des infections fongiques systémiques. De nombreux composés ont été synthétisés et plusieurs imidazolés seront sélectionnés au stade de développement ou de commercialisation, comme par exemple le tioconazole. Ce composé était actif *in vitro*, mais *in vivo* il était actif uniquement en application topique. De plus, il ne présentait pas d'avantages sur le miconazole et sur le clotrimazole.⁶⁶

Par la suite, de nouveaux composés ont été synthétisés dans le but d'augmenter la biodisponibilité orale. Les alcools tertiaires se révélèrent les composés les plus polaires présentant une activité antifongique. Puis, l'imidazole fut remplacé par un triazole plus robuste, pour permettre une meilleure résistance au métabolisme. Enfin, le remplacement du cycle thiophène par un nouveau triazole permit d'augmenter la polarité de la molécule. Le chef de file initial UK-47265, démontra de bonnes activités sur plusieurs modèles d'infections superficielles et systémiques (**figure 26**).

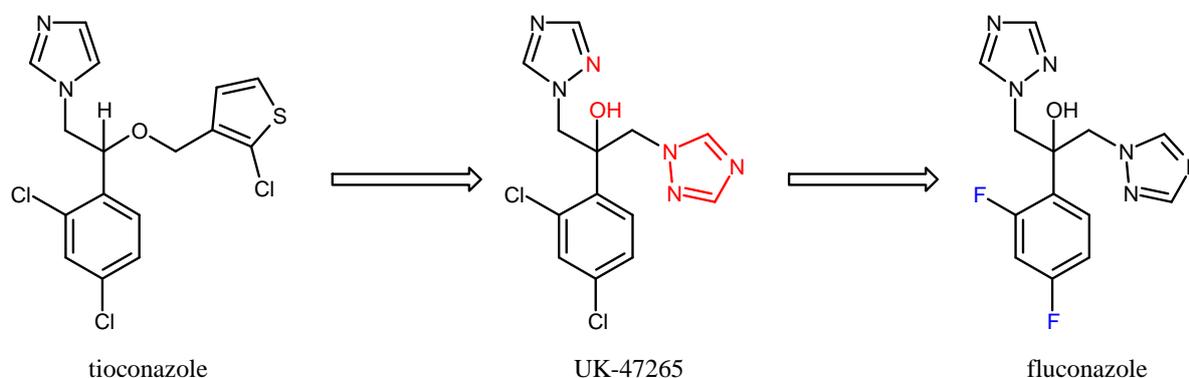


Figure 26 : Développement du fluconazole

Cependant, cette molécule était hépatotoxique et tératogène. De nombreux bis-triazoles furent alors synthétisés, certains présentant de très bonnes activités *in vivo*. Le fluconazole, l'analogue difluoré, fut retenu. Cette modification permit d'éviter les effets secondaires tout en gardant le même niveau d'activité que le composé UK-47265. De plus, il s'agit du seul composé soluble dans l'eau, permettant ainsi une administration par voie intraveineuse, indispensable pour une action immédiate en cas d'urgence. Son faible poids

⁷⁶ Wolff M. *et al.*, *Thérapie*, **2006**, 61 (3), 227-233.

⁷⁷ Kauffman C.A. *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2007**, 6 (3), 183-184.

Introduction

moléculaire et son taux de fixation aux protéines plasmatiques très faible (10%) permettent une pénétration de la barrière hémato-encéphalique et une diffusion dans le liquide céphalo-rachidien. Ce composé présente une faible toxicité et il est bien toléré même en cas de longue thérapie. Le fluconazole (TRIFLUCAN[®]) a été introduit sur le marché en 1990.

Le fluconazole est actif sur la plupart des espèces de *Cryptococcus* et de *Candida* à l'exception de *Candida krusei* et *Candida glabrata*. Par contre aucune activité n'est observée sur les espèces d'*Aspergillus*, de *Fusarium* ou sur les Zygomycètes. Il est utilisé pour le traitement des candidoses profondes : œsophagiennes, urinaires, systémiques. On le prescrit aussi lors des cryptococcoses neuroméningées, ainsi que pour la prévention des candidoses chez le patient neutropénique. Malgré son manque d'activité sur les espèces d'*Aspergillus* et sur certaines espèces de *Candida* le fluconazole est utilisé à titre prophylactique, notamment chez les malades à risque (individus immunodéprimés).⁶⁹

Les laboratoires Pfizer ont poursuivi leurs recherches dans le cadre d'un programme destiné à augmenter le potentiel et le spectre d'activité du fluconazole. Ils découvrirent que l'introduction d'un groupement méthyle adjacent à l'un des cycles triazoles du fluconazole permettait l'élargissement du spectre à *Aspergillus fumigatus*, tout en conservant l'activité sur les autres champignons. De plus, le remplacement d'un triazole par un hétérocycle à 6 chaînons donna des composés avec un large spectre d'activité *in vitro*, et fongicides sur les espèces d'*Aspergillus*.⁶⁸ Ainsi, en 2002, le **voriconazole** (VFEND[®]) est commercialisé (**figure 27**).

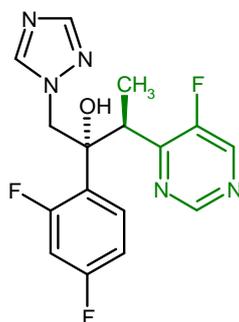


Figure 27 : Structure du voriconazole

Le composé actif correspond à l'isomère (2*R*, 3*S*). Le voriconazole est actif sur les espèces de *Candida*, d'*Aspergillus*, sur *Cryptococcus neoformans*, *Scedosporium apiospermum* et à un degré moindre sur les espèces de *Fusarium* et de *Penicillium*.⁷⁶

Le voriconazole est disponible en formulations intraveineuse et orale avec une excellente biodisponibilité (supérieure à 90%). Mais son usage clinique est compliqué du fait des nombreuses interactions médicamenteuses, de propriétés pharmacocinétiques variables et d'effets secondaires plus importants comparés au fluconazole (hépatotoxicité, neurotoxicité).¹²

Introduction

Trois nouvelles molécules sont actuellement en cours de développement. La première d'entre elles est le **ravuconazole** de Bristol-Myers Squibb (**figure 28**).

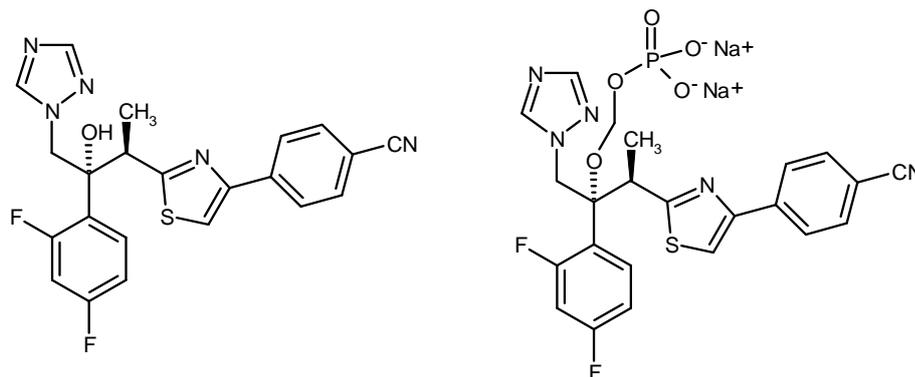


Figure 28 : Structure du ravuconazole et du BMS-379224

Sa structure chimique est proche de celle du voriconazole. La pyrimidine fluorée a été remplacée par une chaîne plus longue (un enchaînement 4-cyanophénylthiazole). Le composé actif correspond à l'isomère (2*R*, 3*R*). Le ravuconazole posséderait un large spectre d'action et de fortes activités *in vitro* sur des souches de *Candida*, d'*Aspergillus*, sur *Cryptococcus neoformans*, et sur d'autres levures résistantes au fluconazole. En revanche, il n'y aurait pas d'activité sur *Fusarium*, *Scedosporium prolificans* ou sur les zygomycètes.

Le ravuconazole est administrable par voie orale. Cependant sa faible solubilité aqueuse exclut le développement d'une administration intraveineuse. Ainsi, afin de remédier à ce problème, une prodrogue est actuellement en cours de développement. Il s'agit du BMS-379224, un éther phosphonoxyméthyle du ravuconazole.⁷⁸ Cette prodrogue est soluble dans l'eau et l'addition de cyclodextrine n'est donc pas nécessaire. Les études cliniques seraient actuellement bloquées en phase III.⁷⁹

Une autre molécule de structure proche du ravuconazole est en phase III d'essais cliniques. Il s'agit de l'**isavuconazole** développé par Basilea Pharmaceutica (**figure 29**).

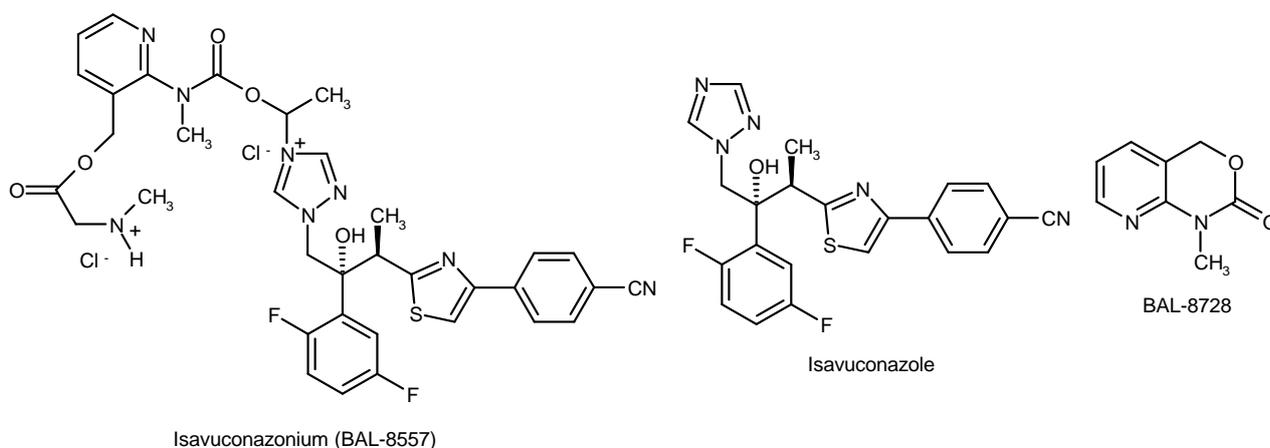


Figure 29 : Structures de la prodrogue BAL-8557, de l'isavuconazole et du produit de clivage BAL-8728

⁷⁸ Ueda Y. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, 13 (21), 3669-3672.

⁷⁹ Pasqualotto A.C. *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2008**, 61 (s1), i19-i30.

Introduction

L'isavuconazole présente de fortes activités sur de nombreuses espèces, incluant *Candida*, *Aspergillus* (notamment sur des souches résistantes à l'itraconazole, à la caspofungine ou à l'amphotéricine B), *Fusarium*, *Scedosporium*, *Cryptococcus* et sur les zygomyètes.⁸⁰

Ce triazole est disponible sous forme d'isavuconazonium (BAL-8557) une prodrogue soluble dans l'eau, permettant des formulations orales et intraveineuses. L'ajout d'agent solubilisant, comme par exemple la cyclodextrine pour le voriconazole, n'est donc pas nécessaire. L'isavuconazole est le produit de clivage par les estérases plasmatiques du BAL-8557. Après administration, orale ou intraveineuse, cette réaction enzymatique intervient rapidement pour libérer, outre l'isavuconazole, un produit de faible poids moléculaire, le BAL-8728, dont de faibles taux persistent dans le sérum.⁸¹

Le dernier azolé en cours de développement est l'**albaconazole (figure 30)**. Il a été découvert par les Laboratoires Uriach et fait actuellement l'objet d'études cliniques de phase III.

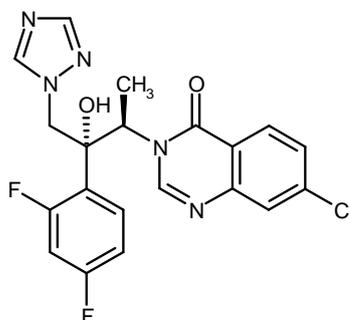


Figure 30 : Structure de l'albaconazole

Cette molécule se différencie par l'introduction d'une 7-chloroquinazolinone sur le pharmacophore. Le composé actif est de configuration (1*R*, 2*R*). Il possède un large spectre avec de très bonnes activités, de bonnes propriétés pharmacocinétiques et une bonne biodisponibilité par voie orale.⁵⁸ Cependant, l'albaconazole n'est pas administrable par voie intraveineuse et aucune formulation pour une telle administration n'est disponible à ce jour.

L'albaconazole a démontré des activités sur 77 champignons filamenteux avec notamment de puissantes activités sur différentes espèces d'*Aspergillus*.⁸² Ramos *et al.* ont comparé son activité avec le fluconazole et l'itraconazole sur 283 isolats de *Candida*, et l'albaconazole s'est révélé être la molécule la plus active.⁸³ Il est aussi très actif sur *Cryptococcus neoformans* mais présente une activité réduite sur les *Fusarium*.

Les triazolés sont les molécules antifongiques les plus étudiées pour le traitement des infections fongiques invasives. Cependant, seuls le voriconazole et le posaconazole ont été récemment introduits dans l'arsenal thérapeutique. En effet, le ravuconazole, l'isavuconazole et l'albaconazole présentent des spectres *in vitro* larges sur la plupart des espèces fongiques

⁸⁰ Thompson G. *et al.*, *Mycopathologia*, **2010**, *In press*.

⁸¹ Schmitt-Hoffmann A. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2006**, *50* (1), 279-285.

⁸² Capilla J. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2001**, *45* (9), 2635-2637.

⁸³ Ramos G. *et al.*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **1999**, *44* (2), 283-286.

Introduction

pathogènes, mais ces nouveaux azolés ont démontré des activités faibles ou limitées sur les espèces émergentes (*Fusarium*, *Scedosporium* ou sur les zygomycètes). Ainsi, le devenir de ces trois composés est pour l'instant incertain.⁸⁴

De plus, bien que tous ces azolés est un mécanisme d'action identique, ils diffèrent de part leurs structures chimiques, leurs propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, leurs profils d'interactions médicamenteuses et leurs effets secondaires. Les voies d'administration de ces molécules sont donc différentes, et l'utilisation de certains composés est limitée lorsque la voie intraveineuse est impossible (indispensable en cas d'urgence). C'est pourquoi la double voie d'administration est recherchée.⁸⁵ Enfin, les mécanismes de résistance étant de plus en plus connus, la recherche de nouveaux composés qui contourneraient au mieux ces phénomènes reste indispensable.

⁸⁴ Girmenia C., *Expert Opin. Invest. Drugs*, **2009**, 18 (9), 1279-1295.

⁸⁵ Pasqualotto A. *et al.*, *Curr. Opin. Investig. Drugs*, **2010**, 11 (2), 165-174.

OBJECTIFS DE RECHERCHE

I – CYP51 : une cible majeure de médicaments dans la superfamille du cytochrome P450

La superfamille du cytochrome P450 (CYP) incluait en août 2009 plus de 11000 protéines formant plus de 800 familles.⁸⁶ Ces enzymes catalysent une mono-oxygénation d'une large gamme de composés et jouent essentiellement deux rôles. Ils fournissent une bio-défense (détoxification des xénobiotiques, production d'antibiotiques) et participent à la biosynthèse de molécules endogènes importantes, en particulier les stéroïdes. Sur la base de ces deux rôles, les 14 α -déméthylases de stérols (CYP51s) appartiennent au second groupe de P450.⁸⁷

Cependant, la famille du CYP51 est très spéciale car ses membres préservent une conservation fonctionnelle stricte de l'activité enzymatique dans tous les règnes biologiques (animaux, végétaux, levures / champignons, protozoaires et bactéries), ce qui en fait le cytochrome le mieux conservé au cours de l'évolution et de loin le plus répandu de la superfamille du cytochrome P450 (**figure 31**).⁸⁸

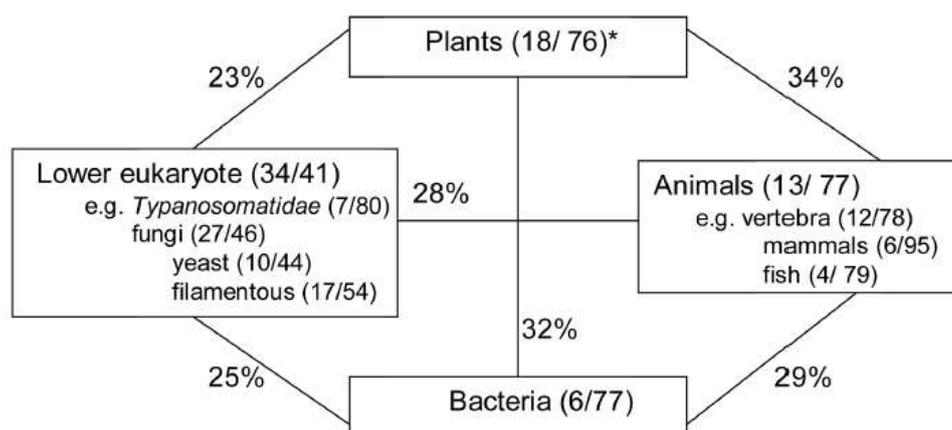


Figure 31 : Pourcentage d'identité des séquences primaires en acides aminés chez CYP51
*(nombre de séquences dans l'alignement / pourcentage d'identité)

Avec un faible pourcentage d'identité au niveau des séquences primaires en acides aminés à travers les règnes de l'ordre de 25-30%, les CYP51s catalysent néanmoins tous essentiellement la même réaction en trois étapes consistant en l'élimination oxydative du groupe 14 α -méthyle du type lanostane, produisant ainsi divers stérols tels que le cholestérol chez les animaux, l'ergostérol chez les champignons, ou le sitostérol chez les végétaux (**figure 32**).⁸⁹

⁸⁶ Site internet <http://drnelson.uthsc.edu/cytochromeP450.html>.

⁸⁷ Lepesheva G.I. *et al.*, *Lipids*, **2008**, 43 (12), 1117-1125.

⁸⁸ Lepesheva G.I. *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **2007**, 1770 (3), 467-477.

⁸⁹ Lepesheva G.I. *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **2010**, *In Press*, *Corrected Proof*

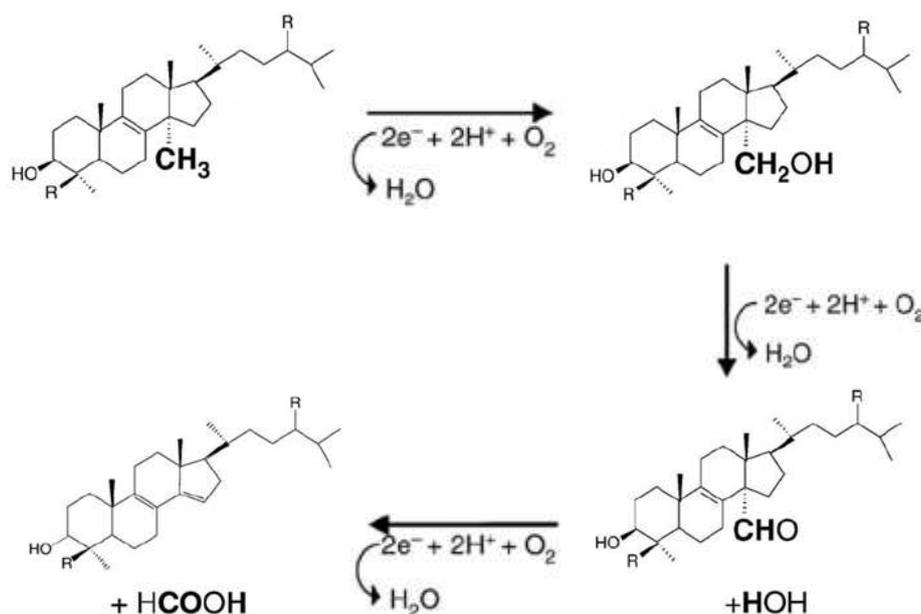


Figure 32 : Réaction de la 14 α -déméthylase

Enzyme clé dans la biosynthèse de stérols, CYP51 est de ce fait une cible thérapeutique majeure pour la recherche de nouveaux médicaments. Son inhibition est en effet mortelle pour les organismes unicellulaires, influence les processus de développement et de croissance chez les végétaux et diminue la production de cholestérol endogène chez les animaux.

II – Les outils informatiques

La connaissance structurale des divers CYP51s fongiques pourrait certainement accélérer la découverte de nouveaux agents antifongiques et permettre une meilleure compréhension du mode de fixation des petites molécules bioactives et des mécanismes de résistance mis en jeu. En l'absence de telles structures, plusieurs modèles de CYP51-*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* ou *Cryptococcus neoformans* ont été reportés dans la littérature^{90,91,92,93} par homologie comparative avec la structure 3D connue de CYP51-*Mycobacterium tuberculosis* en complexe avec le fluconazole.⁹⁴ Ce P450 bactérien soluble, premier représentant de la famille du CYP51, est en effet plus facilement cristallisable que les formes eucaryotes fongiques associées à la membrane du réticulum endoplasmique mais ne possède qu'entre 26 et 29% d'identité de séquence primaire en acides aminés avec les enzymes fongiques.

⁹⁰ Xiao L. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, 48 (2), 568-574.

⁹¹ Sheng C. *et al.*, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **2004**, 22 (1), 91-99.

⁹² Sheng C. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2009**, 53 (8), 3487-3495.

⁹³ Sheng C. *et al.*, *ChemMedChem*, **2010**, 5 (3), 390-397.

⁹⁴ Podust L.M. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2001**, 98 (6), 3068-3073.

Un modèle pharmacophorique, élaboré en 2006 afin de guider la conception rationnelle de nouveaux azolés vis-à-vis du CYP51-*Candida albicans* a ainsi souligné l'importance de certains résidus tels que les Tyr118 et Ser378 dans la stabilisation des inhibiteurs (**figure 33**).⁹⁵ La Tyr118 est un acide aminé hautement conservé dans la famille du CYP51 et permettrait des interactions de type π - π stacking, alors que la Ser378 n'est conservée que chez les CYP51s fongiques et pourrait former des interactions spécifiques par liaison-H. Le rôle de la Tyr118 a récemment été confirmé par des expériences de mutagenèse dirigée.^{96,97}

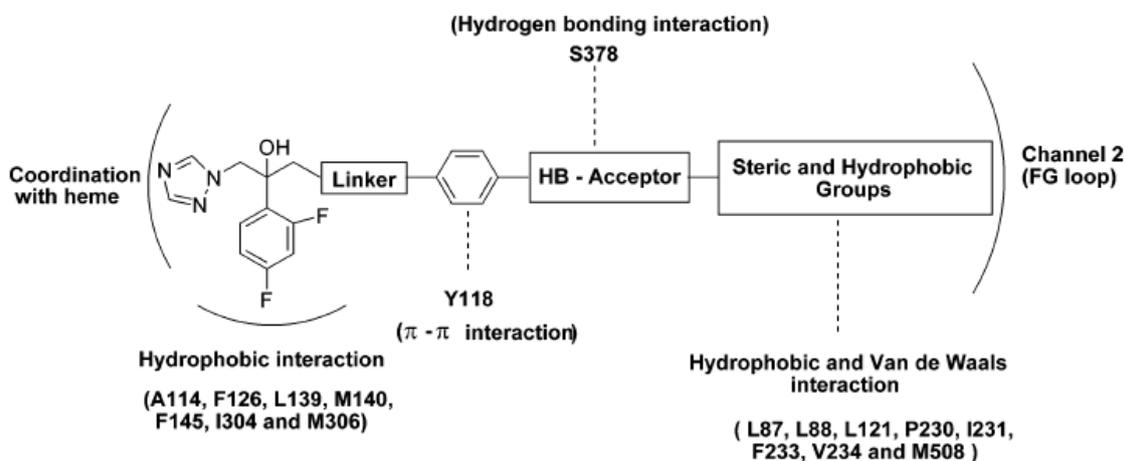


Figure 33 : Pharmacophore issu de l'étude réalisée par Sheng *et al.*

Par ailleurs, les modèles CYP51-*Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* élaborés par Xiao *et al.*, permettent de proposer un mode de fixation pour les azolés à longue chaîne latérale. Plus précisément, l'itraconazole et le posaconazole semblent être moins affectés par des mutations à proximité de l'hème que le fluconazole ou le voriconazole. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une affinité renforcée et / ou des ajustements compensatoires dans le site actif.⁹⁰

III – Travaux antérieurs réalisés au laboratoire

A partir de ces observations, de notre propre expérience dans le domaine des azolés^{98,99} et de l'exploitation de notre modèle CYP51-*Candida albicans*,¹⁰⁰ plusieurs séries chimiques de type 1-[(hétéroaryl- ou pipéridin-4-ylméthyl)amino]-2-phényl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols ont été synthétisées dans le but de préciser les relations structure-activité (**figure 34**).

⁹⁵ Sheng C. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2006**, 49 (8), 2512-2525.

⁹⁶ Chen S.-H. *et al.*, *Biol. Pharm. Bull.*, **2007**, 30 (7), 1246-1253.

⁹⁷ Sheng C. *et al.*, *J. Mol. Model.*, **2010**, 16 (2), 279-284.

⁹⁸ Le Borgne M. *et al.*, Brevet US 2004067998 A1, publié le **8 avril 2004**.

⁹⁹ Lebouvier N. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17 (13), 3686-3689.

¹⁰⁰ Giraud F., *Thèse de doctorat*, soutenue le **9 octobre 2007**, Université de Nantes.

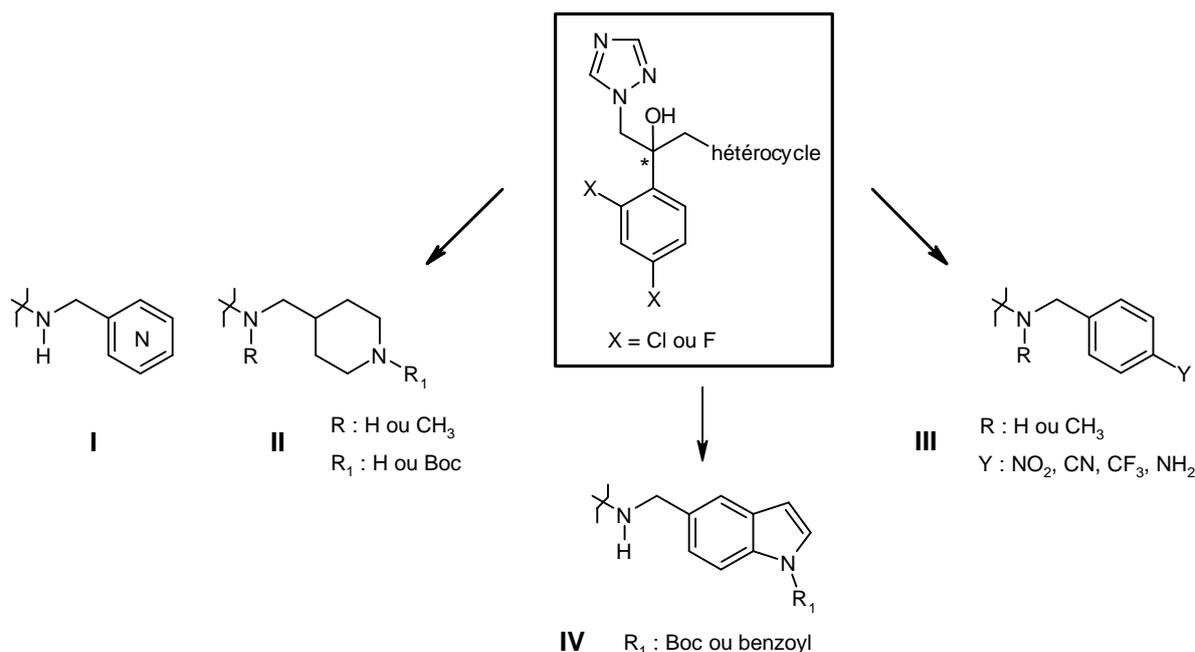


Figure 34 : Séries chimiques synthétisées au laboratoire

Ces composés testés sur des souches *Candida albicans* CA98001 (sensible au fluconazole) et *Aspergillus fumigatus* AF98003 ont montré différents degrés d'activité, en adéquation avec le modèle pharmacophorique élaboré par l'équipe de Sheng.

Ainsi, la série benzylamine (**III**) comportant un linker *N*-méthylé est celle qui possède les activités les plus intéressantes avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 0,37 et 36 ng / mL sur *Candida albicans*, 5 à 500 fois plus basses que celle observée pour le fluconazole (CMI = 190 ng / mL). Les composés possédant des groupements électroattracteurs en position *para* du benzyle (Y = NO₂ ou CN) sont encore 5 à 40 fois plus actifs que le voriconazole (CMI = 15 ng / mL).¹⁰¹

Comparées à leurs analogues en séries pyridinyl- (**I**) et pipéridin-4-ylméthylamino (**II**) moins actifs sur la souche de *Candida albicans* (CMI entre 23 et 220 ng / mL pour la série **I** et entre 26 et 1410 ng / mL pour la série **II**) et inactifs sur celle d'*Aspergillus fumigatus*,¹⁰² ces molécules possèdent (**III**) en outre un début d'activité intéressante sur *Aspergillus fumigatus* (CMI entre 1070 et 2410 ng / mL) proche de l'itraconazole (CMI = 420 ng / mL) et sont seulement 7 à 15 fois moins actives que le voriconazole (CMI = 157 ng / mL).

A titre d'exemple, le docking du composé le plus actif dans le site actif supposé (tunnel 2) de notre modèle CYP51-*Candida albicans* permet de confirmer l'implication des deux résidus fondamentaux Tyr118 et Ser378 pour une activité optimale (**figure 35**).

¹⁰¹ Giraud F. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18 (6), 1820-1824.

¹⁰² Giraud F. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19 (2), 301-304.

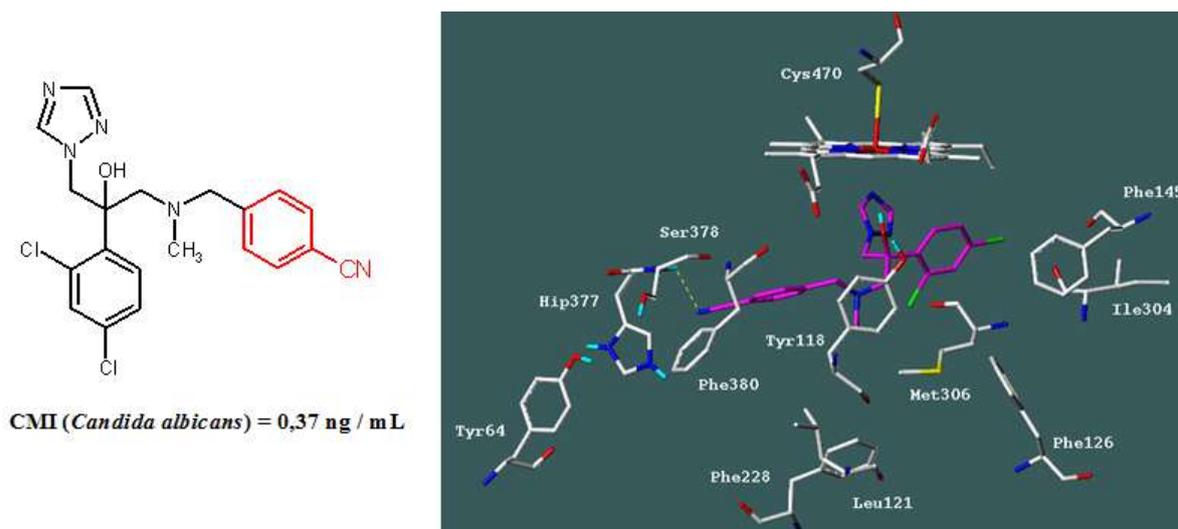


Figure 35 : Docking du composé le plus actif (isomère *S*) dans le site actif de CYP51-CA

La perte d'aromaticité (série pipéridin-4-yl **II**) ou un positionnement inapproprié de l'accepteur de liaisons-H (série pyridinyl **III**) aboutissent logiquement à une perte d'affinité probablement dû au manque d'interactions avec ces résidus.¹⁰²

Enfin, concernant la série indol-5-ylméthylamino initiée (**IV**), le peu de molécules synthétisées ne nous a pas permis de déduire d'importantes relations structure-activité. Seul un résultat très intéressant sur la souche de *Candida albicans* ($X = F$, $R_1 = \text{Boc}$, CMI = 3 ng / mL) nous incite à poursuivre les investigations, malgré un manque total d'activité sur *Aspergillus fumigatus*.

IV – Définition des objectifs

L'objectif de ces travaux consiste à synthétiser de nouveaux triazolés possédant un large spectre d'activité (*Candida*, *Aspergillus*) et actifs sur des souches sensibles et résistantes aux traitements actuels (fluconazole, voriconazole).

Trois stratégies seront entreprises :

A) La première sera basée sur la continuité de nos travaux dans la **conception rationnelle** et l'interprétation des relations structure-activité, à partir de l'information 3D issue des modèles CYP51-*Candida albicans*. L'utilisation du modèle pharmacophorique de Sheng⁹⁵ et l'implication particulière de certains acides aminés dans les interactions avec les azolés ou dans les phénomènes de résistance nous permettra d'affiner un peu plus nos connaissances actuelles.

D'un point de vu chimique, en s'appuyant sur l'ensemble de nos résultats, nous avons opté pour une structure générale qui posséderait certes les éléments pharmacophoriques nécessaires (linker *N*-méthylé, noyau aromatique original pouvant être substitué par des groupes accepteurs de liaison-H) mais qui permettrait également un allongement toujours plus

important de nos molécules dans l'optique de s'affranchir des mutations à proximité de l'hème (**figure 36**).

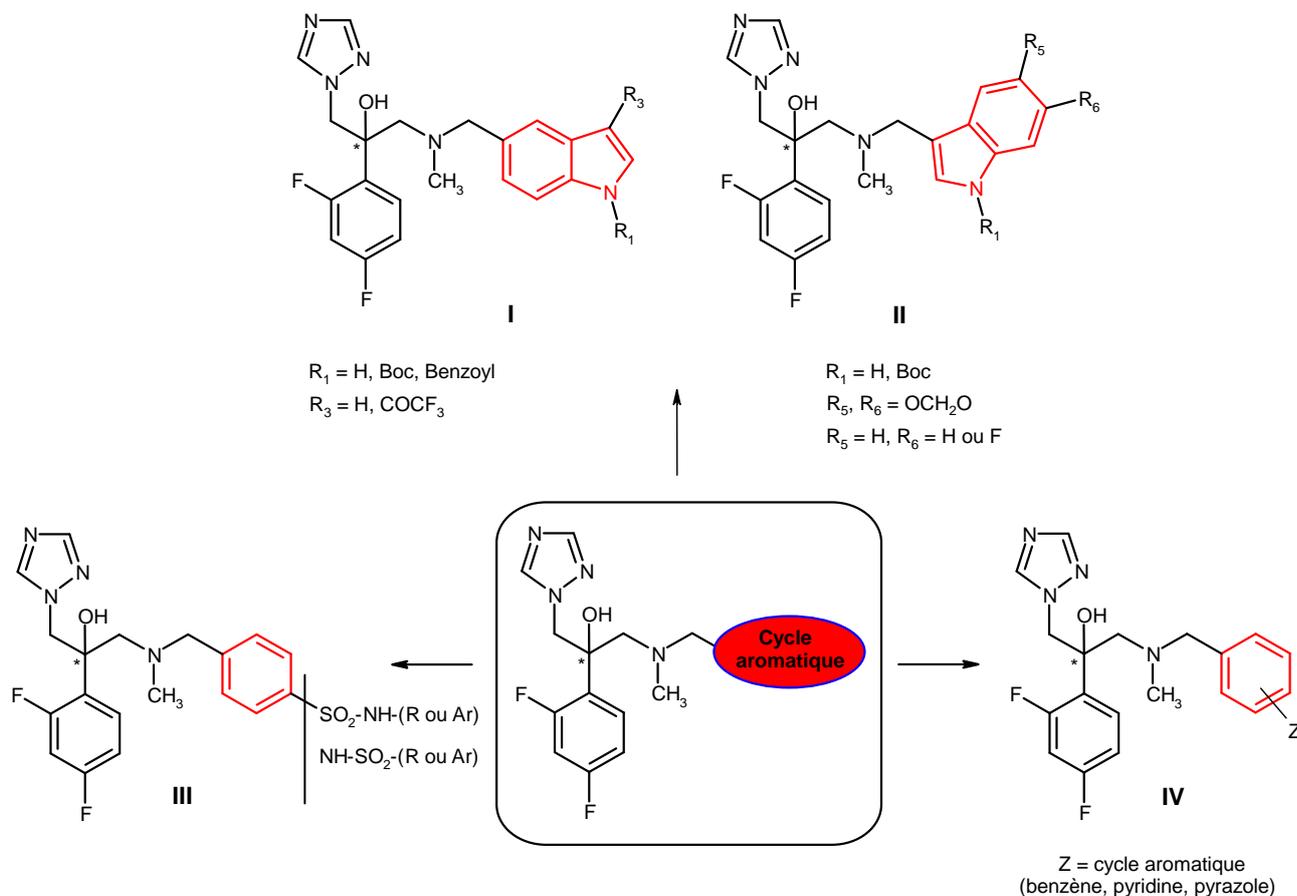


Figure 36 : Nouvelles structures envisagées pour nos molécules antifongiques

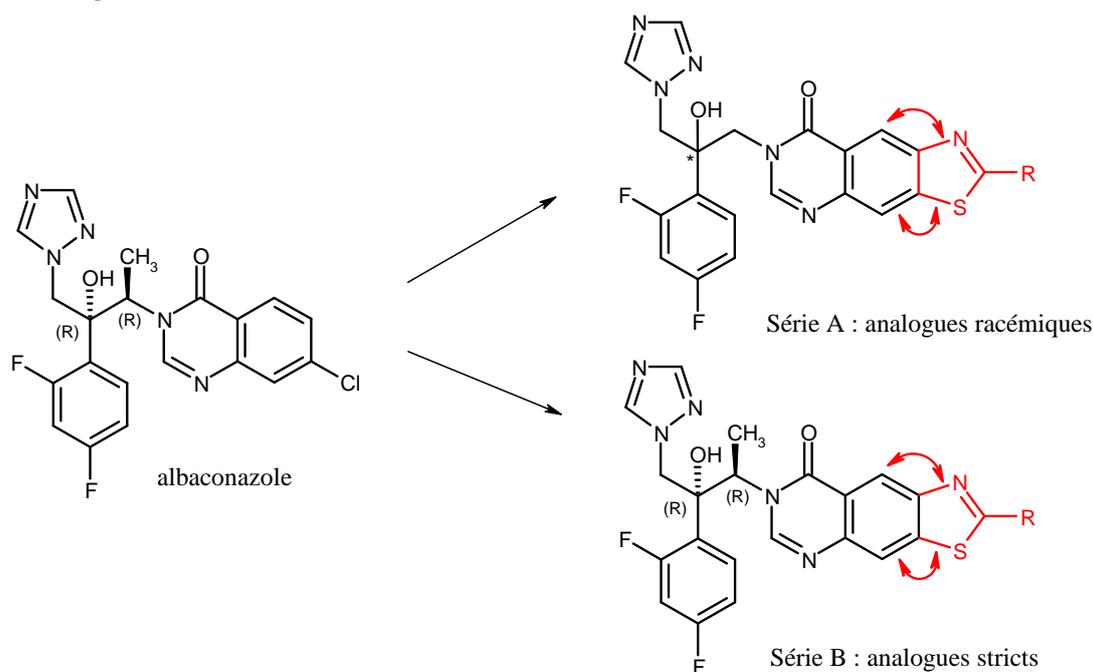
Ainsi, la synthèse de dérivés 1-[(1*H*-indol-5-yl ou indol-3-yl)méthyl]méthylamino] (séries **I** et **II**) pourrait nous renseigner rapidement sur la pertinence d'un noyau indolique, spécialité chimique du laboratoire, stériquement plus encombrant mais facilement modulable en position R_1 , R_3 , R_5 ou R_6 par des groupes électroattracteurs.^{103,104}

Les molécules de la série **III** et **IV** garderont quant à elles le motif principal plus flexible de type benzylamine substituée soit en position *para* par des groupements sulfonamides ou rétrosulfonamides liés à des chaînes alkyles ou aryles (série **III**), soit en *mé*ta ou en *para* par des cycles aromatiques supplémentaires (benzène, pyridine, pyrazole) porteurs eux-même de groupes accepteurs de liaisons-H plus ou moins encombrants (méthoxy, cyano, nitro, trifluorométhyl, morpholine, *N*-méthylpipérazine, sulfonamides) (série **IV**). Par le choix variés de ces divers substituants « sondes », cette dernière série permettra en outre de confronter les résultats obtenus au modèle pharmacophorique de manière à confirmer ou affiner les hypothèses initiales.

¹⁰³ Guillon R. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19 (20), 5833-5836.

¹⁰⁴ Guillon R. *et al.*, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2010**, doi: 10.3109/14756366.2010.503607.

B) La deuxième stratégie consistera à utiliser la chimie du sel d'appel, en collaboration avec le Professeur Thierry Besson, dans le but de synthétiser des **dérivés de l'albaconazole** de structure thiazoloquinazolinone. L'intérêt d'un tel hétérocycle réside principalement dans l'isomérisation du thiazole sur la quinazolinone et son influence sur les activités biologiques en fonction des divers régioisomères formés (linéaires ou coudés). Deux séries chimiques seront ainsi envisagées (analogues racémiques (A) ou analogues stricts (B)) selon la nature de l'époxyde de départ, avec un thiazole pouvant être de plus substitué par diverses amidines ou imidates (**figure 37**).



C) Enfin, la troisième stratégie fait suite au récent intérêt de développer des **azolés multifonctionnels**, capables non seulement d'inhiber la biosynthèse de l'ergostérol *via* une inhibition de la 14 α -déméthylase mais également les pompes à efflux et les facteurs de transcription induisant l'expression de ces dernières (cf introduction page 28).⁴

Vu le peu de recul dans le domaine, nous avons choisi d'adapter une étude américaine basée sur l'identification d'une série chimique de quinazolinylméthylurées ne possédant pas ou peu d'activité antifongique seule mais potentialisant l'effet du fluconazole sur des souches de *Candida albicans* et de *Candida glabrata* surexprimant les pompes CDR1 et CDR2^{105,106,107,108} pour proposer des structures hybrides. A partir d'une de leur molécule « chef de file », la fonctionnalisation de la position 6 de la quinazolinone par une amine nucléophile nous permettait d'envisager diverses condensations de composés développés au laboratoire, selon l'accessibilité chimique et les activités antifongiques présentées.

¹⁰⁵ Lemoine R.C. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14 (20), 5127-5131.

¹⁰⁶ Watkins W.J. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14 (20), 5133-5137.

¹⁰⁷ Watkins W.J. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17 (10), 2802-2806.

¹⁰⁸ Watkins W.J. *et al.*, Brevet US 20030229097 A1, publié le **11 décembre 2003**.

Objectifs de recherche

Un premier essai impliquant la série 4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)benzènesulfonamide était susceptible d'amener une condensation rapide des deux pharmacophores et en fonction des résultats obtenus une validation de la stratégie. Dans le cas contraire, le choix d'un éventuel linker clivable ou de type alkyle devrait alors être considéré (**figure 38**).

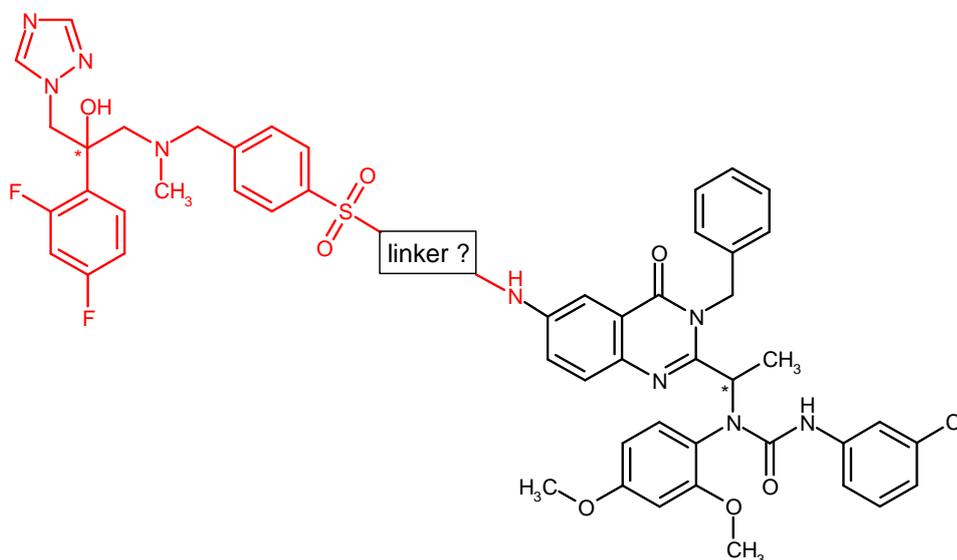


Figure 38 : Azolés multifonctionnels envisagés

PARTIE A

Conception rationnelle de nouveaux azolés sur la base
de modèles 3D de CYP51s fongiques

I – Synthèse en série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-5-yl et indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

1 – Synthèse en série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-5-yl méthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol

1.1- Approche rétrosynthétique

L'accès aux composés désirés peut se faire suivant le schéma rétrosynthétique présenté sur la **figure 39**. La dernière étape permettra l'introduction d'un groupement électroattracteur en position 3 de l'indole, par réaction de substitution électrophile aromatique sur les composés B. Ces derniers sont synthétisés par l'intermédiaire d'une amination réductrice entre un amino-alcool difluoré C et différents indole-5-carbaldéhydes D. Le composé C est préparé par ouverture du 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane, et les dérivés D sont formés à partir du 5-bromo-1*H*-indole.

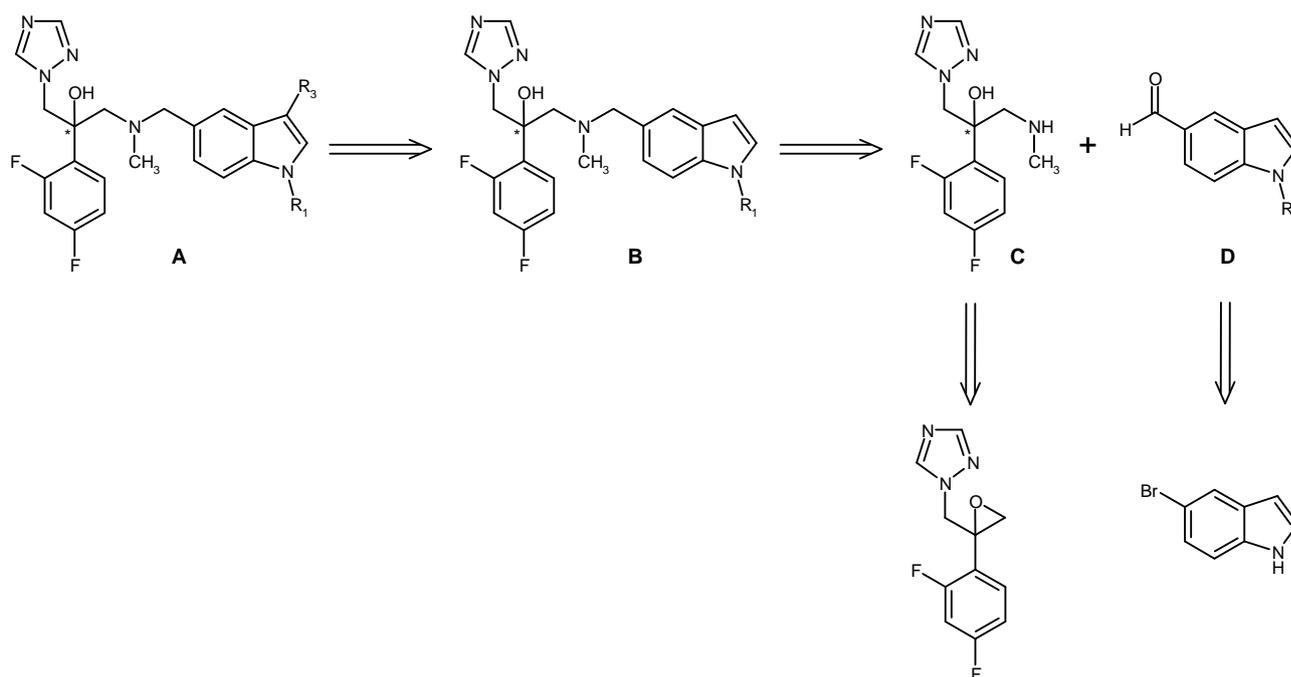


Figure 39 : Voie d'accès aux 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-5-ylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

1.2- Synthèse du 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol

Le 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane est préparé en trois étapes selon des conditions opératoires préalablement établies au laboratoire (**figure 40**).¹⁰⁹

Par acylation de Friedel-Crafts sur le 1,3-difluorobenzène, la 2-chloro-2',4'-difluoroacétophénone **1** est obtenue avec un rendement de 91%. La synthèse se poursuit par réaction avec le 1H-1,2,4-triazole en présence de carbonate de potassium. Cette étape est réalisée sous irradiation micro-ondes (50W, 85°C) et ne présente pas de sous-produits contrairement à un chauffage conventionnel.¹⁰⁹ Le dérivé **2** obtenu est alors converti en époxyde en utilisant la réaction de Corey-Chaykovsky.¹¹⁰ Ainsi la mise en réaction de la cétone **2** en présence d'iodure de triméthylsulfoxonium (TMSOI) et d'hydroxyde de sodium dans un mélange eau / dichlorométhane conduit au composé **3** avec un rendement de 74%.

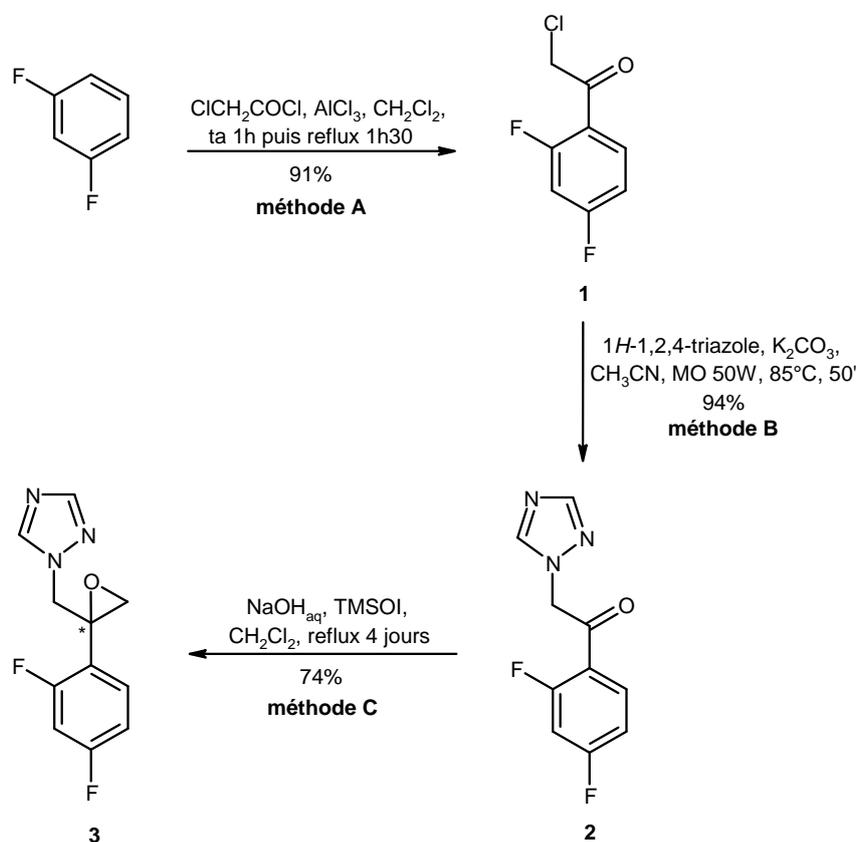


Figure 40 : Synthèse du 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane **3**

L'ouverture de l'époxyde **3** a été mise au point. Celle-ci est réalisée en présence de méthylamine dans l'éthanol pour donner l'amino-alcool **4** sous forme d'un mélange racémique (**figure 41**). Ce produit est l'intermédiaire clé qui nous permettra la synthèse des molécules finales.

¹⁰⁹ Lebouvier N. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47 (36), 6479-6483.

¹¹⁰ Corey E.J. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87 (6), 1353-1364.

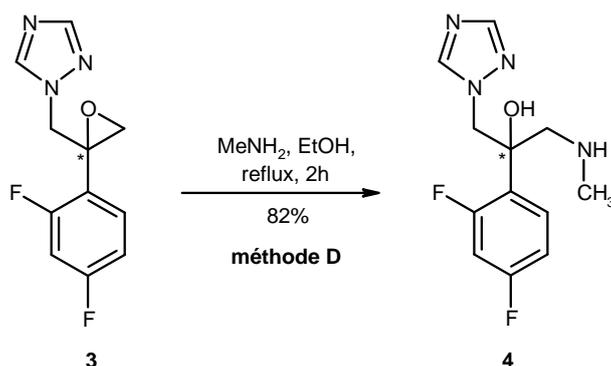


Figure 41 : Synthèse du 2-(2,4-difluorophényl)-3-méthylamino-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4**

1.3- Synthèse des indole-5-carbaldéhydes **5-7**

Les indole-5-carbaldéhydes sont préparés rapidement à partir du 5-bromo-1H-indole suivant le schéma réactionnel décrit ci-après (**figure 42**).

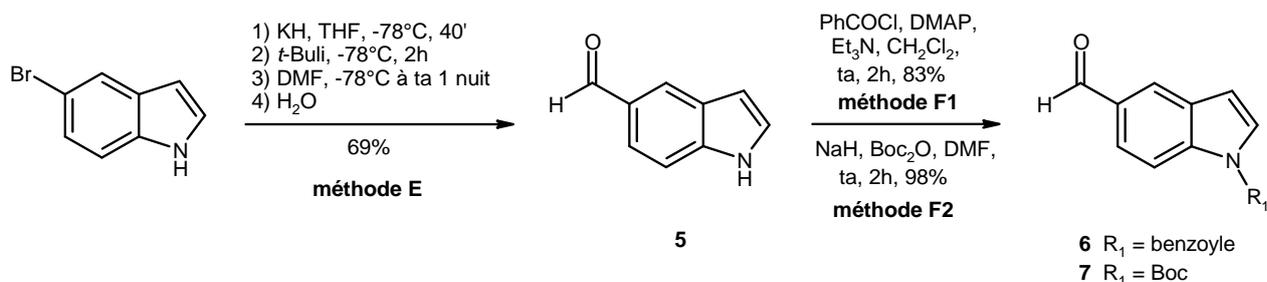


Figure 42 : Synthèses des indole-5-carbaldéhydes **5-7**

Le dérivé **5** est obtenu avec un rendement de 69% à partir du 5-bromo-1H-indole par protection temporaire avec l'hydrure de potassium et échange brome / lithium avec le *tert*-butyllithium à très basse température. L'ajout de *N,N*-diméthylformamide conduit à l'obtention d'un aldéhyde après élimination de *N,N*-diméthylamine.¹¹¹ L'introduction de la fonction benzoyle est réalisée selon les conditions décrites par D.S. Dhanoa *et al.* à partir du chlorure de benzoyle.¹¹² Le groupement *tert*-butoxycarbonyle (Boc) est lui greffé en utilisant de l'hydrure de sodium et du dicarbonate de ditertbutyle dans le DMF. Les dérivés **6** et **7** sont obtenus respectivement avec des rendements de 83 et 98%.

1.4- Synthèse des 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1H-indol-5-yl)méthyl]méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

L'étape suivante consiste à faire réagir l'amino-alcool **4** avec les dérivés indoliques **5-7** par amination réductrice. Cette réaction est réalisée en présence de cyanoborohydrure de

¹¹¹ Yang Y. *et al.*, *Heterocycles*, **1992**, 34 (6), 1169-1175.

¹¹² Dhanoa D.S. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **1993**, 36 (26), 4230-4238.

sodium (NaBH_3CN) dans un mélange acide acétique / méthanol : 2% v/v et permet la formation des composés finaux **8**, **9** et **10** (figure 43).

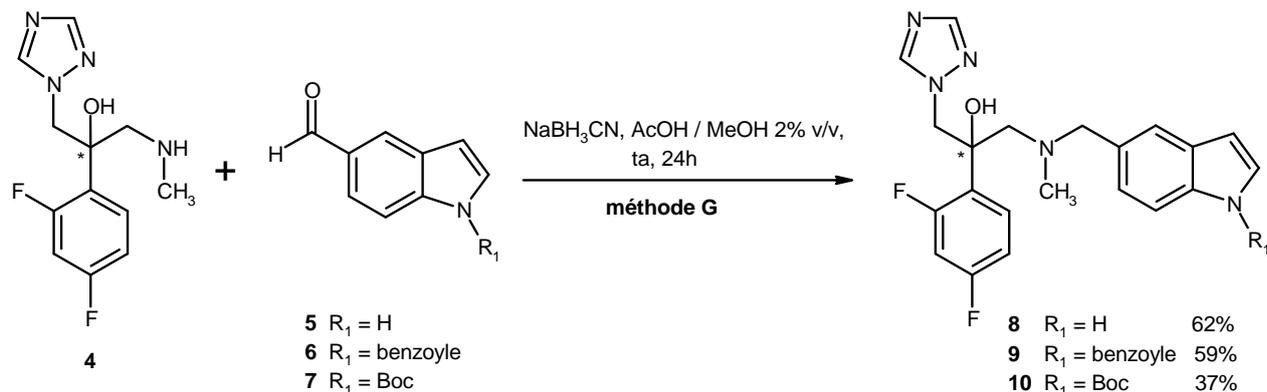


Figure 43 : Amination réductrice conduisant aux composés finaux **8**, **9** et **10**

La réactivité de l'indole permet de réaliser des réactions de substitution électrophile aromatique sur le sommet 3. Ainsi, la mise en réaction du composé **8** avec l'anhydride trifluoroacétique dans le 1,2-dichloroéthane permet d'obtenir le dérivé **11** avec un rendement de 56% (figure 44).¹¹³

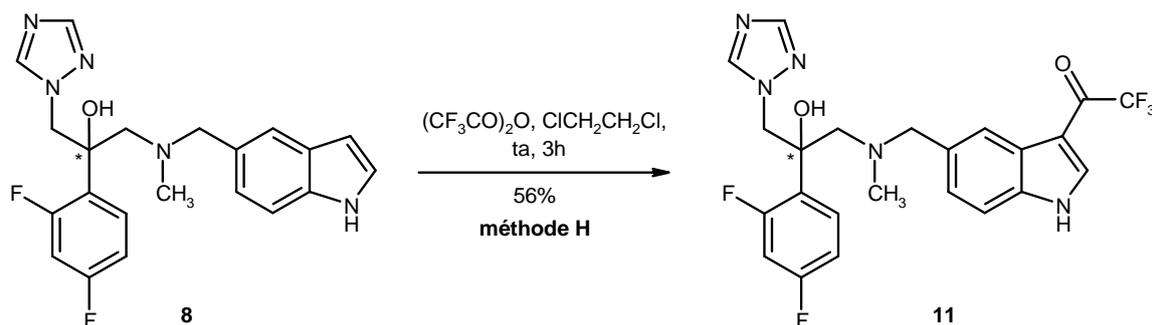


Figure 44 : Synthèse du composé **11**

2 – Synthèse en série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1H-indol-3-yl méthyl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol

2.1- Approche rétrosynthétique

Le schéma rétrosynthétique menant à cette série de composés est décrit figure 45.

¹¹³ Thomas C.J. et al., *J. Org. Chem.*, **2001**, 66 (5), 1914-1918.

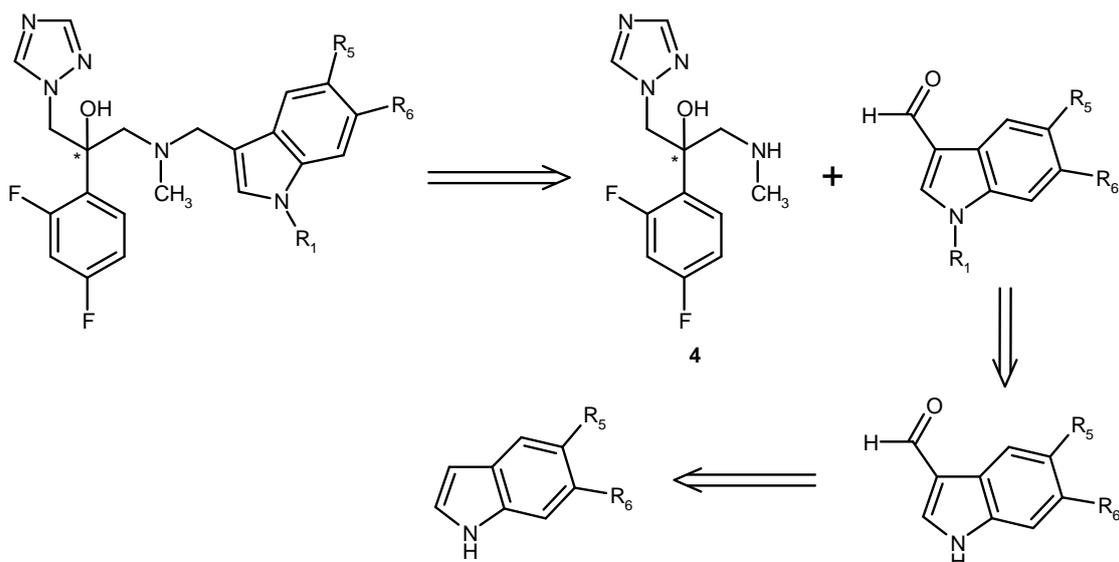


Figure 45 : Voie d'accès aux 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

L'accès à ces molécules repose sur une étape d'amination réductrice entre l'amino-alcool difluoré **4** vu précédemment et différents 1*H*-indole-3-carbaldéhydes préalablement protégés au niveau de l'azote indolique. Ces derniers sont obtenus par formylation de Vilsmeier-Haack sur différents indoles commerciaux ou synthétisés au laboratoire.

2.2- Préparation des indoles

2.2.1- Synthèse du 5*H*-1,3-dioxolo[4,5-*f*]indole

Les intermédiaires utilisés pour l'étape d'amination réductrice peuvent se préparer en deux étapes à partir d'indoles substitués en position 5 et / ou 6. Cependant, tous les indoles n'étant pas disponibles commercialement, nous avons dû synthétiser le 5*H*-1,3-dioxolo[4,5-*f*]indole. Ce composé est obtenu en trois étapes à partir de l'héliotropine (**figure 46**).¹¹⁴

¹¹⁴ Marchi I. *et al.*, *Quim. Nova*, **2007**, 30 (4), 763-767.

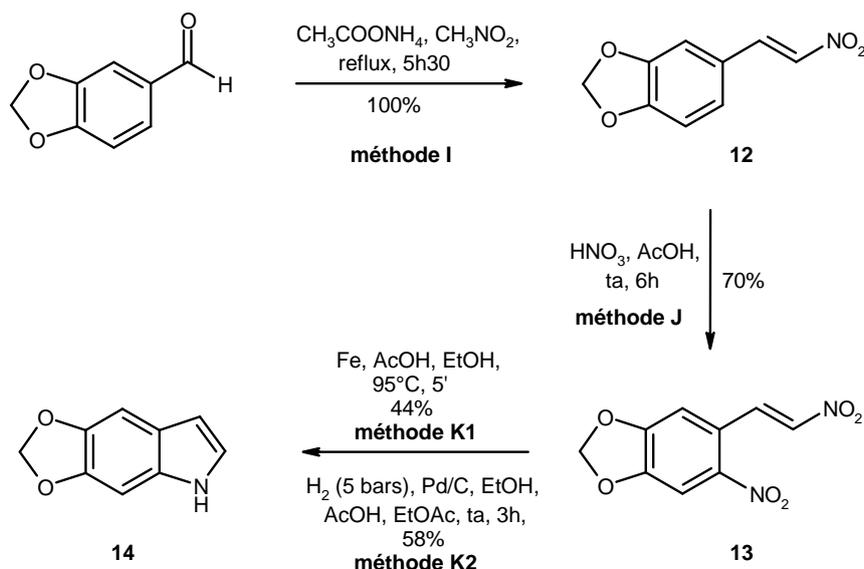


Figure 46 : Synthèse du 5H-1,3-dioxolo[4,5-f]indole **14**

La première étape est une réaction de Henry.¹¹⁵ Le nitrométhane réagit avec le dérivé carbonyle en présence d'une quantité catalytique d'acétate d'ammonium pour conduire à un intermédiaire β -nitroalcool. Ce dernier non isolé, conduit après déshydratation au β -nitro styrène **12** avec un rendement quantitatif. Une nitration en présence d'acide nitrique dans l'acide acétique permet ensuite d'obtenir le dérivé dinitré **13** avec un rendement de 70%.

La réduction du dérivé dinitré **13**, suivie d'une cyclisation intramoléculaire avec perte d'une molécule d'ammoniac permet la synthèse de l'indole **14**. Plusieurs méthodes de réduction sont décrites dans la littérature. On pourra citer l'utilisation d'hydrogène en présence de palladium sur charbon,¹¹⁶ de fer dans l'acide acétique,¹¹⁷ de formiate d'ammonium et de palladium sur charbon¹¹⁸ ou encore l'utilisation de chlorure de titane (III).¹¹⁹

L'utilisation de fer dans un mélange d'acide acétique et d'éthanol a permis d'isoler le composé **14** avec un rendement de 44% (**méthode K1**). Ce rendement est amélioré et passe à 58% avec l'hydrogénation catalytique en présence de palladium sur charbon (**méthode K2**).

2.2.2- Formylation et protection de l'azote indolique

Le 1H-indole, le 6-fluoro-1H-indole et le composé **14** sont formylés en position 3 puis protégés par un groupement *tert*-butoxycarbonyle (Boc) (**figure 47**).

¹¹⁵ Henry L., *Compt. Rend.*, **1895**, 120, 1265-1268.

¹¹⁶ Yang L.-M. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5 (5), 465-468.

¹¹⁷ Sinhababu A.K. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48 (19), 3347-3349.

¹¹⁸ Rajeswari S. *et al.*, *Heterocycles*, **1989**, 29 (3), 415-418.

¹¹⁹ Zessin J. *et al.*, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **1998**, 41 (7), 669-676.

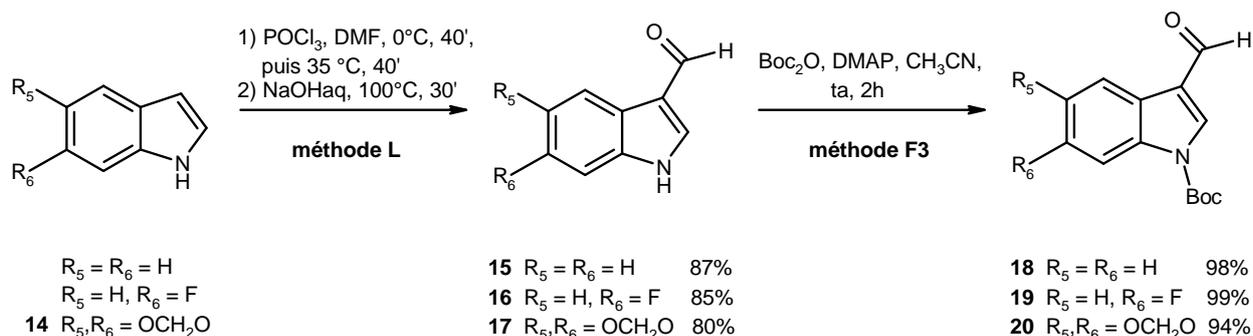


Figure 47 : Synthèses des indoles **18-20**

L'introduction de la fonction aldéhyde est réalisée par l'intermédiaire d'une réaction de Vilsmeier-Haack.¹²⁰ Celle-ci est réalisée selon les conditions classiques en faisant réagir les indoles avec de l'oxychlorure de phosphore dans le *N,N*-diméthylformamide. Le DMF réagit avec le POCl₃ pour former un électrophile (cation iminium). Une substitution électrophile aromatique (SE_{Ar}) a lieu entre les différents indoles et cet électrophile en position 3. Après hydrolyse basique par une solution de soude, les dérivés **15**, **16** et **17** sont obtenus avec des rendements respectifs de 87, 85 et 80%.

La protection par le groupement Boc est réalisée en présence de dicarbonate de di-*t*ertbutyle et d'une quantité catalytique de 4-(*N,N*-diméthylamino)pyridine (DMAP) dans l'acétonitrile.¹²¹ Les composés **18**, **19** et **20** sont obtenus avec de très bons rendements et peuvent être engagés dans la réaction d'amination réductrice.

2.3- Synthèse des 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

L'étape d'amination réductrice entre l'amino alcool **4** et les indoles **18**, **19**, **20** est réalisée selon les conditions précédemment décrites (**figure 48**).

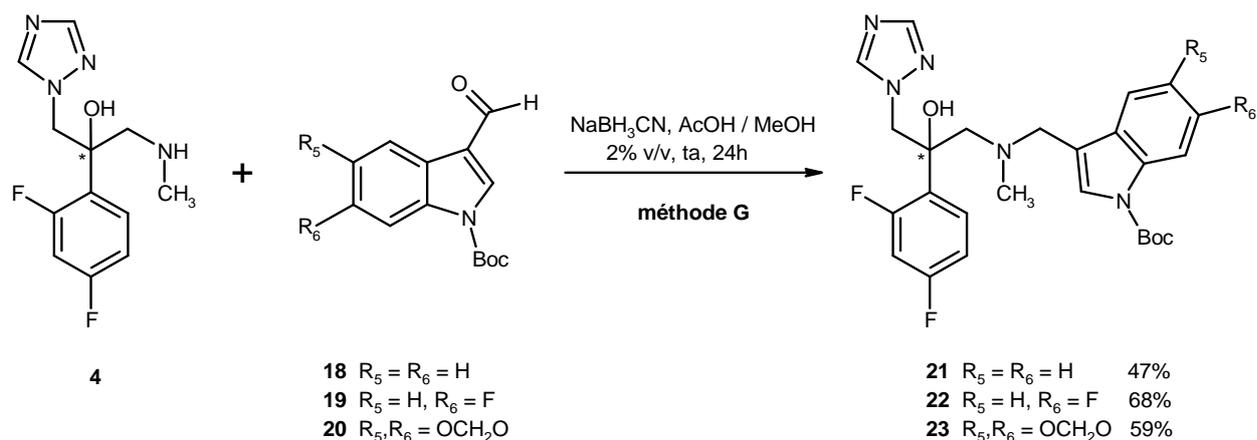


Figure 48 : Amination réductrice conduisant aux composés **21**, **22** et **23**

¹²⁰ Smith G.F., *J. Chem. Soc.*, **1954**, 3842-3846.

¹²¹ Davies J.R. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70 (15), 5840-5851.

Les composés **21**, **22** et **23** sont isolés avec des rendements allant de 47 à 68%. Ces molécules sont ensuite déprotégées au niveau de l'azote indolique. De nombreuses conditions ont été rapportées pour la déprotection d'amines substituées par un groupement Boc.¹²² Des résultats antérieurs de déprotection non concluants (HCl 3M au reflux de l'acétate d'éthyle¹²³ ou TBAF dans le THF¹²⁴) nous ont orientés vers une autre méthode.

Le clivage des produits **21**, **22** et **23** est réalisé avec du bromure de zinc (ZnBr₂) dans le dichlorométhane à température ambiante (figure 49).¹²⁵

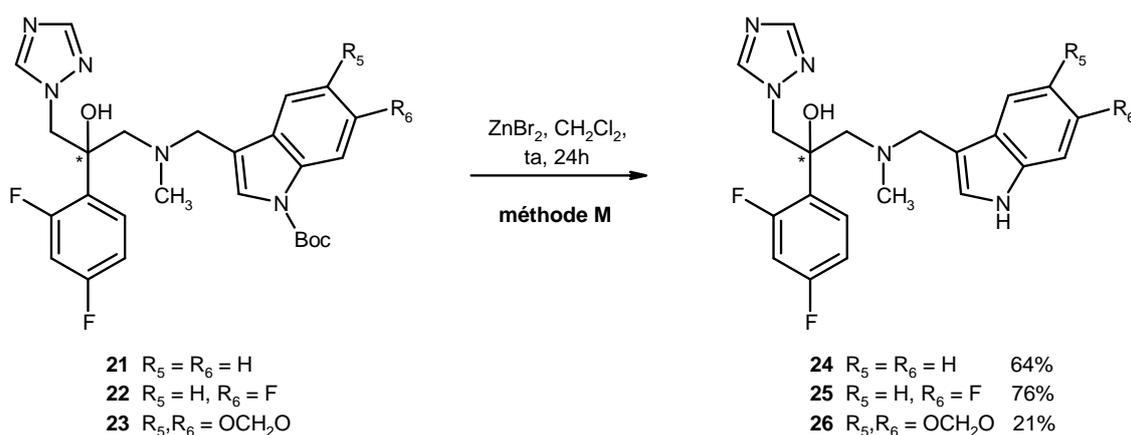


Figure 49 : Déprotection conduisant aux composés **24**, **25** et **26**

Trois nouveaux composés **24**, **25** et **26** sont ainsi isolés avec des rendements variables. Le faible rendement obtenu pour l'analogue **26** pourrait s'expliquer par la présence du groupement dioxyméthylène.

3 – Évaluation pharmacologique et discussion en série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1H-indol-5-yl et indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

3.1- Résultats pharmacologiques

Quatre molécules ont été préparées dans la série des 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1H-indol-5-ylméthyl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols et six autres dans la série indol-3-yle. Ces composés ont été évalués sur des souches de *Candida albicans* CA98001 (sensible au fluconazole) et d'*Aspergillus fumigatus* AF98003, selon le protocole général décrit pages 193-194.

Le **tableau 1** présente les résultats obtenus.

¹²² Greene T.W. *et al.*, Protective groups in organic synthesis, Ed. Wiley and Sons, **1999**, 779 pages.

¹²³ Stahl G.L. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1978**, 43 (11), 2285-2286.

¹²⁴ Routier S. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43 (4), 589-591.

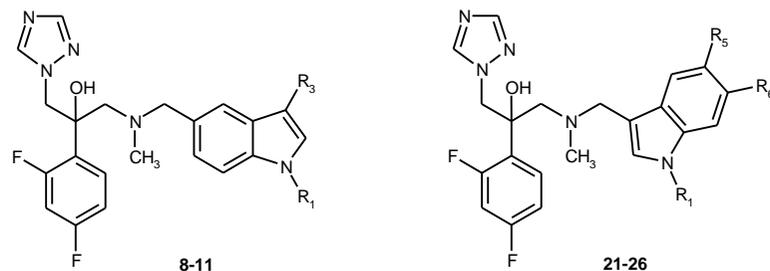
¹²⁵ Ku J.-M. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72 (21), 8115-8118.

Partie A

Sur la souche d'*Aspergillus fumigatus*, les résultats sont décevants puisque tous les composés sont inactifs (CMI > 30000 ng / mL).

En revanche, sur la souche de *Candida albicans*, les composés de la série indol-5-yle (**8-11**) possèdent tous un niveau d'activité élevé et homogène avec des valeurs de CMI trois à cinq fois plus basses que celle du fluconazole, quelque soient les substituants en position 1 ou 3. Ceux de la série indol-3-yle (**21-26**) sont un peu moins actifs et ont des activités comparables à celle du fluconazole, excepté pour le composé **23**, qui est inactif. Cette molécule qui possède un groupe protecteur Boc en position 1 de l'indole et un dioxyméthylène en positions 5 et 6 est fortement encombrée, suggérant que les facteurs stériques pourraient affecter les résultats pharmacologiques. Il est à noter que les composés **21** et **24** sont environ 7 fois moins actifs que leurs analogues stricts en série indol-5-yle (composés **10** et **8**, respectivement), ce qui confirme que l'isomérisation de la position 5 à la position 3 de l'indole est plus sensible aux effets stériques et / ou électrostatiques.

Tableau 1 : Évaluation des 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-5-yl ou indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols (**8-11**) et (**21-26**)



N°	R ₁	R ₃	R ₅	R ₆	CMI ou CI ₈₀			
					<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
					μM	μg / mL	μM	μg / mL
8	H	H			0,089 ± 0,001	0,035 ± 0,0004	76,0 ± 12,0	30,2 ± 4,8
9	benzoyl	H			0,064 ± 0,001	0,032 ± 0,0005	>100	-
10	Boc	H			0,12 ± 0,020	0,060 ± 0,010	65,0 ± 4,0	32,3 ± 2,0
11	H	COCF ₃			0,13 ± 0,03	0,064 ± 0,015	>100	-
21	Boc		H	H	0,75 ± 0,02	0,373 ± 0,01	>100	-
22	Boc		H	F	0,74 ± 0,1	0,381 ± 0,05	>100	-
23	Boc		OCH ₂ O		>100	-	>100	-
24	H		H	H	0,65 ± 0,01	0,258 ± 0,004	>100	-
25	H		H	F	0,48 ± 0,07	0,199 ± 0,029	>100	-
26	H		OCH ₂ O		0,60 ± 0,04	0,265 ± 0,018	>100	-
Fluconazole					0,63 ± 0,02	0,19 ± 0,006	-	-
Itraconazole					-	-	0,6 ± 0,06	0,42 ± 0,04
Voriconazole					0,043	0,015	0,45 ± 0,05	0,15 ± 0,01

3.2- Analyse des stérols sur la souche *Candida albicans* CA98001

Malgré un spectre d'activité étroit, mais dans le but de confirmer le mécanisme d'action de ces composés, nous avons investigué l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol après traitement par le composé **22**, selon le protocole général décrit page 195. Cette molécule n'est certes pas la plus active mais fut la seule représentante encore en quantité suffisante pour effectuer le test. De plus, il est possible de penser que les résultats obtenus puissent être extrapolés aux autres représentants de la série indol-3-yle.

Comme le montre le **tableau 2**, cette molécule inhibe fortement la biosynthèse de l'ergostérol alors que le lanostérol s'accumule.

Stérols	Contrôle	22 (µg / mL)		
		0,125	0,25	0,5
lanostérol	1,8*	28,4	42,4	44,6
éburicol		27,9	35,9	39,0
zymostérol	traces			
fécostérol	11,2			
14-méthylfécostérol		0,5	1,3	1,5
épistérol	1,4			
14-méthylépistérol		2,7	5,2	7,5
14-méthyl-3,6-diol			0,1	0,1
ergostérol	85,6	40,5	15,1	7,3

* ratio : aire sous courbe (ASC) sterol / somme des ASC stérols

Tableau 2 : Effets du composé **22** sur la composition en stérols de *Candida albicans* CA98001

A des concentrations de 0,25 et 0,5 µg / mL, proche de la CMI du composé (0,381 µg / mL), l'effet est maximum. Environ 50% d'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol est obtenue à la plus faible concentration de 0,125 µg / mL. Ces résultats montrent bien que l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol par le composé **22** est dose-dépendante et qu'elle atteint son maximum pour la CMI. En outre, des stérols méthylés en position 14 apparaissent également (14-méthylfécostérol, 14-méthylépistérol, éburicol) et de manière dose-dépendante.

L'accumulation de lanostérol, d'éburicol et la production de 14-méthylstérols sont caractéristiques d'une inhibition de la 14 α -déméthylase par antifongiques triazolés, ce qui est donc le cas pour la molécule **22**, et probablement pour les autres membres de la série indol-3-yle.

De plus, la faible proportion de 14-méthyl-3,6-diol pourrait également être expliquée par une inhibition supplémentaire de la $\Delta^{5,6}$ -désaturase codée par le gène *ERG3*, voie alternative uniquement mise en jeu après inhibition de la 14 α -déméthylase (**figure 50**).¹²⁶

¹²⁶ Lupetti A. et al., *Trends Mol. Med.*, **2002**, 8 (2), 76-81.

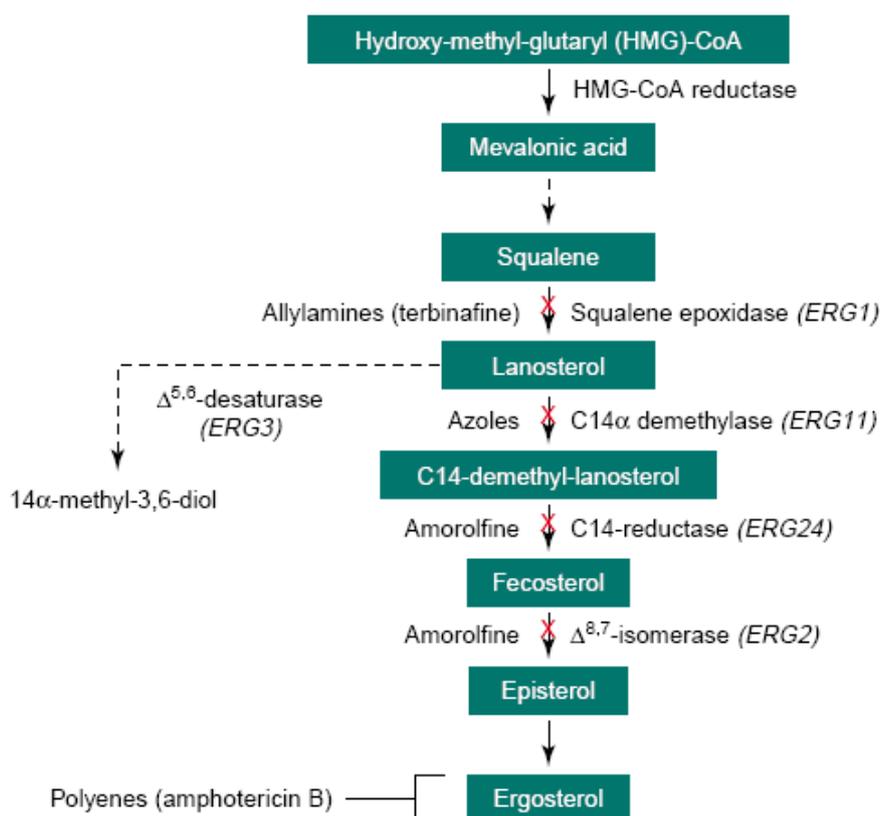


Figure 50 : Action des antifongiques sur la biosynthèse de l'ergostérol

3.3- Etude des relations structure-activité

Dans le but de comprendre les relations structure-activité sur la souche de *Candida albicans*, nous avons effectué le docking d'un de nos meilleurs représentants de la série indol-3-yle (**24**, CMI = 0,258 µg / mL) dans notre modèle de CYP51-*Candida albicans* (**figure 51**), selon le protocole général décrit page 196.

Les résultats de l'étude montrent que le NH indolique pourrait se placer à proximité de l'enchaînement peptidique de l'enzyme mais aussi de la chaîne propionate de l'hème, suggérant que des composés de taille plus importante pourraient rencontrer des interactions stériques défavorables. La faible activité observée pour le composé **23** porteur d'un groupe protecteur Boc en position 1 de l'indole est conforme à cette hypothèse. Bien que les composés **21** et **22** possèdent le même groupe, nous pouvons penser que le manque de substituants encombrants en position 5 et 6 de l'indole permet une meilleure flexibilité à l'intérieur du site actif.

De plus, la baisse d'activité observée pour le composé **24** en comparaison avec son analogue strict en série indol-5-yl (composé **8**) pourrait s'expliquer par la capacité des cycles pyrrole ou benzène de l'indole à réaliser des interactions optimales par stacking avec la fonction phénol de l'acide aminé fondamental Tyr118 et / ou avec le phényle de la Phe380.

Enfin, le manque d'interactions par liaisons-H avec les résidus Ser378 et / ou His377 pourraient certainement expliquer la différence d'activité par rapport aux séries benzylamines

Partie A

précédentes, beaucoup plus flexibles et porteuses de substituants électroattracteurs plus adaptés.

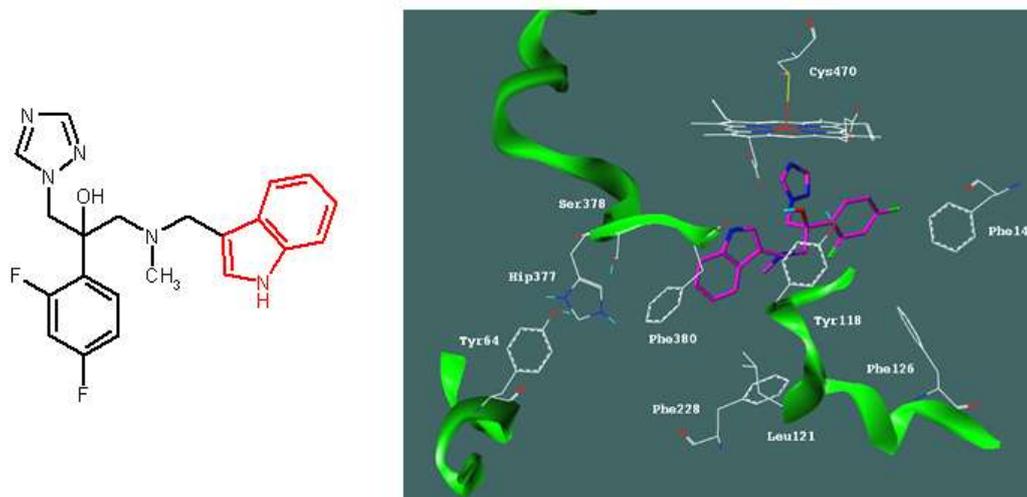


Figure 51 : Docking du composé **24** (isomère *S*) dans le site actif de CYP51-CA

II – Synthèse en série sulfonamide

1 – Synthèse en série 4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)benzène sulfonamide

1.1- Approche rétrosynthétique

L'accès à ces premières molécules est représenté sur la **figure 52**. L'étape clé de la synthèse est une substitution nucléophile entre l'amino alcool difluoré **4** et différents 4-(bromométhyl)benzènesulfonamides. Ces derniers sont préparés en une étape à partir du chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle.

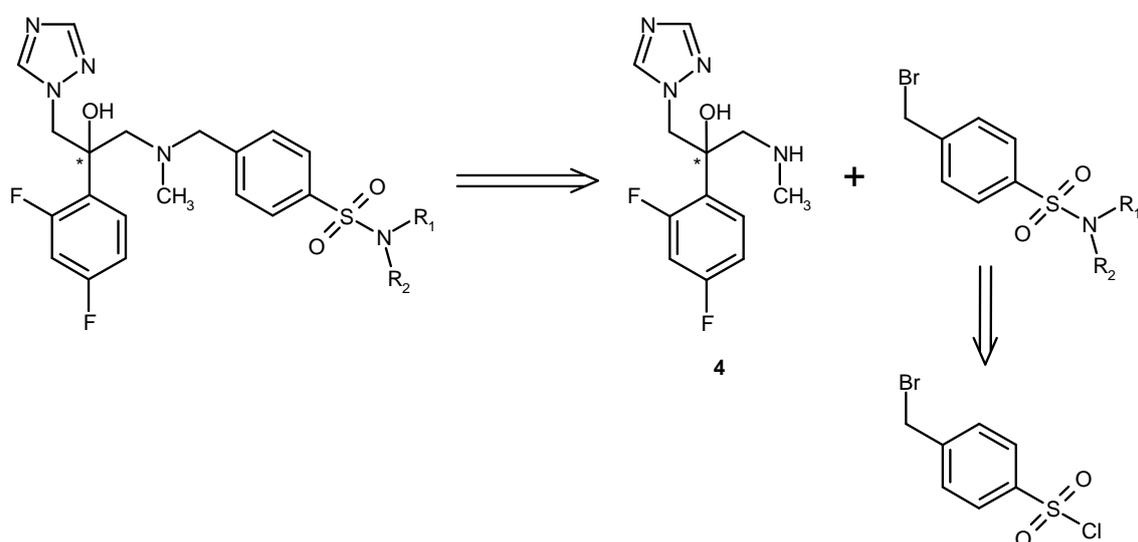


Figure 52 : Schéma rétrosynthétique menant aux sulfonamides

Après avoir exposé la synthèse des 4-(bromométhyl)benzènesulfonamides, leurs condensations avec le composé **4** permettant la formation des produits finaux seront présentées.

1.2- Préparation des 4-(bromométhyl)benzènesulfonamides

Ces composés sont préparés en utilisant différentes conditions opératoires selon la réactivité de l'amine utilisée. Ainsi trois méthodes ont été mises en place (**figure 53**).

Le 4-(bromométhyl)benzènesulfonamide **27** est obtenu par action d'ammoniac aqueux sur le chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle dans le tétrahydrofurane selon la méthode décrite par Naganawa *et al.*(**méthode N1**).¹²⁷ Il est isolé avec un rendement de 98%.

¹²⁷ Naganawa A. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14 (21), 7121-7137.

La condensation de différentes alkyles amines en présence de la base d'Hünig dans le THF conduit à la synthèse de quatre nouveaux sulfonamides **28**, **29**, **30** et **31** avec de bons rendements (**méthode N2**). L'addition du chlorure de sulfonyle doit être réalisée en milieu dilué et goutte à goutte pour éviter la formation du produit disubstitué.

Pour introduire diverses anilines, d'autres conditions ont été utilisées. En effet, l'emploi de la base d'Hünig ou de triéthylamine entraine la formation de plusieurs produits difficilement séparables par chromatographie (substitution du brome, substitution du chlore et double substitution, observés en masse). De même, la catalyse à l'indium décrite par Kim *et al.*¹²⁸ mène à la formation de deux produits en quantité équivalente (produit attendu et produit issu de la substitution du brome). Finalement, l'emploi de pyridine dans le dichlorométhane (**méthode N3**)¹²⁹ permet d'éviter la double substitution. De plus, le produit substitué sur le brome n'est présent qu'en faible quantité et peut être éliminé par un lavage acide. Ainsi, les dérivés **32**, **33** et **34** sont isolés avec de bons rendements. Seul le 4-(bromométhyl)-*N*-(4-nitrophényl)benzènesulfonamide **35** n'est pas caractérisé. En effet, le produit secondaire ne se protone pas à pH acide, l'étape suivante est alors lancée avec le mélange des deux composés.

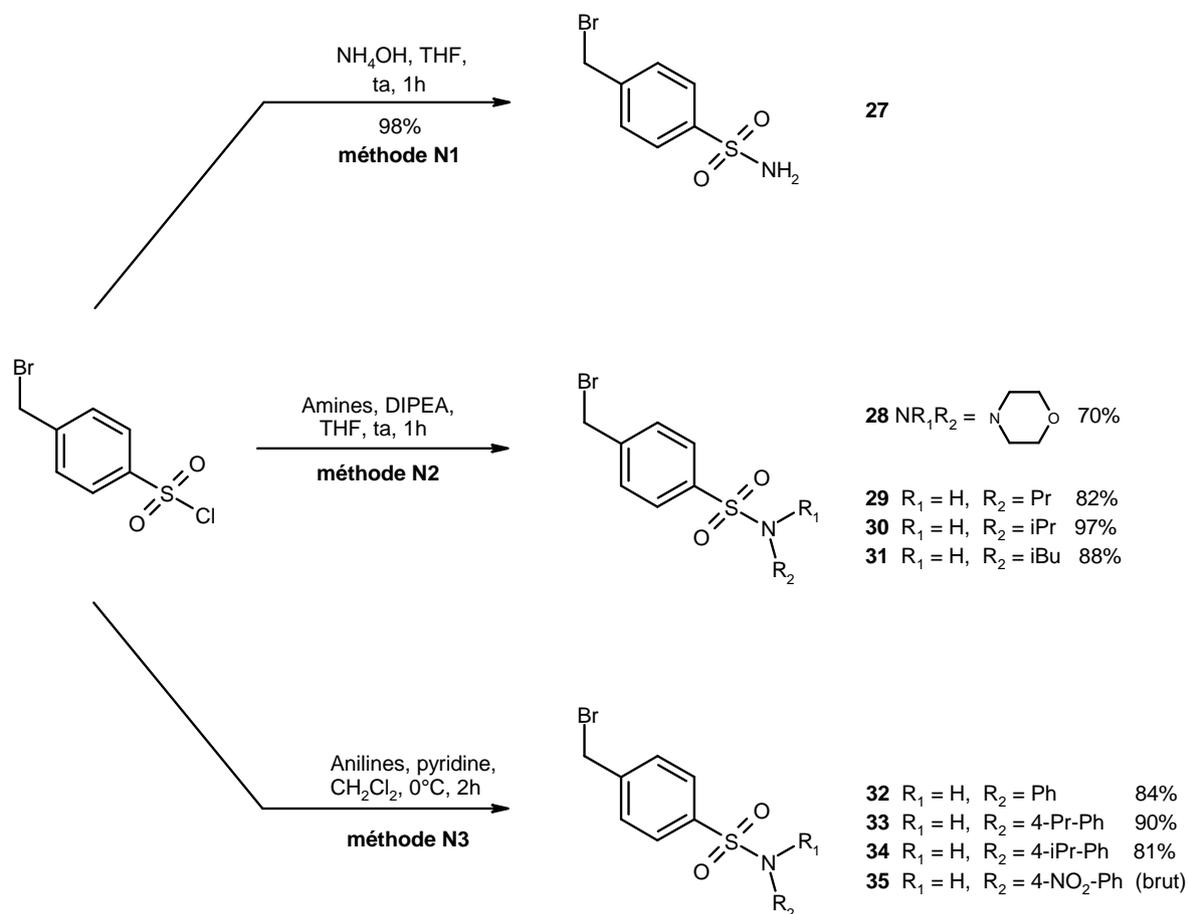


Figure 53 : Synthèses des 4-(bromométhyl)benzènesulfonamides **27-35**

¹²⁸ Kim J.-G. *et al.*, *Synlett*, **2007**, 2007 (16), 2501-2504.

¹²⁹ Teolato P. *et al.*, *Chem. Eur. J.*, **2007**, 13 (8), 2238-2245.

Partie A

La structure de tous ces sulfonamides a été confirmée par spectrométrie de masse (présence d'un atome de brome). Ces neuf composés peuvent alors être engagés dans l'étape suivante qui permettra d'obtenir les molécules cibles.

1.3- Synthèse des 4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)benzènesulfonamides

Les dérivés **27-35** réagissent avec l'amino alcool **4** en présence de la base d'Hünig dans l'acétonitrile (**figure 54**).

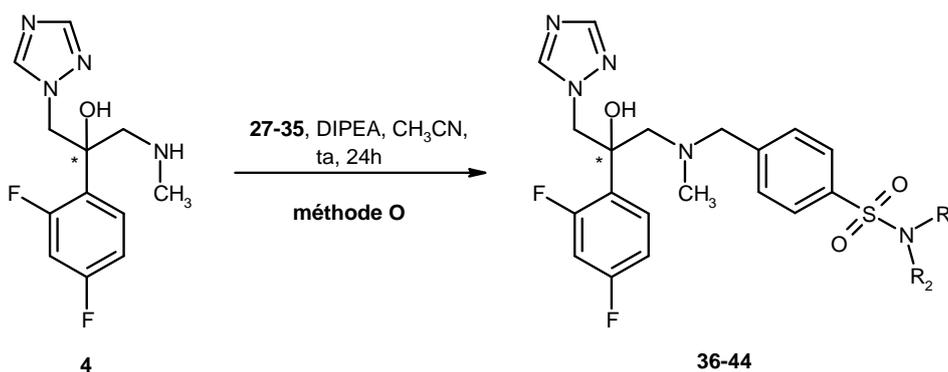


Figure 54 : Synthèses des produits finaux **36-44**

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **tableau 3**.

Produits		Rendements
36		82%
37		85%
38		61%
39		80%
40		81%
41		82%
42		72%

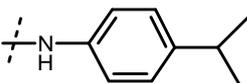
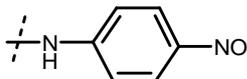
43		75%
44		33% (2 étapes)

Tableau 3 : Benzènesulfonamides synthétisées

Cette voie de synthèse nous a donc permis de synthétiser 9 molécules originales présentant le motif -SO₂-N-.

2 – Synthèse en série N-[4-({[2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)phényl]alkyl (ou aryl)sulfonamide

2.1- Approche rétrosynthétique

Les composés rétrosulfonamides constitués d'un motif -NH-SO₂- peuvent être obtenus d'après le schéma rétrosynthétique suivant (**figure 55**) :

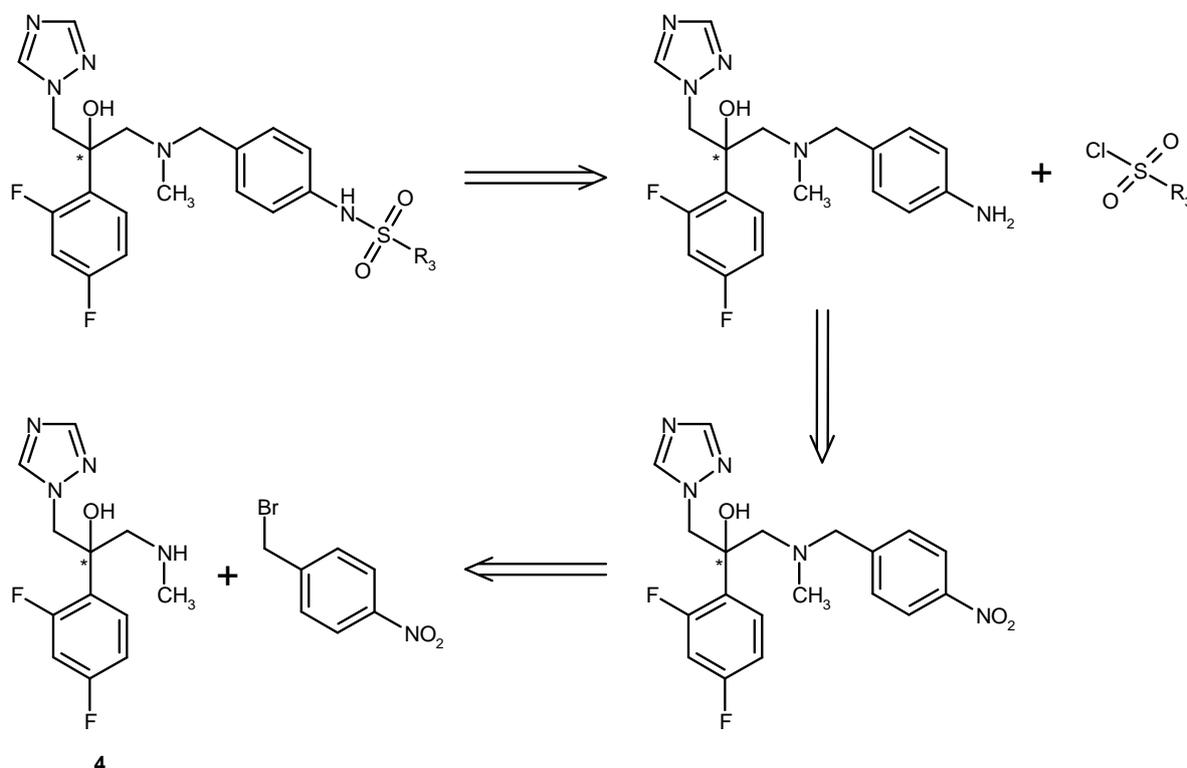


Figure 55 : Schéma rétrosynthétique menant aux rétrosulfonamides

L'accès aux molécules rétrosulfonamides repose sur la condensation de différents chlorures de sulfonyle avec le dérivé 1-[(4-aminobenzyl)méthylamino]-2-(2,4-

difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol. Ce dernier est obtenu après réduction de l'analogue nitré. Enfin le produit nitré est préparé par substitution nucléophile entre l'amino alcool **4** et le bromure de 4-nitrobenzyle.

2.2- Synthèse du 1-[(4-aminobenzyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol

Ce composé est synthétisé en deux étapes (**figure 56**). Tout d'abord une substitution nucléophile entre l'amino alcool **4** et le bromure de 4-nitrobenzyle selon la **méthode O** permet la formation du dérivé **45** avec un rendement de 77%. La fonction nitro est alors réduite par hydrogénation catalytique en présence de palladium sur charbon dans l'éthanol pour conduire au produit désiré **46** avec un rendement de 72%.

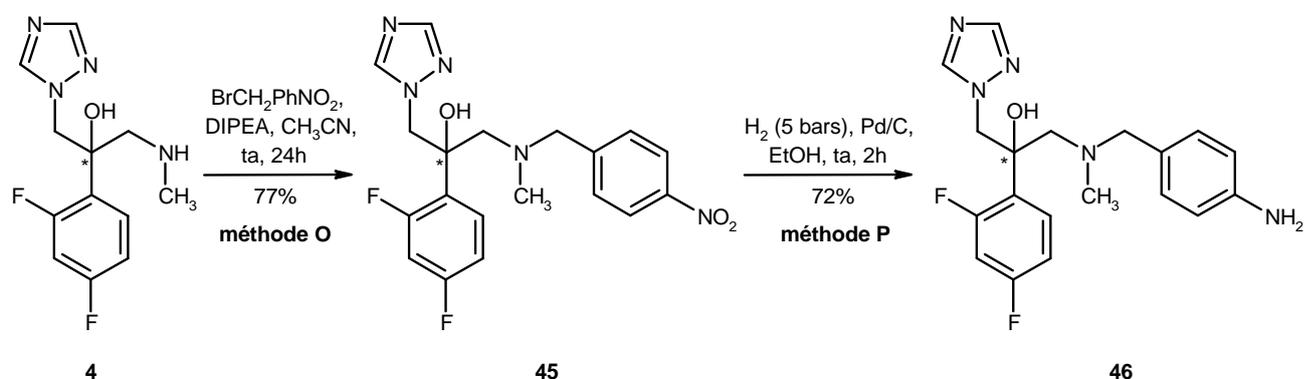


Figure 56 : Synthèse du composé **46**

2.3- Synthèse des *N*-[4-({[2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)phényl]alkyl (ou aryl)sulfonamides

A partir du composé **46**, la condensation de différents chlorures de sulfonyle est réalisée. Nous avons sélectionner ceux permettant de synthétiser les analogues des composés sulfonamides vus précédemment.

Dans un premier temps le chlorure d'isopropyle sulfonyle est mis en réaction avec l'amine **46** dans la pyridine selon les conditions décrites par Yang *et al.*¹³⁰ (**figure 57**).

¹³⁰ Yang S.-M. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18 (3), 1135-1139.

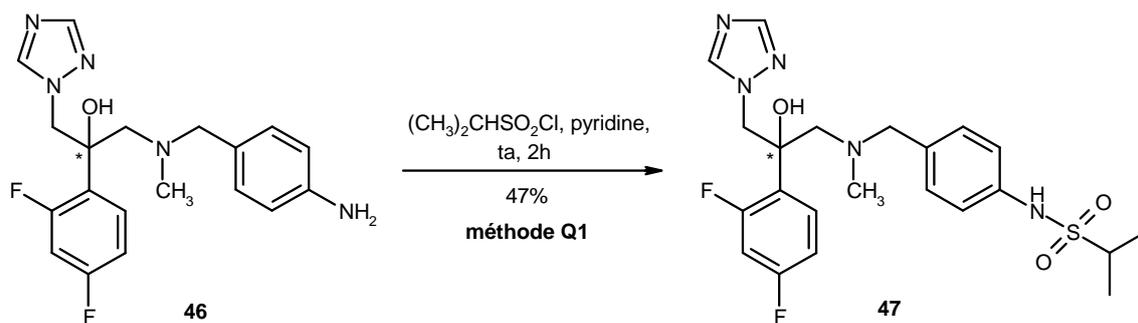


Figure 57 : Synthèse du composé **47**

Le composé **47** est isolé avec un rendement moyen de 47%. Pour les chlorures de benzènesulfonyle la catalyse à l'indium est utilisée.¹²⁸ Ainsi le produit **46** est mis en réaction dans l'acétonitrile avec une quantité catalytique d'indium en poudre et différents chlorures de benzènesulfonyle (**figure 58**).

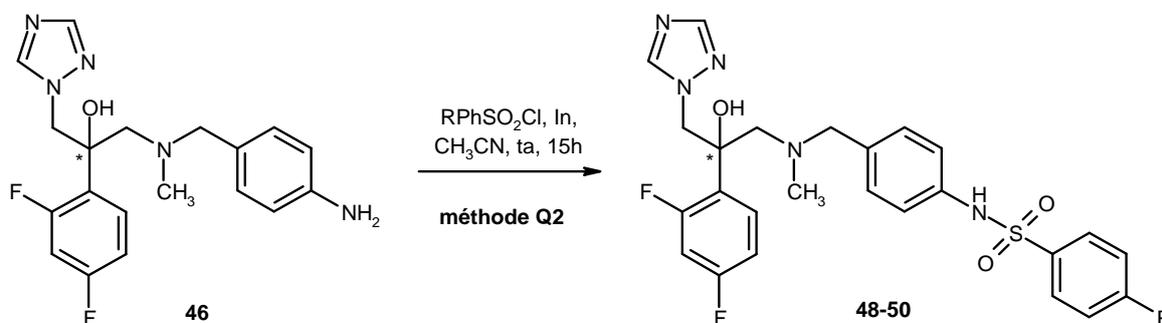


Figure 58 : Synthèse des composés **48-50**

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **tableau 4**.

Produits	R	Rendements
48	H	68%
49	CH(CH ₃) ₂	67%
50	NO ₂	29%

Tableau 4 : Rétrosulfonamides synthétisées par catalyse à l'indium

Les composés **48** et **49** sont isolés avec de bons rendements. Le faible rendement obtenu pour le dérivé nitré **50** est lié à un problème de solubilité et à une purification difficile.

Cette technique s'avère donc efficace pour la formation de sulfonamides à partir d'anilines et de chlorures de benzènesulfonyle. Le mécanisme décrit par les auteurs est présenté sur la **figure 59**.

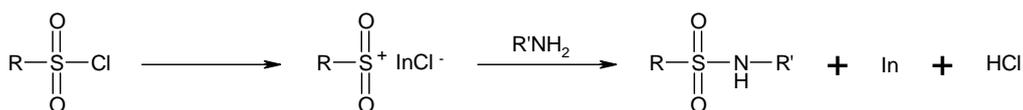


Figure 59 : Mécanisme de formation du sulfonamide

L'indium réagit avec le chlorure de sulfonyle pour former l'intermédiaire électrophile $\text{RSO}_2^+ \text{InCl}^-$. Ce dernier subit ensuite l'attaque de l'amine pour former le sulfonamide. Il y a alors régénération du métal et libération d'acide chlorhydrique.

3 – Évaluation pharmacologique et discussion

3.1- Résultats pharmacologiques

Neuf molécules ont été préparées dans la série 4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)benzènesulfonamide et quatre autres dans la série rétrosulfonamide. Ces composés ont été évalués sur des souches de *Candida albicans* CA98001 (sensible au fluconazole) et d'*Aspergillus fumigatus* AF98003.

Le **tableau 5** présente les résultats obtenus.

Sur la souche de *Candida albicans*, ces composés possèdent globalement des activités antifongiques cinq à vingt fois supérieures à celle obtenue pour le fluconazole et comparables au voriconazole. La valeur exacte du composé **42** (CMI = 0,167 $\mu\text{g} / \text{mL}$), de l'ordre du fluconazole, étant à prendre avec précaution du fait d'un écart type important.

Sur la souche d'*Aspergillus fumigatus*, les résultats sont prometteurs avec des CMI comprises majoritairement entre 0,767 et 3,570 $\mu\text{g} / \text{mL}$, soient seulement 2 à 8 fois moins actives que l'itraconazole (CMI = 0,420 $\mu\text{g} / \text{mL}$).

Comparée à la série indol-5-yle précédente, même si la différence d'activité sur la souche de *Candida albicans* n'est pas aussi flagrante qu'espérée, la combinaison des éléments fondamentaux (un sulfonamide, accepteur de liaisons-H, en position *para* d'un noyau aromatique de type benzylamine) semble bénéfique surtout pour une activité antifongique sur *Aspergillus fumigatus*.

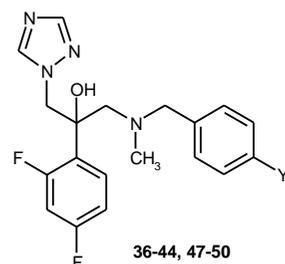
Lorsque l'on compare les analogues stricts des deux séries (**39/47**, **41/48**, **43/49** et **44/50**), l'inversion de la position du sulfonamide n'engendre pas de différence d'activité significative sur les deux souches, excepté le résultat obtenu pour le composé **47** sur *Aspergillus fumigatus* (CMI = 29 $\mu\text{g} / \text{mL}$). Cette molécule étant la seule représentante évaluée en série alkylsulfonamide, des évaluations complémentaires sont nécessaires pour prendre correctement en compte ce résultat.

Enfin, l'un des buts recherchés dans l'introduction d'un sulfonamide était la possibilité d'apporter de la diversité moléculaire de façon à allonger la taille de nos molécules. Il est

Partie A

donc intéressant de constater que les composés les plus extrêmes d'un point de vu stérique (**36** par rapport à **43** ou **44**) gardent le même ordre d'activité sur les deux souches.

Tableau 5 : Évaluation en série 4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)benzènesulfonamide (**36-44**) et en série N-[4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl]phényl]alkyl (ou aryl)sulfonamide (**47-50**)



N°	Y	CMI ou CI ₈₀			
		<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
		μM	μg / mL	μM	μg / mL
36	-SO ₂ NH ₂	0,076 ± 0,003	0,033 ± 0,001	5,6 ± 0,1	2,45 ± 0,04
37	-SO ₂ -morpholine	0,063 ± 0,006	0,032 ± 0,003	6,4 ± 0,2	3,25 ± 0,10
38	-SO ₂ -NH-Pr	0,027 ± 0,003	0,013 ± 0,001	1,6 ± 0,5	0,767 ± 0,240
39	-SO ₂ -NH-iPr	0,019 ± 0,007	0,009 ± 0,003	4,9 ± 0,1	2,35 ± 0,05
40	-SO ₂ -NH-iBu	0,038 ± 0,005	0,019 ± 0,002	3,8 ± 0,4	1,88 ± 0,20
41	-SO ₂ -NH-Ph	0,016 ± 0,003	0,008 ± 0,001	6,0 ± 0,2	3,08 ± 0,10
42	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)Pr	0,3 ± 0,2	0,167 ± 0,111	2,8 ± 0,8	1,56 ± 0,44
43	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)iPr	0,064 ± 0,002	0,036 ± 0,001	6,0 ± 0,1	3,33 ± 0,06
44	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)NO ₂	0,060 ± 0,001	0,034 ± 0,001	4,6 ± 0,2	2,57 ± 0,11
47	-NH-SO ₂ -iPr	0,07 ± 0,01	0,034 ± 0,005	61 ± 1	29 ± 0,5
48	-NH-SO ₂ -Ph	0,04 ± 0,01	0,021 ± 0,005	6,4 ± 0,1	3,29 ± 0,05
49	-NH-SO ₂ -Ph-(<i>p</i>)iPr	0,08 ± 0,01	0,044 ± 0,006	5,2 ± 0,1	2,89 ± 0,06
50	-NH-SO ₂ -Ph-(<i>p</i>)NO ₂	0,064 ± 0,001	0,036 ± 0,001	6,4 ± 0,1	3,57 ± 0,06
Fluconazole		0,63 ± 0,02	0,19 ± 0,006	-	-
Itraconazole		-	-	0,6 ± 0,06	0,42 ± 0,04
Voriconazole		0,043	0,015	0,45 ± 0,05	0,15 ± 0,01

3.2- Analyse des stérols sur la souche *Candida albicans* CA98001

Dans le but de confirmer le mécanisme d'action de ces composés, nous avons investigué l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol après traitement par la molécule la plus active **41**, selon le protocole général décrit page 195 (**tableau 6**).

Stérols	Contrôle	41 (ng / mL)	
		5,13	25,67
lanostérol	6,0*	13,8	40,9
éburicol	3,4	10,6	
zymostérol	2,0		
fécostérol			
14-méthylfécostérol		0,3	
épistérol	3,7	1,9	
14-méthylépistérol		0,5	2,0
14-méthyl-3,6-diol		0,3	2,4
ergostérol	84,7	72,5	54,7

* ratio : aire sous courbe (ASC) sterol / somme des ASC stérols

Tableau 6 : Effets du composé **41** sur la composition en stérols de *Candida albicans* CA98001

A la concentration de 5,13 ng / mL proche de la CMI du composé (8 ng / mL), de faibles accumulations de lanostérol et d'éburicol sont observées et la biosynthèse de l'ergostérol semble se poursuivre majoritairement, ce qui nous laisse penser à une absence d'inhibition de la 14 α -déméthylase. A des concentrations plus importantes, seule une inhibition partielle semble se produire.

Un tel résultat signifierait que ce composé agirait par un tout autre mécanisme d'action mais des tests complémentaires sont nécessaires pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

3.3- Évaluation complémentaire sur différentes espèces de *Candida*

L'activité satisfaisante de nos composés sur les deux souches de *Candida albicans* et d'*Aspergillus fumigatus* nous a incités à étendre les évaluations à d'autres espèces majeures du genre *Candida*, sensibles au fluconazole (*Candida albicans* : CA100), de sensibilité réduite (*Candida krusei* : CK8 et *Candida glabrata* : CG468) ou résistantes au fluconazole (*Candida parapsilosis* : CP-Houdeau, CP-Rolland et *Candida krusei* : CK506).

Le **tableau 7** présente les résultats obtenus.

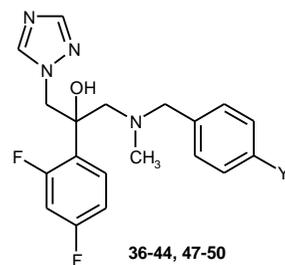
Sur la souche de *Candida albicans* (CA100), ces molécules possèdent une activité antifongique globalement 3 à 6 fois plus importante que celle obtenue pour le fluconazole (CMI = 120 ng / mL), ce qui confirme leur intérêt vis-à-vis de souches *Candida albicans* sensibles au fluconazole.

L'élargissement significatif du spectre d'activité pour certaines molécules (**40**, **41**, **42**, **43** et **49**) aux espèces *Candida parapsilosis* (CP-Rolland, CP-Houdeau), *Candida glabrata*

Partie A

(CG468) et *Candida krusei* (CK506 et CK8) confirment également leur intérêt vis-à-vis de souches *Candida* non *albicans*, de sensibilité réduite ou résistantes au fluconazole.

Tableau 7 : Évaluation complémentaire sur différentes espèces de *Candida*



	Y	CMI ou CI ₈₀ (µg / mL)					
		CA100	CK506	CK8	CG468	CP-Houdeau	CP-Rolland
36	-SO ₂ NH ₂	0,20	> 43	> 43	> 43	19,2	24,9
37	-SO ₂ -morpholine	0,06	23,8	11,6	5,9	2,7	2,9
38	-SO ₂ -NH-Pr	0,025	26,4	3,1	3,2	2,3	2,7
39	-SO ₂ -NH-iPr	0,029	20,1	3,4	2,9	1,1	1,43
40	-SO ₂ -NH-iBu	0,030	5,4	2,1	1,5	0,23	1,9
41	-SO ₂ -NH-Ph	0,023	3,2	3,5	18,5	0,23	0,27
42	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)Pr	0,02	2,9	3,2	3,2	0,30	0,43
43	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)iPr	0,03	2,7	2,0	0,34	1,7	1,7
44	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)NO ₂	0,037	17,3	6,2	3,1	0,12	1,9
47	-NH-SO ₂ -iPr	0,15	39,3	30,2	29,7	16,0	15,9
48	-NH-SO ₂ -Ph	0,028	26,2	3,6	3,1	2,5	3,4
49	-NH-SO ₂ -Ph-(<i>p</i>)iPr	0,028	4,0	3,3	31,7	0,32	0,34
50	-NH-SO ₂ -Ph-(<i>p</i>)NO ₂	0,042	40,2	32,4	35,7	3,3	3,5
Fluconazole		0,12	> 30	> 30	18,1	> 30	> 30

3.4- Évaluation complémentaire sur des souches *Candida albicans* résistantes ou de sensibilité réduite au fluconazole

Afin de connaître plus précisément l'activité de nos molécules sur des souches de *Candida albicans* résistantes ou de sensibilité réduite au fluconazole, nous avons entrepris des tests complémentaires sur trois souches présentant des mécanismes identifiés :

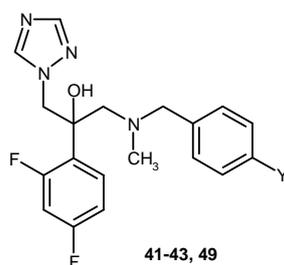
- La souche DSY735 (souche Sanglard), de sensibilité réduite au fluconazole, qui comporte les mutations D116E / K398N non impliquées dans la résistance aux azolés³¹ mais surtout de l'**efflux de type CDR1 / CDR2**.

- La souche CAAL61, résistante au fluconazole, qui comporte les **mutations G307S / Y447H** impliquées dans la résistance aux azolés³¹ et de l'**efflux de type CDR1 / CDR2**.

- La souche CAAL74, résistante au fluconazole, qui comporte les **mutations Y132F / G448V** impliquées dans la résistance aux azolés et E266D / V488I non impliquées dans la résistance aux azolés.³¹

La sélection des molécules (**41**, **42**, **43** et **49**) s'est faite selon des critères basés sur un large spectre d'activité et une taille relativement importante des composés.

Le **tableau 8** présente les résultats obtenus.



	Y	CI ₅₀ (µg / mL)		
		DSY735	CAAL61	CAAL74
41	-SO ₂ -NH-Ph	1,03	0,10	0,06
42	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)Pr	0,29	0,016	0,011
43	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)iPr	1,05	0,044	0,17
49	-NH-SO ₂ -Ph-(<i>p</i>)iPr	0,24	0,05	0,12
Fluconazole		12,55	> 30	> 30

Tableau 8 : Évaluation complémentaire sur des souches *Candida albicans* résistantes ou de sensibilité réduite au fluconazole.

Sur les trois souches, toutes ces molécules possèdent une forte activité antifongique. A des niveaux plus ou moins importants, elles s'affranchiraient donc des phénomènes de mutations et ne seraient pas substrats des pompes à efflux.

Pour comprendre l'implication des mutations dans les phénomènes de résistance et le fait que certaines molécules puissent les contourner, nous avons localisé leurs positions sur le modèle CYP51-*Candida albicans* et effectué une étude de docking avec le fluconazole (magenta) et le composé **41** (orange) (**figure 60**).

Nous pouvons noter que malgré un mécanisme d'action incertain, le composé **41** est en adéquation avec le modèle pharmacophorique préalablement établi par Sheng page 43 et impliquant les résidus clés Tyr118 et Ser378.⁹⁵ L'ajout du groupement sulfonyle permettrait en outre un meilleur ancrage de la molécule à l'intérieur du site actif par des liaisons-H supplémentaires impliquant l'His377.

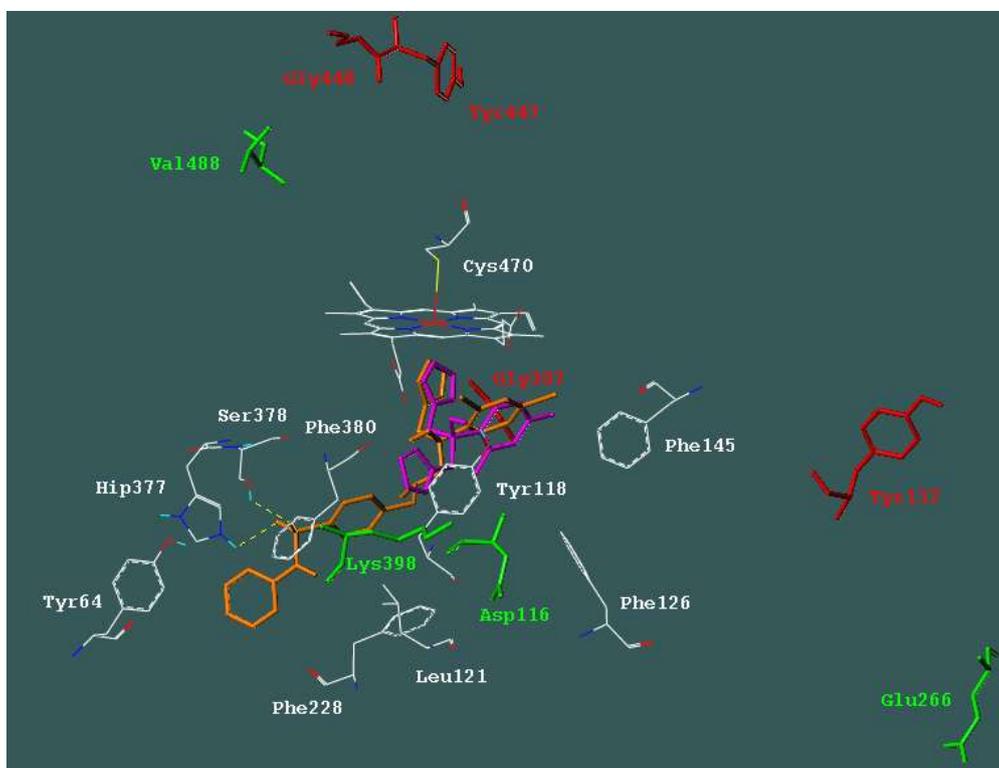


Figure 60 : Docking du composé **41** (isomère S) et du fluconazole dans le site actif de CYP51-CA

Pour ce qui est de la souche de *Candida albicans* CAAL74 uniquement sujette à des mutations, il est aisé de comprendre que les substitutions E266D / V488I, respectivement sur les hélices αG et αL , ne soient pas impliquées dans les phénomènes de résistance au fluconazole car éloignées du site actif. En revanche, la substitution Y132F seule est connue pour être associée à de la résistance au fluconazole.^{131,132,133} A première vue, cet acide aminé

¹³¹ Chau A.S. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, 48 (6), 2124-2131.

¹³² Goldman G.H. *et al.*, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2004**, 50 (1), 25-32.

¹³³ Perea S. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2001**, 45 (10), 2676-2684.

semble également éloigné du site actif mais il est positionné entre les hélices $\alpha B'$ et αC . Sur la structure cristalline de CYP51-*Mycobacterium tuberculosis* (CYP51-MYCTU), qui sert de référence aux différents modèles CYP51s fongiques depuis 2001, cette zone est soumise à de nombreux mouvements thermiques pouvant conduire à des changements conformationnels importants.⁹⁴ C'est donc une région délicate dont le comportement vis-à-vis d'un inhibiteur n'est pas évident à définir, et qui peut soit interférer avec l'entrée de l'inhibiteur, soit avec sa fixation dans le site actif si la boucle B'C adopte une conformation repliée,⁹⁴ comme celle rencontrée sur le cytochrome bactérien CYP102 (**figure 61**). Dans le cas d'un rapprochement de cet acide aminé vers le site actif, l'activité de nos molécules sur cette souche pourrait alors s'expliquer par une affinité renforcée et / ou des ajustements compensatoires dans le site actif, en comparaison avec le fluconazole de plus petite taille, sensible aux mutations et à la perte de sa coordination avec l'hème.

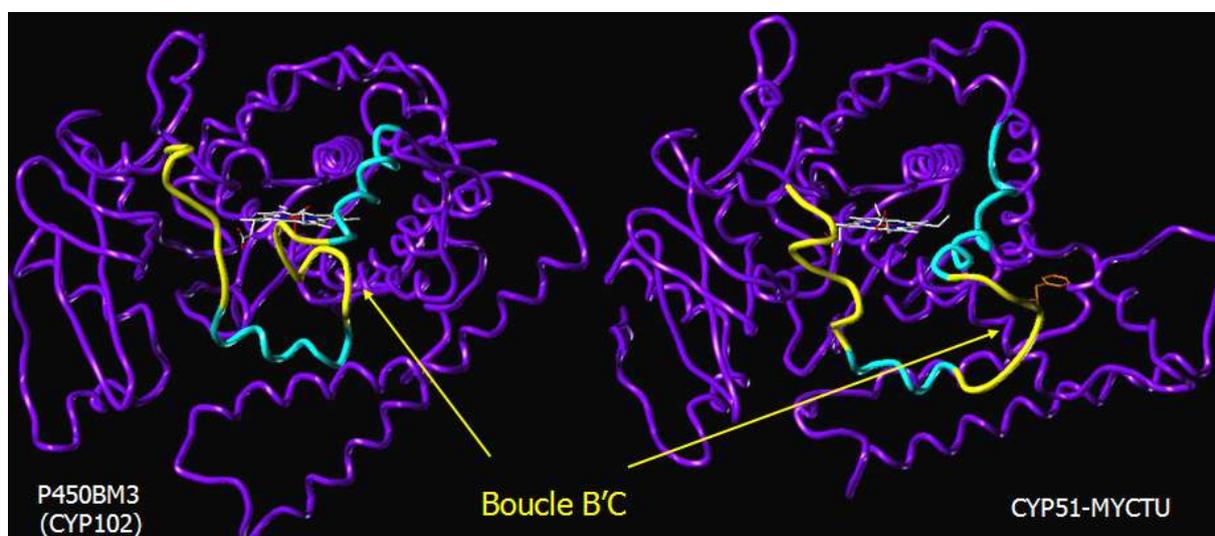


Figure 61 : Comparaison des structures cristallographiques

Sur la souche CAAL61 également sujette à des mutations et résistante au fluconazole, l'implication de la substitution G307S a également été démontrée.^{131,132,133} Localisé sur l'hélice αI , cet acide aminé est en contact avec les cycles triazole et difluorophényle des azolés (**figure 61**). Sa substitution est supposée avoir un effet négatif, au travers de conflits stériques, particulièrement sur les molécules de petites tailles qui sont plus sensibles à la perte de coordination avec l'hème (voriconazole, fluconazole).⁹⁰ Ainsi, pour les mêmes raisons que précédemment, nos molécules compenseraient cette gêne stérique par un meilleur ancrage dans le site actif.

Cependant, la combinaison G307S / Y447H découverte récemment par notre laboratoire de parasitologie et mycologie médicale sur un isolat clinique résistant au fluconazole et à l'itraconazole, mais sensible au voriconazole, est plus difficile à démontrer.³¹ En effet, la Tyr447 est située trop loin du site actif pour interférer directement avec le site de liaison aux azolés mais dans une zone qui n'a pas de correspondance en acides aminés chez CYP51-*Mycobacterium tuberculosis* (**figure 60**). Lors de l'élaboration des différents modèles

CYP51-*Candida albicans*, cette large insertion de plusieurs acides aminés (Ser436-Pro459) est donc modélisée comme une boucle dont le repliement 3D est en définitive inconnu (**figure 62**). L'implication de cette zone dans les mécanismes de résistance est indéniable puisque d'autres substitutions telles que G448E ou G448R ont également été décrites chez des isolats cliniques résistants au fluconazole et à l'itraconazole,^{134,135} ce qui démontre la perfectibilité des modèles CYP51s fongiques ou leurs certaines limites actuelles dans l'interprétation des données.

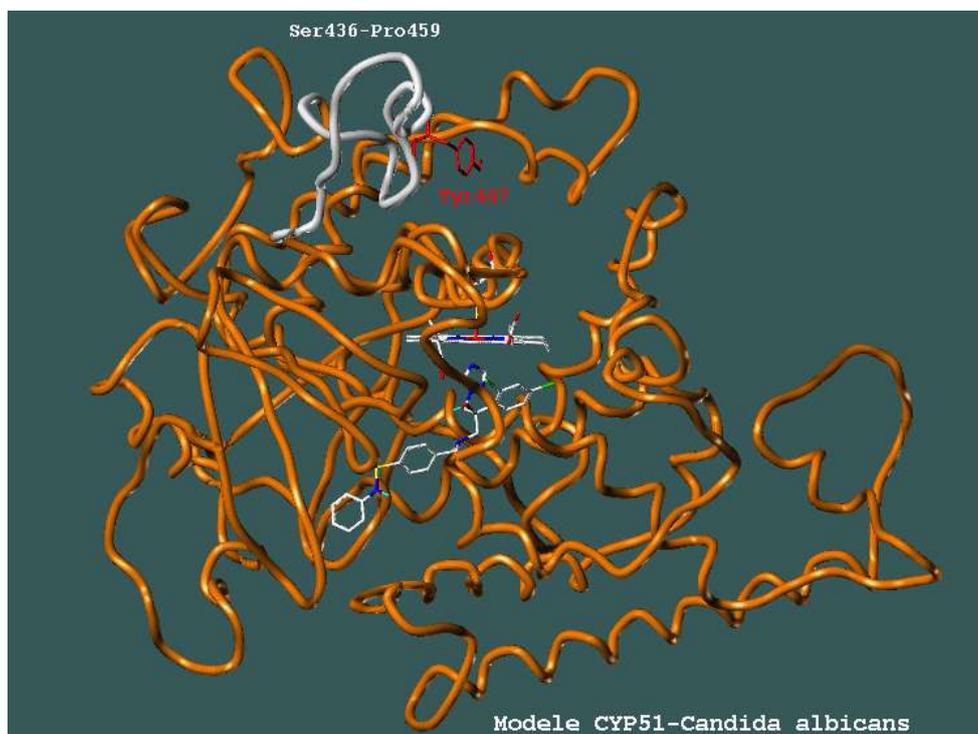


Figure 62 : Modèle CYP51-*Candida albicans*

¹³⁴ Löffler J. *et al.*, *FEMS Microbiol. Lett.*, **1997**, 151 (2), 263-268.

¹³⁵ White T.C. *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46 (6), 1704-1713.

III – Synthèse en série biaryle

1 – Approche rétrosynthétique

Ces composés peuvent être obtenus facilement en deux étapes. Le schéma rétrosynthétique mis en place pour accéder à ces molécules est décrit sur la **figure 63**.

L'étape clé de cette synthèse est un couplage de Suzuki entre différents acides ou esters boroniques et un dérivé iodé. Ce dernier est préparé aisément à partir du bromure de 4-iodobenzyle ou du bromure de 3-iodobenzyle par réaction avec l'amino alcool difluoré **4** suivant les conditions vu précédemment.

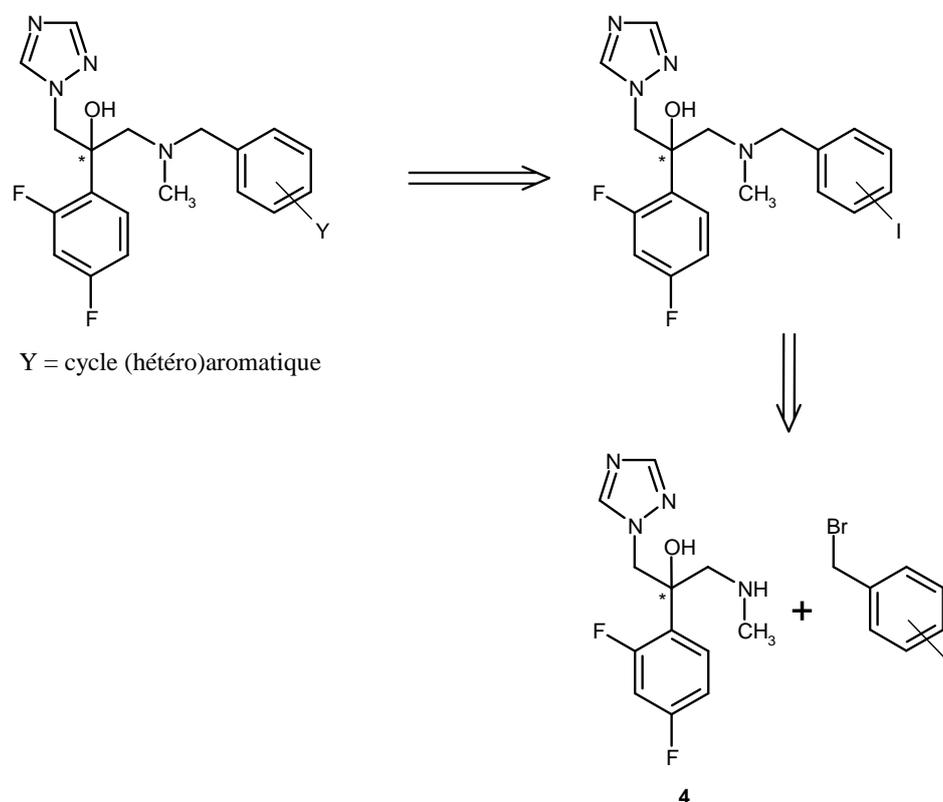


Figure 63 : Schéma rétrosynthétique menant aux biaryles

2 – Synthèse des 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl) et (3-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

Les dérivés iodés sont synthétisés par substitution nucléophile selon la **méthode O** (**figure 64**).

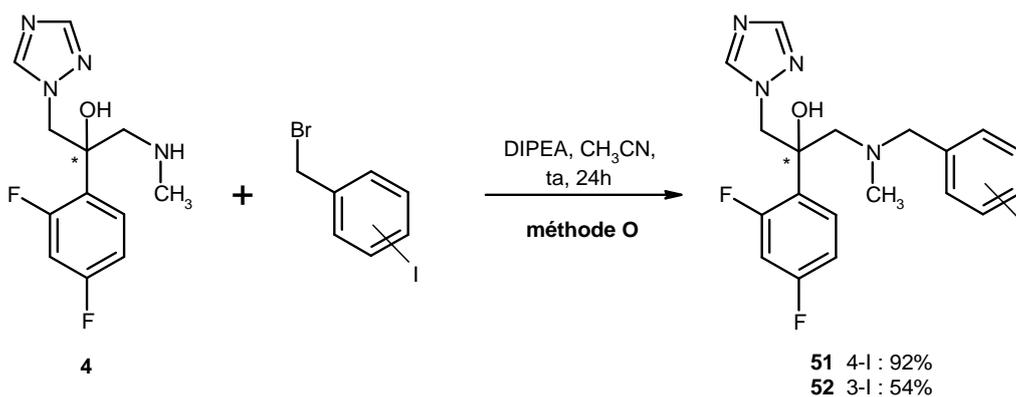


Figure 64 : Synthèse des intermédiaires iodés **51** et **52**

Les composés **51** et **52** sont isolés avec des rendements respectifs de 92 et 54%. Ils constituent des précurseurs idéals pour des réactions de couplage organo-palladié.

3 – Introduction des cycles (hétéro)aromatiques par couplage de Suzuki

3.1- Le couplage de Suzuki

Le couplage de Suzuki¹³⁶ permet la formation d'une liaison carbone-carbone. L'intérêt de cette réaction réside dans l'utilisation d'esters ou d'acides boroniques, composés stables et peu toxiques. De plus, un grand nombre de ces produits sont disponibles commercialement. Cette réaction tolère aussi la présence d'une large variété de groupes fonctionnels et conduit généralement à de bons rendements avec une bonne sélectivité. Les autres avantages de ce couplage sont la faible quantité de catalyseur requise, l'utilisation possible de nombreux solvants à différentes températures.¹³⁷

Le cycle catalytique proposé pour cette réaction de couplage catalysée par le palladium entre un dérivé halogéné ou un triflate et un composé organométallique est décrit sur la **figure 65**.^{136,138}

¹³⁶ Miyaura N. *et al.*, *Chem. Rev.*, **1995**, 95 (7), 2457-2483.

¹³⁷ Corbet J.-P. *et al.*, *Chem. Rev.*, **2006**, 106 (7), 2651-2710.

¹³⁸ Moreno-Manas M. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61 (7), 2346-2351.

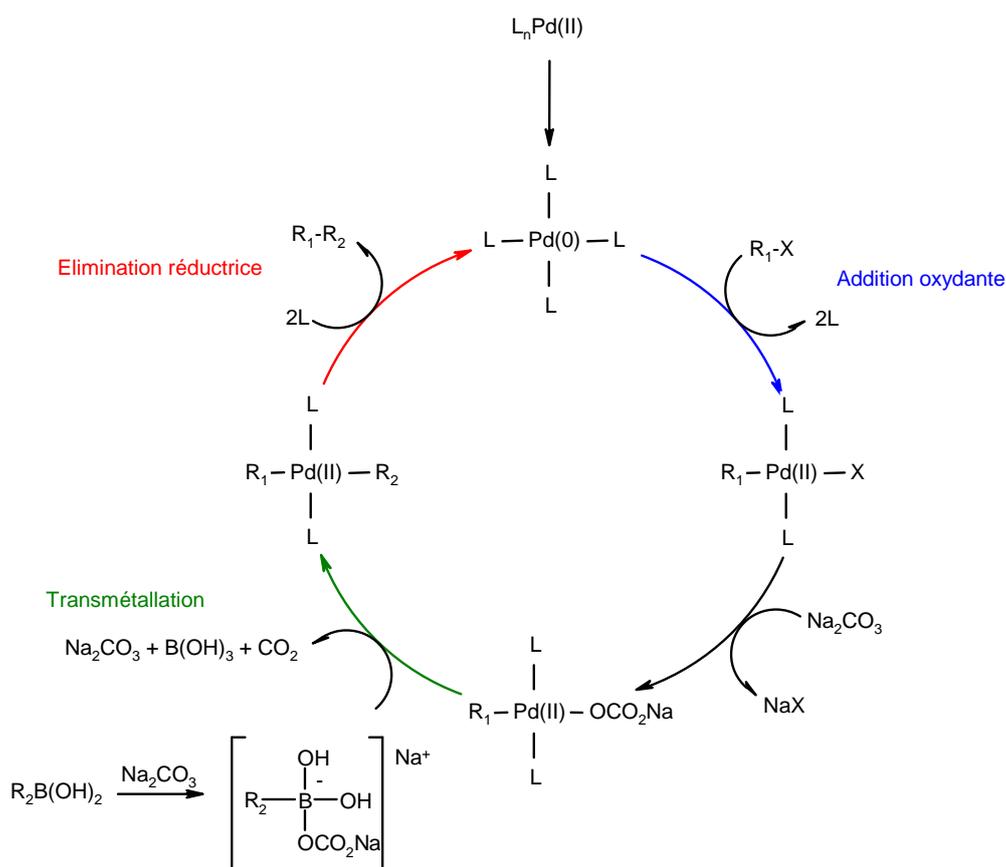


Figure 65 : Cycle catalytique du couplage de Suzuki

Ce couplage implique des catalyseurs au palladium (0) (par exemple $Pd(PPh_3)_4$) commerciaux ou alors générés *in situ* à partir d'un sel de palladium (II) (par exemple $PdCl_2$ ou $Pd(OAc)_2$) facilement réduit en complexe Pd (0) actif.

Le cycle est initié par l'addition oxydante du dérivé halogéné (ou de son analogue) sur le métal pour former un complexe de palladium (II). Cette étape s'effectue concomitamment avec un échange de deux ligands autour de la sphère de coordination du complexe de palladium. La vitesse de l'addition oxydante va dépendre de la nature du groupement partant sur l'aromatique : $I > OTf > Br \gg Cl$. L'encombrement stérique de l'halogénure d'aryle n'est pas un facteur déterminant. Par contre, les aryales substitués par un groupement électroattracteur seront plus réactifs que ceux possédant un groupement électrodonneur. De plus, l'addition oxydante est également influencée par la nature des phosphines entourant le complexe de palladium.

La base joue ensuite un rôle important : elle active le complexe palladié en formant, par substitution de l'halogénure, un complexe $R_1-Pd(II)-OH$ qui facilite la réaction de transmétallation.

La base permet aussi la formation d'un « ate » complexe par association avec l'acide boronique. La nucléophilie du groupe porté par le bore est ainsi augmentée.

Lors de l'étape de transmétallation, l'atome d'halogène est remplacé par un résidu organique au sein du complexe *trans* R₁Pd(II)X. Elle s'accompagne d'une libération d'acide borique et de base.

Enfin, le cycle catalytique se termine par une double élimination réductrice. Cette étape permet la formation de la liaison R₁-R₂ et la régénère le catalyseur palladié. L'élimination ne peut s'opérer que si les résidus R₁ et R₂ sont en position *cis* dans le complexe plan carré. Cette isomérisation s'effectue juste avant la formation de la liaison carbone-carbone.

Depuis la publication des travaux de Suzuki et Miyaura en 1981, de nombreuses applications et variantes de cette réaction ont été développées pour conduire à différents produits de couplage. Ainsi différents systèmes de catalyseurs ont été développés. Nous citerons par exemple (PPh₃)₂PdCl₂ ou (CH₃CN)₂PdCl₂,¹³⁹ (dppf)PdCl₂,¹⁴⁰ Pd(dba)₂,¹⁴¹ Pd(OAc)₂,¹⁴² Pd(OAc)₂/(*o*-tol)₃P ou Pd(OAc)₂/dppf,¹⁴³ Pd/C,¹⁴⁴ le palladium supporté,¹⁴⁵ ou encore des catalyseurs au nickel comme (PPh₃)₂NiCl₂¹⁴⁶ ou NiCl₂.6H₂O.¹⁴⁷ Les trialkyles phosphines moins onéreuses sont aussi utilisées lors de certains couplages.¹⁴⁸ Une autre alternative aux ligands phosphines (sensibles à l'air) est l'emploi de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane (Dabco), une amine tertiaire stable et peu chère.¹⁴⁹

De même, lors de ce couplage plusieurs bases peuvent être employées suivant les conditions opératoires mises en place (Na₂CO₃, K₂CO₃, NaOH, *t*-BuOK, K₃PO₄, Cs₂CO₃, CsF...).

Ce couplage peut aussi se réaliser à partir de sels de bore. Ainsi, Darses et Genêt ont décrit le couplage d'acides arylboroniques avec des sels de diazonium tétrafluoroborates aromatiques.¹⁵⁰ De même, par la suite le couplage de sels de potassium trifluoroborates d'aryles ou d'hétéroaryles avec des halogénures d'aryles ou d'hétéroaryles est rapporté par Molander.¹⁵¹ En général, les sels de trifluoroborates sont plus nucléophiles que les analogues acides boroniques, et plus stables lors de long stockage.

¹³⁹ Ishiyama T. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63 (14), 4726-4731.

¹⁴⁰ Jiang N. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47 (2), 197-200.

¹⁴¹ Bei X. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64 (18), 6797-6803.

¹⁴² Wallow T.I. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59 (17), 5034-5037.

¹⁴³ Thompson W.J. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53 (9), 2052-2055.

¹⁴⁴ Tagata T. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68 (24), 9412-9415.

¹⁴⁵ Inada K. *et al.*, *Tetrahedron*, **2000**, 56 (44), 8661-8664.

¹⁴⁶ Inada K. *et al.*, *Tetrahedron*, **2000**, 56 (44), 8657-8660.

¹⁴⁷ Zim D. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43 (22), 4009-4011.

¹⁴⁸ Griffiths C. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41 (14), 2487-2490.

¹⁴⁹ Li J.-H. *et al.*, *Org. Lett.*, **2004**, 6 (16), 2809-2811.

¹⁵⁰ Darses S. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (22), 3857-3860.

¹⁵¹ Molander G.A. *et al.*, *Org. Lett.*, **2002**, 4 (11), 1867-1870.

3.2- Arylation des composés iodés 51 et 52

Dans notre cas, les composés **51** et **52** sont dans un premier temps arylés en utilisant l'acide phénylboronique, avec une catalyse au tétrakis(triphénylphosphine)palladium en présence de carbonate de sodium comme base, en milieu hydroéthanolique / toluène. Les produits de couplage **53** et **54** sont isolés avec des rendements de 67 et 56%. Selon la même méthode, le dérivé **51** est couplé avec l'acide 4-méthoxyphénylboronique et le produit **55** est isolé avec un rendement de 75% (**figure 66**).

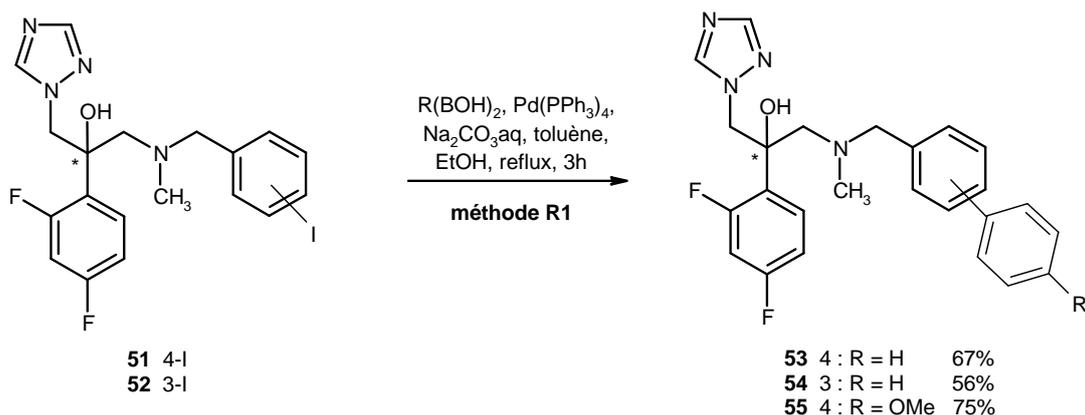


Figure 66 : Couplage de Suzuki menant aux composés **53**, **54** et **55**

La **méthode R1** mise en place pour obtenir les composés **53**, **54** et **55** ne s'est pas avérée efficace avec des acides phénylboroniques substitués en *para* par des groupements électroattracteurs (CN, NO_2 , CF_3). En effet, des problèmes de conversion totale du dérivé iodé ainsi que des problèmes de solubilité de certains acides boroniques n'ont pas permis d'isoler les produits de couplage de manière satisfaisante. Le changement de solvant et l'utilisation de DMF n'améliore pas les résultats.

Afin de contourner ces problèmes, des essais sous irradiation micro-ondes ont été réalisés, conduisant à de meilleurs résultats (**figure 67**).¹⁵²

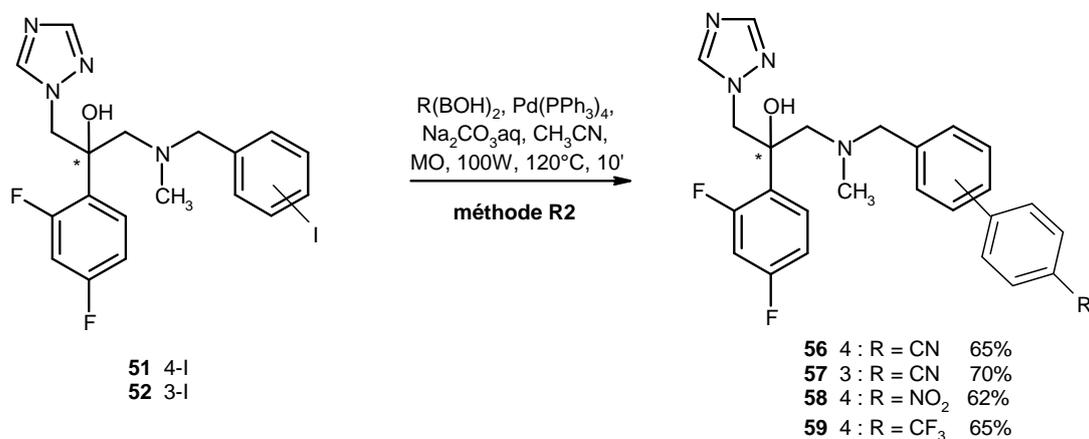


Figure 67 : Couplage de Suzuki menant aux composés **56-59**

¹⁵² Gong Y. *et al.*, *Org. Lett.*, **2002**, 4 (22), 3803-3805.

Partie A

La réaction s'effectue dans un milieu acétonitrile / eau avec le même catalyseur et la même base, au micro-ondes à 120°C sous 100W. Après un faible temps de réaction de 10 minutes les composés **56-59** sont isolés avec des rendements de l'ordre de 65%.

Pour l'introduction de divers hétérocycles, la **méthode R2** ayant donné satisfaction, les mêmes conditions opératoires ont été utilisées (**figure 68**).

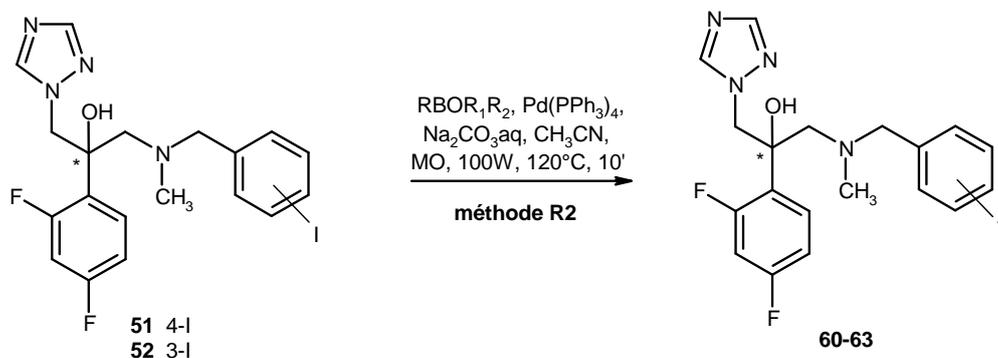


Figure 68 : Couplage de Suzuki menant aux composés **60-63**

Le couplage de l'acide pyridin-3-ylboronique, de l'ester de pinacol de l'acide pyridin-4-ylboronique et de l'ester de pinacol de l'acide 1-méthylpyrazol-3-ylboronique avec les dérivés **51** ou **52** conduit à la formation de quatre nouveaux produits originaux. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le **tableau 9**. Les molécules **60-63** sont isolées avec des rendements allant de 41 à 56%.

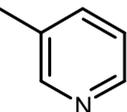
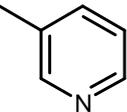
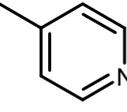
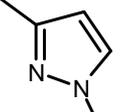
Produits	Position	Y	Rendements
60	4		41%
61	3		56%
62	4		53%
63	4		53%

Tableau 9 : Hétérocycles introduits selon la **méthode R2**

4 – Synthèse de dérivés 6-aminés du 2-(2,4-difluorophényl)-1-{{4-(pyridin-3-yl)phénylméthyl}méthylamino}-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **60**

4.1- Principe et schéma rétrosynthétique

Afin d'allonger la taille de nos molécules et de rester linéaire à l'image des molécules utilisées en thérapeutique (itraconazole et posaconazole), nous avons envisagé d'introduire de nouvelles pharmacomodulations en position 6 du noyau pyridinique en série pyridin-3-yl (analogue **60**). L'approche rétrosynthétique mise en place pour ces composés est décrite sur la figure 69.

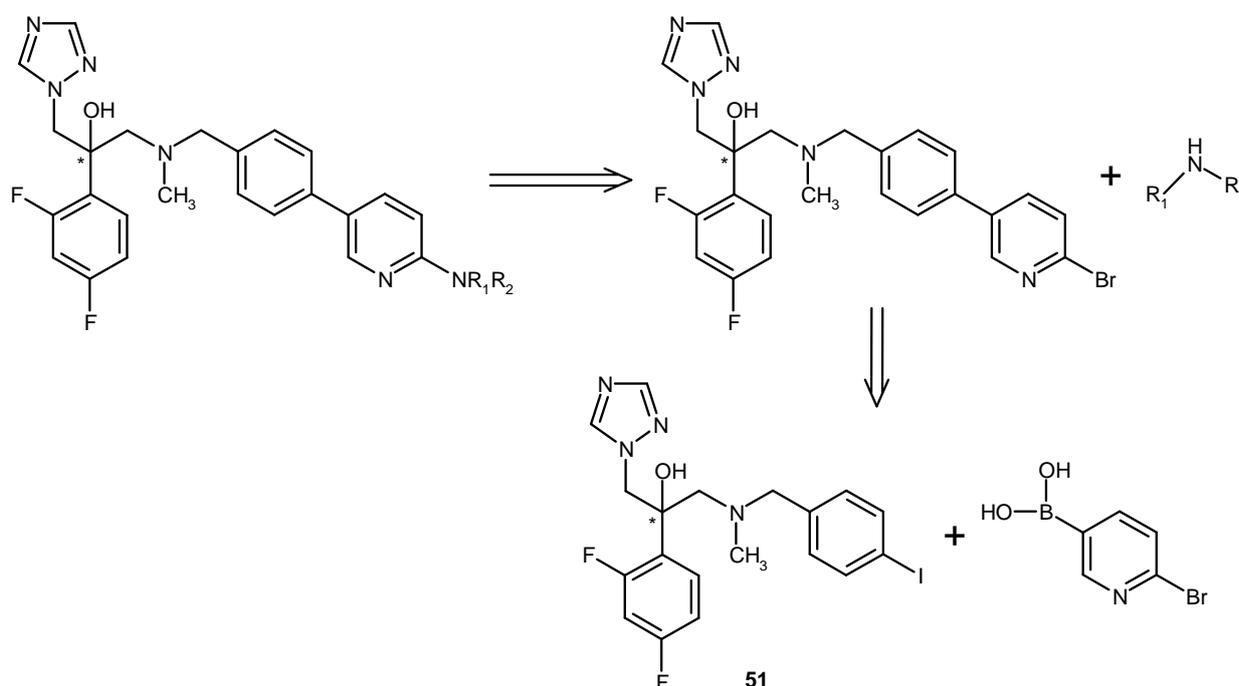


Figure 69 : Schéma rétrosynthétique menant aux composés 6-aminés du produit **60**

Les composés présentant une fonction amine en position 6 de la pyridine peuvent être synthétisés à partir de l'analogue bromé qui pourra réagir avec différentes amines selon une substitution nucléophile aromatique ou un couplage organopalladié. Le produit bromé est lui obtenu par couplage de Suzuki entre le composé **51** et l'acide 2-bromopyridin-5-ylboronique.

4.2- Formation de l'acide 2-bromopyridin-5-ylboronique

Ce produit étant onéreux, il est synthétisé à partir de la 2,5-dibromopyridine. Dans un premier temps, un échange régiosélectif halogène-lithium est réalisé dans l'éther à basse température en présence de *n*-butyllithium. Puis, la réaction avec du triisopropyle borate

suivie d'une hydrolyse conduit à la formation de l'acide boronique correspondant (**figure 70**).^{153,154}

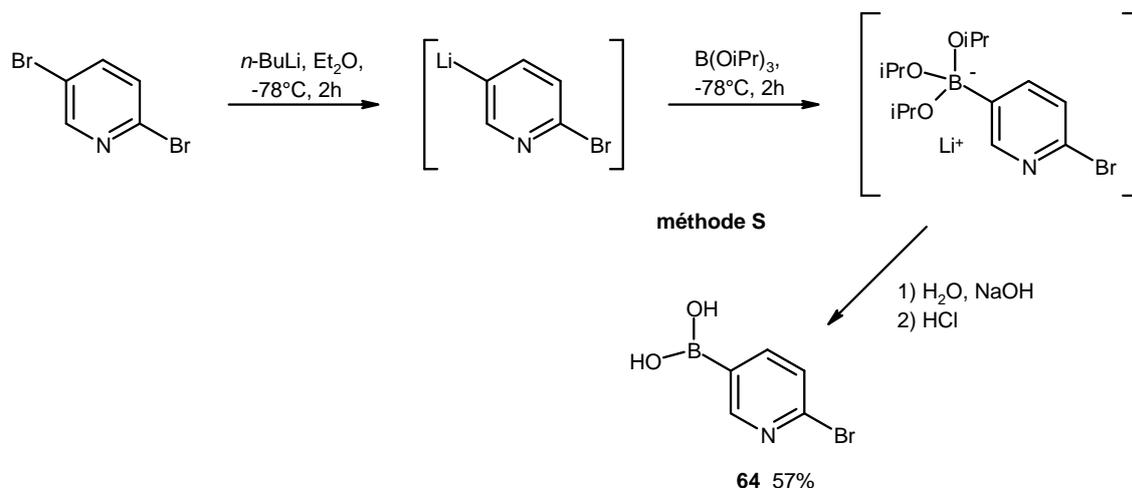


Figure 70 : Synthèse de l'acide 2-bromopyridin-5-ylboronique **64**

L'acide 2-bromopyridin-5-ylboronique **64** est isolé avec un rendement de 57%. La lithiation de la 2,5-dibromopyridine s'effectue exclusivement en position 5 selon un procédé thermodynamique.¹⁵⁵ En effet l'anion formé en position 2 serait déstabilisé par répulsion avec le doublet libre de l'atome d'azote adjacent.¹⁵⁶

4.3- Couplage de Suzuki

L'acide boronique **64** est ensuite engagé dans un couplage de Suzuki avec le dérivé iodé **51**. L'emploi du four à micro-ondes limitant les quantités de réactifs engagés, les conditions de Parry *et al.* en chauffage classique ont été utilisées (**figure 71**).¹⁵⁴ Le produit de couplage **65** est isolé avec un rendement de 60%.

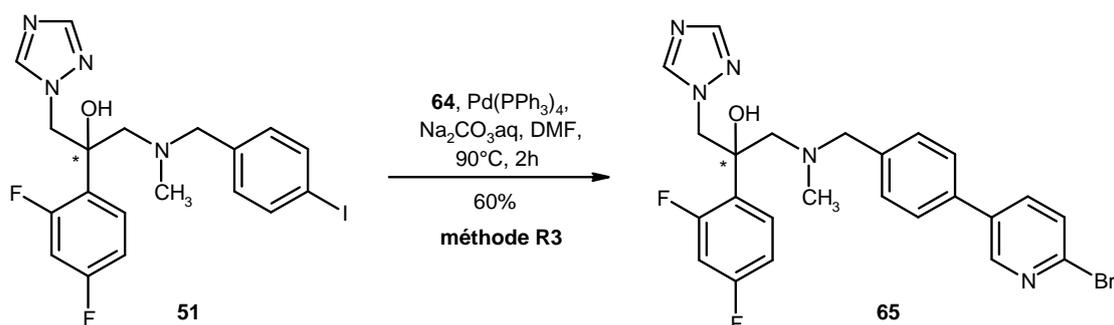


Figure 71 : Couplage de Suzuki menant au composé **65**

¹⁵³ Bouillon A. *et al.*, *Tetrahedron*, **2002**, 58 (14), 2885-2890.

¹⁵⁴ Parry P.R. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67 (21), 7541-7543.

¹⁵⁵ Parham W.E. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1977**, 42 (2), 257-260.

¹⁵⁶ Zoltewicz J.A. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91 (20), 5501-5505.

L'atome de brome en position 2 de la pyridine permet d'envisager l'introduction de différentes amines. Ces nouvelles pharmacomodulations peuvent être mises en place par simple substitution nucléophile aromatique ou par couplage organo-palladié.

4.4- Introduction d'amines par substitution nucléophile

Dans un premier temps, le déplacement de l'atome de brome par une amine a été expérimenté. Ainsi la *N*-méthylpipérazine est mise en réaction avec le composé **65** suivant différentes conditions (**figure 72**).

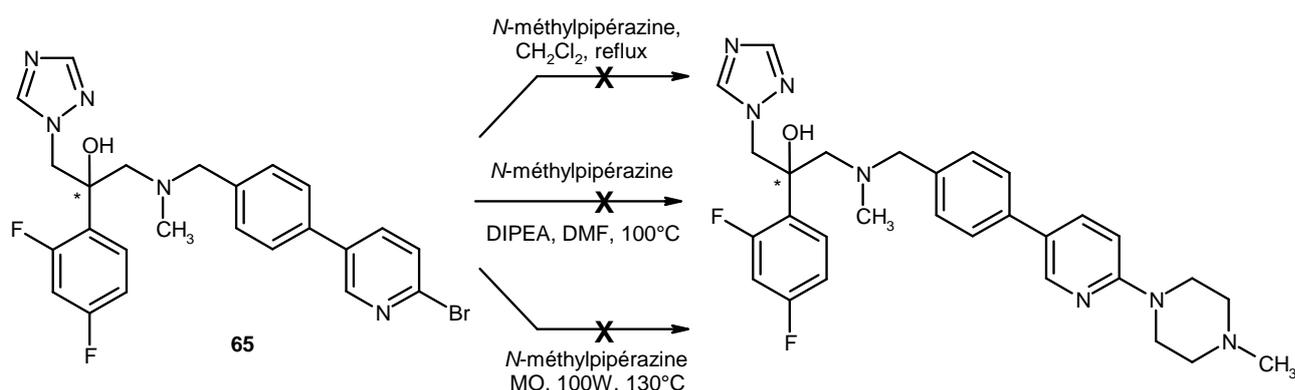


Figure 72 : Essais de substitution du brome par la *N*-méthylpipérazine

Plusieurs méthodes sont décrites dans la littérature pour des substitutions nucléophiles en position 2 de la pyridine. Dans un premiers temps, le dérivé **65** est mis en réaction avec la *N*-méthylpipérazine au reflux du dichlorométhane.¹⁵⁷ Mais ces conditions ne mènent à aucune réaction. L'utilisation de DIPEA dans le DMF à 100°C fournit un mélange de produit de départ et de dégradation.¹⁵⁸ Enfin, l'essai sous irradiation micro-ondes a conduit à la dégradation du milieu réactionnel.

Les différentes méthodes testées n'ayant pas permis d'obtenir les molécules cibles, un couplage de type Buchwald / Hartwig a été envisagé.

4.5- Introduction d'amines par couplage organopalladié

4.5.1- Le couplage de Buchwald / Hartwig

Depuis les premiers travaux publiés par Buchwald et Hartwig^{159,160} sur l'amination d'halogénures d'aryles, un intérêt considérable s'est développé autour de ces réactions de couplage. Ainsi, par une combinaison appropriée de la source de palladium, du ligand, de la base et du solvant, le couplage permet la création d'une liaison carbone-azote. Cette réaction

¹⁵⁷ Tsou H.-R. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51 (12), 3507-3525.

¹⁵⁸ Tran J.A. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2007**, 50 (25), 6356-6366.

¹⁵⁹ Louie J. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36 (21), 3609-3612.

¹⁶⁰ Guram A.S. *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, 34 (12), 1348-1350.

présente de nombreux intérêts. En effet, elle peut s'appliquer à de nombreuses amines et à de nombreux dérivés halogénés, avec une large flexibilité de groupes fonctionnels. De nombreux exemples sont décrits dans la littérature avec en général de bons rendements et une bonne sélectivité. Ce couplage peut être réalisé dans des conditions douces. Le cycle catalytique général de création de liaison C-N proposé comporte trois principales étapes (**figure 73**).¹³⁷

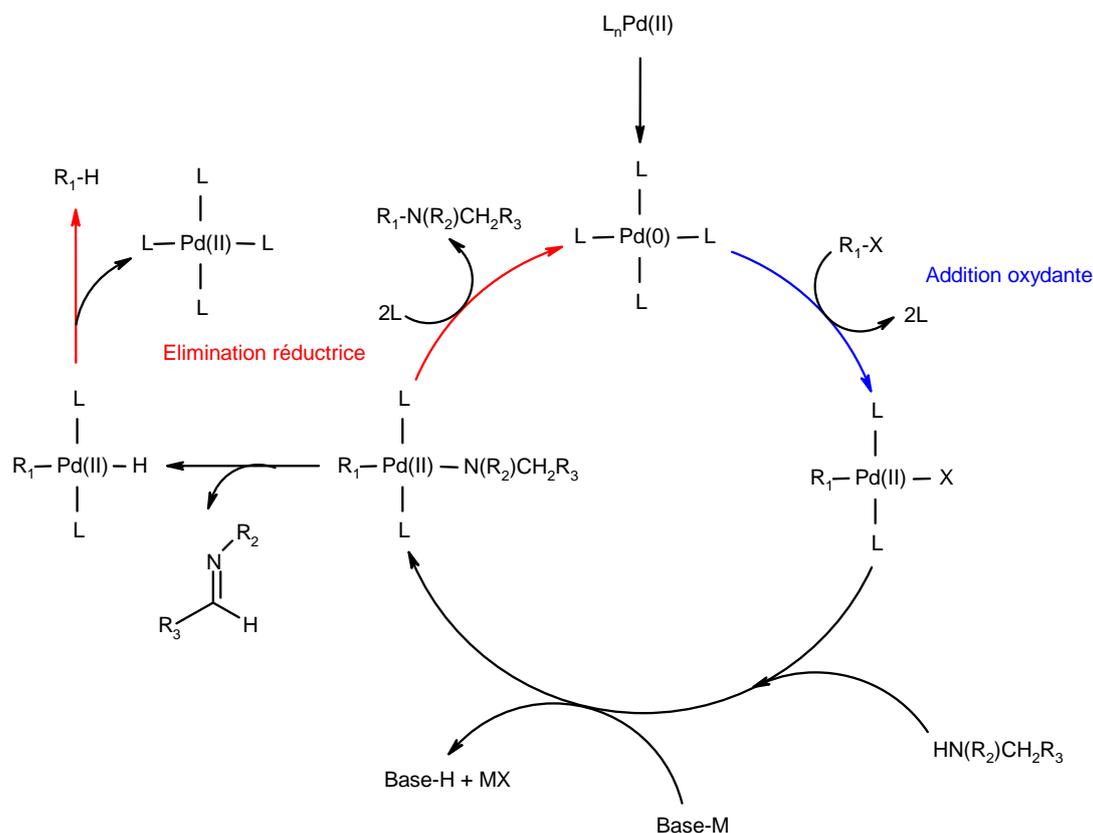


Figure 73 : Cycle catalytique du couplage de Buchwald / Hartwig

Une première étape d'addition oxydante s'effectue par réaction du complexe de palladium (0) avec le dérivé halogéné (ou analogue). La seconde étape consiste en la coordination et la déprotonation de l'amine. Un intermédiaire de type amide tertiaire au palladium est obtenu par arrachement du proton de l'amine coordonnée (**figure 74**). Lors de cette étape, la capacité de la base à arracher le proton est un paramètre primordial.

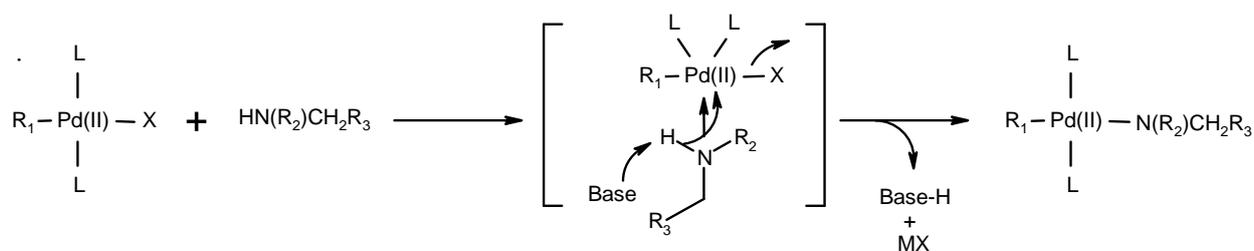


Figure 74 : Coordination et déprotonation de l'amine

La troisième étape est l'élimination réductrice au cours de laquelle l'amine souhaitée est obtenue et le palladium (0) régénéré. Il est à noter qu'au cours de ce cycle catalytique une élimination supplémentaire peut avoir lieu. Cette réaction secondaire formant une imine et un complexe palladium-H, peut ensuite conduire à la formation d'un sous produit R₁-H par β-élimination réductrice.

L'utilisation de ligands chélatants (en général des phosphines) peut réduire fortement l'impact de cette réaction secondaire. Les ligands riches en électrons augmentent la densité électronique autour du palladium facilitant ainsi l'étape d'addition oxydante. Les ligands encombrés eux, favorisent l'élimination réductrice. Actuellement, il existe une large variété de ligands permettant ces réactions de couplage, notamment des ligands phosphines bidentés ou aminophosphines.¹⁶¹

4.5.2- Couplages réalisés

Dans le cadre de nos travaux, un couplage de Buchwald / Hartwig a été mis en œuvre à partir du dérivé bromé **65** et de la *N*-méthylpipérazine. Ces deux composés sont mis en réaction en tube scellé, à 100°C dans le toluène en présence de tris(dibenzylidène acétone)dipalladium (Pd₂(dba)₃), d'une base et d'un ligand, suivant les conditions décrites par Buchwald *et al.* pour la synthèse d'aminopyridines (**figure 75**).¹⁶²

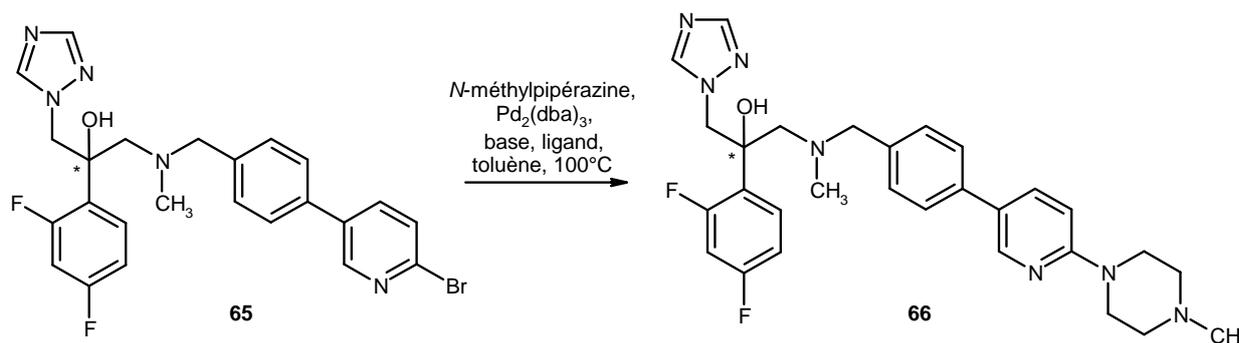


Figure 75 : Couplage de Buchwald / Hartwig menant au dérivé **66**

Plusieurs conditions ont été testées avant de trouver des conditions favorables pour ce couplage. Les différents essais sont résumés dans le **tableau 10**.

Essai	Ligand	Base	Rendements
1	dppp	Cs ₂ CO ₃	pas de réaction
2	dppp	<i>t</i> -BuONa	traces de produit
3	(±) BINAP	<i>t</i> -BuONa	82%

Tableau 10 : Conditions de couplage

¹⁶¹ van Leeuwen P.W.N.M. *et al.*, *Chem. Rev.*, **2000**, 100 (8), 2741-2770.

¹⁶² Wagaw S. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61 (21), 7240-7241.

Le premier essai de couplage utilisant le 1,3-bis(diphénylphosphino)propane (dppp) comme ligand et le carbonate de césium comme base ne mène à aucune réaction après un temps prolongé de réaction. De même, le remplacement de la base par le *tert*-butanolate de sodium ne permet d'obtenir que des traces de produit désiré (essai 2). Finalement, l'utilisation de 2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle racémique ((±) BINAP) avec du *t*-BuONa à 100°C pendant 2 heures conduit à la formation du produit **66** avec un rendement de 82% (**méthode T**).

Ces conditions opératoires ont ensuite été exploitées pour introduire d'autres amines. Dans un premier temps, la morpholine est couplée selon la **méthode T** pour conduire au dérivé **67** avec un rendement de 72% (**figure 76**).

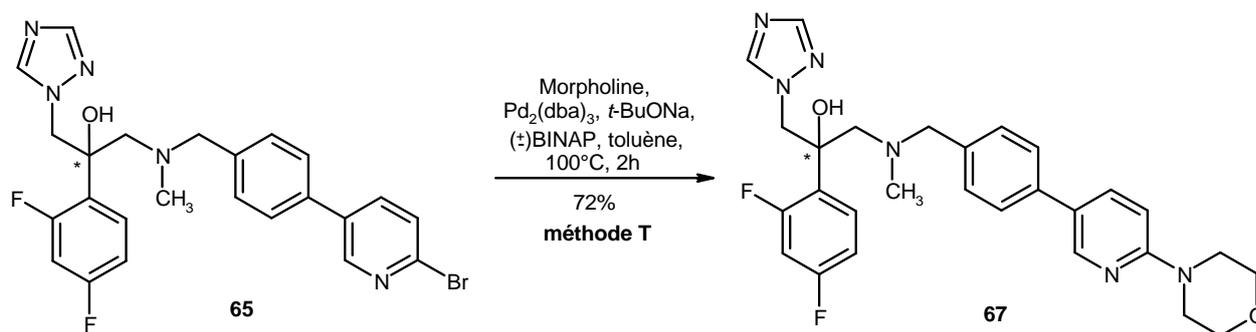


Figure 76 : Couplage de Buchwald / Hartwig menant au dérivé **67**

L'introduction d'un groupement amine a ensuite été envisagée. De nombreuses méthodes permettant la synthèse de la 2-aminopyridine à partir de la 2-bromopyridine sont décrites dans la littérature. A titre d'exemple, nous citerons les réactions de substitution nucléophile en présence d'amidure de sodium dans l'ammoniac,¹⁶³ ou les couplages avec l'ammoniac aqueux par catalyse au cuivre.^{164,165} Une autre possibilité est le couplage organopalladié d'une amine protégée ((Me₃Si)₂NLi,¹⁶⁶ F¹⁶⁶Boc-NH₂,¹⁶⁷ ou encore SES-NH₂¹⁶⁸), suivie d'une étape de déprotection. Buchwald¹⁶⁹ et Hartwig¹⁷⁰ ont aussi décrit l'amination catalytique en présence de benzophénone imine. Le produit de couplage formé peut alors être clivé pour permettre la formation d'une amine primaire. Cette conversion peut être réalisée par hydrogénation catalytique avec du Pd / C,¹⁷¹ par transamination avec l'hydroxylamine¹⁷² ou par traitement avec de l'acide chlorhydrique dans le THF.¹⁷³

¹⁶³ Hauser C.R. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1949**, 14 (2), 310-321.

¹⁶⁴ Xia N. *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48 (2), 337-339.

¹⁶⁵ Elmkaddem M. *et al.*, *Chem. Commun.*, **2010**, 46 (6), 925-927.

¹⁶⁶ Lee S. *et al.*, *Org. Lett.*, **2001**, 3 (17), 2729-2732.

¹⁶⁷ Trabanco A.A. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72 (21), 8146-8148.

¹⁶⁸ Anjanappa P. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49 (31), 4585-4587.

¹⁶⁹ Wolfe J.P. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38 (36), 6367-6370.

¹⁷⁰ Mann G. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120 (4), 827-828.

¹⁷¹ Wessjohann L. *et al.*, *Synthesis*, **1989**, 05, 359-363.

¹⁷² Fasth K.-J. *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1988**, 3081-3084.

¹⁷³ O'Donnell M.J. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 19 (30), 2641-2644.

Cette synthèse a été appliquée à nos composés. Ainsi le dérivé **65** est couplé avec la benzophénone imine selon la **méthode T**. Une deuxième étape de clivage en présence de chlorhydrate d'hydroxylamine et d'acétate de sodium dans le méthanol libère l'amine primaire (**figure 77**).¹⁷⁴

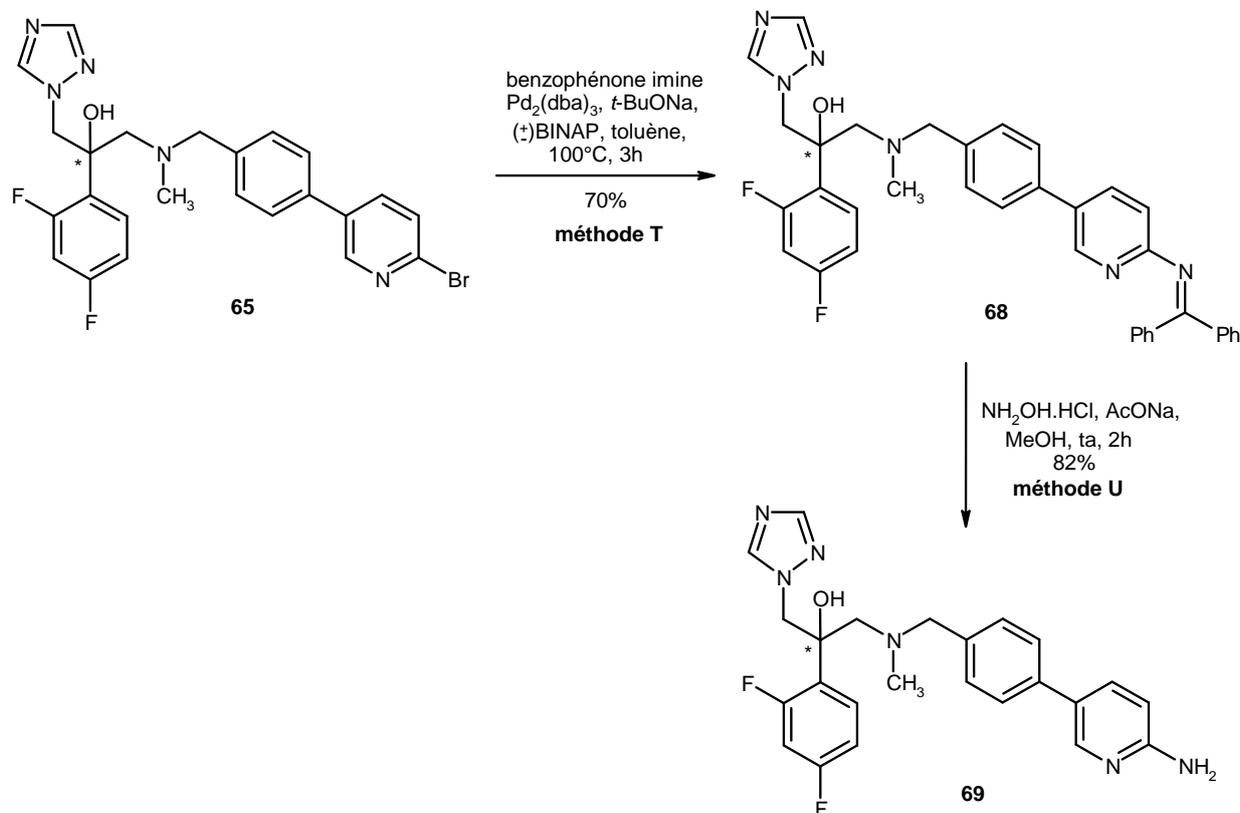


Figure 77 : Synthèse du dérivé aminé **69**

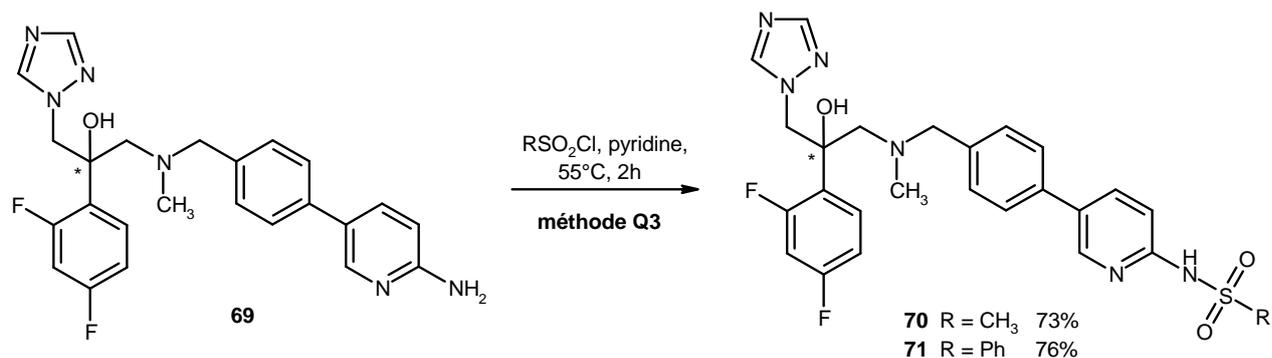
Le composé **69** est synthétisé avec un rendement global de 57%. Cette méthode s'avère donc efficace pour la formation d'amine primaire sur nos composés.

4.6- Pharmacomodulation du 1-[[4-(6-aminopyridin-3-yl)phénylméthyl]méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **69**

La fonction amine du composé **69** est ensuite exploitée pour introduire un nouvel accepteur de liaison hydrogène de type sulfonamide. Ainsi, l'amine **69** est mise en réaction avec le chlorure de méthanesulfonyle et avec le chlorure de benzènesulfonyle dans la pyridine. Deux nouveaux dérivés sulfonamides sont ainsi synthétisés (**figure 78**).¹⁷⁵

¹⁷⁴ Liu Z. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16 (14), 6675-6681.

¹⁷⁵ Filla S.A. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46 (14), 3060-3071.

Figure 78 : Synthèse des sulfonamides **70** et **71**

Les produits **67** et **68** sont préparés avec des rendements respectifs de 73 et 76%.

5 – Évaluation pharmacologique et discussion

5.1- Résultats pharmacologiques

Dix-sept nouvelles molécules ont été préparées dans la série 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(bi-arylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol. Ces composés ont été évalués sur les souches de *Candida albicans* CA98001 (sensible au fluconazole) et d'*Aspergillus fumigatus* AF98003.

La plupart des molécules possèdent des activités intéressantes sur les deux souches (**tableaux 11** et **12**).

L'introduction de cycles phényles en *para* de la benzylamine (**53**, **55**, **56**, **58**, **59**) et en lieu et place d'un accepteur de liaison-H comme mentionné dans le pharmacophore de Sheng,⁹⁵ fournit des composés possédant de fortes activités, comparables au voriconazole, sur la souche de *Candida albicans* ($33 \geq \text{CMI} \geq 3 \text{ ng / mL}$). Le composé **53** (CMI = 3 ng / mL) dépourvu de toute autre substitution est par ailleurs aussi actif que les composés **55**, **56** et **58** porteurs de substituants électrodonneurs ou électroattracteurs supplémentaires, suggérant une influence mineure de ces derniers.

De plus, quelque soit la nature des cycles aromatiques non substitués de type phényle (**53**), pyridinyle (**60**, **62**) ou pyrazolyle (**63**), positionnés sur la benzylamine, les résultats sont homogènes sur les deux souches avec des CMI parmi les plus basses rencontrées sur *Candida albicans* ($10 \geq \text{CMI} \geq 3 \text{ ng / mL}$). La présence d'un hétéroatome ne semble donc pas être l'élément indispensable à une bonne activité biologique.

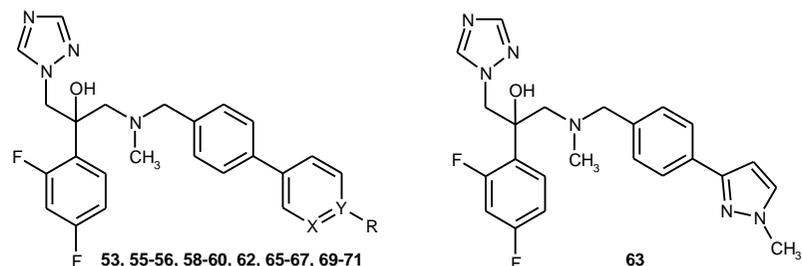
En revanche, les résultats sont plus hétérogènes en série pyridin-3-yle où les diverses substitutions influencent inégalement les activités antifongiques. Si la présence de l'intermédiaire bromé (**65**) ou d'une morpholine (**67**) ne modifie pas le profil pharmacologique général, un motif sulfonamide (**70**, **71**) engendre surtout une perte de l'activité sur la souche d'*Aspergillus* alors que la substitution par une *N*-méthylpipérazine (**66**) a un effet négatif sur celle de *Candida*. La différence d'activité sur la souche de *Candida*

Partie A

albicans entre les composés **66** (MIC = 117 ng / mL) et **67** (MIC = 6 ng / mL) est assez surprenante et pourrait être imputée à des effets stérique et / ou électrostatique.

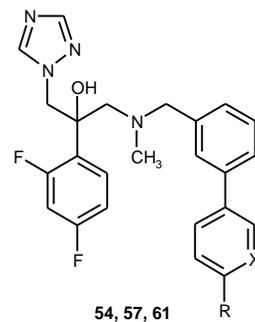
Enfin, l'introduction de cycles aryles en *méta* de la benzylamine (**54**, **57**, **61**) semble être préjudiciable sur *Candida albicans* mais surtout sur *Aspergillus fumigatus* comparée aux dérivés *para* substitués (**53**, **56** et **60**), suggérant une possible influence de la géométrie (linéaire ou coudée) pour une activité antifongique optimale élargie aux champignons filamenteux.

Tableau 11 : Évaluation en série 1-[(biarylméthyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (**53**, **55-56**, **58-60**, **62-63**, **65-67**, **69-71**).



N°	X	Y	R	CMI ou CI ₈₀			
				<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
				μM	μg / mL	μM	μg / mL
53	C	C	H	0,007 ± 0,002	0,003 ± 0,0009	6,3 ± 0,3	2,7 ± 0,1
55	C	C	OMe	0,009 ± 0,001	0,004 ± 0,0005	5,1 ± 0,1	2,4 ± 0,05
56	C	C	CN	0,007 ± 0,001	0,003 ± 0,0005	6,0 ± 0,2	2,8 ± 0,1
58	C	C	NO ₂	0,009 ± 0,003	0,004 ± 0,001	6,6 ± 0,1	3,2 ± 0,05
59	C	C	CF ₃	0,065 ± 0,016	0,033 ± 0,008	6,1 ± 0,3	3,1 ± 0,2
60	N	C	H	0,011 ± 0,001	0,005 ± 0,0004	6,8 ± 0,1	3,0 ± 0,04
62	C	N		0,019 ± 0,01	0,008 ± 0,004	5,1 ± 0,1	2,2 ± 0,04
63				0,022 ± 0,003	0,010 ± 0,001	6,6 ± 0,1	2,9 ± 0,04
65	N	C	Br	0,008 ± 0,001	0,004 ± 0,0005	5,8 ± 0,1	3,0 ± 0,05
66	N	C	<i>N</i> -méthylpipérazine	0,22 ± 0,10	0,117 ± 0,05	6,8 ± 0,2	3,6 ± 0,1
67	N	C	morpholine	0,012 ± 0,001	0,006 ± 0,0005	5,6 ± 0,1	2,9 ± 0,05
69	N	C	NH ₂	0,03 ± 0,01	0,01 ± 0,005	6,5 ± 0,2	2,9 ± 0,09
70	N	C	NH-SO ₂ -Me	0,058 ± 0,001	0,031 ± 0,0005	56 ± 2	29,6 ± 1
71	N	C	NH-SO ₂ -Ph	0,058 ± 0,011	0,034 ± 0,006	>100	-
Fluconazole				0,63 ± 0,02	0,19 ± 0,006	-	-
Itraconazole				-	-	0,6 ± 0,06	0,42 ± 0,04
Voriconazole				0,043	0,015	0,45 ± 0,05	0,15 ± 0,01

Tableau 12 : Évaluation en série 1-[(biarylméthyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (**54**, **57**, **61**).



N°	X	R	CMI ou CI ₈₀			
			<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
			μM	μg / mL	μM	μg / mL
54	C	H	0,072 ± 0,005	0,031 ± 0,002	57 ± 2	24,8 ± 0,9
57	C	CN	0,072 ± 0,008	0,033 ± 0,004	44 ± 3	20,2 ± 1,4
61	N	H	0,54 ± 0,06	0,235 ± 0,03	>100	-
Fluconazole			0,63 ± 0,02	0,19 ± 0,006	-	-
Itraconazole			-	-	0,6 ± 0,06	0,42 ± 0,04
Voriconazole			0,043	0,015	0,45 ± 0,05	0,15 ± 0,01

5.2- Analyse des stérols sur la souche *Candida albicans* CA98001

Dans le but de confirmer le mécanisme d'action de ces composés, nous avons étudié l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol après traitement par la molécule la plus active **56**, selon le protocole général décrit page 195.

Comme le montre le **tableau 13**, à la concentration de 4,59 ng / mL proche de la CMI du composé (3 ng / mL), cette molécule inhibe fortement la biosynthèse de l'ergostérol alors que le lanostérol s'accumule. A la plus forte concentration (22,98 ng / mL), l'effet est maximal et la production d'ergostérol quasi indétectable. Cet effet, cumulé à l'augmentation de stérols méthylés en position 14, est caractéristique d'une inhibition de la 14 α -déméthylase.

En outre, l'accumulation significative dose-dépendante de 14-méthyl-3,6-diol et la diminution du lanostérol à haute concentration montreraient que, contrairement aux indol-3-yles précédents, ce composé inhiberait uniquement la 14 α -déméthylase mais n'aurait aucune action sur la $\Delta^{5,6}$ -désaturase codée par le gène *ERG3*.

Stérols	Contrôle	56 (ng / mL)	
		4,59	22,98
lanostérol	6,0*	27,6	14,5
éburicol	3,4	26,8	7,9
zymostérol	2,0		
fécostérol			
14-méthylfécostérol		2,4	7,1
épistérol	3,7		
14-méthylépistérol		6,7	7,2
14-méthyl-3,6-diol		8,8	62,7
ergostérol	84,7	32,7	0,7

* ratio : aire sous courbe (ASC) sterol / somme des ASC stérols

Tableau 13 : Effets du composé **56** sur la composition en stérols de *Candida albicans* CA98001

5.3- Étude des relations structure-activité

Le docking du composé **56** dans le site actif de notre modèle CYP51-*Candida albicans*, selon le protocole général décrit page 196, montre que le noyau benzonitrile est compacté entre les deux noyaux aromatiques de l'His377 et de la Phe380 avec lesquels des interactions de type π - π stacking et / ou pi-cation sont possibles (**figure 79**). Dans cette conformation, le substituant cyano ne semblerait pas pouvoir effectuer de liaison-H particulière ce qui confirmerait alors les résultats observés. De plus, l'orientation des bi-aryles vers l'hélice α ' (Ala61-Gln66) pourrait limiter la taille des substituants en position *para* où les limites de la cavité induiraient alors un clash stérique dans le cas de substituants volumineux telle que la *N*-méthylpipérazine (**66**).

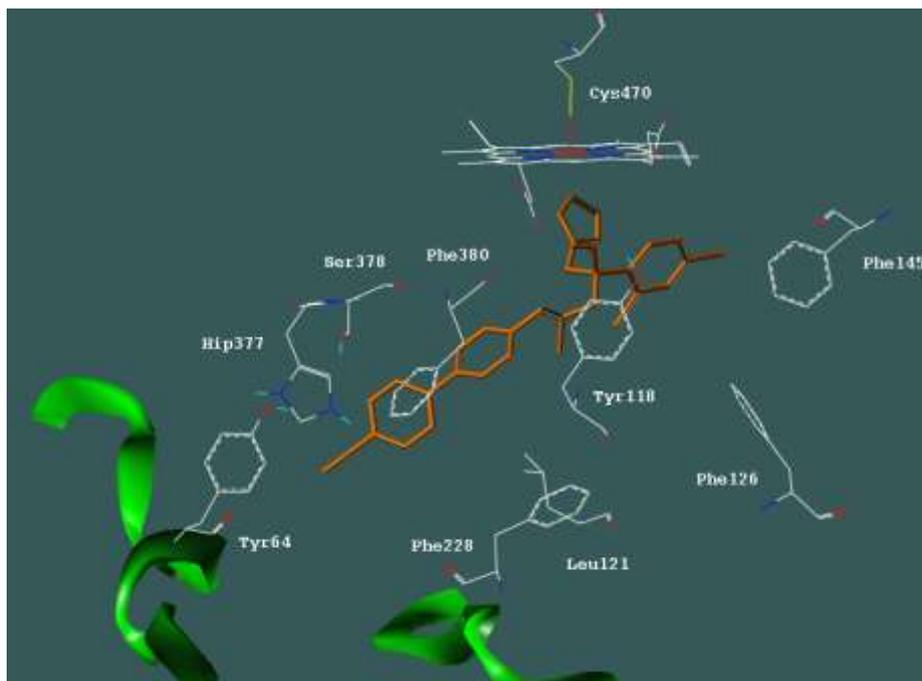


Figure 79 : Docking du composé **56** (isomère *S*) dans le site actif de CYP51-CA

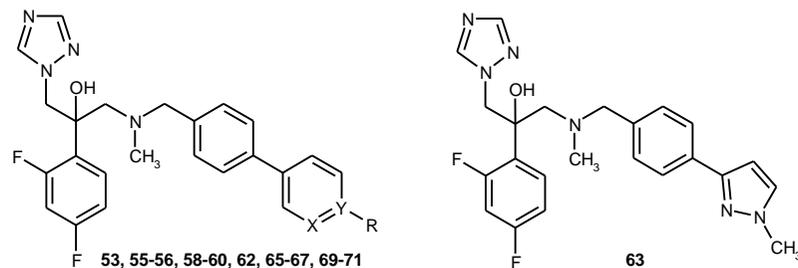
5.4- Évaluation complémentaire sur différentes espèces de *Candida*

Afin de vérifier le spectre d'activité de ces composés, nous avons étendu les évaluations aux autres espèces majeures du genre *Candida* (**tableaux 14 et 15**).

Sur la deuxième souche de *Candida albicans* sensible au fluconazole (CA100), excepté la confirmation du manque d'activité du composé **66**, toutes les autres molécules conservent une haute activité antifongique.

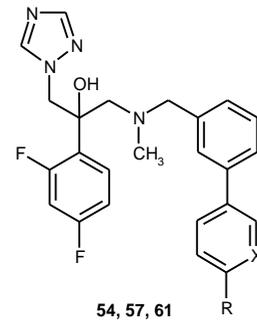
Si globalement ces molécules présentent des activités intéressantes sur *Candida parapsilosis* (CP-Rolland, CP-Houdeau) et *Candida glabrata* (CG468), l'élargissement du spectre d'activité est particulièrement significatif pour les composés bi-arylés **56** et **58** porteurs de substituants électroattracteurs (cyano et nitro) où seule une activité est retrouvée sur la souche *Candida krusei* : CK506, résistante au fluconazole.

Tableau 14 : Évaluation complémentaire sur différentes espèces de *Candida*



	X	Y	R	CMI ou CI ₈₀ (µg / mL)					
				CA100	CK506	CK8	CG468	CP-Houdeau	CP-Rolland
53	C	C	H	0,035	> 43	2,60	0,29	0,52	0,32
55	C	C	OMe	0,0032	> 46	2,16	0,31	0,30	0,24
56	C	C	CN	0,0027	2,66	0,33	0,27	0,23	0,28
58	C	C	NO ₂	0,0038	3,35	2,17	0,31	0,37	0,32
59	C	C	CF ₃	0,030	> 50	2,91	3,11	2,51	2,61
60	N	C	H	0,008	28,3	4,18	0,25	1,96	1,31
62	C	N		0,0087	28,3	2,70	0,27	0,87	1,31
63				0,020	> 43	20,6	2,50	2,50	2,19
65	N	C	Br	0,0031	> 51	2,88	0,30	0,40	0,32
66	N	C	<i>N</i> -méthylpipérazine	26,68	33,08	3,31	3,11	0,29	0,36
67	N	C	morpholine	< 0,0005	> 52	> 52	27,07	0,10	0,20
69	N	C	NH ₂	0,079	35,14	3,87	1,64	1,10	1,39
70	N	C	NH-SO ₂ -Me	0,026	> 52	> 52	29,07	3,06	4,23
71	N	C	NH-SO ₂ -Ph	0,012	> 59	21,85	4,19	2,95	3,13
Fluconazole				0,12	> 30	> 30	18,1	> 30	> 30

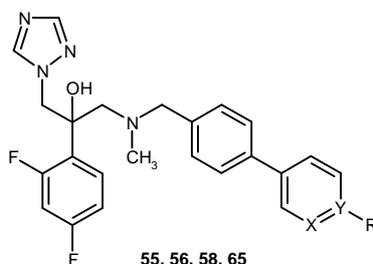
Tableau 15 : Évaluation complémentaire sur différentes espèces de *Candida*



	X	R	CMI ou CI ₈₀ (µg / mL)					
			CA100	CK506	CK8	CG468	CP-Houdeau	CP-Rolland
54	C	H	0,017	> 43	11,73	2,02	4,56	4,47
57	C	CN	0,023	> 45	0,41	2,61	2,62	3,26
61	N	H	0,0034	> 43	28,30	2,80	21,51	22,64
Fluconazole			0,12	> 30	> 30	18,1	> 30	> 30

5.5- Évaluation complémentaire sur des souches *Candida albicans* résistantes ou de sensibilité réduite au fluconazole

Sur les trois souches de *Candida albicans* résistantes (CAAL61 et CAAL74) ou de sensibilité réduite au fluconazole (DSY735, souche Sanglard), les molécules **56** et **58** sont celles qui une fois encore présentent le meilleur profil pharmacologique (**tableau 16**).



	X	Y	R	CI ₅₀ (µg / mL)		
				DSY735	CAAL61	CAAL74
55	C	C	OMe	0,21	> 46	0,023
56	C	C	CN	0,073	0,14	0,023
58	C	C	NO ₂	0,086	0,53	0,091
65	N	C	Br	0,067	2,83	0,13
Fluconazole				12,55	> 30	> 30

Tableau 16 : Évaluation complémentaire sur des souches *Candida albicans* résistantes ou de sensibilité réduite au fluconazole.

Il est surprenant de constater une absence d'activité de la molécule **55** sur la souche CAAL61 qui comporte les mutations G307S / Y447H impliquées dans la résistance aux azolés et de l'efflux de type CDR1 / CDR2. La sensibilité de cette molécule sur la souche DSY735 prouverait qu'elle ne serait pas substrat des pompes à efflux et que le mécanisme de résistance serait alors dû uniquement aux mutations G307S / Y447H.

Comme nous l'avons vu précédemment page 77, si l'on peut expliquer, à partir des modèles CYP51-*Candida albicans*, l'implication de la substitution G307S dans le phénomène de résistance au fluconazole et le fait que des molécules de taille plus importante puissent compenser la perte de coordination avec l'hème par des interactions supplémentaires à l'intérieur du site actif, la combinaison G307S / Y447H est plus difficile à démontrer.

La simple substitution d'un méthoxy (**55**) électrodonneur par un cyano (**56**) ou un nitro (**58**) électroattracteurs ne peut être la seule explication à une telle différence d'activité sur la souche CAAL61 et d'autres paramètres physicochimiques pourraient également influencer les résultats.

IV – Conclusion

En conclusion de cette première partie, quarante molécules finales appartenant à trois familles chimiques différentes ont été synthétisées puis évaluées sur diverses espèces de *Candida* et d'*Aspergillus fumigatus*.

Si l'ensemble des molécules présentent de fortes activités antifongiques sur la souche sensible de *Candida albicans* CA98001, à l'exception des dérivés indol-3-yles, avec des valeurs de CMI majoritairement comprises entre 3 et 64 ng / mL de l'ordre du voriconazole (CMI = 15 ng / mL), seuls les composés de type benzylamine possèdent à la fois les plus fortes activités sur *Candida albicans* et un début d'activité intéressante sur la souche d'*Aspergillus fumigatus* de l'ordre du µg / mL.

Contrairement aux hypothèses pharmacophoriques de Sheng⁹⁵ et d'après le docking effectué sur notre modèle CYP51-*Candida albicans*, la présence d'un groupement accepteur de liaison-H directement lié en position *para* de la benzylamine, ne semble pas être un élément fondamental pour une activité optimale anti-*Candida albicans*. Les deux molécules bi-aryles **56** et **58** (**figure 80**) possèdent en effet le meilleur profil pharmacologique avec des CMI de 3 et 4 ng / mL respectivement sur cette souche, ainsi que le plus large spectre d'activité aussi bien sur les souches de *Candida albicans* de sensibilité réduite ou résistantes au fluconazole que sur les autres espèces *Candida* proposées (*glabrata*, *krusei* et *parapsilosis*).

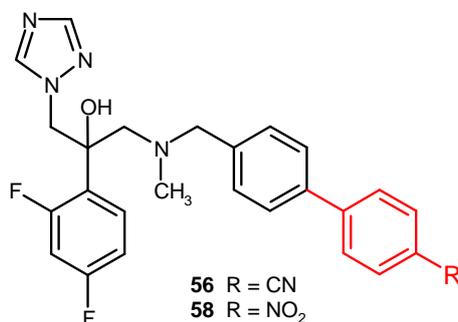
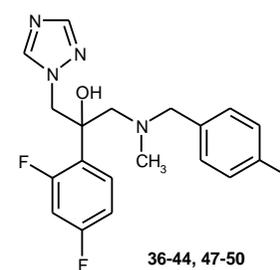
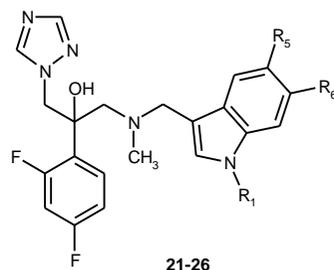
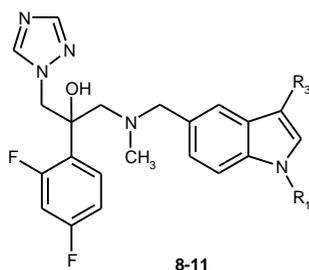


Figure 80 : Structures des composés **56** et **58**

La conception rationnelle de nouveaux azolés à partir de modèles CYP51s fongiques et l'interprétation de résultats issus de souches fongiques rendent cependant difficiles les relations structure-activité. Seuls des résultats sur enzymes isolées pourraient confirmer nos hypothèses. Ainsi les différences d'activités observées et notamment sur la souche d'*Aspergillus fumigatus* pourraient simplement être attribuées à un manque de perméabilité de certains composés à l'intérieur des champignons filamenteux et non à une absence d'inhibition au niveau du CYP51. Mais le calcul théorique du logP, un des principaux paramètres utilisés en chimie médicinale pour évaluer la perméabilité d'un principe actif, montre cependant une hétérogénéité des valeurs à la fois pour les composés ne présentant pas d'activité sur *Aspergillus* (**8-11**, **21-26**, **70-71** et **54**, **57**, **61** : 2,28 < clogP < 4,37) que pour ceux en possédant une (0,61 < clogP < 5,22) (**tableaux 17-20**).

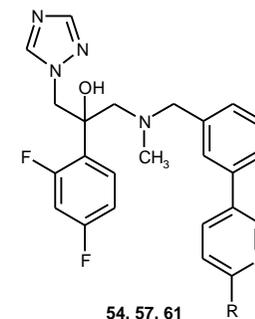
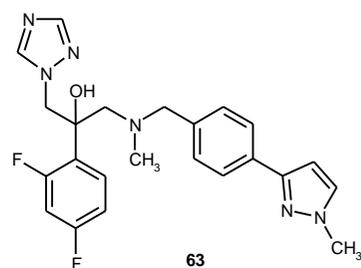
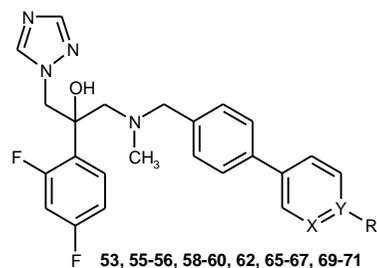
Tableaux 17 et 18 : Estimation du paramètre de lipophilie des molécules finales (logP calculé) selon deux logiciels différents (clogP et AlogPs)



N°	R ₁	R ₃	R ₅	R ₆	clogP (Biolum)	AlogPs (VCClab)
8	H	H			2,44	2,20
9	benzoyl	H			4,13	3,30
10	Boc	H			4,13	3,58
11	H	COCF ₃			2,84	3,05
21	Boc		H	H	4,13	3,57
22	Boc		H	F	4,27	3,71
23	Boc		OCH ₂ O		4,37	3,42
24	H		H	H	2,44	2,20
25	H		H	F	2,75	2,36
26	H		OCH ₂ O		2,42	1,60
Fluconazole					- 0,44	0,58
Voriconazole					0,52	1,65
Itraconazole					-	5,48
Posaconazole					-	4,71
Albaconazole					2,15	2,05

	Y	clogP (Biolum)	AlogPs (VCClab)
36	-SO ₂ NH ₂	0,61	1,41
37	-SO ₂ -morpholine	1,59	1,15
38	-SO ₂ -NH-Pr	-	1,55
39	-SO ₂ -NH-iPr	2,06	1,48
40	-SO ₂ -NH-iBu	2,68	1,80
41	-SO ₂ -NH-Ph	2,88	2,83
42	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)Pr	-	3,75
43	-SO ₂ -NH-Ph-(<i>p</i>)iPr	4,31	3,77
44	-SO ₂ -NH-Ph-	3,05	2,70
47	-NH-SO ₂ -iPr	2,09	2,27
48	-NH-SO ₂ -Ph	2,88	2,83
49	-NH-SO ₂ -Ph-(<i>p</i>)iPr	4,31	3,77
50	-NH-SO ₂ -Ph-	3,27	2,67

Tableaux 19 et 20 : Estimation du paramètre de lipophilie des molécules finales (logP calculé) selon deux logiciels différents (clogP et AlogPs)



	X	Y	R	clogP (Biolum)	AlogPs (VCClab)
53	C	C	H	4,33	3,50
55	C	C	OMe	4,25	3,27
56	C	C	CN	3,77	3,21
58	C	C	NO ₂	4,08	3,72
59	C	C	CF ₃	5,22	4,10
60	N	C	H	2,84	2,46
62	C	N		2,84	2,48
63				-	2,40
65	N	C	Br	3,78	3,45
66	N	C	<i>N</i> -méthylpipérazine	3,40	3,03
67	N	C	morpholine	2,84	3,17
69	N	C	NH ₂	2,51	2,37
70	N	C	NH-SO ₂ -Me	2,28	2,36
71	N	C	NH-SO ₂ -Ph	3,90	3,59

	X	R	clogP (Biolum)	AlogPs (VCClab)
54	C	H	-	3,49
57	C	CN	-	3,20
61	N	H	-	2,43
Fluconazole			- 0,44	0,58
Voriconazole			0,52	1,65
Itraconazole			-	5,48
Posaconazole			-	4,71
Albaconazole			2,15	2,05

De plus, les modèles actuels se heurtent au manque d'information précise 3D du site actif de l'enzyme. Très récemment, de nombreuses structures cristallines de CYP51s humain et de *Trypanosomatidae* (*Leishmania*, *T. Brucei*, *T. Cruzi*) en complexe avec des azolés révèlent de profonds changements conformationnels aussi bien dans l'architecture du site actif, que dans l'accès au substrat qui diffère de celui observé chez CYP51-*Mycobacterium tuberculosis* (**figure 81**).^{176,177} La boucle B'C adopte en effet une conformation repliée comme celle rencontrée sur le cytochrome bactérien CYP102 (page 77), ce qui permettrait de préciser l'influence de la substitution Y132F, associée à de la résistance au fluconazole, par un rapprochement de cet acide aminé vers le site actif et à une probable perturbation de la coordination de cet azolé avec l'hème.

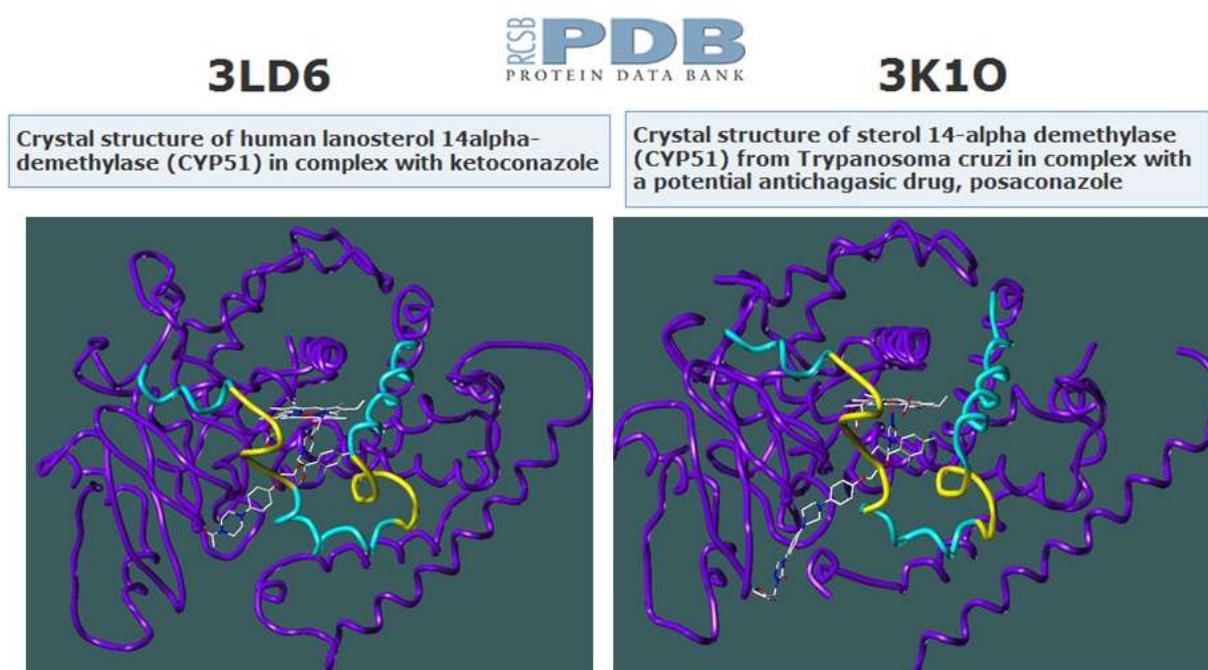


Figure 81 : Nouvelles structures cristallographiques CYP51-*Candida albicans*

En revanche, le CYP51 humain présente environ 40% d'identité de séquence primaire en acides aminés avec les CYP51s fongiques de *Candida albicans* et d'*Aspergillus fumigatus* et pourrait constituer une meilleure structure de référence que *Mycobacterium tuberculosis* (~ 25% d'identité) dans l'élaboration de modèles par homologie. Cependant, l'alignement multiple de ces nouvelles structures avec les CYP51s fongiques ne permet toujours pas de connaître précisément la conformation 3D d'une large zone d'insertion (Arg426-Val452 chez *Candida albicans*) (**figure 82**). L'implication exacte de cette zone dans les mécanismes de résistance (notamment la substitution Y447H chez *Candida albicans*) semble donc toujours difficile à démontrer.

¹⁷⁶ Lepesheva G.I. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **2010**, 285 (3), 1773-1780.

¹⁷⁷ Strushkevich N. *et al.*, *J. Mol. Biol.*, **2010**, 397 (4), 1067-1078.

Partie A

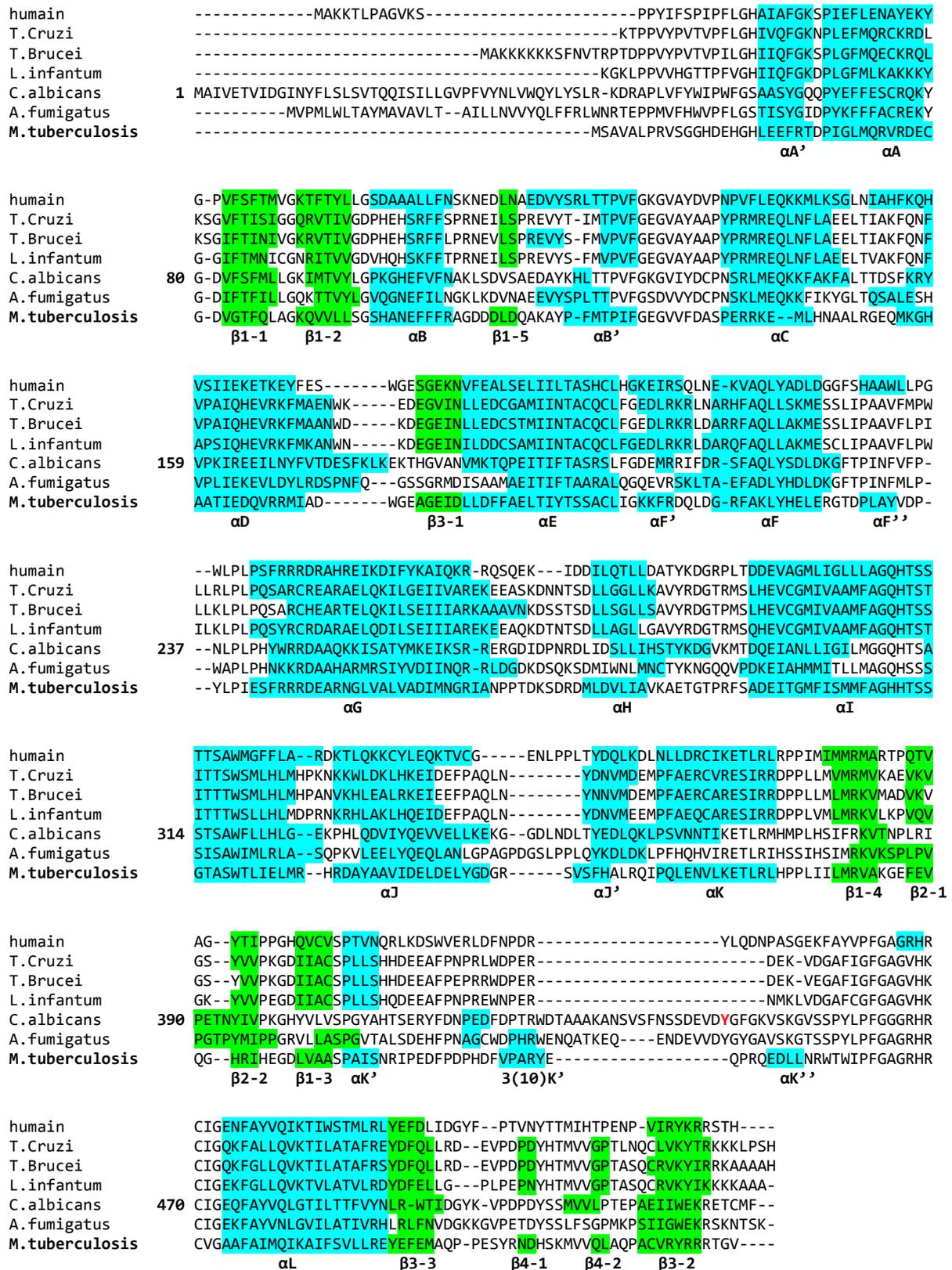


Figure 82 : Aligement multiple des séquences primaires en acides aminés de différents CYP51s (logiciel clustalW)

Pour toutes ces raisons, nous avons appliqué la deuxième stratégie (page 47) qui a consisté, en parallèle, à synthétiser des analogues de l'albaconazole en série thiazoloquinazolinone.

V – Partie expérimentale

GENERALITES

Solvants

Les solvants anhydres sont distillés selon les procédés suivants :

- sur sodium / benzophénone pour les éthers (éther diéthylique, tétrahydrofurane).
- sur chlorure de calcium pour les solvants chlorés (dichlorométhane, 1,2-dichloroéthane).

Ils sont ensuite conservés sous azote.

Synthèse micro-ondes

Système DiscoverTM CEM, fréquence du magnétron 2450 MHz, puissance max. 300 W.

Chromatographie

Chromatographie analytique

Les réactions sont suivies par chromatographie sur couches minces (CCM) sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice Merck 60 F₂₅₄ (épaisseur 0,25 mm).

La révélation est réalisée sous une lampe ultraviolet à 254 ou 365 nm.

Le réactif d'Ehrlich est une solution à 1% de *p*-diméthylaminobenzaldéhyde dans un mélange d'acide chlorhydrique concentré / méthanol (1 : 1, v / v).

Chromatographie préparative

Les purifications par chromatographies sur colonne sont effectuées en phase liquide sur colonne ouverte. La phase stationnaire utilisée est le gel de silice Merck 60 (70-230 mesh ASTM) (0,063-0,200 µm).

Mesures physiques

Les points de fusion (F°C) sont mesurés avec un tube capillaire sur un appareil digital IA9300 Electrothermal.

Méthodes spectrométriques

Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les spectres de RMN du proton (¹H) et du carbone (¹³C) ont été réalisés sur des spectromètres Bruker AC250 (250 MHz), Avance (400 MHz). Les valeurs des déplacements chimiques (δ) sont exprimées en parties par million (ppm) avec le tétraméthylsilane comme référence interne. Les constantes de couplage J sont exprimées en Hertz (Hz).

La multiplicité des signaux est indiquée à l'aide des abréviations suivantes :

Partie A

s = singulet

d = doublet

dd = doublet de doublet

t = triplet

q = quadruplet

m = multiplet

ddd = doublet de doublet de doublet

tt = triplet de triplet

Spectrométrie Infrarouge (IR)

Les spectres IR ont été enregistrés au moyen de pastilles de bromure de potassium (KBr) pour les solides et entre deux lames de chlorure de sodium (NaCl) pour les liquides, sur un spectromètre Paragon FTIR 1000 PC Perkin Elmer.

Les vibrations d'élongation (ν) sont exprimées en cm^{-1} et les bandes caractéristiques sont indiquées à l'aide des abréviations suivantes :

arom. = aromatiques

aliph. = aliphatiques

Spectrométrie de Masse (Masse)

Les spectres de masse ont été réalisés sur un spectromètre Bruker Esquire-LC Ion Trap System en polarité positive ou négative, les échantillons sont ionisés par électrospray (SM-ESI) avec détection UV.

D'autres spectres ont été effectués sur un spectromètre WATERS ZQ 2000, simple quadripôle, couplé UPLC (Acquity UPLC WATERS) également en mode électrospray.

Les composés sont préalablement dissous dans du méthanol.

Partie A

TABLEAU DES METHODES

Type de réaction	Méthode	Conditions opératoires	Pages
Acylation de Friedel-Crafts	A	AlCl ₃ , ClCOCH ₂ Cl, CH ₂ Cl ₂ , reflux	110
N-alkylation du triazole	B	<i>1H</i> -1,2,4-triazole, CH ₃ CN, MO, 50W, 85 °C	111
Formation de l'époxyde	C	TMSOI, NaOHaq, CH ₂ Cl ₂ , reflux	112
Ouverture de l'époxyde	D	MeNH ₂ , EtOH, reflux	113
Echange Br/CHO	E	KH, <i>t</i> -BuLi, DMF, THF, -78°C à ta	114
Protection de l'indole	F1	PhCOCl, DMAP, Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , ta	115
	F2	Boc ₂ O, NaH, DMF, ta	116
	F3	Boc ₂ O, DMAP, CH ₃ CN, ta	129
Amination réductrice	G	NaBH ₃ CN, AcOH / MeOH, ta	117
Substitution électrophile de l'indole	H	(CF ₃ CO) ₂ O, ClCH ₂ CH ₂ Cl, ta	121
Réaction de Henry	I	CH ₃ COONH ₄ , CH ₃ NO ₂ , reflux	123
Nitration	J	HNO ₃ , AcOH, ta	124
Réduction cyclisante	K1	Fe, EtOH, AcOH, 95°C	125
	K2	H ₂ (5 bars), Pd / C (10%), EtOH, AcOH, AcOEt, ta	125
Formylation de Vilsmeier-Haack	L	1) POCl ₃ , DMF, 0°C 2) Indole, 0°C puis 35°C 3) NaOHaq, 100°C	126
Déprotection	M	ZnBr ₂ , CH ₂ Cl ₂ , ta	135
Synthèse de sulfonamide	N1	NH ₄ OH, THF, ta	139
	N2	R ₁ R ₂ NH, DIPEA, THF, ta	140
	N3	ArNH ₂ , pyridine, CH ₂ Cl ₂ , 0°C	144
Substitution nucléophile	O	RCH ₂ Br, DIPEA, CH ₃ CN, ta	148
Réduction d'un nitro	P	H ₂ (5bars), Pd / C (10%), EtOH, ta	159
Synthèse de sulfonamide	Q1	RSO ₂ Cl, pyridine, ta	160
	Q2	RSO ₂ Cl, In, CH ₃ CN, ta	162
	Q3	RSO ₂ Cl, pyridine, 55°C	190

Partie A

Type de réaction	Méthode	Conditions opératoires	Pages
Couplage de Suzuki	R1	RB(OH) ₂ , Pd(PPh ₃) ₄ , Na ₂ CO ₃ aq, toluène, EtOH, reflux	168
	R2	RBOR ₁ R ₂ , Pd(PPh ₃) ₄ , Na ₂ CO ₃ aq, CH ₃ CN, MO, 100W, 120°C	172
	R3	RB(OH) ₂ , Pd(PPh ₃) ₄ , Na ₂ CO ₃ aq, DMF, 90°C	182
Synthèse d'acide boronique	S	RBr, <i>n</i> -Buli, B(OiPr) ₃ , Et ₂ O, -78°C	181
Couplage de Buchwald / Hartwig	T	Pd ₂ (dba) ₃ , <i>t</i> -BuONa, (±)BINAP, toluène, 100°C	184
Transamination	U	NH ₂ OH.HCl, AcONa, MeOH, ta	188

MODES OPÉRATOIRES

2-Chloro-2',4'-difluoroacétophénone (1)

Poudre blanche

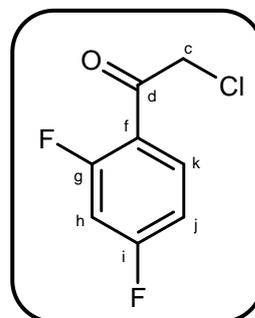
$C_8H_5ClF_2O$

$M_r = 190,58$

$R_f = 0,75$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 50-51$ (Litt¹⁷⁸ : 46-48)

Rendement = 91%



Méthode A :

Dissoudre 2,57 g (19,30 mmol, 1,1 éq) de trichlorure d'aluminium dans 40 mL de dichlorométhane. Ajouter 2,18 g (19,30 mmol, 1,1 éq) de chlorure de chloroacétyle et agiter à température ambiante pendant 1 heure. Ajouter alors 1,71 mL (17,50 mmol) de 1,3-difluorobenzène et agiter au reflux pendant 1 heure et 30 minutes. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel, extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

5,09 (s, 2H, H_c) ; 7,31 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,51 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F}' = 9,6 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 8,04 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F}' = 6,8 Hz, H_k).

IR (KBr, cm⁻¹) :

748 (v C-Cl) ; 1097 (v C-F) ; 1425, 1512 (v C=C) ; 1620 (v C=O).

¹⁷⁸ Upadhayaya R.S. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **2004**, 39 (7), 579-592.

2-(1*H*-1,2,4-Triazol-1-yl)-2',4'-difluoroacétophénone (2)

Poudre jaune

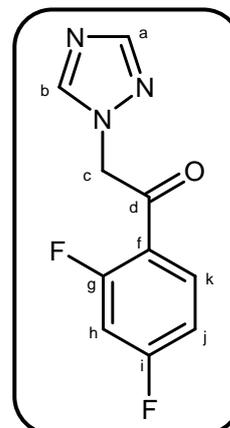
C₁₀H₇F₂N₃O

Mr = 223,18

R_f = 0,50 (dichlorométhane / éthanol : 10 / 1)

F°C = 98-99 (Litt¹³⁴ : 104-106)

Rendement = 94%



Méthode B :

Mélanger 2 g (10,49 mmol) de 2-chloro-2',4'-difluoroacétophénone **1**, 1,45 g (20,98 mmol, 2 équ) de 1*H*-1,2,4-triazole et 2,90 g (20,98 mmol, 2 équ) de carbonate de potassium anhydre dans 40 mL d'acétonitrile. Agiter sous irradiation micro-ondes (50W, 85°C) pendant 50 minutes. Filtrer le mélange et rincer le précipité au dichlorométhane. Evaporer le filtrat et reprendre le résidu avec une solution saturée de chlorure de sodium. Extraire le produit au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 10 / 1.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

5,85 (s, 2H, H_c) ; 7,35 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,58 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 8,06 (s, 1H, H_b) ; 8,07 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 8,53 (s, 1H, H_a).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1143 (ν C-F) ; 1273 (ν C-N) ; 1428, 1503, 1611 (ν C=C et ν C=N) ; 1691 (ν C=O).

2-(2,4-Difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane (3)

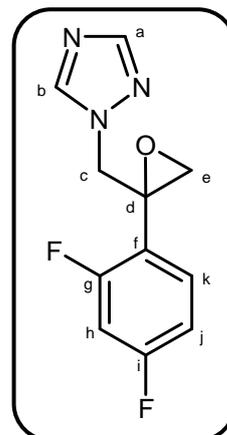
Huile brune

$C_{11}H_9F_2N_3O$

$Mr = 237,21$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

Rendement = 74%



Méthode C :

Dissoudre 5,25 g (23,53 mmol) de 2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-2',4'-difluoroacétophénone **2** dans 190 mL de dichlorométhane. Ajouter 10,36 g (47,06 mmol, 2 éq) d'iodure de triméthylsulfoxonium puis 9,41 g (235,30 mmol, 10 éq) d'hydroxyde de sodium préalablement dissous dans 47 mL d'eau. Agiter la suspension à reflux pendant 4 jours. Ajouter une solution de chlorure de sodium saturée et extraire le produit au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

3,00 (d, 1H, $^2J = 4,8$ Hz, H_e) ; 3,13 (d, 1H, $^2J = 4,8$ Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 4,81 (d, 1H, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 7,05 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,24 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,32 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,94 (s, 1H, H_b) ; 8,43 (s, 1H, H_a).

IR (NaCl, cm^{-1}) :

1140 (ν C-F) ; 1275 (ν C-N) ; 1380 (ν C-O-C) ; 1428, 1506, 1617 (ν C=C et ν C=N).

**2-(2,4-Difluorophényl)-1-méthylamino-3-
(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (4)**

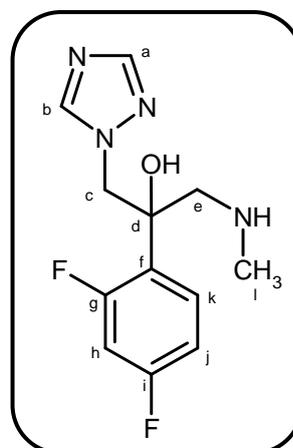
Huile brune

$C_{12}H_{14}F_2N_4O$

$M_r = 268,27$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane / éthanol : 10 / 1)

Rendement = 82%



Méthode D :

Dissoudre 200 mg (0,84 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane **3** dans 0,75 mL d'éthanol. Ajouter 3,65 mL (29,51 mmol, 35 éq) de méthylamine (33% dans l'éthanol) et agiter au reflux pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, évaporer le solvant. Reprendre à l'eau, extraire le produit avec du dichlorométhane et sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 90 / 10.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,26 (s, 3H, H_i) ; 2,86 (d, 1H, $^2J = 12,4$ Hz, H_c) ; 2,95 (d, 1H, $^2J = 12,4$ Hz, H_c) ; 4,57 (s, 2H, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,98 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,18 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,41 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,77 (s, 1H, H_b) ; 8,31 (s, 1H, H_a) ; NH non visible.

IR (NaCl, cm^{-1}) :

1131 (v C-F) ; 1276 (v C-N) ; 1420, 1499, 1612 (v C=C et v C=N) ; 3300 (v O-H et v N-H).

1H-Indole-5-carbaldéhyde (5)

Poudre jaune

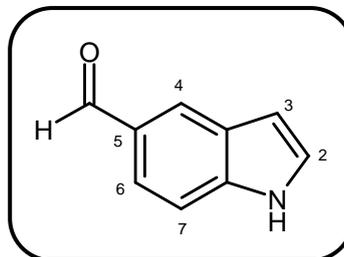
C₉H₇NO

M_r = 145,16

R_f = 0,25 (dichlorométhane)

F° C = 98-99 (Litt¹¹⁴ : 99-101)

Rendement = 69%



Méthode E :

Dans un tricol, placer 2,33 g (20,40 mmol, 2 éq) d'hydrure de potassium (préalablement lavé avec du tétrahydrofurane sec), dans 10 mL de tétrahydrofurane sec à - 78 °C sous argon. Ajouter lentement 2 g de 5-bromo-1H-indole (10,20 mmol) en solution dans 10 mL de tétrahydrofurane. Agiter pendant 50 minutes à - 78 °C. Ajouter lentement 12 mL (20,40 mmol, 2 éq) de *tert*-butyllithium (solution à 1,7 M dans le pentane) et agiter 2 heures à - 78 °C. Ajouter alors 1,52 mL (20,40 mmol, 2 éq) de *N,N*-diméthylformamide anhydre et poursuivre l'agitation en remontant progressivement à température ambiante pendant la nuit. Ajouter lentement de l'eau au milieu réactionnel et extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Laver abondamment la phase organique avec de l'eau. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane.

RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

6,70-6,72 (m, 1H, H₃) ; 7,55 (d, 1H, ⁴J = 1,5 Hz, H₄) ; 7,58 (d, 1H, ³J = 8,2 Hz, H₇) ; 7,67 (dd, 1H, ³J = 8,2 Hz, ⁴J = 1,5 Hz, H₆) ; 8,22 (s, 1H, H₂) ; 10,00 (s, 1H, CHO) ; 11,66 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1569 (ν C=C) ; 1661 (ν C=O) ; 3269 (ν N-H).

1-Benzoyl-1*H*-indole-5-carbaldéhyde (6)

Poudre blanche

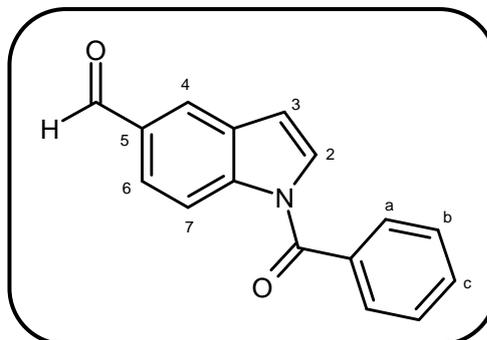
$C_{16}H_{11}NO_2$

$M_r = 249,27$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 124-125$

Rendement = 83%



Méthode F1 :

Dissoudre sous argon 200 mg (1,38 mmol) de 1*H*-indole-5-carbaldéhyde **5** dans 2,5 mL de dichlorométhane. Ajouter 34 mg (0,28 mmol, 0,2 éq) de 4-(*N,N*-diméthylamino)pyridine et 0,385 mL (2,76 mmol, 2 éq) de triéthylamine. Ajouter alors 0,176 mL (1,52 mmol, 1,1 éq) de chlorure de benzoyle. Agiter sous argon à température ambiante pendant 2 heures. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur colonne en éluant au dichlorométhane.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

6,98 (d, 1H, $^3J = 3,7$ Hz, H_3) ; 7,60 (d, 1H, $^3J = 3,7$ Hz, H_2) ; 7,66-7,69 (m, 2H, H_b) ; 7,74-7,77 (m, 1H, H_c) ; 7,82-7,86 (m, 2H, H_a) ; 7,69 (dd, 1H, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_6) ; 8,33 (d, 1H, $^4J = 1,2$ Hz, H_4) ; 8,46 (d, 1H, $^3J = 8,5$ Hz, H_7) ; 10,13 (s, 1H, CHO).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1274 (ν C-N) ; 1461, 1535 (ν C=C) ; 1688 (ν C=O).

1-(*Tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-indole-5-carbaldéhyde (7)

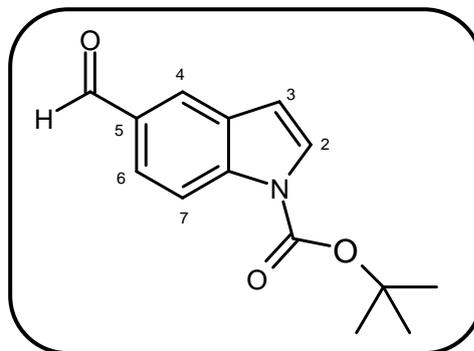
Huile jaune

$C_{14}H_{15}NO_3$

$M_r = 245,28$

$R_f = 0,65$ (dichlorométhane)

Rendement = 98%



Méthode F2 :

Dissoudre sous argon 100 mg (0,69 mmol) de 1*H*-indole-5-carbaldéhyde **5** dans 2 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter lentement 41 mg (1,03 mmol, 1,5 éq) d'hydrure de sodium (dispersion à 60% dans de l'huile minérale) et agiter pendant une heure à température ambiante. Ajouter alors 225 mg (1,03 mmol, 1,5 éq) de dicarbonate de ditertbutyle et agiter à température ambiante pendant 1 heure. Ajouter prudemment de l'eau et extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Laver abondamment la phase organique avec de l'eau. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,68 (s, 9H, CH_3) ; 6,94 (d, 1H, $^3J = 3,6$ Hz, H_3) ; 7,85 (d, 1H, $^3J = 3,6$ Hz, H_2) ; 7,90 (dd, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 1,5$ Hz, H_6) ; 8,25-8,28 (m, 2H, $H_{4,7}$) ; 10,09 (s, 1H, CHO).

IR (NaCl, cm^{-1}) :

1215 (ν C-N) ; 1461, 1533 (ν C=C) ; 1687 (ν C=O aldéhyde) ; 1740 (ν C=O Boc) ; 2957 (ν C- $H_{aliph.}$).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-5-ylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (8)

Cristaux blancs

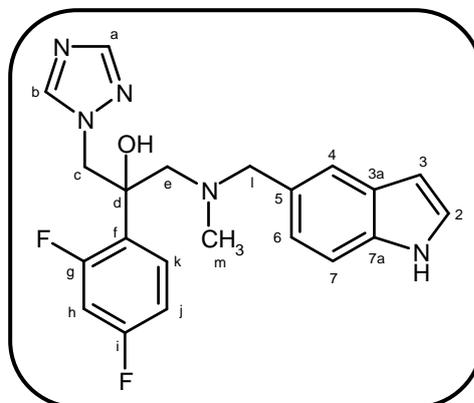
C₂₁H₂₁F₂N₅O

M_r = 397,43

R_f = 0,15 (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

F° C = 130-131

Rendement = 62%



Méthode G :

Dissoudre sous argon 813 mg (3,03 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-méthylamino-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** dans 17 mL de méthanol et 0,340 mL d'acide acétique glacial. Ajouter 440 mg (3,03 mmol, 1 éq) de 1*H*-indole-5-carbaldéhyde **5** puis 229 mg (3,64 mmol, 1,2 éq) de cyanoborohydrure de sodium. Agiter sous argon à température ambiante pendant 24 heures. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel, extraire le produit avec du dichlorométhane. Laver les phases organiques avec une solution saturée de bicarbonate de sodium, sécher sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,11 (s, 3H, H_m) ; 2,85 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,03 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,51 (d, 1H, ²J = 12,8 Hz, H_l) ; 3,60 (d, 1H, ²J = 12,8 Hz, H_l) ; 4,53 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_e) ; 4,59 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_e) ; 5,76 (s, 1H, OH) ; 6,34 (s, 1H, H₃) ; 6,87 (dd, 1H, ³J = 8,0 Hz, ⁴J = 1,2 Hz, H₆) ; 7,00 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,18 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,27-7,33 (m, 3H, H_{2,4,7}) ; 7,46 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-H} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,76 (s, 1H, H_b) ; 8,33 (s, 1H, H_a) ; 11,02 (se, 1H, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

43,7 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 63,0 (C_c) ; 63,6 (C_l) ; 75,0 (C_d) ; 101,0 (C₃) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 111,1 (C₇) ; 120,4 (C₂) ; 122,4 (C₆) ; 125,5 (C₄) ; 126,6 (C_f) ; 127,6 (C_{7a}) ; 129,1 (C_{3a}) ; 130,0 (C_k) ; 135,3 (C₅) ; 145,0 (C_a) ; 150,6 (C_b) ; 159,1 (C_i) ; 161,8 (C_g).

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1133 (v C-F) ; 1274 (v C-N) ; 1421, 1499 et 1614 (v C=C et v C=N) ; 3234 (v O-H et v N-H).

Masse :

398,0 (M+H)⁺.

1-[(1-Benzoylindol-5-yl)méthyl]méthylamino)-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (9)

Poudre blanche

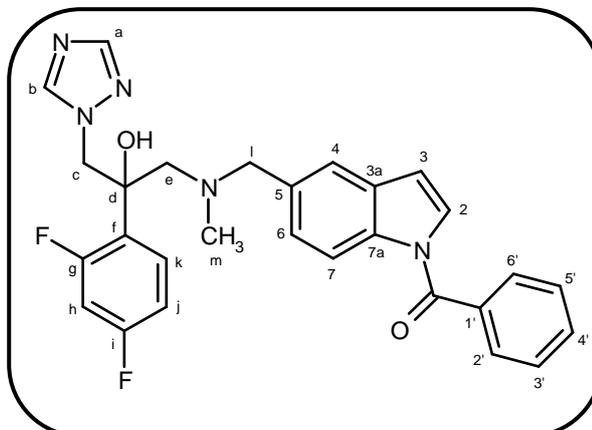
$C_{28}H_{25}F_2N_5O_2$

$M_r = 501,54$

$R_f = 0,30$ (hexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$F^\circ C = 118-119$

Rendement = 59%



Le composé **9** est synthétisé selon la **méthode G** à partir de 161 mg (0,60 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(méthylamino)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 150 mg (0,60 mmol, 1 éq) de 1-benzoyl-1*H*-indole-5-carbaldéhyde **6**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,11 (s, 3H, H_m) ; 2,80 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,06 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,50 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,66 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 4,51 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,58 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,77 (s, 1H, OH) ; 6,66 (d, 1H, $^3J = 3,6$ Hz, H_3) ; 6,98 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,09 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H_6) ; 7,15 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,34 (s, 1H, H_4) ; 7,36 (d, 1H, $^3J = 3,6$ Hz, H_2) ; 7,44 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,59-7,63 (m, 2H, $H_{3',5'}$) ; 7,68-7,71 (m, 1H, $H_{4'}$) ; 7,74-7,76 (m, 3H, $H_{b,2',6'}$) ; 8,12 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H_7) ; 8,30 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,8 (C_l) ; 63,1 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 104,2 (C_h) ; 108,6 (C_3) ; 110,8 (C_j) ; 115,5 (C_7) ; 121,1 (C_4) ; 125,7 (C_6) ; 126,4 (C_f) ; 128,5 (C_2) ; 128,9 (2C, $C_{3',5'}$) ; 129,1 (2C, $C_{2',6'}$) ; 130,1 (C_k) ; 130,6 ($C_{1'}$) ; 132,2 ($C_{4'}$) ; 134,2 (C_{7a}) ; 134,7 (C_{3a}) ; 134,9 (C_5) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b) ; 168,3 (CO).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1185 (v C-F) ; 1462, 1610 (v C=C et v C=N) ; 1684 (v C=O) ; 3451 (v O-H).

Masse :

502,2 (M+H) $^+$.

1-[[1-(*Tert*-butoxycarbonylindol-5-yl)méthyl]méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (10)

Poudre blanche

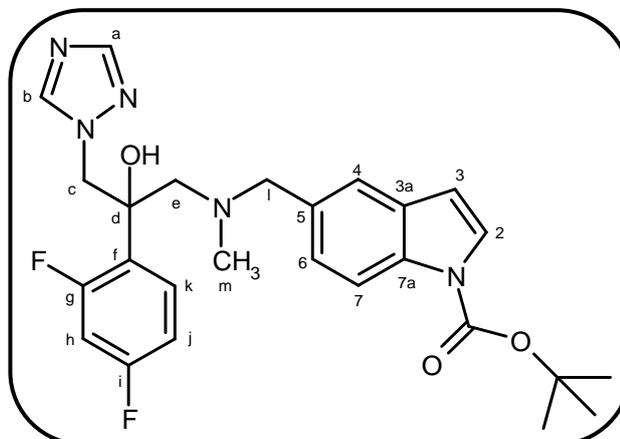
$C_{26}H_{29}F_2N_5O_2$

$M_r = 497,55$

$R_f = 0,20$ (hexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$F^\circ C = 85-86$

Rendement = 37%



Le composé **10** est synthétisé selon la **méthode G** à partir de 175 mg (0,65 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(méthylamino)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 160 mg (0,65 mmol, 1 éq) de 1-(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-indole-5-carbaldéhyde **7**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,66 (s, 9H, 3 CH₃) ; 2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,82 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,06 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,50 (d, 1H, $^2J = 13,1$ Hz, H_l) ; 3,66 (d, 1H, $^2J = 13,1$ Hz, H_l) ; 4,53 (d, 1H, $^2J = 14,2$ Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, $^2J = 14,2$ Hz, H_e) ; 5,80 (s, 1H, OH) ; 6,65 (d, 1H, $^3J = 3,6$ Hz, H₃) ; 7,00 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,06 (dd, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H₆) ; 7,17 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,32 (d, 1H, $^4J = 1,2$ Hz, H₄) ; 7,46 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,66 (d, 1H, $^3J = 4,0$ Hz, H₂) ; 7,77 (s, 1H, H_b) ; 7,93 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H₇) ; 8,33 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

27,8 (3 C, CH₃) ; 43,7 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,8 (C_l) ; 63,0 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 83,9 (C(CH₃)₃) ; 103,9 (C_h) ; 107,5 (C₃) ; 110,8 (C_j) ; 114,3 (C₇) ; 121,2 (C₄) ; 125,3 (C₆) ; 126,3 (C₂) ; 126,5 (C_f) ; 130,1 (C_k) ; 130,2 (C_{7a}) ; 133,5 (C_{3a}) ; 133,8 (C₅) ; 145,1 (C_a) ; 149,2 (CO) ; 150,6 (C_b) ; 159,7 (C_i) ; 161,9 (C_g).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1128 (v C-F) ; 1497, 1627 (v C=C et v C=N) ; 1733 (v C=O) ; 3446 (v O-H).

Masse :

498,0 (M+H)⁺.

1-[5-({[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)-1*H*-indol-3-yl]-2,2,2-trifluoroéthanone (11)

Poudre blanche

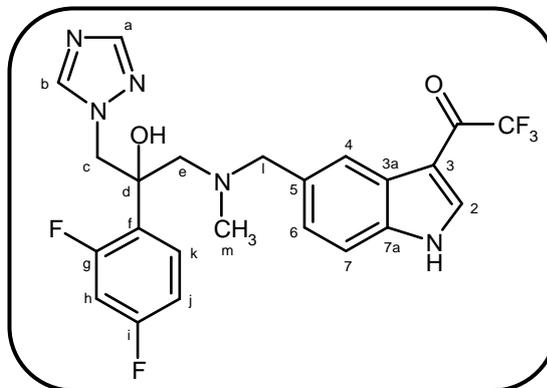
$C_{23}H_{20}F_5N_5O_2$

$M_r = 493,44$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 178-179$

Rendement = 56%



Méthode H :

Dissoudre 100 mg (0,25 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-5-ylméthyl)méthyl amino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **8** dans 2 mL de 1,2-dichloroéthane. Refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace et ajouter 70 µL (0,50 mmol, 2 équ) d'anhydride trifluoroacétique. Agiter à température ambiante pendant 3 heures. Ajouter une solution saturée de bicarbonate de sodium au milieu réactionnel et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Triturer le résidu d'évaporation dans un mélange dichlorométhane / éther diisopropylique et filtrer.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,13 (s, 3H, H_m) ; 2,81 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,07 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,55 (d, 1H, ²J = 13,0 Hz, H_l) ; 3,69 (d, 1H, ²J = 13,0 Hz, H_l) ; 4,52 (d, 1H, ²J = 14,2 Hz, H_e) ; 4,59 (d, 1H, ²J = 14,2 Hz, H_e) ; 5,78 (s, 1H, OH) ; 6,98 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,09-7,13 (m, 2H, H_{h,6}) ; 7,42-7,49 (m, 2H, H_{k,7}) ; 7,76 (s, 1H, H_b) ; 7,97 (s, 1H, H₄) ; 8,33 (s, 1H, H_a) ; 8,47 (s, 1H, H₂) ; 12,67 (se, 1H, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

43,7 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 63,0 (C_c) ; 63,6 (C_l) ; 75,0 (C_d) ; 103,5 (C_h) ; 108,9 (C₃) ; 110,9 (C_j) ; 112,7 (C₇) ; 121,5 (C₄) ; 125,6 (C₆) ; 125,8 (C_{7a}) ; 126,5 (C_f) ; 130,1 (C_k) ; 134,5 (C_{3a}) ; 136,0 (C₅) ; 137,5 (C₂) ; 145,0 (C_a) ; 150,6 (C_b).

CF₃, CO, C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1135 (v C-F) ; 1276 (v C-N) ; 1446, 1497, 1615 (v C=C et v C=N) ; 1667 (v C=O) ; 3451 (v O-H et v N-H).

Masse :

494,0 (M+H)⁺.

5-[(E)-2-Nitroéthényl]-1,3-benzodioxole (12)

Poudre jaune

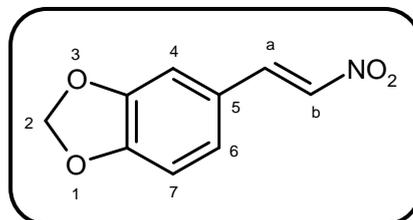
$C_9H_7NO_4$

$M_r = 193,16$

$R_f = 0,90$ (dichlorométhane)

$T_m = 153-154$ (Litt¹¹⁷ : 159,2-160,9)

Rendement = 100%



Méthode I :

Dissoudre 1 g (6,66 mmol) d'héliotropine dans 14 mL de nitrométhane. Ajouter 128 mg (1,67 mmol, 0,25 éq) d'acétate d'ammonium et agiter au reflux pendant 5 heures et 30 minutes. Après retour à température ambiante, reprendre la solution avec de l'acétate d'éthyle et laver avec une solution saturée de bicarbonate de sodium puis avec une solution saturée de chlorure de sodium. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

6,17 (s, 2H, H_2) ; 7,08 (d, 1H, $^3J = 8,2$ Hz, H_7) ; 7,43 (dd, 1H, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H_6) ; 7,58 (d, 1H, $^4J = 1,8$ Hz, H_4) ; 8,10 (d, 1H, $^3J = 13,4$ Hz, H_a) ; 8,18 (d, 1H, $^3J = 13,4$ Hz, H_b).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1026 (ν_s C-O-C) ; 1258 (ν_{as} C-O-C) ; 1330 (ν_s NO_2) ; 1441 et 1619 (ν C=C) ; 1494 (ν_{as} NO_2) ; 3102 (ν =CH).

5-Nitro-6-[(E)-2-nitroéthényl]-1,3-benzodioxole (13)

Poudre jaune

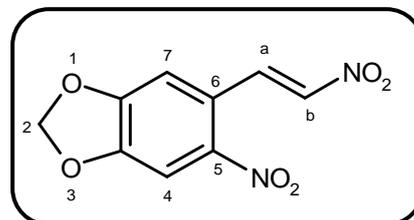
$C_9H_6N_2O_6$

$M_r = 238,16$

$R_f = 0,85$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 119-120$ (Litt¹¹⁷ : 121-122)

Rendement = 70%



Méthode J :

Dissoudre 600 mg (3,11 mmol) de 5-[(E)-2-nitroéthényl]-1,3-benzodioxole **12** dans 15 mL d'acide acétique glacial. Ajouter 0,692 mL (15,50 mmol, 5 éq) d'acide nitrique 100% et agiter à température ambiante pendant 6 heures. Verser le milieu réactionnel dans un mélange eau / glace. Passer à pH basique avec une solution d'hydroxyde de sodium 5M et extraire le produit au dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec.

RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

6,36 (s, 2H, H₂) ; 7,61 (s, 1H, H₇) ; 7,83 (s, 1H, H₄) ; 8,15 (d, 1H, ³J = 13,4 Hz, H_a) ; 8,39 (d, 1H, ³J = 13,4 Hz, H_b).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1027 (ν_s C-O-C) ; 1256 (ν_{as} C-O-C) ; 1333 (ν_s NO₂) ; 1505 (ν_{as} NO₂) ; 1605 (ν C=C) ; 3082 (ν C-H_{ar}).

5H-1,3-Dioxolo[4,5-f]indole (14)

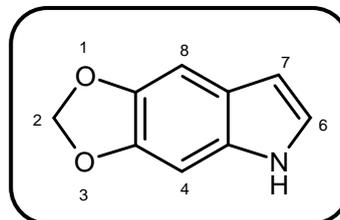
Poudre blanche

$C_9H_7NO_2$

$M_r = 161,16$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 105-106$ (Litt¹¹⁷ : 108,7-109,2)



Méthode K1 :

Mettre en solution 5 g (89,53 mmol, 42,6 éq) de fer (préalablement lavé avec de l'acide chlorhydrique) dans 10 mL d'éthanol et 7,5 mL d'acide acétique glacial. Agiter vigoureusement et chauffer à 95°C. Ajouter alors goutte à goutte pendant 10 minutes 500 mg (2,10 mmol) de 5-nitro-6-[(E)-2-nitroéthényl]-1,3-benzodioxole **13** dissous dans 11 mL d'acide acétique glacial. Agiter à 95°C pendant 5 minutes. Après retour à température ambiante, filtrer sur célite et rincer au dichlorométhane. Reprendre le filtrat à l'eau et extraire le produit au dichlorométhane. Laver les phases organiques avec une solution saturée de bicarbonate de sodium, sécher sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane. Rendement : 44%.

Méthode K2 :

Dissoudre 2,01 g (8,44 mmol) de 5-nitro-6-[(E)-2-nitroéthényl]-1,3-benzodioxole **13** dans 2,7 mL d'éthanol, 3 mL d'acide acétique glacial et 24 mL d'acétate d'éthyle. Ajouter 200 mg (10% en masse) de palladium sur charbon à 10%. Agiter pendant 3 heures à température ambiante sous 5 bars d'hydrogène. Neutraliser avec une solution d'hydroxyde de sodium 5M et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane. Rendement : 58%.

RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

5,94 (s, 2H, H₂) ; 6,30 (m, 1H, H₇) ; 6,93 (s, 1H, H₈) ; 7,01 (s, 1H, H₄) ; 7,17 (t, 1H, ³J = 2,4 Hz, H₆) ; 10,89 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1029 (ν_s C-O-C) ; 1300 (ν_{as} C-O-C) ; 1462 (δ_p N-H) ; 3408 (ν N-H).

1H-Indole-3-carbaldéhyde (15)

Poudre blanche

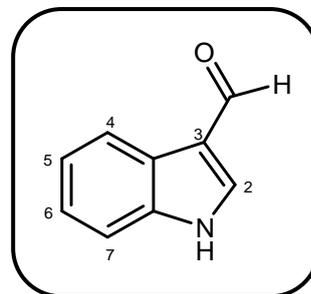
C₉H₇NO

M_r = 145,16

R_f = 0,25 (acétate d'éthyle / cyclohexane : 1 / 1)

F°C = 195-196 (Litt¹²³ : 197-199)

Rendement = 87%



Méthode L :

Refroidir 8 mL de *N,N*-diméthylformamide à 0 °C. Ajouter lentement 3,48 mL (37,40 mmol, 1,1 éq) d'oxychlorure de phosphore et agiter à 0 °C pendant 40 minutes. Ajouter lentement 4 g (34,20 mmol) de 1*H*-indole en solution dans 6 mL de *N,N*-diméthylformamide sans que la température ne dépasse 10 °C. Agiter pendant 40 minutes à cette température puis à 35 °C pendant 40 minutes. Ajouter de la glace pilée au mélange réactionnel et à l'aide d'une ampoule de coulée ajouter lentement et sous forte agitation 14,96 g (374,00 mmol, 11 éq) d'hydroxyde de sodium dissous dans 40 mL d'eau. Porter à 100 °C pendant 30 minutes et laisser revenir à température ambiante. Reprendre le milieu réactionnel par un grand volume d'eau et extraire à l'éther diéthylique. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec.

RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

7,25-7,29 (m, 2H, H₅, H₆) ; 7,54 (d, 1H, ³J = 7,0 Hz, H₇) ; 8,12 (dd, 1H, ³J = 8,2 Hz, ⁴J = 1,8 Hz, H₄) ; 8,32 (s, 1H, H₂) ; 9,97 (s, 1H, CHO) ; 12,17 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1463, 1514 (ν C=C) ; 1634 (ν C=O) ; 3167 (ν N-H).

6-Fluoro-1H-indole-3-carbaldéhyde (16)

Poudre beige

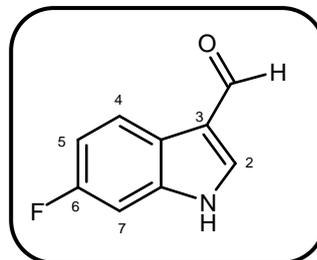
C₉H₆FNO

M_r = 163,15

R_f = 0,15 (dichlorométhane)

F°C = 173-174 (Litt¹⁷⁹ : 165-168)

Rendement = 85%



Le composé **16** est synthétisé selon la **méthode L** à partir de 250 mg (1,85 mmol) de 6-fluoro-1H-indole.

RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

7,08-7,17 (m, 1H, H₅) ; 7,35 (dd, 1H, ³J_{H-F} = 9,7 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,1 Hz, H₇) ; 8,10 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 8,5 Hz, ⁴J_{H-F} = 5,5 Hz, H₄) ; 8,34 (s, 1H, H₂) ; 9,95 (s, 1H, CHO) ; 12,21 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1148 (ν C-F) ; 1444, 1530 (ν C=C) ; 1638 (ν C=O) ; 3463 (ν N-H).

¹⁷⁹ Muratore M.E. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131* (31), 10796-10797.

5H-1,3-Dioxolo[4,5-f]indole-7-carbaldéhyde (17)

Poudre beige

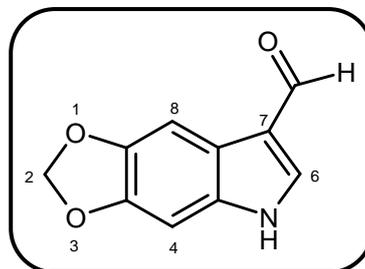
$C_{10}H_7NO_3$

$M_r = 189,17$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 217-218$ (Litt¹¹⁷ : 222,2)

Rendement = 80%



Le composé **17** est synthétisé selon la **méthode L** à partir de 300 mg (1,86 mmol) de 5H-[1,3]dioxolo[4,5-f]indole **15**.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

6,05 (s, 2H, H_2) ; 7,07 (s, 1H, H_4) ; 7,50 (s, 1H, H_8) ; 8,11 (d, 1H, $^3J = 2,7$ Hz, H_6) ; 9,87 (s, 1H, CHO) ; 11,97 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1179 (ν C-O) ; 1442 (ν C=C) ; 1632 (ν C=O) ; 3195 (ν_s N-H) ; 3465 (ν_{as} N-H).

1-(Tert-butoxycarbonyl)-1H-indole-3-carbaldéhyde (18)

Poudre blanche

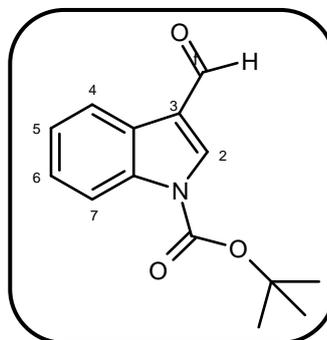
$C_{14}H_{15}NO_3$

$M_r = 245,28$

$R_f = 0,90$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 125-126$ (Litt¹²⁴ : 128-129)

Rendement = 98%



Méthode F3:

Dissoudre 250 mg (1,72 mmol) de 1H-indole-3-carbaldéhyde **15** dans 3,5 mL d'acétonitrile. Ajouter 489 mg (2,24 mmol, 1,3 éq) de dicarbonate de ditertbutyle puis 21 mg (0,17 mmol, 0,1 éq) de 4-(N,N-diméthylamino)pyridine. Agiter à température ambiante pendant 2 heures. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane.

RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

1,71 (s, 9H, 3 CH₃) ; 7,39-7,53 (m, 2H, H_{5,6}) ; 8,18 (m, 2H, H_{4,7}) ; 8,71 (s, 1H, H₂) ; 10,12 (s, 1H, CHO).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1154 (v C-O) ; 1363 (v C-N) ; 1454 et 1559 (v C=C) ; 1679 (v C=O) ; 1745 (v C=O).

1-(*Tert*-butoxycarbonyl)-6-fluoro-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (19)

Poudre jaune pâle

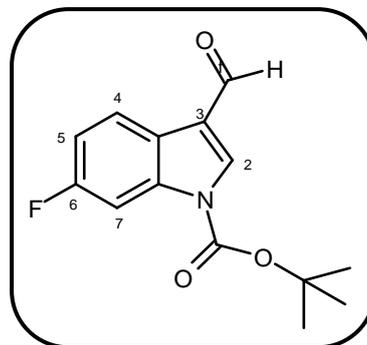
$C_{14}H_{14}FNO_3$

$M_r = 263,27$

$R_f = 0,90$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 136-137$

Rendement = 99%



Le composé **19** est synthétisé selon la **méthode F3** à partir de 215 mg (1,32 mmol) de 6-fluoro-1*H*-indole-3-carbaldéhyde **16**.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,70 (s, 9H, 3 CH_3) ; 7,27-7,35 (m, 1H, H_5) ; 7,86 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = 10,3$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,1$ Hz, H_7) ; 8,17 (dd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,8$ Hz, $^4J_{H-F} = 5,8$ Hz, H_4) ; 8,71 (s, 1H, H_2) ; 10,10 (s, 1H, CHO).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1157 (ν C-F) ; 1554 (ν C=C) ; 1670 (ν C=O) ; 1746 (ν C=O).

5-(*Tert*-butoxycarbonyl)-1,3-dioxolo[4,5-*f*]indole-7-carbaldéhyde (20)

Poudre beige

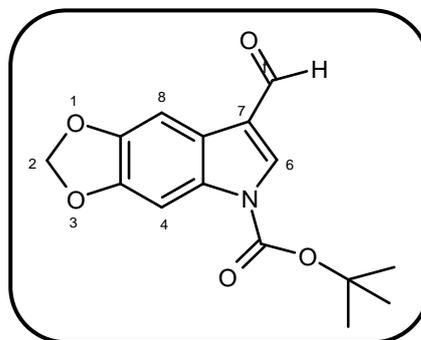
$C_{15}H_{15}NO_5$

$M_r = 289,29$

$R_f = 0,65$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 149-150$

Rendement = 94%



Le composé **20** est synthétisé selon la **méthode F3** à partir de 250 mg (1,32 mmol) de 5*H*-1,3-dioxolo[4,5-*f*]indole-7-carbaldéhyde **17**.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,68 (s, 9H, 3 CH_3) ; 6,13 (s, 2H, H_2) ; 7,54 (s, 1H, H_8) ; 7,60 (s, 1H, H_4) ; 8,52 (s, 1H, H_6) ; 10,02 (s, 1H, CHO).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1563 (ν C=C) ; 1670 (ν C=O) ; 1740 (ν C=O).

1-[[1-(*Tert*-butoxycarbonylindol-3-yl)méthyl]méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (21)

Cristaux blancs

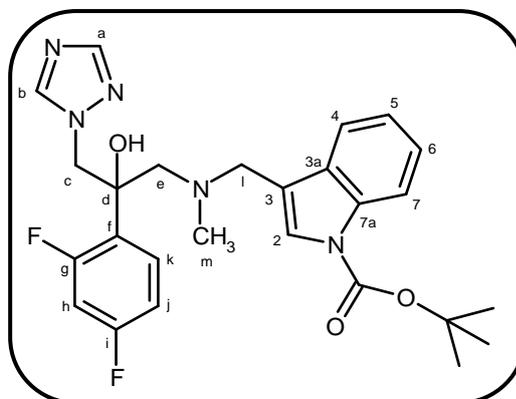
C₂₆H₂₉F₂N₅O₃

M_r = 497,55

R_f = 0,35 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = 120-121

Rendement = 47%



Le composé **21** est synthétisé selon la **méthode G** à partir de 273 mg (1,02 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(méthylamino)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 250 mg (1,02 mmol, 1 éq) de 1-(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde **18**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

1,66 (s, 9H, 3 CH₃) ; 2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,75 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,15 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,56 (d, 1H, ²J = 13,4 Hz, H_l) ; 3,71 (d, 1H, ²J = 13,4 Hz, H_l) ; 4,49 (d, 1H, ²J = 14,2 Hz, H_e) ; 4,55 (d, 1H, ²J = 14,2 Hz, H_e) ; 5,78 (s, 1H, OH) ; 6,97 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,11-7,16 (m, 2H, H_{h,5}) ; 7,28-7,32 (m, 2H, H_{4,6}) ; 7,40-7,46 (m, 2H, H_{k,2}) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,02 (d, 1H, ³J = 8,4 Hz, H₇) ; 8,29 (s, 1H, H_a).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

27,9 (3C, CH₃) ; 43,9 (C_m) ; 53,5 (C_l) ; 56,2 (C_e) ; 63,2 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 83,8 (C(CH₃)₃) ; 103,8 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 114,7 (C₇) ; 118,2 (C₃) ; 120,2 (C₄) ; 122,4 (C₅) ; 124,4 (C₆) ; 124,5 (C₂) ; 126,3 (C_f) ; 130,1 (C_{3a}) ; 130,2 (C_k) ; 135,1 (C_{7a}) ; 145,0 (C_a) ; 149,2 (CO) ; 150,6 (C_b).
C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm⁻¹) :

1154 (ν C-F) ; 1262 (ν C-O) ; 1385 (δ CH₃) ; 1451, 1497 et 1621 (ν C=C et ν C=N) ; 1733 (ν C=O) ; 3446 (ν O-H).

Masse :

498,1 (M+H)⁺.

1-[[1-(*Tert*-butoxycarbonyl-6-fluoroindol-3-yl)méthyl]méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (22)

Poudre blanche

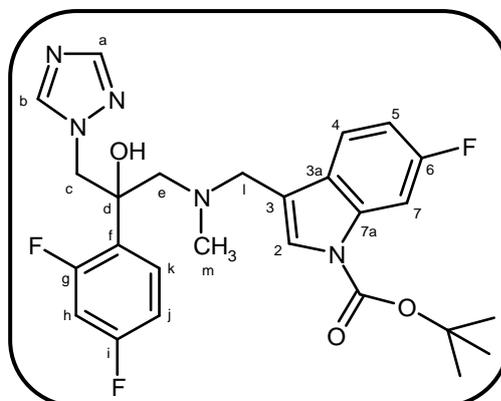
$C_{26}H_{28}F_3N_5O_3$

$M_r = 515,54$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 149-150$

Rendement = 68%



Le composé **22** est synthétisé selon la **méthode G** à partir de 306 mg (1,14 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(méthylamino)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 300 mg (1,14 mmol, 1 éq) de 1-(*tert*-butoxycarbonyl)-6-fluoro-1*H*-indole-3-carbaldéhyde **19**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,66 (s, 9H, 3 CH₃) ; 2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,73 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,15 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,54 (d, 1H, $^2J = 13,4$ Hz, H_l) ; 3,70 (d, 1H, $^2J = 13,4$ Hz, H_l) ; 4,48 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,54 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,97-7,02 (m, 2H, H_{j,5}) ; 7,11 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,28 (dd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,8$ Hz, $^4J_{H-F} = 5,6$ Hz, H₄) ; 7,40-7,46 (m, 2H, H_{k,2}) ; 7,73 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = 10,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 1,6$ Hz, H₇) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,29 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

27,8 (3C, CH₃) ; 44,0 (C_m) ; 53,5 (C_l) ; 56,2 (C_e) ; 63,1 (C_c) ; 75,3 (C_d) ; 84,3 (C(CH₃)₃) ; 101,6 (C₇) ; 103,8 (C_h) ; 110,3 (C₅) ; 110,9 (C_j) ; 118,2 (C₃) ; 121,4 (C₄) ; 124,9 (C₂) ; 126,3 (C_f) ; 126,7 (C_{3a}) ; 130,1 (C_k) ; 135,2 (C_{7a}) ; 145,0 (C_a) ; 149,0 (CO) ; 150,6 (C_b) ; 160,2 (C₆).
C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1157 (v C-F) ; 1274 (v C-O) ; 1386 (δ CH₃) ; 1494 et 1616 (v C=C et v C=N) ; 1734 (v C=O) ; 3444 (v O-H).

Masse :

516,1 (M+H)⁺.

1-([5-(*Tert*-butoxycarbonyl)-1,3-dioxolo[4,5-*f*]indol-7-yl]méthyl)méthylamino)-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (23**)**

Poudre blanche

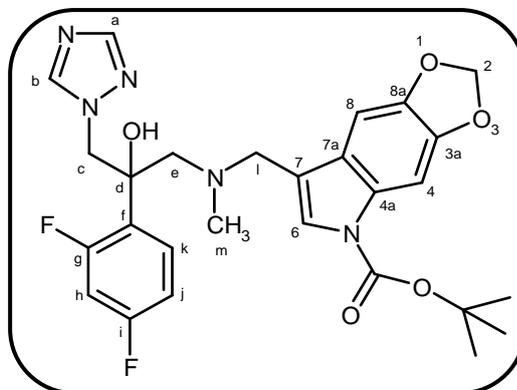
$C_{27}H_{29}F_2N_5O_5$

$M_r = 541,52$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 108-109$

Rendement = 59%



Le composé **23** est synthétisé selon la **méthode G** à partir de 278 mg (1,04 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(méthylamino)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 300 mg (1,04 mmol, 1 équ) de 5-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,3-dioxolo[4,5-*f*]indole-7-carbaldéhyde **20**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,64 (s, 9H, 3 CH₃) ; 2,11 (s, 3H, H_m) ; 2,69 (d, 1H, $^2J = 13,8$ Hz, H_c) ; 3,14 (d, 1H, $^2J = 13,8$ Hz, H_c) ; 3,45 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_i) ; 3,64 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_i) ; 4,48 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,54 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,04 (s, 2H, H₂) ; 6,69 (s, 1H, H₈) ; 6,96 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,08 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,30 (s, 1H, H₄) ; 7,43 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,50 (s, 1H, H₆) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,28 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

27,8 (3C, CH₃) ; 43,9 (C_m) ; 53,7 (C_i) ; 56,2 (C_e) ; 63,1 (C_c) ; 75,3 (C_d) ; 83,8 (C(CH₃)₃) ; 96,0 (C₆) ; 99,3 (C₈) ; 101,2 (C₂) ; 103,8 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 118,4 (C₄) ; 123,1 (C₇) ; 124,2 (C_{7a}) ; 126,3 (C_f) ; 130,0 (C_k) ; 130,1 (C_{4a}) ; 143,9 (C_{8a}) ; 145,0 (C_a) ; 145,8 (C_{3a}) ; 149,1 (CO) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1163 (v C-F) ; 1288 (v C-O) ; 1406, 1466 et 1620 (v C=C et v C=N) ; 1729 (v C=O) ; 3445 (v O-H).

Masse :

542,3 (M+H)⁺.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(1*H*-indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-propan-2-ol (24)

Poudre blanche

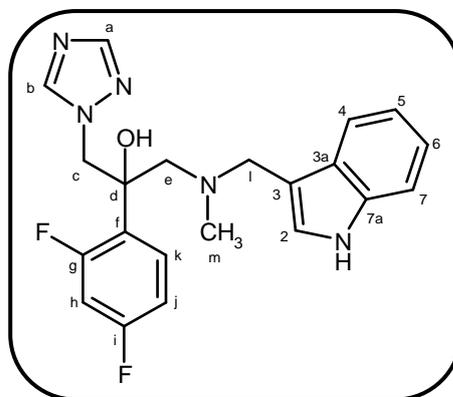
$C_{21}H_{21}F_2N_5O$

$M_r = 397,43$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 73-74$

Rendement = 64%



Méthode M :

Dissoudre sous argon 225 mg (0,45 mmol) de 1-[[1-(*tert*-butoxycarbonylindol-3-yl)méthyl]méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **21** dans 8 mL de dichlorométhane sec. Ajouter 611 mg (2,71 mmol, 6 éq) de bromure de zinc et agiter sous argon à température ambiante pendant 24 heures. Ajouter 45 mL d'eau au milieu réactionnel et agiter à température ambiante pendant 2 heures. Extraire le produit avec du dichlorométhane, sécher sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,11 (s, 3H, H_m) ; 2,84 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,04 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,64 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,68 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 4,48 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,53 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,72 (s, 1H, OH) ; 6,93 (dd, 1H, $^3J = ^3J' = 7,6$ Hz, H_5) ; 6,98 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,07 (dd, 1H, $^3J = ^3J' = 7,6$ Hz, H_6) ; 7,13-7,19 (m, 2H, $H_{h,2}$) ; 7,33 (m, 2H, $H_{4,7}$) ; 7,43 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,76 (s, 1H, H_b) ; 8,28 (s, 1H, H_a) ; 10,89 (se, 1H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,7 (C_m) ; 54,2 (C_l) ; 56,2 (C_e) ; 63,0 (C_c) ; 74,9 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 111,4 (C_7) ; 111,6 (C_3) ; 118,5 (C_5) ; 119,1 (C_4) ; 121,1 (C_6) ; 124,8 (C_2) ; 126,7 (C_f) ; 127,5 (C_{3a}) ; 130,0 (C_k) ; 136,5 (C_{7a}) ; 145,0 (C_a) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1183 (v C-F) ; 1492 et 1625 (v C=C et v C=N) ; 3435 (v O-H et v N-H).

Masse :

398,3 (M+H)⁺.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(6-fluoro-1*H*-indol-3-ylméthyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (25)

Poudre blanche

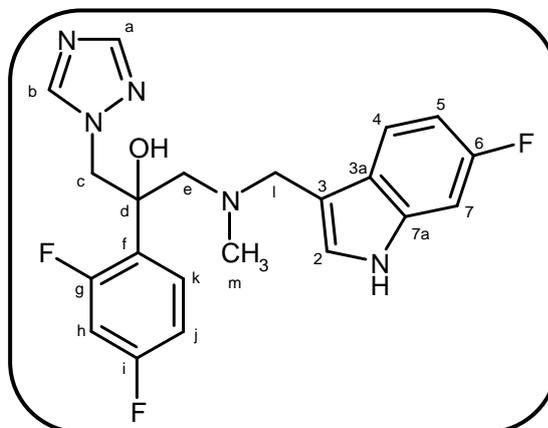
C₂₁H₂₀F₃N₅O

M_r = 415,42

R_f = 0,45 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = 77-78

Rendement = 76%



Le composé **25** est synthétisé selon la **méthode M** à partir de 285 mg (0,55 mmol) de 1-[(1-*tert*-butoxycarbonyl-6-fluoroindol-3-yl)méthyl]méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **22**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,11 (s, 3H, H_m) ; 2,80 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,05 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,60 (d, 1H, ²J = 13,2 Hz, H_l) ; 3,66 (d, 1H, ²J = 13,2 Hz, H_l) ; 4,47 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_e) ; 4,53 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_e) ; 5,75 (s, 1H, OH) ; 6,77 (m, 1H, H₅) ; 6,98 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,11 (dd, 1H, ³J_{H-F} = 10,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H₇) ; 7,13-7,18 (m, 2H, H_{h,2}) ; 7,26 (dd, 1H, ³J_{H-H} = 8,8 Hz, ⁴J_{H-F} = 5,6 Hz, H₄) ; 7,43 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,76 (s, 1H, H_b) ; 8,29 (s, 1H, H_a) ; 10,95 (se, 1H, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

43,7 (C_m) ; 54,1 (C_l) ; 56,2 (C_e) ; 63,0 (C_c) ; 75,0 (C_d) ; 97,3 (C₇) ; 103,7 (C_h) ; 106,8 (C₅) ; 110,8 (C_j) ; 111,9 (C₃) ; 120,2 (C₄) ; 124,3 (C_{3a}) ; 125,3 (C₂) ; 126,5 (C_f) ; 130,1 (C_k) ; 136,3 (C_{7a}) ; 145,0 (C_a) ; 150,6 (C_b).

C_g, C_i et C₆ non visibles.

IR (KBr, cm⁻¹) :

1137 (v C-F) ; 1275 (v C-N) ; 1456, 1503 et 1622 (v C=C et v C=N) ; 2928 (v C-H_{aliph.}) ; 3419 (v O-H et v N-H).

Masse :

416,4 (M+H)⁺.

1-[(5*H*-1,3-Dioxolo[4,5-*f*]indol-7-yl)méthyl]méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (26)

Poudre grise

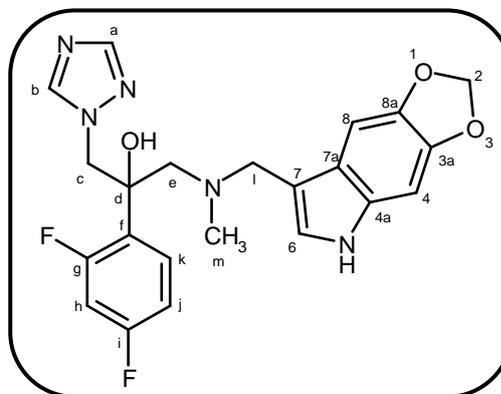
$C_{22}H_{21}F_2N_5O_3$

$M_r = 441,40$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 137-138$

Rendement = 21%



Le composé **26** est synthétisé selon la **méthode M** à partir de 290 mg (0,54 mmol) de 1-([5-(*tert*-butoxycarbonyl)-1,3-dioxolo[4,5-*f*]indol-7-yl)méthyl]méthylamino)-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **23**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,09 (s, 3H, H_m) ; 2,78 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,04 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,53 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,60 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 4,48 (d, 1H, $^2J = 14,6$ Hz, H_e) ; 4,53 (d, 1H, $^2J = 14,6$ Hz, H_e) ; 5,72 (s, 1H, OH) ; 5,93 (s, 2H, H_2) ; 6,71 (s, 1H, H_8) ; 6,85 (s, 1H, H_4) ; 6,99 (m, 2H, $H_{j,6}$) ; 7,13 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,43 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,77 (s, 1H, H_b) ; 8,29 (s, 1H, H_a) ; 10,67 (se, 1H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,7 (C_m) ; 54,3 (C_l) ; 56,2 (C_e) ; 62,6 (C_c) ; 74,9 (C_d) ; 92,1 (C_4) ; 97,8 (C_8) ; 100,1 (C_2) ; 103,7 (C_h) ; 110,5 (C_j) ; 111,9 (C_7) ; 121,3 (C_{7a}) ; 123,2 (C_6) ; 126,4 (C_f) ; 130,1 (C_k) ; 131,2 (C_{4a}) ; 141,8 (C_{8a}) ; 143,9 (C_{3a}) ; 144,3 (C_a) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1185 (v C-F) ; 1312 (v C-O) ; 1472, 1503 et 1619 (v C=C et v C=N) ; 3422 (v O-H et v N-H).

Masse :

442,2 (M+H) $^+$.

4-(Bromométhyl)benzènesulfonamide (27)

Poudre blanche

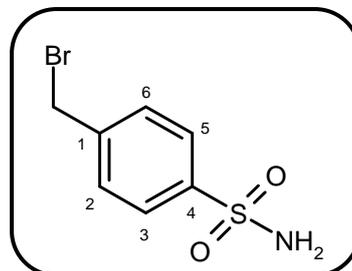
$C_7H_8BrNO_2S$

$M_r = 250,12$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane / éthanol : 19 / 1)

$F^\circ C = 176-177$

Rendement = 98%



Méthode N1 :

Dissoudre 1 g (3,71 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle dans 12 mL de tétrahydrofurane. Refroidir le mélange réactionnel à l'aide d'un bain de glace et ajouter 0,93 mL (13,83 mmol, 3,7 éq) d'une solution aqueuse d'ammoniaque à 28%. Agiter en laissant revenir à température ambiante pendant 1 heure. Ajouter de l'eau et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

4,80 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,43 (se, 2H, NH_2) ; 7,67 (d, 2H, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,84 (d, 2H, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3,5}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

673 (v C-Br) ; 1153 (ν_s SO_2) ; 1329 (ν_{as} SO_2) ; 1463, 1507 (v C=C) ; 1569 (δ N-H) ; 2929, 2957 (v $CH_{aliph.}$) ; 3361 (v N-H).

Masse :

248,0-250,0 (M-H) $^+$.

4-[[4-(Bromométhyl)phényl]sulfonyl]morpholine (28)

Poudre blanche

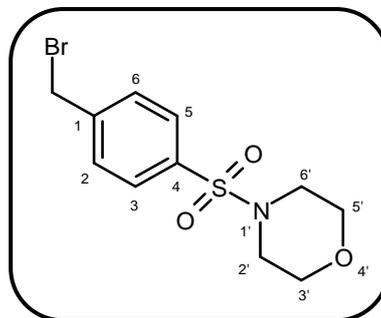
$C_{11}H_{14}BrNO_3S$

$M_r = 320,21$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 147-148$

Rendement = 70%



Méthode N2 :

Mettre en solution sous azote 71 μL (0,74 mmol, 1,1 éq) de morpholine dans 3 mL de tétrahydrofurane sec. Ajouter 0,154 mL (0,89 mmol, 1,2 éq) *N-N*-diisopropyléthylamine et refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ajouter alors goutte à goutte 200 mg (0,74 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle dissous dans 4 mL de tétrahydrofurane sec. Agiter en laissant revenir à température ambiante pendant 1 heure. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,90 (t, 4H, $^3J = 4,6$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 3,66 (t, 4H, $^3J = 4,6$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 4,84 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,77 (s, 4H, $H_{2,3,5,6}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

729 (ν C-Br) ; 940 (ν C-O) ; 1099 (ν C-N) ; 1164 (ν_s SO_2) ; 1339 (ν_{as} SO_2).

Masse :

319,9-321,9 ($M+H$) $^+$.

4-(Bromométhyl)-N-(propyl)benzènesulfonamide (29)

Cristaux beiges

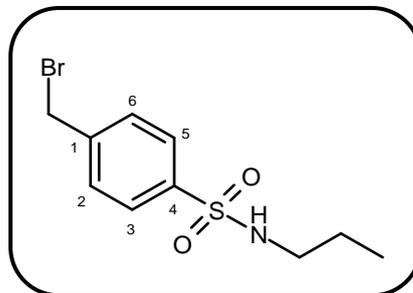
$C_{10}H_{14}BrNO_2S$

$M_r = 292,20$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 71-72$

Rendement = 82%



Le composé **29** est synthétisé selon la **méthode N2** à partir de 0,183 mL (2,22 mmol, 2 éq) de *n*-propylamine et 300 mg (1,11 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,82 (t, 3H, $^3J = 7,4$ Hz, CH_3) ; 1,40 (sext, 2H, $^3J = 7,4$ Hz, $CH_2CH_2CH_3$) ; 2,71 (m, 2H, $NHCH_2CH_2$) ; 4,80 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,65 (t, 1H, $^3J = 6,0$ Hz, NH) ; 7,69 (d, 2H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,80 (d, 2H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{3,5}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

669 (ν C-Br) ; 1153 (ν_s SO_2) ; 1323 (ν_{as} SO_2) ; 2878 (ν_s CH_3) ; 2965 (ν_{as} CH_3) ; 3266 (ν N-H).

Masse :

291,9-293,9 (M+H) $^+$.

4-(Bromométhyl)-N-(isopropyl)benzènesulfonamide (30)

Cristaux blancs

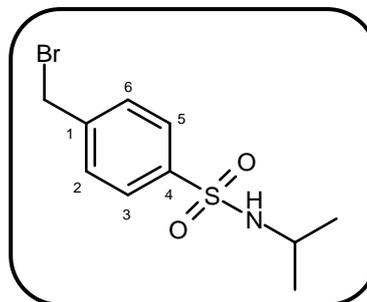
$C_{10}H_{14}BrNO_2S$

$M_r = 292,20$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 95-96$

Rendement = 97%



Le composé **30** est synthétisé selon la **méthode N2** à partir de 0,127 mL (1,48 mmol, 2 éq) d'isopropylamine et 200 mg (0,74 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,97 (d, 6H, $^3J = 6,7$ Hz, 2 CH_3) ; 3,29 (sept, 1H, $^3J = 6,7$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ; 4,80 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,67 (m, 3H, $H_{2,6}$, NH) ; 7,82 (dd, 2H, $^3J = 6,4$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, $H_{3,5}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

676 (v C-Br) ; 1253 (v_s SO_2) ; 1312 (v_{as} SO_2) ; 1420 (δ_p N-H) ; 3299 (v N-H).

Masse :

291,9-293,9 (M+H) $^+$.

4-(Bromométhyl)-N-(isobutyl)benzènesulfonamide (31)

Cristaux blancs

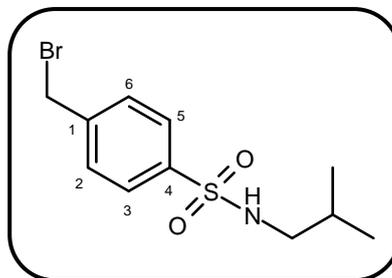
$C_{11}H_{16}BrNO_2S$

$M_r = 306,23$

$R_f = 0,50$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 98-99$

Rendement = 88%



Le composé **31** est synthétisé selon la **méthode N2** à partir de 0,221 mL (2,22 mmol, 2 éq) d'isobutylamine et 300 mg (1,11 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,84 (d, 6H, $^3J = 6,7$ Hz, 2 CH_3) ; 1,65 (sept, 1H, $^3J = 6,7$ Hz, $CH(CH_3)_2$) ; 2,59 (d, 2H, $^3J = 6,7$ Hz, CH_2) ; 4,80 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,68 (m, 3H, $H_{2,6}$, NH) ; 7,81 (d, 2H, $^3J = 6,4$ Hz, $H_{3,5}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

674 (ν C-Br) ; 1149 (ν_s SO_2) ; 1320 (ν_{as} SO_2) ; 1416 (δ_p N-H) ; 2959 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3265 (ν N-H).

Masse :

305,9-308,0 (M+H) $^+$.

4-(Bromométhyl)-N-(phényl)benzènesulfonamide (32)

Poudre blanche

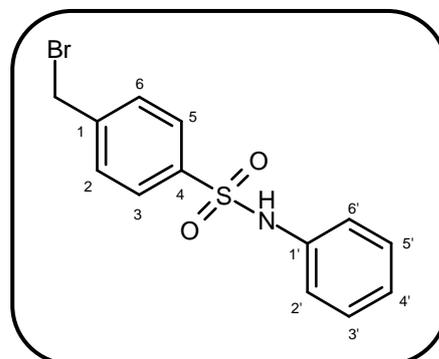
$C_{13}H_{12}BrNO_2S$

$M_r = 326,22$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 124-125$

Rendement = 84%



Méthode N3 :

Mettre en solution sous azote 62 μ L (0,67 mmol) d'aniline dans 5 mL de dichlorométhane sec. Ajouter 60 μ L (0,74 mmol, 1,1 éq) de pyridine et refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ajouter alors goutte à goutte 200 mg (0,74 mmol, 1,1 éq) de chlorure 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle dissous dans 3 mL de dichlorométhane sec. Agiter à 0°C pendant 2 heures. Laver le milieu réactionnel avec une solution d'acide chlorhydrique 5M, sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane.

RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

4,74 (s, 2H, CH₂Br) ; 7,06 (t, 1H, ³J = 7,2 Hz, H_{4'}) ; 7,12 (d, 2H, ³J = 7,2 Hz, H_{2',6'}) ; 7,26 (dd, 2H, ³J = ³J' = 7,2 Hz, H_{3',5'}) ; 7,63 (d, 2H, ³J = 8,4 Hz, H_{2,6}) ; 7,77 (d, 2H, ³J = 8,4 Hz, H_{3,5}) ; 10,36 (s, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

698 (ν C-Br) ; 1163 (ν_s SO₂) ; 1338 (ν_{as} SO₂) ; 1484 et 1594 (ν C=C) ; 3232 (ν N-H).

Masse :

325,8-327,9 (M+H)⁺.

4-(Bromométhyl)-N-(4-propylphényl)benzènesulfonamide (33)

Poudre rouge pâle

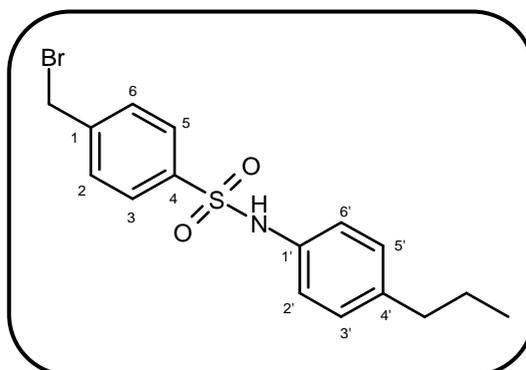
$C_{16}H_{18}BrNO_2S$

$M_r = 368,30$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 85-86$

Rendement = 90%



Le composé **33** est synthétisé selon la **méthode N3** à partir de 100 μL (0,67 mmol) de 4-propylaniline et 200 mg (0,74 mmol, 1,1 éq) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzène sulfonyle.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,86 (t, 3H, $^3J = 7,3$ Hz, $CH_2CH_2CH_3$) ; 1,52 (sext, 2H, $^3J = 7,3$ Hz, $CH_2CH_2CH_3$) ; 2,46 (t, 2H, $^3J = 7,3$ Hz, $CH_2CH_2CH_3$) ; 4,74 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,01 (d, 2H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,07 (d, 2H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,62 (d, 2H, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,74 (d, 2H, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{3,5}$) ; 10,21 (s, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

686 (v C-Br) ; 1159 (ν_s SO_2) ; 1328 (ν_{as} SO_2) ; 1387 (δ_p CH_2) ; 1508 (v C=C) ; 2860 (ν_s CH_2) ; 2928 (ν_{as} CH_2) ; 3274 (v N-H).

Masse :

367,9-369,9 (M+H) $^+$.

4-(Bromométhyl)-N-(4-isopropylphényl)benzènesulfonamide (34)

Poudre rouge pâle

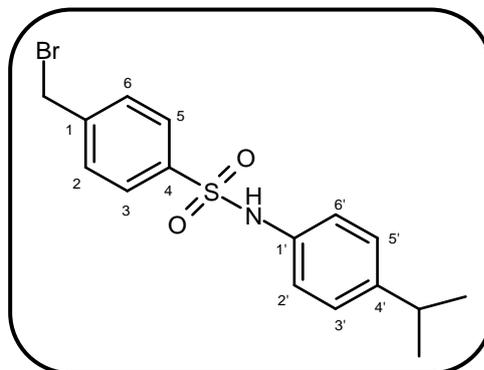
$C_{16}H_{18}BrNO_2S$

$M_r = 368,30$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 100-101$

Rendement = 81%



Le composé **34** est synthétisé selon la **méthode N3** à partir de 92 μL (0,67 mmol) de 4-isopropylaniline et 200 mg (0,74 mmol, 1,1 éq) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzène sulfonyle.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,14 (d, 6H, $^3J = 6,4$ Hz, 2 CH_3) ; 2,81 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$) ; 4,75 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,03 (d, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,13 (d, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,63 (d, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,77 (d, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, $H_{3,5}$) ; 10,24 (s, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

683 (v C-Br) ; 1161 (ν_s SO_2) ; 1326 (ν_{as} SO_2) ; 1446 et 1510 (v C=C) ; 2963 (v C- $H_{aliph.}$) ; 3268 (v N-H).

Masse :

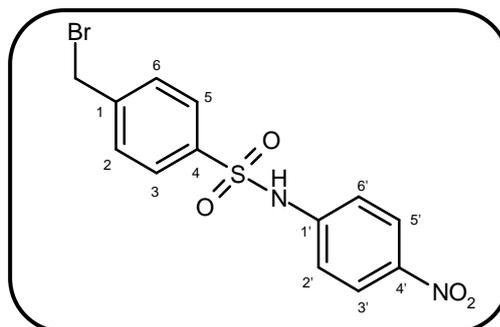
367,9-369,9 (M+H) $^+$.

4-(Bromométhyl)-N-(4-nitrophényl)benzènesulfonamide (35)

Poudre jaune

$C_{13}H_{11}BrN_2O_4S$

$M_r = 371,22$



Méthode N3 :

Dissoudre sous azote 93 mg (0,67 mmol) de 4-nitroaniline dans 5 mL de tétrahydrofurane sec. Ajouter 60 μ L (0,74 mmol, 1,1 éq) de pyridine et refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ajouter alors goutte à goutte 200 mg (0,74 mmol, 1,1 éq) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle dissous dans 3 mL de tétrahydrofurane sec. Agiter à 0°C pendant 2 heures. Laver le milieu réactionnel avec une solution d'acide chlorhydrique 5M, sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Le produit est engagé directement dans l'étape suivante.

Masse :

369,0-371,0 (M-H)⁺.

4-([2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)benzènesulfonamide (36)

Poudre blanche

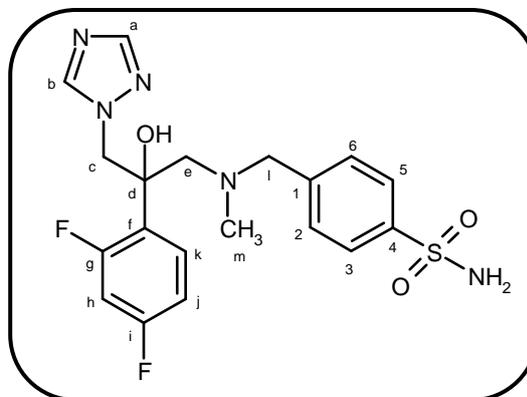
$C_{19}H_{21}F_2N_5O_3S$

$M_r = 437,48$

$R_f = 0,75$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 151-152$

Rendement = 82%



Méthode O :

Dissoudre sous argon 161 mg (0,60 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-méthylamino-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** dans 5 mL d'acétonitrile. Ajouter 0,114 mL (0,66 mmol, 1,1 éq) de *N-N*-diisopropyléthylamine puis 150 mg (0,60 mmol, 1 éq) de 4-(bromométhyl)benzènesulfonamide **27**. Agiter sous argon à température ambiante pendant 24 heures. Evaporer le solvant. Reprendre à l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,09 (s, 3H, H_m) ; 2,79 (d, 1H, $^2J = 14,6$ Hz, H_c) ; 3,10 (d, 1H, $^2J = 14,6$ Hz, H_c) ; 3,47 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_l) ; 3,70 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_l) ; 4,57 (s, 2H, H_e) ; 5,83 (s, 1H, OH) ; 7,01 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,21 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,24 (d, 2H, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,32 (se, 2H, NH_2) ; 7,46 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,71 (d, 2H, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,80 (s, 1H, H_b) ; 8,33 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,7 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,0 (C_l) ; 63,3 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 125,6 (2C, $C_{3,5}$) ; 126,2 (C_f) ; 128,0 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,0 (C_k) ; 142,8 (C_4) ; 143,5 (C_1) ; 145,1 (C_a) ; 150,7 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1155 ($\nu_s \text{SO}_2$) ; 1336 ($\nu_{\text{as}} \text{SO}_2$) ; 1417, 1499, 1612 ($\nu \text{C}=\text{C}$ et $\nu \text{C}=\text{N}$) ; 3312 ($\nu \text{O-H}$ et $\nu \text{N-H}$).

Masse :

438,0 (M+H)⁺.

**2-(2,4-Difluorophényl)-1-{méthyl[4-(morphinosulfonyl
phényl)méthyl]amino}-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (37)**

Poudre blanche

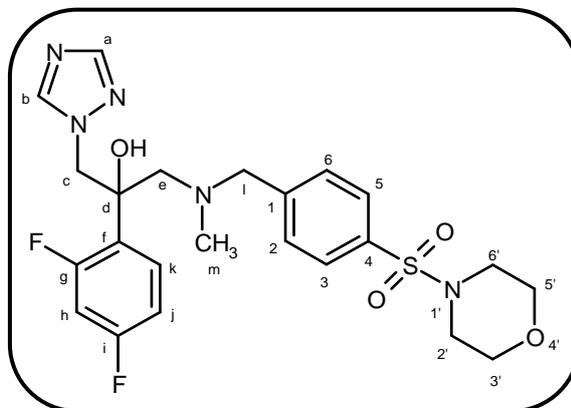
C₂₃H₂₇F₂N₅O₄S

M_r = 507,57

R_f = 0,15 (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

F°C = 57-58

Rendement = 85%



Le composé **37** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 100 mg (0,37 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 119 mg (0,37 mmol, 1 éq) de 4-{[4-(bromométhyl)phényl]sulfonyl}morpholine **28**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,15 (s, 3H, H_m) ; 2,79 (d, 1H, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 2,86 (m, 4H, H_{2',6'}) ; 3,06 (d, 1H, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 3,55 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_i) ; 3,66 (m, 4H, H_{3',5'}) ; 3,73 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_i) ; 4,52 (d, 1H, ²J = 14,3 Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, ²J = 14,3 Hz, H_e) ; 5,84 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,17 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,44 (m, 3H, H_{k,2,6}) ; 7,64 (d, 2H, ³J = 8,3 Hz, H_{3,5}) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

44,1 (C_m) ; 46,1 (2C, C_{2',6'}) ; 56,1 (C_e) ; 62,2 (C_i) ; 63,3 (C_c) ; 65,5 (2C, C_{3',5'}) ; 75,5 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 126,3 (C_f) ; 127,7 (2C, C_{3,5}) ; 129,5 (2C, C_{2,6}) ; 130,1 (C_k) ; 132,9 (C_l) ; 145,1 (C₄) ; 145,5 (C_a) ; 150,7 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm⁻¹) :

1102 (ν C-F) ; 1167 (ν_s SO₂) ; 1270 (ν C-N) ; 1348 (ν_{as} SO₂) ; 1503 et 1615 (ν C=C et ν C=N) ; 3423 (ν O-H).

Masse :

508,0 (M+H)⁺.

4-([2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)-*N*-(propyl)benzènesulfonamide (38)

Cristaux beiges

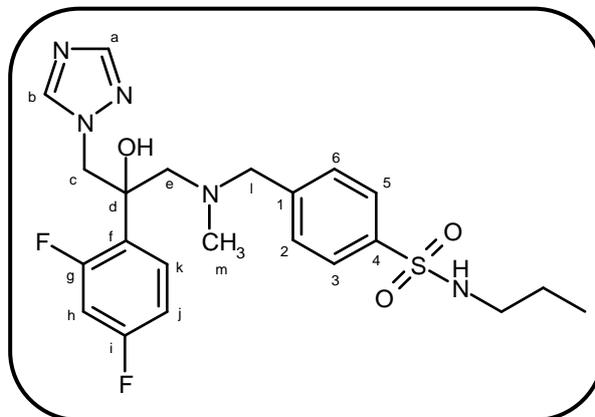
C₂₂H₂₇F₂N₅O₃S

M_r = 479,56

R_f = 0,40 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = 52-53

Rendement = 61%



Le composé **38** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 138 mg (0,51 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 150 mg (0,51 mmol, 1 éq) de 4-(bromométhyl)-*N*-(propyl)benzènesulfonamide **29**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

0,81 (t, 3H, ³J = 7,2 Hz, CH₂CH₂CH₃) ; 1,38 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃) ; 2,13 (s, 3H, H_m) ; 2,69 (q, 2H, ³J = 7,2 Hz, NHCH₂CH₂) ; 2,80 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,07 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,50 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_l) ; 3,69 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_l) ; 4,53 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_e) ; 4,59 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_e) ; 5,83 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,18 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,29 (d, 2H, ³J = 7,6 Hz, H_{2,6}) ; 7,45 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,54 (m, 1H, NH) ; 7,68 (d, 2H, ³J = 7,6 Hz, H_{3,5}) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,33 (s, 1H, H_a).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

11,3 (CH₂CH₂CH₃) ; 22,5 (CH₂CH₂CH₃) ; 43,9 (C_m) ; 44,5 (NHCH₂CH₂) ; 56,0 (C_e) ; 62,1 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 126,2 (C_f) ; 126,4 (2C, C_{3,5}) ; 129,1 (2C, C_{2,6}) ; 130,0 (C_k) ; 139,2 (C₁) ; 144,1 (C₄) ; 145,1 (C_a) ; 150,7 (C_b) ; 159,2 (C_i) ; 161,9 (C_g).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1092 (ν C-F) ; 1160 (ν_s SO₂) ; 1273 (ν C-N) ; 1323 (ν_{as} SO₂) ; 1502, 1617 (ν C=C et ν C=N) ; 2873 (ν_s CH₃) ; 2965 (ν_{as} CH₃) ; 3285, 3452 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

480,2 (M+H)⁺.

4-([2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)-*N*-(isopropyl)benzènesulfonamide (39)

Cristaux blancs

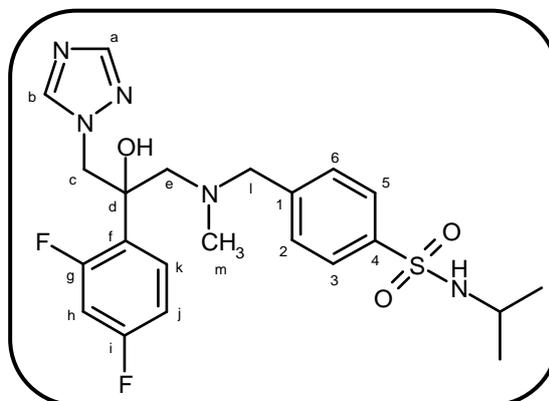
$C_{22}H_{27}F_2N_5O_3S$

$M_r = 479,56$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 135-136$

Rendement = 80%



Le composé **39** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 130 mg (0,49 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 142 mg (0,49 mmol, 1 éq) de 4-(bromométhyl)-*N*-(isopropyl)benzènesulfonamide **30**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

0,95 (d, 6H, $^3J = 6,4$ Hz, 2 CH_3) ; 2,13 (s, 3H, H_m) ; 2,79 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,06 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,25 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$) ; 3,50 (d, 1H, $^2J = 13,4$ Hz, H_l) ; 3,69 (d, 1H, $^2J = 13,4$ Hz, H_l) ; 4,51 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,82 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,18 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,29 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,45 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,54 (d, 1H, $^3J = 7,3$ Hz, NH) ; 7,70 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

23,3 (2C, CH_3) ; 44,0 (C_m) ; 45,4 ($CH(CH_3)_2$) ; 56,0 (C_e) ; 62,1 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 126,1 (C_f) ; 126,4 (2C, $C_{3,5}$) ; 129,2 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,1 (C_k) ; 140,5 (C_i) ; 144,0 (C_4) ; 145,1 (C_a) ; 150,7 (C_b) ; 159,2 (C_i) ; 161,9 (C_g).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1148 (ν_s SO_2) ; 1316 (ν_{as} SO_2) ; 1429,1504 et 1616 (ν C=C et ν C=N) ; 2970 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3281-3440 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

480,0 (M+H) $^+$.

4-([2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)-*N*-(isobutyl)benzènesulfonamide (40)

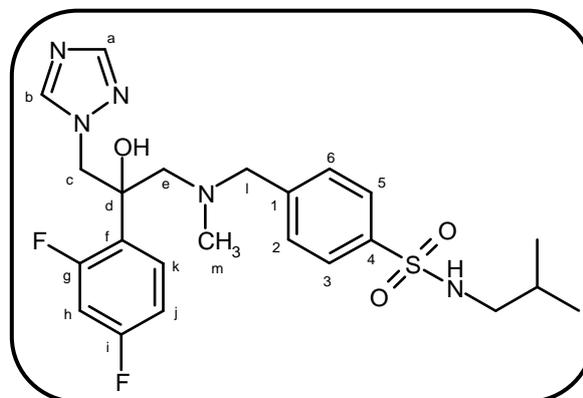
Huile incolore

$C_{23}H_{29}F_2N_5O_3S$

$M_r = 493,59$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

Rendement = 81%



Le composé **40** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 131 mg (0,49 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 150 mg (0,49 mmol, 1 éq) de 4-(bromométhyl)-*N*-(isobutyl)benzènesulfonamide **31**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

0,82 (d, 6H, $^3J = 6,7$ Hz, 2 CH_3) ; 1,63 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$) ; 2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,78 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,07 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,35 (m, 2H, CH_2) ; 3,49 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_l) ; 3,70 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_l) ; 4,52 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,82 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,18 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,28 (d, 2H, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,45 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,56 (t, 1H, $^3J = 6,1$ Hz, NH) ; 7,68 (d, 2H, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

20,1 (2C, CH_3) ; 28,2 ($CH(CH_3)_2$) ; 44,0 (C_m) ; 50,2 (CH_2) ; 56,0 (C_e) ; 62,1 (C_l) ; 63,1 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 126,2 (C_f) ; 126,4 (2C, $C_{3,5}$) ; 129,2 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,2 (C_k) ; 139,3 (C_i) ; 144,1 (C_4) ; 145,1 (C_a) ; 150,7 (C_b) ; 159,2 (C_i) ; 161,9 (C_g).

IR (NaCl, cm^{-1}) :

1138 (ν_s SO_2) ; 1313 (ν_{as} SO_2) ; 1472 et 1600 (ν C=C) ; 2937 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3267 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

494,0 (M+H) $^+$.

4-([2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)-N-(phényl)benzènesulfonamide (41)

Cristaux beiges

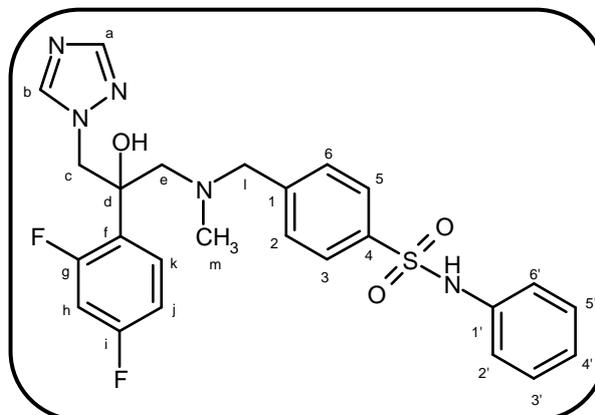
C₂₅H₂₅F₂N₅O₃S

M_r = 513,58

R_f = 0,20 (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

F°C = 128-129

Rendement = 82%



Le composé **41** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 82 mg (0,31 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 100 mg (0,31 mmol, 1 éq) de 4-(bromométhyl)-N-(phényl)benzènesulfonamide **32**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,08 (3H, s, H_m) ; 2,76 (1H, d, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,03 (1H, d, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,45 (1H, d, ²J = 14,4 Hz, H_i) ; 3,64 (1H, d, ²J = 14,4 Hz, H_i) ; 4,51 (1H, d, ²J = 14,0 Hz, H_e) ; 4,57 (1H, d, ²J = 14,0 Hz, H_e) ; 5,79 (1H, s, OH) ; 6,97 (1H, ddd, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,04 (1H, t, ³J = 7,2 Hz, H_{4'}) ; 7,09-7,16 (3H, m, H_{h,2',6'}) ; 7,23-7,26 (4H, m, H_{2,6,3',5'}) ; 7,42 (1H, ddd, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,64 (2H, d, ³J = 8,0 Hz, H_{3,5}) ; 7,78 (1H, s, H_b) ; 8,31 (1H, s, H_a) ; 10,24 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

43,9 (C_m) ; 56,0 (C_e) ; 62,1 (C_i) ; 63,3 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,8 (C_h) ; 110,7 (C_j) ; 120,2 (2C, C_{2',6'}) ; 124,2 (C_{4'}) ; 126,2 (C_f) ; 126,6 (2C, C_{3,5}) ; 129,1 (2C, C_{2,6}) ; 129,3 (2C, C_{3',5'}) ; 130,1 (C_k) ; 137,9 (C_{1'}) ; 138,1 (C₁) ; 144,8 (C₄) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm⁻¹) :

1092 (ν C-F) ; 1159 (ν_s SO₂) ; 1271 (ν C-N) ; 1339 (ν_{as} SO₂) ; 1498, 1613 (ν C=C et ν C=N) ; 3465 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

514,1 (M+H)⁺.

4-([2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)-*N*-(4-propylphényl)benzènesulfonamide (42)

Poudre blanche

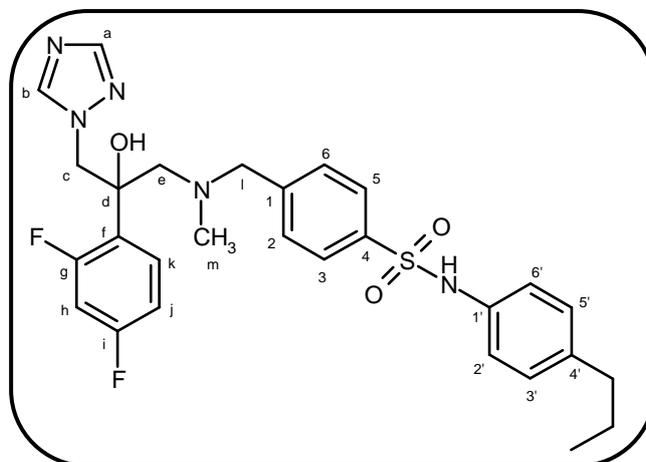
$C_{28}H_{31}F_2N_5O_3S$

$M_r = 555,66$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 77-78$

Rendement = 72%



Le composé **42** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 87 mg (0,33 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 120 mg (0,33 mmol, 1 éq) de 4-(bromométhyl)-*N*-(4-propylphényl)benzènesulfonamide **33**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

0,84 (t, 3H, $^3J = 7,2$ Hz, $CH_2CH_2CH_3$) ; 1,51 (sext, 2H, $^3J = 7,2$ Hz, $CH_2CH_2CH_3$) ; 2,08 (s, 3H, H_m) ; 2,45 (t, 2H, $^3J = 7,2$ Hz, $CH_2CH_2CH_3$) ; 2,76 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,02 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,45 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_l) ; 3,64 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_l) ; 4,51 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_e) ; 4,57 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,95-7,06 (m, 5H, $H_{j,2',3',5',6'}$) ; 7,12 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,22 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,42 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,61 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 8,31 (s, 1H, H_a) ; 10,09 (se, 1H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

13,7 ($CH_2CH_2CH_3$) ; 24,1 ($CH_2CH_2CH_3$) ; 36,6 ($CH_2CH_2CH_3$) ; 43,9 (C_m) ; 56,0 (C_e) ; 62,1 (C_i) ; 63,2 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 120,7 (2C, $C_{3',5'}$) ; 126,1 (C_f) ; 126,6 (2C, $C_{3,5}$) ; 129,1 (4C, $C_{2,6,2',6'}$) ; 130,1 (C_k) ; 135,4 (C_1) ; 138,2 ($C_{1'}$) ; 138,3 ($C_{4'}$) ; 144,7 (C_4) ; 145,1 (C_a) ; 150,1 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1093 (v C-F) ; 1159 (ν_s SO_2) ; 1277 (v C-N) ; 1335 (ν_{as} SO_2) ; 1460, 1507, 1615 (v C=C et v C=N) ; 2860 (ν_s CH_2) ; 2929 (ν_{as} CH_2) ; 3455 (v O-H et v N-H).

Masse :

556,1 (M+H) $^+$.

4-([2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)-*N*-(4-isopropylphényl)benzènesulfonamide (43)

Poudre blanche

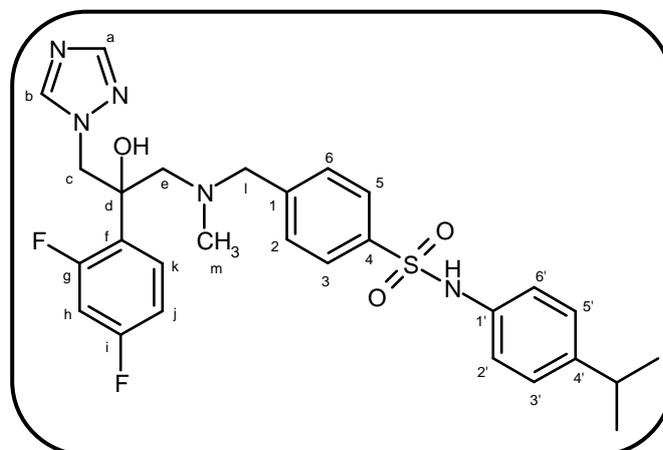
$C_{28}H_{31}F_2N_5O_3S$

$M_r = 555,66$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 8)

$F^\circ C = 67-68$

Rendement = 75%



Le composé **43** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 87 mg (0,33 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 120 mg (0,33 mmol, 1 éq) de 4-(bromométhyl)-*N*-(4-isopropylphényl)benzènesulfonamide **34**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,13 (d, 6H, $^3J = 6,8$ Hz, 2 CH_3) ; 2,08 (s, 3H, H_m) ; 2,74-2,82 (m, 2H, $CH(CH_3)_2$, H_c) ; 3,03 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,45 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_l) ; 3,65 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_l) ; 4,51 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,57 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,97 (m, 1H, H_j) ; 7,00 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,10 (m, 3H, $H_{h,2',6'}$) ; 7,23 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,42 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,63 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,77 (s, 1H, H_b) ; 8,31 (s, 1H, H_a) ; 10,12 (s, 1H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

24,9 (2C, CH_3) ; 32,8 ($CH(CH_3)_2$) ; 44,0 (C_m) ; 56,0 (C_e) ; 62,1 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 120,7 (2C, $C_{3',5'}$) ; 126,2 (C_f) ; 126,6 (2C, $C_{3,5}$) ; 127,0 (2C, $C_{2',6'}$) ; 129,1 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,0 (C_k) ; 135,5 (C_i) ; 138,4 ($C_{1'}$) ; 144,4 ($C_{4'}$) ; 144,7 (C_4) ; 145,1 (C_a) ; 150,1 (C_b) ; 159,1 (C_i) ; 161,8 (C_g).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1092 (ν C-F) ; 1160 (ν_s SO_2) ; 1275 (ν C-N) ; 1327 (ν_{as} SO_2) ; 1461, 1508, 1616 (ν C=C et ν C=N) ; 2864 (ν_s CH_3) ; 2960 (ν_{as} CH_3) ; 3448 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

556,1 (M+H) $^+$.

4-([2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl)-*N*-(4-nitrophényl)benzènesulfonamide (44)

Poudre jaune

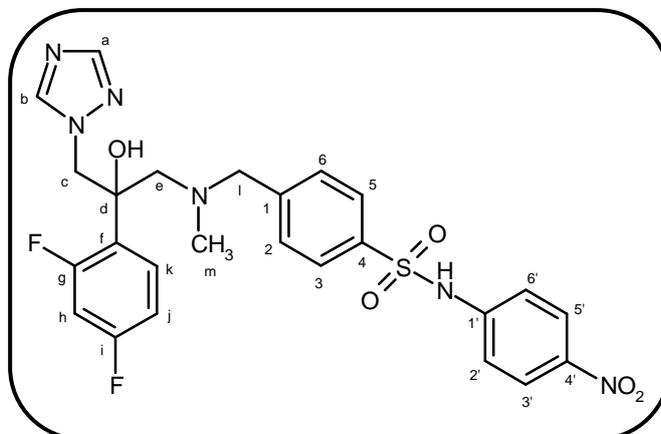
C₂₅H₂₄F₂N₆O₅S

M_r = 558,58

R_f = 0,25 (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

F°C = 96-97

Rendement = 33% (2 étapes)



Le composé **44** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 145 mg (0,54 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 200 mg (0,54 mmol, 1 éq) de 4-(bromométhyl)-*N*-(4-nitrophényl)benzènesulfonamide **35**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,09 (s, 3H, H_m) ; 2,75 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,02 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,47 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_l) ; 3,65 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_l) ; 4,48 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_e) ; 4,56 (d, 1H, ²J = 14,0 Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,96 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,11 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,29-7,33 (m, 4H, H_{2,6,2',6'}) ; 7,41 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,76-7,78 (m, 3H, H_{b,3,5}) ; 8,16 (d, 2H, ³J = 8,8 Hz, H_{3',5'}) ; 8,29 (s, 1H, H_a) ; 11,26 (s, 1H, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

44,0 (C_m) ; 56,0 (C_e) ; 62,0 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,7 (C_h) ; 111,0 (C_j) ; 118,1 (2C, C_{2',6'}) ; 125,6 (2C, C_{3',5'}) ; 126,1 (C_f) ; 126,7 (2C, C_{3,5}) ; 129,5 (2C, C_{2,6}) ; 130,1 (C_k) ; 137,6 (C_l) ; 142,7 (C_{1'}) ; 144,5 (C₄) ; 145,1 (C_a) ; 145,6 (C_{4'}) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm⁻¹) :

1090 (ν C-F) ; 1161 (ν_s SO₂) ; 1276 (ν C-N) ; 1342 (ν_{as} SO₂) ; 1500 (ν_{as} NO₂) ; 1599 (ν C=C) ; 3444 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

559,0 (M+H)⁺.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[méthyl(4-nitrobenzyl)amino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (45)

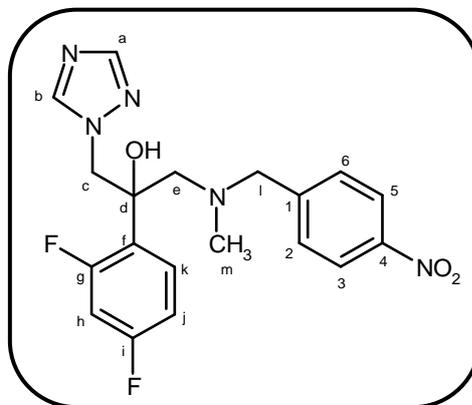
Huile orange

$C_{19}H_{19}F_2N_5O_3$

$M_r = 403,40$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

Rendement = 77%



Le composé **45** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 1,24 g (4,63 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 1 g (4,63 mmol, 1 éq) de bromure de 4-nitrobenzyle.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,13 (s, 3H, H_m) ; 2,79 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,10 (d, 1H, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,56 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_l) ; 3,77 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_l) ; 4,53 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,85 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,19 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,38 (d, 2H, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,46 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,13 (d, 2H, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{3,5}$) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

IR (NaCl, cm^{-1}) :

1102 (ν C-F) ; 1272 (ν C-N) ; 1347 (ν_s NO_2) ; 1421 (ν C=C) ; 1514 (ν_{as} NO_2) ; 1609 (ν C=N) ; 2948 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3381 (ν O-H).

1-[(4-Aminobenzyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (46)

Poudre beige

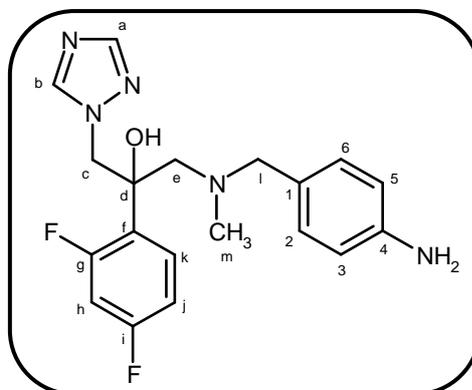
$C_{19}H_{21}F_2N_5O$

$M_r = 373,42$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 86-87$

Rendement = 72%



Méthode P :

Dissoudre 1,4 g (3,47 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[méthyl(4-nitrobenzyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **45** dans 100 mL d'éthanol absolu et ajouter 140 mg (10% en masse) de palladium sur charbon à 5%. Agiter à température ambiante sous 5 bars d'hydrogène pendant 2 heures. Filtrer sur célite, rincer au dichlorométhane et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2.

RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,07 (s, 3H, H_m) ; 2,78 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 2,93 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,26 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_l) ; 3,34 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_l) ; 4,48 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,56 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,95 (se, 2H, NH_2) ; 5,70 (s, 1H, OH) ; 6,47 (d, 2H, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3,5}$) ; 6,77 (d, 2H, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2,6}$) ; 6,98 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,17 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,43 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,75 (s, 1H, H_b) ; 8,31 (s, 1H, H_a).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1129 (v C-F) ; 1280 (v C-N) ; 1507, 1617 (v C=C et v C=N) ; 3211-3308 (v O-H et v N-H).

***N*-[4-({[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)phényl]propane-2-sulfonamide (47)**

Poudre blanche

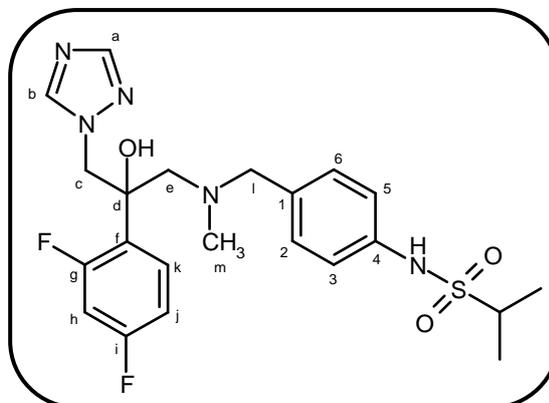
$C_{22}H_{27}F_2N_5O_3S$

$M_r = 479,56$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

F°C = 60-61

Rendement = 47%



Méthode Q1 :

Dissoudre sous argon 150 mg (0,40 mmol) de 1-[(4-aminobenzyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **46** dans 2 mL de pyridine. Ajouter 49 μ L (0,44 mmol, 1,1 éq) de chlorure d'isopropylsulfonyl et agiter sous argon à température ambiante pendant 2 heures. Evaporer le solvant. Reprendre à l'eau et extraire le produit au dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,24 (d, 6H, $^3J = 6,8$ Hz, 2 CH_3) ; 2,10 (s, 3H, H_m) ; 2,77 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 2,98 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,20 (m, 1H, $CH(CH_3)_2$) ; 3,40 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,50 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 4,47 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,56 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,74 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,04 (d, 2H, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,14 (d, 2H, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,17 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,44 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,77 (s, 1H, H_b) ; 8,31 (s, 1H, H_a) ; 9,70 (se, 1H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

16,3 (2C, CH_3) ; 43,9 (C_m) ; 51,3 ($CH(CH_3)_2$) ; 56,0 (C_e) ; 62,2 (C_l) ; 63,0 (C_c) ; 75,1 (C_d) ; 103,7 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 119,4 (2C, $C_{2,6}$) ; 126,4 (C_f) ; 129,8 (2C, $C_{3,5}$) ; 130,1 (C_k) ; 134,4 (C_i) ; 137,4 (C_4) ; 145,0 (C_a) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1140 ($\nu_s \text{SO}_2$) ; 1326 ($\nu_{\text{as}} \text{SO}_2$) ; 1508, 1620 ($\nu \text{C}=\text{C}$ et $\nu \text{C}=\text{N}$) ; 3445 ($\nu \text{O}-\text{H}$ et $\nu \text{N}-\text{H}$).

Masse :

481,0 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

***N*-[4-({[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)phényl]benzènesulfonamide (48)**

Poudre blanche

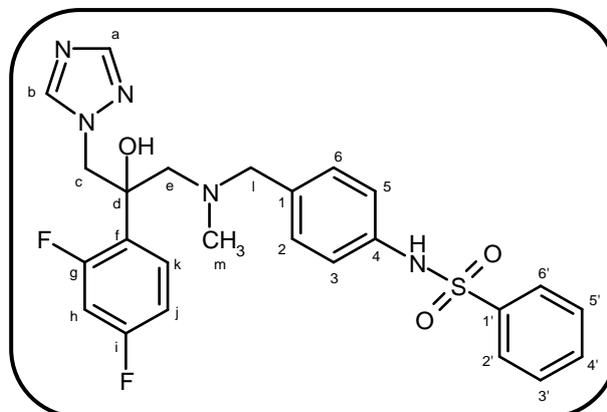
$C_{25}H_{25}F_2N_5O_3S$

$M_r = 513,58$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 125-126$

Rendement = 68%



Méthode Q2 :

Mettre en solution sous argon 5 mg (0,04 mmol, 0,1 éq) d'indium dans 3 mL d'acétonitrile. Ajouter 150 mg (0,40 mmol) de 1-[(4-aminobenzyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **46** et 52 μL (0,40 mmol, 1 éq) de chlorure de benzènesulfonyle. Agiter sous argon à température ambiante pendant 15 heures. Evaporer le solvant. Reprendre à l'eau et extraire le produit au dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,04 (s, 3H, H_m) ; 2,73 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 2,95 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,31 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_i) ; 3,44 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_i) ; 4,47 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,54 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,72 (s, 1H, OH) ; 6,94-7,00 (m, 5H, $H_{j,2,3,5,6}$) ; 7,13 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,41 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,56 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,63 (s, 1H, $H_{4'}$) ; 7,75-7,77 (m, 3H, $H_{b,2',6'}$) ; 8,30 (s, 1H, H_a) ; 10,19 (se, 1H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 56,0 (C_e) ; 62,2 (C_i) ; 63,0 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 103,8 (C_h) ; 110,7 (C_j) ; 120,2 (2C, $C_{2,6}$) ; 126,3 (C_f) ; 126,8 (2C, $C_{2',6'}$) ; 129,4 (2C, $C_{3',5'}$) ; 129,5 (2C, $C_{3,5}$) ; 130,0 (C_k) ; 133,0 ($C_{4'}$) ; 135,0 (C_l) ; 136,5 (C_4) ; 139,7 ($C_{1'}$) ; 145,0 (C_a) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_l non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1158 ($\nu_s \text{SO}_2$) ; 1331 ($\nu_{\text{as}} \text{SO}_2$) ; 1506, 1619 ($\nu \text{C}=\text{C}$ et $\nu \text{C}=\text{N}$) ; 3450 ($\nu \text{O}-\text{H}$ et $\nu \text{N}-\text{H}$).

Masse :

515,0 (M+H)⁺.

***N*-[4-({[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)phényl]-4-isopropylbenzènesulfonamide (**49**)**

Poudre beige

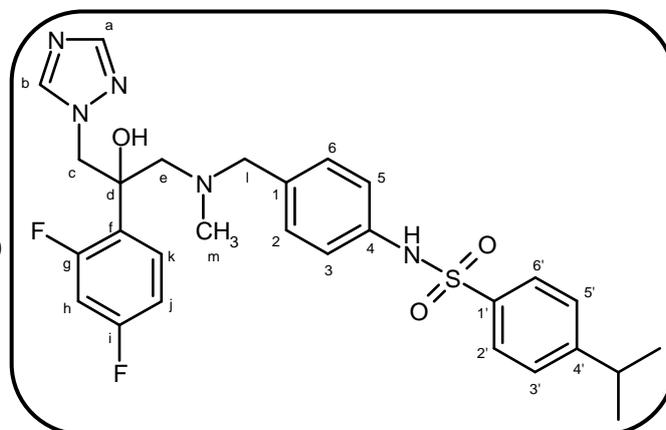
C₂₈H₃₁F₂N₅O₃S

M_r = 555,66

R_f = 0,50 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = 92-93

Rendement = 67%



Le composé **49** est synthétisé selon la **méthode Q2** à partir de 100 mg (0,27 mmol) de 1-[4-aminobenzyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **46** et 48 µL (0,27 mmol, 1 équ) de chlorure de 4-isopropylbenzènesulfonyle.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

1,19 (d, 6H, ³J = 6,8 Hz, 2 CH₃) ; 2,04 (s, 3H, H_m) ; 2,73 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 2,93-2,98 (m, 2H, CH(CH₃)₂, H_c) ; 3,31 (d, 1H, ²J = 13,2 Hz, H_l) ; 3,45 (d, 1H, ²J = 13,2 Hz, H_l) ; 4,48 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_e) ; 4,54 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_e) ; 5,72 (s, 1H, OH) ; 6,94-7,01 (m, 5H, H_{j,2,3,5,6}) ; 7,11 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,38-7,44 (m, 3H, H_{k,3',5'}) ; 7,69 (d, 2H, ³J = 8,4 Hz, H_{2',6'}) ; 7,76 (s, 1H, H_b) ; 8,30 (s, 1H, H_a) ; 10,19 (se, 1H, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

23,5 (2C, CH₃) ; 33,5 (CH(CH₃)₂) ; 43,8 (C_m) ; 56,0 (C_e) ; 62,2 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 103,8 (C_h) ; 110,7 (C_j) ; 119,8 (2C, C_{2,6}) ; 126,3 (C_f) ; 126,9 (2C, C_{2',6'}) ; 127,3 (2C, C_{3',5'}) ; 129,6 (2C, C_{3,5}) ; 130,0 (C_k) ; 134,8 (C_{4'}) ; 136,7 (C_l) ; 137,4 (C₄) ; 145,0 (C_a) ; 150,6 (C_b) ; 153,7 (C_{1'}).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm⁻¹) :

1087 (ν C-F) ; 1162 (ν_s SO₂) ; 1328 (ν_{as} SO₂) ; 1508, 1618 (ν C=C et ν C=N) ; 2958 (ν C-H_{aliph.}) ; 3450 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

556,2 (M+H)⁺.

***N*-[4-({[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)phényl]-4-nitrobenzènesulfonamide (**50**)**

Poudre jaune pâle

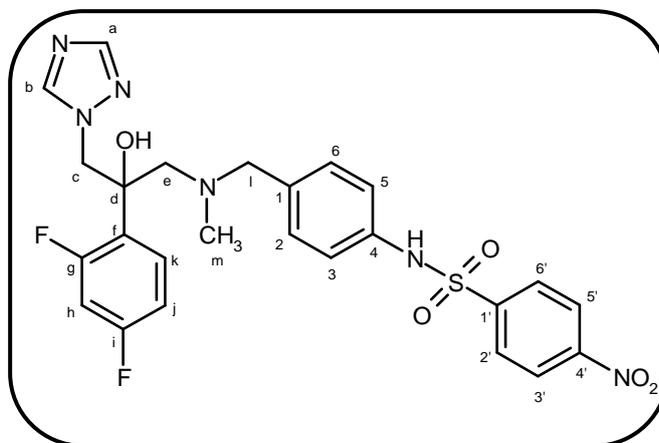
$C_{25}H_{24}F_2N_6O_5S$

$M_r = 558,58$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 159-160$

Rendement = 29%



Le composé **50** est synthétisé selon la **méthode Q2** à partir de 150 mg (0,40 mmol) de 1-[(4-aminobenzyl)méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **46** et 89 mg (0,40 mmol, 1 équ) de chlorure de 4-nitrobenzènesulfonyle.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,07 (s, 3H, H_m) ; 2,72 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 2,93 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,33 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,45 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 4,42 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,54 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,73 (s, 1H, OH) ; 6,94-7,00 (m, 5H, $H_{j,2,3,5,6}$) ; 7,12 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,40 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,75 (s, 1H, H_b) ; 7,99 (d, 2H, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 8,30 (s, 1H, H_a) ; 8,39 (d, 2H, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 10,54 (se, 1H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,9 (C_m) ; 55,6 (C_e) ; 61,8 (C_l) ; 62,8 (C_c) ; 75,3 (C_d) ; 103,5 (C_h) ; 110,5 (C_j) ; 120,8 (2C, $C_{2,6}$) ; 124,8 (2C, $C_{3',5'}$) ; 126,4 (C_f) ; 128,4 (2C, $C_{2',6'}$) ; 129,8 (2C, $C_{3,5}$) ; 130,1 (C_k) ; 135,7 (C_l) ; 135,8 (C_4) ; 145,0 (C_a) ; 145,1 ($C_{1'}$) ; 150,6 (C_b) ; 150,1 ($C_{4'}$).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1166 (ν_s SO_2) ; 1350 (ν_{as} SO_2) ; 1528 (ν_{as} NO_2) ; 1623 (ν C=N) ; 3450 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

560,0 (M+H) $^+$.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (51)

Poudre blanche

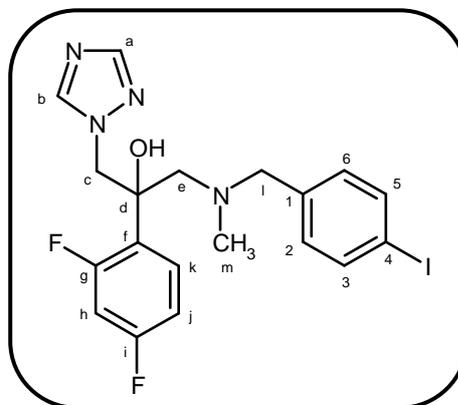
$C_{19}H_{19}F_2IN_4O$

$M_r = 484,30$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 98-99$ (Litt¹⁰⁴ : 96-98)

Rendement = 92%



Le composé **51** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 1 g (3,73 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 1,107 g (3,73 mmol, 1 éq) de bromure de 4-iodobenzyle.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,09 (s, 3H, H_m) ; 2,77 (d, 1H, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 3,04 (d, 1H, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 3,38 (d, 1H, ²J = 13,5 Hz, H_l) ; 3,55 (d, 1H, ²J = 13,5 Hz, H_l) ; 4,53 (d, 1H, ²J = 14,3 Hz, H_e) ; 4,58 (d, 1H, ²J = 14,3 Hz, H_e) ; 5,78 (s, 1H, OH) ; 6,92 (d, 2H, ³J = 8,0 Hz, H_{2,6}) ; 6,99 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,18 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,44 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,62 (d, 2H, ³J = 8,0 Hz, H_{3,5}) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 8,31 (s, 1H, H_a).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1127 (ν C-F) ; 1272 (ν C-N) ; 1495, 1613 (ν C=C et ν C=N) ; 3451(ν O-H).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(3-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (52)

Poudre blanche

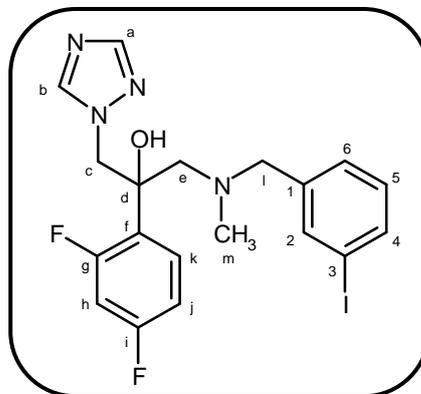
$C_{19}H_{19}F_2IN_4O$

$M_r = 484,30$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 85-86$ (Litt¹⁰⁴ : 71-73)

Rendement = 54%



Le composé **52** est synthétisé selon la **méthode O** à partir de 1 g (3,73 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-méthylamino-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** et 1,107 g (3,73 mmol, 1 éq) de bromure de 3-iodobenzyle.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,08 (s, 3H, H_m) ; 2,73 (d, 1H, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 3,10 (d, 1H, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 3,30 (d, 1H, ²J = 13,5 Hz, H_l) ; 3,61 (d, 1H, ²J = 13,5 Hz, H_l) ; 4,52 (d, 1H, ²J = 14,2 Hz, H_e) ; 4,57 (d, 1H, ²J = 14,2 Hz, H_e) ; 5,84 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,04-7,12 (m, 2H, H_{5,6}) ; 7,19 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,29 (s, 1H, H₂) ; 7,46 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,57 (d, 1H, ³J = 7,6 Hz, H₄) ; 7,80 (s, 1H, H_b) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1141 (ν C-F) ; 1277 (ν C-N) ; 1415, 1498, 1613 (ν C=C et ν C=N) ; 3020 (ν C-H_{ar}) ; 3428 (ν O-H).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(méthylbiphényl-4-yl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (53)

Poudre blanche

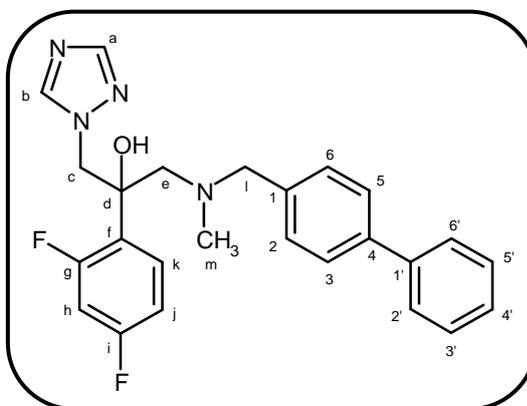
$C_{25}H_{24}F_2N_4O$

$M_r = 434,49$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 117-118$

Rendement = 67%



Méthode R1 :

Dissoudre sous argon 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** dans 2 mL de toluène puis ajouter 14 mg (0,012 mmol, 0,03 éq) de tétrakis(triphénylphosphine)palladium. Agiter à température ambiante pendant 20 minutes. Ajouter alors 0,108 mL d'éthanol, 60 mg (0,50 mmol, 1,2 éq) d'acide phénylboronique puis 0,248 mL de carbonate de sodium (2M). Agiter au reflux pendant 3 heures. Après retour à température ambiante, évaporer le solvant. Reprendre à l'eau, extraire le produit avec du dichlorométhane et sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1. Triturer le produit obtenu dans l'éther diéthylique et filtrer.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,13 (s, 3H, H_m) ; 2,82 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_c) ; 3,08 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_c) ; 3,48 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_i) ; 3,64 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_i) ; 4,55 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,80 (s, 1H, OH) ; 7,01 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,17-7,23 (m, 3H, $H_{h,2,6}$) ; 7,36-7,40 (m, 1H, $H_{4'}$) ; 7,45-7,50 (m, 3H, $H_{k,3',5'}$) ; 7,57 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,67 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 8,33 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,4 (C_i) ; 63,2 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 103,5 (C_h) ; 110,3 (C_j) ; 126,4 (C_f) ; 126,5 (2C, $C_{3,5}$) ; 126,7 (2C, $C_{2',6'}$) ; 127,4 ($C_{4'}$) ; 129,1 (2C, $C_{3',5'}$) ; 129,3 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,1 (C_k) ; 138,4 ($C_{1'}$) ; 138,9 (C_1) ; 140,2 (C_4) ; 144,8 (C_a) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1132 (v C-F) ; 1267 (v C-N) ; 1495, 1614 (v C=C et v C=N) ; 3450 (v O-H).

Masse :

435,5 (M+H)⁺.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(méthylbiphényl-3-yl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (54)

Poudre blanche

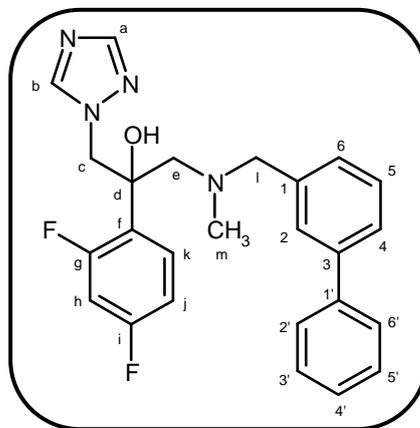
$C_{25}H_{24}F_2N_4O$

$M_r = 434,49$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 74-75$

Rendement = 56%



Le composé **54** est synthétisé selon la **méthode R1** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(3-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **52** et 60 mg (0,50 mmol, 1,2 éq) d'acide phénylboronique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,11 (s, 3H, H_m) ; 2,79 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,16 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,43 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,72 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 4,53 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,58 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,84 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,10 (d, 1H, $^3J = 7,6$ Hz, H_6) ; 7,17 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,26 (s, 1H, H_2) ; 7,36 (t, 1H, $^3J = 7,6$ Hz, H_5) ; 7,40 (d, 1H, $^3J = 7,6$ Hz, H_4) ; 7,34-7,60 (m, 6H, $H_{k,2',3',4',5',6'}$) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,7 (C_m) ; 56,2 (C_e) ; 62,6 (C_1) ; 63,3 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,8 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 125,4 ($C_{4'}$) ; 126,4 (C_f) ; 126,8 (2C, $C_{2',6'}$) ; 126,9 (C_2) ; 127,5 (C_4) ; 127,9 (C_6) ; 128,8 (C_5) ; 129,0 (2C, $C_{3',5'}$) ; 130,1 (C_k) ; 140,0 ($C_{1'}$) ; 140,1 (C_1) ; 140,3 (C_4) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b) ; 158,9 (C_i) ; 161,6 (C_g).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1133 (v C-F) ; 1267 (v C-N) ; 1501, 1618 (v C=C et v C=N) ; 3446 (v O-H).

Masse :

435,2 ($M+H$) $^+$.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[[4-(4-méthoxyphényl)phénylméthyl]méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (55)

Poudre blanche

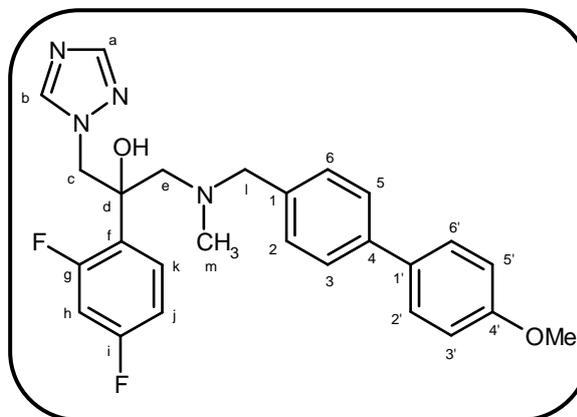
$C_{26}H_{26}F_2N_4O_2$

$M_r = 464,52$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 109-110$

Rendement = 75%



Le composé **55** est synthétisé selon la **méthode R1** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** et 75 mg (0,50 mmol, 1,2 éq) d'acide 4-méthoxyphénylboronique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,81 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,07 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,46 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,61 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,82 (s, 3H, OCH_3) ; 4,55 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,99 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,04 (d, 2H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,16 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,20 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,48 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,51 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,61 (d, 2H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 8,33 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,7 (C_m) ; 55,3 (OCH_3) ; 56,1 (C_e) ; 62,5 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 114,5 (2C, $C_{3',5'}$) ; 126,0 (2C, $C_{3,5}$) ; 126,4 (C_f) ; 127,8 (2C, $C_{2',6'}$) ; 129,3 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,0 (C_k) ; 132,5 ($C_{1'}$) ; 137,6 (C_4) ; 138,6 (C_1) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b) ; 159,0 ($C_{4'}$).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1123 (v C-F) ; 1260 (v C-O) ; 1497, 1612 (v C=C et v C=N) ; 3450 (v O-H).

Masse :

465,1 (M+H) $^+$.

1-[[4-(4-Cyanophényl)phénylméthyl]méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (56)

Poudre blanche

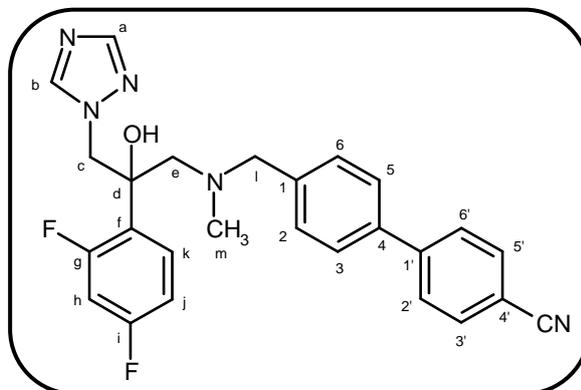
$C_{26}H_{23}F_2N_5O$

$M_r = 459,59$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 132-134$

Rendement = 65%



Méthode R2 :

Dissoudre dans un tube sous argon 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** dans 2 mL d'acétonitrile. Ajouter 2 mL de carbonate de sodium (2M), 61 mg (0,41 mmol, 1 éq) d'acide 4-cyanophényl boronique puis 24 mg (0,021 mmol, 0,05 éq) de tétrakis(triphénylphosphine)palladium. Laisser sous argon pendant 5 minutes puis sceller le tube. Agiter sous irradiation micro-ondes (100W, 120°C) pendant 10 minutes. Reprendre à l'eau, extraire le produit avec du dichlorométhane et sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1. Triturer l'huile jaune obtenue dans l'éther diéthylique pour obtenir une poudre blanche après filtration.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,13 (s, 3H, H_m) ; 2,81 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,09 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,49 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_i) ; 3,66 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_i) ; 4,55 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,81 (s, 1H, OH) ; 7,01 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,20 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, H_h) ; 7,24 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,48 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,67 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 7,90 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,95 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,6 (C_m) ; 55,9 (C_e) ; 62,1 (C_1) ; 63,0 (C_c) ; 75,1 (C_d) ; 103,7 (C_h) ; 109,7 ($C_{4'}$) ; 110,5 (C_j) ; 118,9 (CN) ; 126,7 (2C, $C_{3,5}$) ; 127,3 (2C, $C_{2',6'}$) ; 128,0 (C_f) ; 129,3 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,0 (C_k) ; 132,8 (2C, $C_{3',5'}$) ; 136,7 (C_4) ; 139,8 (C_1) ; 144,4 ($C_{1'}$) ; 144,9 (C_a) ; 150,4 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1108 (v C-F) ; 1272 (v C-N) ; 1503, 1615 (v C=C et v C=N) ; 2360 (v CN) ; 3451 (v O-H).

Masse :

460,1 (M+H)⁺.

1-[[3-(4-Cyanophényl)phénylméthyl]méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (57)

Poudre blanche

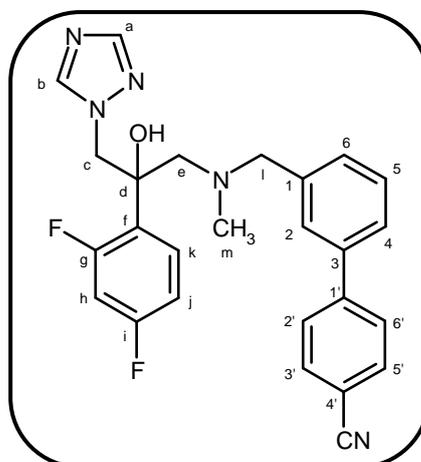
$C_{26}H_{23}F_2N_5O$

$M_r = 459,59$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 45-46$

Rendement = 70%



Le composé **57** est synthétisé selon la **méthode R2** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(3-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **52** et 61 mg (0,41 mmol, 1 équ) d'acide 4-cyanophénylboronique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,78 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,16 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,44 (d, 1H, $^2J = 13,4$ Hz, H_l) ; 3,73 (d, 1H, $^2J = 13,4$ Hz, H_l) ; 4,52 (d, 1H, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 4,58 (d, 1H, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 5,85 (s, 1H, OH) ; 7,00 (m, 1H, H_j) ; 7,14-7,19 (m, 2H, $H_{h,6}$) ; 7,31 (s, 1H, H_2) ; 7,41 (dd, 1H, $^3J = ^3J' = 7,6$ Hz, H_5) ; 7,48 (m, 1H, H_k) ; 7,60 (d, 1H, $^3J = 7,6$ Hz, H_4) ; 7,78-7,80 (m, 3H, $H_{b,2',6'}$) ; 7,95 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 56,2 (C_e) ; 62,4 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,5 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,1 ($C_{4'}$) ; 110,8 (C_j) ; 119,1 (CN) ; 125,7 (C_4) ; 126,4 (C_f) ; 127,2 (C_2) ; 127,7 (2C, $C_{2',6'}$) ; 129,0 (C_5) ; 129,1 (C_6) ; 130,0 (C_k) ; 133,0 (2C, $C_{3',5'}$) ; 138,2 (C_3) ; 140,4 (C_1) ; 144,8 ($C_{1'}$) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b) ; 159,2 (C_i) ; 161,8 (C_g).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1133 (v C-F) ; 1272 (v C-N) ; 1497, 1618 (v C=C et v C=N) ; 2216 (v CN) ; 3457 (v O-H).

Masse :

460,2 (M+H) $^+$.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[4-(4-nitrophényl)phénylméthyl]méthylamino)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (58)

Poudre jaune

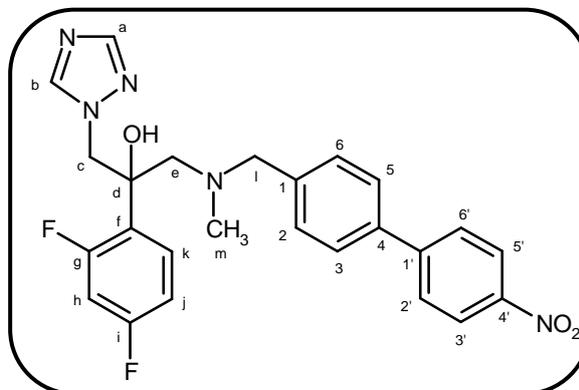
$C_{25}H_{23}F_2N_5O_3$

$M_r = 479,49$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 99 / 1)

$F^\circ C = 125-126$

Rendement = 62%



Le composé **58** est synthétisé selon la **méthode R2** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[4-(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** et 68 mg (0,41 mmol, 1 éq) d'acide 4-nitrophénylboronique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,81 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,10 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,50 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_l) ; 3,68 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_l) ; 4,55 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,81 (s, 1H, OH) ; 7,02 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,20 (m, 1H, H_h) ; 7,26 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,48 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,71 (d, 2H, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 7,99 (d, 2H, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 8,32 (s, 1H, H_a) ; 8,33 (d, 2H, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{3',5'}$).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,3 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,3 (C_d) ; 104,1 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 124,3 (2C, $C_{3',5'}$) ; 126,0 (C_f) ; 127,1 (2C, $C_{3,5}$) ; 127,8 (2C, $C_{2',6'}$) ; 129,5 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,3 (C_k) ; 137,3 (C_4) ; 140,4 (C_1) ; 145,1 (C_a) ; 146,6 ($C_{1'}$) ; 148,3 ($C_{4'}$) ; 150,7 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1338 (ν_s NO_2) ; 1496 (ν C=C) ; 1508 (ν_{as} NO_2) ; 1632 (ν C=N) ; 3442 (ν O-H).

Masse :

480,1 (M+H) $^+$.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[4-(4-trifluorométhylphényl)phénylméthyl]méthylamino)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (59)

Poudre blanche

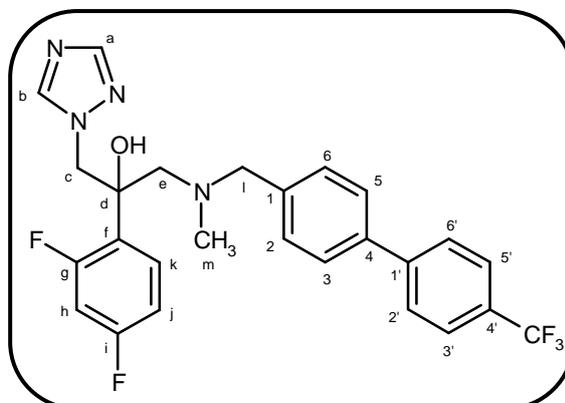
$C_{26}H_{23}F_5N_4O$

$M_r = 502,49$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 92-93$

Rendement = 65%



Le composé **59** est synthétisé selon la **méthode R2** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[4-(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** et 78 mg (0,41 mmol, 1 équ) d'acide 4-trifluorométhylphénylboronique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,13 (s, 3H, H_m) ; 2,81 (d, 1H, $^2J = 13,9$ Hz, H_c) ; 3,10 (d, 1H, $^2J = 13,9$ Hz, H_c) ; 3,49 (d, 1H, $^2J = 13,1$ Hz, H_l) ; 3,66 (d, 1H, $^2J = 13,1$ Hz, H_l) ; 4,55 (d, 1H, $^2J = 13,8$ Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, $^2J = 13,8$ Hz, H_e) ; 5,81 (s, 1H, OH) ; 7,01 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,18-7,25 (m, 3H, $H_{h,2,6}$) ; 7,47 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,65 (d, 2H, $^3J = 6,8$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 7,83 (d, 2H, $^3J = 7,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,91 (d, 2H, $^3J = 7,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 8,33 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,4 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,3 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 125,8 (CF_3) ; 125,9 (2C, $C_{2',6'}$) ; 126,4 (C_f) ; 126,9 (2C, $C_{3',5'}$) ; 127,5 (2C, $C_{3,5}$) ; 127,9 ($C_{4'}$) ; 129,5 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,0 (C_k) ; 137,3 (C_4) ; 139,7 (C_1) ; 144,1 ($C_{1'}$) ; 145,1 (C_a) ; 150,7 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1123 (v C-F) ; 1497, 1626 (v C=C et v C=N) ; 3452 (v O-H).

Masse :

503,1 (M+H) $^+$.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[[4-(pyridin-3-yl)phénylméthyl]méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (60)

Poudre blanche

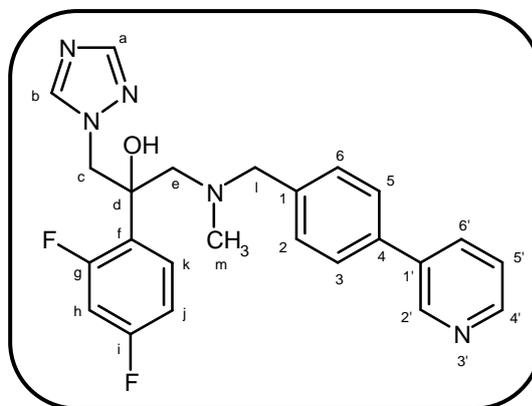
$C_{24}H_{23}F_2N_5O$

$M_r = 435,48$

$R_f = 0,05$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 87-88$

Rendement = 41%



Le composé **60** est synthétisé selon la **méthode R2** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** et 51 mg (0,41 mmol, 1 éq) d'acide pyridin-3-ylboronique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,09 (s, 3H, H_m) ; 2,77 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,05 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,45 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,61 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 4,51 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,57 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,77 (s, 1H, OH) ; 6,97 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, H_j) ; 7,15 (m, 1H, H_h) ; 7,19 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,45 (m, 1H, H_k) ; 7,46 (m, 1H, $H_{5'}$) ; 7,60 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,75 (s, 1H, H_b) ; 8,04 (d, 1H, $^3J = 7,2$ Hz, $H_{4'}$) ; 8,29 (s, 1H, H_a) ; 8,54 (m, 1H, $H_{6'}$) ; 8,86 (m, 1H, $H_{2'}$) .

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 56,0 (C_e) ; 62,4 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,3 (C_d) ; 103,5 (C_h) ; 110,3 (C_j) ; 124,0 ($C_{5'}$) ; 126,7 (2C, $C_{3,5}$) ; 127,6 (C_f) ; 129,5 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,1 (C_k) ; 134,1 ($C_{4'}$) ; 135,5 ($C_{1'}$) ; 135,8 (C_4) ; 139,3 (C_i) ; 145,1 (C_a) ; 147,2 ($C_{2'}$) ; 148,5 ($C_{6'}$) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1107 (v C-F) ; 1272 (v C-N) ; 1502, 1638 (v C=C et v C=N) ; 3452 (v O-H).

Masse :

436,2 (M+H) $^+$.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[[3-(pyridin-3-yl)phénylméthyl]méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (61)

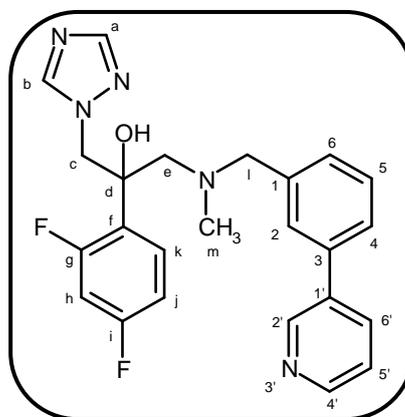
Huile incolore

$C_{24}H_{23}F_2N_5O$

$M_r = 435,48$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

Rendement = 56%



Le composé **61** est synthétisé selon la **méthode R2** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(3-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **52** et 51 mg (0,41 mmol, 1 éq) d'acide pyridin-3-ylboronique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,07 (s, 3H, H_m) ; 2,74 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,09 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,41 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_l) ; 3,67 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_l) ; 4,48 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,53 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,94 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,08-7,12 (m, 2H, $H_{h,6}$) ; 7,29 (s, 1H, H_2) ; 7,35 (dd, 1H, $^3J = ^3J' = 7,6$ Hz, H_5) ; 7,40-7,49 (m, 2H, $H_{k,5'}$) ; 7,54 (d, 1H, $^3J = 7,6$ Hz, H_4) ; 7,73 (s, 1H, H_b) ; 7,93 (dd, 1H, $^3J = 7,6$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_4') ; 8,27 (s, 1H, H_a) ; 8,56 (d, 1H, $^3J = 7,6$ Hz, H_6') ; 8,80 (s, 1H, H_2').

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 56,2 (C_e) ; 62,5 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,4 (C_d) ; 103,8 (C_h) ; 110,7 (C_j) ; 124,0 ($C_{5'}$) ; 125,6 (C_4) ; 126,4 (C_f) ; 127,1 (C_2) ; 128,5 (C_6) ; 129,0 ($C_{5'}$) ; 130,0 (C_k) ; 134,2 ($C_{4'}$) ; 135,7 ($C_{1'}$) ; 137,1 (C_3) ; 140,3 (C_1) ; 145,1 (C_a) ; 147,8 (C_2') ; 148,6 ($C_{6'}$) ; 150,6 (C_b) ; 159,1 (C_i) ; 161,8 (C_g).

IR (NaCl, cm^{-1}) :

1133 (v C-F) ; 1272 (v C-N) ; 1456, 1497, 1610 (v C=C et v C=N) ; 3411 (v O-H).

Masse :

436,2 (M+H) $^+$.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[[4-(pyridin-4-yl)phénylméthyl]méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (62)

Poudre beige

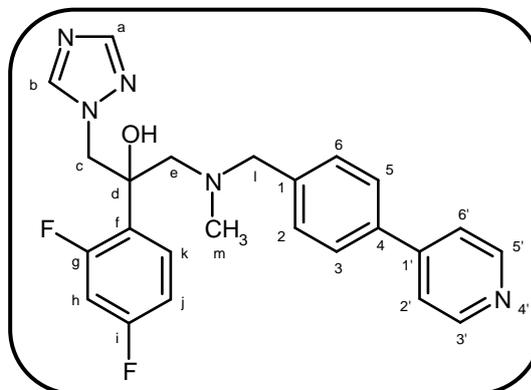
C₂₄H₂₃F₂N₅O

M_r = 435,48

R_f = 0,03 (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

F°C = 104-105

Rendement = 53%



Le composé **62** est synthétisé selon la **méthode R2** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** et 85 mg (0,41 mmol, 1 éq) d'ester de pinacol de l'acide pyridin-4-ylboronique.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,13 (s, 3H, H_m) ; 2,81 (d, 1H, ²J = 14,5 Hz, H_c) ; 3,10 (d, 1H, ²J = 14,5 Hz, H_c) ; 3,49 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_l) ; 3,67 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_l) ; 4,55 (d, 1H, ²J = 14,2 Hz, H_e) ; 4,61 (d, 1H, ²J = 14,2 Hz, H_e) ; 5,81 (s, 1H, OH) ; 7,02 (dd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, H_j) ; 7,19 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,25 (d, 2H, ³J = 8,4 Hz, H_{2,6}) ; 7,48 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,72 (m, 4H, H_{3,5,2',6'}) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,33 (s, 1H, H_a) ; 8,65 (d, 2H, ³J = 9,6 Hz, H_{3',5'}).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

43,8 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,4 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,4 (C_d) ; 104,6 (C_h) ; 111,0 (C_j) ; 118,0 (2C, C_{2',6'}) ; 126,7 (2C, C_{3,5}) ; 127,0 (C_f) ; 129,5 (2C, C_{2,6}) ; 130,4 (C_k) ; 135,8 (C₄) ; 140,6 (C₁) ; 145,1 (C_a) ; 146,9 (C_{1'}) ; 150,4 (2C, C_{3',5'}) ; 150,7 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm⁻¹) :

1112 (v C-F) ; 1267 (v C-N) ; 1497, 1626 (v C=C et v C=N) ; 3447 (v O-H).

Masse :

436,1 (M+H)⁺.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[[4-(1-méthylpyrazol-3-yl)phénylméthyl]méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (63)

Poudre blanche

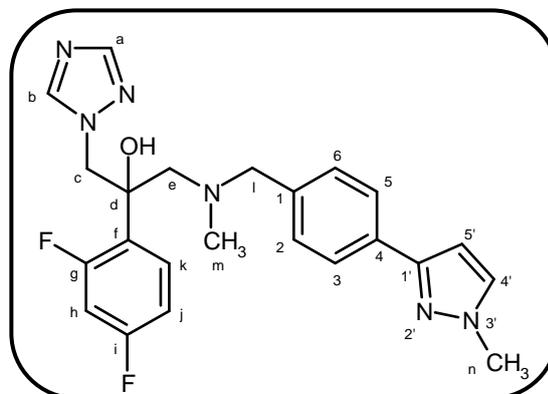
$C_{23}H_{24}F_2N_6O$

$M_r = 438,48$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 84-85$

Rendement = 53%



Le composé **63** est synthétisé selon la **méthode R2** à partir de 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** et 86 mg (0,41 mmol, 1 éq) d'ester de pinacol de l'acide 1-méthylpyrazol-3-ylboronique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,11 (s, 3H, H_m) ; 2,79 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,05 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,40 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,56 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,88 (s, 3H, H_n) ; 4,53 (d, 1H, $^2J = 14,2$ Hz, H_e) ; 4,59 (d, 1H, $^2J = 14,2$ Hz, H_e) ; 5,78 (s, 1H, OH) ; 7,00 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, H_j) ; 7,07 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,19 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,2$ Hz, H_b) ; 7,44-7,47 (m, 3H, $H_{k,3,5}$) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 7,85 (s, 1H, $H_{5'}$) ; 8,12 (s, 1H, $H_{4'}$) ; 8,32 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

38,8 (C_n) ; 43,8 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,6 (C_l) ; 63,1 (C_c) ; 75,3 (C_d) ; 103,0 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 122,0 ($C_{1'}$) ; 124,8 (2C, $C_{3,5}$) ; 126,5 (C_f) ; 127,8 ($C_{4'}$) ; 129,3 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,1 (C_k) ; 131,4 (C_4) ; 136,1 ($C_{5'}$) ; 136,7 (C_l) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1133 (v C-F) ; 1272 (v C-N) ; 1497, 1630 (v C=C et v C=N) ; 3448 (v O-H).

Masse :

439,1 (M+H) $^+$.

Acide 2-bromopyridin-5-ylboronique (64)

Poudre beige

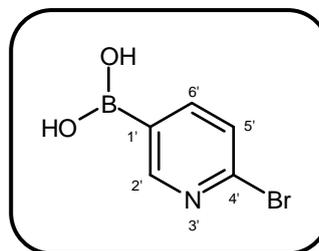
$C_5H_5BBrNO_2$

$M_r = 201,82$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 188-189$ (Litt¹⁵¹ : 198)

Rendement = 57%



Méthode S :

Dissoudre sous argon 2 g (8,44 mmol) de 2,5-dibromopyridine dans 21,60 mL d'éther diéthylique sec. A $-78^\circ C$, ajouter goutte à goutte 6,33 mL (10,13 mmol, 1,2 éq) de *n*-butyllithium, et agiter à $-78^\circ C$ pendant 2 heures. Ajouter alors 2,32 mL (10,13 mmol, 1,2 éq) de triisopropyle borate et agiter à $-78^\circ C$ pendant 2 heures. Ajouter 20 mL d'eau et laisser revenir le bain à température ambiante pendant la nuit. Evaporer le solvant et passer à pH 10 avec une solution d'hydroxyde de sodium 5M. Laver la phase aqueuse avec de l'éther diéthylique puis passer à pH 6-7 avec une solution d'acide chlorhydrique 1M. Extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et concentrer à sec. Triturer avec de l'éther diéthylique pour obtenir une poudre après filtration.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

7,66 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{5'}$) ; 8,05 (d, 1H, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{6'}$) ; 8,53 (s, 2H, OH) ; 8,68 (s, 1H, $H_{2'}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

641 (v C-Br) ; 1082 et 1174 (v B-C) ; 1343 (v B-O) ; 1579 et 1641 (v C=C et v C=N) ; 3441 (v O-H).

1-[[4-(6-Bromopyridin-3-yl)phénylméthyl]méthylamino]-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (65)

Poudre blanche

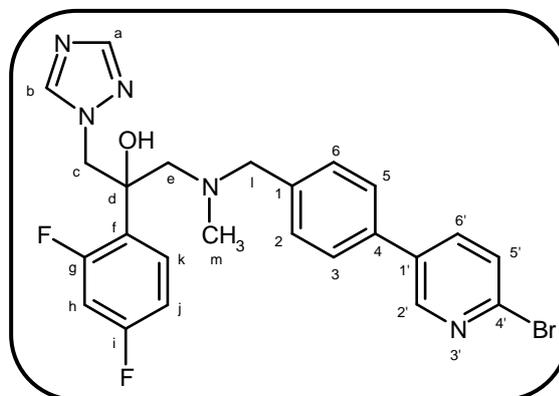
$C_{24}H_{22}BrF_2N_5O$

$M_r = 514,38$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 127-128$

Rendement = 60%



Méthode R3 :

Dissoudre sous argon 200 mg (0,41 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-[(4-iodobenzyl)méthylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **51** dans 6,0 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter 33 mg (0,029 mmol, 0,07 éq) de tétrakis(triphénylphosphine) palladium et 131 mg (0,65 mmol, 1,6 éq) d'acide 2-bromopyridin-5-ylboronique **64**. Agiter à température ambiante pendant 15 minutes. Ajouter alors 2,03 mL de carbonate de sodium (1M). Agiter à 90°C pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, reprendre à l'eau, extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1. Triturer le produit obtenu dans l'éther diéthylique et filtrer.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,80 (d, 1H, $^2J = 13,5$ Hz, H_c) ; 3,10 (d, 1H, $^2J = 13,5$ Hz, H_c) ; 3,48 (d, 1H, $^2J = 13,5$ Hz, H_i) ; 3,64 (d, 1H, $^2J = 13,5$ Hz, H_i) ; 4,55 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,81 (s, 1H, OH) ; 7,02 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,8$ Hz, H_j) ; 7,19 (m, 1H, H_h) ; 7,23 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,49 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,8$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,65 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,75 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,79 (s, 1H, H_b) ; 8,07 (dd, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{6'}$) ; 8,33 (s, 1H, H_a) ; 8,73 (d, 1H, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{2'}$).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,8 (C_m) ; 46,5 (C_e) ; 62,3 (C_l) ; 62,9 (C_c) ; 75,3 (C_d) ; 103,5 (C_h) ; 110,4 (C_j) ; 126,7 (2C, $C_{3,5}$) ; 128,0 (C_f) ; 128,2 ($C_{5'}$) ; 129,5 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,0 (C_k) ; 134,3 ($C_{1'}$) ; 135,3 (C_4) ; 137,0 ($C_{6'}$) ; 137,6 (C_1) ; 139,8 ($C_{4'}$) ; 145,1 (C_a) ; 148,4 ($C_{2'}$) ; 150,7 (C_b) ; 154,9 (C_i) ; 157,8 (C_g).

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1082 (v C-F) ; 1272 (v C-N) ; 1497, 1641 (v C=C et v C=N) ; 3484 (v O-H).

Masse :

514,1-516,1 (M+H)⁺.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-({4-[6-(4-méthylpipérazin-1-yl)pyridin-3-yl]phénylméthyl})méthylamino)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (66)

Poudre blanche

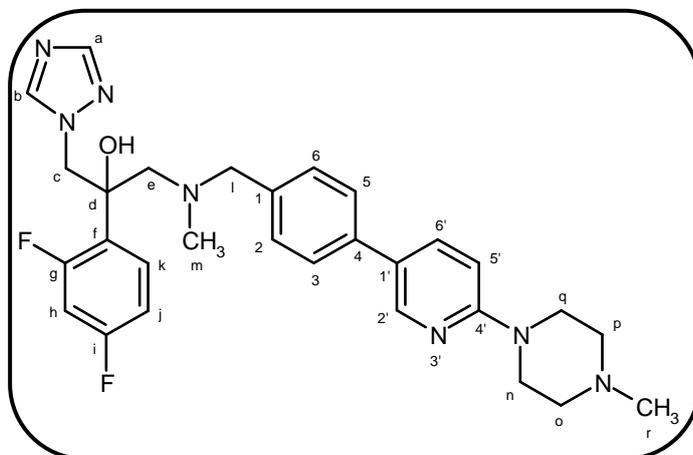
C₂₉H₃₃F₂N₇O

M_r = 533,63

R_f = 0,45 (dichlorométhane / éthanol : 9 / 1)

F° C = 112-113

Rendement = 82%



Méthode T :

Dissoudre dans un tube sous argon 150 mg (0,29 mmol) de 1-{{4-(6-bromopyridin-3-yl)phénylméthyl}méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **65** dans 2,6 mL de toluène. Ajouter 38 µL (0,35 mmol, 1,2 éq) de *N*-méthylpipérazine, 5,4 mg (0,006 mmol, 0,02 éq) de tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium, 7,3 mg (0,012 mmol, 0,04 éq) de (±)-2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle et 39 mg (0,41 mmol, 1,4 éq) de *tert*-butanolate de sodium. Sceller le tube et chauffer à 100°C pendant 2 heures. Ajouter de l'eau et extraire au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et concentrer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 9 / 1. Triturer le produit obtenu dans l'éther diéthylique et filtrer.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,27 (s, 3H, H_r) ; 2,45 (s, 4H, H_{o,p}) ; 2,81 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,08 (d, 1H, ²J = 13,6 Hz, H_c) ; 3,45 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_l) ; 3,56 (s, 4H, H_{n,q}) ; 3,61 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_l) ; 4,55 (d, 1H, ²J = 14,8 Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, ²J = 14,8 Hz, H_e) ; 5,80 (s, 1H, OH) ; 6,93 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H_{5'}) ; 7,01 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, H_j) ; 7,16 (d, 2H, ³J = 8,0 Hz, H_{2,6}) ; 7,20 (m, 1H, H_h) ; 7,47 (m, 1H, H_k) ; 7,52 (d, 2H, ³J = 8,0 Hz, H_{3,5}) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 7,86 (dd, 1H, ³J = 8,8 Hz, ⁴J = 1,6 Hz, H_{6'}) ; 8,33 (s, 1H, H_a) ; 8,46 (d, 1H, ⁴J = 1,6 Hz, H_{2'}).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

43,7 (C_m) ; 44,8 (2C, C_{n,q}) ; 46,0 (C_r) ; 54,5 (2C, C_{o,p}) ; 55,2 (C_e) ; 62,5 (C_l) ; 63,1 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 101,5 (C_h) ; 107,2 (C_{5'}) ; 111,3 (C_j) ; 124,5 (C_{1'}) ; 125,5 (2C, C_{3,5}) ; 126,4 (C_f) ; 129,4 (2C, C_{2,6}) ; 129,0 (C_k) ; 135,8 (C_{6'}) ; 136,3 (C₄) ; 137,5 (C₁) ; 145,1 (C_a) ; 145,5 (C_{2'}) ; 150,6 (C_b) ; 158,4 (C_{4'}).

C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1133 (v C-F) ; 1246 (v C-N) ; 1492, 1622 (v C=C et v C=N) ; 3445 (v O-H).

Masse :

534,2 (M+H)⁺.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-{{4-(6-morpholin-4ylpyridin-3-yl)phénylméthyl}méthylamino}-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (67)

Poudre jaune

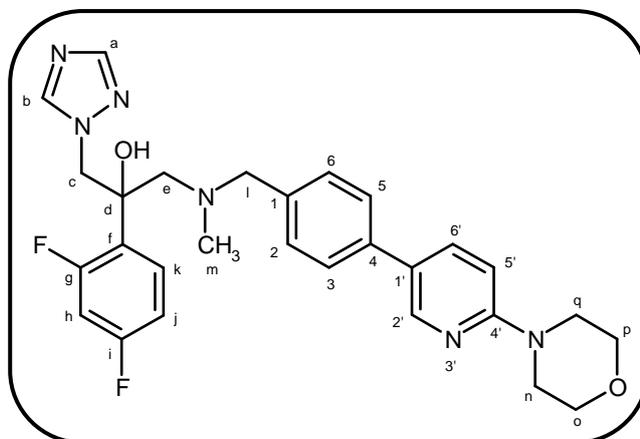
$C_{28}H_{30}F_2N_6O_2$

$M_r = 520,59$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 9 / 1)

$F^\circ C = 150-151$

Rendement = 72%



Le composé **67** est synthétisé selon la **méthode T** à partir de 150 mg (0,29 mmol) de 1-{{4-(6-bromopyridin-3-yl)phénylméthyl}méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **65** et 30 μ L (0,35 mmol, 1,2 éq) de morpholine.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,81 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,08 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,45 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,52 (t, 4H, $^3J = 4,4$ Hz, $H_{n,q}$) ; 3,61 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,75 (t, 4H, $^3J = 4,0$ Hz, $H_{o,p}$) ; 4,55 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,94 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,01 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, H_j) ; 7,16 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,20 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,6$ Hz, H_h) ; 7,47 (m, 1H, H_k) ; 7,53 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 7,89 (dd, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, $H_{6'}$) ; 8,33 (s, 1H, H_a) ; 8,48 (d, 1H, $^4J = 1,6$ Hz, H_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,7 (C_m) ; 45,3 (2C, $C_{n,q}$) ; 56,4 (C_e) ; 62,5 (C_l) ; 63,4 (C_c) ; 66,1 (2C, $C_{o,p}$) ; 75,3 (C_d) ; 104,1 (C_h) ; 107,1 ($C_{5'}$) ; 110,8 (C_j) ; 124,5 ($C_{1'}$) ; 125,5 (2C, $C_{3,5}$) ; 127,0 (C_f) ; 129,4 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,3 (C_k) ; 134,3 ($C_{6'}$) ; 135,3 (C_4) ; 137,0 (C_i) ; 145,1 (C_a) ; 145,5 ($C_{2'}$) ; 150,6 (C_b) ; 158,4 (C_4).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1108 (v C-F) ; 1231 (v C-N) ; 1482, 1626 (v C=C et v C=N) ; 3453 (v O-H).

Masse :

521,2 (M+H) $^+$.

2-(2,4-Difluorophényl)-1-({4-[6-(diphénylméthylidèneamino)pyridin-3-yl]phénylméthyl}méthylamino)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (68)

Poudre jaune

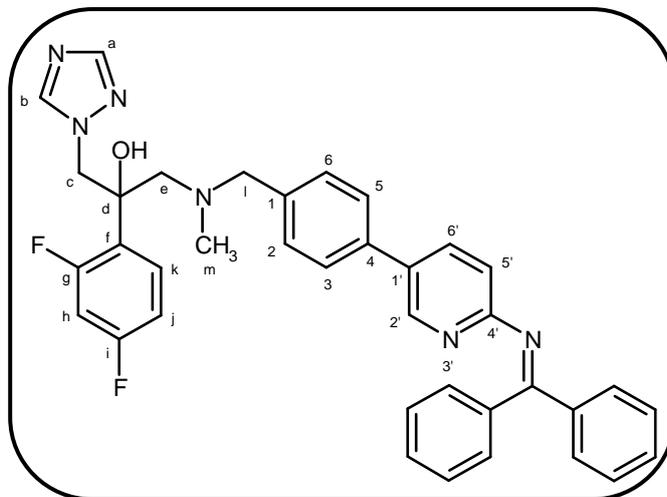
$C_{37}H_{32}F_2N_6O$

$M_r = 614,70$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 71-72$

Rendement = 70%



Le composé **68** est synthétisé selon la **méthode T** à partir de 100 mg (0,19 mmol) de 1-{{4-[6-bromopyridin-3-yl]phénylméthyl}méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **65** et 39 μ L (0,23 mmol, 1,2 éq) de benzophénone imine.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,10 (s, 3H, H_m) ; 2,79 (d, 1H, $^2J = 13,5$ Hz, H_c) ; 3,07 (d, 1H, $^2J = 13,5$ Hz, H_c) ; 3,45 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 3,62 (d, 1H, $^2J = 13,2$ Hz, H_l) ; 4,54 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 6,79 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,00 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,19 (m, 5H, $H_{2,6,h,ar}$) ; 7,36 (m, 2H, H_{ar}) ; 7,44 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,59 (m, 6H, $H_{3,5,ar}$) ; 7,74 (m, 2H, H_{ar}) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 7,79 (dd, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, $H_{6'}$) ; 8,33 (s, 1H, H_a) ; 8,59 (d, 1H, $^4J = 1,6$ Hz, $H_{2'}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1272 (v C-N) ; 1497, 1630 (v C=C et v C=N) ; 3448 (v O-H).

1-{{4-(6-Aminopyridin-3-yl)phénylméthyl}méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (69)

Poudre blanche

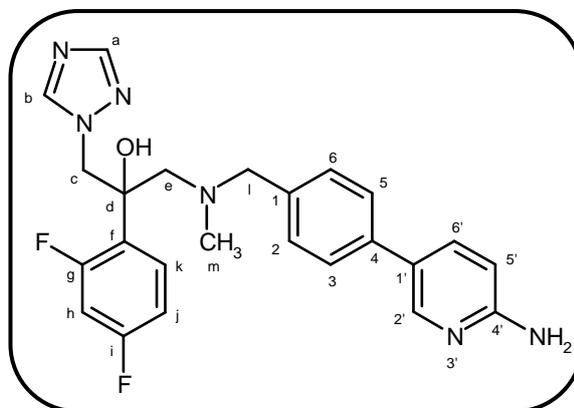
$C_{24}H_{24}F_2N_6O$

$M_r = 450,50$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 151-152$

Rendement = 82%



Méthode U :

Dissoudre sous argon 68 mg (0,11 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-1-({4-[6-(diphénylméthylidèneamino)pyridin-3-yl]phénylméthyl}méthylamino)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **68** dans 6,9 mL de méthanol. Ajouter 83 mg (1,01 mmol, 9,2 éq) d'acétate de sodium et 53 mg (0,76 mmol, 6,9 éq) de chlorure d'hydroxylamine. Agiter à température ambiante pendant 2 heures. Concentrer à sec. Reprendre au dichlorométhane et laver avec une solution de soude 0,1M. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Triturer avec de l'éther diéthylique pour obtenir une poudre blanche après filtration.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,11 (s, 3H, H_m) ; 2,80 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,06 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_c) ; 3,45 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_l) ; 3,59 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_l) ; 4,56 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,58 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,78 (s, 1H, OH) ; 6,06 (s, 2H, NH_2) ; 6,54 (d, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,01 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,8$ Hz, H_j) ; 7,13 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2,6}$) ; 7,19 (dd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, H_h) ; 7,46 (d, 2H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3,5}$) ; 7,47 (m, 1H, H_k) ; 7,70 (dd, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 8,24 (d, 1H, $^4J = 2,0$ Hz, H_2) ; 8,33 (s, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,7 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,5 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 108,1 ($C_{5'}$) ; 110,8 (C_j) ; 123,9 ($C_{1'}$) ; 125,2 (2C, $C_{3,5}$) ; 126,4 (C_f) ; 129,4 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,1 (C_k) ; 135,4 ($C_{6'}$) ; 136,9 (C_4) ; 137,1 (C_i) ; 145,1 (C_a) ; 145,8 ($C_{2'}$) ; 150,6 (C_b) ; 159,3 ($C_{4'}$).

C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1133 (v C-F) ; 1272 (v C-N) ; 1492, 1638 (v C=C et v C=N) ; 3451 (v O-H et v NH₂).

Masse :

451,1 (M+H)⁺.

***N*-{5-[4-({[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}méthyl)phényl]pyridin-2-yl}methanesulfonamide (70)**

Poudre blanche

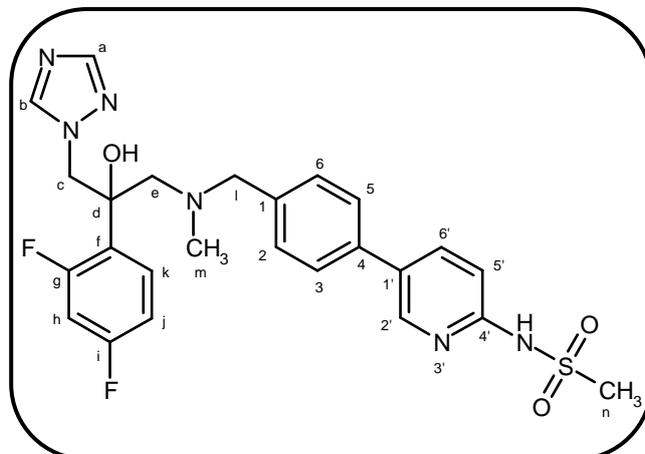
C₂₅H₂₆F₂N₆O₃S

M_r = 528,59

R_f = 0,40 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = 120-121

Rendement = 73%



Méthode Q3 :

Dissoudre sous argon 100 mg (0,22 mmol) de 1-{[4-(6-aminopyridin-3-yl)phénylméthyl]méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **69** dans 3,4 mL de pyridine. Ajouter 42 µL (0,54 mmol, 2,4 éq) de chlorure de méthanesulfonyle et agiter à 55°C pendant 2 heures. Concentrer à sec. Reprendre à l'eau et extraire au dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

2,12 (s, 3H, H_m) ; 2,81 (d, 1H, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 3,09 (d, 1H, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 3,35 (s, 3H, H_n) ; 3,49 (d, 1H, ²J = 13,3 Hz, H_l) ; 3,64 (d, 1H, ²J = 13,3 Hz, H_l) ; 4,55 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_e) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 7,01 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,09 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H_{5'}) ; 7,18 (m, 1H, H_h) ; 7,20 (d, 2H, ³J = 8,0 Hz, H_{2,6}) ; 7,48 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,8 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F}' = 6,8 Hz, H_k) ; 7,58 (d, 2H, ³J = 8,0 Hz, H_{3,5}) ; 7,78 (s, 1H, H_b) ; 8,07 (dd, 1H, ³J = 8,8 Hz, ⁴J = 2,4 Hz, H_{6'}) ; 8,33 (s, 1H, H_a) ; 8,58 (d, 1H, ⁴J = 2,4 Hz, H_{2'}) ; 10,70 (se, 1H, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

41,9 (C_n) ; 43,8 (C_m) ; 56,1 (C_e) ; 62,4 (C_l) ; 63,2 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 112,5 (C_{5'}) ; 126,2 (2C, C_{3,5}) ; 126,5 (C_{1'}) ; 127,0 (C_f) ; 129,5 (2C, C_{2,6}) ; 130,1 (C_k) ; 135,4 (C_{6'}) ; 137,1 (C₄) ; 138,7 (C_l) ; 145,1 (C_a) ; 147,8 (C_{2'}) ; 150,6 (C_b) ; 151,7 (C_{4'}).

C_g et C_i non visibles.

Partie A

IR (KBr, cm^{-1}) :

1124 ($\nu_s \text{SO}_2$) ; 1272 ($\nu \text{C-N}$) ; 1374 ($\nu_{as} \text{SO}_2$) ; 1497, 1646 ($\nu \text{C=C}$ et $\nu \text{C=N}$) ; 3457 ($\nu \text{O-H}$ et $\nu \text{N-H}$).

Masse :

529,2 (M+H^+).

***N*-{5-[4-({[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino)méthyl]phényl]pyridin-2-yl}benzènesulfonamide (**71**)**

Poudre jaune

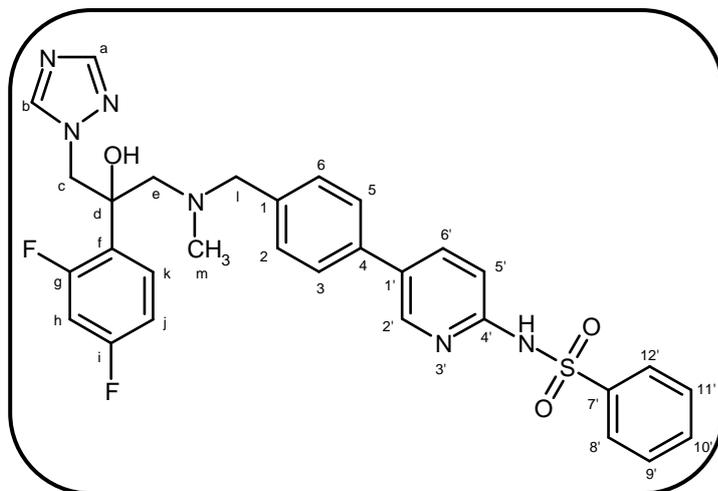
$C_{30}H_{28}F_2N_6O_3S$

$M_r = 590,66$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 105-106$

Rendement = 76%



Le composé **71** est synthétisé selon la **méthode Q3** à partir de 115 mg (0,26 mmol) de 1-{[4-(6-aminopyridin-3-yl)phénylméthyl]méthylamino}-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **69** et 78 μ L (0,61 mmol, 2,4 éq) de chlorure de benzènesulfonyle.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,05 (s, 3H, H_m) ; 2,74 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,02 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,40 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_l) ; 3,57 (d, 1H, $^2J = 13,6$ Hz, H_l) ; 4,49 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,54 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,74 (s, 1H, OH) ; 6,96 (m, 1H, H_j) ; 7,11-7,30 (m, 4H, $H_{2,6,h,5'}$) ; 7,44 (m, 1H, H_k) ; 7,48 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{9',11'}$) ; 7,54-7,62 (m, 3H, $H_{3,5,10'}$) ; 7,73 (s, 1H, H_b) ; 7,91 (d, 2H, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{8',12'}$) ; 8,01 (d, 1H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{6'}$) ; 8,27 (s, 1H, H_a) ; 8,35 (s, 1H, $H_{2'}$) ; 11,75 (se, 1H, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

43,7 (C_m) ; 56,0 (C_e) ; 62,4 (C_l) ; 63,1 (C_c) ; 75,2 (C_d) ; 103,9 (C_h) ; 110,8 (C_j) ; 113,3 ($C_{5'}$) ; 125,7 ($C_{1'}$) ; 126,0 (2C, $C_{9',11'}$) ; 126,3 (C_f) ; 126,8 (2C, $C_{8',11'}$) ; 129,2 (2C, $C_{3,5}$) ; 129,4 (2C, $C_{2,6}$) ; 130,0 (C_k) ; 132,7 ($C_{10'}$) ; 134,7 (C_4) ; 138,0 (C_1) ; 138,8 ($C_{6'}$) ; 141,7 ($C_{7'}$) ; 145,1 (C_a) ; 151,8 ($C_{4'}$) ; 159,3 ($C_{4'}$) ; 159,1 (C_i) ; 161,8 (C_g). $C_{2'}$ non visible.

IR (KBr, cm^{-1}) :

1089 (v C-F) ; 1142 (vs SO_2) ; 1274 (v C-N) ; 1370 ($\nu_{\text{as}} \text{SO}_2$) ; 1500, 1605 et 1640 (v C=C et v C=N) ; 3443 (v O-H et v N-H).

Masse :

591,3 (M+H) $^+$.

PRINCIPES DES TESTS D'ÉVALUATION

Ces protocoles ont été standardisés au sein du Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale de la Faculté de Pharmacie de Nantes.¹⁸⁰ Ces tests fluorimétriques sont réalisés sur une microplaque de 96 puits.

Tests in vitro sur des souches de Candida

Préparation des diverses solutions :

Le milieu de culture est constitué de RPMI 1640 (100 mL, Sigma Aldrich), du tampon MOPS (0,0165 M, Sigma Aldrich) et de glucose (2 g, Sigma Aldrich) ; le pH du milieu est de 7. Une solution mère à 10 mM du produit à tester est obtenue en solubilisant le dérivé azolé dans une solution de 2 mL de DMSO. Une série de dilutions du produit à tester est obtenue par dilutions successives de la solution mère au 1/10^{ième} dans le DMSO puis dans le milieu de culture au 1/50^{ième}.

Les molécules de référence fluconazole, itraconazole et voriconazole sont solubilisées dans le DMSO à une concentration de 10 mM.

Une suspension de *Candida albicans* est également préparée, dans un mélange serum physiologique (0,9%) / tween 80 (0,01%). Le dénombrement des *Candida albicans* par une cellule de Malassez permet de réaliser ensuite une dilution afin de placer dans chaque puits 10³ levures par mL.

Remplissage des puits de la plaque :

Afin de maintenir une humidité suffisante pendant le test, les puits périphériques sont remplis de 200 µL d'eau distillée.

Le blanc du test est constitué de trois puits, chaque puits recevant 200 µL du milieu de culture. Le témoin de pousse du test est également constitué de trois puits, chaque puits recevant 100 µL du milieu de culture et 100 µL de la suspension de *Candida albicans*. Les autres puits sont remplis avec 100 µL de la suspension de *Candida albicans*, puis 100 µL de chaque concentration de la solution à tester est placée dans 3 puits.

Incubation et traitement final :

La plaque est ensuite incubée à 37°C pendant 24 heures. Ensuite, 10 µL d'une solution de fluorochrome (UptiBlue[®], Interchim[®], France) est ajoutée dans chaque puits et la plaque est à nouveau placée dans l'incubateur à 37°C pendant 4 heures. Le fluorochrome est ainsi réduit et la lecture se fait à l'aide d'un spectrofluorimètre (excitation 550 nm, émission 590 nm).

L'activité d'une molécule est déterminée par sa CMI correspondant à la CI₈₀ pour les azolés.

¹⁸⁰ Pagniez F. *et al.*, *J. Mycol. Med.*, **2001**, 11 (2), 73-78.

Tests in vitro sur la souche d'Aspergillus fumigatus AF98003

Préparation des diverses solutions :

Le milieu de culture est constitué de RPMI 1640 (100 mL, Sigma Aldrich), du tampon MOPS (0,0165 M, Sigma Aldrich) et de glucose (2 g, Sigma Aldrich) ; le pH du milieu est de 7. Une solution mère à 10 mM du produit à tester est obtenue en solubilisant le dérivé azolé dans une solution de 2 mL de DMSO. Une série de dilutions du produit à tester est obtenue par dilutions successives de la solution mère au 1/10^{ième} dans le DMSO puis dans le milieu de culture au 1/50^{ième}.

Une suspension de spores d'*Aspergillus fumigatus* est également préparée, dans un mélange eau physiologique / tween 80 (0,01%). Le dénombrement des conidies d'*Aspergillus fumigatus* par une cellule de Malassez permet de réaliser ensuite une dilution afin de placer dans chaque puits 10⁴ conidies par mL.

Remplissage des puits de la plaque :

Afin de maintenir une humidité suffisante pendant le test, les puits périphériques sont remplis de 200 µL d'eau distillée.

Le blanc du test est constitué de trois puits, chaque puits recevant 200 µL du milieu de culture. Le témoin du test est également constitué de trois puits, chaque puits recevant 100 µL du milieu de culture et 100 µL de la suspension de spores. Les autres puits sont remplis avec 100 µL de la suspension de spores, puis 100 µL de chaque concentration de la solution à tester est placée dans 3 puits.

Incubation et traitement final :

100 µL de chaque concentration de la solution à tester est placée dans 3 puits et la plaque est ensuite incubée à 37°C pendant 24 heures. Ensuite, une solution d'UptiBlue® (10 µL) est ajoutée dans chaque puits et la plaque est à nouveau placée dans l'incubateur à 37°C pendant 20 heures. La solution de fluorochrome est ainsi réduite par les cellules vivantes et le milieu se colore en rose. La lecture des résultats se fait à l'aide d'un spectrofluorimètre, aux longueurs d'ondes de 550 nm pour l'excitation et de 590 nm pour l'émission.

PROTOCOLE GÉNÉRAL D'ANALYSE DES STÉROLS SUR LA SOUCHE *Candida albicans* CA98001

Dans le but de confirmer le mécanisme d'action de nos composés, le Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale a récemment mis au point un protocole permettant d'investiguer l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol sur une souche de *Candida albicans* après traitement par une molécule antifongique.

La souche de *Candida albicans* CA98001 / CAAL93 (10^6 levures) est mise en culture dans du milieu Sabouraud liquide (Sigma-Aldrich) et incubée à 35°C au bain marie sous agitation (120 coups par minute). Les levures sont exposées aux différents traitements antifongiques à des concentrations proches de leurs CMI. Après 18h d'incubation, les cultures sont centrifugées à 1500 tr / min. Les culots sont lavés avec du tampon phosphate (PBS 2 mL) puis de nouveau centrifugés à 1500 tr / min. Le surnageant est écarté. Deux millilitres de solution de saponification (25 g de KOH, 36 mL d'eau distillée complétés à 100 mL avec de l'éthanol absolu) sont ajoutés. Après agitation au vortex, les suspensions sont incubées à 80°C pendant 1h. Les stérols sont extraits après addition d'un mélange 1 mL d'eau distillée et 3 mL de *n*-hexane. La solution de *n*-hexane est ensuite évaporée.

Les échantillons sont dérivatisés avec 100 µL de solution de silylation (Fluka, Saint Quentin Fallavier, France) à température ambiante pendant 30 min, évaporés et solubilisés dans 500 µL de *n*-hexane. La séparation est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (6890N, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) couplée à un spectromètre de masse quadripôle (5973i, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). La colonne analytique utilisée est une colonne capillaire greffée apolaire 5% phényl - 95% méthylsiloxane HP-5MS (Agilent Technologies) de 0,25 µm d'épaisseur de film, 30 m x 0,25 mm, utilisant de l'hélium comme gaz vecteur (débit constant de 1,2 mL / mn). L'injecteur chauffé à 250°C est utilisé en mode splitless (pour la détection de traces). La température du chromatographe initialement de 150°C pendant 0,5 mn, augmente de 40°C / mn jusqu'à 280°C, puis de 5°C / mn jusqu'à 300°C où elle est maintenue 6 mn. La « ligne de transfert » entre le chromatographe et le spectromètre de masse est intensément chauffé à 290°C de manière à éviter que les molécules éluées ne se recondensent entre les deux appareils. La source, où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites, est une source à ionisation par impact électronique (EI) maintenue à température élevée (280°C) pour éviter la condensation des analytes.

Pour chaque échantillon, la proportion de chacun des stérols identifiés est calculée à partir de l'aire sous courbe (ASC) de chaque pic selon le ratio suivant : ASC stérol / somme des ASC stérols.

PROTOCOLE GÉNÉRAL DE DOCKING

Les études de modélisation moléculaire ont été réalisées à l'aide du logiciel Sybyl version 8.0 (Tripos Associated Ltd. St louis, MO), sur une station Linux Dell Precision T3400.

Les structures 3D des ligands ont été construites à partir de la librairie de fragments propre au logiciel et ont subi une optimisation de leur géométrie par la méthode de Powell (Champs de force : Tripos, charges atomiques : Gasteiger-Hückel ; constante diélectrique : 4,0 ; cutoff : 8 Å). La minimisation a été effectuée jusqu'à un gradient énergétique de 0,001 kcal.mol⁻¹. Å⁻¹.

Le docking (arrimage ligand-protéine) de chaque composé dans le site actif de notre modèle CYP51-*Candida albicans*¹⁰⁰ a été réalisé à l'aide du logiciel GOLD (version 3.0, CCDC, Cambridge, UK). L'algorithme génétique implémenté dans GOLD a été utilisé pour optimiser l'orientation des ligands à l'intérieur des sites actifs. Durant le procédé d'optimisation, le ligand est considéré comme flexible alors que le site actif de l'enzyme est maintenu rigide. Pour chaque ligand, 20 solutions maximales ont été autorisées avec une terminaison précoce si 3 solutions sont obtenues avec un écart quadratique moyen de 1,5 Å (RMSD = 1,5 Å). Seule une contrainte de distance entre l'atome N-4 du triazole et l'atome de fer de la structure porphyrine a été imposée ($2,0 < d < 2,4$ Å). La conformation la plus stable a été sélectionnée à partir des résultats de la fonction de scoring (prédiction des énergies d'interaction) : Goldscore (basée sur un champ de forces). Les complexes ligand / protéine ont finalement fait l'objet d'une minimisation énergétique (Champ de force : MMFF94, Charges atomiques : MMFF94, constante diélectrique = 4, cutoff : 8 Å, gradient énergétique : 0,1 kcal.mol⁻¹.Å⁻¹).

PARTIE B

Synthèse d'analogues de l'albaconazole

I – Principe et objectifs de synthèse

Comme nous l'avons vu dans la partie introductive, l'albaconazole est une molécule antifongique développée par les Laboratoires Uriach et actuellement en phase III d'essais cliniques (**figure 83**).

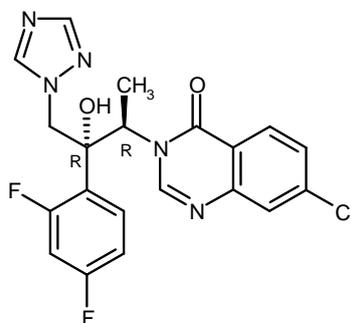


Figure 83 : Structure de l'albaconazole

Ce composé est constitué du pharmacophore commun aux azolés et d'un noyau 7-chloroquinazolinone. La molécule active est de configuration (1*R*, 2*R*). Elle possède de fortes activités sur un large spectre de champignons, de bonnes propriétés pharmacocinétiques dont une bonne biodisponibilité par voie orale.¹⁸¹

L'objectif est de synthétiser des analogues de l'albaconazole, présentant un scaffold thiazoloquinazolinone, en utilisant la chimie du sel d'Appel. Différentes molécules cibles seront envisagées. En effet, la position du cycle thiazole sera modifiée, afin d'obtenir deux régioisomères angulaires et un régioisomère linéaire. Ces nouveaux composés seront préparés selon l'une des synthèses de l'albaconazole,¹⁸² par ouverture d'un époxyde par différentes thiazoloquinazolinones (**figure 84**).

Les thiazoloquinazolinones non substituées sur l'azote seront donc préalablement synthétisées. La thiazoloquinazolinone « coudée vers le haut » a déjà été décrite par T. Besson *et al.*,^{183,184,185,186} alors que les deux autres structures sont originales.

Dans un premier temps, les synthèses en série racémique ont été abordées (R = H). Par la suite, les synthèses permettant la préparation des produits de configuration (1*R*, 2*R*) ont été développées (R = CH₃).

¹⁸¹ Sorbera L. *et al.*, *Drugs Future*, **2003**, 28 (6), 529-537.

¹⁸² Bartroli O.J. *et al.*, Brevet WO 0166519 A2, publié le **13 septembre 2001**.

¹⁸³ Besson T. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41 (7), 1027-1030.

¹⁸⁴ Alexandre F.-R. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44 (24), 4455-4458.

¹⁸⁵ Testard A. *et al.*, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2005**, 20 (6), 557-568.

¹⁸⁶ Testard A. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16 (13), 3419-3423.

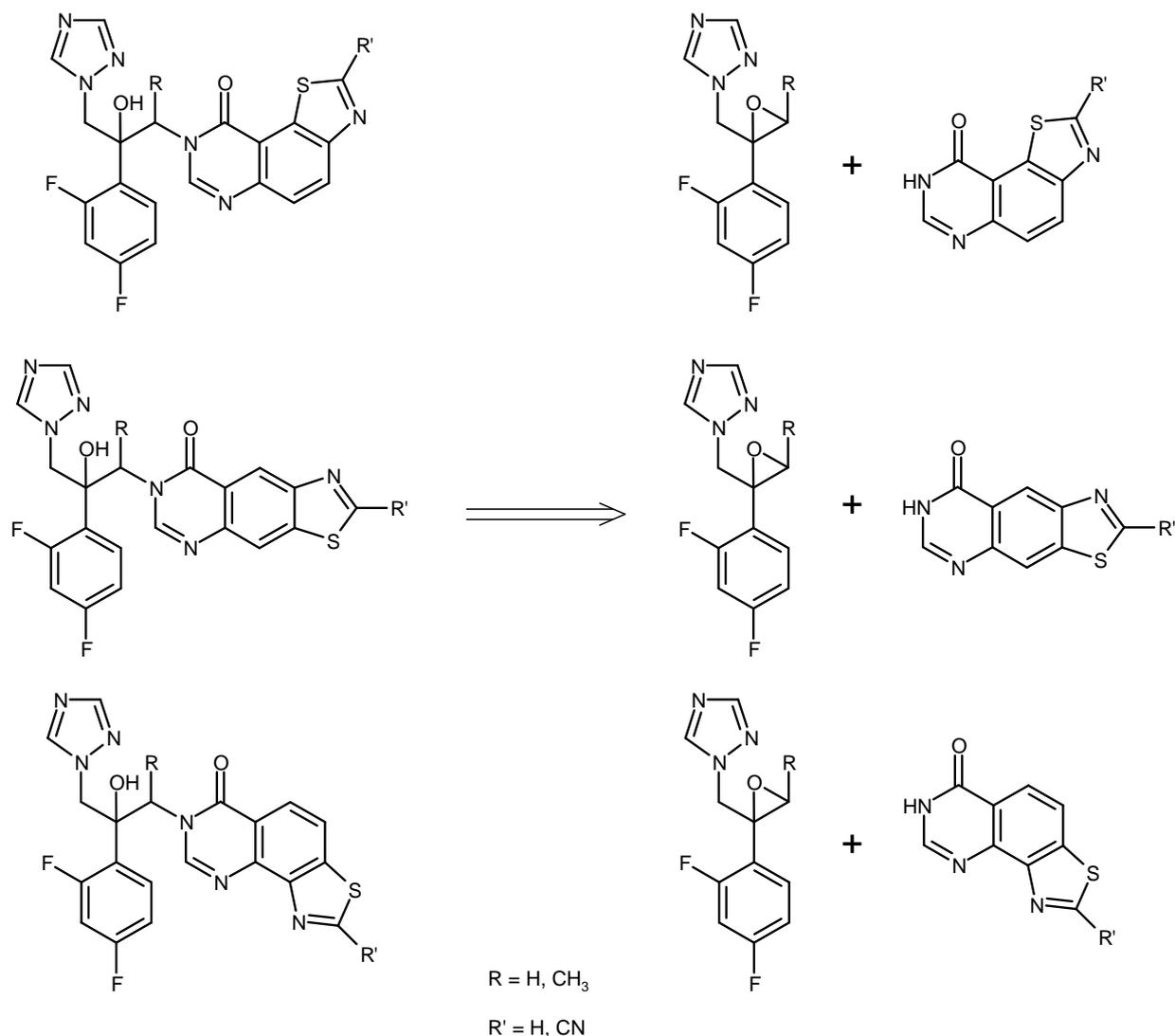


Figure 84 : Schéma rétrosynthétique menant aux analogues de l'albaconazole

II – Synthèse d'analogues en série racémique

1 – Le chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium ou sel d'Appel

Le chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium, plus communément appelé sel d'Appel a été découvert par Rolf Appel en 1985.¹⁸⁷ Il s'agit d'un solide vert insoluble dans les solvants organiques. Il est stable sous atmosphère inerte, à température ambiante et à l'abri de la lumière. Ce composé est facilement préparé par réaction entre le chloroacétonitrile et le chlorure de soufre dans le dichlorométhane à température ambiante (**figure 85**).

¹⁸⁷ Appel R. *et al.*, *Chem. Ber.*, **1985**, 118 (4), 1632-1643.

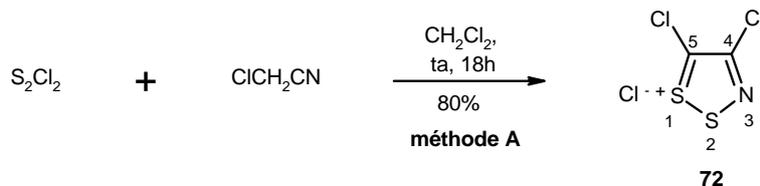


Figure 85 : Synthèse du sel d'Appel

Le sel d'Appel est sensible à l'attaque de divers nucléophiles. Ainsi, la condensation d'anilines en présence de pyridine, conduit à la formation de *N*-aryliminodithiazoles par déplacement du chlore en position 5 (**figure 86**).

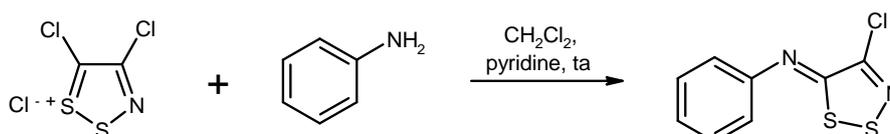


Figure 86 : Formation des *N*-aryliminodithiazoles

Les iminodithiazoles sont des composés stables, fortement colorés, pouvant subir diverses attaques nucléophiles de type inter ou intramoléculaires au niveau des sites électrophiles S1, S2, C4, C5 du cycle dithiazole (**figure 87**).¹⁸⁸

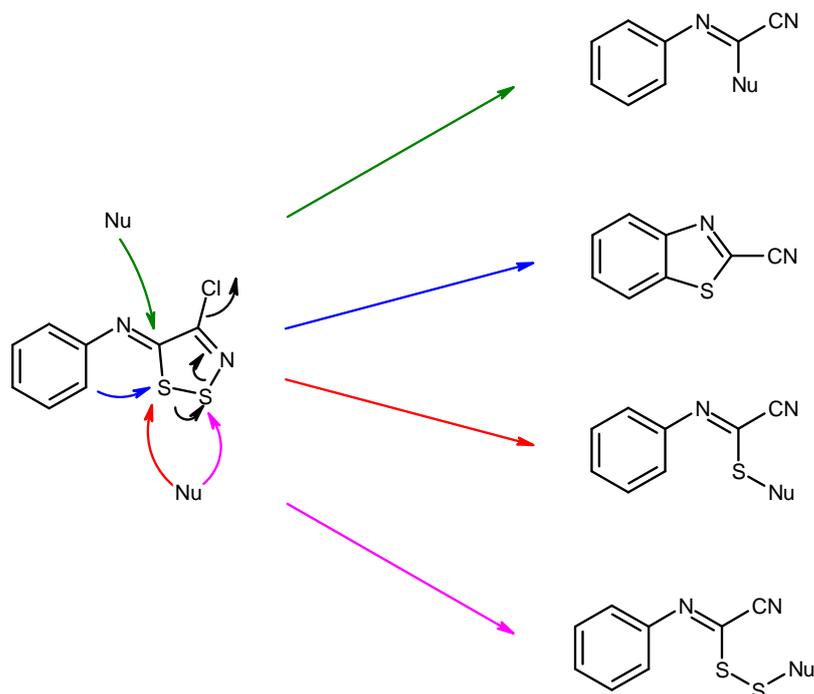


Figure 87 : Réactivité des *N*-aryliminodithiazoles

La force motrice de ces réactions est la formation d'une fonction nitrile latente au sein de la structure dithiazolique. Certaines réactions transforment uniquement le motif dithiazole par attaque au niveau des positions S1 et S2, alors que d'autres impliquent une cyclisation sur le cycle aromatique adjacent en S1, S2 et C5.

¹⁸⁸ Rees C.W., *J. Heterocycl. Chem.*, **1992**, 29 (3), 639-651.

Les iminodithiazoles sont donc des intermédiaires très intéressants pour la préparation d'hétérocycles originaux. Ainsi, à titre d'exemple et suivant le produit de départ considéré, on citera la synthèse de benzothiazoles,¹⁸⁹ de benzimidazoles,¹⁹⁰ de benzoxazoles, de triazolopyrimidines, d'imidazopyrimidines ou de pyrazolopyrimidines,¹⁹¹ de 3,1-benzoxazin-4-ones et de 3,1-benzothiazin-4-ones,¹⁹² de 3,1-benzoxazines et de 3,1-benzothiazines,¹⁹³ de quinazolines,^{194,190} de quinazolin-4-ones,¹⁹⁵ ou de 5-cyano-1,2,4-thiadiazoles.¹⁹⁶

2 – Préparation des thiazoloquinazolinones

2.1- Synthèse en série 1,3-thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one

2.1.1- Aperçu bibliographique

T. Besson *et al.* ont publié la synthèse de la 1,3-thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one selon deux voies de synthèse différentes. La première est réalisée à partir du 2-amino-5-nitrobenzonnitrile par l'intermédiaire d'un 4-éthoxy-6-nitroquinazoline-2-carbonitrile.¹⁸³ La deuxième est effectuée selon le schéma rétrosynthétique **figure 88**.^{184,185,186}

La 1,3-thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one est obtenue après décyanation et déprotection de l'analogue 8-benzyl-9-oxo-8,9-dihydro-1,3-thiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile. Ce dernier est préparé par cyclisation de l'iminodithiazole correspondant. Cet intermédiaire peut être synthétisé par condensation entre le sel d'Appel et la 6-amino-3-benzyl-5-bromoquinazolin-4(3H)-one. Enfin, cette quinazolinone est obtenue en trois étapes à partir de l'acide 5-nitroanthranilique.

¹⁸⁹ Besson T. *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1995**, 13, 1659-1662.

¹⁹⁰ Rakitin O.A. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (26), 4589-4592.

¹⁹¹ Baraldi P.G. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10 (2), 449-456.

¹⁹² Besson T. *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1995**, 17, 2097-2102.

¹⁹³ Besson T. *et al.*, *Synlett*, **1997**, 06, 704-706.

¹⁹⁴ Chang Y.-G. *et al.*, *Synlett*, **2002**, 09, 1423-1426.

¹⁹⁵ de Fatima Pereira M. *et al.*, *Tetrahedron*, **2007**, 63 (4), 847-854.

¹⁹⁶ Iwakawa T. *et al.*, *Heterocycles*, **1999**, 51 (4), 811-819.

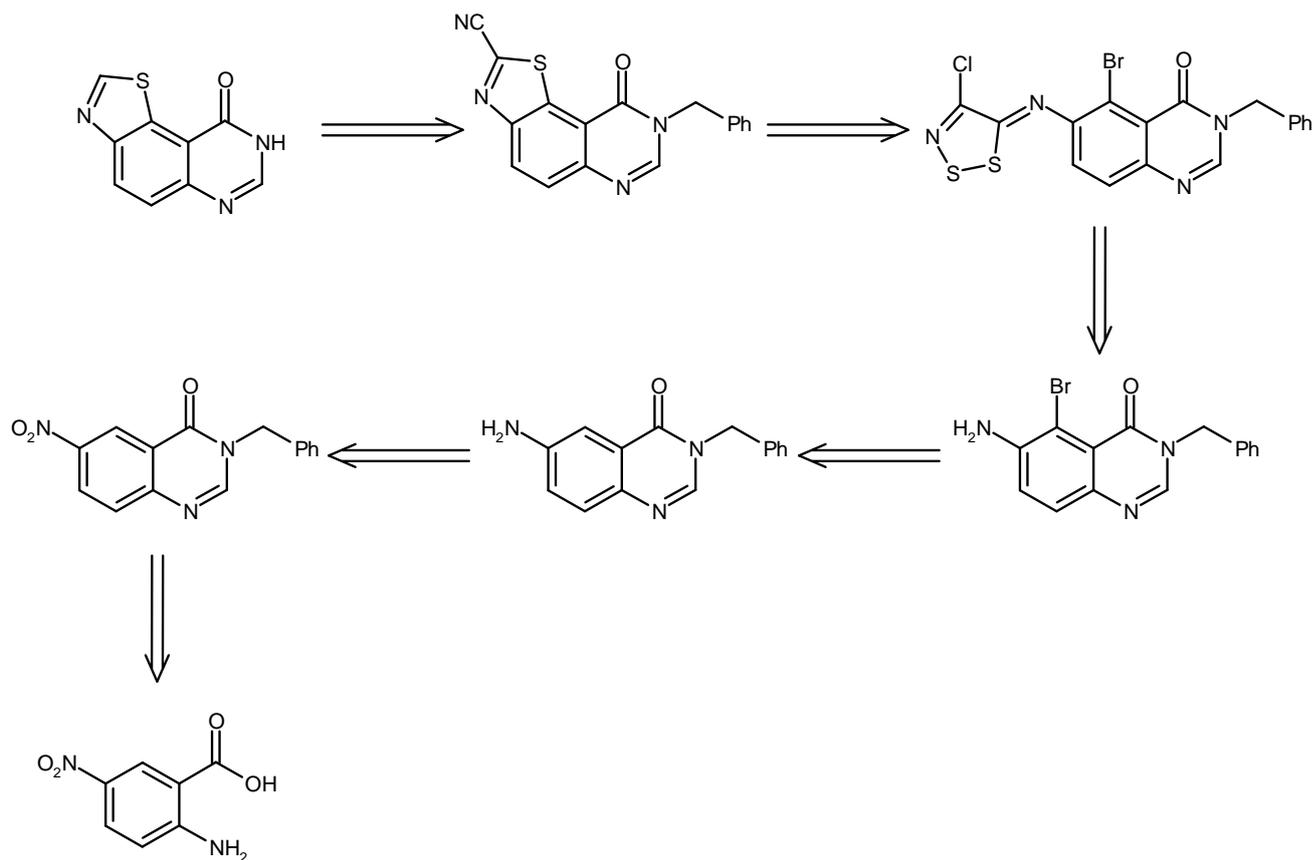


Figure 88 : Schéma rétrosynthétique menant à la 1,3-thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one

Il est à noter que la protection de l'azote de la quinazolinone est indispensable pour permettre la condensation avec le sel d'Appel avec de bon rendement. De plus, la formation du cycle thiazole est favorisée lorsqu'un atome de brome est présent en position 5 de la quinazolinone.

Il a été démontré que par thermolyse à haute température, les *N*-aryliminodithiazoles peuvent se réarranger en benzothiazoles. Cette réaction s'effectue selon un mécanisme d'électrocyclisation et de fragmentation, et s'accompagne de la perte d'une molécule d'acide chlorhydrique et de soufre (**figure 89**).¹⁸⁸

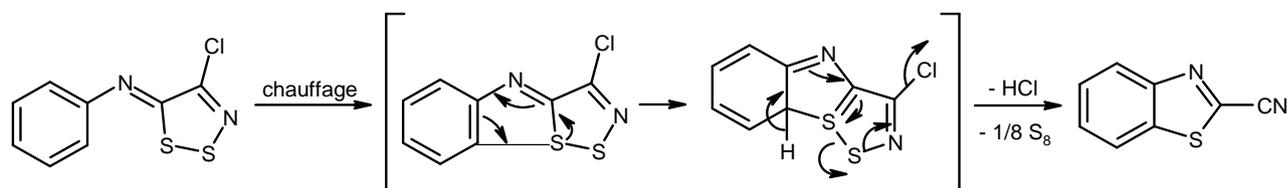


Figure 89 : Synthèse de benzothiazole par thermolyse

Cette thermolyse mène aussi à la formation de chlorure de cyanoimidoylo (**figure 90**).

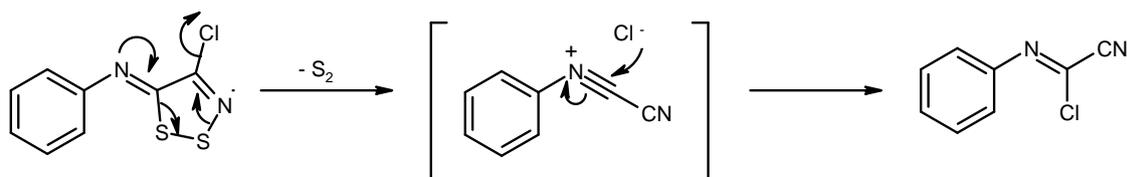


Figure 90 : Synthèse de chlorure de cyanoimidoyle par thermolyse

Le rendement en benzothiazole dépend de la nature des substituants présents sur le cycle aromatique. En effet, un groupement électrodonneur favorise la formation du cycle thiazole, alors qu'un groupement électroattracteur conduit majoritairement à la formation du chlorure de cyanoimidoyle.¹⁹⁷

La formation du thiazole peut être réalisée en milieu homogène, au reflux du toluène dans un tube scellé.¹⁹⁸ Les rendements sont alors améliorés. De même, une cyclisation sous irradiation micro-ondes dans des solvants polaires comme la *N*-méthylpyrrolidin-2-one (NMP) permet d'augmenter les rendements et de réduire les temps de réaction.¹⁹⁹

Il est aussi possible de réaliser cette réaction en milieu hétérogène. Les meilleurs rendements ont été observés en présence de tribromure de pyridinium au reflux de la pyridine. En effet, des études préliminaires ont démontré que l'exclusion de l'atome de soufre S2 peut être facilitée par le tribromure de pyridinium. Le brome crée une assistance électrophile sur ce soufre, favorable au processus de cyclisation.²⁰⁰

Cependant, les meilleurs résultats sont obtenus avec l'intermédiaire bromé en *ortho* de l'entité *N*-arylimine par utilisation d'iodure de cuivre au reflux de la pyridine. L'activation se fait par complexation du brome avec le métal et les processus d'électrocyclisation et de fragmentation vus précédemment sont ainsi facilités (**figure 91**).²⁰¹

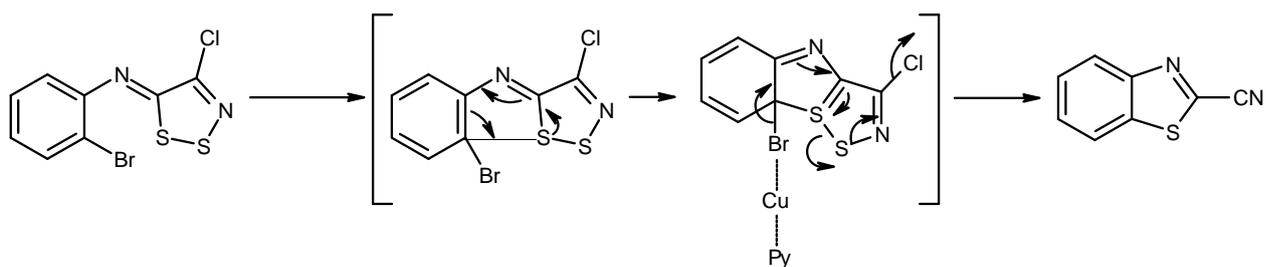


Figure 91 : Synthèse de benzothiazole par activation avec un atome de brome

¹⁹⁷ English R. *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1997**, 3, 201-206.

¹⁹⁸ Bénétteau V. *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.*, **1999**, 34 (12), 1053-1060.

¹⁹⁹ Frère S. *et al.*, *Tetrahedron*, **2003**, 59 (6), 773-779.

²⁰⁰ Kim K., *Sulfur reports*, **1998**, 21 (2), 147-207.

²⁰¹ Besson T. *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1998**, 23, 3925-3926.

2.1.2- Synthèse de la 1,3-thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one

Les conditions opératoires décrites par T. Besson *et al.* ont été utilisées pour synthétiser la 3-benzyl-5-bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]quinazolin-4(3*H*)-one **77** (figure 92).^{184,185,186}

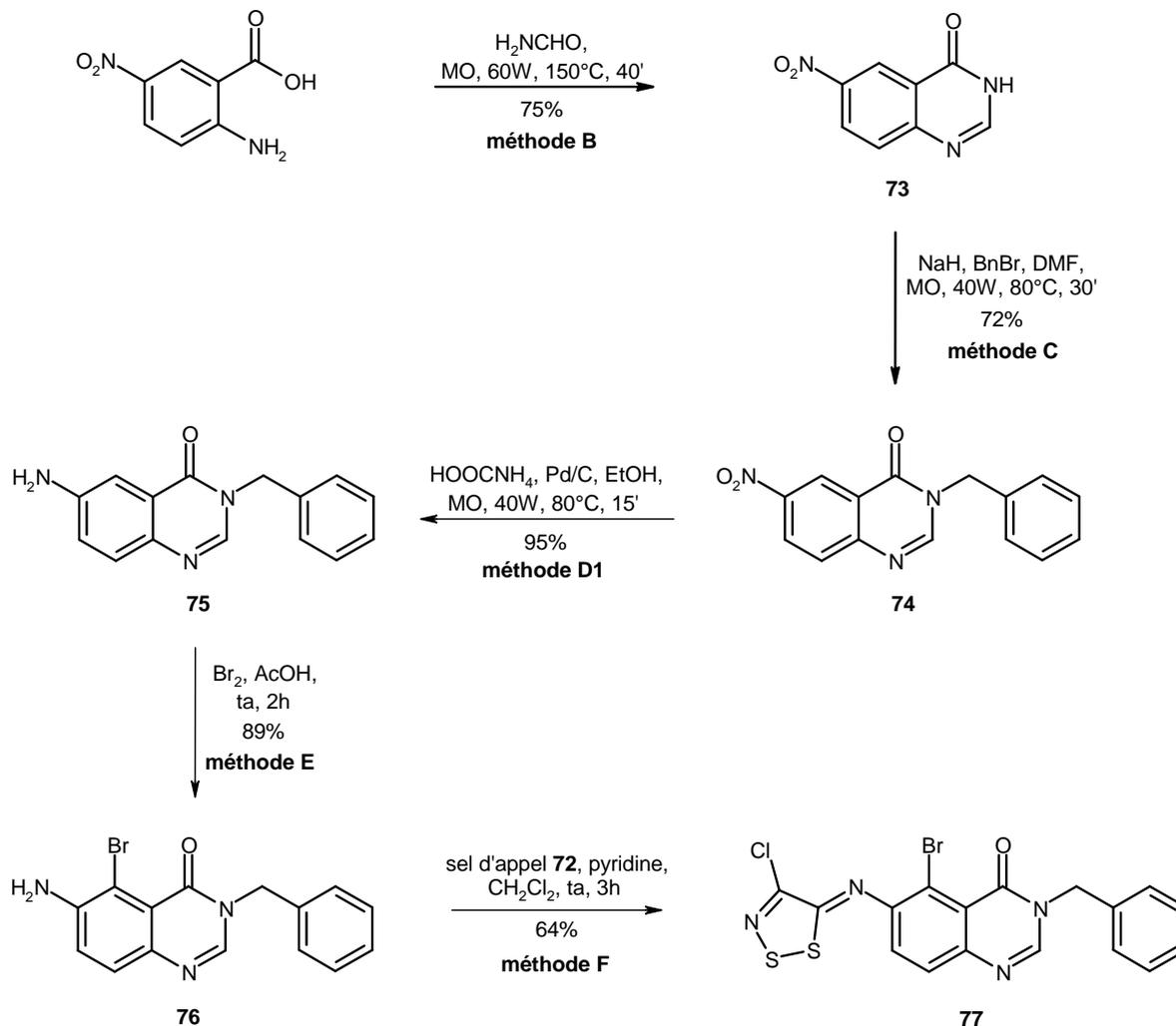


Figure 92 : Synthèse de la 3-benzyl-5-bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]quinazolin-4(3*H*)-one **77**

La première étape est une réaction de Niementowski entre l'acide 5-nitroanthranilique et le formamide. Cette condensation est réalisée sous irradiation micro-ondes à 150°C sous 60W pendant 40 minutes (méthode B).²⁰² La quinazolinone **73** est alors isolée avec un rendement de 75%. Elle est ensuite protégée en position 3 par un groupement benzyle. La benzylation est réalisée en présence d'hydrure de sodium et de bromure de benzyle dans le DMF (40W, 80°C) pendant 30 minutes (méthode C). Ainsi, la 3-benzyl-6-nitroquinazolin-4(3*H*)-one **74** est préparée avec un rendement de 72%. La fonction nitro est réduite pour conduire à la 6-aminoquinazolin-4(3*H*)-one. Cette réduction est réalisée en présence de formiate d'ammonium et de palladium sur charbon dans l'éthanol sous irradiation micro-

²⁰² Alexandre F.-R. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43 (21), 3911-3913.

ondes (40W, 80°C). La **méthode D1** permet de synthétiser l'amine **75** avec un excellent rendement de 95%. Cette dernière est alors bromée sélectivement en position 5 en présence de dibrome dans l'acide acétique à température ambiante pendant 2 heures (**méthode E**). Le dérivé bromé **76** est isolé avec un rendement de 89%. Finalement le composé **76** est condensé avec le sel d'Appel **72** en présence de pyridine dans le dichlorométhane (**méthode F**). La *N*-aryliminodithiazole **77** est isolée avec un rendement de 64%.

La déprotection du groupement benzyle est alors envisagée. En effet, l'objectif est de réaliser la déprotection puis la formation du cycle thiazole, permettant ainsi la synthèse du 9-oxo-8,9-dihydro-1,3-thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile.

Parmi les différentes techniques existantes, une très employée et très efficace est l'hydrogénation catalytique.¹²² Cependant, la structure de notre composé ne permet pas d'envisager cette méthodologie (présence d'atome de soufre). Les conditions publiées par Murakami *et al.* ont alors été utilisées. Ils décrivent une déprotection de l'azote indolique en présence de chlorure d'aluminium dans l'anisole ou le benzène.²⁰³ Ainsi, le dérivé **77** est mis en réaction avec du chlorure d'aluminium dans le toluène à 65°C (**figure 93**).

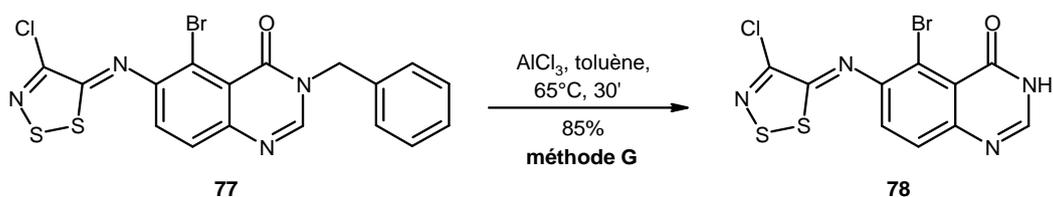


Figure 93 : Synthèse du composé **78** par déprotection du groupement benzyle

Cette technique s'avère appropriée pour la déprotection d'amide *N*-benzylée puisque la quinazolinone **78** est obtenue rapidement avec un bon rendement.

Le cycle thiazole peut être envisagé à partir de l'intermédiaire **78**. Celui-ci est cyclisé dans la pyridine à reflux avec deux équivalents d'iodure de cuivre. Cette réaction est effectuée sous irradiation micro-ondes à 115°C avec une puissance de 60W pendant 15 minutes (**figure 94**).^{184,185,186}

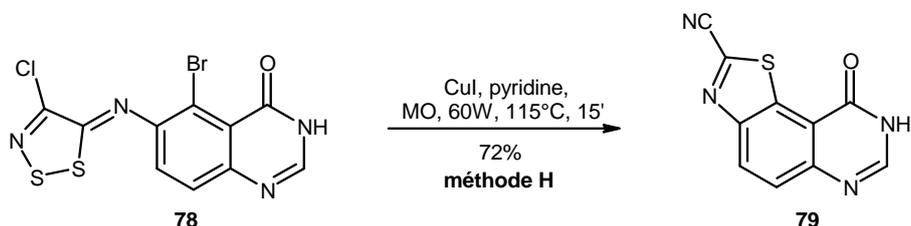


Figure 94 : Synthèse de la thiazoloquinazolinone **79**

Ces conditions opératoires permettent de préparer la première thiazoloquinazolinone **79** avec un rendement de 72%.

²⁰³ Watanabe T. *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, 39 (5), 1152-1156.

La deuxième molécule cible peut être obtenue par décyanation du dérivé **79**. Il existe de nombreuses méthodes permettant cette réaction, par exemple par utilisation d'un métal (Li ou Na / NH₃), d'alumino ou de borohydrure (LiAlH₄, NaBH₄), d'acide ou de base, d'hydruure de tributylétain (Bu₃SnH + AIBN), d'iodure de samarium (SmI₂ + HMPA) ou encore par hydrogénation.²⁰⁴

Dans notre cas, cette décyanation est réalisée avec de l'acide bromhydrique à 48% sous irradiation micro-ondes à 115°C pendant 30 minutes (**figure 95**).²⁰⁵ Dans ces conditions, le groupement nitrile est probablement hydrolysé puis décarboxylé. La deuxième thiazoloquinazolinone est ainsi synthétisée avec un rendement de 95%.

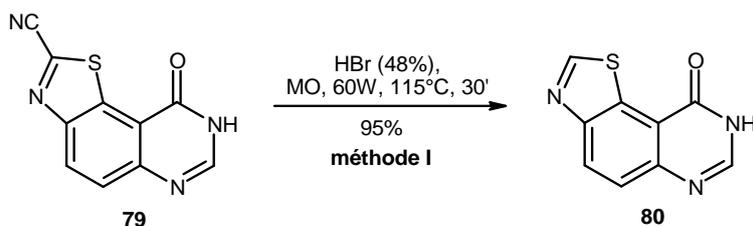


Figure 95 : Décyanation menant à la thiazoloquinazolinone **80**

2.2- Synthèse en série 1,3-thiazolo[4,5-g]quinazolin-8(7H)-one

2.2.1- Approche rétrosynthétique

Afin de synthétiser les thiazoloquinazolinones linéaires, molécules originales, la voie de synthèse utilisée en série 1,3-thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one a été exploitée. Ainsi, le schéma rétrosynthétique envisagé est représenté sur la **figure 96**.

Les étapes menant aux deux thiazoloquinazolinones désirées sont les mêmes que précédemment. L'intermédiaire clé de cette voie de synthèse est la 6-amino-3-benzyl-7-bromoquinazolin-4(3H)-one. Ce dérivé peut être obtenu par réduction de l'analogue nitré, lui-même préparé en deux étapes à partir de la 7-bromoquinazolin-4(3H)-one. Enfin, celle-ci est synthétisée par cyclisation de l'acide 4-bromo-2-nitrobenzoïque.

²⁰⁴ Mattalia J.-M. *et al.*, *Arkivoc*, **2006**, 4, 90-118.

²⁰⁵ Testard A., *Thèse de doctorat*, soutenue le **9 mars 2006**, Université de La Rochelle.

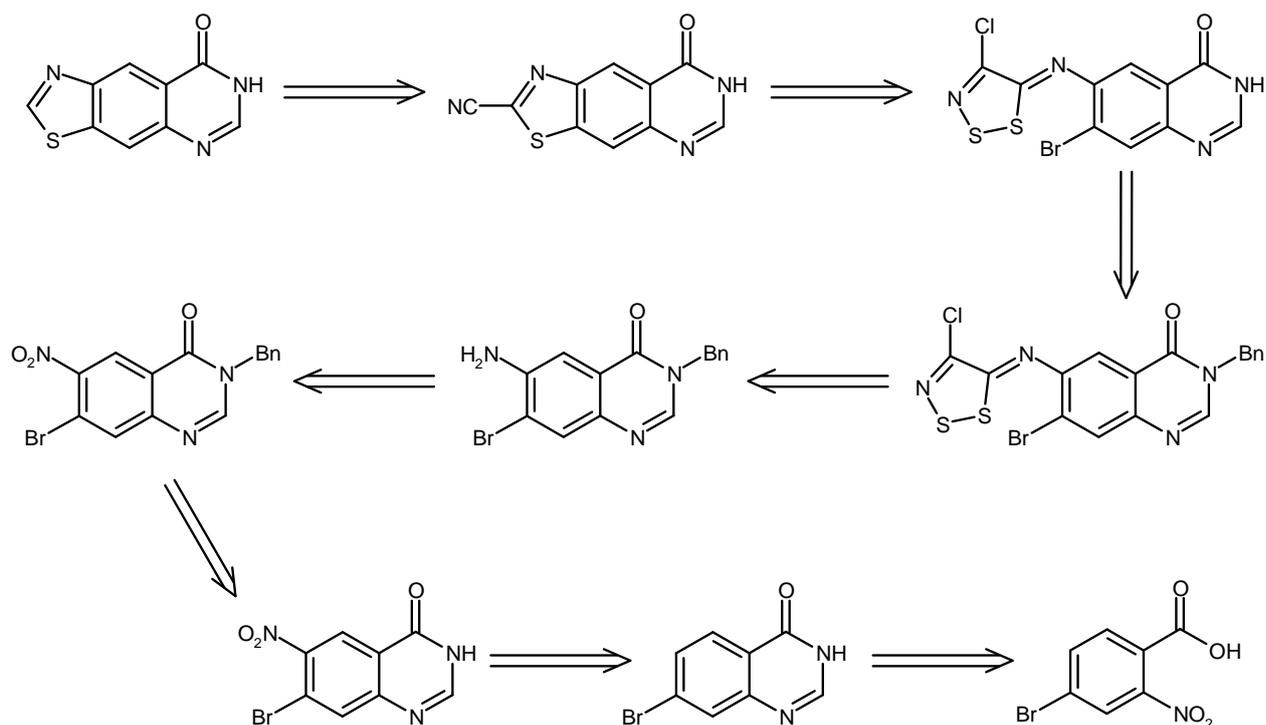


Figure 96 : Schéma rétrosynthétique menant aux molécules cibles en série 1,3-thiazolo[4,5-g]quinazolin-8(7H)-one

2.2.2- Synthèse en série 1,3-thiazolo[4,5-g]quinazolin-8(7H)-one

La 7-bromoquinazolin-4(3H)-one peut être synthétisée à partir de l'acide 4-bromo-2-nitrobenzoïque. En effet, la fonction nitro peut être réduite pour former l'acide 4-bromoanthranilique, engagé par la suite dans une réaction de Niementowski.

Mais la synthèse de la quinazolidinone peut aussi être réalisée en une seule étape. Kamal *et al.* ont décrit la synthèse de la 6-chloroquinazolin-4(3H)-one à partir de l'acide 5-chloro-2-nitrobenzoïque en présence de zinc et de formiate d'ammonium sous irradiation micro-ondes.²⁰⁶ Kundu *et al.* ont publié la synthèse de quinazolin-4(3H)-ones à partir d'acides 2-nitrobenzoïque (ou un dérivé amide, ester ou nitrile), de formamide et un équivalent de trichlorure d'indium à 150°C. Le temps moyen de leurs réactions est de 5 heures.²⁰⁷

Cette réaction s'effectue en deux étapes. Il y a tout d'abord une réduction du groupement nitro, puis une cyclisation de Niementowski. Le mécanisme de la réduction est représenté sur la **figure 97**.

²⁰⁶ Kamal A. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45 (34), 6517-6521.

²⁰⁷ Kundu S. *et al.*, *Arkivoc*, **2008**, 2, 33-42.

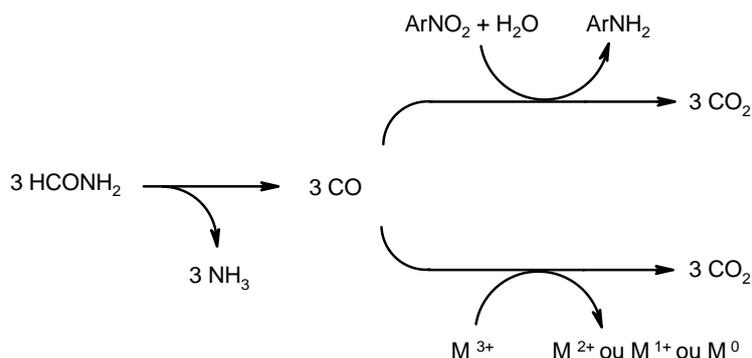


Figure 97 : Mécanisme de la réduction

Lors de cette réaction le trichlorure d'indium permet la décomposition du formamide, libérant ainsi de l'ammoniac et du monoxyde de carbone. Celui-ci participe alors à la conversion du nitro en amine en libérant du dioxyde de carbone.

Ces conditions ont été utilisées pour notre synthèse. Cependant, l'irradiation micro-ondes est préférée par rapport au chauffage classique, pour permettre une diminution des temps de réaction. L'acide 4-bromo-2-nitrobenzoïque est donc mis en réaction avec du trichlorure d'indium, du formamide pendant 40 minutes à 150°C avec une puissance de 80W (**figure 98**).

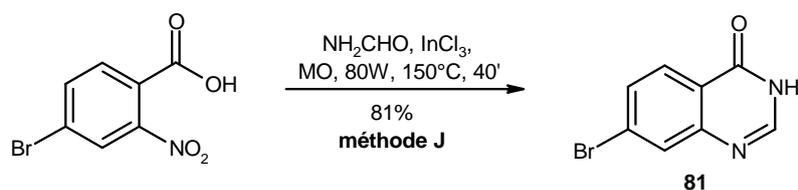


Figure 98 : Synthèse de la 7-bromoquinazolin-4(3H)-one **81**

Grâce à cette méthode la 7-bromo-3H-quinazolin-4-one **81** est préparée avec un rendement de 81%. Ce composé est ensuite nitré puis protégé par une fonction benzyle (**figure 99**).

La nitration en présence d'acide nitrique fumant et d'acide sulfurique concentré à 100°C fournit deux composés **82** et **83** avec des rendements respectifs de 76 et 15% (méthode **K**).²⁰⁸ Le dérivé désiré **82** est ensuite protégé selon la **méthode C** pour fournir la 3-benzyl-7-bromo-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **84** avec un rendement de 84%.

²⁰⁸ Rewcastle G.W. et al., *J. Med. Chem.*, **1996**, 39 (4), 918-928.

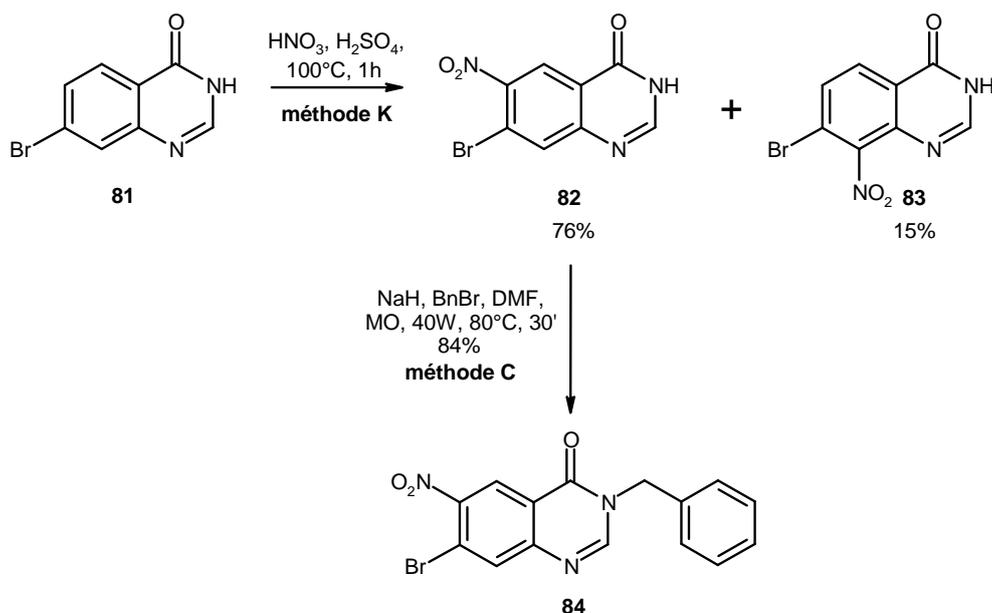
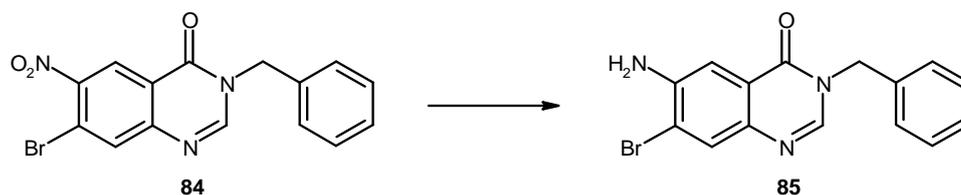


Figure 99 : Synthèse de la 3-benzyl-7-bromo-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **84**

La fonction nitro doit alors être réduite pour conduire à l'amine, intermédiaire indispensable pour la cyclisation. Plusieurs conditions opératoires ont été testées afin d'obtenir le produit voulu avec un bon rendement. Les différentes méthodes et les résultats obtenus sont résumés dans le **tableau 21**.



Essais	Conditions opératoires	Observations
1	HOOCNH ₄ , Pd / C, EtOH, MO, 40W, 80°C, 15'	84 + produit nitré débromé
2	SnCl ₂ .2H ₂ O, AcOEt, MO, 40W, 80°C, 60'	84
3	NaBH ₄ , CuSO ₄ , EtOH, ta, 24h	84 + produit débromé + 85 (35%)
4	FeCl ₃ .6H ₂ O, NH ₂ NH ₂ .H ₂ O, Charbon act., MeOH, 80°C, 14h	84 + 85 (46%)
5	Fe, HClc, EtOH, reflux, 12h	84 + 85 (55%)
6	Fe, AcOH, EtOH, reflux, 1h	85 (93%)

Tableau 21 : Essais de réduction de la fonction nitro

Les conditions vues précédemment (essai 1) ne mènent pas à la réduction mais à la formation d'un produit débromé. En présence de dichlorure d'étain dans l'acétate d'éthyle sous irradiation micro-ondes (essai 2), aucune réaction n'est observée.²⁰⁵ L'utilisation de borohydrure de sodium et de sulfate de cuivre dans l'éthanol permet d'obtenir le produit **85** mais avec un faible rendement (essai 3).²⁰⁹ L'essai 4 en présence d'hydrazine monohydrate, de trichlorure de fer hexahydrate conduit à un mélange du produit désiré (46%) et du produit de départ.²¹⁰

Nous nous sommes finalement orientés vers la réaction de Béchamp (essais 5 et 6). La réduction avec du fer en présence d'acide chlorhydrique concentré dans l'éthanol permet d'obtenir le dérivé **85** avec un rendement de 55%.²¹¹ Finalement, le composé réduit **85** est synthétisé avec un excellent rendement en présence de fer au reflux d'un mélange d'acide acétique et d'éthanol.²¹² Ces conditions seront retenues pour la suite de la synthèse (**méthode D2**).

La suite de la synthèse est identique à celle mise en place pour les thiazoloquinazolin-9(8*H*)-ones (**figure 100**).

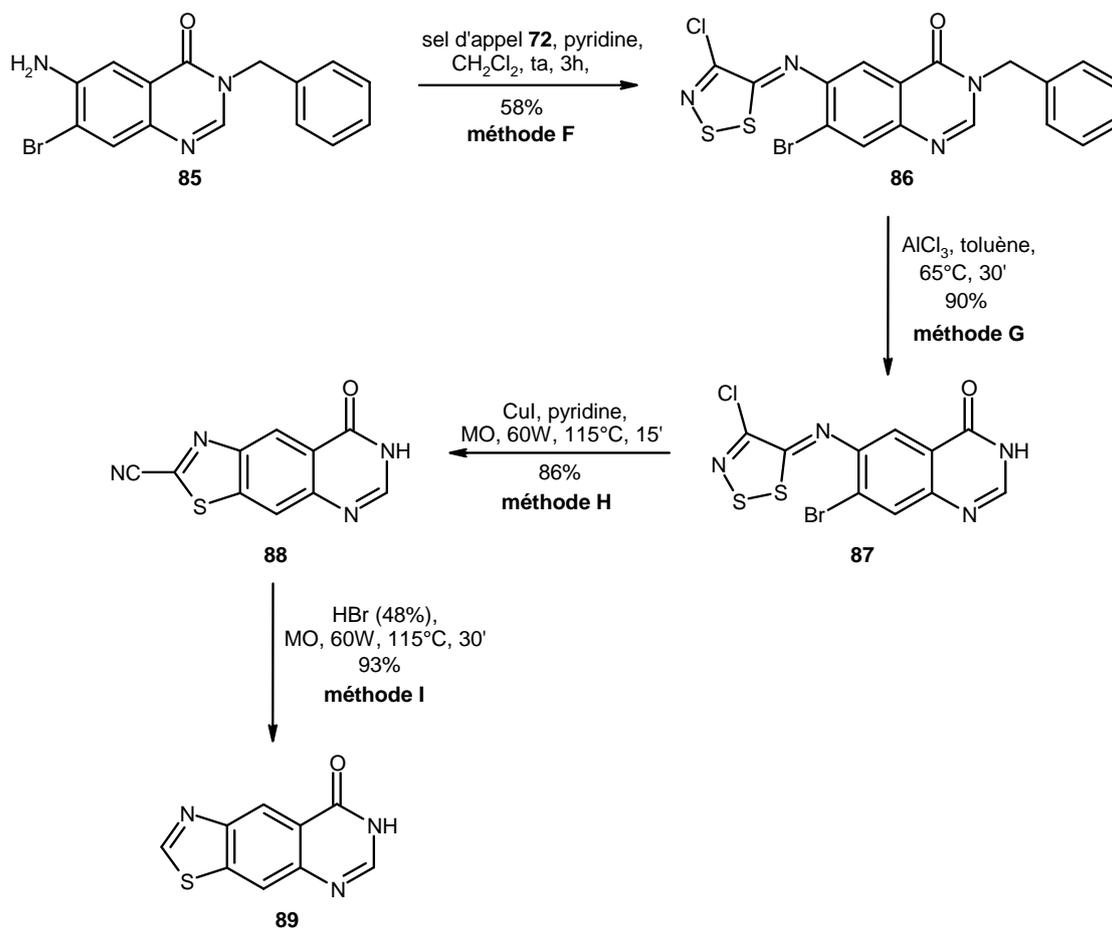


Figure 100 : Synthèse des thiazoloquinazolinones **88** et **89**

²⁰⁹ Yoo S.-e. *et al.*, *Synlett*, **1990**, 07, 419-420.

²¹⁰ Clive D. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52 (7), 1339-1342.

²¹¹ Mee S.P.H. *et al.*, *Tetrahedron*, **2004**, 60 (16), 3695-3712.

²¹² Krolski M.E. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53 (6), 1170-1176.

La condensation de l'amine **85** avec le sel d'Appel conduit à l'iminothiazole **86** avec un rendement de 58%. Puis, la déprotection du groupement benzyle selon la **méthode G** permet d'obtenir le composé **87**. Celui-ci est alors cyclisé sous irradiation micro-ondes en présence d'iodure de cuivre pour fournir la première thiazoloquinazolinone linéaire **88** avec un rendement de 86%. L'analogue **89** est enfin préparé selon la **méthode I** et est isolé avec un rendement de 93%.

Cette voie de synthèse nous a donc permis d'obtenir deux nouvelles thiazoloquinazolinones linéaires originales.

2.3- Synthèse en série 1,3-thiazolo[5,4-*h*]quinazolin-6(7*H*)-one

Pour synthétiser les dernières thiazoloquinazolinones, l'isomère nitré **83**, obtenu lors de l'étape de nitration a été exploité. Les conditions opératoires utilisées pour synthétiser le 6-oxo-6,7-dihydro-1,3-thiazolo[5,4-*h*]quinazoline-2-carbonitrile sont les mêmes que précédemment (**figure 101**).

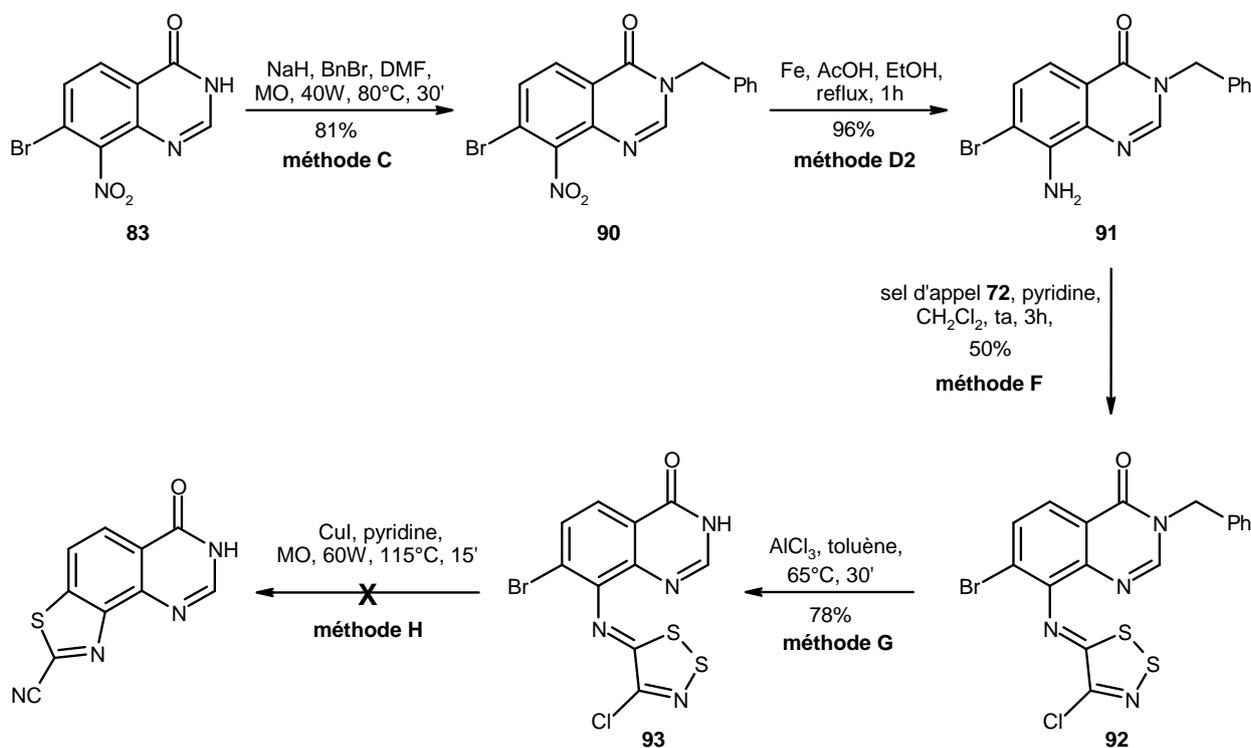


Figure 101 : Synthèse en série 1,3-thiazolo[5,4-*h*]quinazolin-6(7*H*)-one

La quinazolinone **83** est protégée par un groupement benzyle selon la **méthode C**. Le dérivé nitré **90** est ensuite réduit, puis mis en réaction avec le sel d'Appel pour conduire à l'iminothiazole **92** avec un rendement de 50%. La déprotection en présence de de chlorure d'aluminium dans le toluène selon la **méthode G** fournit le composé **93**.

Celui-ci est alors engagé dans la réaction de cyclisation sous irradiation micro-ondes avec l'iodure de cuivre dans la pyridine. Cependant, ces conditions ne permettent pas d'obtenir le 6-oxo-6,7-dihydro-1,3-thiazolo[5,4-*h*]quinazoline-2-carbonitrile. En effet, le

produit attendu n'est pas détecté et plusieurs autres produits se forment. De plus, les faibles quantités de produit mises en jeu ne permettent pas d'identifier les entités. Mais on peut penser que l'azote en position 1 de la quinazolinone pourrait intervenir dans une réaction secondaire en attaquant le cycle thiazole, comme cela est décrit dans la littérature au sujet de 8-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]quinoléine.²¹³

Ainsi, dans cette série, les thiazoloquinazolinones n'ont pas pu être synthétisées.

3 – Synthèse des molécules finales

Les quatre thiazoloquinazolinones **79**, **80**, **88** et **89** synthétisées sont condensées avec l'époxide difluoré **3** (figure 102).

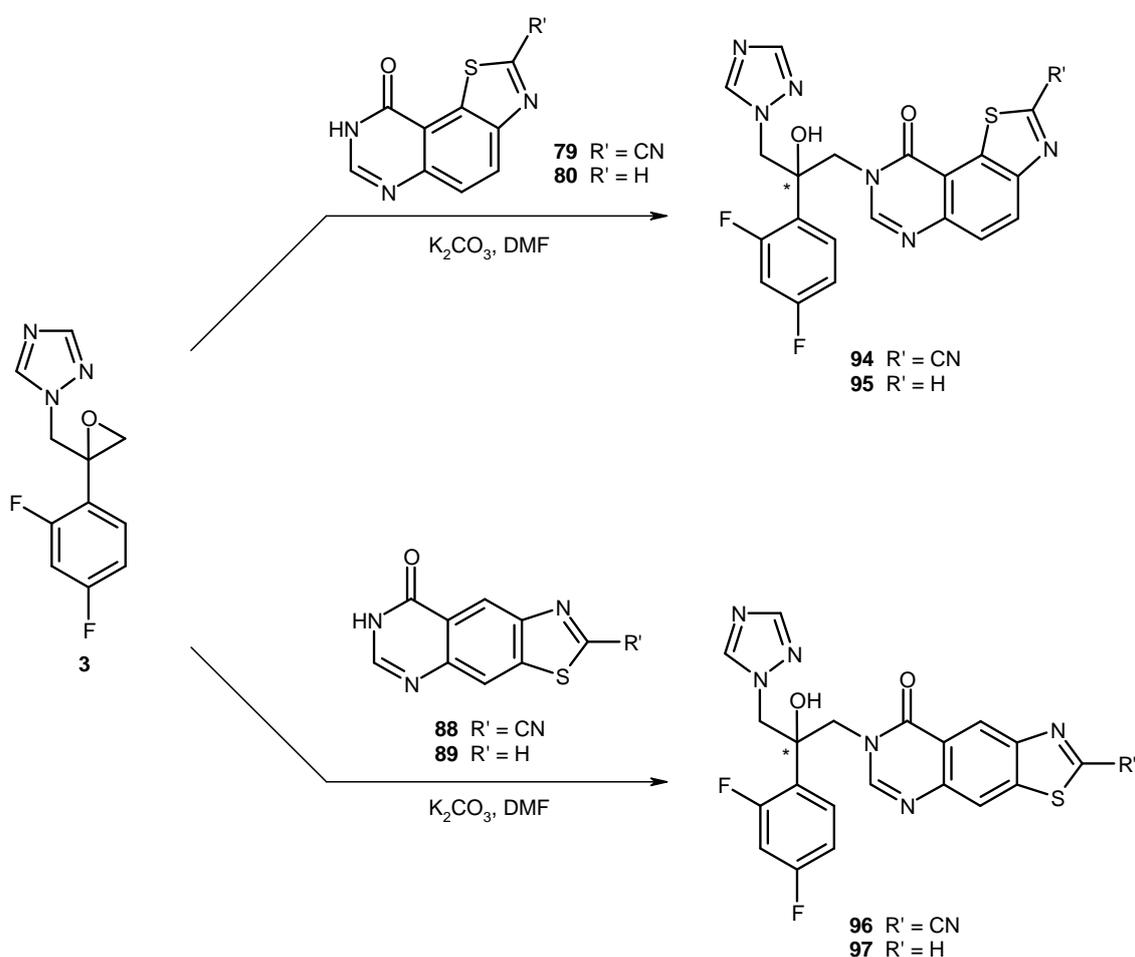


Figure 102 : Synthèses des molécules finales **94-97**

Différentes conditions ont été testées pour permettre l'ouverture de l'oxirane car la réaction n'est pas complète. De plus, pour les composés possédant une fonction nitrile (**94** et **96**), une hydratation de ce nitrile en amide primaire est observée. Le changement de base ou de solvant ne permet pas d'améliorer ces résultats. Finalement, l'utilisation du chauffage sous

²¹³ Besson T. *et al.*, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **2000**, 4, 555-561.

irradiation micro-ondes avec du carbonate de potassium dans le DMF permet de réduire les temps de réaction et ainsi d'isoler les produits attendus (**méthode L1**) (**tableau 22**).

Composés	Conditions opératoires	Rendement
94	Méthode L1 MO, 100W, 80°C, 20'	24%
95	Méthode L2 MO, 100W, 80°C, 30'	51%
96	Méthode L1 MO, 100W, 80°C, 20'	20%
97	Méthode L2 MO, 100W, 80°C, 30'	80%

Tableau 22 : Synthèses des composés **94-97**

Les produits **95** et **97** sont eux préparés selon la **méthode L2** (réduction de temps de réaction à 20 minutes) et isolés avec de meilleurs rendements.

III – Synthèse des analogues de configuration (*R,R*)

1 – Principe et approche rétrosynthétique

Les analogues stricts de l'albaconazole seront synthétisés en s'appuyant sur la méthodologie mise en place précédemment en série racémique. Ainsi, les thiazoloquinazolines angulaires et linéaires seront condensées avec le (2*R*,3*S*)-2-(2,4-difluorophényl)-3-méthyl-2-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxirane selon l'une des voies de synthèse de l'albaconazole.¹⁸²

De plus, la mise en place de cette synthèse permettra la préparation de l'albaconazole, molécule qui servira alors de référence pour les évaluations pharmacologiques.

Dans un premier temps la synthèse de cet époxyde sera décrite, puis l'ouverture de cet oxirane permettant l'accès aux molécules finales sera exposée.

2 – Synthèse du (2*R*,3*S*)-2-(2,4-difluorophényl)-3-méthyl-2-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxirane

La synthèse du (2*R*,3*S*)-2-(2,4-difluorophényl)-3-méthyl-2-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxirane a été décrite par Tasaka *et al.* en 1993.²¹⁴ Elle s'effectue en 7 étapes à partir du (*R*)-méthyllactate. A partir d'un produit de configuration connue, cette synthèse permet l'introduction d'un deuxième centre de chiralité. La même voie de synthèse a été utilisée pour

²¹⁴ Tasaka A. *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **1993**, 41 (6), 1035-1041.

préparer cet époxyde chiral de configuration (*R,S*). Dans un premier temps, la préparation de l'alcool **102** est réalisée en 5 étapes (**figure 103**).

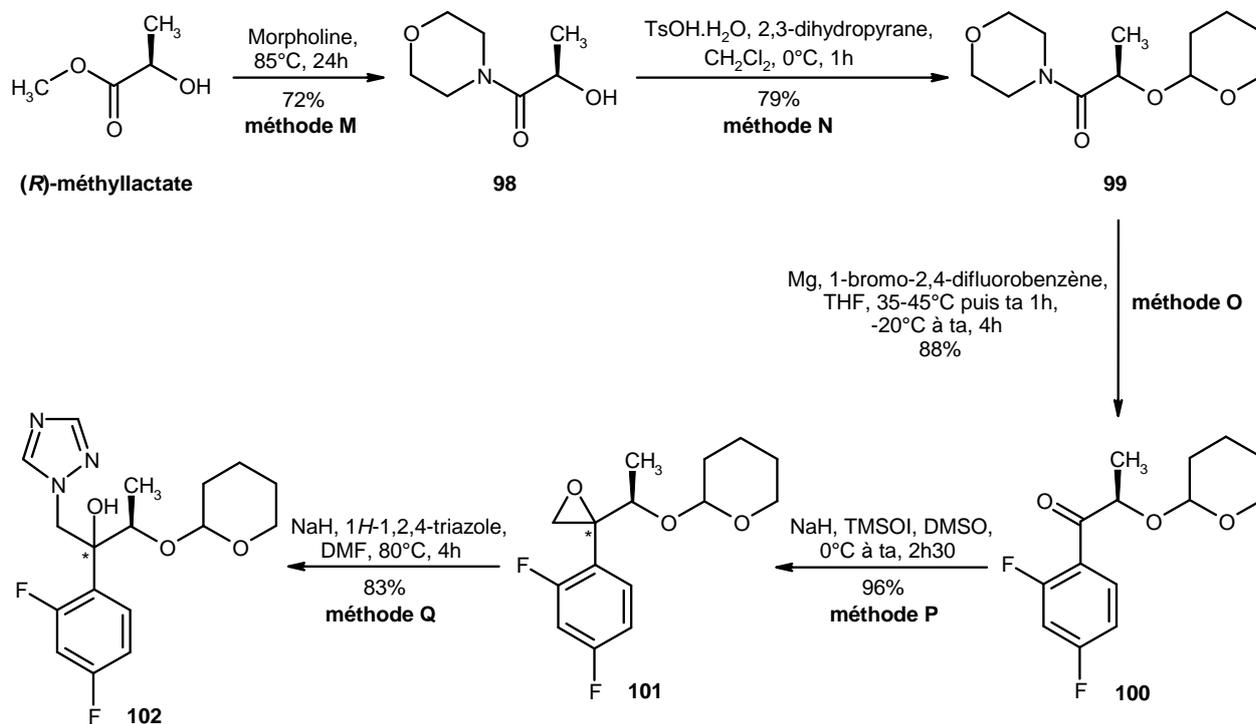


Figure 103 : Synthèse de l'intermédiaire **102**

Ainsi, lors de la première étape, la condensation du (*R*)-méthyllactate avec la morpholine à 85°C fournit l'amide **98** avec un rendement de 72% (**méthode M**). La fonction hydroxyle est ensuite protégée par un éther tétrahydropyranique. L'intérêt de ce groupement est qu'il est facilement introduit, relativement stable et aisément clivé. Cette protection s'effectue en présence de 2,3-dihydropyran et d'acide *para*-toluènesulfonique monohydraté dans le dichlorométhane. L'éther **99** est obtenu rapidement avec un rendement de 79% (**méthode N**). A noter que le centre stéréogène du tétrahydropyran rend les spectres RMN complexes.

Une réaction de Grignard avec le bromure de 2,4-difluorophénylmagnésium préparé *in situ* conduit à la formation de la cétone **100** avec un très bon rendement (**méthode O**). Différentes méthodes pour la préparation du produit **100** (ou des structures proches) sont connues : l'acylation de Friedel-Crafts du 1,3-difluorobenzène,²¹⁵ la résolution enzymatique d'un ester racémique,^{216,217} l'ouverture d'un époxyde aromatique chiral,²¹⁸ la carbolygation de difluorobenzaldéhyde catalysée par une lyase,²¹⁹ ou encore l' α -hydroxylation de cétones.²²⁰ Cependant, le passage par l'organomagnésien reste la voie la plus utilisée.

²¹⁵ Konosu T. *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, 39 (9), 2241-2246.

²¹⁶ Gala D. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (5), 611-614.

²¹⁷ Demir A.S. *et al.*, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, 12 (13), 1953-1956.

²¹⁸ Gala D. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35 (45), 8299-8302.

²¹⁹ Demir A.S. *et al.*, *Adv. Synth. Catal.*, **2002**, 344 (1), 96-103.

²²⁰ Gala D. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (45), 8117-8120.

Une époxydation diastéréosélective avec le réactif de Corey dans le DMSO mène à l'oxirane **101** avec un excellent rendement (**méthode P**). L'ouverture de cet intermédiaire avec le 1*H*-1,2,4-triazole selon la **méthode Q** permet la formation du composé **102** avec un rendement de 83%.

La déprotection de l'alcool **102** en présence de *para*-toluènesulfonate de pyridinium (PPTS) dans l'éthanol conduit à la formation de deux diols **103** et **104** (**figure 104**).

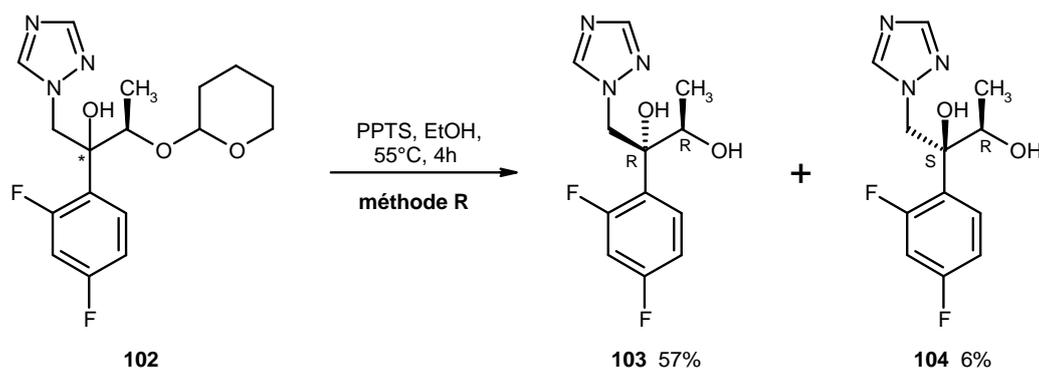


Figure 104 : Déprotection de l'alcool conduisant aux diols **103** et **104**

Les deux diastéréoisomères sont séparés aisément. En effet, une recristallisation dans l'éther diéthylique permet d'isoler le diastéréoisomère **103** (*R,R*). Une chromatographie sur gel de silice du filtrat donne le dérivé **104** (*S,R*) et une portion supplémentaire du produit **103**. En définitive, celui-ci est obtenu avec un rendement de 57%.

Le composé **103** est finalement converti en époxyde par cyclisation intramoléculaire *via* l'intermédiaire mésylate (**figure 105**).

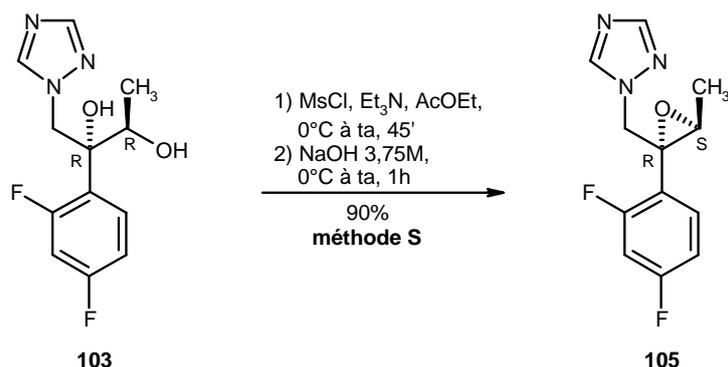


Figure 105 : Synthèse de l'époxyde **105**

Dans un premier temps, l'alcool secondaire est mésylé par action du chlorure de mésyle et de triéthylamine dans l'acétate d'éthyle. L'intermédiaire formé n'est pas isolé et l'ajout d'hydroxyde de sodium dans le milieu réactionnel conduit à l'oxirane **105** de configuration (*R,S*) avec un excellent rendement.²²¹

²²¹ Pesti J. *et al.*, *Org. Process Res. Dev.*, **2009**, 13 (4), 716-728.

3 – Synthèse de l'albaconazole

La 7-chloroquinazolin-4(3H)-one est préparée facilement à partir de l'acide 4-chloro-2-aminobenzoïque selon la **méthode B** (**figure 106**).



Figure 106 : Synthèse de la 7-chloro--quinazolin-4(3H)-one **106**

La quinazolinone **106** est isolée avec un rendement de 56%. Elle est ensuite condensée avec l'époxyde **105** selon les conditions décrites par Bartroli *et al.* (**figure 107**).¹⁸²

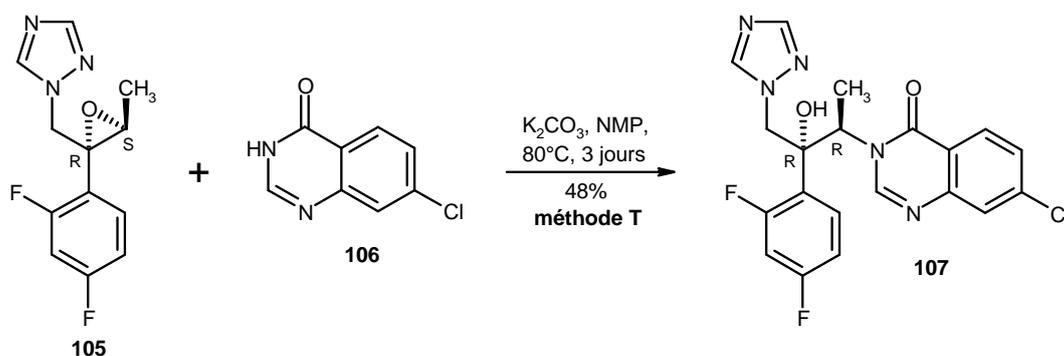


Figure 107 : Synthèse de l'albaconazole **107**

L'ouverture de l'époxyde **105** en présence de carbonate de potassium dans la *N*-méthyl-2-pyrrolidone (NMP) à 80°C pendant trois jours conduit à l'albaconazole **107** avec un rendement de 48%.

4 – Synthèse des molécules finales

Les mêmes conditions opératoires pour l'ouverture de l'époxyde **105** par les thiazoloquinazolinones ont été utilisées (**figure 108**).

Comme précédemment, pour les dérivés présentant un nitrile en position 2, on constate la formation du produit attendu, puis sa conversion en amide primaire. Mais dans ce cas, l'ouverture de l'époxyde nécessitant un temps de réaction plus long, seuls les dérivés amides **108** et **110** sont obtenus avec des rendements de 27% et 25%. De même, les thiazoloquinazolinones **80** et **89** sont condensées avec l'époxyde **105** et les composés **109** et **111** sont isolés avec des rendements de 45 et 47%.

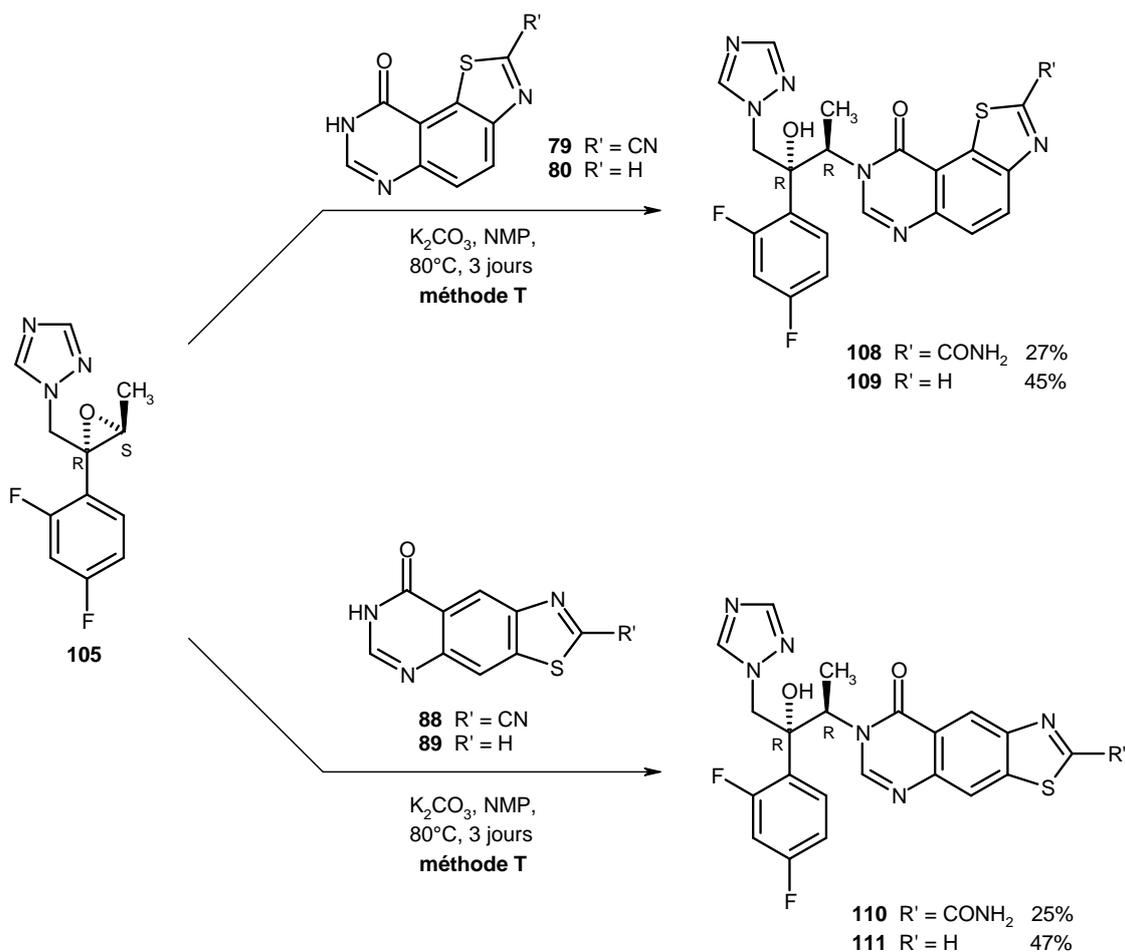


Figure 108 : Synthèses des molécules finales **108-111**

Ainsi, quatre nouvelles molécules respectant la stéréochimie de l'albaconazole (*R,R*) ont été préparées.

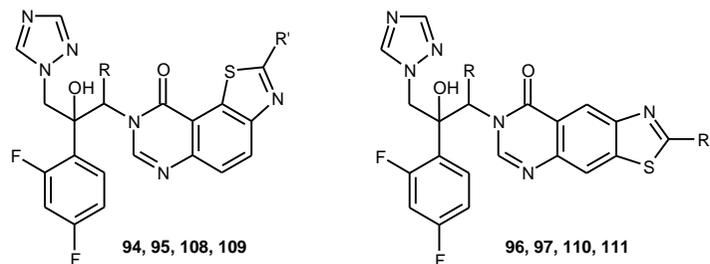
5 – Evaluation pharmacologique

5.1- Résultats pharmacologiques

Huit nouvelles molécules ont été préparées dans la série 7 ou 8-[2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]thiazoloquinazolinone et évaluées sur les souches *Candida albicans* CA98001 (sensible au fluconazole) et *Aspergillus fumigatus* AF98003.

Le **tableau 23** présente les résultats obtenus.

Tableau 23 : Evaluation en série 7 ou 8-[2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]thiazoloquinazolinone (**94-97** et **108-111**).



	R	R'	CMI ou CI ₈₀			
			<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
			μM	μg / mL	μM	μg / mL
94	H	CN	0,99 ± 0,01	0,46 ± 0,005	>100	-
95	H	H	0,59 ± 0,07	0,26 ± 0,03	>100	-
96	H	CN	0,07 ± 0,012	0,032 ± 0,005	>100	-
97	H	H	0,11 ± 0,04	0,048 ± 0,017	30 ± 16	13
108 (R, R)	CH ₃	CONH ₂	0,37 ± 0,15	0,184 ± 0,075	>100	-
109 (R, R)	CH ₃	H	0,024 ± 0,012	0,011 ± 0,005	>100	-
110 (R, R)	CH ₃	CONH ₂	0,02 ± 0,1	0,010 ± 0,05	7,4 ± 0,2	3,7 ± 0,1
111 (R, R)	CH ₃	H	0,056 ± 0,007	0,025 ± 0,003	0,61 ± 0,02	0,277 ± 0,009
Fluconazole			0,63 ± 0,02	0,19 ± 0,006	-	-
Itraconazole			-	-	0,6 ± 0,06	0,42 ± 0,04
Voriconazole			0,043	0,015	0,45 ± 0,05	0,15 ± 0,01
Albaconazole			0,007 ± 0,001	0,003 ± 0,0004	0,53 ± 0,01	0,229 ± 0,004

Si l'ensemble de ces composés présentent à des degrés divers de bonnes activités sur la souche de *Candida albicans* ($460 > \text{CMI} > 10 \text{ ng / mL}$) de l'ordre du fluconazole ($\text{CMI} = 190 \text{ ng / mL}$) ou du voriconazole ($\text{CMI} = 15 \text{ ng / mL}$), aucun n'est aussi actif que l'albaconazole ($\text{CMI} = 3 \text{ ng / mL}$).

Les résultats sont beaucoup plus hétérogènes sur la souche d'*Aspergillus fumigatus*. En série racémique (**94-97**), et comme on pouvait s'y attendre en l'absence du méthyle en position 1 de la chaîne propan-2-ol, ces composés ne présentent pas ou peu d'activité antifongique. Cependant, l'introduction de ce substituant et le respect de la stéréochimie (1*R*, 2*R*) ne sont pas systématiquement corrélés à une activité potentielle sur cette souche. En effet, seules les molécules **110** et **111** dont le cycle thiazole sur la quinazolinone forme un régioisomère linéaire possèdent des CMI intéressantes, le composé **111** (analogue strict non substitué de l'albaconazole) étant le plus actif ($\text{CMI} = 277 \text{ ng / mL}$; albaconazole : $\text{CMI} = 229 \text{ ng / mL}$).

Cette observation est en adéquation avec les travaux préliminaires menés par l'équipe à l'origine de la découverte de l'albaconazole où une orientation spatiale d'un noyau 4-chlorophényle positionné sur un cycle thiényopyrimidinone ou pyrazolopyrimidinone influence diversement les activités antifongiques. Le conformère "linéaire" est en effet actif sur des levures et des champignons filamenteux, alors que le conformère "coudé" est inactif (**figure 109**).²²²

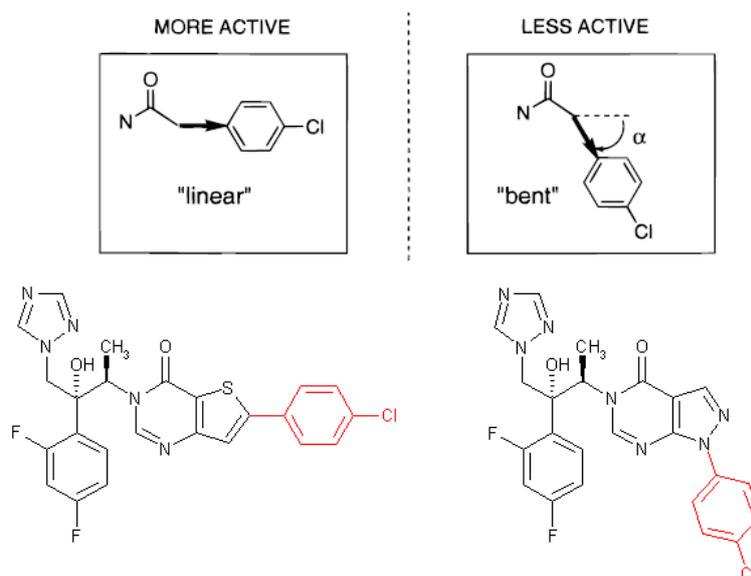


Figure 109 : Modèle conformation-activité (adapté de ²²²)

Si les conclusions de cet article ne sont pas tout à fait transposables à certaines de nos molécules dont le cycle thiazole sur la quinazolinone forme un régioisomère "coudé vers le haut", nous pouvons cependant noter une différence d'activité importante sur la souche de *Candida albicans* où la molécule **109** non substituée possède une CMI dix fois moins élevée

²²² Bartroli J. et al., *J. Med. Chem.*, **1998**, 41 (11), 1855-1868.

que la molécule **108** substituée par une fonction amidique. Cette position semble donc également influencer négativement les activités antifongiques par un encombrement stérique défavorable autour du noyau thiazole.

5.2- Analyse des stérols sur la souche *Candida albicans* CA98001

Le mécanisme d'action de ces composés est étudié par l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol, selon le protocole général décrit page 195, après traitement par la molécule la plus active **110**. Les résultats obtenus sont comparés à ceux observés pour l'albaconazole (**tableau 24**).

Stérols	Contrôle	110 (ng / mL)		Albaconazole (ng / mL)	
		4,97	24,87	4,32	21,59
lanostérol	6,0*	33,9	43,2	40,9	22,7
éburicol	3,4	0	27,3	26,8	12,0
zymostérol	2,0				
fécostérol					
14-méthylfécostérol		2,8	5,6	3,6	5,6
épistérol	3,7				
14-méthylépistérol		8,7	12,5	12,0	6,6
14-méthyl-3,6-diol		7,2	9,0	13,4	53,0
ergostérol	84,7	21,3	2,4	3,2	

* ratio : aire sous courbe (ASC) sterol / somme des ASC stérols

Tableau 24 : Effets du composé **110** sur la composition en stérols de *Candida albicans* CA98001

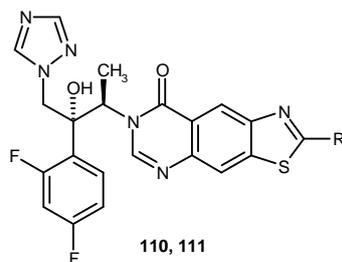
Aux concentrations de 4,97 et 24,87 ng / mL encadrant la CMI du composé **110** (10 ng / mL), cette molécule inhibe la biosynthèse de l'ergostérol alors que le lanostérol s'accumule. Cette inhibition couplée à l'apparition de stérols méthylés en position 14 est caractéristique d'une action sur la 14 α -déméthylase.

Cependant, contrairement à l'albaconazole qui semble uniquement agir sur cette enzyme, le composé **110** pourrait également inhiber la $\Delta^{5,6}$ -désaturase codée par le gène *ERG3*. En effet, à plus forte concentration (24,87 ng / mL), une augmentation de lanostérol est observée alors que la production de 14-méthyl-3,6-diol reste relativement stable.

5.3- Évaluation complémentaire sur différentes espèces de *Candida*

L'évaluation complémentaire des composés les plus intéressants (**110** et **111**) sur les autres espèces majeures du genre *Candida* sensibles au fluconazole (*Candida albicans* : CA100), de sensibilité réduite (*Candida krusei* : CK8 et *Candida glabrata* : CG468) ou résistantes au fluconazole (*Candida parapsilosis* : CP-Houdeau, CP-Rolland et *Candida krusei* : CK506) montre un élargissement général et significatif du spectre d'activité (**tableau 25**), le meilleur des différentes séries chimiques synthétisées.

Partie B



	R'	CMI ou CI ₈₀ (µg / mL)					
		CA100	CK506	CK8	CG468	CP-Houdeau	CP-Rolland
110 (R, R)	CONH ₂	0,006	0,57	0,07	0,25	0,32	0,21
111 (R, R)	H	0,0045	0,63	0,06	0,27	0,30	0,26
Albaconazole		< 0,0004	0,1	0,017	0,19	0,27	0,026
Fluconazole		0,12	> 30	> 30	18,1	> 30	> 30

Tableau 25 : Evaluation complémentaire sur différentes espèces de *Candida*.

Comparées aux valeurs obtenues pour l'albaconazole, les activités inhibitrices se situent globalement dans la même gamme même si ce composé de référence conserve néanmoins les meilleurs résultats, notamment sur une des souches de *Candida parapsilosis* (CP-Rolland) et sur la deuxième souche sensible au fluconazole (CA100).

IV – Conclusion

En conclusion de cette deuxième partie, seule la synthèse des analogues stricts de l'albaconazole, de stéréochimie déterminée (1*R*, 2*R*) et possédant un cycle thiazole sur la quinazolinone formant un régioisomère linéaire, permet l'obtention de molécules originales (**110** et **111**) dont le potentiel antifongique est remarquable aussi bien sur l'ensemble des différentes espèces *Candida* proposées (*albicans*, *glabrata*, *krusei* et *parapsilosis*) que sur la souche d'*Aspergillus fumigatus*.

Au regard des dernières structures cristallographiques de CYP51s humaines ou de *Trypanosomatidae* (*Leishmania*, *T. Brucei*, *T. Cruzi*) en complexe avec différents azolés et le positionnement de certaines molécules à larges chaînes latérales tel que le posaconazole ou le kétoconazole à l'intérieur du tunnel 2 (**figure 81** page 104), il est compréhensible qu'un inhibiteur adoptant une conformation de type linéaire soit plus favorable pour une activité antifongique optimale qu'une conformation coudée, sujette à un clash stérique à l'intérieur du site actif.

Cependant, dans le cas de la structure cristalline de CYP51-*T. Brucei* en complexe avec le posaconazole, deux conformations co-existent selon l'interconversion du cycle pipérazinique entre les formes "chaise" ou "bateau", suggérant plutôt un intérêt pharmacocinétique de l'extrémité terminale de cet azolé qu'une contribution importante pour des interactions avec la cible (**figure 110**).²²³ Une limite à un allongement toujours plus important des composés dans le but de s'affranchir des mutations à proximité de l'hème serait dans ce cas atteinte, contredisant ainsi les hypothèses précédentes émises par Xiao.⁹⁰

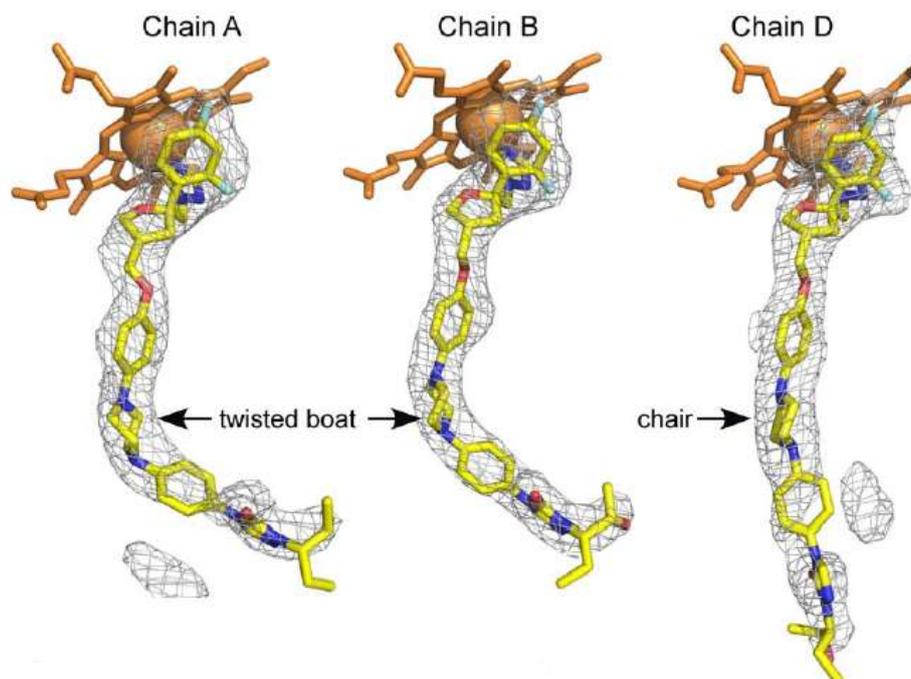


Figure 110 : Différentes conformations de la pipérazine de la chaîne latérale du posaconazole

²²³ Chen C.-K. *et al.*, *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **2010**, 4 (4), e651.

V – Partie expérimentale

TABLEAU DES METHODES

Type de réaction	Méthode	Conditions opératoires	Pages
Synthèse du sel d'Appel	A	ClCH ₂ CN, S ₂ Cl ₂ , CH ₂ Cl ₂ , ta	225
Réaction de Niementowski	B	HOCNH ₂ , MO, 60W, 150°C	226
Protection de la quinazolinone	C	NaH, BnBr, DMF, MO, 40W, 80°C	227
Réduction de la fonction nitro	D1	HOOCNH ₄ , Pd / C, EtOH, MO, 40W, 80°C	228
	D2	Fe, AcOH, EtOH, reflux	238
Bromation	E	Br ₂ , AcOH, ta	229
Formation de <i>N</i> -aryliminodithiazole	F	Pyridine, CH ₂ Cl ₂ , ta	230
Déprotection du benzyle	G	AlCl ₃ , toluène, 65°C	231
Cyclisation	H	CuI, pyridine, MO, 60W, 115°C	232
Décyanation	I	HBr (48%), MO, 60W, 115°C	233
Synthèse de la quinazolinone	J	InCl ₃ , HOCNH ₂ , MO, 80W, 115°C	234
Nitration	K	HNO ₃ , H ₂ SO ₄ , 100°C	235
Ouverture de l'époxyde	L1	K ₂ CO ₃ , DMF, MO, 100W, 80°C	247
	L2	K ₂ CO ₃ , DMF, MO, 100W, 80°C	249
Formation de l'amide	M	Morpholine, 85°C	253
Protection de l'alcool	N	APTS, 2,3-dihydropyrane, CH ₂ Cl ₂ , 0°C	254
Réaction de Grignard	O	Mg, 1-bromo-2,4-difluorobenzène, THF, 35-45°C puis ta	255
Formation de l'époxyde	P	NaH, TMSOI, DMSO, 0°C puis ta	256
Ouverture de l'époxyde	Q	NaH, 1 <i>H</i> -1,2,4-triazole, DMF, ta puis 80°C	257

Partie B

Type de réaction	Méthode	Conditions opératoires	Pages
Déprotection de l'alcool	R	PPTS, EtOH, 55°C	258
Synthèse de l'époxyde	S	MsCl, Et ₃ N, AcOEt, 0°C à ta, NaOH, 0°C à ta	260
Condensation de quinazolinone	T	K ₂ CO ₃ , NMP, 80°C	262

Chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium (72)

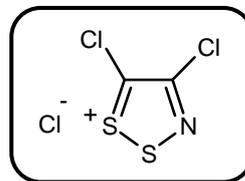
Poudre verte foncée



$$M_r = 208,52$$

$$F^\circ\text{C} = 171-172 \text{ (Litt}^{194} : 172)$$

Rendement = 80%



Méthode A :

Sous atmosphère inerte d'argon, dissoudre 90 mL (1,13 mol, 5,65 éq) de monochlorure de soufre dans 100 mL de dichlorométhane sec. Refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace et ajouter 12,7 mL (0,20 mol) de chloroacétonitrile. Laisser revenir à température ambiante et agiter pendant 18 heures. Les cristaux formés sont filtrés et lavés au dichlorométhane.

6-Nitroquinazolin-4(3H)-one (73)

Cristaux bruns

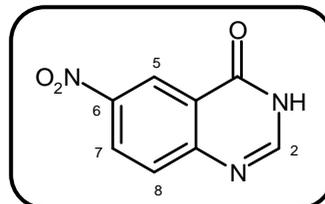
$C_8H_5N_3O_3$

$M_r = 191,15$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane / éthanol : 9 / 1)

$F^\circ C = 286-287$ (Litt²²⁴ : 286-287)

Rendement = 75%



Méthode B :

Mélanger 2 g (10,98 mmol) d'acide 2-amino-5-nitrobenzoïque et 2,18 mL (54,90 mmol, 5 éq) de formamide. Agiter sous argon sous irradiation micro-ondes (60W, 150°C) pendant 40 minutes. Après refroidissement, triturer le précipité obtenu dans de l'éthanol et filtrer.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

7,88 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H₈) ; 8,34 (s, 1H, H₂) ; 8,56 (dd, 1H, ³J = 8,8 Hz, ⁴J = 2,8 Hz, H₇) ; 8,81 (d, 1H, ⁴J = 2,8 Hz, H₅) ; 12,79 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1333 (ν_s NO₂) ; 1527 (ν_{as} NO₂) ; 1477, 1610 (ν C=C et ν C=N) ; 1662 (ν C=O) ; 3452 (ν N-H).

²²⁴ Bogert M.T. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1919**, 41 (12), 2052-2068.

3-Benzyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (74)

Cristaux jaunes pâles

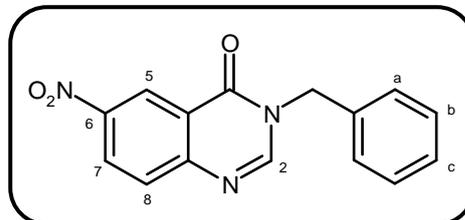
$C_{15}H_{11}N_3O_3$

$M_r = 281,28$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 165-166$ (Litt¹⁹² : 164)

Rendement = 72%



Méthode C :

Dissoudre 500 mg (2,62 mmol) de 6-nitroquinazolin-4(3H)-one **73** dans 2,5 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter 126 mg (3,14 mmol, 1,2 éq) d'hydrure de sodium (dispersion à 60% dans de l'huile minérale) et 0,311 mL (2,62 mmol, 1 éq) de bromure de benzyle. Agiter sous argon sous irradiation micro-ondes (40W, 80°C) pendant 30 minutes. Après refroidissement, hydrolyser le milieu réactionnel avec de l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1. Triturer le produit obtenu dans l'éther diéthylique et filtrer.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

5,28 (s, 2H, CH₂) ; 7,36-7,45 (m, 5H, H_{a,b,c}) ; 7,94 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H₈) ; 8,60 (dd, 1H, ³J = 8,8 Hz, ⁴J = 2,8 Hz, H₇) ; 8,85 (s, 1H, H₂) ; 8,86 (d, 1H, ⁴J = 2,8 Hz, H₅).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1333 (ν_s NO₂) ; 1518 (ν_{as} NO₂) ; 1610 (ν C=N) ; 1677 (ν C=O).

6-Amino-3-benzylquinazolin-4(3H)-one (75)

Poudre blanche

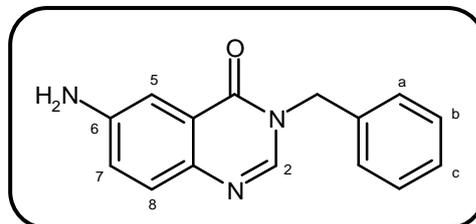
$C_{15}H_{13}N_3O$

$M_r = 251,30$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 166-167$ (Litt¹⁹² : 174)

Rendement = 95%



Méthode D1 :

Dissoudre 500 mg (1,78 mmol) de 3-benzyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **74** dans 25 mL d'éthanol. Ajouter 560 mg (8,89 mmol, 5 éq) de formiate d'ammonium et 50 mg (10% en masse) de palladium sur charbon à 10%. Agiter sous irradiation micro-ondes (40W, 80°C) pendant 15 minutes. Filtrer le milieu réactionnel à chaud et concentrer à sec le filtrat. Reprendre à l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

5,19 (s, 2H, CH₂) ; 5,72 (se, 2H, NH₂) ; 7,11 (dd, 1H, ³J = 8,8 Hz, ⁴J = 2,8 Hz, H₇) ; 7,24 (d, 1H, ⁴J = 2,8 Hz, H₅) ; 7,30-7,40 (m, 5H, H_{a,b,c}) ; 7,43 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H₈) ; 8,25 (s, 1H, H₂).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1493, 1610 (ν C=C et ν C=N) ; 1665 (ν C=O) ; 3400 (ν N-H).

6-Amino-3-benzyl-5-bromoquinazolin-4(3H)-one (76)

Poudre blanche

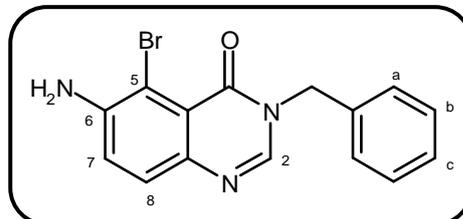
$C_{15}H_{12}BrN_3O$

$M_r = 330,19$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 174-175$ (Litt¹⁹² : 162)

Rendement = 89%



Méthode E :

Dissoudre sous argon 1,4 g (5,57 mmol) de 6-amino-3-benzylquinazolin-4(3H)-one **75** dans 25 mL d'acide acétique. Ajouter goutte à goutte 0,316 mL (6,13 mmol, 1,1 éq) de dibrome solubilisée dans 5,5 mL d'acide acétique. Agiter sous argon à température ambiante pendant 2 heures. Dissoudre le milieu réactionnel dans de l'acétate d'éthyle. Laver la phase organique avec une solution saturée de thiosulfate de sodium, puis avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle : 90 / 10.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

5,15 (s, 2H, CH₂) ; 5,92 (se, 2H, NH₂) ; 7,30-7,40 (m, 6H, H_{a,b,c,7}) ; 7,47 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H₈) ; 8,38 (s, 1H, H₂).

IR (KBr, cm⁻¹) :

830 (v C-Br) ; 1333 (v C-N) ; 1476, 1615 (v C=C et v C=N) ; 1660 (v C=O) ; 3360 (v_s NH₂) ; 3452 (v_{as} NH₂).

**3-Benzyl-5-bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)
amino]quinazolin-4(3*H*)-one (77)**

Poudre orange

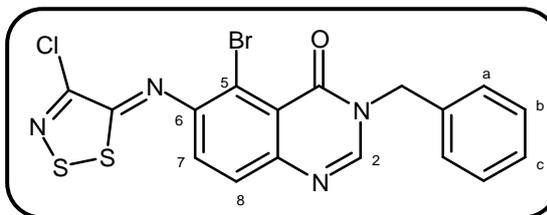
$C_{17}H_{10}BrClN_4OS_2$

$M_r = 465,78$

$R_f = 0,50$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 178-179$ (Litt¹⁹² : 198)

Rendement = 64%



Méthode F :

Dissoudre sous argon 1,6 g (4,85 mmol) de 6-amino-3-benzyl-5-bromoquinazolin-4(3*H*)-one **76** dans 31 mL de dichlorométhane sec. Ajouter 1,21 g (5,81 mmol, 1,2 éq) de chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium **72** et agiter à température ambiante pendant 2 heures. Ajouter alors 0,862 mL (10,66 mmol, 2,2 éq) de pyridine et agiter à température ambiante pendant 1 heure. Concentrer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane avec un mélange dichlorométhane / acétate d'éthyle : 90 / 10.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

5,20 (s, 2H, CH₂) ; 7,33-7,44 (m, 5H, H_{a,b,c}) ; 7,64 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H₇) ; 7,82 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H₈) ; 8,67 (s, 1H, H₂).

IR (KBr, cm⁻¹) :

862 (ν C-Cl) ; 1359 (ν C-N) ; 1441, 1590 (ν C=C) ; 1684 (ν C=O).

**5-Bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]
quinazolin-4(3*H*)-one (78)**

Poudre orange

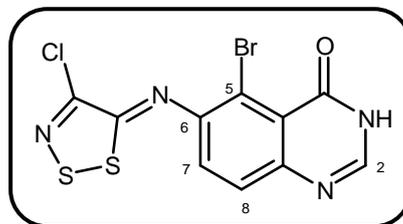
C₁₀H₄BrClN₄OS₂

M_r = 375,66

R_f = 0,25 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F[°]C = >350

Rendement = 85%



Méthode G :

Mettre en solution sous argon 644 mg (4,83 mmol, 5,6 éq) de trichlorure d'aluminium dans 8 mL de toluène sec. Ajouter 400 mg (0,86 mmol) de 3-benzyl-5-bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]-quinazolin-4(3*H*)-one **77** et agiter à 65°C pendant 30 minutes. Concentrer à sec. Verser le milieu réactionnel dans un mélange eau / glace. Extraire le produit à l'acétate d'éthyle et laver les phases organiques avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1 puis 96 / 4.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

7,62 (d, 1H, ³J = 8,6 Hz, H₇) ; 7,79 (d, 1H, ³J = 8,6 Hz, H₈) ; 8,12 (s, 1H, H₂) ; 12,40 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1295 (ν C-N) ; 1518, 1615 (ν C=C et ν C=N) ; 1676 (ν C=O) ; 3457 (ν N-H).

9-Oxo-8,9-dihydro-1,3-thiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile (79)

Poudre beige

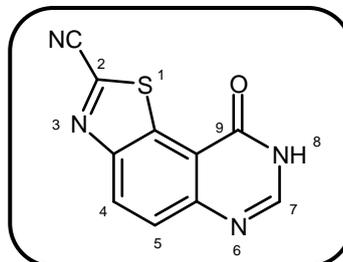
C₁₀H₄N₄OS

M_r = 228,23

R_f = 0,30 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F[°]C = >350

Rendement = 72%



Méthode H :

Dissoudre 250 mg (0,67 mmol) de 5-bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]quinazolin-4(3*H*)-one **78** dans 10 mL de pyridine. Ajouter 253 mg (1,33 mmol, 2 éq) d'iodure de cuivre. Agiter sous argon sous irradiation micro-ondes (60W, 115°C) pendant 15 minutes. Reprendre à l'acétate d'éthyle et laver avec une solution saturée de thiosulfate de sodium. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

8,02 (d, 1H, ³J = 8,9 Hz, H₄) ; 8,47 (s, 1H, H₇) ; 8,66 (d, 1H, ³J = 8,9 Hz, H₅) ; 13,21 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1354 (ν C-N) ; 1460, 1609 (ν C=C et ν C=N) ; 1660 (ν C=O) ; 2227 (ν CN) ; 3004, 3154 (ν C-H_{ar}) ; 3448 (ν N-H).

Masse :

229,0 (M+H)⁺.

1,3-Thiazolo[5,4-f]quinazolin-9(8H)-one (80)

Poudre blanche

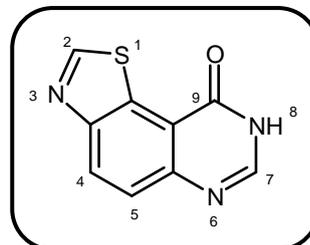
C₉H₅N₃OS

M_r = 203,22

R_f = 0,15 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = >350 (Litt¹⁹⁰ : > 260)

Rendement = 95%



Méthode I :

Dissoudre 200 mg (0,88 mmol) de 9-oxo-8,9-dihydro-1,3-thiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbonitrile **79** dans 22 mL d'acide bromhydrique à 48%. Agiter sous irradiation micro-ondes (60W, 115°C) pendant 30 minutes. Neutraliser avec une solution d'hydroxyde de sodium 5M et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 95 / 5.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

7,88 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H₄) ; 8,34 (s, 1H, H₇) ; 8,54 (d, 1H, ³J = 8,8 Hz, H₅) ; 9,60 (s, 1H, H₂) ; 12,87 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1344 (v C-N) ; 1460, 1610 (v C=C et v C=N) ; 1680 (v C=O) ; 3035 (v C-H_{ar}) ; 3453 (v N-H).

Masse :

204,1 (M+H)⁺.

7-Bromoquinazolin-4(3H)-one (81)

Cristaux blancs

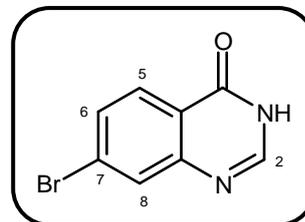
$C_8H_5BrN_2O$

$M_r = 225,05$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 259-260$ (Litt²²⁵ : 258-259)

Rendement = 81%



Méthode J :

Mélanger 1 g (4,06 mmol) d'acide 4-bromo-2-nitrobenzoïque, 6,44 mL (162,14 mmol, 39,9 éq) de formamide, et 900 mg (4,06 mmol, 1 éq) de trichlorure d'indium. Agiter sous argon sous irradiation micro-ondes (80W, 150°C) pendant 40 minutes. Après refroidissement, reprendre à l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1. Triturer le produit obtenu dans l'éther diéthylique et filtrer.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

7,69 (dd, 1H, ³J = 8,4 Hz, ⁴J = 1,6 Hz, H₆) ; 7,88 (d, 1H, ⁴J = 1,6 Hz, H₈) ; 8,03 (d, 1H, ³J = 8,4 Hz, H₅) ; 8,13 (s, 1H, H₂) ; 12,41 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

858 (ν C-Br) ; 1239 (ν C-N) ; 1609 (ν C=N) ; 1668 (ν C=O) ; 3050 (ν C-H_{ar}) ; 3466 (ν N-H).

Masse :

224,9-226,9 (M+H)⁺.

²²⁵ Baker B.R. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **1952**, 17 (1), 141-148.

7-Bromo-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (82)

Cristaux jaunes pâles

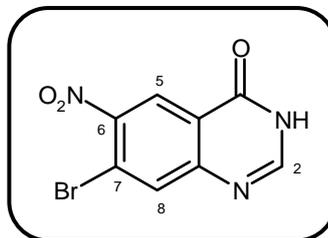
$C_8H_4BrN_3O_3$

$M_r = 270,05$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 313-314$

Rendement = 76%



Méthode K :

Dissoudre 1,47 g (6,53 mmol) de 7-bromoquinazolin-4(3H)-one **81** dans 23 mL d'acide sulfurique. Ajouter 0,552 mL (13,06 mmol, 2 éq) d'acide nitrique fumant et agiter à 100°C pendant 1 heure. Après refroidissement, verser le milieu réactionnel dans un mélange eau / glace. Passer à pH basique avec une solution d'ammoniac à 20% et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

8,17 (s, 1H, H_2) ; 8,30 (s, 1H, H_8) ; 8,62 (s, 1H, H_5) ; 12,78 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

810 (v C-Br) ; 1249 (v C-N) ; 1332 (ν_s NO_2) ; 1518 (ν_{as} NO_2) ; 1605, 1656 (v C=C et v C=N) ; 1695 (v C=O) ; 3082 (v C- H_{ar}) ; 3504 (v N-H).

7-Bromo-8-nitroquinazolin-4(3H)-one (83)

Cristaux blancs

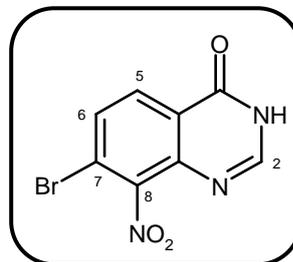
$C_8H_4BrN_3O_3$

$M_r = 270,05$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C > 350$

Rendement = 15%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

7,96 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H₆) ; 8,22 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H₅) ; 8,30 (d, 1H, $^3J = 2,0$ Hz, H₂) ; 12,87 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

877 (v C-Br) ; 1374 (v_s NO₂) ; 1536 (v_{as} NO₂) ; 1605 (v C=C) ; 1675 (v C=O) ; 3040 (v C-H_{ar}) ; 3453 (v N-H).

3-Benzyl-7-bromo-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (84)

Cristaux blancs

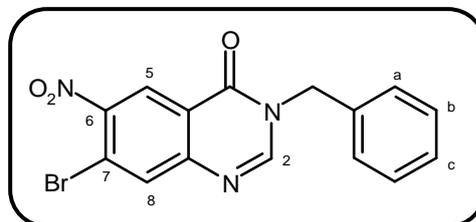
$C_{15}H_{10}BrN_3O_3$

$M_r = 360,18$

$R_f = 0,50$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 169-170$

Rendement = 84%



Le composé **84** est synthétisé selon la **méthode C** à partir de 1,335 g (4,94 mmol) de 7-bromo-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **82**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

5,25 (s, 2H, CH_2) ; 7,33-7,43 (m, 5H, $H_{a,b,c}$) ; 8,25 (s, 1H, H_2) ; 8,70 (s, 1H, H_8) ; 8,83 (s, 1H, H_5).

IR (KBr, cm^{-1}) :

813 (v C-Br) ; 1216 (v C-N) ; 1350 (v_s NO_2) ; 1532 (v_{as} NO_2) ; 1602 (v C=C) ; 1679 (v C=O) ; 3082 (v C- H_{ar}).

6-Amino-3-benzyl-7-bromoquinazolin-4(3H)-one (85)

Poudre blanche

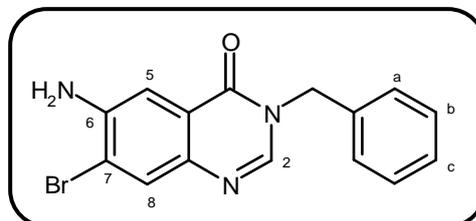
$C_{15}H_{12}BrN_3O$

$M_r = 330,20$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 166-167$

Rendement = 93%



Méthode D2 :

Dissoudre 200 mg (0,55 mmol) de 3-benzyl-7-bromo-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **84** dans 1,5 mL d'éthanol et 1,5 mL d'acide acétique. Ajouter 124 mg (2,22 mmol, 4 éq) de fer (préalablement lavé avec de l'acide chlorhydrique) et agiter au reflux pendant 1 heure. Après retour à température ambiante, reprendre à l'eau et passer à pH neutre avec une solution d'hydroxyde de sodium 5M. Extraire le produit à l'acétate d'éthyle et sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99,5 / 0,5.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

5,18 (s, 2H, CH_2) ; 5,91 (se, 2H, NH_2) ; 7,32-7,39 (m, 5H, $H_{a,b,c}$) ; 7,49 (s, 1H, H_5) ; 7,81 (s, 1H, H_8) ; 8,31 (s, 1H, H_2).

IR (KBr, cm^{-1}) :

836 (v C-Br) ; 1213 (v C-N) ; 1483, 1595, 1621 (v C=C et v C=N) ; 1669 (v C=O) ; 3020 (v C- H_{ar}) ; 3332 ($\nu_s NH_2$) ; 3453 ($\nu_{as} NH_2$).

**3-Benzyl-7-bromo-6-[(4-chloro-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)
amino]quinazolin-4(3H)-one (86)**

Poudre jaune

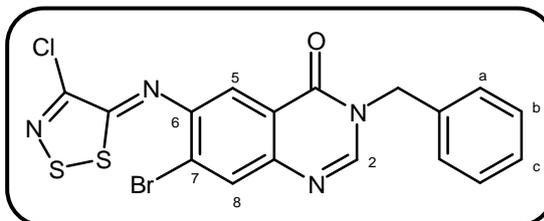
$C_{17}H_{10}BrClN_4OS_2$

$M_r = 465,78$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 214-215$

Rendement = 58%



Le composé **86** est synthétisé selon la **méthode F** à partir de 2,035 g (6,16 mmol) de 6-amino-3-benzyl-7-bromoquinazolin-4(3H)-one **85** et 1,542 g (7,40 mmol, 1,2 éq) de chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium **72**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

5,23 (s, 2H, CH_2) ; 7,34-7,43 (m, 5H, $H_{a,b,c}$) ; 8,03 (s, 1H, H_5) ; 8,19 (s, 1H, H_8) ; 8,65 (s, 1H, H_2).

IR (KBr, cm^{-1}) :

868 (v C-Cl) ; 1366 (v C-N) ; 1451, 1586 (v C=C) ; 1677 (v C=O).

**7-Bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]
quinazolin-4(3*H*)-one (87)**

Poudre orange

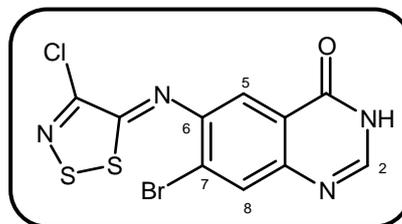
$C_{10}H_4BrClN_4OS_2$

$M_r = 375,66$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^{\circ}C = >350$

Rendement = 90%



Le composé **87** est synthétisé selon la **méthode G** à partir de 1,64 g (3,54 mmol) de 3-benzyl-7-bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]quinazolin-4(3*H*)-one **86**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

8,01 (s, 1H, H_5) ; 8,15 (s, 1H, H_8) ; 8,16 (d, 1H, $^3J = 3,5$ Hz, H_2) ; 12,49 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

861 (v C-Cl) ; 1273 (v C-N) ; 1447, 1596 (v C=C) ; 1671 (v C=O) ; 3030 (v C- H_{ar}) ; 3451 (v N-H).

8-Oxo-7,8-dihydro-1,3-thiazolo[4,5-g]quinazoline-2-carbonitrile (88)

Poudre beige

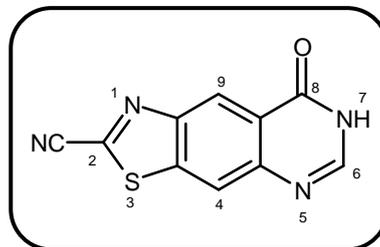
$C_{10}H_4N_4OS$

$M_r = 228,23$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = >350$

Rendement = 86%



Le composé **88** est synthétisé selon la **méthode H** à partir de 600 mg (1,60 mmol) de 7-bromo-6-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]quinazolin-4(3*H*)-one **87**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

8,24 (d, 1H, $^3J = 3,2$ Hz, H_6) ; 8,69 (s, 1H, H_9) ; 8,91 (s, 1H, H_4) ; 12,52 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1278 (v C-N) ; 1468, 1619 (v C=C et v C=N) ; 1676 (v C=O) ; 2227 (v CN) ; 3054 (v C- H_{ar}) ; 3468 (v N-H).

Masse :

228,9 (M+H) $^+$.

1,3-Thiazolo[4,5-g]quinazolin-8(7H)-one (89)

Poudre blanche

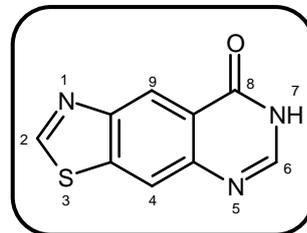
C₉H₅N₃OS

M_r = 203,22

R_f = 0,25 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = >350

Rendement = 93%



Le composé **89** est synthétisé selon la **méthode I** à partir de 300 mg (1,32 mmol) de 8-oxo-7,8-dihydro-1,3-thiazolo[4,5-g]quinazoline-2-carbonitrile **88**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

8,16 (d, 1H, ³J = 3,5 Hz, H₆) ; 8,56 (s, 1H, H₉) ; 8,77 (s, 1H, H₄) ; 9,58 (s, 1H, H₂) ; 12,32 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm⁻¹) :

845 (v C-S) ; 1278 (v C-N) ; 1445, 1615 (v C=C et v C=N) ; 1670 (v C=O) ; 3038 (v C-H_{ar}) ; 3455 (v N-H).

Masse :

204,0 (M+H)⁺.

3-Benzyl-7-bromo-8-nitroquinazolin-4(3H)-one (90)

Cristaux beiges

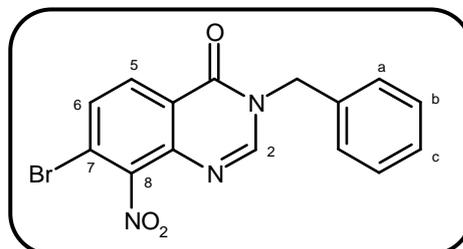
$C_{15}H_{10}BrN_3O_3$

$M_r = 360,18$

$R_f = 0,55$ (dichlorométhane)

F°C = 193-194

Rendement = 81%



Le composé **90** est synthétisé selon la **méthode C** à partir de 515 mg (1,91 mmol) de 7-bromo-8-nitroquinazolin-4(3H)-one **83**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

5,24 (s, 2H, CH_2) ; 7,33-7,44 (m, 5H, $H_{a,b,c}$) ; 7,99 (d, 1H, $^3J = 8,6$ Hz, H_6) ; 8,24 (d, 1H, $^3J = 8,6$ Hz, H_5) ; 8,79 (s, 1H, H_2).

IR (KBr, cm^{-1}) :

821 (v C-Br) ; 1205 (v C-N) ; 1369 (ν_s NO_2) ; 1538 (ν_{as} NO_2) ; 1601 (v C=C) ; 1696 (v C=O).

8-Amino-3-benzyl-7-bromoquinazolin-4(3H)-one (91)

Cristaux blancs

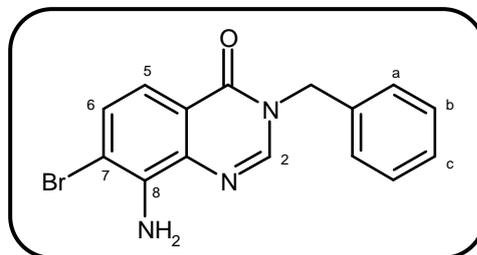
$C_{15}H_{12}BrN_3O$

$M_r = 330,20$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 123-124$

Rendement = 96%



Le composé **91** est synthétisé selon la **méthode D2** à partir de 530 mg (1,47 mmol) de 3-benzyl-7-bromo-8-nitroquinazolin-4(3H)-one **90**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

5,21 (s, 2H, CH_2) ; 5,84 (s, 2H, NH_2) ; 7,26 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H_6) ; 7,30-7,39 (m, 5H, $H_{a,b,c}$) ; 7,55 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H_5) ; 8,59 (s, 1H, H_2).

IR (KBr, cm^{-1}) :

738 (v C-Br) ; 1215 (v C-N) ; 1441, 1610 (v C=C et v C=N) ; 1665 (v C=O) ; 3451 (v NH_2).

**3-Benzyl-7-bromo-8-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)
amino]quinazolin-4(3*H*)-one (92)**

Poudre orange

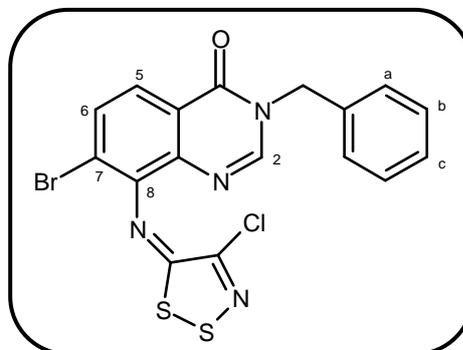
$C_{17}H_{10}BrClN_4OS_2$

$M_r = 465,78$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 150-151$

Rendement = 50%



Le composé **92** est synthétisé selon la **méthode F** à partir de 440 mg (1,33 mmol) de 8-amino-3-benzyl-7-bromoquinazolin-4(3*H*)-one **91** et 333 mg (1,60 mmol, 1,2 éq) de chlorure de 4,5-dichloro-1,2,3-dithiazolium **72**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

5,22 (s, 2H, CH_2) ; 7,34-7,41 (m, 5H, $H_{a,b,c}$) ; 7,92 (m, 2H, $H_{5,6}$) ; 8,65 (s, 1H, H_2).

IR (KBr, cm^{-1}) :

785 (v C-Br) ; 868 (v C-Cl) ; 1210 (v C-N) ; 1602 (v C=C) ; 1689 (v C=O).

**7-Bromo-8-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]
quinazolin-4(3*H*)-one (93)**

Poudre orange

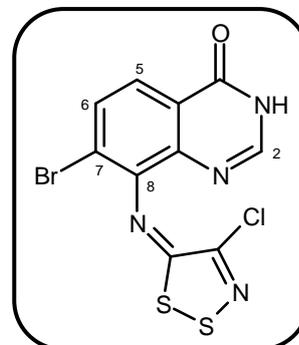
$C_{10}H_4BrClN_4OS_2$

$M_r = 375,66$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^{\circ}C = >350$

Rendement = 78%



Le composé **93** est synthétisé selon la **méthode G** à partir de 300 mg (0,65 mmol) de 3-benzyl-7-bromo-8-[(4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidène)amino]quinazolin-4(3*H*)-one **92**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

7,87-7,92 (m, 2H, $H_{5,6}$) ; 8,19 (s, 1H, H_2) ; 12,57 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

856 (v C-Cl) ; 1215 (v C-N) ; 1621 (v C=N) ; 1675 (v C=O) ; 3456 (v N-H).

8-[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-9-oxo-thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile (94)

Poudre blanche

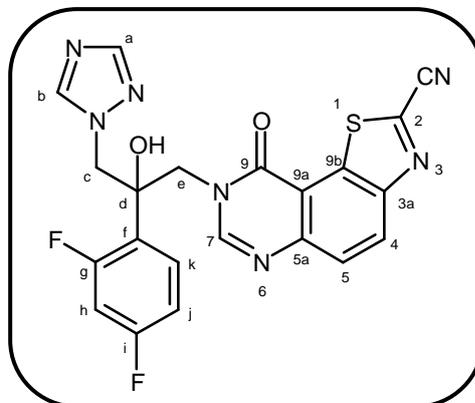
$C_{21}H_{13}F_2N_7O_2S$

$M_r = 465,44$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 260-261$

Rendement = 24%



Méthode L1 :

Dissoudre 100 mg (0,44 mmol) de 9-oxo-8,9-dihydro-1,3-thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **79** dans 2 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter 73 mg (0,53 mmol, 1,2 éq) de carbonate de potassium et 104 mg (0,44 mmol, 1 éq) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane **3**. Agiter sous argon sous irradiation micro-ondes (100W, 80°C) pendant 20 minutes. Après refroidissement, reprendre à l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Laver les phases organiques avec une solution d'hydroxyde de sodium 5M. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1. Triturer le produit obtenu dans un mélange d'éther diisopropylique / dichlorométhane et filtrer.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,58 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,64 (d, 1H, $^2J = 14,5$ Hz, H_c) ; 4,78 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,92 (d, 1H, $^2J = 14,5$ Hz, H_c) ; 6,48 (s, 1H, OH) ; 6,88 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,23 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-F} = 9,2$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_h) ; 7,32 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J_{H-F} = 6,8$ Hz, H_k) ; 7,77 (s, 1H, H_b) ; 8,04 (d, 1H, $^3J = 9,2$ Hz, H_d) ; 8,30 (s, 1H, H_a) ; 8,53 (s, 1H, H_7) ; 8,70 (d, 1H, $^3J = 9,2$ Hz, H_5).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

51,1 (C_e) ; 54,5 (C_c) ; 74,5 (C_d) ; 104,1 (C_h) ; 110,7 (C_j) ; 113,5 (CN) ; 115,4 (C_{9b}) ; 123,9 (C_f) ; 127,8 (C_4) ; 129,7 (C_k) ; 130,2 (C_{3a}) ; 131,8 (C_5) ; 139,9 (C_2) ; 144,9 (C_a) ; 148,4 (C_{9a}) ; 150,2 (C_7) ; 150,3 (C_{5a}) ; 150,7 (C_b) ; 159,4 (C_9).

C_g et C_i non visibles.

Partie B

IR (KBr, cm^{-1}) :

850 (ν C-S) ; 1122 (ν C-F) ; 1267 (ν C-N) ; 1505, 1585 (ν C=C) ; 1665 (ν C=O) ; 2227 (ν CN) ; 3444 (ν O-H).

Masse :

466,0 (M+H)⁺.

8-[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one (95)

Poudre blanche

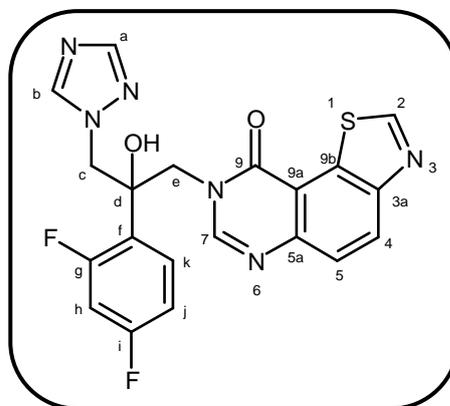
$C_{20}H_{14}F_2N_6O_2S$

$M_r = 440,43$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 279-280$

Rendement = 51%



Méthode L2 :

Dissoudre 100 mg (0,49 mmol) de 1,3-thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9(8*H*)-one **80** dans 2,2 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter 82 mg (0,59 mmol, 1,2 éq) de carbonate de potassium et 117 mg (0,49 mmol, 1 éq) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane **3**. Agiter sous argon sous irradiation micro-ondes (100W, 80°C) pendant 30 minutes. Après refroidissement, reprendre à l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Laver les phases organiques avec une solution d'hydroxyde de sodium 5M. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1 puis 98 / 2. Triturer le produit obtenu dans du méthanol et filtrer.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,54 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,62 (d, 1H, $^2J = 14,5$ Hz, H_c) ; 4,77 (d, 1H, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,94 (d, 1H, $^2J = 14,5$ Hz, H_c) ; 6,52 (s, 1H, OH) ; 6,87 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,21-7,33 (m, 2H, $H_{h,k}$) ; 7,76 (s, 1H, H_b) ; 7,88 (d, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, H_4) ; 8,31 (s, 1H, H_a) ; 8,43 (s, 1H, H_7) ; 8,55 (d, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, H_5) ; 9,58 (s, 1H, H_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

51,2 (C_e) ; 54,7 (C_c) ; 74,7 (C_d) ; 104,3 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 116,0 (C_4) ; 123,9 (C_f) ; 125,9 (C_{9b}) ; 129,2 (C_5) ; 129,7 (C_k) ; 130,2 (C_{3a}) ; 145,2 (C_a) ; 146,7 (C_{9a}) ; 148,9 (C_7) ; 150,8 (C_b) ; 152,1 (C_{5a}) ; 159,3 (C_9) ; 159,8 (C_2).

C_g et C_i non visibles.

Partie B

IR (KBr, cm^{-1}) :

847 (ν C-S) ; 1112 (ν C-F) ; 1264 (ν C-N) ; 1507, 1590 (ν C=C) ; 1663 (ν C=O) ; 3432 (ν O-H).

Masse :

441,0 (M+H)⁺.

7-[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-8-oxo-thiazolo[4,5-*g*]quinazoline-2-carbonitrile (96)

Poudre blanche

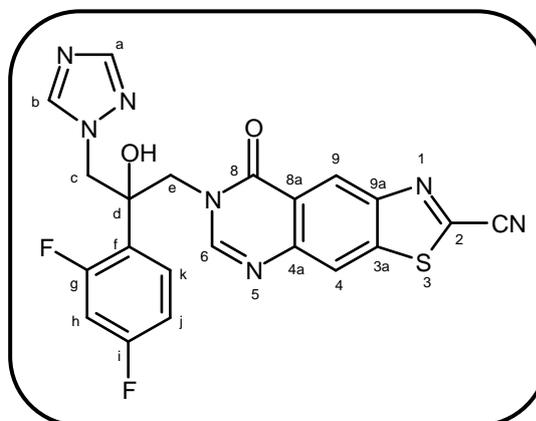
$C_{21}H_{13}F_2N_7O_2S$

$M_r = 465,44$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 295-296$

Rendement = 20%



Le composé **96** est synthétisé selon la **méthode L1** à partir de 100 mg (0,44 mmol) de 8-oxo-7,8-dihydro-1,3-thiazolo[4,5-*g*]quinazoline-2-carbonitrile **88** et 104 mg (0,44 mmol, 1 éq) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane **3**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,50 (d, 1H, $^2J = 14,2$ Hz, H_e) ; 4,64 (m, 2H, $H_{c,e}$) ; 4,91 (d, 1H, $^2J = 14,5$ Hz, H_c) ; 6,43 (s, 1H, OH) ; 6,89 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,22-7,32 (m, 2H, $H_{h,k}$) ; 7,77 (s, 1H, H_b) ; 8,31 (s, 1H, H_a) ; 8,34 (s, 1H, H_6) ; 8,71 (s, 1H, H_9) ; 8,88 (s, 1H, H_4).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

50,9 (C_e) ; 54,8 (C_c) ; 74,7 (C_d) ; 104,3 (C_h) ; 110,7 (C_j) ; 113,3 (CN) ; 121,7 (C_9) ; 121,9 (C_{3a}) ; 122,7 (C_4) ; 124,0 (C_f) ; 129,8 (C_k) ; 140,0 (C_{9a}) ; 141,3 (C_2) ; 145,2 (C_a) ; 146,1 (C_{8a}) ; 149,8 (2C, $C_{4a,6}$) ; 150,9 (C_b) ; 160,9 (C_8).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

845 (v C-S) ; 1139 (v C-F) ; 1255 (v C-N) ; 1504, 1612 (v C=C et v C=N) ; 1673 (v C=O) ; 2223 (v CN) ; 3450 (v O-H).

Masse :

466,0 (M+H) $^+$.

7-[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]thiazolo[4,5-g]quinazolin-8(7H)-one (97)

Poudre blanche

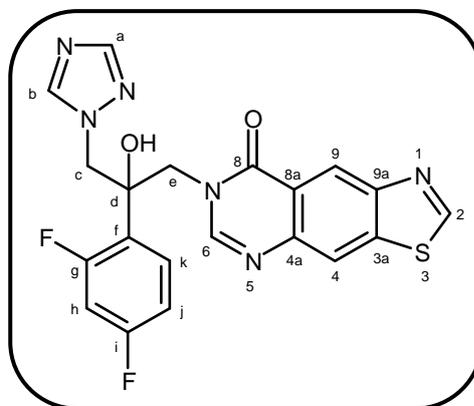
$C_{20}H_{14}F_2N_6O_2S$

$M_r = 440,43$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 261-262$

Rendement = 80%



Le composé **97** est synthétisé selon la **méthode L2** à partir de 150 mg (0,74 mmol) de 1,3-thiazolo[4,5-g]quinazolin-8(7H)-one **89** et 175 mg (0,74 mmol, 1 équ) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane **3**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,47 (d, 1H, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 4,60 (d, 1H, $^2J = 14,5$ Hz, H_c) ; 4,67 (d, 1H, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 4,92 (d, 1H, $^2J = 14,5$ Hz, H_c) ; 6,42 (s, 1H, OH) ; 6,89 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,23-7,31 (m, 2H, $H_{h,k}$) ; 7,76 (s, 1H, H_b) ; 8,28 (s, 1H, H_6) ; 8,31 (s, 1H, H_a) ; 8,56 (s, 1H, H_9) ; 8,71 (s, 1H, H_4) ; 9,58 (s, 1H, H_2).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

50,9 (C_e) ; 54,9 (C_c) ; 74,8 (C_d) ; 104,4 (C_h) ; 110,9 (C_j) ; 120,0 (C_4) ; 120,4 (C_{3a}) ; 121,0 (C_9) ; 123,9 (C_f) ; 129,8 (C_k) ; 140,6 (C_{9a}) ; 144,0 (C_a) ; 145,2 (C_{8a}) ; 148,6 (C_6) ; 150,9 (C_b) ; 151,8 (C_{4a}) ; 159,4 (C_2) ; 161,2 (C_8).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

843 (v C-S) ; 1138 (v C-F) ; 1274 (v C-N) ; 1500, 1609 (v C=C et v C=N) ; 1662 (v C=O) ; 3082 (v C- H_{ar}) ; 3474 (v O-H).

Masse :

441,1 (M+H) $^+$.

(2R)-2-Hydroxy-1-(morpholin-4-yl)propan-1-one (98)

Huile jaune

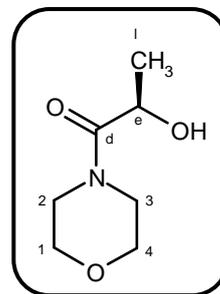
$C_7H_{13}NO_3$

$M_r = 159,19$

$R_f = 0,20$ (éter diéthylique)

(Coloration blanche avec le réactif d'Ehrlich)

Rendement = 72%



Méthode M :

Ajouter 1,26 mL (14,52 mmol, 3 éq) de morpholine à 500 mg (4,80 mmol) de (*R*)-méthyllactate et agiter à 85°C pendant 24 heures. Concentrer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant à l'éter diéthylique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,20 (d, 3H, $^3J = 6,5$ Hz, H_f) ; 3,40-3,60 (m, 8H, $H_{1,2,3,4}$) ; 4,44 (m, 1H, H_e) ; 4,97 (d, 1H, $^3J = 7,0$ Hz, OH).

IR (NaCl, cm^{-1}) :

1118 (v C-O) ; 1251 (v C-N) ; 1449 (δ_p CH₂) ; 1639 (v C=O) ; 2862 (v_s CH₂) ; 3445 (v O-H).

(2R)-1-(Morpholin-4-yl)-2-(tétrahydro-2H-pyran-2-yloxy)propan-1-one (99)

Huile jaune

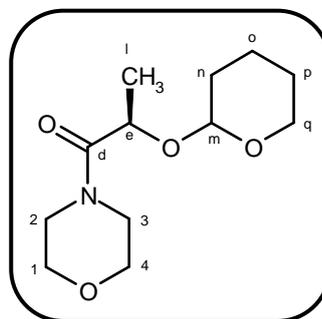
$C_{12}H_{21}NO_4$

$M_r = 243,31$

$R_f = 0,40$ (éther diéthylique)

(Coloration grise avec le réactif d'Ehrlich)

Rendement = 79%



Méthode N :

Dissoudre 7,785 g (48,90 mmol) de (2R)-2-hydroxy-1-(morpholin-4-yl)propan-1-one **98** dans 27 mL de dichlorométhane. Ajouter 140 mg (0,73 mmol, 0,01 éq) d'acide *para*-toluènesulfonique monohydraté et refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ajouter alors lentement 6,66 mL (73,36 mmol, 1,5 éq) de 2,3-dihydropyran et agiter à 0°C pendant 1 heure. Reprendre par une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium et extraire le produit au dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant à l'éther diéthylique.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,26 et 1,30 (d chacun, 3H, $^3J = 6,5$ Hz, H_l) ; 1,45-1,74 (m, 6H, $H_{n,o,p}$) ; 3,41-3,81 (m, 10H, $H_{1,2,3,4,q}$) ; 4,53-4,72 (m, 2H, $H_{e,m}$).

IR (NaCl, cm^{-1}) :

1026, 1119 (ν C-O) ; 1267 (ν C-N) ; 1451 (δ_p CH_2) ; 1649 (ν C=O) ; 2855 (ν_s CH_2) ; 2939 (ν_{as} CH_2).

**(2*R*)-1-(2,4-Difluorophényl)-2-(tétrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)
propan-1-one (100)**

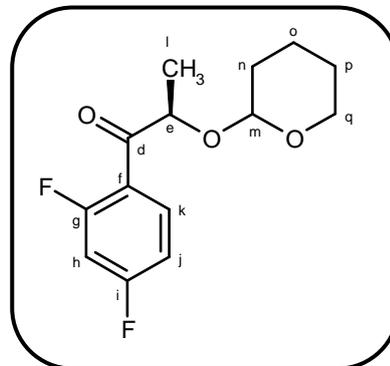
Huile jaune

$C_{14}H_{16}F_2O_3$

$M_r = 270,28$

$R_f = 0,45$ (éther de pétrole / éther diéthylique : 4 / 1)

Rendement = 88%



Méthode O :

Placer sous azote 1,096 g (45,10 mmol, 1,2 éq) de tournure de magnésium dans 45 mL de tétrahydrofurane sec. Ajouter un cristal d'iode et 1,436 mL (12,71 mmol, 0,34 éq) de 1-bromo-2,4-difluorobenzène. Agiter vigoureusement pour initier la réaction. Quand la température atteint 40-45°C refroidir à 35°C à l'aide d'un bain de glace. Ajouter alors goutte à goutte pendant 30 minutes 3,66 mL (32,39 mmol, 0,86 éq) de 1-bromo-2,4-difluorobenzène en gardant une température de 35-45°C. Agiter à température ambiante pendant 1 heure. Refroidir le milieu réactionnel à -20°C et ajouter goutte à goutte pendant 15 minutes 9,145 g (37,59 mmol) de (2*R*)-1-(morpholin-4-yl)-2-(tétrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)propan-1-one **99** dissous dans 14 mL de tétrahydrofurane sec. Agiter à température ambiante pendant 4 heures. Ajouter une solution saturée de chlorure d'ammonium et de l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange éther de pétrole / éther diéthylique : 95 / 5 puis 90 / 10.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

1,34 et 1,38 (d chacun, 3H, ³J = 6,5 Hz, H_l) ; 1,42-1,74 (m, 6H, H_{n,o,p}) ; 3,27-3,83 (m, 2H, H_q) ; 4,64 et 4,78 (m chacun, 1H, H_m) ; 4,84 et 4,99 (m chacun, 1H, H_e) ; 7,25-7,31 (m, 1H, H_j) ; 7,42-7,50 (m, 1H, H_h) ; 7,88-7,95 (m, 1H, H_k).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

1031 (ν C-O) ; 1135 (ν C-F) ; 1426 (δ_p CH₂) ; 1492, 1607 (ν C=C) ; 1701 (ν C=O) ; 2943 (ν_{as} CH₂).

2-{(1*R*)-1-[(2,4-Difluorophényl)oxiran-2-yl]éthoxy}
tétrahydro-2*H*-pyrane (101)

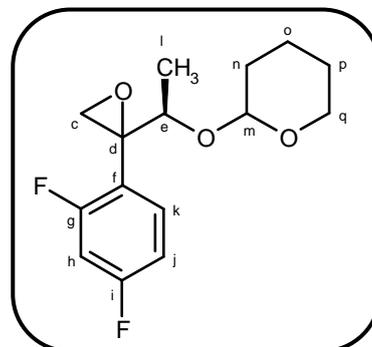
Huile jaune

C₁₅H₁₈F₂O₃

M_r = 284,31

R_f = 0,45 (éther de pétrole / éther diéthylique : 4 / 1)

Rendement = 96%



Méthode P :

Dissoudre sous azote 1,524 g (38,10 mmol, 1,15 éq) d'hydruure de sodium (dispersion à 60% dans de l'huile minérale) dans 57 mL de diméthylsulfoxyde. Refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace et ajouter lentement 8,749 g (39,76 mmol) de iodure de triméthylsulfoxonium. Agiter à température ambiante pendant 30 minutes. Refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace et ajouter 8,955 g (33,13 mmol, 1,2 éq) de (2*R*)-1-(2,4-difluorophényl)-2-(tétrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)propan-1-one **100** dissous dans 11 mL de diméthylsulfoxyde. Agiter à température ambiante pendant 2 heures. Reprendre à l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange éther de pétrole / éther diéthylique : 90 / 10.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

1,06, 1,08 et 1,38 (d chacun, 3H, ³J = 6,5 Hz, H_i) ; 1,40-1,72 (m, 6H, H_{n,o,p}) ; 2,84-3,26 (m, 2H, H_c) ; 3,41-3,90 (m, 3H, H_{e,q}) ; 4,75 et 4,91 (m chacun, 1H, H_m) ; 7,12-7,16 (m, 1H, H_j) ; 7,26-7,31 (m, 1H, H_k) ; 7,44-7,56 (m, 1H, H_h).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

1129 (ν C-F) ; 1267 (ν C-O) ; 1503, 1613 (ν C=C) ; 2941 (ν_{as} CH₂).

(3*R*)-2-(2,4-Difluorophényl)-3-(tétrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol (102)

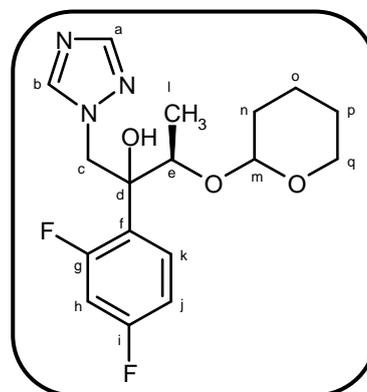
Huile jaune

$C_{17}H_{21}F_2N_3O_3$

$M_r = 353,37$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

Rendement = 83%



Méthode Q :

Dissoudre sous azote 3,58 g (89,57 mmol, 2,8 éq) d'hydruure de sodium (dispersion à 60% dans de l'huile minérale) dans 49 mL de *N,N*-diméthylformamide. Refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace et ajouter lentement 6,85 g (99,17 mmol) de 1*H*-1,2,4-triazole. Agiter à température ambiante pendant 15 minutes. Ajouter alors 9,095 g (31,99 mmol, 1,2 éq) de 2-[(1*R*)-1-[(2,4-difluorophényl)oxiran-2-yl]éthoxy]tétrahydro-2*H*-pyrane **101** dissous dans 11 mL de *N,N*-diméthylformamide et chauffer à 80°C pendant 4 heures. Evaporer le solvant, reprendre à l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

0,87, 0,97, 1,11, et 1,14 (d chacun, 3H, ³J = 6,5 Hz, H_i) ; 1,25-1,90 (m, 6H, H_{n,o,p}) ; 3,47-5,00 (m, 6H, H_{c,e,m,q}) ; 5,65, 5,68, 5,76, et 5,79 (s chacun, 1H, OH) ; 6,88-7,03 (m, 1H, H_j) ; 7,07-7,20 (m, 1H, H_h) ; 7,27-7,52 (m, 1H, H_k) ; 7,63, 7,66, 7,73, et 7,80 (s chacun, 1H, H_b) ; 8,31, 8,32, 8,33, et 8,36 (s chacun, 1H, H_a).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

1133 (v C-F) ; 1272 (v C-N) ; 1503, 1613 et 1667 (v C=C et v C=N) ; 2845 (v_s CH₂) ; 2942 (v_{as} CH₂) ; 3407 (v O-H).

(2*R*,3*R*)-2-(2,4-Difluorophényl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)
butane-2,3-diol (**103**)

Cristaux blancs

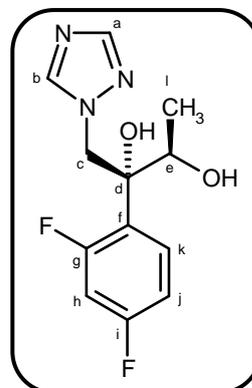
C₁₂H₁₃F₂N₃O₂

M_r = 269,25

R_f = 0,20 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = 114-115 (Litt²²¹ : 115-117)

Rendement = 57%



Méthode R :

Dissoudre 8,325 g (23,56 mmol) de (3*R*)-2-(2,4-difluorophényl)-3-(tétrahydro-2*H*-pyran-2-yloxy)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol **102** dans 91 mL d'éthanol. Ajouter 2,130 g (8,48 mmol, 0,36 éq) de *para*-toluènesulfonate de pyridinium et agiter à 55°C pendant 2 heures. Rajouter 1,275 g (5,07 mmol, 0,22 éq) de *para*-toluènesulfonate de pyridinium et agiter à 55°C pendant 2 heures. Evaporer le solvant, reprendre à l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. L'huile obtenue est triturée dans 35 mL d'éther diéthylique et le précipité est filtré pour obtenir 2,84 g de (2*R*,3*R*)-2-(2,4-difluorophényl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-2,3-butane-2,3-diol **103**. Concentrer à sec le filtrat. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2. Récupérer 375 mg de (2*S*,3*R*)-2-(2,4-difluorophényl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)butane-2,3-diol **104** sous la forme d'une poudre blanche avec un rendement de 6%, puis récupérer 770 mg supplémentaire de (2*R*,3*R*)-2-(2,4-difluorophényl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)butane-2,3-diol **103**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

0,84 (d, 3H, ³J = 6,2 Hz, H_i) ; 4,23 (m, 1H, H_e) ; 4,71 (d, 1H, ²J = 14,8 Hz, H_c) ; 4,74 (d, 1H, ²J = 14,8 Hz, H_c) ; 5,32 (d, 1H, ³J = 5,6 Hz, OH) ; 5,45 (s, 1H, OH) ; 6,89 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,0 Hz, H_j) ; 7,15 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,6 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,0 Hz, H_h) ; 7,28 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 7,2 Hz, H_k) ; 7,64 (s, 1H, H_b) ; 8,34 (s, 1H, H_a).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1078 (ν C-O) ; 1134 (ν C-F) ; 1274 (ν C-N) ; 1422, 1508 et 1622 (ν C=C et ν C=N) ; 3142 et 3524 (ν O-H).

**(2*S*,3*R*)-2-(2,4-Difluorophényl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)
butane-2,3-diol (104)**

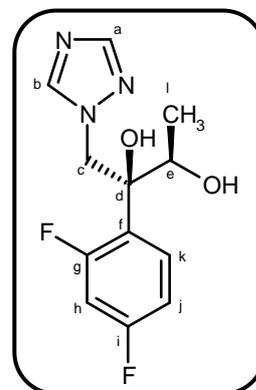
Poudre amorphe

$C_{12}H_{13}F_2N_3O_2$

$M_r = 269,25$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

Rendement = 6%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,09 (d, 3H, $^3J = 5,3$ Hz, H_i) ; 4,03 (m, 1H, H_c) ; 4,55 (d, 1H, $^2J = 13,9$ Hz, H_c) ; 4,82 (d, 1H, $^2J = 13,9$ Hz, H_c) ; 4,86 (d, 1H, $^3J = 5,1$ Hz, OH) ; 5,55 (s, 1H, OH) ; 6,95 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,0$ Hz, H_j) ; 7,10 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J'_{H-F} = 9,6$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,0$ Hz, H_h) ; 7,40 (ddd, 1H, $^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-F} = ^4J'_{H-F} = 7,2$ Hz, H_k) ; 7,73 (s, 1H, H_b) ; 8,30 (s, 1H, H_a).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1113 (v C-O) ; 1138 (v C-F) ; 1275 (v C-N) ; 1505 et 1615 (v C=C et v C=N) ; 3146 et 3416 (v O-H).

**(2*R*,3*S*)-2-(2,4-Difluorophényl)-3-méthyl-2-
[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxirane (105)**

Poudre blanche

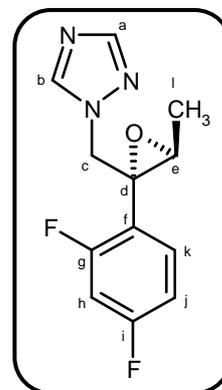
C₁₂H₁₁F₂N₃O

M_r = 251,24

R_f = 0,20 (dichlorométhane / éthanol : 99 / 1)

F°C = 84-85 (Litt²²¹ : 89-90 acétate d'éthyle-hexane)

Rendement = 90%



Méthode S :

Dissoudre 3,030 g (11,25 mmol) de (2*R*,3*R*)-2-(2,4-difluorophényl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)butane-2,3-diol **103** dans 60 mL d'acétate d'éthyle. Ajouter 3,14 mL (22,51 mmol, 2 éq) de triéthylamine et refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ajouter alors 1,75 mL (22,51 mmol, 2 éq) de chlorure de mésyle et agiter à température ambiante pendant 45 minutes. Refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace et ajouter 53 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium à 3,75M. Agiter à température ambiante pendant 1 heure. Reprendre à l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

1,62 (d, 3H, ³J = 5,5 Hz, H_l) ; 3,27 (q, 1H, ³J = 5,5 Hz, H_e) ; 4,69 (d, 1H, ²J = 14,7 Hz, H_c) ; 4,79 (d, 1H, ²J = 14,7 Hz, H_c) ; 6,98 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,8 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,10 (ddd, 1H, ³J_{H-H} = 8,8 Hz, ⁴J_{H-F} = ⁴J_{H-F} = 6,8 Hz, H_k) ; 7,24 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-F} = 9,2 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_h) ; 7,90 (s, 1H, H_b) ; 8,34 (s, 1H, H_a).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1135 (ν C-F) ; 1276 (ν C-N) ; 1431, 1510 et 1622 (ν C=C et ν C=N).

7-Chloroquinazolin-4(3H)-one (106)

Poudre beige

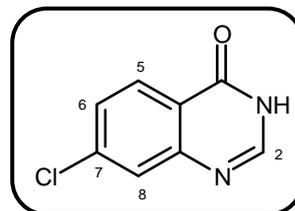
$C_8H_5ClN_2O$

$M_r = 180,59$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 252-253$ (Litt²²⁶ : 251-253)

Rendement = 56%



Le composé **106** est synthétisé selon la **méthode B** à partir de 500 mg (2,91 mmol) d'acide 4-chloro-2-aminobenzoïque et 0,579 mL (14,57 mmol, 5 éq) de formamide.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

7,58 (dd, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, H_6) ; 7,75 (d, 1H, $^4J = 2,0$ Hz, H_8) ; 8,14 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H_5) ; 8,17 (s, 1H, H_2) ; 12,44 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

875 (v C-Cl) ; 1227 (v C-N) ; 1439, 1608, 1656 (v C=C et v C=N) ; 1696 (v C=O) ; 3467 (v N-H).

²²⁶ McKee M.K. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, 69 (1), 184-184.

Partie B

IR (KBr, cm^{-1}) :

968 (ν C-Cl) ; 1139 (ν C-F) ; 1260 (ν C-N) ; 1502, 1604 (ν C=C) ; 1678 (ν C=O) ; 3440 (ν O-H).

Masse :

432,0 (M+H)⁺.

8-[(1*R*,2*R*)-2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-1-méthyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-9-oxo-thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carboxamide (108**)**

Poudre blanche

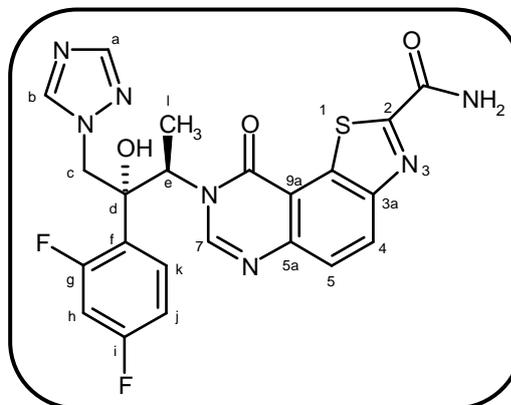
$C_{22}H_{17}F_2N_7O_3S$

$M_r = 497,49$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 180-181$

Rendement = 27%



Le composé **108** est synthétisé selon la **méthode T** à partir de 110 mg (0,44 mmol) de (2*R*,3*S*)-2-(2,4-difluorophényl)-3-méthyl-2-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxirane **105** et 100 mg (0,44 mmol, 1 éq) de 9-oxo-8,9-dihydro-1,3-thiazolo[5,4-*f*]quinazoline-2-carbonitrile **79**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,31 (3H, d, $^3J = 7,2$ Hz, H_i) ; 4,29 (1H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_c) ; 4,91 (1H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_c) ; 6,00 (1H, q, $^3J = 7,2$ Hz, H_e) ; 6,48 (1H, s, OH) ; 7,03 (1H, ddd, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,32-7,38 (2H, m, $H_{h,k}$) ; 7,62 (1H, s, H_b) ; 8,01 (1H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_4) ; 8,16 (s, 1H, CONH₂) ; 8,23 (1H, s, H_a) ; 8,58 (s, 1H, CONH₂) ; 8,60 (1H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_5) ; 8,66 (1H, s, H_7).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

15,5 (C_i) ; 52,4 (C_e) ; 54,8 (C_c) ; 77,6 (C_d) ; 104,4 (C_h) ; 111,3 (C_j) ; 116,1 (C_{9b}) ; 124,0 (C_f) ; 127,0 (C_4) ; 130,0 (C_k) ; 130,2 (C_5) ; 133,5 (C_{3a}) ; 144,9 (C_a) ; 147,0 (C_{9a}) ; 147,2 (C_7) ; 150,6 (C_b) ; 151,8 (C_{5a}) ; 160,1 (C_9) ; 161,8 (CONH₂) ; 167,4 (C_2).

C_g et C_i non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

846 (v C-S) ; 1138 (v C-F) ; 1275 (v C-N) ; 1500, 1591 (v C=C) ; 1665 (v C=O) ; 3444 (v O-H et v NH₂).

Masse :

498,1 (M+H)⁺.

7-[(1*R*,2*R*)-2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-1-méthyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-8-oxo-thiazolo[4,5-*g*]quinazoline-2-carboxamide (110)

Poudre blanche

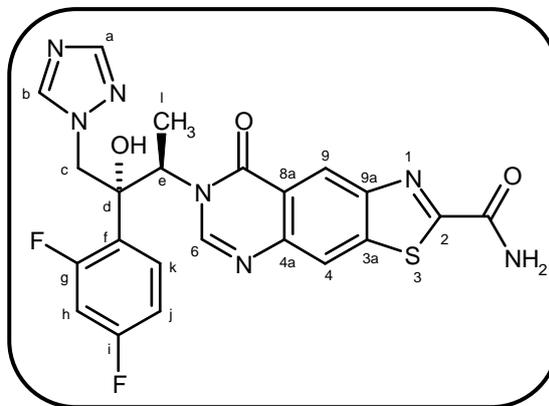
$C_{22}H_{17}F_2N_7O_3S$

$M_r = 497,49$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 259-260$

Rendement = 25%



Le composé **110** est synthétisé selon la **méthode T** à partir de 110 mg (0,44 mmol) de (2*R*,3*S*)-2-(2,4-difluorophényl)-3-méthyl-2-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxirane **105** et 100 mg (0,44 mmol, 1 éq) de 8-oxo-7,8-dihydro-1,3-thiazolo[4,5-*g*]quinazoline-2-carbonitrile **88**.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,26 (d, 3H, $^3J = 7,0$ Hz, H_i) ; 4,30 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_c) ; 4,91 (d, 1H, $^2J = 14,4$ Hz, H_c) ; 5,93 (q, 1H, $^3J = 7,0$ Hz, H_e) ; 6,44 (s, 1H, OH) ; 7,00 (ddd, 1H, $^3J_{H-F} = ^3J_{H-H} = 8,4$ Hz, $^4J_{H-H} = 2,4$ Hz, H_j) ; 7,29-7,35 (m, 2H, $H_{h,k}$) ; 7,60 (s, 1H, H_b) ; 8,24-8,25 (m, 2H, H_a , CONH $_2$) ; 8,51 (s, 1H, H_6) ; 8,66 (s, 1H, H_9) ; 8,72 (s, 1H, CONH $_2$) ; 8,91 (s, 1H, H_4).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO d_6) :

15,5 (C_i) ; 51,8 (C_c) ; 54,8 (C_e) ; 77,7 (C_d) ; 104,6 (C_h) ; 111,3 (C_j) ; 121,1 (C_{3a}) ; 121,4 (C_9) ; 122,1 (C_4) ; 124,3 (C_f) ; 130,0 (C_k) ; 143,0 (C_{9a}) ; 144,8 (C_{8a}) ; 145,0 (C_a) ; 146,5 (C_6) ; 150,6 (C_b) ; 151,8 (C_{4a}) ; 161,2 (CONH $_2$) ; 161,4 (C_8) ; 167,7 (C_2).

C_g et C_1 non visibles.

IR (KBr, cm^{-1}) :

853 (v C-S) ; 1141 (v C-F) ; 1275 (v C-N) ; 1506, 1612 (v C=C) ; 1680 (v C=O) ; 3447 (v O-H et v NH $_2$).

Masse :

498,1 (M+H) $^+$.

7-[(1*R*,2*R*)-2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-1-méthyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]thiazolo[4,5-*g*]quinazolin-8(7*H*)-one (111)

Poudre blanche

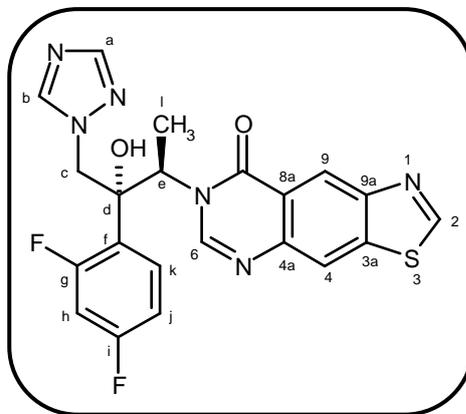
C₂₁H₁₆F₂N₆O₂S

M_r = 454,46

R_f = 0,35 (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

F°C = 140-141

Rendement = 47%



Le composé **111** est synthétisé selon la **méthode T** à partir de 111 mg (0,44 mmol) de (2*R*,3*S*)-2-(2,4-difluorophényl)-3-méthyl-2-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)méthyl]oxirane **105** et 90 mg (0,44 mmol, 1 éq) de 1,3-thiazolo[4,5-*g*]quinazolin-8(7*H*)-one **89**.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

1,21 (d, 3H, ³J = 7,0 Hz, H_i) ; 4,22 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_c) ; 4,86 (d, 1H, ²J = 14,4 Hz, H_c) ; 5,90 (q, 1H, ³J = 7,0 Hz, H_e) ; 6,37 (s, 1H, OH) ; 6,96 (ddd, 1H, ³J_{H-F} = ³J_{H-H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H-H} = 2,4 Hz, H_j) ; 7,25-7,30 (m, 2H, H_{h,k}) ; 7,55 (s, 1H, H_b) ; 8,19 (s, 1H, H_a) ; 8,43 (s, 1H, H₆) ; 8,58 (s, 1H, H₉) ; 8,83 (s, 1H, H₄) ; 9,55 (s, 1H, H₂).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO d₆) :

15,4 (C_i) ; 51,6 (C_c) ; 54,9 (C_e) ; 77,6 (C_d) ; 104,4 (C_h) ; 111,3 (C_j) ; 120,3 (C_{3a}) ; 120,7 (C₄) ; 121,0 (C₉) ; 124,2 (C_f) ; 129,9 (C_k) ; 140,7 (C_{9a}) ; 144,1 (C_{8a}) ; 144,9 (C_a) ; 145,9 (C₆) ; 150,6 (C_b) ; 151,9 (C_{4a}) ; 158,9 (C_i) ; 159,3 (C₂) ; 161,5 (C₈) ; 162,4 (C_g).

IR (KBr, cm⁻¹) :

848 (ν C-S) ; 1140 (ν C-F) ; 1259 (ν C-N) ; 1442, 1501, 1609 (ν C=C) ; 1674 (ν C=O) ; 3418 (ν O-H).

Masse :

455,1 (M+H)⁺.

PARTIE C

Synthèse d'inhibiteurs mixtes

I – Aperçu bibliographique

L'équipe de Dudley s'est intéressée à la synthèse d'inhibiteurs de pompes d'efflux chez *Candida*. Leur attention s'est portée sur la synthèse de quinazolinylméthylurées, dont trois molécules hits sont représentées sur la **figure 111**.^{105,106,107,108}

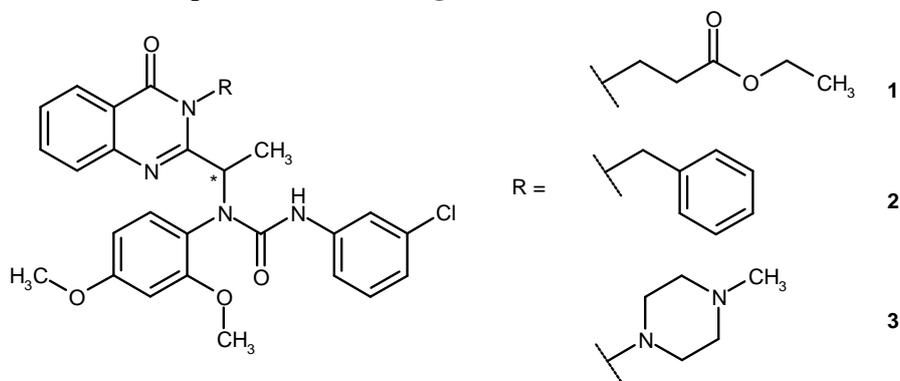


Figure 111 : Quinazolinylméthylurées inhibiteurs de pompes d'efflux

Lors de leurs recherches, différents substituants ont été introduits sur le motif urée. Cependant, tous les résultats obtenus confirment l'importance des deux noyaux aromatiques : un diméthoxyphényle d'un côté et un phényle substitué en 3 ou en 4 par un halogène de l'autre côté. Les composés **1** et **2** apparaissent spécifiques pour l'inhibition de CDR1 chez *Candida albicans*. L'introduction d'un groupement *N*-méthylpipérazine en position 3 de la quinazolinone permet d'augmenter l'hydrosolubilité de ces composés ainsi que le spectre d'activité. En effet, le dérivé **3** inhibe l'efflux chez *Candida albicans* et chez *Candida glabrata*. Par la suite, des études complémentaires ont montré l'intérêt d'un accepteur de liaison hydrogène en position 4 du noyau pipérazine.

II – Synthèse d'azolés multifonctionnels

1 – Principe et approche rétrosynthétique

L'objectif est de synthétiser une quinazolinylméthylurée, analogue des molécules décrites dans la littérature, en particulier du composé **2** **figure 111**. L'introduction d'un groupement amine en position 6 de ce composé permettra ensuite l'introduction d'un linker puis le greffage sur le pharmacophore sélectionné. Ainsi, le schéma rétrosynthétique envisagé est représenté sur la **figure 112**.

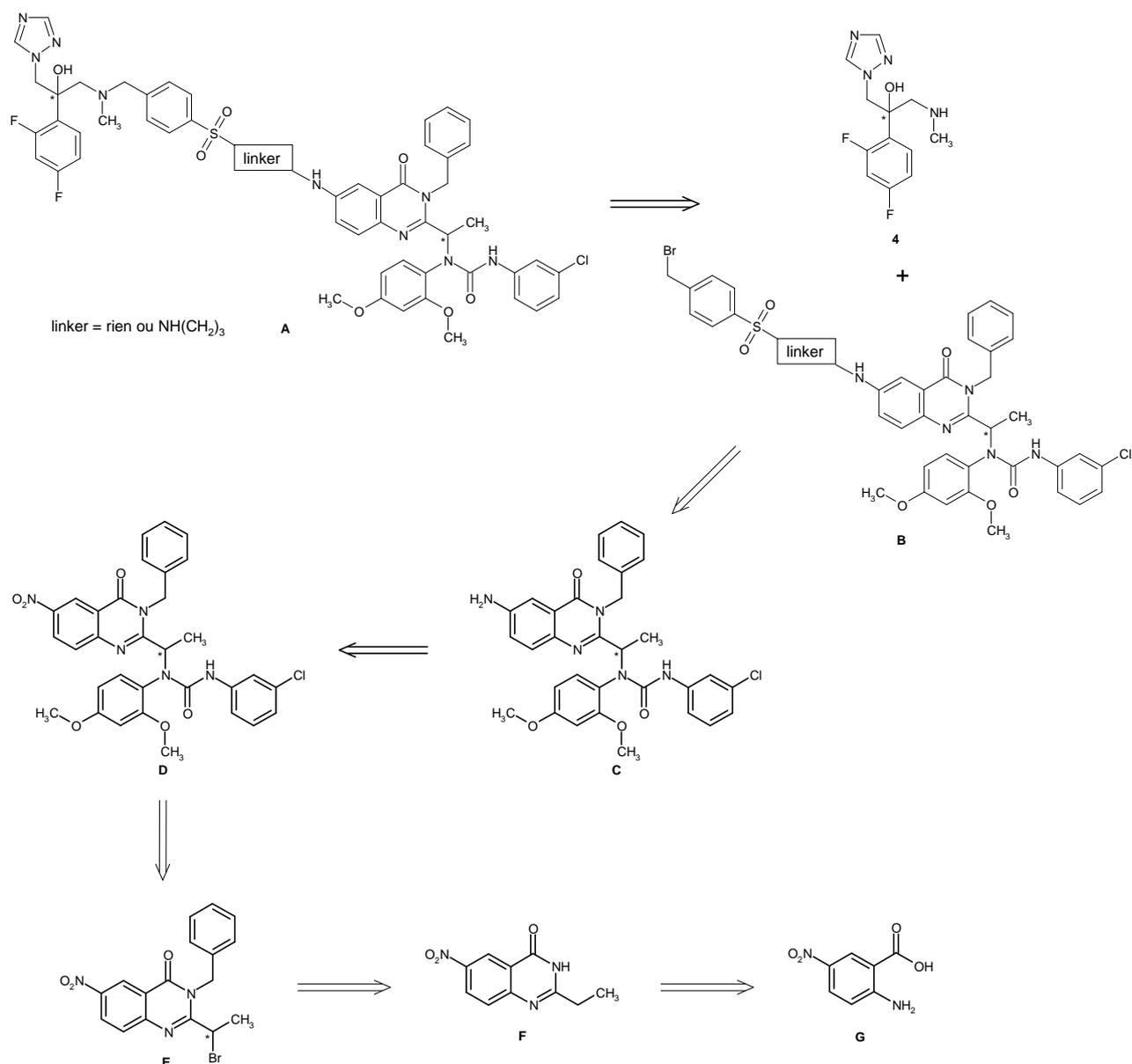


Figure 112 : Schéma rétrosynthétique menant aux azolés multifonctionnels

Le composé final **A** sera obtenu par condensation entre l'amino alcool **4** et le dérivé **B**. Celui-ci est synthétisé après introduction du linker sur la quinazolinylméthylurée **C** aminée en position 6, synthétisée par réduction de l'analogue nitré **D**. Celui-ci est préparé facilement à partir du dérivé **E** par déplacement de l'atome de brome par la 2,4-diméthoxyaniline puis par formation du motif urée. L'intermédiaire **E** est synthétisé par benzoylation et bromation de la 2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3*H*)-one **F**. Enfin, celle-ci est formée à partir de l'acide 5-nitro-2-aminobenzoïque **G**.

2 – Synthèses de la quinazolinylméthylurée C

2.1- Synthèse de la 2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one

Afin d'obtenir la 2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one, le groupement éthyle doit être introduit avant l'étape de cyclisation. L'intermédiaire 5-nitro-2-(propanoylamino)benzamide **113** est préparé facilement par deux couplages amidiques successifs à partir de l'acide 5-nitro-2-aminobenzoïque (figure 113).

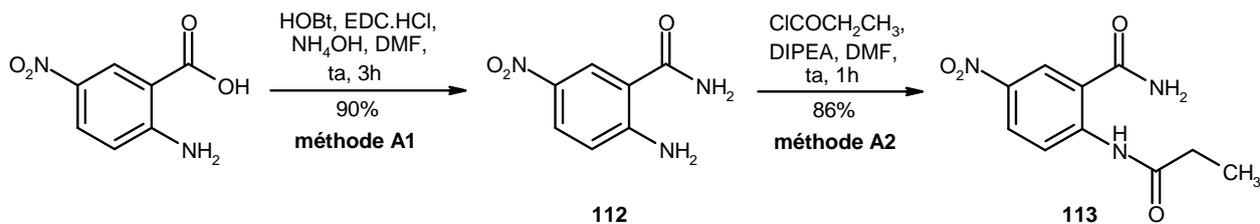


Figure 113 : Synthèse du 5-nitro-2-(propanoyl amino)benzamide **113**

Il existe de nombreuses méthodes permettant la formation de liaison amidique. Cette réaction nécessite l'activation de l'acide, par introduction d'un groupe partant sur le carbonyle, pour permettre l'attaque de l'amine. L'activation de l'acide carboxylique peut être réalisée par l'intermédiaire d'halogénure d'acyle, d'azoture d'acyle, d'acylimidazole, d'anhydride ou d'ester.²²⁸

Dans notre cas, l'acide 5-nitro-2-aminobenzoïque est couplé avec l'ammoniac dans le DMF en présence d'agents de couplage : le chlorhydrate de 1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl)carbodiimide (EDC.HCl) et le 1-hydroxybenzotriazole (HOBt).²²⁹ Le benzamide **112** est isolé avec un excellent rendement de 90%. Ce composé est ensuite mis en réaction avec le chlorure de propanoyle et la DIPEA dans le DMF pour former le dérivé **113** avec un rendement de 86%.

La cyclisation intramolécule d'*ortho*-diamides est une réaction très utilisée pour former les quinazolinones. Parmi les conditions décrites dans la littérature, nous citerons l'utilisation d'une base (KOH,²³⁰ NaOEt,²³¹ NaOH²³²) ou encore le chauffage au reflux (de la pyridine sous irradiation micro-ondes,²³³ de l'anhydride acétique,²³⁴ du chlorure de thionyle²³⁵). Cette réaction peut aussi être catalysée par différents réactifs (MgCl₂ ou ZnCl₂,²³⁶

²²⁸ Montalbetti C.A.G.N. *et al.*, *Tetrahedron*, **2005**, 61 (46), 10827-10852.

²²⁹ Tobe M. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11 (3), 383-391.

²³⁰ Roy A.D. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2005**, 71 (1), 382-385.

²³¹ Purandare A.V. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15 (10), 2669-2672.

²³² Gellibert F. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19 (8), 2277-2281.

²³³ Kalusa A. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49 (41), 5840-5842.

²³⁴ Shemchuk L. *et al.*, *Russ. J. Organ. Chem.*, **2008**, 44 (7), 1006-1008.

²³⁵ Pomarnacka E. *et al.*, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **2008**, 341 (8), 485-490.

²³⁶ Al-Said N.H. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47 (5), 693-694.

PPTS,²³⁷ Sn(OTf)₂²³⁸). Afin de favoriser la cyclisation intramoléculaire déshydratante, l'emploi de TMSCl, d'Et₃N dans le 1,2-dichloroéthane,²³⁹ ou d'HMDS, de I₂ dans le dichlorométhane²⁴⁰ sont des méthodes efficaces. Le passage par une imino-benzoxazine par traitement avec PPh₃, Br₂, Et₃N dans le dichlorométhane, suivie d'une isomérisation en milieu acide est une autre méthode d'obtention du cycle quinazolinone.²⁴¹

A partir du dérivé **113**, deux méthodes différentes ont été testées pour former la quinazolinone **114** (figure 114).

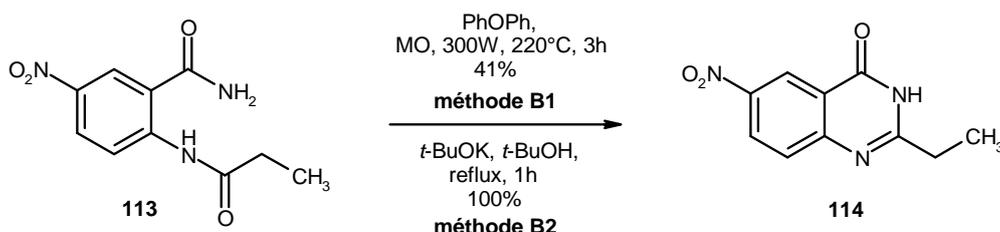


Figure 114 : Synthèse de la 2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **114**

La quinazolinone peut être synthétisée simplement par chauffage dans le diphényléther à haute température sous irradiation micro-ondes.²⁴² Cependant, la mise en place de ces conditions ne s'est pas avérée efficace pour notre composé (**méthode B1**). Après 3 heures de réaction, le composé **114** est isolé avec seulement 41% de rendement.

Afin de favoriser la cyclisation, nous avons utilisé le *tert*-butanolate de potassium au reflux du *tert*-butanol.²⁴³ Ces conditions conduisent à la quinazolinone **114** avec un rendement quantitatif (**méthode B2**).

2.2- Synthèse de la 3-benzyl-2-(1-bromoéthyl)-6-nitroquinazolin-4(3H)-one

L'introduction du groupement benzyle est réalisée suivant les conditions vues partie B. La quinazolinone **114** est mise en réaction avec l'hydrure de sodium et le bromure de benzyle dans le DMF sous irradiation micro-ondes (figure 115).

²³⁷ Yu M.J. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **1992**, 35 (14), 2534-2542.

²³⁸ Tseng M. *et al.*, *Chem. Commun.*, **2009**, 2009 (4), 445-447.

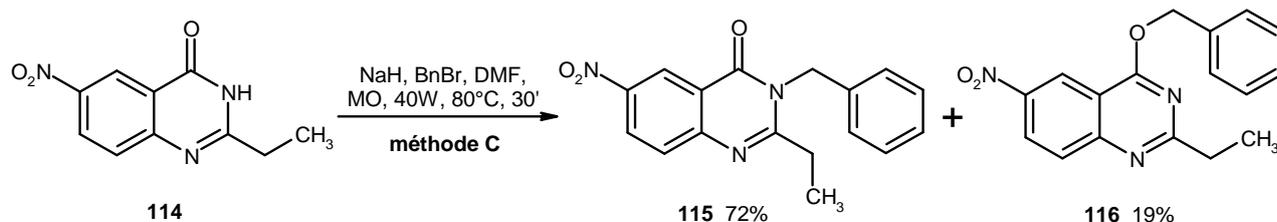
²³⁹ Fuwa H. *et al.*, *Tetrahedron*, **2005**, 61 (17), 4297-4312.

²⁴⁰ Kshirsagar U.A. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48 (18), 3243-3246.

²⁴¹ Snider B. *et al.*, *Heterocycles*, **2003**, 61 (1), 173-182.

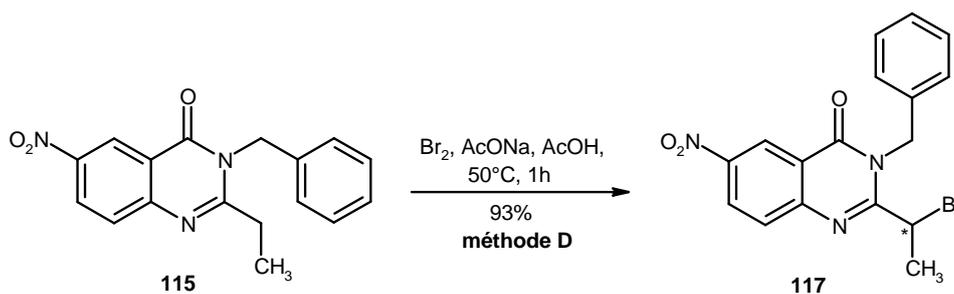
²⁴² Hanney B. *et al.*, Brevet WO 2007038444 A2, publié le 5 avril 2007.

²⁴³ Duan H. *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19 (10), 2777-2779.

Figure 115 : Benzylation de la 2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **114**

Dans ce cas, on observe la formation de deux isomères : le produit *N*-benzylé attendu **115** et le produit *O*-benzylé **116**. Après séparation, le produit désiré **115** est isolé avec un rendement de 72%. On peut penser que lors de la réaction, l'encombrement stérique intervient dans la sélectivité. En effet, Hori M. et Ohtaka H. ont décrit l'influence de l'encombrement stérique et des effets électroniques des substituants en position 2 lors de l'alkylation de quinazolin-4(3H)-ones.²⁴⁴

La quinazolinone **115** est ensuite bromée sélectivement sur la chaîne éthyle. Cette réaction s'effectue par l'intermédiaire de dibrome et d'acétate de sodium dans l'acide acétique glacial (**figure 116**).²⁴⁵

Figure 116 : Bromation de la 3-benzyl-2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **115**

Cette bromation conduit au composé **117** avec un excellent rendement de 93%. A noter qu'un centre de chiralité est créé lors de cette réaction.

2.3- Préparation de la quinazolinylméthylurée

Les conditions décrites par Dudley *et al.*^{105,106,107,108} ont été utilisées pour synthétiser le motif urée (**figure 117**). Tout d'abord, l'atome de brome est déplacé par réaction avec la 2,4-diméthoxyaniline en présence de carbonate de sodium dans le DMF (**méthode E**). Le composé **118** est obtenu avec un rendement de 88%. Il est ensuite condensé avec l'isocyanate de 3-chlorophényle dans le dichlorométhane et permet ainsi la formation de la fonction urée (**méthode F**). Le dérivé **119** est isolé avec un rendement de 77%.

²⁴⁴ Hori M. *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **1993**, 41 (6), 1114-1117.

²⁴⁵ Brunton S.A. *et al.*, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51 (5), 1108-1110.

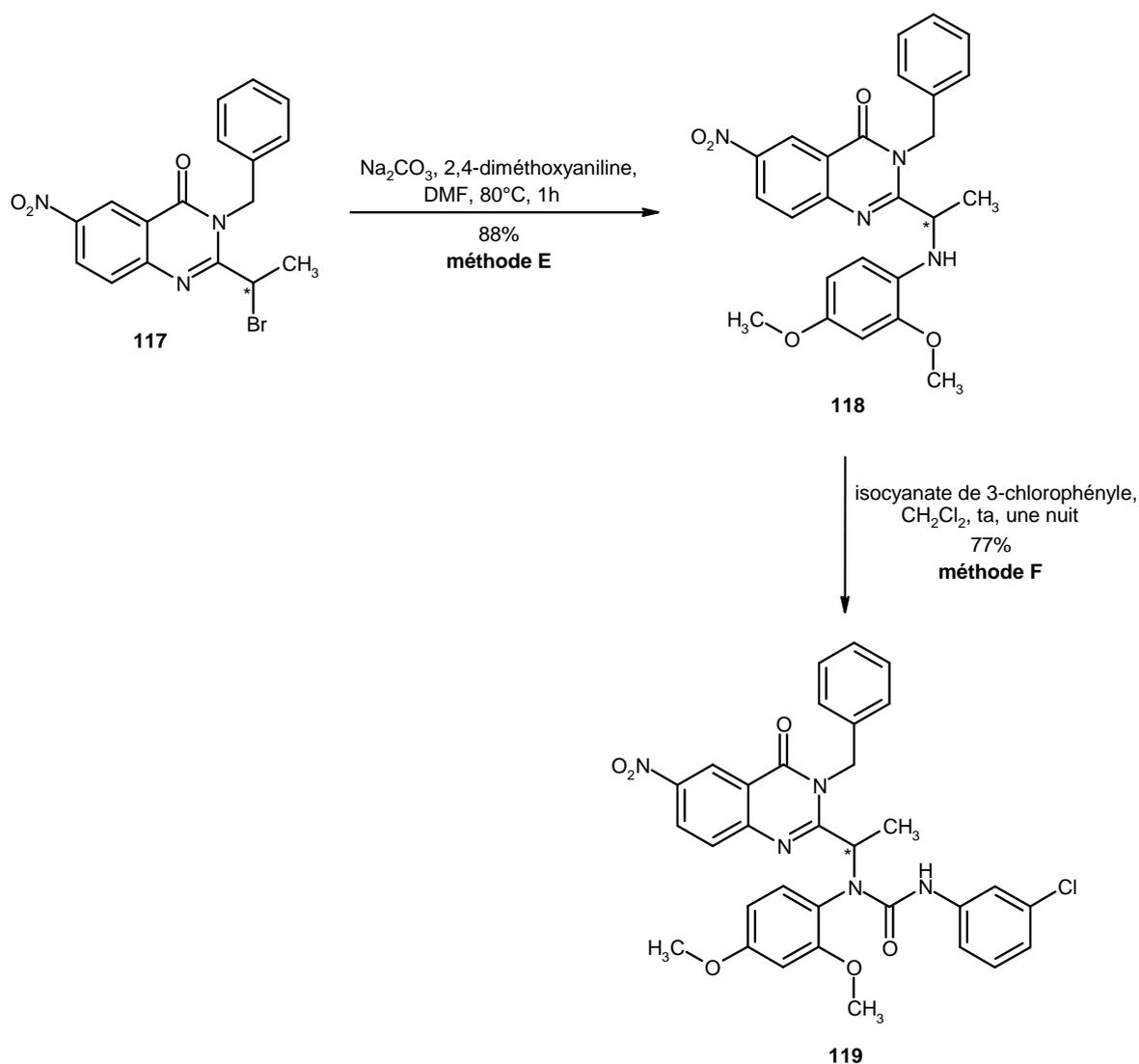


Figure 117 : Synthèse de la quinazolinylméthylurée **119**

Afin d'obtenir la quinazolinylméthylurée désirée, la fonction nitro du dérivé **119** doit être réduite. Etant donné les substituants présents sur la molécule (benzyle, atome de chlore) nous avons dans un premier temps envisagé d'utiliser les conditions vues partie B. Mais l'utilisation de fer dans l'acide acétique et l'éthanol ne permet pas d'obtenir le composé réduit. Nous nous sommes alors orientés vers la réduction de Zinin, qui tolère une grande variété de substituants.²⁴⁶ Il s'agit d'une méthode de réduction de composés nitrés aromatiques en présence de sulfures anioniques (sous forme de sulfure d'ammonium, de sodium ou de potassium, d'hydrosulfure ou de polysulfure). Les équations de la réaction sont présentées ci-dessous (**figure 118**) :²⁴⁷

²⁴⁶ Zinin N., *J. Prakt. Chem.*, **1842**, 27 (1), 140-153.

²⁴⁷ Porter H., *Org. React*, **1973**, 20, 455-481.

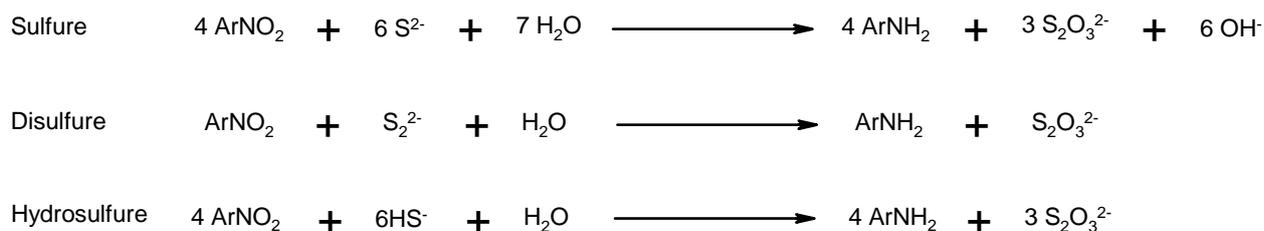


Figure 118 : Equations de la réaction de Zinin

Bien que cette technique soit souvent remplacée par l'hydrogénation catalytique ou la réduction de Béchamp, elle est toujours utilisée en milieu industriel pour la réduction de composés sensibles à l'acide ou portant des substituants incompatibles. La simplicité et la forte sélectivité de cette réaction en font une méthode très intéressante.²⁴⁸

Nous avons appliqué ces conditions à notre synthèse. Ainsi le composé nitré **119** est mis en réaction avec du sulfure de sodium nonahydraté et de l'hydroxyde de sodium dans un mélange eau / éthanol (**figure 119**).

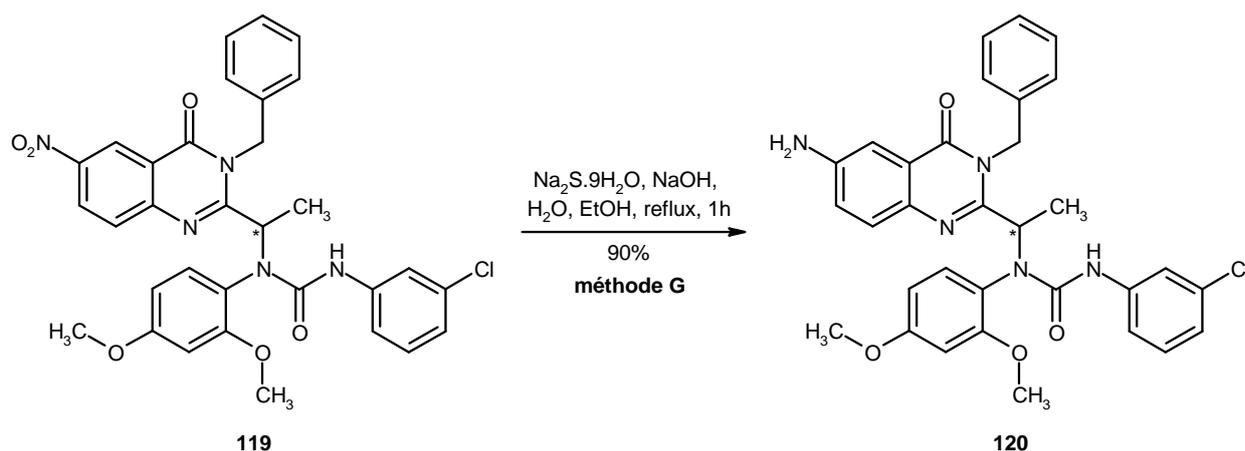


Figure 119 : Synthèse de la quinazolinylméthylurée **120**

Cette méthode de réduction s'avère très efficace puisque l'amine **120** est obtenue avec un excellent rendement de 90%.

3 – Greffage de la quinazolinylméthylurée **120** sur le pharmacophore

Afin de préparer notre premier azolé multifonctionnel, nous avons appliqué la stratégie utilisée pour la synthèse en série sulfonamides (**figure 120**).

²⁴⁸ Speciality Chemicals : innovations in industrial synthesis and applications, Ed. Brian Pearson, **1991**, 614 pages.

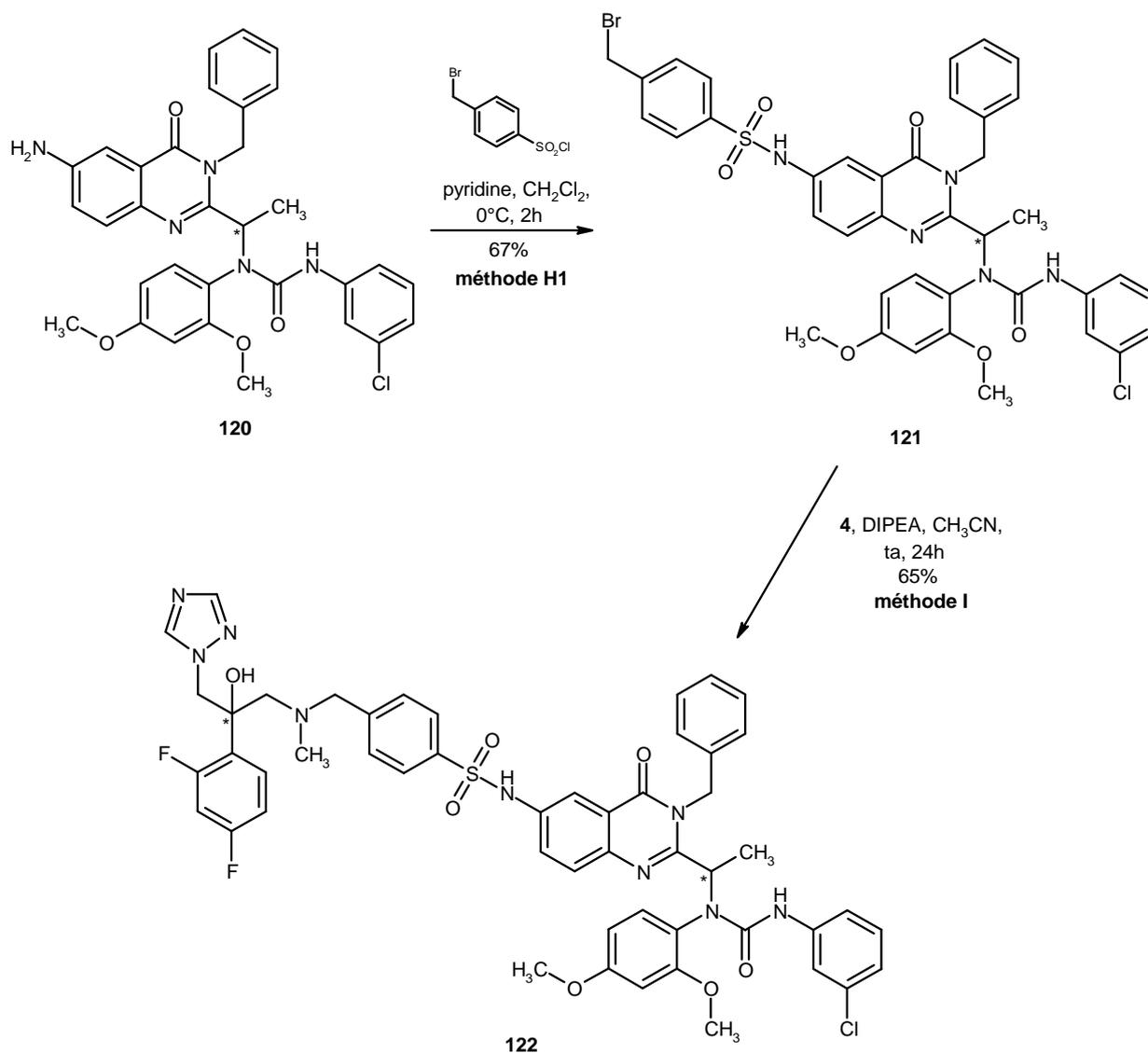


Figure 120 : Synthèse de l'azolé multifonctionnel **122**

Ainsi, la quinazolinylméthylurée **120** est condensée avec le chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle dans la pyridine (**méthode H1**). L'intermédiaire **121** obtenu avec un rendement de 67% est ensuite mis en réaction avec l'amino-alcool difluoré **4** en présence de DIPEA dans l'acétonitrile (**méthode I**). La molécule finale **122** est isolée avec un rendement de 65%.

Pour obtenir la deuxième molécule cible, le 4-(bromométhyl)-*N*-(3-oxopropyl) benzènesulfonamide doit être préparé. En effet, ce composé nous permettra d'introduire d'une part la quinazolinylméthylurée par amination réductrice, et d'autre part le pharmacophore par substitution nucléophile. Cet intermédiaire est synthétisé en deux étapes à partir du chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle (**figure 121**).

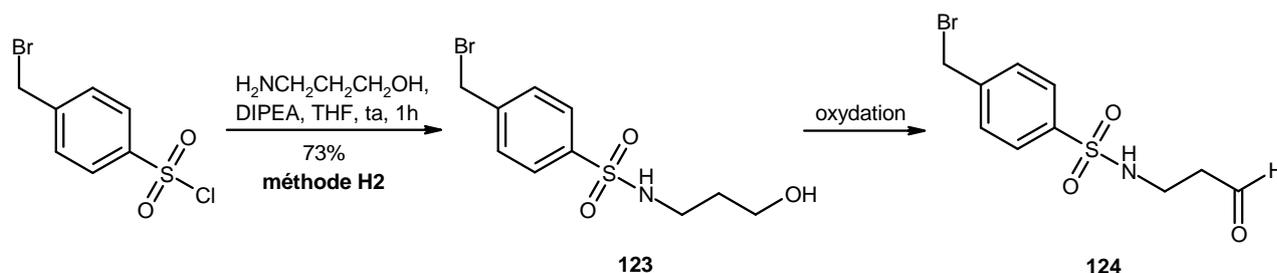


Figure 121 : Synthèse de l'intermédiaire **124**

Lors de la première étape, le 4-(bromométhyl)-*N*-(3-hydroxypropyl)benzène sulfonamide **123** est synthétisé avec un rendement de 73% selon la **méthode H2** à partir du 3-amino-1-propanol. La deuxième étape d'oxydation de l'alcool primaire en aldéhyde a demandé une mise au point. Les différentes méthodes d'oxydation testées sont reportées dans le **tableau 26**.

Essais	Conditions opératoires	Rendement
1	SO ₃ .pyridine, Et ₃ N, DMSO, ta, 5h	dégradation
2	PCC, célite, CH ₂ Cl ₂ , ta, une nuit	dégradation
3	Dess-Martin périodine, CH ₂ Cl ₂ , ta, 3h	80%

Tableau 26 : Oxydation du composé **123**

Dans un premier temps, nous avons appliqué les conditions d'oxydation de Parikh-Doering, en présence du complexe trioxyde de soufre-pyridine et de triéthylamine dans le DMSO.²⁴⁹ Cependant, l'application de ces conditions à notre composé ne permet pas la formation du produit oxydé. Le deuxième essai est réalisé selon la méthode de Corey-Suggs.²⁵⁰ Dans ce cas, l'utilisation de chlorochromate de pyridinium (PCC) dans le dichlorométhane en présence de célite conduit à de la dégradation.²⁵¹ Finalement l'oxydation est réalisée avec le Dess-Martin périodine²⁵² dans le dichlorométhane et l'aldéhyde **124** est obtenu avec un rendement de 80%.

Le composé **124** est ensuite engagé dans l'étape d'amination réductrice avec la quiazolinylméthylurée **120** (**figure 122**).

²⁴⁹ Parikh J.R. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89 (21), 5505-5507.

²⁵⁰ Corey E.J. *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16 (31), 2647-2650.

²⁵¹ Chang M.-Y. *et al.*, *Heterocycles*, **2007**, 71 (4), 933-940.

²⁵² Dess D.B. *et al.*, *J.Org. Chem.*, **1983**, 48 (22), 4155-4156.

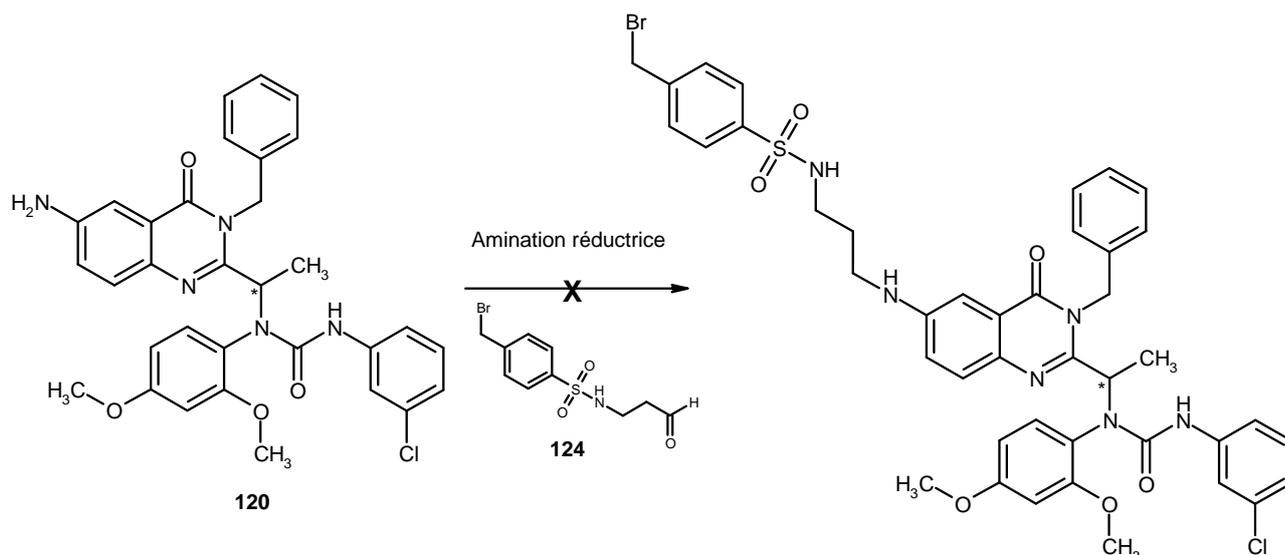


Figure 122 : Amination réductrice à partir des produits **120** et **124**

L'étape d'amination réductrice a été réalisée selon différentes conditions. Cependant, l'utilisation de cyanoborohydrure de sodium dans un mélange MeOH / AcOH, ou de triacétoxyborohydrure de sodium dans le CH₂Cl₂, ne permet pas d'isoler le produit attendu. En effet, on rencontre ici de gros problèmes de solubilité, posant ainsi les limites pour la synthèse de tels composés.

L'étape d'amination réductrice n'ayant pas permis la formation de l'intermédiaire souhaité, le deuxième azolé multifonctionnel n'a pu être préparé.

III – Evaluation pharmacologique et discussion

Le composé **122** ne démontre aucune activité sur les souches *Candida albicans* CA98001 (souche sensible au fluconazole) et *Aspergillus fumigatus* AF98003.

L'objectif de ce travail était la synthèse de molécules mixtes comprenant un triazolé antifongique et un inhibiteur de pompes d'efflux relié ou non par un linker. Le premier essai où les deux pharmacophores sont directement reliés entre eux est un échec probablement dû à un paramètre stérique défavorable. L'allongement du linker par une chaîne alkyle flexible pouvait espérer une plus grande souplesse, cependant les premiers essais se sont révélés infructueux.

Parmi les autres possibilités envisageables, l'introduction d'un linker clivable de type peptidique susceptible d'être hydrolysé intracellulairement pourrait également être expérimenté.

IV – Partie expérimentale

TABLEAU DES METHODES

Type de réaction	Méthode	Conditions opératoires	Pages
Formation de liaison amidique	A1	HOBt, EDC.HCl, NH ₄ OH, DMF, ta	281
	A2	ROCl, DIPEA, DMF, ta	282
Synthèse de la quinazolinone	B1	PhOPh, MO, 300W, 200°C	283
	B2	<i>t</i> -BuOK, <i>t</i> -BuOH, 80°C	283
Benzylation de la quinazolinone	C	NaH, BnBr, DMF, MO, 40W, 80°C	284
Bromation	D	Br ₂ , AcONa, AcOH, 50°C	286
Substitution du brome	E	Na ₂ CO ₃ , 2,4-diméthoxyaniline, DMF, 80°C	287
Synthèse de l'urée	F	RNCO, CH ₂ Cl ₂ , ta	288
Réduction du nitro	G	Na ₂ S.9H ₂ O, NaOH, H ₂ O, EtOH, reflux	289
Formation du sulfonamide	H1	RSO ₂ Cl, pyridine, CH ₂ Cl ₂ , 0°C	290
	H2	RSO ₂ Cl, DIPEA, THF, ta	294
Substitution nucléophile	I	RCH ₂ Br, DIPEA, CH ₃ CN, ta	292
Oxydation de l'alcool	J	Dess-Martin périodine, CH ₂ Cl ₂ , ta	295

2-Amino-5-nitrobenzamide (112)

Poudre orange

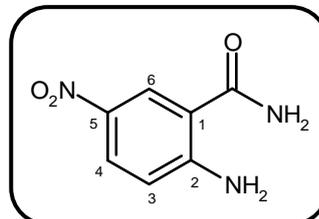
$C_7H_7N_3O_3$

$M_r = 181,15$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 237-238$ (Litt²⁵³ : 236)

Rendement = 90%



Méthode A1 :

Dissoudre sous azote 1 g (5,49 mmol) d'acide 2-amino-5-nitrobenzoïque dans 27,5 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter 816 mg (6,04 mmol, 1,1 éq) de 4-hydroxybenzotriazole, 1,16 g (6,04 mmol, 1,1 éq) de chlorhydrate de 1-éthyl-3-(3'-diméthylaminopropyl) carbodiimide et agiter sous azote à température ambiante pendant 2 heures. Refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace et ajouter 1,25 mL (13,51 mmol, 2,5 éq) d'une solution d'ammoniac aqueux à 20%. Agiter alors à température ambiante pendant 1 heure. Evaporer le solvant. Reprendre à l'eau, extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle et sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Triturer le résidu d'évaporation dans de l'éther diéthylique et filtrer.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO d₆) :

6,83 (d, 1H, ³J = 9,2 Hz, H₃) ; 7,45 (se, 1H, CONH₂) ; 7,94 (se, 2H, NH₂) ; 8,05 (dd, 1H, ³J = 9,2 Hz, ⁴J = 2,8 Hz, H₄) ; 8,25 (se, 1H, CONH₂) ; 8,58 (d, 1H, ⁴J = 2,8 Hz, H₆).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1267 (v C-N) ; 1324 (v_s NO₂) ; 1482, 1621 (v C=C) ; 1672 (v C=O) ; 3298 (v_s NH₂) ; 3452 (v_{as} NH₂).

²⁵³ Baker K. *et al.*, *J. Chem. Soc.*, **1948**, 1713-1720.

5-Nitro-2-(propanoylamino)benzamide (113)

Cristaux jaunes pâles

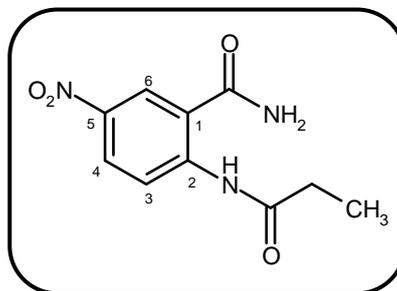
$C_{10}H_{11}N_3O_4$

$M_r = 237,21$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 206-207$

Rendement = 86%



Méthode A2 :

Dissoudre sous azote 200 mg (1,10 mmol) de 2-amino-5-nitrobenzamide **112** dans 2 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter 0,229 mL (1,32 mmol, 1,2 éq) de *N,N*-diisopropyléthylamine et 0,144 mL (1,66 mmol, 1,5 éq) de chlorure de propanoyle. Agiter sous azote à température ambiante pendant 1 heure. Reprendre à l'eau et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,16 (t, 3H, $^3J = 7,5$ Hz, CH_3) ; 2,48 (q, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, CH_2) ; 8,07 (se, 1H, $CONH_2$) ; 8,40 (dd, 1H, $^3J = 9,2$ Hz, $^4J = 2,8$ Hz, H_4) ; 8,73 (se, 1H, $CONH_2$) ; 8,74 (d, 1H, $^4J = 2,8$ Hz, H_6) ; 8,76 (d, 1H, $^3J = 9,2$ Hz, H_3) ; 12,11 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1279 (ν C-N) ; 1334 (ν_s NO_2) ; 1502 (ν_{as} NO_2) ; 1621, 1683 (ν C=O) ; 3195 (ν_s NH_2) ; 3452 (ν_{as} NH_2).

2-Ethyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (114)

Poudre jaune

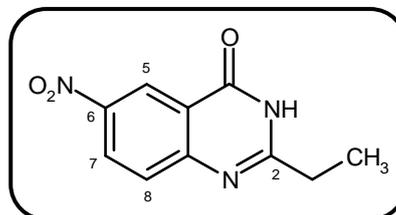
$C_{10}H_9N_3O_3$

$M_r = 219,20$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

$F^\circ C = 276-277$

Rendement = 100%



Méthode B1 :

Suspendre 200 mg (0,84 mmol) 5-nitro-2-(propanoylamino)benzamide **113** dans 4 mL de diphényléther. Agiter sous irradiation micro-ondes (300W, 220°C) pendant 3 heures. Après refroidissement, purifier le milieu réactionnel par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

Méthode B2 :

Mettre en solution 150 mg (0,63 mmol) de 5-nitro-2-(propanoylamino)benzamide **113** dans 3 mL de *tert*-butanol. Ajouter 142 mg (1,26 mmol, 2 éq) de *tert*-butanolate de potassium et agiter à 80°C pendant 1 heure. Après refroidissement, reprendre à l'eau et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,30 (t, 3H, $^3J = 7,5$ Hz, CH_3) ; 2,71 (q, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, CH_2) ; 7,82 (d, 1H, $^3J = 9,0$ Hz, H_8) ; 8,55 (dd, 1H, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J = 1,0$ Hz, H_7) ; 8,80 (d, 1H, $^4J = 1,0$ Hz, H_5) ; 12,70 (se, 1H, NH).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1235 (v C-N) ; 1341 (ν_s NO_2) ; 1481, 1609 (v C=C) ; 1678 (v C=O) ; 3032 (v C- H_{ar}) ; 3469 (v N-H).

3-Benzyl-2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (115)

Poudre blanche

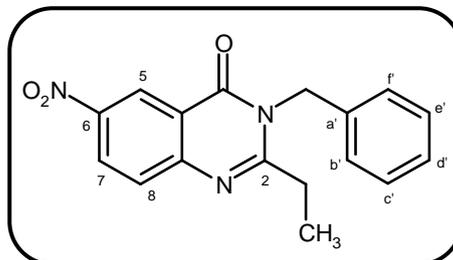
$C_{17}H_{15}N_3O_3$

$M_r = 309,33$

$R_f = 0,25$ (éther de pétrole / acétate d'éthyle : 8 / 2)

$F^\circ C = 126-127$

Rendement = 72%



Méthode C :

Dissoudre 1,030 g (4,70 mmol) de 2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **114** dans 15,5 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter 226 mg (5,64 mmol, 1,2 éq) d'hydruure de sodium (dispersion à 60% dans de l'huile minérale) et 0,559 mL (4,70 mmol, 1 éq) de bromure de benzyle. Agiter sous argon sous irradiation micro-ondes (40W, 80°C) pendant 30 minutes. Après refroidissement, hydrolyser le milieu réactionnel avec de l'eau et extraire le produit à l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange éther de pétrole / acétate d'éthyle : 9 / 1, puis 5 / 5.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,24 (t, 3H, $^3J = 7,2$ Hz, CH_3) ; 2,87 (q, 2H, $^3J = 7,2$ Hz, CH_2CH_3) ; 5,46 (s, 2H, NCH_2) ; 7,25-7,41 (m, 5H, $H_{b',c',d',e',f'}$) ; 7,88 (d, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, H_8) ; 8,58 (dd, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,8$ Hz, H_7) ; 8,88 (d, 1H, $^4J = 2,8$ Hz, H_5).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1337 ($\nu_s NO_2$) ; 1520 ($\nu_{as} NO_2$) ; 1450, 1575 ($\nu C=C$) ; 1686 ($\nu C=O$).

4-Benzyloxy-2-éthyl-6-nitro-quinazoline (116)

Poudre beige

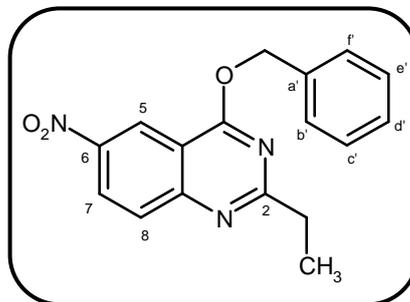
$C_{17}H_{15}N_3O_3$

$M_r = 309,33$

$R_f = 0,55$ (éther de pétrole / acétate d' éthyle : 8 / 2)

$F^\circ C = 69-70$

Rendement = 19%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,41 (t, 3H, $^3J = 7,5$ Hz, CH_3) ; 3,01 (q, 2H, $^3J = 7,5$ Hz, CH_2CH_3) ; 5,73 (s, 2H, OCH_2) ; 7,35-7,65 (m, 5H, $H_{b',c',d',e',f'}$) ; 8,06 (d, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, H_8) ; 8,62 (dd, 1H, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 2,8$ Hz, H_7) ; 8,86 (d, 1H, $^4J = 2,8$ Hz, H_5).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1345 ($\nu_s NO_2$) ; 1493, 1592 ($\nu C=C$) ; 1621 ($\nu C=N$) ; 2926 ($\nu_{as} CH_2$).

3-Benzyl-2-(1-bromoéthyl)-6-nitroquinazolin-4(3H)-one (117)

Poudre beige

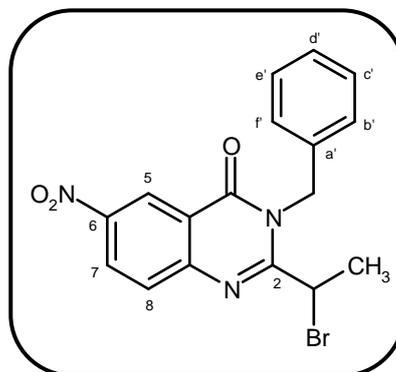
$C_{17}H_{14}BrN_3O_3$

$M_r = 388,22$

$R_f = 0,60$ (éther de pétrole / acétate d'éthyle : 4 / 1)

$F^\circ C = 125-126$

Rendement = 93%



Méthode D :

Dissoudre à 45-50°C 150 mg (0,48 mmol) de 3-benzyl-2-éthyl-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **115** dans 2 mL d'acide acétique glacial. Ajouter 40 mg (0,48 mmol, 1 équ) d'acétate de sodium anhydre puis 25 µl (0,48 mmol, 1 équ) de dibrome. Agiter à 50°C pendant 1 heure. Après refroidissement, neutraliser avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle, sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange éther de pétrole / acétate d'éthyle : 9 / 1.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,04 (d, 3H, $^3J = 6,5$ Hz, CH_3) ; 5,37 (d, 1H, $^2J = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 5,40 (q, 1H, $^3J = 6,5$ Hz, $CHBrCH_3$) ; 5,73 (d, 1H, $^2J = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 7,28-7,41 (m, 5H, $H_{b',c',d',e',f'}$) ; 8,00 (d, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, H_8) ; 8,64 (dd, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_7) ; 8,89 (d, 1H, $^4J = 2,4$ Hz, H_5).

IR (KBr, cm^{-1}) :

695 (v C-Br) ; 1273 (v C-N) ; 1338 (ν_s NO_2) ; 1440, 1569 (v C=C) ; 1523 (ν_{as} NO_2) ; 1619 (v C=N) ; 1687 (v C=O).

**3-Benzyl-2-{1-[(2,4-diméthoxyphényl)amino]éthyl}-
6-nitroquinazolin-4(3H)-one (118)**

Poudre rouge

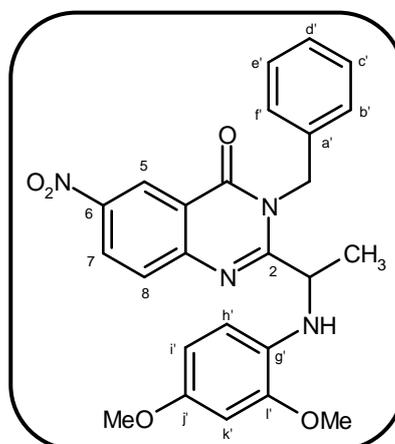
$C_{25}H_{24}N_4O_5$

$M_r = 460,49$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 147-148$

Rendement = 88%



Méthode E :

Dissoudre sous azote 773 mg (1,99 mmol) de 3-benzyl-2-(1-bromoéthyl)-6-nitroquinazolin-4(3H)-one **117** dans 2 mL de *N,N*-diméthylformamide. Ajouter 211 mg (1,99 mmol, 1 éq) de carbonate de sodium puis 315 mg (1,99 mmol, 1 éq) de 2,4-diméthoxyaniline. Agiter à 80°C pendant 1 heure. Evaporer le solvant. Reprendre à l'eau et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane. Triturer le produit obtenu dans un mélange éther de pétrole / éthanol et filtrer.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,43 (d, 3H, $^3J = 6,5$ Hz, CH_3) ; 3,63 (s, 3H, OCH_3) ; 3,80 (s, 3H, OCH_3) ; 4,80 (q, 1H, $^3J = 6,5$ Hz, $CHCH_3$) ; 4,96 (se, 1H, NH) ; 5,36 (d, 1H, $^2J = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 5,76 (d, 1H, $^2J = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 5,96 (d, 1H, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{h'}$) ; 6,08 (dd, 1H, $^3J = 8,0$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{i'}$) ; 6,48 (d, 1H, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{k'}$) ; 7,30-7,41 (m, 5H, $H_{b',c',d',e',f'}$) ; 7,86 (d, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, H_8) ; 8,59 (dd, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_7) ; 8,89 (d, 1H, $^4J = 2,4$ Hz, H_5).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1159 (v C-O) ; 1210 (v C-N) ; 1339 (ν_s NO_2) ; 1454, 1575 (v C=C) ; 1517 (ν_{as} NO_2) ; 1686 (v C=O) ; 2949 (v $CH_{aliph.}$) ; 3388 (v N-H).

1-[1-(3-Benzyl-6-nitro-4-oxo-quinazolin-2-yl)éthyl]-3-(3-chlorophényl)-1-(2,4-diméthoxyphényl)urée (119)

Poudre blanche

$C_{32}H_{28}ClN_5O_6$

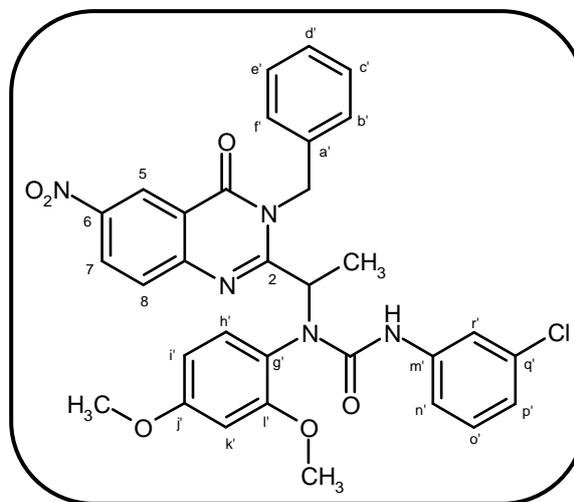
$M_r = 614,06$

$R_f = 0,50$ (éther de pétrole / acétate d'éthyle :

70 / 30)

$F^\circ C = 196-197$

Rendement = 77%



Méthode F :

Dissoudre sous azote 150 mg (0,33 mmol) de 3-benzyl-2-{1-[(2,4-diméthoxyphényl)amino]éthyl}-6-nitroquinazolin-4(3*H*)-one **118** dans 2,5 mL de dichlorométhane sec. Ajouter 79 μ L (0,65 mmol, 2 éq) d'isocyanate de 3-chlorophényle et agiter à température ambiante pendant une nuit. Reprendre à l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane. Triturer le produit obtenu dans un mélange éther diisopropylique / méthanol et filtrer.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

0,87 et 1,42 (d chacun, 3H, $^3J = 6,4$ Hz, CH_3) ; 3,17, 3,77, 3,81 et 3,83 (s chacun, 6H, OCH_3) ; 5,34 et 5,46 (d chacun, 1H, $^2J = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 5,62 et 6,08 (q chacun, 1H, $^3J = 6,4$ Hz, $CHCH_3$) ; 5,98 (d, 1H, $^2J = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 6,30-7,83 (m, 13H, $H_{b',c',d',e',f',h',i',k',n',o',p',r',NH}$) ; 7,84 et 7,90 (d chacun, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, H_8) ; 8,53 et 8,60 (dd chacun, 1H, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_7) ; 8,90 et 8,93 (d chacun, 1H, $^4J = 2,4$ Hz, H_5).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1162 (v C-O) ; 1341 (ν_s NO_2) ; 1457, 1574 (v C=C) ; 1511 (ν_{as} NO_2) ; 1677 (v C=O) ; 3353 (v N-H).

1-[1-(6-Amino-3-benzyl-4-oxo-quinazolin-2-yl)éthyl]-3-(3-chlorophényl)-1-(2,4-diméthoxyphényl)urée (120)

Poudre rose pâle

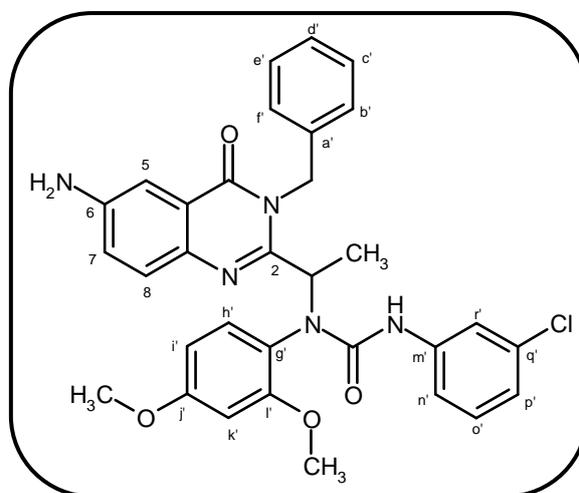
$C_{32}H_{30}ClN_5O_6$

$M_r = 584,08$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane / éthanol : 99 / 1)

$F^\circ C = 118-119$

Rendement = 90%



Méthode G :

Dissoudre 550 mg (0,90 mmol) de 1-[1-(3-benzyl-6-nitro-4-oxo-quinazolin-2-yl)éthyl]-3-(3-chlorophényl)-1-(2,4-diméthoxyphényl)urée **119** dans 8,5 mL d'éthanol. Ajouter 860 mg (3,58 mmol, 4 éq) de sulfure de sodium nonahydraté et 358 mg (8,95 mmol, 10 éq) d'hydroxyde de sodium dissous dans 12,5 mL d'eau. Agiter au reflux pendant 1 heure. Reprendre à l'eau et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

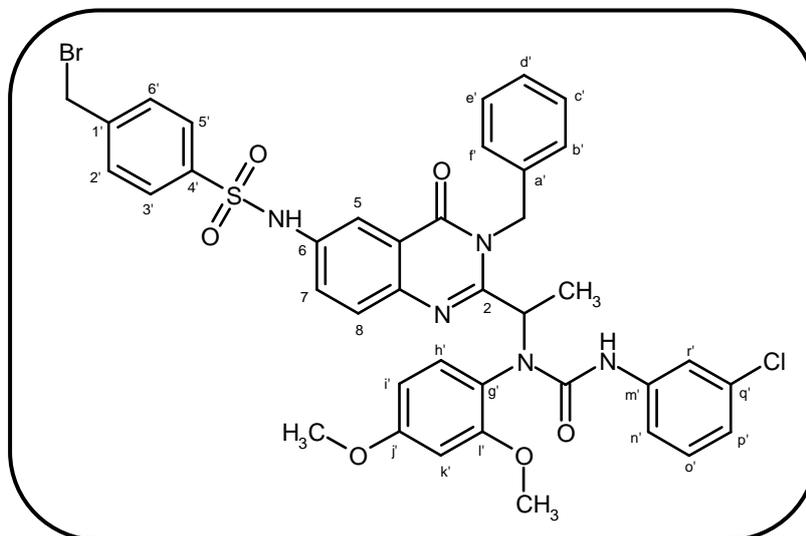
RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,00 et 1,37 (d chacun, 3H, $^3J = 6,4$ Hz, CH_3) ; 3,19, et 3,76 (s chacun, 6H, OCH_3) ; 5,20 et 5,70 (m chacun, 2H, $CHCH_3$, CH_2Ph) ; 5,93 et 5,97 (d chacun, 1H, $^2J = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 6,31-7,81 (m, 18H, $H_{5,7,8,b',c',d',e',f',h',i',k',n',o',p',r'}$, NH, NH_2).

IR (KBr, cm^{-1}) :

1210 (v C-O) ; 1298 (v C-N) ; 1508, 1589 (v C=C) ; 1663 (v C=O) ; 3414 (v N-H).

1-[1-(3-Benzyl-6-[[4-(bromométhyl)phényl]sulfonylamino]-4-oxo-quinazolin-2-yl)éthyl]-3-(3-chlorophényl)-1-(2,4-diméthoxyphényl)urée
(121)



Poudre blanche

$C_{39}H_{35}BrClN_5O_6S$

$M_r = 817,16$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol : 99 / 1)

F°C = 192-193

Rendement = 67%

Méthode H1 :

Dissoudre sous azote 150 mg (0,26 mmol) de 1-[1-(6-amino-3-benzyl-4-oxo-quinazolin-2-yl)éthyl]-3-(3-chlorophényl)-1-(2,4-diméthoxyphényl)urée **120** dans 2 mL de dichlorométhane sec. Ajouter 23 μ L (0,28 mmol, 1,1 éq) de pyridine et refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ajouter alors goutte à goutte 76 mg (0,28 mmol, 1,1 éq) de chlorure 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle dissous dans 1,2 mL de dichlorométhane sec. Agiter à 0°C pendant 2 heures. Reprendre à l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane. Triturer le produit obtenu dans un mélange dichlorométhane / éther diisopropylique et filtrer.

Partie C

RMN ^1H (400 MHz, DMSO d_6) :

0,88 et 1,34 (d chacun, 3H, $^3\text{J} = 6,4$ Hz, CH_3) ; 2,91, 3,76, 3,77 et 3,79 (s chacun, 6H, OCH_3) ; 4,75 (s, 2H, CH_2Br) ; 5,22 et 5,31 (d chacun, 1H, $^2\text{J} = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 5,60 et 5,98 (q chacun, 1H, $^3\text{J} = 6,4$ Hz, CHCH_3) ; 5,89 (d, 1H, $^2\text{J} = 16,4$ Hz, CH_2Ph) ; 6,18-7,89 (m, 18H, $\text{H}_{5,7,8,b',c',d',e',f',h',i',k',n',o',p',r',2',3',5',6', 2\text{NH}}$).

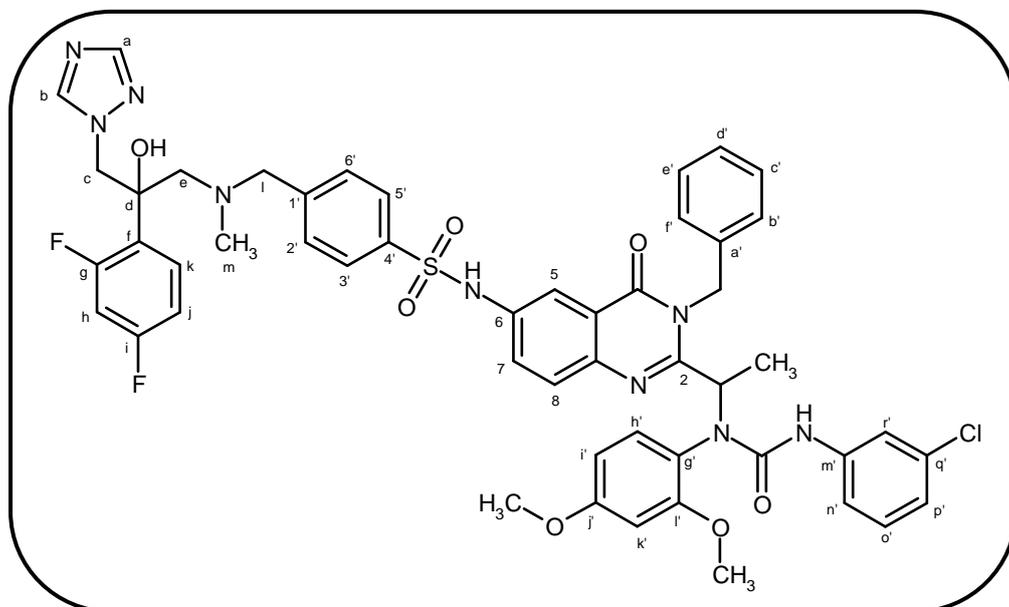
IR (KBr, cm^{-1}) :

723 (ν C-Br) ; 837 (ν C-Cl) ; 1163 (ν_s SO_2) ; 1214 (ν C-N) ; 1290 (ν_{as} SO_2) ; 1511, 1592 (ν C=C) ; 1665 (ν C=O) ; 3412 (ν N-H).

Masse :

816,1-818,1-820,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

1-[1-(3-Benzyl-6-{{4-([2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl)méthylamino)méthyl]phényl)sulfonylamino}-4-oxo-quinazolin-2-yl)éthyl]-3-(3-chlorophényl)-1-(2,4-diméthoxyphényl)urée
(122)



Poudre blanche

$C_{51}H_{48}ClF_2N_9O_7S$

$M_r = 1004,52$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

F°C = 123-124

Rendement = 65%

Méthode I :

Dissoudre sous argon 49 mg (0,18 mmol) de 2-(2,4-difluorophényl)-3-méthylamino-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **4** dans 4 mL d'acétonitrile. Ajouter 35 μ L (0,20 mmol, 1,1 éq) de *N,N*-diisopropyléthylamine puis 150 mg (0,18 mmol, 1 éq) de 1-[1-(3-benzyl-6-{{4-(bromométhyl)phényl}sulfonylamino}-4-oxo-quinazolin-2-yl)éthyl]-3-(3-chlorophényl)-1-(2,4-diméthoxyphényl)urée **121**. Agiter sous argon à température ambiante pendant 24 heures. Evaporer le solvant. Reprendre à l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

Partie C

RMN ^1H (400 MHz, DMSO d_6) :

0,89 et 1,33 (d chacun, 3H, $^3\text{J} = 6,4$ Hz, CH_3) ; 2,04 et 2,06 (s chacun, 3H, H_m) ; 2,75 (d, 1H, $^2\text{J} = 14,0$ Hz, H_c) ; 2,94, 3,75, 3,77 et 3,79 (s chacun, 6H, OCH_3) ; 3,02 (d, 1H, $^2\text{J} = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,63 (d, 1H, $^2\text{J} = 14,4$ Hz, H_l) ; 3,73 (d, 1H, $^2\text{J} = 14,4$ Hz, H_l) ; 4,48-4,59 (m, 2H, H_e) ; 5,21 et 5,29 (d chacun, 1H, $^2\text{J} = 16,0$ Hz, CH_2Ph) ; 5,62 et 5,97 (q chacun, 1H, $^3\text{J} = 6,4$ Hz, CHCH_3) ; 5,79 (s, 1H, OH) ; 5,86 et 5,88 (d chacun, 1H, $^2\text{J} = 16,0$ Hz, CH_2Ph) ; 6,16-7,85 (m, 25H, $\text{H}_{b,h,j,k,5,7,8,b',c',d',e',f',h',i',k',n',o',p',r',2',3',5',6'}$, 2NH) ; 8,30 (s, 1H, H_a).

IR (KBr, cm^{-1}) :

842 (v C-Cl) ; 1093 (v C-F) ; 1161 (ν_s SO_2) ; 1210 (v C-N) ; 1283 (ν_{as} SO_2) ; 1510, 1593 (v C=C) ; 1670 (v C=O) ; 3413 (v O-H et v N-H).

Masse :

1003,0-1005,0 (M-H) $^+$.

4-(Bromométhyl)-*N*-(3-hydroxypropyl)benzènesulfonamide (123)

Cristaux beiges

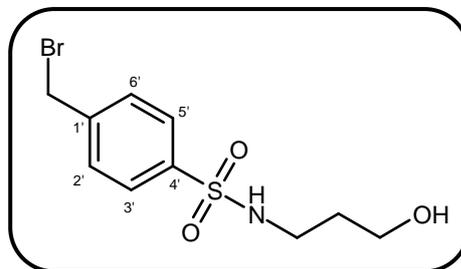
$C_{10}H_{14}BrNO_3S$

$M_r = 308,20$

$R_f = 0,30$ (dichlorométhane / éthanol : 95 / 5)

$F^\circ C = 59-60$

Rendement = 73%



Méthode H2 :

Mettre en solution sous azote 0,169 mL (2,22 mmol, 2 éq) de 3-amino-1-propanol dans 4,5 mL de tétrahydrofurane sec. Ajouter 0,231 mL (1,33 mmol, 1,2 éq) *N,N*-diisopropyléthylamine et refroidir à 0°C à l'aide d'un bain de glace. Ajouter alors goutte à goutte pendant 20 minutes 300 mg (1,11 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl) benzènesulfonyle dissous dans 6 mL de tétrahydrofurane sec. Agiter en laissant revenir à température ambiante pendant 1 heure. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,55 (quint, 2H, $^3J = 6,5$ Hz, $NHCH_2CH_2CH_2OH$) ; 2,82 (m, 2H, $NHCH_2CH_2CH_2OH$) ; 3,39 (t, 2H, $^3J = 6,5$ Hz, $NHCH_2CH_2CH_2OH$) ; 4,40 (se, 1H, OH) ; 4,81 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,61 (t, 1H, $^3J = 5,8$ Hz, NH) ; 7,69 (d, 2H, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,80 (d, 2H, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{3',5'}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

671 (v C-Br) ; 1085 (v C-O) ; 1152 (ν_s SO_2) ; 1319 (ν_{as} SO_2) ; 2865 (ν_s CH_2) ; 2929 (ν_{as} CH_2) ; 3265 (v O-H et v N-H).

4-(Bromométhyl)-N-(3-oxopropyl)benzènesulfonamide (124)

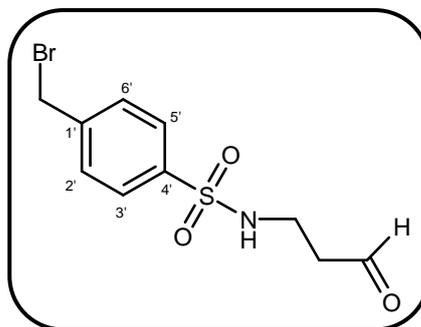
Huile incolore

$C_{10}H_{12}BrNO_3S$

$M_r = 306,18$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol : 98 / 2)

Rendement = 80%



Méthode J :

Dissoudre sous azote 635 mg (2,06 mmol) de 4-(bromométhyl)-N-(3-hydroxypropyl)benzènesulfonamide **123** dans 32 mL de dichlorométhane sec. Ajouter 1,31 g (3,09 mmol, 1,5 éq) de Dess-Martin périodine et agiter à température ambiante pendant 3 heures. Hydrolyser le milieu réactionnel avec une solution de bicarbonate de sodium et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher les phases organiques sur sulfate de sodium anhydre, filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane / éthanol : 99 / 1.

RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,60 (m, 2H, $NHCH_2CH_2CH_2OH$) ; 3,06 (t, 2H, $^3J = 6,6$ Hz, $NHCH_2CH_2CHO$) ; 4,81 (s, 2H, CH_2Br) ; 7,70 (d, 2H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,77 (t, 1H, $^3J = 5,6$ Hz, NH) ; 7,81 (d, 2H, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{3',5'}$).

IR (KBr, cm^{-1}) :

671 (v C-Br) ; 1158 (vs SO_2) ; 1435, 1569, 1620 (v C=C) ; 1326 (v_{as} SO_2) ; 1717 (v C=O) ; 2844 (v_s CH_2) ; 2916 (v_{as} CH_2) ; 3287 (v N-H).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

L'objectif de ces travaux consistait à synthétiser de nouveaux triazolés possédant un large spectre d'activité (*Candida*, *Aspergillus*) et actifs sur des souches sensibles et résistantes aux traitements actuels (fluconazole, voriconazole). Les différentes approches menées lors de ces travaux ont permis la synthèse et l'évaluation pharmacologique de 49 molécules finales.

Parmi ces composés, quatre ont été sélectionnés pour une évaluation *in vivo* sur un modèle murin de candidose disséminée (**figure 123**). En effet, les dérivés **56**, **58** en série biaryle et **110**, **111** analogues stricts de l'albaconazole possèdent le meilleur profil pharmacologique avec un large spectre d'activité aussi bien sur les souches de *Candida albicans* de sensibilité réduite ou résistantes au fluconazole ainsi que sur les autres espèces de *Candida* (*glabrata*, *krusei* et *parapsilosis*).

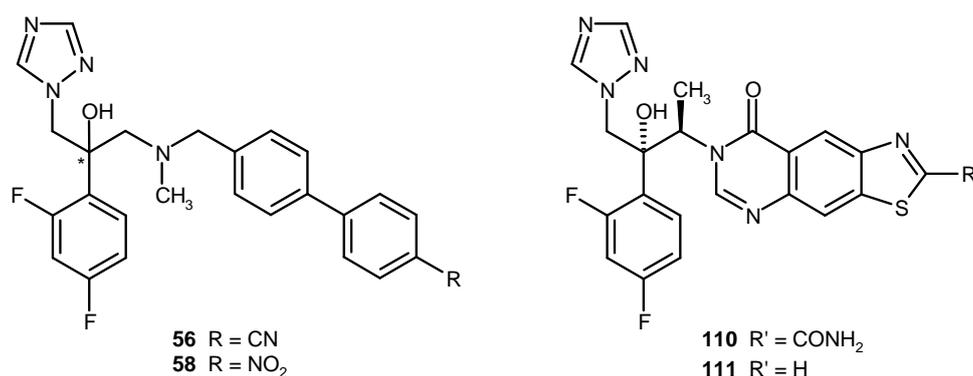


Figure 123 : Structures des composés évalués *in vivo*

D'après les résultats obtenus et contrairement aux hypothèses pharmacophoriques de Sheng⁹⁵ la présence d'un groupement accepteur de liaison hydrogène directement lié en position *para* de la benzylamine, ne semble pas être un élément fondamental pour une activité optimale sur *Candida albicans*. Cependant, une conformation « linéaire » de l'inhibiteur semble être un paramètre important permettant l'élargissement du spectre antifongique (*Aspergillus fumigatus*).

Dans le cadre des dérivés de l'albaconazole, la synthèse d'analogues stricts augmente le potentiel antifongique de ces composés. Il serait donc intéressant d'adapter cette chimie aux molécules **56** et **58** afin de synthétiser les analogues de configuration (*R,R*) (**figure 124**).

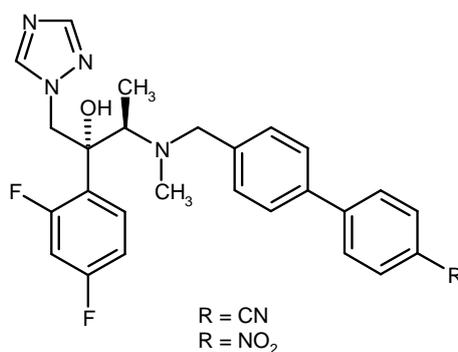


Figure 124 : Nouvelles molécules cibles envisagées

Conclusion générale

Cependant l'augmentation toujours croissante du paramètre de lipophilie peut être un frein au développement de molécules de grande taille dans le cadre d'une double administration (VO et IV). Ainsi, il serait également judicieux de synthétiser des molécules possédant des valeurs de logP proches de celles observées pour le fluconazole (clogP = -0,44), le voriconazole (clogP = 0,52) ou l'albaconazole (clogP = 2,15). Les molécules sélectionnées sur modèles murins possédant des valeurs hétérogènes (**56**, clogP = 3,77 ; **58**, clogP = 4,08 ; **110**, clogP = 0,94 ; **111**, clogP = 1,44), le retour de l'évaluation *in vivo* laisse présager un comportement différent.

De plus, comme nous l'avons vu précédemment, ces composés sont inhibiteurs de la 14 α -déméthylase codée par le gène *ERG11*. Mais certains semblent aussi inhiber *ERG3* (composé **110**), voie alternative uniquement mise en jeu après inhibition de la 14 α -déméthylase. L'intérêt d'un tel double mécanisme d'action doit être plus amplement investigué.

En outre, une évaluation complémentaire des meilleures molécules sur des souches de *Cryptococcus neoformans* ou sur des souches plus rares mais importantes médicalement comme *Fusarium*, *Mucor* ou *Scedosporium* pourrait permettre un élargissement du spectre d'action de ces composés.

Enfin, dans le cadre de la conception de nouveaux azolés, seuls des tests sur enzymes isolées permettraient une bonne utilisation actuelle des modèles par homologie et une rationalisation pertinente des relations structure-activité.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie

1. Association Française Des Enseignants de Parasitologie, Parasitologie, Mycologie, Ed. C. R., **2002**, 494 pages.
2. Institut de Veille Sanitaire, Prévalence et caractéristiques des patients traités par antifongiques dans les établissements de santé, France, 2006, *Bulletin épidémiologique hebdomadaire*, **2009**, 31-32, 353-356.
3. Xie G., Fang X., Fang Q., Wu X., Jin Y., Wang J., Guo Q., Gu M., Xu Q. and Wang D., Impact of invasive fungal infection on outcomes of severe sepsis: a multicenter matched cohort study in critically ill surgical patients, *Crit. Care*, **2008**, 12 (1), R5.
4. Monk B.C. and Goffeau A., Outwitting multidrug resistance to antifungals, *Science*, **2008**, 321 (5887), 367-369.
5. Pfaller M.A. and Diekema D.J., Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem, *Clin. Microbiol. Rev.*, **2007**, 20 (1), 133-163.
6. Infections fongiques : résistances, nouvelles modalités thérapeutiques, Ed. optimed, **2003**, 170 pages.
7. Ghannoum M.A. and Rice L.B., Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of these mechanisms with bacterial resistance, *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**, 12 (4), 501-517.
8. Accoceberry I. and Noël T., Antifongiques : cibles cellulaires et mécanismes de résistance, *Thérapie*, **2006**, 61 (3), 195-199.
9. Brajtburg J., Powderly W.G., Kobayashi G.S. and Medoff G., Amphotericin B: current understanding of mechanisms of action, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1990**, 34 (2), 183-188.
10. Thompson III G.R., Cadena J. and Patterson T.F., Overview of antifungal agents, *Clin. Chest Med.*, **2009**, 30 (2), 203-215.
11. Denning D.W. and Hope W.W., Therapy for fungal diseases: opportunities and priorities, *Trends Microbiol.*, **2010**, 18 (5), 195-204.
12. Ellis D., Amphotericin B: spectrum and resistance, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2002**, 49 (s1), 7-10.
13. Pfaller M.A., Messer S.A., Boyken L., Tendolkar S., Hollis R.J. and Diekema D.J., Geographic variation in the susceptibilities of invasive isolates of *Candida glabrata* to seven systemically active antifungal agents: a global assessment from the ARTEMIS antifungal surveillance program conducted in 2001 and 2002, *J. Clin. Microbiol.*, **2004**, 42 (7), 3142-3146.
14. Messer S.A., Jones R.N. and Fritsche T.R., International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp.: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2003), *J. Clin. Microbiol.*, **2006**, 44 (5), 1782-1787.

Bibliographie

15. Nolte F., Parkinson T., Falconer D., Dix S., Williams J., Gilmore C., Geller R. and Wingard J., Isolation and characterization of fluconazole and amphotericin B resistant *Candida albicans* from blood of two patients with leukemia, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1997**, *41* (1), 196-199.
16. William G.P., George S.K., Geoffrey P.H. and Gerald M., Amphotericin B-resistant yeast infection in severely immunocompromised patients, *Am. J. Med.*, **1988**, *84* (5), 826-832.
17. Sterling T.R. and Merz W.G., Resistance to amphotericin B: emerging clinical and microbiological patterns, *Drug Resist. Updates*, **1998**, *1* (3), 161-165.
18. Schaffner A. and Böhler A., Amphotericin B refractory aspergillosis after itraconazole: evidence for significant antagonism, *Mycoses*, **1993**, *36* (11-12), 421-424.
19. Kakeya H., Miyazaki Y., Senda H., Kobayashi T., Seki M., Izumikawa K., Yanagihara K., Yamamoto Y., Tashiro T. and Kohno S., Efficacy of SPK-843, a novel polyene antifungal, in comparison with amphotericin B, liposomal amphotericin B, and micafungin against murine pulmonary aspergillosis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2008**, *52* (5), 1868-1870.
20. Barchiesi F., Arzeni D., Caselli F. and Scalise G., Primary resistance to flucytosine among clinical isolates of *Candida* spp, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2000**, *45* (3), 408-409.
21. Vanden Bossche H., Warnock D., Dupont B., Kerridge D., Gupta S., Improvisi L., Marichal P., Odds F., Provost F. and Ronin O., Mechanisms and clinical impact of antifungal drug resistance, *Med. Mycol.*, **1994**, *32* (S1), 189-202.
22. Johnson M.D., MacDougall C., Ostrosky-Zeichner L., Perfect J.R. and Rex J.H., Combination antifungal therapy, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, *48* (3), 693-715.
23. Sheehan D.J., Hitchcock C.A. and Sibley C.M., Current and emerging azole antifungal agents, *Clin. Microbiol. Rev.*, **1999**, *12* (1), 40-79.
24. Charlier C., Hart E., Lefort A., Ribaud P., Dromer F., Denning D.W. and Lortholary O., Fluconazole for the management of invasive candidiasis: where do we stand after 15 years?, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2006**, *57* (3), 384-410.
25. Magill S.S., Shields C., Sears C.L., Choti M. and Merz W.G., Triazole cross-resistance among *Candida* spp.: case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy, *J. Clin. Microbiol.*, **2006**, *44* (2), 529-535.
26. Panackal A.A., Gribskov J.L., Staab J.F., Kirby K.A., Rinaldi M. and Marr K.A., Clinical significance of azole antifungal drug cross-resistance in *Candida glabrata*, *J. Clin. Microbiol.*, **2006**, *44* (5), 1740-1743.
27. Li X., Brown N., Chau A.S., Lopez-Ribot J.L., Ruesga M.T., Quindos G., Mendrick C.A., Hare R.S., Loebenberg D., DiDomenico B. and McNicholas P.M., Changes in susceptibility to posaconazole in clinical isolates of *Candida albicans*, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2004**, *53* (1), 74-80.

Bibliographie

28. Lortholary O., Dannaoui E., Raoux D., Hoinard D., Datry A., Paugam A., Poirot J.-L., Lacroix C., Dromer F. and the YEASTS Group, In vitro susceptibility to posaconazole of 1,903 yeast isolates recovered in France from 2003 to 2006 and tested by the method of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2007**, 51 (9), 3378-3380.
29. Sanglard D., Coste A. and Ferrari S., Antifungal drug resistance mechanisms in fungal pathogens from the perspective of transcriptional gene regulation, *FEMS Yeast Res.*, **2009**, 9 (7), 1029-1050.
30. Morschhäuser J., Regulation of multidrug resistance in pathogenic fungi, *Fungal Genet. Biol.*, **2010**, 47 (2), 94-106.
31. Morio F., Loge C., Besse B., Hennequin C. and Le Pape P., Screening for amino acid substitutions in the *Candida albicans* Erg11 protein of azole-susceptible and azole-resistant clinical isolates: new substitutions and a review of the literature, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2010**, 66 (4), 373-384.
32. Marichal P., Koymans L., Willemsens S., Bellens D., Verhasselt P., Luyten W., Borgers M., Ramaekers F.C.S., Odds F.C. and Vanden Bossche H., Contribution of mutations in the cytochrome P450 14 α -demethylase (Erg11p, Cyp51p) to azole resistance in *Candida albicans*, *Microbiology*, **1999**, 145 (10), 2701-2713.
33. Lopez-Ribot J.L., McAtee R.K., Lee L.N., Kirkpatrick W.R., White T.C., Sanglard D. and Patterson T.F., Distinct patterns of gene expression associated with development of fluconazole resistance in serial *Candida albicans* isolates from human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1998**, 42 (11), 2932-2937.
34. Kanafani Z.A. and Perfect J.R., Antimicrobial resistance: resistance to antifungal agents: mechanisms and clinical impact, *Clin. Infect. Dis.*, **2008**, 46 (1), 120-128.
35. Pfaller M.A., Messer S.A., Boyken L., Rice C., Tendolkar S., Hollis R.J. and Diekema D.J., In vitro survey of triazole cross-resistance among more than 700 clinical isolates of *Aspergillus* species, *J. Clin. Microbiol.*, **2008**, 46 (8), 2568-2572.
36. Alanio A. and Bretagne S., Résistance microbiologique des *Aspergillus* aux antifongiques : de l'identification au séquençage des mutations, *Antibiotiques*, **2010**, 12 (2), 114-119.
37. Howard S.J., Webster I., Moore C.B., Gardiner R.E., Park S., Perlin D.S. and Denning D.W., Multi-azole resistance in *Aspergillus fumigatus*, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2006**, 28 (5), 450-453.
38. Snelders E., van der Lee H.A.L., Kuijpers J., Rijs A.J.M.M., Varga J., Samson R.A., Mellado E., Donders A.R.T., Melchers W.J.G. and Verweij P.E., Emergence of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* and spread of a single resistance mechanism, *PLoS Med.*, **2008**, 5 (11), 1629-1637.

Bibliographie

39. Verweij P.E., Snelders E., Kema G.H.J., Mellado E. and Melchers W.J.G., Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use?, *Lancet Infect. Dis.*, **2009**, 9 (12), 789-795.
40. Mellado E., Diaz-Guerra T.M., Cuenca-Estrella M. and Rodriguez-Tudela J.L., Identification of two different 14 α sterol demethylase-related genes (*cyp51A* and *cyp51B*) in *Aspergillus fumigatus* and other *Aspergillus* species, *J. Clin. Microbiol.*, **2001**, 39 (7), 2431-2438.
41. Diaz-Guerra T.M., Mellado E., Cuenca-Estrella M. and Rodriguez-Tudela J.L., A point mutation in the 14 α -sterol demethylase gene *cyp51A* contributes to itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, 47 (3), 1120-1124.
42. Mann P.A., Parmegiani R.M., Wei S.-Q., Mendrick C.A., Li X., Loebenberg D., DiDomenico B., Hare R.S., Walker S.S. and McNicholas P.M., Mutations in *Aspergillus fumigatus* resulting in reduced susceptibility to posaconazole appear to be restricted to a single amino acid in the cytochrome P450 14 α -demethylase, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2003**, 47 (2), 577-581.
43. Garcia-Effron G., Dilger A., Alcazar-Fuoli L., Park S., Mellado E. and Perlin D.S., Rapid detection of triazole antifungal resistance in *Aspergillus fumigatus*, *J. Clin. Microbiol.*, **2008**, 46 (4), 1200-1206.
44. Mellado E., Garcia-Effron G., Alcazar-Fuoli L., Melchers W.J.G., Verweij P.E., Cuenca-Estrella M. and Rodriguez-Tudela J.L., A new *Aspergillus fumigatus* resistance mechanism conferring *in vitro* cross-resistance to azole antifungals involves a combination of *cyp51A* alterations, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2007**, 51 (6), 1897-1904.
45. Rodriguez-Tudela J.L., Alcazar-Fuoli L., Mellado E., Alastruey-Izquierdo A., Monzon A. and Cuenca-Estrella M., Epidemiological cutoffs and cross-resistance to azole drugs in *Aspergillus fumigatus*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2008**, 52 (7), 2468-2472.
46. Howard S., Cerar D., Anderson M., Albarrag A., Fisher M., Pasqualotto A., Laverdiere M., Arendrup M., Perlin D. and Denning D., Frequency and evolution of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* associated with treatment failure, *Emerg. Infect. Dis.*, **2009**, 15 (7), 1068-1076.
47. Snelders E., Huis in 't Veld R.A.G., Rijs A.J.M.M., Kema G.H.J., Melchers W.J.G. and Verweij P.E., Possible environmental origin of resistance of *Aspergillus fumigatus* to medical triazoles, *Appl. Environ. Microbiol.*, **2009**, 75 (12), 4053-4057.
48. Manavathu E.K., Vazquez J.A. and Chandrasekar P.H., Reduced susceptibility in laboratory-selected mutants of *Aspergillus fumigatus* to itraconazole due to decreased intracellular accumulation of the antifungal agent, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **1999**, 12 (3), 213-219.
49. da Silva Ferreira M.E., Capellaro J.L., dos Reis Marques E., Malavazi I., Perlin D., Park S., Anderson J.B., Colombo A.L., Arthington-Skaggs B.A., Goldman M.H.S. and Goldman G.H., *In vitro* evolution of itraconazole resistance in *Aspergillus fumigatus* involves

Bibliographie

multiple mechanisms of resistance, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, 48 (11), 4405-4413.

50. Georgopoulos A., Petranyi G., Mieth H. and Drews J., *In vitro* activity of naftifine, a new antifungal agent, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1981**, 19 (3), 386-389.

51. Petranyi G., Meingassner J.G. and Mieth H., Antifungal activity of the allylamine derivative terbinafine *in vitro*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1987**, 31 (9), 1365-1368.

52. Ryder N. and Favre B., Antifungal activity and mechanism of action of terbinafine, *Rev. Contemp. Pharmacother.*, **1997**, 8, 275-288.

53. Denning D.W., Echinocandin antifungal drugs, *Lancet*, **2003**, 362 (9390), 1142-1151.

54. Lacroix C., Dubach M. and Feuilhade M., Les échinocandines : une nouvelle classe d'antifongiques, *Médecine et Maladies Infectieuses*, **2003**, 33 (4), 183-191.

55. Das S., Shivaprakash M.R. and Chakrabarti A., New antifungal agents in pediatric practice, *Indian Pediatr.*, **2009**, 46, 225-231.

56. Bormann A. and Morrison V., Review of the pharmacology and clinical studies of micafungin, *Drug. Des. Devel. Ther.*, **2009**, 3, 295-302.

57. Lanternier F. and Lortholary O., Anidulafungine : une nouvelle option thérapeutique dans les candidoses systémiques, *Médecine et Maladies Infectieuses*, **2010**, 40 (8), 440-448.

58. Bretagne S., De nouvelles molécules pour les infections fongiques ?, *Antibiotiques*, **2009**, 11 (3), 133-141.

59. Mora-Duarte J., Betts R., Rotstein C., Colombo A.L., Thompson-Moya L., Smietana J., Lupinacci R., Sable C., Kartsonis N., Perfect J. and the Caspofungin Invasive Candidiasis Study Group, Comparison of caspofungin and amphotericin B for invasive candidiasis, *N. Engl. J. Med.*, **2002**, 347 (25), 2020-2029.

60. Laverdiere M., Lalonde R.G., Baril J.-G., Sheppard D.C., Park S. and Perlin D.S., Progressive loss of echinocandin activity following prolonged use for treatment of *Candida albicans* oesophagitis, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2006**, 57 (4), 705-708.

61. Baixench M.-T., Aoun N., Desnos-Ollivier M., Garcia-Hermoso D., Bretagne S., Ramires S., Piketty C. and Dannaoui E., Acquired resistance to echinocandins in *Candida albicans*: case report and review, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2007**, 59 (6), 1076-1083.

62. Krogh-Madsen M., Arendrup M.C., Heslet L. and Knudsen J.D., Amphotericin B and caspofungin resistance in *Candida glabrata* isolates recovered from a critically ill patient, *Clin. Infect. Dis.*, **2006**, 42 (7), 938-944.

63. Moudgal V., Little T., Boikov D. and Vazquez J.A., Multiechinocandin- and multiazole-resistant *Candida parapsilosis* isolates serially obtained during therapy for prosthetic valve endocarditis, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2005**, 49 (2), 767-769.

Bibliographie

64. Madureira A., Bergeron A., Lacroix C., Robin M., Rocha V., de Latour R.P., Ferry C., Devergie A., Lapalu J., Gluckman E., Socié G., Ghannoum M. and Ribaud P., Breakthrough invasive aspergillosis in allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients treated with caspofungin, *Int. J. Antimicrob. Agents*, **2007**, *30* (6), 551-554.
65. Eschertzhuber S., Velik-Salchner C., Hoermann C., Hoefler D. and Lass-Flörl C., Caspofungin-resistant *Aspergillus flavus* after heart transplantation and mechanical circulatory support: a case report, *Transpl. Infect. Dis.*, **2008**, *10* (3), 190-192.
66. Van Cutsem J. and Janssen P.A.J., Les azoles antifongiques, *Médecine et Maladies Infectieuses*, **1984**, *14* (11), 510-517.
67. Sneader W., Drug Discovery : A History, Ed. Wiley and Sons, **2005**, 472 pages.
68. Comprehensive Medicinal Chemistry II Volume 7 : Therapeutic Areas II: Cancer, Infectious Diseases, Inflammation & Immunology and Dermatology, Ed. Elsevier Science, **2006**, 1060 pages.
69. Stevens D.A., Azoles in the management of systemic fungal infections, *Infect. Dis. Clin. Pract.*, **2004**, *12* (2), 81-92.
70. Kunze K.L., Nelson W.L., Kharasch E.D., Thummel K.E. and Isoherranen N., Stereochemical aspects of itraconazole metabolism *in vitro* and *in vivo*, *Drug Metab. Dispos.*, **2006**, *34* (4), 583-590.
71. Hostetler J.S., Heykants J., Clemons K.V., Woestenborghs R., Hanson L.H. and Stevens D.A., Discrepancies in bioassay and chromatography determinations explained by metabolism of itraconazole to hydroxyitraconazole: studies of interpatient variations in concentrations, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1993**, *37* (10), 2224-2227.
72. Maertens J., History of the development of azole derivatives, *Clin. Microbiol. Infect.*, **2004**, *10* (s1), 1-10.
73. Comprehensive Medicinal Chemistry II Volume 8 : Case Histories, Ed. Elsevier Science, **2006**, 644 pages.
74. Morris M.I., Posaconazole: a new oral antifungal agent with an expanded spectrum of activity, *Am. J. Health. Syst. Pharm.*, **2009**, *66* (3), 225-236.
75. Paugam A., Actualités sur le posaconazole, *Médecine et Maladies Infectieuses*, **2007**, *37* (2), 71-76.
76. Wolff M., Bouadma L. and Mourvillier B., Apport des nouveaux azolés dans la prise en charge des infections fongiques, *Thérapie*, **2006**, *61* (3), 227-233.
77. Kauffman C.A., Malani A.N., Easley C. and Kirkpatrick P., Posaconazole, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **2007**, *6* (3), 183-184.
78. Ueda Y., Matiskella J.D., Golik J., Connolly T.P., Hudyma T.W., Venkatesh S., Dali M., Kang S.-H., Barbour N., Tejwani R., Varia S., Knipe J., Zheng M., Mathew M., Mosure

Bibliographie

- K., Clark J., Lamb L., Medin I., Gao Q., Huang S., Chen C.-P. and Bronson J.J., Phosphonoxyethyl prodrugs of the broad spectrum antifungal azole, ravuconazole: synthesis and biological properties, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13* (21), 3669-3672.
79. Pasqualotto A.C. and Denning D.W., New and emerging treatments for fungal infections, *J. Antimicrob. Chemother.*, **2008**, *61* (s1), i19-i30.
80. Thompson G. and Wiederhold N., Isavuconazole: a comprehensive review of spectrum of activity of a new triazole, *Mycopathologia*, **2010**, *In press*.
81. Schmitt-Hoffmann A., Roos B., Heep M., Schleimer M., Weidekamm E., Brown T., Roehrl M. and Beglinger C., Single-ascending-dose pharmacokinetics and safety of the novel broad-spectrum antifungal triazole BAL4815 after intravenous infusions (50, 100, and 200 milligrams) and oral administrations (100, 200, and 400 milligrams) of its prodrug, BAL8557, in healthy volunteers, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2006**, *50* (1), 279-285.
82. Capilla J., Ortoneda M., Pastor F.J. and Guarro J., *In vitro* antifungal activities of the new triazole UR-9825 against clinically important filamentous fungi, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2001**, *45* (9), 2635-2637.
83. Ramos G., Cuenca-Estrella M., Monzon A. and Rodriguez-Tudela J.L., *In vitro* comparative activity of UR-9825, itraconazole and fluconazole against clinical isolates of *Candida* spp, *J. Antimicrob. Chemother.*, **1999**, *44* (2), 283-286.
84. Girmenia C., New generation azole antifungals in clinical investigation, *Expert Opin. Invest. Drugs*, **2009**, *18* (9), 1279-1295.
85. Pasqualotto A., Thiele K. and Goldani L., Novel triazole antifungal drugs: focus on isavuconazole, ravuconazole and albaconazole, *Curr. Opin. Investig. Drugs*, **2010**, *11* (2), 165-174.
86. Site internet <http://drnelson.uthsc.edu/cytochromeP450.html>.
87. Lepesheva G.I., Hargrove T.Y., Kleshchenko Y., Nes W.D., Villalta F. and Waterman M.R., CYP51: a major drug target in the cytochrome P450 superfamily, *Lipids*, **2008**, *43* (12), 1117-1125.
88. Lepesheva G.I. and Waterman M.R., Sterol 14 α -demethylase cytochrome P450 (CYP51), a P450 in all biological kingdoms, *Biochim. Biophys. Acta*, **2007**, *1770* (3), 467-477.
89. Lepesheva G.I. and Waterman M.R., Structural basis for conservation in the CYP51 family, *Biochim. Biophys. Acta*, **2010**, *In Press, Corrected Proof*
90. Xiao L., Madison V., Chau A.S., Loebenberg D., Palermo R.E. and McNicholas P.M., Three-dimensional models of wild-type and mutated forms of cytochrome P450 14 α -sterol demethylases from *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* provide insights into posaconazole binding, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, *48* (2), 568-574.

Bibliographie

91. Sheng C., Zhang W., Zhang M., Song Y., Ji H., Zhu J., Yao J., Yu J., Yang S., Zhou Y., Zhu J. and Lu J., Homology modeling of lanosterol 14 α -demethylase of *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* and insights into the enzyme-substrate interactions, *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **2004**, 22 (1), 91-99.
92. Sheng C., Miao Z., Ji H., Yao J., Wang W., Che X., Dong G., Lu J., Guo W. and Zhang W., Three-dimensional model of lanosterol 14 α -demethylase from *Cryptococcus neoformans*: active-site characterization and insights into azole binding, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2009**, 53 (8), 3487-3495.
93. Sheng C., Wang W., Che X., Dong G., Wang S., Ji H., Miao Z., Yao J. and Zhang W., Improved model of lanosterol 14 α -demethylase by ligand-supported homology modeling: validation by virtual screening and azole optimization, *ChemMedChem*, **2010**, 5 (3), 390-397.
94. Podust L.M., Poulos T.L. and Waterman M.R., Crystal structure of cytochrome P450 14 α -sterol demethylase (CYP51) from *Mycobacterium tuberculosis* in complex with azole inhibitors, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2001**, 98 (6), 3068-3073.
95. Sheng C., Zhang W., Ji H., Zhang M., Song Y., Xu H., Zhu J., Miao Z., Jiang Q., Yao J., Zhou Y., Zhu J. and Lü J., Structure-based optimization of azole antifungal agents by CoMFA, CoMSIA, and molecular docking, *J. Med. Chem.*, **2006**, 49 (8), 2512-2525.
96. Chen S.-H., Sheng C.-Q., Xu X.-H., Jiang Y.-Y., Zhang W.-N. and He C., Identification of Y118 amino acid residue in *Candida albicans* sterol 14 α -demethylase associated with the enzyme activity and selective antifungal activity of azole analogues, *Biol. Pharm. Bull.*, **2007**, 30 (7), 1246-1253.
97. Sheng C., Chen S., Ji H., Dong G., Che X., Wang W., Miao Z., Yao J., Lü J., Guo W. and Zhang W., Evolutionary trace analysis of CYP51 family: implication for site-directed mutagenesis and novel antifungal drug design, *J. Mol. Model.*, **2010**, 16 (2), 279-284.
98. Le Borgne M., Na Y.M., Pagniez F., Le Baut G., Le Pape P. and Abdala H., Antifungal and/or antiparasitic pharmaceutical composition and novel indole derivatives as active principle of such a composition, Brevet US 2004067998 A1, publié le **8 avril 2004**.
99. Lebouvier N., Pagniez F., Duflos M., Le Pape P., Na Y.M., Le Baut G. and Le Borgne M., Synthesis and antifungal activities of new fluconazole analogues with azaheterocycle moiety, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17 (13), 3686-3689.
100. Giraud F., Conception rationnelle, synthèse et évaluation de dérivés hétérocycliques azotés à activités antifongique et/ou antileishmanienne, *Thèse de doctorat*, Université de Nantes, soutenue le **9 octobre 2007**.
101. Giraud F., Logé C., Pagniez F., Crepin D., Le Pape P. and Le Borgne M., Design, synthesis, and evaluation of 1-(*N*-benzylamino)-2-phenyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols as antifungal agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18 (6), 1820-1824.
102. Giraud F., Guillon R., Logé C., Pagniez F., Picot C., Borgne M.L. and Pape P.L., Synthesis and structure-activity relationships of 2-phenyl-1-[(pyridinyl- and

piperidinylmethyl)amino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols as antifungal agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19* (2), 301-304.

103. Guillon R., Giraud F., Logé C., Le Borgne M., Picot C., Pagniez F. and Le Pape P., Design of new antifungal agents: synthesis and evaluation of 1-[(1*H*-indol-5-ylmethyl)amino]-2-phenyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19* (20), 5833-5836.

104. Guillon R., Logé C., Pagniez F., Ferchaud-Roucher V., Duflos M., Picot C. and Le Pape P., Synthesis and *in vitro* antifungal evaluation of 2-(2,4-difluorophenyl)-1-[(1*H*-indol-3-ylmethyl)methylamino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2010**, doi: 10.3109/14756366.2010.503607.

105. Lemoine R.C., Glinka T.W., Watkins W.J., Cho A., Yang J., Iqbal N., Singh R., Madsen D., Lolans K., Lomovskaya O., Oza U. and Dudley M.N., Quinazolinone-based fungal efflux pump inhibitors. Part 1: discovery of an (*N*-methylpiperazine)-containing derivative with activity in clinically relevant *Candida* spp, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14* (20), 5127-5131.

106. Watkins W.J., Lemoine R.C., Chong L., Cho A., Renau T.E., Kuo B., Wong V., Ludwikow M., Garizi N., Iqbal N., Barnard J., Jankowska R., Singh R., Madsen D., Lolans K., Lomovskaya O., Oza U. and Dudley M.N., Quinazolinone fungal efflux pump inhibitors. Part 2: *in vitro* structure-activity relationships of (*N*-methyl-piperazinyl)-containing derivatives, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *14* (20), 5133-5137.

107. Watkins W.J., Chong L., Cho A., Hilgenkamp R., Ludwikow M., Garizi N., Iqbal N., Barnard J., Singh R., Madsen D., Lolans K., Lomovskaya O., Oza U., Kumaraswamy P., Blecken A., Bai S., Loury D.J., Griffith D.C. and Dudley M.N., Quinazolinone fungal efflux pump inhibitors. Part 3: (*N*-methyl)piperazine variants and pharmacokinetic optimization, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17* (10), 2802-2806.

108. Watkins W.J., Lemoine R.C., Cho A. and Palme M., Fungal efflux pump inhibitors, Brevet US 20030229097 A1, publié le **11 décembre 2003**.

109. Lebouvier N., Giraud F., Corbin T., Na Y.M., Le Baut G., Marchand P. and Le Borgne M., Efficient microwave-assisted synthesis of 1-(1*H*-indol-1-yl)-2-phenyl-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols as antifungal agents, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47* (36), 6479-6483.

110. Corey E.J. and Chaykovsky M., Dimethyloxosulfonium methylide ((CH₃)₂SOCH₂) and dimethylsulfonium methylide ((CH₃)₂SCH₂). Formation and application to organic synthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, *87* (6), 1353-1364.

111. Yang Y., Martin A., Nelson D. and Regan J., Synthesis of some 5-substituted indoles, *Heterocycles*, **1992**, *34* (6), 1169-1175.

112. Dhanoa D.S., Bagley S.W., Chang R.S.L., Lotti V.J., Chen T.B., Kivlighn S.D., Zingaro G.J., Siegl P.K.S., Patchett A.A. and Greenlee W.J., Non-peptide angiotensin II receptor antagonists. 1. Design, synthesis, and biological activity of *N*-substituted indoles and dihydroindoles, *J. Med. Chem.*, **1993**, *36* (26), 4230-4238.

Bibliographie

113. Thomas C.J., Wolak M.A., Birge R.R. and Lees W.J., Improved synthesis of indolyl fulgides, *J. Org. Chem.*, **2001**, 66 (5), 1914-1918.
114. Marchi I., Rebelo R.A., Rosa F.A.F.d. and Maiocchi R.A., Synthesis and evaluation of the plant growth regulator property of indolic compounds derived from safrole, *Quim. Nova*, **2007**, 30 (4), 763-767.
115. Henry L., *Compt. Rend.*, **1895**, 120, 1265-1268.
116. Yang L.-M., Chen C.-F. and Lee K.-H., Synthesis of rutaecarpine and cytotoxic analogues, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5 (5), 465-468.
117. Sinhababu A.K. and Borchardt R.T., Silica gel assisted reductive cyclization of alkoxy-2,β-dinitrostyrenes to alkoxyindoles, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48 (19), 3347-3349.
118. Rajeswari S., Drost K.J. and Cava M.P., A convenient reductive cyclisation of 2-nitro-beta-nitrostyrenes to indoles, *Heterocycles*, **1989**, 29 (3), 415-418.
119. Zessin J. and Steinbach J., ¹¹C-labelling of heterocyclic aromatic compounds in ring positions: synthesis of [2-¹¹C]indole, *J. Label. Compd. Radiopharm.*, **1998**, 41 (7), 669-676.
120. Smith G.F., Indoles. Part I. The formylation of indole and some reactions of 3-formylindole, *J. Chem. Soc.*, **1954**, 3842-3846.
121. Davies J.R., Kane P.D., Moody C.J. and Slawin A.M.Z., Control of competing N-H insertion and Wolff rearrangement in dirhodium(II)-catalyzed reactions of 3-indolyl diazoketoesters. Synthesis of a potential precursor to the marine 5-(3-indolyl)oxazole Martefragin A, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70 (15), 5840-5851.
122. Greene T.W. and Wuts P.G.M., Protective groups in organic synthesis, Ed. Wiley and Sons, **1999**, 779 pages.
123. Stahl G.L., Walter R. and Smith C.W., General procedure for the synthesis of mono-N-acylated 1,6-diaminohexanes, *J. Org. Chem.*, **1978**, 43 (11), 2285-2286.
124. Routier S., Saugé L., Ayerbe N., Coudert G. and Mérour J.-Y., A mild and selective method for N-Boc deprotection, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43 (4), 589-591.
125. Ku J.-M., Jeong B.-S., Jew S.-s. and Park H.-g., Enantioselective synthesis of (-)-cis-Clavicipitic acid, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72 (21), 8115-8118.
126. Lupetti A., Danesi R., Campa M., Tacca M.D. and Kelly S., Molecular basis of resistance toazole antifungals, *Trends Mol. Med.*, **2002**, 8 (2), 76-81.
127. Naganawa A., Matsui T., Ima M., Saito T., Murota M., Aratani Y., Kijima H., Yamamoto H., Maruyama T., Ohuchida S., Nakai H. and Toda M., Further optimization of sulfonamide analogs as EP1 receptor antagonists: synthesis and evaluation of bioisosteres for the carboxylic acid group, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14 (21), 7121-7137.

128. Kim J.-G. and Jang D.O., Mild and efficient indium metal catalyzed synthesis of sulfonamides and sulfonic esters, *Synlett*, **2007**, 2007 (16), 2501-2504.
129. Teolato P., Rampazzo E., Arduini M., Mancin F., Tecilla P. and Tonellato U., Silica nanoparticles for fluorescence sensing of Zn^{II}: exploring the covalent strategy, *Chem. Eur. J.*, **2007**, 13 (8), 2238-2245.
130. Yang S.-M., Scannevin R.H., Wang B., Burke S.L., Wilson L.J., Karnachi P., Rhodes K.J., Lagu B. and Murray W.V., β -N-Biaryl ether sulfonamide hydroxamates as potent gelatinase inhibitors: Part 1. Design, synthesis, and lead identification, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, 18 (3), 1135-1139.
131. Chau A.S., Mendrick C.A., Sabatelli F.J., Loebenberg D. and McNicholas P.M., Application of real-time quantitative PCR to molecular analysis of *Candida albicans* strains exhibiting reduced susceptibility to azoles, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2004**, 48 (6), 2124-2131.
132. Goldman G.H., da Silva Ferreira M.E., dos Reis Marques E., Savoldi M., Perlin D., Park S., Godoy Martinez P.C., Goldman M.H.S. and Colombo A.L., Evaluation of fluconazole resistance mechanisms in *Candida albicans* clinical isolates from HIV-infected patients in Brazil, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **2004**, 50 (1), 25-32.
133. Perea S., Lopez-Ribot J.L., Kirkpatrick W.R., McAtee R.K., Santillan R.A., Martinez M., Calabrese D., Sanglard D. and Patterson T.F., Prevalence of molecular mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* strains displaying high-level fluconazole resistance isolated from human immunodeficiency virus-infected patients, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2001**, 45 (10), 2676-2684.
134. Löffler J., Kelly S.L., Hebart H., Schumacher U., Lass-Flörl C. and Einsele H., Molecular analysis of cyp51 from fluconazole-resistant *Candida albicans* strains, *FEMS Microbiol. Lett.*, **1997**, 151 (2), 263-268.
135. White T.C., Holleman S., Dy F., Mirels L.F. and Stevens D.A., Resistance mechanisms in clinical isolates of *Candida albicans*, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46 (6), 1704-1713.
136. Miyaura N. and Suzuki A., Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organoboron compounds, *Chem. Rev.*, **1995**, 95 (7), 2457-2483.
137. Corbet J.-P. and Mignani G., Selected patented cross-coupling reaction technologies, *Chem. Rev.*, **2006**, 106 (7), 2651-2710.
138. Moreno-Manas M., Perez M. and Pleixats R., Palladium-catalyzed Suzuki-type self-coupling of arylboronic acids. A mechanistic study, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61 (7), 2346-2351.
139. Ishiyama T., Kizaki H., Hayashi T., Suzuki A. and Miyaura N., Palladium-catalyzed carbonylative cross-coupling reaction of arylboronic acids with aryl electrophiles: synthesis of biaryl ketones, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63 (14), 4726-4731.

140. Jiang N. and Ragauskas A.J., Environmentally friendly synthesis of biaryls: Suzuki reaction of aryl bromides in water at low catalyst loadings, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47 (2), 197-200.
141. Bei X., Turner H.W., Weinberg W.H., Guram A.S. and Petersen J.L., Palladium/P,O-ligand-catalyzed Suzuki cross-coupling reactions of arylboronic acids and aryl chlorides. Isolation and structural characterization of (P,O)-Pd(dba) complex, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64 (18), 6797-6803.
142. Wallow T.I. and Novak B.M., Highly efficient and accelerated Suzuki aryl couplings mediated by phosphine-free palladium sources, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59 (17), 5034-5037.
143. Thompson W.J., Jones J.H., Lyle P.A. and Thies J.E., An efficient synthesis of arylpyrazines and bipyridines, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53 (9), 2052-2055.
144. Tagata T. and Nishida M., Palladium charcoal-catalyzed Suzuki-Miyaura coupling to obtain arylpyridines and arylquinolines, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68 (24), 9412-9415.
145. Inada K. and Miyaura N., The cross-coupling reaction of arylboronic acids with chloropyridines and electron-deficient chloroarenes catalyzed by a polymer-bound palladium complex, *Tetrahedron*, **2000**, 56 (44), 8661-8664.
146. Inada K. and Miyaura N., Synthesis of biaryls via cross-coupling reaction of arylboronic acids with aryl chlorides catalyzed by NiCl₂/Triphenylphosphine complexes, *Tetrahedron*, **2000**, 56 (44), 8657-8660.
147. Zim D. and Monteiro A.L., Suzuki cross-coupling of aryl halides with aryl boronic acids catalyzed by phosphine-free NiCl₂·6H₂O, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43 (22), 4009-4011.
148. Griffiths C. and Leadbeater N.E., Palladium and nickel catalysed Suzuki cross-coupling of sterically hindered aryl bromides with phenylboronic acid, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41 (14), 2487-2490.
149. Li J.-H. and Liu W.-J., Dabco as an inexpensive and highly efficient ligand for palladium-catalyzed Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction, *Org. Lett.*, **2004**, 6 (16), 2809-2811.
150. Darses S., Jeffery T., Genet J.-P., Brayer J.-L. and Demoute J.-P., Cross-coupling of arenediazonium tetrafluoroborates with arylboronic acids catalysed by palladium, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (22), 3857-3860.
151. Molander G.A. and Biolatto B., Efficient ligandless palladium-catalyzed Suzuki reactions of potassium aryltrifluoroborates, *Org. Lett.*, **2002**, 4 (11), 1867-1870.
152. Gong Y. and He W., Direct synthesis of unprotected 4-aryl phenylalanines via the Suzuki reaction under microwave irradiation, *Org. Lett.*, **2002**, 4 (22), 3803-3805.
153. Bouillon A., Lancelot J.-C., Collot V., Bovy P.R. and Rault S., Synthesis of novel halopyridinylboronic acids and esters. Part 1: 6-halopyridin-3-yl-boronic acids and esters, *Tetrahedron*, **2002**, 58 (14), 2885-2890.

154. Parry P.R., Wang C., Batsanov A.S., Bryce M.R. and Tarbit B., Functionalized pyridylboronic acids and their Suzuki cross-coupling reactions to yield novel heteroarylpyridines, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67 (21), 7541-7543.
155. Parham W.E. and Piccirilli R.M., Selective halogen-lithium exchange in 2,5-dibromobenzenes and 2,5-dibromopyridine, *J. Org. Chem.*, **1977**, 42 (2), 257-260.
156. Zoltewicz J.A., Grahe G. and Smith C.L., Unusual influence of nitrogen on rates of anion formation. Hydrogen-deuterium exchange of pyridine and the diazines, *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91 (20), 5501-5505.
157. Tsou H.-R., Otteng M., Tran T., Floyd M.B., Reich M., Birnberg G., Kutterer K., Ayril-Kaloustian S., Ravi M., Nilakantan R., Grillo M., McGinnis J.P. and Rabindran S.K., 4-(Phenylaminomethylene)isoquinoline-1,3(2*H*,4*H*)-diones as potent and selective inhibitors of the Cyclin-Dependent Kinase 4 (CDK4), *J. Med. Chem.*, **2008**, 51 (12), 3507-3525.
158. Tran J.A., Jiang W., Tucci F.C., Fleck B.A., Wen J., Sai Y., Madan A., Chen T.K., Markison S., Foster A.C., Hoare S.R., Marks D., Harman J., Chen C.W., Arellano M., Marinkovic D., Bozigian H., Saunders J. and Chen C., Design, synthesis, *in vitro*, and *in vivo* characterization of phenylpiperazines and pyridinylpiperazines as potent and selective antagonists of the melanocortin-4 receptor, *J. Med. Chem.*, **2007**, 50 (25), 6356-6366.
159. Louie J. and Hartwig J.F., Palladium-catalyzed synthesis of arylamines from aryl halides. Mechanistic studies lead to coupling in the absence of tin reagents, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36 (21), 3609-3612.
160. Guram A.S., Rennels R.A. and Buchwald S.L., A simple catalytic method for the conversion of aryl bromides to arylamines, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, 34 (12), 1348-1350.
161. van Leeuwen P.W.N.M., Kamer P.C.J., Reek J.N.H. and Dierkes P., Ligand bite angle effects in metal-catalyzed C-C bond formation, *Chem. Rev.*, **2000**, 100 (8), 2741-2770.
162. Wagaw S. and Buchwald S.L., The synthesis of aminopyridines: a method employing palladium-catalyzed carbon-nitrogen bond formation, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61 (21), 7240-7241.
163. Hauser C.R. and Weiss M.J., Substitutions at the α - or γ -positions in pyridyl ring systems by basic reagents, *J. Org. Chem.*, **1949**, 14 (2), 310-321.
164. Xia N. and Taillefer M., A very simple copper-catalyzed synthesis of anilines by employing aqueous ammonia, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, 48 (2), 337-339.
165. Elmkaddem M., Fischmeister C., Thomas C. and Renaud J., Efficient synthesis of aminopyridine derivatives by copper catalyzed amination reactions, *Chem. Commun.*, **2010**, 46 (6), 925-927.
166. Lee S., Jorgensen M. and Hartwig J.F., Palladium-catalyzed synthesis of arylamines from aryl halides and lithium bis(trimethylsilyl)amide as an ammonia equivalent, *Org. Lett.*, **2001**, 3 (17), 2729-2732.

Bibliographie

167. Trabanco A.A., Vega J.A. and Fernandez M.A., Fluorous-tagged carbamates for the Pd-catalyzed amination of aryl halides, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72 (21), 8146-8148.
168. Anjanappa P., Mullick D., Selvakumar K. and Sivakumar M., 2-(Trimethylsilyl)ethanesulfonyl amide as a new ammonia equivalent for palladium-catalyzed amination of aryl halides, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49 (31), 4585-4587.
169. Wolfe J.P., Åhman J., Sadighi J.P., Singer R.A. and Buchwald S.L., An ammonia equivalent for the palladium-catalyzed amination of aryl halides and triflates, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38 (36), 6367-6370.
170. Mann G., Hartwig J.F., Driver M.S. and Fernandez-Rivas C., Palladium-catalyzed C-N(sp²) bond formation: *N*-arylation of aromatic and unsaturated nitrogen and the reductive elimination chemistry of palladium azolyl and methyleneamido complexes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120 (4), 827-828.
171. Wessjohann L., McGaffin G. and de Meijere A., 1,4-Addition of (diphenylmethylene)amine to acceptor substituted olefins. A versatile synthesis of protected β -amino acids, nitriles, and ketones, *Synthesis*, **1989**, 05, 359-363.
172. Fath K.-J., Antoni G. and Langström B., Asymmetric synthesis of L-[3-¹¹C]alanine and L-[3-¹¹C]phenylalanine by a phase-transfer alkylation reaction, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1988**, 3081-3084.
173. O'Donnell M.J., Boniece J.M. and Earp S.E., The synthesis of amino acids by phase-transfer reactions, *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 19 (30), 2641-2644.
174. Liu Z., Chen X., Yu L., Zhen X. and Zhang A., Synthesis and pharmacological investigation of novel 2-aminothiazole-privileged aporphines, *Bioorg. Med. Chem.*, **2008**, 16 (14), 6675-6681.
175. Filla S.A., Mathes B.M., Johnson K.W., Phebus L.A., Cohen M.L., Nelson D.L., Zgombick J.M., Erickson J.A., Schenck K.W., Wainscott D.B., Branchek T.A. and Schaus J.M., Novel potent 5-HT_{1F} receptor agonists: structure-activity studies of a series of substituted *N*-[3-(1-methyl-4-piperidiny)-1*H*-pyrrolo[3,2-*b*]pyridin-5-yl]amides, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46 (14), 3060-3071.
176. Lepesheva G.I., Park H.-W., Hargrove T.Y., Vanhollebeke B., Wawrzak Z., Harp J.M., Sundaramoorthy M., Nes W.D., Pays E., Chaudhuri M., Villalta F. and Waterman M.R., Crystal structures of *Trypanosoma brucei* sterol 14 α -demethylase and implications for selective treatment of human infections, *J. Biol. Chem.*, **2010**, 285 (3), 1773-1780.
177. Strushkevich N., Usanov S.A. and Park H.-W., Structural basis of human CYP51 inhibition by antifungal azoles, *J. Mol. Biol.*, **2010**, 397 (4), 1067-1078.
178. Upadhayaya R.S., Jain S., Sinha N., Kishore N., Chandra R. and Arora S.K., Synthesis of novel substituted tetrazoles having antifungal activity, *Eur. J. Med. Chem.*, **2004**, 39 (7), 579-592.

Bibliographie

179. Muratore M.E., Holloway C.A., Pilling A.W., Storer R.I., Trevitt G. and Dixon D.J., Enantioselective bronsted acid-catalyzed *N*-acyliminium cyclization cascades, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131* (31), 10796-10797.
180. Pagniez F. and Le Pape P., New fluorometric screening test for possible antifungal drugs, *J. Mycol. Med.*, **2001**, *11* (2), 73-78.
181. Sorbera L., Bartroli J. and Castañer J., Albaconazole, *Drugs Future*, **2003**, *28* (6), 529-537.
182. Bartroli O.J. and Anguita L.M., Method for preparing pyrimidone derivatives with antifungal activity, Brevet WO 0166519 A2, publié le **13 septembre 2001**.
183. Besson T., Guillard J. and Rees C.W., Multistep synthesis of thiazoloquinazolines under microwave irradiation in solution, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41* (7), 1027-1030.
184. Alexandre F.-R., Berecibar A., Wrigglesworth R. and Besson T., Efficient synthesis of thiazoloquinazolinone derivatives, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44* (24), 4455-4458.
185. Testard A., Picot L., Lozach O., Blairvacq M., Meijer L., Murillo L., Piot J.-M., Thiéry V. and Besson T., Synthesis and evaluation of the antiproliferative activity of novel thiazoloquinazolinone kinases inhibitors, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2005**, *20* (6), 557-568.
186. Testard A., Logé C., Léger B., Robert J.-M., Lozach O., Blairvacq M., Meijer L., Thiéry V. and Besson T., Thiazolo[5,4-*f*]quinazolin-9-ones, inhibitors of glycogen synthase kinase-3, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16* (13), 3419-3423.
187. Appel R., Janssen H., Siray M. and Knoch F., Synthese und Reaktionen des 4,5-Dichlor-1,2,3-dithiazolium-chlorids, *Chem. Ber.*, **1985**, *118* (4), 1632-1643.
188. Rees C.W., Polysulfur-nitrogen heterocyclic chemistry, *J. Heterocycl. Chem.*, **1992**, *29* (3), 639-651.
189. Besson T. and Rees C., Some chemistry of 4, 5-dichloro-1, 2, 3-dithiazolium chloride and its derivatives, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1995**, *13*, 1659-1662.
190. Rakitin O.A., Rees C.W. and Vlasova O.G., Direct synthesis of 2-cyanobenzimidazoles and the generation of S2, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37* (26), 4589-4592.
191. Baraldi P.G., Pavani M.G., Nuñez M.d.C., Brigidi P., Vitali B., Gambari R. and Romagnoli R., Antimicrobial and antitumor activity of *N*-heteroimmine-1,2,3-dithiazoles and their transformation in triazolo-, imidazo-, and pyrazolopyrimidines, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, *10* (2), 449-456.
192. Besson T., Emayan K. and Rees C., 1,2,3-Dithiazoles and new routes to 3,1-benzoxazin-4-ones, 3,1-benzothiazin-4-ones and *N*-arylcyanothioformamides, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1995**, *17*, 2097-2102.

Bibliographie

193. Besson T., Guillaumet G., Lamazzi C. and Rees C.W., Synthesis of 3,1-benzoxazines, 3,1-benzothiazines and 3,1-benzoxazepines via *N*-arylimino-1,2,3-dithiazoles, *Synlett*, **1997**, 06, 704-706.
194. Chang Y.-G. and Kim K., Synthesis of 3-aryl-3,4-dihydro-4-hydroxy-4-phenylquinazoline-2-carbonitrile via 2-(benzoyl)arylimino-4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazoles, *Synlett*, **2002**, 09, 1423-1426.
195. de Fatima Pereira M., Thiéry V. and Besson T., Synthesis of novel 2,3-substituted quinazolin-4-ones by condensation of alkyl or aromatic diamines with 5-(*N*-arylimino)-4-chloro-5*H*-1,2,3-dithiazoles, *Tetrahedron*, **2007**, 63 (4), 847-854.
196. Iwakawa T. and Murabayashi A., New synthesis of 5-cyano-1,2,4-thiadiazoles, *Heterocycles*, **1999**, 51 (4), 811-819.
197. English R., Rakitin O., Rees C. and Vlasova O., Conversion of imino-1,2,3-dithiazoles into 2-cyanobenzothiazoles, cyanoimidoyl chlorides and diatomic sulfur, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1997**, 3, 201-206.
198. Bénéteau V., Besson T., Guillard J., Léonce S. and Pfeiffer B., Synthesis and *in vitro* antitumour evaluation of benzothiazole-2-carbonitrile derivatives, *Eur. J. Med. Chem.*, **1999**, 34 (12), 1053-1060.
199. Frère S., Thiéry V., Bailly C. and Besson T., Novel 6-substituted benzothiazol-2-yl indolo[1,2-*c*]quinazolines and benzimidazo[1,2-*c*]quinazolines, *Tetrahedron*, **2003**, 59 (6), 773-779.
200. Kim K., Synthesis and Reactions of 1,2,3-Dithiazoles, *Sulfur reports*, **1998**, 21 (2), 147-207.
201. Besson T., Dozias M., Guillard J. and Rees C., New route to 2-cyanobenzothiazoles via *N*-arylimino-1,2,3-dithiazoles, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1998**, 23, 3925-3926.
202. Alexandre F.-R., Berecibar A. and Besson T., Microwave-assisted Niementowski reaction. Back to the roots, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43 (21), 3911-3913.
203. Watanabe T., Kobayashi A., Nishiura M., Takahashi H., Usui T., Kamiyama I., Mochizuki N., Noritake K., Yokoyama Y. and Murakami Y., Synthetic studies on indoles and related compounds. XXVI, The debenzoylation of protected indole nitrogen with aluminum chloride (2), *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, 39 (5), 1152-1156.
204. Mattalia J.-M., Marchi-Delapierre C., Hazimeh H. and Chanon M., The reductive decyanation reaction: chemical methods and synthetic applications, *Arkivoc*, **2006**, 4, 90-118.
205. Testard A., Synthèse de thiazoloquinazolinones angulaires *N*-alkylées à visée thérapeutique, *Thèse de doctorat*, Université de La Rochelle, soutenue le **9 mars 2006**.
206. Kamal A., Srinivasa Reddy K., Rajendra Prasad B., Hari Babu A. and Ramana A.V., Microwave enhanced reduction of nitro and azido arenes to *N*-arylformamides employing Zn-

Bibliographie

HCOONH₄: synthesis of 4(3*H*)-quinazolinones and pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepines, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45 (34), 6517-6521.

207. Kundu S., Mahindaratne M., Quintero M., Bao A. and Negretea G., One-pot reductive cyclization to antitumor quinazoline precursors, *Arkivoc*, **2008**, 2, 33-42.

208. Rewcastle G.W., Palmer B.D., Bridges A.J., Showalter H.D.H., Sun L., Nelson J., McMichael A., Kraker A.J., Fry D.W. and Denny W.A., Tyrosine kinase inhibitors. 9. Synthesis and evaluation of fused tricyclic quinazoline analogues as ATP site inhibitors of the tyrosine kinase activity of the epidermal growth factor receptor, *J. Med. Chem.*, **1996**, 39 (4), 918-928.

209. Yoo S.-e. and Lee S.-h., Reduction of organic compounds with sodium borohydride-copper(II) sulfate system, *Synlett*, **1990**, 07, 419-420.

210. Clive D., Angoh A.G. and Bennett S.M., Radical spirocyclization: synthesis of an appropriately oxygenated spiro compound related to the antitumor antibiotic fredericamycin A, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52 (7), 1339-1342.

211. Mee S.P.H., Lee V., Baldwin J.E. and Cowley A., Total synthesis of 5,5',6,6'-tetrahydroxy-3,3'-biindolyl, the proposed structure of a potent antioxidant found in beetroot (*Beta vulgaris*), *Tetrahedron*, **2004**, 60 (16), 3695-3712.

212. Krolski M.E., Renaldo A.F., Rudisill D.E. and Stille J.K., Palladium-catalyzed coupling of 2-bromoanilines with vinylstannanes. A regiocontrolled synthesis of substituted indoles, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53 (6), 1170-1176.

213. Besson T., Rees C., Roe D. and Thiéry V., Imidazoquinolinethiones from 8-aminoquinolines by a novel peri-participation, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **2000**, 4, 555-561.

214. Tasaka A., Tamura N., Matsushita Y., Teranishi K., Hayashi R., Okonogi K. and Itoh K., Optically active antifungal azoles. I. Synthesis and antifungal activity of (2*R*,3*R*)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-mercapto-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-2-butanol and its stereoisomers, *Chem. Pharm. Bull.*, **1993**, 41 (6), 1035-1041.

215. Konosu T., Miyaoka T., Tajima Y. and Oida S., Triazole antifungals. III. Stereocontrolled synthesis of an optically active triazolylmethyloxirane precursor to antifungal oxazolidine derivatives, *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, 39 (9), 2241-2246.

216. Gala D., DiBenedetto D.J., Clark J.E., Murphy B.L., Schumacher D.P. and Steinman M., Preparations of antifungal Sch 42427/SM 9164: preparative chromatographic resolution, and total asymmetric synthesis *via* enzymatic preparation of chiral α -hydroxy arylketones, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (5), 611-614.

217. Demir A.S., Hamamci H., Sesenoglu O., Aydogan F., Capanoglu D. and Neslihanoglu R., Simple chemoenzymatic access to enantiopure pharmacologically interesting (*R*)-2-hydroxypropiophenones, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, 12 (13), 1953-1956.

Bibliographie

218. Gala D. and DiBenedetto D.J., A rational approach to chiral α -hydroxy aryl ketones from chiral aryl epoxides via regioselective, stereo retentive oxidative epoxide opening: its application to the synthesis of antifungal Sch 42427/SM 9164, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35 (45), 8299-8302.
219. Demir A.S., Sesenoglu Ö., Eren E., Hosrik B., Pohl M., Janzen E., Kolter D., Feldmann R., Dünkemann P. and Müller M., Enantioselective synthesis of α -hydroxy ketones via benzaldehyde lyase-catalyzed C-C bond formation reaction, *Adv. Synth. Catal.*, **2002**, 344 (1), 96-103.
220. Gala D., DiBenedetto D.J., Mergelsberg I. and Kugelman M., Total chiral synthesis of azole antifungals *via* α -hydroxylation of ketones, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (45), 8117-8120.
221. Pesti J., Chen C.-K., Spangler L., DelMonte A.J., Benoit S., Berglund D., Bien J., Brodfuehrer P., Chan Y., Corbett E., Costello C., DeMena P., Discordia R.P., Doubleday W., Gao Z., Gingras S., Grosso J., Haas O., Kacsur D., Lai C., Leung S., Miller M., Muslehiddinoglu J., Nguyen N., Qiu J., Olzog M., Reiff E., Thoraval D., Totleben M., Vanyo D., Vemishetti P., Wasylak J. and Wei C., The process development of ravuconazole: an efficient multikilogram scale preparation of an antifungal agent, *Org. Process Res. Dev.*, **2009**, 13 (4), 716-728.
222. Bartroli J., Turmo E., Alguero M., Boncompte E., Vericat M.L., Conte L., Ramis J., Merlos M., Garcia-Rafanell J. and Forn J., New azole antifungals. 2. Synthesis and antifungal activity of heterocyclecarboxamide derivatives of 3-amino-2-aryl-1-azolyl-2-butanol, *J. Med. Chem.*, **1998**, 41 (11), 1855-1868.
223. Chen C.-K., Leung S.S.F., Guilbert C., Jacobson M.P., McKerrow J.H. and Podust L.M., Structural characterization of CYP51 from *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma brucei* bound to the antifungal drugs posaconazole and fluconazole, *PLoS Negl. Trop. Dis.*, **2010**, 4 (4), e651.
224. Bogert M.T. and Scatchard G., Researches on quinazolinones. XXXIV. The synthesis of certain nitro and amino benzoylene ureas and some compounds related thereto, *J. Am. Chem. Soc.*, **1919**, 41 (12), 2052-2068.
225. Baker B.R., Schaub R.E., Joseph J.P., McEvoy F.J. and Williams J.H., An antimalarial alkaloid from *Hydrangea*. XIV. Synthesis of 5-, 6-, 7-, and 8-monosubstituted derivatives, *J. Org. Chem.*, **1952**, 17 (1), 141-148.
226. McKee M.K., McKee R.L. and Bost R.W., 7-Chloro-4-(1-diethylamino-4-pentylamino)-quinazoline, *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, 69 (1), 184-184.
227. Bartroli J., Turmo E., Alguero M., Boncompte E., Vericat M.L., Conte L., Ramis J., Merlos M., Garcia-Rafanell J. and Forn J., New azole antifungals. 3. Synthesis and antifungal activity of 3-substituted-4(3*H*)-quinazolinones, *J. Med. Chem.*, **1998**, 41 (11), 1869-1882.
228. Montalbetti C.A.G.N. and Falque V., Amide bond formation and peptide coupling, *Tetrahedron*, **2005**, 61 (46), 10827-10852.

229. Tobe M., Isobe Y., Tomizawa H., Nagasaki T., Takahashi H., Fukazawa T. and Hayashi H., Discovery of quinazolines as a novel structural class of potent inhibitors of NF- κ B activation, *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, *11* (3), 383-391.
230. Roy A.D., Subramanian A. and Roy R., Auto-redox reaction: tin(II) chloride-mediated one-step reductive cyclization leading to the synthesis of novel biheterocyclic 5,6-dihydroquinazolino[4,3-*b*]quinazolin-8-ones with three-point diversity *J. Org. Chem.*, **2005**, *71* (1), 382-385.
231. Purandare A.V., Gao A., Wan H., Somerville J., Burke C., Seachord C., Vaccaro W., Wityak J. and Poss M.A., Identification of chemokine receptor CCR4 antagonist, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *15* (10), 2669-2672.
232. Pomarnacka E., Maruszak M., Langowska K., Reszka P. and Bednarski P.J., Synthesis and cytotoxicity testing of novel 2-(3-substituted-6-chloro-1,1-dioxo-1,4,2-benzodithiazin-7-yl)-3-phenyl-4(3*H*)-quinazolinones, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **2008**, *341* (8), 485-490.
233. Gellibert F., Fouchet M.H., Nguyen V.L., Wang R., Krysa G., de Gouville A.C., Huet S. and Dodic N., Design of novel quinazoline derivatives and related analogues as potent and selective ALK5 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, *19* (8), 2277-2281.
234. Kalusa A., Chessum N. and Jones K., An efficient synthesis of 2,3-diaryl (3*H*)-quinazolin-4-ones via imidoyl chlorides, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, *49* (41), 5840-5842.
235. Shemchuk L., Chernykh V. and Krys'kiv O., Reaction of anthranilic acid 2-*N*-phenylhydrazide with cyclic anhydrides, *Russ. J. Organ. Chem.*, **2008**, *44* (7), 1006-1008.
236. Al-Said N.H. and Al-Qaisi L.S., Total synthesis of asperlicin D, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47* (5), 693-694.
237. Yu M.J., McCowan J.R., Mason N.R., Deeter J.B. and Mendelsohn L.G., Synthesis and x-ray crystallographic analysis of quinazolinone cholecystokinin/gastrin receptor ligands, *J. Med. Chem.*, **1992**, *35* (14), 2534-2542.
238. Tseng M., Lai C., Chu Y. and Chu Y., Tin triflate-mediated total synthesis of circumdatin F, sclerotigenin, asperlicin C, and other quinazolino[3,2-*a*][1,4]benzodiazepines, *Chem. Commun.*, **2009**, *2009* (4), 445-447.
239. Fuwa H., Kobayashi T., Tokitoh T., Torii Y. and Natsugari H., Synthetic studies on 3-arylquinazolin-4-ones: intramolecular nucleophilic aromatic substitution reaction of 2-carboxamido-3-arylquinazolin-4-ones and its application to the synthesis of secondary aryl amines, *Tetrahedron*, **2005**, *61* (17), 4297-4312.
240. Kshirsagar U.A., Mhaske S.B. and Argade N.P., Hexamethyldisilazane-iodine induced intramolecular dehydrative cyclization of diamides: a general access to natural and unnatural quinazolinones, *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48* (18), 3243-3246.
241. Snider B. and HONGBO Z., Amine-induced rearrangement of 4-imino-4*H*-3,1-benzoxazines to 4-quinazolinones via amidine carboxamides, *Heterocycles*, **2003**, *61* (1), 173-182.

Bibliographie

242. Hanney B., Kim Y., Mitchell H.J., Musselman J.D. and Perkins J.J., *N*-(4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl)butanamides as androgen receptor modulators, Brevet WO 2007038444 A2, publié le **5 avril 2007**.
243. Duan H., Zheng J., Lai Q., Liu Z., Tian G., Wang Z., Li J. and Shen J., 2-Phenylquinazolin-4(3*H*)-one, a class of potent PDE5 inhibitors with high selectivity versus PDE6, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19 (10), 2777-2779.
244. Hori M. and Ohtaka H., Effects of a 2-substituent on the ratio of *N*- and *O*-alkylation of 4(3*H*)-quinazolinones, *Chem. Pharm. Bull.*, **1993**, 41 (6), 1114-1117.
245. Brunton S.A., Stibbard J.H.A., Rubin L.L., Kruse L.I., Guicherit O.M., Boyd E.A. and Price S., Potent inhibitors of the hedgehog signaling pathway, *J. Med. Chem.*, **2008**, 51 (5), 1108-1110.
246. Zinin N., Beschreibung einiger neuer organischer Basen, dargestellt durch die Einwirkung des Schwefelwasserstoffes auf Verbindungen der Kohlenwasserstoffe mit Untersalpetersäure, *J. Prakt. Chem.*, **1842**, 27 (1), 140-153.
247. Porter H., The Zinin reduction of nitroarenes, *Org. React*, **1973**, 20, 455-481.
248. Speciality Chemicals : innovations in industrial synthesis and applications, Ed. Brian Pearson, **1991**, 614 pages.
249. Parikh J.R. and Doering W.v.E., Sulfur trioxide in the oxidation of alcohols by dimethyl sulfoxide, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89 (21), 5505-5507.
250. Corey E.J. and Suggs J.W., Pyridinium chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds, *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16 (31), 2647-2650.
251. Chang M.-Y., Wu T.-C. and Ko Y.-J., Synthesis of indolizidine 167B, *Heterocycles*, **2007**, 71 (4), 933-940.
252. Dess D.B. and Martin J.C., Readily accessible 12-I-5 oxidant for the conversion of primary and secondary alcohols to aldehydes and ketones, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48 (22), 4155-4156.
253. Baker K., W. G. H. Edwards, V. Petrow, Herbert H. Hodgson, Stanley Dixon, D. M. Brown, W. C. J. Ross, R. DeBrath Ashworth, W. A. Sexton, A. Spinks, J. S. Morley, J. C. E. Simpson, O. Stephenson, McCoubrey A. and Webster W., Notes, *J. Chem. Soc.*, **1948**, 1713-1720.

Conception, synthèse et évaluation pharmacologique de nouveaux azolés à activité antifongique

Résumé :

Les infections fongiques invasives constituent une menace croissante pour la santé humaine. Ces infections se produisent principalement dans le contexte des thérapies immunosuppressives de plus en plus agressives. Malgré l'avènement de nouvelles stratégies de diagnostic et de traitements, la mortalité globale pour les maladies invasives causées par des espèces de *Candida* et d'*Aspergillus* est de 30-50 %. La recherche de nouveaux agents antifongiques est principalement axée sur l'amélioration du spectre antifongique, le contournement de la résistance, la réduction de la toxicité et l'amélioration de la biodisponibilité. Parmi les traitements existants, les azolés agissent sur la biosynthèse de l'ergostérol (composant essentiel de la membrane plasmique) en inhibant la 14 α -déméthylase, une enzyme à cytochrome P450 (CYP51), codée par le gène ERG11. Les recherches effectuées précédemment au laboratoire sur des inhibiteurs possédant le motif 1-hétéroaryl-2-phényl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol ont permis d'isoler des composés avec de fortes activités sur *Candida albicans* et avec une émergence d'activité sur *Aspergillus fumigatus*. Dans le prolongement de ces travaux, et afin de préciser les relations structure-activité, de nouveaux composés azolés (de structure indolique, benzènesulfonamide ou biaryle) ont été synthétisés et évalués. En parallèle, nous nous sommes intéressés à la synthèse d'analogues de l'albaconazole actuellement en phase III d'essais cliniques, par introduction de thiazoloquinazolinones via la chimie du sel d'Appel.

Mots clés :

Candida albicans, *Aspergillus fumigatus*, 14 α -déméthylase, résistance, triazole, indole, sel d'Appel, thiazoloquinazolinone, quinazolin-4(3H-one)

Design, synthesis and evaluation of new azoles with antifungal activity

Abstract :

Invasive fungal infections are an increasing threat to human health. These infections predominantly occur in the context of increasingly aggressive immunosuppressive therapies. The overall mortality for invasive diseases caused by *Candida* spp. and *Aspergillus* spp. is about 30-50, despite the advent of new diagnostic and therapeutic strategies. The search on new antifungal agents is mainly focused on the improvement of the antifungal spectrum, counteraction of resistance, reduction of toxicity and enhancement of bioavailability. Among the treatments, azoles act on the biosynthesis of ergosterol (major component of fungal membrane) by inhibiting P450-dependent lanosterol 14 α -demethylase (CYP51), encoded by the ERG 11 gene. Previous researches in our laboratory have focused on inhibitors with 1-heteroaryl-2-phenyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol moiety. Those studies have resulted in isolation of compounds with potent activities against *Candida albicans* and an emergence of activity on *Aspergillus fumigatus*. On the basis of this study new azoles compounds (with indole, benzenesulfonamide or biaryle structure) were synthesized and evaluated in order to specify structure- activity relationships. In parallel, we synthesized analogues of albiconazole which is currently in phase III clinical trials, by introducing thiazoloquinazolinones via the Appel's salt chemistry.

Keywords : *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, 14 α -demethylase, resistance, triazole, indole, Appel's salt, thiazoloquinazolinone, quinazolin-4(3-)-one

Adresse du Laboratoire : IICiMed-EA 1155, Laboratoire de Chimie Thérapeutique

U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques
1, rue Gaston Veil
44035 NANTES Cedex 01