

UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CONCEPTION RATIONNELLE, SYNTHÈSE ET ÉVALUATION DE
DÉRIVÉS HÉTÉROCYCLIQUES AZOTÉS À ACTIVITÉS
ANTIFONGIQUE ET/OU ANTILEISHMANIENNE

THESE DE DOCTORAT

Ecole doctorale : Chimie Biologie
Mention : Sciences de la Vie et de la Santé
Discipline : Pharmacie
Spécialité : Chimie thérapeutique

*Présentée
et soutenue publiquement par*

GIRAUD Francis

le 9 octobre 2007, devant le jury ci-dessous

Rapporteurs M. BUREAU Ronan, Professeur, Université de Caen
M. SERAPHIN Denis, Professeur, Université d'Angers

Examineurs

M. LE PAPE Patrice, Professeur, Université de Nantes
M. JOSE Joachim, Professeur Docteur, Université de Düsseldorf
M. GUILLON Jean, Maître de conférences, Université de Bordeaux

Directeur de thèse

M. LE BORGNE Marc, Maître de conférences, Université de Nantes

Co-encadrant M. LOGE Cédric, Maître de conférences, Université de Nantes

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES.....	2
--------------------------------	----------

PREAMBULE.....	9
-----------------------	----------

CHAPITRE 1 : LES ANTILEISHMANIENS	11
--	-----------

I- Introduction sur les leishmanioses	13
1- Généralités	13
2- Manifestations cliniques	16
2-1- Les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses.....	17
2-2- Les leishmanioses viscérales	17
3- Facteurs de développement des leishmanioses.....	18
II- Stratégies thérapeutiques	20
1- Les médicaments utilisés en thérapeutique.....	20
1-1- Les antileishmaniens administrés par voie parentérale	20
1-2- Les antileishmaniens administrés par voie orale	23
2- Les pistes étudiées en recherche	26
III- Travaux antérieurs et objectifs de recherche.....	29
1- Travaux antérieurs réalisés au Laboratoire.....	29
1-1- Dérivés de la 2-amino-4,6-diméthylpyridine.....	29
1-2- Cas particulier des azolés.....	30
2- Objectifs de recherche	31

IV- Mise en place d'un modèle QSAR-3D	33
1- Approche théorique	33
2- Matériel et méthodes	36
2-1- Activités biologiques et sélection de la base de données	36
2-2- Analyse conformationnelle.....	39
2-3- Alignement des composés	39
2-4- Etudes CoMSIA.....	40
3- Résultats et discussion	41
3-1- Choix d'un modèle	41
3-2- Interprétation graphique des résultats.....	43
4- Conclusion	46
V- Synthèse de <i>N</i> -benzyl-3-(<i>1H</i> -imidazol-1-ylméthyl)- <i>1H</i> -indoles.....	47
1- Objectifs de recherche	47
2- Synthèse des <i>N</i> -benzyl-3-(<i>1H</i> -imidazol-1-ylméthyl)- <i>1H</i> -indoles	48
2-1- Schéma rétrosynthétique envisagé.....	48
2-2- Préparation des 3-(<i>1H</i> -imidazol-1-ylméthyl)- <i>1H</i> -indoles III	49
2-3- Introduction du benzyle en position 1	51
2-4- Nouvelle stratégie de synthèse	52
3- Interprétation des résultats pharmacologiques.....	55
3-1- Principe des tests d'évaluation	55
3-2- Résultats des tests d'évaluation et discussion.....	55
4- Partie expérimentale	59
5- Synthèse de 1-(4-alkylbenzyl)-3-(<i>1H</i> -imidazol-1-ylméthyl)- <i>1H</i> -indoles	105
5-1- Hypothèses de travail.....	105

5-2- Schéma rétrosynthétique initialement envisagé.....	106
5-3- Synthèse d'une molécule test (Z = H, X = 4- <i>i</i> Pr).....	107
5-4- Synthèse des molécules 76-85	109
6- Résultats pharmacologiques obtenus sur cette série et discussion	111
7- Partie expérimentale (suite).....	113
VI- Conclusion et perspectives de recherche	155

CHAPITRE 2 : LES ANTIFONGIQUES..... 159

I- Introduction sur les infections fongiques	161
1- Généralités	161
2- Facteurs favorisants	163
2-1- Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte.....	163
2-2- Les facteurs extrinsèques et iatrogènes.....	163
3- Les principales infections fongiques	164
3-1- Mycoses superficielles / mycoses systémiques	164
3-2- Les candidoses.....	164
3-3- Les aspergilloses.....	165
II- Cibles et traitements	167
1- Cibles thérapeutiques des antifongiques et traitements associés.....	167
1-1- Les inhibiteurs de la biosynthèse d'ARN	168
1-2- Les inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire	168
1-3- Les inhibiteurs des fonctions de la paroi membranaire	170

1-4- Les inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol agissant sur la lanostérol 14 α -déméthylase.....	172
1-5- Les inhibiteurs d'autres métabolites	178
2- Les pistes étudiées en recherche	179
III- Travaux antérieurs et objectifs de recherche	185
1- Travaux antérieurs réalisés au Laboratoire.....	185
1-1- Présentation du chef de file : le NL114	185
1-2- Profil d'activité	186
2- Définition des objectifs.....	188
2-1- Travail de pharmacochimie sur le NL114	188
2-2- Conception d'un modèle informatique de la cible et proposition de nouveaux 2-(2,4-dihalogénophényl)-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	188
IV- Synthèse d'analogues du 2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1 <i>H</i> -indol-1-yl)-1-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol.....	190
1- Préparation des 2-phényl-3-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropanes.....	190
2- Préparation des analogues du NL114	191
2-1- Préparation des esters 91 et 92	191
2-2- Préparation des glyoxamides 93-95	192
2-3- Formation des produits finaux 96-103	193
2-4- Préparation des oximes 104 et 105	194
3- Evaluation pharmacologique et discussion.....	195
3-1- Principe des tests d'évaluation	195
3-2- Résultats pharmacologiques et discussion.....	197
4- Conclusion	197
5- Partie expérimentale	201

V- Construction d'un modèle CYP51 <i>Candida albicans</i>	223
1- Etude théorique	223
1-1- Principe	223
1-2- Etudes de docking et scoring	227
2- Aperçu bibliographique	228
3- Construction du modèle	230
VI- Synthèse de 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-(<i>IH</i> -indol-5-yl)-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	239
1- Principe	239
2- Approche rétrosynthétique et essais de synthèse	241
2-1- Voie A : Passage par un éther d'énol silylé	243
2-2- Voie B : Passage par un couplage de Suzuki	243
2-3- Voie C : Passage par un couplage de Stille	245
2-4- Voie D : Addition nucléophile du 5-bromo- <i>IH</i> -indole sur 89	246
3- Partie expérimentale	249
4- Synthèse de 2-phényl-1-(<i>IH</i> -indol-5-ylamino)- et 2-phényl-1-[<i>N</i> -(<i>IH</i> -indol-5-ylméthyl)amino]-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	255
4-1- Nouvelles hypothèses de travail	255
4-2- Synthèse du 2-(2,4-dichlorophényl)-1-(<i>IH</i> -indol-5-ylamino)-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol 113	256
4-3- Evaluation pharmacologique du 2-(2,4-dichlorophényl)-1-(<i>IH</i> -indol-5-ylamino)-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol 113	257
4-4- Synthèse du 2-(2,4-dichlorophényl)-1-[<i>N</i> -(<i>IH</i> -indol-5-ylméthyl)amino]-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol 128	257
5- Synthèse des 2-phényl-1-[<i>N</i> -(<i>IH</i> -indol-5-ylméthyl)amino]-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	260
5-1- Principe de synthèse	260

5-2- Synthèse des 1-amino-2-(2,4-dihalogénophényl)-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols.....	263
5-3- Travaux de synthèse	264
5-4- Partie expérimentale	271
VII- Synthèse de 2-phényl-1-[<i>N</i> -(hétéroarylméthyl)amino]-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	295
1- Principe.....	295
2- Préparation de 2-(2,4-dichlorophényl)-1-(<i>N</i> -benzylamino)-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols	297
2-1- Synthèse.....	297
2-2- Résultats pharmacologiques et discussion.....	299
2-3- Partie expérimentale	303
3- Synthèse de 2-phényl-1-hétéroaryl-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols.....	309
3-1- Hypothèses de travail.....	309
3-2- Pharmacomodulations autour du cycle aromatique.....	309
4- Préparation de 4-[2-phényl-2-hydroxy-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propylaminométhyl]benzènesulfonamides	315
4-1- Série des 4-{[2-(2,4-dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propyl]aminométhyl}benzènesulfonamides	315
4-2- Série des <i>N</i> -[4-(- <i>N</i> -[2-(2,4-dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(<i>IH</i> -1,2,4-triazol-1-yl)propyl]- <i>N</i> -aminométhyl)phényl]-4-méthylbenzènesulfonamides	317
4-3- Résultats pharmacologiques et discussion.....	318
4-4- Partie expérimentale	321
VIII- Conclusions et perspectives de recherche	339
1- Conclusions	339
2- Perspectives de recherche	341
2-1- Composés indoliques de la série 1 :.....	341

2-2- Composés indoliques de la série 5 :.....	342
2-3- Détermination de l'activité antifongique sur des souches résistantes aux azolés :	345
2-4- Modélisation moléculaire	346

BIBLIOGRAPHIE..... 347

PREAMBULE

Ce rapport présente les travaux de recherche que j'ai menés au sein du Laboratoire de Chimie Thérapeutique de la Faculté de Pharmacie de Nantes sous la direction du Dr. Marc Le Borgne et le co-encadrement du Dr. Cédric Logé.

Un projet de thèse m'a été confié sur une double thématique : la synthèse de molécules aza-hétérocycliques potentiellement actives dans le traitement des maladies parasitaires (*Leishmania mexicana*) et des infections fongiques (à *Candida albicans* ou *Aspergillus fumigatus*).

- Dans la thématique « antiparasitaires » : un modèle QSAR-3D basé sur une chimiothèque de composés préalablement synthétisés au laboratoire a été établi et a permis de mieux comprendre les relations structure-activité de ces molécules. De nouvelles structures ont ainsi été proposées à la synthèse. La préparation de ces structures nous a permis d'obtenir 22 nouveaux composés ayant une activité voisine du micromolaire.

- Dans la thématique « antifongiques » : une autre approche de modélisation moléculaire a été envisagée. Elle a consisté à établir un modèle de la cible par homologie comparative à partir de la structure 3D d'une protéine connue homologue. L'observation du site actif et les études de bibliographie nous ont conduit à imaginer une nouvelle série d'inhibiteurs de la famille des azolés. Ceux-ci possèdent une structure originale et ont été préparés en utilisant des techniques usuelles de chimie organique. Ils ont montré une activité inhibitrice sur notre cible (CI₈₀ comprises entre 0,0009 μ M et 53 μ M), ce qui nous a permis de valider nos hypothèses de travail et d'envisager de nouvelles perspectives.

Pour la première fois au laboratoire, chaque thématique a été menée selon deux axes : la modélisation moléculaire et la synthèse organique. Ceci m'a permis de me familiariser avec les techniques de conception de molécules à activité biologique assistée par ordinateur. La modélisation moléculaire a été mise en amont pour définir de nouvelles pistes pour la synthèse.

Cette thèse pluridisciplinaire m'a permis de me familiariser avec de nouvelles techniques et de m'investir complètement dans un projet de recherche de chimie thérapeutique, depuis la définition d'une cible à l'obtention d'une molécule potentiellement active.

Je remercie également la société Mycobiotics (Nantes) pour m'avoir fourni les valeurs d'activité antifongique du voriconazole sur les souches mentionnées dans le manuscrit.

CHAPITRE 1

LES ANTILEISHMANIENS

I- Introduction sur les leishmanioses

1- Généralités

Les leishmanioses sont des parasitoses causées par des protozoaires de la famille des *Trypanosomatidae* appartenant au genre *Leishmania*. Ces maladies sont souvent transmises par la piqûre d'un petit insecte diptère hématophage. Seule la femelle transmet la maladie. Ces insectes appartiennent principalement à deux genres : *Plebotomus* et *Lutzomyia*.

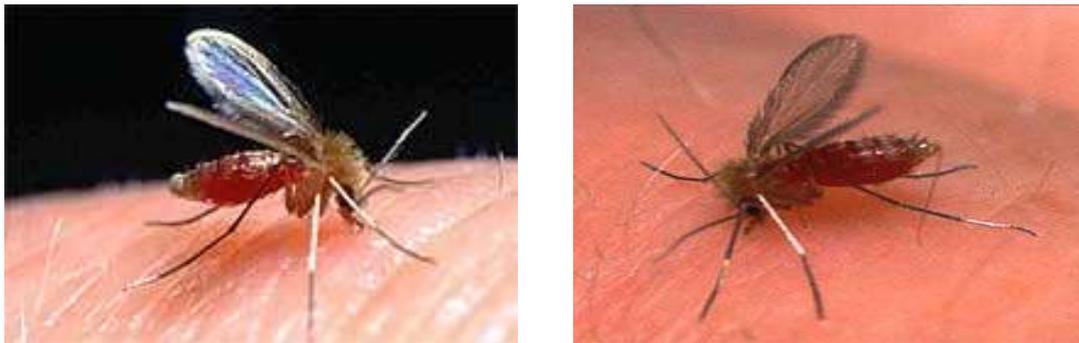


Figure 1 : *Plebotomus dubosci* (à gauche) et *Lutzomyia longipalpis* (à droite)

Le vecteur de la maladie vit essentiellement dans les régions tropicales et subtropicales, où les facteurs climatiques (température et humidité) facilitent son développement. C'est lors de la piqûre d'un mammifère domestique (chien) ou sauvage (renards, rongeurs...) infectés que l'insecte prélève le parasite. Il peut alors piquer d'autres mammifères (y compris l'homme) et transmettre la maladie. Dans ces régions défavorisées (faible niveau de vie, conditions d'hygiène précaires, conflits militaires...), la maladie constitue un problème de santé majeur.¹

D'un point de vue historique, la leishmaniose existe depuis des millénaires. Déjà des écrits datant de plusieurs siècles avant Jésus-Christ rapportaient des cas de patients atteints de déformations faciales, de fièvre ou de rate dilatée.² Plusieurs statues pré-inca portant les marques caractéristiques de la leishmaniose sur la peau et le visage ont également été découvertes au Pérou. Dans les années 1800, des patients atteints de fièvre ne réagissent pas à un traitement utilisant la quinine, les épidémiologistes suspectent alors une autre maladie. En 1900, Leishman et Donovan découvrent le parasite responsable de cette maladie et lui donnent le nom de *Leishmania donovani*.³ La première preuve expérimentale de contamination humaine remonte à 1921. Le mécanisme de contamination par vecteur ne fut clairement expliqué et approuvé qu'en 1941.

¹ World Health Organization. Geneva, 2005. <http://www.who.int/tdr/publications/publications/pr17.htm>.

² Cox F.E.G. *Clin. Microbiol. Rev.* 2002, 15, 595-612.

³ Hoare C.A. R. *Soc. Trop. Med. Hyg.* 1938, 32, 67-92.

Les leishmanies circulent selon un cycle évolutif bien précis qui fait apparaître deux formes de parasite à la morphologie et au métabolisme différents (**figure 2**)⁴ :

- Une forme promastigote flagellée et mobile. Elle est d'abord procyclique et non infectieuse. Après différenciation dans le tractus digestif de l'insecte vecteur, elle change d'aspect pour devenir métacyclique et infectieuse et se loge dans les pièces buccales.
- Une forme amastigote, plus arrondie avec un appareil flagellaire plus rudimentaire. Cette forme apparaît une fois chez l'hôte lorsque le parasite pénètre dans le macrophage.

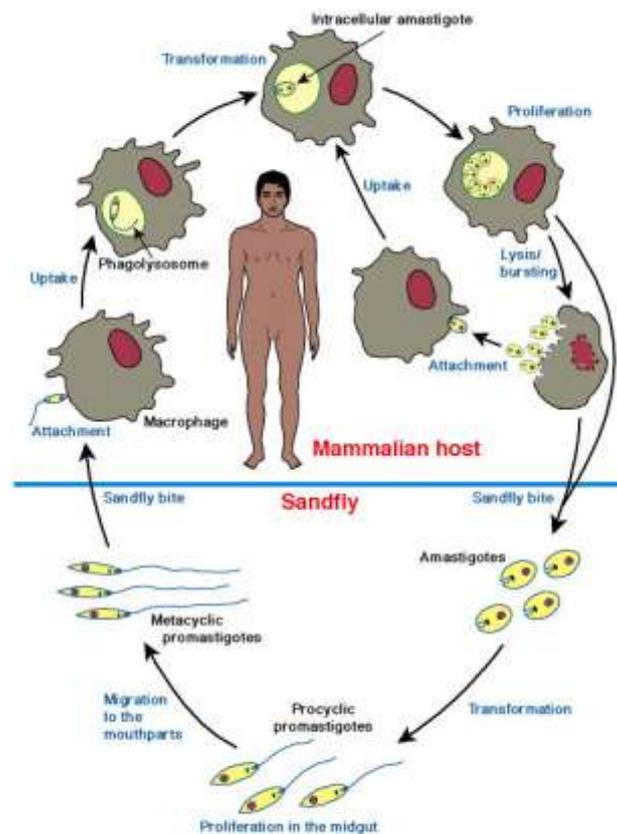


Figure 2 : Cycle évolutif de la leishmaniose⁴

Les formes promastigotes flagellées et extracellulaires qui vivent dans les pièces buccales de l'insecte vecteur sont injectées chez l'hôte ; elles y entrent par phagocytose facilitée par des monocytes tissulaires. A l'intérieur de ces cellules, elles se transforment en formes amastigotes (**figure 3**), plus rondes, qui vivent dans des phagolysosomes. Cette transformation entraîne plusieurs changements physiques et métaboliques dus principalement aux changements de pH et de température.

⁴ Site internet : <http://www.wehi.edu.au/research/overview/inf.html>.

Dans les phagolysosomes, les amastigotes vont se multiplier et les atteintes viscérales résultantes sont à l'origine des manifestations cliniques de la maladie. A l'éclatement d'un macrophage, les amastigotes libérés vont pouvoir aller parasiter d'autres macrophages encore sains. La maladie se propage ainsi rapidement si aucun traitement n'intervient pour stopper la multiplication du parasite.

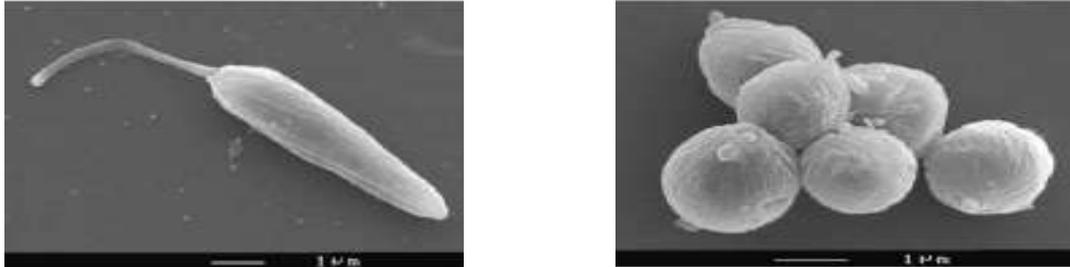


Figure 3 : Observation de promastigotes (à gauche) et d'amastigotes axéniques (à droite) au microscope électronique à balayage (Laboratoire de Parasitologie UPRES EA1155, Nantes)

On sait que plus de 12 millions de personnes de 88 pays sont contaminés par le parasite, mais la charge de morbidité réelle reste en grande partie masquée. Deux millions de nouveaux cas, dont 1,5 million de leishmaniose cutanée et 500 000 de forme viscérale de la maladie, apparaissent chaque année. La déclaration de la maladie n'est cependant obligatoire que dans 32 pays et un nombre substantiel de cas ne sont jamais enregistrés.¹

La leishmaniose est dans la majorité des cas, une maladie de la pauvreté et ses victimes appartiennent aux catégories les plus démunies. En Inde, pays supportant une lourde charge de leishmaniose, 88% des habitants atteints de cette maladie disposent d'un revenu journalier inférieur à deux dollars US, d'un environnement socio-économique médiocre et d'un faible niveau d'éducation. Ils vivent dans des zones rurales écartées ou dans des banlieues pauvres. Les difformités et les cicatrices provoquées par certaines formes de leishmaniose suscitent une stigmatisation sociale et les incapacités associées à cette maladie représentent un fardeau social de grande ampleur qui freine la productivité et le développement socio-économique.

Cette maladie a également été détectée en France dans les Cévennes. Une étude rétrospective entre 1933 et 1994⁵ a montré que 157 cas de leishmanioses dues à *L. infantum* avaient été décelés dans cette région proche du bassin méditerranéen. La présence de foyers dans cette région serait liée au contact rapproché entre le réservoir (les chiens errants) et l'homme. En Guyane française, dans les régions forestières, de nombreux cas de leishmaniose ont également été rapportés⁶, principalement dans les régiments militaires. En France, de 1999 à 2006, près de 700 cas ont été signalés dont 170 cas autochtones (communication personnelle).

⁵ Bassenne I. *et al. Méd. Mal. Infect.* **1997**, 27, 591-595.

⁶ Weill F.X. *et al. Méd. Mal. Infect.* **2000**, 30, 47-49.

Le parasite se développe au sein des macrophages, entités réputées pour assurer la protection de l'organisme contre l'agent pathogène. Celui-ci a donc mis en place une multitude de moyens pour faire face aux agressions naturelles du macrophage. En perturbant la cascade des signaux de transduction du macrophage (blocage de la production d'oxyde nitreux, inhibition de plusieurs cytokines...), le parasite bloque la réponse immunitaire de l'hôte.⁷ Il peut ainsi se développer sans contrainte au sein du macrophage.

Les traitements utilisés sont souvent inefficaces et de nombreux cas de résistance conduisent les spécialistes à réduire leur utilisation. Pour faire face à ce problème majeur de santé publique, il est donc nécessaire de trouver de nouvelles pistes thérapeutiques qui soient les plus sélectives et les moins toxiques possible.

2- Manifestations cliniques

La maladie peut présenter plusieurs formes cliniques selon le parasite responsable de l'infection. En ordre croissant de gravité, les leishmanioses humaines peuvent être classées en forme cutanées, cutanéomuqueuses, cutanées diffuses et viscérales.

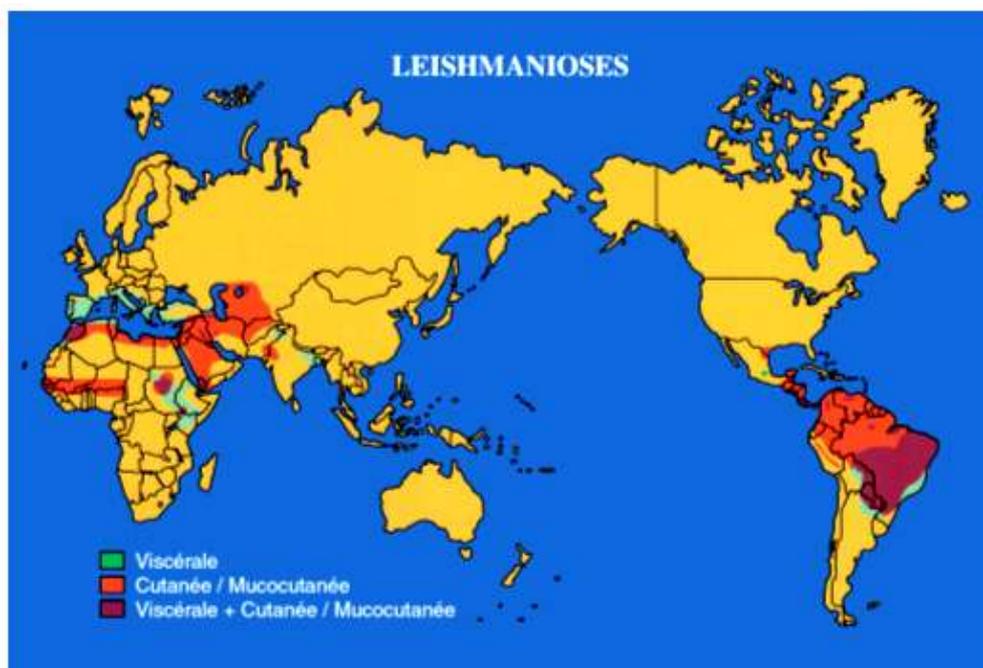


Figure 4 : Distribution géographique des différentes formes de leishmaniose⁸

⁷ Olivier M. *et al. Clin. Microbiol. Rev.* **2005**, *18*, 293-305.

⁸ Chou M.N. Thèse soutenue en **2005**. Université de Laval. Canada.

2-1- Les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses

La forme cutanée est causée par plusieurs leishmanies dont *Leishmania tropica*, *Leishmania mexicana*, *Leishmania major*, *Leishmania panamamensis*, *Leishmania guyanensis*. C'est une papule prurigineuse rouge sombre, généralement unique, siégeant sur une région découverte qui se transforme en nodule, s'ulcère, s'infiltré en profondeur et se recouvre de fines squames évoluant très lentement (bouton d'un an) sous forme sèche ou sous forme humide, vers la guérison au prix d'une cicatrice indélébile.

La forme cutanée est particulièrement prévalente en Afghanistan, en Algérie, au Brésil, en Iran, au Pérou, en Arabie saoudite et en Syrie, ces pays supportant au total 90 % de la charge mondiale de leishmaniose cutanée (CL). Si elles sont rarement mortelles, les épidémies de leishmaniose cutanée sont particulièrement préoccupantes dans certains pays et difficiles à endiguer.

La leishmaniose cutanéomuqueuse, appelée « espundia » en Amérique du Sud est causée par *Leishmania braziliensis*. Elle se distingue de la précédente par une ulcération plus extensive, d'évolution plus torpide, par une propagation par voie lymphatique et/ou sanguine aux muqueuses souvent extrêmement mutilante. Les lésions peuvent en effet conduire à une destruction étendue et défigurante des muqueuses du nez, de la bouche et de la gorge.

Enfin, les leishmanioses cutanées diffuses associées à un système immunitaire déprimé sont les cas les plus difficiles à traiter. Les lésions sont souvent disséminées, ressemblant à la lèpre. Elles ne peuvent guérir spontanément et un traitement est difficilement applicable.⁹

2-2- Les leishmanioses viscérales

Il s'agit de la forme la plus dangereuse de leishmaniose. Egalement connue sous le nom de *kala-azar* en Inde, elle est due au parasite *L. donovani* et entraîne un taux de mortalité supérieur à 90% en l'espace de 6-24 mois si aucun traitement n'est prodigué au patient. Dans le pourtour du bassin méditerranéen, la leishmaniose viscérale est due à *L. infantum* alors qu'en Amérique Centrale et du Sud, on retrouve principalement *L. chagasi* (synonyme de *L. infantum*). Elle se caractérise par des poussées de fièvre irrégulières, une perte de poids, une hépatosplénomégalie et une anémie.

La forme viscérale est particulièrement prévalente au Bangladesh, en Inde, au Népal, au Soudan et au Brésil. Ensemble ces pays supportent au total 90 % de la charge mondiale de leishmaniose viscérale (LV). La malnutrition est un facteur de risque bien connu dans l'apparition de cette forme de leishmaniose et des épidémies se développent dans les situations de famine, de crise complexe et de déplacements massifs de population.

⁹ Davies C.R. et al. *Br. Med. J.* **2003**, 326, 377-382.

Espèce	Distribution géographique
Leishmaniose cutanée	
<i>L. aethiopica</i>	Ethiopie et Kenya
<i>L. major</i>	Afrique et Asie
<i>L. panamamensis</i>	Amérique Centrale et du Sud
<i>L. mexicana</i>	Amérique Centrale et du Sud
<i>L. tropica</i>	Europe, Asie et Afrique du Nord
Leishmaniose cutanéomuqueuse	
<i>L. braziliensis</i>	Amérique Centrale et du Sud
<i>L. panamamensis</i>	Amérique Centrale et du Sud
<i>L. peruviana</i>	Amérique du Sud
Leishmaniose viscérale	
<i>L. chagasi</i>	Amérique du Sud
<i>L. donovani</i>	Afrique et Asie
<i>L. infantum</i>	Bassin méditerranéen

Figure 5 : Distribution géographique de chaque espèce de *Leishmania* selon le type de maladie

3- Facteurs de développement des leishmanioses

La propagation des leishmanioses est étroitement liée au comportement des populations humaines. D'une part, les mouvements géographiques sont une cause majeure de développement de la maladie. Les populations migrant des zones rurales endémiques vers les zones urbaines apportent avec elles les parasites et peut-être les espèces vectrices. Dans d'autres situations, les populations urbaines non immunisées sont touchées de plein fouet par la maladie lors de déplacement en zone endémique. Avec le développement du tourisme international, des migrations ou des opérations militaires dans les zones endémiques, de nombreux cas d'infections ont été reportés dans les pays développés.^{10,11} Toutes les manifestations cliniques peuvent être rencontrées, de la dermatose la plus légère à la forme plus grave de leishmaniose viscérale.

Mais le facteur le plus important impliqué dans le développement des leishmanioses reste le VIH. Les co-infections à *Leishmania*/VIH sont apparues du fait de la superposition croissante des 2 maladies, la pandémie de SIDA atteignant les zones rurales et la leishmaniose viscérale devenant de plus en plus suburbaine. Des co-infections sont signalées dans 33 pays, mais la plupart des cas proviennent du sud de l'Europe (Espagne,

¹⁰ Blum J. *et al. J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *53*, 158-166.

¹¹ Antinori S. *et al. Clin. Microbiol. Infect.* **2005**, *11*, 343-346.

France, Italie et Portugal), les toxicomanes par voie IV représentant la principale population à risque. Les cas de co-infections augmentent en Afrique de l'Est et dans le sous-continent indien où l'homme est la seule source d'infection pour le phlébotome vecteur, d'où le risque que représente les patients co-infectés comme réservoirs, en raison de la présence et de l'abondance des leishmanies dans leur sang périphérique. La prévalence de la co-infection serait de 1 à 3% (selon l'OMS¹²), ce qui est préoccupant pour les années à venir en zone d'endémie. Elle est observée chez des adultes entre 30 et 45 ans, avec une nette prédominance masculine. Elle comporte des localisations inhabituelles : digestive, pulmonaire, cutanée (lésions nodulaires ou ulcérées). Le sida et la leishmaniose se retrouvent dans le même cercle vicieux et s'entretiennent mutuellement. D'un côté la leishmaniose accélère le développement du sida et de l'autre, le sida affaiblissant le système immunitaire du patient, favorise l'installation ou la résurgence du parasite. On estime que le sida augmente le risque de leishmaniose viscérale d'un facteur 100 à 1000 dans les zones endémiques.

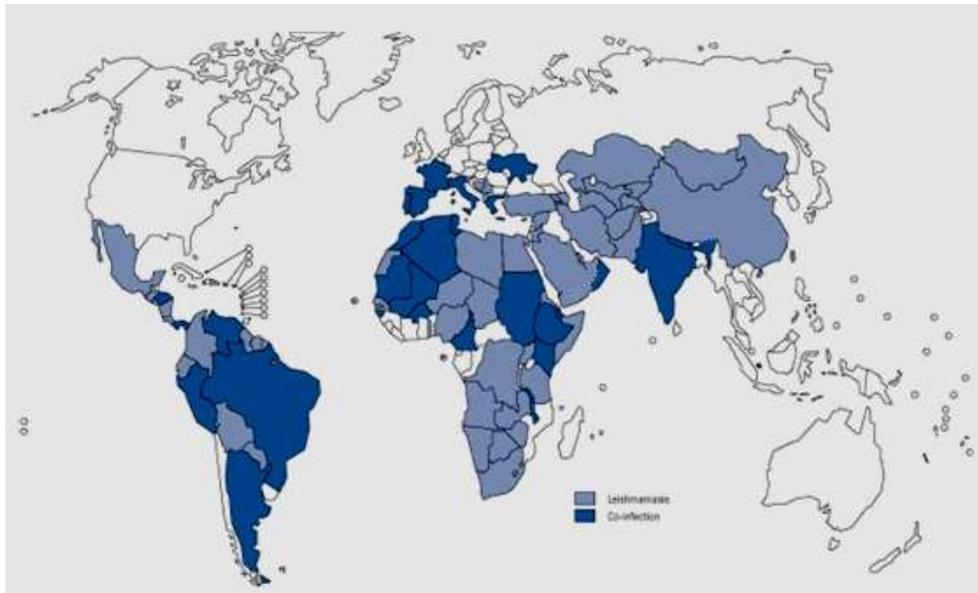


Figure 6 : Distribution de la co-infection Leishmania/VIH⁸

La **figure 6** montre clairement que les distributions géographiques des infections au VIH et à *Leishmania* se superposent. Dans certaines zones défavorisées d'Amérique du Sud ou d'Afrique, il est urgent de sensibiliser les populations à cette co-infection afin d'en limiter l'ampleur.

¹² Organisation Mondiale de la Santé. Rapport sur les maladies infectieuses. 1999.

II- Stratégies thérapeutiques

1- Les médicaments utilisés en thérapeutique

Parce que les protozoaires se multiplient chez leur hôte, et qu'il n'y a pas encore de vaccination, la chimiothérapie reste la seule manière pratique de traiter des individus infectés. Le système immunitaire joue un rôle crucial dans la plupart des relations hôte-protozoaires, et il limite souvent les conséquences pathologiques de l'infection. Aussi, les infections opportunistes sont elles très importantes chez les sujets atteints de cancer, greffés ou traités par des immunosuppresseurs et chez les personnes atteintes du sida. Le traitement de ces infections chez des individus à l'immunocompétence anormale est particulièrement difficile et le résultat en est souvent décevant. A l'heure actuelle, les parasitologues connaissent des difficultés dans la prise en charge des patients par voie parentérale du fait de l'éloignement des populations par rapport aux centres de santé. Les différents agents utilisés en thérapeutique seront abordés selon leur mode d'administration : la voie parentérale ou la voie orale.¹³

1-1- Les antileishmaniens administrés par voie parentérale

1-1-1- Les composés antimoniés

Les composés antimoniés¹⁴ ont été longtemps utilisés pour le traitement des leishmanioses et d'autres protozooses. Le premier composé utilisé fut un dérivé trivalent de l'antimoine, le tartrate de potassium et d'antimoine. Les dérivés de Sb^{III} ont très vite été remplacés par des dérivés pentavalents car ils présentaient une forte toxicité et étaient difficilement administrables. Cette nouvelle génération de composés est aussi efficace, moins toxique et permet des doses plus fortes et des traitements sur des périodes plus courtes. Deux composés (**figure 7**) sont utilisés en thérapeutique : le **stibogluconate de sodium** (Pentostam[®]) et l'**antimoniote de méglumine** (Glucantime[®]).

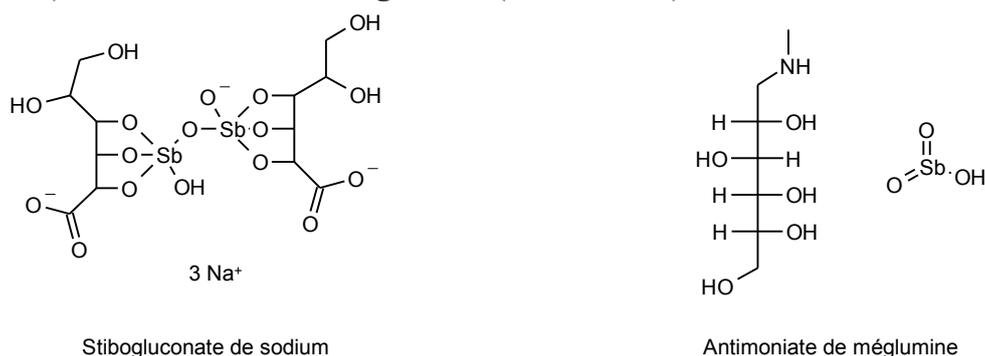


Figure 7 : Principaux composés antimoniés actifs sur *Leishmania*

¹³ Mishra J. *et al. Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 1153-1169.

¹⁴ Croft S.L. *et al. Curr. Pharm. Des.* **2002**, *8*, 319-342.

Le mécanisme d'action de ces dérivés n'est pas encore clairement établi. Certains¹⁵ avancent l'hypothèse que l'antimoine au degré V est réduit *in vivo* sous sa forme III qui présente une forte toxicité sur les amastigotes. Des études ont montré que les antimoniés pentavalents possédaient plusieurs cibles métaboliques. Ils inhiberaient la glycolyse réduisant ainsi la production de NADH ce qui empêcherait la phosphorylation de l'ADP en ATP et conduirait à la mort du parasite. Ils pourraient également agir selon d'autres mécanismes comme la formation d'une liaison covalente avec l'entité ribose des nucléosides perturbant ainsi la synthèse des protéines.

Pour les leishmanioses cutanées et cutanéomuqueuses, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) préconise l'administration par voie intramusculaire ou intraveineuse d'une dose de 15-20 mg/kg/jour pendant une durée de 21 à 28 jours. Pour les formes viscérales, les antimoniés constituent les médicaments de première intention. Ils permettent la diminution rapide de la fièvre et de la splénomégalie (augmentation du volume de la rate) en quelques jours et la disparition du parasite en quelques semaines. En revanche, les traitements aux sels d'antimoine peuvent entraîner une stibio-intolérance ou une intoxication pouvant conduire à la mort. De nombreux cas de résistance aux antimoniés ont été reportés en Inde¹⁶ où le traitement a échoué sur des patients porteurs de souches de *Leishmania donovani*.

1-1-2- La pentamidine

La famille des diamidines a été découverte fortuitement en 1939 lorsque E.M. Lourie et W. Yorke¹⁷ recherchaient des produits hypoglycémisants. Le représentant le plus prometteur de la famille, **la pentamidine (figure 8)**, a montré une relative stabilité, une faible toxicité et une bonne activité sur les parasites *L. donovani*.

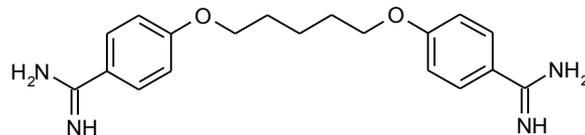


Figure 8 : Structure chimique de la pentamidine

La pentamidine (ou plus exactement l'iséthionate de pentamidine, Pentacarinat[®]) agit directement au niveau de la mitochondrie du parasite en bloquant la réplication et la transcription comme ont pu le confirmer M. Basselin *et al.*¹⁸. Les deux groupes amidiniums terminaux formeraient des liaisons hydrogène et des complexes entre les bases du bras mineur de l'ADN.

La dose prescrite est de 4 mg/kg, à raison de 3 fois par semaine pendant 3-4 semaines. Elle est administrée par voie parentérale. La pentamidine est particulièrement utile

¹⁵ Franco M.A. *et al. Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1995**, 52, 435-437.

¹⁶ Mittal M.K. *et al. Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2007**, 76, 681-688.

¹⁷ Macharia J.C. *et al. Acta Trop.* **2004**, 92, 267-272.

¹⁸ Basselin M. *et al. Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, 46, 3731-3738.

lorsque la leishmaniose ne répond pas aux antimoniés. Elle a montré de bons résultats dans le traitement de la leishmaniose viscérale et cutanée mais elle est surtout utilisée aujourd'hui pour la prophylaxie et le traitement des pneumonies à *P. carinii* qui constituent la complication infectieuse la plus fréquente au cours du SIDA. C'est le traitement de référence pour les leishmanioses cutanées en Guyane française.

1-1-3- L'amphotéricine B et ses formulations lipidiques

L'amphotéricine B est une molécule d'origine naturelle à structure polyénique. C'est le traitement de choix pour les infections fongiques, elle est plutôt utilisée en deuxième intention pour les leishmanioses. C'est une molécule amphiphile composée d'une chaîne poly-hydroxylée hydrosoluble et d'une chaîne insaturée hydrophobe (figure 9). Cette structure particulière lui permet de se complexer avec un grand nombre de cibles.

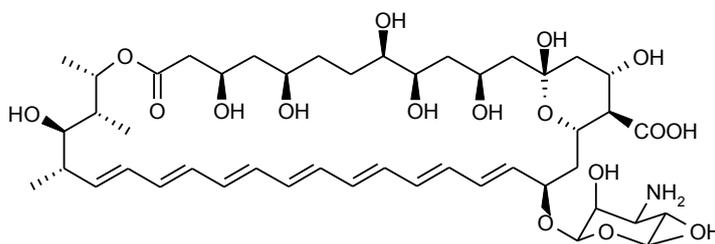


Figure 9 : Structure chimique de l'amphotéricine B

L'amphotéricine B perturbe les cellules du parasite par des interactions avec les stérols et les phospholipides membranaires. La formation de pores transmembranaires perturbe la perméabilité de la membrane et entraîne une fuite du contenu de la cellule conduisant à la mort cellulaire.¹⁹

Cependant l'amphotéricine B présente un inconvénient majeur : son manque de sélectivité et sa faible solubilité dans les liquides biologiques. Elle ne peut être administrée que par voie intraveineuse. Initialement, elle était préconisée pour le traitement des leishmanioses viscérales. De nouvelles formulations liposomales (AmBisome²⁰) ont été mises au point pour réduire sa toxicité et ont permis d'étendre son utilisation aux leishmanioses viscérales résistantes aux antimoniés et à la pentamidine. L'AmBisome permet grâce à sa formulation de cibler préférentiellement les phagocytes et de délivrer la molécule active au dernier moment. Une prodrogue soluble dans les milieux aqueux, le KY62, a été mise au point et évaluée.²¹ Elle a montré une forte activité à des doses plus faibles que l'amphotéricine B sur des modèles murins de leishmaniose cutanée et viscérale. Toutefois, le coût élevé de préparation de ces formulations n'est pas adapté pour les populations concernées par cette maladie. L'amphotéricine B a donc vu son utilisation réduite.

¹⁹ Yardley V. *et al. Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *13*, 243-248.

²⁰ Adler-Moore J. *et al. J. Antimicrob. Chemother.* **2002**, *49*, Suppl. 1, 21-30.

²¹ Al-Abdely H.M. *et al. Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 2542-2548.

1-1-4- La paromomycine (Aminosidine)

La paromomycine est un antibiotique de la famille des aminosides. Il a longtemps été utilisé dans les infections bactériennes et ce n'est que lors des trente dernières années que l'on a constaté son efficacité dans le traitement des leishmanioses. Il peut être utilisé seul ou en combinaison avec un antimonie (figure 10).

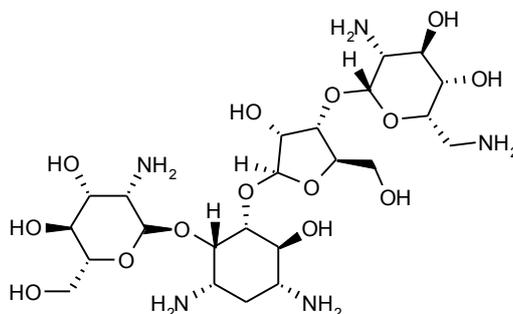


Figure 10 : Structure chimique de la paromomycine (aminosidine)

Elle agit sur la synthèse et le recyclage des constituants lipidiques de la membrane et entraîne une altération des propriétés de la membrane des parasites (rigidité et perméabilité). Il a été montré aussi qu'à des doses de 12-16 mg/kg/jour, la paromomycine associée au chloramphénicol interfère avec les mitochondries et les ribosomes cytoplasmiques conduisant à une inhibition de la synthèse des protéines.²² A l'heure actuelle, cette molécule n'est plus indiquée pour le traitement des leishmanioses en Europe. Elle reste toutefois utilisée en Inde dans le traitement du Kala-azar.²³

1-2- Les antileishmaniens administrés par voie orale

Tous les traitements énoncés jusqu'ici étaient administrés par voie parentérale. Il est facile de se rendre compte que, dans des pays où le SIDA fait des ravages à cause de l'échange de seringues usagées et des rapports sexuels non protégés, un traitement par voie orale est préférable. Plusieurs molécules ont été mises au point pour éviter les problèmes de co-infection.

1-2-1- Les azolés

Le parasite synthétise plusieurs familles de stérols essentiels à la prolifération cellulaire et à sa survie. On retrouve souvent des dérivés de l'ergostérol. L'inhibition de la biosynthèse des stérols par des médicaments administrables par voie orale était donc un défi.

²² Maarouf M. *et al. Parasitol. Res.* **1995**, *81*, 421-425.

²³ Sundar S. *et al. N. Engl. J. Med.* **2007**, *356*, 2571-2581.

Ainsi en rapprochement avec la recherche sur les antifongiques, plusieurs azolés ont été testés sur *Leishmania* et ont montré une activité intéressante (**figure 11**).^{24,25}

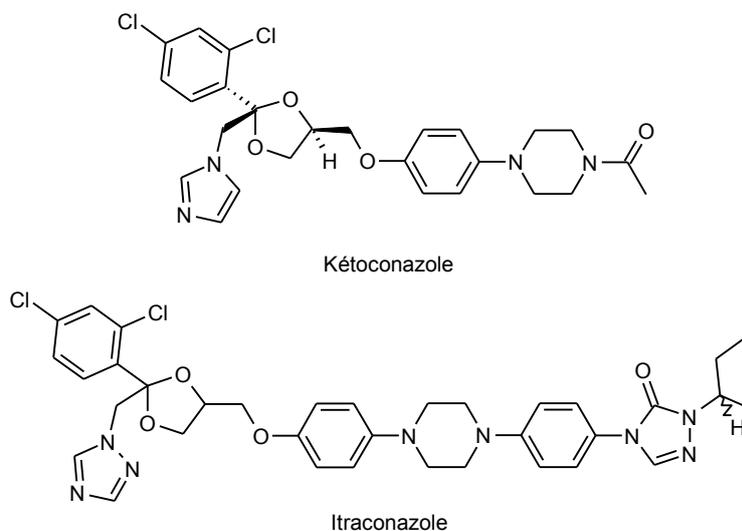


Figure 11 : Structure chimique des deux principaux azolés à application antileishmanienne

Le site actif de l'enzyme lanostérol 14 α -déméthylase (ou CYP51) possède une porphyrine plane ayant en son centre un noyau de fer. Par l'intermédiaire d'un des atomes d'azote de leur cycle imidazole ou triazole, ces inhibiteurs créent une coordination supplémentaire avec l'atome de fer de CYP51, empêchant ainsi la déméthylation des stérols et la synthèse de l'ergostérol. Le **kétoconazole** est globalement bien toléré même si quelques effets digestifs et cutanés sont possibles. Certaines interactions médicamenteuses sont à éviter. A plus forte dose, des effets hépatiques ont également été rapportés. **L'itraconazole** possède une hépatotoxicité beaucoup plus faible que le kétoconazole.

Ces deux molécules ont été utilisées avec succès dans des cas de leishmanioses cutanées à des doses de 200 à 400 mg/jour pour l'adulte pendant 1 à 3 mois. Cependant les réponses sont assez divergentes selon le type de parasite mis en cause. Les études menées sur des cas de leishmanioses viscérales restent contradictoires lorsque les conazolés sont utilisés en monothérapie.^{26,27}

1-2-2- Les analogues de la purine

Le parasite ne possède pas de propre voie métabolique de synthèse de la purine, L'inhibition d'enzymes parasitaires intervenant dans la cascade de prélèvement de la purine (principalement des phosphotransférases) permettrait de réduire l'approvisionnement du parasite et donc son développement. Ainsi, l'**allopurinol** (analogue de l'hypoxanthine) inhibe la synthèse de l'ARN par action d'un métabolite sur l'adényl succinate synthase ou l'adényl

²⁴ Vannier-Santos M.A. et al. *J. Eukaryot. Microbiol.* **1995**, 42, 337-346.

²⁵ Raffi F. et al. *Clin. Infect. Dis.* **1995**, 21, 1338-1339.

²⁶ Croft S.L. et al. *Trends Parasitol.* **2003**, 19, 502-508.

²⁷ Singh S. et al. *J. Infect. Chemother.* **2004**, 10, 307-315.

phosphoribosyl transférase des leishmanies.²⁸ D'autres structures telles que l'**acide mycophénolique**²⁹ ou la **formycine B**³⁰ ont un mécanisme d'action similaire. Elles se lient à l'ARN ou inhibent la synthèse du GTP et perturbent le fonctionnement métabolique du parasite (**figure 12**).

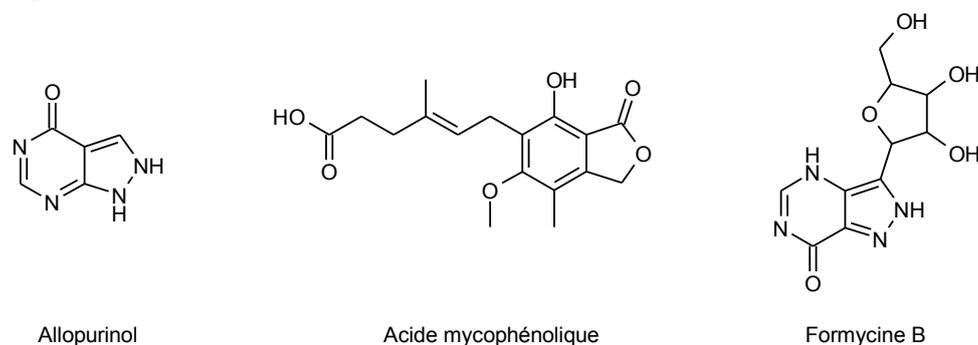


Figure 12 : Analogues de la purine

1-2-3- Les alkylphosphocholines

Le représentant majeur de cette famille de molécules est la **miltéfossine** (**figure 13**). Initialement conçues pour le traitement du cancer, la miltéfossine et l'**ilmofossine** ont montré une activité prometteuse sur des souches de *L. donovani*. Elles agiraient selon plusieurs mécanismes d'action comme la perturbation du métabolisme des phospholipides,^{31,32} l'inhibition de la synthèse de la phosphatidylcholine.³³ Elles inhiberaient aussi les acyltransférases et la protéine kinase C.³⁴

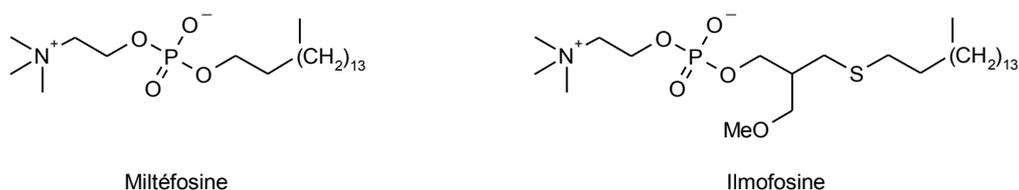


Figure 13 : Structure des deux principales alkylphosphocholines

La miltéfossine est le seul agent administré par voie orale ayant montré une activité sur les leishmanioses cutanées et viscérales bien qu'elle présente de sérieux problèmes gastro-intestinaux.^{35,36}

²⁸ Neal R.A. *et al.* *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1985**, 79, 122-128.

²⁹ Dobie F. *et al.* *Mol. Biochem. Parasitol.* **2007**, 152, 11-21.

³⁰ Nolan L.L. *et al.* *Biochem. Int.* **1984**, 9, 207-218.

³¹ Rakotomanga M. *et al.* *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, 51, 1425-1430.

³² Lira R. *et al.* *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, 47, 537-546.

³³ Santa-Rita R.M. *et al.* *Acta Trop.* **2000**, 75, 219-228.

³⁴ Azzouz S. *et al.* *J. Parasitol.* **2006**, 92, 877-883.

³⁵ Soto J. *et al.* *Clin. Infect. Dis.* **2004**, 38, 1266-1272.

³⁶ Prasad R. *et al.* *Indian J. Pediatr.* **2004**, 71, 143-144.

2- Les pistes étudiées en recherche

Aujourd'hui plus de 25 composés et formulations ont montré une activité antileishmanienne. La plupart de ces médicaments possèdent une ou plusieurs limitations à leur développement. Leur toxicité, leur mode d'administration, les traitements à long terme et les coûts inabornables pour les populations concernées sont autant d'inconvénients qui freinent l'usage de ces molécules. A ceci s'ajoutent encore les cas de patients co-infectés VIH/Leishmania dont les traitements sont plus complexes.

De plus, le problème majeur reste la résistance du parasite aux traitements proposés. Par conséquent il existe un réel besoin de développer de nouveaux agents antileishmaniens avec une forte activité sur plusieurs espèces de parasites, une administration par voie orale, un faible coût et une toxicité réduite.

Le parasite *Leishmania* est, comme nous l'avons vu, présent sous deux formes. Pour faire face aux attaques de l'organisme hôte, il a su mettre en place tout un arsenal enzymatique capable de lui apporter les éléments nécessaires à son développement. Ainsi, son métabolisme est complexe et fait intervenir plusieurs voies. Il est donc très difficile de choisir une voie métabolique par rapport à une autre. De plus, le parasite est en constante évolution et s'adapte à la multitude de composés que les pharmacochimistes et les biologistes ont imaginés pour limiter sa croissance. Ceci complique encore le problème et nécessite une perpétuelle réaction des chercheurs pour trouver des médicaments actifs mais aussi sélectifs sur une cible donnée. L'objectif est d'isoler une molécule active sur le parasite et possédant une toxicité réduite sur les cellules humaines.

Plusieurs familles de composés ont ainsi été développées lors de ces dernières années et nous avons choisi de les aborder selon leur cible thérapeutique.³⁷

Dans la plupart des cellules eucaryotes, le glutathion est un agent réducteur et sa principale fonction est de protéger les groupements thiols des protéines, cependant il joue aussi un rôle important dans la détoxification des peroxydes organiques produits ou non naturellement. Contrairement aux autres cellules eucaryotes, les trypanosomes ne possèdent pas de système réducteur basé sur le glutathion mais sur un analogue de celui-ci, le trypanothion (bis glutathionyl-spermidine). Ces parasites sont donc particulièrement dépendants du système **trypanothione réductase/peroxydase** pour assurer le maintien de leur balance redox et de l'élimination des peroxydes. Ce métabolisme uniquement retrouvé chez ces parasites en fait une cible de choix pour lutter contre ces maladies.

Des structures telles que celles indiquées **figure 14** ont ainsi montré une activité sur cette classe d'enzymes.³⁸

³⁷ Werbovets K.A. *Curr. Med. Chem.* **2000**, 7, 835-860.

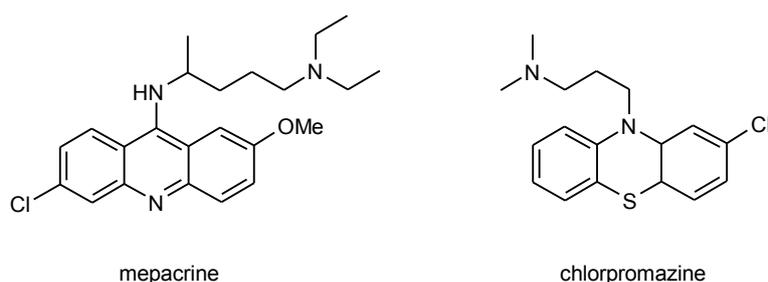


Figure 14 : Exemples de deux molécules inhibitrices de la trypanothione réductase chez le parasite

Les **protéases** ont également été longuement étudiées car elles jouent un rôle essentiel dans le métabolisme, la réplication et la survie du parasite. Parmi elles, les **cystéine protéases** sont indispensables à la croissance et à la virulence du parasite *Leishmania mexicana*. Une classe de molécules, les aziridines (**figure 15**), a montré une activité intéressante.³⁹

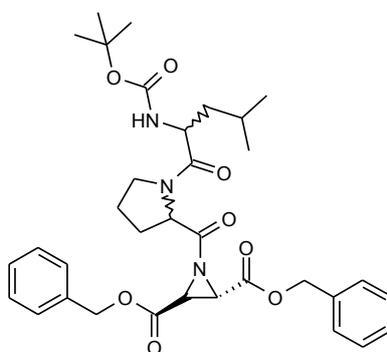


Figure 15 : Exemple de structure d'une aziridine active sur la cystéine protéase de *L.mexicana*

Pour se développer au sein de l'organisme hôte, le parasite a besoin d'apports énergétiques. Il a donc mis en place un système de transporteurs qui va puiser dans les ressources de l'organisme hôte les éléments tels que les nucléotides, les sucres, les acides gras. Dans la plupart des cas, le parasite ne produit pas lui-même ces éléments et se sert naturellement des ressources accumulées par l'hôte pour son propre développement. La pentamidine (vue à la **figure 8** page 27) est un des représentants essentiels des molécules inhibant le transport des polyamines.

Tout récemment, plusieurs travaux de recherche ont été menés en direction des kinases. Ces enzymes impliquées dans le développement cellulaire anarchique de cellules cancéreuses sont largement étudiées. Mais de nombreux groupes de recherche ont montré que l'inhibition de la Protéine Kinase C (PKC) ou de la kinase dépendante des cyclines CDK1 pouvait également conduire à une diminution de la prolifération du parasite.

³⁸ Parveen S. *et al.* *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8087-8097.

³⁹ Ponte-Sucre A. *et al.* *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 2439-2447.

La PKC intervient dans de nombreux mécanismes de contrôle. Il s'agit d'une protéine de phosphorylation qui utilise l'ATP comme source de phosphate. La PKC parasitaire intervient dans le phénomène de phagocytose facilitée puis dans la phosphorylation d'enzymes clés dans les processus de défense à l'intérieur du phagolysosome. Il a été montré que des imidazolin-2-ones (**figure 16**) inhiberaient l'action de la PKC parasitaire, son expression et sa capacité d'infection du macrophage. Ces structures sont par ailleurs actives dans des modèles de leishmanies murines cutanées et viscérales.⁴⁰

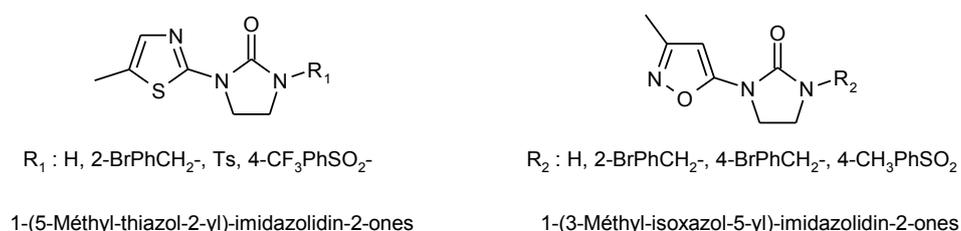


Figure 16 : Exemples de structures imidazolin-2-ones inhibitrices de la PKC de *Leishmania mexicana*

Une autre classe de kinases est impliquée dans le développement cellulaire, les kinases dépendantes des cyclines et notamment la CDK1. Cette enzyme a pour rôle de contrôler le processus d'entrée en phase de mitose lors du cycle cellulaire. En présence de cycline, le site actif de l'enzyme s'ouvre, facilitant l'accès de l'ATP à sa poche spécifique. Il a été montré que le gène CRK3 code pour l'enzyme CDK1 chez *Leishmania*.⁴¹ Il intervient dans le développement des deux formes du parasite. Un screening d'un grand nombre de molécules a montré que des composés de la famille des indirubines ou des paullones présentaient une forte activité inhibitrice de CDK1. Ils induiraient un arrêt du développement du parasite accompagné d'un changement de morphologie et de contenu cellulaire.⁴²

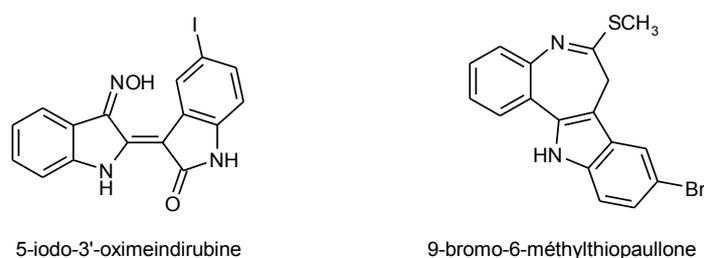


Figure 17 : Exemples de deux composés actifs sur CDK1 du parasite

⁴⁰ Alvarez N. *et al. J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2002**, *17*, 443-447.

⁴¹ Grant K.M. *et al. J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 10153-10159.

⁴² Grant K.M. *et al. Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 3033-3042.

III- Travaux antérieurs et objectifs de recherche

1- Travaux antérieurs réalisés au Laboratoire

Le Laboratoire de Chimie Thérapeutique de la Faculté de Pharmacie de Nantes s'est attaché depuis de nombreuses années à préparer des structures novatrices dans le traitement de la leishmaniose. Le Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale de l'équipe possède une large expérience dans les maladies infectieuses et a réalisé l'évaluation des composés préparés en chimie sur des souches de *L. mexicana*.

1-1- Dérivés de la 2-amino-4,6-diméthylpyridine

Plusieurs familles de molécules ont été ainsi étudiées afin d'isoler des composés actifs sur différentes voies métaboliques du parasite. Ainsi, en 2002, des dérivés de la famille des 2-amino-4,6-diméthylpyridines (**figure 18**) ont montré une première activité intéressante sur la forme amastigote du parasite.^{43,44}

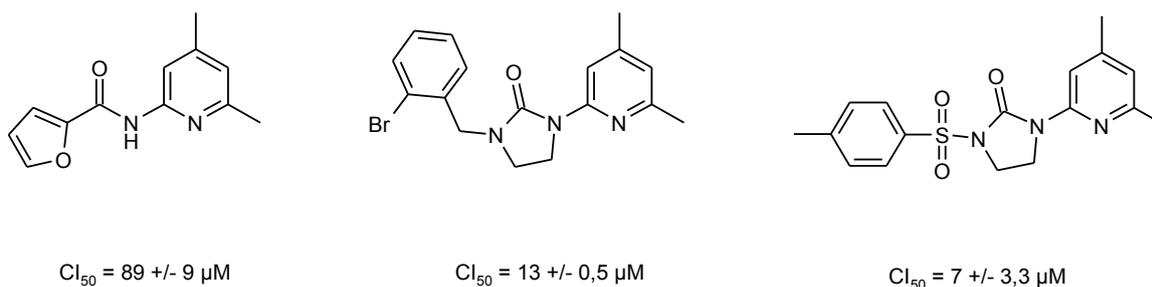


Figure 18 : Dérivés de la 2-amino-4,6-pyridine actifs sur des amastigotes de *L. mexicana*

Le dérivé furanique (à gauche) fut le premier synthétisé et le remplacement du motif furan-carboxamide par un cycle imidazolin-2-one a conduit à deux produits possédant une activité plus intéressante (CI_{50} de 13 et 7 μM). Il semblerait que ces produits agissent sur le parasite en réduisant la réplication de l'ADN et par là même la synthèse des protéines mais un mécanisme couplé à une inhibition de la phospholipase A_2 (intervenant dans la réponse anti-inflammatoire du parasite) est suspecté.

⁴³ Abdala H. *et al. Parasite* **2002**, 9, 367-370.

⁴⁴ Robert J.M.H. *et al. Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38, 711-718.

1-2- Cas particulier des azolés

En parallèle de ces travaux de recherche, d'autres chercheurs du Laboratoire se sont attachés à préparer une nouvelle classe d'inhibiteurs qui agirait sur l'enzyme lanostérol-14 α -déméthylase (CYP51) du parasite. Comme mentionné précédemment (page 29), cette enzyme à cytochrome P450 intervient dans la cascade qui convertit le lanostérol en ergostérol. Ce dernier est le constituant essentiel des membranes du parasite et l'inhibition de la CYP51 est une cible de choix pour perturber l'intégrité du parasite. Il n'est pas présent dans les membranes des cellules de mammifères, ce qui induirait une faible toxicité pour les produits obtenus.

La structure générale des premiers inhibiteurs est basée sur un noyau indole et un noyau imidazole (ou triazole) permettant une coordination avec l'atome de fer de l'hème (figure 19).

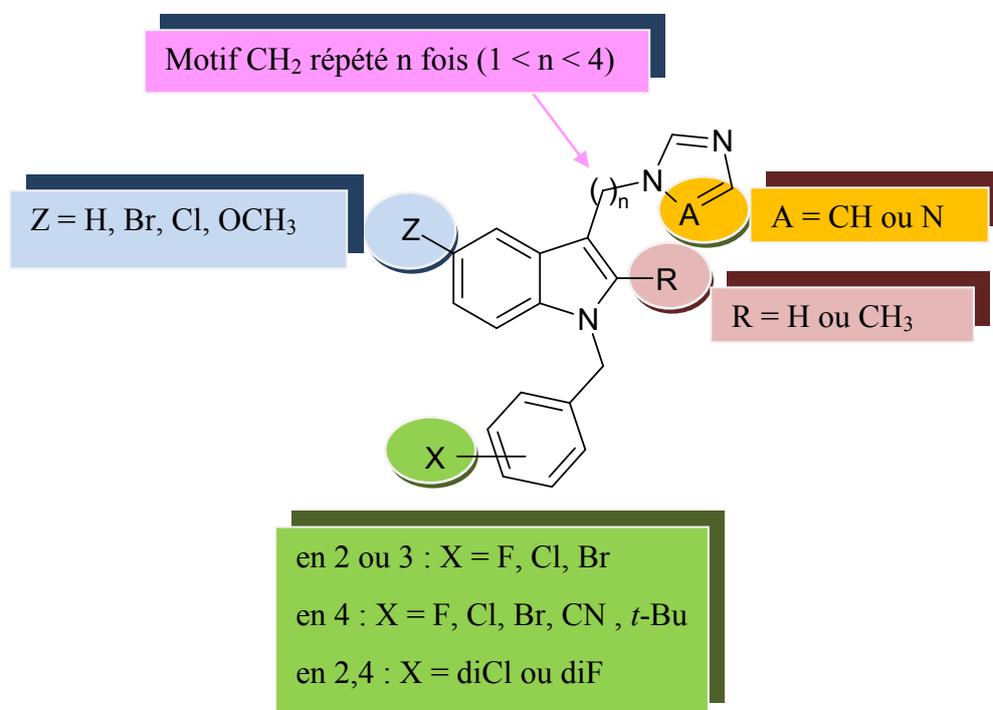
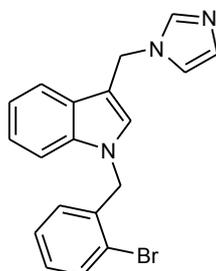


Figure 19 : Première série d'inhibiteurs azolés préparés au Laboratoire

Les diverses pharmacomodulations ont porté sur les positions 2 et 5 de l'indole, sur l'hétérocycle azoté, sur la longueur de la liaison entre l'imidazole (ou le *1H*-1,2,4-triazole) et l'indole et enfin sur les substituants du noyau benzyle. Cette étude a ainsi débouché sur la synthèse de composés originaux dont l'activité inhibitrice a été évaluée sur des promastigotes de *L. mexicana*. Leur concentration minimale inhibitrice 50 (ou CI_{50}) est comprise entre 0,03 μ M et 80,4 μ M⁴⁵ selon les protocoles d'évaluation décrits plus loin (page 61).

⁴⁵ Marchand P. et al. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2002**, *17*, 353-358.

Pour la première fois, une molécule (le **DEL39**) a montré une activité inhibitrice environ 200 fois supérieure à la molécule de référence utilisée, le kétoconazole (CI_{50} mesurée = 5,65 μ M). La découverte de ce composé prometteur (**figure 20**) nous a donc conduit à définir de nouveaux objectifs de recherche et à poursuivre les pharmacomodulations autour de cette famille chimique.



DEL39

CI_{50} (promastigotes *L. mexicana*) = 0,03 +/- 0,01 μ M

Figure 20 : Structure de notre chef de file

2- Objectifs de recherche

Afin d'orienter les travaux de synthèse, l'accent a été mis sur une approche plus rationnelle du problème. La structure cristallographique de l'enzyme CYP51 du parasite (sur laquelle sont présumés agir nos composés) n'étant pas disponible, rendant de ce fait impossible une approche basée sur la structure de la cible, nous avons choisi de quantifier les relations structure-activité des inhibiteurs décrits sur la **figure 19**, par une étude QSAR-3D de type CoMSIA.

Les conclusions obtenues à la suite de ce modèle devaient nous permettre de diminuer le nombre des composés à synthétiser et nous concentrer uniquement sur ceux susceptibles d'être les plus actifs.

En recherchant dans la littérature les différentes études QSAR réalisées à ce jour sur des espèces de *Leishmania*, il est apparu que quelques articles⁴⁶⁻⁴⁸ existaient sur le sujet. Comme déjà vu précédemment, la leishmaniose est représentée par un grand nombre d'espèces du genre *Leishmania*. Le parasite est présent sous deux formes distinctes, le promastigote et l'amastigote. Ces deux facteurs multiplient les domaines d'étude.

Ainsi, sur le stade promastigote du parasite, H. De Mello *et al.*⁴⁶ ont étudié selon une méthode QSAR-2D des pyrazolopyridines ayant montré une activité sur *Leishmania amazonensis* (**figure 21**). Leur étude a permis de corréliser directement l'activité biologique avec un paramètre de lipophilie (log P ou coefficient de partition eau/octanol) et deux

⁴⁶ De Mello H. *et al. J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5427-5432.

paramètres stériques L et B2 (paramètres de Verloop, STERIMOL). L'activité varie selon la lipophilie avec un ordre 2 et selon le facteur stérique avec un ordre 1.

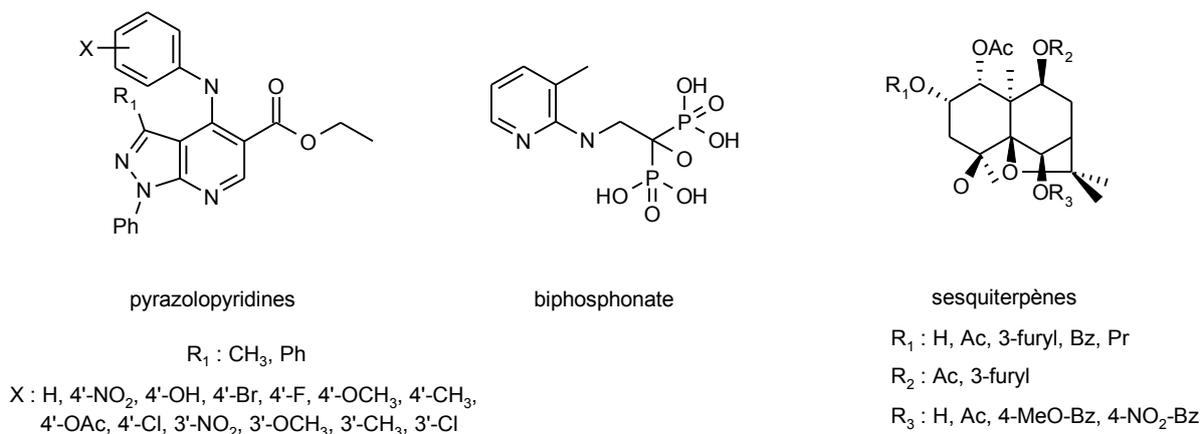


Figure 21 : Exemple de structures étudiées par modélisation moléculaire sur le stade promastigotes de *Leishmania*

J.M. Sanders *et al.*⁴⁷ ont établi quant à eux un modèle de type CoMFA et CoMSIA sur une série de biphosphonates actifs sur l'enzyme farnesyl pyrophosphate synthase de *Leishmania major*. Leur étude a permis de montrer les caractéristiques structurales optimales pour avoir une bonne activité. Ainsi, ils en ont déduit l'influence de l'atome d'azote sur l'hétérocycle, d'un groupe méthyle ou encore de phénomènes de résonance sur l'activité.

Enfin, une étude CoMSIA a porté sur une souche de *Leishmania tropica* résistante pour laquelle différents sesquiterpènes ont montré une activité antiparasitaire.⁴⁸ Elle a permis d'identifier les éléments structuraux nécessaires pour une meilleure activité et notamment l'importance de groupes donneurs et accepteurs de liaisons hydrogènes.

⁴⁷ Sanders J.M. *et al.* *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5171-5183.

⁴⁸ Cortes-Selva F. *et al.* *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 576-587.

IV- Mise en place d'un modèle QSAR-3D

1- Approche théorique

Les méthodes informatiques nous permettent aujourd'hui de travailler à plusieurs niveaux du « drug design » et se répartissent en deux catégories :

- Les techniques basées sur la structure de la cible : le site récepteur est connu (3D) et considéré pour évaluer la reconnaissance avec des ligands (connus et/ou nouveaux).
- Les techniques basées sur la structure des ligands : le site d'action est inconnu ou non décrit en 3D. L'analyse comparative des caractéristiques de molécules actives et inactives est utilisée dans l'hypothèse de complémentarité substrat/récepteur inconnu.

Pour aborder la thématique antiparasitaire de ces travaux de recherche, nous avons employé une stratégie indirecte telle que le QSAR pour définir des zones d'interactions favorables dans l'espace entourant les ligands préalablement alignés dans une conformation supposée bioactive.

Le concept des relations structure-activité quantitatives (*Quantitative structure-activity relationship*) vise à établir une équation mathématique entre les propriétés structurales d'une série de molécules et une activité (ou une propriété) donnée (**figure 22**). Ainsi, la relation obtenue pourra être utilisée en retour pour générer de nouvelles structures.

$$\text{propriété ou activité} = C_1P_1 + C_2P_2 + \dots + C_NP_N + \text{constante}$$

avec : P_X = descripteurs moléculaires

C_X = coefficients

Figure 22 : Exemple de relation quantitative recherchée lors d'un modèle QSAR

Les descripteurs moléculaires utilisés dans l'équation peuvent être de trois types :

- les **descripteurs globaux** qui encodent les propriétés globales des molécules (logP, poids moléculaire, rayon de Van der Waals, descripteurs quantiques : énergie des orbitales HOMO, LUMO, potentiel d'ionisation ...).

- les **descripteurs bidimensionnels** directement dérivés des graphes moléculaires c'est-à-dire de la manière dont les atomes sont liés (indices topologiques, descripteurs binaires 2D ...).

- les **descripteurs tridimensionnels** basés sur la conformation spatiale de la molécule. Ces descripteurs sont cependant dépendants de la position et de l'orientation de la molécule (descripteurs binaires 3D (fingerprints pharmacophoriques), descripteurs de champ d'interaction moléculaire, ...).

Dans notre cas, nous avons choisi une méthode 3D basée sur des descripteurs de champ d'interaction moléculaire. Ces descripteurs proviennent des calculs d'énergie d'interaction entre des atomes sondes et la molécule en chaque point d'une grille entourant celle-ci.

Cette approche a connu un grand essor au travers de la technique CoMFA (*Comparative Molecular Field Analysis*) utilisant des champs stériques et électrostatiques⁴⁹ et de la technique CoMSIA (*Comparative Molecular Similarity Indices Analysis*)⁵⁰ qui utilise les mêmes champs, mais s'appuie sur des mesures de similarité moléculaire. L'avantage de la méthode CoMSIA réside dans la fonction de type gaussienne utilisée pour exprimer les différents champs. Les molécules sont ainsi mieux converties sous leur forme mathématique. De plus, contrairement au CoMFA, le CoMSIA a été décrit dans la littérature comme étant moins sensible à l'alignement.^{51,52}

En principe, ces deux méthodes consistent à placer les ligands dans une boîte délimitant une grille (**figure 23**) en tous points de laquelle une sonde permet de calculer les champs stériques et électrostatiques, auxquels s'ajoutent pour le CoMSIA le calcul du champ lipophile et les capacités à donner ou accepter des liaisons hydrogène.^{53,54} La sonde la plus utilisée est un carbone sp^3 porteur d'une charge de +1, les liaisons hydrogène étant testées par un pseudoatome placé aux points d'interaction possibles en tenant compte de la géométrie d'une liaison hydrogène (angle et longueur). Dans les deux cas, les champs générés pour chaque molécule sont comparés entre eux pour éliminer les zones dépourvues d'information et les zones redondantes.



Figure 23 : Réseau utilisé pour la détermination des interactions moléculaires

Un modèle mathématique peut alors être construit à partir de la matrice contenant la valeur de chaque champ dans la boîte. Cependant, le très grand nombre de données conduit à un temps de calcul relativement long et engendre surtout un fort risque de

⁴⁹ Cramer III R.D. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5959-5967.

⁵⁰ Klebe G. *et al. J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 4130-4146.

⁵¹ Doddareddy M.R. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3977-3985.

⁵² Klebe G. *et al. J. Comput. Aided Mol. Des.* **1999**, *13*, 1-10.

⁵³ Böhm M. *et al. J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 458-477.

⁵⁴ Böhm M. *et al. J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1585-1597.

trouver une corrélation due au hasard et dépourvue de toute signification. Des méthodes d'analyse statistiques et de validation sont donc nécessaires.

Ainsi, la technique des moindres carrés partiels (PLS ou *Partial Least Squares*) permet de remplacer l'espace initial des (nombreuses) variables explicatives par un espace de faible dimension, sous tendu par un petit nombre de variables appelées « facteurs » ou « variables latentes » qui sont construites l'une après l'autre de manière itérative. Ces facteurs seront les nouvelles variables explicatives d'un modèle de régression linéaire classique. Les facteurs sont orthogonaux (non corrélés), et sont les combinaisons linéaires des variables explicatives initiales.

L'une des méthodes de validation les plus employées est la **validation croisée**. Elle consiste à écarter un certain nombre de valeurs, puis à dériver un modèle sur les valeurs restantes et à prédire les valeurs laissées de côté. Ce processus est répété jusqu'à ce que toutes les valeurs aient été prédites une fois. Une variante consiste à générer un modèle sur toutes les valeurs à l'exception d'une, qui est prédite par le modèle. Ce processus appelé « leave-one-out (LOO) » est répété jusqu'à ce que toutes les valeurs aient été prédites. Une autre variante est le **bootstrapping**, qui consiste à choisir aléatoirement des valeurs parmi l'ensemble d'origine pour créer un ensemble de même taille que l'original ; des valeurs peuvent donc être présentes plusieurs fois dans ce nouvel ensemble. Un modèle est ensuite généré et ses paramètres statistiques calculés. Ce processus est répété à plusieurs reprises avant de faire la moyenne des paramètres de ces modèles, qui est finalement comparée aux paramètres obtenus pour l'ensemble initial. La variance des paramètres vis-à-vis de leur moyenne donne une bonne idée de la qualité du modèle initial.

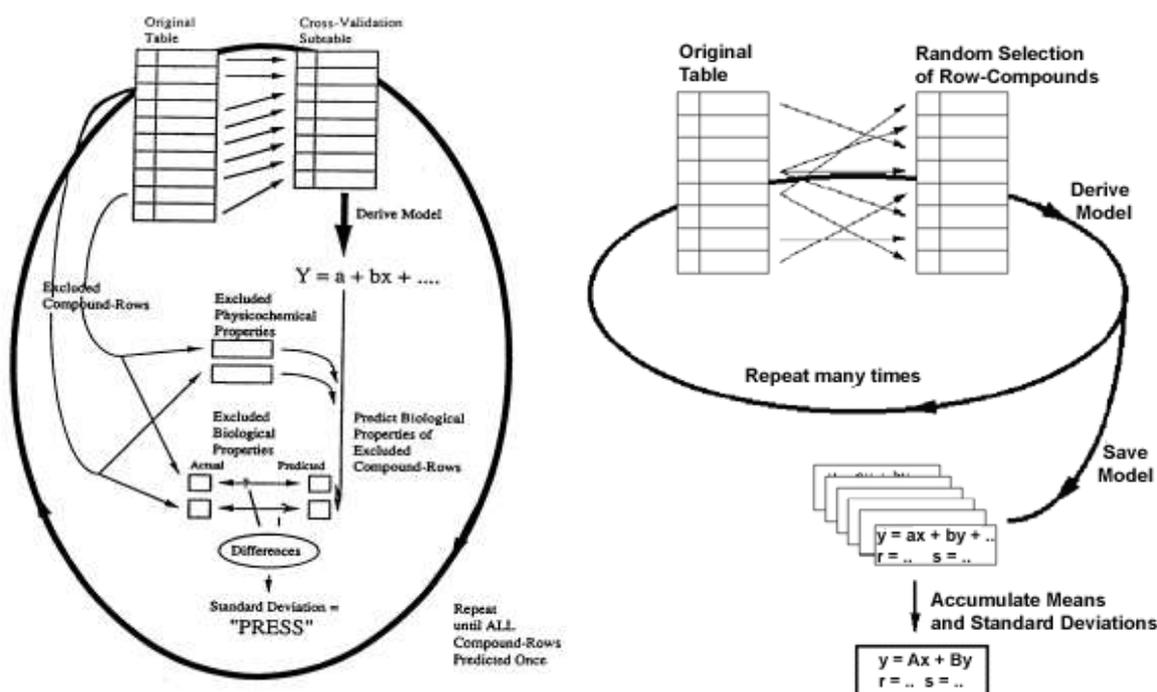


Figure 24 : Principe de la technique de validation croisée (à gauche) et du bootstrapping (à droite)

Les paramètres statistiques caractérisant une analyse sont :

- q^2 : coefficient de corrélation cross-validé (cette valeur doit être la plus élevée possible et donne une estimation du caractère prédictif du modèle – tout modèle crossvalidé dont le q^2 sera supérieur à 0,3 pourra être dérivé en modèle final avec un risque minimum de trouver une corrélation due au hasard).

- r^2 : proportion de la variance originelle expliquée par le modèle (*doit être le plus proche de 1*).

- s : erreur standard d'estimation (mesure de l'incertitude des propriétés cibles encore non expliquées après le QSAR – *doit être le plus petit possible*).

- F (**F test**) : rapport de l'expliqué sur l'inexpliqué (*doit être le plus grand possible*).

A la différence des autres techniques de QSAR, le QSAR-3D offre davantage de connaissances utiles à un pharmacochimiste puisqu'il apporte des informations interprétables quant à la structure de la cible. La qualité prédictive du modèle est directement évaluée par le tracé de la droite liant l'activité biologique prédite en fonction de l'activité biologique expérimentale. Le succès de ces méthodes tient à la possibilité de visualiser graphiquement les résultats dans l'espace des molécules. Des zones favorables ou défavorables pour chaque paramètre pris en compte dans le modèle sont ainsi localisées, ce qui permet d'interpréter chimiquement et qualitativement le modèle obtenu sous forme d'idées de pharmacomodulation.

A ce jour, aucun groupe de recherche n'a utilisé cette technique sur une classe d'azolés inhibiteurs de CYP51 de *L. mexicana*.

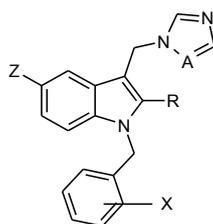
2- Matériel et méthodes

2-1- Activités biologiques et sélection de la base de données

A partir d'une série de 31 molécules évaluées pour leur activité inhibitrice et possédant un spectre d'activité compris entre 0,3 et 80 μM (CI_{50} en μM) (**tableau 1**), nous avons réalisé une étude QSAR-3D en utilisant la méthode CoMSIA.

La famille de composés a ensuite été répartie, de façon aléatoire, en deux sous-ensembles, le training set (2/3 des composés) qui servira à établir la relation liant l'activité biologique aux paramètres structuraux et le test set (le tiers restant) qui sera utilisé pour vérifier la qualité de la corrélation.

Tableau 1 : Activités biologiques *in vitro* et caractéristiques structurales des 31 composés du modèle. Les molécules M1-M24 appartiennent au training set et les molécules M25-M31 au test set.



Molécule	R	Z	X	A	CI ₅₀ (μM)	pCI ₅₀ (ou - log CI ₅₀)	
						Valeurs réelles	Valeurs prédites
M1	CH ₃	H	4-Cl	CH	3,05	5,51	5,95
M2	H	H	2-Br	N	34,50	4,46	4,48
M3	H	H	3-F	CH	30,40	4,52	4,50
M4	H	Br	2-F	N	79,80	4,10	4,15
M5	H	H	2-Cl	N	65,00	4,19	4,36
M6	H	Br	4-F	CH	20,60	4,69	4,76
M7	H	H	4-Br	N	6,60	5,18	4,87
M8	H	Br	4-F	N	50,30	4,30	4,26
M9	H	Br	2-Cl	N	59,20	4,23	4,31
M10	H	Br	4-Cl	CH	7,50	5,12	5,11
M11	H	F	2,4-diCl	CH	3,50	5,45	5,45
M12	H	Br	4-CN	CH	3,50	5,45	5,51
M13	CH ₃	H	3-Br	CH	2,60	5,58	5,54
M14	H	H	2,4-diF	CH	18,50	4,73	4,77
M15	H	H	2-F	CH	10,00	5,00	4,69
M16	H	H	4-tBu	CH	8,40	5,07	5,10
M17	CH ₃	H	4-Br	CH	0,30	6,52	6,20
M18	H	OCH ₃	4-F	CH	3,00	5,52	5,44
M19	H	H	3-Br	CH	15,10	4,82	4,71
M20	H	H	4-Br	CH	8,40	5,07	5,39
M21	H	H	3-Cl	CH	43,80	4,36	4,60
M22	H	H	4-Cl	CH	6,20	5,21	5,15
M23	H	H	4-Cl	N	25,00	4,60	4,63
M24	H	Br	2-Cl	CH	8,50	5,07	4,84
M25	H	Cl	4-Cl	CH	7,98	5,09	5,19
M26	H	F	4-Cl	CH	15,90	4,79	5,29
M27	H	H	2-F	N	83,00	4,08	4,19
M28	H	F	4-F	CH	15,00	4,82	4,96
M29	H	Br	2-F	CH	47,70	4,32	4,64
M30	H	F	4-Br	CH	3,80	5,42	5,54
M31	H	H	2-Cl	CH	34,90	4,46	4,88
Méglumine antimoniate					15 000		
Kétoconazole					5,65		

Selon la méthode décrite par T.I. Oprea *et al.*,⁵⁵ il est essentiel de vérifier les deux critères suivants dans chacun de ces sous-ensembles :

- une bonne répartition sur la gamme d'activité. Chaque ensemble doit contenir des molécules peu ou pas actives mais également des composés très actifs. Toute la largeur du spectre d'activité doit être représentée au niveau de chaque ensemble.

- une bonne répartition au niveau de la famille chimique. Chaque série chimique doit être idéalement répartie dans les deux ensembles.

Certes les pré-requis indiqués par H.D. Höltje *et al.*⁵⁶ à savoir au minimum 3 unités de log de différence entre le composé le moins actif et la molécule la plus puissante, ne sont pas respectés mais une grande attention a été placée sur le partage de la chimiothèque en deux sous-ensembles représentatifs de la famille de composés.

La **figure 25** représente la répartition numérique des composés étudiés dans les deux ensembles selon leur famille chimique et leur activité biologique.

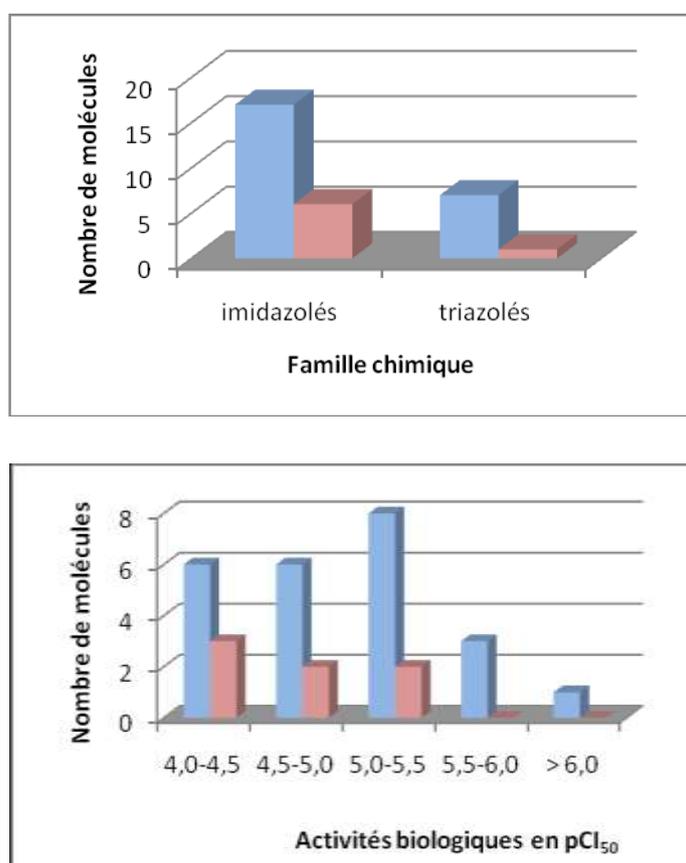


Figure 25 : Répartition des composés dans le training set (en bleu) et dans le test set (en rouge pâle) selon leur série chimique et leur activité biologique

⁵⁵ Oprea T.I. *et al.* *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2206-2215.

⁵⁶ Höltje H.D. *et al.* *Molecular modeling. Basic principles and applications*. 2nd edition. **2003**. Wiley-VCH. 65-72.

2-2- Analyse conformationnelle

Les études de modélisation moléculaire ont été réalisées à l'aide du logiciel Sybyl[®] version 7.1⁵⁷, sur deux stations SGI[®] Octane et Octane2.

Dans un premier temps, les molécules 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.

En l'absence de conformation bioactive obtenue expérimentalement, nous avons ensuite réalisé, pour chaque molécule, une **analyse conformationnelle** de type Monte Carlo implémentée dans Sybyl (random search). Cette technique localise les minimums énergétiques en ajustant aléatoirement les liaisons choisies suivi d'une minimisation par mécanique moléculaire (champ de force Tripos[®], incluant les charges atomiques Gasteiger-Hückel). Le cycle est ainsi répété plusieurs fois. Après chaque cycle, la nouvelle conformation est comparée aux structures générées précédemment et est stockée au sein d'une base de données si elle est unique. Les principales options utilisées sont le nombre maximum de « hits » (n = 6) qui définit le nombre de fois où chaque conformation doit être trouvée afin de stopper la recherche de nouvelles conformations ; le « RMS threshold » (Root Mean Square = 0.2 Å) qui définit la superposition minimale entre deux conformations permettant leur différenciation ; l'énergie cutoff (+ 20 Kcal/mol) qui permet de connaître l'énergie maximale autorisée pour une conformation ($E_{\max} = E_{\min} + E_{\text{cutoff}}$) ; et le nombre maximum de cycles (10 000).

Enfin, une optimisation supplémentaire a été effectuée *via* une méthode semi-empirique utilisant l'hamiltonien AM1 (MOPAC version 6.0).⁵⁸

2-3- Alignement des composés

Nous avons retenu le centroïde de l'homocycle de l'indole, le centre du noyau benzyle, l'atome d'azote du noyau indolique et les atomes N1 et N3 du noyau imidazole (ou N1 et N4 du noyau triazole) comme éléments déterminants de l'arrangement spatial tridimensionnel de ces molécules (**figure 26**).

⁵⁷ SYBYL molecular modeling software, version 7.1, August 2005, Tripos Associated Ltd., St Louis, MO.

⁵⁸ Stewart J.J. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1990**, *4*, 1-105.

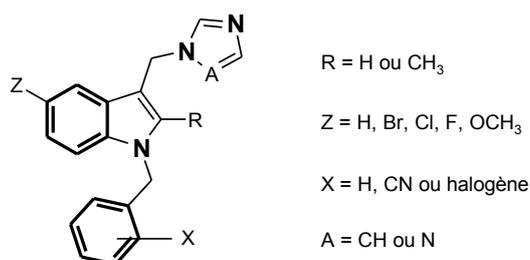


Figure 26 : Eléments structuraux communs à tous les composés de la chimiothèque

Puis, parmi les conformations de plus basse énergie, nous avons identifié celles qui présentaient un arrangement spatial commun de ces éléments. Les superpositions entre les différentes conformations ont été effectuées selon deux méthodes différentes :

- Le « **database alignment** », basé sur un alignement rigide des composés de la base de données selon des éléments structuraux communs.
- Le « **multifit alignment** », basé sur un alignement des composés sur des points communs en accordant plus de flexibilité au reste de la molécule.

La molécule **M13** (cf **tableau 1** page 43), possédant un atome de brome en position *ortho*- et faisant partie des molécules les plus actives de notre famille, nous a servi de référence. La superposition des 31 molécules du modèle est décrite ci-dessous (**figure 27**).

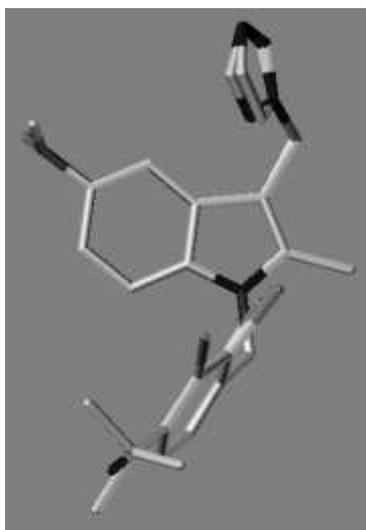


Figure 27 : Superposition des 31 molécules étudiées dans le modèle (« multifit alignment »)

2-4- Etudes CoMSIA

Les différentes molécules alignées et superposées ont été transmises au module QSAR/CoMSIA du logiciel Sybyl. Nous avons utilisé une grille parallélépipédique pour positionner la sonde et calculer les contributions des champs moléculaires de chaque molécule en ce point. Le choix de la sonde s'est porté sur un atome de carbone de type C.3 avec une charge de +1.

Ces données ont ensuite été analysées par des méthodes PLS et ont conduit à différents modèles exploitables pour la prédiction de nouvelles molécules actives.

3- Résultats et discussion

3-1- Choix d'un modèle

Pour chaque alignement, différentes combinaisons des champs moléculaires ont été étudiées afin de déterminer les paramètres influençant la qualité du modèle.

Seize modèles ont ainsi pu être établis et nous avons, pour chacun d'eux, évalué les paramètres statistiques (**tableau 2**).

Tableau 2 : Résumé des différents modèles CoMSIA selon l'alignement

Titre	Champs				Analyse PLS					
	S	E	H	A	q^2 ^a	N ^b	s_{cv} ^c	r^2 ^d	s ^e	r^2_{pred} ^f
Multifit alignment										
CoMSIA-1	X	X	X	X	0,594	5	0,412	0,897	0,208	0,649
CoMSIA-2	X				0,310	1	0,486	0,529	0,401	0,444
CoMSIA-3		X			0,632	3	0,372	0,851	0,237	-0,174
CoMSIA-4			X		0,495	5	0,459	0,804	0,286	0,555
CoMSIA-5	X	X			0,538	3	0,417	0,851	0,237	0,242
CoMSIA-6	X		X		0,527	4	0,433	0,808	0,276	0,525
CoMSIA-7		X	X		0,558	4	0,418	0,831	0,259	0,400
CoMSIA-8	X	X	X		0,558	4	0,418	0,838	0,253	0,485
Database alignment										
CoMSIA-9	X	X	X	X	0,407	8	0,545	0,963	0,137	0,182
CoMSIA-10	X				0,304	1	0,488	0,533	0,399	0,156
CoMSIA-11		X			0,469	4	0,458	0,865	0,231	0,007
CoMSIA-12			X		0,300	3	0,513	0,738	0,314	0,242
CoMSIA-13	X	X			0,464	4	0,461	0,886	0,212	0,272
CoMSIA-14	X		X		0,316	3	0,496	0,767	0,296	0,248
CoMSIA-15		X	X		0,372	3	0,486	0,794	0,278	0,133
CoMSIA-16	X	X	X		0,393	3	0,478	0,804	0,272	0,198

^a Coefficient de corrélation cross-validé. ^b Nombre de composants. ^c Erreur standard de prédiction. ^d Coefficient de corrélation. ^e Erreur standard d'estimation. ^f Coefficient de corrélation prédit. S = champs stérique, E = champ électronique, H = champ hydrophobe, A = champ accepteur de liaison H.

Une simple comparaison de ces paramètres montre que les modèles basés sur un alignement « flexible » possèdent de meilleurs résultats que ceux obtenus à partir d'un alignement « rigide ».

Nous avons retenu le modèle généraliste CoMSIA-1 qui offrait des valeurs élevées q^2 et r^2 tout en gardant de faibles valeurs s_{cv} et s . Ce modèle prend en compte la totalité des descripteurs moléculaires et possède la meilleure qualité de prédiction de l'activité ($r^2_{pred} = 0,649$).

L'ensemble des paramètres statistiques le caractérisant est résumé dans le **tableau 3**. Pour chaque paramètre intervenant dans le modèle une contribution a pu être déterminée. Les champs hydrophobes (42,5%) et accepteur de liaisons hydrogène (24,9%) possèdent la plus forte contribution devant le champ électrostatique (21,6%) et le champ stérique (11,1%).

Tableau 3 : Paramètres statistiques du modèle CoMSIA-1

Paramètres statistiques	Valeurs
Nbre de molécules dans le training set	24
Nbre de molécules dans le test set	7
q^2 ^a	0,594
N ^b	5
s_{cv} ^c	0,412
r^2 ^d	0,897
s ^e	0,208
F ^f	31,211
r^2_{bs} ^g	0,932
s_{bs} ^h	0,161
r^2_{pred} ⁱ	0,649
Contribution par champ (%)	
Stérique	11,1
Electrostatique	21,6
Hydrophobe	42,5
Accepteur de liaison H	24,9

^a Coefficient de corrélation cross-validé. ^b Nombre de composants. ^c Erreur standard de prédiction. ^d Coefficient de corrélation. ^e Erreur standard d'estimation. ^f rapport F. ^g Coefficient de corrélation bootstrapp. ^h Déviation standard bootstrapp. ⁱ Coefficient de corrélation prédit.

Le tracé des deux droites de corrélations obtenues en exprimant les valeurs d'activités prédites en fonction des valeurs expérimentales pour le training set et le test set est présenté **figures 28 et 29** :

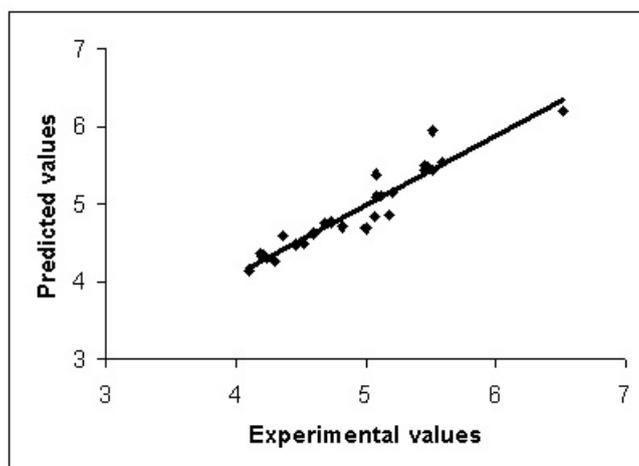


Figure 28 : Droite de corrélation entre les valeurs de pCI₅₀ (- log CI₅₀) prédites par le modèle CoMSIA-1 et les valeurs mesurées pour le training set.

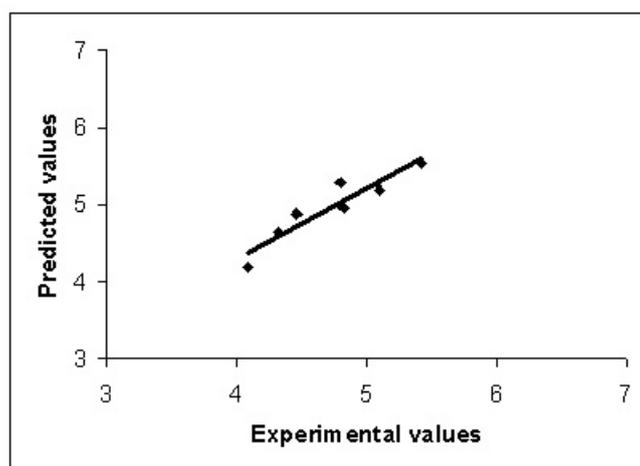


Figure 29 : Droite de corrélation entre les valeurs de pCI_{50} prédites par le modèle CoMSIA-1 et les valeurs mesurées pour le test set.

3-2- Interprétation graphique des résultats

Les cartes de contour permettent de mieux comprendre les motifs structuraux nécessaires à l'interaction avec la protéine cible. La molécule la plus active **M17** est représentée au centre et un code couleur attribué à chaque paramètre indique les zones favorables ou défavorables à cette interaction (**figures 30 et 31**).

Pour le paramètre stérique (intervenant à 11,1% dans le modèle), une zone verte indique qu'un encombrement stérique est favorable à l'activité (niveau de contribution de 80%).

A titre d'exemple, la comparaison des composés **M17** ($R = CH_3$ et $X = 4-Br$, $CI_{50} = 0,3 \mu M$) et **M20** ($R = H$ et $X = 4-Br$, $CI_{50} = 8,4 \mu M$) (**tableau 1**) montre en effet qu'un groupe encombrant sur la position 2 de l'indole serait favorable à l'activité inhibitrice.

Le paramètre électrostatique (intervenant à 21,6% dans le modèle) est représenté par des zones rouges où un groupe électro négatif serait favorable à l'activité (niveau de contribution de 20%) alors que dans les zones bleues, un groupe électro positif serait privilégié (niveau de contribution de 80%).

Une zone bleue est localisée au niveau de la position *mé*ta- du noyau benzyle. La simple comparaison des composés **M3** ($X = 3-F$, $CI_{50} = 30,4 \mu M$) et **M19** ($X = 3-Br$, $CI_{50} = 15,1 \mu M$) semble confirmer qu'un atome de brome serait plus approprié pour améliorer l'activité biologique.

De plus une zone rouge localisée autour de la position 5 de l'indole indique qu'un groupe électro négatif serait favorable à l'activité. Cette observation est confirmée par le bon niveau d'activité du composé **M24** ($Z = Br$ et $X = 2-Cl$, $CI_{50} = 8,5 \mu M$) par rapport à

celui observé pour le composé **M31** ($Z = \text{H}$ et $X = 2\text{-Cl}$, $\text{CI}_{50} = 34,9 \mu\text{M}$). Cependant, la puissance du caractère électro négatif du substituant semble être tempérée par un profil électro donneur puisqu'une importante zone rouge est également visible sur le cycle aromatique de l'indole. Le composé **M18**, qui comporte un tel substituant ($R = \text{H}$ et $Z = \text{OCH}_3$), fait d'ailleurs partie des composé les plus actifs ($\text{CI}_{50} = 3,0 \mu\text{M}$).

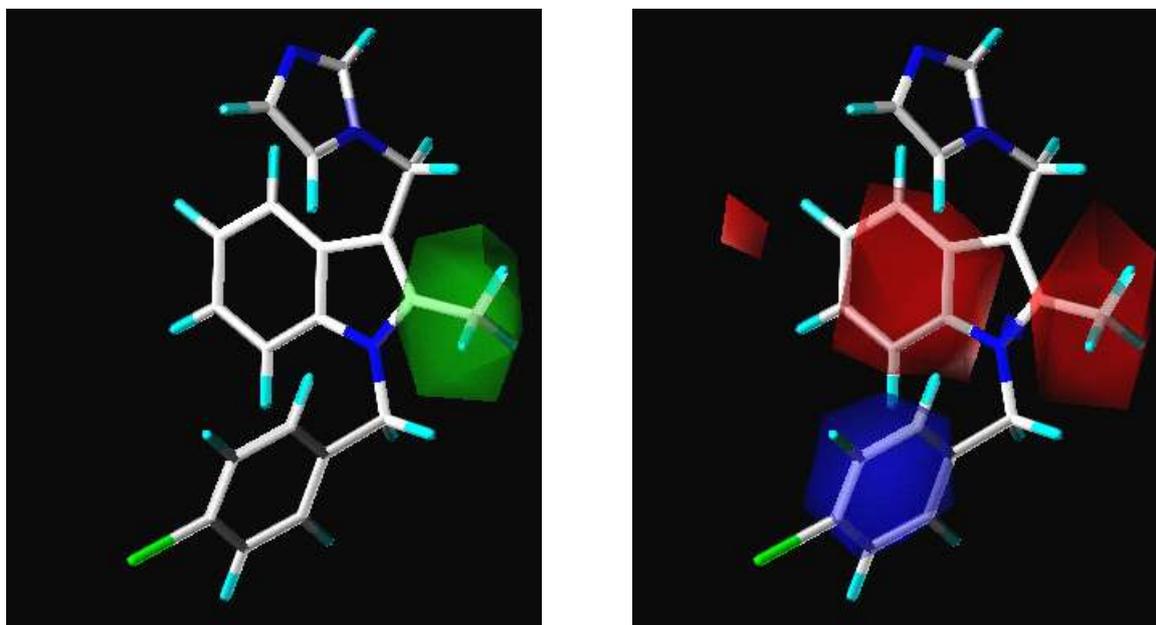


Figure 30 : Cartes de contour des paramètres stériques (à gauche) et électroniques (à droite) pour le modèle CoMSIA-1.

La **figure 31** présente l'interprétation graphique des paramètres hydrophobe et accepteur de liaison hydrogène pour le modèle retenu dans notre étude.

L'étude du paramètre hydrophobe (intervenant à 42,5% dans le modèle) montre une zone jaune autour de la position *para*- du benzyle. Ceci indique qu'un groupe lipophile serait favorable à l'activité (niveau de contribution de 80%). La comparaison des composés **M10** ($Z = \text{Br}$ et $X = 4\text{-Cl}$, $\text{CI}_{50} = 7,5 \mu\text{M}$) avec **M6** ($Z = \text{Br}$ et $X = 4\text{-F}$, $\text{CI}_{50} = 20,6 \mu\text{M}$) semble confirmer cette observation. Un atome de chlore est en effet plus lipophile qu'un atome de fluor. La même conclusion est transposable à la position *ortho*- du benzyle puisque le composé **M24** ($Z = \text{Br}$ et $X = 2\text{-Cl}$, $\text{CI}_{50} = 8,5 \mu\text{M}$) est plus actif que la molécule **M29** ($Z = \text{Br}$ et $X = 2\text{-F}$, $\text{CI}_{50} = 47,7 \mu\text{M}$).

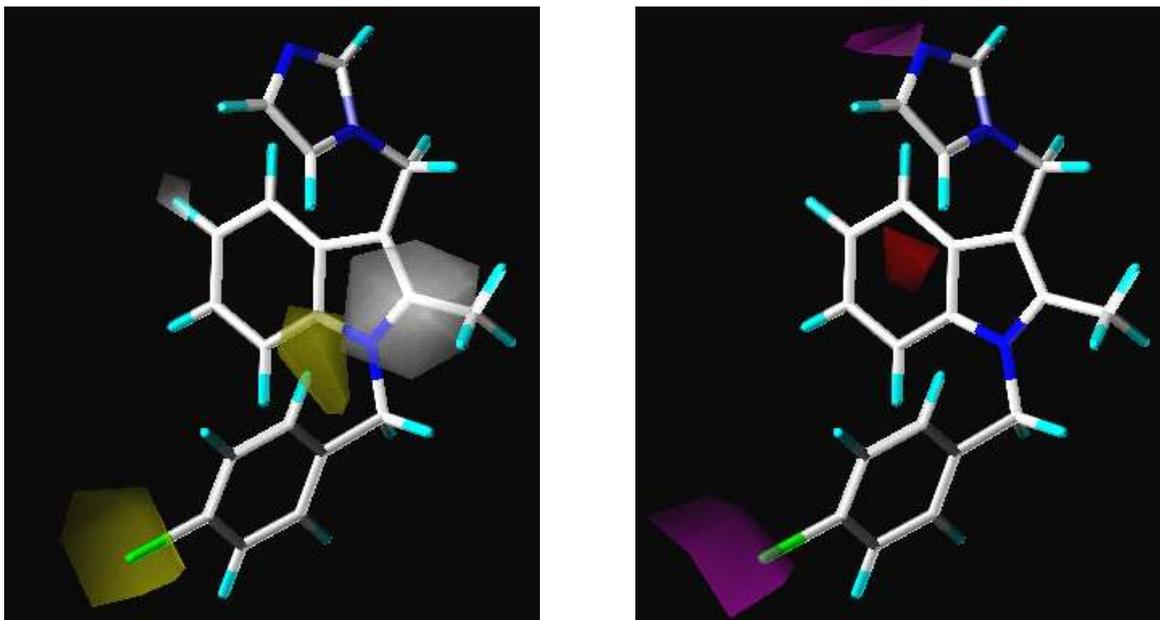


Figure 31 : Cartes de contour des paramètres hydrophobe (à gauche) et accepteur de liaison hydrogène (à droite) pour le modèle CoMSIA-1.

Enfin la visualisation graphique du paramètre accepteur de liaison hydrogène (intervenant à 24,9% dans le modèle) montre une zone rouge autour du noyau imidazole où un accepteur de liaison hydrogène est défavorable à l'activité (niveau de contribution de 20%). En effet, la comparaison des molécules **M23** (X = 4-Cl, A = N, CI_{50} = 25 μ M) et **M22** (X = 4-Cl, A = CH, CI_{50} = 6,2 μ M) montre clairement que les imidazolés sont plus actifs que leurs analogues triazolés.

D'autre part, la présence d'une zone magenta autour de la position *para*- du benzyle montre qu'un groupement accepteur de liaison hydrogène augmenterait l'activité (niveau de contribution de 80%). A titre d'exemple, une des molécules les plus actives (**M12** : CI_{50} = 3,5 μ M) possède un substituant cyano en cette position.

4- Conclusion

En résumé, la compilation des informations issues de l'analyse QSAR conduirait :

- 1) à synthétiser des analogues imidazoles ;
- 2) à introduire, en position 2 de l'indole, des groupes encombrants puis combiner ce facteur stérique aux cartes de contour des paramètres électrostatique et hydrophobe où des substituants hydrophiles et électronégatifs tels que -CHO, -CHNOH ou COOR pourraient être envisagés ;
- 3) à vérifier, en position *para*- du benzyle, l'influence d'un groupe -CN, accepteur de liaison hydrogène et comparer les résultats à ceux obtenus en tenant compte également du facteur hydrophobe. Ainsi des substituants tels que -CF₃, -OCF₃ ou -NO₂ permettraient d'améliorer l'activité de nos composés ;
- 4) à occuper la position 5 de l'indole par des groupes de taille et d'électronégativité diverses.

Il est à noter que cette étude a fait l'objet d'une publication récente.⁵⁹

⁵⁹ Giraud F. *et al.* SAR QSAR Environ. Res. **2006**, *17*, 299-309.

V- Synthèse de *N*-benzyl-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indoles

1- Objectifs de recherche

La première partie des travaux de synthèse a consisté à préparer de nouveaux analogues indoliques à activité antileishmanienne envisagés par notre modèle QSAR-3D. Ces composés, en fonction de l'accessibilité chimique, devront comporter des substituants susceptibles d'améliorer l'activité (**figure 32**).

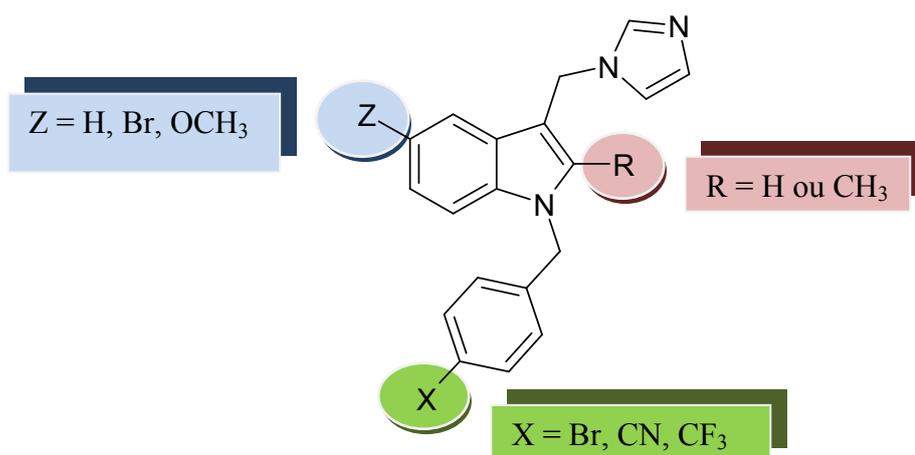


Figure 32 : Pharmacomodulations envisagées à la suite du modèle QSAR

Pour cela, notre choix s'est porté sur :

- La synthèse d'imidazolés puisqu'ils se sont avérés les plus actifs précédemment.
- La présence en position 2 de l'indole de groupes encombrants. Ainsi, des dérivés avec R = CH₃ seront préparés et pourront être comparés à leurs analogues non substitués.
- L'introduction en position *para*- du groupe benzyle de substituants accepteurs de liaison hydrogène et/ou lipophiles (CN, CF₃, Br).
- L'occupation de la position 5 du noyau indole par des groupes de taille et d'électronégativité diverses. Des substituants tels que Br, OCH₃ ont donc été envisagés.

Le tableau suivant indique les activités biologiques prédites par le modèle pour cette nouvelle famille de composés.

Tableau 4 : Activités prédites pour la nouvelle série de composés

R	Z	X	CI ₅₀ prédite (μM)
H	H	4-Br	4,07*
		4-CN	2,96
		4-CF ₃	12,62
H	Br	4-Br	4,36
		4-CN	3,09*
		4-CF ₃	10,38
H	OCH ₃	4-Br	1,52
		4-CN	0,62
		4-CF ₃	4,29
CH ₃	H	4-Br	0,63*
		4-CN	0,58
		4-CF ₃	2,60
CH ₃	OCH ₃	4-Br	0,61
		4-CN	0,70
		4-CF ₃	0,72

Remarque : les cases marquées d'une étoile * correspondent à des molécules ayant servi à la construction du modèle

Afin de juger la qualité de notre modèle, les composés originaux seront préparés selon une voie de synthèse similaire à celle décrite pour la préparation des molécules initiales.⁴⁵ Ils seront ensuite évalués et une comparaison entre les activités mesurées expérimentalement et les activités prédites devrait permettre de confirmer ou non nos hypothèses.

2- Synthèse des N-benzyl-3-(1H-imidazol-1-ylméthyl)-1H-indoles

2-1- Schéma rétrosynthétique envisagé

Toutes les structures envisagées possèdent un noyau central de type indole. La première idée fut d'adopter un schéma le plus convergent possible en introduisant la diversité lors de la dernière étape. Ainsi, il nous est apparu intéressant de partir de dérivés indoliques commerciaux déjà substitués en positions 2 et 5, d'introduire la chaîne méthyl-imidazole en position 3 et au final de greffer sur l'azote indolique divers halogénures de benzyles substitués en *para*- par les groupes adéquats. Par cette méthode, les intermédiaires sont peu nombreux et la préparation d'une quantité importante des dérivés **III** nous permettra rapidement d'obtenir les produits finaux souhaités (**figure 33**).

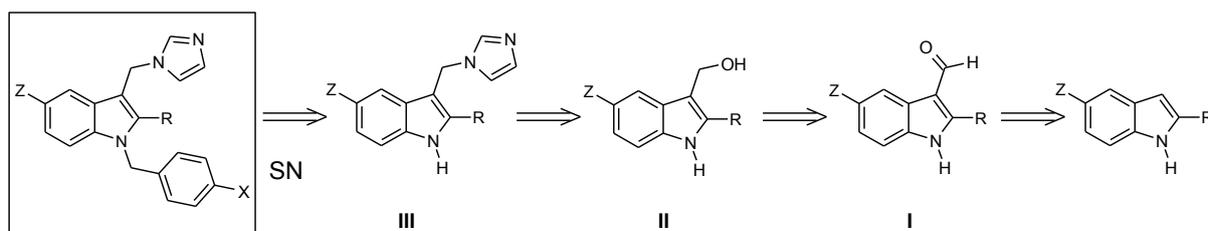


Figure 33 : Préparation des *N*-benzyl-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indoles

2-2- Préparation des 3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indoles III

La synthèse débute avec les dérivés indoliques possédant déjà les groupes R et Z désirés. Les cinq produits de départ nécessaires à notre synthèse sont commerciaux. Dans un premier temps, la faisabilité de notre stratégie de synthèse est évaluée sur le 5-bromo-1*H*-indole. La première étape de la synthèse consiste en une réaction de formylation en position 3 de l'indole. Celle-ci est réalisée selon les conditions classiques de Vilsmeier-Haack en faisant réagir l'indole avec du chlorure de phosphoryle dans le diméthylformamide selon la **figure 34**.

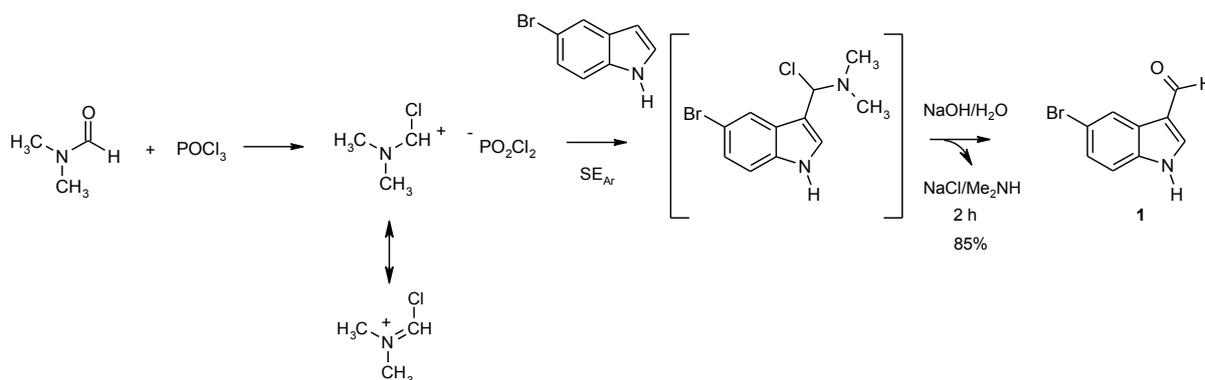


Figure 34 : Mécanisme de la réaction de formylation de Vilsmeier-Haack

Le diméthylformamide réagit avec le chlorure de phosphoryle pour former un électrophile (cation iminium). Une substitution électrophile aromatique (SE_{Ar}) a lieu entre le 5-bromo-1*H*-indole et cet électrophile en position 3 de l'indole. Après hydrolyse basique par une solution de soude, le dérivé **1** est obtenu avec 85% de rendement.

L'étape suivante est une réduction de la fonction aldéhyde en alcool primaire en utilisant le borohydrure de sodium dans le méthanol.⁶⁰ Un transfert d'hydrure (H) se produit vers le carbone de l'aldéhyde déficitaire en électrons, pour conduire au produit **2** avec 70% de rendement. La fixation du noyau imidazole est réalisée en faisant réagir du *N,N'*-

⁶⁰ Robinson B. *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 785-797.

carbonyldiimidazole (CDI) sur le (5-bromo-1*H*-indol-3-yl)méthanol **2** dans l'acétonitrile à 50 °C pendant 1 heure.⁶¹ L'intermédiaire clé **3** est isolé avec 97% de rendement (**figure 35**).

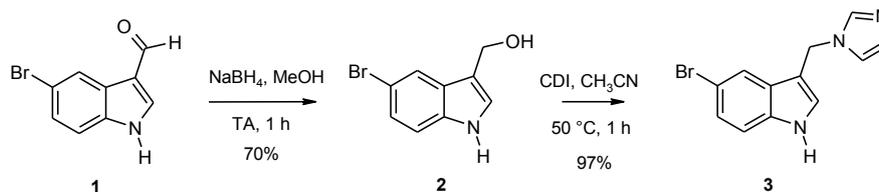


Figure 35 : Réduction du **1** et formation de **3**

La réaction entre l'alcool primaire du dérivé **2** et le CDI fait intervenir un mécanisme qui n'est pas encore clairement établi mais qu'il est intéressant de mentionner (**figure 36** où R = indole).

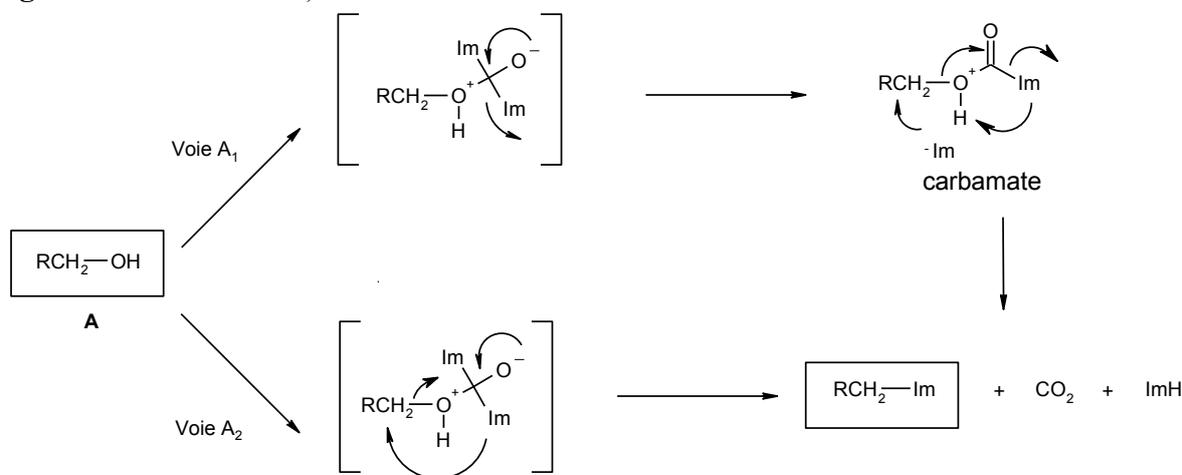


Figure 36 : Mécanisme d'obtention de l'enchaînement méthylimidazole

Deux voies sont possibles. La voie A₁ passe par un mécanisme de type S_N2. Il se forme dans un premier temps le produit de substitution de l'alcool par le CDI. Dans un deuxième temps, l'anion imidazole attaque l'intermédiaire selon une inversion de configuration. La voie A₂ passe par une substitution de l'alcool primaire et une attaque concertée d'un des deux noyaux imidazoles.⁶² Parmi les agents de transfert d'azolés, le CDI ou le TCDI ((thiocarbonyl)diimidazole) permettent l'introduction d'un imidazole sur la molécule. Selon les alcools utilisés, les dérivés imidazolés, carbamate ou thiocarbamate ont pu être isolés.⁶³

A noter que cette méthode peut aussi être appliquée dans les cas où un noyau triazole est envisagé à la place de l'imidazole. Il suffit pour cela de remplacer le CDI par un de ses analogues triazolés. Plusieurs dérivés existent, parmi eux le CDT (ou *N,N'*-carbonyldi-1*H*-1,2,4-triazole) mais son coût élevé en réduit l'utilisation. Un dérivé moins onéreux peut

⁶¹ (a) Jones C.D. *et al. J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 416-429. (b) Ogata M. *Annals New York Acad. Sci.*, **1988**, *544*, 12-31. (c) Staab H.A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1962**, *1*, 351-367.

⁶² Tottleben M.J. *et al. J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7319-7323.

⁶³ Njar V.C.O. *Synthesis* **2000**, *14*, 2019-2028.

être préparé selon les conditions indiquées (**figure 37**), le 1,1'-sulfinyl-di-(1,2,4-triazole) (ou SDT).

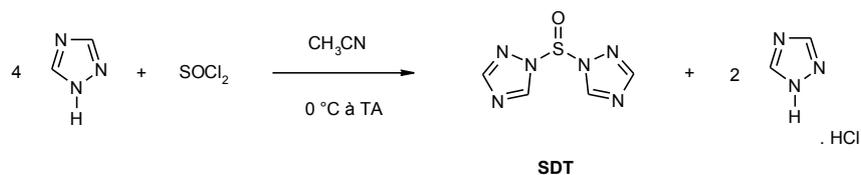


Figure 37 : Réaction de préparation du SDT

Le SDT est préparé par action du chlorure de thionyle (SOCl₂) sur le 1*H*-1,2,4-triazole. L'acide chlorhydrique formé est capté par le triazole en excès pour former le chlorhydrate facilement éliminé par filtration.⁶⁴ La réaction avec un alcool primaire se déroule selon le même mécanisme et conduit après désulfonation (perte de SO₂) au produit triazolé. Cependant, S. Massa *et al.*⁶⁴ ont montré que la réaction conduit à deux régioisomères N1 et N4 étant donné que le triazole libéré intermédiairement peut réagir sur sa position 1 et sur sa position 4. Une chromatographie sur colonne permet de séparer les deux régioisomères formés.

2-3- Introduction du benzyle en position 1

La dernière étape de la synthèse correspond à la substitution de l'azote du noyau indole des dérivés **III** par des groupes benzyles. Les chlorures ou bromures de benzyle correspondants sont commerciaux. Ainsi, partant des dérivés de la famille **III**, il serait possible par déprotonation de l'azote de l'indole par une base forte (type hydrure de sodium) d'envisager une substitution nucléophile par réaction avec un dérivé halogéné.

Un essai a été réalisé en utilisant le 5-bromo-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indole **3** en présence d'hydrure de sodium et de chlorure de (4-trifluorométhyl)benzyle dans l'acétonitrile (**figure 38**).

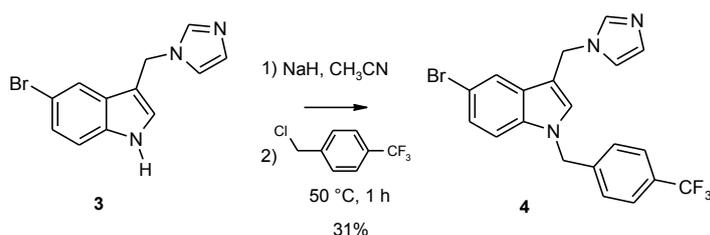


Figure 38 : Obtention de **4** par substitution nucléophile

Le premier produit final de la série a ainsi pu être isolé avec un faible rendement de 31%. Les conditions opératoires ont été modifiées pour tenter d'améliorer le rendement mais des systèmes tels que Cs₂CO₃ / CH₃CN / 50 °C ou NaH / DMF / TA ou 50 °C n'ont pas permis d'obtenir le dérivé **4**. Aucune réaction n'a lieu. D'autres composés, analogues du dérivé **4** ont été envisagés en faisant varier le groupe situé en position *para*- du benzyle.

⁶⁴ Massa S. *et al.* *Eur. J. Med. Chem.* **1992**, *27*, 495-502.

Toutefois, la même méthode n'a pas permis d'isoler les analogues possédant un nitrile ou un brome en cette position.

2-4- Nouvelle stratégie de synthèse

2-4-1- Approche rétrosynthétique

Une autre stratégie a alors rapidement été mise en place afin d'obtenir les produits finaux avec une meilleure reproductibilité de synthèse. Ici le groupement benzyle est introduit dans les premières étapes alors que la fixation du noyau imidazole est réalisée en fin de synthèse (**figure 39**).

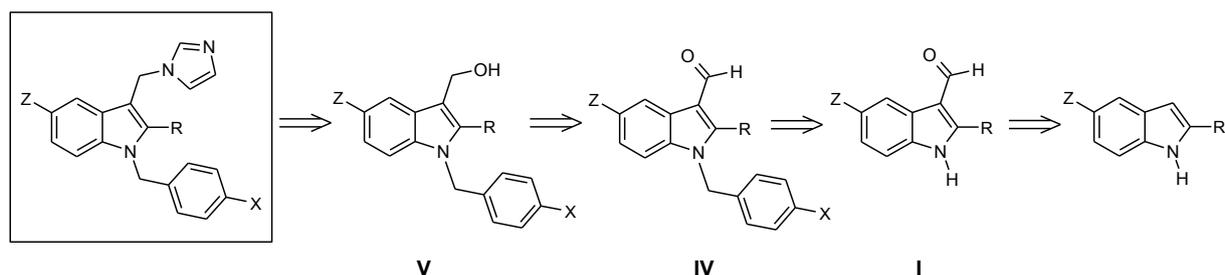


Figure 39 : Nouvelle préparation des *N*-benzyl-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indoles

Celle-ci offre moins d'avantage que la voie de synthèse indiquée **figure 33** page 55 puisqu'elle est moins convergente et multiplie les intermédiaires réactionnels. Comme précédemment, la formylation de Vilsmeier-Haack est réalisée en premier lieu sur des dérivés indoliques commerciaux. Elle est suivie par la *N*-benzylation du noyau indolique. Enfin, la réduction de l'aldéhyde en alcool primaire conduit aux dérivés **V** qui sont engagés dans une réaction de couplage avec le CDI pour donner les produits souhaités.

2-4-2 Obtention des indole-3-carbaldéhydes

La première étape de la synthèse est réalisée en faisant réagir le chlorure de phosphoryle en présence de diméthylformamide sur des noyaux indoles substitués en positions 2 et 5 par les groupements désirés (**figure 40**).

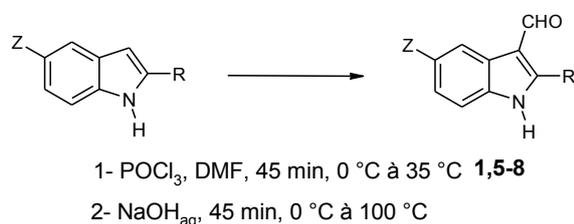


Figure 40 : Formylation de Vilsmeier-Haack

N°	R	Z	Rdt (%)
5	H	H	87
1	H	Br	85
6	H	OCH ₃	87
7	CH ₃	H	95
8	CH ₃	OCH ₃	96

Les produits **1**, **5**, **6**, **7**, et **8** sont obtenus sous forme de poudre avec de très bons rendements.

2-4-3- *N*-benzylation des indole-3-carbaldéhydes et réduction

La présence d'un groupe aldéhyde en position 3 des dérivés **I** rend le proton indolique plus labile. Une base faible de type carbonate (contre ion césium, sodium ou potassium) permet de déprotoner facilement l'indole. L'anion formé réagit ainsi sur divers halogénures de benzyle pour réaliser la substitution (**figure 41**). La réduction est réalisée comme précédemment en utilisant le borohydrure de sodium dans le méthanol à température ambiante.

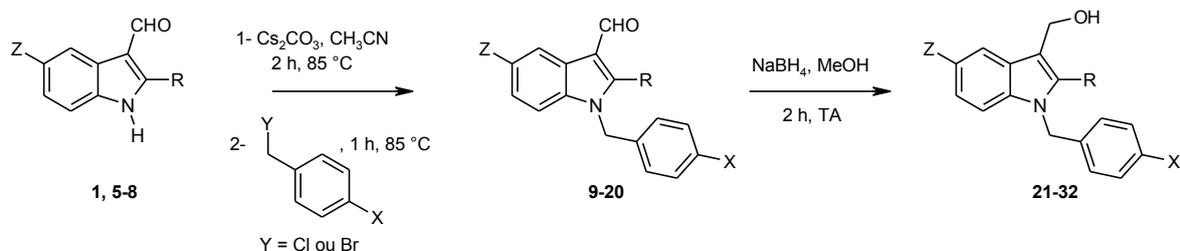


Figure 41 : *N*-benzylation et réduction

Les réactions de *N*-benzylation et de réduction conduisent assez facilement aux produits **9** à **32** avec de bons rendements (77-100%).

Tableau 5 : Rendement des réactions de *N*-benzylation et de réduction

<i>N</i> -benzylation					Réduction	
N°	R	Z	X	Rdt (%)	N°	Rdt (%)
/	H	H	4-Br	*	/	/
9			4-CN	77	21	92
10			4-CF ₃	76	22	77
11	H	Br	4-Br	63	23	93
/			4-CN	*	/	/
12			4-CF ₃	100	24	95
13	H	OCH ₃	4-Br	100	25	100
14			4-CN	97	26	100
15			4-CF ₃	100	27	93
/	CH ₃	H	4-Br	*	/	/
16			4-CN	99	28	81
17			4-CF ₃	76	29	97
18	CH ₃	OCH ₃	4-Br	100	30	100
19			4-CN	99	31	98
20			4-CF ₃	73	32	94

Remarque : les cases marquées * correspondent à des intermédiaires conduisant à des composés utilisés dans la construction du modèle.

2-4-4 Couplage avec le carbonyldiimidazole CDI

L'introduction du noyau imidazole est réalisée lors de la dernière étape de la synthèse par réaction entre les alcools primaires **21** à **32** (**tableau 5**) avec le *N,N'*-carbonyldiimidazole dans l'acétonitrile. La méthode employée ici diffère légèrement de la précédente puisque les réactions sont effectuées à température ambiante (**figure 42**) et ne conduisent en aucun cas à l'intermédiaire carbamate.

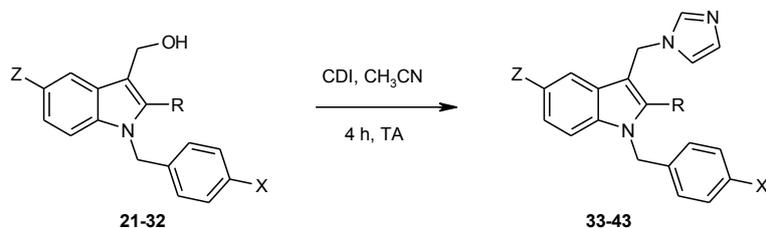


Figure 42 : Réaction de couplage avec le CDI

Le composé **4** a donc été préparé selon les deux voies de synthèse envisagées. Les rendements obtenus dans les deux cas sont similaires (18 et 16% de rendement global). Contrairement aux essais réalisés sur l'indole non substitué en position 1 (**figure 39**), la méthode employée ici est reproductible et conduit aux produits finaux **33** à **43** (**tableau 6**) avec des rendements satisfaisants (compris entre 20 et 78%). Cette voie de synthèse est certes plus longue mais conduit finalement à l'objectif envisagé avec des résultats satisfaisants.

Tableau 6 : Formation des dérivés finaux

N°	R	Z	X	Rdt (%)
M20	H	H	4-Br	*
33			4-CN	45
34			4-CF ₃	61
35	H	Br	4-Br	78
M12			4-CN	*
4			4-CF ₃	20
36	H	OCH ₃	4-Br	57
37			4-CN	46
38			4-CF ₃	52
M17	CH ₃	H	4-Br	*
39			4-CN	54
40			4-CF ₃	50
41	CH ₃	OCH ₃	4-Br	39
42			4-CN	46
43			4-CF ₃	63

Remarque : les cases marquées * correspondent à des intermédiaires conduisant à des composés utilisés dans la construction du modèle.

3- Interprétation des résultats pharmacologiques

3-1- Principe des tests d'évaluation

L'évaluation de l'activité *in vitro* sur le stade promastigote de *Leishmania mexicana* (MHOM/MX/95/NAN1) est réalisée en microplaque de 96 puits, par détermination fluorimétrique de la viabilité cellulaire avec de l'UptiBlue[®].⁶⁵

a) Préparation des diverses solutions

Le milieu de culture est constitué du milieu de Schneider et de sérum bovin fœtal (SBF) à 10%; le pH du milieu est de 7. Une solution mère à 10 mM du produit à tester et des molécules de référence (AmB, KTC) est obtenue en solubilisant le dérivé dans 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}.

Le dénombrement des promastigotes leishmanies à la cellule de Malassez permet de réaliser une dilution à 2.10⁶ promastigotes par mL dans le milieu de culture.

b) 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 promastigotes.

Les autres puits sont remplis avec 100 µL de la suspension de promastigotes, puis 100 µL de chaque concentration de la solution à tester est placée dans 3 puits.

c) Incubation et traitement final

La plaque est ensuite incubée à 26°C pendant 96 heures. En fin de test, une solution d'UptiBlue[®] (10 µL) est ajoutée dans chaque puits et la plaque est à nouveau placée dans l'incubateur à 26°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).

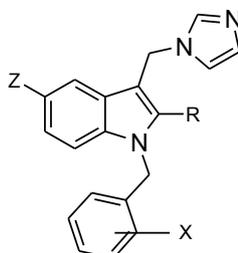
3-2- Résultats des tests d'évaluation et discussion

Ces nouvelles molécules ont été testées sur une souche de *Leishmania mexicana* au stade promastigote. Les résultats expérimentaux sont reportés dans le **tableau 7** et comparés à ceux prédits par notre modèle QSAR.

⁶⁵ Le Pape P. *et al. Acta Parasitologica*, **2002**, 47, 79-81.

Douze nouveaux composés ont donc été préparés sur la base du modèle QSAR-3D et le tableau d'activité indique qu'un grand nombre d'entre eux ont une activité comprise entre 2 et 6 μM (7 molécules sur les 12 originales). Toutefois, aucune molécule ne présente d'activité inférieure au micromolaire.

Tableau 7 : Activités expérimentales et prédites par le modèle pour les composés finaux



N°	R	Z	X	CI ₅₀ mesurées (μM)	CI ₅₀ prédites (μM)
M20	H	H	4-Br	8,4 \pm 0,3	4,07
33			4-CN	13,1 \pm 2,0	2,96
34			4-CF ₃	3,5 \pm 0,2	12,62
35	H	Br	4-Br	4,0 \pm 0,5	4,36
M12			4-CN	3,5 \pm 0,8	3,09
4			4-CF ₃	3,0 \pm 0,3	10,38
36	H	OCH ₃	4-Br	4,8 \pm 0,2	1,52
37			4-CN	32,0 \pm 2,0	0,62
38			4-CF ₃	4,3 \pm 0,3	4,29
M17	CH ₃	H	4-Br	0,3 \pm 0,02	0,63
39			4-CN	21,8 \pm 5,5	0,58
40			4-CF ₃	4,9 \pm 0,1	2,60
41	CH ₃	OCH ₃	4-Br	2,3 \pm 0,6	0,61
42			4-CN	12,7 \pm 3,0	0,70
43			4-CF ₃	6,1 \pm 0,2	0,72

Parmi les nouvelles molécules préparées, les composés **33**, **37**, **39** et **42** possédant un groupe nitrile, accepteur de liaison hydrogène, en *para*- du benzyle sont décevants, quelque soit les substituants en position R et Z. Des écarts d'activité importants sont ainsi observés entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales. Par exemple, **13** (R = H, Z = H, X = 4-CN) se retrouve être 4 fois moins actif que prévu. **37** (R = H, Z = OCH₃, X = 4-CN), **39** (R = CH₃, Z = H, X = 4-CN) et **42** (R = CH₃, Z = OCH₃, X = 4-CN) sont 17 à 50 fois moins actifs que ce que nous prédisait le modèle. Aucune de ces molécules ne possède d'ailleurs d'activité inhibitrice au micromolaire.

Ce résultat peut être lié au fait que dans l'élaboration du modèle, seule une molécule **M12** comportait un nitrile en cette position, ou que le paramètre lipophile doit également être pris en considération, comme mentionné précédemment. Cette dernière

hypothèse semble la plus probable puisque la substitution du CN par un groupe CF₃ conduit aux analogues **34**, **4**, **38**, **40** et **43** actifs au micromolaire et plus proches des valeurs prédites.

Ce paramètre lipophile semble d'ailleurs être prépondérant en cette position puisque les molécules comportant un substituant Br (**35**, **36** et **41**) sont aussi actives que leurs analogues CF₃.

L'influence unique d'un groupe encombrant de type -CH₃ en position 2 de l'indole (**39** et **40**) ou celle de substituants de taille et d'électronégativité variables (Br ou OCH₃) en position 5 de l'indole (**35**, **4**, **36**, **37**, **38**) n'apportent pas d'amélioration sur les activités inhibitrices de ces composés en comparaison aux analogues non substitués. A titre d'exemple, **40** (R = CH₃, Z = H, X = 4-CF₃, CI₅₀ = 4,9 μM) possède le même niveau d'activité que **34** (R = H, Z = H, X = 4-CF₃, CI₅₀ = 3,5 μM). De même, **4** (R = H, Z = Br, X = 4-CF₃, CI₅₀ = 3,0 μM) se retrouve aussi actif que **34** (R = H, Z = H, X = 4-CF₃, CI₅₀ = 3,5 μM).

Ce résultat semble démontrer l'importance de combiner plusieurs descripteurs moléculaires comme cela avait été envisagé dans la conclusion de notre modèle.

Ainsi, lorsque l'on combine les paramètres lipophile en *para*- du benzyle (X = Br), stérique en position 2 de l'indole (R = CH₃) et donneur d'électrons en position 5 (Z = OCH₃) (composé **41**), on s'aperçoit que cette molécule est la plus active de notre série (CI₅₀ = 2,3 μM) et qu'elle est relativement proche de la valeur prédite initialement (CI_{50pred} = 0,61 μM).

D'autres combinaisons pourraient ainsi être envisagées aux positions 2 et 5 de l'indole tout en conservant le paramètre lipophile en *para*- du benzyle.

Un modèle QSAR ne donne qu'une idée de l'activité attendue pour un composé. Celle-ci sera forcément comprise entre les deux limites ayant servi au modèle. Dans notre étude, seule une molécule possédait une activité inférieure au micromolaire (**M17**, R = CH₃, Z = H, X = 4-Br, CI₅₀ = 0,3 μM) ce qui est (trop) peu pour développer une série homogène à ce niveau d'activité.

Notre modèle nous a donc permis de préparer douze nouvelles molécules. Parmi celles-ci, huit ont montré une activité comprise entre 2 et 6 μM.

4- Partie expérimentale

GÉNÉRALITÉS

Solvants

L'éther diéthylique et le tétrahydrofurane sont distillés sur sodium/benzophénone et conservés sous azote. Le dichlorométhane et l'acétonitrile sont distillés sur chlorure de calcium et conservés sous azote.

Synthèse micro-ondes

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

Chromatographies

✓ *Chromatographie préparative :*

Pour les chromatographies en phase liquide sur colonne ouverte, la phase stationnaire utilisée est le gel de silice 60 (70-230 mesh ASTM) (0,063-0,200 µm) Merck ou alumine neutre 90 Riedel-de Haën AG.

✓ *Chromatographie analytique :*

Les réactions sont suivies par chromatographie sur couches minces (CCM) sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60 F₂₅₄ Merck ou sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60 Alugram® Macherey Nagel ou sur des plaques d'aluminium recouvertes d'alumine neutre 60 F₂₅₄ Merck.

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) et AM500 (500 MHz). Les valeurs des déplacements chimiques (δ) sont exprimées en parties par million (ppm) avec le tétraméthylsilane comme référence interne. Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz.

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

s = singulet

d = doublet

dd = doublet de doublet

t = triplet

q = quadruplet

m = massif

ddd = doublet de doublet de doublet

tt = triplet de triplet

✓ *Spectrométrie Infrarouge (IR) :*

Les spectres IR ont été enregistrés soit 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 soit après dépôt direct sur un cristal Zn/Se du solide ou du liquide, sur un spectromètre Vektor 33 Bruker.

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 H.P. 5889A quadripolaire en impact électronique sous 70 eV ou sur un spectromètre TSQ Quantum triple quadripôles Thermo Finnigan en mode électrospray (ESI).

Mesures physiques

✓ *Température de fusion ($F^{\circ}\text{C}$) :*

Les points de fusion sont déterminés en tube capillaire sur un appareil digital IA9300 Electrothermal ou sur un appareil digital Stuart SMP3.

Type de réaction	Méthode	Conditions opératoires	Pages
Vilsmeier Haack	A	$\text{POCl}_3/\text{DMF}/0\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $60\text{ }^{\circ}\text{C}$	67 et 71-74
Réduction	B	$\text{NaBH}_4/\text{MeOH}/\text{TA}$	68, 87-98, 119, 123-125, 141- 150, 297
Fixation imidazole	C1	$\text{CDI}/\text{CH}_3\text{CN}/50\text{ }^{\circ}\text{C}$	69, 120
	C2	$\text{CDI}/\text{CH}_3\text{CN}/\text{TA}$	99-109, 151-160
N-benzylation	D1	$\text{NaH}/\text{DMF}/\text{PhCH}_2\text{Br}/\text{TA}$	70
	D2	$\text{Cs}_2\text{CO}_3/\text{CH}_3\text{CN}/\text{PhCH}_2\text{Br}/\text{reflux}$	75-86, 131-140
Déprotection acétal	E1	$\text{AcOH}/\text{eau}/\text{reflux}$	121
	E2	$\text{EtOH}/\text{eau}/\text{DMSO}/\text{reflux}$	122
Bromation	F	$\text{PBr}_3/\text{Et}_2\text{O}/\text{TA}$	126-130, 298

5-Bromo-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (1)

Méthode A :

Dans un tricol placer 7 mL de DMF à 0 °C. Ajouter lentement 2,1 mL (22,4 mmol) d'oxychlorure de phosphore et agiter à 0 °C pendant 40 minutes. Ajouter lentement 4 g (20,4 mmol) de 5-bromo-1*H*-indole (en solution dans 4 mL de DMF) 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 9,04 g (225,6 mmol) de soude dissous dans 24 mL d'eau. Porter à 100 °C pendant 30 minutes et laisser revenir à température ambiante. Filtrer le mélange et laver abondamment à l'eau le 5-bromo-1*H*-indole-3-carbaldéhyde isolé. Sécher la poudre à l'étuve à 60 °C.

Poudre beige

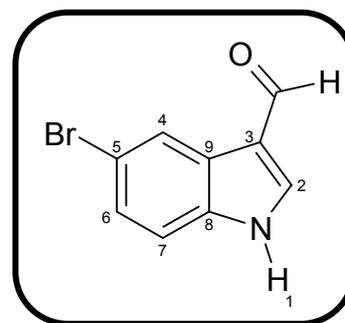
C₉H₆BrNO

M_r = 224,06

R_f = 0,15 (acétate d'éthyle / cyclohexane : 1 / 1)

F^oC = 201-202 (eau) [litt⁶⁶ : 204-205 °C]

Rendement = 85%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

7,41 (1 H, dd, ³J = 8,53 Hz, ⁴J = 1,83 Hz, H₆) ; 7,54 (1 H, d, ³J = 8,53 Hz, H₇) ; 8,26 (1 H, d, ⁴J = 1,83 Hz, H₄) ; 8,39 (1 H, s, H₂) ; 9,96 (1 H, s, CHO) ; 12,34 (1 H, s, H₁).

IR (KBr, cm⁻¹) :

789 (ν C-Br) ; 1432, 1518 (ν C=C) ; 1645 (ν C=O) ; 2992 (ν C-H_{aliph}) ; 3025 (ν C-H_{ar}) ; 3212 (ν N-H).

⁶⁶ (a) Cavallini G. *et al. Farmaco* **1958**, 13, 113-116; (b) Duflos M. *et al. Eur. J. Med. Chem.*, **2001**, 36, 545-553

(5-Bromo-1*H*-indol-3-yl)méthanol (2)

Méthode B :

Dans 30 mL de méthanol, introduire 2,30 g (10,27 mmol) de **1**. Ajouter progressivement 1,24 g (32,85 mmol) de borohydrure de sodium. La réaction est exothermique et effervescente. Agiter 1 heure à température ambiante.

Ajouter de l'eau au milieu réactionnel, extraire le produit avec de l'éther diéthylique et sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer.

Poudre beige

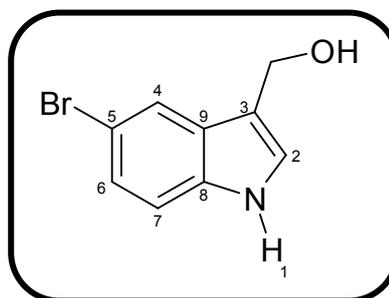
C_9H_8BrNO

$M_r = 226,07$

$R_f = 0,35$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 95-96$ (éter diéthylique)

Rendement = 70%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

4,63 (2 H, d, $^3J = 5,80$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 4,85 (1 H, t, $^3J = 5,80$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 7,22 (1 H, dd, $^3J = 8,55$ Hz, $^4J = 2,13$ Hz, H_6) ; 7,34 (1 H, d, $^4J = 2,13$ Hz, H_4) ; 7,36 (1 H, d, $^3J = 8,55$ Hz, H_7) ; 7,81 (1 H, s, H_2) ; 11,11 (1 H, s, H_1).

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

787 (v C-Br) ; 1459, 1562 (v C=C) ; 3095 (v C- H_{ar}) ; 3339 (v O-H et v N-H).

5-Bromo-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indole (3)

Méthode C1 :

Dans 30 mL d'acétonitrile, introduire 1 g (4,44 mmol) de **2** et 1,08 g (6,66 mmol) de 1,1'-carbonyldiimidazole. Agiter et chauffer pendant 1 heure à 50°C.

Evaporer le solvant, reprendre le résidu par de l'eau. Extraire le produit au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant par un mélange dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1.

Poudre beige

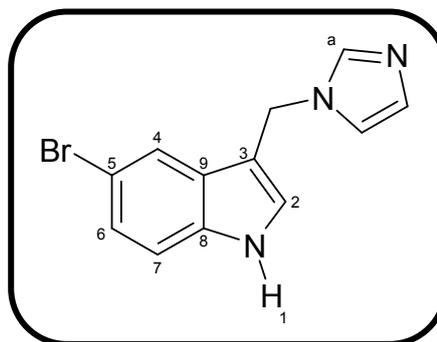
$C_{12}H_{10}BrN_3$

$M_r = 276,14$

$R_f = 0,12$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 185-186$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 97%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,34 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 6,88 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,21 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,25 (1 H, dd, $^3J = 8,55$ Hz, $^4J = 1,83$ Hz, H_6) ; 7,39 (1 H, d, $^3J = 8,55$ Hz, H_7) ; 7,58 (1 H, s, H_2) ; 7,78 (1 H, d, $^4J = 1,83$ Hz, H_4) ; 7,81 (1 H, s, H_a) ; 11,38 (1 H, s, H_1).

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

801 (ν C-Br) ; 1485 (ν C=N) ; 1585 (ν C=C) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3112 (ν C- $H_{ar.}$) ; 3411 (ν N-H).

5-Bromo-1-(4-trifluorométhylbenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1ylméthyl)-1*H*-indole (4)

Méthode D1 :

Dans 20 mL de diméthylformamide, introduire 0,02 g (0,91 mmol) d'hydrure de sodium (60% dans l'huile minérale) préalablement filtré et lavé avec de l'éther diisopropylique. Agiter 10 minutes à température ambiante. Ajouter progressivement 0,25 g (0,91 mmol) de **3**. Agiter 1 heure à température ambiante. Ajouter progressivement 0,16 mL (1,09 mmol) de chlorure de 4-(trifluorométhyl)benzyle. Agiter 2 heures à température ambiante.

Ajouter de l'eau et extraire le produit au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant par un mélange dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1.

Poudre blanche

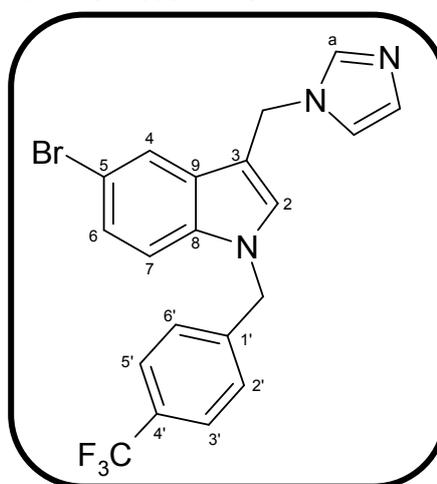
$C_{20}H_{15}BrF_3N_3$

$M_r = 434,26$

$R_f = 0,16$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 162-163$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 31%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

5,37 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,58 (2 H, s, NCH_2) ; 6,90 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,22 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,28 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, H_6) ; 7,38 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,46 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,72 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,73 (1 H, s, H_2) ; 7,82 (1 H, d, $^3J = 2,0$ Hz, H_4) ; 7,85 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

41,60 (CH_2 -Im) ; 49,73 (NCH_2) ; 106,92 (C_4) ; 111,84 (C_7) ; 113,60 (C_3) ; 120,53 (C_5) ; 122,14 (C_{imid}) ; 123,05 (CF_3) ; 125,56 (C_2) ; 126,69 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 128,70 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 129,13 (C_9) ; 129,57 ($C_{4'}$) ; 131,23 (C_{imid}) ; 135,06 (C_6) ; 135,97 (C_8) ; 138,16 (C_a) ; 143,65 ($C_{1'}$).

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

744 (v C-Br) ; 1159 (v CF_3) ; 1467, 1503 (v C=Cet v C=N) ; 2855 (v C- $H_{aliph.}$).

Masse :

367,1 (MH - 67) ; 434,1 (MH).

1H-Indole-3-carbaldéhyde (5)

Selon la méthode A (décrite p 67) :

Poudre blanche

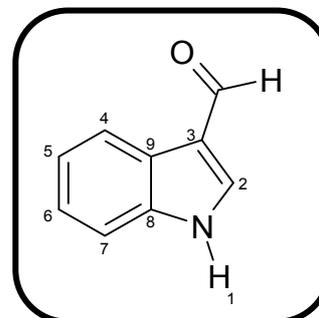
C₉H₇NO

M_r = 145,16

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

F° C = 195-196 (eau) [litt⁶⁷ : 188-189 °C]

Rendement = 87%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

7,25-7,29 (2 H, m, H₅, H₆) ; 7,54 (1 H, d, ³J = 7,0 Hz, H₇) ; 8,12 (1 H, dd, ³J = 8,2 Hz, ⁴J = 1,8 Hz, H₄) ; 8,32 (1 H, s, H₂) ; 9,97 (1 H, s, CHO) ; 12,17 (1 H, s, H₁).

IR (KBr, cm⁻¹) :

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

⁶⁷ Coowar D. et al. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 6270-6284.

5-Méthoxy-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (6)

Selon la méthode A (décrite p 67) :

Poudre orange

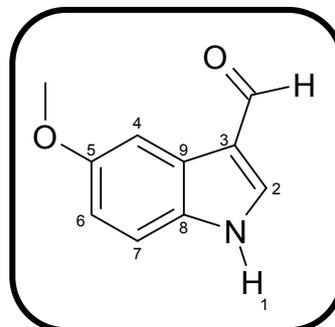
$C_{10}H_9NO_2$

$M_r = 175,19$

$R_f = 0,16$ (acétate d'éthyle / cyclohexane : 1 / 1)

$F^\circ C = 177-178$ (eau) [litt⁶⁷ : 182-183 °C]

Rendement = 87%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,83 (3 H, s, OCH₃) ; 6,93 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H₆) ; 7,45 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H₇) ; 7,63 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H₄) ; 8,26 (1 H, s, H₂) ; 9,94 (1 H, s, CHO) ; 12,05 (1 H, s, H₁).

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

1478, 1585 (ν C=C) ; 1619 (ν C=O) ; 2893 (ν C-H_{aliph}) ; 3134 (ν C-H_{ar}) ; 3230 (ν N-H).

2-Méthyl-1H-indole-3-carbaldéhyde (7)

Selon la méthode A (décrite p 67) :

Poudre marron

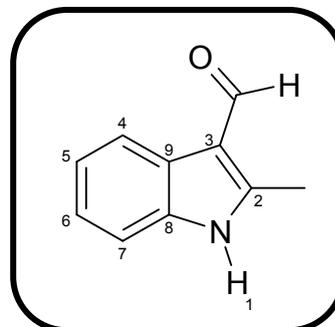
C₁₀H₉NO

M_r = 159,19

R_f = 0,60 (acétate d'éthyle / cyclohexane : 1 / 1)

F°C = 199-200 (eau) [litt⁶⁸ : 202-203 °C]

Rendement = 95%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

2,72 (3 H, s, indoleCH₃) ; 7,18-7,22 (2 H, m, H_{5,6}) ; 7,41-7,44 (1 H, m, H₇) ; 8,06-8,10 (1 H, m, H₄) ; 10,10 (1 H, s, CHO) ; 12,01 (1 H, s, H₁).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1467, 1581 (ν C=C) ; 1624 (ν C=O) ; 2951 (ν C-H_{aliph}) ; 3049 (ν C-H_{ar}) ; 3187 (ν N-H).

⁶⁸ Na Y.M. *et al.* *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 75-87.

5-Méthoxy-2-méthyl-1H-indole-3-carbaldéhyde (8)

Selon la méthode A (décrite p 67) :

Poudre jaune

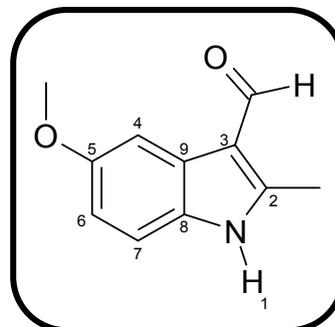
$C_{11}H_{11}NO_2$

$M_r = 189,22$

$R_f = 0,14$ (acétate d'éthyle / cyclohexane : 1 / 1)

$F^\circ C = 190-191$ (eau) [litt⁶⁹ : 191-194 °C]

Rendement = 96%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

2,68 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,81 (3 H, s, OCH₃) ; 6,83 (1 H, dd, ³J = 10,0 Hz, ⁴J = 2,5 Hz, H₆) ; 7,32 (1 H, d, ³J = 10,0 Hz, H₇) ; 7,60 (1 H, d, ⁴J = 2,5 Hz, H₄) ; 10,05 (1 H, s, CHO) ; 11,89 (1 H, s, H₁).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1480, 1561 (ν C=C) ; 1632 (ν C=O) ; 2992 (ν C-H_{aliph}) ; 3025 (ν C-H_{ar}) ; 3165 (ν N-H).

⁶⁹ Torisu K. *et al. Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, *40*, 505-519.

1-(4-Cyanobenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (9)

Méthode D2 :

Dans 20 mL d'acétonitrile, introduire 1 g (6,89 mmol) de **5** et 4,49 g (13,80 mmol) de carbonate de césium. Agiter 2 heures au reflux. Ajouter 1,48 g (7,57 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzonitrile. Maintenir le reflux pendant 1 heure. Filtrer la solution et évaporer le solvant. Reprendre le résidu par de l'eau, extraire le produit au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant par du dichlorométhane.

Poudre orange

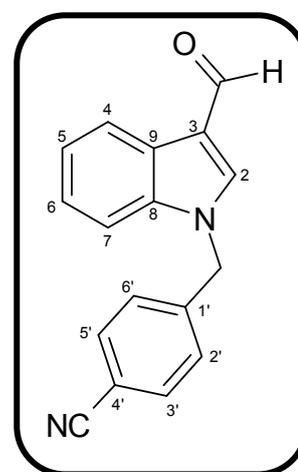
$C_{17}H_{12}N_2O$

$M_r = 260,30$

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

$F^\circ C = 154-155$ (dichlorométhane)

Rendement = 77%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,72 (2 H, s, NCH_2) ; 7,29-7,34 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,47 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,56-7,60 (1 H, m, H_7) ; 7,86 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 8,15-8,19 (1 H, m, H_4) ; 8,54 (1 H, s, H_2) ; 9,99 (1 H, s, CHO).

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

1467, 1523 (ν C=C) ; 1656 (ν C=O) ; 2228 (ν C \equiv N).

1-(4-Trifluorométhylbenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (10)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre jaune

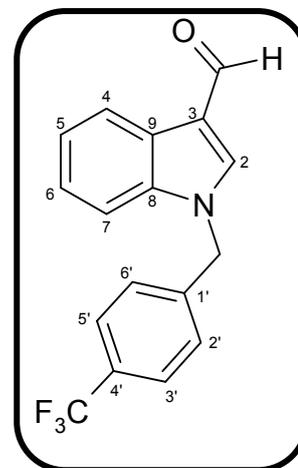
C₁₇H₁₂F₃NO

M_r = 303,29

R_f = 0,60 (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

F°C = 153-154 (dichlorométhane)

Rendement = 70%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

5,72 (2 H, s, NCH₂) ; 7,31 (1 H, dd, ³J = 8,8 Hz, ⁴J = 2,4 Hz, H₆) ; 7,51 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{2',6'}) ; 7,58-7,62 (1 H, m, H₇) ; 7,75 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{3',5'}) ; 8,15-8,19 (1 H, m, H₄) ; 8,55 (1 H, s, H₂) ; 10,00 (1 H, s, CHO).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1168 (ν CF₃) ; 1467, 1532 (ν C=C) ; 1657 (ν C=O) ; 2927 (ν C-H_{aliph.}) ; 3036 (ν C-H_{ar.}).

5-Bromo-1-(4-bromobenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (11)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre beige

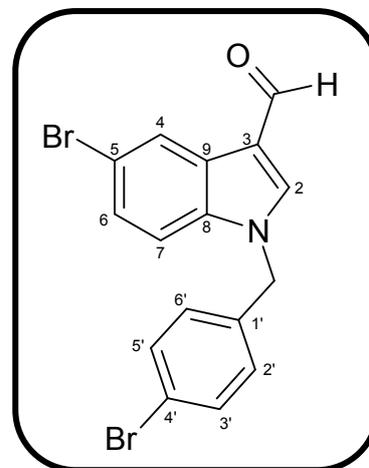
$C_{16}H_{11}Br_2NO$

$M_r = 393,08$

$R_f = 0,36$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$F^\circ C = 146-147$ (dichlorométhane)

Rendement = 63%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,58 (2 H, s, N-CH₂) ; 7,23 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,46 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H₆) ; 7,59 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H₇) ; 7,61 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_{3',5'}) ; 8,28 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H₄) ; 8,57 (1 H, s, H₂) ; 9,97 (1 H, s, CHO).

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

797 (v C-Br) ; 1444, 1527 (v C=C) ; 1657 (v C=O) ; 2849 (v C-H_{aliph.}) ; 3034 (v C-H_{ar.}).

5-Bromo-1-(4-trifluorométhylbenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (12)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre brune

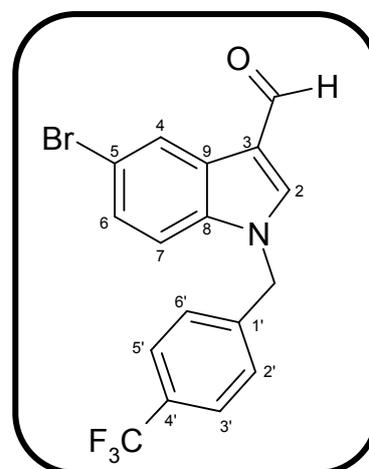
$C_{17}H_{11}BrF_3NO$

$M_r = 382,18$

$R_f = 0,70$ (dichlorométhane / éthanol : 19 / 1)

$F^\circ C = 111-112$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,73 (2 H, s, N-CH₂) ; 7,45 (1 H, dd, $^3J = 8,3$ Hz, $^4J = 1,9$ Hz, H₆) ; 7,50 (2 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,60 (2 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_{3',5'}) ; 7,76 (1 H, d, $^3J = 8,3$ Hz, H₇) ; 8,29 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H₄) ; 8,60 (1 H, s, H₂) ; 9,99 (1 H, s, CHO).

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

659 (v C-Br) ; 1164 (v C-F) ; 1267 (v C-N) ; 1454, 1528 (v C=C) ; 1654 (v C=O) ; 2847 (v C-H_{aliph.}) ; 3034 (v C-H_{ar.}).

1-(4-Bromobenzyl)-5-méthoxy-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (13)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre beige

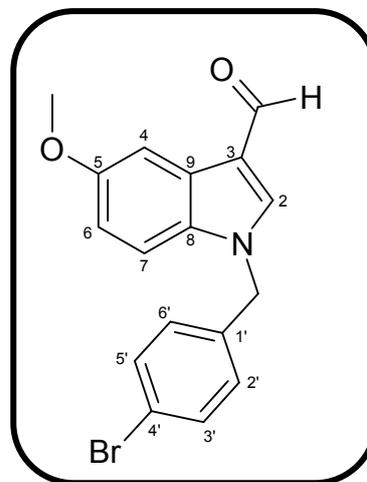
$C_{17}H_{14}BrNO_2$

$M_r = 344,21$

$R_f = 0,33$ (dichlorométhane)

$T_m = 123-124$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,82 (3 H, s, OCH_3) ; 5,53 (2 H, s, $N-CH_2$) ; 6,93 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 7,26 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,49 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,58 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,65 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H_4) ; 8,43 (1 H, s, H_2) ; 9,95 (1 H, s, CHO).

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

799 (ν C-Br) ; 1485, 1528 (ν C=C et ν C=N) ; 1648 (ν C=O) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3092 (ν C- $H_{ar.}$).

4-[(3-Formyl-5-méthoxy-1*H*-indol-1-yl)méthyl]benzonitrile (14)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre beige

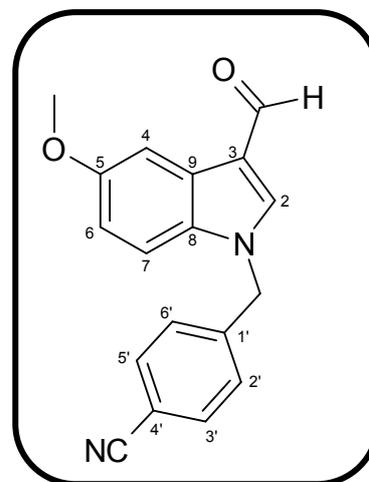
$C_{18}H_{14}N_2O_2$

$M_r = 290,32$

$R_f = 0,18$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$F^\circ C = 136-137$ (dichlorométhane)

Rendement = 97%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,82 (3 H, s, OCH_3) ; 5,67 (2 H, s, $N-CH_2$) ; 6,93 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 7,45 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,47 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,66 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H_4) ; 7,85 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 8,47 (1 H, s, H_2) ; 9,96 (1 H, s, CHO).

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

1482, 1565 ($\nu C=C$) ; 1666 ($\nu C=O$) ; 2239 ($\nu C\equiv N$) ; 2924 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3096 ($\nu C-H_{ar.}$).

1-(4-Trifluorométhylbenzyl)-5-méthoxy-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (15)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre beige

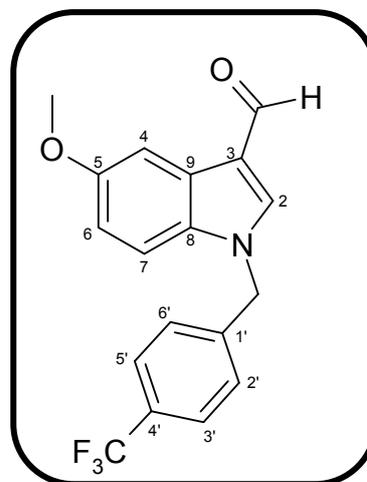
$C_{18}H_{14}F_3NO_2$

$M_r = 333,31$

$R_f = 0,33$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$F^\circ C = 128-129$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,82 (3 H, s, OCH_3) ; 5,67 (2 H, s, $N-CH_2$) ; 6,93 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 7,47-7,51 (3 H, m, $H_{2',6',7}$) ; 7,64 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H_4) ; 7,76 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 8,48 (1 H, s, H_2) ; 9,96 (1 H, s, CHO).

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

1169 (νCF_3) ; 1472, 1531 ($\nu C=C$ et $\nu C=N$) ; 1651 ($\nu C=O$) ; 2916 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3091 ($\nu C-H_{ar.}$).

1-(4-Cyanobenzyl)-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (16)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre beige

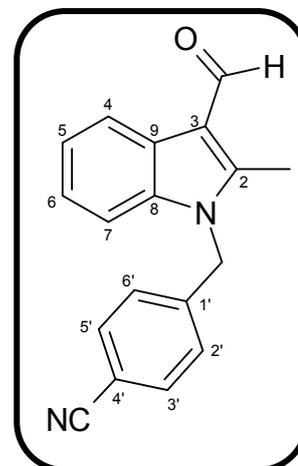
$C_{18}H_{14}N_2O$

$M_r = 274,33$

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

$F^\circ C = 117-118$ (dichlorométhane)

Rendement = 99%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,72 (3 H, s, indoleCH₃) ; 5,70 (2 H, s, NCH₂) ; 7,20-7,29 (4 H, m, H_{5,6,2',6'}) ; 7,49-7,55 (1 H, m, H₇) ; 7,83 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{3',5'}) ; 8,16-8,20 (1 H, m, H₄) ; 10,18 (1 H, s, CHO).

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

1419, 1521 (ν C=C) ; 1642 (ν C=O) ; 2224 (ν C \equiv N).

1-(4-Trifluorométhylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (17)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre jaune

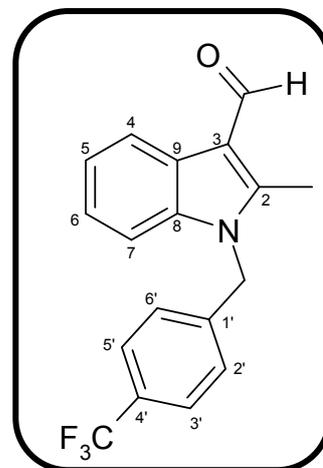
C₁₈H₁₄F₃NO

$M_r = 317,31$

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

$F^\circ C = 147-148$ (dichlorométhane)

Rendement = 76%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

2,73 (3 H, s, indoleCH₃) ; 5,71 (2 H, s, NCH₂) ; 7,24-7,31 (4 H, m, H_{5,6,2',6'}) ; 7,53-7,56 (1 H, m, H₇) ; 7,74 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{3',5'}) ; 8,18-8,21 (1 H, m, H₄) ; 10,19 (1 H, s, CHO).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1159 (ν CF₃) ; 1461, 1528 (ν C=C) ; 1637 (ν C=O) ; 2927 (ν C-H_{aliph.}) ; 3036 (ν C-H_{ar.}).

1-(4-Bromobenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (18)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre marron

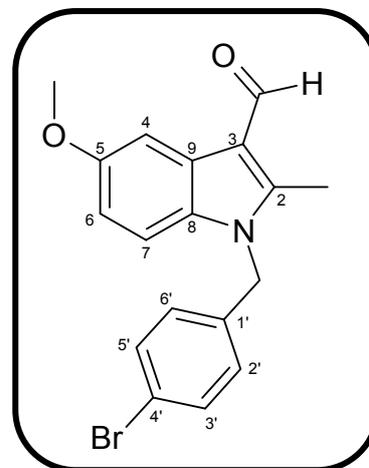
$C_{18}H_{16}BrNO_2$

$M_r = 358,24$

$R_f = 0,29$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$T_m = 137-138$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,70 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,82 (3 H, s, OCH₃) ; 5,53 (2 H, s, N-CH₂) ; 6,87 (1 H, dd, $^3J = 9,1$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H₆) ; 7,05 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,45 (1 H, d, $^3J = 9,1$ Hz, H₇) ; 7,56 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_{3',5'}) ; 7,70 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H₄) ; 10,13 (1 H, s, CHO).

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

767 (v C-Br) ; 1482, 1517 (v C=C) ; 1638 (v C=O) ; 2927 (v C-H_{aliph.}) ; 3006 (v C-H_{ar.}).

4-[(3-Formyl-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indol-1-yl)méthyl]benzonitrile (19)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre jaune

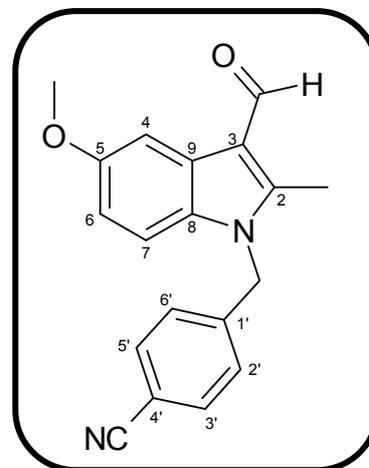
$C_{19}H_{16}N_2O_2$

$M_r = 304,35$

$R_f = 0,16$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$T_m = 138-139$ (dichlorométhane)

Rendement = 99%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,69 (3 H, s, indole CH_3) ; 3,82 (3 H, s, OCH_3) ; 5,52 (2 H, s, N- CH_2) ; 6,87 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 7,05 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,44 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,56 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,70 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H_4) ; 10,13 (1 H, s, CHO).

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

1479, 1519 ($\nu C=C$) ; 1639 ($\nu C=O$) ; 2223 ($\nu C\equiv N$) ; 2926 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3060 ($\nu C-H_{ar.}$).

1-[4-(Trifluorométhyl)benzyl]-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (20)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre saumon

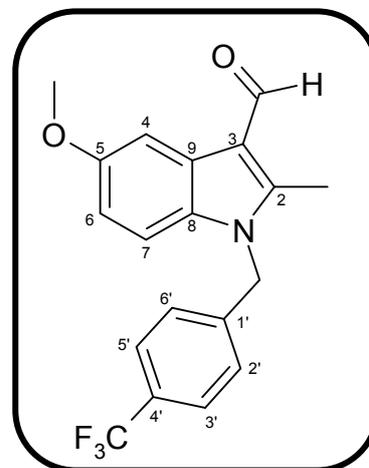
$C_{19}H_{16}F_3NO_2$

$M_r = 347,34$

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

$F^\circ C = 144-145$ (dichlorométhane)

Rendement = 73%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,70 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,82 (3 H, s, OCH₃) ; 5,67 (2 H, s, N-CH₂) ; 6,87 (1 H, dd, $^3J = 9,1$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H₆) ; 7,28 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,44 (1 H, d, $^3J = 9,1$ Hz, H₇) ; 7,72 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H₄) ; 7,73 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, H_{3',5'}) ; 10,15 (1 H, s, CHO).

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

1167 (ν CF₃) ; 1481, 1512 (ν C=C) ; 1638 (ν C=O) ; 2936 (ν C-H_{aliph.}) ; 3011 (ν C-H_{ar.}).

1-(4-Cyanobenzyl)-1*H*-indol-3-ylméthanol (21)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre beige

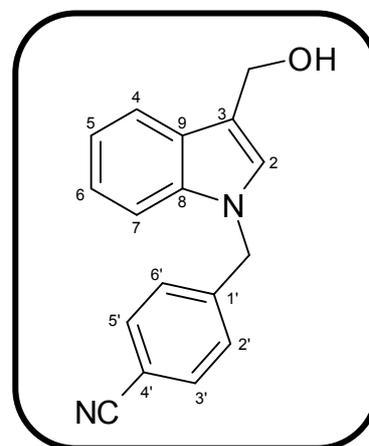
$C_{17}H_{14}N_2O$

$M_r = 262,31$

$R_f = 0,30$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 98-99$ (dichlorométhane)

Rendement = 92%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

4,68 (2 H, d, $^3J = 4,8$ Hz, $\underline{CH_2}OH$) ; 4,88 (1 H, t, $^3J = 4,8$ Hz, OH) ; 5,53 (2 H, s, NCH_2) ; 7,03-7,17 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,35 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,41 (1 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H_4) ; 7,45 (1 H, s, H_2) ; 7,67 (1 H, d, $^3J = 7,5$ Hz, H_7) ; 7,81 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$).

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

1467, 1548 ($\nu C=C$) ; 2226 ($\nu C\equiv N$) ; 2927 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3346 ($\nu O-H$).

[1-(4-Trifluorométhylbenzyl)-1*H*-indol-3-yl]méthanol (22)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre beige

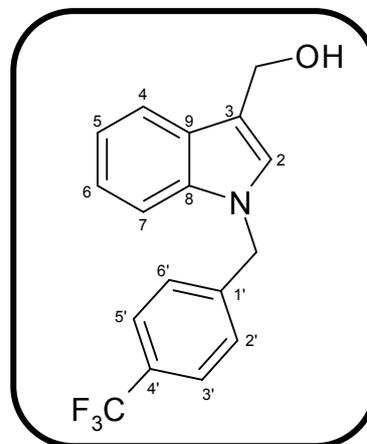
C₁₇H₁₄F₃NO

M_r = 305,30

R_f = 0,60 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

F°C = 100-101 (dichlorométhane)

Rendement = 77%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

4,68 (2 H, d, ³J = 4,8 Hz, CH₂OH) ; 4,87 (1 H, t, ³J = 4,8 Hz, OH) ; 5,54 (2 H, s, NCH₂) ; 7,03-7,17 (2 H, m, H_{5,6}) ; 7,39-7,46 (4 H, m, H_{4,7,2',6'}) ; 7,65-7,73 (3 H, m, H_{2,3',5'}).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1164 (ν CF₃) ; 1467, 1520 (ν C=C) ; 2927 (ν C-H_{aliph.}) ; 3322 (ν O-H).

[5-Bromo-1-(4-bromobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]méthanol (23)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre jaune

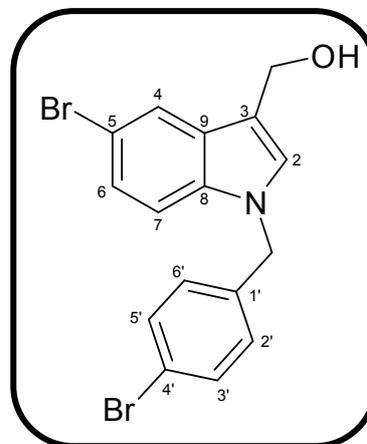
C₁₆H₁₃Br₂NO

M_r = 395,10

R_f = 0,50 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

F°C = 69-70 (dichlorométhane)

Rendement = 93%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

4,64 (2 H, d, ³J = 4,9 Hz, CH₂OH) ; 4,95 (1 H, t, ³J = 4,9 Hz, CH₂OH) ; 5,40 (2 H, s, N-CH₂) ; 7,18 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{2',6'}) ; 7,25 (1 H, dd, ³J = 8,8 Hz, ⁴J = 1,8 Hz, H₆) ; 7,44 (1 H, d, ³J = 8,8 Hz, H₇) ; 7,49 (1 H, s, H₂) ; 7,54 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{3',5'}) ; 7,83 (1 H, d, ⁴J = 1,8 Hz, H₄).

IR (KBr, cm⁻¹) :

795 (ν C-Br) ; 1471, 1567 (ν C=C) ; 2931 (ν C-H_{aliph.}) ; 3026 (ν C-H_{ar}) ; 3381 (ν O-H).

[5-Bromo-1-(4-trifluorométhylbenzyl)-1*H*-indol-3-yl]méthanol (24)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

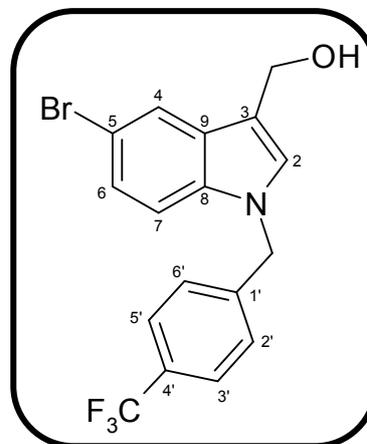
Huile brune

$C_{17}H_{13}BrF_3NO$

$M_r = 384,20$

$R_f = 0,50$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 93%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

4,65 (2 H, d, $^3J = 5,5$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 4,97 (1 H, t, $^3J = 5,5$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 5,58 (2 H, s, N- CH_2) ; 7,25 (1 H, dd, $^4J = 1,9$ Hz, $^3J = 8,3$ Hz, H_6) ; 7,38 (2 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,52 (1 H, s, H_2) ; 7,65 (1 H, d, $^3J = 8,3$ Hz, H_7) ; 7,68 (2 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,83 (1 H, d, $^4J = 1,9$ Hz, H_4).

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

812 (v C-Br) ; 1162 (v CF_3) ; 2927 (v C- $H_{aliph.}$) ; 3026 (v C- H_{ar}) ; 3381 (v O-H).

[1-(4-Bromobenzyl)-5-méthoxy-1*H*-indol-3-yl]méthanol (25)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre marron

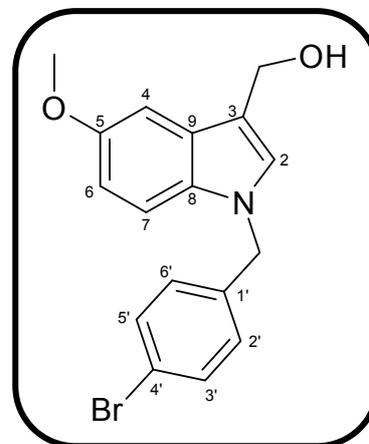
$C_{17}H_{16}BrNO_2$

$M_r = 346,23$

$R_f = 0,47$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 82-83$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,79 (3 H, s, OCH_3) ; 4,64 (2 H, d, $^3J = 4,9$ Hz, CH_2OH) ; 4,83 (1 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, CH_2OH) ; 5,35 (2 H, s, N- CH_2) ; 6,80 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 7,13-7,18 (3 H, m, $H_4, 2', 6'$) ; 7,31 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,38 (1 H, s, H_2) ; 7,53 (2 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{3', 5'}$).

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

794 (v C-Br) ; 1490, 1544 (v C=C) ; 2927 (v C- $H_{aliph.}$) ; 3007 (v C- H_{ar}) ; 3386 (v O-H).

4-{{3-(Hydroxyméthyl)-5-méthoxy-1*H*-indol-1-yl}méthyl}benzonitrile (26)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre marron

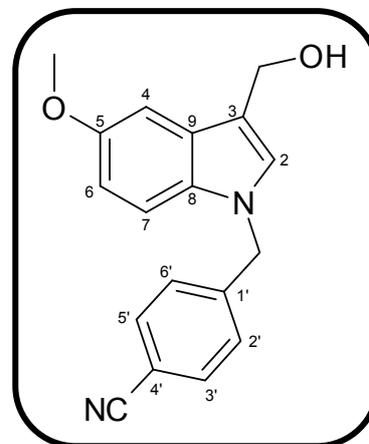
$C_{18}H_{16}N_2O_2$

$M_r = 292,34$

$R_f = 0,46$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 71-72$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,79 (3 H, s, OCH_3) ; 4,65 (2 H, d, $^3J = 5,2$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 4,86 (1 H, t, $^3J = 5,2$ Hz, CH_2OH) ; 5,49 (2 H, s, N- CH_2) ; 6,77 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 7,15 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H_4) ; 7,29 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,32 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,40 (1 H, s, H_2) ; 7,81 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$).

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

1489, 1577 ($\nu C=C$) ; 2237 ($\nu C\equiv N$) ; 2943 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3082 ($\nu C-H_{ar}$) ; 3437 ($\nu O-H$).

[1-(4-Trifluorométhylbenzyl)-5-méthoxy-1*H*-indol-3-yl]méthanol (27)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

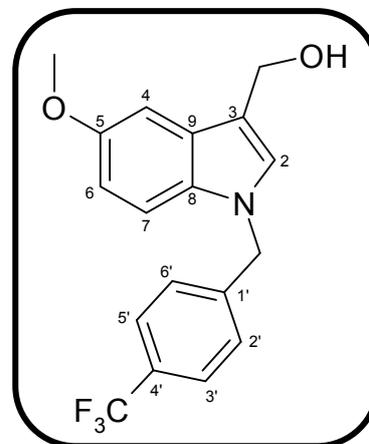
Huile marron

$C_{18}H_{16}F_3NO_2$

$M_r = 335,33$

$R_f = 0,49$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 93%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,79 (3 H, s, OCH₃) ; 4,66 (2 H, d, $^3J = 4,9$ Hz, CH₂OH) ; 4,84 (1 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, CH₂OH) ; 5,49 (2 H, s, N-CH₂) ; 6,78 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H₆) ; 7,16 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H₄) ; 7,31 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H₇) ; 7,38 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,41 (1 H, s, H₂) ; 7,70 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{3',5'}).

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

1164 (ν CF₃) ; 1487, 1574 (ν C=C) ; 2937 (ν C-H_{aliph.}) ; 3071 (ν C-H_{ar}) ; 3431 (ν O-H).

[1-(4-Cyanobenzyl)-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (28)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre jaune

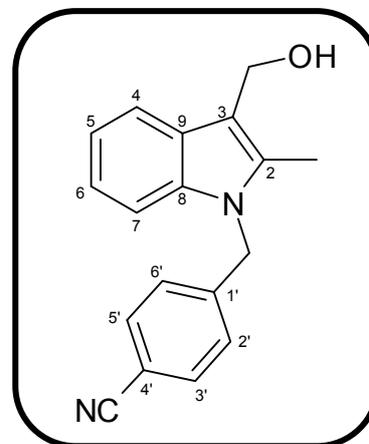
$C_{18}H_{16}N_2O$

$M_r = 276,34$

$R_f = 0,20$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 114-115$ (dichlorométhane)

Rendement = 81%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,35 (3 H, s, indole CH_3) ; 4,63 (3 H, s, $\underline{CH_2OH}$) ; 5,56 (2 H, s, NCH_2) ; 7,03-7,09 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,16 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,34-7,38 (1 H, m, H_7) ; 7,61-7,65 (1 H, m, H_4) ; 7,80 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$).

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

1467, 1542 ($\nu C=C$) ; 2216 ($\nu C\equiv N$) ; 2917 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3318 ($\nu O-H$).

[1-(4-Trifluorométhylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (29)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre jaune

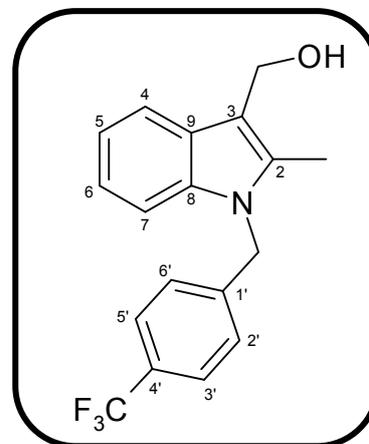
C₁₈H₁₆F₃NO

M_r = 319,33

R_f = 0,33 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

F°C = 109-110 (dichlorométhane)

Rendement = 97%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

2,36 (3 H, s, indoleCH₃) ; 4,66 (2 H, s, CH₂OH) ; 4,67 (1 H, s, OH) ; 5,56 (2 H, s, N-CH₂) ; 7,05-7,09 (2 H, m, H_{5,6}) ; 7,20 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{2',6'}) ; 7,36-7,40 (1 H, m, H₄) ; 7,61-7,65 (1 H, m, H₇) ; 7,72 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{3',5'}).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1161 (ν CF₃) ; 1471, 1567 (ν C=C) ; 2930 (ν C-H_{aliph.}) ; 3007 (ν C-H_{ar}) ; 3381 (ν O-H).

[1-(4-Bromobenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (30)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre beige

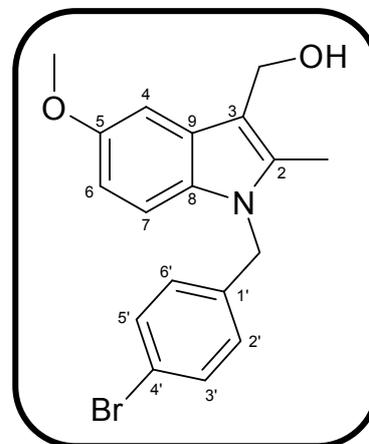
$C_{18}H_{18}BrNO_2$

$M_r = 360,25$

$R_f = 0,42$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 102-103$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,33 (3 H, s, indole CH_3) ; 3,79 (3 H, s, OCH_3) ; 4,60-4,63 (3 H, m, CH_2OH) ; 5,37 (2 H, s, N- CH_2) ; 6,70 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 6,95 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,12 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H_4) ; 7,26 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,51 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7).

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

792 (ν C-Br) ; 1488, 1579 (ν C=C) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3027 (ν C- H_{ar}) ; 3401 (ν O-H).

4-{{3-Hydroxyméthyl-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indol-1-yl}méthyl}benzonitrile (31)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre orange

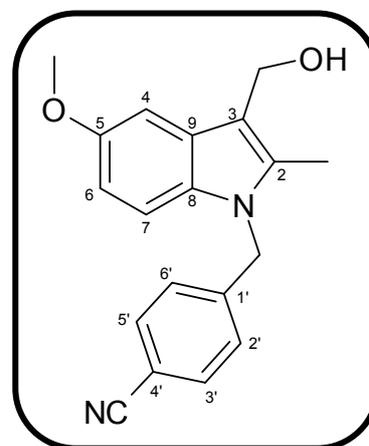
$C_{19}H_{18}N_2O_2$

$M_r = 306,37$

$R_f = 0,38$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 113-114$ (dichlorométhane)

Rendement = 98%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,32 (3 H, s, indole CH_3) ; 3,80 (3 H, s, OCH_3) ; 4,63-4,64 (3 H, m, CH_2OH) ; 5,51 (2 H, s, N- CH_2) ; 6,71 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,7$ Hz, H_6) ; 7,11-7,14 (3 H, m, $H_{2',6',4}$) ; 7,26 (1 H, d, $^3J = 8,85$ Hz, H_7) ; 7,80 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$).

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

1486, 1585 ($\nu C=C$) ; 2216 ($\nu C\equiv N$) ; 2927 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3035 ($\nu C-H_{ar}$) ; 3421 ($\nu O-H$).

**[1-(4-Trifluorométhylbenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole-3-yl]méthanol
(32)**

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre marron

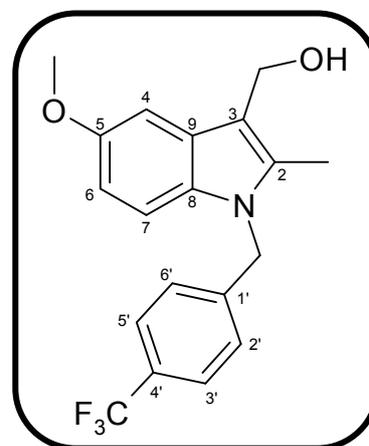
$C_{19}H_{18}F_3NO_2$

$M_r = 349,36$

$R_f = 0,55$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 114-115$ (dichlorométhane)

Rendement = 94%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,34 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,80 (3 H, s, OCH₃) ; 4,63-4,65 (3 H, m, CH₂OH) ; 5,51 (2 H, s, N-CH₂) ; 6,71 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H₆) ; 7,14 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H₄) ; 7,18 (2 H, d, $^3J = 7,8$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,27 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H₇) ; 7,70 (2 H, d, $^3J = 7,8$ Hz, H_{3',5'}).

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

1160 (ν CF₃) ; 1488, 1620 (ν C=C) ; 2927 (ν C-H_{aliph.}) ; 3027 (ν C-H_{ar}) ; 3389 (ν O-H).

1-(4-Cyanobenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indole (33)

Méthode C2 :

Dans 18 mL d'acétonitrile, introduire 800 mg (3,05 mmol) de **21** et 742 mg (3,310 mmol) de 1,1'-carbonyldiimidazole. Agiter le mélange pendant 4 heures à température ambiante.

Evaporer le solvant, reprendre le résidu par de l'eau. Extraire le produit au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant par un mélange dichlorométhane / éthanol absolu (19 / 1).

Poudre blanche

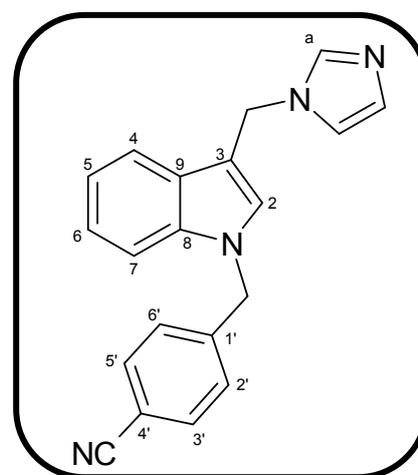
$C_{20}H_{16}N_4$

$M_r = 312,38$

$R_f = 0,20$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 125-126$ (éther diisopropylique)

Rendement = 45%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,38 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,57 (2 H, s, NCH_2) ; 6,88 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,07 (1 H, ddd, $^3J = 7,6$ Hz, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_5) ; 7,13 (1 H, ddd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 7,20 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,35 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,44 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_7) ; 7,60 (1 H, d, $^3J = 7,6$ Hz, H_4) ; 7,65 (1 H, s, H_2) ; 7,79-7,84 (3 H, m, $H_{3',5',a}$).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

41,64 (CH_2 -Im) ; 49,05 (NCH_2) ; 110,65 (C_4) ; 110,78 (C_7) ; 111,54 (C_3) ; 119,13 (C_6) ; 119,19 (C_5) ; 119,85 (CN) ; 120,02 (C_2) ; 122,45 (C_{imid}) ; 127,21 (C_9) ; 128,22 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 128,74 ($C_{4'}$) ; 128,97 (C_{imid}) ; 133,04 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 136,59 (C_8) ; 137,58 (C_a) ; 144,33 ($C_{1'}$).

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

1466, 1503 ($\nu C=C$ et $\nu C=N$) ; 2228 ($\nu C\equiv N$).

Masse :

313,1 (MH) ; 245,1 (MH - 67).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-1-(4-trifluorométhylbenzyl)-1*H*-indole (34)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre blanche

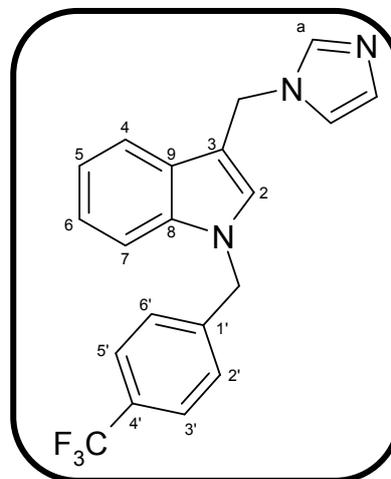
$C_{20}H_{17}F_3N_3$

$M_r = 355,37$

$R_f = 0,15$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$T_m = 103-104$ (éther diisopropylique)

Rendement = 61%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,38 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,57 (2 H, s, NCH_2) ; 6,88 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,07 (1 H, ddd, $^3J = 7,6$ Hz, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_5) ; 7,13 (1 H, ddd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 7,21 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,40 (2 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,46 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_7) ; 7,60 (1 H, d, $^3J = 7,6$ Hz, H_4) ; 7,66 (1 H, s, H_2) ; 7,72 (2 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,81 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

41,64 (CH_2 -Im) ; 48,96 (NCH_2) ; 110,79 (2 C, $C_{4,7}$) ; 111,44 (C_3) ; 119,17 (C_5) ; 119,85 (C_6) ; 119,98 (C_2) ; 122,41 (C_{imid}) ; 125,97 (1 C, t, $^1J = 4$ Hz, CF_3) ; 127,21 (C_9) ; 128,09 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 128,42 (1 C, d, $^2J = 32$ Hz, $C_{4'}$) ; 128,73 (C_{imid}) ; 128,98 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 136,61 (C_8) ; 137,51 (C_a) ; 143,50 ($C_{1'}$).

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

1155 (νCF_3) ; 1467, 1503 ($\nu C=C$ et $\nu C=N$) ; 3102 ($\nu C-H_{ar}$).

Masse :

356,0 (MH) ; 288,1 (MH - 67).

5-Bromo-1-(4-bromobenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indole (35)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre orange

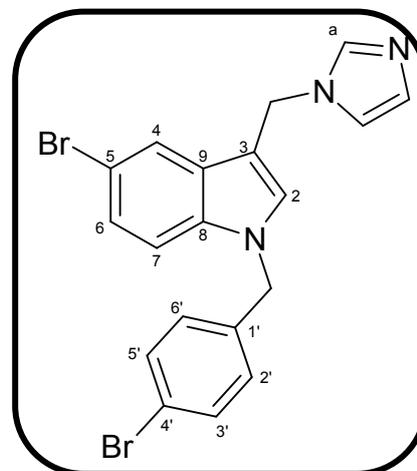
$C_{19}H_{15}Br_2N_3$

$M_r = 445,16$

$R_f = 0,33$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 142-143$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 78%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,35 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,44 (2 H, s, N- CH_2) ; 6,89 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,17 (2 H, d, $^3J = 8,40$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,20 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,28 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, H_6) ; 7,46 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,54 (2 H, d, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,69 (1 H, s, H_2) ; 7,80 (1 H, d, $^4J = 2,0$ Hz, H_4) ; 7,81 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

40,96 (CH_2 -Im) ; 48,67 (N- CH_2) ; 110,89 (C_3) ; 112,70 (2 C, $C_{5,6}$ ou 7) ; 119,50 (C_{imid}) ; 120,80 ($C_{4'}$) ; 121,17 (C_4) ; 124,51 (C_6 ou 7) ; 128,53 (2 C, C_{imid}) ; 128,65 (C_9) ; 129,41 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 129,83 ($C_{1'}$) ; 130,14 (C_2) ; 131,69 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 134,97 (C_8) ; 137,32 (C_a).

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

798 (v C-Br) ; 1466, 1562 (v C=C et v C=N) ; 2917 (v C- $H_{aliph.}$) ; 3082 (v C- $H_{ar.}$).

Masse :

379,2 (MH – 67).

1-(4-Bromobenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-1*H*-indole (36)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre beige

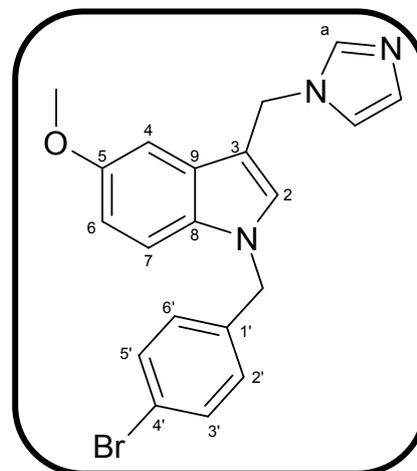
$C_{20}H_{18}BrN_3O$

$M_r = 396,29$

$R_f = 0,46$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 145-146$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 57%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,76 (3 H, s, OCH₃) ; 5,33 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,38 (2 H, s, N-CH₂) ; 6,80 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H₆) ; 6,88 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,10 (1 H, d, $^3J = 2,4$ Hz, H₄) ; 7,15 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,21 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,33 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H₇) ; 7,54 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{3',5'}) ; 7,57 (1 H, s, H₂) ; 7,85 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

42,21 (CH₂-Im) ; 49,58 (N-CH₂) ; 56,53 (OCH₃) ; 101,80 (C₄) ; 111,47 (C₃) ; 112,23 (C₆ ou 7) ; 112,74 (C₆ ou 7) ; 120,45 (C_{imid}) ; 121,52 (C_{4'}) ; 128,32 (C₉) ; 129,28 (C_{imid}) ; 129,98 (C_{1'}) ; 130,26 (2 C, C_{2',6'}) ; 132,30 (C₂) ; 132,51 (2 C, C_{3',5'}) ; 138,14 (C₈) ; 138,70 (C_a) ; 154,85 (C₅).

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

792 (v C-Br) ; 1490 (v C=N) ; 1577 (v C=C) ; 2941 (v C-H_{aliph.}) ; 3091 (v C-H_{ar}).

Masse :

330,1 (MH - 67).

4-{{5-méthoxy-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indol-1-yl}méthyl}benzonitrile (37)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre brune

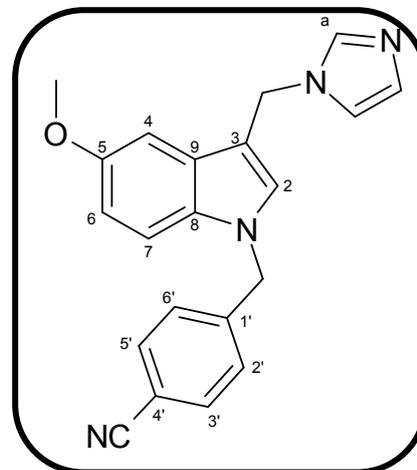
$C_{21}H_{18}N_4O$

$M_r = 342,40$

$R_f = 0,31$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 88-89$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 46%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

3,77 (3 H, s, OCH₃) ; 5,34 (2 H, s, CH₂Im) ; 5,52 (2 H, s, NCH₂) ; 6,80 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, H₆) ; 6,89 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,11 (1 H, d, $^4J = 2,0$ Hz, H₄) ; 7,22 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,21-7,32 (3 H, m, H_{2',6',7}) ; 7,59 (1 H, s, H_a) ; 7,79-7,83 (3 H, m, H_{2,3',5'}) .

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

41,31 (CH₂-Im) ; 48,90 (NCH₂) ; 55,63 (OCH₃) ; 100,97 (C₄) ; 110,30 (C₃) ; 110,85 (C₅) ; 111,28 (C₇) ; 111,98 (C₆) ; 118,84 (CN) ; 119,56 (C₂) ; 127,44 (C₉) ; 127,84 (2 C, C_{3',5'}) ; 128,42 (C_{imid}) ; 129,17 (C_{imid}) ; 131,43 (C_{4'}) ; 132,72 (2 C, C_{2',6'}) ; 137,27 (C_a) ; 144,17 (C₈) ; 154,01 (C_{1'}) .

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

1487, 1579 (ν C=C et ν C=N) ; 2226 (ν C \equiv N) ; 2937 (ν C-H_{aliph.}) .

Masse :

343,1 (MH) ; 275,1 (MH - 67) .

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-1-(4-trifluorométhylbenzyl)-1*H*-indole (38)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre beige

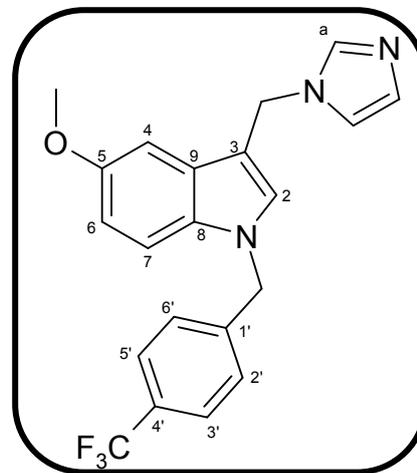
$C_{21}H_{18}F_3N_3O$

$M_r = 385,39$

$R_f = 0,33$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$T_m = 84-85$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 52%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

3,76 (3 H, s, OCH_3) ; 5,34 (2 H, s, CH_2Im) ; 5,52 (2 H, s, NCH_2) ; 6,79 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, H_6) ; 6,88 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,10 (1 H, d, $^4J = 2,0$ Hz, H_4) ; 7,22 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,32-7,38 (3 H, m, $H_{2',6',7}$) ; 7,60 (1 H, s, H_a) ; 7,71 (2 H, d, $^3J = 8$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,81 (1 H, s, H_2) .

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

41,32 (CH_2-Im) ; 48,83 (NCH_2) ; 55,65 (OCH_3) ; 100,96 (C_4) ; 110,76 (2 C, $C_{3,5}$) ; 111,29 (C_7) ; 111,94 (C_6) ; 119,55 (C_2) ; 125,68 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 127,44 (C_9) ; 127,71 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 128,44 (C_{imid}) ; 129,18 (C_{imid}) ; 131,47 ($C_{4'}$) ; 137,27 (C_a) ; 143,23 (C_8) ; 154,01 ($C_{1'}$) .

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

1162 (v CF_3) ; 1491, 1579 (v $C=C$ et v $C=N$) .

Masse :

386,1 (MH) ; 318,1 (MH - 67) .

1-(4-Cyanobenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-2-méthyl-1*H*-indole (39)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

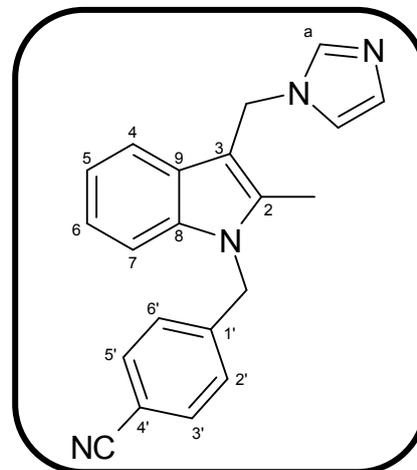
Huile jaune

$C_{21}H_{18}N_4$

$M_r = 326,40$

$R_f = 0,25$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 54%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,46 (3 H, s, indoleCH₃) ; 5,38 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,59 (2 H, s, NCH₂) ; 6,87 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,06-7,17 (5 H, m, H_{2',6',5,6,imid}) ; 7,40 (1 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H₇) ; 7,60 (1 H, dd, $^3J = 7,5$ Hz, $^4J = 0,2$ Hz, H₄) ; 7,77-7,79 (3 H, m, H_{3',5',a}).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

9,98 (indoleCH₃) ; 40,38 (CH₂-Im) ; 45,75 (NCH₂) ; 107,67 (C₃) ; 109,78 (C₄) ; 110,14 (C₉) ; 117,91 (C_{imid}) ; 118,85 (CN) ; 119,32 (C₅) ; 119,85 (C₇) ; 121,46 (C₆) ; 127,01 (C_{4'}) ; 127,22 (2 C, C_{2',6'}) ; 128,45 (C_{imid}) ; 132,83 (2 C, C_{3',5'}) ; 135,71 (C₂) ; 136,18 (C₈) ; 137,09 (C_a) ; 144,25 (C_{1'}).

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

1467, 1502 (ν C=C et ν C=N) ; 2228 (ν C \equiv N) ; 2927 (ν C-H_{aliph.}).

Masse :

259,1 (MH - 67).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-2-méthyl-1-(4-trifluorométhylbenzyl)-1*H*-indole (40)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre jaune

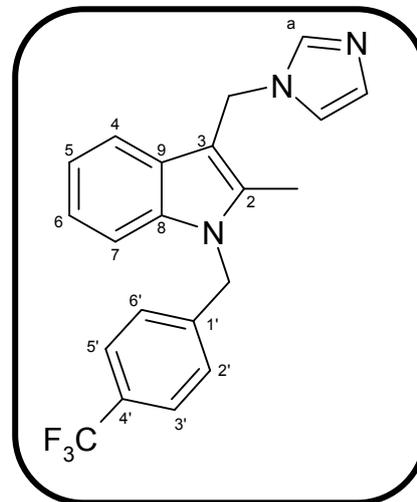
$C_{21}H_{18}F_3N_3$

$M_r = 369,39$

$R_f = 0,28$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$T_m = 134-135$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 50%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,48 (3 H, s, indoleCH₃) ; 5,38 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,59 (2 H, s, N-CH₂) ; 6,87 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,10 (1 H, ddd, $^3J = 7,2$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H₅) ; 7,11 (1 H, ddd, $^3J = 7,6$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H₆) ; 7,14 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,20 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H_{2', 6'}) ; 7,41 (1 H, dd, $^3J = 7,6$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H₇) ; 7,60 (1 H, dd, $^3J = 7,2$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H₄) ; 7,71 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H_{3', 5'}) ; 7,77 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

10,02 (indoleCH₃) ; 40,70 (CH₂-Im) ; 45,64 (N-CH₂) ; 107,58 (C₃) ; 117,89 (C₄) ; 119,32 (C₅) ; 119,80 (C_{imid}) ; 121,42 (C₆) ; 122,21 (CF₃) ; 125,79 (2 C, q, $^3J = 4,0$ Hz, C_{3', 5'}) ; 127,03 (2 C, C_{2', 6'}) ; 127,72 (C₉) ; 128,23 (C_{4'}) ; 128,45 (C_{imid}) ; 135,74 (C₈) ; 136,20 (C₂) ; 137,07 (C_a) ; 143,30 (C₁).

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

1159 (ν CF₃) ; 1467, 1508 (ν C=C et ν C=N) ; 2922 (ν C-H_{aliph.}) ; 3014 (ν C-H_{ar.}).

Masse :

303,4 (MH – 67).

1-(4-Bromobenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole (41)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre ocre

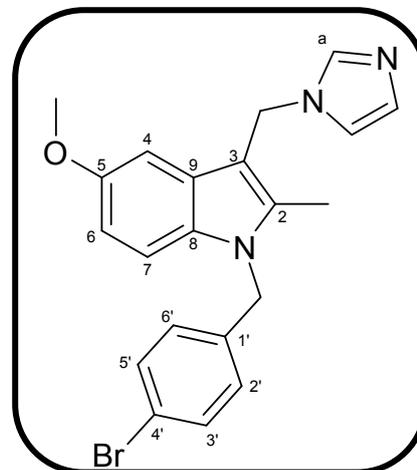
$C_{21}H_{20}BrN_3O$

$M_r = 410,32$

$R_f = 0,15$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 80-81$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 39%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,43 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,77 (3 H, s, OCH₃) ; 5,34 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,40 (2 H, s, NCH₂) ; 6,74 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H₆) ; 6,86 (1 H, s, H_{imid}) ; 6,94 (2 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, H_{2', 6'}) ; 7,11 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H₄) ; 7,14 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,30 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H₇) ; 7,52 (2 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, H_{3', 5'}) ; 7,76 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

11,02 (indoleCH₃) ; 41,60 (CH₂-Im) ; 46,41 (NCH₂) ; 56,52 (OCH₃) ; 101,33 (C₄) ; 108,13 (C₃) ; 111,44 (C₆ ou 7) ; 111,53 (C₆ ou 7) ; 120,23 (C_{imid}) ; 121,19 (C_{4'}) ; 128,38 (C₉) ; 129,25 (C_{imid}) ; 129,43 (2 C, C_{2', 6'}) ; 132,17 (C₂) ; 132,59 (2 C, C_{3', 5'}) ; 137,08 (C₈) ; 137,93 (C_a) ; 138,86 (C₅) ; 154,98 (C_{1'}).

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

789 (v CBr) ; 1483, 1623 (v C=C et v C=N) ; 2927 (v C-H_{aliph.}) ; 3091 (v C-H_{ar}).

Masse :

344,0 (MH - 67).

1-(4-Cyanobenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole (42)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre jaune

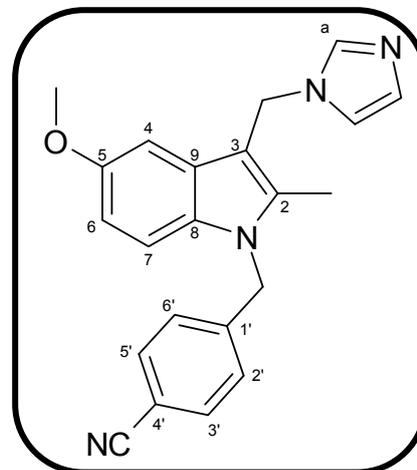
$C_{22}H_{20}N_4O$

$M_r = 356,43$

$R_f = 0,30$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$T_m = 124-125$ (éther diisopropylique)

Rendement = 46%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,42 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,77 (3 H, s, OCH₃) ; 5,35 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,54 (2 H, s, NCH₂) ; 6,73 (1 H, dd, $^3J = 8,0$ Hz, $^4J = 0,2$ Hz, H₆) ; 6,88 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,11-7,16 (4 H, m, H_{2',6',4,imid}) ; 7,28 (1 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H₇) ; 7,80 (3 H, d, H_{3',5',a}).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

10,37 (indoleCH₃) ; 46,12 (CH₂-Im) ; 55,38 (NCH₂) ; 55,92 (OCH₃) ; 100,81 (C₄) ; 107,74 (C₃) ; 110,39 (C₇) ; 110,80 (C₅) ; 111,03 (C₆) ; 119,15 (CN) ; 119,65 (C_{imid}) ; 127,47 (2 C, C_{2',6'}) ; 127,84 (C_{4'}) ; 128,63 (C₉) ; 131,56 (C_{imid}) ; 133,09 (2 C, C_{3',5'}) ; 136,49 (C₂) ; 137,34 (C₈) ; 144,67 (C_a) ; 154,48 (C_{1'}).

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

1486, 1503 (ν C=C et ν C=N) ; 2232 (ν C \equiv N) ; 2925 (ν C-H_{aliph.}) ; 3091 (ν C-H_{ar}).

Masse :

289,4 (MH - 67).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1-(4-trifluorométhylbenzyl)-1*H*-indole (43)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre jaune

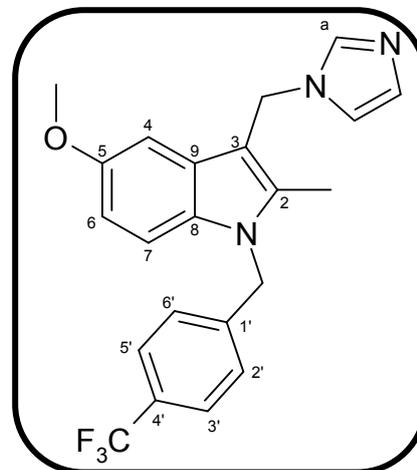
$C_{22}H_{20}F_3N_3O$

$M_r = 399,42$

$R_f = 0,27$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 135-136$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 63%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,44 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,78 (3 H, s, OCH₃) ; 5,35 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,54 (2 H, s, N-CH₂) ; 6,74 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H₆) ; 6,87 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,12 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H₄) ; 7,15 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,18 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,30 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H₇) ; 7,70 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H_{3',5'}) ; 7,77 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

10,11 (indoleCH₃) ; 40,37 (CH₂-Im) ; 45,72 (N-CH₂) ; 55,62 (OCH₃) ; 100,50 (C₄) ; 107,39 (C₃) ; 110,52 (C₆ ou 7) ; 110,70 (C₆ ou 7) ; 119,33 (C_{imid}) ; 125,76 (2 C, q, $^3J = 4,0$ Hz, C_{3',5'}) ; 126,53 (CF₃) ; 126,98 (2 C, C_{2',6'}) ; 127,54 (C₉) ; 127,94 (1 C, q, $^2J = 32,0$ Hz, C_{4'}) ; 128,43 (C_{imid}) ; 131,29 (C₂) ; 136,21 (C₈) ; 137,07 (C_a) ; 143,42 (C₁) ; 154,15 (C₅).

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

1160 (ν CF₃) ; 1485, 1623 (ν C=C et ν C=N) ; 2939 (ν C-H_{aliph.}) ; 3049 (ν C-H_{ar.}).

Masse :

333,2 (MH – 67).

5- Synthèse de 1-(4-alkylbenzyl)-3-(1H-imidazol-1-ylméthyl)-1H-indoles

5-1- Hypothèses de travail

Dans le but de s'affranchir des substituants utilisés dans l'étude QSAR et de confirmer l'importance du paramètre lipophile en *para*- du benzyle, nous avons utilisé le diagramme de Craig (**figure 43**) pour proposer une nouvelle série de molécules.⁷⁰

Ce diagramme rapporte l'étude des paramètres électroniques et lipophiles de substituants placés en position *para*- de noyaux aromatiques. Ainsi, sur l'axe vertical apparaît la constante de Hammett σ qui évalue le caractère électroattracteur ou électrodonneur d'un substituant. Une valeur positive (partie supérieure du diagramme) indique un groupe électroattracteur alors qu'une valeur négative correspond à un groupe électrodonneur. L'axe horizontal représente les variations de la constante d'hydrophobicité d'un substituant (π de Hansch). Une valeur positive correspond à un groupe lipophile alors qu'une valeur négative se rapporte à un groupe hydrophile.

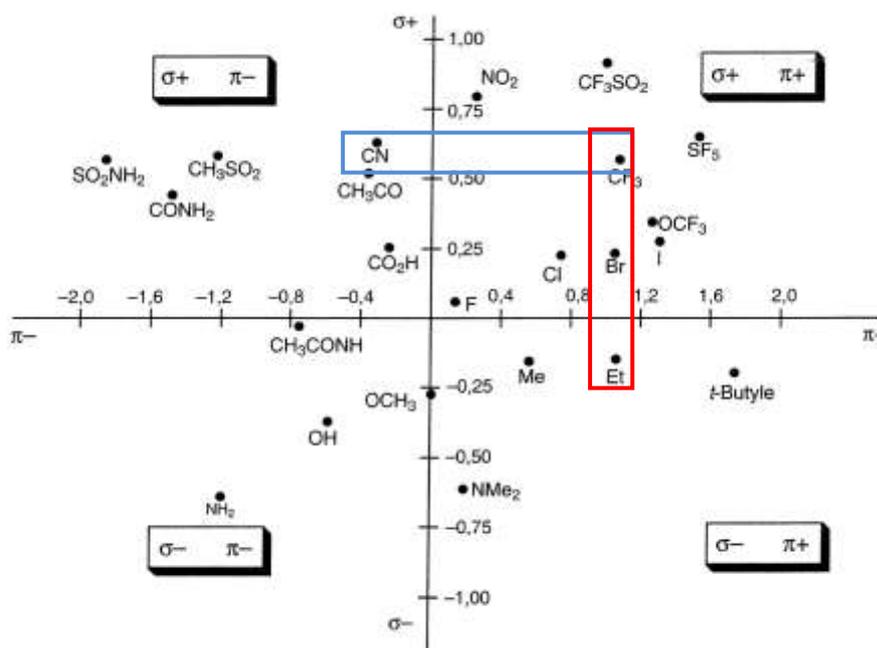


Figure 43 : Diagramme de Craig

Sur ce diagramme figurent les substituants étudiés dans notre série de molécules : Br, CN et CF_3 . Les groupes CN et CF_3 sont représentés sur la même horizontale :

⁷⁰ Chimie pharmaceutique, Graham L. Patrick, De Boeck Université, éd. 2002, 654 pages.

- ils possèdent la même électroattractivité (même valeur de σ , zone bleue sur la **figure 43**),
- le groupe CF_3 possède une lipophilie supérieure au groupe CN.

Pour une lipophilie identique, le paramètre électronique peut être modifié selon un axe vertical. Ainsi, le substituant brome situé sur le même axe que CF_3 (même valeur de π , zone rouge sur la **figure 43**) présente un caractère électrodonneur plus marqué. En poursuivant notre raisonnement, il est même possible d'inverser totalement le caractère électronique initial avec un groupe éthyle.

Une nouvelle famille d'inhibiteurs a donc été préparée en tenant compte du paramètre électronique. Elle a été étendue à une série d'alkyles (**figure 44**).

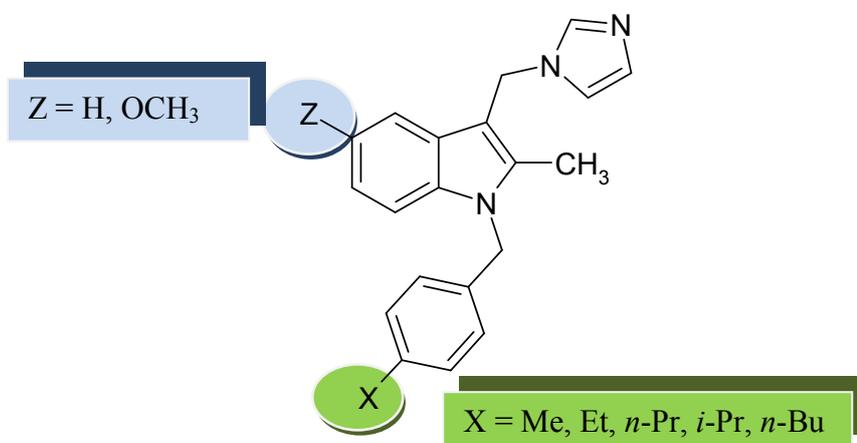


Figure 44 : Nouvelle famille d'inhibiteurs

5-2- Schéma rétrosynthétique initialement envisagé

Comme précédemment, l'idée première fut de partir de dérivés indoliques commerciaux, de greffer la chaîne méthylimidazole en position 3 et d'introduire la diversité en fin de synthèse. Par cette méthode, les intermédiaires sont peu nombreux et la préparation d'une quantité importante des dérivés **VIII** nous permettra rapidement d'obtenir les produits finaux souhaités (**figure 45**). Cependant les halogénures de benzyle substitués en *para*- par des chaînes alkyles ne sont pas commerciaux et seuls les alcools benzyliques ou les aldéhydes correspondants existent. Ainsi, naturellement notre stratégie s'est orientée vers l'utilisation de la réaction de Mitsunobu pour la dernière étape de la synthèse.

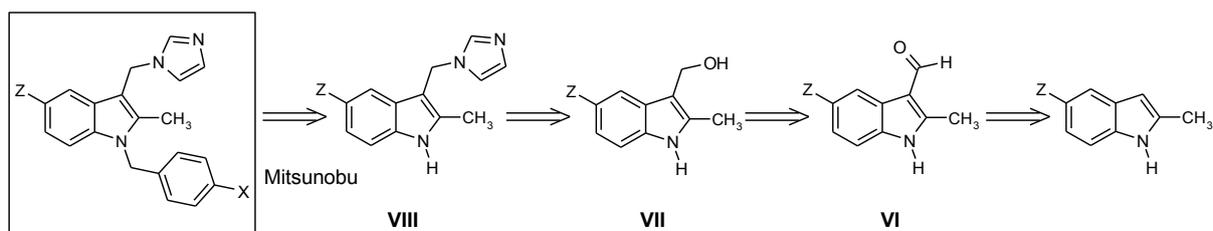


Figure 45 : Préparation des 1-(4-alkylbenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-1*H*-indoles

5-3- Synthèse d'une molécule test (Z = H, X = 4-*i*Pr)

Les premières étapes de la synthèse consistent en une formylation de Vilsmeier-Haack, une réduction de l'aldéhyde obtenu suivie de la fixation du noyau imidazole. Les essais sont réalisés en partant du 2-méthyl-1*H*-indole commercial (**figure 46**).

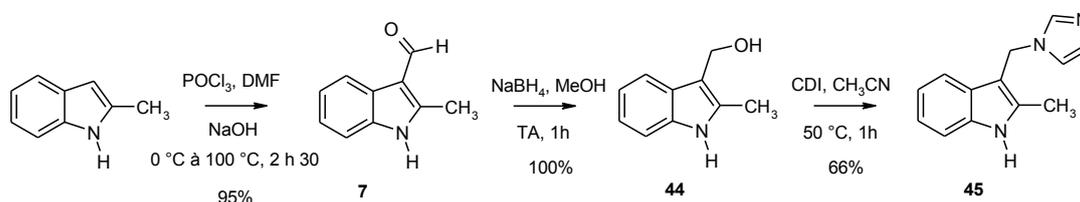


Figure 46 : Synthèse du 3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-2-méthyl-1*H*-indole **45**

Le produit **45** est obtenu en trois étapes avec un rendement global de 63%. La réaction de Mitsunobu consiste à faire réagir l'indole avec un alcool en présence d'azodicarboxylate de diéthyle (DEAD) et de triphénylphosphine dans le tétrahydrofurane selon le mécanisme détaillé sur la **figure 47**.^{71,72}

Le DEAD réagit avec la triphénylphosphine pour former un intermédiaire B. Celui-ci peut réagir de deux manières (voies B₁ et B₂) selon que l'alcool ou l'indole réagit en premier :^{73,74}

- Ainsi, selon la voie B₁, l'indole libère son hydrogène et l'alcool attaque l'intermédiaire formé. Puis, une réaction de substitution se déroule pour conduire en trois étapes au produit désiré et à l'oxyde de triphénylphosphine.
- La voie B₂, plus longue, fait intervenir dans un premier temps, l'alcool qui donne son proton à l'intermédiaire B. Une deuxième molécule d'alcool réagit pour conduire à un organophosphorane. Ce dernier subit enfin une

⁷¹ Mitsunobu O. *et al. Bull. Chem. Soc. Jap.* **1967**, *40*, 2380-2382.

⁷² (a) Guthrie R.D. *et al. Aust. J. Chem.* **1982**, *35*, 767-774 ; (b) Morrison D.C. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 1072-1074 ; (c) Grochowski E. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6876-6877.

⁷³ Susuki E. *et al. J. Chem. Res.* **1979**, (S), 110-111.

⁷⁴ Von Itzstein M. *et al. Aust. J. Chem.* **1983**, *36*, 557-563.

attaque nucléophile de l'indole. Le produit de substitution est obtenu après une dernière étape de substitution nucléophile.

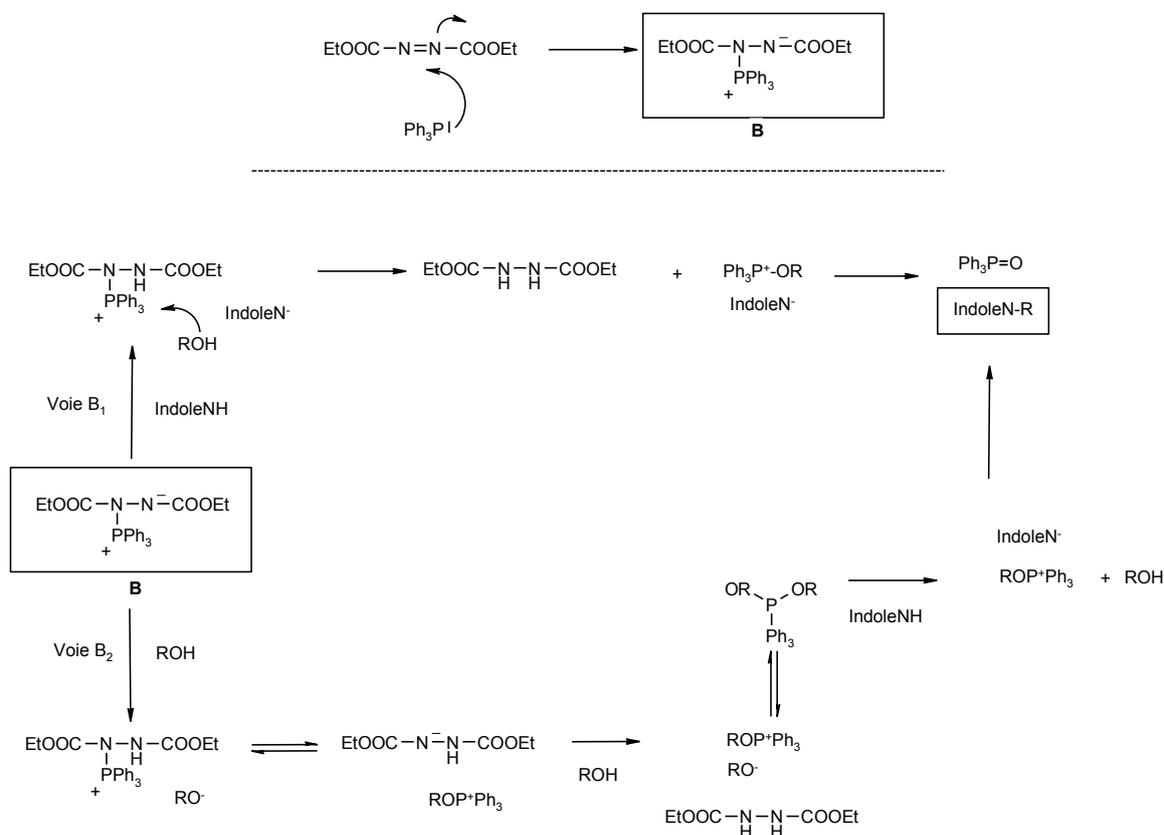


Figure 47 : Mécanismes envisagés pour la réaction de Mitsunobu

La réaction est réalisée dans un premier temps à température ambiante pendant une nuit puis en chauffant le mélange réactionnel à reflux. Aucune réaction n'a lieu, le produit de départ **45** est récupéré (**figure 48**).

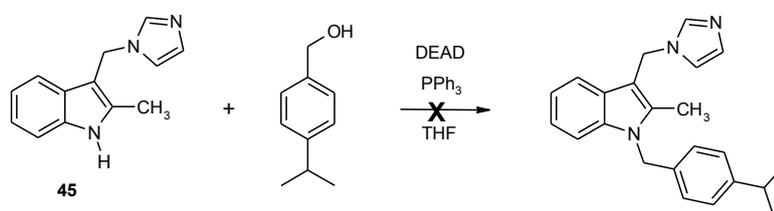


Figure 48 : Réaction de Mitsunobu entre **45** et le 4-isopropylphénylméthanol

Finalement, une recherche bibliographique sur la réaction de Mitsunobu en série indolique a montré qu'avec un système classique (PPh_3 , DEAD) seuls des indoles possédant

en position 3 des groupes attracteurs (par exemple CHO) ont réagi avec des alcools avec des rendements compris entre 31 et 99%.^{75,76} Aucune réaction n'est observée si l'indole n'est pas substitué en position 3 par un aldéhyde. Toutefois A. Bombrun *et al.*⁷⁷ ont décrit une réaction de Mitsunobu entre le 5-bromo-1*H*-indole et l'alcool benzylique. Ils ont montré que le couple DEAD/PPh₃ ne donne pas le produit souhaité mais en revanche le CMMP (ou cyanométhylène triméthylphosphorane) conduit à une *N*-substitution avec un bon rendement de 89%.

Cet échec nous a poussé à modifier légèrement notre stratégie de synthèse. En alternative, une réaction de substitution nucléophile a donc été envisagée entre le N-H de l'indole **45** et le mésylate du 4-isopropylphénylméthanol (**figure 49**).

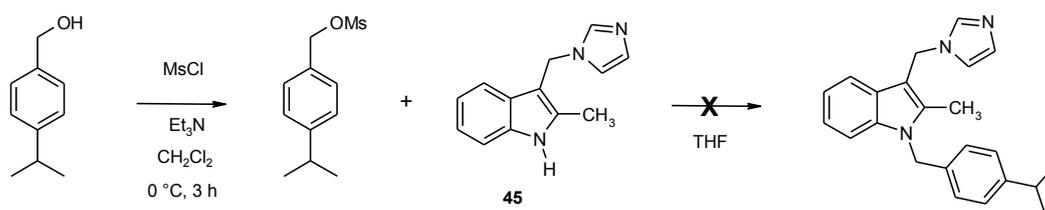


Figure 49 : Alternative à la réaction de Mitsunobu

Le mésylate est obtenu par action du chlorure de mésyle sur l'alcool benzylique en présence de triéthylamine en milieu concentré. Il est ensuite engagé à l'état brut dans une réaction de substitution avec le dérivé **45** préalablement traité par de l'hydruide de sodium. Aucune réaction n'a pu être observée entre les deux entités. L'ajout d'un équivalent d'iodure de potassium dans le milieu devrait permettre de former *in situ* l'iodure de benzyle. Cependant, appliquée à notre réaction, cette méthode n'a pas permis d'isoler le produit désiré. L'azote du dérivé **45** n'est pas suffisamment nucléophile pour réagir.

Finalement, la voie précédemment exposée (cf **figure 39** page 58) a été une fois de plus retenue. La synthèse passe successivement par une formylation, une *N*-benzylation, une réduction et enfin l'introduction du noyau imidazole.

5-4- Synthèse des molécules 76-85

Les dérivés benzyliques halogénés (bromés ou chlorés) substitués en *para*- par des groupes donneurs ne sont pas disponibles. Selon les cas, ils sont préparés de manière quasi-quantitative en deux étapes à partir des aldéhydes ou en trois étapes à partir des acétals (**figure 50**).

⁷⁵ Zhang H. *et al.* *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5132-5138.

⁷⁶ Fiumana A. *et al.* *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4209-4211.

⁷⁷ Bombrun A. *et al.* *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2187-2190.

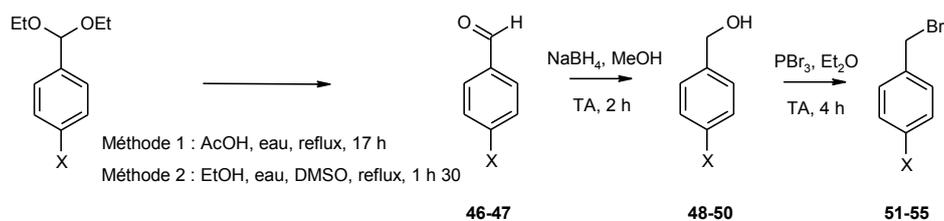


Figure 50 : Préparation de **51-55** à partir des aldéhydes ou des acétals diéthyliques

Le tableau ci-dessous résume les conditions utilisées et les rendements obtenus.

Tableau 8 : Préparation des bromures de benzyles

Nature de X	Déprotection acétal			Réduction		Bromation	
	N°	Méthode	Rdt (%)	N°	Rdt (%)	N°	Rdt (%)
Me	/	/	/	com.	/	51	100
Et	com.	/	/	48	100	52	100
<i>n</i> -Pr	46	1 ⁷⁸	97	49	100	53	92
<i>i</i> -Pr	/	/	/	com.	/	54	100
<i>n</i> -Bu	47	2 ⁷⁹	100	50	100	55	93

Remarque : l'abréviation com. signifie que le produit issu de la réaction considérée est commercial

La suite de la synthèse se déroule comme précédemment exposé.

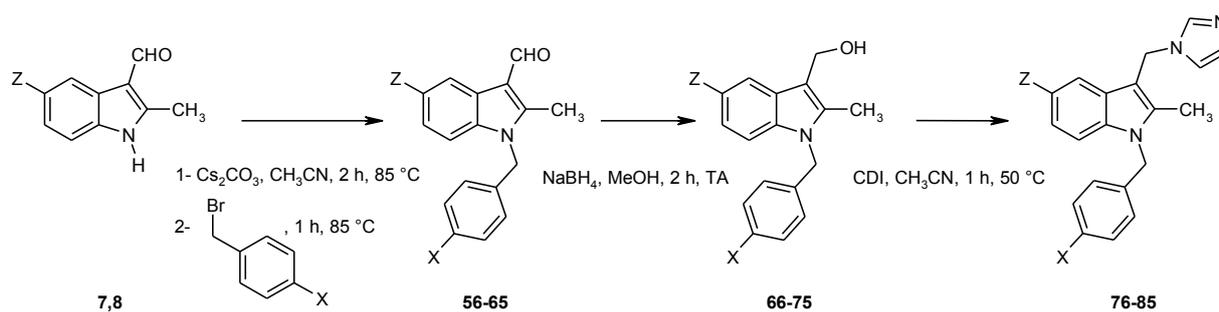


Figure 51 : Synthèse des dérivés **56 à 85**

Le tableau ci-dessous rapporte les rendements et les références des produits obtenus lors des trois dernières étapes de la synthèse.

Les réactions de *N*-benzylation et de réduction se déroulent avec de très bons rendements (82-100%). Enfin la dernière étape d'introduction du noyau imidazole est réalisée avec des rendements légèrement inférieurs à ceux obtenus dans le **tableau 6** page 60 où nous avons en position *para*- des benzyles des groupes attracteurs.

⁷⁸ Kawasaki M. *et al. Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 585-596.

⁷⁹ Kametani T. *et al. Chem. Lett.* **1989**, 18, 901-904.

Tableau 9 : Réactions de *N*-benzylation, réduction et fixation de l'imidazole

Z	X	<i>N</i> -benzylation		Réduction		Couplage CDI	
		N°	Rdt (%)	N°	Rdt (%)	N°	Rdt (%)
H	Me	56	100	66	100	76	45
	Et	57	100	67	100	77	59
	<i>n</i> -Pr	58	100	68	100	78	48
	<i>i</i> -Pr	59	100	69	100	79	11
	<i>n</i> -Bu	60	100	70	100	80	49
OMe	Me	61	82	71	100	81	57
	Et	62	86	72	99	82	47
	<i>n</i> -Pr	63	100	73	100	83	49
	<i>i</i> -Pr	64	100	74	100	84	33
	<i>n</i> -Bu	65	100	75	100	85	42

Le dérivé **79** (Z = H, X = *i*-Pr) est obtenu avec un très faible rendement de 11%. Ceci est certainement dû à la faible stabilité du précurseur **69**, celui-ci n'ayant pu être conservé plus d'une journée à température ambiante. La réaction avec le CDI est engagée directement sur le produit **69** dès son obtention. Cependant elle nécessite un chauffage du milieu réactionnel à 50 °C. Elle a donc certainement conduit à la dégradation rapide d'une bonne partie du composé **69** engagé.

6- Résultats pharmacologiques obtenus sur cette série et discussion

Les composés **76** à **85** (tableau 9) ont été évalués pour leur activité sur des parasites *Leishmania mexicana* au stade promastigote et ont montré les résultats suivants :

Quelque soit le groupe alkyle utilisé, ces composés présentent des activités homogènes au micromolaire (CI₅₀ comprises entre 2,5 et 5,4 μM). La longueur de la chaîne située en *para*- du benzyle n'a que peu d'influence sur l'activité. L'intervalle de variation n'est pas significatif et ne permet pas de tirer de conclusion quant à la longueur de chaîne optimale.

Lorsque l'on compare ces résultats à ceux obtenus pour les dérivés bromés ou trifluorométhylés précédemment synthétisés (**M17**, **41** et **40**, **43**), on remarque que pour chaque sous-série de molécules (Z = H et Z = OCH₃), les résultats sont équivalents.

Ainsi, contrairement à ce que pouvait nous laisser penser le diagramme de Craig, le facteur électronique n'a que très peu d'importance sur un gain éventuel d'activité. Par contre, ces résultats confirment l'importance du paramètre lipophile en *para*- du benzyle.

Tableau 10 : Activité des 1-(4-alkylbenzyl)-3-(imidazolyméthyl)indoles

N°	R	Z	X	CI ₅₀ mesurées (μM)
M17	CH ₃	H	Br	0,3±0,02
40			CF ₃	4,9±0,1
76			Me	5,3±0,1
77			Et	4,4±0,1
78			<i>n</i> -Pr	3,2±0,2
79			<i>i</i> -Pr	5,0±0,6
80			<i>n</i> -Bu	2,6±0,1
41			OMe	Br
43		CF ₃		6,1±0,2
81		Me		5,4±0,2
82		Et		5,1±0,1
83		<i>n</i> -Pr		4,4±0,2
84		<i>i</i> -Pr		2,5±0,4
85		<i>n</i> -Bu		4,5±0,1

7- Partie expérimentale (suite)

(2-Méthyl-1*H*-indol-3-yl)méthanol (44)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

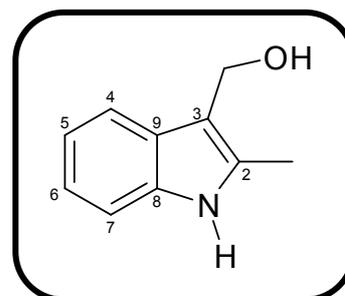
Huile brune

$C_{10}H_{11}NO$

$M_r = 161,21$

$R_f = 0,28$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,39 (3 H, s, indole CH_3) ; 4,54 (1 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, CH_2OH) ; 4,60 (2 H, d, $^3J = 4,9$ Hz, CH_2OH) ; 6,94-7,05 (2 H, m, H_5, H_6) ; 7,26 (1 H, d, $^3J = 7,0$ Hz, H_7) ; 7,53 (1 H, d, $^3J = 7,0$ Hz, H_4) ; 10,81 (1 H, s, H_1).

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

1461, 1557 ($\nu C=C$) ; 2906 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3401 ($\nu O-H$ et $\nu N-H$).

3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-2-méthyl-1*H*-indole (45)

Selon la méthode C1 (décrite p 69) :

Poudre brune

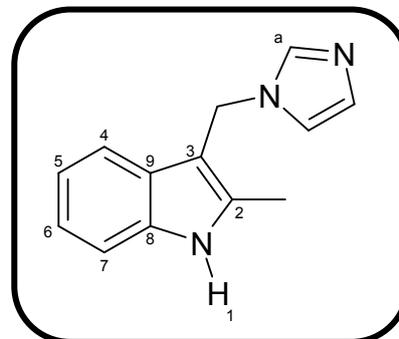
$C_{13}H_{13}N_3$

$M_r = 211,27$

$R_f = 0,14$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 140-141$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,49 (3 H, s, indoleCH₃) ; 5,29 (2 H, s, CH₂-Im) ; 6,84 (1 H, s, H_{imid}) ; 6,98 (1 H, ddd, $^3J = 7,0$ Hz, $^3J = 7,0$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H₆) ; 7,05 (1 H, ddd, $^3J = 7,0$ Hz, $^3J = 7,0$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H₅) ; 7,11 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,30 (1 H, d, $^3J = 7,0$ Hz, H₇) ; 7,49 (1 H, d, $^3J = 7,0$ Hz, H₄) ; 7,73 (1 H, s, H_a) ; 11,07 (1 H, s, H₁).

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

1456 (ν C=N) ; 1509 (ν C=C) ; 2917 (ν C-H_{aliph.}) ; 3108 (ν C-H_{ar.}) ; 3389 (ν N-H).

4-Propylbenzaldéhyde (46)

Méthode E1 :

Dissoudre 3 g (13,49 mmol) de 4-propylbenzaldéhyde diéthylacétal dans 13,5 mL d'acide acétique et 6,5 mL d'eau. Chauffer à reflux pendant 17 heures.

Refroidir le mélange réactionnel à 0 °C et ajouter 30 mL d'une solution de soude à 6 M préalablement refroidie à 0 °C. Agiter le mélange réactionnel pendant 15 minutes. Extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre puis évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant par du dichlorométhane.

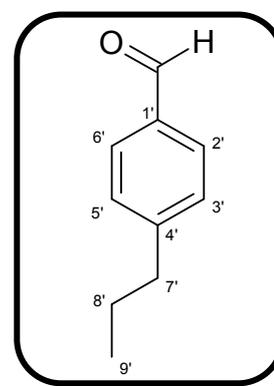
Huile incolore

$C_{10}H_{12}O$

$M_r = 148,21$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

Rendement = 97%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,93 (3 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, $H_{9'}$) ; 1,58-1,70 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,68 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 7,46 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,86 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 9,99 (1 H, s, CHO).

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

1456 (v C=C) ; 1701 (v C=O) ; 2917 (v C- $H_{aliph.}$).

4-Butylbenzaldéhyde (47)

Méthode E2 :

Dissoudre 3 g (12,69 mmol) de 4-butylbenzaldéhyde diéthylacétal dans 24 mL d'éthanol, 6 mL d'eau et 1,8 mL (25,38 mmol) de DMSO. Chauffer à reflux pendant 1,5 heure.

Evaporer un peu de solvant. Reprendre par de l'eau et du dichlorométhane. Extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre puis évaporer.

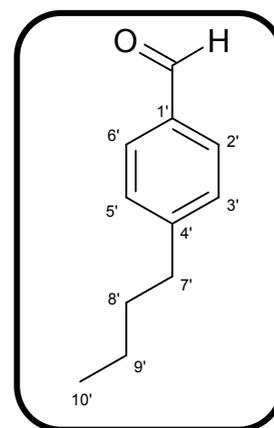
Huile incolore

$C_{11}H_{14}O$

$M_r = 162,23$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,93 (3 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, $H_{10'}$) ; 1,33-1,38 (2 H, m, $H_{9'}$) ; 1,58-1,64 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,68-2,73 (2 H, m, H_7) ; 7,46 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,86 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 9,99 (1 H, s, CHO).

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

1461, 1574 ($\nu C=C$) ; 1695 ($\nu C=O$) ; 2924 ($\nu C-H_{aliph.}$).

4-Ethylphénylméthanol (48)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

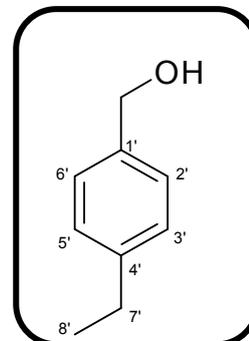
Huile incolore

$C_9H_{12}O$

$M_r = 136,20$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,20 (3 H, t, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{8'}$) ; 2,59 (2 H, q, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{7'}$) ; 4,48 (2 H, d, $^3J = 5,8$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 5,12 (1 H, t, $^3J = 5,8$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 7,18 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,25 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$).

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

1451, 1512 ($\nu C=C$) ; 2958 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3349 ($\nu O-H$)

4-Propylphénylméthanol (49)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

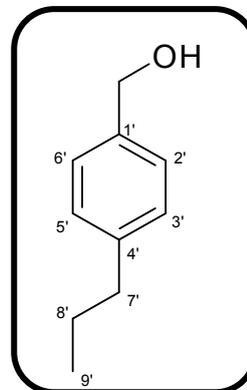
Huile incolore

$C_{10}H_{14}O$

$M_r = 150,22$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,91 (3 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, $H_{9'}$) ; 1,56-1,65 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,59 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 4,48 (2 H, d, $^3J = 5,5$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 5,12 (1 H, t, $^3J = 5,5$ Hz, $\underline{CH_2OH}$) ; 7,17 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,25 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{2',6'}$).

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

1456, 1513 ($\nu C=C$) ; 2937 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3359 ($\nu O-H$).

4-Butylphénylméthanol (50)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

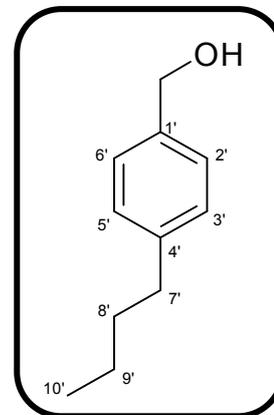
Huile incolore

$C_{11}H_{16}O$

$M_r = 164,25$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

0,92 (3 H, t, ³J = 7,3 Hz, H_{10'}) ; 1,31-1,40 (2 H, m, H_{9'}) ; 1,50-1,62 (2 H, m, H_{8'}) ; 2,58 (2 H, t, ³J = 7,6 Hz, H_{7'}) ; 4,47 (2 H, d, ³J = 5,5 Hz, CH₂OH) ; 5,12 (1 H, t, ³J = 5,5 Hz, CH₂OH) ; 7,16 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{3',5'}) ; 7,25 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{2',6'}).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

1456, 1512 (ν C=C) ; 2927 (ν C-H_{aliph.}) ; 3359 (ν O-H).

Bromure de 4-méthylbenzyle (51)

Méthode F :

Dissoudre 3 g (24,5 mmol) de 4-méthylphénylméthanol dans 15 mL d'éther diéthylique anhydre sous argon. Ajouter lentement 1,28 mL (13,5 mmol) de tribromure de phosphore et agiter pendant 2,5 heures à température ambiante sous argon.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Le produit n'est pas purifié et est engagé directement dans l'étape suivante.

Solide incolore

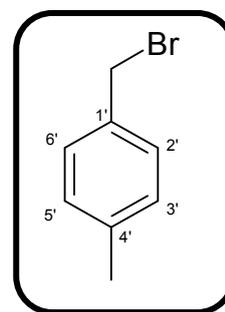
C_8H_9Br

$M_r = 185,06$

$R_f = 0,90$ (dichlorométhane)

$F \text{ } ^\circ C = 35-36$ (ether diéthylique)

Rendement = 100%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

2,33 (3 H, s, CH₃) ; 4,71 (2 H, s, CH₂) ; 7,19 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{3',5'}) ; 7,37 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{2',6'}).

IR (KBr, cm⁻¹) :

810 (ν C-Br) ; 1435, 1507 (ν C=C) ; 2927 (ν C-H_{aliph.}).

Bromure de 4-éthylbenzyle (52)

Selon la méthode F (décrite p 126) :

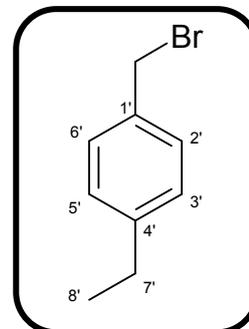
Huile incolore

$C_9H_{11}Br$

$M_r = 199,09$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,20 (3 H, t, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{8'}$) ; 2,62 (2 H, q, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{7'}$) ; 4,72 (2 H, s, CH_2) ; 7,23 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,39 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{2',6'}$).

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

837 (v C-Br) ; 1451, 1512 (v C=C) ; 2920 (v C- $H_{aliph.}$).

Bromure de 4-propylbenzyle (53)

Selon la méthode F (décrite p 126) :

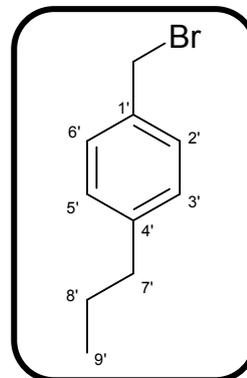
Huile incolore

$C_{10}H_{13}Br$

$M_r = 213,12$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

Rendement = 92%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,92 (3 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, $H_{9'}$) ; 1,53-1,69 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,63 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 4,72 (2 H, s, CH_2) ; 7,21 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,38 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{2',6'}$).

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

820 (v C-Br) ; 1451, 1512 (v C=C) ; 2922 (v C- $H_{aliph.}$).

Bromure de 4-isopropylbenzyle (54)

Selon la méthode F (décrite p 126) :

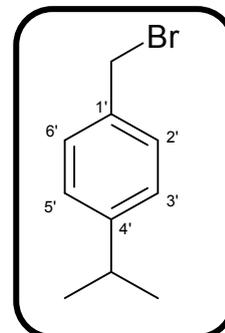
Huile incolore

$C_{10}H_{13}Br$

$M_r = 213,12$

$R_f = 0,75$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,22 (6 H, d, $^3J = 7,0$ Hz, 2 CH_3 iPr) ; 2,91 (1 H, septuplet, $^3J = 7,0$ Hz, CH iPr) ; 4,72 (2 H, s, CH_2) ; 7,26 (2 H, d, $^3J = 8,1$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,40 (2 H, d, $^3J = 8,1$ Hz, $H_{2',6'}$).

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

831 (v C-Br) ; 1461, 1508 (v C=C) ; 2927 (v C- $H_{aliph.}$).

Bromure de 4-butylbenzyle (55)

Selon la méthode F (décrite p 126) :

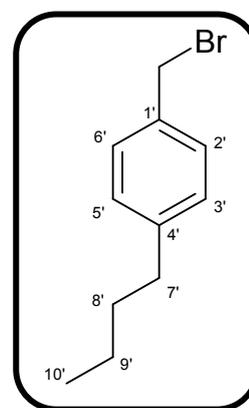
Huile incolore

$C_{11}H_{15}Br$

$M_r = 227,15$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane)

Rendement = 93%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

0,92 (3 H, t, ³J = 7,3 Hz, H_{10'}) ; 1,28-1,40 (2 H, m, H_{9'}) ; 1,51-1,63 (2 H, m, H_{8'}) ; 2,60 (2 H, t, ³J = 7,6 Hz, H_{7'}) ; 4,72 (2 H, s, CH₂) ; 7,21 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{3',5'}) ; 7,38 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{2',6'}).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

826 (ν C-Br) ; 1456, 1512 (ν C=C) ; 2917 (ν C-H_{aliph.}).

2-Méthyl-1-(4-méthylbenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (56)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

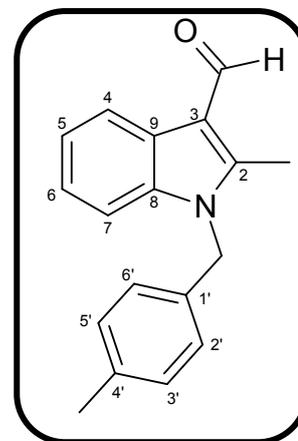
Huile jaune

$C_{18}H_{17}NO$

$M_r = 263,34$

$R_f = 0,50$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,27 (3 H, s, $PhCH_3$) ; 2,73 (3 H, s, indole CH_3) ; 5,52 (2 H, s, NCH_2) ; 7,02 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,16 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,23-7,28 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,53-7,57 (1 H, m, H_7) ; 8,15-8,19 (1 H, m, H_4) ; 10,16 (1 H, s, CHO).

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

1261 (ν C-N) ; 1461, 1528 (ν C=C) ; 1646 (ν C=O) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$).

1-(4-Ethylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (57)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

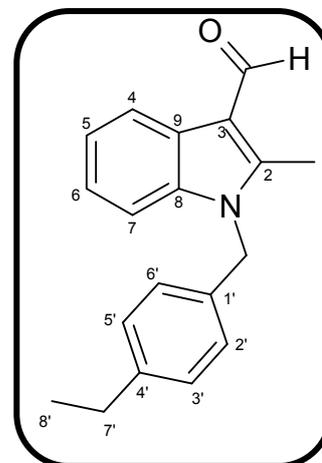
Huile brune

C₁₉H₁₉NO

$M_r = 277,37$

$R_f = 0,50$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 100%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

1,16 (3 H, t, ³J = 7,6 Hz, H_{8'}) ; 2,55 (2 H, q, ³J = 7,6 Hz, H_{7'}) ; 2,74 (3 H, s, indoleCH₃) ; 5,53 (2 H, s, NCH₂) ; 7,03 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{3',5'}) ; 7,19 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{2',6'}) ; 7,21-7,26 (2 H, m, H_{5,6}) ; 7,55-7,59 (1 H, m, H₇) ; 8,15-8,19 (1 H, m, H₄) ; 10,16 (1 H, s, CHO).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

1261 (ν C-N) ; 1456, 1533 (ν C=C) ; 1651 (ν C=O).

2-Méthyl-1-(4-propylbenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (58)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

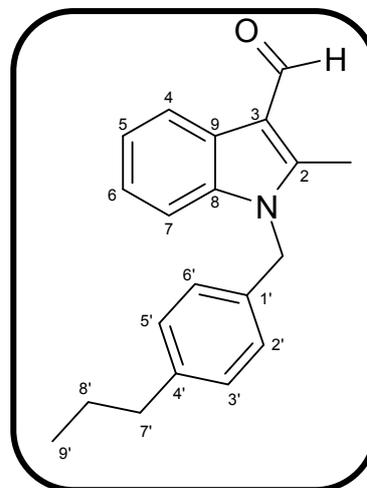
Huile brune

$C_{20}H_{21}NO$

$M_r = 291,40$

$R_f = 0,50$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,91 (3 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, $H_{9'}$) ; 1,50-1,60 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,54 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 2,74 (3 H, s, indole CH_3) ; 5,53 (2 H, s, NCH_2) ; 7,03 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,17 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,21-7,28 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,55-7,59 (1 H, m, H_7) ; 8,15-8,19 (1 H, m, H_4) ; 10,16 (1 H, s, CHO).

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

1271 (ν C-N) ; 1456, 1533 (ν C=C) ; 1646 (ν C=O) ; 2958 (ν C- $H_{aliph.}$).

1-(4-Isopropylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (59)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

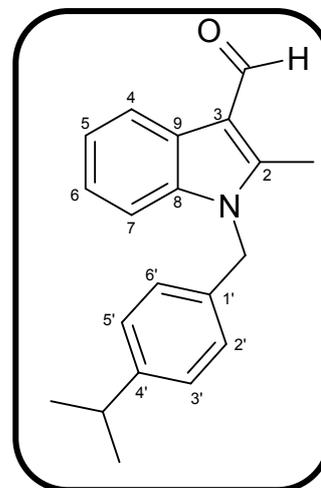
Huile brune

$C_{20}H_{21}NO$

$M_r = 291,40$

$R_f = 0,45$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,18 (6 H, d, $^3J = 7,0$ Hz, CH_3 iPr) ; 2,74 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,86 (1 H, septuplet, $^3J = 7,0$ Hz, CH iPr) ; 5,52 (2 H, s, NCH_2) ; 7,04 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,20-7,28 (4 H, m, $H_{2',6',5,6}$) ; 7,57 (1 H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H_7) ; 8,17 (1 H, d, $^3J = 6,1$ Hz, H_4) ; 10,16 (1 H, s, CHO).

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

1210 (ν C-N) ; 1461, 1533 (ν C=C) ; 1646 (ν C=O) ; 2957 (ν C- $H_{aliph.}$).

1-(4-Butylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (60)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

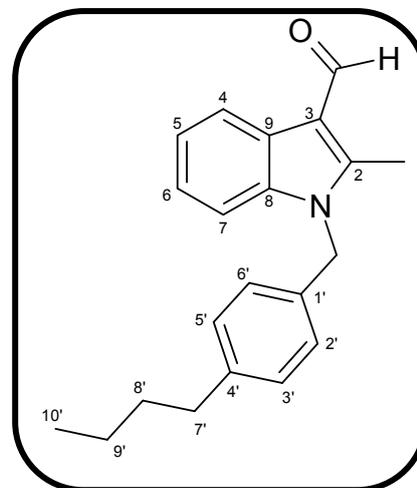
Huile brune

$C_{21}H_{23}NO$

$M_r = 305,40$

$R_f = 0,50$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,89 (3 H, t, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{10'}$) ; 1,24-1,34 (2 H, m, $H_{9'}$) ; 1,49-1,55 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,54 (2 H, t, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{7'}$) ; 2,73 (3 H, s, indole CH_3) ; 5,52 (2 H, s, NCH_2) ; 7,03 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,17 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,21-7,26 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,55-7,58 (1 H, m, H_7) ; 8,15-8,19 (1 H, m, H_4) ; 10,16 (1 H, s, CHO).

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

1266 (ν C-N) ; 1456, 1533 (ν C=C) ; 1646 (ν C=O) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$).

5-Méthoxy-2-méthyl-1-(4-méthylbenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (61)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre beige

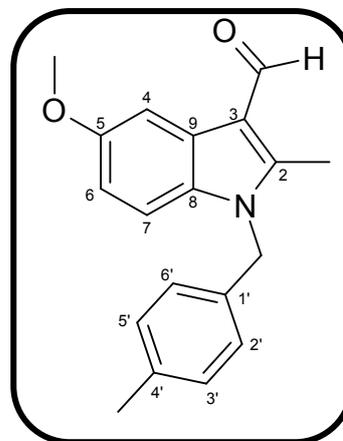
$C_{19}H_{19}NO_2$

$M_r = 293,37$

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

$F^\circ C = 109-110$ (éther diisopropylique)

Rendement = 82%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,87 (3 H, s, PhCH₃) ; 2,70 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,81 (3 H, s, OCH₃) ; 5,48 (2 H, s, NCH₂) ; 6,86 (1 H, dd, $^3J = 8,9$ Hz, $^4J = 2,8$ Hz, H₆) ; 7,00 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{3',5'}) ; 7,15 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{2',6'}) ; 7,45 (1 H, d, $^3J = 8,9$ Hz, H₇) ; 7,68 (1 H, d, $^4J = 2,8$ Hz, H₄) ; 10,12 (1 H, s, CHO).

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

1261 (ν C-N) ; 1458, 1522 (ν C=C) ; 1638 (ν C=O) ; 2962 (ν C-H_{aliph.}).

1-(4-Ethylbenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (62)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre rose

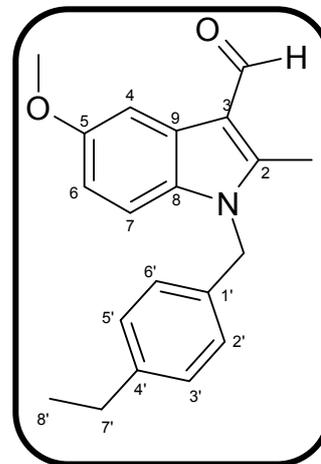
$C_{20}H_{21}NO_2$

$M_r = 307,40$

$R_f = 0,35$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$F^{\circ}C = 100-101$ (éther diisopropylique)

Rendement = 86%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,15 (3 H, t, $^3J = 7,5$ Hz, $H_{8'}$) ; 2,61 (2 H, q, $^3J = 7,5$ Hz, $H_{7'}$) ; 2,70 (3 H, s, indole CH_3) ; 3,81 (3 H, s, OCH_3) ; 5,48 (2 H, s, NCH_2) ; 6,86 (1 H, dd, $^3J = 9,1$ Hz, $^4J = 2,8$ Hz, H_6) ; 7,02 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,19 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,45 (1 H, d, $^3J = 9,1$ Hz, H_7) ; 7,68 (1H, d, $^4J = 2,8$ Hz, H_4) ; 10,12 (1 H, s, CHO).

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

1261 (ν C-N) ; 1458, 1522 (ν C=C) ; 1637 (ν C=O) ; 2965 (ν C- $H_{aliph.}$).

5-Méthoxy-2-Méthyl-1-(4-propylbenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (63)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

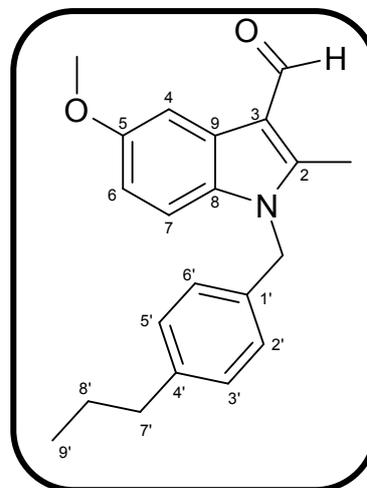
Huile jaune

$C_{21}H_{23}NO_2$

$M_r = 321,42$

$R_f = 0,40$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,88 (3 H, t, $^3J = 7,3$ Hz, H_9) ; 1,50-1,61 (2 H, m, H_8) ; 2,47 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, H_7) ; 2,70 (3 H, s, indole CH_3) ; 3,81 (3 H, s, OCH_3) ; 5,48 (2 H, s, NCH_2) ; 6,85 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,5$ Hz, H_6) ; 7,01 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,17 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,45 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,68 (1 H, d, $^4J = 2,5$ Hz, H_4) ; 10,12 (1 H, s, CHO).

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

1267 (ν C-N) ; 1454, 1528 (ν C=C) ; 1646 (ν C=O) ; 2961 (ν C- $H_{aliph.}$).

1-(4-Isopropylbenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (64)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

Poudre brune

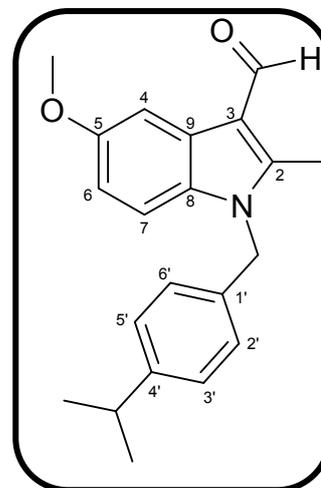
$C_{21}H_{23}NO_2$

$M_r = 321,42$

$R_f = 0,45$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$F^\circ C = 105-106$ (éther diisopropylique)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,18 (6 H, d, $^3J = 6,7$ Hz, CH_3 iPr) ; 2,70 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,81-2,91 (1 H, septuplet, $^3J = 6,7$ Hz, CH iPr) ; 3,82 (3 H, s, OCH_3) ; 5,48 (2 H, s, NCH_2) ; 6,86 (1 H, dd, $^3J = 8,9$ Hz, $^4J = 2,5$ Hz, H_6) ; 7,02 (2 H, d, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,21 (2 H, d, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,46 (1 H, d, $^3J = 8,9$ Hz, H_7) ; 7,68 (1 H, d, $^4J = 2,5$ Hz, H_4) ; 10,12 (1 H, s, CHO).

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

1210 (ν C-N) ; 1458, 1530 (ν C=C) ; 1638 (ν C=O) ; 2957 (ν C- $H_{aliph.}$).

1-(4-Butylbenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (65)

Selon la méthode D2 (décrite p 75) :

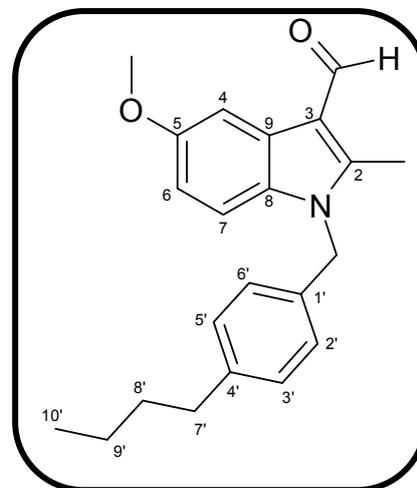
Huile jaune

$C_{22}H_{25}NO_2$

$M_r = 335,45$

$R_f = 0,35$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,89 (3 H, t, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{10'}$) ; 1,22-1,33 (2 H, m, $H_{9'}$) ; 1,34-1,58 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,12 (2 H, t, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{7'}$) ; 2,70 (3 H, s, indole CH_3) ; 3,81 (3 H, s, OCH_3) ; 5,48 (2 H, s, NCH_2) ; 6,86 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,5$ Hz, H_6) ; 7,01 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,17 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,45 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 7,68 (1 H, d, $^4J = 2,5$ Hz, H_4) ; 10,12 (1 H, s, CHO).

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

1267 (ν C-N) ; 1456, 1523 (ν C=C) ; 1645 (ν C=O) ; 2959 (ν C- $H_{aliph.}$).

[2-Méthyl-1-(4-méthylbenzyl)-1*H*-indol-3-yl]méthanol (66)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

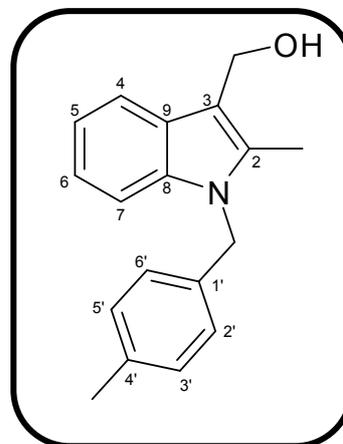
Huile jaune

$C_{18}H_{19}NO$

$M_r = 265,36$

$R_f = 0,40$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,27 (3 H, s, $PhCH_3$) ; 2,37 (3 H, s, indole CH_3) ; 4,65 (3 H, s, $\underline{CH_2OH}$) ; 5,37 (2 H, s, NCH_2) ; 6,93 (2 H, d, $^3J = 8,25$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,02-7,07 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,12 (2 H, d, $^3J = 8,25$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,38 (1 H, dd, $^3J = 6,1$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, H_7) ; 7,61 (1 H, dd, $^3J = 6,1$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, H_4).

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

1461, 1512 ($\nu C=C$) ; 2916 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3402 ($\nu O-H$).

[1-(4-Ethylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (67)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

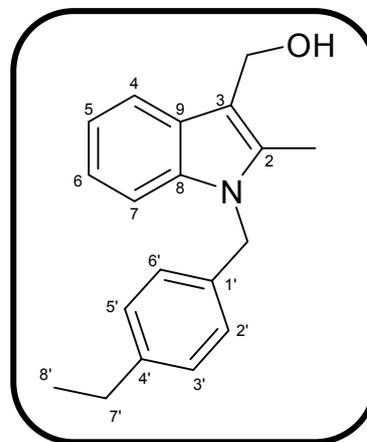
Huile brune

C₁₉H₂₁NO

M_r = 279,39

R_f = 0,45 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 100%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

1,15 (3 H, t, ³J = 7,6 Hz, H_{8'}) ; 2,38 (3 H, s, indoleCH₃) ; 2,54 (2 H, q, ³J = 7,6 Hz, H_{7'}) ; 4,65 (3 H, s, CH₂OH) ; 5,38 (2 H, s, NCH₂) ; 6,96 (2 H, d, ³J = 7,6 Hz, H_{3',5'}) ; 7,02-7,07 (2 H, m, H_{5,6}) ; 7,15 (2 H, d, ³J = 7,6 Hz, H_{2',6'}) ; 7,37-7,40 (1 H, m, H₇) ; 7,59-7,62 (1 H, m, H₄).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

1271 (ν C-N) ; 1466, 1512 (ν C=C) ; 2957 (ν C-H_{aliph.}) ; 3382 (ν O-H).

[2-Méthyl-1-(4-propylbenzyl)-1*H*-indol-3-yl]méthanol (68)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

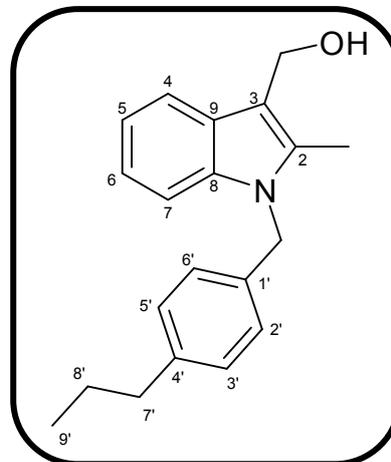
Huile brune

$C_{20}H_{23}NO$

$M_r = 293,41$

$R_f = 0,40$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,89 (3 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, $H_{9'}$) ; 1,51-1,60 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,37 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,54 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 4,64 (3 H, s, CH_2OH) ; 5,38 (2 H, s, NCH_2) ; 6,95 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,02-7,07 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,13 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,36-7,39 (1 H, m, H_7) ; 7,55-7,60 (1 H, m, H_4).

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

1271 (ν C-N) ; 1420, 1466 (ν C=C) ; 2928 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3408 (ν O-H).

[1-(4-Isopropylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (69)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

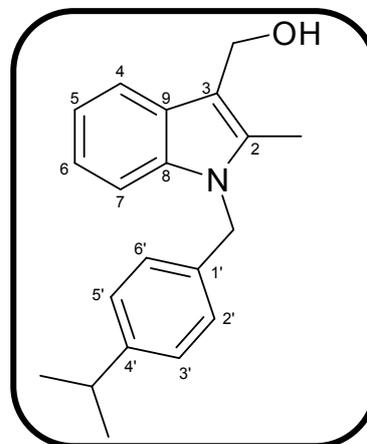
Huile jaune

$C_{20}H_{23}NO$

$M_r = 293,41$

$R_f = 0,50$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,17 (6 H, d, $^3J = 7,0$ Hz, CH_3 iPr) ; 2,42 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,84 (1 H, septuplet, $^3J = 7,0$ Hz, CH iPr) ; 4,16 (1 H, s, CH_2OH) ; 4,74 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, CH_2OH) ; 5,40 (2 H, s, NCH_2) ; 6,86 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 6,93-7,01 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,12-7,20 (3 H, m, $H_{2',6',7}$) ; 7,27-7,34 (1 H, m, H_4).

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

1461, 1508 ($\nu C=C$) ; 2958 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3394 ($\nu O-H$).

[1-(4-Butylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (70)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

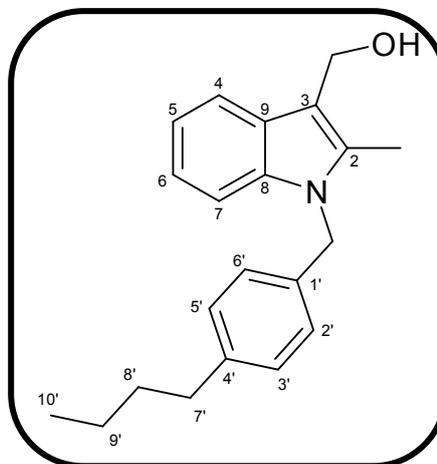
Huile brune

$C_{21}H_{25}NO$

$M_r = 307,44$

$R_f = 0,50$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 100%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

0,89 (3 H, t, ³J = 7,0 Hz, H_{10'}) ; 1,24-1,36 (2 H, m, H_{9'}) ; 1,46-1,57 (2 H, m, H_{8'}) ; 2,29 (3 H, s, indoleCH₃) ; 2,54 (2 H, t, ³J = 7,2 Hz, H_{7'}) ; 4,65 (3 H, s, CH₂OH) ; 5,38 (2 H, s, NCH₂) ; 6,94 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{3',5'}) ; 7,02-7,07 (2 H, m, H_{5,6}) ; 7,13 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{2',6'}) ; 7,37-7,40 (1 H, m, H₇) ; 7,58-7,62 (1 H, m, H₄).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

1467, 1520 (ν C=C) ; 2927 (ν C-H_{aliph.}) ; 3401 (ν O-H).

[5-Méthoxy-2-méthyl-1-(4-méthylbenzyl)-1*H*-indol-3-yl]méthanol (71)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre blanche

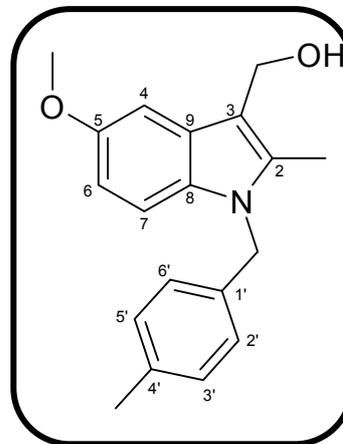
$C_{19}H_{21}NO_2$

$M_r = 295,38$

$R_f = 0,45$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^{\circ}C = 107-108$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,27 (3 H, s, $PhCH_3$) ; 2,34 (3 H, s, indole CH_3) ; 3,79 (3 H, s, OCH_3) ; 4,61 (3 H, s, $\underline{CH_2OH}$) ; 5,33 (2 H, s, NCH_2) ; 6,69 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_6) ; 6,91 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,10-7,13 (3 H, m, $H_{2',6',4}$) ; 7,26 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7).

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

1420, 1486 ($\nu C=C$) ; 2933 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3396 ($\nu O-H$).

[1-(4-Ethylbenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (72)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

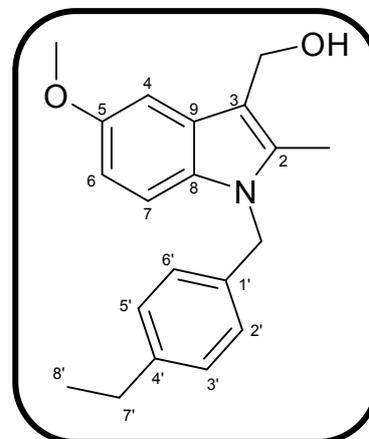
Huile jaune

$C_{20}H_{23}NO_2$

$M_r = 309,41$

$R_f = 0,50$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 99%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

1,15 (3 H, t, ³J = 7,3 Hz, H_{8'}) ; 2,35 (3 H, s, indoleCH₃) ; 2,58 (2 H, q, ³J = 7,3 Hz, H_{7'}) ; 3,79 (3 H, s, OCH₃) ; 4,61 (3 H, s, CH₂OH) ; 5,33 (2 H, s, NCH₂) ; 6,69 (1 H, dd, ³J = 8,9 Hz, ⁴J = 2,5 Hz, H₆) ; 6,93 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{3',5'}) ; 7,11 (1 H, d, ⁴J = 2,5 Hz, H₄) ; 7,14 (2 H, d, ³J = 7,9 Hz, H_{2',6'}) ; 7,27 (1 H, d, ³J = 8,9 Hz, H₇).

IR (NaCl, cm⁻¹) :

1271 (ν C-N) ; 1464, 1530 (ν C=C) ; 2957 (ν C-H_{aliph.}) ; 3396 (ν O-H).

[2-Méthyl-5-méthoxy-1-(4-propylbenzyl)-1*H*-indol-3-yl]méthanol (73)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

Poudre jaune

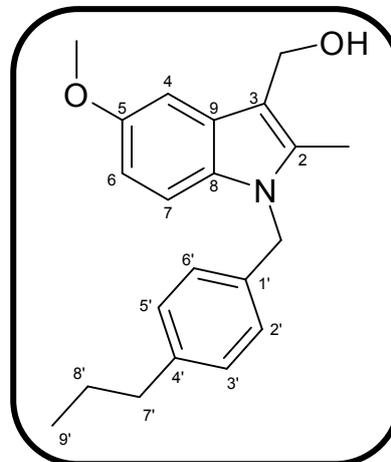
$C_{21}H_{25}NO_2$

$M_r = 323,44$

$R_f = 0,35$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 89-90$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,88 (3 H, t, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{9'}$) ; 1,51-1,63 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,34 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,48 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 3,79 (3 H, s, OCH_3) ; 4,62 (3 H, s, CH_2OH) ; 5,33 (2 H, s, NCH_2) ; 6,69 (1 H, dd, $^3J = 8,7$ Hz, $^4J = 2,8$ Hz, H_6) ; 6,93 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,10-7,14 (3 H, m, $H_{2',6',4'}$) ; 7,27 (1 H, d, $^3J = 8,7$ Hz, H_7).

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

1271 (ν C-N) ; 1425, 1479 (ν C=C) ; 2924 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3315 (ν O-H).

[1-(4-Isopropylbenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (74)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

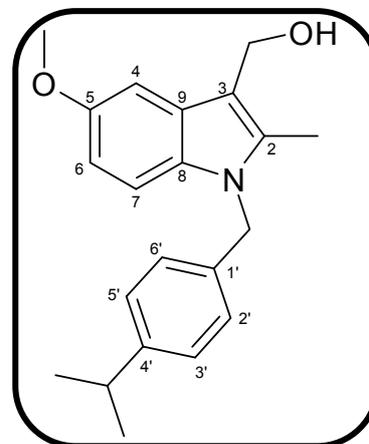
Huile jaune

$C_{21}H_{25}NO_2$

$M_r = 323,44$

$R_f = 0,55$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,17 (6 H, d, $^3J = 6,7$ Hz, CH_3 iPr) ; 2,35 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,79-2,90 (1 H, septuplet, $^3J = 6,7$ Hz, CH iPr) ; 3,79 (3 H, s, OCH_3) ; 4,62 (3 H, s, CH_2OH) ; 5,33 (2 H, s, NCH_2) ; 6,69 (1 H, dd, $^3J = 8,9$ Hz, $^4J = 2,5$ Hz, H_6) ; 6,94 (2 H, d, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,11 (1 H, d, $^4J = 2,5$ Hz, H_4) ; 7,17 (2 H, d, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,27 (1 H, d, $^3J = 8,9$ Hz, H_7).

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

Dégradation du produit

[1-(4-Butylbenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indol-3-yl]méthanol (75)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

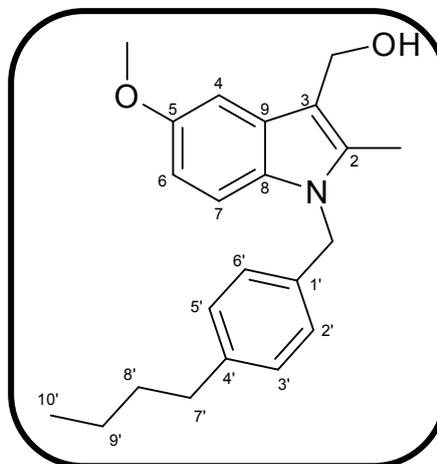
Huile brune

$C_{22}H_{27}NO_2$

$M_r = 337,47$

$R_f = 0,55$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,89 (3 H, t, $^3J = 7$ Hz, $H_{10'}$) ; 1,25-1,38 (2 H, m, $H_{9'}$) ; 1,46-1,60 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,34 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,50-2,55 (2 H, m, $H_{7'}$) ; 3,79 (3 H, s, OCH_3) ; 4,62 (3 H, s, CH_2OH) ; 5,33 (2 H, s, NCH_2) ; 6,70 (1 H, dd, $^3J = 8,9$ Hz, $^4J = 2,5$ Hz, H_6) ; 6,93 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,11-7,14 (3 H, m, $H_{2',6',4'}$) ; 7,27 (1 H, d, $^3J = 8,9$ Hz, H_7).

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

1466, 1520 (ν C=C) ; 2930 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3411 (ν O-H).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-1-(4-méthylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indole (76)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre beige

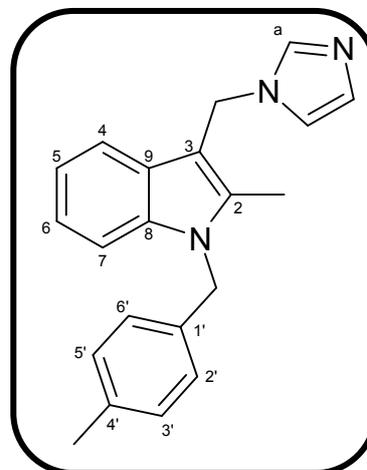
$C_{21}H_{21}N_3$

$M_r = 315,42$

$R_f = 0,35$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 73-74$ (éthanol / dichlorométhane : 2 / 98)

Rendement = 45%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,27 (3 H, s, PhCH₃) ; 2,47 (3 H, s, indoleCH₃) ; 5,36 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,41 (2 H, s, NCH₂) ; 6,86 (1 H, s, H_{imid}) ; 6,91-6,94 (2 H, m, H_{5,6}) ; 7,01-7,14 (5 H, m, H_{2',3',5',6',imid}) ; 7,42 (1 H, d, $^3J = 7,0$ Hz, H₇) ; 7,59 (1 H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H₄) ; 7,74 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

10,39 (indoleCH₃) ; 21,07 (CH₃Ph) ; 41,00 (CH₂-Im) ; 46,10 (NCH₂) ; 107,52 (C₃) ; 110,19 (C₄) ; 118,03 (C₇) ; 119,56 (C₉) ; 119,55 (C_{imid}) ; 119,83 (C₅) ; 126,62 (2 C, C_{2',6'}) ; 127,24 (C_{4'}) ; 128,72 (C_{imid}) ; 129,65 (2 C, C_{3',5'}) ; 135,60 (C₆) ; 136,06 (C₂) ; 136,53 (C₈) ; 136,73 (C_a) ; 137,32 (C_{1'}).

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

1463, 1508 (ν C=C et ν C=N) ; 2942 (ν C-H_{aliph.}) ; 3087 (ν C-H_{ar}).

Masse :

248,1 (MH - 67) ; 338,2 (M + 23).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-1-(4-éthylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indole (77)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre beige

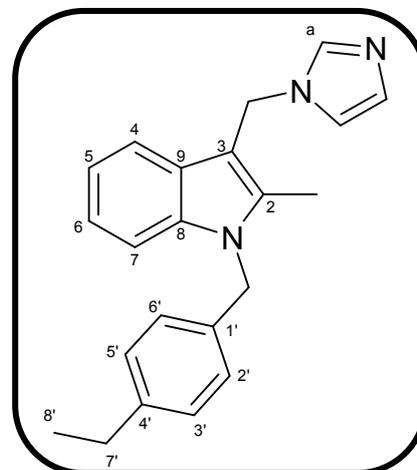
$C_{22}H_{23}N_3$

$M_r = 329,45$

$R_f = 0,40$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 99-100$ (éthanol / dichlorométhane : 2 / 98)

Rendement = 59%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,16 (3 H, t, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{8'}$) ; 2,49 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,58 (2 H, t, $3J = 7,3$ Hz, $H_{7'}$) ; 5,37 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,42 (2 H, s, NCH_2) ; 6,86 (1 H, s, H_{imid}) ; 6,94 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,04-7,17 (5 H, m, $H_{5,6,2',6',imid}$) ; 7,40-7,43 (1 H, m, H_7) ; 7,57-7,60 (1 H, m, H_4) ; 7,75 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

10,40 (indole CH_3) ; 16,03 ($C_{8'}$) ; 28,21 ($C_{7'}$) ; 40,67 (CH_2 -Im) ; 46,10 (NCH_2) ; 107,53 (C_3) ; 110,21 (C_4) ; 118,04 (C_7) ; 119,56 (C_9) ; 119,85 (C_5) ; 121,48 (C_{imid}) ; 126,65 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 127,25 ($C_{4'}$) ; 128,48 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 128,74 (C_{imid}) ; 135,86 (C_6) ; 136,06 (C_2) ; 136,52 (C_8) ; 137,33 ($C_{1'}$) ; 143,09 (C_a).

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

1266 (v C-N) ; 1415, 1467, 1508 (v C=C et v C=N) ; 2958 (v C- $H_{aliph.}$) ; 3091 (v C- $H_{ar.}$).

Masse :

262,1 (MH - 67) ; 352,2 (M + 23).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-2-méthyl-1-(4-propylbenzyl)-1*H*-indole (78)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

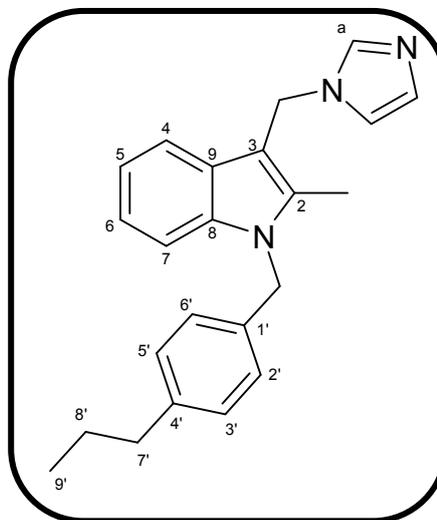
Huile brune

$C_{23}H_{25}N_3$

$M_r = 343,48$

$R_f = 0,35$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 48%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,88 (3 H, t, $^3J = 4,9$ Hz, $H_{9'}$) ; 1,51-1,60 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,48 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,54 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 5,36 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,42 (2 H, s, NCH_2) ; 6,86 (1 H, s, H_{imid}) ; 6,94 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,02-7,10 (3 H, m, $H_{5,6,imid}$) ; 7,13 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,36-7,39 (1 H, m, H_7) ; 7,55-7,60 (1 H, m, H_4) ; 7,74 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

10,41 (indole CH_3) ; 14,10 ($C_{9'}$) ; 24,51 ($C_{7'}$ ou $8'$) ; 37,31 ($C_{7'}$ ou $8'$) ; 40,00 (CH_2 -Im) ; 46,12 (NCH_2) ; 107,51 (C_3) ; 110,21 (C_4) ; 118,03 (C_7) ; 119,57 (C_9) ; 119,84 (C_5) ; 121,48 (C_{imid}) ; 126,59 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 127,24 ($C_{4'}$) ; 128,69 (C_{imid}) ; 129,04 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 135,90 (C_6) ; 136,08 (C_2) ; 136,53 (C_8) ; 137,32 ($C_{1'}$) ; 141,48 (C_a).

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

1266 (ν C-N) ; 1415, 1461, 1502 (ν C=C et ν C=N) ; 2937 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3087 (ν C- $H_{ar.}$).

Masse :

276,2 (MH – 67).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-1-(4-isopropylbenzyl)-2-méthyl-1*H*-indole (79)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre orange

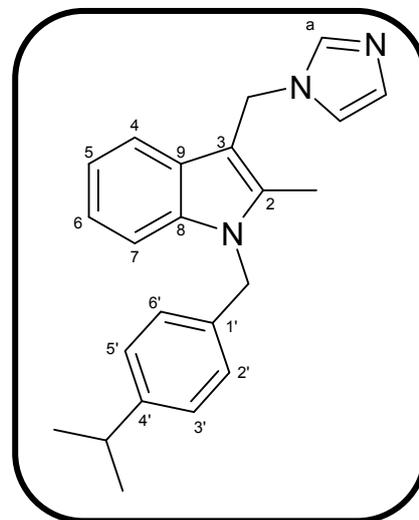
$C_{23}H_{25}N_3$

$M_r = 343,48$

$R_f = 0,20$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 55-56$ (éthanol / dichlorométhane : 2 / 98)

Rendement = 11%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,18 (6 H, d, $^3J = 6,7$ Hz, 2 CH_3 iPr) ; 2,49 (3 H, s, indole CH_3) ; 5,37 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,42 (2 H, s, NCH_2) ; 6,86 (1 H, s, H_{imid}) ; 6,95 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,03-7,10 (2 H, m, $H_{5,6}$) ; 7,13 (1 H, s, H_{imid}) ; 7,19 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{2',6'}$) ; 7,41 (1 H, d, $^3J = 7,6$ Hz, H_7) ; 7,58 (1 H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H_4) ; 7,75 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

10,42 (indole CH_3) ; 24,29 (2 C, 2 CH_3 iPr) ; 35,50 (CH iPr) ; 40,92 (CH_2 -Im) ; 46,07 (NCH_2) ; 107,42 (C_3) ; 110,25 (C_4) ; 118,03 (C_7) ; 119,67 (C_9) ; 119,86 (C_{imid}) ; 121,51 (C_5) ; 126,64 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 127,02 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 127,24 ($C_{4'}$) ; 128,46 (C_{imid}) ; 136,00 (C_6) ; 136,13 (C_2) ; 136,51 (C_8) ; 137,26 (C_a) ; 147,73 ($C_{1'}$).

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

1471, 1508 ($\nu C=C$ et $\nu C=N$) ; 2947 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3094 ($\nu C-H_{ar.}$).

Masse :

276,2 (MH – 67).

1-(4-Butylbenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-2-méthyl-1*H*-indole (80)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

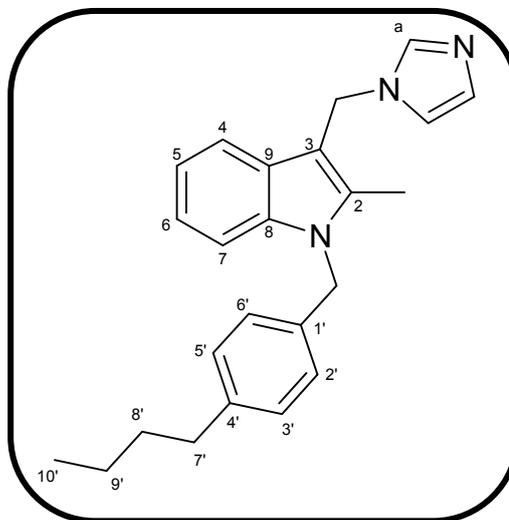
Huile brune

$C_{24}H_{27}N_3$

$M_r = 357,50$

$R_f = 0,30$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

Rendement = 49%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,89 (3 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{10'}$) ; 1,22-1,33 (2 H, m, $H_{9'}$) ; 1,36-1,58 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,48 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,50 (2 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 5,36 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,41 (2 H, s, NCH_2) ; 6,86 (1 H, s, H_{imid}) ; 6,94 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{3',5'}$) ; 7,01-7,15 (5 H, m, $H_{2',6',5,6,imid}$) ; 7,39-7,43 (1 H, m, H_7) ; 7,56-7,60 (1 H, m, H_4) ; 7,75 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

10,40 (indole CH_3) ; 14,20 ($C_{10'}$) ; 22,19 ($C_{9'}$) ; 35,55 ($C_{8'}$) ; 34,87 ($C_{7'}$) ; 40,67 (CH_2 -Im) ; 46,11 (NCH_2) ; 107,52 (C_3) ; 110,20 (C_4) ; 118,03 (C_7) ; 119,56 (C_9) ; 119,84 (C_5) ; 121,48 (C_{imid}) ; 126,60 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 127,24 ($C_{4'}$) ; 128,73 (C_{imid}) ; 128,99 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 135,84 (C_6) ; 136,07 (C_2) ; 136,53 (C_8) ; 137,33 ($C_{1'}$) ; 141,67 (C_a).

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

1272 (ν C-N) ; 1415, 1467, 1503 (ν C=C et ν C=N) ; 2916 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3094 (ν C- $H_{ar.}$).

Masse :

290,2 (MH – 67).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1-(4-méthylbenzyl)-1*H*-indole (81)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre blanche

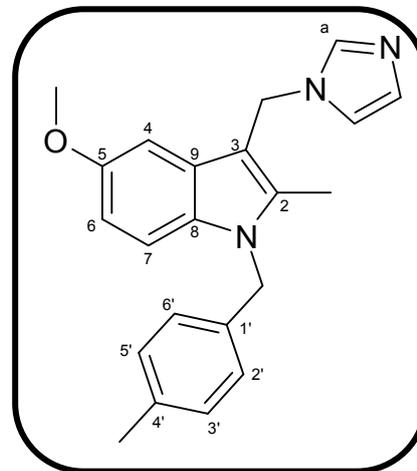
C₂₂H₂₃N₃O

M_r = 345,45

R_f = 0,35 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

F°C = 116-117 (éther diisopropylique)

Rendement = 57%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

2,12 (3 H, s, PhCH₃) ; 2,26 (3 H, s, indoleCH₃) ; 3,77 (3 H, s, OCH₃) ; 5,33 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,36 (2 H, s, NCH₂) ; 6,73 (1 H, dd, ³J = 8,9 Hz, ⁴J = 2,8 Hz, H₆) ; 6,86-6,91 (3 H, m, H_{3',5',imid}) ; 7,10-7,13 (4 H, m, H_{2',6',4,imid}) ; 7,30 (1 H, d, ³J = 8,9 Hz, H₇) ; 7,74 (1 H, s, H_a).

RMN ¹³C (250 MHz, DMSO d₆) :

10,47 (indoleCH₃) ; 21,05 (PhCH₃) ; 41,00 (CH₂-Im) ; 46,18 (NCH₂) ; 55,90 (OCH₃) ; 100,63 (C₄) ; 107,31 (C₃) ; 110,78 (C₇) ; 110,88 (C₉) ; 119,56 (C_{imid}) ; 126,58 (2 C, C_{2',6'}) ; 127,72 (C₄) ; 128,69 (C_{imid}) ; 129,61 (2 C, C_{3',5'}) ; 131,65 (C_{1'}) ; 135,70 (C₆) ; 136,52 (C₂) ; 136,67 (C₈) ; 137,31 (C_a) ; 154,26 (C₅).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1218 (ν C-N) ; 1435, 1408, 1582 (ν C=C et ν C=N) ; 2916 (ν C-H_{aliph.}) ; 3107 (ν C-H_{ar}).

Masse :

278,2 (MH - 67) ; 368,2 (M + 23).

1-(4-Ethylbenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole (82)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre blanche

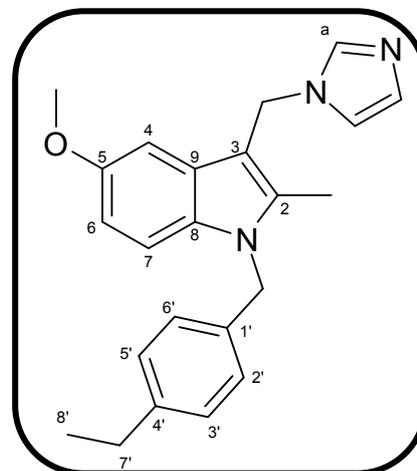
C₂₃H₂₅N₃O

M_r = 359,48

R_f = 0,40 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

F° C = 101-102 (éthanol / dichlorométhane : 2 / 98)

Rendement = 47%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

1,15 (3 H, t, ³J = 7,6 Hz, H_{8'}) ; 2,45 (3 H, s, indoleCH₃) ; 2,61 (2 H, q, ³J = 7,6 Hz, H_{7'}) ; 3,77 (3 H, s, OCH₃) ; 5,34 (2 H, s, CH₂Im) ; 5,37 (2 H, s, NCH₂) ; 6,73 (1 H, dd, ³J = 8,9 Hz, ⁴J = 2,5 Hz, H₆) ; 6,86-6,93 (3 H, m, H_{3',5',imid}) ; 7,10-7,16 (4 H, m, H_{2',6',4,imid}) ; 7,30 (1 H, d, ³J = 8,9 Hz, H₇) ; 7,76 (1 H, s, H_a).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO d₆) :

10,18 (indoleCH₃) ; 15,72 (C_{8'}) ; 27,90 (C_{7'}) ; 40,90 (CH₂-Im) ; 45,88 (NCH₂) ; 55,61 (OCH₃) ; 100,34 (C₄) ; 107,00 (C₃) ; 110,49 (C₇) ; 110,61 (C₉) ; 119,29 (C_{imid}) ; 126,32 (2 C, C_{2',6'}) ; 127,44 (C_{imid}) ; 128,14 (2 C, C_{3',5'}) ; 128,42 (C_{4'}) ; 131,34 (C_{1'}) ; 135,67 (C₆) ; 136,23 (C₂) ; 137,03 (C₈) ; 142,75 (C_a) ; 153,99 (C₅).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1218 (ν C-N) ; 1440, 1479, 1582 (ν C=C et ν C=N) ; 2959 (ν C-H_{aliph.}) ; 3111 (ν C-H_{ar}).

Masse :

291,8 (MH - 67) ; 381,7 (M + 23).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1-(4-propylbenzyl)-1*H*-indole (83)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre blanche

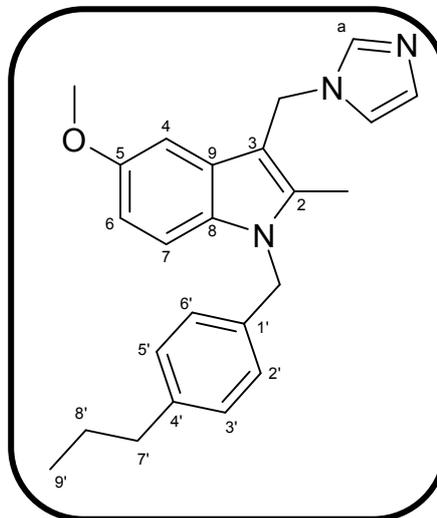
$C_{24}H_{27}N_3O$

$M_r = 373,50$

$R_f = 0,50$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F \text{ } ^\circ\text{C} = 93-94$ (éther diisopropylique)

Rendement = 49%



RMN ^1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,23 (3 H, t, $^3\text{J} = 7,3$ Hz, $H_{9'}$) ; 1,86-1,94 (2 H, m, $H_{8'}$) ; 2,78 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,80 (2 H, t, $^3\text{J} = 7,0$ Hz, $H_{7'}$) ; 4,11 (3 H, s, OCH_3) ; 5,64 (2 H, s, $\text{CH}_2\text{-Im}$) ; 5,71 (2 H, s, NCH_2) ; 7,07 (1 H, dd, $^4\text{J} = 2,4$ Hz, $^3\text{J} = 8,6$ Hz, H_6) ; 7,21-7,27 (3 H, m, $H_{3',5',\text{imid}}$) ; 7,45-7,49 (4 H, m, $H_{2',6',4,\text{imid}}$) ; 7,65 (1 H, d, $^3\text{J} = 8,5$ Hz, H_7) ; 8,10 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

10,49 (indole CH_3) ; 14,10 ($C_{9'}$) ; 24,51 ($C_{8'}$) ; 37,31 ($C_{7'}$) ; 41,00 ($\text{CH}_2\text{-Im}$) ; 46,19 (NCH_2) ; 55,91 (OCH_3) ; 100,64 (C_4) ; 107,30 (C_3) ; 110,79 (C_7) ; 110,91 (C_9) ; 119,58 (C_{imid}) ; 126,55 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 127,73 ($C_{4'}$) ; 128,69 (C_{imid}) ; 129,02 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 131,66 ($C_{1'}$) ; 136,00 (C_6) ; 136,54 (C_2) ; 137,32 (C_8) ; 141,44 (C_a) ; 154,28 (C_5).

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

1227 (ν C-N) ; 1420, 1484, 1586 (ν C=C et ν C=N) ; 2929 (ν C- $H_{\text{aliph.}}$) ; 3103 (ν C- $H_{\text{ar.}}$).

Masse :

306,2 (MH – 67).

3-(1*H*-Imidazol-1-ylméthyl)-1-(4-isopropylbenzyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole (84)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre blanche

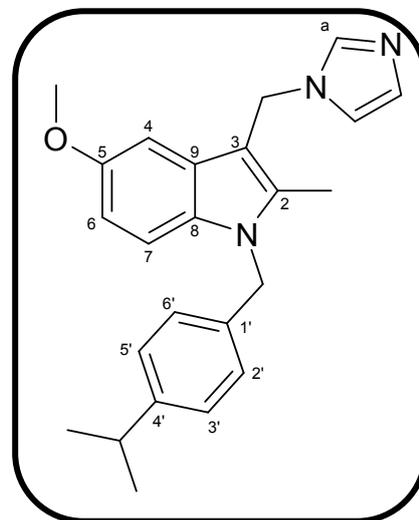
$C_{24}H_{27}N_3O$

$M_r = 373,50$

$R_f = 0,30$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

$F^\circ C = 96-97$ (éther diisopropylique)

Rendement = 33%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,18 (6 H, d, $^3J = 6,7$ Hz, CH_3 iPr) ; 2,45 (3 H, s, indole CH_3) ; 2,86 (1 H, septuplet, $^3J = 6,7$ Hz, CH iPr) ; 3,77 (3 H, s, OCH_3) ; 5,34 (2 H, s, CH_2 -Im) ; 5,36 (2 H, s, NCH_2) ; 6,73 (1 H, dd, $^4J = 2,5$ Hz, $^3J = 8,9$ Hz, H_6) ; 6,86-6,93 (3 H, m, $H_{3',5',imid}$) ; 7,10 (1 H, d, $^4J = 2,5$ Hz, H_4) ; 7,13-7,20 (3 H, m, $H_{2',6',imid}$) ; 7,31 (1 H, d, $^3J = 8,9$ Hz, H_7) ; 7,76 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

10,19 (indole CH_3) ; 23,98 (2 C, CH_3 iPr) ; 33,18 (CH iPr) ; 41,58 (CH_2 -Im) ; 45,84 (NCH_2) ; 55,62 (OCH_3) ; 100,34 (C_4) ; 106,93 (C_3) ; 110,49 (C_7) ; 110,62 (C_9) ; 119,32 (C_{imid}) ; 126,28 (2 C, $C_{2',6'}$) ; 126,67 (2 C, $C_{3',5'}$) ; 127,44 (C_{imid}) ; 128,26 ($C_{4'}$) ; 131,33 ($C_{1'}$) ; 135,80 (C_6) ; 136,25 (C_2) ; 136,99 (C_8) ; 147,37 (C_a) ; 153,99 (C_5).

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

1224 (ν C-N) ; 1425, 1485, 1582 (ν C=C et ν C=N) ; 2955 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3088 (ν C- $H_{ar.}$).

Masse :

305,7 (MH – 67).

1-(4-Butylbenzyl)-3-(1*H*-imidazol-1-ylméthyl)-5-méthoxy-2-méthyl-1*H*-indole (85)

Selon la méthode C2 (décrite p 99) :

Poudre blanche

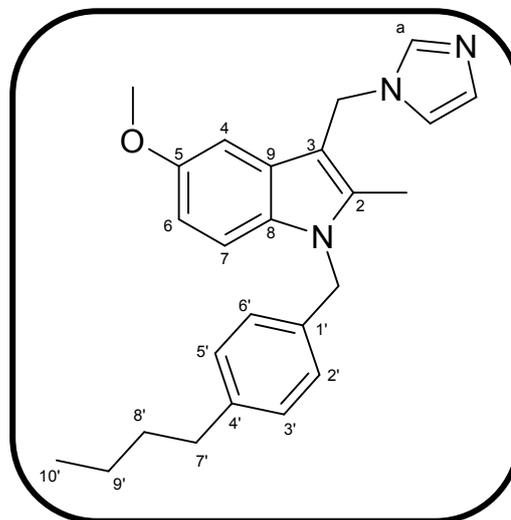
C₂₅H₂₉N₃O

M_r = 387,53

R_f = 0,35 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 19)

F °C = 92-93 (éther diisopropylique)

Rendement = 42%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

0,89 (3 H, t, ³J = 7,3 Hz, H_{10'}) ; 1,24-1,37 (2 H, m, H_{9'}) ; 1,46-1,58 (2 H, m, H_{8'}) ; 2,44 (3 H, s, indoleCH₃) ; 2,63 (2 H, t, ³J = 7,6 Hz, H_{7'}) ; 3,77 (3 H, s, OCH₃) ; 5,33 (2 H, s, CH₂-Im) ; 5,36 (2 H, s, NCH₂) ; 6,72 (1 H, dd, ³J = 8,7 Hz, ⁴J = 2,5 Hz, H₆) ; 6,86-6,92 (3 H, m, H_{3',5',imid}) ; 7,10-7,14 (4 H, m, H_{2',6',4',imid}) ; 7,30 (1 H, d, ³J = 8,7 Hz, H₇) ; 7,75 (1 H, s, H_a).

RMN ¹³C (400 MHz, DMSO d₆) :

10,49 (indoleCH₃) ; 14,20 (C_{10'}) ; 22,18 (C_{9'}) ; 33,56 (C_{8'}) ; 34,86 (C_{7'}) ; 40,93 (CH₂-Im) ; 46,19 (NCH₂) ; 55,91 (OCH₃) ; 100,64 (C₄) ; 107,30 (C₃) ; 110,79 (C₇) ; 110,90 (C₉) ; 119,57 (C_{imid}) ; 126,56 (2 C, C_{2',6'}) ; 127,73 (C_{imid}) ; 128,70 (C_{4'}) ; 128,97 (2 C, C_{3',5'}) ; 131,66 (C_{1'}) ; 135,94 (C₆) ; 136,53 (C₂) ; 137,31 (C₈) ; 141,63 (C_a) ; 154,28 (C₅).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1224 (ν C-N) ; 1436, 1488, 1584 (ν C=C et ν C=N) ; 2922 (ν C-H_{aliph.}) ; 3095 (ν C-H_{ar.}).

Masse :

319,8 (MH - 67) ; 409,8 (M + 23).

VI- Conclusion et perspectives de recherche

Notre approche rationnelle a consisté en la détermination des relations pouvant exister entre les structures et les activités mesurées de 31 composés ($0,3 < CI_{50} (\mu M) < 80$). Un modèle QSAR-3D de type CoMSIA a donc été construit en tenant compte des paramètres stérique, électronique, hydrophobe et accepteur de liaisons hydrogène et a conduit aux conclusions suivantes (figure 52) :

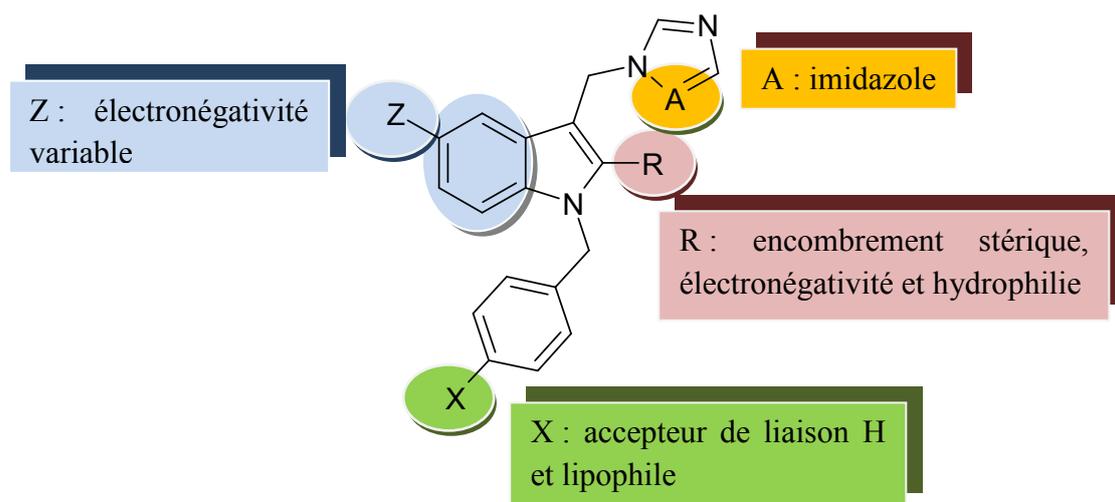


Figure 52 : Conclusions générales du modèle QSAR, facteurs favorables

A l'issue de sa construction, douze nouveaux composés ont été synthétisés selon l'accessibilité chimique et ont montré une CI_{50} intéressante comprise entre 2,3 et 32 μM (tableau 7 page 62). Cette série nous a permis d'optimiser notre modèle sur la position X en *para*- du benzyle où seul le paramètre lipophile semble être prépondérant.

Par la suite, afin d'améliorer les activités de ces molécules, nous avons introduit de nouveaux substituants alkyles en position X, ce qui nous permettait de s'affranchir en partie des conclusions du modèle et de vérifier l'influence du paramètre électronique. Dix nouveaux composés ont donc été synthétisés et ont montré une activité comprise entre 2,5 et 5,4 μM (tableau 10 page 118). Malgré ces essais, les résultats restent dans la gamme du micromolaire mais confirment une fois encore l'importance du paramètre lipophile en *para*- du benzyle.

D'autres hypothèses pourraient être envisagées :

Un premier axe de recherche, se limitant à la position 2 de l'indole, permettrait de vérifier une des conclusions « surprenante » de notre modèle qui préconisait un groupe encombrant à la fois électronégatif et hydrophile.

L'introduction de substituants tels que des aldéhydes, des oximes ou des esters de longueur variable pourrait satisfaire à cette observation et nous permettrait de développer une série originale. Ainsi, nous pourrions envisager le schéma rétrosynthétique suivant :

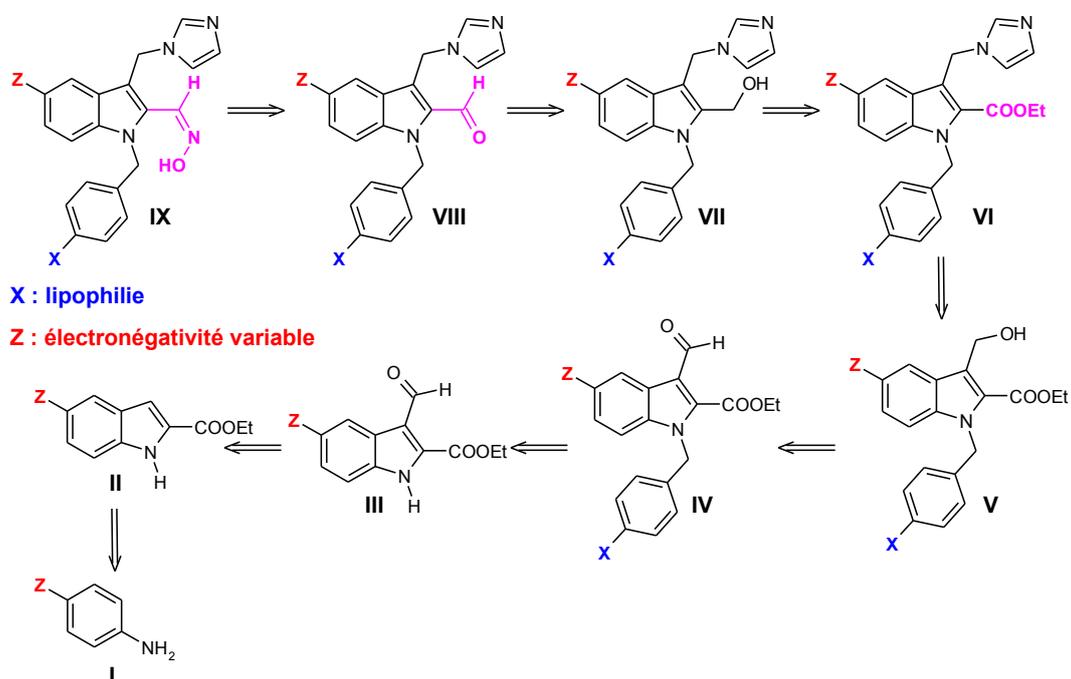


Figure 53 : Rétrosynthèse pour la préparation de dérivés originaux substitués en position 2

La synthèse débute à partir des anilines **I** qui, converties en hydrazines, réagissent avec le pyruvate d'éthyle selon une cyclisation de Fischer.⁸⁰ Les étapes suivantes suivent le schéma réactionnel déjà exposé et conduisent au dérivé **VI**. Celui-ci subit une réduction utilisant l'hydrure de lithium et d'aluminium pour conduire à **VII** qui est réoxydé en aldéhyde **VIII** selon les conditions décrites par H. Suzuki *et al.*⁸¹ L'aldéhyde est finalement converti en oxime **IX**.

Une autre approche intéressante pour la découverte future d'un candidat médicament serait d'étudier ces composés à un stade *in vitro* avancé du parasite, à savoir sa forme amastigote. Cependant, cette étude nécessite la mise en place de tests biologiques plus importants, la mesure de l'activité se faisant au niveau des macrophages infectés par le parasite. Une bonne activité mesurée lors de ces tests signifie que la molécule possède les bonnes propriétés physicochimiques pour traverser la paroi du macrophage. Dans la littérature, quelques exemples d'études QSAR-3D sur le stade amastigote ont été reportés. Ainsi, M. Liu *et al.*⁸² ont construit une étude CoMFA sur des chalcones ayant montré une activité sur *Leishmania donovani* mais aussi dans le traitement du paludisme (**figure 54**). Ils

⁸⁰ Murakami Y. *et al. Tetrahedron* **1998**, *54*, 45-64.

⁸¹ Suzuki H. *et al. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 1717-1723.

⁸² Liu M. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2727-2738.

ont ainsi pu confirmer que les deux cycles aromatiques étaient importants pour l'activité antileishmanienne. Ainsi, le cycle B doit être peu volumineux et substitué en *para*- par un groupe hydroxyle. Le cycle A quant à lui doit être volumineux (de grands cycles tels que le naphthalène sont bien adaptés) et peut être soit riche soit pauvre en électrons. Il a toutefois plus d'importance que l'autre cycle pour la sélectivité.

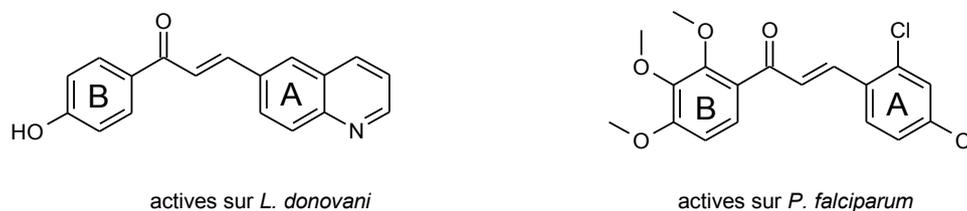


Figure 54 : Différentes chalcones étudiées pour leur activité sur *L. donovani* au stade amastigote

Comme l'ont montré S.A. Gamage *et al.*⁸³, une étude de relations structure-activité menée sur le stade amastigote du parasite permet de sélectionner les molécules possédant les facteurs adéquats pour passer les membranes cellulaires (la lipophilie joue un rôle majeur dans ces situations). De plus, une telle expérience permet d'écarter directement les molécules possédant une trop forte toxicité. Une étude au stade amastigote apparaît donc comme un élément complémentaire indispensable dans le développement de nouvelles pistes de recherche.

Ainsi, pour ne pas écarter complètement les structures présentées ici, il serait utile de réaliser des tests complémentaires sur la forme amastigote de parasites de *L. major*. En fonction des résultats obtenus, un modèle QSAR-3D pourrait de nouveau être établi.

⁸³ Gamage S.A. *et al. J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2634-2642.

CHAPITRE 2

LES ANTIFONGIQUES

I- Introduction sur les infections fongiques

1- Généralités

Les infections fongiques ou mycoses sont dues à des champignons micromycètes qui infectent l'homme. Elles peuvent entraîner des pathologies plus ou moins graves pouvant même conduire à la mort du patient. A la différence des cellules animales, les champignons possèdent une structure complexe qui fait leur spécificité. Ils sont, en effet, composés d'une double couche :

- une membrane lipidique constituée notamment de stérols parmi lesquels l'ergostérol est majoritaire.
- une paroi cellulaire dont la structure repose sur un enchaînement polysaccharidique de type β -1,3-glucane.

Les champignons utilisent deux modes de reproduction pour se multiplier et se développer : un mode sexué et un mode asexué. La forme sexuée est rencontrée dans le milieu extérieur (environnement naturel). La forme asexuée, quant à elle, correspond au mode de reproduction rencontré lors de la colonisation d'un organisme vivant ou en culture au laboratoire. Le champignon peut se reproduire par division binaire : une cellule se divise elle-même en deux par bourgeonnement de la cellule mère. Ce mode de reproduction est rencontré chez les levures (*Candida*, *Cryptococcus*...). Le champignon peut également produire des spores microscopiques. Ces spores, souvent présentes dans l'air, peuvent être inhalées ou rentrer en contact avec les surfaces corporelles. Dans cette famille on retrouve les dermatophytes et les moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*...). Cependant, sur les 100 000 espèces de champignons recensées, seules 180 sont pathogènes pour l'homme.⁸⁴

Les mycologues classent donc les champignons selon leur mode de reproduction, sexué ou asexué. En mycologie médicale, les agents responsables des mycoses sont classés en trois grands groupes : les levures (*Candida*, *Cryptococcus*...), les champignons filamenteux (dermatophytes et moisissures) et les champignons dimorphiques qui peuvent prendre une forme filamenteuse dans le milieu extérieur et modifier leur morphologie vers une forme levure dans les tissus humains (*Histoplasma*).

L'apparition d'une mycose présuppose, d'une part, un contact avec l'agent pathogène et/ou, d'autre part, la possibilité pour le champignon de pénétrer l'organisme. Certaines espèces de champignons (par exemple *Candida*) sont normalement présentes à la surface du corps ou dans l'appareil digestif. Bien qu'ils soient le plus souvent inoffensifs, ces champignons peuvent quelque fois être à l'origine des infections locales de la peau et des phanères, des muqueuses vaginales, digestives ou respiratoires mais aussi, plus rarement, des

⁸⁴ Site internet : http://www.pfizer.ch/internet/fr/home/health_information/fungus_infections.html.

infections sévères (mycoses viscérales) chez des personnes ayant un système immunitaire affaibli.

Il est important de préciser ici que, le plus souvent, une infection fongique ne se développe pas d'elle-même, elle nécessite la présence de facteurs favorisants (immunodépression, pathologie sous-jacente...), on parle alors d'infection opportuniste.

Les données du NNIS (*National Nosocomial Infections Study System*) au cours de la décennie 1980-1990 font état d'une augmentation des infections fongiques profondes dont l'incidence passe de 2 à 3,8‰ admissions. Le réseau SCOPE (*Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic importance*) a constaté au cours d'une étude réalisée entre 1995 et 1996 que les levures étaient, par ordre de fréquence, la quatrième cause d'infections nosocomiales, rendant compte de 8% de toutes les infections derrière les staphylocoques et les entérocoques. Une étude européenne portant sur 2089 épisodes de candidémie entre septembre 1997 et décembre 1999 a mis l'accent sur le fait que les patients, pour 48% d'entre eux, étaient hospitalisés en chirurgie contre 40% dans des unités de soins intensifs, dont 35% en onco-hématologie.⁸⁵ Une étude menée entre 1979 et 2001 aux Etats-Unis fait état d'une augmentation de l'incidence des infections fongiques mais constate une diminution du nombre de décès en même temps.⁸⁶

On observe également une très nette modification dans la répartition des souches responsables de ces infections. Ainsi au début les candidoses étaient principalement dues à l'espèce *Candida albicans* (**figure 55**). Les utilisations thérapeutiques à titre prophylactique de fluconazole notamment auraient permis l'émergence d'autres espèces comme *Candida krusei*. La notion de terrain est importante à considérer. En effet, selon le service hospitalier considéré, diverses espèces de *Candida* sont rencontrées (*C. albicans* en onco-hématologie, *C. glabrata* en cancérologie, *C. krusei* en greffe de moelle osseuse, *C. parapsilosis* en néonatalogie).⁸⁷

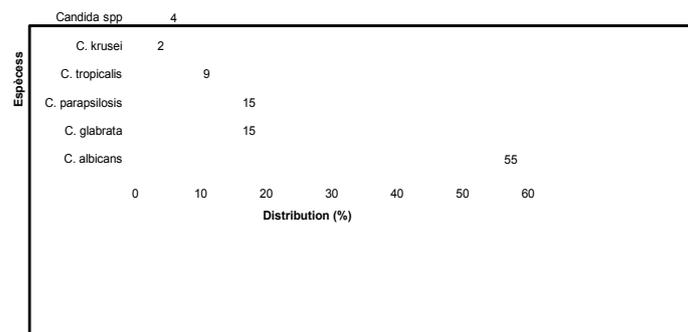


Figure 55 : Distribution des espèces de *Candida* responsables d'infections fongiques systémiques

⁸⁵ Tortorano A.M. *et al. Int. J. Antimicrob. Agents* **2006**, 27, 359-366.

⁸⁶ Martin G.S. *et al. N. Engl. J. Med.* **2003**, 348, 1546-1554.

⁸⁷ Adapté de « Infections fongiques : épidémiologie et problématique ». Pr. M.L. Dardé. Service de parasitologie-mycologie. CHU Dupuytren. Limoges.

2- Facteurs favorisants

2-1- Les facteurs intrinsèques liés à l'hôte

Certains facteurs physiologiques peuvent expliquer le développement de la maladie. Le premier d'entre eux est l'âge du sujet. En effet, le nouveau-né ou les personnes âgées sont plus vulnérables à *Candida albicans*. De même la candidose vaginale est trois à quatre fois plus fréquente chez la femme enceinte.

Des facteurs d'origine pathologique peuvent également favoriser le développement du champignon. Une maladie sous-jacente, en favorisant le développement d'une mycose, peut parfois se révéler. C'est ainsi qu'une candidose oro-pharyngée est parfois à l'origine de la découverte d'un SIDA. Une candidose à répétition sera à l'origine de la découverte d'un diabète. L'aspergillose se greffe habituellement sur des lésions bronchiques pré-existantes.

Enfin, parmi les facteurs locaux, il faut mentionner le rôle de l'humidité, de la macération favorisant l'installation d'une mycose à *Candida* superficielle. Les champignons se développent dans des zones où des surfaces de peau sont en contact : entre les orteils, au niveau des organes génitaux et de la poitrine. La plupart des champignons infectant la peau (dermatophytes) se localisent sur la couche supérieure de l'épiderme et ne pénètrent pas profondément. Certaines personnes sont plus vulnérables aux infections : les personnes obèses (nombreux plis de la peau) ou les sujets diabétiques.

2-2- Les facteurs extrinsèques et iatrogènes

Les champignons pathogènes bénéficient pour se développer de l'apparition d'états d'immunosuppression de plus en plus sévères. 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.

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.

3- Les principales infections fongiques

3-1- Mycoses superficielles / mycoses systémiques

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.⁸⁸

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).

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.

3-2- Les candidoses

Les candidoses sont des affections cosmopolites dues à des levures du genre *Candida*. Le rôle pathogène des *Candida* peut s'exercer au niveau des muqueuses, du revêtement cutané et des viscères.

⁸⁸ Association française des enseignants en parasitologie. Parasitologie, mycologie. 7^{ième} édition. Ed C. et R.. 2002, St Maur. 494 pages.

Les candidoses ont un large éventail clinique qu'il s'agisse d'atteintes superficielles ou profondes. Leur fréquence est en perpétuelle augmentation, liée à l'incidence croissante des facteurs favorisants mentionnés précédemment.

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.

Ces candidoses superficielles sont traitées par voie locale par administration de dérivés azolés (candidoses cutanées, candidose génitale) ou d'amphotéricine B (candidoses digestives).

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.⁸⁹ 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. Elle reposera sur l'utilisation d'amphotéricine B, de dérivés triazolés ou d'échinocandines.

3-3- Les aspergilloses

L'incidence des infections fongiques invasives à *Aspergillus* varie en fonction du type de transplantation : entre 5 et 17% pour la greffe cardiaque, de 14 à 22% pour la greffe cœur-poumon, de 2 à 42% pour le foie et de 2 à 14% pour la greffe rénale.⁹⁰

Aspergillus est un champignon filamenteux (moisissure) dont les spores sont véhiculées par l'air et sont inhalées par tous les individus. A cause de leur petite taille, les

⁸⁹ André M.H. *et al. La revue du praticien* **2001**, 51, 758-760.

⁹⁰ Patel R. *et al. Clin. Microbiol. Rev.* **1997**, 10, 86-124.

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. Cinq espèces d'*Aspergillus* sont retrouvées en pathologie humaine : *Aspergillus fumigatus* responsable de 90 à 95 % des aspergilloses, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. terreus*.

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.⁹¹ 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 signent 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 (2nde cause de mortalité par infection fongique). 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.

⁹¹ Site internet : <http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/mycoses.htm>.

II- Cibles et traitements

Actuellement, l'arsenal thérapeutique est en plein essor pour la prise en charge des patients présentant des infections fongiques ou à haut risque d'infection fongique. Cette prise en charge doit cependant répondre, non seulement à l'augmentation de la fréquence des infections fongiques, mais aussi à leur répartition chez des malades aux pathologies sous-jacentes différentes. Il faut également faire face à l'augmentation des phénomènes de résistance et à l'émergence de nouvelles espèces de champignons vis-à-vis desquels les molécules antifongiques actuelles sont souvent moins actives (*scedosporium*, *fusarium*, *zygomycètes*).

1- Cibles thérapeutiques des antifongiques et traitements associés

Les traitements antifongiques disponibles actuellement sur le marché et utilisés en thérapeutique se répartissent en cinq grandes familles chimiques et agissent à différents niveaux sur la cellule fongique comme le montre la figure ci-dessous⁹² :

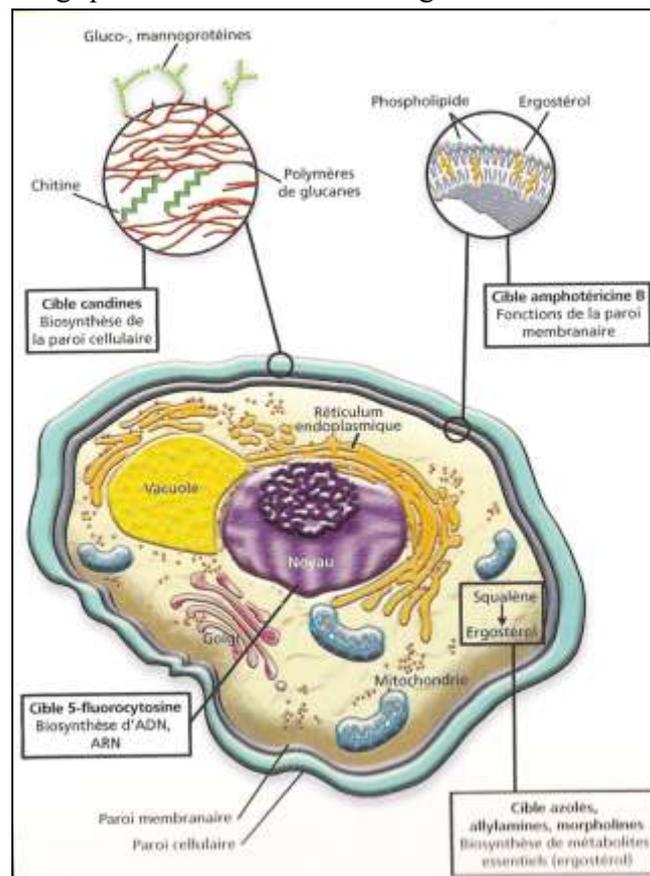


Figure 56 : Cibles principales des antifongiques systémiques

⁹² Infections fongiques : résistances, nouvelles modalités thérapeutiques, ed. optimed, 2003, Paris, 170 pages.

Nous allons reprendre chacun des sites d'action des antifongiques avec les molécules existantes utilisées dans le traitement des infections fongiques.⁹³

1-1- Les inhibiteurs de la biosynthèse d'ARN

Dans cette famille, une molécule est utilisée : la **5-fluorocytosine** (ou 5-FC). Il s'agit d'une pyrimidine fluorée qui agit spécifiquement sur les champignons (**figure 57**).

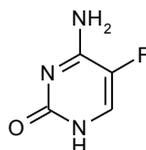


Figure 57 : Structure de la 5-fluorocytosine (Ancotil[®])

Seuls certains champignons sont sensibles à cette molécule : des prédispositions enzymatiques sont en effet nécessaires pour permettre l'entrée dans la cellule de la 5-FC (une cytosine perméase), la convertir en 5-fluorouracile ou 5-FU (une transaminase). La 5-FU s'incorpore à l'ARN causant une rupture de la chaîne et inhibe ainsi la synthèse de l'ADN par son action sur la thymidylate synthétase. Les champignons filamenteux en sont dépourvus, si bien que le spectre d'action de la 5-FC se limite aux levures (*Candida* et *Cryptococcus neoformans*).⁹⁴ De plus cette molécule est sélective car les cellules de mammifères ne possèdent pas la cytosine perméase nécessaire au premier passage de la molécule dans la cellule. En raison de l'apparition de nombreuses résistances, d'un spectre d'action limité et d'effets toxiques importants (dysfonctions rénales, leucopénies, thrombopénies), la 5-FC n'est pas utilisée en monothérapie mais toujours en combinaison avec l'amphotéricine B (AmB).⁹⁵

1-2- Les inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire

Les échinocandines inhibent la synthèse du bêta (1,3)-D-glucane, constituant essentiel de la membrane cellulaire de la plupart des champignons. La déplétion en glucane de la paroi cellulaire et l'instabilité osmotique entraînent finalement la lyse de la cellule fongique.

⁹³ Dossier du Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament ; Candidoses et aspergilloses invasives : stratégie thérapeutique. **2004**, XXV, 6. 72 pages.

⁹⁴ Odds F.C. *et al. Trends Microbiol.* **2003**, 11, 272-279.

⁹⁵ Wingard J.R. *et al. Biol. Blood Marrow Transplant.* **2004**, 10, 73-90.

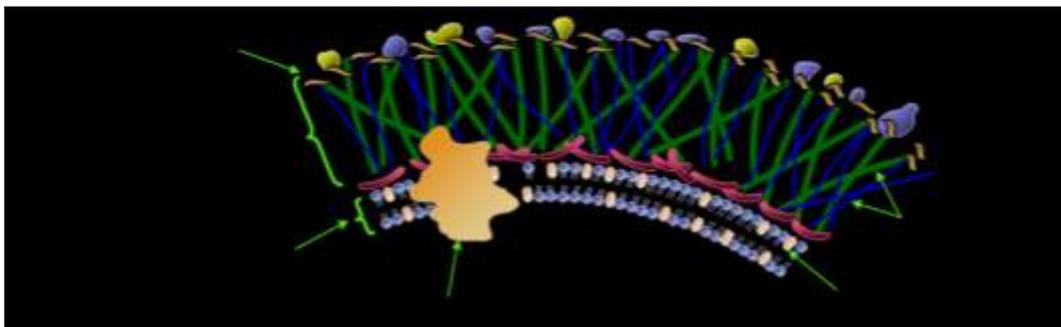


Figure 58 : Structure de la membrane cellulaire du champignon

Les échinocandines sont fongicides sur *Candida* et fongistatiques sur *Aspergillus*. La **casprofungine (figure 59)** est le premier représentant de cette nouvelle famille d'antifongiques, elle fut approuvée en 2001. Son spectre d'action est large, englobant les espèces *Candida* et *Aspergillus*. Le principal effet indésirable est le risque de phlébites au niveau de la veine perfusée (12%). Elle est indiquée dans le traitement empirique des candidoses et aspergilloses invasives chez les patients adultes. La casprofungine, sous sa forme acétate, est hydrosoluble et administrable par voie parentérale. Son temps de demi-vie étant long, une seule administration journalière est nécessaire.⁹⁶

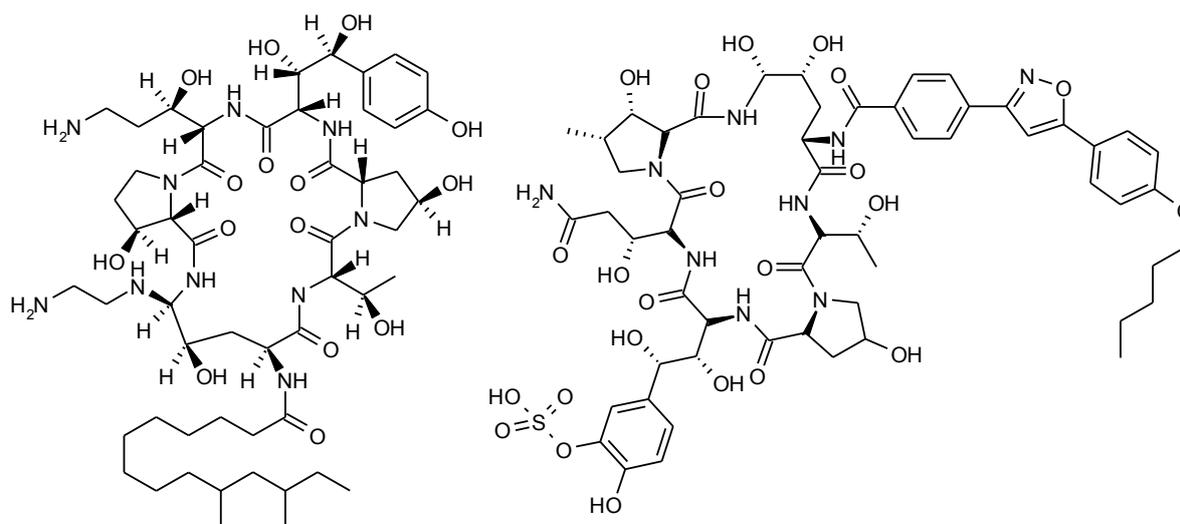


Figure 59 : Structure de la casprofungine (Cancidas®) à gauche et de la micafungine (Micamine®) à droite

La **micafungine** (actuellement en phase III de développement) présente un spectre large englobant les espèces *Candida* et *Aspergillus*. Elle est efficace dans le traitement des candidoses superficielles et disséminées, des infections œsophagiennes à *Candida* résistants au fluconazole et des aspergilloses pulmonaires. Elle fait l'objet de plusieurs études ouvertes dans le traitement des aspergilloses et candidoses invasives.⁹⁷ Les échinocandines

⁹⁶ Pettrikos G. *et al. Int. J. Antimicrob. Agents* **2007**, *30*, 108-117.

⁹⁷ Ikeda F. *et al. Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 1263-1275.

peuvent être associées à un autre antifongique systémique. Actuellement, une molécule appartenant à cette famille est en cours de développement dans les Laboratoires Lilly : l'**anidulafungine** (Eraxis[®]) :

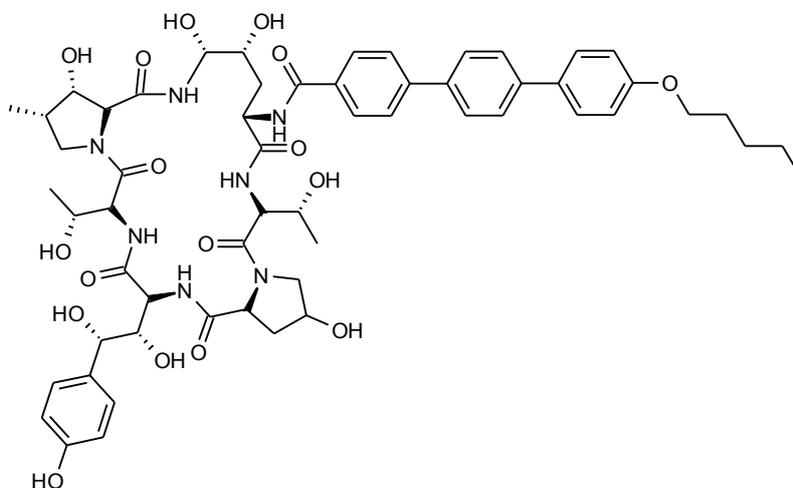


Figure 60 : Structure chimique de l'anidulafungine ou VER002

Cette molécule est préconisée dans le traitement des candidoses invasives avec un spectre superposable à celui de la caspofungine.⁹⁸

1-3- Les inhibiteurs des fonctions de la paroi membranaire

Les inhibiteurs de cette classe font partie de la famille des polyènes. Le premier représentant de cette famille est l'**amphotéricine B**. Elle a été découverte en 1956. 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 (**figure 61**) :

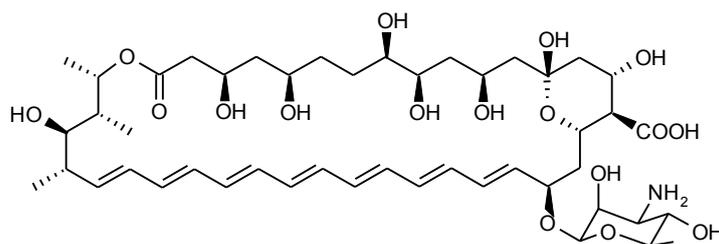


Figure 61 : Structure chimique de l'amphotéricine B

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

⁹⁸ Murdoch D. *et al. Drugs* **2004**, *64*, 2249-2258.

de potassium et une entrée massive de sodium aboutissant à la lyse cellulaire. La sélectivité de cette molécule vis-à-vis des cellules fongiques est due à une plus grande affinité pour l'ergostérol fongique par rapport à l'humain. L'AmB présente un spectre très large qui en fait l'antifongique de référence. Elle est active sur la plupart des espèces *Candida* et *Aspergillus*. Cependant, l'absorption par les voies digestives est très faible. Il est donc nécessaire de l'administrer par des perfusions intraveineuses lors d'infections systémiques.⁹⁹

Son élimination est très lente (temps de demi-vie de 15 jours). Une application locale est possible uniquement pour les candidoses cutanées : une solution buvable existe pour traiter une infection du tube digestif par *Candida*. Même si l'AmB reste le traitement de choix depuis 50 ans dans les infections fongiques systémiques et notamment chez les patients immunodéprimés, 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 de l'AmB. Trois formes existent : l'ABLC (complexe lipidique de l'AmB Abelcet[®]), la forme liposomale (AmBisome[®]) et la dispersion colloïdale (ABCD ou Amphocil[®]). La solubilisation de l'AmB en milieu lipidique permet d'augmenter la capture macrophagique et donc de diminuer sa toxicité. La molécule n'est libérée qu'*in situ* au sein de la cellule fongique. Les doses peuvent être augmentées sans toucher les autres organes.¹⁰⁰

Un autre polyène possédant une structure similaire et un mode d'action semblable à celui de l'AmB a été isolé : il s'agit de **la nystatine (figure 62)**.

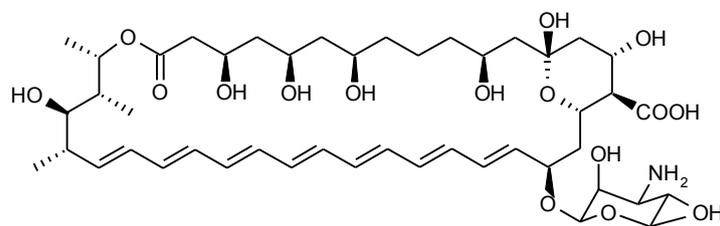


Figure 62 : Structure chimique de la nystatine

Elle est cependant plus toxique et n'est pas utilisée pour les infections systémiques. Utile dans le cas de candidoses, plusieurs formes galéniques ont été développées pour en élargir l'usage. Par exemple, une forme complexée avec le dimyristoyl-phosphatidylglycérol (NyoTRAN[®]) a été développée pour réduire sa toxicité et élargir son usage aux infections systémiques.

⁹⁹ Kontoyannis D.P. *et al. J. Hosp. Infect.* **2003**, 53, 243-258.

¹⁰⁰ Andrès E. *et al. Rev. Med. Interne* **2001**, 22, 141-150.

1-4- Les inhibiteurs de la biosynthèse de l'ergostérol agissant sur la lanostérol 14 α -déméthylase

Les antifongiques agissant sur la biosynthèse de l'ergostérol appartiennent à la famille des conazolés. Ils se répartissent en deux groupes, les imidazolés et les triazolés. Les triazolés sont plus lentement métabolisés et ont moins d'effets secondaires sur les stérols humains que les imidazolés qui subissent une dégradation importante (réactions de métabolisation). Tous les azolés exercent leur action principalement par inhibition de CYP51, une enzyme à cytochrome P450.¹⁰¹ Cette enzyme intervient dans la longue cascade qui convertit le lanostérol en ergostérol, constituant essentiel de la membrane cytoplasmique fongique (**figure 64** page 179). L'accumulation d'ergostérol 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.⁹⁴

De nombreux agents antifongiques à usage topique existent pour traiter les dermatophytoses, le pityriasis versicolor et les candidoses cutanéomuqueuses. La majorité d'entre eux possèdent un noyau imidazole. Parmi les principaux nous pouvons citer le **miconazole** (Daktarin[®]) ou le **clotrimazole** (Trimysten[®]), deux azolés de première génération.

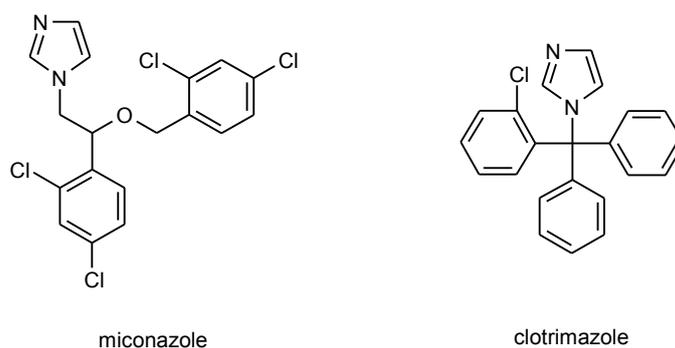


Figure 63 : Chefs de file des conazolés de première génération

Le miconazole est un imidazolé utilisé principalement en spray ou lotions à appliquer sur la peau pour traiter les infections fongiques cutanées telles que le pied d'athlète par exemple. Il peut également être employé dans le traitement d'infections vaginales. En plus de son action antifongique, il possède également une action antiparasitaire et antibactérienne.¹⁰²

¹⁰¹ AFECT. Traité de chimie thérapeutique Vol 5 ; principaux antifongiques et antiparasitaires Tome 1 : Antifongiques. Ed. TEC&DOC, Paris, 1999.

¹⁰² Ansari S. *et al.* *FEMS Microbiol. Lett.* 1993, 114, 93-98.

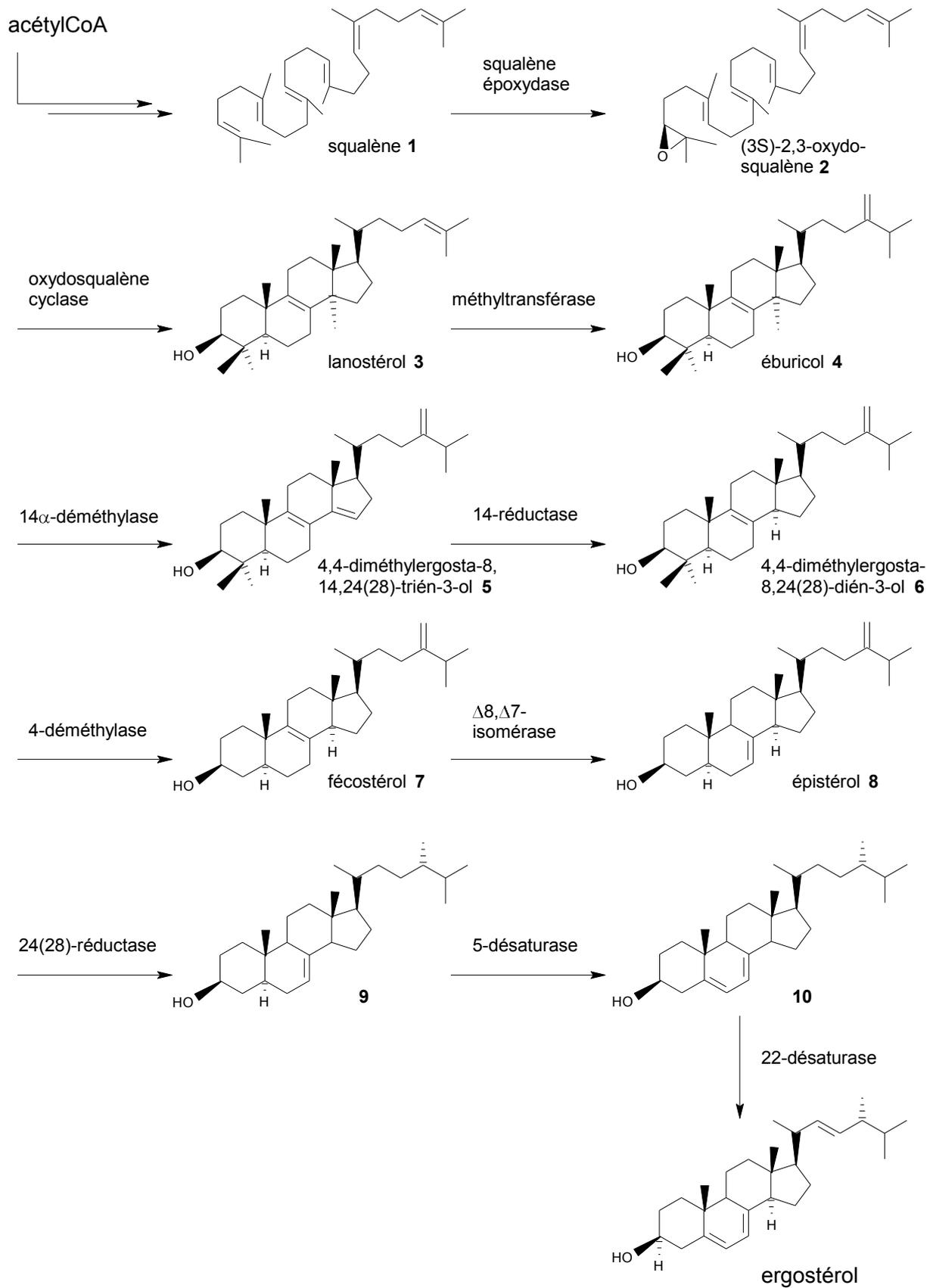


Figure 64 : Biosynthèse de l'ergostérol chez le champignon

Cette molécule symétrique possède pour la première fois un noyau phényle difluoré. La présence des deux noyaux triazoles permet d'augmenter la sélectivité pour CYP51 et de diminuer la métabolisation de la molécule. Les deux atomes de fluor (remplaçant les atomes de chlore du kétoconazole) ainsi que le groupe OH, permettent d'augmenter la solubilité de la molécule dans l'eau et de favoriser sa distribution tissulaire. L'absorption digestive quasi complète (90%) n'est pas influencée par l'alimentation et l'acidité gastrique. Il peut être administré *per os* ou par voie intraveineuse. Le fluconazole est bien toléré, dépourvu d'effets endocriniens et ne présente pas de toxicité rénale ou hématologique. Il est très faiblement métabolisé et possède un temps de demi-vie de 25 à 30 heures permettant ainsi une seule administration journalière. Il est actif sur un large spectre de souches (*Candida*, *Cryptococcus*...) mais les souches *Aspergillus* restent insensibles. Le fluconazole est préféré à l'AmB lors des candidoses profondes, digestives, péritonéales et urinaires en raison de sa faible toxicité. Cependant, ce composé n'est pas actif sur *Candida krusei* et de nombreuses résistances apparaissent chez *C. glabrata* et *C. dubliensis*.¹⁰⁵

Avec une structure proche du kétoconazole, l'**itraconazole** (Sporanox®) se distingue par le remplacement du noyau imidazole par un triazole et par une élongation de la chaîne¹⁰⁶ :

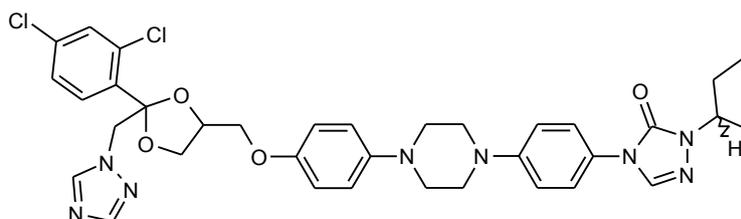


Figure 67 : Structure chimique de l'itraconazole (ou ITC)

Cette modification structurale entraîne une plus grande sélectivité pour la lanostérol 14 α -déméthylase des champignons et diminue ainsi sa toxicité. 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.¹⁰⁷ L'itraconazole possède un large spectre d'action avec notamment une activité sur *Aspergillus*. Il est administré par voie orale et se lie aux protéines plasmatiques. En raison de sa forte lipophilie, il présente une forte affinité pour les tissus (peau, organes génitaux, poumons, muscles) où sont retrouvées des concentrations deux à trois fois supérieures aux concentrations plasmatiques. L'itraconazole est fortement métabolisé par le foie et un des principaux métabolites (l'hydroxy-itraconazole) est aussi actif que la molécule mère. L'itraconazole est assez bien toléré et ses principaux effets secondaires sont d'ordre digestif : nausées, vomissements, douleurs abdominales. Afin d'éviter toute

¹⁰⁵ Charlier C. *et al. J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, 57, 384-410.

¹⁰⁶ Wolff M. *et al. Therapie* **2006**, 61, 227-233.

¹⁰⁷ Kunze K.L. *et al. Drug Metab. Dispos.* **2006**, 34, 583-590.

interaction médicamenteuse, il est déconseillé de l'associer aux antihistaminiques, aux statines, à la rifampicine et à la ciclosporine.¹⁰⁸

Une autre molécule similaire au fluconazole a été ensuite découverte : le **voriconazole** (Vfend®).¹⁰⁹ Un des cycles triazoles du fluconazole a été remplacé par une 5-fluoropyrimidine et un groupe méthyle a été introduit en α de l'hydroxyle (**figure 68**) :

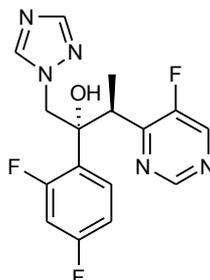


Figure 68 : Structure chimique du voriconazole

Le composé actif correspond à l'isomère (2R, 3S). Les modifications structurales apportées engendrent une affinité plus grande pour CYP51 des espèces d'*Aspergillus* (fongicide) et une activité fongistatique très large en particulier sur les souches *Candida* résistantes au fluconazole.¹¹⁰ Le voriconazole est bien absorbé et possède une très bonne biodisponibilité par voie orale (supérieure à 80%). Il est métabolisé dans le foie par les isoenzymes du cytochrome P450 (CYP2C9, CYP3A4 et CYP2C19). La voie métabolique principale implique la formation du *N*-oxyde de voriconazole qui n'a pas d'action antifongique. Son temps de demi-vie est de 6 à 9 heures.¹¹¹ Lors des essais cliniques, des cas réversibles de troubles visuels (perception des couleurs, vision trouble, photosensibilité) ont été reportés.¹¹² De nombreuses interactions médicamenteuses existent avec cette molécule ce qui pose des problèmes aux cliniciens qui ont souvent en face d'eux des patients multi-médicamentés.¹¹³

Tout dernièrement, une nouvelle molécule de la famille des azolés a été introduite sur le marché : le **posaconazole** (Noxafil®). Cette molécule a une structure très proche de l'itraconazole puisque seuls le noyau aromatique dichloré et l'extrémité de la chaîne ont été modifiés (**figure 69**) :

¹⁰⁸ Heykants J. *et al. Mycoses* **1989**, 32 (S1), 67-87.

¹⁰⁹ Herbrecht R. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2004**, 2, 485-497.

¹¹⁰ Dupont B. *Arch. Pediatr.* **2003**, 10 (S5), 592s-598s.

¹¹¹ Humphrey M.J. EP1713477. Brevet européen publié le 25 octobre **2006**.

¹¹² Muijsers R.B.R. *et al. Drugs* **2002**, 62, 2655-2664.

¹¹³ Scott L.J. *et al. Drugs* **2007**, 67, 269-298.

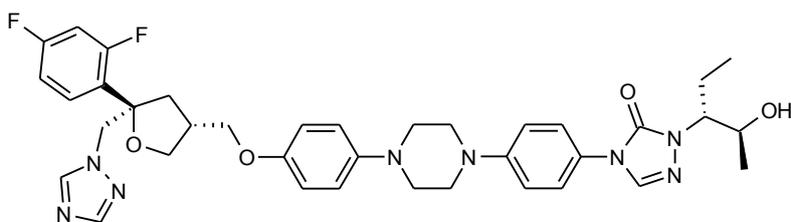


Figure 69 : Structure chimique du posaconazole

La forme chimique du composé actif correspond à l'isomère (1*S*, 2*S*, 3*R*, 5*R*). Ce composé est très peu soluble dans l'eau mais il possède toutefois un très large spectre d'action : *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Zygomycètes*... Le posaconazole s'administre par voie orale et sa biodisponibilité est augmentée lorsqu'il est pris avec des aliments riches en graisse. Son temps de demi-vie moyen est de 35 heures. Les données de pharmacovigilance sont encore limitées. Il est recommandé d'éviter d'éventuelles interactions médicamenteuses avec la rifampicine ou la rifabutine. Globalement, il reste bien toléré et apparaît comme un traitement de choix de seconde intention pour les infections fongiques les plus graves.¹¹⁴

Enfin dans cette famille de composés, un azolé est actuellement en cours de développement : **le ravuconazole (figure 70)**.

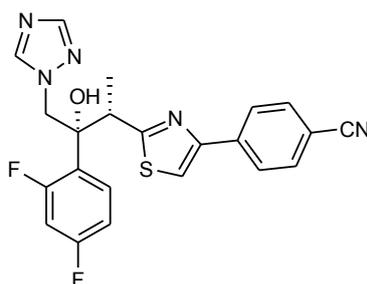


Figure 70 : Structure chimique du ravuconazole ou BMS-207147

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*). Il posséderait un large spectre d'action sur des souches de *Candida* et d'*Aspergillus*.¹¹⁵ Les études cliniques sont actuellement en phase II.¹¹⁶

D'autres familles de composés inhibent la biosynthèse de l'ergostérol membranaire, il s'agit des allylamine. Les deux représentants majeurs de cette famille sont la **terbinafine (Lamisil®)** et la **naftifine (figure 71)** :

¹¹⁴ Kwon D.S. *et al. Expert Opin. Pharmacother.* **2007**, 8, 1167-1178.

¹¹⁵ Fung-Tomc J.C. *et al. Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, 42, 313-318.

¹¹⁶ Groll A.H. *et al. J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, 56, 899-907.

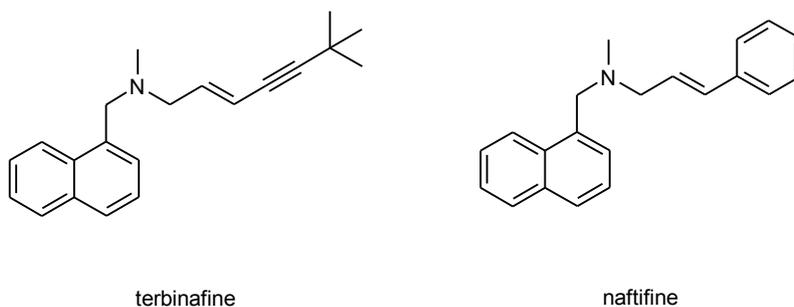


Figure 71 : Structures chimiques de la terbinafine et de la naftifine

Ces deux composés agissent en amont de CYP51 par inhibition de la squalène époxydase. La terbinafine permet de traiter les dermatophytoses, les candidoses vaginales et le pityriasis versicolor. Elle est très fortement métabolisée par *N*-déméthylation et oxydation des groupes méthyles en alcool primaire. Plus de 80% de la dose orale administrée est éliminée par voie urinaire. Ce composé n'a pas montré d'activité *in vivo* sur les modèles de mycoses systémiques. La naftifine est utilisée dans le traitement topique des dermatophytoses des plis et de la peau glabre.¹¹⁷

1-5- Les inhibiteurs d'autres métabolites

D'autres classes d'antifongiques agissent selon d'autres mécanismes d'action sur le développement du champignon. Parmi eux, nous pouvons citer la **griséofulvine (figure 72)** qui agit sur les mycoses à dermatophytes. C'est une molécule qui a plusieurs caractéristiques puisqu'elle est à la fois antifongique et antibiotique.

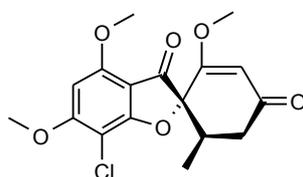


Figure 72 : Structure chimique de la griséofulvine

Une autre famille chimique possédant une action antifongique est composée des morpholines. Ces composés (par exemple l'**amorolfine**) ont une action fongistatique en inhibant la fonction de deux enzymes impliquées dans la synthèse de l'ergostérol : la C-14 stérol réductase (codée par ERG24) et la C-8 stérol isomérase (codée par ERG2).

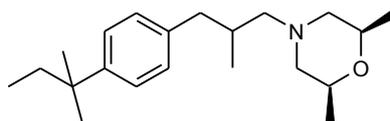


Figure 73 : Structure chimique d'un inhibiteur de la famille des morpholines, l'amorolfine

¹¹⁷ Kyle A.A. *et al. Am. J. Clin. Dermatol.* **2004**, 5, 443-451.

2- Les pistes étudiées en recherche

Les antifongiques font l'objet de nombreuses recherches du fait de leur toxicité ou des phénomènes de résistance observés en clinique. Il est nécessaire de trouver de nouveaux traitements plus efficaces et possédant un spectre d'activité plus large. Les antifongiques connaissent de nombreux problèmes d'interactions médicamenteuses. Il est donc nécessaire de trouver d'autres traitements avec une meilleure maniabilité clinique.

Les protéines fongiques constituent de nouvelles cibles pour les nouvelles classes d'antifongiques. En effet, les dérivés **sordarines** inhibent la synthèse protéinique des champignons pathogènes en inhibant le facteur 2 d'élongation au niveau de l'ARN. Chez l'animal, les sordarines ont démontré une puissante activité fongicide contre les souches de *Candida*, à l'exception du *C. krusei* et du *C. lusitaniae*, et une excellente activité contre le *Pneumocystis carinii*. Par contre, l'activité contre *Aspergillus* n'a pas été démontrée dans le modèle animal. Cette nouvelle classe semble prometteuse dans le traitement des candidoses, des histoplasmoses et des coccidioïdomycoses.¹¹⁸

Des antifongiques possédant une structure originale appartenant à la famille des xanthones ont été isolés par le groupe de G. Larcher *et al.*¹¹⁹ à partir de l'écorce de la tige de *Calophyllum caledonicum*. Un dérivé, la caledonixanthone E, a montré une activité intéressante sur *Aspergillus fumigatus* (CMI₈₀ = 8 µg/mL) :

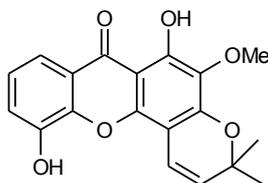


Figure 74 : Structure chimique de la caledonixanthone E

De même, des structures plus originales basées sur un noyau benzothiazole ont été préparées par C.K. Ryu *et al.*¹²⁰ et ont montré une activité antifongique sur *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *A. niger* avec des CMI comprises entre 0,8 et >100 µg/mL.

¹¹⁸ Groll A.H. *et al. Pharmacotherapy* **2001**, 21(8 Part 2), 133S-148S.

¹¹⁹ Larcher G. *et al. Planta Med.* **2004**, 70, 569-571.

¹²⁰ Ryu C.K. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 4003-4008.

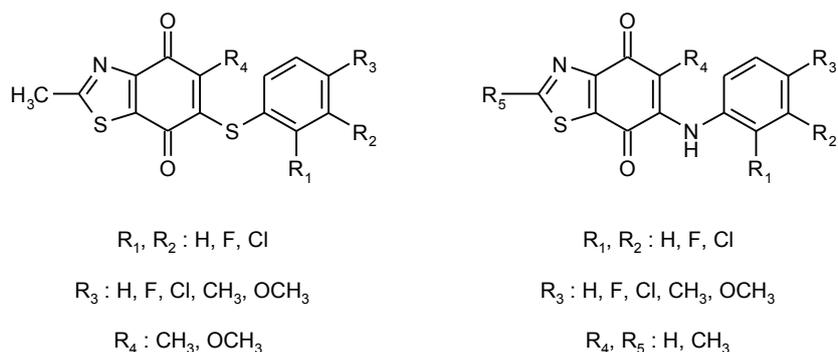


Figure 75 : Structure chimique de deux familles de dioxobenzothiazoles

De nouvelles classes d'antifongiques agissant selon d'autres mécanismes d'action sont en cours de développement. Ainsi, Les **nikkomyces** agissent par inhibition compétitive de la chitine synthétase, une enzyme fongique formant la chitine, un composé essentiel à la paroi cellulaire du champignon. La nikkomycine Z (**figure 76**) a démontré une activité *in vitro* et *in vivo* contre *Aspergillus*, *Histoplasma capsulatum* et *Blastomyces dermatitidis*. Ce médicament ne possède aucune activité contre les levures, comme *Candida* et *Cryptococcus*, puisque ces derniers ne possèdent pas de chitine au niveau de leur paroi cellulaire.¹²¹

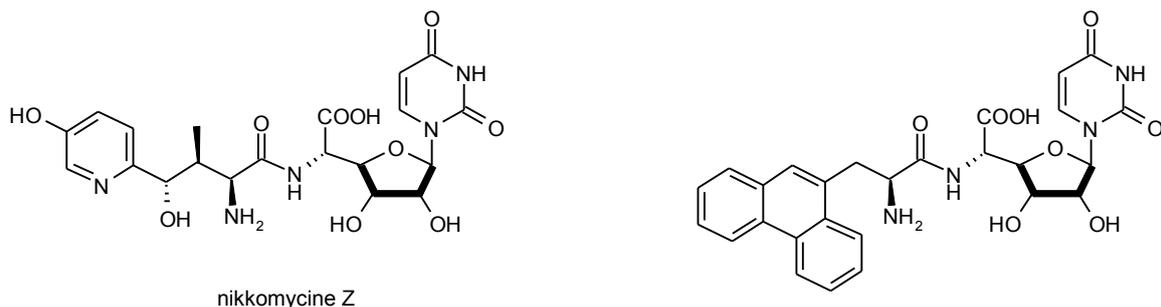


Figure 76 : Structure chimique de la nikkomycine Z et d'un de ses analogues

Cette structure a ainsi inspiré K. Obi *et al.*¹²² qui ont greffé diverses chaînes alkyles ou aromatiques sur le motif urée. La nature de l'espaceur situé entre l'urée et le noyau pyridine a été modifiée pour en déterminer l'influence. Différents noyaux aromatiques ont été introduits à la place de la pyridine. Ils ont ainsi pu isoler une molécule dont l'activité est comparable à la molécule de référence ($CI_{50} = 0,39 \mu\text{g/mL}$ pour la nikkomycine Z et $CI_{50} = 0,31 \mu\text{g/mL}$ pour l'analogue de la **figure 76**).

De leur côté, K. Masubuchi *et al.*¹²³ sont partis d'une librairie de composés synthétisés par les Laboratoires Roche. Un screening aléatoire de la chimiothèque a permis d'identifier le composé RO-41-0986 (analogue de la terbinafine) comme inhibiteur de la chitine synthétase de *C. albicans* avec une CI_{50} de $3,30 \mu\text{g/mL}$:

¹²¹ Kauffman C.A. *et al. Drugs* **1997**, 53, 539-549.

¹²² Obi K. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 1451-1454.

¹²³ Masubuchi K. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10, 1459-1462.

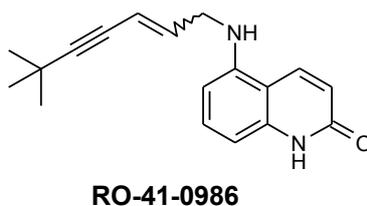


Figure 77 : Structure chimique d'un inhibiteur de la chitine synthétase de *C. albicans*

En conservant les éléments structuraux importants (le bicyclic, l'enchaînement NH-CO et la chaîne alkyle insaturée), ils ont montré qu'en introduisant un groupe méthyle sur l'amine en position 5 et en modifiant la chaîne ène-yne par deux triples liaisons, l'activité était nettement améliorée ($CI_{50} = 0,07 \mu\text{g/mL}$) :

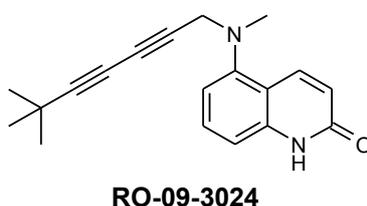
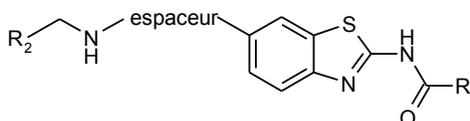
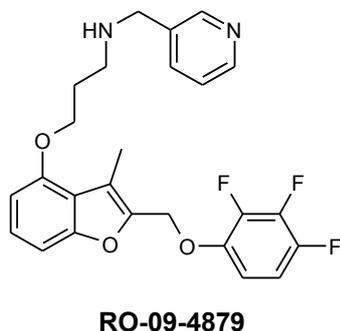


Figure 78 : Optimisation de la structure du RO-41-0986

Ils ont, par la même occasion, élargi le spectre d'action de la molécule à plusieurs souches de champignons : *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. neoformans* et *A. fumigatus*.

Une autre cible a également été étudiée en recherche : la *N*-myristoyltransférase pour laquelle, un dérivé de la famille des benzofuranes¹²⁴, le RO-09-4879, a montré une affinité (CI_{50} de 5,7 nM). De même une famille de benzothiazoles¹²⁵ a été optimisée et a permis d'isoler un composé avec une forte activité inhibitrice de l'enzyme (CI_{50} de 0,49 nM, $R_1 = c\text{-pentyle}$; $R_2 = \text{naphtalène}$; espaceur = (1*R*,3*S*)-cyclohexyl-CONH-) :



R_1 : Me, Et, *i*-Pr, *c*-butyle, *c*-pentyle, *c*-hexyle, pipéridine, phényle, pyridine, pyrazine

R_2 : naphtalène, biphényle

espaceur : -alkylNHCO-, -CH₂-Ph-CH₂NHCO-, -cyclohexylCONH-

Figure 79 : Structure d'un benzofurane et d'une famille de benzothiazoles

¹²⁴ Masubuchi M. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4463-4478.

¹²⁵ Yamazaki K. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2509-2522.

Cette enzyme permet le transfert d'un groupe myristoyle du myristoyl CoA vers les résidus glycine *N*-terminaux d'un grand nombre de protéines. Cette enzyme a montré une importance essentielle pour la survie du champignon. Il a été montré qu'une déficience de cette enzyme entraîne une impossibilité pour *C. albicans* d'infecter une souris.¹²⁶

La famille des conazolés est la plus largement étudiée en recherche. F. Chevreuil *et al.*¹²⁷ ont préparé des inhibiteurs analogues du thioconazole actifs sur une souche de *Candida glabrata* résistante au fluconazole et au voriconazole. De même, des analogues du bifonazole ont été synthétisés par G. Menozzi *et al.*¹²⁸ et ont montré un large spectre d'action sur *C. albicans*, *C. neoformans* et *A. fumigatus*.

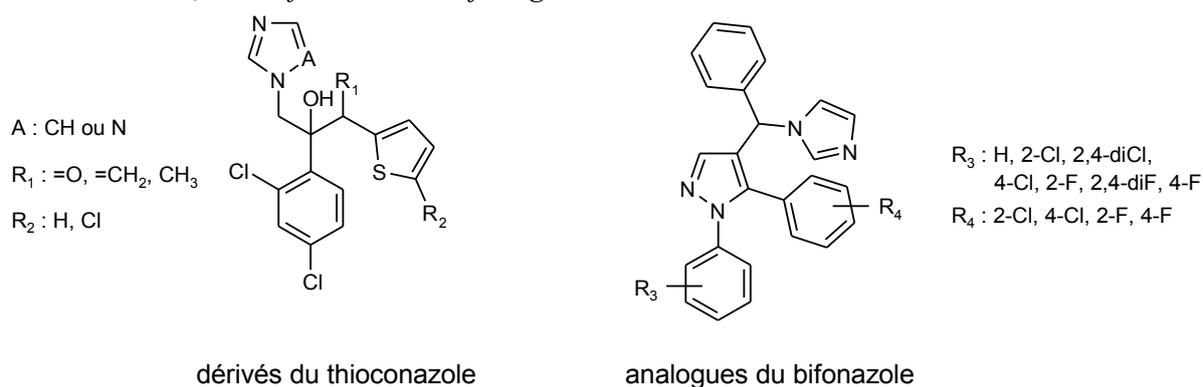


Figure 80 : Exemples d'analogues d'azolés ayant démontré une activité antifongique

D'autres dérivés appartenant à cette famille d'azolés ont été synthétisés par R. Di Santo *et al.*¹²⁹ Leurs structures comportent un noyau imidazole, un noyau pyrrole sur lequel est introduite la diversité et divers systèmes aromatiques substitués (**figure 81**). Ils ont été testés sur plusieurs souches de *Candida albicans* et ont montré des résultats meilleurs que les molécules de référence (fluconazole, bifonazole, miconazole et itraconazole). Les données obtenues leur ont permis ensuite d'établir un pharmacophore. La coordination de l'imidazole avec l'hème, la présence de deux cavités hydrophobes (autour de X et de R₄), d'un noyau aromatique (le cycle pyrrole) et de deux volumes interdits sont autant d'éléments indispensables pour une bonne activité :

¹²⁶ Nakayama H. *et al. Infect. Immun.* **2000**, 68, 6712-6719.

¹²⁷ Chevreuil F. *et al. J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2006**, 21, 293-303.

¹²⁸ Menozzi G. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 5465-5483.

¹²⁹ Di Santo R. *et al. J. Med. Chem.* **2005**, 48, 5140-5153.

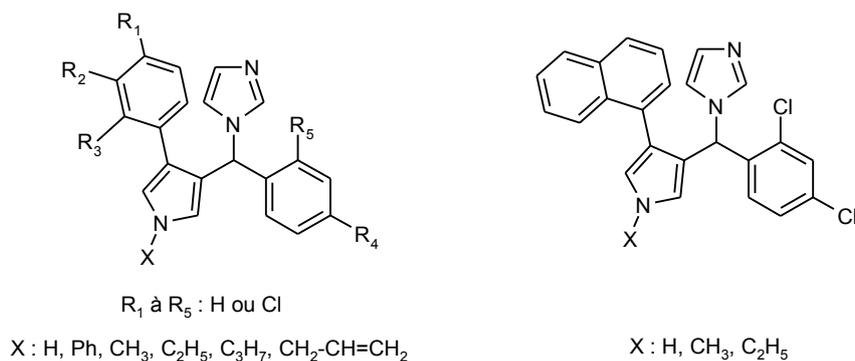


Figure 81 : Dérivés d'imidazole à activité anti-*Candida*

D'autres composés possédant une chaîne latérale proche du posaconazole ont été récemment étudiés par Q.Y. Sun *et al.*¹³⁰:

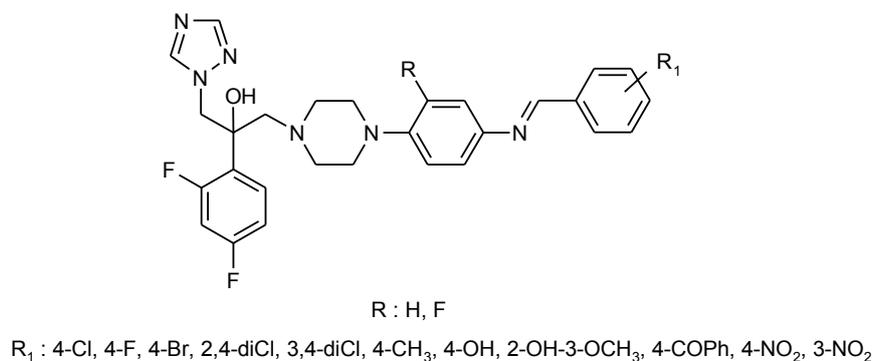


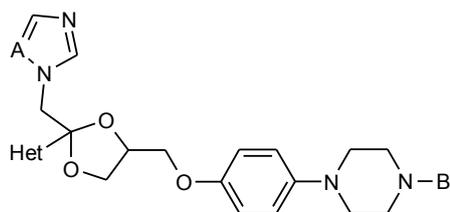
Figure 82 : Structure chimique de triazolés à longue chaîne latérale

Leurs composés ont été évalués pour leur activité antifongique sur *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. neoformans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* et ont montré des valeurs de CMI_{80} comprises entre 0,5 et $> 64 \mu\text{g/mL}$. Parmi cette librairie de composés, l'analogue $R = \text{H}$, $R_1 = 4\text{-Cl}$ a montré une activité comparable, voire inférieure, au fluconazole sur l'ensemble de leurs souches.

M. Pinori *et al.*¹³¹ ont récemment publié une famille d'azolés basés sur la structure de l'itraconazole :

¹³⁰ Sun Q.Y. *et al.* *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 1151-1157.

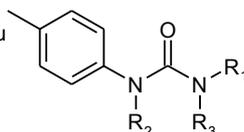
¹³¹ Pinori M. *et al.* Brevet européen EP1673368 publié le 28 juin **2006**.



A : CH ou N

Het : pyridines, pyrimidines, pyrazines, thiophènes, oxazoles, pyrroles...

B : formyle, acétyle, propanoyle... ou



R₁ : H ou chaîne alkyle hydroxylée de C₁ à C₆

R₂, R₃ : H, -CH=N-, -N=CH-, -CH=CH-, -CH₂-CH₂-

Figure 83 : Dérivés azolés à activité antifongique

Les composés étudiés ont été évalués *in vitro* sur *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *A. fumigatus* (CI₅₀ comprises entre < 0,03 et > 64 mg/mL) et ont montré un impact limité sur des cytochromes habituellement touchés par des azolés (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 et CYP3A4).

III- Travaux antérieurs et objectifs de recherche

1- Travaux antérieurs réalisés au Laboratoire

1-1- Présentation du chef de file : le NL114

Le Laboratoire s'est intéressé depuis longtemps à la synthèse d'inhibiteurs de la famille des azolés pouvant être utilisés dans le traitement des infections fongiques. Tous les inhibiteurs connus utilisés en thérapeutique possèdent un pharmacophore commun (**figure 84**) :

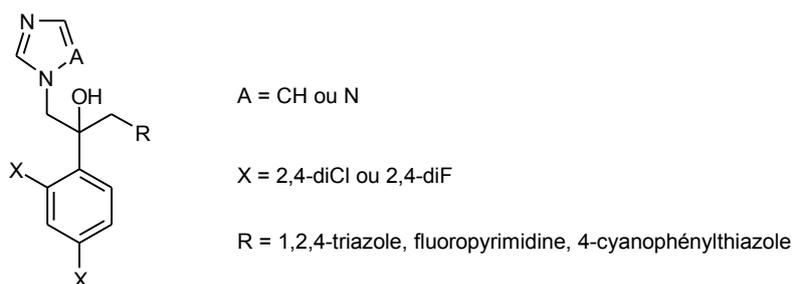


Figure 84 : Synthone commun à tous les inhibiteurs de la famille des azolés

Ce motif est constitué d'un hétérocycle azoté (imidazole ou triazole) lié à un cycle aromatique dihalogéné par l'intermédiaire d'un pont éthanol. Le groupement R est variable et fait la spécificité de chaque inhibiteur. Le Laboratoire, spécialisé dans la chimie de l'indole, s'est donc intéressé à greffer un noyau indole en cette position.

Un composé de la famille des triazolés a été synthétisé lors de précédents travaux.^{132,133} Sa structure est présentée sur la **figure 85**. La particularité de notre molécule réside dans la présence d'un noyau indole greffé par sa position 1.

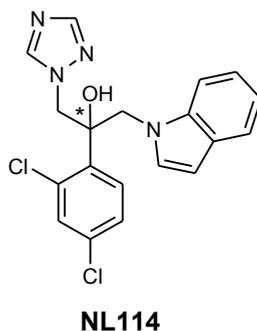


Figure 85 : Structure de notre chef de file dans la série antifongique

Ce composé a été testé sur des souches de *Candida albicans* et d'*Aspergillus fumigatus*. Comme nous le verrons ultérieurement, il s'est montré plus actif que le fluconazole

¹³² Lebouvier N. Thèse soutenue le 14 octobre 2004, Université de Nantes, France.

¹³³ Le Borgne M. *et al.* Brevet US 2004067998 A1 publié le 8 avril 2004.

et possède une activité voisine du voriconazole sur *Candida* alors qu'aucune activité n'est détectée sur *Aspergillus*. Il serait donc prometteur dans le traitement des candidoses.

1-2- Profil d'activité

Les deux isomères du chef de file ont été testés sur diverses souches fongiques *Candida* et *Aspergillus*. Cette partie présente les résultats pharmacologiques obtenus pour cette molécule.

a) Tests *in vitro* sur des souches *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*

Lors d'une première évaluation, le **NL114** a été testé sur des souches de *Candida albicans* CA98001 (souche sensible au fluconazole) et d'*Aspergillus fumigatus* AF98003.

Tableau 11 : Evaluation de base du chef de file et de ses isomères

Souche fongique	NL114	CI ₈₀ (µM)	CI ₈₀ (µM) des molécules de référence		
			fluconazole	voriconazole	itraconazole
<i>Candida albicans</i> CA98001	(+)-isomère R	> 1	0,630	0,043	/
	(-)-isomère S	0,007			
	racémique	0,012			
<i>Aspergillus fumigatus</i> AF98003	racémique	> 100	/	ND*	0,6

ND* : non déterminé

Il apparaît dans le **tableau 11** que ce composé n'a aucune activité sur la souche *Aspergillus* mais présente au contraire une sélectivité pour *Candida*. Les deux isomères présentent une activité différente puisque l'isomère *S* se trouve être largement plus actif que l'isomère *R*. Il est intéressant de noter que le mélange racémique présente une activité analogue à l'isomère le plus actif.

b) Tests *in vitro* sur un large spectre de souches *Candida* résistantes au fluconazole

Notre composé ne possédant pas d'activité sur *Aspergillus*, nous avons déterminé son spectre d'activité sur une large gamme de souches de *Candida* connues comme étant résistantes au fluconazole. Ainsi, douze souches différentes de *Candida krusei* ont été utilisées et l'activité de notre chef de file a pu être ainsi déterminée. Alors que le fluconazole possède une CI₈₀ supérieure à 1 µg/mL sur ces souches, notre composé présente une activité nettement supérieure. Sur l'ensemble des souches utilisées ici, les concentrations inhibitrices CI₈₀ du **NL114** sont comprises entre 0,05 et 0,28 µg/mL.

Il apparaît clairement que notre composé possède une très bonne activité antifongique *in vitro* sur plusieurs souches de *Candida* résistantes au fluconazole.

c) Test *in vivo*, modèle murin de candidose disséminée

Le composé **NL114** et ses deux énantiomères ont ensuite été administrés *per os* à des souris préalablement infectées par *C. albicans* pendant 5 jours. La dose quotidienne est de 60 mg/kg répartie en 3 prises.

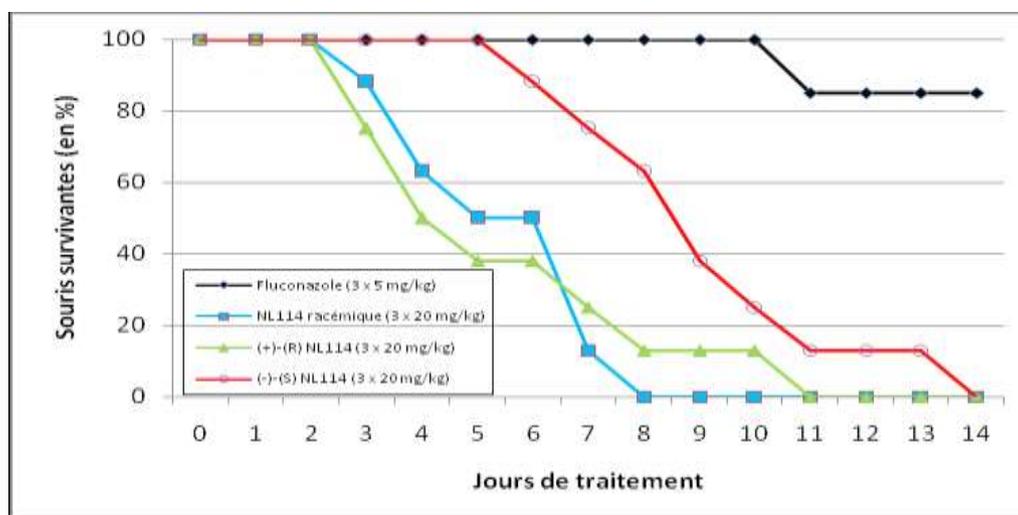


Figure 86 : Profil *in vivo* du **NL114** dans un modèle murin de candidose disséminée

Une fois de plus, l'isomère *S* s'est avéré plus actif que l'isomère *R* et que le racémique. Cependant, le fluconazole permet une survie plus longue (85% à 12 jours) que l'énantiomère *S* (12% à 12 jours) après l'arrêt du traitement. La forte activité *in vitro* rencontrée avec notre chef de file ne semble pas être confirmée lors de cette évaluation.

Dans la poursuite de nos travaux de relations structure-activité, une nouvelle famille d'analogues a été préparée au Laboratoire en remplaçant le noyau indole par divers hétérocycles azotés. Ainsi, un noyau indazole, 7-azaindole ou autres benzotriazoles et benzimidazole ont été introduits.¹³⁴ Le noyau indole a également été remplacé par une indoline et un 5-aminoindole. Ces composés ont été évalués *in vitro*. Seule une molécule, l'analogue 7-azaindole a montré une activité voisine de celle du **NL114**. De plus, *in vivo*, ce composé ne s'est pas révélé supérieur à notre chef de file.

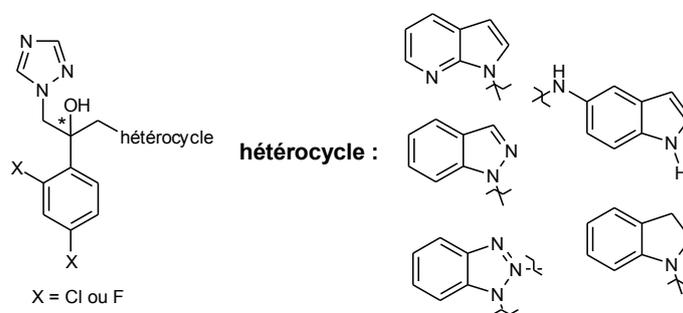


Figure 87 : Optimisation du chef de file par modification de l'hétérocycle

¹³⁴ Lebouvier N. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3686-3689.

2- Définition des objectifs

2-1- Travail de pharmacochimie sur le NL114

Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à préparer des analogues du **NL114**. Ces analogues doivent permettre d'augmenter l'activité de notre composé et d'élargir son spectre d'activité à d'autres souches de champignons (*Aspergillus...*).

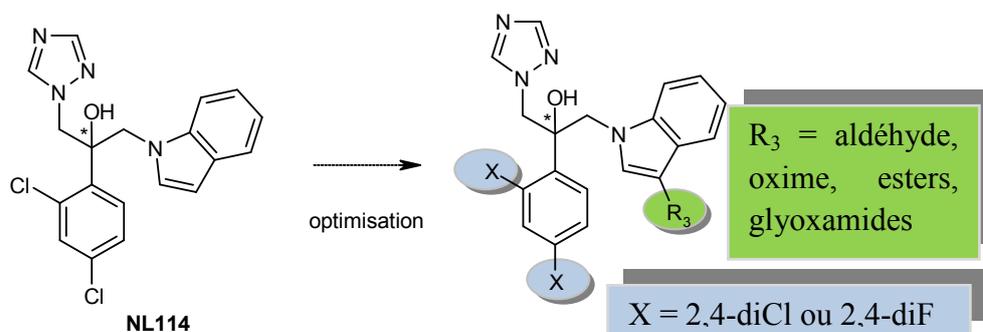


Figure 88 : Optimisation du **NL114** par des pharmacomodulations en position 3

Les pharmacomodulations ont consisté à introduire sur la position 3 de l'indole, position la plus réactive, des substituants susceptibles de créer des liaisons hydrogène avec la cible et/ou améliorer le profil pharmacocinétique. Dans cette optique, des groupes aldéhydes, oximes, esters et autres glyoxamides ont donc été envisagés (**figure 88**).

2-2- Conception d'un modèle informatique de la cible et proposition de nouveaux 2-(2,4-dihalogénophényl)-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

A la suite de ces travaux, nous avons envisagé d'orienter de manière rationnelle nos recherches grâce à l'outil informatique. Pour cela, l'étude s'est portée sur la conception de nouveaux composés à activité antifongique à partir de la modélisation moléculaire. Toutefois, comme 90% des cibles thérapeutiques, la structure 3D de notre cible (l'enzyme lanostérol 14 α -déméthylase) n'est pas encore connue. Aucune structure cristallographique nous apportant des informations essentielles sur la cible n'est connue à ce jour.

Pour palier à ce problème, nous avons utilisé la modélisation par homologie comparative qui consiste en la construction d'un modèle 3D d'une protéine donnée, en prenant pour base les coordonnées d'une (ou plusieurs) structure(s) homologue(s) présentant une similarité de séquence significative (>30%) et stockées dans la RCSB Protein Databank (PDB).¹³⁵

¹³⁵ Protein DataBank <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.

Cette technique repose sur un principe simple : la structure tertiaire d'une protéine (son repliement 3D) est plus conservée que sa structure primaire (sa séquence en acides aminés) au cours de son évolution. Ainsi, deux protéines qui partagent la même fonction, partagent aussi un même repliement 3D.

A partir de ce modèle, une analyse du site actif de la cible devrait nous permettre d'envisager de nouvelles séries d'azolés à activité antifongique (**figure 89**).

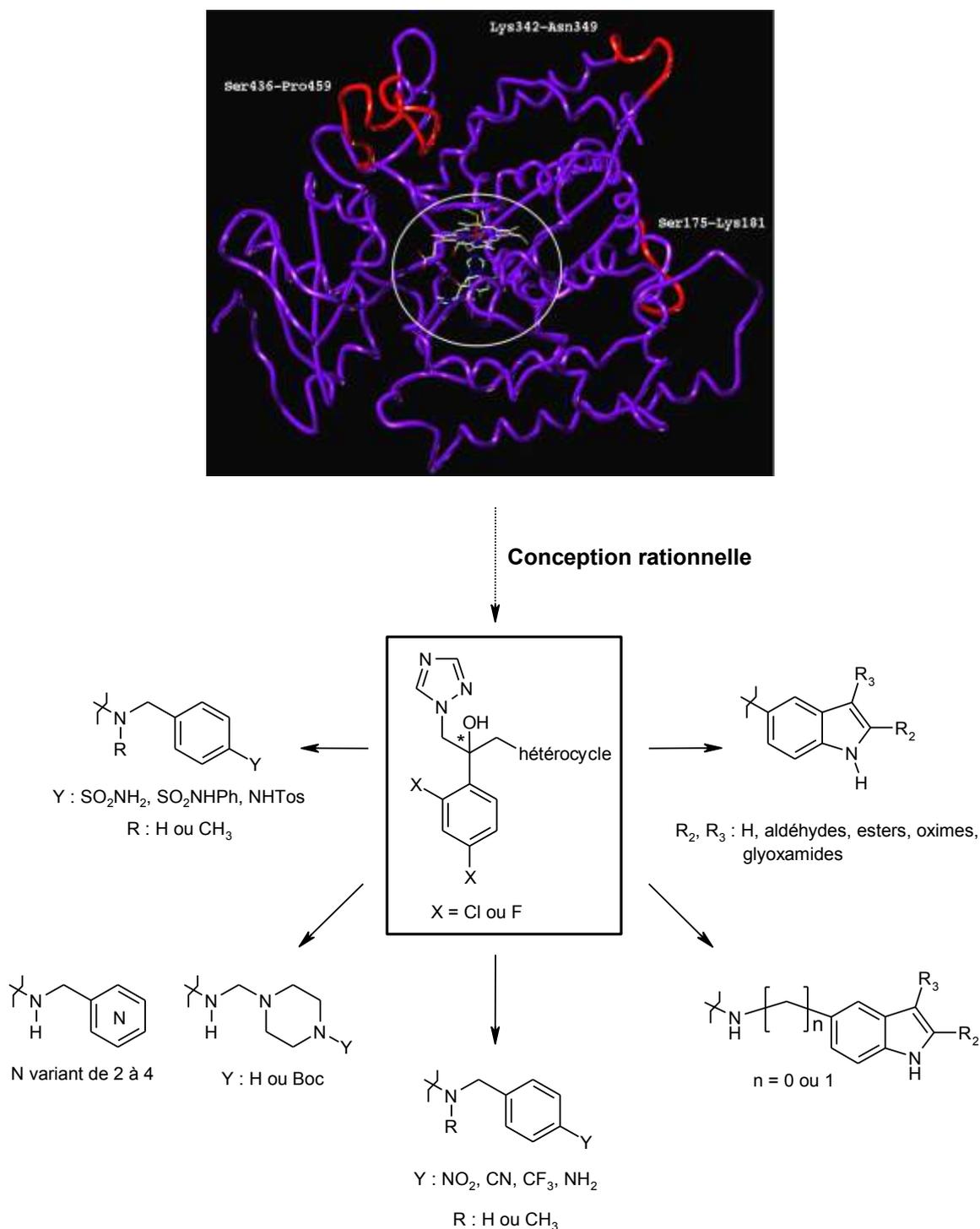


Figure 89 : Apport de la modélisation moléculaire à la conception de nouvelles structures antifongiques

IV- Synthèse d'analogues du 2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1H-indol-1-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol

1- Préparation des 2-phényl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropanes

La préparation de ces composés est réalisée facilement en 3 étapes avec des techniques classiques de chimie organique :

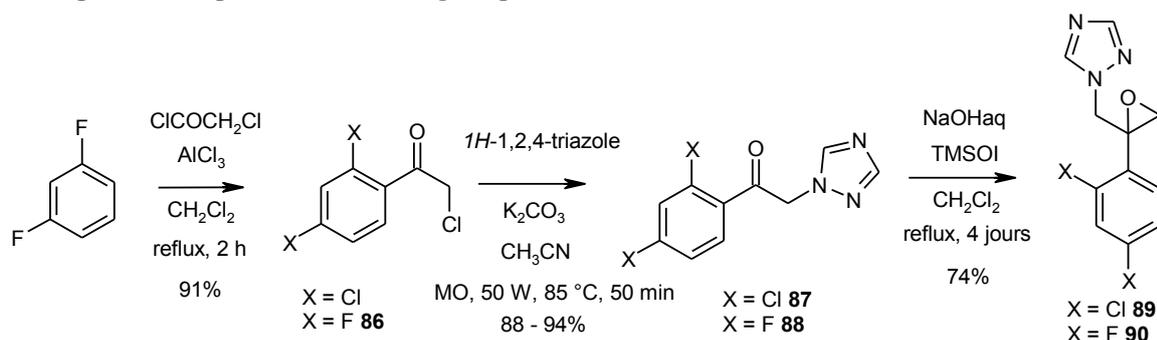


Figure 90 : Synthèse des 2-(2,4-dihalogénophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropanes

Par acylation de Friedel-Crafts sur le 1,3-difluorobenzène, la 2-chloro-2',4'-difluoroacétophénone **86** 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 et ne présente pas de sous-produits contrairement à un chauffage conventionnel. Les dérivés **87** et **88** obtenus sont alors convertis en époxyde en utilisant la réaction de Corey-Chaykovsky¹³⁶ et conduisent aux composés **89** et **90** avec un rendement de 74%.

Le mécanisme de cette réaction est détaillé ci-dessous :

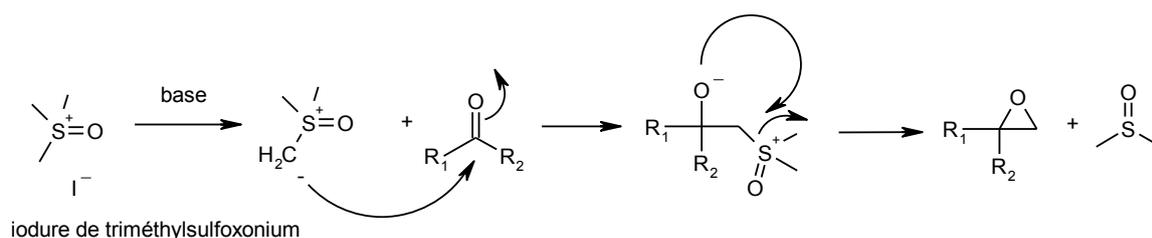


Figure 91 : Mécanisme de la réaction de formation de l'époxyde selon Corey-Chaykovsky

Nous avons mis au point une technique utilisant les micro-ondes pour la préparation de ces époxydes.¹³⁷ Les conditions expérimentales ont été changées comme suit :

¹³⁶ Pour un aperçu bibliographique sur la réaction de formation de l'époxyde : (a) Corey E.J. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 867-868 ; (b) Corey E.J. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3782-3783 ; (c) Corey E.J. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353-1364.

¹³⁷ Lebouvier N. *et al. Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6479-6483.

le dichlorométhane est remplacé par le toluène, l'irradiation se fait sous 10 W pendant 50 minutes, à 80 °C, avec un montage ouvert. L'époxypropane est alors obtenu plus rapidement avec un rendement de 97%. Le four à micro-ondes ne nous permet d'utiliser que des ballons de 100 mL et limite le mélange réactionnel à 2 grammes de produit. Cependant, pour des soucis de travail à grande échelle (jusqu'à 25 g de produit), le chauffage classique au bain d'huile sera préféré pour la suite de nos travaux.

2- Préparation des analogues du NL114

Pour préparer ces composés, la stratégie de synthèse décrite sur la **figure 92** sera employée. La diversité moléculaire sera tout d'abord introduite sur les noyaux indole, lesquels seront ensuite mis en réaction avec les époxydes **89** et **90** lors de la dernière étape de la synthèse :

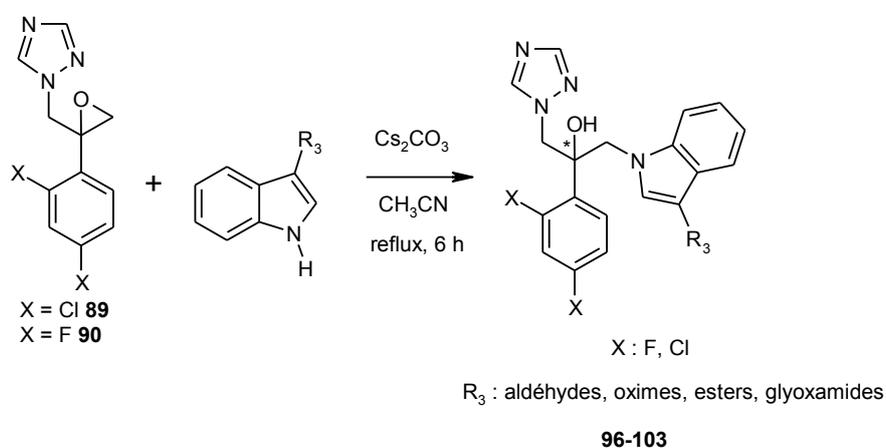


Figure 92 : Stratégie de synthèse pour la préparation des composés **96** à **103**

Ce schéma de synthèse très convergent nous a permis, à partir d'un lot important des époxydes **89** et **90**, de préparer rapidement des analogues du chef de file.

Les indoles fonctionnalisés en position 3 sont préparés assez facilement en une ou deux étapes à partir de dérivés commerciaux. La chimie utilisée est décrite de nombreuses fois dans la littérature.

2-1- Préparation des esters **91** et **92**

L'introduction d'un motif aldéhyde sur la position 3 de l'indole est réalisée grâce à la réaction de Vilsmeier-Haack (selon la méthode décrite page 55 ou page 67, chapitre antileishmaniens). Dans des conditions classiques (POCl₃/DMF), le *1H*-indol-3-carbaldéhyde **5** est obtenu avec un rendement de 87%.

Plusieurs méthodes existent pour la préparation d'esters en position 3 du noyau indole. Partant de l'acide indole 3-carboxylique, un chauffage au reflux de l'éthanol en présence d'une quantité catalytique d'acide sulfurique conduit au carboxylate d'éthyle correspondant avec un faible rendement de 26% (Méthode A, **figure 93**). Afin d'optimiser ce

rendement nous avons fait appel à une autre méthode,¹³⁸ basée sur la réactivité de l'indole 3-carboxylate (Méthode B, **figure 93**). Cette synthèse permet de préparer facilement des dérivés plus originaux.

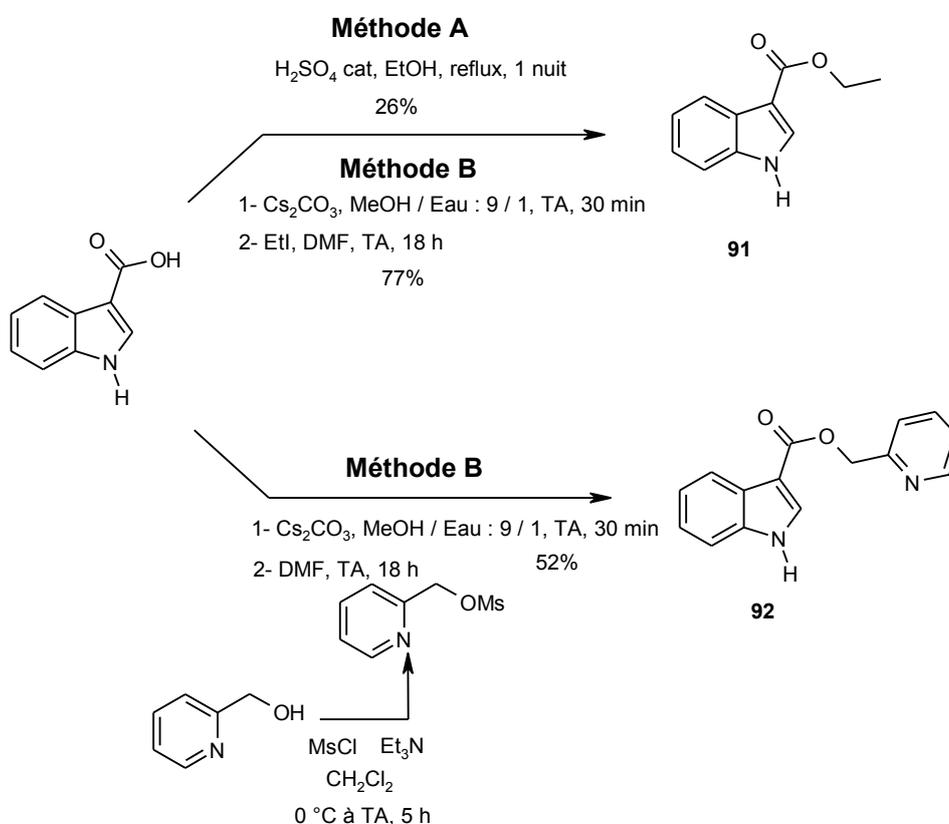


Figure 93 : Préparation des esters **91** et **92**

Dans un premier temps, l'acide indole 3-carboxylique commercial réagit avec le carbonate de césium pour former l'ion carboxylate correspondant. Ce dernier déplace l'iodure d'éthyle pour donner le dérivé **91** avec 77% de rendement. En parallèle, le pyridyl-2-carbinol est converti en mésylate (non isolé) puis mis en réaction avec le carboxylate de l'indole préalablement formé. Nous obtenons le *1H*-indole-3-ylcarboxylate de pyridin-2-ylméthyle **92** avec 52% de rendement.

2-2- Préparation des glyoxamides 93-95

Les divers glyoxamides sont introduits en position 3 de l'indole en deux étapes (**figure 94**).

La synthèse fait intervenir dans un premier temps, le chlorure d'oxalyle qui réagit sur la position 3 de l'indole pour donner le chlorure de *1H*-indol-3-yl(oxo)acétyle. En parallèle, les différentes amines sont mises en réaction avec une base (triéthylamine ou hydrure de sodium) pour renforcer la nucléophilie du groupe N-H. Finalement, ces dernières réagissent sur le chlorure d'oxoacétyle précédemment formé (**tableau 12**).

¹³⁸ Vedejs E. *et al. J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1794-1799.

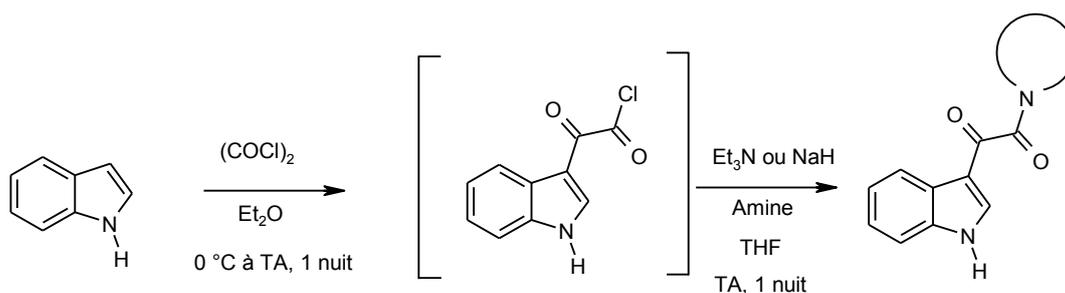
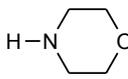
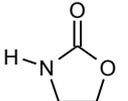
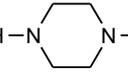


Figure 94 : Schéma de synthèse des glyoxamides

Tableau 12 : Amines utilisées pour l'obtention des divers glyoxamides

N°	Amine	Base	Rdt (%)
93	 morpholine	Et_3N	91
94	 oxazolidin-2-one	Et_3N	97
95	 <i>N</i> -méthylpipérazine	NaH	89

Quelles que soient les conditions expérimentales utilisées, nous obtenons avec de très bons rendements les glyoxamides **93-95**.

2-3- Formation des produits finaux 96-103

La dernière étape de notre synthèse consiste à faire réagir les intermédiaires aldéhydes, esters et glyoxamides avec les époxydes **89** et **90**. Tous ces composés possèdent en position 3 un groupe électroattracteur, rendant le proton indolique plus acide. Une base faible de type carbonate sera donc utilisée ici. Ainsi, dans un premier temps, l'indole est mis en réaction en présence de carbonate de césium au reflux de l'acétonitrile pendant 2 heures avant d'ajouter les époxydes. Le sel de l'indole formé préalablement réagit sur le sommet le moins encombré des époxydes par addition nucléophile et provoque l'ouverture de cycle :

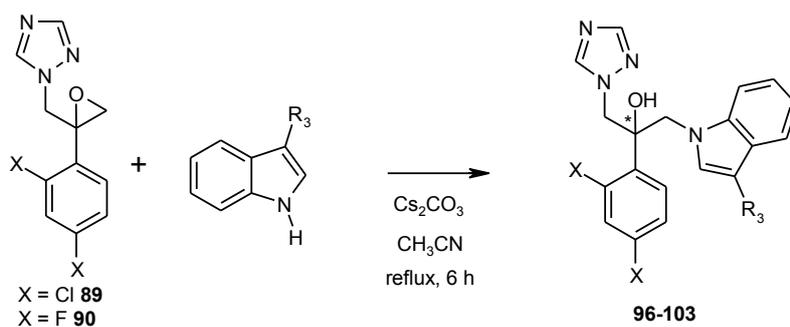


Figure 95 : Ouverture des époxydes **89** et **90** par les dérivés **91-95**

Les rendements et les références des produits obtenus sont rassemblés dans le **tableau 13**. La réaction d'ouverture des époxydes par les dérivés indoliques substitués en position 3 a permis d'isoler huit composés avec des rendements variables (de 28 à 74%).

Tableau 13 : Produits obtenus par réaction d'addition nucléophile sur les époxydes **89** et **90**

N°	R ₃	X	Rdt (%)
96	CHO	Cl	28
97		F	47
98	COOEt	Cl	48
99		F	74
100	COO-2-pyridine	Cl	36
101		F	49
102	COCO-Morpholine	Cl	46
103		F	57

Les deux glyoxamides **94** et **95** n'ont pu être engagés dans la réaction, ils sont insolubles dans l'acétonitrile et ne réagissent pas. Des essais ont été réalisés en changeant le carbonate de césium par de l'hydruure de sodium dans le DMF mais aucune réaction n'est observée. La modification des temps de chauffage s'est également avérée infructueuse.

2-4- Préparation des oximes **104** et **105**

Afin de préparer les deux derniers analogues du chef de file, nous avons réalisé la conversion du motif aldéhyde des composés **96** et **97** en oxime :

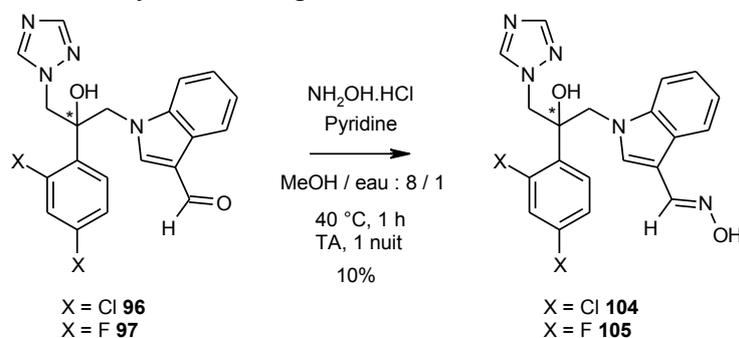


Figure 96 : Stratégie de synthèse des analogues indol-3-yl carbaldéhyde oximes

Les deux composés finaux **104** et **105** analogues de notre chef de file ont été isolés avec un rendement faible de 10% qui peut s'expliquer par les difficultés rencontrées lors de l'étape de purification.

3- Evaluation pharmacologique et discussion

3-1- Principe des tests d'évaluation

Ces protocoles ont été standardisés au sein du Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de Pharmacie de Nantes.¹³⁹ Ces tests fluorimétriques sont réalisés sur une microplaque de 96 puits.

3-1-1- Test *in vitro* sur des souches de *Candida*

a) 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, amphotéricine B, kétoconazole et fluconazole 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.

b) 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.

¹³⁹ Pagniez F. *et al. J. Mycol. Med.* **2001**, *11*, 73-78.

c) 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 CI₉₀ pour l'amphotéricine B et à la CI₈₀ pour les azolés.

3-1-2- Test *in vitro* sur la souche d'*Aspergillus fumigatus* AF98003

a) 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.

b) 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.

c) Incubations 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.

3-2- Résultats pharmacologiques et discussion

Douze nouvelles molécules ont été préparées et évaluées sur des souches *Candida albicans* CA98001 (souche sensible au fluconazole) et *Aspergillus fumigatus* AF98003 (Tableaux 14 et 15 pages 204-205).

Les résultats indiquent que ces composés sont toujours inactifs sur *Aspergillus fumigatus* ($CI_{80} > 100 \mu\text{M}$) mais qu'aucun n'atteint le niveau du chef de file sur *Candida albicans* ($R_3 = \text{H}$, **NL114**).

Il semblerait toutefois qu'un groupe rigide et volumineux sur la position 3 aboutisse à une diminution des activités antifongiques. En effet, les composés **100** ($X = 2,4\text{-diCl}$, $R_3 = \text{COOCH}_2\text{-2-pyridine}$, $CI_{80} = 4,8 \mu\text{M}$) et **101** ($X = 2,4\text{-diF}$, $R_3 = \text{COOCH}_2\text{-2-pyridine}$, $CI_{80} = 6,3 \mu\text{M}$) d'une part et **102** ($X = 2,4\text{-diCl}$, $R_3 = \text{COCO-morpholine}$, $CI_{80} = 6,9 \mu\text{M}$) et **103** ($X = 2,4\text{-diF}$, $R_3 = \text{COCO-morpholine}$, $CI_{80} > 100 \mu\text{M}$) d'autre part, font partie des structures les plus rigides et encombrantes de cette série. Elles sont au minimum 100 fois moins actives que leurs analogues **96** ($X = 2,4\text{-diCl}$, $R_3 = \text{CHO}$, $CI_{80} = 44 \text{ nM}$) et **104** ($X = 2,4\text{-diCl}$, $R_3 = \text{CHNOH}$, $CI_{80} = 70 \text{ nM}$). Une certaine restriction stérique serait donc un élément important dans l'interaction des dérivés du **NL114** avec l'enzyme.

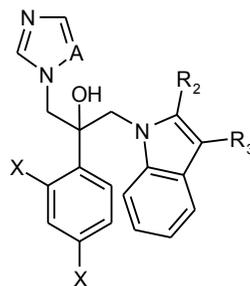
4- Conclusion

Les pharmacomodulations introduites sur notre chef de file n'ont pas permis d'augmenter l'activité antifongique. Le **NL114** reste l'unique composé, issu du Laboratoire, actif sur *Candida albicans* à une très faible concentration.

Par la suite, nos travaux se sont orientés vers une approche plus rationnelle.

L'outil de la modélisation moléculaire a été mis en œuvre pour développer un modèle tridimensionnel de l'enzyme cible : la lanostérol 14α -déméthylase. A travers ce modèle, une observation plus précise du site actif de l'enzyme pourra être faite. L'analyse de la nature des différents acides aminés le composant devrait nous permettre d'une part, de mieux interpréter les relations structure-activité sur cette première série de composés issue de notre chef de file et d'autre part, d'envisager la synthèse d'une nouvelle classe d'inhibiteurs azolés. La recherche de la complémentarité maximale (stérique et électronique) entre le site actif et les substituants chimiques introduits sur nos structures devrait nous conduire à la découverte de molécules plus actives.

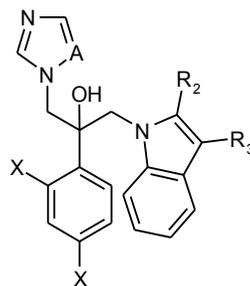
Tableau 14 : Evaluation des 2-(2,4-dihalogénophényl)-3-(1H-indol-1-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols



N°	A	R ₂	R ₃	X	CMI ou CI ₈₀			
					<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
					μM	μg/mL	μM	μg/mL
96	N	H	CHO	2,4-diCl	0,044±0,003	0,018±0,0012	>100	-
97	N	H	CHO	2,4-diF	0,48±0,02	0,18±0,008	>100	-
98	N	H	COOC ₂ H ₅	2,4-diCl	0,64±0,03	0,29±0,014	>100	-
99	N	H	COOC ₂ H ₅	2,4-diF	0,76±0,15	0,32±0,064	>100	-
NL177	N	H	CH ₂ COOC ₂ H ₅	2,4-diCl	0,0127	0,006±0,0030	>100	-
NL328	N	H	CH ₂ COOC ₂ H ₅	2,4-diF	0,068±0,007	0,024±0,0030	>100	-
NL370	N	H	(CH ₂) ₂ COOC ₂ H ₅	2,4-diCl	0,68±0,06	0,33±0,0300	>100	-
104	N	H	CH=N-OH	2,4-diCl	0,07±0,01	0,03±0,0043	>100	-
105	N	H	CH=N-OH	2,4-diF	0,76±0,02	0,30±0,0080	>100	-
AMB*					0,12±0,01	0,12±0,01	0,15±0,04	0,14±0,04
KTC					0,0094	0,005	-	-
FLC					0,63±0,02	0,19±0,006	-	-
ITC					-	-	0,6±0,06	0,42±0,04
VOC					0,043	0,015	-	-

* AMB : CMI = CI₉₀ pour *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* (cadre rouge).

Tableau 15 : Evaluation des 2-(2,4-dihalogénophényl)-3-(1H-indol-1-yl)-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols (suite)



N°	A	R ₂	R ₃	X	CMI ou CI ₈₀			
					<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
					μM	μg/mL	μM	μg/mL
100	N	H	COO-CH ₂ -(2-pyr)	2,4-diCl	4,8±0,7	2,44±0,36	>100	-
101	N	H	COO-CH ₂ -(2-pyr)	2,4-diF	6,3±0,1	3,00±0,05	>100	-
102	N	H	CO-CO-morpholine	2,4-diCl	6,9±0,2	3,65±0,11	>100	-
103	N	H	CO-CO-morpholine	2,4-diF	>100	-	>100	-
AMB*					0,12±0,01	0,12±0,01	0,15±0,04	0,14±0,04
KTC					0,0094	0,005	-	-
FLC					0,63±0,02	0,19±0,006	-	-
ITC					-	-	0,6±0,06	0,42±0,04
VOC					0,043	0,015	-	-

* AMB : CMI = CI₉₀ pour *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* (cadre rouge).

5- Partie expérimentale

Type de réaction	Méthode	Conditions opératoires	Pages
Acylation Friedel-Crafts	G	AlCl ₃ /ClCOCH ₂ Cl/CH ₂ Cl ₂ /reflux	209
NI-alkylation du triazole	H	<i>1H</i> -1,2,4-triazole/CH ₃ CN/MO/50W/85 °C	210-211
Formation de l'époxyde	I	TMSOI/NaOH/CH ₂ Cl ₂ /reflux	212-213
Estérification	J1	EtOH/H ₂ SO ₄ /reflux	214
	J2	1-Cs ₂ CO ₃ /MeOH-eau/TA 2-R-X ou R-OMs/DMF/TA	214-215
Formation d'un glyoxamide	K	1-(COCl) ₂ /Et ₂ O/0 °C à TA 2-Amine/Et ₃ N ou NaH/THF/TA	216-218
Ouverture d'époxyde	L1	Indole N-H/Cs ₂ CO ₃ /CH ₃ CN/reflux	219-226
	L2	NaY/NaOAc/AcOEt/AcOH/TA	256-257
	L3	TMSY/PPH ₃ /CH ₂ Cl ₂ /TA	258-259
	L4	Na/Naphtalène/Ph ₃ SnCl/THF/TA	260
	L5	Indole NH ₂ /K ₂ CO ₃ /DMF/90 °C	278
	L6	NaN ₃ /NH ₄ Cl/MeOH/reflux	281-282
Formation d'oxime	M	NH ₂ OH.HCl/pyridine/MeOH-eau/40 °C puis TA	227-228
Formation d'acide boronique	N	KH/t-BuLi/BO(iPr) ₃ /THF/- 78°C à TA	255
Réduction	O1	H ₂ (10 atm)/Pd/C(10%)/EtOH/TA	277
	O2	H ₂ (3 bars)/PtO ₂ /EtOH/CHCl ₃	280
	O3	H ₂ (5 bars)/Pd/C(5%)/EtOH/TA	283-284, 286, 314
Cyanation	P	CuCN/DMF/reflux	279
Substitution nucléophile	Q	PhCH ₂ Br/(iPr) ₂ NEt/CH ₃ CN/TA	285, 299-300, 309-310, 341-342

Iodation	R	ICl/AcOH/TA	287
Couplage de Sonogashira	S	TMS-acétylène/PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ /CuI/Et ₃ N/CH ₂ Cl ₂ /TA	288
Echange Br/CHO	T	KH/t-BuLi/DMF/THF/-78°C à TA	289
Protection d'un atome d'azote	U1	DMAP/Et ₃ N/PhCOCl/CH ₂ Cl ₂ /TA	290
	U2	NaH/DMF/Boc ₂ O/TA	296
	U3	Boc ₂ O/CH ₂ Cl ₂ /TA	333
Amination réductrice	V1	NaBH ₃ CN/AcOH/MeOH/CH ₂ Cl ₂ /TA	291-293, 327-332, 335-336
	V2	HCHO/NaBH ₃ CN/AcOH/MeOH/TA	311-313
Déprotection d'un benzoyle	W	NaOH 2M/MeOH/60 °C	294-295
Oxydation de Swern	X	(COCl) ₂ /DMSO/Et ₃ N/CH ₂ Cl ₂ /-70°C	334
Déprotection Boc	Y	TFA/CH ₂ Cl ₂ /TA	337-338
Préparation d'un sulfonamide	Z1	NH ₄ OH/THF/0°C à TA	339
	Z2	ArSO ₂ Cl/PhNH ₂ /Et ₃ N/CH ₂ Cl ₂ /TA	340
	Z3	ArNH ₂ /TsCl/pyridine/0°C à TA	343-344

2-Chloro-2',4'-difluoroacétophénone (86)

Méthode G :

Dans chacun des 6 ballons de 100 mL du carrousel, placer 2,57 g (19,3 mmol) de trichlorure d'aluminium et 2,18 g (19,3 mmol) de chlorure de chloroacétyle dans 40 mL de dichlorométhane. Agiter pendant 1 heure à température ambiante. Ajouter alors 2 g (1,71 mL ; 17,5 mmol) de 1,3-difluorobenzène. Agiter et chauffer à reflux pendant 1,5 heure.

Ajouter lentement de l'eau (réaction exothermique) et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer.

Poudre blanche

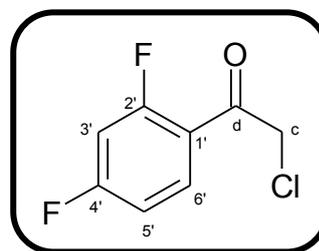
$C_8H_5ClF_2O$

$M_r = 190,58$

$R_f = 0,75$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 50-51$ (dichlorométhane)

Rendement = 91%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,09 (2 H, s, H_c) ; 7,32 (1 H, ddd, $^3J_{HH} = ^3J_{HF} = 8,4$ Hz, $^4J_{HH} = 2,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,51 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 11,6$ Hz, $^3J_{HF} = 9,5$ Hz, $^4J_{HH} = 2,4$ Hz, $H_{3'}$) ; 8,04 (1 H, d, $^3J_{HH} = 8,4$ Hz, $H_{6'}$).

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

748 (v C-Cl) ; 1097 (v C-F) ; 1430, 1512 (v C=C) ; 1620 (v C=O).

2-(1*H*-1,2,4-Triazol-1-yl)-2',4'-dichloroacétophénone (87)

Méthode H :

Mélanger 2 g (8,9 mmol) de 2,2',4'-trichloroacétophénone, 1,24 g (17,9 mmol) de 1*H*-1,2,4-triazole et 2,47 g (17,9 mmol) de carbonate de potassium anhydre dans 40 mL d'acétonitrile. Agiter sous irradiation micro-ondes (50 W, 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 au dichlorométhane et sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Evaporer la phase organique.

Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant tout d'abord par du dichlorométhane pur puis par un mélange dichlorométhane / éthanol : 10 / 1.

Poudre orange

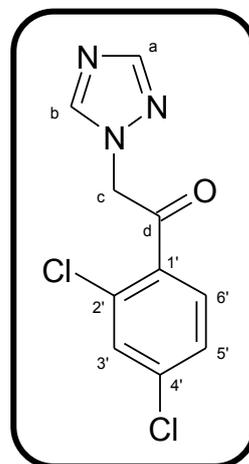
$C_{10}H_7Cl_2N_3O$

$M_r = 256,09$

$R_f = 0,35$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

$F^{\circ}C = 106-107$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

Rendement = 88%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

5,88 (2 H, s, H_c) ; 7,69 (1 H, dd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,86 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 8,00 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{6'}$) ; 8,07 (1 H, s, H_b) ; 8,57 (1 H, s, H_a).

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

811 (ν C-Cl) ; 1273 (ν C-N) ; 1424, 1504, 1583 (ν C=C et ν C=N) ; 1712 (ν C=O).

2-(1*H*-1,2,4-Triazol-1-yl)-2',4'-difluoroacétophénone (88)

Selon la méthode H (décrite p 210) :

Poudre jaune

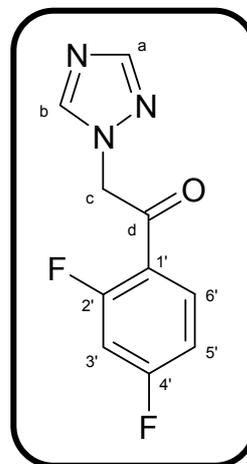
C₁₀H₇F₂N₃O

M_r = 223,18

R_f = 0,53 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

F°C = 98-99 (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

Rendement = 94%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

5,88 (2 H, s, H_c) ; 7,35 (1 H, ddd, ³J_{HH} = ³J_{HF} = 8,4 Hz, ⁴J_{HH} = 2,4 Hz, H_{5'}) ; 7,58 (1 H, ddd, ³J_{HF} = 11,6 Hz, ³J_{HF} = 9,5 Hz, ⁴J_{HH} = 2,4 Hz, H_{3'}) ; 8,04 (1 H, d, ³J_{HH} = 8,4 Hz, H_{6'}) ; 8,06 (1 H, s, H_b) ; 8,53 (1 H, s, 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-Dichlorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane (89)

Méthode I :

Dissoudre 1,91 g (7,46 mmol) de **87** dans 60 mL de dichlorométhane. Ajouter 3,34 g (14,92 mmol) d'iodure de triméthylsulfoxonium puis 2,98 g (74,6 mmol) de soude préalablement dissous dans 15 mL d'eau. Agiter la suspension à reflux pendant 4 jours.

Ajouter une solution de chlorure de sodium saturée et extraire au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Evaporer la phase organique.

Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie rapide sur gel de silice en éluant tout d'abord par du dichlorométhane pur puis par un mélange dichlorométhane / éthanol : 10 / 1.

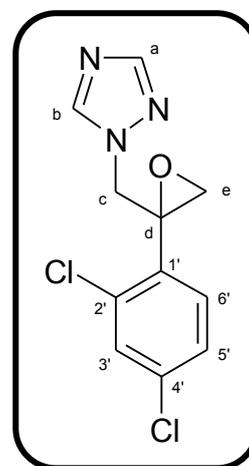
Huile brune

$C_{11}H_9Cl_2N_3O$

$M_r = 270,12$

$R_f = 0,15$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

Rendement = 74%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,97 (1 H, d, $^2J = 4,57$ Hz, H_e) ; 3,16 (1 H, d, $^2J = 4,57$ Hz, H_e) ; 4,58 (1 H, d, $^2J = 14,9$ Hz, H_c) ; 4,90 (1 H, d, $^2J = 14,9$ Hz, H_c) ; 7,14 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,39 (1 H, dd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,70 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,95 (1 H, s, H_b) ; 8,43 (1 H, s, H_a).

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

827 (ν C-Cl) ; 1275 (ν C-N) ; 1377 (ν C-O-C) ; 1474, 1507, 1587 (ν C=C et ν C=N).

2-(2,4-Difluorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane (90)

Selon la méthode I (décrite p 212):

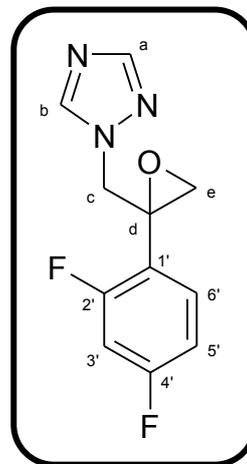
Huile brune

$C_{11}H_9F_2N_3O$

$M_r = 237,21$

$R_f = 0,15$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

Rendement = 74%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,97 (1 H, d, $^2J = 4,57$ Hz, H_e) ; 3,16 (1 H, d, $^2J = 4,57$ Hz, H_e) ; 4,58 (1 H, d, $^2J = 14,9$ Hz, H_c) ; 4,90 (1 H, d, $^2J = 14,9$ Hz, H_c) ; 7,14 (1 H, ddd, $^3J_{HH} = 8,2$ Hz, $^4J_{HF} = 2,4$ Hz, $^4J_{HF} = 0,9$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,39 (1 H, td, $^3J_{HF} = 10,3$ Hz, $^3J_{HH} = 8,5$ Hz, $^4J_{HH} = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,70 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 10,3$ Hz, $^3J_{HH} = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,95 (1 H, s, H_b) ; 8,43 (1 H, s, H_a).

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

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

3-Ethoxycarbonyl-1H-indole (91)

Méthode J1 :

Dissoudre 1 g (6,20 mmol) d'acide indole-3-carboxylique dans 8 mL d'éthanol et ajouter 33 μ L (0,62 mmol) d'acide sulfurique concentré. Agiter à reflux pendant la nuit.

Evaporer le mélange réactionnel. Reprendre par de l'acétate d'éthyle, laver avec une solution à 2% d'hydrogencarbonate de sodium et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant par du dichlorométhane (rendement = 26%).

Méthode J2 :

Placer 500 mg (3,10 mmol) d'acide indole-3-carboxylique dans 15 mL d'un mélange méthanol/eau : 9/1. Ajouter 959 mg (2,94 mmol) de carbonate de césium dissous dans 4 mL d'eau (solution à 20%) et agiter pendant 30 minutes à température ambiante. Evaporer le mélange réactionnel à sec et reprendre le résidu par 9 mL de DMF. Ajouter 0,27 mL (3,42 mmol) d'iodoéthane et agiter à température ambiante sous argon pendant 18 heures.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Laver abondamment à l'eau, sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec du dichlorométhane.

Poudre beige

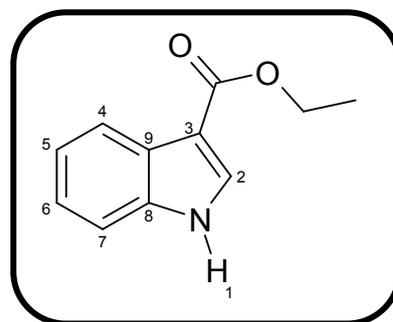
$C_{11}H_{11}NO_2$

$M_r = 189,22$

$R_f = 0,20$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 112-113$ (dichlorométhane)

Rendement = 77%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,37 (3 H, t, $^3J = 7,0$ Hz, CH_3) ; 4,30 (2 H, q, $^3J = 7,0$ Hz, CH_2) ; 7,22-7,25 (2 H, m, H_5, H_6) ; 7,51-7,54 (1 H, m, H_7) ; 8,01-8,04 (1 H, m, H_4) ; 8,10 (1 H, d, $^3J = 3,0$ Hz, H_2) ; 11,95 (1 H, s, H_1).

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

1441, 1529 ($\nu C=C$) ; 1634 ($\nu C=O$) ; 2917 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3255 ($\nu N-H$).

2-(Pyridin-2-yl)éthoxycarbonyl-1*H*-indole (92)

Formation du mésylate :

Dissoudre 373 mg (3,42 mmol) de 2-pyridylcarbinol dans 3 mL de dichlorométhane anhydre sous argon à 0 °C. Ajouter 0,48 mL (3,42 mmol) de triéthylamine et agiter pendant 30 minutes à 0 °C. Ajouter alors 0,29 mL (3,76 mmol) de chlorure de mésyle. La réaction est exothermique. Agiter pendant 3 heures à 0 °C.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Laver la phase organique avec de l'eau et sécher sur sulfate de sodium anhydre. Evaporer. Sans purification, on obtient 650 mg de produit brut directement utilisé (dans les 10 minutes) pour l'étape suivante. Vérifier la présence sur RMN ¹H d'un pic à 2,43 ppm correspondant au méthyle CH₃.

Réaction du mésylate :

Selon la méthode J2 décrite p 214

Poudre blanche

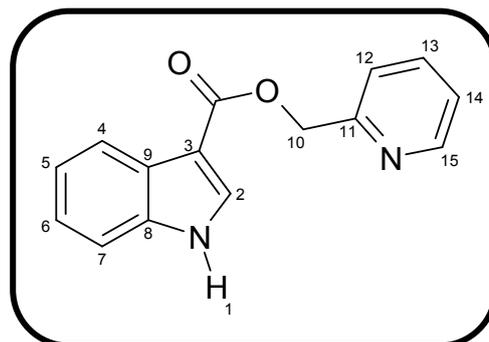
C₁₅H₁₂N₂O₂

M_r = 252,28

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

F°C = 138-139 (dichlorométhane)

Rendement global = 52%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

5,43 (2 H, s, H₁₀) ; 7,19-7,29 (2 H, m, H₅, H₆) ; 7,34-7,39 (1 H, m, H₁₄) ; 7,52-7,55 (2 H, m, H₇, H₁₂) ; 7,88 (1 H, ddd, ³J = ³J = 7,6 Hz, ⁴J = 1,8 Hz, H₁₃) ; 8,05 (1 H, dd, ³J = 9,1 Hz, ⁴J = 1,2 Hz, H₄) ; 8,24 (1 H, d, ³J = 3,0 Hz, H₂) ; 8,60-8,63 (1 H, m, H₁₅) ; 12,06 (1 H, s, H₁).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1159 (ν C-N) ; 1441, 1529 (ν C=C) ; 1700 (ν C=O) ; 2925 (ν C-H_{aliph.}) ; 3191 (ν N-H).

1-(1*H*-Indol-3-yl)-2-morpholin-4-yléthane-1,2-dione (93)

Méthode K :

Formation du chlorure de 1*H*-indol-3-yl(oxo)acétyle :

Mélanger 2,23 mL (25,6 mmol) de chlorure d'oxalyle dans 5 mL d'éther diéthylique anhydre sous argon à 0 °C. Ajouter lentement 3 g (25,6 mmol) d'indole dissous dans 10 mL d'éther diéthylique. Agiter en revenant progressivement à température ambiante pendant 1 nuit. Evaporer le mélange réactionnel.

Couplage avec une amine :

Sous argon à température ambiante, placer 4,48 mL (51,2 mmol) de morpholine et 7,86 mL (56,32 mmol) de triéthylamine dans 40 mL de THF anhydre. Placer un bain d'eau glacée sous le ballon. Après 20 minutes, ajouter lentement le chlorure de glyoxyle ci-dessus dissous dans 20 mL de THF anhydre et agiter la solution pendant 24 heures à température ambiante.

Filtrer le précipité et laver avec de l'acétate d'éthyle. Traiter le filtrat par une solution d'acide chlorhydrique 1M et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer.

Poudre beige

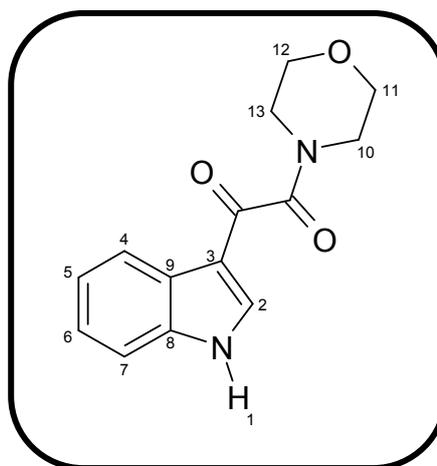
$C_{14}H_{14}N_2O_3$

$M_r = 258,28$

$R_f = 0,20$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 174-175$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 91%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,35-3,74 (8 H, m, H_{10} , H_{11} , H_{12} , H_{13}) ; 7,30-7,34 (2 H, m, H_5 , H_6) ; 7,58 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_7) ; 8,15 (1H, dd, $^3J = 8,6$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H_4) ; 8,25 (1 H, d, $^3J = 3,0$ Hz, H_2) ; 12,37 (1 H, s, H_1).

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

1440 (v C=C) ; 1616 (v C=O) ; 2930 (v C- $H_{aliph.}$) ; 3155 (v N-H).

1-(1*H*-Indol-3-yl)-2-(2-oxo-oxazolidin-3-yl)éthane-1,2-dione (94)

Selon la méthode K (décrite p 216) :

Poudre ocre

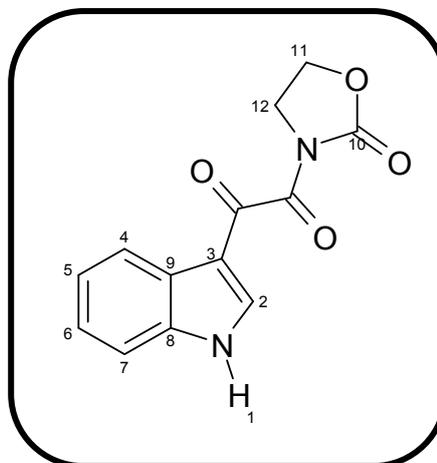
C₁₃H₁₀N₂O₄

M_r = 258,24

R_f = 0,3 (acétate d'éthyle)

F°C = 166-167 (acétate d'éthyle)

Rendement = 97%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

4,10 (2 H, t, ³J = 8,2 Hz, H₁₁) ; 4,59 (2 H, t, ³J = 8,2 Hz, H₁₂) ; 7,30-7,34 (2 H, m, H₅, H₆) ; 7,57 (1 H, d, ³J = 8,5 Hz, H₇) ; 8,13 (1H, dd, ³J = 8,5 Hz, ⁴J = 1,8 Hz, H₄) ; 8,26 (1 H, ³J = 3,0 Hz, H₂) ; 12,37 (1 H, s, H₁).

IR (KBr, cm⁻¹) :

1395 (ν C=C) ; 1690-1770 (ν C=O) ; 3246 (ν N-H).

1-(1*H*-Indol-3-yl)-2-(4-méthylpiperazin-1-yl)éthane-1,2-dione (95)

Selon la méthode K (décrite p 216) :

Sous argon à température ambiante, placer 743 mg (18,81 mmol) d'hydrure de sodium dans 10 mL de THF. Ajouter 2,08 ml (18,81 mmol) de *N*-méthylpiperazine et agiter pendant 20 minutes à température ambiante. Placer un bain d'eau glacée sous le ballon. Ajouter lentement chlorure de 1*H*-indol-3-yl(oxo)acétyle préalablement dissous dans 8 mL de THF anhydre et agiter la solution pendant 24 heures à température ambiante.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Laver la phase organique avec de l'eau et une solution d'acide chlorhydrique 1M. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer.

Poudre beige

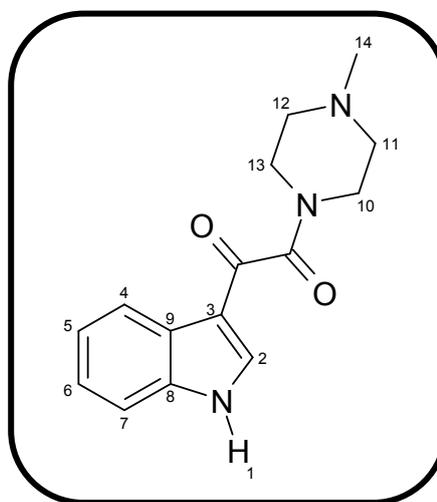
$C_{15}H_{17}N_3O_2$

$M_r = 271,32$

$R_f = 0,05$ (acétate d'éthyle / éthanol : 9 / 1)

$F^\circ C = 145-146$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 89%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,24 (3 H, s, H_{14}) ; 2,27 (2 H, t, $^3J = 4,2$ Hz, CH_2) ; 2,44 (2 H, t, $^3J = 4,2$ Hz, CH_2) ; 3,37 (2 H, t, $^3J = 4,2$ Hz, CH_2) ; 3,64 (2 H, t, $^3J = 4,2$ Hz, CH_2) ; 7,28-7,32 (2 H, m, H_5, H_6) ; 7,56-7,58 (1 H, m, H_7) ; 8,12-8,14 (1 H, m, H_4) ; 8,17 (1 H, t, $^3J = 5,2$ Hz, H_2) ; 12,34 (1 H, s, H_1).

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

1440 ($\nu C=C$) ; 1612 ($\nu C=O$) ; 2927 ($\nu C-H_{aliph.}$) ; 3160 ($\nu N-H$).

2-(2,4-Dichlorophényl)-3-(3-formyl-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (96)

Méthode L1 :

Dissoudre 1 g (6,89 mmol) de **5** dans 20 mL d'acétonitrile à température ambiante sous argon. Ajouter 4,49 g (13,78 mmol) de carbonate de césium et agiter à reflux pendant 2 heures. Ajouter 2,04 g (7,57 mmol) de **89** dissous dans 15 mL d'acétonitrile et agiter pendant 6 heures de plus au reflux.

Filtrer le mélange réactionnel et évaporer le filtrat. Reprendre par de l'eau et extraire le produit au dichlorométhane. Laver la phase organique avec une solution saturée de chlorure de sodium. Sécher la phase organique avec du sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le mélange brut en le triturant dans du dichlorométhane puis dans de l'acétate d'éthyle chaud.

Poudre beige

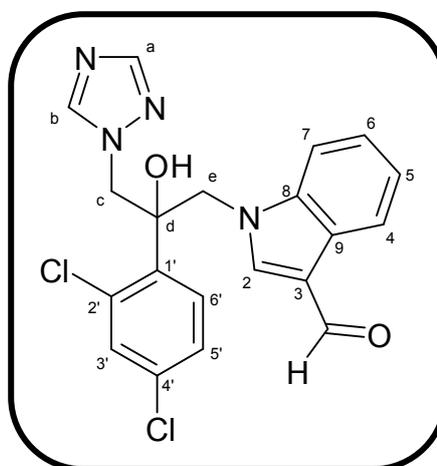
$C_{20}H_{16}Cl_2N_4O_2$

$M_r = 415,28$

$R_f = 0,05$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 247-248$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 28%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,69 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,86 (1 H, d, $^2J = 15,0$ Hz, H_c) ; 5,01 (1 H, d, $^2J = 15,0$ Hz, H_c) ; 5,31 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 6,51 (1 H, s, OH) ; 7,21-7,29 (3 H, m, H_5, H_6, H_7) ; 7,36 (1 H, dd, $^3J = 8,1$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_5') ; 7,56 (1 H, d, $^3J = 8,1$ Hz, H_6') ; 7,64 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H_3') ; 7,82 (1 H, s, H_2) ; 8,07 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 1,5$ Hz, H_4) ; 8,11 (1 H, s, H_b) ; 8,35 (1 H, s, H_a) ; 9,91 (1 H, s, CHO).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

51,4 (C_c) ; 53,5 (C_e) ; 76,2 (C_d) ; 111,4 ($C_{6'}$) ; 117,7 (C_9) ; 120,9 (C_4) ; 122,5 (C_3) ; 123,6 (C_5) ; 124,2 (C_6) ; 127,3 (C_7) ; 130,2 ($C_{3'}$) ; 131,2 ($C_{5'}$) ; 131,5 (C_8) ; 133,5 ($C_{4'}$) ; 136,6 ($C_{2'}$) ; 138,2 ($C_{1'}$) ; 142,1 (C_b) ; 145,4 (C_a) ; 151,0 (C_2) ; 185,1 (CHO).

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

746 (ν C-Cl) ; 1264 (ν C-N) ; 1533 (ν C=C) ; 1647 (ν C=O) ; 3361 (ν O-H).

Masse :

416 (M + H).

2-(2,4-Difluorophényl)-3-(3-formyl-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (97)

Selon la méthode L1 (décrite p 219) :

Purifier le mélange brut par chromatographie sur gel de silice en éluant avec de l'acétate d'éthyle.

Poudre beige

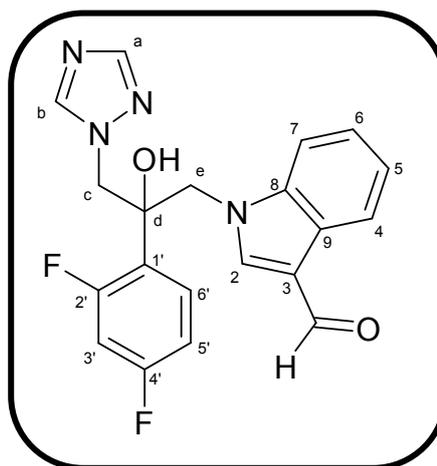
$C_{20}H_{16}F_2N_4O_2$

$M_r = 382,37$

$R_f = 0,25$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 188-189$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 47%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,65 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 4,67 (1 H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,83 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 4,91 (1 H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 6,44 (1 H, s, OH) ; 6,85 (1 H, td, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, H_6) ; 7,17-7,27 (4 H, m, $H_{6'}$, $H_{5'}$, $H_{3'}$, $H_{5'}$) ; 7,46 (1 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H_7) ; 7,86 (1 H, s, H_2) ; 8,05 (1 H, d, $^3J = 7,2$ Hz, H_4) ; 8,13 (1 H, s, H_b) ; 8,37 (1 H, s, H_a) ; 9,90 (1 H, s, CHO).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

52,6 (C_c) ; 54,8 (C_e) ; 74,9 (C_d) ; 104,2 (1 C, t, $^2J_{CF} = 26$ Hz, $C_{3'}$) ; 117,1 (C_6) ; 111,4 (C_7) ; 117,6 (C_9) ; 120,9 (C_4) ; 122,41 (C_5) ; 123,5 ($C_{6'}$) ; 123,6 (1 C, d, $^2J_{CF} = 8$ Hz, $C_{5'}$) ; 124,2 (C_3) ; 130,3 (2 C, $C_{2'}$, $C_{4'}$) ; 138,3 ($C_{1'}$) ; 141,9 (C_b) ; 145,4 (C_a) ; 151,0 (C_2) ; 163,5 (C_8) ; 185,1 (CHO).

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

1124 (v C-F) ; 1266 (v C-N) ; 1461 (v C=N) ; 1533 (v C=C) ; 1659 (v C=O) ; 3215 (v O-H).

Masse :

383 (M + H), 397 (M + 15).

2-(2,4-Dichlorophényl)-3-(3-éthoxycarbonyl-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (98)

Selon la méthode L1 (décrite p 219) :

Purifier le mélange brut par trituration dans un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle 1 / 1.

Poudre blanche

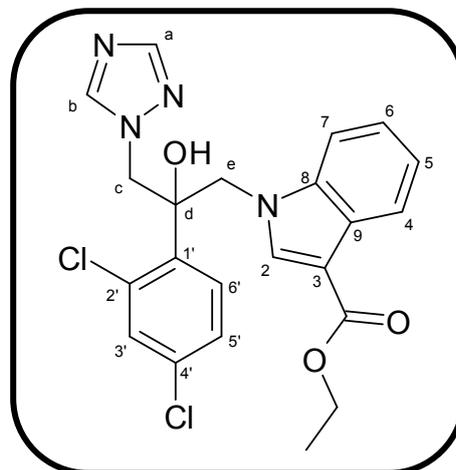
$C_{22}H_{20}Cl_2N_4O_3$

$M_r = 459,34$

$R_f = 0,50$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 152-153$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 48%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,32 (3 H, t, $^3J = 6,8$ Hz, $\underline{CH_2CH_3}$) ; 4,26 (2 H, q, $^3J = 6,8$ Hz, $\underline{CH_2CH_3}$) ; 4,57 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_e) ; 4,82 (1 H, d, $^2J = 15,2$ Hz, H_c) ; 4,92 (1 H, d, $^2J = 15,2$ Hz, H_c) ; 5,28 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_e) ; 6,47 (1 H, s, OH) ; 7,14-7,21 (3 H, m, H_5, H_6, H_7) ; 7,31 (1 H, d, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,48 (1 H, dd, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,62 (1 H, d, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,77 (1 H, s, H_2) ; 7,93 (1 H, s, H_b) ; 7,94 (1 H, d, $^3J = 7,2$ Hz, H_4) ; 8,30 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

14,4 ($\underline{CH_2CH_3}$) ; 50,9 (C_e) ; 53,2 (C_e) ; 59,0 ($\underline{CH_2CH_3}$) ; 76,9 (C_d) ; 106,2 (C_3) ; 110,8 ($C_{6'}$) ; 120,4 (C_4) ; 121,4 (C_7) ; 122,4 (C_6) ; 125,4 (C_9) ; 127,1 (C_5) ; 129,9 ($C_{3'}$) ; 131,0 ($C_{5'}$) ; 131,2 (C_8) ; 133,2 ($C_{4'}$) ; 136,4 ($C_{2'}$) ; 136,5 (C_b) ; 137,4 ($C_{1'}$) ; 145,1 (C_a) ; 150,7 (C_2) ; 163,4 (CO).

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

744 (ν C-Cl) ; 1248 (ν C-N) ; 1464, 1540 (ν C=C) ; 1623 (ν C=N) ; 1704 (ν C=O) ; 2921 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3114 (ν O-H).

Masse :

459 (M + H).

2-(2,4-Difluorophényl)-3-(3-éthoxycarbonyl-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (99)

Selon la méthode L1 (décrite p 219) :

Poudre jaune

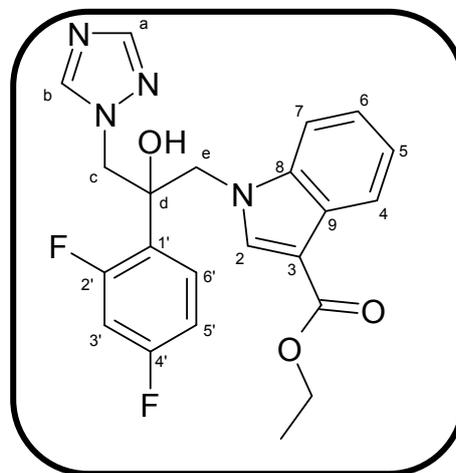
$C_{22}H_{20}F_2N_4O_3$

$M_r = 410,43$

$R_f = 0,50$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 247-248$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 74%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,35 (3 H, t, $^3J = 7,1$ Hz, CH_3) ; 4,28-4,31 (2 H, m, CH_2) ; 4,60-4,62 (2 H, m, H_c, H_e) ; 4,79 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 4,90 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_e) ; 6,39 (1 H, s, OH) ; 6,85 (1 H, dd, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J_{HF} = 2,4$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,15-7,22 (3 H, m, $H_{3'}, H_5, H_6$) ; 7,25 (1 H, ddd, $^3J_{HH} = 7,3$ Hz, $^3J_{HF} = 8,8$ Hz, $^4J_{HH} = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,41 (1 H, d, $^3J = 5,6$ Hz, H_7) ; 7,84 (1 H, s, H_2) ; 7,96 (1 H, dd, $^3J = 5,2$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_4) ; 7,99 (1 H, s, H_b) ; 8,35 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

14,6 (CH_3) ; 52,4 (C_c) ; 54,9 (C_e) ; 59,3 (CH_2) ; 74,9 (C_d) ; 104,1 (1 C, t, $^3J_{CF} = 25,6$ Hz, $C_{5'}$) ; 106,4 (C_3) ; 110,9 (C_7) ; 111,1 (1 C, dd, $^3J_{CF} = ^3J_{CF} = 21,0$ Hz, $C_{6'}$) ; 120,6 (C_4) ; 121,5 (C_5) ; 122,5 (C_6) ; 125,6 (2 C, C_8, C_9) ; 130,2 ($C_{3'}$) ; 136,5 (C_b) ; 137,5 ($C_{1'}$) ; 145,4 (C_a) ; 150,9 (C_2) ; 164,2 ($C=O$). $C_{2'}$ et $C_{4'}$ non visibles sur le spectre.

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

746 (ν C-Cl) ; 1274 (ν C-N) ; 1462, 1533 (ν C=C) ; 1623 (ν C=N) ; 1704 (ν C=O) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3361 (ν O-H).

Masse :

427 (M + H).

2-(2,4-Dichlorophényl)-3-(3-(2-pyridin-2-yl)éthoxycarbonyl-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (100)

Selon la méthode L1 (décrite p 219) :

Poudre blanche

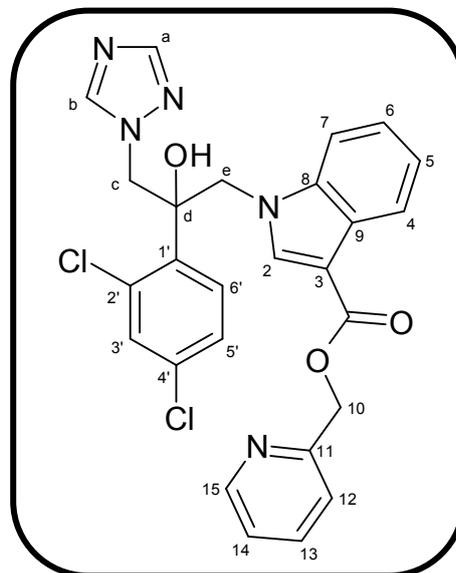
$C_{26}H_{21}Cl_2N_5O_3$

$M_r = 522,39$

$R_f = 0,35$ (acétate d'éthyle)

$T_m = 214-215$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 36%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,63 (1 H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,89 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 4,99 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 5,32 (1 H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,37 (1 H, d, $^2J = 13,6$ Hz, H_{10}) ; 5,43 (1 H, d, $^2J = 13,6$ Hz, H_{10}) ; 6,52 (1 H, s, OH) ; 7,19-7,26 (3 H, m, H_5 , H_6 , H_{14}) ; 7,35 (1 H, d, $^3J = 8,4$ Hz, H_7) ; 7,38-7,41 (1 H, m, H_{12}) ; 7,47 (1 H, d, $^3J = 7,8$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,55 (1 H, d, $^3J = 7,8$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,65 (1 H, d, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,80 (1 H, s, H_2) ; 7,89 (1 H, ddd, $^3J = ^3J = 7,6$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H_{13}) ; 7,99 (1 H, ddd, $^3J = 4,8$ Hz, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_{14}) ; 8,06 (1 H, s, H_b) ; 8,34 (1 H, s, H_a) ; 8,61 (1 H, d, $^3J = 4,8$ Hz, H_{15}).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

51,1 (C_c) ; 53,6 (C_e) ; 65,6 (C_{10}) ; 76,2 (C_d) ; 105,8 (C_3) ; 111,2 (2 C, $C_{5'}$, C_7) ; 120,6 ($C_{6'}$) ; 121,4 (C_{14}) ; 121,8 (C_5) ; 122,8 (C_6) ; 123,1 (C_{12}) ; 125,7 ($C_{4'}$) ; 127,3 (C_4) ; 131,3 ($C_{3'}$) ; 131,5 ($C_{2'}$) ; 133,5 (C_9) ; 136,6 (C_8) ; 137,0 (C_b) ; 137,2 (C_{13}) ; 137,8 ($C_{1'}$) ; 145,4 (C_a) ; 149,4 (C_{15}) ; 151,0 (C_2) ; 156,5 (C=O) ; 163,6 (C_{11}).

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

745 (ν C-Cl) ; 1274 (ν C-N) ; 1464 (ν C=N) ; 1530, 1590 (ν C=C) ; 1712 (ν C=O) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3099 (ν O-H).

Masse :

523 (M + H).

2-(2,4-Difluorophényl)-3-(3-(2-pyridin-2-yl)éthoxycarbonyl-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (101)

Selon la méthode L1 (décrite p 219) :

Poudre jaune

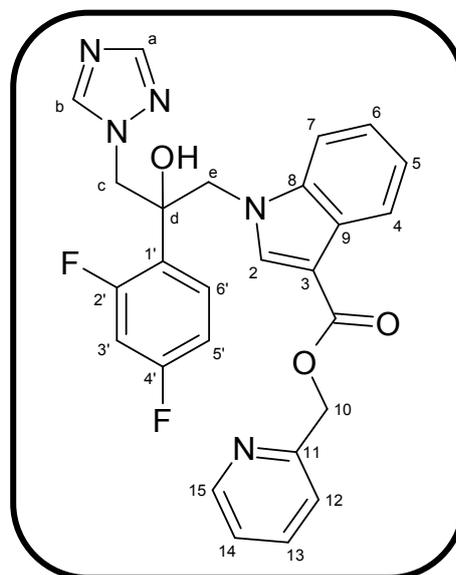
$C_{26}H_{21}F_2N_5O_3$

$M_r = 489,49$

$R_f = 0,50$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 75-76$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

Rendement = 49%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,61 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,65 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_c) ; 4,81 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_c) ; 4,92 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,35 (1 H, d, $^2J = 13,4$ Hz, H_{10}) ; 5,45 (1 H, d, $^2J = 13,4$ Hz, H_{10}) ; 6,40 (1 H, s, OH) ; 6,85 (1 H, ddd, $^3J_{HH} = 8,2$ Hz, $^4J_{HF} = ^4J_{HF} = 1,8$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,14-7,30 (4 H, m, $H_{3'}$, $H_{5'}$, H_5 , H_6) ; 7,37-7,49 (3 H, m, H_4 , H_7 , H_{12}) ; 7,84 (1 H, s, H_2) ; 7,88 (1 H, ddd, $^3J = ^3J = 7,6$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H_{13}) ; 7,97 (1 H, ddd, $^3J = 4,4$ Hz, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_{14}) ; 8,06 (1 H, s, H_b) ; 8,36 (1 H, s, H_a) ; 8,61 (1 H, d, $^3J = 4,4$ Hz, H_{15}).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

52,4 (1 C, d, $^4J_{CF} = 4,0$ Hz, C_c) ; 54,9 (1 C, d, $^4J_{CF} = 4,0$ Hz, C_e) ; 65,6 (C_{10}) ; 74,9 (C_d) ; 104,2 (1 C, d, $^2J_{CF} = 25,6$ Hz, $C_{5'}$) ; 105,7 (C_3) ; 111,0 ($C_{6'}$) ; 111,1 (C_7) ; 116,3 ($C_{4'}$) ; 120,5 (C_{14}) ; 121,5 (C_{12}) ; 121,7 (C_5) ; 122,6 (C_6) ; 123,1 (C_4) ; 125,7 (2 C, C_8 , C_9) ; 130,3 (1 C, t, $^2J_{CF} = 25,4$ Hz, $C_{3'}$) ; 136,9 (C_b) ; 137,2 (C_{13}) ; 137,6 ($C_{1'}$) ; 145,4 (C_a) ; 149,4 (C_{15}) ; 151,0 (C_2) ; 156,5 ($C=O$) ; 163,7 (C_{11}). $C_{2'}$ non visible sur le spectre.

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

1101 (ν C-F) ; 1274 (ν C-N) ; 1461, 1536 (ν C=C) ; 1704 (ν C=O) ; 2932 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3398 (ν O-H).

Masse :

490 (M + H).

2-(2,4-Dichlorophényl)-3-(2-morpholin-4-yléthane-1,2-dione-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (102)

Selon la méthode L1 (décrite p 219) :

Purifier le mélange brut par chromatographie sur gel de silice en éluant avec de l'acétate d'éthyle.

Poudre jaune

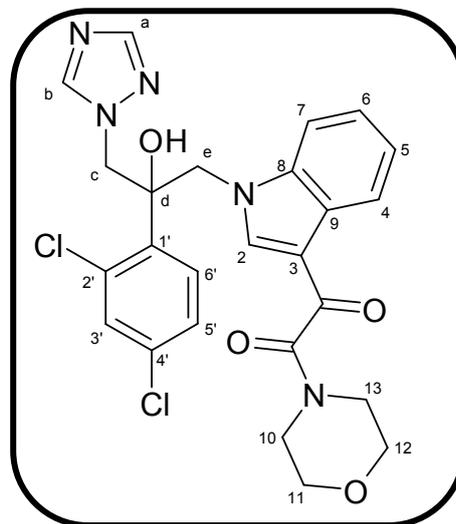
$C_{25}H_{23}Cl_2N_5O_4$

$M_r = 528,40$

$R_f = 0,05$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 134-135$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 46%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

3,37-3,71 (8 H, m, $H_{10}, H_{11}, H_{12}, H_{13}$) ; 4,69 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,87 (1 H, d, $^2J = 15,0$ Hz, H_c) ; 5,06 (1 H, d, $^2J = 15,0$ Hz, H_c) ; 5,30 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 6,51 (1 H, s, OH) ; 7,21-7,27 (4 H, m, $H_{5'}, H_5, H_6, H_7$) ; 7,58 (1 H, d, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,66 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,82 (1 H, s, H_2) ; 7,97 (1 H, s, H_b) ; 8,11 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 1,5$ Hz, H_4) ; 8,33 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

41,2 (C_{10}) ; 46,1 (C_{12}) ; 51,3 (C_c) ; 53,6 (C_e) ; 66,1 (C_{11}) ; 66,4 (C_{13}) ; 76,2 (C_d) ; 111,6 ($C_{6'}$) ; 112,7 (C_3) ; 121,1 (C_4) ; 122,9 (C_7) ; 123,9 (C_6) ; 124,8 (C_9) ; 127,3 (C_5) ; 130,2 ($C_{3'}$) ; 131,2 ($C_{5'}$) ; 131,4 (C_8) ; 133,7 ($C_{4'}$) ; 136,4 ($C_{2'}$) ; 138,3 ($C_{1'}$) ; 140,9 (C_b) ; 145,4 (C_a) ; 151,0 (C_2) ; 165,7 (CO) ; 185,8 (CO).

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

749 (ν C-Cl) ; 1275 (ν C-N) ; 1462, 1525 (ν C=C) ; 1620 (ν C=N) ; 1636 (ν C=O) ; 2917 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3380 (ν O-H).

Masse :

528 (M + H).

2-(2,4-Difluorophényl)-3-(2-morpholin-4-yléthane-1,2-dione-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (103)

Selon la méthode L1 (décrite p 219) :

Purifier le mélange brut par chromatographie sur gel de silice en éluant avec de l'acétate d'éthyle.

Poudre beige

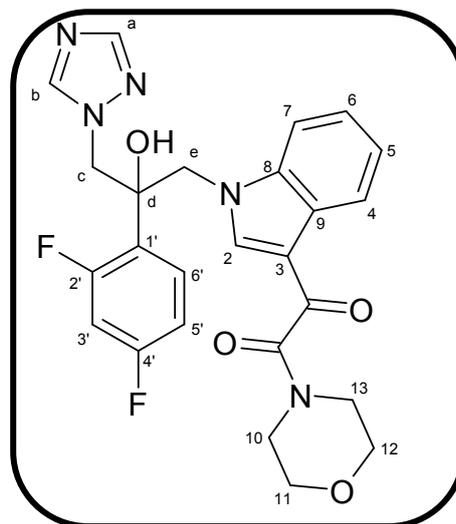
$C_{25}H_{23}F_2N_5O_4$

$M_r = 495,49$

$R_f = 0,15$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 95-96$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 57%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

3,29-3,71 (8 H, m, $H_{10}, H_{11}, H_{12}, H_{13}$) ; 4,66 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,67 (1 H, d, $^2J = 15,0$ Hz, H_c) ; 4,87 (1 H, d, $^2J = 15,0$ Hz, H_c) ; 4,92 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 6,42 (1 H, s, OH) ; 6,85 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 7,3$ Hz, $^4J_{HF} = 2,7$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,16 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 7,3$ Hz, $^3J_{HF} = 8,8$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,24-7,27 (3 H, m, $H_{3'}$, H_5 , H_6) ; 7,49 (1 H, d, $^3J = 7,2$ Hz, H_7) ; 7,86 (1 H, s, H_2) ; 8,00 (1 H, s, H_b) ; 8,07 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 1,5$ Hz, H_4) ; 8,36 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

40,8 (C_{10}) ; 45,7 (C_{13}) ; 51,4 (C_c) ; 53,8 (C_e) ; 65,7 (C_{11}) ; 65,9 (C_{12}) ; 74,4 (C_d) ; 100,4 (1 C, t, $^2J_{CF} = 26$ Hz, $C_{3'}$) ; 111,0 (2 C, $C_{6'}$, C_7) ; 112,2 (C_3) ; 120,6 (C_4) ; 122,5 (C_5) ; 123,3 (C_6) ; 124,4 (2 C, C_8 , C_9) ; 130,2 ($C_{5'}$) ; 130,3 (2 C, $C_{2'}$, $C_{4'}$) ; 137,8 ($C_{1'}$) ; 140,4 (C_b) ; 144,9 (C_a) ; 150,8 (C_2) ; 165,3 (CO) ; 185,4 (CO).

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

1112 (ν C-F) ; 1274 (ν C-N) ; 1461, 1526 (ν C=C) ; 1622 (ν C=N) ; 1636 (ν C=O) ; 2921 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3377 (ν O-H).

Masse :

496 (M + H).

2-(2,4-Dichlorophényl)-3-(3-formyloxime-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (104)

Méthode M :

Dissoudre 800 mg (1,93 mmol) de **96** dans 36 mL de méthanol. Ajouter 531 mg (7,70 mmol) de chlorhydrate d'hydroxylamine dissous dans 8 mL d'eau. Puis ajouter 0,69 mL (8,49 mmol) de pyridine. Agiter à 40 °C pendant 1 heure puis à température ambiante pendant la nuit.

Evaporer le mélange réactionnel sec. Reprendre le résidu avec de l'acétate d'éthyle. Ajouter 30 mL d'une solution d'acide chlorhydrique 1M et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur alumine neutre en éluant tout d'abord par du dichlorométhane pur puis par un mélange éthanol / dichlorométhane : 1 / 10.

Poudre blanche

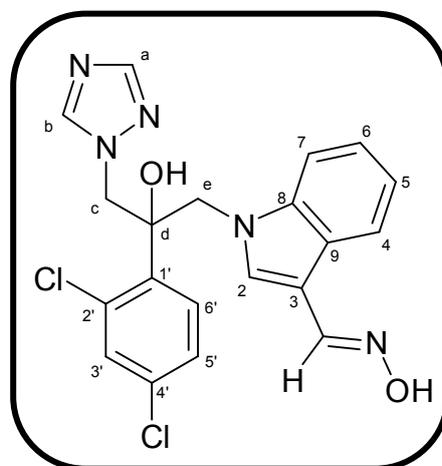
$C_{20}H_{17}Cl_2N_5O_2$

$M_r = 430,30$

$R_f = 0,30$ (acétate d'éthyle)

$F^\circ C = 111-112$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

Rendement = 10%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,61 (1 H, d, $^2J = 16,0$ Hz, H_e) ; 4,79 (1 H, d, $^2J = 16,0$ Hz, H_c) ; 4,88 (1 H, d, $^2J = 16,0$ Hz, H_c) ; 5,30 (1 H, d, $^2J = 16,0$ Hz, H_e) ; 6,42 (1 H, s, OH) ; 7,11 (1 H, t, $^3J = 7,1$ Hz, H_6) ; 7,20 (1 H, td, $^3J = 7,1$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_5) ; 7,24 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,2$ Hz, H_5) ; 7,39 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_6) ; 7,51 (1 H, d, $^3J = 8,4$ Hz, H_7) ; 7,53 (1 H, s, H_2) ; 7,63 (1 H, d, $^4J = 2,2$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,79 (1 H, s, OH_{oxime}) ; 7,96 (1 H, d, $^3J = 7,6$ Hz, H_4) ; 8,24 (1 H, s, H_b) ; 8,33 (1 H, s, H_a) ; 10,60 (1 H, s, CH_{oxime}).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

51,0 (C_c) ; 53,5 (C_e) ; 76,6 (C_d) ; 109,6 (C_9) ; 110,6 ($C_{5'}$) ; 120,4 (C_6) ; 121,6 (C_4) ; 122,6 (C_5) ; 124,5 (C_3) ; 127,2 (C_7) ; 130,2 ($C_{3'}$) ; 131,3 ($C_{6'}$) ; 131,5 (C_8) ; 132,4 (C_2) ; 133,3 ($C_{4'}$) ; 136,9 ($C_{2'}$) ; 138,1 ($C_{1'}$) ; 144,3 (C_b) ; 145,4 (C_a) ; 151,0 (C_{oxime}).

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

744 (ν C-Cl) ; 1272 (ν C-N) ; 1465, 1511 (ν C=C) ; 1620 (ν C=N) ; 3229 (ν O-H).

Masse :

430 (M + H).

2-(2,4-Difluorophényl)-3-(3-formyloxime-1*H*-indol-1-yl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (105)

Selon la méthode M (décrite p 227) :

Poudre blanche

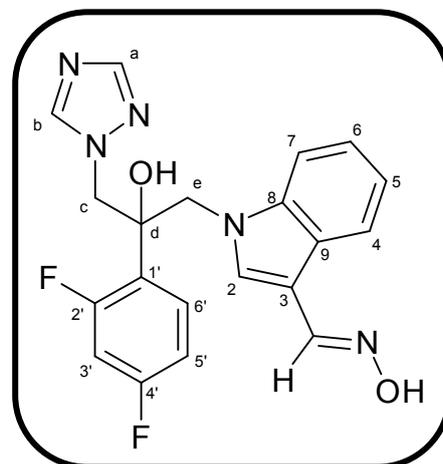
$C_{20}H_{17}Cl_2N_5O_2$

$M_r = 397,39$

$R_f = 0,40$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

$T_m = 162-163$ (éthanol / dichlorométhane : 1 / 10)

Rendement = 10%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

4,59 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_e) ; 4,62 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 4,75 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_c) ; 4,90 (1 H, d, $^2J = 14,8$ Hz, H_e) ; 6,39 (1 H, s, OH) ; 6,85 (1 H, t, $^3J_{HF} = ^3J_{HH} = 8,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,18 (3 H, m, H_5, H_6, H_7) ; 7,38 (1 H, td, $^3J_{HF} = 10,3$ Hz, $^3J_{HH} = 8,4$ Hz, $^4J_{HH} = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,53 (1 H, s, OH_{oxime}) ; 7,79 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 8,4$ Hz, $^4J_{HF} = 2,8$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,82 (1 H, s, H_2) ; 7,94 (1 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H_4) ; 8,27 (1 H, s, H_b) ; 8,35 (1 H, s, H_a) ; 11,27 (1 H, s, CH_{oxime}).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

53,0 (C_c) ; 55,3 (C_e) ; 75,5 (C_d) ; 104,4 (C_9) ; 109,8 ($C_{5'}$) ; 117,9 (C_6) ; 121,2 (C_4) ; 122,7 (C_5) ; 124,6 (C_3) ; 126,7 (C_7) ; 130,5 ($C_{3'}$) ; 130,6 ($C_{6'}$) ; 130,9 (C_8) ; 132,7 (C_2) ; 135,5 ($C_{4'}$) ; 136,4 ($C_{2'}$) ; 138,4 ($C_{1'}$) ; 142,3 (C_b) ; 145,6 (C_a) ; 151,3 (C_{oxime}).

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

1122 (ν C-F) ; 1271 (ν C-N) ; 1467, 1502 (ν C=C) ; 1618 (ν C=N) ; 3224 (ν O-H).

Masse :

398 (M + H).

V- Construction d'un modèle CYP51 *Candida albicans*

1- Etude théorique

1-1- Principe

Les principales étapes de la construction sont mentionnées ci-dessous :

- ✓ Identification de protéine(s) homologue(s) dont la structure 3D est connue (détection par similarités de séquence : FASTA, BLAST),
- ✓ Alignement des séquences primaires en acides aminés,
- ✓ Construction de la protéine à modéliser,
- ✓ Evaluation et validation du modèle (géométrie, repliement 3D).

Nous allons reprendre chacune de ces étapes afin de mieux expliquer la démarche que nous avons utilisée par la suite.

1-1-1- Identification d'une protéine homologue

Avec le développement des outils informatiques, de nombreux serveurs accessibles sur internet existent et nous permettent de mettre en place rapidement des études de modélisation.

Ainsi, la Protein Information Resource¹⁴⁰ (ou PIR) nous permet de récupérer la séquence primaire en acides aminés de la protéine à modéliser. L'étape suivante est la recherche d'une protéine homologue.

Pour cela, nous avons utilisé le programme d'alignement local BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*)¹⁴¹, mis au point par le NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), dont le but est de trouver des régions de similitude entre des séquences. Ce programme compare les séquences de nucléotide ou de protéine qu'on lui soumet à d'autres contenues dans des banques de données publiques (telle que la PDB) et réalise des comparaisons statistiques afin d'en extraire des similitudes.

L'alignement local comporte donc une partie de chacune des séquences et non la totalité des séquences comme dans la plupart des alignements globaux (**figure 97**).

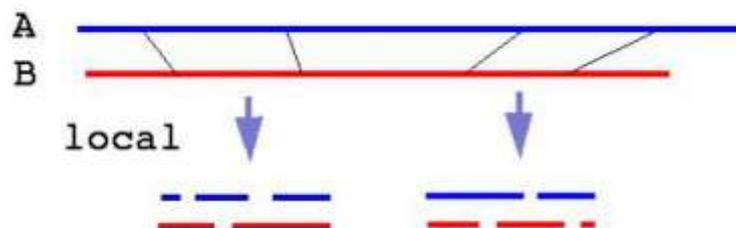


Figure 97 : Principe de l'alignement local : conçu pour rechercher des régions semblables entre 2 séquences A et B.

¹⁴⁰ Protein Information Resource : <http://www.nbrf.georgetown.edu/>

¹⁴¹ Altshul S.F. *et al. J. Mol. Biol.* **1990**, 215, 403-410. BLAST : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>.

Les programmes de BLAST ont été conçus pour être rapide sans pour autant porter atteinte à la qualité des résultats. Techniquement ce sont des méthodes approchées (heuristiques) qui sont employées.

1-1-2- Alignement multiple des séquences

L'alignement est l'étape critique d'un modèle par homologie comparative et conditionne la suite des travaux.

La mise en évidence de similitude entre séquences, comportant notamment un pourcentage d'identité faible (30-50%), sera renforcée si plusieurs séquences voisines issues de plusieurs espèces partagent des éléments en commun.

La méthode permettant d'aligner globalement ces séquences (sur toute leur longueur) conduit à la mise en évidence des résidus identiques ou similaires conservés pouvant être, pour des protéines par exemple, des éléments clés dans la fonction catalytique ou indispensable à la stabilité d'une structure 3D de la protéine.

Cependant, dans le cas d'un grand nombre de séquences à aligner, les algorithmes précis utilisés pour aligner les séquences deux à deux ne peuvent pas être utilisés : il existe alors un problème de rapidité et de taille mémoire. Il est donc nécessaire d'utiliser des algorithmes différents.

Plusieurs programmes informatiques ont été développés pour générer rapidement des alignements multiples de qualité.¹⁴² Parmi ceux-ci, CLUSTALW¹⁴³ effectue un alignement global de l'ensemble de séquences. Il s'agit d'un alignement progressif : ClustalW aligne en premier les séquences les plus proches puis progressivement les séquences plus éloignées jusqu'à ce qu'elles soient toutes alignées.

Toutefois, lorsque l'on cherche à comparer des séquences complètes de protéines, il est très fréquent qu'il soit nécessaire d'introduire des « sauts » dans l'une ou l'autre des séquences étudiées. On parle alors d'insertion ou de délétion par rapport à la séquence de référence. Dans les séquences de protéines, ces insertions et délétions sont observées en général dans des boucles localisées en surface de la protéine. Dans ces régions exposées au solvant, la modification de la longueur de la chaîne peptidique n'a que peu de conséquence sur l'agencement de la structure 3D, par opposition avec les insertions ou délétions qui se produiraient dans le cœur du repliement.

Ainsi, lorsque le taux d'identité entre les séquences devient limite ~30%, les prédictions de structures secondaires (hélices α , feuilletts β), réalisées par exemple par le

¹⁴² Chakrabarti S. *et al. BMC Bioinformatics* **2006**, 7, 499-508.

¹⁴³ Thompson J.D. *et al. Nucleic Acids Res.* **1994**, 22, 4673-4680.

serveur PSIPRED¹⁴⁴, peuvent apporter une dimension supplémentaire aux comparaisons de séquences de protéines et permettent d'optimiser et/ou valider un alignement délicat.

1-1-3- Construction du modèle

A partir de cet alignement, le protocole mis en œuvre peut comporter 4 étapes successives :

- Construction de la chaîne principale de la protéine à modéliser à partir des coordonnées des carbones α de la protéine de référence.
- (Re)construction (éventuelle) des boucles à partir de bases de données comportant des structures de protéines cristallisées à haute résolution issues de la PDB (exemple : PRODAT - Sybyl). Pour chaque boucle de la protéine de structure inconnue, il est alors possible de rechercher celle qui correspond le mieux en termes de longueur, de séquence et d'orientation des extrémités.
- Positionnement des chaînes latérales : Après les deux premières étapes, seul un squelette polypeptidique est construit. Il faut alors y ajouter les chaînes latérales de façon manuelle et/ou automatique.
- Affinement du modèle : A l'issue de sa construction, il existe en général de nombreux défauts dans le modèle : des violations stériques dues à des atomes trop proches, cavités dans la structure, interactions électrostatiques défavorables. Plusieurs cycles de minimisation sont alors nécessaires afin d'obtenir une structure finale, énergiquement stable. La structure « minimisée » correspond généralement au minimum local le plus proche de la structure de départ.

Plusieurs programmes de construction par homologie comparative ont été développés et sont regroupés principalement sous 3 méthodes différentes : 1) Modeller¹⁴⁵, basé sur la méthode de modélisation par *satisfaction de contraintes spatiales* (distances et angles dièdres), 2) Nest, contenu dans la suite Jackal¹⁴⁶, basé sur « *l'assemblage de corps rigides* » et 3) SegMod/ENCAD¹⁴⁷, qui utilise la méthode par *appariement de segments* ou reconstruction des coordonnées.

1-1-4- Validation du modèle

La structure finale est enfin validée au niveau stéréochimie et statistique.

* La liaison peptidique étant plane et rigide, la chaîne principale polypeptidique n'a que deux degrés de liberté de rotation autour des liaisons NH-C α et C α -CO. Les valeurs des angles de rotation autour de ces liaisons peuvent être estimées par les angles dièdres (ou angles de torsion) ϕ (C'-N-C α -C) et ψ (N-C α -C-N') (**figure 98**).

¹⁴⁴ Jones D.T. *J. Mol. Biol.* **1999**, 292, 195-202. <http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/psiform.html>.

¹⁴⁵ Sali A. *et al. J. Mol. Biol.* **1993**, 234, 779-815.

¹⁴⁶ Xiang Z. *et al. J. Mol. Biol.* **2001**, 311, 421-430.

¹⁴⁷ Levitt M. *J. Mol. Biol.* **1992**, 226, 507-533.

Le programme Procheck¹⁴⁸ renseigne sur la qualité stéréochimique du modèle. Il compare ainsi les paramètres du modèle avec les paramètres stéréochimiques expérimentaux provenant de structures à haute résolution de la PDB et classe tous les angles dièdres de la protéine dans des zones d'acceptations, zones définies par l'analyse statistique des structures présentes dans la PDB (118 structures ayant une résolution inférieure à 2 Å). Un code couleur est présent : les zones rouges (A : Right handed alpha-helix, B : beta-sheet et L : Left handed alpha-helix) correspondent aux zones favorables, les jaunes aux zones autorisées (a, b, l, p, ~a, ~b, ~l, ~p), les blanches aux zones interdites (**figure 99**).

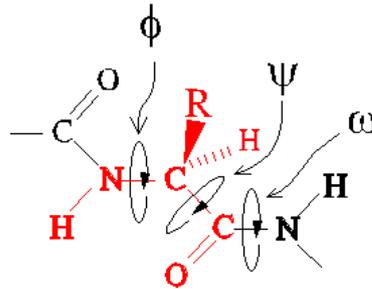


Figure 98 : Paramètres angulaires dans une séquence en acides aminés

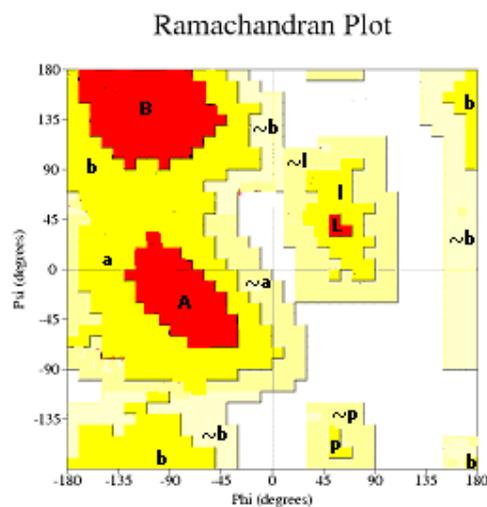


Figure 99 : Exemple d'une carte de Ramachandran

Certains résidus sont ignorés comme les prolines et les glycines. Les prolines sont incapables de prendre une structure secondaire classique en raison des contraintes conformationnelles imposées par leurs chaînes latérales cycliques de type pyrrolidine. De plus, l'absence d'un substituant hydrogène sur l'azote de son squelette rend impossible toute stabilisation par liaison hydrogène. La glycine étant le seul résidu sans C_{β} elle occupe souvent des positions où le squelette polypeptidique prend un virage aigu, induisant ainsi un changement conformationnel.

¹⁴⁸ Laskowski R.A. et al. *J. Appl. Crystallogr.* **1993**, 26, 283-291. <http://biotech.ebi.ac.uk:8400/>

* Verify3D¹⁴⁹ évalue le repliement tridimensionnel du modèle. Plus précisément, il mesure l'adéquation entre un acide aminé et un environnement 3D défini par trois types de variables (structure secondaire, accessibilité au solvant et polarité).

Ce logiciel comporte 3 étapes :

1) La structure 3D est transformée en une chaîne unidimensionnelle définissant l'entourage de chaque résidu. Trois paramètres sont calculés dans la structure 3D pour chaque acide aminé : la surface de la chaîne latérale qui est enfouie dans la protéine, la surface de la chaîne latérale qui est accessible aux atomes polaires et la structure secondaire dans laquelle le résidu est engagé.

2) Calcul du profile-3D : ce profil est une matrice calculée à partir des trois paramètres qui décrivent l'environnement de chaque résidu, calculés à l'étape précédente. Ces données sont pondérées en fonction de la position du résidu dans la séquence et en fonction de la nature du résidu.

3) Comparaison de la séquence avec le profile-3D de la structure. Le score de cet alignement traduit la compatibilité de la séquence avec sa structure 3D. Afin de valider le modèle, aucun acide aminé ne doit avoir une valeur inférieure à 0.

1-2- Etudes de docking et scoring

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 l'enzyme a été réalisé à l'aide du logiciel GOLD^{®150} (Genetic Optimisation for Ligand Docking) (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 deux fonctions de scoring (prédiction des énergies d'interaction) : Goldscore (basée sur un champ de forces) et X-score¹⁵¹ (fonction de scoring consensus qui combine 3 fonctions de scoring empiriques paramétrées différemment (HPScore, HMScore et HSScore)). Les complexes ligand/protéine

¹⁴⁹ Lüthy R. *et al. Nature* **1992**, 356, 83-85. http://nihserver.mbi.ucla.edu/Verify_3D.

¹⁵⁰ Jones G. *et al. J. Mol. Biol.* **1997**, 267, 727-748.

¹⁵¹ Wang R. *et al. J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2002**, 16, 11-26.

ont finalement fait l'objet d'une minimisation énergétique (Champ de force : MMFF94, Charges atomiques : MMFF94, $\epsilon = 4$, cutoff : 8 Å, gradient énergétique : 0,1 kcal.mol⁻¹.Å⁻¹).

2- Aperçu bibliographique

En recherchant dans la littérature des articles sur d'éventuels modèles de CYP51 de *Candida albicans* (CYP51-CANAL) ou *Aspergillus fumigatus* (CYP51-ASPFU), on se rend compte que plusieurs travaux de recherche ont été publiés.

Les premiers travaux de modélisation de l'enzyme CYP51 de *Candida albicans* remontent à 1994, où P.E. Boscott *et al.*¹⁵² se sont servis de la structure cristallographique de *Pseudomonas putida* P450Cam (CYP101) pour élaborer le premier modèle par homologie. Leurs premières conclusions portent sur la comparaison des sites actifs des deux enzymes. Elles partageraient une grande similarité structurale avec notamment le noyau hème localisé entre les hélices L et I. Ils constatent que le site actif est complètement fermé rendant impossible l'accès d'un inhibiteur. Toutefois, ils décrivent que l'hélice B' est composée de plusieurs insertions et possède donc une structure relativement flexible. Le mouvement manuel de celle-ci leur a permis de dégager un accès au site actif selon une direction parallèle à l'hème. Ce tunnel (tunnel 1) suit l'orientation de l'hélice I. L'hélice B' jouerait le rôle d'interrupteur et permettrait par son mouvement les processus d'ouverture et fermeture du tunnel d'accès.

La structure cristallographique de P450Cam (CYP101) fut longtemps utilisée pour modéliser les différents cytochromes.¹⁵³ Les taux d'identité de séquence entre les différents cytochromes sont souvent faibles mais de nombreuses régions sont conservées notamment celle proche de l'hème. Dans ces cas, la modélisation par homologie est hasardeuse et la qualité du modèle dépend beaucoup de l'alignement. Plus récemment, une nouvelle structure cristallographique a été développée par K.G. Ravichandran *et al.*¹⁵⁴ Il s'agit de la structure de P450BM3 (CYP102). Leurs travaux montrent que les inhibiteurs accèderaient à la poche du site actif selon un tunnel perpendiculaire à l'hème (tunnel 2). Cette structure possède une plus grande similarité de séquence que CYP101, utilisée jusqu'ici comme référence. Ces travaux novateurs ont permis d'identifier un nouveau mode d'accès des inhibiteurs au site actif et de mieux comprendre leur comportement à l'intérieur de celui-ci.

H. Ji *et al.*¹⁵⁵ ont construit un modèle en rassemblant les éléments structuraux nécessaires à partir de plusieurs structures. Ainsi, ils ont utilisé la séquence de CYP102 (P450BM3) pour modéliser le squelette général de la protéine CYP51-CANAL. Les chaînes

¹⁵² Boscott P.E. *et al. J. Mol. Graph.* **1994**, *12*, 185-192.

¹⁵³ Poulos T.L. *et al. J. Mol. Biol.* **1987**, *195*, 687-700.

¹⁵⁴ Ravichandran K.G. *et al. Science* **1993**, *261*, 731-736.

¹⁵⁵ Ji H. *et al. J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2493-2505.

latérales ont quant à elles étaient modélisées à partir de morceaux de séquences retrouvés à l'identique dans des structures cristallisées de P450BM3, P450terp et P450eryF.

Ce n'est qu'en 2001 que L.M. Podust *et al.*¹⁵⁶ publie la première structure cristalline d'une lanostérol 14 α -déméthylase de *Mycobacterium tuberculosis* (CYP51-MYCTU) en complexe avec le fluconazole à une résolution de 2,21 Å. Il s'agit du premier cytochrome bactérien co-cristallisé avec un inhibiteur. Il partage entre 26 et 29% d'identité de séquence avec les enzymes fongiques. Dans la structure cristalline reportée dans l'article, ils font état d'une voie d'accès ouverte vers l'extérieur (tunnel 1) permettant l'entrée d'un inhibiteur. Ce tunnel est composé de l'hélice I et de la boucle BC. Ils constatent également qu'au niveau du site actif une cavité rappelle le tunnel 2 observé chez CYP102. Cependant, celle-ci n'est pas ouverte à la surface de la protéine. Le mécanisme d'ouverture / fermeture des voies d'accès n'est cependant pas clairement défini.

Leurs recherches vont servir de base à tous les modèles qui vont suivre. A. Macchiarulo *et al.*¹⁵⁷ se sont servis de cette référence pour construire leur propre modèle par homologie et expliquer l'activité de leur série de benzothiazines et benzoxazines :

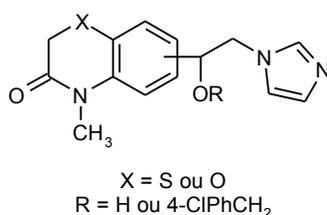


Figure 100 : Structure générale des benzothiazines et benzoxazines étudiées pour leur activité antifongique

Leurs molécules se positionneraient dans le site actif selon les mêmes orientations que le fluconazole. Le cycle benzothiazine serait stabilisé par des interactions hydrophobes avec la Phe71 et la Leu121 alors que le noyau *p*-chlorobenzyle réaliserait un stacking avec la Tyr118 et des contacts hydrophobes avec la Phe228, Leu376 et Met508. Cependant leurs structures ne sont pas suffisamment encombrantes pour permettre d'identifier distinctement un tunnel d'accès et de stabilisation.

En 2004, L. Xiao *et al.*¹⁵⁸ construisent un modèle de CYP51-CANAL et CYP51-ASPFU. Leur étude porte sur le docking d'inhibiteurs azolés connus (fluconazole, voriconazole, posaconazole et itraconazole). Ces composés peuvent être divisés en deux catégories selon la longueur de leur chaîne latérale : le fluconazole et le voriconazole sont peu volumineux alors que le posaconazole et l'itraconazole possèdent une longue chaîne poly-aromatique. Confrontés au choix d'un tunnel d'accès, ils se sont basés sur des études de mutagenèses dirigées afin d'identifier les acides aminés fondamentaux impliqués dans la stabilisation de ces inhibiteurs.

¹⁵⁶ Podust L.M. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 3068-3073.

¹⁵⁷ Macchiarulo A. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 3415-3423.

¹⁵⁸ Xiao L. *et al. Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, 48, 568-574.

TABLE 2. Substitutions in CA-CYP51 resulting in azole resistance in clinical *C. albicans* isolates

Patient and isolate	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				Substitutions in CA-CYP51
	POS	FLZ	ITZ	VOR	
C43 ^c	0.03	0.125	0.06	0.03	None (azole-sensitive reference strain)
I^a					
C438	0.5	128	0.5	2	Tyr257His, Gly464Ser
C439	1	>256	4	16	Tyr257His, Gly464Ser, Gly307Ser
C440	4	>256	8	>16.0	Tyr257His, Gly464Ser, Gly307Ser, Ala61Val
II^b					
C369	0.25	32	1	4	Lys128Thr, Tyr132His, Asp278Asn, Gly464Ser
C375	2	48	16	4	Lys128Thr, Tyr132His, Asp278Asn, Gly464Ser, Pro230Leu

^a MICs and data on mutations from A. Chau et al., unpublished data.

^b MICs and data on mutations from reference 10a.

^c Reference strain (not a patient isolate).

Figure 101 : Etude de mutagenèses dirigées chez CYP51-CANAL

Ainsi le mode de fixation de molécules telles que le posaconazole ou l'itraconazole (ITZ) est perturbé par la mutation Pro230Leu (augmentation des CMI d'un facteur 10 ou 16). Cette même mutation ne modifie pas l'activité de petites molécules telles que le fluconazole ou le voriconazole. Cet acide aminé situé dans la boucle FG serait donc impliqué dans la stabilisation des longues chaînes latérales des inhibiteurs. Cette observation tend à prouver que les inhibiteurs sont stabilisés dans le tunnel 2. Les mêmes observations peuvent être faites chez CYP51-CANAL et chez CYP51-ASPFU.

3- Construction du modèle

La construction 3D par homologie de notre modèle CYP51-CANAL a été réalisée à partir de la structure 3D connue de CYP51 *Mycobacterium tuberculosis* (CYP51-MYCTU) co-cristallisée avec le fluconazole et à la résolution de 2,21 Å (code PDB : 1EA1). Les séquences primaires en acides aminés de CYP51-CANAL (*Candida albicans*), CYP51A-ASPFU et CYP51B-ASPFU (*Aspergillus fumigatus*) ont été récupérées sur le site de la PIR sous les noms de codes respectifs P10613, Q9P8R0 / AAK73659-1 et Q96W81 / AAK73660-1 puis alignées sur celle de CYP51-MYCTU à l'aide du logiciel ClustalW (figure 102 page 238).

Les deux séquences primaires CYP51-CANAL et CYP51-MYCTU présentent un faible pourcentage d'identité (~ 25%). La comparaison des structures secondaires (expérimentales pour CYP51-MYCTU et prédites par le serveur PSIPRED pour CYP51-CANAL, CYP51A-ASPFU et CYP51B-ASPFU) montre une bonne corrélation des hélices et feuilletts β . Les acides aminés Met1-Arg44 ont été supprimés du modèle étant donné que le

domaine *N*-terminal transmembranaire de CYP51-MYCTU n'est pas caractérisé. Par ailleurs, nous pouvons observer trois insertions plus ou moins importantes (zones rouges) qui correspondent aux résidus Ser175-Lys181, Lys342-Asn349 et Ser436-Pro459. Une boucle approximative sera générée automatiquement par le programme d'homologie. Ces régions structurellement variables (SVRs) sont cependant localisées à la surface du modèle, éloignées du site actif et ne seront donc pas été modélisées plus en détails.

Cet alignement constitue le point crucial de la modélisation puisqu'il sert de base au programme Nest (Jackal), pour initialiser le modèle à partir des coordonnées des carbones α de la protéine de référence. L'hélice α C étant mal résolue sur la structure cristalline 1EA1.pdb, nous avons pris celle appartenant à la structure 3D de CYP51 *Mycobacterium tuberculosis* co-cristallisée avec le 4-phenylimidazole et à la résolution de 2,10 Å (code PDB : 1E9X).¹⁵⁶

Notre modèle a ensuite subi une première minimisation d'énergie, par la méthode Powell avec le champ de force MMFF94¹⁵⁹ (charges atomiques MMFF94), en ajustant la constante diélectrique à 4 afin de tenir compte des conditions physiologiques. La minimisation s'est d'abord restreinte aux atomes des chaînes latérales, puis s'est étendue progressivement à l'ensemble de la protéine, jusqu'à un gradient énergétique de 0,1 kcal.mol⁻¹.Å⁻¹. Nous avons localisé le site actif de CYP51-CANAL en superposant notre modèle sur celui de CYP51-MYCTU. L'hème et le fluconazole, extraits de CYP51-MYCTU, ont été ajoutés au modèle avant qu'une ultime minimisation d'énergie, ne soit finalement réalisée jusqu'à un gradient énergétique de 0,1 kcal.mol⁻¹.Å⁻¹ (**figure 103** page 239).

¹⁵⁹ Halgren T.A. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 490-641.

CYP51A-ASPFU -----MVPMLWLTAYMAVAVLTAI--LLNVVYQLFFRLWMRTEPPMVFHW
 CYP51B-ASPFU MGLIAFILDGICKHCSTQSTWVVLVIGIGLLSILAVSVIINVLQQLLFK--NPHEPPVVFHW
 CYP51_CANAL MAIVETVIDG-----INYFLSLSVTTQQLSILLVGFVYVNLVWQYLYS--LRKDRAPLVFYW 54
 CYP51_MYCTU -----MSAVALPRVSGG

CYP51A-ASPFU VPFLGSTI SYGIDPYKFFACREKYGD IFTFILLGQKTVYVLGVQGNFILLNGKLDVNA
 CYP51B-ASPFU PFFIGSTI SYGIDPYKFFDCRAKYGD IFTFILLGKKTIVYVLGKTKGNDFILLNGKLRDVCNA
 CYP51_CANAL IPWFGSAA SYGQQPYE FFE SCRQKYGD VFSFMLLGKIMTVYLGPKGHEFVFNAKLSDVSA 114
 CYP51_MYCTU HDEHGHLEEFRTDPIGLMQRVRDECGDVGTFQLAGKQVWLLSGSHANEFFFRAGDDDLDDQ
 αA' αA' β1-1 β1-2 αB β1-5

CYP51A-ASPFU EEVYSPLTTPVFGSDVVYDCPNKLMKQKFKIKYGLTQSALSHVPLIEKEVLDYLRD SP
 CYP51B-ASPFU EEVYSPLTTPVFGSRHVYDCPNKLMKQKFKVYGLTSDALRSYVPLITDEVE SFVKNSP
 CYP51_CANAL EDA YKHLTTPVFGKGVLYDCPNKSR LMEKQKFAKALTTDSFKRYVVKIRIEEILNYFVTDE 174
 CYP51_MYCTU AKAY-PFMTPIFGEGVVDASPERRKE--MLHNAALRGEQMKGHAATIEDQVRRMIAD--
 αB' αC αD

CYP51A-ASPFU NFK---GSGRMDISAAMAEITIFTAARALQGQEVRSKLTAEFADLYHDLDKGFTPIINFM
 CYP51B-ASPFU AFQ---GHKGVFDVCKTIAEITITYASRS LQGKEVRSKFDSTFAELVHNLDMGFAPINFM
 CYP51_CANAL SFKLEKTHGVANVMKTQPEITIFTASRS LFGDEMRIRIFDRSFAQLYSDLDKGFTPIINFM 234
 CYP51_MYCTU -----WGEAGEIDLLDFFAELTIYTSSACLIGKKFRDQLDGRFAKLYHELERGTDPLAVY
 β3-1 αE αF' αF αF''

CYP51A-ASPFU LPWAPLPHNKKRDAAHARMRSIYVDIINQRRLDGDKDSQKSDMIWNLMNCTYKNGQQ-VF
 CYP51B-ASPFU LPWAPLPHNRKRDAARQLTETTYMEI IKA RRQAGSKKDE-DMVWNLMSCVYKNGTP-VF
 CYP51_CANAL FPNLP LPHYWRDAAQKISATYMKIERSRRE RGDIDPNRDLIDSLLIHSTYKDGVK-MT 293
 CYP51_MYCTU DPLYLP IESFRRDEARNGLVALVADIMNGRIAMPPTDKSDRDMLDVLIAVKAETGTFRFS
 αG αH

CYP51A-ASPFU DKEIAHMMITLLMAGQHSSSSISAWIMLR LASSQPKVLEE LYQEQLANLCPAGPDGSLPPL
 CYP51B-ASPFU DEEIAHMMIALLMAGQHSSSSTASWIVLR LATRPDI MEE LYQEQIRVLG-----SOLPPL
 CYP51_CANAL DQEIANLLIGILMGGQHTSASTSAWFLHLGKPHLQDVLYQEVVLEKRG--GDLNDL 351
 CYP51_MYCTU ADEITGMFISMMFAGHHTSSGTASWTLIELMRHRDAYAAVIDELDELYG-----DGRSV
 αI αJ

CYP51A-ASPFU QYKDLDRLPFHQHVIRETLRIHSS IHSIMRKKVKSPLPVP GTPYMI PPGRVLLASPGVTAL
 CYP51B-ASPFU TYDNLQKLDLHAKVIKETLRLHAP IHSIIRAVKNPMAVDGTSYV IPTSHNVLSSPGVTAR
 CYP51_CANAL TYEDLQKLP SVNNTIKE TLRMHMP LHSIFRKYINPLRIPETNYI VPKGHYV LVS PGYAHT 411
 CYP51_MYCTU SFHALRQI PQLENVLKETLRLHPP LII LMRVAKGEFEVQG--HRIHEGLVAASPAISNR
 αJ' αK β1-4 β2-1 β2-2 β1-3 αK'

CYP51A-ASPFU SDEHFPNAGCWDPHRWENQATKEQ---EMDEVVDYGYGAVSKGTS SPYLPFGAGRHRICI
 CYP51B-ASPFU SEEHFPNP LEWNPWRWENIAASA---EDDEKVDYGYGLVSKGTNS SPYLPFGAGRHRICI
 CYP51_CANAL SERYFDNPEDFPTRWD TAAAKAN SVS FNS SDEVVDY GFGKVS KGVSPYLPFGGGRHRICI 471
 CYP51_MYCTU IPEDFDPHDFV PARYEQPRQEDLLN-----RDTWLPFGAGRHRICV
 3(10)K' αK''

CYP51A-ASPFU GEKFA YVNLGVILATIVRHLRLFNVDGKKGVPETDYSSLFSGPMKPSIIGWEKRSKNTSK
 CYP51B-ASPFU GEQFAYLQ LGTITAVLVRLFRFRNLPGVDGIPD TDYSSLFSKPLGRS FVEFEKRESATKA
 CYP51_CANAL GEQFAYVQLGTILTTFFVYMLRWT-IDGYK-VDPDYS SSMVVLPTPEALIIWEKRETCMF- 528
 CYP51_MYCTU GAAFAIMQIKAI FSVLLREYEFEMAQPE-SYRNDH SKM VVQLAQ PACVRYRRRTGV---
 αL β3-3 β4-1 β4-2

Structures secondaires (expérimentales et prédites) : = hélices = feuillet-β

Figure 102 : Alignement multiple des séquences primaires en acide aminés de CYP51-CANAL, CYP51A-ASPFU et CYP51B-ASPFU avec celle de CYP51-MYCTU.

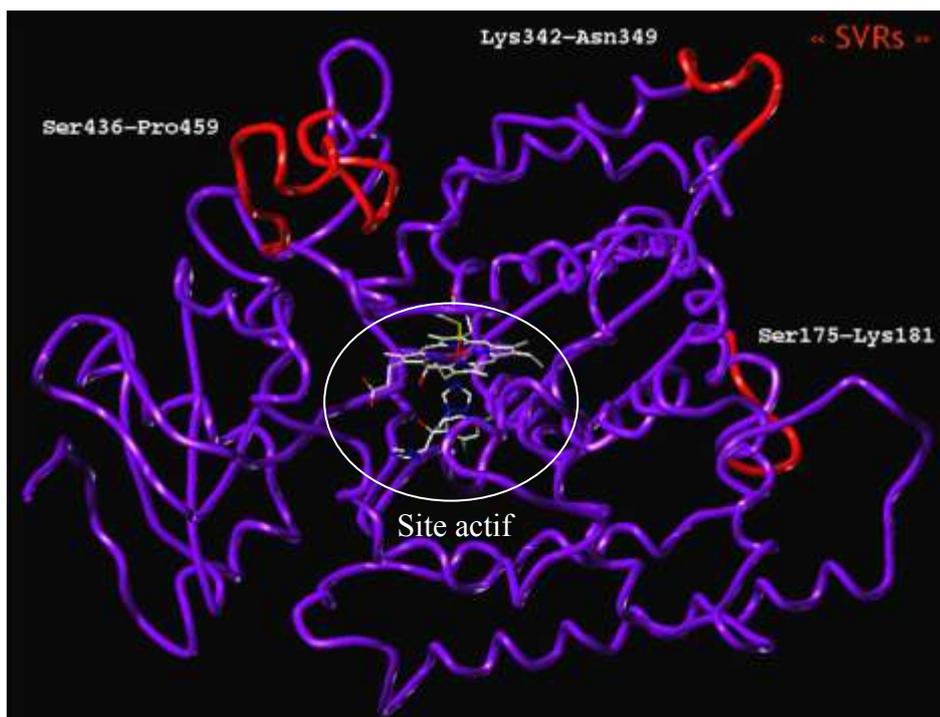


Figure 103 : Structure tertiaire de notre modèle CYP51-CANAL.

A chaque étape de sa construction et pour chaque résidu de la structure protéique, la chiralité des carbones α , les longueurs et angles des liaisons ainsi que la planéité des liaisons peptidiques (angles ω) ont été régulièrement soumis au module Protable de Sybyl.

Enfin, nous avons évalué la stéréochimie du modèle (angles ϕ et ψ) par le programme Procheck (**figure 104**) et son repliement tridimensionnel à l'aide du serveur Verify3D (**figure 105**).

D'après la carte de Ramachandran, notre modèle possède 78,1% de résidus dans les régions les plus favorables, 19,8% dans les régions autorisées, 1,2% dans les régions généreusement autorisées et 0,9% dans les zones interdites. Une géométrie raisonnable des angles dièdres ϕ et ψ est donc observée (97,9% dans les régions favorisées / 99,2% pour la structure cristalline 1EA1.pdb).

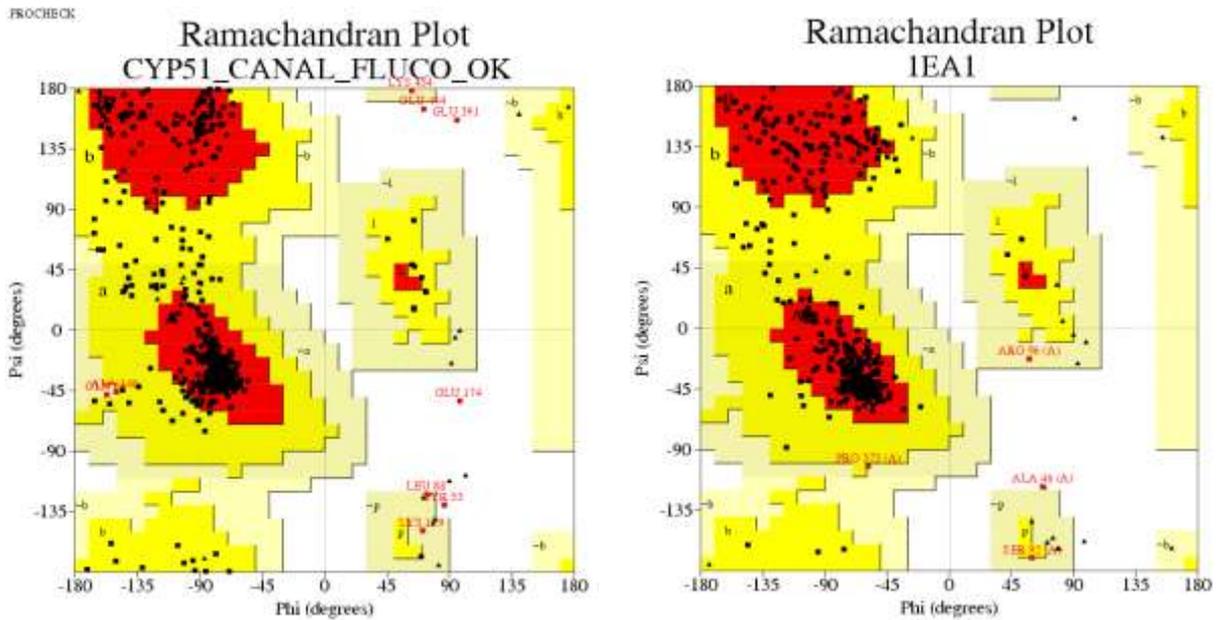


Figure 104 : Cartes de Ramachandran de notre modèle CYP51-CANAL et de CYP51-MYCTU (1EA1.pdb)

De plus, les résultats obtenus par le serveur Verify 3D confirment un bon repliement tridimensionnel. Seuls trois résidus possèdent un score « légèrement » négatif : Gly184, Ile 277 et Leu 280. Ils sont cependant éloignés du site actif et ne seront donc pas corrigés.

En conclusion et malgré le faible pourcentage d'identité entre les deux séquences, notre modèle peut constituer un bon point de départ pour l'étude des interactions ligand / protéine.

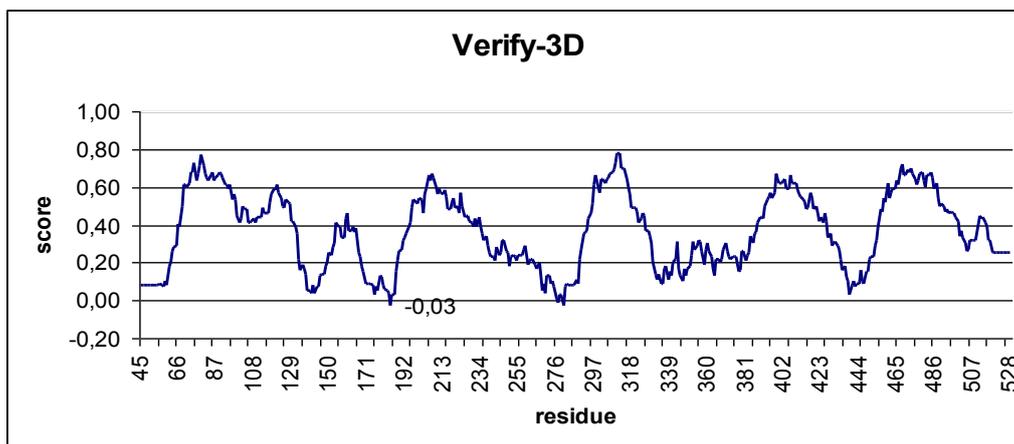


Figure 105 : Graphique obtenu par Verify 3D pour notre modèle CA-CYP51. Plus basse valeur de score : - 0,03.

Comme nous l'avons vu précédemment page 236, deux tunnels d'entrée du substrat sont envisageables :

- Le tunnel 1, parallèle au plan de l'hème, constitué de l'hélice I et de la boucle BC (qui comporte l'hélice B') (**figure 106**). Ce tunnel est apparent dans la structure cristalline de CYP51-MYCTU.

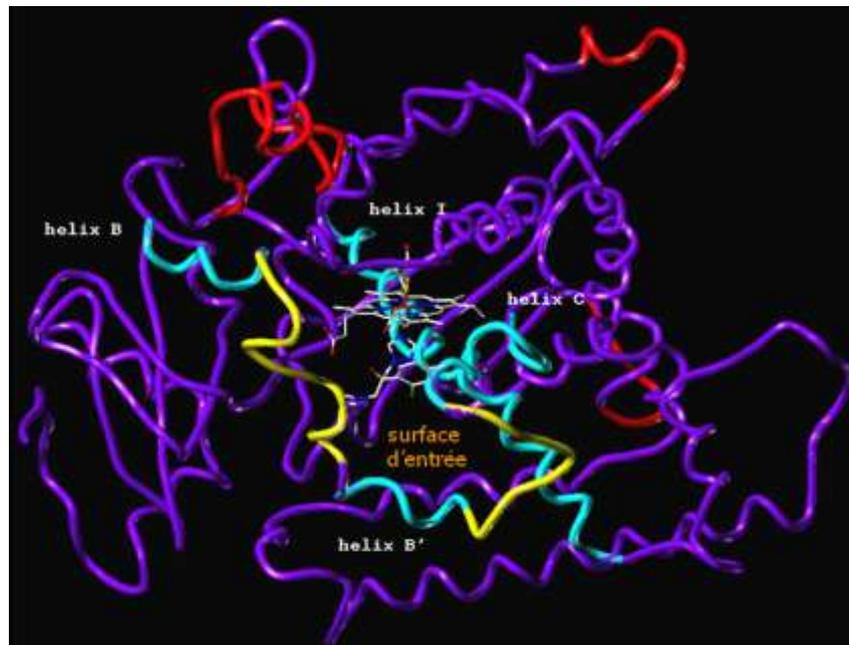


Figure 106 : Observation de la surface d'entrée du tunnel 1 dans le modèle CYP51-CANAL

- Le tunnel 2, perpendiculaire au plan de l'hème, constitué de l'hélice A' et de la boucle FG (**figure 107**). Il est analogue à celui observé chez P450BM3 (CYP102). Ce tunnel est partiellement visible sur CYP51-MYCTU mais non accessible en surface.

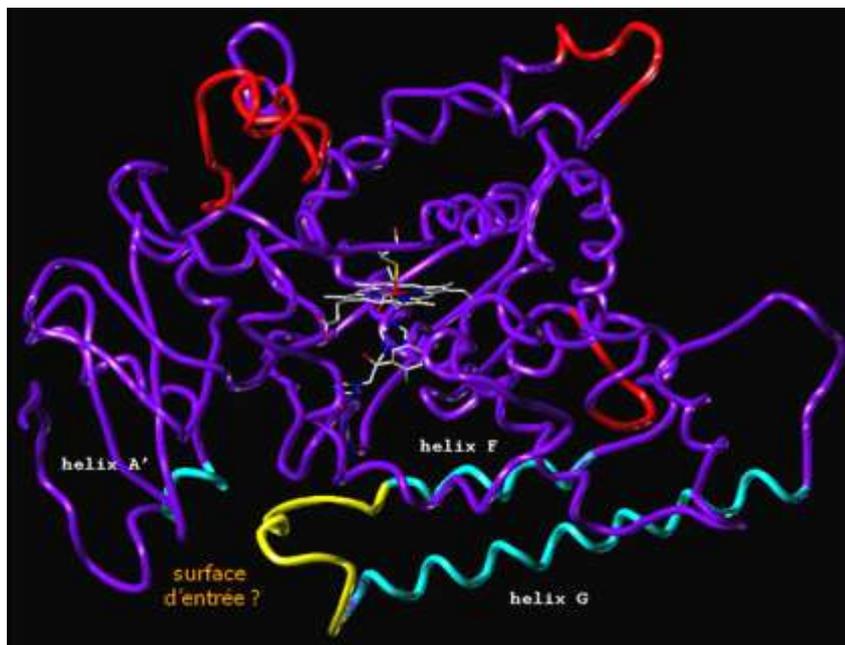


Figure 107 : Observation de la surface d'entrée du tunnel 2 dans le modèle CYP51-CANAL

Nous avons fait le choix du tunnel 2 pour l'étude des relations structure-activité et la conception rationnelle de molécules originales pour deux raisons :

1) Au niveau de la structure cristalline CYP51-MYCTU, la zone définie par l'hélice α C et la boucle BC (tunnel 1) comporte d'importants facteurs de température (**figure 108**). Cette zone est donc soumise à de nombreux mouvements thermiques¹⁵⁶ pouvant conduire à des changements conformationnels importants. A nos yeux, il s'agit d'une région délicate dont le comportement vis-à-vis d'un inhibiteur n'est pas évident à définir.

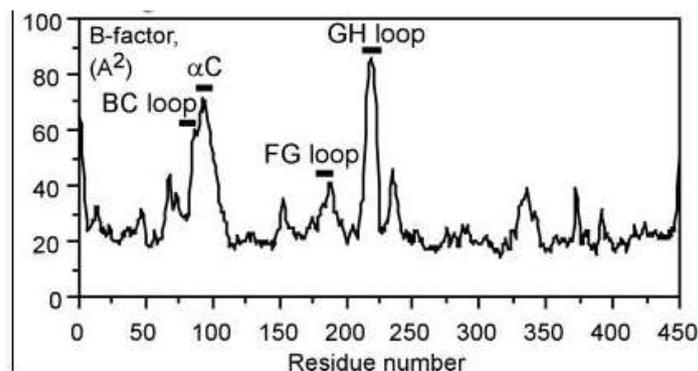


Figure 108 : Facteurs de températures observés chez CYP51-MYCTU

2) Les études de mutagenèse dirigée effectuées par L. Xiao *et al.* décrites précédemment page 235 ont permis d'identifier la Pro230 comme résidu essentiel sur l'activité inhibitrice de molécules à longues chaînes latérales telle que le posaconazole ou l'itraconazole.¹⁵⁸ Cet acide aminé situé sur la boucle FG conditionne de plus l'accès en surface du tunnel 2, ce qui démontre l'importance de ce dernier (**figure 109**).

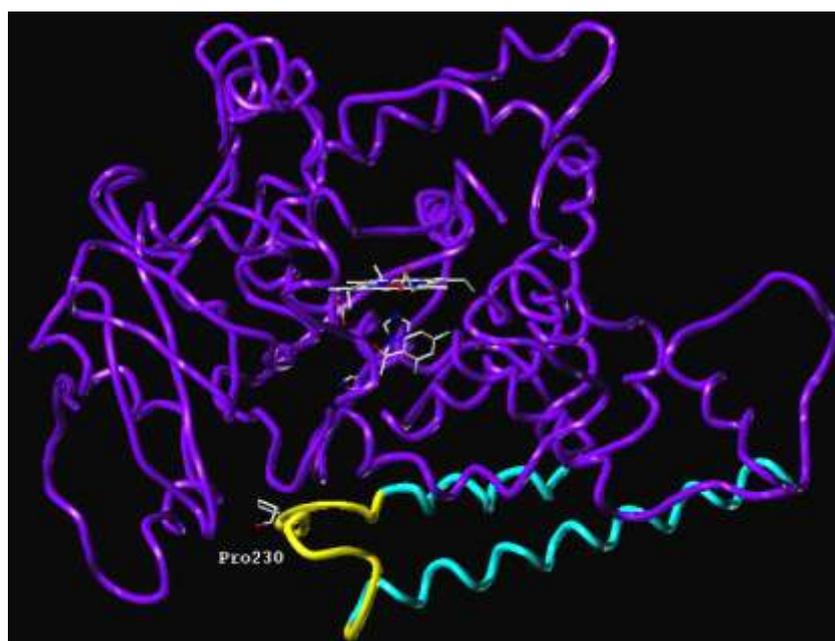


Figure 109 : Localisation de la Pro230 dans le modèle CYP51-CANAL

Afin de positionner au mieux nos différents inhibiteurs dans ce tunnel, nous avons dû au préalable effectuer un ajustement de la Met508, dont la chaîne latérale bloquait l'accès.

A titre d'exemple, les acides aminés impliqués lors du docking du ravuconazole à l'intérieur du tunnel 2 peuvent être regroupés en deux catégories et sont décrits ci-dessous (**figure 110**) :

- les premiers sont impliqués dans la stabilisation de l'hème. Une liaison de coordination du fer est ainsi réalisée avec le groupement thiolate de la Cys470. Le deuxième acide aminé impliqué est l'Arg381 qui réalise par l'intermédiaire de son ion guanidinium une interaction électrostatique forte avec le carboxylate de l'hème.
- la deuxième catégorie d'acides aminés concerne les résidus impliqués dans la stabilisation de l'inhibiteur. Le ravuconazole oriente son noyau aromatique difluoré vers une cavité hydrophobe constituée des Phe126, Met140, Phe145, Ala146, Met306 (**figure 111**). Le noyau thiazole, dirigé vers le tunnel 2, effectue une interaction de type π - π stacking avec le noyau aromatique de la Tyr118. Enfin, le noyau 4-cyanophényle réalise par l'intermédiaire de son groupement nitrile une interaction par liaison hydrogène avec l'imidazole de la chaîne latérale du résidu His377 (**figure 110**). Il est à noter que la proximité immédiate de la Ser378, pourrait permettre de créer une liaison hydrogène supplémentaire avec l'inhibiteur.

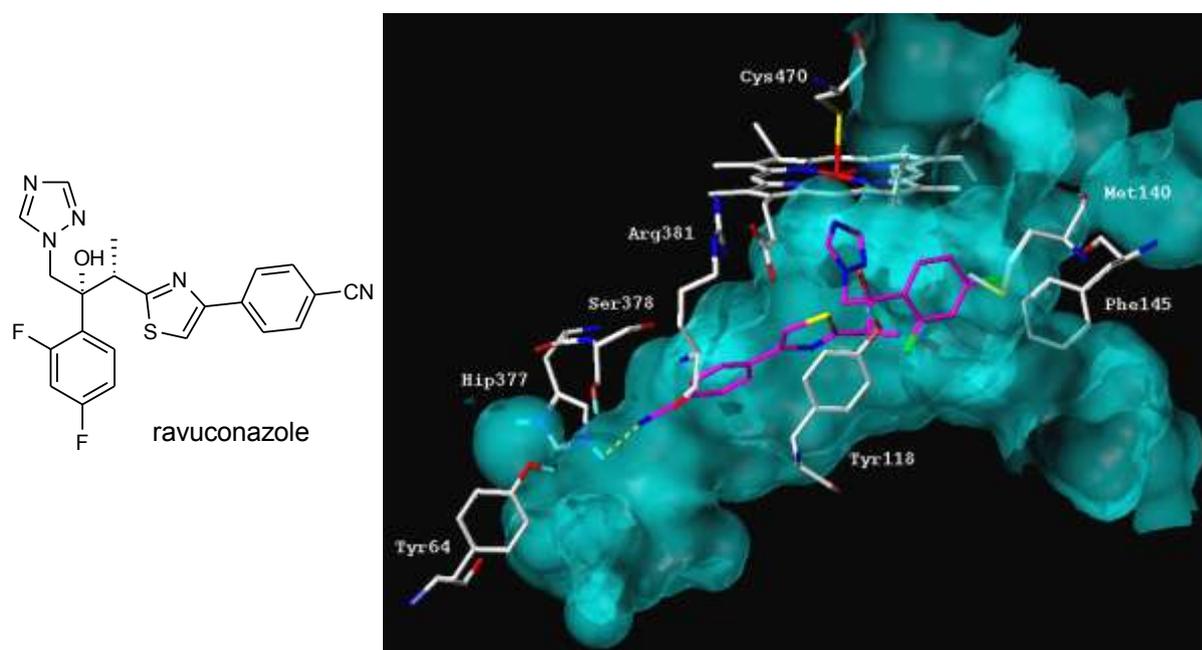


Figure 110 : Mode de liaison possible du ravuconazole (issu du docking) dans le tunnel 2. Le site actif (en cyan) est défini par l'emploi des surfaces de Connolly (surfaces accessibles au solvant – logiciel Molcad). Les liaisons hydrogène sont matérialisées par des pointillés jaunes.

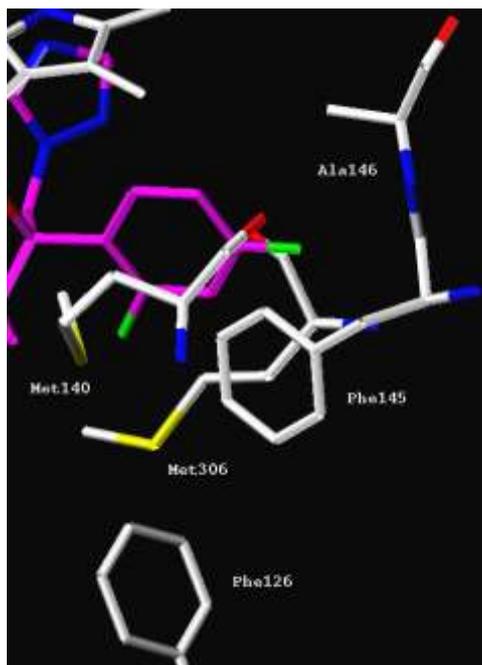


Figure 111 : Agrandissement de la zone occupée par le noyau aromatique difluoré du ravuconazole.

VI- Synthèse de 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-(1*H*-indol-5-yl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

1- Principe

Afin d'interpréter les relations structure-activité des composés analogues du **NL114** détaillés précédemment à partir de la page 197, nous avons entrepris le « docking » de ce composé dans le modèle CYP51-CANAL (**figure 112**) :

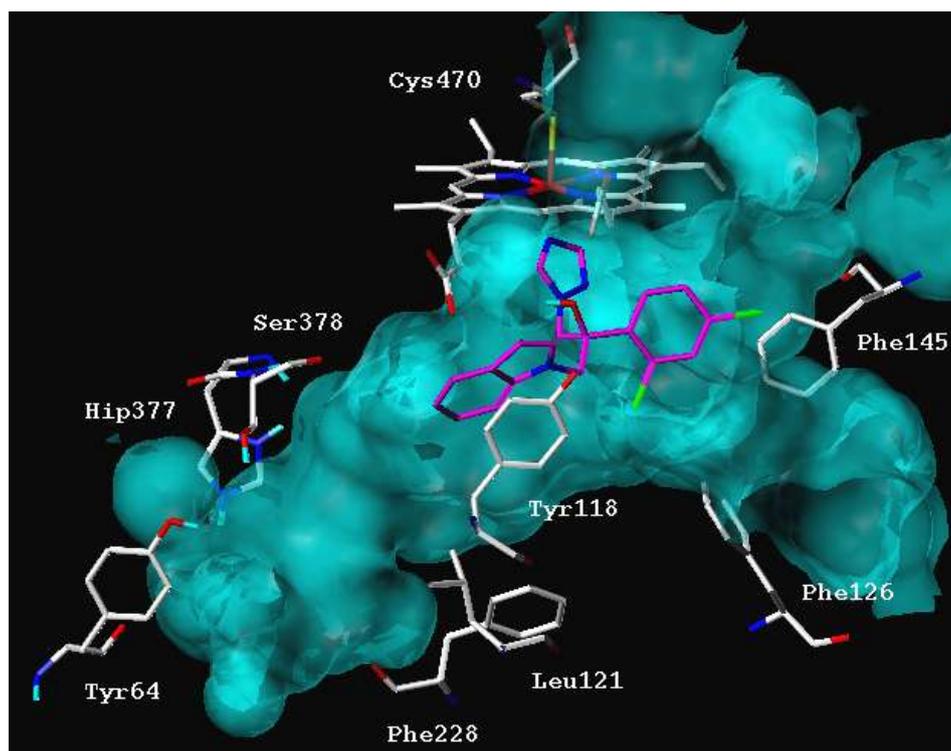


Figure 112 : « Docking » de l'isomère (-)-*S* du **NL114** dans le site actif CYP51-CANAL

Les résultats montrent un mode de fixation analogue à celui décrit précédemment pour le ravuconazole. Ainsi, le noyau aromatique dichloré occupe la cavité hydrophobe et l'indole, dirigé vers le tunnel 2, effectue un « stacking » avec le noyau aromatique de la Tyr118.

Les pharmacomodulations introduites sur ce chef de file en position 3 de l'indole n'ont pas permis d'augmenter l'activité antifongique. Cette position est cependant orientée vers une des chaînes carboxylates de l'hème. Nous pouvons donc penser que l'introduction de groupes rigides et volumineux puisse générer un conflit stérique susceptible de modifier l'orientation de l'hème et perturber ainsi la coordination principale entre l'azote N-4 du triazole et l'atome de fer.

Toutefois, au vu des résultats du « docking », nous pouvons envisager la préparation de nouveaux dérivés azolés ciblant les acides aminés His377 et Ser378 de façon à

vérifier ou non leur importance. Diverses pharmacomodulations en positions 5 et 6 de l'indole pourraient ainsi être introduites afin d'occuper au mieux le site actif (**figure 112**). Cependant, ces positions sont peu réactives et il nous est apparu plus judicieux, dans un premier temps, de transférer le pharmacophore de la position 1 vers la position 5 de l'indole (**figures 113 et 114**). Cette nouvelle série de molécules (Série 5) permet en effet de moduler plus facilement les positions 2 et 3 par des groupes accepteurs de liaison-H, facilement accessibles par des techniques de chimie classique.

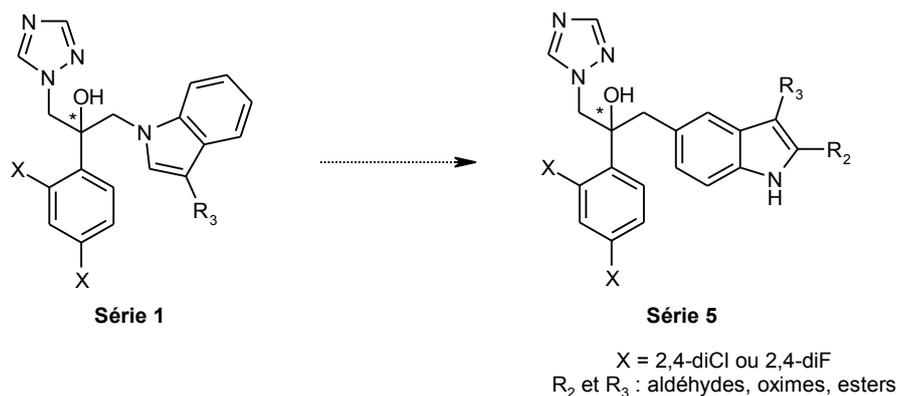


Figure 113 : Conception de 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-(1H-indol-5-yl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

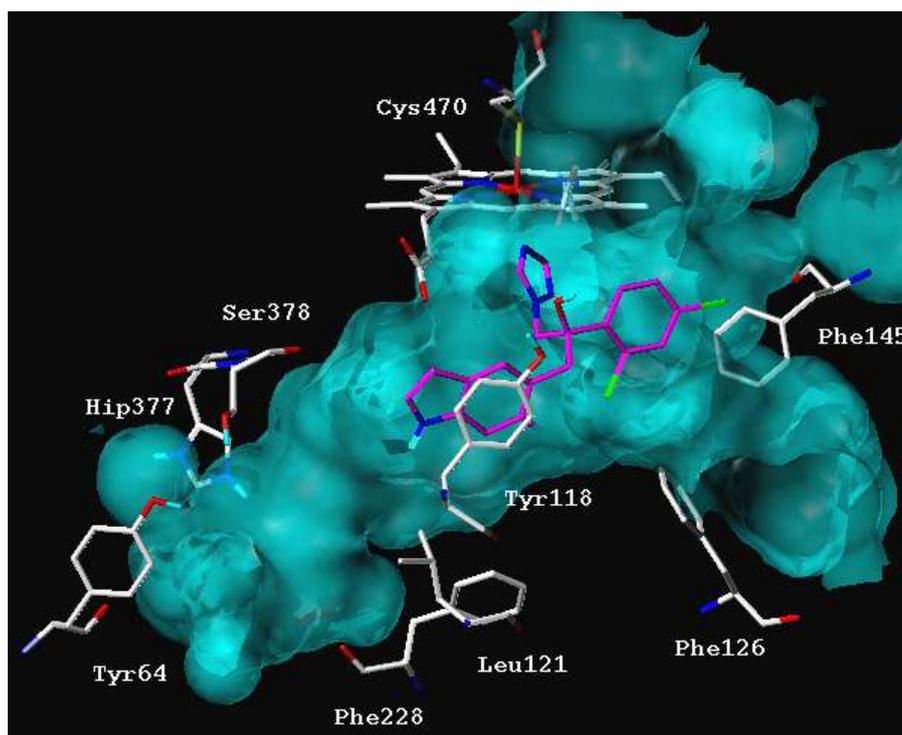


Figure 114 : Exemple de « docking » d'un dérivé de la série 5 dans le site actif CYP51-CANAL

2- Approche rétrosynthétique et essais de synthèse

Pour préparer les 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-(*1H*-indol-5-yl)-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols, plusieurs voies de rétrosynthèse ont été envisagées (**figure 115**).

La **voie A**, basée sur les travaux de J. Schaus *et al.*¹⁶⁰, consiste à coupler le 5-bromo-*1H*-indole avec un éther d'énol silylé **III** selon un couplage de type Heck. Dans un second temps, le motif cétone du dérivé **II** est converti en époxyde **I**. Enfin, le noyau *1H*-1,2,4-triazole est introduit par addition nucléophile sur l'époxyde.

La **voie B** est basée sur un couplage de Suzuki entre les composés **IV** et **V**. L'acide indole-5-boronique **IV** est préparé à partir du 5-bromo-*1H*-indole. Les halohydrines **V** sont quant à elles préparées directement à partir des époxydes **VI**. Ces derniers sont préparés selon une réaction de Corey-Chaykovsky à partir de **VII**, lui-même préparé par *N1*-alkylation du *1H*-1,2,4-triazole par une 2-chloroacétophénone.

La **voie C** fait appel à une réaction de couplage organopalladié de type Stille. Pour cela, les dérivés **VIII** devront réagir avec le 5-bromo-*1H*-indole. Les composés organostanniques **VIII** sont préparés par addition nucléophile de chlorure de triphénylétain sur les époxydes **VI**, obtenus en deux étapes à partir de 2-chloroacétophénone et de *1H*-1,2,4-triazole.

Enfin, la **voie D** est basée sur la formation d'un organolithien en position 5 de l'indole à partir du 5-bromo-*1H*-indole. Ce lithien devrait réagir sur les époxydes **VI** et provoquer l'ouverture du cycle oxirane pour fournir les produits désirés.

¹⁶⁰ Schaus J., Xu Y.C. Indole derivatives and their use as 5-HT_{1F} agonists. **2000**, Brevet WO 00/34266.

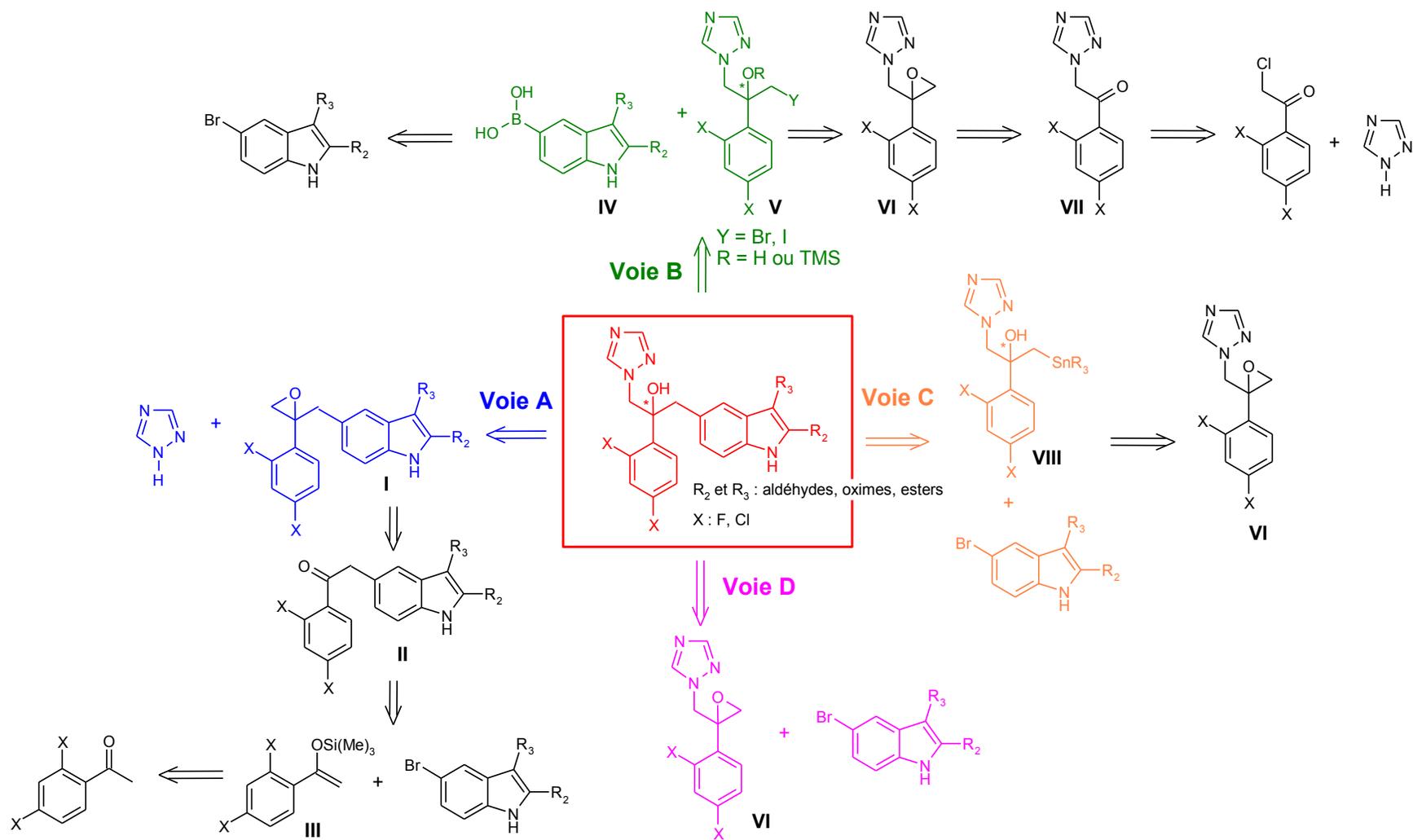


Figure 115 : Voies d'accès aux 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-(1H-indol-5-yl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

2-1- Voie A : Passage par un éther d'énol silylé

La voie A consiste à mettre en réaction le 5-bromo-*1H*-indole avec un éther d'énol silylé **III**. Cet éther d'énol est préparé à partir de l'acétophénone correspondante selon la figure 116 :

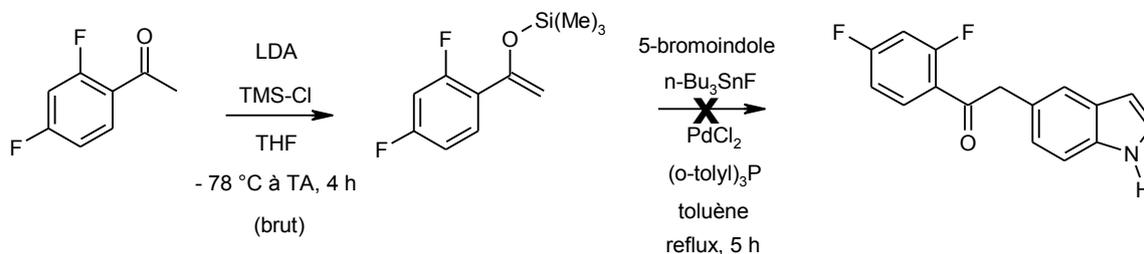


Figure 116 : Substitution en position 5 par réaction avec un éther d'énol silylé

Un essai est réalisé avec la 2',4'-difluoroacétophénone et le 5-bromo-*1H*-indole. L'acétophénone est convertie en éther d'énol silylé par réaction avec le couple amidure de diisopropyllithium / chlorure de triméthylsilyle à basse température. La formation de ce produit est confirmée par les deux protons éthyléniques indiqués par deux singulets sur le spectre RMN à 4,71 et 4,93 ppm. Le (1-(2,4-difluorophényl)vinyl)oxy)triméthylsilane obtenu est directement mis en réaction avec le 5-bromo-*1H*-indole sans purification préalable, selon un couplage de Heck d'après les conditions de Schaus. Aucun produit n'est obtenu.

2-2- Voie B : Passage par un couplage de Suzuki

Le 5-bromo-*1H*-indole est mis en présence d'hydrure de potassium, de *tert*-butyllithium et de borate de triisopropyle à basse température pour conduire à l'acide indole-5-boronique **106** avec un rendement de 66%¹⁶¹ :

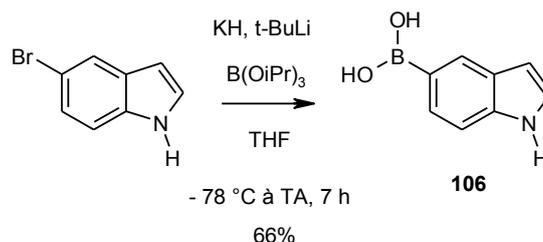


Figure 117 : Préparation de l'acide indole-5-boronique **106**

En parallèle, les dérivés **107-110** sont préparés par addition nucléophile d'halogénure de sodium en présence d'acétate de sodium ou d'halogénure de triméthylsilyle et de triphénylphosphine sur le cycle oxirane du composé **89** dont la synthèse a été décrite

¹⁶¹ Yang Y. *et al. Heterocycles* **1992**, *34*, 1169-1175.

page 196. La synthèse de ces intermédiaires a été réalisée en appliquant les méthodes de O. Takahashi *et al.*¹⁶² (O-H et Y = Br ou I) ou Y. Song *et al.*¹⁶³ (O-TMS et Y = Br ou I) :

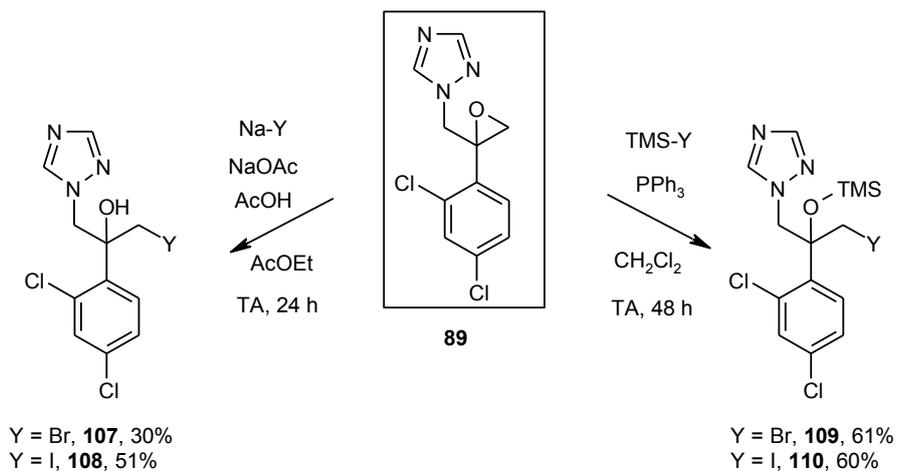


Figure 118 : Formation des β -halohydrines **107** à **110**

Les dérivés halogénés (**107-110**) obtenus avec des rendements modestes (30-61%) sont ensuite engagés dans un couplage de Suzuki avec l'acide indole-5-boronique **106** :

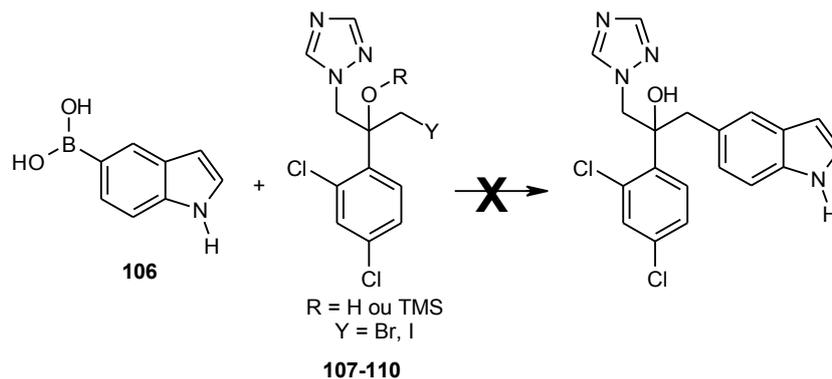


Figure 119 : Echec du couplage de Suzuki

¹⁶² Takahashi O. *et al. Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 1583-1584.

¹⁶³ Song Y. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 4471-4477.

Plusieurs conditions expérimentales ont été étudiées pour le couplage de Suzuki comme le montre le tableau suivant :

Tableau 16 : exemples d'essais réalisés pour le couplage de Suzuki

Essai	Base	Catalyseur	Solvant	Conditions
N°1	Na ₂ CO ₃	Pd(PPh ₃) ₄	DME	85 °C, 1 nuit
N°2	K ₂ CO ₃ 2 M	Pd(PPh ₃) ₄	DME	85 °C, 1 nuit
N°3	K ₂ CO ₃ 2 M	Pd(PPh ₃) ₄	DME	85 °C, 6 h
N°4	K ₂ CO ₃	Pd(PPh ₃) ₄	DMF	80 °C, 48 h
N°5	K ₃ PO ₄	DAPCy*	EtOH	TA, 16 h
N°6	K ₃ PO ₄	DAPCy	EtOH	Reflux, 1 nuit
N°7	Ba(OH) ₂ .8H ₂ O	Pd(OAc) ₂	EtOH/eau : 1/1	MO, 80 °C, 40W, 15 min

* DAPCy : Diacétate de dicyclohexylamine palladium

La base et le catalyseur ont été changés, les temps de réaction et la méthode de chauffage (bain d'huile ou micro-ondes) ont également été modifiés. Dans tous les essais réalisés, aucun produit n'a pu être isolé, seul l'époxyde **89** est récupéré.

2-3- Voie C : Passage par un couplage de Stille

La troisième voie de synthèse fait appel à un couplage organopalladié de type Stille. Dans un premier temps, l'époxyde **89** est converti en une forme ouverte selon les conditions de D.D. Davis *et al.*¹⁶⁴ :

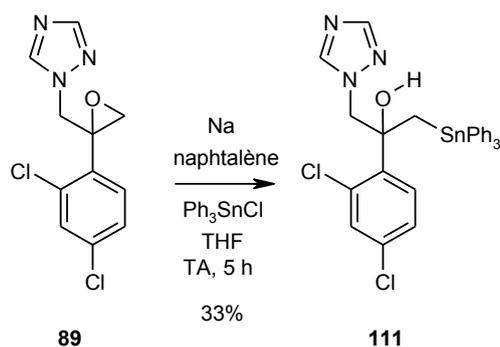


Figure 120 : Formation du composé organostannique **111**

Le chlorure de triphénylétain réagit en présence de sodium et de naphthalène sur l'époxyde **89** pour donner le dérivé **111** avec un faible rendement de 33%. Le couplage de Stille peut donc être réalisé entre **111** et le 5-bromo-*1H*-indole :

¹⁶⁴ Davis D.D. *et al.* *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 1303-1307.

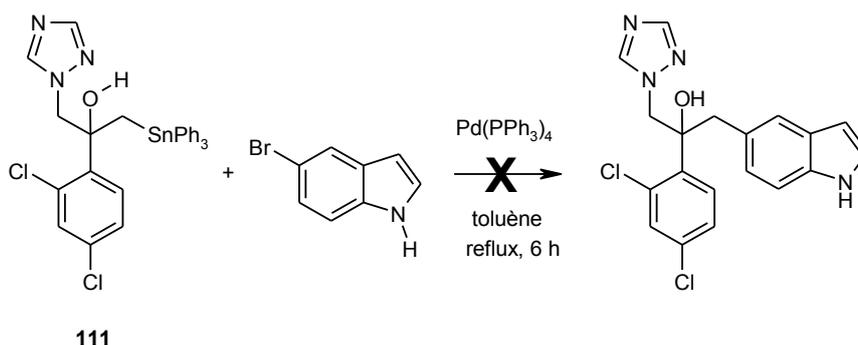


Figure 121 : Echec du couplage de Stille

Aucune réaction n'est observée dans les conditions mentionnées sur la **figure 121** en utilisant le tétrakistriphénylphosphine de palladium comme catalyseur au reflux du toluène pendant 6 heures. Nous avons alors tenté de réaliser le couplage de Stille en inversant les partenaires de réaction. En effet, les composés **107-110** (**figure 118**) peuvent réagir avec un indole stannylé :

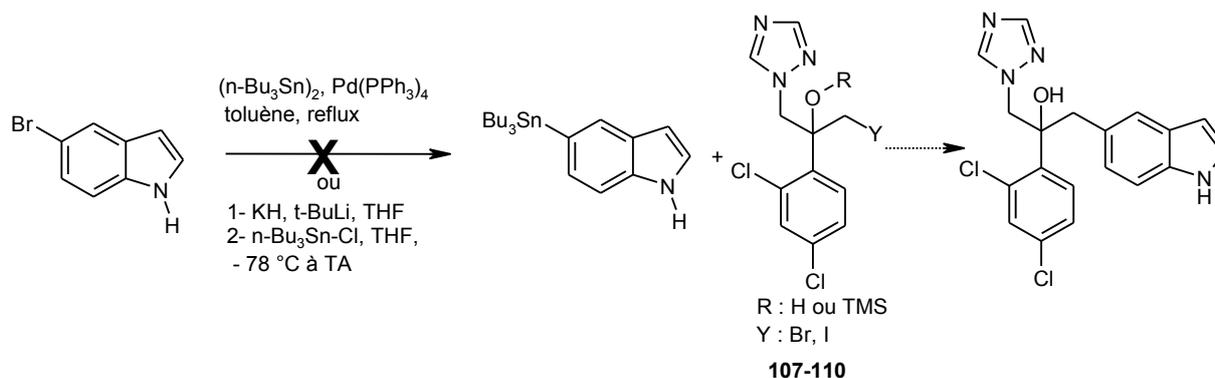


Figure 122 : Passage par une réaction de Stille inversée

Afin d'obtenir le 5-(tributylstannyl)-1*H*-indole à partir du 5-bromo-1*H*-indole deux méthodes peuvent être appliquées : soit l'utilisation de l'hexabutyl de diétain en présence d'un catalyseur au palladium au reflux du toluène¹⁶⁵, soit la formation préalable du lithien du 5-bromo-1*H*-indole en position 5 (généralisé par utilisation du couple KH/*t*-BuLi à très basse température) et sa réaction *in situ* avec le chlorure de tributylétain. Dans les deux cas, le produit n'a pas été obtenu.

2-4- Voie D : Addition nucléophile du 5-bromo-1*H*-indole sur 89

La dernière voie de synthèse envisagée consiste en la formation préalable d'un lithien sur la position 5 du noyau indole selon les conditions déjà décrites (préparation de **106** page 249). Le nucléophile formé peut ensuite s'additionner sur l'époxyde approprié.

¹⁶⁵ Pour un aperçu bibliographique sur le couplage de Stille, voir : (a) Stille J.K. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 508-524 ; (b) Marshall J.A. *Chem. Rev.* **2000**, 100, 3163-3185.

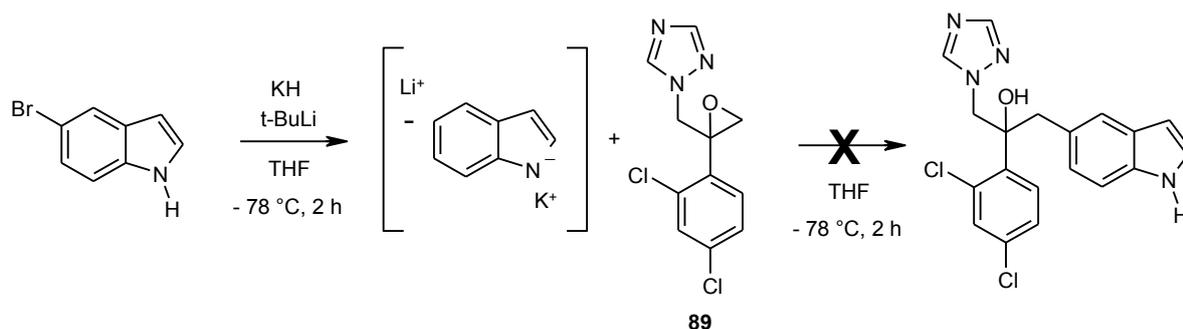


Figure 123 : Ouverture nucléophile de l'époxyde par le lithien du 5-bromo-1*H*-indole

La réaction nécessite une protection temporaire de la position 1 en présence de l'hydrure de potassium. L'échange brome / lithium est réalisé par action du *tert*-butyllithium à très basse température. Quelques soient les conditions de réaction (jusqu'à 2 jours à température ambiante ou en chauffant à 50 °C), l'ouverture de l'époxyde n'a jamais été observée. Après hydrolyse de la réaction, nous obtenons de l'indole et l'époxyde reste inchangé. Ceci confirme que l'échange avec le lithien a bien eu lieu et que l'organolithien n'est pas assez nucléophile pour permettre l'ouverture de l'époxyde.

3- Partie expérimentale

Acide indol-5-ylboronique (106)

Méthode N :

Placer 204 mg (5,1 mmol) d'hydrure de potassium (préalablement lavé avec du THF anhydre) dans 8 mL de THF anhydre sous argon à 0 °C. Ajouter à 0 °C 1 g (5,1 mmol) de 5-bromoindole dissous dans 5 mL de THF et agiter pendant 20 minutes. Descendre à -78 °C et ajouter 6 mL (10,2 mmol) d'une solution 1,7 M de *tert*-butyllithium dans le pentane. Agiter pendant 15 minutes puis ajouter 2,35 mL (10,2 mmol) de borate de triisopropyle (dissous dans 2 mL de THF). Agiter et revenir progressivement à température ambiante en 6 heures.

Verser le mélange réactionnel sur une solution d'acide chlorhydrique 1 M glacée. Extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Laver la phase organique 3 fois avec 20 mL d'une solution de soude 1 M. La solution aqueuse vire au violet. Réacidifier la phase aqueuse avec de l'acide chlorhydrique 1 M jusqu'à obtenir une couleur jaune (pH = 1). Extraire à nouveau la phase aqueuse avec de l'éther diéthylique. Sécher la phase organique sur du sulfate de sodium anhydre et évaporer. Triturer le mélange brut dans l'éther de pétrole.

Poudre beige

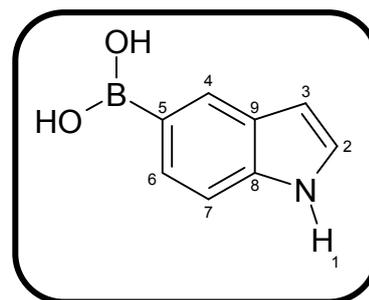
$C_8H_8BNO_2$

$M_r = 160,97$

$R_f = 0,40$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

°C = décomposition (éther de pétrole)

Rendement = 66%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

6,45 (1 H, d, $^3J = 2,6$ Hz, H_3) ; 6,57 (1 H, s large échangeable avec D_2O , OH) ; 7,33 (1 H, t, $^3J = 2,6$ Hz, H_2) ; 7,35 (1 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H_7) ; 7,56 (1 H, dd, $^4J = 0,9$ Hz, $^3J = 8,0$ Hz, H_6) ; 7,75 (1 H, s large échangeable avec D_2O , OH) ; 8,08 (1 H, d, $^4J = 0,9$ Hz, H_4) ; 11,09 (1 H, s, H_1).

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

1465, 1507 (ν C=C) ; 1620 (δ N-H) ; 3220 (ν O-H) ; 3388 (ν N-H).

1-Bromo-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (107)

Méthode L2 :

Dissoudre 1,107 g (4,10 mmol) de **89** dans 12 mL d'acétate d'éthyle sous argon à température ambiante. Ajouter 548 mg (5,33 mmol) de bromure de sodium anhydre, 370 mg (4,51 mmol) d'acétate de sodium et 0,26 mL (4,51 mmol) d'acide acétique glacial. Agiter à température ambiante pendant 24 heures.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec de l'acétate d'éthyle. Laver avec une solution saturée de chlorure de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le produit en le triturant à froid dans du dichlorométhane puis filtrer.

Poudre blanche

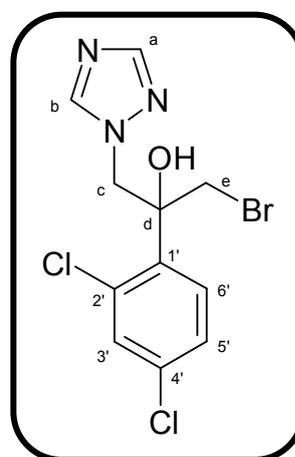
$C_{11}H_{10}Cl_2BrN_3O$

$M_r = 351,03$

$R_f = 0,25$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

$F^\circ C = 144-145$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

Rendement = 30%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,87 (1 H, d, $^2J = 11,0$ Hz, H_c) ; 4,47 (1 H, d, $^2J = 11,0$ Hz, H_c) ; 4,74 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,96 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 6,43 (1 H, s, OH) ; 7,39 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,56 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,63 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,82 (1 H, s, H_b) ; 8,34 (1 H, s, H_a).

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

1103 (ν C-Cl) ; 1216 (ν C-N) ; 1465, 1518, 1586 (ν C=C et ν C=N) ; 3101 (ν O-H).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-iodo-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (108)

Selon la méthode L2 (décrite p 256) :

Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2.

Poudre jaune

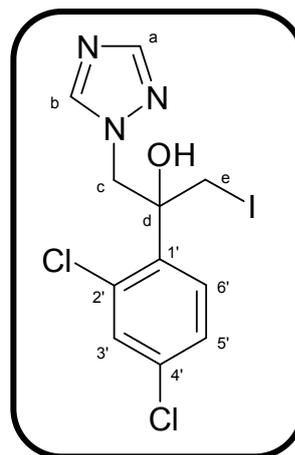
$C_{11}H_{10}Cl_2IN_3O$

$M_r = 398,03$

$R_f = 0,25$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

$F^\circ C = 139-140$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

Rendement = 51%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,62 (1 H, d, $^2J = 10,9$ Hz, H_c) ; 4,32 (1 H, d, $^2J = 10,9$ Hz, H_c) ; 4,74 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,01 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 6,35 (1 H, s, OH) ; 7,37 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,51 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,61 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,81 (1 H, s, H_b) ; 8,32 (1 H, s, H_a).

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

1007 (ν C-Cl) ; 1212 (ν C-N) ; 1438, 1516, 1585 (ν C=C et ν C=N) ; 3113 (ν O-H).

1-Bromo-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-2-triméthylsilylpropan-2-ol (109)

Méthode L3 :

Dissoudre 620 mg (2,29 mmol) de **89** dans 5 mL de dichlorométhane anhydre sous argon à température ambiante. Ajouter 30 mg (0,114 mmol) de triphénylphosphine et 0,6 mL (4,58 mmol) de bromotriméthylsilane. Agiter la solution à température ambiante pendant 48 heures.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Laver avec une solution saturée de chlorure de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant tout d'abord avec un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2 puis un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1.

Poudre jaune

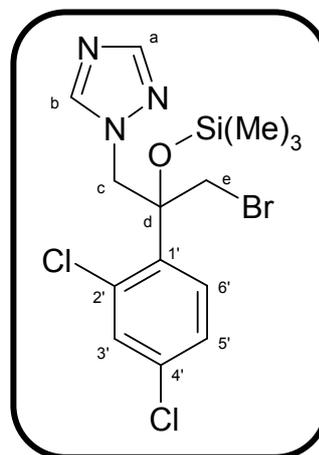
$C_{14}H_{18}Cl_2BrN_3OSi$

$M_r = 423,22$

$R_f = 0,30$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

$F^\circ C = 103-104$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

Rendement = 61%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,26 (9 H, s, 3CH₃) ; 3,96 (1 H, d, $^2J = 12,2$ Hz, H_c) ; 4,69 (1 H, d, $^2J = 12,2$ Hz, H_c) ; 4,80 (1 H, d, $^2J = 14,6$ Hz, H_e) ; 4,94 (1 H, d, $^2J = 14,6$ Hz, H_e) ; 7,42-7,44 (2 H, m, H_{5'}, H_{6'}) ; 7,65-7,68 (1 H, m, H_{3'}) ; 7,90 (1 H, s, H_b) ; 8,23 (1 H, s, H_a).

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

843 (ν C-Br) ; 1016 (ν C-Cl) ; 1107 (ν Si-O) ; 1254 (ν C-N) ; 1467, 1507 (ν C=C) ; 1585 (ν C=N) ; 2917 (ν C-H_{aliph.}).

**2-(2,4-Dichlorophényl)-1-iodo-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-2-triméthylsilyl
propan-2-ol (110)**

Selon la méthode L3 (décrite p 258) :

Poudre jaune

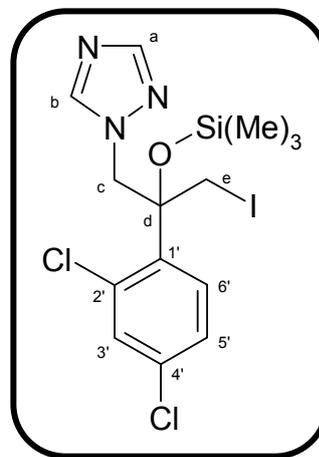
$C_{14}H_{18}Cl_2IN_3OSi$

$M_r = 470,22$

$R_f = 0,45$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

$F^\circ C = 92-93$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 60%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,32 (9 H, s, 3CH₃) ; 3,71 (1 H, d, $^2J = 12,0$ Hz, H_c) ; 4,52 (1 H, d, $^2J = 12,0$ Hz, H_c) ; 4,80 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,03 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 7,38-7,42 (2 H, m, H_{5'}, H_{6'}) ; 7,63-7,65 (1 H, m, H_{3'}) ; 7,88 (1 H, s, H_b) ; 8,17 (1 H, s, H_a).

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

838 (ν C-I) ; 1016 (ν C-Cl) ; 1103 (ν Si-O) ; 1253 (ν C-N) ; 1465, 1507 (ν C=C) ; 1585 (ν C=N) ; 2917 (ν C-H_{aliph.}).

2-(2,4-Dichlorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1-triphénylétain propan-2-ol (111)

Méthode L4 :

Placer 5 mL de THF sous argon à température ambiante. Ajouter 141 mg (1,1 mmol) de naphthalène et 120 mg de sodium finement coupé. Agiter à température ambiante pendant 15 minutes. Ajouter alors lentement 800 mg (2,07 mmol) de chlorure de triphénylétain dissous dans 5 mL de THF. La solution vire du vert au marron, puis orange et finalement devient incolore. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, la couleur verte réapparaît. Descendre à 0 °C et ajouter 1,22 g (4,52 mmol) de **89** dissous dans 5 mL de THF. Agiter pendant 2,5 heures à température ambiante.

Ajouter lentement un peu d'éthanol et de l'eau. Extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant tout d'abord avec un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle : 2 / 1 puis un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1.

Poudre blanche

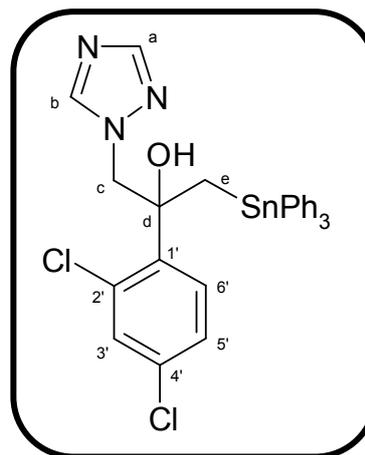
$C_{29}H_{25}Cl_2N_3OSn$

$M_r = 621,14$

$R_f = 0,45$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

$F^\circ C = 189-190$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 1)

Rendement = 33%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,32 (1 H, d, $^2J = 13,4$ Hz, H_e) ; 2,92 (1 H, d, $^2J = 13,4$ Hz, H_e) ; 4,68 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_c) ; 5,06 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_c) ; 6,39 (1 H, s, OH) ; 6,81 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_5) ; 7,20-7,40 (17 H, m, $H_{3'}$, $H_{6'}$, 3 Ph) ; 7,76 (1 H, s, H_b) ; 8,27 (1 H, s, H_a).

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

1012 (ν C-Cl) ; 1274 (ν C-N) ; 1468, 1508 (ν C=C) ; 1586 (ν C=N) ; 3061 (ν O-H).

4- Synthèse de 2-phényl-1-(1H-indol-5-ylamino)- et 2-phényl-1-[N-(1H-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

4-1- Nouvelles hypothèses de travail

Devant ces échecs successifs nous avons été amenés à proposer une nouvelle famille de composés où l'indole serait substitué en position 5 par un espaceur de type amine dont la nucléophilie serait susceptible de réagir plus facilement avec les époxydes **89** et **90** et provoquer ainsi leur ouverture (**figure 124**) :

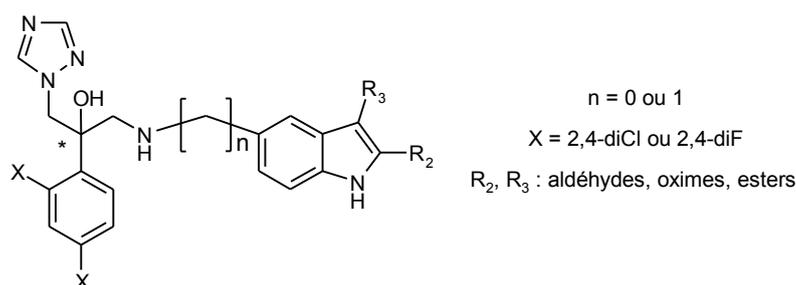


Figure 124 : Structure générale des composés construits sur les 5-amino-1H-indole et 5-aminométhyl-1H-indole

Les premiers résultats de « docking » effectués sur les molécules non substituées ($\text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$ et $\text{X} = 2,4\text{-diCl}$) montrent que quelque soit la longueur de la chaîne de l'espaceur ($n = 0$ ou $n = 1$), les positions 2 et 3 de l'indole s'orientent correctement en direction du tunnel 2 et plus particulièrement vers les acides aminés ciblés (His377 et Ser378) (**figures 125** et **126**).

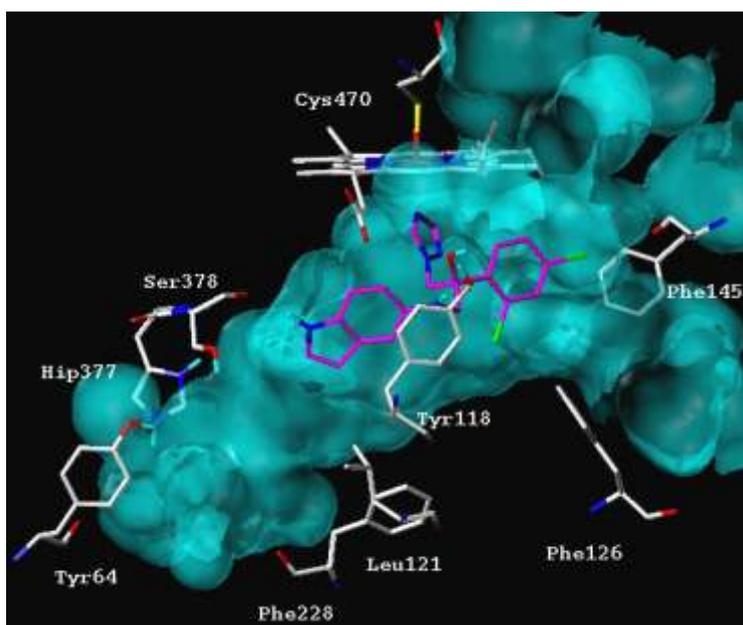


Figure 125 : « Docking » du composé **113** ($n = 0$, isomère S) dans le site actif CYP51-CANAL

Toutefois, afin de confirmer ces observations, la synthèse et l'évaluation pharmacologique des 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-(*1H*-indol-5-ylamino)-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols et des 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-[*N*-(*1H*-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols ont été entreprises.

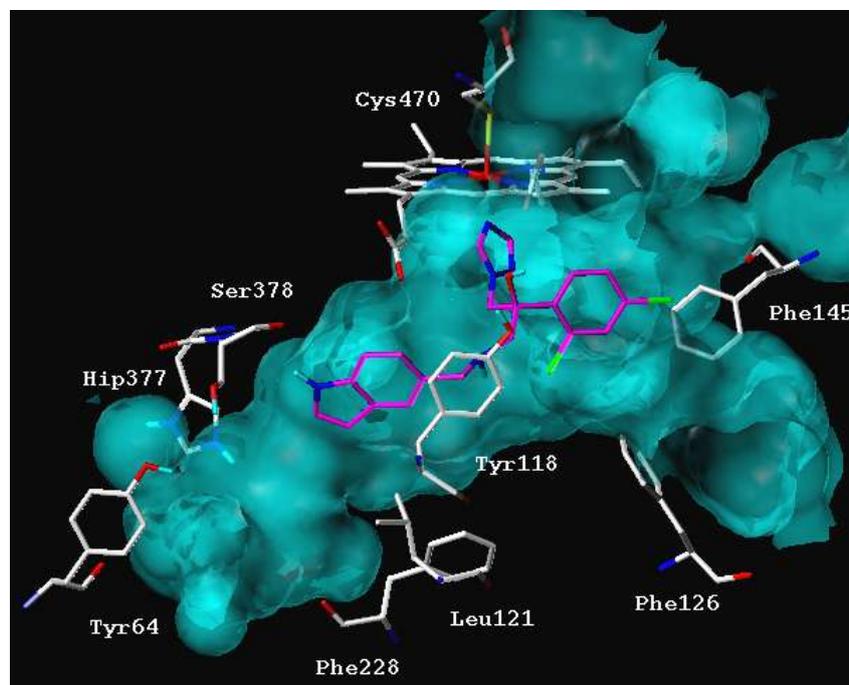


Figure 126 : « Docking » du composé **128** (n = 1, isomère *S*) dans le site actif CYP51-CANAL

4-2- Synthèse du 2-(2,4-dichlorophényl)-1-(*1H*-indol-5-ylamino)-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **113**

En ce qui concerne la série n = 0, un essai de synthèse a été réalisé entre l'époxyde **89** et le 5-amino-*1H*-indole :

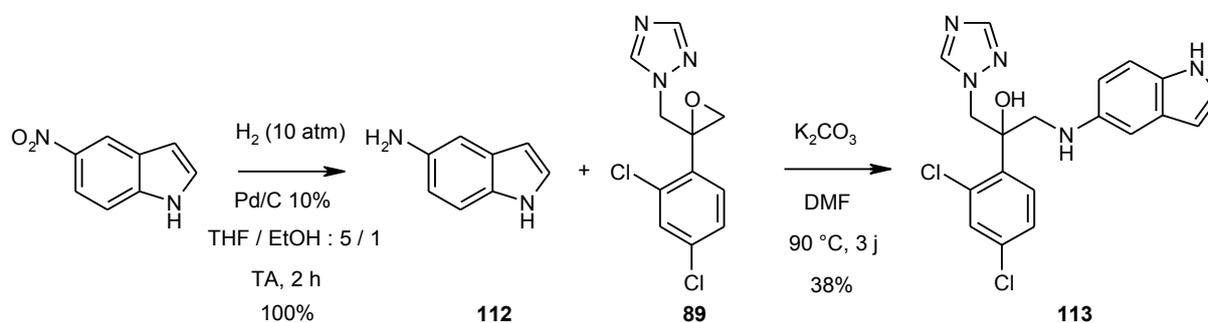


Figure 127 : Synthèse du composé **113**

Le 5-nitro-*1H*-indole commercial est réduit en 5-amino-*1H*-indole **112** de manière quantitative sous hydrogénation catalytique. Le composé **112** est ensuite engagé en

réaction avec l'époxyde **89** en présence de carbonate de potassium. Après 3 jours de chauffage à 90 °C, le composé final **113** est isolé avec 38% de rendement.

4-3- Evaluation pharmacologique du 2-(2,4-dichlorophényl)-1-(1*H*-indol-5-ylamino)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol 113

Ce composé a été testé sur une souche de *Candida albicans* CA98001 (sensible au fluconazole) et une souche *Aspergillus fumigatus* AF98003. Il est inactif sur *Aspergillus* et a montré une CI_{80} de 26 nM sur *Candida albicans*. Il présente donc une activité 20 fois supérieure au fluconazole (CI_{80} = 630 nM) et possède le même niveau d'activité que le voriconazole (CI_{80} = 43 nM) sur la même souche. De plus ce composé est plus actif que les analogues du **NL114** décrits dans les **tableaux 14** et **15** pages 204-205.

Cependant, devant la lenteur de la réaction probablement liée à la faible nucléophilie de l'amine aromatique, nous avons envisagé de préparer une famille de molécules possédant un espaceur amine où $n = 1$ (**figure 124** page 261). Cette famille de molécules présente le même comportement dans le site actif de l'enzyme que la série $n = 0$ détaillée au paragraphe précédent. Cependant, une amine primaire étant plus réactive qu'une amine aromatique, nous en avons déduit que l'accessibilité chimique vers ce type de composés devrait être plus aisée.

4-4- Synthèse du 2-(2,4-dichlorophényl)-1-[*N*-(1*H*-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol 128

Afin de préparer ce composé, nous avons envisagé d'appliquer le schéma rétrosynthétique suivant (figure 128).

Le composé **128** serait donc obtenu par aminolyse de l'époxyde **89** par le 5-aminométhyl-1*H*-indole. Ce dernier est obtenu en deux étapes à partir du 5-bromo-1*H*-indole par cyanation et réduction de la fonction nitrile.

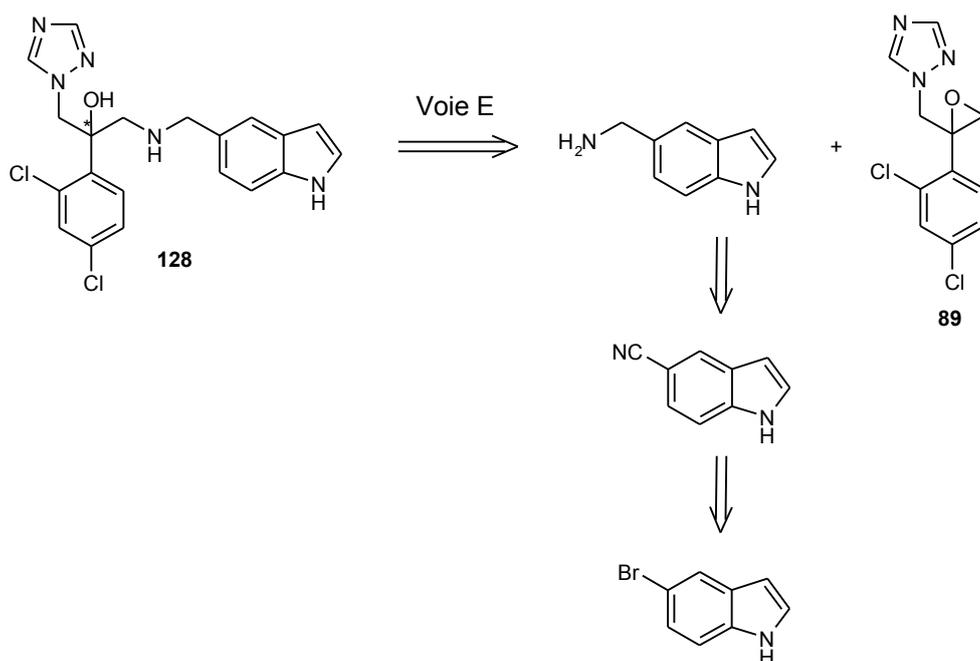


Figure 128 : Rétrosynthèse pour la préparation du 2-(2,4-dichlorophényl)-1-[N-(*1H*-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **128**

Les premiers essais de synthèse ont consisté à préparer le 5-aminométhyl-*1H*-indole. Ce produit est commercial mais son coût élevé nous a conduit à réaliser sa synthèse. Comme décrit sur la **figure 129**, la synthèse débute avec le 5-bromo-*1H*-indole.

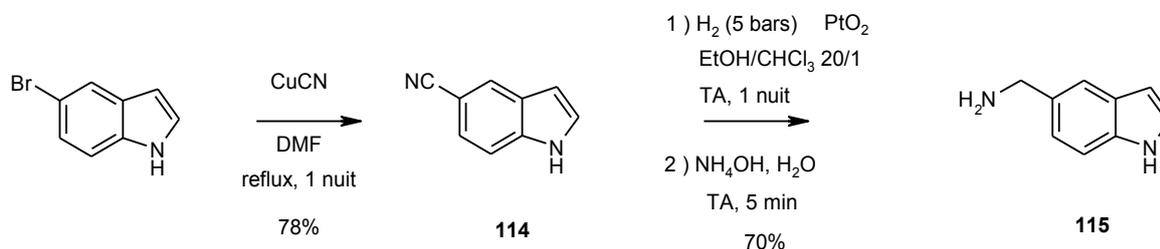


Figure 129 : Synthèse du 5-aminométhyl-*1H*-indole **115**

Lors de la première étape, le 5-bromo-*1H*-indole est mis en réaction avec du cyanure cuivreux au reflux du DMF pendant la nuit.¹⁶⁶ Le 5-cyano-*1H*-indole **114** est obtenu avec un rendement de 78%. La réduction de la fonction nitrile en un motif méthylamine est réalisée en deux temps selon la méthode de J.L. Castro *et al.*¹⁶⁷ L'hydrogénation catalytique en présence d'oxyde de platine dans un mélange chloroforme / éthanol conduit tout d'abord à un intermédiaire chlorure d'ammonium.¹⁶⁸ Celui-ci est ensuite libéré par action d'ammoniaque en milieu aqueux et conduit au 5-(aminométhyl)-*1H*-indole **115** avec un rendement de 70%.

¹⁶⁶ Zanon J. *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2890-2891.

¹⁶⁷ Castro J.L. *et al.* *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4705-4708.

¹⁶⁸ Secrist III J.A. *et al.* *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 335-336.

La dernière étape consiste à faire réagir le dérivé **115** avec l'époxyde **89** :

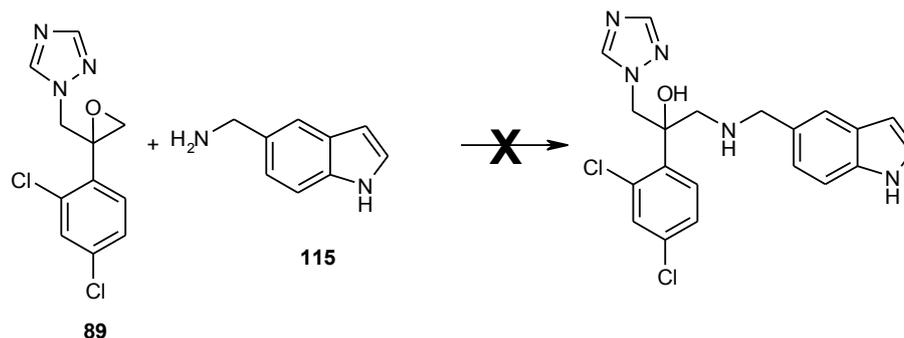


Figure 130 : Réaction d'aminolyse de l'époxyde **89** par le 5-aminométhyl-1H-indole **115**

La réaction d'aminolyse d'un époxyde par une amine primaire est largement décrite dans la littérature. Toutefois aucune référence ne mentionne le couplage entre le 5-aminométhyl-1H-indole et un époxyde. Plusieurs conditions opératoires peuvent être utilisées.

Dans certains cas, aucune base n'est utilisée et seule la nucléophilie de l'amine suffit à ouvrir l'époxyde.^{169,170} Dans les cas les plus difficiles où l'époxyde est encombré, certains groupes utilisent des acides de Lewis (exemple LiClO_4 ¹⁷¹ ou $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$) pour activer l'époxyde et faciliter son ouverture.

Plusieurs de ces conditions opératoires ont été essayées dans notre synthèse :

Tableau 17 : essais d'aminolyse de **89**

Essai	Base	Acide de Lewis	Solvant	Conditions
N°1	/	/	THF	Reflux, 18 h
N°2	/	/	MeOH	Reflux, 18 h
N°3	Et_3N	/	THF	Reflux, 24 h
N°4	NaOH	/	MeOH	Reflux, 8 h
N°5	NaOH	/	EtOH	Reflux, 8 h
N°6	K_2CO_3	/	DMF	90 °C, 3 jours
N°7	/	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	THF	Reflux, 7 h
N°8	/	LiClO_4	CH_3CN	Reflux, 1 nuit

¹⁶⁹ Bakshi P. *et al. J. Med. Chem.* **2004**, 47, 6485-6489.

¹⁷⁰ Hetenyl A. *et al. J. Org. Chem.* **2003**, 68, 2175-2182.

¹⁷¹ Garcia-Delgado N. *et al. J. Org. Chem.* **2005**, 70, 7426-7428.

Toutes ces conditions opératoires se sont soldées par des échecs. L'époxyde **89** est retrouvé inchangé dans tous les cas, laissant penser que cette forme est stable. Ces échecs peuvent également être liés à une trop faible nucléophilie de l'amine primaire.

Un autre schéma de rétrosynthèse a dû être envisagé afin de résoudre ces problèmes de réactivité.

5- Synthèse des 2-phényl-1-[N-(1H-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

5-1- Principe de synthèse

Dans cette nouvelle stratégie de synthèse, l'idée est de convertir les époxydes **89** (dichloré) et **90** (difluoré) (**VI**) en une forme ouverte (type amino-alcool **IX**). La fonction amine de ces derniers permettra par substitution sur un dérivé halogéné ou addition nucléophile sur un groupe aldéhyde d'obtenir les produits désirés. Le 1-amino-2-phényl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **IX** est préparé selon le schéma rétrosynthétique suivant :

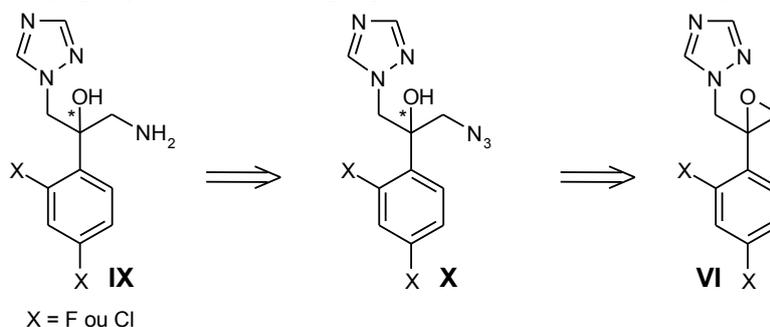


Figure 131 : Rétrosynthèse pour la préparation des 1-amino-2-phényl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

La synthèse débutera avec les époxydes **VI** qui dans un premier temps subiront une attaque nucléophile de l'azoture de sodium pour conduire aux deux azotures **X**. Lors de la dernière étape, le groupe N_3 de ces derniers sera réduit en amine primaire pour conduire aux intermédiaires clé **IX**.

Trois voies rétrosynthétiques ont été ensuite envisagées pour préparer les composés désirés à partir des intermédiaires **IX**. Elles sont présentées sur la **figure 132**.

La **voie F** passe par une reconstruction du noyau indolique. L' amino alcool **IX** réagit par sa fonction amine sur le bromure de 4-nitrobenzyle pour conduire au dérivé **XIV**. Le groupement nitro- du dérivé **XIV** est ensuite réduit pour donner **XIII**. Ce dernier subit une réaction d'iodation avant d'être engagé dans un couplage de Sonogashira pour former **XI**. Enfin lors de la dernière étape, le produit **XI** obtenu est converti en indole par cyclisation.

La **voie G** consiste en une amination réductrice entre l' amino alcool **IX** et l'indole 5-carbaldéhyde **XV** protégé en position 1. Ce dernier est obtenu par une première

étape de formylation du 5-bromo-*1H*-indole suivie d'une protection de l'azote indolique de **XVI**.

La **voie H**, quant à elle, fait intervenir un noyau indolique **XVII** substitué par un groupement bromométhyle en position 5. Une substitution nucléophile de l'amino alcool **IX** sur le brome devrait nous conduire au produit souhaité. Le dérivé **XVII** est obtenu par bromation de la fonction alcool de **XVIII**. Ce dernier est issu d'une étape de formylation du 5-bromo-*1H*-indole, d'une protection de l'azote et de la réduction de la fonction aldéhyde.

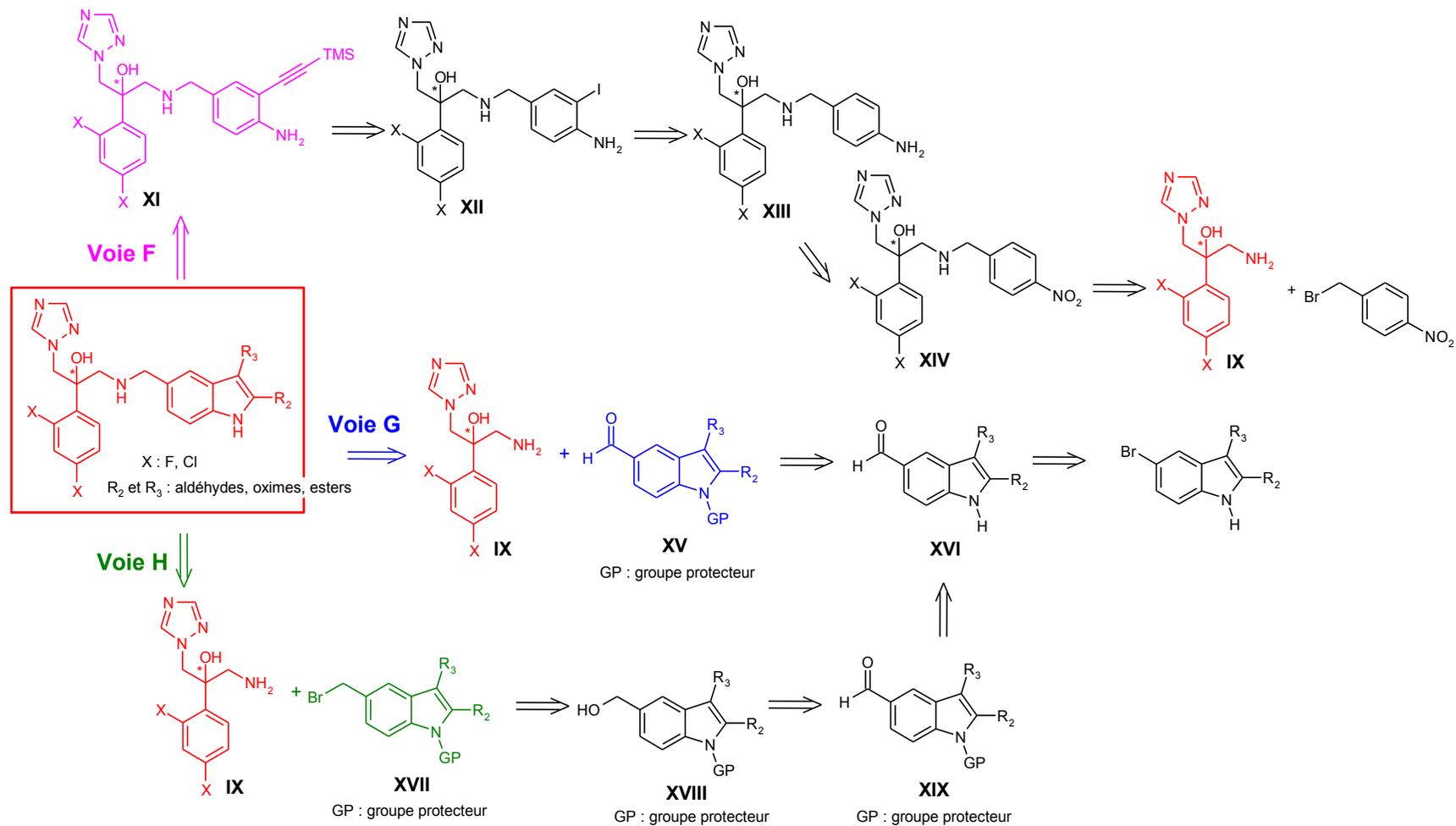


Figure 132 : voies alternatives à la préparation de 2-phényl-1-[N-(1H-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

5-2- Synthèse des 1-amino-2-(2,4-dihalogénophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

La préparation de l'intermédiaire clé passe par un dérivé azoture. Il existe de nombreuses méthodes de préparation des azotures dans la littérature mais la méthode qui a retenu notre attention¹⁷² permet d'obtenir les azotures **116** et **117** avec de bons rendements sans purification. L'anion azoture attaque le cycle oxirane de **89** et **90** en présence de chlorure d'ammonium au reflux du méthanol. Les sous-produits de la réaction sont de l'ammoniac et du chlorure de sodium (**figure 133**).

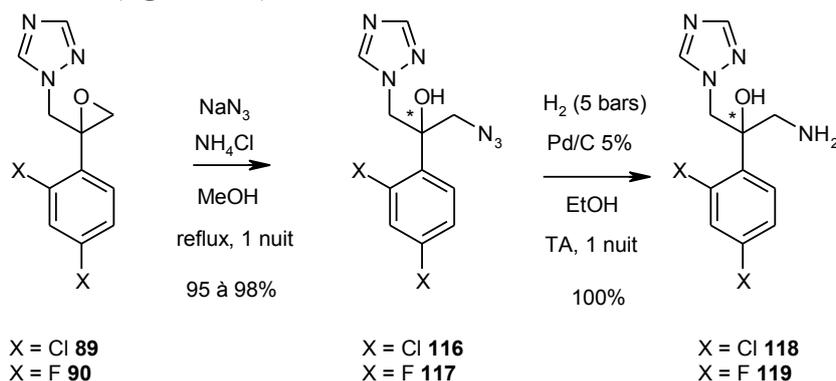


Figure 133 : Synthèse des précurseurs azotures et amino alcools

De même, de nombreuses techniques de réduction des azotures en amines ont été reportées. F. Fringuelli *et al.*¹⁷³ ont mis au point une catalyse au cuivre pour former et réduire en une étape un azoture à partir d'un époxyde. De même, D.J. Kempf *et al.*¹⁷² ou M. Shiozaki *et al.*¹⁷⁴ ont montré que l'on pouvait former un azoture et le réduire directement par l'emploi du chlorure d'ammonium. Enfin, des méthodes utilisant un agent de transfert d'hydrogène avec des systèmes tels que $\text{Zn} / \text{HCOONH}_4 / \text{MeOH}$ ¹⁷⁵ permettent également de réduire les azotures. La réaction d'un azoture avec de la triphénylphosphine selon les conditions de Staudinger¹⁷⁶ pourrait après réduction de l'imino-phosphorane intermédiaire conduire également à l' amino alcool.

Ces méthodes appliquées à notre synthèse n'ont pas permis d'isoler les amino alcools **118** et **119**. En effet, elles nécessitent souvent des traitements aqueux et il se trouve que ces dérivés sont solubles dans l'eau. Nous avons donc opté pour une méthode de réduction sous atmosphère d'hydrogène qui nous fournit le produit souhaité avec de très bons rendements, par simple filtration et évaporation du mélange réactionnel.¹⁷⁷

¹⁷² Kempf D.J. *et al. J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1978-1983.

¹⁷³ Fringuelli F. *et al. J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7041-7045.

¹⁷⁴ Shiozaki M. *et al. J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4450-4460.

¹⁷⁵ Kamal A. *et al. Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6517-6521.

¹⁷⁶ Mangelinckx S. *et al. Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 525-529.

¹⁷⁷ Reitz A.B. *et al. J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 2110-2116.

5-3- Travaux de synthèse

5-3-1- Voie F : construction du noyau indole

La première voie de synthèse mentionnée sur la **figure 132** (voie F) concerne la substitution des amino alcools **118** et **119** sur un bromure de 4-nitrobenzyle suivi de la construction du noyau pyrrole de l'indole. Pour tester la faisabilité de la méthode, un essai est réalisé pour X = Cl (**figure 134**).

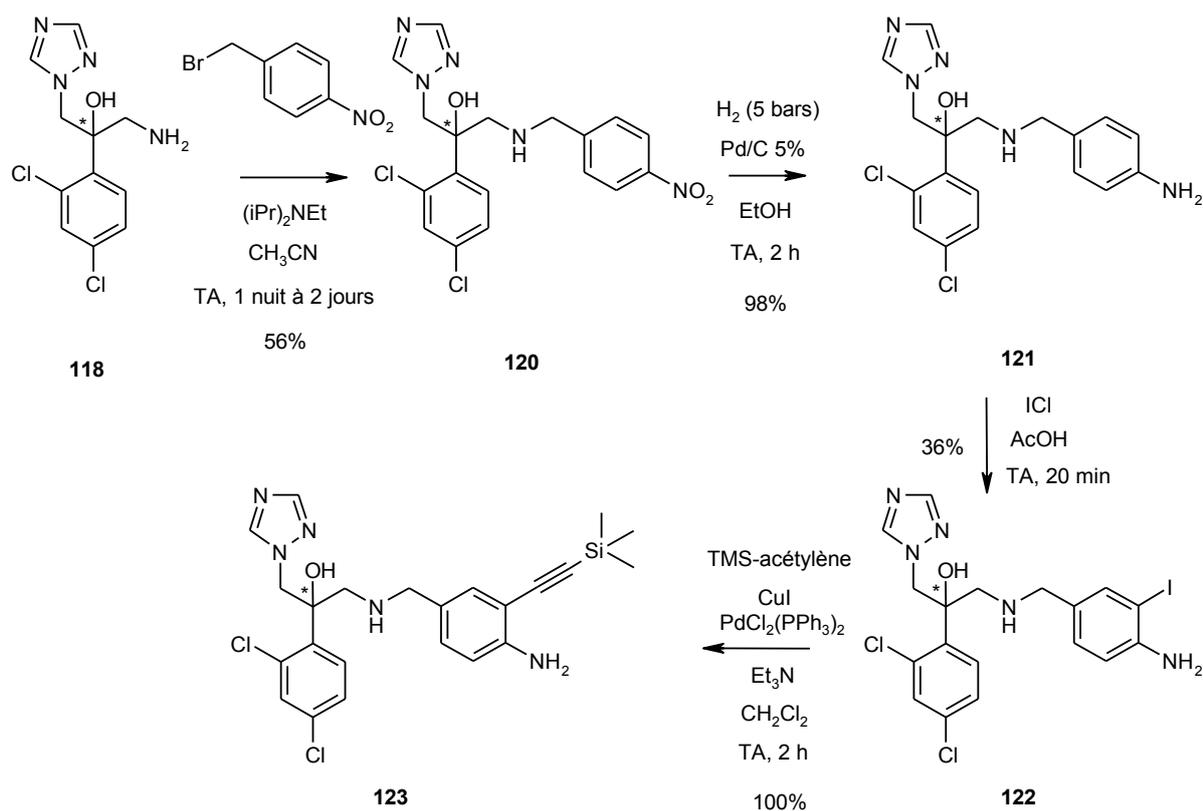


Figure 134 : Substitution nucléophile de l'aminoalcool **118** et synthèse des précurseurs de l'indole

Une mise au point a été nécessaire pour la réaction de substitution. L'emploi d'une base (triéthylamine ou *N,N*-diisopropyléthylamine) est indispensable pour éviter la formation du bromhydrate d'ammonium dérivé de **118**. Le produit **120** est obtenu avec un rendement de 56%. Il possède une fonction amine secondaire, plus réactive que l'amine primaire de **118**. Ainsi, pour éviter une seconde substitution, une parade consiste à mettre en excès l'amine **118** (rapport amine/bromure de benzyle : 2/1) dans le solvant en présence de la base et à ajouter goutte à goutte la solution de bromure de benzyle.

La réduction du groupement nitro est réalisée sous une faible pression d'hydrogène pendant 2 heures et conduit au dérivé **121** avec un très bon rendement. Aucune débenzylation (qui conduirait au retour à **118**) n'est observée ici. L'halogénéation en présence de monochlorure d'iode conduit ensuite au dérivé iodé en *ortho*- de l'amine selon les

conditions de J. Cao *et al.*¹⁷⁸. Le couplage de Sonogashira réalisé dans des conditions classiques (CuI, Et₃N, PdCl₂(PPh₃)₂) conduit de manière quantitative au produit **123**.¹⁷⁹

Diverses méthodes de cyclisation des 2-alcynylanilines en indole sont reportées dans la littérature : catalyse au chlorure de palladium¹⁸⁰, emploi d'anhydride trifluoroacétique¹⁸¹, d'iodure de cuivre¹⁸² ou de *tert*-butanolate de potassium¹⁸³. Toutes ces méthodes ont été appliquées à notre synthèse mais n'ont pas permis d'obtenir le dérivé indolique.

5-3-2- Voie G : passage par une amination réductrice

La voie F décrite précédemment ne permet pas d'obtenir la série de composés indoliques désirés. Une étude bibliographique sur les possibilités d'introduction d'une amine sur la position 5 de l'indole nous a conduit à la réaction d'amination réductrice.¹⁸⁴ Celle-ci peut être envisagée avec les dérivés **118** et **119** mais nécessite pour cela la préparation du *1H*-indole-5-carbaldéhyde **124** et une protection temporaire de l'azote indolique (**figure 135**) :

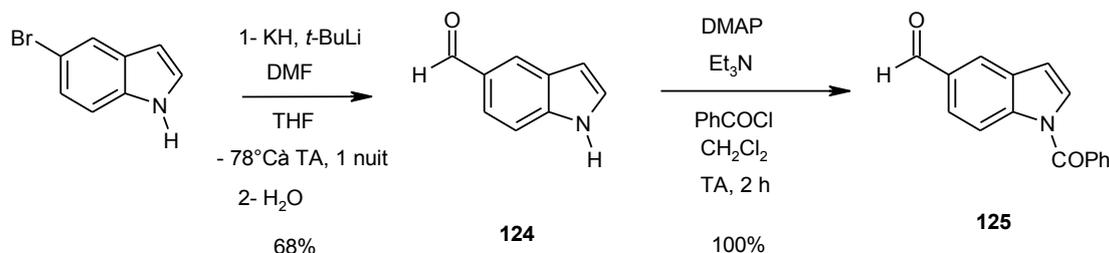


Figure 135 : Synthèse de *1H*-indole-5-carbaldéhyde **124** et protection par un benzoyle

Le dérivé **124** est préparé avec un rendement de 68% 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 DMF conduit à l'obtention d'un aldéhyde après élimination de *N,N*-diméthylamine. Enfin le dérivé **124** est protégé par un benzoyle selon les conditions décrites par D.S. Dhanoa *et al.*¹⁸⁵ Le composé **125** est obtenu de manière quantitative.

La dernière étape de la synthèse consiste à faire réagir le dérivé **125** avec les amino alcools **118** et **119**. Lors du couplage, une étude portant sur le réducteur a d'abord été menée. Le triacétoxyborohydrure de sodium (NaBH(OAc)₃) a été testé dans un premier temps, il ne conduit pas au produit souhaité. Aucune réaction n'est observée. Le

¹⁷⁸ Cao J. *et al.* *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6128-6136.

¹⁷⁹ Koradin C. *et al.* *Tetrahedron* **2003**, *49*, 1571-1587.

¹⁸⁰ Taylor E.C. *et al.* *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 5963-5966.

¹⁸¹ Lu B.Z. *et al.* *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3271-3274.

¹⁸² Ezquerro J. *et al.* *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 5804-5812.

¹⁸³ Kondo Y. *et al.* *Heterocycles* **1996**, *43*, 2741-2746.

¹⁸⁴ Kym P.R. *et al.* *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5888-5891.

¹⁸⁵ Dhanoa D.S. *et al.* *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 4230-4236.

cyanoborohydrure de sodium utilisé dans les mêmes conditions que la **figure 134** (rapport amine/aldéhyde : 2/1) conduit aux produits souhaités **126** et **127** avec des rendements satisfaisants :

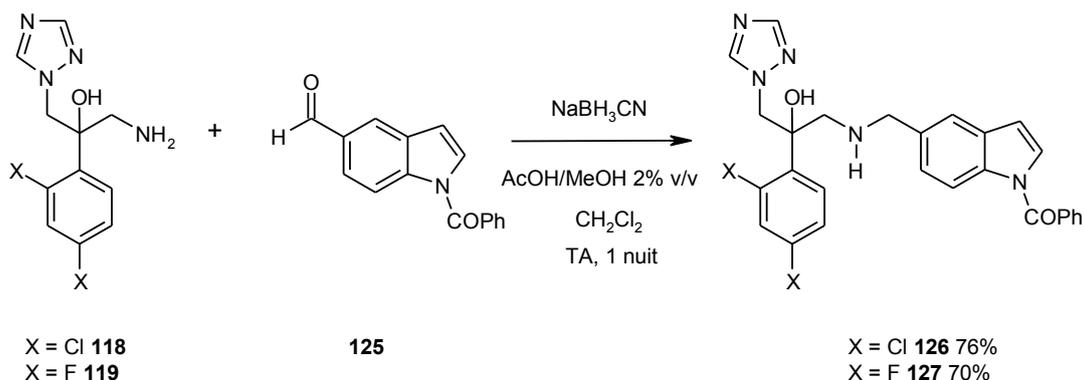


Figure 136 : Amination réductrice sur le *1H*-indole-5-carbaldéhyde protégé par un benzoyle

Enfin, une déprotection est nécessaire pour conduire aux deux premiers analogues de la série des 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-[(*1H*-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols. Une hydrolyse basique avec une solution de soude fournit les deux dérivés **128** et **129** avec de très bons rendements dans des conditions douces (**figure 137**). Le benzoate de sodium obtenu en sous-produit est éliminé dans la phase aqueuse.

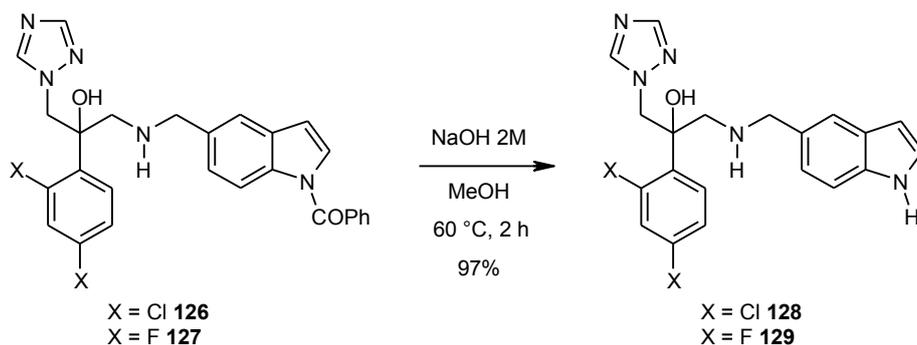


Figure 137 : Déprotection du groupement benzoyle

La **voie G** nous a donc permis d'arriver à nos objectifs avec la synthèse des deux dérivés non substitués de la série des 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-[(*1H*-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols. Par la suite, nous souhaitons introduire des substituants accepteurs de liaisons hydrogène en position 2 ou 3 de l'indole (aldéhyde, oximes, esters, glyoxamides...) et il apparaît clairement que cette voie n'est pas adaptée aux dérivés formylés en position 3.

D'une part l'introduction du motif aldéhyde sur les composés **128** et **129** en position 3 de l'indole par réaction de Vilsmeier-Haack n'est pas envisageable. En effet, l'amine secondaire de l'espaceur réagirait avec l'électrophile formé et une substitution de l'indole sur sa position 3 serait impossible. D'autre part, nous pouvons envisager d'introduire un groupe aldéhyde en position 3 du *1H*-indole-5-carbaldéhyde **124**, mais en présence des

amino alcools **118** et **119**, la fonction amine de ces derniers pourra réagir à la fois sur les positions 3 et 5 du noyau indole. Une réaction compétitive d'amination réductrice est donc inévitable dans ce cas.

5-3-3- Voie H : Substitution du 5-bromométhyl-1*H*-indole

Une autre voie de synthèse inspirée de la voie F a été imaginée.

Pour comparer les deux voies de synthèse, nous avons dans un premier temps entrepris la resynthèse des dérivés **128** et **129**. Le 5-bromométhyl-1*H*-indole n'étant pas stable, une protection a été mise en place lors de la synthèse (**figure 138**).

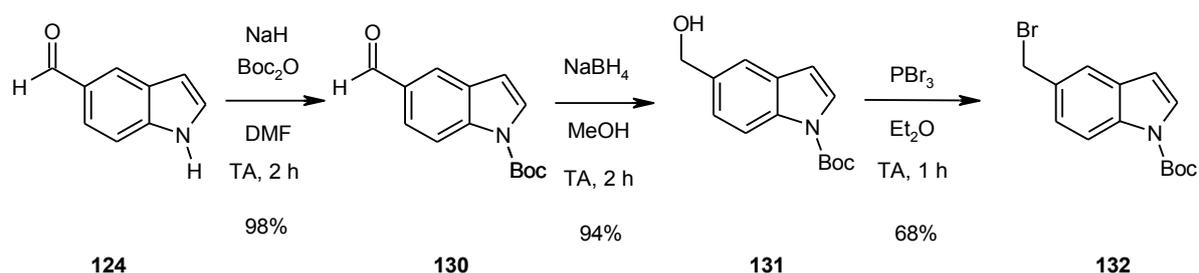


Figure 138 : Synthèse du 5-bromométhyl-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-indole **132**

Le dérivé **132** est obtenu en trois étapes à partir du 1*H*-indole-5-carbaldéhyde **124** avec de bons rendements. Comme précédemment, une substitution des amino alcools **118** et **119** a été réalisée avec **132** en utilisant un rapport amine/bromure : 2/1. Elle conduit à deux nouveaux dérivés indoliques avec des rendements satisfaisants :

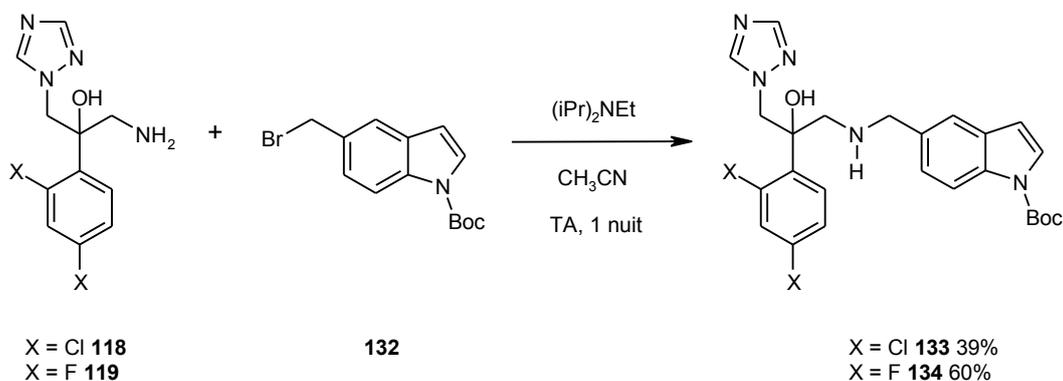


Figure 139 : Substitution de **118** et **119** par le 5-bromométhyl-1*H*-indole protégé **132**

Enfin, deux essais de déprotection des composés **133** et **134** ont été essayés en utilisant le fluorure de tétrabutylammonium dans le tétrahydrofurane ou l'acide chlorhydrique 3M au reflux de l'acétate d'éthyle. Ceux-ci n'ont pas permis d'isoler les dérivés **128** et **129** souhaités. Des perspectives de recherche alternatives à cette voie de synthèse sont mentionnées plus loin en conclusion de ce manuscrit (page 349).

5-3-4- Résultats pharmacologiques obtenus sur ces dérivés indoliques

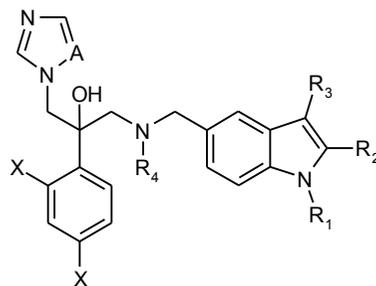
Six nouvelles molécules ont été préparées dans cette série et évaluées sur des souches *Candida albicans* CA98001 (souche sensible au fluconazole) et *Aspergillus fumigatus* AF98003.

Le **tableau 18** (page 275) résume les résultats d'activité obtenus.

Ces composés sont inactifs sur *A. fumigatus* AF98003 (CI_{80} toutes supérieures à 100 μ M). Toutefois, les six composés préparés ici possèdent une activité intéressante sur *C. albicans* avec des CI_{80} comprises entre 6 et 90 nM. Ces composés sont donc 7 à 100 fois plus actifs que le fluconazole, ils sont aussi actifs que le voriconazole (**134**, avec une CI_{80} de 6 nM, est même 7 fois plus actif que le voriconazole). A l'exception du composé **134**, ils sont également 6 à 10 fois moins actifs que le kétoconazole.

Les résultats indiqués dans le **tableau 18** semblent montrer qu'un groupe protecteur volumineux sur l'azote indolique n'améliore pas sensiblement l'activité biologique. Tous les résultats d'activité sont semblables comme le montre la comparaison de **128** (X = 2,4-diCl, N-H, CI_{80} = 76 nM) avec **126** (X = 2,4-diCl, N-Benzoyl, CI_{80} = 60 nM) ou **133** (X = 2,4-diCl, N-Boc, CI_{80} = 76 nM). Un groupe benzoyle ou *tert*-butoxycarbone, trop volumineux, semble induire un mauvais positionnement de l'inhibiteur dans le site actif si bien que l'interaction avec les acides aminés ciblés n'est plus respectée ici. Toutefois, le composé **134** (X = 2,4-diF, N-Boc, CI_{80} = 6 nM) est le composé le plus actif de la série et constitue donc une exception. Nous pouvons supposer que, dans ce cas particulier, ce composé interagit une fois encore avec les acides aminés clés His377 et Ser378 par liaison hydrogène.

Tableau 18 : Evaluation des 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-[N-(1H-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols



N°	A	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	X	CMI ou CI ₈₀			
							<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
							μM	μg/mL	μM	μg/mL
126	N	benzoyl	H	H	H	2,4-diCl	0,060±0,02	0,031±0,010	>100	-
127	N	benzoyl	H	H	H	2,4-diF	0,056±0,004	0,027±0,020	>100	-
128	N	H	H	H	H	2,4-diCl	0,076±0,002	0,032±0,0010	>100	-
129	N	H	H	H	H	2,4-diF	0,090±0,010	0,034±0,004	>100	-
133	N	Boc	H	H	H	2,4-diCl	0,076±0,016	0,039±0,008	>100	-
134	N	Boc	H	H	H	2,4-diF	0,006±0,001	0,003±0,0005	>100	-
AMB*							0,12±0,01	0,12±0,01	0,15±0,04	0,14±0,04
KTC							0,0094	0,005	-	-
FLC							0,63±0,02	0,19±0,006	-	-
ITC							-	-	0,6±0,06	0,42±0,04
VOC							0,043	0,015	-	-

* AMB : CMI = CI₉₀ pour *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* (cadre rouge).

5-4- Partie expérimentale

5-Amino-1*H*-indole (112)

Méthode O1 :

Dissoudre 300 mg (1,85 mmol) de 5-nitro-1*H*-indole dans 10 mL de THF et 2 mL d'éthanol à température ambiante. Ajouter 30 mg de palladium sur charbon à 10% et placer le mélange sous 10 atm d'hydrogène. Agiter à température ambiante pendant 3 heures.

Filtrer le mélange sur Célite et laver plusieurs fois avec de l'acétate d'éthyle. Evaporer le solvant. Le produit n'est pas purifié.

Poudre beige

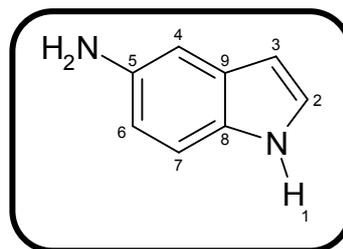
$C_8H_8N_2$

$M_r = 132,17$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane)

$F^\circ C = 131-133$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

4,45 (2 H, s, NH₂) ; 6,15 (1 H, d, $^3J = 3,9$ Hz, H₃) ; 6,51 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H₆) ; 6,71 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H₄) ; 7,11 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H₇) ; 7,15 (1 H, d, $^3J = 3,0$ Hz, H₂) ; 11,70 (1 H, s, H₁).

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

1431, 1525 (ν C=C) ; 1622 (δ N-H) ; 3290-3342 (ν N-H).

2-(2,4-Dichlorophényl)-3-(1*H*-indol-5-ylamino)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (113)

Méthode L5 :

Dissoudre 250 mg (1,89 mmol) de 5-amino-1*H*-indole **112** dans 3 mL de DMF. Ajouter 522 mg (3,78 mmol) de carbonate de potassium et 510 mg (1,89 mmol) de **89** préalablement dissous dans 4 mL de DMF. Agiter sous argon à 90 °C pendant 3 jours.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Laver la phase organique avec de l'eau. Sécher la phase organique avec du sulfate de sodium et évaporer. Triturer le mélange brut à 40 °C dans de l'éther diisopropylique pendant 4 heures. Filtrer la poudre.

Poudre brune

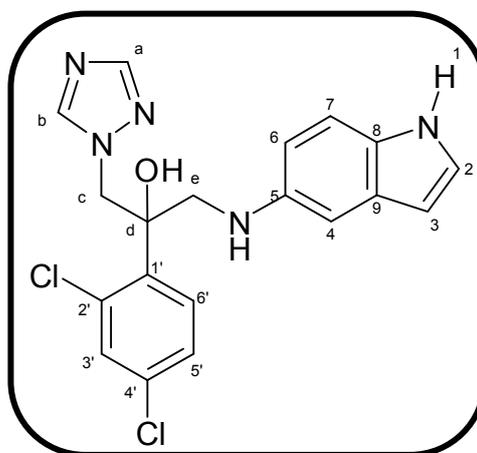
C₁₉H₁₇Cl₂N₅O

M_r = 402,29

R_f = 0,60 (dichlorométhane)

F°C = 114-116 (éter diisopropylique)

Rendement = 38%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

3,67 (1 H, d, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 3,86 (1 H, d, ²J = 13,7 Hz, H_c) ; 4,77 (1 H, d, ²J = 14,7 Hz, H_e) ; 5,10 (1 H, d, ²J = 14,7 Hz, H_e) ; 6,14 (1 H, d, ³J = 3,7 Hz, H₃) ; 6,23 (1 H, s, OH) ; 6,56 (1 H, dd, ³J = 8,5 Hz, ⁴J = 1,8 Hz, H₆) ; 6,75 (1 H, d, ⁴J = 1,8 Hz, H₄) ; 7,15 (1 H, ³J = 8,5 Hz, H₇) ; 7,17 (1 H, d, ³J = 3,7 Hz, H₂) ; 7,35 (1 H, dd, ³J = 8,2 Hz, ⁴J = 3,6 Hz, H₅) ; 7,58 (1 H, d, ⁴J = 3,6 Hz, H₃) ; 7,62 (1 H, d, ³J = 8,2 Hz, H₆) ; 7,78 (1 H, s, H_b) ; 8,37 (1 H, s, H_a) ; 10,68 (1 H, s, H₁).

RMN ¹³C (250 MHz, DMSO d₆) :

50,8 (C_e) ; 53,9 (C_c) ; 76,0 (C_d) ; 99,6 (C₃) ; 103,4 (C₄) ; 111,4 (C₇) ; 111,9 (C₆) ; 124,7 (C₂) ; 126,8 (C₅) ; 128,3 (C₉) ; 129,9 (C₄) ; 130,0 (C₈) ; 131,2 (C₃) ; 131,4 (C₆) ; 132,6 (C₂) ; 138,3 (C₁) ; 140,6 (C₅) ; 145,0 (C_b) ; 150,5 (C_a).

IR (KBr, cm⁻¹) :

797 (ν C-Cl) ; 1208 (ν C-N) ; 1463, 1581 (ν C=C) ; 1604 (ν C=N) ; 2919-3341 (ν O-H et ν N-H).

1*H*-Indole-5-carbonitrile (114)

Méthode P :

Dans un ballon dissoudre 1 g (5,10 mmol) de 5-bromo-1*H*-indole dans 8 mL de DMF à température ambiante sous argon. Ajouter 730 mg (8,16 mmol) de cyanure de cuivre et agiter à reflux pendant 7 heures.

Revenir à température ambiante et verser le mélange réactionnel sur un mélange eau/dichlorométhane. Filtrer le précipité sur un entonnoir équipé d'un papier filtre. Extraire le produit contenu dans le filtrat avec du dichlorométhane. Laver la phase organique avec une solution saturée de chlorure de sodium et de l'eau. Sécher la phase organique avec du sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec un mélange cyclohexane / acétate d'éthyle 3 :1. Reprendre ensuite le produit par de l'éther diéthylique, refaire un lavage abondant avec de l'eau pour éliminer le DMF.

Poudre beige

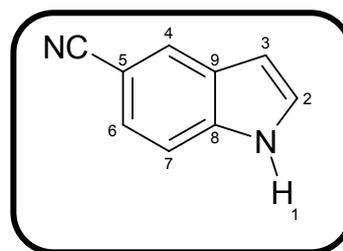
$C_9H_6N_2$

$M_r = 149,16$

$R_f = 0,25$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 3 / 1)

$F^\circ C = 92-93$ (éther diéthylique)

Rendement = 78%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

6,62 (1 H, s large, H_3) ; 7,46 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_6) ; 7,58-7,62 (2 H, m, H_4 , H_7) ; 8,12 (1 H, s, H_2) ; 11,70 (1 H, s, H_1).

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

1261 (ν C-N) ; 1461, 1536 (ν C=C) ; 2222 (ν C \equiv N) ; 3339 (ν N-H).

5-Aminométhyl-1*H*-indole (115)

Méthode O2 :

Placer 1,14 g (8 mmol) de **114** dans 100 mL d'éthanol et 2,9 mL de chloroforme. Ajouter 199 mg d'oxyde de platine et agiter pendant 4 heures sous 3 bars d'hydrogène.

Filtrer sur Célite et laver avec de l'acétate d'éthyle. Evaporer le filtrat. Triturer la poudre dans de l'éther diisopropylique et filtrer. On obtient 165 mg de chlorhydrate de 5-aminométhyl-1*H*-indole.

Dissoudre le chlorhydrate dans 3 mL d'eau et ajouter 4 gouttes d'ammoniaque. Vérifier que le pH de la solution est basique. Après 5 minutes, ajouter de l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer.

Poudre beige

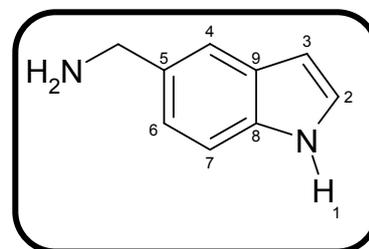
$C_9H_{10}N_2$

$M_r = 146,19$

$R_f = 0,10$ (dichlorométhane / éthanol : 5 / 1)

$T_m = 107-108$ (dichlorométhane)

Rendement = 78%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

RMN du chlorhydrate :

4,07 (2 H, s, CH_2) ; 6,46 (1 H, s large, H_3) ; 7,23 (1 H, dd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_6) ; 7,41-7,47 (2 H, m, H_4, H_7) ; 7,68 (1 H, s, H_2) ; 8,39 (3 H, s, NH_3^+) ; 11,31 (1 H, s, H_1).

RMN de l'amine libre:

3,78 (2 H, s, CH_2) ; 6,38 (1 H, s large, H_3) ; 7,08 (1 H, dd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_6) ; 7,31-7,35 (2 H, m, H_4, H_7) ; 7,49 (1 H, s, H_2) ; 10,99 (1 H, s, H_1).

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

1289 (ν C-N) ; 1431, 1579 (ν C=C) ; 1630 (δ N-H) ; 2856 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3250-3372 (ν NH_2).

1-Azido-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (116)

Méthode L6 :

Dissoudre 4,36 g (16,14 mmol) de 2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-1,2-époxypropane **89** dans 50 mL de méthanol. Ajouter 3,15 g (48,42 mmol) d'azoture de sodium et 1,95 g (36,48 mmol) de chlorure d'ammonium. Agiter à reflux pendant 24 heures.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Le produit n'est pas purifié et est engagé directement dans l'étape suivante.

Poudre jaune

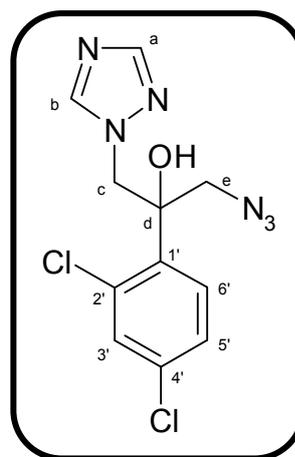
$C_{11}H_{10}Cl_2N_6O$

$M_r = 313,15$

$R_f = 0,25$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

$T_m = 116-117$ (dichlorométhane)

Rendement = 95%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,76 (1 H, d, $^2J = 13,1$ Hz, H_c) ; 4,13 (1 H, d, $^2J = 13,1$ Hz, H_c) ; 4,71 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,88 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 6,51 (1 H, s, OH) ; 7,41 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,3$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,60 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,63 (1 H, d, $^4J = 2,3$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,82 (1 H, s, H_b) ; 8,36 (1 H, s, H_a).

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

783 (ν C-Cl) ; 1268 (ν C-N) ; 1473, 1515 (ν C=C) ; 1587 (ν C=N) ; 2098 (ν C-N $_3$) ; 3111 (ν O-H).

Masse :

313 (M + H).

1-Azido-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (117)

Selon la méthode L6 (décrite p 281) :

Poudre blanche

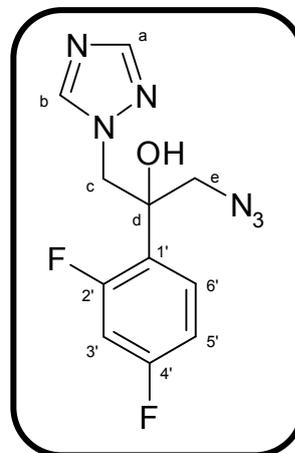
$C_{11}H_{10}F_2N_6O$

$M_r = 280,24$

$R_f = 0,25$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

$F^\circ C = 59-60$ (dichlorométhane)

Rendement = 98%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,67 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,78 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 4,59 (2 H, s, H_e) ; 6,43 (1 H, s, OH) ; 7,06 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 8,6$ Hz, $^4J_{HF} = 1,8$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,24 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 12,2$ Hz, $^3J_{HH} = 8,6$ Hz, $^4J_{HH} = 2,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,46 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 9,1$ Hz, $^3J_{HF} = 6,7$ Hz, $^4J_{HH} = 2,4$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,83 (1 H, s, H_b) ; 8,34 (1 H, s, H_a).

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

1139 (ν C-F) ; 1282 (ν C-N) ; 1430, 1501 (ν C=C) ; 1615 (ν C=N) ; 2104 (ν C-N $_3$) ; 3233 (ν O-H).

Masse :

281 (M + H).

1-Amino-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (118)

Méthode O3 :

Dissoudre 14,8 g (47,26 mmol) 1-azido-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **116** dans 120 mL d'éthanol absolu et ajouter 1,48 g (10% en masse) de palladium sur charbon à 5%. Agiter pendant 24 h à température ambiante sous 5 bars d'hydrogène.

Filtrer sur célite, laver avec de l'acétate d'éthyle et évaporer.

Poudre blanche

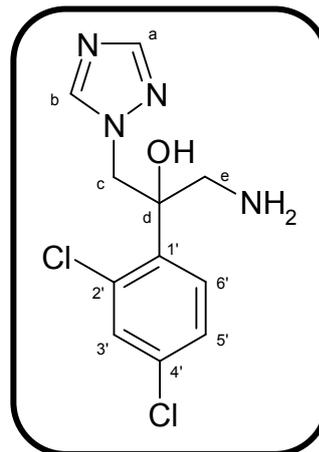
$C_{11}H_{12}Cl_2N_4O$

$M_r = 287,15$

$R_f = 0,01$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

$T_m = 215-216$ (acétate d'éthyle)

Rendement = quantitatif



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,10 (1 H, d, $^2J = 13,4$ Hz, H_c) ; 3,29 (1 H, d, $^2J = 13,4$ Hz, H_c) ; 4,65 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,91 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 7,35 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,52-7,58 (2 H, m, $H_{3',6'}$) ; 7,77 (1 H, s, H_b) ; 8,33 (1 H, s, H_a). OH et NH_2 non visibles.

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

806 (ν C-Cl) ; 1272 (ν C-N) ; 1464, 1508, (ν C=C) ; 1586 (ν C=N) ; 1620 (δ N-H) ; 3100-3450 (ν O-H et ν NH_2).

Masse :

287 (M + H).

1-Amino-2-(2,4-difluorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (119)

Selon la méthode O3 (décrite page 283) :

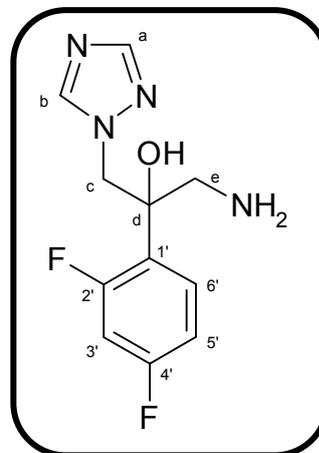
Huile jaune

$C_{11}H_{12}Cl_2N_4O$

$M_r = 287,15$

$R_f = 0,01$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 1 / 2)

Rendement = quantitatif



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,95 (2 H, s, H_c) ; 4,57 (2 H, s, H_e) ; 6,99 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 8,2$ Hz, $^4J_{HF} = 1,8$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,19 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 12,2$ Hz, $^3J_{HH} = 8,2$ Hz, $^4J_{HH} = 2,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,41 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 9,1$ Hz, $^3J_{HF} = 6,7$ Hz, $^4J_{HH} = 2,4$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,76 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a). OH et NH_2 non visibles.

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

733 (ν C-Cl) ; 1272 (ν C-N) ; 1420, 1502, 1610 (ν C=C et ν C=N) ; 1622 (δ N-H) ; 2950-3600 (ν NH_2 et ν O-H).

Masse :

255 (M + H).

**2-(2,4-Dichlorophényl)-1-(4-nitrobenzylamino)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)
propan-2-ol (120)**

Méthode Q :

Dissoudre 613 mg (2,13 mmol) de **118** dans 24 mL d'acétonitrile à température ambiante sous argon. Ajouter 0,17 mL (1,17 mmol) de *N,N*-diisopropyléthylamine. Ajouter en 40 minutes 230 mg (1,06 mmol) de bromure de 4-nitrobenzyle dissous dans 10 mL d'acétonitrile et agiter pendant 24 heures à température ambiante.

Évaporer le mélange réactionnel et reprendre le résidu par du dichlorométhane et de l'eau. Extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant tout d'abord avec du dichlorométhane puis un mélange dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1.

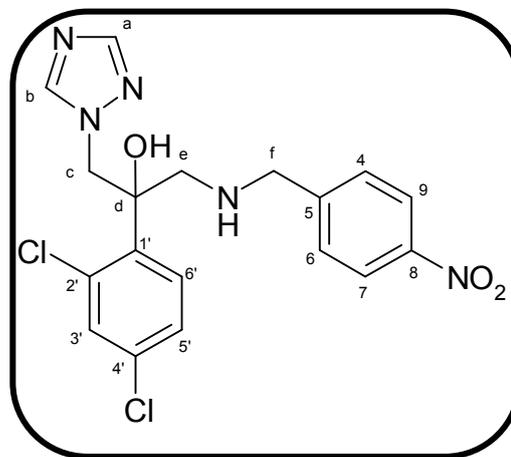
Huile jaune

$C_{18}H_{17}Cl_2N_5O_3$

$M_r = 422,27$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 56%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,02 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,29 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,82 (2 H, s, H_f) ; 4,68 (1 H, d, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 4,90 (1 H, d, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 5,95 (1 H, s, OH) ; 7,34 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,53-7,59 (4 H, m, $H_{3', 6', 4, 6}$) ; 7,75 (1 H, s, H_b) ; 8,19 (2 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{7, 9}$) ; 8,32 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

52,8 (C_f) ; 53,7 (C_e) ; 54,5 (C_e) ; 76,1 (C_d) ; 123,7 (2 C, $C_{7,9}$) ; 127,2 ($C_{5'}$) ; 129,3 (2 C, $C_{4,6}$) ; 130,3 ($C_{6'}$) ; 131,6 ($C_{3'}$) ; 131,7 ($C_{2'}$) ; 133,0 ($C_{4'}$) ; 139,2 ($C_{1'}$) ; 145,4 (C_a) ; 146,8 (C_8) ; 150,9 (C_5) ; 151,9 (C_b).

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

805 (ν C-Cl) ; 1266 (ν C-N) ; 1348 (ν NO_2 sym) ; 1512 (ν NO_2 asym) ; 1589 (ν C=C et ν C=N) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3318 (ν O-H).

Masse :

423,1 (M + H).

1-(4-Aminobenzylamino)-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (121)

Selon la méthode O3 (décrite p 283) :

Agiter pendant 1,5 heures sous 5 bars d'hydrogène

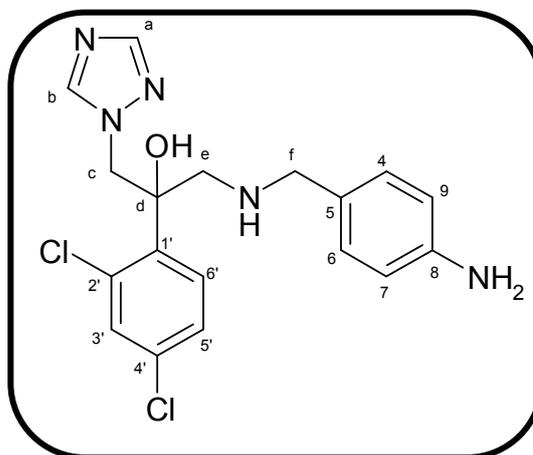
Huile jaune

$C_{18}H_{19}Cl_2N_5O$

$M_r = 392,29$

$R_f = 0,45$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 98%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,02 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,22 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,47 (2 H, s, H_f) ; 4,64 (1 H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,91 (1 H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,95 (2 H, s large, NH_2) ; 5,96 (1 H, s, OH) ; 6,51 (2 H, d, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{7,9}$) ; 6,90 (2 H, d, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,31 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_5) ; 7,53-7,57 (2 H, m, $H_{3'}$, $H_{6'}$) ; 7,74 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

53,4 (2 C, $C_{c,f}$) ; 54,6 (C_e) ; 75,6 (C_d) ; 114,1 (2 C, $C_{7,9}$) ; 127,2 ($C_{5'}$) ; 128,7 (C_5) ; 129,3 (2 C, $C_{4,6}$) ; 130,3 ($C_{6'}$) ; 131,4 ($C_{3'}$) ; 131,7 ($C_{2'}$) ; 132,9 ($C_{4'}$) ; 139,5 ($C_{1'}$) ; 145,4 (C_a) ; 147,9 (C_8) ; 150,9 (C_b).

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

810 (ν C-Cl) ; 1272 (ν C-N) ; 1512, 1584 (ν C=C et ν C=N) ; 1620 (δ N-H) ; 2900-3450 (ν O-H et ν NH_2).

Masse :

393,1 (M + H).

1-(4-Amino-3-iodobenzylamino)-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (122)

Méthode R :

Dissoudre 950 mg (2,42 mmol) de **121** dans 60 mL d'acide acétique glacial et ajouter en 1,5 heures 130 μ L (2,66 mmol) de chlorure d'iode dissous dans 14 mL d'acide acétique. Agiter pendant 20 minutes à température ambiante.

Evaporer le mélange réactionnel, reprendre par de l'eau et du dichlorométhane. Basifier à l'aide d'une solution d'ammoniaque et extraire le produit avec du dichlorométhane. Laver la phase organique avec de l'eau. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer.

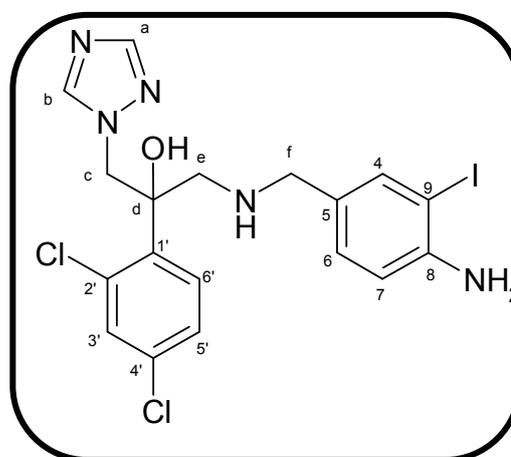
Huile jaune

$C_{18}H_{18}Cl_2IN_5O$

$M_r = 518,19$

$R_f = 0,50$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 9 / 1)

Rendement = 36%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,99 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,22 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,46 (2 H, s, H_f) ; 4,65 (1 H, d, $^2J = 14,6$ Hz, H_e) ; 4,91 (1 H, d, $^2J = 14,6$ Hz, H_e) ; 5,11 (2 H, s large, NH_2) ; 6,70 (1 H, d, $^3J = 8,1$ Hz, H_7) ; 6,96 (1 H, dd, $^3J = 8,1$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H_6) ; 7,32 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_5) ; 7,41 (1 H, d, $^4J = 1,8$ Hz, H_4) ; 7,54 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H_3) ; 7,56 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_6) ; 7,74 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a).

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

805 (ν C-Cl) ; 1272 (ν C-N) ; 1502, 1584, 1615 (ν C=C et ν C=N) ; 2930-3480 (ν O-H et ν NH_2).

1-(4-Amino-3-triméthylsilyléthynylbenzylamino)-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (123)

Méthode S :

Dissoudre 413 mg (0,80 mmol) de **122** dans 3 mL de dichlorométhane sous argon à température ambiante. Ajouter 1,52 mg (0,008 mmol) d'iodure de cuivre et 0,12 mL (0,88 mmol) de triméthylsilylacétylène et 11 mg (0,016 mmol) de dichlorobistriphénylphosphine palladium. Ajouter 0,22 mL (1,60 mmol) de triéthylamine et agiter pendant 2 heures à température ambiante.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Laver la phase organique avec une solution saturée de thiosulfate de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer.

Huile jaune

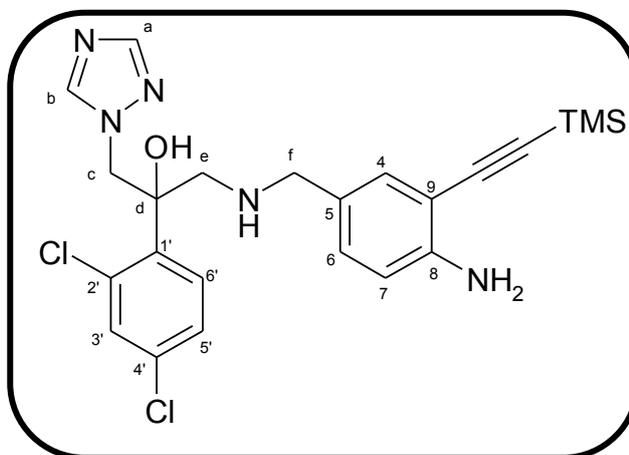
$C_{23}H_{27}Cl_2N_5OSi$

$M_r = 488,50$

$R_f = 0,50$ (dichlorométhane / éthanol

absolu : 9 / 1)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,22 (9 H, s, 3 CH_3) ; 2,98 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,21 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,45 (2 H, s, H_f) ; 4,64 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,91 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,23 (2 H, s large, NH_2) ; 6,66 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_7) ; 6,95 (1 H, dd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H_6) ; 7,02 (1 H, d, $^4J = 1,8$ Hz, H_4) ; 7,32 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_5) ; 7,53 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H_3) ; 7,54 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_6) ; 7,74 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a).

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

810 (ν C-Cl et ν $Si(CH_3)_3$) ; 1246 (ν C-N) ; 1502, 1584, 1620 (ν C=C et ν C=N) ; 2134 (ν C \equiv C) ; 2257 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 2947-3475 (ν O-H et ν NH_2).

1*H*-Indole-5-carbaldéhyde (124)

Méthode T :

Dans un tricol, placer 6,96 g (61,2 mmol) d'hydrure de potassium (préalablement lavé avec du THF), dans 30 mL de THF à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ sous argon. Ajouter lentement 6 g de 5-bromo-1*H*-indole (30,6 mmol ; en solution dans 30 mL de THF). Agiter pendant 50 minutes à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ajouter lentement 36 mL (61,2 mmol) de *tert*-butyllithium (solution à 1,7 M dans le pentane). Agiter 2 heures à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ajouter alors 4,56 mL (61,2 mmol) de DMF 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 et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec du dichlorométhane.

Poudre jaune

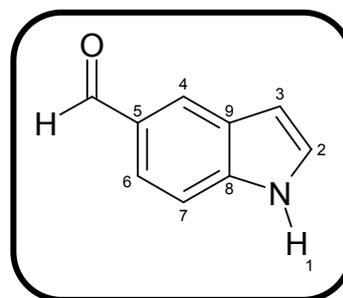
$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$

$M_r = 145,16$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane / hexane : 7 / 3)

$T_m = 98-99\text{ }^{\circ}\text{C}$ (cyclohexane / acétate d'éthyle : 2 / 1)

Rendement = 68%



RMN ^1H (250 MHz, DMSO d_6) :

6,70-6,72 (1 H, m, H_3) ; 7,55 (1 H, d, $^4J = 1,5\text{ Hz}$, H_4) ; 7,58 (1 H, d, $^3J = 8,2\text{ Hz}$, H_7) ; 7,67 (1 H, dd, $^3J = 8,2\text{ Hz}$, $^4J = 1,5\text{ Hz}$, H_6) ; 8,22 (1 H, s, H_2) ; 10,00 (1 H, s, CHO) ; 11,66 (1 H, s, H_1).

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

1569 ($\nu\text{ C=C}$) ; 1661 ($\nu\text{ C=O}$) ; 3269 ($\nu\text{ N-H}$).

1-Benzoyl-1*H*-indole-5-carbaldéhyde (125)

Méthode U1 :

Dissoudre 2,68 g (18,48 mmol) de **124** dans 30 mL de dichlorométhane sous argon à température ambiante. Ajouter 452 mg (3,70 mmol) de 4-(*N,N*-diméthylamino)pyridine et 5,15 mL (36,96 mmol) de triéthylamine. Ajouter alors 2,36 mL (20,32 mmol) de chlorure de benzoyle. Agiter pendant 2 heures à température ambiante sous argon.

Ajouter de l'eau au milieu réactionnel, extraire le produit avec du dichlorométhane et sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur colonne éluee au dichlorométhane.

Poudre blanche

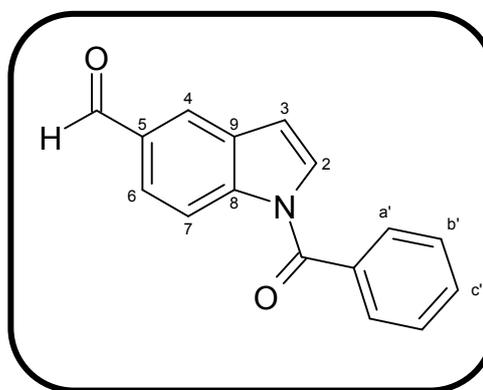
$C_{16}H_{11}NO_2$

$M_r = 249,27$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane)

$T_m = 124-125$ (dichlorométhane)

Rendement = 100%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

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

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

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

(5-{N-[2-(2,4-Dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propylamino]méthyl}-indol-1-yl)phénylméthanone (126)

Méthode V1 :

Placer 486 mg (1,69 mmol) de **118** dans 8 mL de méthanol sous argon à température ambiante. Ajouter 211 mg (0,85 mmol) de **125** dissous dans 8 mL de dichlorométhane et 15 gouttes d'acide acétique glacial. Agiter pendant 2 jours à température ambiante sous argon avant d'ajouter lentement 64 mg (1,02 mmol) de cyanoborohydrure de sodium. La réaction est légèrement exothermique. Agiter la solution pendant la nuit à température ambiante.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Laver la phase organique avec une solution saturée de carbonate de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant tout d'abord avec du dichlorométhane puis un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2.

Poudre jaune

$C_{27}H_{23}Cl_2N_5O_3$

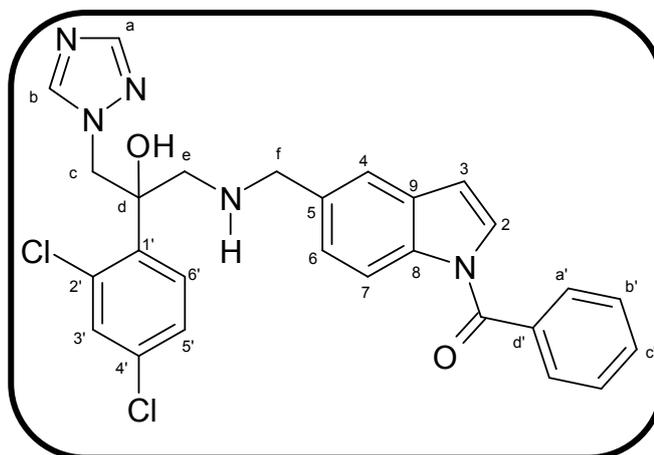
$M_r = 520,42$

$R_f = 0,20$ (cyclohexane / acétate d'éthyle

: 1 / 1)

$F^\circ C = 70-71$ (éther diisopropylique)

Rendement = 76%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,06 (1 H, d, $^2J = 12,2$ Hz, H_c) ; 3,28 (1 H, d, $^2J = 12,2$ Hz, H_c) ; 3,78 (2 H, s, H_f) ; 4,68 (1 H ; d $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,92 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,96 (1 H, s, OH) ; 6,74 (1 H, d, $^3J = 3,6$ Hz, H_3) ; 7,27-7,80 (12 H, m, $H_{b,2,4,6,3',5',6'+Ph}$) ; 8,19 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_7) ; 8,32 (1 H, s, H_a). NH n'est pas visible sur le spectre.

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

53,6 (2 C, $C_{c,f}$) ; 54,6 (C_e) ; 75,8 (C_d) ; 108,9 (C_3) ; 115,8 ($C_{6'}$) ; 120,7 (C_2) ; 125,3 ($C_{5'}$) ; 127,2 ($C_{3'}$) ; 128,8 (C_6) ; 129,2 (2 C, $C_{b'}$) ; 129,4 (2 C, $C_{a'}$) ; 130,3 (C_4) ; 131,2 ($C_{2'}$) ; 131,5 (C_7) ; 131,7 (2 C, $C_{1'}$, $C_{4'}$) ; 132,5 ($C_{c'}$) ; 132,9 ($C_{d'}$) ; 134,5 (C_8) ; 134,8 (C_9) ; 139,4 (C_5) ; 145,4 (C_a) ; 150,8 (C_b) ; 168,6 (C=O).

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

809 (ν C-Cl) ; 1273 (ν C-N) ; 1464, 1508, 1585 (ν C=C et ν C=N) ; 1685 (ν C=O) ; 2927 (ν $\text{CH}_{\text{aliph.}}$) ; 3122-3525 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

520,2 (M).

(5-{N-[2-(2,4-Difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propylamino]méthyl}-1*H*-indol-1-yl)phénylméthanone (127)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

Poudre verte

$C_{27}H_{23}F_2N_5O_3$

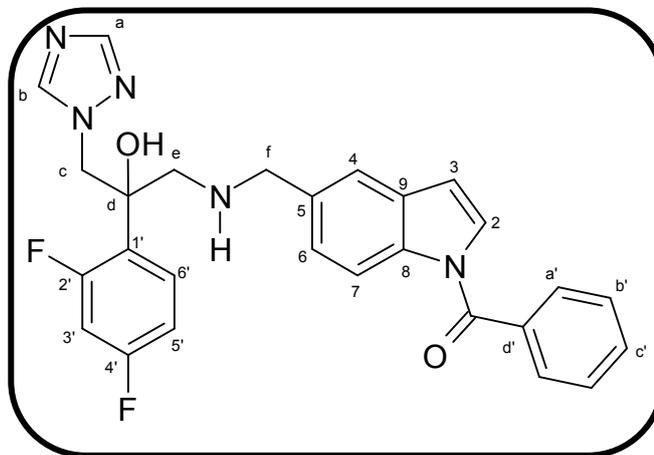
$M_r = 487,51$

$R_f = 0,25$ (dichlorométhane / éthanol

absolu : 19 / 1)

$F^\circ C = 55-56$ (éther diisopropylique)

Rendement = 70%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,93 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,00 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,80 (2 H, s, H_f) ; 4,57 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,65 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,83 (1 H, s large, OH) ; 6,74 (1 H, d, $^3J = 3,3$ Hz, H_3) ; 6,98 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HF} = 2,4$ Hz, H_6') ; 7,16 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 12,2$ Hz, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HH} = 2,7$ Hz, H_5') ; 7,30 (1 H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_6) ; 7,37-7,48 (2 H, m, $H_{4,3'}$) ; 7,55 (1 H, s, H_2) ; 7,61-7,80 (6 H, m, $H_{a',b',c',b}$) ; 8,20 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_7) ; 8,31 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

53,6 (C_f) ; 55,0 (1 C, d, $^4J_{CF} = 4,2$ Hz, C_c) ; 55,8 (1 C, d, $^4J_{CF} = 5,2$ Hz, C_e) ; 74,7 (1 C, d, $^3J_{CF} = 5,2$ Hz, C_d) ; 104,2 (1 C, d, $^3J_{CF} = 27,9$ Hz, C_6') ; 108,9 (C_3) ; 111,1 (1 C, d, $^2J_{CF} = 17,5$ Hz, C_5') ; 115,8 (C_7) ; 120,6 (C_2) ; 125,8 (C_6) ; 126,4-126,8 (1 C, m, $C_{1'}$) ; 128,7 (C_4) ; 129,2 (2 C, $C_{b'}$) ; 129,4 (2 C, $C_{a'}$) ; 130,3-130,6 (1 C, m, $C_{3'}$) ; 131,0 ($C_{c'}$) ; 132,4 ($C_{d'}$) ; 134,5 (C_8) ; 134,8 (C_9) ; 136,6 (C_5) ; 145,3 (C_a) ; 150,8 (C_b) ; 168,6 ($C=O$). $C_{2'}$ et $C_{4'}$ non visibles sur le spectre.

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

1136 (ν C-F) ; 1269 (ν C-N) ; 1465, 1501, 1615 (ν C=C et ν C=N) ; 1685 (ν C=O) ; 2927 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3119-3450 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

488,3 (M + H).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-[N-(1H-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (128)

Méthode W :

Placer 280 mg (0,54 mmol) de **126** dans 8 mL de méthanol sous argon à température ambiante. Ajouter 4,5 mL (9,02 mmol) d'une solution de soude à 2 M et agiter à 60 °C pendant 4 heures.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec de l'éther diéthylique. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Triturer le mélange brut dans de l'éther diisopropylique.

Poudre jaune

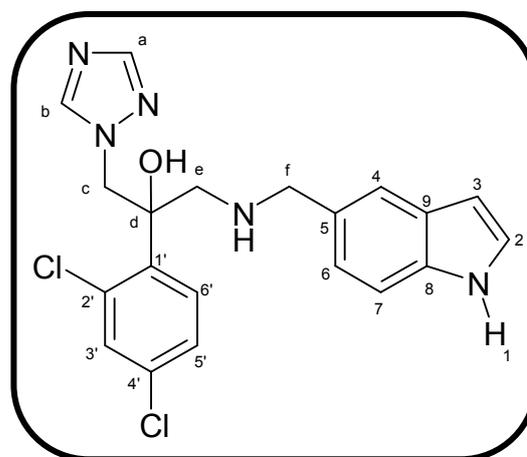
$C_{20}H_{19}Cl_2N_5O$

$M_r = 416,31$

$R_f = 0,50$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

$F^\circ C = 83-84$ (éther diisopropylique)

Rendement = 97%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,07 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,27 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,70 (2 H, s, H_f) ; 4,65 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,91 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,97 (1 H, s, OH) ; 6,38 (1 H, s, H_3) ; 6,99 (1 H, dd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 1,5$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,29-7,38 (4 H, m, $H_{2,6,3',6'}$) ; 7,54 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H_4) ; 7,56 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_7) ; 7,73 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a) ; 11,01 (1 H, s, H_1).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

53,1 (C_c) ; 53,8 (C_f) ; 54,1 (C_e) ; 75,2 (C_d) ; 100,8 (C_3) ; 111,0 ($C_{6'}$) ; 119,2 (C_2) ; 121,5 ($C_{5'}$) ; 125,3 ($C_{3'}$) ; 126,7 (2 C, $C_{1',2'}$) ; 127,5 (C_6) ; 129,8 (C_4) ; 130,9 (C_7) ; 131,3 ($C_{4'}$) ; 132,4 (C_8) ; 135,0 (2 C, $C_{5,9}$) ; 144,9 (C_a) ; 150,3 (C_b).

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

805 (ν C-Cl) ; 1275 (ν C-N) ; 1463, 1509, 1586 (ν C=C et ν C=N) ; 1624 (δ N-H) ; 2967 (ν $CH_{aliph.}$) ; 2980-3520 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

416,2 (M).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[N-(1H-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (129)

Selon la méthode W (décrite p 294) :

Poudre verte

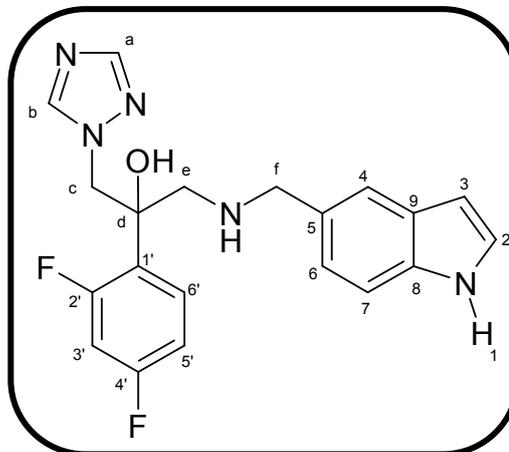
$C_{20}H_{19}F_2N_5O$

$M_r = 383,40$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

$T_m = 53-54$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 98 / 2)

Rendement = 97%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,96 (2 H, s, H_c) ; 3,73 (2 H, s, H_f) ; 4,57 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,63 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,80 (1 H, s large, OH) ; 6,38 (1 H, s, H_3) ; 6,93-7,03 (2 H, m, $H_{6,6'}$) ; 7,16 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 12,2$ Hz, $^3J_{HH} = 9,1$ Hz, $^4J_{HH} = 2,7$ Hz, H_5) ; 7,31-7,45 (4 H, m, $H_{2,4,7,3'}$) ; 7,74 (1 H, s, H_b) ; 8,30 (1 H, s, H_a) ; 11,01 (1 H, s, H_1).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

54,3 (C_f) ; 55,2 (1 C, d, $^4J_{CF} = 4,2$ Hz, C_e) ; 55,8 (1 C, d, $^4J_{CF} = 5,2$ Hz, C_e) ; 74,6 (1 C, d, $^3J_{CF} = 5,2$ Hz, C_d) ; 101,3 (C_3) ; 104,2 (1 C, t, $^3J_{CF} = 27,9$ Hz, $C_{6'}$) ; 111,1 (1 C, d, $^2J_{CF} = 17,5$ Hz, $C_{5'}$) ; 111,5 (C_7) ; 119,6 (C_2) ; 122,0 (C_6) ; 125,8 (C_4) ; 126,4-126,8 (1 C, m, $C_{1'}$) ; 127,9 (C_8) ; 130,2-130,5 (1 C, m, $C_{3'}$) ; 131,0 (C_9) ; 135,5 (C_5) ; 145,2 (C_a) ; 150,8 (C_b). $C_{2'}$ et $C_{4'}$ non visibles sur le spectre.

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

1128 (ν C-F) ; 1272 (ν C-N) ; 1420, 1503, 1616 (ν C=C et ν C=N) ; 2927 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3100-3560 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

384,3 (M + H).

1-(*Tert*-butoxycarbonyl-1*H*-indol-1-yl)-5-carbaldéhyde (130)

Méthode U2 :

Dissoudre 415 mg (2,86 mmol) de **124** dans 8 mL de DMF sous argon. Ajouter lentement 165 mg (4,29 mmol) d'hydrure de sodium (dispersion à 60% dans de l'huile minérale) et agiter pendant une heure à température ambiante avant d'ajouter 936 mg (4,29 mmol) dicarbonate de ditertbutyle. Agiter à température ambiante pendant 30 minutes.

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 et évaporer le solvant. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant avec du dichlorométhane.

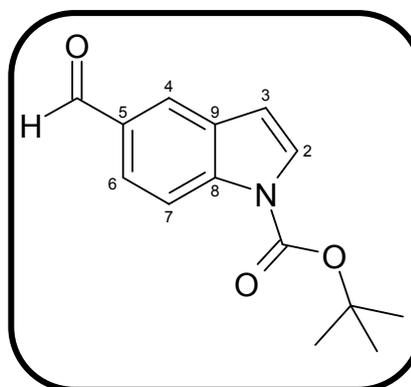
Huile jaune

$C_{14}H_{15}NO_3$

$M_r = 245,28$

$R_f = 0,50$ (dichlorométhane)

Rendement = 93%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

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

1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-5-hydroxyméthyl-1*H*-indole (131)

Selon la méthode B (décrite p 68) :

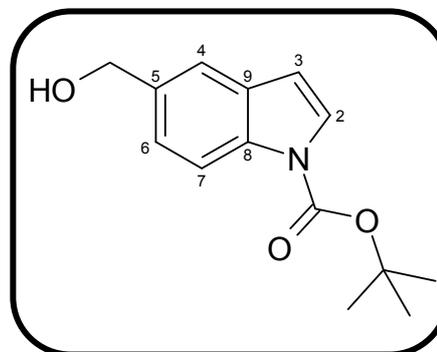
Huile incolore

$C_{14}H_{17}NO_3$

$M_r = 247,30$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane)

Rendement = 94%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,66 (9 H, s, 3 CH_3) ; 4,61 (2 H, d, $^3J = 5,5$ Hz, CH_2) ; 5,21 (1 H, t, $^3J = 5,5$ Hz, OH) ; 6,72 (1 H, d, $^3J = 3,7$ Hz, H_3) ; 7,30 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H_6) ; 7,59 (1 H, d, $^4J = 1,2$ Hz, H_4) ; 7,68 (1 H, d, $^3J = 3,7$ Hz, H_2) ; 8,01 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_7).

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

1261 (ν C-N) ; 1472, 1533 (ν C=C) ; 1733 (ν C=O Boc) ; 2957 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3390 (ν O-H).

5-Bromométhyl-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-1*H*-indole (132)

Selon la méthode F (décrite p 126) :

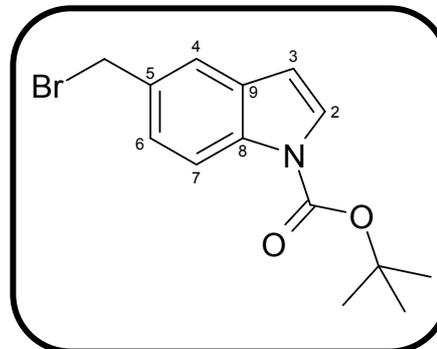
Huile incolore

$C_{14}H_{16}BrNO_2$

$M_r = 310,19$

$R_f = 0,90$ (dichlorométhane)

Rendement = 68%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

1,66 (9 H, s, 3 CH_3) ; 4,87 (2 H, s, CH_2) ; 6,75 (1 H, d, $^3J = 3,7$ Hz, H_3) ; 7,44 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H_6) ; 7,70-7,74 (2 H, m, $H_{2,4}$) ; 8,06 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_7).

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

723 (ν C-Br) ; 1466, 1533 (ν C=C) ; 1733 (ν C=O Boc) ; 2957 (ν C- $H_{aliph.}$).

1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-5-{[2-(2,4-dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propylamino]méthyl}-1*H*-indole (133)

Selon la méthode Q (décrite p 285) :

Poudre jaune

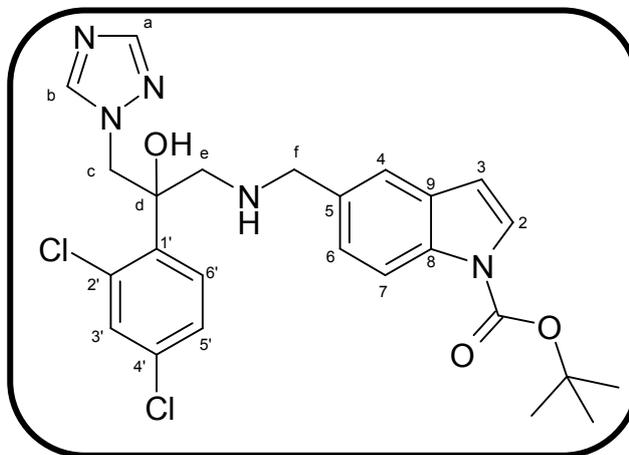
$C_{25}H_{27}Cl_2N_5O_3$

$M_r = 516,43$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane / éthanol absolu
: 5 / 1)

$F^\circ C = 88-89$ (éther diisopropylique)

Rendement = 39%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,66 (9 H, s, 3 CH_3) ; 3,05 (1 H, d, $^2J = 12,6$ Hz, H_c) ; 3,27 (1 H, d, $^2J = 12,6$ Hz, H_c) ; 3,75 (2 H, s, H_f) ; 4,67 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,92 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,96 (1 H, s large, OH) ; 6,68 (1 H, d, $^3J = 3,6$ Hz, H_3) ; 7,23 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 3,6$ Hz, H_5) ; 7,33 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_6) ; 7,47 (1 H, s, H_2) ; 7,53 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H_4) ; 7,56 (1 H, $^3J = 8,5$ Hz, H_7) ; 7,67 (1 H, d, $^4J = 3,6$ Hz, H_3) ; 7,74 (1 H, s, H_b) ; 7,98 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_6) ; 8,31 (1 H, s, H_a). N-H non visible sur le spectre.

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

27,8 (3 C, CH_3) ; 53,2 (2 C, $C_{c,f}$) ; 54,3 (C_e) ; 75,5 (C_d) ; 83,8 ($C(CH_3)_3$) ; 107,6 (C_3) ; 114,4 ($C_{6'}$) ; 120,4 (C_2) ; 124,7 ($C_{5'}$) ; 126,4 ($C_{3'}$) ; 126,9 (C_6) ; 129,9 (C_4) ; 130,3 ($C_{2'}$) ; 131,2 (C_7) ; 131,4 (2 C, $C_{1',4'}$) ; 132,6 (C_8) ; 133,7 (C_9) ; 145,1 (C_a) ; 149,2 (C_5) ; 150,5 (C_b) ; CO du Boc non visible sur le spectre.

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

737 (ν C-Cl) ; 1267 (ν C-N) ; 1507, 1586 (ν C=C et ν C=N) ; 1732 (ν C=O) ; 2934 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 2980-3396 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

516,2 (M).

1-(*tert*-Butoxycarbonyl)-5-{[2-(2,4-difluorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl-propylamino)méthyl]-1*H*-indole (134)

Selon la méthode Q (décrite p 285) :

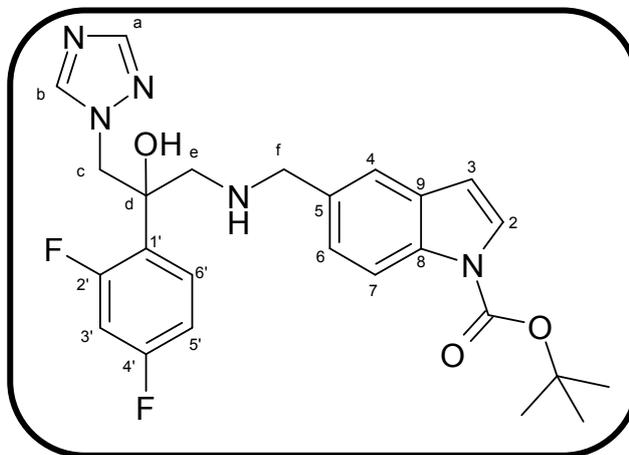
Huile verte

$C_{25}H_{27}F_2N_5O_3$

$M_r = 483,52$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane / éthanol absolu
: 5 / 1)

Rendement = 60%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

1,66 (9 H, s, 3 CH₃) ; 2,93 (2 H, s, H_c) ; 3,77 (2 H, s, H_f) ; 4,56 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,63 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,82 (1 H, s large, OH) ; 6,98 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HF} = 2,4$ Hz, H_{6'}) ; 7,15 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 12,2$ Hz, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HH} = 2,7$ Hz, H_{5'}) ; 7,23 (1 H, dd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 3,7$ Hz, H₆) ; 7,39 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 9,1$ Hz, $^3J_{HH} = 6,7$ Hz, $^4J_{HH} = 2,7$ Hz, H_{3'}) ; 7,48 (1 H, s, H₂) ; 7,67 (1 H, d, $^4J = 3,7$ Hz, H₄) ; 7,74 (1 H, s, H_b) ; 7,97 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H₇) ; 8,30 (1 H, s, H_a). NH non visible sur le spectre.

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

27,8 (3 C, CH₃) ; 53,3 (C_f) ; 54,7 (1 C, d, $^4J_{CF} = 4,2$ Hz, C_c) ; 55,5 (1 C, d, $^4J_{CF} = 5,2$ Hz, C_e) ; 74,4 (C_d) ; 83,8 (C(CH₃)₃) ; 103,9 (1 C, t, $^3J_{CF} = 27,9$ Hz, C_{6'}) ; 107,6 (C₃) ; 110,9 (1 C, d, $^2J_{CF} = 17,5$ Hz, C_{5'}) ; 114,4 (C₇) ; 120,3 (C₂) ; 124,6 (C₆) ; 126,3 (C₄) ; 130,3 (1 C, m, C_{3'}) ; 133,7 (C₈) ; 135,1 (C₉) ; 144,9 (C_a) ; 149,2 (C₅) ; 150,6 (C_b). C_{1'}, C_{2'}, C_{4'} et CO (Boc) non visibles sur le spectre.

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

1136 (v C-F) ; 1270 (v C-N) ; 1482, 1501 (v C=C et v C=N) ; 1732 (v C=O) ; 2956 (v C-H_{aliph.}) ; 3250-3600 (v O-H et v N-H).

Masse :

483,9 (M).

VII- Synthèse de 2-phényl-1-[N-(hétéroarylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

1- Principe

En parallèle de nos travaux menés pour l'obtention de 2-phényl-1-[N-(1H-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols (voie F, page 270), C. Sheng *et al.*¹⁸⁶ ont publié une série de structures analogues (figure 140) ayant notamment montré une activité antifongique sur une souche *Candida albicans* (CI₈₀ comprises entre 0,002 µg/mL et 16 µg/mL) et sur une souche *Aspergillus fumigatus* (CI₈₀ comprises entre 0,1 µg/mL et 64 µg/mL) :

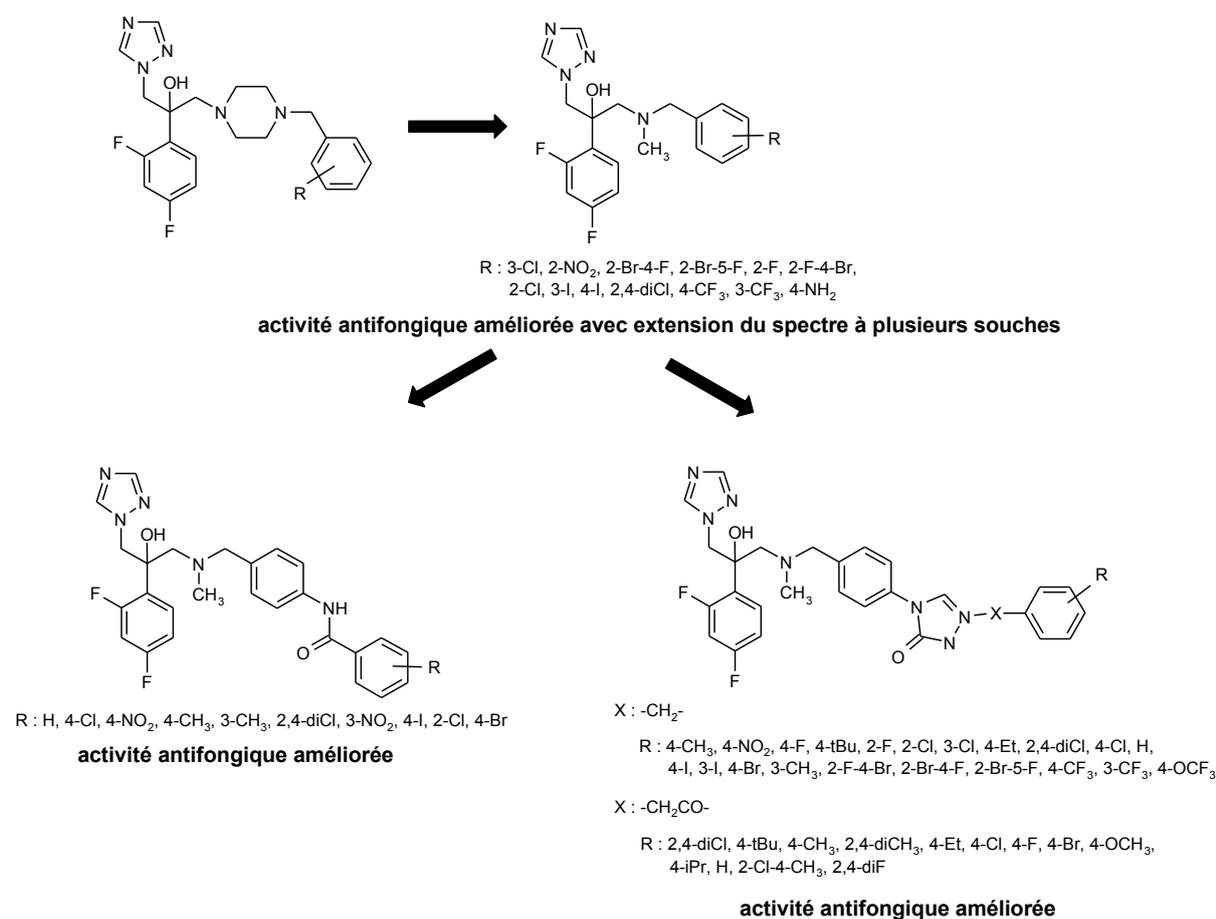


Figure 140 : Structures chimiques décrites par Sheng *et al.* pour leur activité antifongique

Ils ont établi un modèle de CYP51 *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* à partir de CYP51-MYCTU. Ils ont ensuite entrepris une étude QSAR-3D (CoMFA et CoMSIA) afin d'orienter la synthèse vers des composés mieux adaptés à la cible. Ainsi, progressivement, ils ont pu établir des structures originales grâce à l'interprétation des cartes de contour (paramètres stérique, électronique, hydrophobe). Ils ont ensuite réalisé le

¹⁸⁶ Sheng C. *et al.* *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2512-2525.

« docking » de leurs inhibiteurs dans le site actif afin de mieux comprendre le mode de liaison des composés et ont pu calculer des énergies d'interaction. Les interactions observées entre les inhibiteurs et les acides aminés du tunnel 2 confirment l'observation faite à la suite du modèle QSAR. Ces résultats leur ont permis d'établir un pharmacophore qui peut être utilisé dans la conception de nouveaux antifongiques :

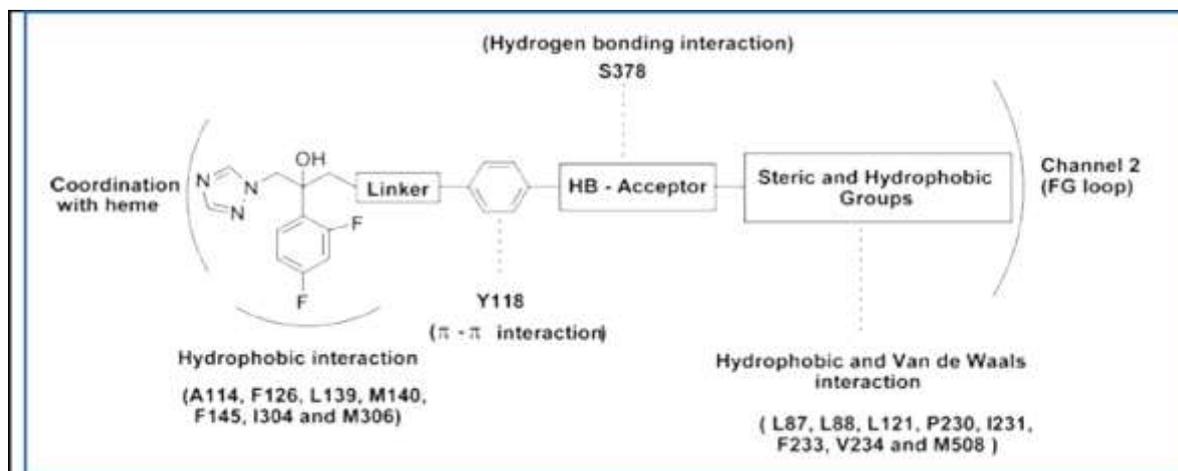


Figure 141 : Pharmacophore issu de l'étude réalisée par Sheng *et al.*

Ils ont ainsi montré que les inhibiteurs doivent se positionner dans le tunnel 2 en direction de la boucle FG. Selon eux, l'inhibiteur idéal doit positionner son noyau aromatique dihalogéné dans une poche hydrophobe constituée des acides aminés suivants : Ala114, Phe126, Leu139, Met140, Phe145, Ile304 et Met306. A une certaine distance (matérialisée par un espaceur), cet inhibiteur doit posséder un noyau aromatique capable de réaliser un π -stacking avec la Tyr118. Une liaison hydrogène avec la Ser378 est également importante, le reste de la molécule interagissant avec le site actif par des interactions de type Van der Waals.

Leurs structures possèdent une chaîne latérale de longueur variable (benzylamines substituées ou non par des amides ou des triazolones) ont été préparées selon le schéma général suivant (**figure 142**). Les premières étapes conduisant à l'époxyde sont communes avec notre schéma de synthèse. En dernier lieu, ils réalisent l'ouverture du cycle oxirane par attaque nucléophile de *N*-méthylbenzylamines substituées en l'absence de base.

Leur modèle fournit de précieux renseignements sur les acides aminés impliqués dans la stabilisation des inhibiteurs de CYP51-CANAL et permet de conforter nos propres hypothèses.

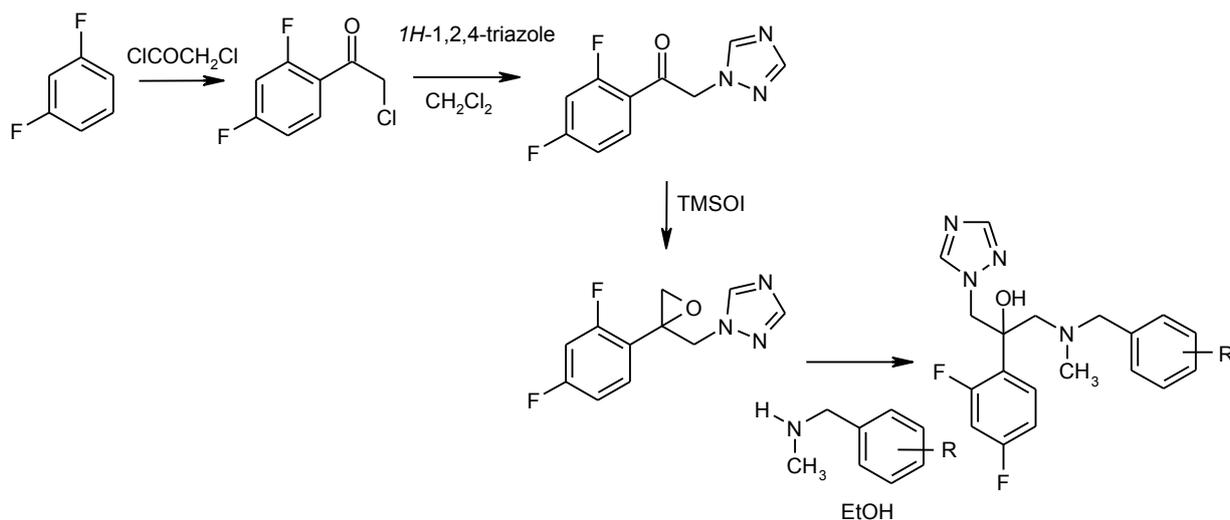


Figure 142 : Schéma de synthèse utilisé par Sheng *et al.*

2- Préparation de 2-(2,4-dichlorophényl)-1-(N-benzyl-amino)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

2-1- Synthèse

Dans cette partie, nous avons envisagé la synthèse de quelques composés analogues de la série des benzylamines indiquées sur la **figure 143** de façon à confirmer un peu plus les hypothèses pharmacophoriques impliquant les résidus Ser378 et/ou His377. Ainsi, des dérivés possédant des groupements accepteurs de liaisons-H : NO₂, CN et CF₃ ont été envisagés et seront comparés à leurs analogues NH₂. Le schéma de synthèse utilisé par C.Sheng (**figure 142**) n'a cependant pas conduit aux produits souhaités. Nous avons alors utilisé le composé **118** pour préparer quatre nouvelles benzylamines par substitution nucléophile de leurs fonctions amines sur divers bromures de benzyle *para*-substitués commerciaux (rapport amine/bromure : 2/1) :

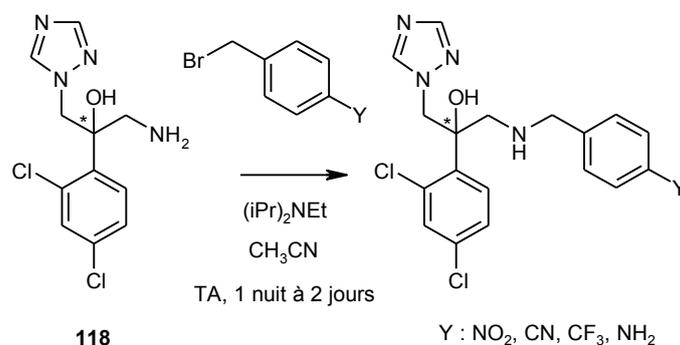


Figure 143 : Synthèse d'analogues CF₃, CN, NO₂ et NH₂ dans la série des benzylamines

Tableau 19 : Rendements obtenus lors de la substitution nucléophile de **118** sur divers bromures de benzyle

N°	Y	Rdt (%)
120	NO ₂	56
135	CN	56
136	CF ₃	32
121	NH ₂ *	98

* le dérivé aminé **121** est obtenu par réduction sous hydrogène de son analogue nitro **120**.

Les rendements sont variables (32 à 56%) mais permettent d'obtenir les produits souhaités en quantité raisonnable.

Toutefois, les composés de C.Sheng possèdent tous un espaceur amine substitué par un groupe méthyle. Pour nous rapprocher au maximum de leurs structures, les analogues méthylés ont donc été également préparés par amination réductrice avec le formaldéhyde en présence de cyanoborohydrure de sodium (**figure 144** et **tableau 20**):

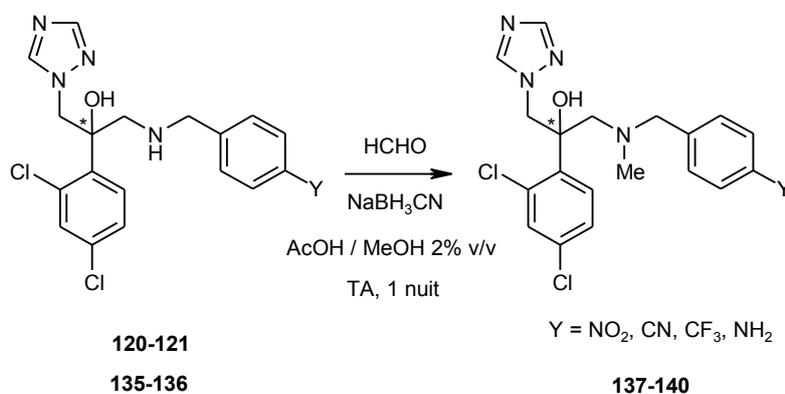


Figure 144 : Synthèse d'analogues méthylés CF₃, CN, NO₂ et NH₂ dans la série des benzylamines

L'introduction d'un groupe méthyle sur le linker amine permet de préparer quatre nouveaux composés avec des rendements compris entre 63 et 76%. L'ensemble des composés préparés dans ces deux séries ont été testés afin de vérifier la validité de nos hypothèses de fixation dans le site actif.

Tableau 20 : Rendements obtenus lors de la méthylation de l'espaceur amine

N°	Y	Rdt (%)
137	NO ₂	76
138	CN	63
139	CF ₃	66
140	NH ₂ *	47

* le dérivé aminé **140** est obtenu par réduction sous hydrogène de son analogue nitro **137**.

2-2- Résultats pharmacologiques et discussion

Huit nouvelles molécules ont été préparées et évaluées sur des souches *Candida albicans* CA98001 (souche sensible au fluconazole) et *Aspergillus fumigatus* AF98003.

Sur la souche *Candida*, ces composés présentent globalement des activités 10 à 1000 fois supérieures à celles obtenues pour le fluconazole et des activités comparables au voriconazole. Par ailleurs, **138** (Y = CN, espaceur N-CH₃, CI₈₀ = 0,9 nM) est encore 50 fois plus actif que le voriconazole et 10 fois plus actif que le kétoconazole. A l'inverse, **121** (Y = NH₂, espaceur N-H) est quasiment inactif (CI₈₀ = 48 µM) (**tableau 21**).

A première vue, il semblerait qu'un groupe méthyle positionné sur l'espaceur augmente l'activité inhibitrice des composés. **140** (Y = NH₂, espaceur N-CH₃, CI₈₀ = 72 nM) est en effet environ 1000 fois plus actif que son analogue non substitué **121** (Y = NH₂, espaceur N-H, CI₈₀ = 48 µM). De la même façon, **138** (Y = CN, espaceur N-CH₃, CI₈₀ = 0,9 nM) est 10 fois plus actif que **135** (Y = CN, espaceur N-H, CI₈₀ = 7 nM). Ceci pourrait s'expliquer par une meilleure stabilisation de l'inhibiteur dans le site actif.

De plus, la présence de groupes accepteurs de liaisons-H semble également être favorable à l'activité inhibitrice. Les composés **120** (Y = NO₂, espaceur N-H, CI₈₀ = 14 nM), **135** (Y = CN, espaceur N-H, CI₈₀ = 7 nM) et **136** (Y = CF₃, espaceur N-H, CI₈₀ = 53 nM) sont environ 1000 fois supérieurs à leur analogue amine aromatique **121** (Y = NH₂, espaceur N-H, CI₈₀ = 48 µM).

Le « docking » du composé le plus actif **138** dans notre modèle permet d'expliquer les relations structure-activité observées. Ainsi, le groupe nitrile partagerait deux liaisons hydrogène d'une part avec le NH du noyau imidazole de l'His377 et d'autre part avec le NH de la Ser378. Le groupe méthyle serait quant à lui orienté vers une cavité hydrophobe composée entre autres de la Phe128, Leu121 et Tyr118 (**figure 146 et 147**).

L'ensemble de ces nouveaux résultats semblent donc confirmer les hypothèses pharmacophoriques élaborées précédemment par l'équipe de C.Sheng avec toutefois cette originalité sur l'His377 qui serait également capable de donner une liaison hydrogène.

Il est intéressant de constater que sur la souche *Aspergillus*, ces composés présentent également un début d'activité (CI₈₀ comprises entre 4,5 et 64 µM).

Une fois encore, le groupement méthyle semble avoir une importance majeure. A titre d'exemple, **137** (Y = NO₂, espaceur N-CH₃, CI₈₀ = 4,5 µM) est 15 fois plus actif que son analogue non substitué **120** (Y = NO₂, espaceur N-H, CI₈₀ = 64 µM).

A la vue de ces résultats, il semblerait que ces composés puissent également agir par des liaisons hydrogène dans le site actif d'*Aspergillus fumigatus*. L'alignement des séquences primaires, décrit précédemment (page 238), montre en effet une conservation des deux résidus ciblés (His377 et Ser378) probablement à l'origine des activités observées.

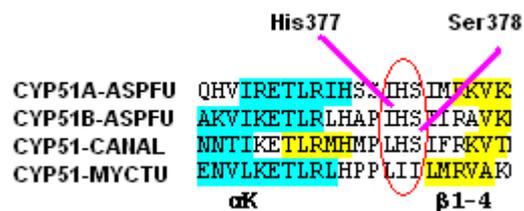


Figure 145 : Alignement des séquences primaires en acides aminés

Cependant, seule la construction d'un modèle CYP51-ASPFU pourrait permettre de vérifier cette hypothèse et d'expliquer plus précisément les relations structure-activité.

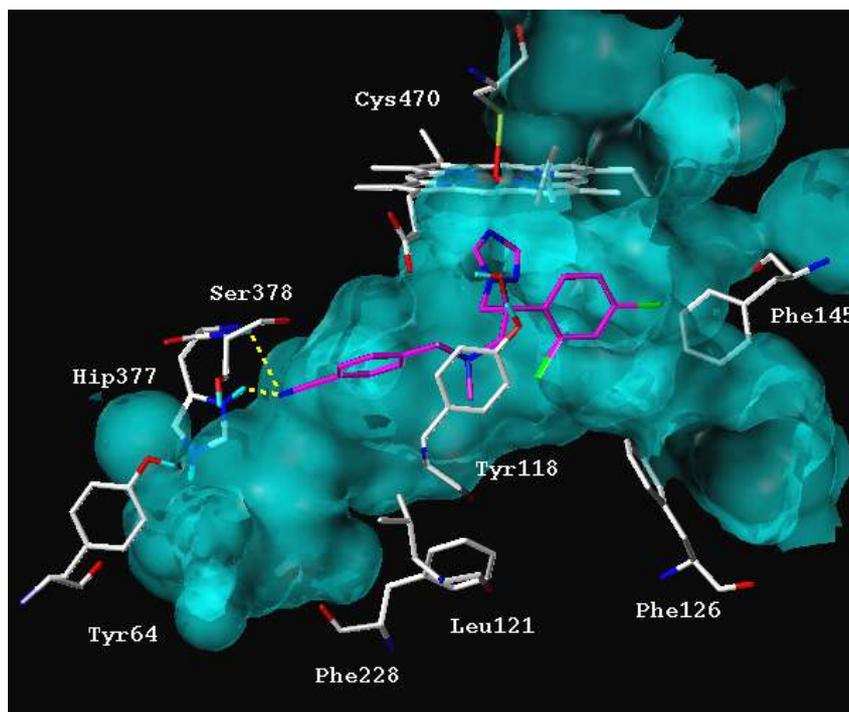
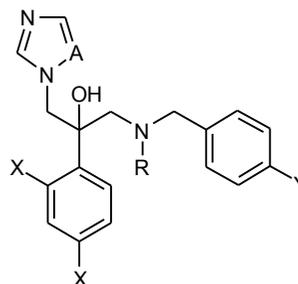


Figure 146 : « Docking » du composé **138** (isomère *S*) dans le site actif CYP51-CANAL

Tableau 21 : Evaluation des 2-(2,4-dihalogénophényl-1-[N-(benzylamino)]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols



N°	A	Y	R	X	CMI ou CI ₈₀			
					<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
					μM	μg/mL	μM	μg/mL
120	N	NO ₂	H	2,4-diCl	0,014±0,003	0,006±0,0013	64,0±2,0	27,02±0,84
137	N	NO ₂	CH ₃	2,4-diCl	0,014±0,003	0,0006±0,0013	4,5±0,4	1,96±0,17
121	N	NH ₂	H	2,4-diCl	48±7	18,83±2,750	7,8±0,3	3,06±0,12
140	N	NH ₂	CH ₃	2,4-diCl	0,072±0,005	0,029±0,002	5,7±0,3	2,32±0,12
136	N	CF ₃	H	2,4-diCl	0,053±0,004	0,024±0,0018	54,0±5,0	24,04±2,23
139	N	CF ₃	CH ₃	2,4-diCl	0,065±0,007	0,030±0,0032	46,0±3,0	21,13±1,38
135	N	CN	H	2,4-diCl	0,007±0,001	0,0028±0,0004	10,0±2,0	4,02±0,80
138	N	CN	CH ₃	2,4-diCl	0,0009±0,0004	0,00037±0,00016	5,8±0,1	2,41±0,04
AMB*					0,12±0,01	0,12±0,01	0,15±0,04	0,14±0,04
KTC					0,0094	0,005	-	-
FLC					0,63±0,02	0,19±0,006	-	-
ITC					-	-	0,6±0,06	0,42±0,04
VOC					0,043	0,015	-	-

* AMB : CMI = CI₉₀ pour *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* (cadre rouge).

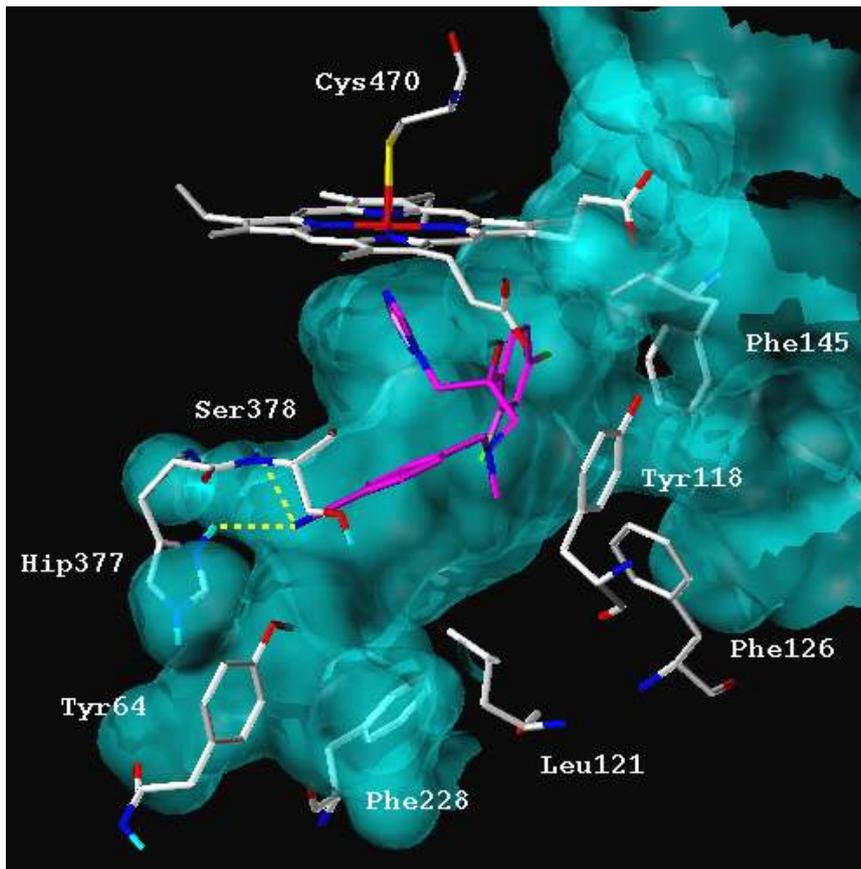


Figure 147 : « Docking » du composé **138** (isomère *S*) dans le site actif CYP51-CANAL

2-3- Partie expérimentale

1-(4-Cyanobenzylamino)-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (135)

Selon la méthode Q (décrite p 285) :

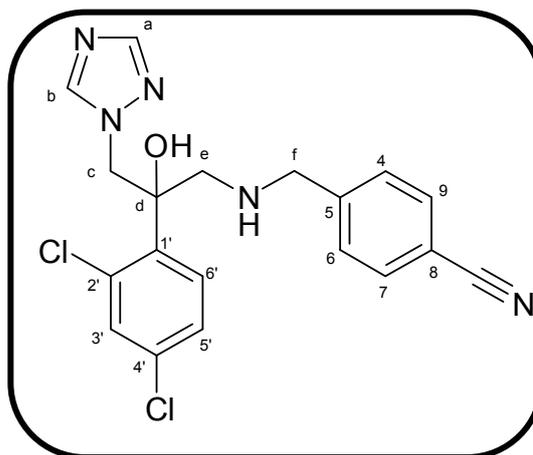
Huile jaune

$C_{19}H_{17}Cl_2N_5O$

$M_r = 402,29$

$R_f = 0,75$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 56%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

2,99 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,27 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,76 (2 H, s, H_f) ; 4,68 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,90 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,93 (1 H, s, OH) ; 7,34 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,47 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,54 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,57 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,75 (1 H, s, H_b) ; 7,79 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{7,9}$) ; 8,32 (1 H, s, H_a). NH non visible sur le spectre.

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

52,7 (C_f) ; 53,3 (C_e) ; 54,2 (C_e) ; 75,7 (C_d) ; 109,5 (C_8) ; 116,1 (CN) ; 126,9 ($C_{5'}$) ; 128,9 (2 C, $C_{4,6}$) ; 130,0 ($C_{3'}$) ; 131,3 ($C_{6'}$) ; 131,4 ($C_{2'}$) ; 132,2 (2 C, $C_{7,9}$) ; 132,7 ($C_{4'}$) ; 138,9 ($C_{1'}$) ; 145,1 (C_a) ; 146,9 (C_5) ; 150,6 (C_b).

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

1274 (ν C-N) ; 1466, 1505 (ν C=C et ν C=N) ; 1624 (δ N-H) ; 2229 (ν C \equiv N) ; 2931 (ν C-H_{aliph.}) ; 3100-3420 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

402,2 (M).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-(4-trifluorométhylbenzylamino)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (136)

Selon la méthode Q (décrite p 285) :

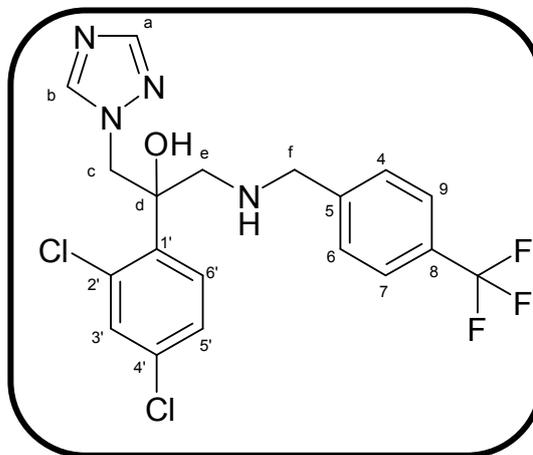
Huile jaune

$C_{19}H_{17}Cl_2F_3N_4O$

$M_r = 445,27$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 32%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,01 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,29 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,76 (2 H, s, H_f) ; 4,68 (1 H, d, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 4,90 (1 H, d, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 5,94 (1 H, s, OH) ; 7,33 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_5) ; 7,49 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,54 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,57 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,68 (2 H, d, $^3J = 7,9$ Hz, $H_{7,9}$) ; 7,75 (1 H, s, H_b) ; 8,32 (1 H, s, H_a). NH non visible sur le spectre.

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

52,6 (C_f) ; 53,3 (C_e) ; 54,2 (C_e) ; 75,7 (C_d) ; 125,1 (2 C, $C_{7,9}$) ; 126,9 ($C_{5'}$) ; 128,7 (2 C, $C_{4,6}$) ; 130,0 ($C_{6'}$) ; 131,3 ($C_{3'}$) ; 131,4 ($C_{2'}$) ; 132,7 ($C_{4'}$) ; 138,9 ($C_{1'}$) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b). C_{F_3} , C_5 et C_8 non visibles sur le spectre.

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

1126 (ν C-F) ; 1266 (ν C-N) ; 1507, 1584 (ν C=C et ν C=N) ; 3210-3510 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

445,2 (M).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-[N-méthyl-N-(4-nitrobenzyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (137)

Méthode V2 :

Placer 116 mg (0,27 mmol) de **120** dans 2 mL de méthanol sous argon à température ambiante. Ajouter 22,5 μ L (0,27 mmol) de formaldéhyde à 30% et 4 gouttes d'acide acétique glacial. Ajouter lentement 21 mg (0,39 mmol) de cyanoborohydrure de sodium. La réaction est légèrement exothermique. Agiter la solution pendant la nuit à température ambiante.

Ajouter de l'eau et extraire le produit avec du dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre et évaporer. Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant tout d'abord avec du dichlorométhane puis un mélange dichlorométhane / éthanol : 98 / 2.

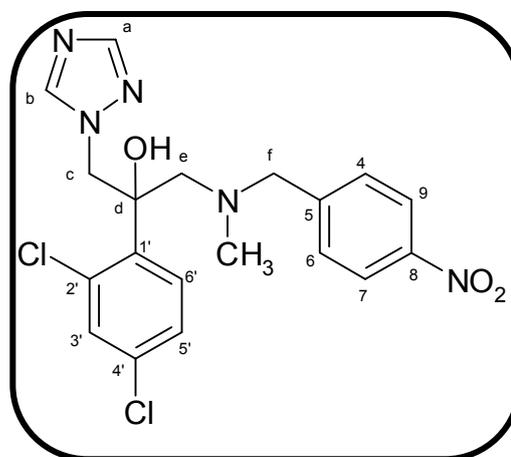
Huile jaune

$C_{18}H_{19}Cl_2N_5O_3$

$M_r = 436,30$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 43%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,10 (3 H, s, CH_3) ; 2,85 (1 H, d, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,47 (1 H, d, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,54 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_f) ; 3,76 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_f) ; 4,69 (1 H, d, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 4,86 (1 H, d, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 5,95 (1 H, s, OH) ; 7,31 (2 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,34 (1 H, dd, $^3J = 8,2$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,58 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,60 (1 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,78 (1 H, s, H_b) ; 8,10 (2 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, $H_{7,9}$) ; 8,33 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

43,9 (CH_3) ; 55,0 (C_f) ; 61,8 (C_c) ; 62,3 (C_e) ; 76,8 (C_d) ; 123,6 (2 C, $C_{7,9}$) ; 127,2 ($C_{5'}$) ; 129,8 (2 C, $C_{4,6}$) ; 130,1 ($C_{6'}$) ; 131,4 ($C_{3'}$) ; 132,1 ($C_{2'}$) ; 132,9 ($C_{4'}$) ; 139,4 ($C_{1'}$) ; 145,5 (C_a) ; 146,9 (C_8) ; 147,9 (C_5) ; 150,9 (C_b).

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

1274 (v C-N) ; 1347 (v NO_2 sym) ; 1519 (v NO_2 asym) ; 1464, 1602 (v C=C et v C=N) ; 2927 (v C- $H_{aliph.}$) ; 3370 (v O-H).

Masse :

436,2 (M).

4-{N-[2-(2,4-Dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-N-méthyl}aminométhylbenzonitrile (138)

Selon la méthode V2 (décrite p 311) :

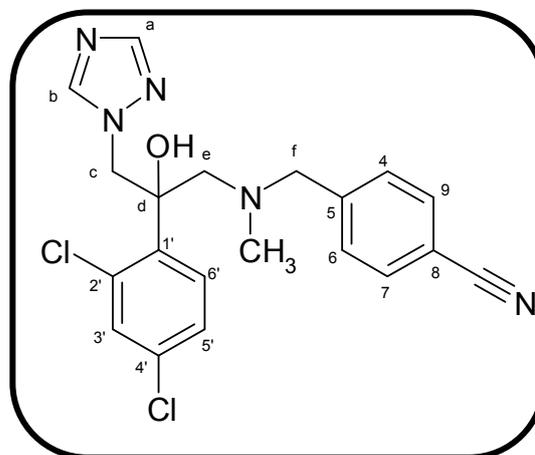
Huile jaune

$C_{20}H_{19}Cl_2N_5O$

$M_r = 416,31$

$R_f = 0,75$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 63%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,08 (3 H, s, CH₃) ; 2,84 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,40 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,49 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_f) ; 3,70 (1 H, d, $^2J = 12,8$ Hz, H_f) ; 4,67 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,86 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,93 (1 H, s, OH) ; 7,25 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{4,6}) ; 7,33 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H_{5'}) ; 7,57 (1 H, d, $^4J = 2,4$ Hz, H_{3'}) ; 7,60 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_{6'}) ; 7,71 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, H_{7,9}) ; 7,78 (1 H, s, H_b) ; 8,33 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

43,9 (CH₃) ; 55,0 (C_f) ; 62,1 (C_c) ; 62,3 (C_e) ; 76,8 (C_d) ; 110,1 (C_{1'}) ; 119,3 (CN) ; 129,7 (2 C, C_{4,6}) ; 130,1 (C_{3'}) ; 131,3 (C_{6'}) ; 132,1 (C_{2'}) ; 132,4 (2 C, C_{7,9}) ; 132,9 (C_{4'}) ; 139,4 (C₈) ; 145,6 (2 C, C_{a,5}) ; 150,9 (C_b).

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

738 (ν C-Cl) ; 1268 (ν C-N) ; 1464, 1507 (ν C=C et ν C=N) ; 2229 (ν C \equiv N) ; 3399 (ν O-H).

Masse :

416,7 (M).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-[N-méthyl-N-(4-trifluorométhylbenzyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (139)

Selon la méthode V2 (décrite p 311) :

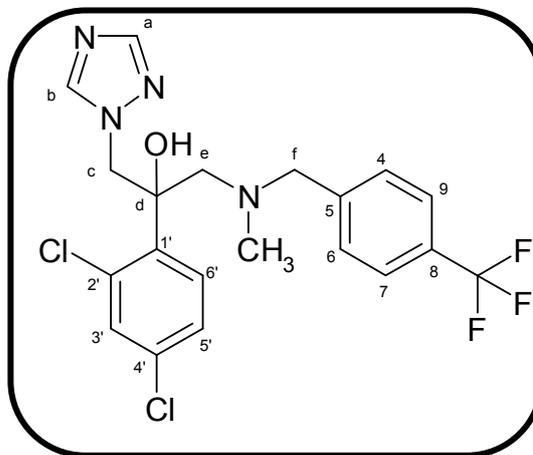
Huile jaune

$C_{20}H_{19}Cl_2F_3N_4O$

$M_r = 459,30$

$R_f = 0,80$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 66%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,10 (3 H, s, CH_3) ; 2,85 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,43 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,49 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_f) ; 3,70 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_f) ; 4,68 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,86 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,93 (1 H, s, OH) ; 7,27 (2 H, d, $^3J = 7,3$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,34 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,56 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,60-7,62 (3 H, m, $H_{7,9,6'}$) ; 7,78 (1 H, s, H_b) ; 8,33 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

43,9 (CH_3) ; 55,0 (C_f) ; 62,1 (C_c) ; 62,2 (C_e) ; 76,7 (C_d) ; 125,3 (2 C, $C_{7,9}$) ; 127,2 ($C_{5'}$) ; 129,6 (2 C, $C_{4,6}$) ; 130,1 ($C_{6'}$) ; 131,3 ($C_{3'}$) ; 132,1 ($C_{2'}$) ; 132,9 ($C_{4'}$) ; 139,5 ($C_{1'}$) ; 144,5 (C_a) ; 145,5 (C_5) ; 151,0 (C_b). \underline{CF}_3 et C_8 non visibles sur le spectre.

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

740 (ν C-Cl) ; 1129 (ν C-F) ; 1266 (ν C-N) ; 1422, 1584 (ν C=C et ν C=N) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3420 (ν O-H).

Masse :

458,7 (M).

1-[N-(4-Aminobenzyl)-N-méthylamino]-2-(2,4-dichlorophényl)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (140)

Selon la méthode O3 (décrite p 283) :

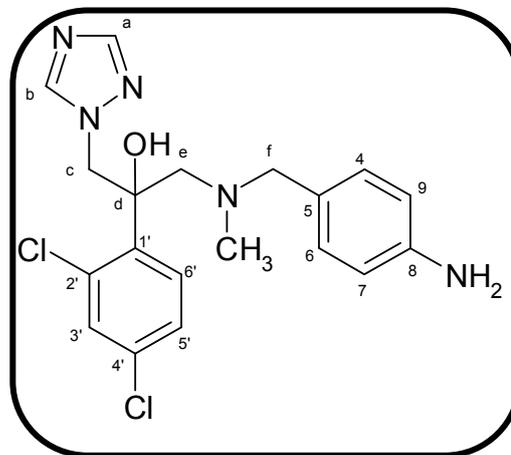
Huile jaune

$C_{19}H_{21}Cl_2N_5O$

$M_r = 406,32$

$R_f = 0,70$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 47%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,04 (3 H, s, CH_3) ; 2,88 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_c) ; 3,24-3,31 (3 H, m, H_c , 2 H_f) ; 4,60 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,85 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,95 (2 H, s, NH_2) ; 5,88 (1 H, s, OH) ; 6,46 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{7,9}$) ; 6,74 (2 H, d, $^3J = 8,2$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,33 (1 H, dd, $^3J = 8,5$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_5) ; 7,56 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H_3) ; 7,59 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, H_6) ; 7,75 (1 H, s, H_b) ; 8,33 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

43,5 (CH_3) ; 55,2 (C_f) ; 61,7 (C_c) ; 62,6 (C_e) ; 75,9 (C_d) ; 113,9 (2 C, $C_{7,9}$) ; 125,8 (C_5) ; 127,2 (C_5) ; 130,1 (3 C, $C_{4,6,6'}$) ; 131,2 (C_3) ; 132,1 (C_2) ; 132,8 (C_4) ; 139,8 (C_1) ; 145,1 (C_a) ; 148,0 (C_8) ; 150,9 (C_b).

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

737 (ν C-Cl) ; 1272 (ν C-N) ; 1461, 1512 (ν C=C et ν C=N) ; 1620 (δ N-H) ; 2927 (ν C- $H_{aliph.}$) ; 3040-3520 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

407,5 (M + H).

3- Synthèse de 2-phényl-1-hétéroaryl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

3-1- Hypothèses de travail

Les résultats encourageants obtenus sur la série des benzylamines nous ont conduit à développer de nouvelles séries analogues. Deux axes de recherche ont été définis (**figure 148**) :

- Le remplacement du noyau aromatique par un hétérocycle azoté (pyridine ou pipéridine). Ce type de noyau est souvent retrouvé dans les inhibiteurs connus comme le posaconazole ou l'itraconazole et peut servir d'intermédiaire vers de nouvelles pharmacomodulations
- Le maintien d'un noyau aromatique et l'introduction de longues chaînes de type sulfonamides.

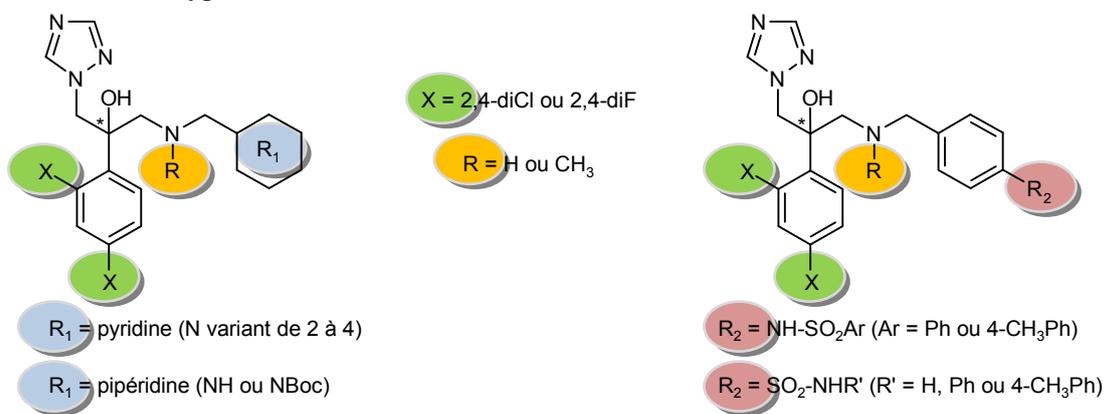


Figure 148 : Schéma synoptique des structures envisagées

Les objectifs dans cette série de composés sont doubles : d'une part, nous souhaitons conserver l'interaction de nos inhibiteurs par liaison hydrogène avec les résidus fondamentaux Ser378 et His377 ; et d'autre part, en construisant des molécules à plus longue chaîne, nous souhaitons augmenter la stabilité de nos inhibiteurs par la création d'interactions supplémentaires dans le tunnel 2 (stacking, interactions de type Van der Waals...)

3-2- Pharmacomodulations autour du cycle aromatique

Dans un premier temps les travaux de pharmacomodulation ont porté sur le cycle aromatique (R₁ sur la **figure 148**). Ce noyau a été modulé de deux façons : nous avons introduits différents noyaux pyridiniques ou pipéridiniques.

3-2-1- Série des méthylpyridines

Diverses structures possédant un noyau pyridinique ont été préparées en faisant varier la place de l'azote de la position 2 à la position 4 (**figure 149**) :

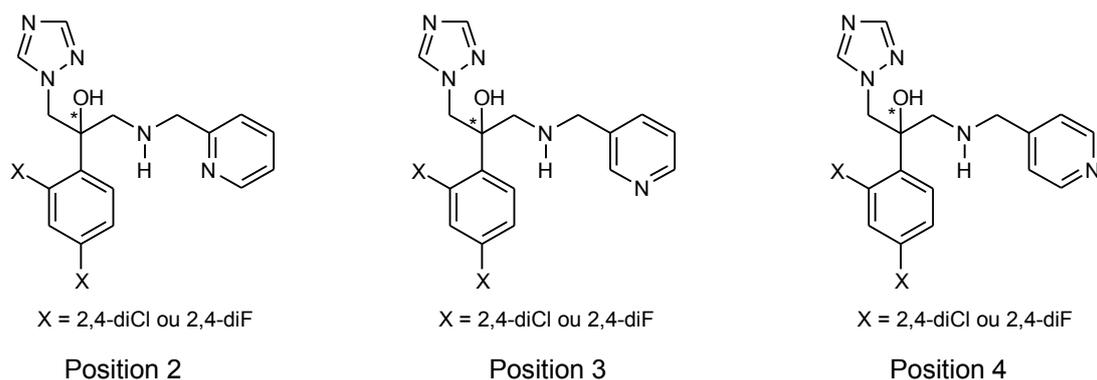


Figure 149 : Différentes structures pyridiniques envisagées

Les 2-,3- et 4-formyl pyridines commerciales serviront de réactifs de départ pour la préparation de ces composés. Nous avons donc orienté notre choix vers une réaction d'amination réductrice entre les amino alcools **118** et **119** (décrits précédemment page 269) et les formyl pyridines selon les conditions déjà exposées :

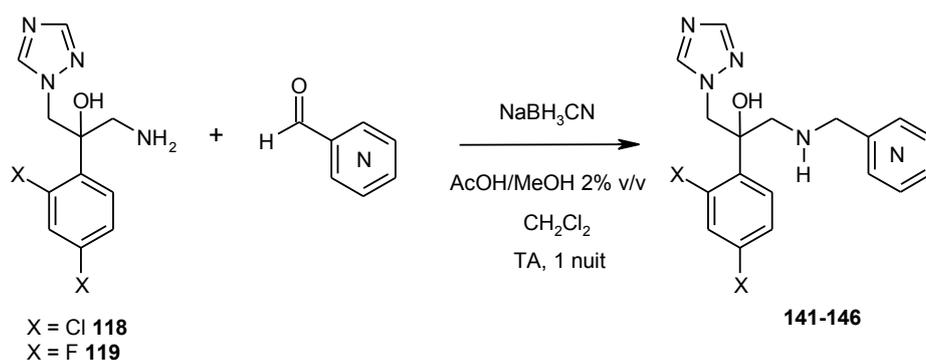


Figure 150 : Préparation des dérivés pyridiniques **141** à **146**

Tableau 22 : Conditions opératoires d'amination réductrice avec des noyaux pyridines

N°	Pyridine	Ratio amine/aldéhyde	X	Rdt (%)
141	N en 2	2 / 1	Cl	49
142			F	30
143	N en 3	2 / 1	Cl	29
144			F	30
145	N en 4	1 / 1	Cl	47
146			F	25

Contrairement à ce que l'on pouvait imaginer, la position de l'azote a une influence sur la réactivité du groupe aldéhyde. Alors que les dérivés **145** et **146** sont préparés en utilisant un rapport 1 / 1, ces conditions ont conduit à de la double substitution pour les dérivés avec l'azote en 2 et 3. Nous sommes donc revenus à un rapport 2 / 1 pour préparer ces derniers analogues. Globalement les rendements sont faibles mais restent corrects.

3-2-2- Série des méthylpipéridines

Une autre pharmacomodulation de cycle a consisté à remplacer le noyau pyridine par un cycle pipéridine.

Dans un premier temps, nous avons pensé réduire les cycles pyridines des dérivés **145** et **146** afin d'obtenir directement les pipéridines. La méthode décrite par W.D. Vaccaro *et al.*¹⁸⁷ utilisant une réduction sous atmosphère d'hydrogène catalysée à l'oxyde de platine a été essayée mais n'a pas donné de réaction. Notre stratégie a donc été réorientée vers l'amination réductrice. Pour cela, le 4-pipéridine méthanol commercial est protégé par un groupement Boc¹⁸⁸ puis oxydé en aldéhyde sur sa partie alcool selon les conditions de Swern¹⁸⁹ :

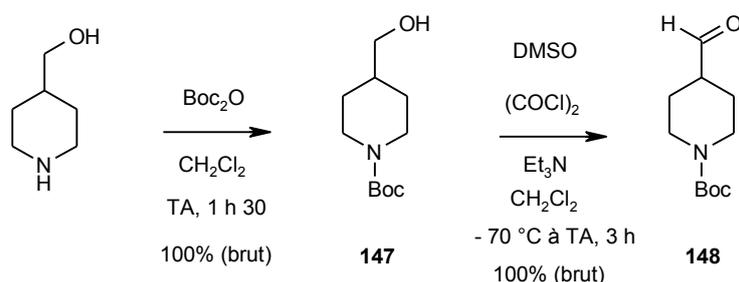


Figure 151 : Préparation du 4-formyl-1-(*tert*-butoxycarbonyl)pipéridine **148**

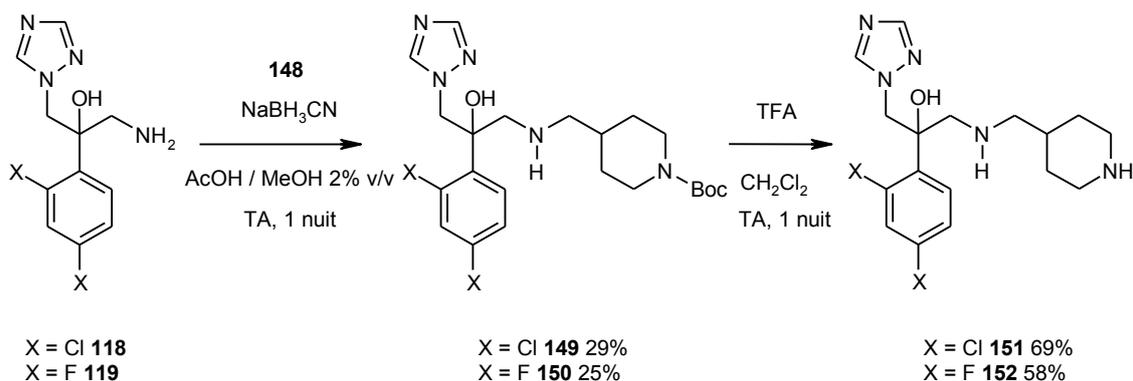


Figure 152 : Synthèse des dérivés pipéridiniques

Le dérivé **148** est alors directement engagé dans l'amination réductrice avec les amino alcools **118** et **119** en utilisant un rapport amine/aldéhyde : 1/1. Les produits **149** et **150** sont obtenus avec des rendements faibles de 29 et 25%. Enfin, la déprotection du groupement Boc est réalisée par l'acide trifluoroacétique selon les conditions de Sagara *et al.*¹⁹⁰ avec de bons rendements et conduit à deux nouveaux produits finaux.

¹⁸⁷ Vaccaro W.D. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 395-399.

¹⁸⁸ Ting P.C. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 491-494.

¹⁸⁹ Castro S. *et al. J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3312-3315.

¹⁹⁰ Sagara Y. *et al. J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5653-5663.

3-2-3- Résultats pharmacologiques et discussion

Dans la série des méthylpyridines six nouveaux composés ont été préparés, quatre dérivés ont été synthétisés dans la série des méthylpipéridines. Ces composés ont été évalués sur CA98001 (sensible au fluconazole) et AF98003.

Le tableau suivant (page 319) présente les résultats d'activité obtenus.

Tous ces composés sont inactifs sur *A. fumigatus* (CI_{80} supérieures à 100 μ M) alors qu'ils présentent une activité meilleure que le fluconazole sur *C. albicans* et une activité 1,5 à 100 fois inférieure au voriconazole sur la même souche. Seul le composé **149** (X = 2,4-diCl, Pipéridine-*N*-Boc, CI_{80} = 0,053 μ M) atteint le même niveau d'activité que le voriconazole.

Les composés dichlorés possédant un cycle pyridine montrent des résultats intéressants, homogènes dans la gamme du 10^{-8} M (**141** (Het = 2-pyridine, CI_{80} = 60 nM), **143** (Het = 3-pyridine, CI_{80} = 97 nM) et **145** (Het = 4-pyridine, CI_{80} = 96 nM)). Les analogues difluorés sont quant à eux 4 à 10 fois moins actifs.

Le « docking » du composé **145** dans notre modèle, montre que l'azote pyridinique s'orienterait vers l'His377 et la Ser378 mais les distances de 5,76 et 7,27 Å semblent trop importantes pour permettre une interaction par liaison hydrogène (**figure 153**). Toutefois, ces composés seraient stabilisés par un « π -stacking » entre le cycle pyridine et le noyau aromatique de la Tyr118. Cet acide aminé, déjà mentionné dans les travaux de C.Sheng, (**figure 141** page 302) a très récemment fait l'objet d'une publication démontrant son importance dans l'activité inhibitrice de composés aromatiques.¹⁹¹

Dans la série des méthylpipéridines, il apparaît clairement que la substitution de l'azote pipéridinique par un groupe protecteur *N*-Boc, accepteur de liaison hydrogène, est indispensable à l'activité inhibitrice. Les composés **149** (dichloré) et **150** (difluoré) (CI_{80} respectives de 53 et 60 nM) sont en effet environ 100 fois plus actifs que leurs analogues non substitués **151** et **152**. Une fois encore, une interaction impliquant les acides aminés cibles (Ser378 et His377) pourrait être à l'origine de ces résultats.

Lorsque l'on compare les niveaux d'activité obtenus précédemment pour la série pyridine, on remarque toutefois des similitudes dans la gamme du 10^{-8} M. Les interactions impliquées dans chaque série sont cependant de deux types : un « stacking » avec la Tyr118 (série pyridine) ou des interactions par liaisons-H (série pipéridine). Il semblerait donc que les trois acides aminés Tyr118, Ser378 et His377 jouent un rôle essentiel sur l'activité inhibitrice des composés.

¹⁹¹ Chen S.H. *et al. Biol. Pharm. Bull.* **2007**, *30*, 1246-1253.

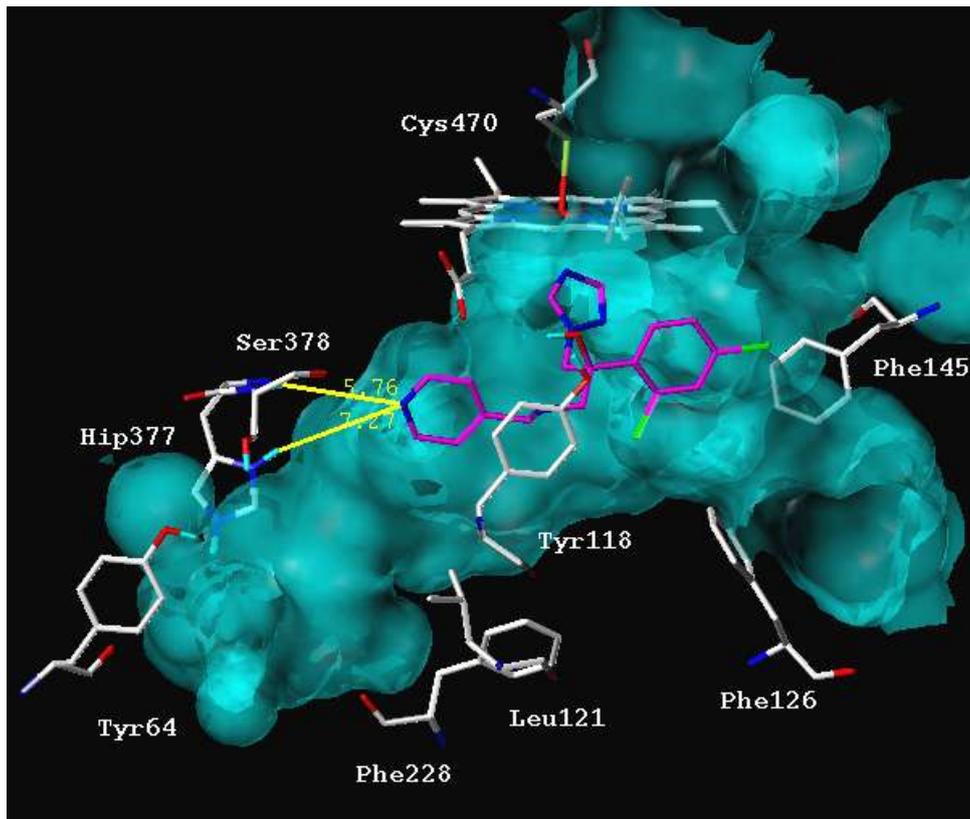
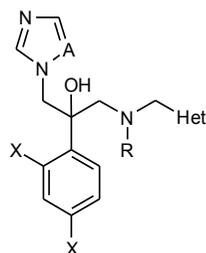


Figure 153 : « Docking » du composé **145** (isomère *S*) dans le site actif CYP51-CANAL.

Tableau 23 : Résultats pharmacologiques pour les dérivés pyridiniques et pipéridiniques



N°	A	Het	R	X	CMI ou CI ₈₀			
					<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
					μM	μg/mL	μM	μg/mL
141	N	2-pyridine	H	2,4-diCl	0,06±0,01	0,023±0,004	>100	-
142	N	2-pyridine	H	2,4-diF	0,65±0,07	0,22±0,024	>100	-
143	N	3-pyridine	H	2,4-diCl	0,097±0,001	0,037±0,0004	>100	-
144	N	3-pyridine	H	2,4-diF	0,39±0,10	0,13±0,035	>100	-
145	N	4-pyridine	H	2,4-diCl	0,096±0,001	0,036±0,0004	>100	-
146	N	4-pyridine	H	2,4-diF	0,24±0,05	0,083±0,0170	>100	-
149	N	pipéridine- <i>N</i> -Boc	H	2,4-diCl	0,053±0,002	0,026±0,0010	>100	-
151	N	pipéridine	H	2,4-diCl	1,3±1,4	0,50±0,540	>100	-
150	N	pipéridine- <i>N</i> -Boc	H	2,4-diF	0,06±0,01	0,027±0,0050	>100	-
152	N	pipéridine	H	2,4-diF	4±1	1,41±0,350	>100	-
AMB*					0,12±0,01	0,12±0,01	0,15±0,04	0,14±0,04
KTC					0,0094	0,005	-	-
FLC					0,63±0,02	0,19±0,006	-	-
ITC					-	-	0,6±0,06	0,42±0,04
VOC					0,043	0,015	-	-

* AMB : CMI = CI₉₀ pour *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* (cadre rouge).

4- Préparation de 4-[2-phényl-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propylaminométhyl]benzènesulfonamides

En fonction des conclusions précédentes, dans cette dernière série chimique, nous avons souhaité développer des composés comportant des substituants susceptibles d'interagir avec les acides aminés clés (Tyr118, Ser378 et His377). Pour cela diverses molécules benzènesulfonamides ont été envisagées (**figure 154**) :

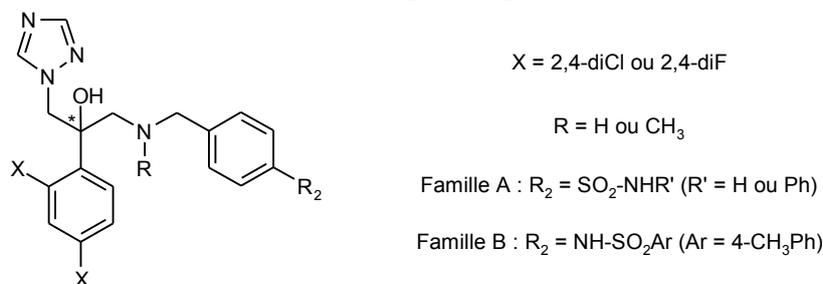


Figure 154 : Structure générale des benzènesulfonamides envisagés

4-1- Série des 4-{[2-(2,4-dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]aminométhyl}benzènesulfonamides

Pour synthétiser de tels composés, nous avons utilisé le schéma rétrosynthétique suivant :

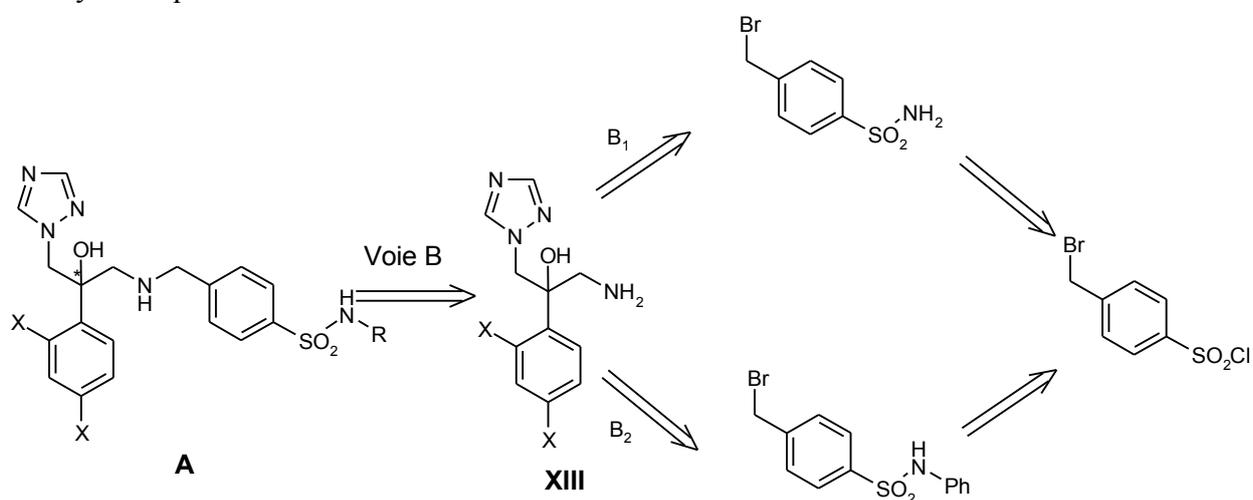


Figure 155 : Rétrosynthèse pour préparer les benzènesulfonamides de la famille A

Ce schéma fait intervenir une substitution nucléophile de l' amino alcool **XIII** par différents 4-(bromométhyl)benzènesulfonamides. Selon la nature du groupement sulfonamide, deux possibilités sont envisagées. Elles débutent avec le chlorure de 4-bromométhylbenzène sulfonyle. Ce dernier peut être préparé par action du couple *N*-

bromosuccinimide / AIBN au reflux du tétrachlorure de carbone selon la méthode décrite par Y.K. Yee *et al.*¹⁹² ou J.C. Pieck *et al.*¹⁹³

La synthèse des intermédiaires sulfonamides est décrite sur la figure suivante :

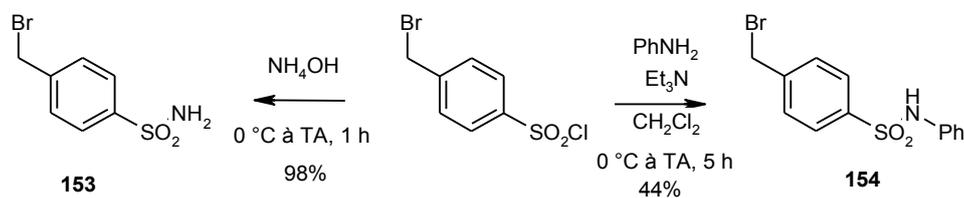


Figure 156 : Synthèse des 4-(bromométhyl)benzènesulfonamides

L'action d'ammoniaque aqueux sur le chlorure de 4-bromométhylbenzène sulfonyle conduit au dérivé **153** avec un rendement de 98%.¹⁹⁴ La réaction de l'aniline sur le chlorure de 4-bromométhylbenzènesulfonamide est réalisée en milieu basique et conduit au dérivé **154** avec un faible rendement de 44%.¹⁹⁵

Les dérivés **153** et **154** réagissent ensuite avec les amino alcools **118** et **119** en utilisant les conditions précédemment décrites (CH₃CN, (iPr)₂NEt, rapport amine / bromure de benzyle : 2 / 1, TA, 1 nuit, **figure 143** page 303). Les rendements obtenus sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 24 : benzènesulfonamides de la famille A synthétisés

Motif SO ₂ -	X	N°	Rdt (%)
-NH ₂	2,4-diCl	155	83
	2,4-diF	Pas de réaction	/
-NHPh	2,4-diCl	156	37
	2,4-diF	Pas de réaction	/

Seuls les produits finaux en série dichlorée ont pu être obtenus avec des rendements variables de 37 et 83%. Aucune réaction n'est observée dans le cas où le noyau aromatique est difluoré. La quasi-totalité de l'amino alcool **119** engagé est récupérée même après des temps de réaction prolongés.

¹⁹² Yee Y.K. *et al.* *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 2437-2451.

¹⁹³ Pieck J.C. *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 1404-1405.

¹⁹⁴ Naganawa A. *et al.* *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14, 7121-7137.

¹⁹⁵ Yang S.D. *et al.* *Tetrahedron Asymmetry* **2006**, 17, 1895-1900.

4-2- Série des *N*-[4-(*N*-[2-(2,4-dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-*N*-aminométhyl)phényl]-4-méthylbenzène sulfonamides

Une deuxième famille de sulfonamides a également été préparée. Contrairement à la série précédente, le motif sulfonamide est inversé en -NHSO₂Aromatique. La structure générale des composés est indiquée sur la **figure 154** page 321.

Plusieurs voies de rétrosynthèse ont été envisagées selon que l'espaceur amine est substitué ou non par un groupe méthyle :

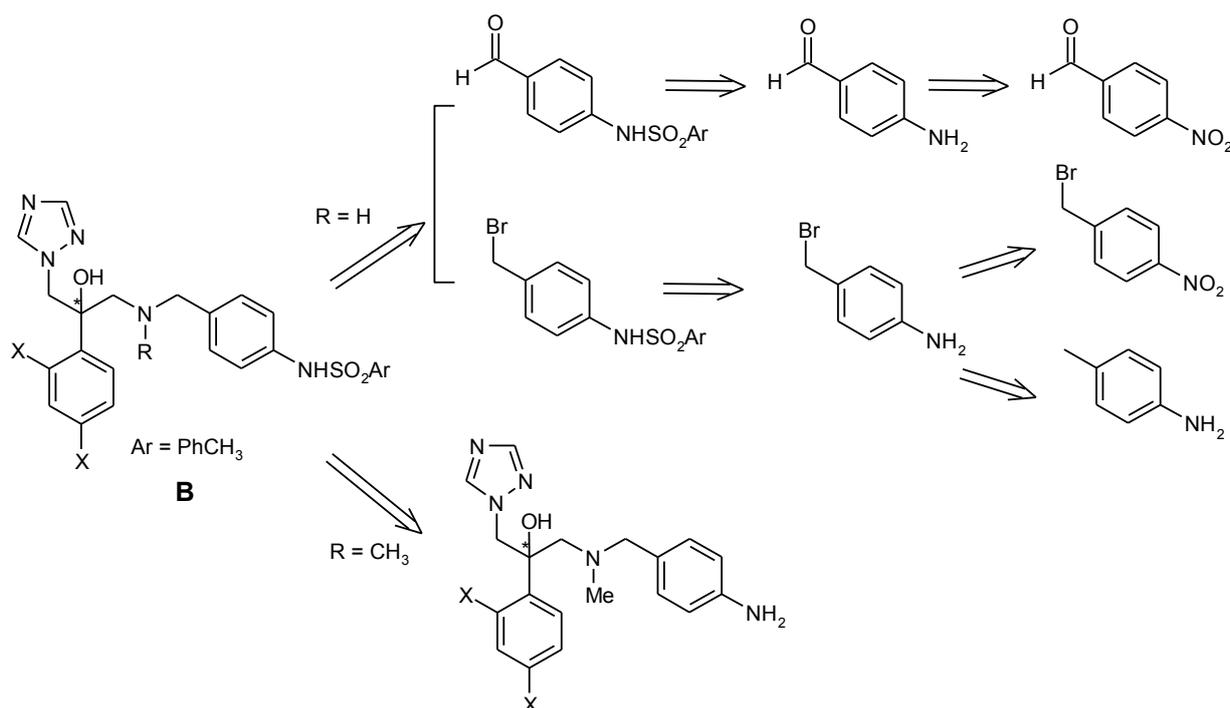


Figure 157 : Analyse rétrosynthétique pour la préparation des benzènesulfonamides de la famille B

Les composés possédant un espaceur amine non substitué (R = H) peuvent être préparés selon deux voies différentes :

- La première voie commence avec le 4-nitrobenzaldéhyde qui est réduit en 4-aminobenzaldéhyde par action du chlorure stanneux SnCl₂ dans l'éthanol.¹⁹⁶ L'amine obtenue est ensuite engagée dans une réaction de condensation avec un chlorure de sulfonyle avant de réaliser l'amination réductrice avec l'amino alcool **XIII**.

- La deuxième voie de synthèse débute avec le bromure de 4-nitrobenzyle ou la *para*-toluidine. Par réduction (ou bromation) on obtiendrait le bromure de 4-aminobenzyle qui serait engagé dans une réaction de condensation avec un chlorure

¹⁹⁶ Weber V. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4552-4564.

de sulfonyle avant de réaliser une ultime substitution nucléophile de l' amino alcool **XIII**.

Les deux voies ont été testées mais n'ont pas permis de former les produits souhaités. En effet, les 4-aminobenzaldéhyde et bromure de 4-aminobenzyle, une fois obtenus ne sont pas stables.

Nous nous sommes alors attachés à préparer les dérivés possédant un espaceur N-CH₃. Ils sont préparés en une étape à partir du composé **140** décrit précédemment dans la série des benzylamines (**figure 144** page 304) par simple tosylation de l'amine terminale :

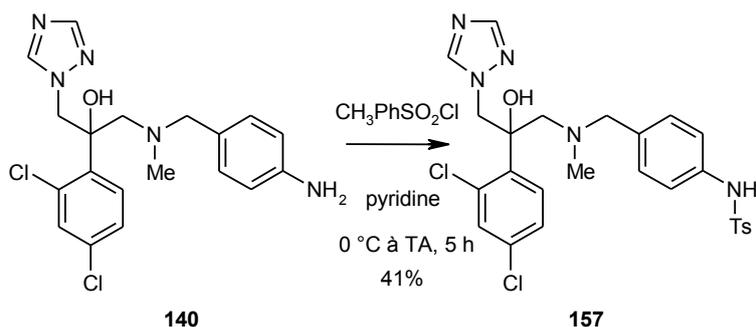


Figure 158 : Synthèse du composé **157**

Le dérivé **140** est obtenu en trois étapes à partir de l' amino alcool **118** (substitution avec le bromure de 4-nitrobenzyle, amination réductrice et réduction du nitro en amine). L'étape de tosylation est réalisée selon les conditions de Yang *et al.*¹⁹⁵ Le produit dichloré **157** est obtenu avec un rendement de 41%.

4-3- Résultats pharmacologiques et discussion

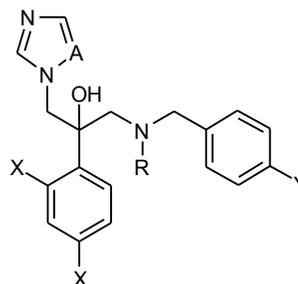
Dans la famille A des sulfonamides, deux analogues ont été préparés alors que dans la famille B, un seul produit a été synthétisé. Ils ont été évalués sur les souches de *Candida albicans* CA98001 (sensible au fluconazole) et d'*Aspergillus fumigatus* AF98003.

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'activité obtenus pour ces trois composés. A première vue, les résultats peuvent paraître décevants. Sur la souche *Candida*, ces composés possèdent (seulement) des CI₈₀ comprises entre 10⁻⁷ et 10⁻⁸ M. La combinaison des différentes interactions fondamentales pouvaient nous laisser espérer mieux.

Cependant, les deux molécules substituées au niveau du sulfonamide **156** (-SO₂NH-Ph, CI₈₀ = 85 nM) et **157** (-NH-Ts, CI₈₀ = 60 nM) montrent des niveaux d'activité semblables au voriconazole. Cette dernière molécule possède par ailleurs un début d'activité très intéressante sur la souche *Aspergillus* (CI₈₀ = 6 μM).

Cette nouvelle série chimique semble donc prometteuse tant par ses premiers résultats pharmacologiques que par son accessibilité chimique pour l'introduction de la diversité moléculaire.

Tableau 25 : Résultats pharmacologiques des sulfonamides



N°	A	Y	R	X	CMI ou CI ₈₀			
					<i>Candida albicans</i> (CA98001)		<i>Aspergillus fumigatus</i> (AF98003)	
					μM	μg/mL	μM	μg/mL
155	N	SO ₂ -NH ₂	H	2,4-diCl	0,55±0,03	0,25±0,014	Nd**	Nd**
156	N	SO ₂ -NH-Ph	H	2,4-diCl	0,085±0,009	0,045±0,005	60,0±1,0	31,95±0,53
157	N	NH-Ts	CH ₃	2,4-diCl	0,060±0,001	0,034±0,0006	6,0±1,0	3,36±0,56
AMB*					0,12±0,01	0,12±0,01	0,15±0,04	0,14±0,04
KTC					0,0094	0,005	-	-
FLC					0,63±0,02	0,19±0,006	-	-
ITC					-	-	0,6±0,06	0,42±0,04
VOC					0,043	0,015	-	-

* AMB : CMI = CI₉₀ pour *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus* (cadre rouge).

** Nd : Non déterminé

4-4- Partie expérimentale

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-(pyridin-2-ylméthylamino)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (141)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

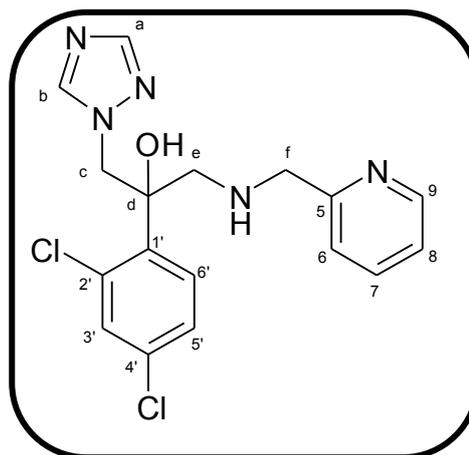
Huile brune

$C_{17}H_{17}Cl_2N_5O$

$M_r = 378,26$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

Rendement = 49%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,08 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,34 (1 H, d, $^2J = 12,2$ Hz, H_c) ; 3,78 (2 H, s, H_f) ; 4,68 (1 H, d, $^2J = 14,7$ Hz, H_e) ; 4,92 (1 H, d, $^2J = 14,7$ Hz, H_e) ; 6,12 (1 H, s, OH) ; 7,21-7,37 (3 H, m, $H_{5',6,8}$) ; 7,51-7,62 (2 H, m, $H_{3',6'}$) ; 7,69-7,81 (2 H, m, $H_{b,7}$) ; 8,32 (1 H, s, H_a) ; 8,51 (1 H, d, $^3J = 4,9$ Hz, H_9).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

54,1 (C_f) ; 54,5 (C_c) ; 55,2 (C_e) ; 76,1 (C_d) ; 127,2 ($C_{5'}$) ; 130,0 (C_6) ; 130,3 ($C_{6'}$) ; 130,6 (C_8) ; 131,6 ($C_{3'}$) ; 131,7 ($C_{2'}$) ; 132,9 ($C_{1'}$) ; 133,2 ($C_{4'}$) ; 136,9 (C_7) ; 139,4 (C_5) ; 140,7 (C_9) ; 145,4 (C_a) ; 150,8 (C_b).

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

748 (ν C-Cl) ; 1267 (ν C-N) ; 1456, 1503, 1589 (ν C=C et ν C=N) ; 2937, 2958 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3200-3350 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

378,4 (M + H).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-(pyridin-2-ylméthylamino)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (142)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

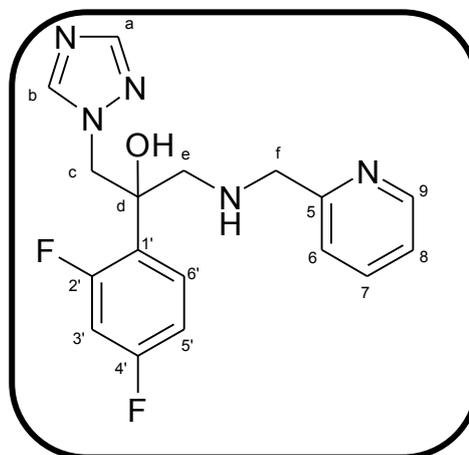
Huile brune

$C_{17}H_{17}Cl_2N_5O$

$M_r = 345,35$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

Rendement = 30%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,95 (1 H, d, $^2J = 11,9$ Hz, H_c) ; 2,97 (1 H, d, $^2J = 11,9$ Hz, H_c) ; 3,80 (2 H, s, H_f) ; 4,51 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,64 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 6,00 (1 H, s, OH) ; 6,98 (1 H, ddd, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HF} = ^4J_{HF} = 2,2$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,17 (1 H, dd, $^3J_{HF} = 12,1$ Hz, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HH} = 2,2$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,33-7,52 (4 H, m, $H_{3',7,8,9}$) ; 7,75 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a) ; 8,51 (1 H, d, $^3J = 4,0$ Hz, H_6).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

55,2 (C_f) ; 55,6 (C_c) ; 55,8 (C_e) ; 74,9 (1 C, d, $^3J_{CF} = 5,2$ Hz, C_d) ; 104,2 (1 C, d, $^2J_{CF} = 25,6$ Hz, $C_{5'}$) ; 111,0 (1 C, dd, $^3J_{CF} = ^3J_{CF} = 20,4$ Hz, $C_{6'}$) ; 122,2-122,5 (3 C, m, $C_{6,7,8}$) ; 130,5 (1 C, dd, $^3J_{CF} = ^3J_{CF} = 6,2$ Hz, $C_{3'}$) ; 136,9 (C_5) ; 145,3 (C_a) ; 149,2 (2 C, $C_{1',9}$) ; 150,8 (C_b). $C_{2'}$ et $C_{4'}$ non visibles sur le spectre.

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

1128 (ν C-F) ; 1272 (ν C-N) ; 1425, 1497, 1607 (ν C=C et ν C=N) ; 2930 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3421 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

346,2 (M + H) ; 368,2 (M + 23).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-(pyridin-3-ylméthylamino)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (143)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

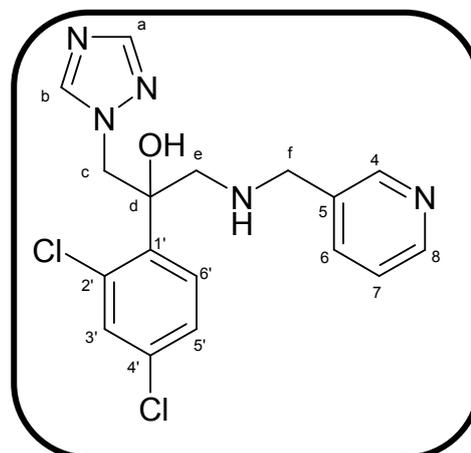
Huile brune

$C_{17}H_{17}Cl_2N_5O$

$M_r = 378,26$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

Rendement = 29%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,02 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,29 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,70 (2 H, s, H_f) ; 4,68 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 4,89 (1 H, d, $^2J = 14,3$ Hz, H_e) ; 5,92 (1 H, s, OH) ; 7,21-7,37 (2 H, m, $H_{5',7'}$) ; 7,51-7,62 (2 H, m, $H_{3',6'}$) ; 7,66 (1 H, m, H_6) ; 7,74 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a) ; 8,43-8,55 (2 H, m, $H_{4,8}$).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

50,9 (C_f) ; 53,5 (C_e) ; 54,5 (C_e) ; 76,0 (C_d) ; 123,7 (C_7) ; 127,2 ($C_{5'}$) ; 130,3 ($C_{6'}$) ; 131,5 ($C_{3'}$) ; 131,7 ($C_{2'}$) ; 133,0 (C_6) ; 136,1 (2 C, m, $C_{1',4'}$) ; 139,3 (C_5) ; 145,4 (C_a) ; 148,4 (C_8) ; 149,8 (C_4) ; 150,9 (C_b).

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

800 (ν C-Cl) ; 1272 (ν C-N) ; 1456, 1506, 1584 (ν C=C et ν C=N) ; 2930, 2960 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3200-3400 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

378,2 (M + H).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-(pyridin-3-ylméthylamino)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (144)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

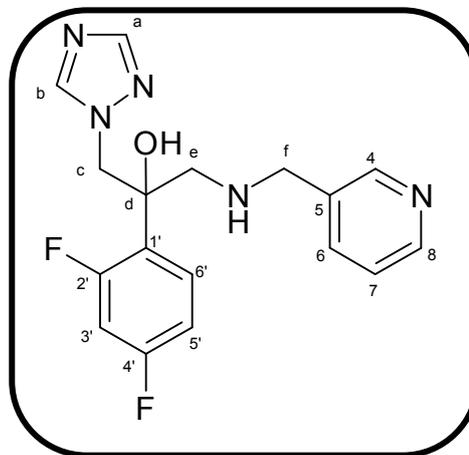
Huile brune

$C_{17}H_{17}F_2N_5O$

$M_r = 345,25$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

Rendement = 30%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,89 (1 H, d, $^2J = 12,2$ Hz, H_c) ; 2,97 (1 H, d, $^2J = 12,2$ Hz, H_c) ; 3,71 (2 H, s, H_f) ; 4,55 (1 H, d, $^2J = 13,7$ Hz, H_e) ; 4,63 (1 H, d, $^2J = 13,7$ Hz, H_e) ; 6,98 (1 H, ddd, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HF} = ^4J_{HF} = 2,2$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,15 (1 H, dd, $^3J_{HF} = 12,1$ Hz, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HH} = 2,2$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,31-7,49 (2 H, m, $H_{3',8}$) ; 7,67 (1 H, s, H_4) ; 7,75 (1 H, s, H_b) ; 8,29 (1 H, s, H_a) ; 8,41-8,52 (2 H, m, $H_{6,7}$).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

55,4 (2 C, $C_{c,f}$) ; 55,7 (C_e) ; 74,6 (1 C, d, $^3J_{CF} = 5,2$ Hz, C_d) ; 104,4 (1 C, d, $^2J_{CF} = 25,3$ Hz, $C_{5'}$) ; 111,3 (1 C, dd, $^3J_{CF} = ^3J_{CF} = 20,2$ Hz, $C_{6'}$) ; 123,8 (2 C, $C_{6,7}$) ; 130,6 (1 C, dd, $^3J_{CF} = ^3J_{CF} = 6,2$ Hz, $C_{3'}$) ; 135,2 (C_4) ; 136,4 (C_5) ; 145,4 (C_a) ; 148,7 (C_8) ; 150,1 ($C_{1'}$) ; 151,0 (C_b). $C_{2'}$ et $C_{4'}$ non visibles sur le spectre.

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

1133 (ν C-F) ; 1267 (ν C-N) ; 1420, 1497, 1615 (ν C=C et ν C=N) ; 2930, 2952 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3380 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

346,3 (M + H).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-(pyridin-4-ylméthylamino)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (145)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

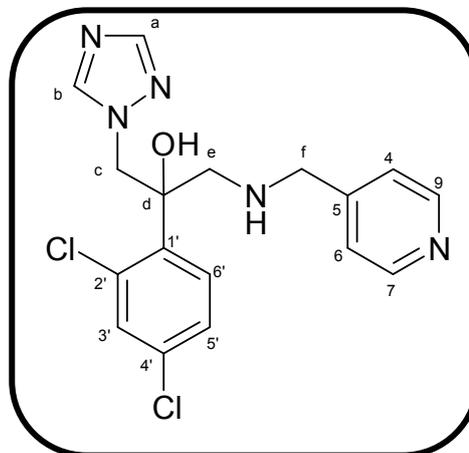
Huile brune

$C_{17}H_{17}Cl_2N_5O$

$M_r = 378,26$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

Rendement = 43%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

3,00 (1 H, d, $^3J = 12,2$ Hz, H_c) ; 3,28 (1 H, d, $^3J = 12,2$ Hz, H_c) ; 3,70 (2 H, s, H_f) ; 4,69 (1 H, d, $^3J = 14,7$ Hz, H_e) ; 4,92 (1 H, d, $^3J = 14,7$ Hz, H_e) ; 5,94 (1 H, s, OH) ; 7,28 (2 H, d, $^3J = 5,8$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,34 (1 H, dd, $^3J = 8,6$ Hz, $^4J = 2,1$ Hz, H_5) ; 7,54 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, H_3) ; 7,57 (1 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, H_6) ; 7,75 (1 H, s, H_b) ; 8,32 (1 H, s, H_a) ; 8,49 (2 H, d, $^3J = 5,8$ Hz, $H_{7,9}$).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

52,3 (C_f) ; 53,7 (C_e) ; 54,5 (C_d) ; 76,1 (C_d) ; 123,4 (2 C, $C_{4,6}$) ; 127,2 (C_5) ; 130,3 ($C_{6'}$) ; 131,6 ($C_{3'}$) ; 131,7 ($C_{2'}$) ; 133,0 ($C_{4'}$) ; 139,2 (C_5) ; 145,4 (C_b) ; 149,8 (2 C, $C_{7,9}$) ; 150,0 ($C_{1'}$) ; 150,9 (C_a).

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

806 (ν C-Cl) ; 1271 (ν C-N) ; 1460, 1506, 1603 (ν C=C et ν C=N) ; 2930, 2955 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3340 (ν O-H).

Masse :

378,0 (M).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-(pyridin-4-ylméthylamino)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (146)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

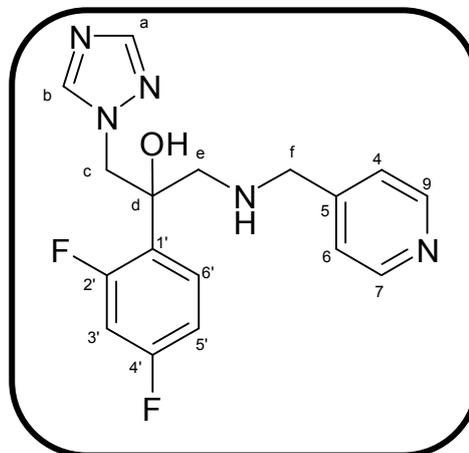
Huile brune

$C_{17}H_{17}F_2N_5O$

$M_r = 345,35$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

Rendement = 25%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,88 (1 H, d, $^2J = 11,9$ Hz, H_c) ; 2,97 (1 H, d, $^2J = 11,9$ Hz, H_c) ; 3,72 (2 H, s, H_f) ; 4,55 (1 H, d, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 4,62 (1 H, d, $^2J = 14,1$ Hz, H_e) ; 5,84 (1 H, s large, OH) ; 6,98 (1 H, ddd, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HF} = ^4J_{HF} = 2,4$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,15 (1 H, dd, $^3J_{HF} = 12,2$ Hz, $^3J_{HH} = 8,8$ Hz, $^4J_{HH} = 2,4$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,23 (1 H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H_6) ; 7,28 (2 H, d, $^3J = 5,8$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,39 (1 H, ddd, $^3J_{HF} = 9,1$ Hz, $^3J_{HF} = 6,7$ Hz, $^4J_{HH} = 2,4$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,76 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a) ; 7,28 (2 H, d, $^3J = 5,8$ Hz, $H_{7,9}$).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

52,3 (C_f) ; 55,2 (C_c) ; 55,7 (C_e) ; 74,9 (1 C, d, $^3J_{CF} = 5,2$ Hz, C_d) ; 104,3 (1 C, d, $^2J_{CF} = 25,6$ Hz, $C_{5'}$) ; 111,2 (1 C, dd, $^3J_{CF} = ^3J_{CF} = 20,4$ Hz, $C_{6'}$) ; 123,3 (2 C, $C_{4,6}$) ; 130,6 (1 C, dd, $^3J_{CF} = ^3J_{CF} = 6,2$ Hz, $C_{3'}$) ; 145,3 (C_a) ; 149,8 (4 C, $C_{1',5',7,9}$) ; 150,9 (C_b). $C_{2'}$ et $C_{4'}$ non visibles sur le spectre.

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

1137 (ν C-F) ; 1274 (ν C-N) ; 1495, 1557, 1607 (ν C=C et ν C=N) ; 2930 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3424 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

346,0 (M + H) ; 368 (M + 23).

4-Hydroxyméthyl-1-(*tert*-butoxycarbonyl)pipéridine (147)

Méthode U3 :

Dans 10 ml de dichlorométhane dissoudre 1 g (8,68 mmol) de Pipéridin-4-yl-méthanol. Ajouter 2,08 g (9,55 mmol) de di-*tert*butoxycarbonate. Agiter à température ambiante pendant 1,5 heures. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel, extraire le produit avec du dichlorométhane et sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Le produit n'est pas purifié et est engagé directement dans l'étape suivante.

Poudre blanche

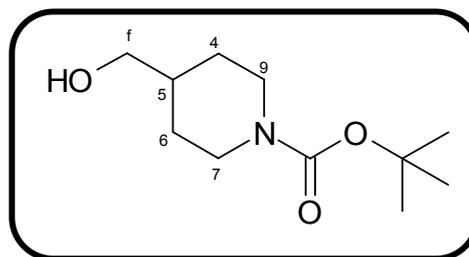
$C_{11}H_{21}NO_3$

$M_r = 215,29$

$R_f =$ non visible

$F^\circ C = 74-75$ (dichlorométhane) [litt¹⁹⁷ 80-81 °C]

Rendement = 100% (brut)



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,91-1,07 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 1,42 (9 H, s, 3 CH_3) ; 1,62-1,65 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 2,59-2,84 (2 H, m, $H_{7,9}$) ; 3,27 (2 H, t, $^3J = 5,2$ Hz, H_f) ; 3,94-3,99 (2 H, m, $H_{7,9}$) ; 4,50 (1 H, t, $^3J = 5,2$ Hz, OH).

Le proton H_5 n'est pas visible.

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

1256 (ν C-N) ; 1671 (ν C=O) ; 2940, 2961 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3472 (ν O-H).

¹⁹⁷ Villalobos A. *et al. J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2721-2734.

4-Formyl-1-(*tert*-butoxycarbonyl)pipéridine (148)

Méthode X :

Dans 10 ml de dichlorométhane diluer 1,42 ml (20,05 mmol) de diméthylsulfoxyde. Refroidir le milieu réactionnel à -70°C . Ajouter alors goutte à goutte 0,96 mL (11,03 mmol) de chlorure d'oxalyle préalablement dilué dans 30 mL de dichlorométhane. A cette même température, ajouter goutte à goutte 2,16 g (10,02 mmol) de **147** en solution dans 10 mL de dichlorométhane. Agiter à -70°C pendant 15 minutes. Ajouter enfin 7,27 mL (52,12 mmol) de triéthylamine. Agiter à -70°C pendant 1 heure puis laisser remonter à température ambiante. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel, extraire le produit avec du dichlorométhane. Laver la phase organique avec une solution de bicarbonate de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec. Le produit n'est pas purifié et est engagé directement dans l'étape suivante.

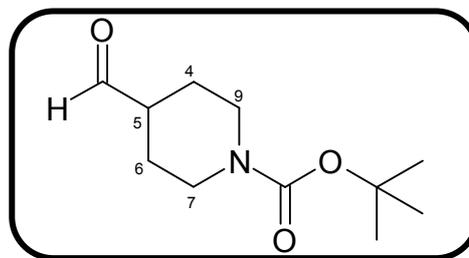
Huile incolore

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_3$

$M_r = 213,28$

$R_f =$ non visible

Rendement = 100% (brut)



RMN ^1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,99-1,07 (2 H, m, $\text{H}_{4,6}$) ; 1,42 (9 H, s, 3 CH_3) ; 1,81-1,88 (2 H, m, $\text{H}_{4,6}$) ; 2,87-2,97 (2 H, m, $\text{H}_{7,9}$) ; 3,79-3,86 (2 H, m, $\text{H}_{7,9}$) ; 9,62 (1 H, s, CHO).

Le proton H_5 n'est pas visible.

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

1281 (v C-N) ; 1689 (v C=O carbamate et aldéhyde) ; 2931 (v $\text{CH}_{\text{aliph.}}$).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-[(*N*-*tert*-butoxycarbonyl)pipéridin-4-ylméthyl]amino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (149)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

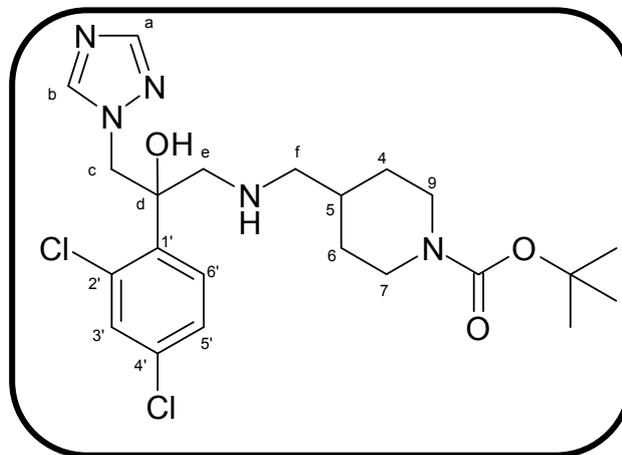
Huile brune

$C_{22}H_{31}Cl_2N_5O_3$

$M_r = 484,43$

$R_f = 0,15$ (dichlorométhane / éthanol absolu
: 19 / 1)

Rendement = 26%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

0,84-0,94 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 1,41 (9 H, s, 3 CH_3) ; 1,46-1,48 (1 H, m, H_5) ; 1,51-1,62 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 2,28-2,40 (2 H, m, H_f) ; 2,59-2,71 (2 H, m, $H_{7,9}$) ; 3,06 (1 H, d, $^3J = 12,4$ Hz, H_c) ; 3,28 (1 H, d, $^3J = 12,4$ Hz, H_c) ; 3,86-3,94 (2 H, m, $H_{7,9}$) ; 4,66 (1 H, d, $^3J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,92 (1 H, d, $^3J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,96 (1 H, s, OH) ; 7,33 (1 H, dd, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,55 (1 H, d, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,56 (1 H, d, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,76 (1 H, s, H_b) ; 8,33 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

28,3 (3 C, CH_3) ; 30,0 (2 C, $C_{4,6}$) ; 35,7 (C_5) ; 42,3 (2 C, $C_{7,9}$) ; 53,9 (C_f) ; 54,3 (C_c) ; 55,5 (C_e) ; 75,4 (C_d) ; 78,5 ($C(CH_3)_3$) ; 126,9 ($C_{5'}$) ; 129,9 ($C_{6'}$) ; 131,2 ($C_{2'}$) ; 131,4 ($C_{3'}$) ; 132,6 ($C_{4'}$) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b) ; 154,0 ($C_{1'}$) ; 172,2 ($C=O$).

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

738 (ν C-Cl) ; 1274 (ν C-N) ; 1470, 1511, 1600 (ν C=C et ν C=N) ; 1681 (ν C=O) ; 2929, 2960 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3422 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

484,0 (M + H) ; 384,2 (M - Boc).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(N-tert-butoxycarbonyl)pipéridin-4-ylméthyl]amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (150)

Selon la méthode V1 (décrite p 291) :

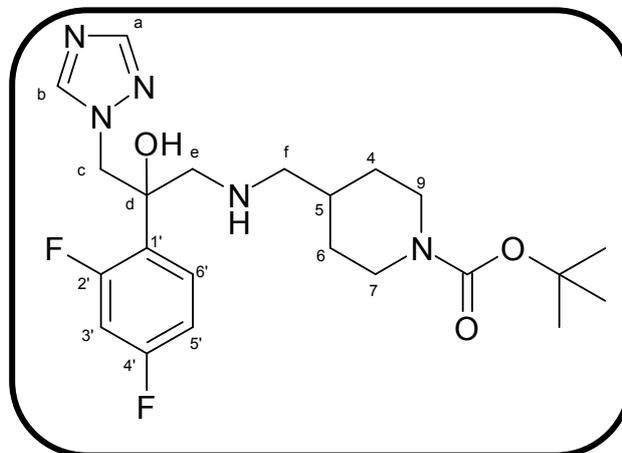
Huile brune

$C_{22}H_{31}F_2N_5O_3$

$M_r = 451,52$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol absolu
: 19 / 1)

Rendement = 25%



RMN 1H (400 MHz, DMSO d_6) :

0,85-0,96 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 1,42 (9 H, s, 3 CH_3) ; 1,46-1,49 (1 H, m, H_5) ; 1,53-1,64 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 2,28-2,40 (2 H, m, H_f) ; 2,62-2,77 (2 H, m, $H_{7,9}$) ; 2,90 (1 H, d, $^3J = 12,8$ Hz, H_c) ; 2,98 (1 H, d, $^3J = 12,8$ Hz, H_c) ; 3,86-3,96 (2 H, m, $H_{7,9}$) ; 4,59 (2 H, s, H_e) ; 5,97 (1 H, s, OH) ; 6,96 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 8,6$ Hz, $^4J_{HF} = ^4J_{HF} = 6,1$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,01-7,20 (1 H, m, $H_{5'}$) ; 7,40-7,45 (1 H, m, $H_{3'}$) ; 7,76 (1 H, s, H_b) ; 8,33 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (400 MHz, DMSO d_6) :

28,6 (3 C, CH_3) ; 30,3 (2 C, $C_{4,6}$) ; 36,0 (C_5) ; 42,3 (2 C, $C_{7,9}$) ; 53,9 (3 C, $C_{c,e,f}$) ; 74,6 (C_d) ; 78,8 ($C(CH_3)_3$) ; 104,2 ($C_{3'}$) ; 111,0 ($C_{5'}$) ; 111,3 ($C_{6'}$) ; 126,6 ($C_{4'}$) ; 145,3 (C_a) ; 150,9 (C_b) ; 157,4 ($C_{1'}$) ; 164,1 (C=O). $C_{2'}$ non visible sur le spectre.

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

1139 (v C-F) ; 1273 (v C-N) ; 1460, 1502, 1610 (v C=C et v C=N) ; 1683 (v C=O) ; 2930 (v $CH_{aliph.}$) ; 3407 (v O-H).

Masse :

452,3 (M + H) ; 352,3 (M - Boc).

2-(2,4-Dichlorophényl)-1-[(pipéridin-4-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (151)

Méthode Y :

Dans 0,3 mL de dichlorométhane, dissoudre 240 mg (0,50 mmol) de **149**. Ajouter 0,5 mL d'acide trifluoroacétique et agiter à température ambiante pendant la nuit. Basifier le milieu réactionnel avec une solution de soude 1 M puis extraire le produit avec du dichlorométhane. Laver la phase organique avec une solution d'acide chlorhydrique 1 M. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec.

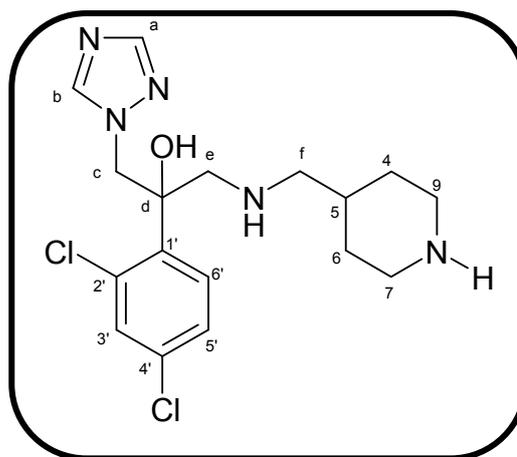
Huile brune

$C_{17}H_{23}Cl_2N_5O$

$M_r = 384,31$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 69%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,85-1,03 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 1,33-1,48 (1 H, m, H_5) ; 1,51-1,65 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 2,23-2,45 (3 H, m, $H_{f,7,9}$) ; 2,84-2,96 (2 H, m, $H_{7,9}$) ; 3,05 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,27 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 4,65 (1 H, d, $^2J = 13,4$ Hz, H_e) ; 4,90 (1 H, d, $^2J = 13,4$ Hz, H_e) ; 5,95 (1 H, s, OH) ; 7,33 (1 H, dd, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{5'}$) ; 7,55 (1 H, d, $^3J = 8,4$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,56 (1 H, d, $^4J = 2,0$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,76 (1 H, s, H_b) ; 8,33 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

31,6 (2 C, $C_{4,6}$) ; 36,6 (C_5) ; 46,3 (2 C, $C_{7,9}$) ; 54,2 (C_f) ; 54,7 (C_c) ; 56,7 (C_e) ; 75,4 (C_d) ; 127,2 ($C_{5'}$) ; 130,2 ($C_{6'}$) ; 131,4 ($C_{2'}$) ; 131,7 ($C_{3'}$) ; 132,9 ($C_{1'}$) ; 139,7 ($C_{4'}$) ; 145,4 (C_a) ; 150,8 (C_b).

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

735 (ν C-Cl) ; 1273 (ν C-N) ; 1463, 1507, 1589 (ν C=C et ν C=N) ; 2929, 2957 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3422 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

384,4 (M + H).

2-(2,4-Difluorophényl)-1-[(pipéridin-4-ylméthyl)amino]-3-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol (152)

Selon la méthode Y (décrite p 337) :

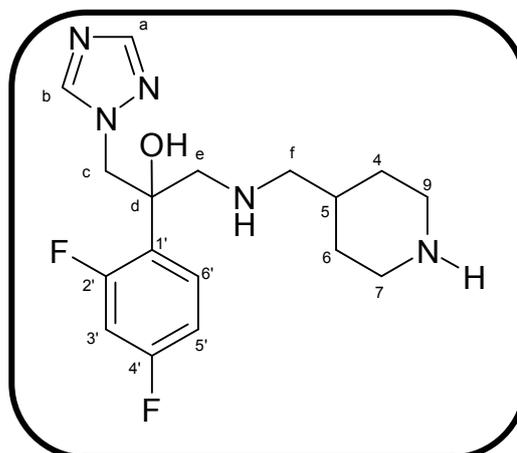
Huile brune

$C_{17}H_{23}F_2N_5O$

$M_r = 351,40$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 5 / 1)

Rendement = 58%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

0,82-1,10 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 1,38-1,49 (1 H, m, H_5) ; 1,52-1,63 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 2,25-2,48 (4 H, m, $H_{f,7,9}$) ; 2,87-3,06 (4 H, m, $H_{c,7,9}$) ; 4,59 (2 H, s, H_e) ; 5,80 (1 H, s, OH) ; 6,96 (1 H, dd, $^3J_{HH} = 8,6$ Hz, $^4J_{HF} = ^4J_{HF} = 6,1$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,01-7,20 (1 H, m, H_5) ; 7,40-7,45 (1 H, m, $H_{3'}$) ; 7,77 (1 H, s, H_b) ; 8,31 (1 H, s, H_a).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

30,3 (2 C, $C_{4,6}$) ; 35,8 (C_5) ; 45,5 (2 C, $C_{7,9}$) ; 55,3 (C_f) ; 55,9 (C_c) ; 56,4 (C_e) ; 74,6 (1 C, d, $^3J_{CF} = 5,2$ Hz, C_d) ; 104,2 (1 C, d, $^2J_{CF} = 28,0$ Hz, $C_{5'}$) ; 111,1 (1 C, dd, $^3J = ^3J = 23,7$ Hz, $C_{6'}$) ; 126,6 (1 C, d, $^2J_{CF} = 12,8$ Hz, $C_{1'}$) ; 130,4 (1 C, t, $^2J_{CF} = 9,5$ Hz, $C_{3'}$) ; 145,3 (C_a) ; 150,9 (C_b). $C_{2'}$ et $C_{4'}$ non visibles sur le spectre.

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

1141 (ν C-F) ; 1267 (ν C-N) ; 1470, 1503, 1615 (ν C=C et ν C=N) ; 2927, 2959 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3250-3522 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

352,4 (M + H).

4-(Bromométhyl)benzènesulfonamide (153)

Méthode Z1 :

Dans 12 mL de tétrahydrofurane, dissoudre 1 g (3,71 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle. Refroidir le mélange réactionnel à l'aide d'un bain de glace et ajouter 0,93 mL (13,83 mmol) 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.

Poudre blanche

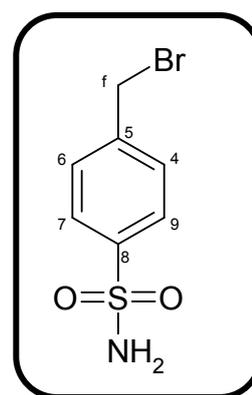
$C_7H_8BrNO_2S$

$M_r = 250,12$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

$T_m = 176-177$ (acétate d'éthyle)

Rendement = 98%



RMN 1H (250 MHz, $CDCl_3$ d_6) :

4,50 (2 H, s, H_f) ; 7,55 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{7,9}$) ; 7,91 (2 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{4,6}$). NH_2 non visible.

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

673 (ν C-Br) ; 1153 (ν SO_{2sym}) ; 1329 (ν SO_{2asym}) ; 1463, 1507 (ν C=C) ; 1569 (δ N-H) ; 2929, 2957 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3361 (ν N-H).

***N*-Phényl-4-(bromométhyl)benzènesulfonamide (154)**

Méthode Z2 :

Dans 8 mL de dichlorométhane, diluer 250 mg (2,69 mmol) d'aniline. Refroidir le mélange réactionnel à l'aide d'un bain d'eau glacée. Ajouter 0,41 mL (2,95 mmol) de triéthylamine puis 796 mg (2,95 mmol) de chlorure de 4-(bromométhyl)benzènesulfonyle. Agiter en laissant revenir à température ambiante pendant 5 heures. Ajouter de l'eau au milieu réactionnel, extraire le produit avec du dichlorométhane et sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer à sec.

Poudre blanche

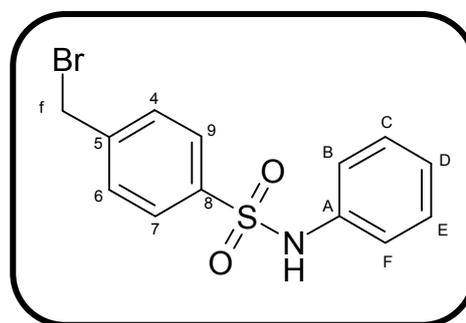
$C_{13}H_{12}BrNO_2S$

$M_r = 340,24$

$R_f = 0,60$ (dichlorométhane / éthanol absolu : 19 / 1)

$T_m = 112-113$ (dichlorométhane)

Rendement = 44%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

4,83 (2 H, s, H_f) ; 7,06 (1 H, t, $^3J = 7,2$ Hz, H_D) ; 7,12-7,14 (2 H, m, $H_{C,E}$) ; 7,24-7,28 (2 H, d, $^3J = 8,0$ Hz, $H_{B,F}$) ; 7,62-7,64 (2 H, m, $H_{4,6}$) ; 7,76-7,80 (2 H, m, $H_{7,9}$) ; 10,36 (1 H, s, NH).

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

694 (ν C-Br) ; 1165 (ν SO_{2sym}) ; 1338 (ν SO_{2asym}) ; 1274 (ν C-N) ; 1411, 1484 (ν C=C) ; 2930, 2955 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3235 (ν N-H).

4-{[2-(2,4-Dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]méthylamino}benzènesulfonamide (155)

Selon la méthode Q (décrite p 285) :

Poudre blanche

$C_{18}H_{19}Cl_2N_5O_3S$

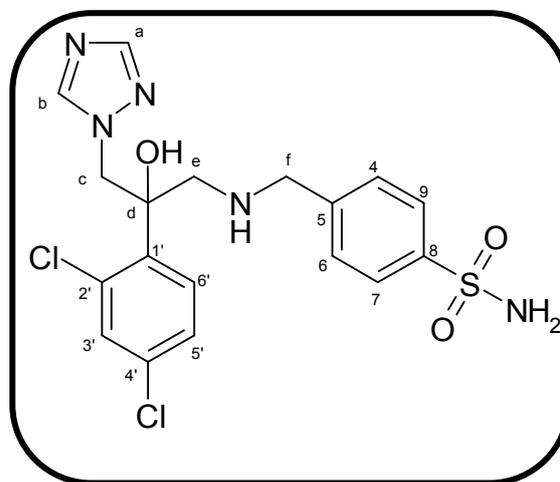
$M_r = 456,35$

$R_f = 0,35$ (dichlorométhane / éthanol absolu :

19 / 1)

$F^\circ C = 95-96$ (dichlorométhane)

Rendement = 83%



RMN ¹H (250 MHz, DMSO d₆) :

3,01 (1 H, d, ²J = 12,8 Hz, H_c) ; 3,27 (1 H, ²J = 12,8 Hz, H_c) ; 3,74 (2 H, s, H_f) ; 4,67 (1 H, d, ²J = 14,3 Hz, H_e) ; 4,92 (1 H, d, ²J = 14,3 Hz, H_e) ; 5,94 (1 H, s, OH) ; 7,30-7,38 (3 H, m, NH₂ et H_{5'}) ; 7,44 (2 H, d, ³J = 8,2 Hz, H_{4,6}) ; 7,55 (1 H, d, ⁴J = 2,5 Hz, H_{3'}) ; 7,61 (1 H, d, ³J = 8,5 Hz, H_{6'}) ; 7,77-7,79 (3 H, m, H_{7,9,b}) ; 8,32 (1 H, s, H_a).

RMN ¹³C (250 MHz, DMSO d₆) :

52,8 (C_c) ; 53,5 (C_f) ; 54,3 (C_e) ; 75,9 (C_d) ; 125,8 (2 C, C_{7,9}) ; 127,1 (C_{5'}) ; 128,4 (2 C, C_{4,6}) ; 130,1 (C_{6'}) ; 131,4 (C_{3'}) ; 131,6 (C_{2'}) ; 132,8 (C_{4'}) ; 139,1 (C_{1'}) ; 142,8 (C₈) ; 145,1 (C₅) ; 145,3 (C_a) ; 150,7 (C_b).

IR (KBr, cm⁻¹) :

810 (ν C-Cl) ; 1158 (ν SO_{2sym}) ; 1280 (ν C-N) ; 1324 (ν SO_{2asym}) ; 1468, 1514, 1591 (ν C=C et ν C=N) ; 2930, 2956 (ν CH_{aliph.}) ; 3230-3470 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

456,3 (M).

4-{{2-(2,4-Dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl}aminométhyl}-*N*-phényl-benzènesulfonamide (156)

Selon la méthode Q (décrite p 285) :

Huile brune

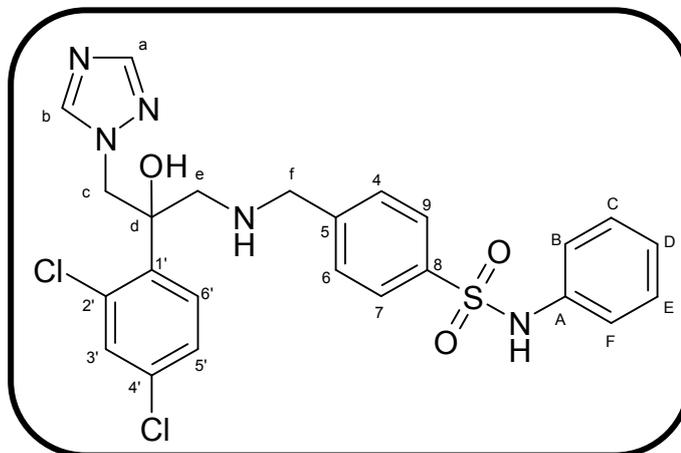
$C_{24}H_{23}Cl_2N_5O_3S$

$M_r = 532,45$

$R_f = 0,20$ (dichlorométhane / éthanol

absolu : 19 / 1)

Rendement = 37%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,98 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,21 (1 H, d, $^2J = 12,5$ Hz, H_c) ; 3,70 (2 H, s, H_f) ; 4,65 (1 H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 4,87 (1 H, d, $^2J = 14,4$ Hz, H_e) ; 5,89 (1 H, s, OH) ; 7,02-7,13 (3 H, m, $H_{C,D,E}$) ; 7,24 (2 H, d, $^3J = 7,6$ Hz, $H_{B,F}$) ; 7,31 (1 H, dd, $^3J = 8,6$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H_5) ; 7,40 (2 H, d, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{4,6}$) ; 7,49 (1 H, d, $^4J = 1,8$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,55 (1 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,80 (2 H, d, $^3J = 8,3$ Hz, $H_{7,9}$) ; 7,73 (1 H, s, H_b) ; 8,30 (1 H, s, H_a) ; 10,26 (1 H, s, $NHSO_2$).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

52,8 (C_f) ; 53,6 (C_c) ; 54,4 (C_e) ; 76,0 (C_d) ; 120,1 (2 C, $C_{B,F}$) ; 124,1 (C_5) ; 126,67 (2 C, $C_{7,9}$) ; 126,9 (C_D) ; 128,5 (2 C, $C_{4,6}$) ; 129,3 (2 C, $C_{C,E}$) ; 130,0 ($C_{6'}$) ; 131,2 ($C_{3'}$) ; 131,4 ($C_{2'}$) ; 132,6 ($C_{4'}$) ; 137,9 (C_5) ; 138,0 (C_8) ; 138,9 ($C_{1'}$) ; 145,1 (C_a) ; 146,1 (C_A) ; 150,6 (C_b).

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

735 (ν C-Cl) ; 1154 (ν SO_{2sym}) ; 1271 (ν C-N) ; 1338 (ν SO_{2asym}) ; 1430, 1492, 1595 (ν C=C et ν C=N) ; 2930, 2955 (ν $CH_{aliph.}$) ; 3300-3350 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

532,4 (M).

***N*-[4-({-*N*-[2-(2,4-Dichlorophényl)-2-hydroxy-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-*N*-méthyl}aminométhyl)phényl]-4-méthylbenzènesulfonamide
(157)**

Méthode Z3 :

Dans 5 mL de pyridine, dissoudre 150 mg (0,39 mmol) de **140**. Refroidir le milieu réactionnel à l'aide d'un bain de glace. Ajouter 77 mg (0,40 mmol) de chlorure de tosylate. Agiter en laissant revenir à température ambiante pendant 5 heures. Evaporer un maximum de pyridine. Reprendre le résidu d'évaporation avec de l'eau. Extraire le produit au dichlorométhane. Laver la phase organique avec une solution 1 M d'acide chlorhydrique. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer.

Purifier le résidu d'évaporation par chromatographie sur gel de silice en éluant tout d'abord par du dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane / éthanol absolu : 95 / 5.

Poudre blanche

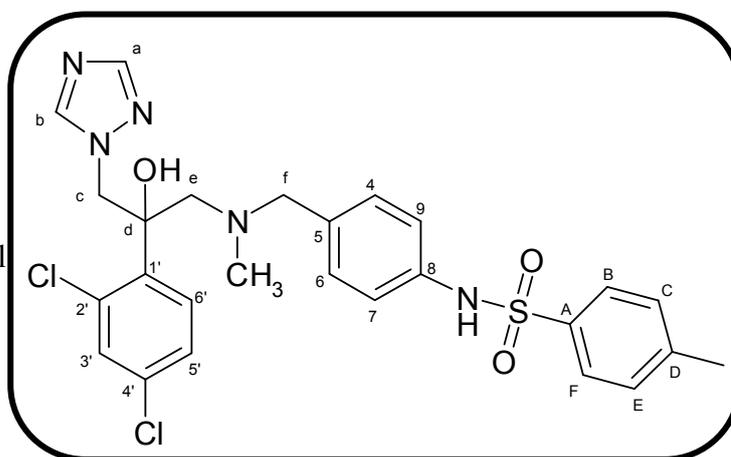
$C_{26}H_{27}Cl_2N_5O_3S$

$M_r = 560,51$

$R_f = 0,40$ (dichlorométhane / éthanol
absolu : 19 / 1)

$F^\circ C = 83-84$ (dichlorométhane)

Rendement = 41%



RMN 1H (250 MHz, DMSO d_6) :

2,03 (3 H, s, CH_3-N) ; 2,35 (3 H, s, CH_3-Ar) ; 2,83 (1 H, d, $^2J = 13,7$ Hz, H_c) ; 3,21-3,39 (3 H, m, $H_{c,f}$) ; 4,60 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 4,82 (1 H, d, $^2J = 14,0$ Hz, H_e) ; 5,85 (1 H, s, OH) ; 6,91 (2 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, $H_{B,F}$) ; 6,97 (2 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, $H_{C,E}$) ; 7,29-7,37 (3 H, m, $H_{4,5',6}$) ; 7,52 (1 H, d, $^4J = 2,1$ Hz, $H_{3'}$) ; 7,56 (1 H, d, $^3J = 8,5$ Hz, $H_{6'}$) ; 7,64 (2 H, d, $^3J = 8,6$ Hz, $H_{7,9}$) ; 7,76 (1 H, s, H_b) ; 8,30 (1 H, s, H_a) ; 10,16 (1 H, s, $NHSO_2$).

RMN ^{13}C (250 MHz, DMSO d_6) :

21,1 (CH_3-Ar) ; 43,5 (CH_3-N) ; 54,7 (C_c) ; 61,7 (C_f) ; 61,9 (C_e) ; 76,2 (C_d) ; 119,9 (2 C, $C_{7,9}$) ; 126,8 (3 C, $C_{B,F,5'}$) ; 129,6 (2 C, $C_{4,6}$) ; 129,8 (3 C, $C_{A,C,E}$) ; 131,0 ($C_{6'}$) ; 131,8 ($C_{3'}$) ; 132,6 ($C_{2'}$) ; 134,7 ($C_{4'}$) ; 136,7 (C_D) ; 136,9 (C_5) ; 139,3 ($C_{1'}$) ; 143,3 (C_8) ; 145,1 (C_a) ; 150,6 (C_b).

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

741 (ν C-Cl) ; 1160 (ν $\text{SO}_{2\text{sym}}$) ; 1272 (ν C-N) ; 1328 (ν $\text{SO}_{2\text{asym}}$) ; 1462, 1508, 1610 (ν C=C et ν C=N) ; 2925, 2956 (ν $\text{CH}_{\text{aliph.}}$) ; 3370 (ν O-H et ν N-H).

Masse :

560,2 (M).

VIII- Conclusions et perspectives de recherche

1- Conclusions

Notre approche a consisté, dans un premier temps, à optimiser le composé **NL114**, chef de file découvert précédemment au Laboratoire (**Indoles Série 1**, $R_3 = H$, **figure 159**). Nous avons donc préparé une série de molécules analogues du **NL114** en introduisant des substituants en position 3 de l'indole. Cependant, les résultats décevants des tests *in vitro* n'ont pas permis d'atteindre nos objectifs.

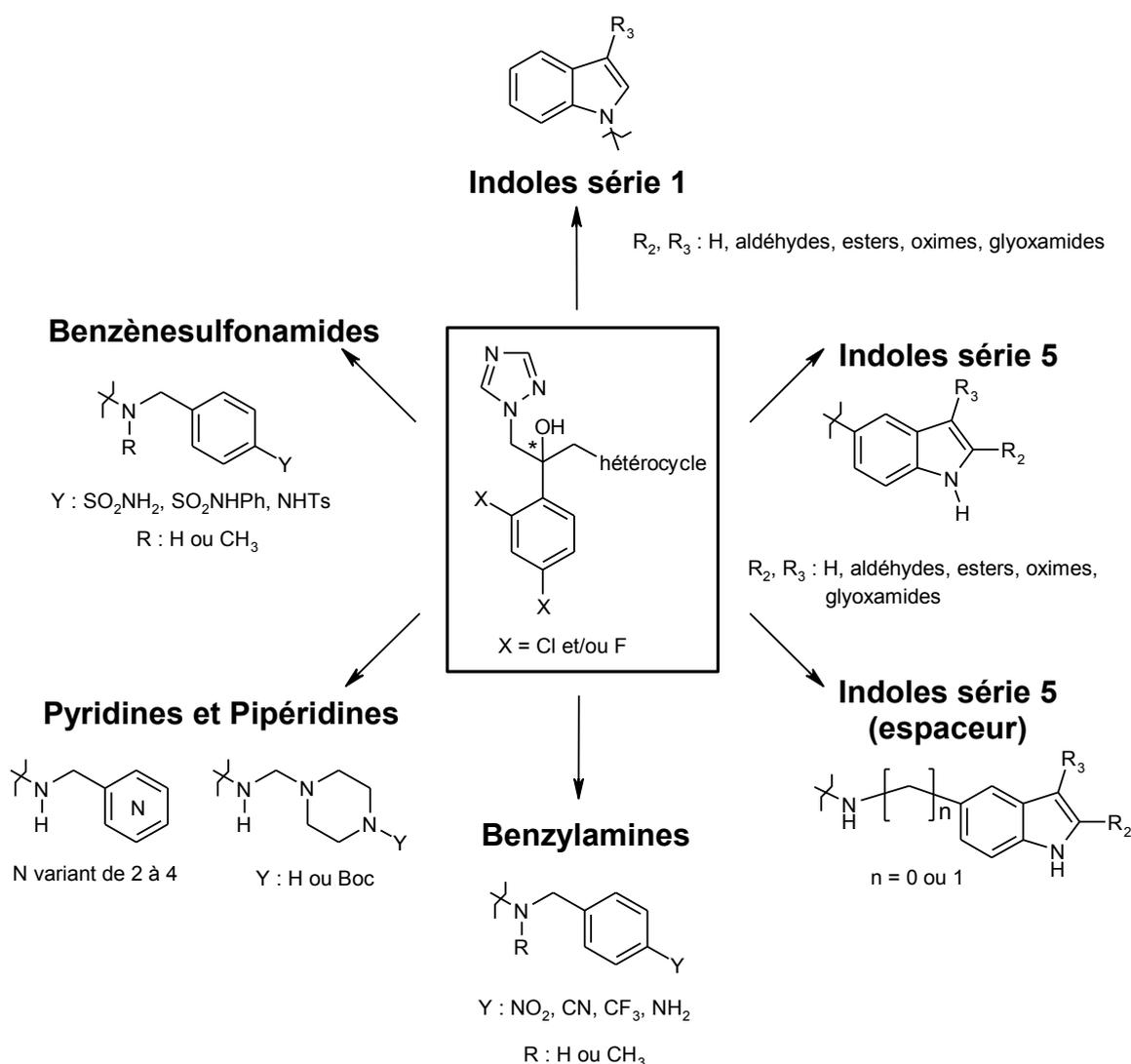


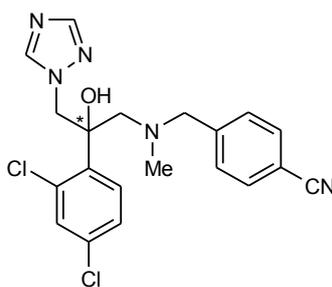
Figure 159 : Différentes familles de composés synthétisés

Notre stratégie a ensuite évolué vers une approche plus rationnelle utilisant la modélisation moléculaire. Nous avons construit un modèle 3D de l'enzyme CYP51-CANAL. Grâce au « docking » du ravuconazole, nous avons mis en évidence deux acides aminés

importants : l'**His377** et la **Ser378**. Ce modèle nous a ensuite permis de vérifier que les composés indoliques de la **série 1** ne pouvaient pas se positionner correctement dans le site actif. Nous avons alors orienté la synthèse vers des molécules plus adaptées en ciblant directement ces résidus.

Plusieurs séries ont alors pu être envisagées.

- **Indoles série 5** : obtenue par transfert du pharmacophore de la position 1 de l'indole vers sa position 5, elle aurait permis par les substituants R₂ et R₃ d'établir des interactions avec l'His377 et la Ser378. Malheureusement, les travaux de synthèse n'ont pas permis d'obtenir une structure de cette série.
- **Indoles série 5 (espaceur)** : nous avons réorienté nos travaux en introduisant un espaceur de type $-(CH_2)_nNH-$ entre le pharmacophore et le noyau indole ($n = 0$ ou 1). Dans la sous-série $n = 0$, l'idée était d'utiliser la nucléophilie du 5-amino-*1H*-indole mais la réaction était trop lente. Nous avons alors concentré nos recherches sur la sous-série $n = 1$. Six composés ont été obtenus dans cette sous-série avec des CI₈₀ comprises entre 6 et 90 nM sur *Candida albicans*.
- **Benzylamines** : une publication récente¹⁸⁶ a établi un pharmacophore permettant la conception d'azolés à activité antifongique. La synthèse de huit nouveaux composés à large spectre, actifs sur *A. fumigatus* (CI₈₀ comprises entre 4,5 et 64 μM) et *C. albicans* (CI₈₀ comprises entre 0,0009 μM et 48 μM), nous a permis de vérifier une fois encore l'importance des résidus His377 et Ser378. La présence d'un groupe accepteur de liaison H en *para*- du groupe benzyle est indispensable pour un bon niveau d'activité. La présence d'un groupe méthyle situé sur la fonction amine de l'espaceur stabilise l'inhibiteur par une interaction hydrophobe avec le site actif. Cette série nous a permis d'isoler un composé présentant une forte activité sur *C. albicans* :



138

CI₈₀ = 0,9 nM (*C. albicans*)

Figure 160 : Découverte d'un composé actif sur *C. albicans* à très faible concentration

- **Pyridines et Pipéridines** : une modification du noyau aromatique en pyridine ou pipéridine a permis la synthèse de dix nouvelles structures (CI₈₀ sur *Candida albicans* comprises entre 0,053 μM et 4 μM). Celles-ci ont confirmé l'importance d'une part du noyau aromatique pour réaliser un π -stacking avec la Tyr118 et d'autre part d'un

groupe accepteur pour réaliser une interaction par liaison H avec l'His377 ou la Ser378.

- **Benzènesulfonamides** : cette dernière série devait conserver toutes les interactions fondamentales nécessaires à une bonne activité (liaisons H et « stacking »). Pour le moment, seuls trois composés ont été préparés (CI₈₀ comprises entre 0,060 µM et 0,55 µM sur *Candida albicans*). Il semblerait que toutes les interactions fondamentales ne soient pas idéalement conservées ici. Cependant, la synthèse d'un plus grand nombre de composés est nécessaire pour confirmer ces premiers résultats.

Le très bon niveau d'activité des composés de ces cinq séries nous a permis de confirmer nos hypothèses de travail et notamment le choix du tunnel d'accès. Nous avons mis en évidence l'importance majeure de la Tyr118, His377 et Ser378 dans la conception de nouveaux inhibiteurs.

2- Perspectives de recherche

2-1- Composés indoliques de la série 1 :

Le **NL114** reste l'unique composé, issu du Laboratoire, actif sur un large spectre de *Candida* à une très faible concentration. D'après la modélisation moléculaire, il serait possible, par un choix judicieux, d'introduire des substituants flexibles en position 5 et 6 susceptibles de créer des interactions par liaison H avec les résidus clés ou des contacts hydrophobes dans la continuité du tunnel 2.

Nous avons vu également que cette molécule possède un profil *in vivo* qui ne convient pas à un développement clinique ultérieur. Plusieurs origines sont possibles pour expliquer ce problème :

- Soit la molécule est trop rapidement métabolisée et elle n'a pas le temps d'agir avant d'être éliminée.
- Soit elle n'arrive pas à l'enzyme cible sur laquelle elle agit *in vitro* pour diverses raisons : par exemple, ses propriétés de biodisponibilité (lipophilie, sites protonables, solubilité dans les milieux biologiques) peuvent ne pas être satisfaisantes.

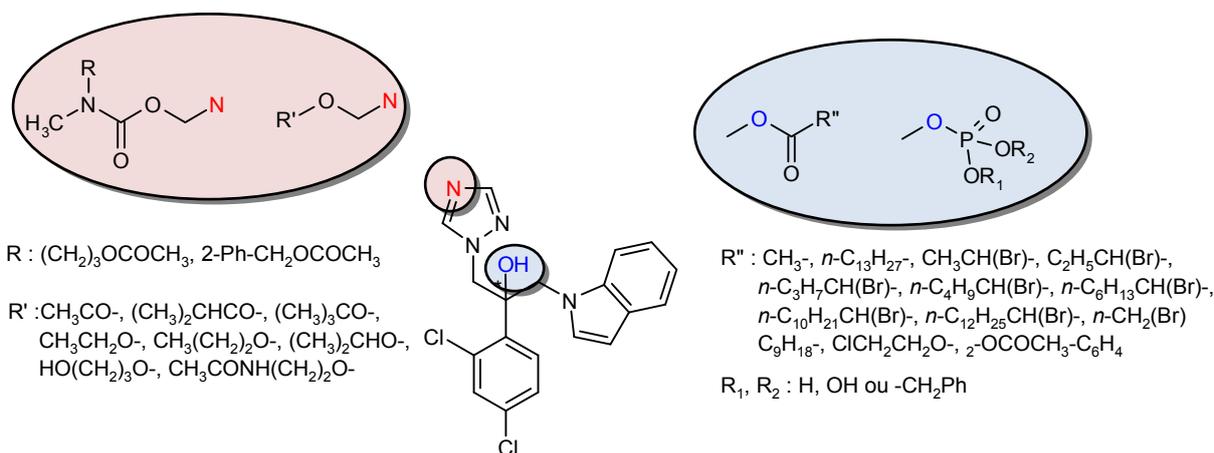


Figure 161 : Optimisation du NL114 par la préparation de prodrogues

Pour résoudre ces problèmes de biodisponibilité ou de vectorisation, deux séries de prodrogues peuvent être préparées. Deux sites sont susceptibles d'être modifiés sur cette molécule : le triazole et la fonction hydroxyle. Sur l'azote N4 du triazole, des enchaînements de type carbamate¹⁹⁸ ou éther¹⁹⁹ peuvent être introduits. Quant à la fonction alcool, elle peut être modulée en ester²⁰⁰ ou phosphate.²⁰¹

De plus, il est possible de retarder la métabolisation de notre composé en l'incorporant dans des structures de type cyclodextrine. Cette encapsulation pourrait d'une part permettre de véhiculer le principe actif jusqu'à la cible mais aussi, faciliter le passage trans-membranaire et augmenter ainsi la concentration de la molécule au niveau de la cible.

2-2- Composés indoliques de la série 5 :

Par comparaison avec le chef de file, il serait utile de préparer la molécule analogue du NL114 issue de la série 5 : le 2-(2,4-dichlorophényl)-1-(1*H*-indol-5-yl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol **I**. Pour cela, de nouvelles perspectives de synthèse basées sur un couplage de Suzuki²⁰² sont envisageables (figure 162).

Ainsi, le 5-bromo-1*H*-indole peut être converti en acide indole 5-boronique qui réagit avec l'acétal de la 2-bromo-2',4'-dihalogénoacétophénone **V**. Le dérivé **IV** ainsi obtenu subit une hydrolyse de sa fonction acétal pour conduire à **III**. Une autre voie consisterait à convertir le 5-bromo-1*H*-indole en 5-bromométhyl-1*H*-indole **VI** selon la méthode déjà décrite (cf Voie H, figure 138, page 273). Ce dernier réagit ensuite avec un acide 2,4-

¹⁹⁸ (a) Hewawasam P. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 1695-1698 ; (b) Ichikawa T. *et al. Chem. Pharm. Bull.* **2001**, 49, 1102-1109.

¹⁹⁹ Bedford C.D. *et al. J. Med. Chem.* **1989**, 32, 493-503.

²⁰⁰ Nam N.H. *et al. Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12, 6255-6269.

²⁰¹ Bentley A. *et al. Org. Process Res. Dev.* **2002**, 6, 109-112.

²⁰² (a) Maerten E. *et al. Synlett* **2003**, 1874-1876 ; (b) Maerten E. *et al. Tetrahedron* **2007**, 63, 682-689.

dihalogénophénylboronique en présence de monoxyde de carbone pour fournir **III**. La fonction cétone du dérivé **III** est convertie en époxyde **II** et enfin, l'addition nucléophile du *1H*-1,2,4-triazole sur le sommet le moins encombré de **II** devrait fournir les produits finaux désirés.

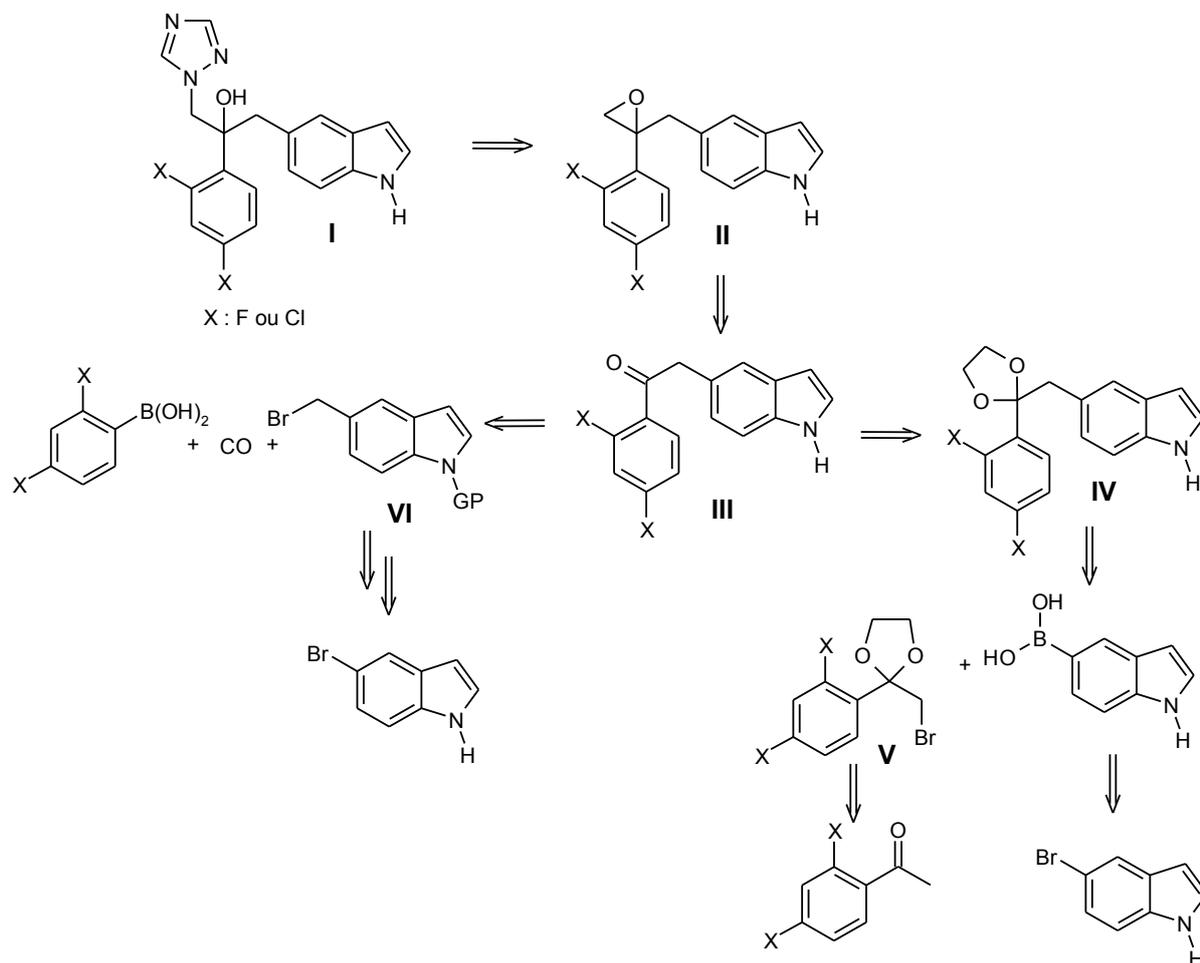


Figure 162 : Alternatives à la préparation des 2-(2,4-dihalogénophényl)-1-(*1H*-indol-5-yl)-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols

Dans la **série 5** des composés à structure indolique avec espaceur, l'introduction de substituants de type aldéhyde, oxime ou esters en position 2 et 3 de l'indole pourrait permettre de créer une interaction par liaison H avec les deux acides aminés qui ont montré toute leur importance, la Ser378 et His377. Par exemple, les dérivés possédant un groupe aldéhyde en position 2 pourraient être préparés comme indiqué sur la **figure 163**.

Ces composés sont préparés par substitution nucléophile des amino-alcools **VIII** (décrits à la page 269) par le 5-bromométhyl-*1H*-indol-2-carbaldéhyde **IX**. Le dérivé **IX** est obtenu par bromation du groupe méthyle de l'indole **X**.²⁰³

²⁰³ Cross P.E. *et al. J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1637-1643.

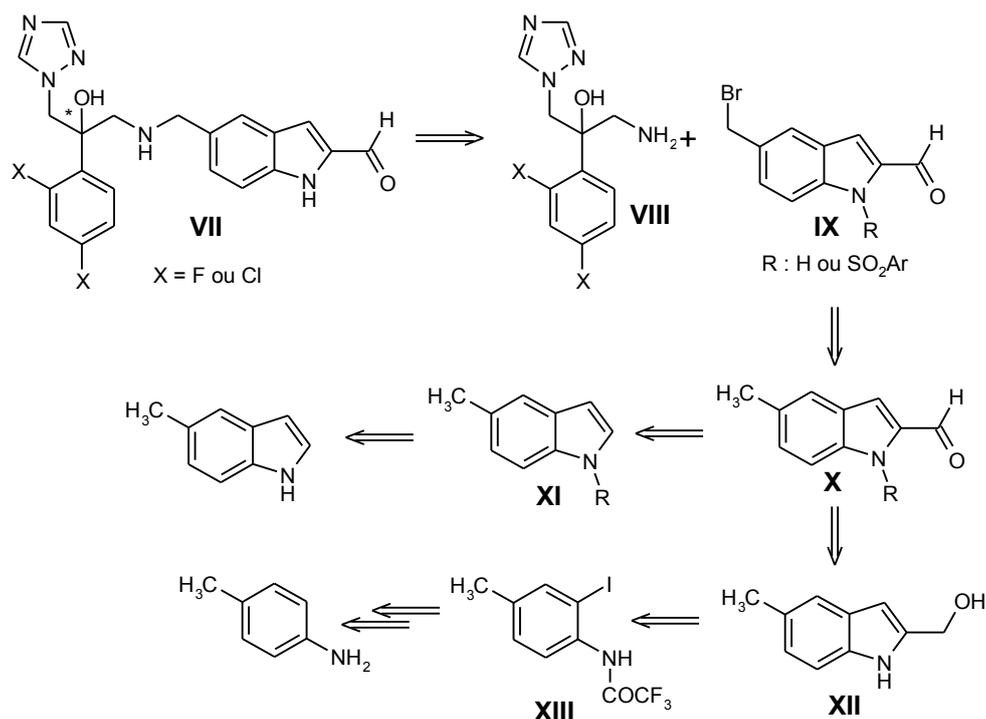


Figure 163 : Rétrosynthèse pour des 2-phényl-1-[N-(1*H*-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols substitués en position 2 par R₂ = CHO

Le dérivé **X** peut être obtenu selon deux voies :

- le 5-méthyl-1*H*-indole (commercial ou préparé selon les conditions de J.E. Norlander *et al.*²⁰⁴) est d'abord protégé sur son azote par un groupe benzènesulfonyle et une lithiation en position 2 du dérivé **XI** est réalisée par action du couple LDA/DMF à très basse température.²⁰⁵

- la seconde voie débute de la *para*-toluidine qui subit une iodation en *ortho*- de l'amine. Celle-ci est protégée par un groupe attracteur pour conduire à **XIII**. Enfin, un couplage de Sonogashira avec l'alcool propargylique selon les conditions de T.T. Wager *et al.*²⁰⁶ conduirait, après cyclisation, au 2-hydroxyméthyl-5-méthyl-1*H*-indole **XII**. Enfin, la fonction alcool de ce dernier serait oxydée pour conduire à l'aldéhyde.

Dans cette même série, la diversité chimique peut être également introduite en position 3 de l'indole. La synthèse pourrait débiter avec le 5-méthyl-1*H*-indole. Après une étape de protection par un groupe benzoyl, le 1-benzoyl-5-méthyl-1*H*-indole subirait une réaction de bromation.¹⁸⁵ Le produit obtenu **XVI** serait ensuite engagé dans une réaction de

²⁰⁴ Norlander J.E. *et al. J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 778-782.

²⁰⁵ Pour un aperçu bibliographique sur la lithiation sélective en position 2 : (a) Mahboobi S. *et al. J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3101-3115 ; (b) Bannasar M.L. *et al. Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6283-6285 ; (c) Kuethe J.T. *et al. Org. Lett.* **2003**, *5*, 3721-3723 ; (d) Kuethe J.T. *et al. Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 29-32.

²⁰⁶ Wager T.T. Brevet US 2006069087 publié le 12 septembre **2005**.

Vilsmeier-Haack pour introduire un groupe aldéhyde en 3 et conduire au produit **XV**. Enfin, une substitution nucléophile des amino-alcools **VIII** avec les 5-bromométhyl-*1H*-indoles **XV** conduirait aux produits finaux souhaités :

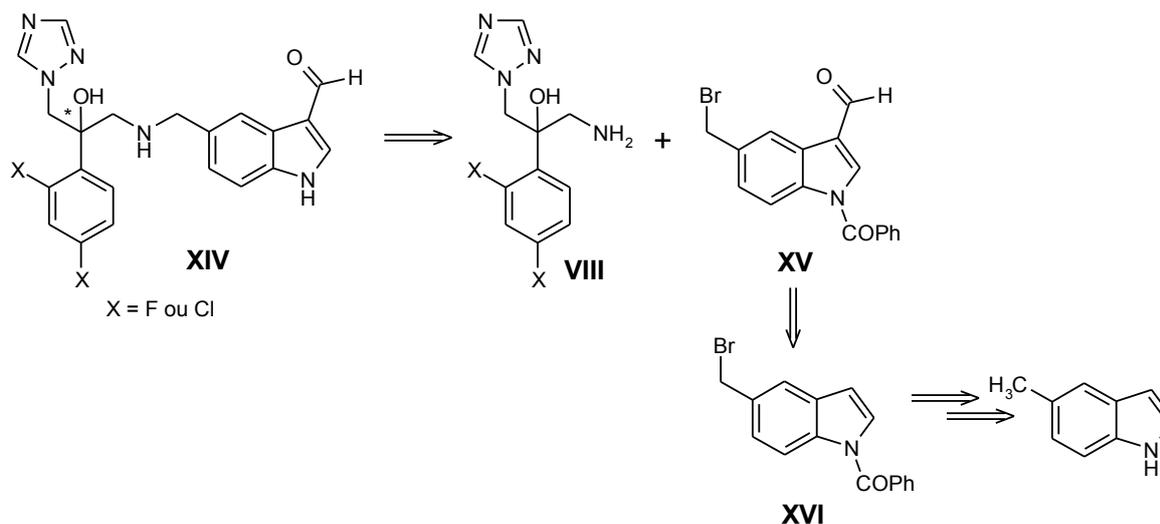


Figure 164 : Rétrosynthèse pour la préparation des 2-phényl-1-[*N*-(*1H*-indol-5-ylméthyl)amino]-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ols substitués en position 3 par $R_3 = \text{CHO}$

La position 3 de l'indole étant la plus réactive, des réactions d'acylation de Friedel-Crafts pourraient permettre d'introduire plus de diversité avec notamment des chaînes plus longues (voisines de celles du posaconazole ou de l'itraconazole par exemple).

2-3- Détermination de l'activité antifongique sur des souches résistantes aux azolés :

Tous les composés préparés lors de ces travaux pourraient être évalués pour déterminer leur activité sur des souches de champignons résistantes aux molécules antifongiques. Le Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale possède un large panel de souches résistantes au fluconazole, au voriconazole et/ou à l'itraconazole. L'évaluation permettrait de connaître le spectre d'action de nos composés.

De nos jours du fait d'une utilisation intensive à titre curatif ou prophylactique des traitements antifongiques, des phénomènes de résistance sont apparus. De nombreux cas sont reportés dans la littérature. Les mécanismes de résistance impliqués peuvent être de 3 types :

- Une surexpression du gène ERG11 codant pour l'enzyme cible. La cible est alors surexprimée et la dose d'antifongique administrée se trouve être insuffisante pour traiter la maladie.

- La présence d'un système de pompes à efflux ou de transporteurs expulsant l'inhibiteur en dehors de la cellule.
- Une (ou des) mutations ponctuelle(s) dans la séquence primaire de la protéine qui induirai(en)t des modifications structurales importantes (perte des interactions indispensables à l'activité, fermeture d'un tunnel d'accès au site actif...). Seules des études de séquençage du gène *erg11* codant CYP51 ou de mutagenèses dirigées pourraient confirmer ou non ce type de résistance.

Il est très difficile de compenser la surexpression de la cible. Cependant plusieurs paradigmes existent pour faire face aux autres problèmes. Ainsi, un traitement antifongique pourrait être associé lors de l'administration à un inhibiteur de pompes à efflux. La structure chimique de la molécule antifongique peut également être modulée pour comporter une partie à propriété strictement antifongique et une autre connue pour ses propriétés inhibitrices d'efflux. Pour faire face aux mutations ponctuelles, un long travail de séquençage couplé à la modélisation est nécessaire pour mieux comprendre leur ampleur et envisager la conception d'inhibiteurs en tenant compte de ces modifications.

Dans tous les cas, il est très difficile d'adopter une démarche unique face à ces phénomènes. En effet, la résistance peut être liée à un seul phénomène mais peut également résulter d'une combinaison de plusieurs types, rendant ainsi plus compliquée la tâche du pharmacochimiste et du biologiste. Une adaptation est nécessaire pour proposer de nouveaux traitements plus efficaces, actifs sur des souches résistantes et possédant un large spectre d'action à faible dose. Beaucoup de travail reste encore à faire dans ce domaine...

2-4- Modélisation moléculaire

La modélisation moléculaire pourrait permettre de mieux situer les acides aminés mis en lumière par le séquençage de souches sensibles ou résistantes. Ainsi, nous pouvons imaginer optimiser notre modèle en tenant compte de ces résidus ayant un réel impact sur les activités inhibitrices. Ce nouveau modèle pourrait ainsi plus facilement nous permettre de proposer de nouvelles pistes de recherche pour la chimie.

Les résultats préliminaires d'activité biologique obtenus sur les composés décrits dans ce manuscrit et conçus à partir de la modélisation moléculaire nous laissent penser que notre modèle construit par homologie comparative constitue une base de travail valable pour la poursuite de nos recherches. Il faudrait cependant construire le même modèle sur l'enzyme CYP51 d'*Aspergillus fumigatus* afin de voir si certaines similarités ou, au contraire, différences pourraient être exploitées pour la conception de nouveaux inhibiteurs spécifiques ou à large spectre.

BIBLIOGRAPHIE

1. Tropical Disease Research: Progress 2003-2004 ; World Health Organization. Geneva, **2005**. <http://www.who.int/tdr/publications/publications/pr17.htm>.
2. Cox F.E.G. History of human parasitology. *Clin. Microbiol. Rev.* **2002**, *15*, 595-612.
3. Hoare C.A. Early discoveries regarding the parasites of oriental sore. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1938**, *32*, 67-92.
4. Site internet: <http://www.wehi.edu.au/research/overview/inf.html>.
5. Bassenne I., Pratlong F., Dereure J., Balard Y., Dedet J.P. La leishmaniose humaine en Cévennes : étude rétrospective 1933-1994. *Méd. Mal. Infect.* **1997**, *27*, 591-595.
6. Weill F.X., Accoceberry I., Delage F., Pratlong F., Couprie B., Beylot C., Dedet J.P., Doutre M.S. Leishmaniose cutanée à *Leishmania amazonensis* contractée en Guyane française. *Méd. Mal. Infect.* **2000**, *30*, 47-49.
7. Olivier M., Gregory D.J., Forget G. Subversion mechanisms by which *Leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. *Clin. Microbiol. Rev.* **2005**, *18*, 293-305.
8. Chou M.N. Caractérisation du complexe protéique eIF2a impliqué dans la régulation de l'initiation de la traduction chez le parasite protozoaire *Leishmania*. Thèse soutenue en **2005**. Université de Laval. Canada.
9. Davies C.R., Kaye P., Croft S.L., Sundar S. Leishmaniasis: new approaches to disease control. *Br. Med. J.* **2003**, *326*, 377-382.
10. Blum J., Desjeux P., Schwartz E., Beck B., Hatz C. Treatment of cutaneous leishmaniasis among travellers. *J. Antimicrob. Chemother.* **2004**, *53*, 158-166.
11. Antinori S., Gianelli E., Callatini S., Longhi E., Gramiccia M., Corbellino M. Cutaneous leishmaniasis: an increasing threat for travellers. *Clin. Microbiol. Infect.* **2005**, *11*, 343-346.
12. Organisation Mondiale de la Santé. Rapport sur les maladies infectieuses. « Faire tomber les obstacles au développement dans la santé ». **1999**.
13. Mishra J., Saxena A., Singh S. Chemotherapy of leishmaniasis: Past, present and future. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 1153-1169.
14. Croft S.L., Yardley V. Chemotherapy of leishmaniasis. *Curr. Pharm. Des.* **2002**, *8*, 319-342.
15. Franco M.A., Barbosa A.C., Rath S., Dorea J.G. Antimony oxidation states in antileishmanial drugs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **1995**, *52*, 435-437.

16. Mittal M.K., Rai S., Ashutosh, Ravinder, Gupta S., Sundar S., Goyal N. Characterization of natural antimony resistance in *Leishmania donovani* isolates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2007**, *76*, 681-688.
17. Macharia J.C., Bourdichon A.J., Gicheru M.M. Efficacy of Trypan[®]: a diminazene based drug as antileishmanial agent. *Acta Trop.* **2004**, *92*, 267-272.
18. Basselin M., Denise H., Coombs G.H., Barrett M.P. Resistance to pentamidine in *Leishmania mexicana* involves exclusion of the drug from the mitochondrion. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 3731-3738.
19. Yardley V., Croft S.L. A comparison of the activities of three amphotericin B lipid formulations against visceral and cutaneous leishmaniasis. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2000**, *13*, 243-248.
20. Adler-Moore J., Proffitt R.T. AmBisome: liposomal formulation, structure, mechanism of action and pre-clinical experience. *J. Antimicrob. Chemother.* **2002**, *49*, Suppl. 1, 21-30.
21. Al-Abdely H.M., Graybill J.R., Bocanegra R., Najvar L., Montalbo E., Regen S.L. Melby P.C. Efficacies of KY62 against *Leishmania amazonensis* and *Leishmania donovani* in experimental murine cutaneous leishmaniasis and visceral leishmaniasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 2542-2548.
22. Maarouf M., Lawrence F., Croft S.L., Robert-Greco M. Ribosomes of *Leishmania* are a target for the aminoglycosides. *Parasitol. Res.* **1995**, *81*, 421-425.
23. Sundar S., Jha T.K., Thakur C.P., Sinha P.K., Bhattacharya S.K. Injectable paromomycin for visceral leishmaniasis in India. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *356*, 2571-2581.
24. Vannier-Santos M.A., Urbina J.A., Martiny A., Neves A., De Souza W. Alterations induced by the antifungal compounds ketoconazole and terbinafine in *Leishmania*. *J. Eukaryot. Microbiol.* **1995**, *42*, 337-346.
25. Raffi F., Merrien D., Le Pape P., Reliquet V. Use of an itraconazole / allopurinol combination for the treatment of visceral leishmaniasis in a patient with AIDS. *Clin. Infect. Dis.* **1995**, *21*, 1338-1339.
26. Croft S.L., Coombs G.H. Leishmaniasis – current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. *Trends Parasitol.* **2003**, *19*, 502-508.
27. Singh S., Sivakumar R. Challenges and new discoveries in the treatment of leishmaniasis. *J. Infect. Chemother.* **2004**, *10*, 307-315.
28. Neal R.A., Croft S.L., Nelson D.J. Anti-leishmanial effect of allopurinol ribonucleoside and the related compounds, allopurinol, thiopurinol, thiopurinol ribonucleoside, and of formycin B, sinefungin and the lepidine WR6026. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **1985**, *79*, 122-128.

29. Dobie F., Berg A., Boitz J.M., Jardim A. Kinetic characterization of inosine monophosphate dehydrogenase of *Leishmania donovani*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2007**, *152*, 11-21.
30. Nolan L.L., Berman J.D., Giri L. The effect of formycin B on mRNA translation and uptake of purine precursors in *Leishmania mexicana*. *Biochem. Int.* **1984**, *9*, 207-218.
31. Rakotomanga M., Blanc S., Gaudin K., Chaminade P., Loiseau P.M. Miltefosine affects lipid metabolism in *Leishmania donovani* promastigotes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 1425-1430.
32. Lira R., Contreras L.M., Santa-Rita R.M., Urbina J.A. Mechanism of action of anti-proliferative lysophospholipid analogues against the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*: potentiation of the in vitro activity by the sterol biosynthesis inhibitor ketoconazole. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, *47*, 537-546.
33. Santa-Rita R.M., Santos Barbosa H., Meirelles M.N., De Castro S.L. Effect of the alkyl-lysophospholipids on the proliferation and differentiation of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop.* **2000**, *75*, 219-228.
34. Azzouz S., Maache M., Dos Santos M.F., Sarciron M.E., Petavy A.F., Osuna A. Aspects of the cytological activity of edelfosine, miltefosine and ilmofosine in *Leishmania donovani*. *J. Parasitol.* **2006**, *92*, 877-883.
35. Soto J., Arana B.A., Toledo J., Rizzo N., Vega J.C., Diaz A., Luz M. Gutierrez-Arboleda M., Berman J.D., Junge K., Engel J. Sindermann H. Miltefosine for new world cutaneous leishmaniasis. *Clin. Infect. Dis.* **2004**, *38*, 1266-1272.
36. Prasad R., Kumar R., Jaiswal B.P. Singh U.K. Miltefosine: an oral drug for visceral leishmaniasis. *Indian J. Pediatr.* **2004**, *71*, 143-144.
37. Werbovetz K.A. Target-based drug discovery for malaria, leishmaniasis and trypanosomiasis. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 835-860.
38. Parveen S., Khan M.O., Austin S.E., Croft S.L., Yardley V. Rock P., Douglas K.T. Antitrypanosomal, antileishmanial, and antimalarial activities of quaternary arylalkylammonium 2-amino-4-chlorophenyl phenyl sulfides, a new class of trypanothione reductase inhibitor, and of *N*-acyl derivatives of 2-amino-4-chlorophenyl phenyl sulfide. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 8087-8097.
39. Ponte-Sucre A., Vicik R., Schultheis M., Schirmeister T., Moll H. Aziridine-2,3-dicarboxylates, peptidomimetic cysteine protease inhibitors with antileishmanial activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 2439-2447.
40. Alvarez N., Robledo S., Velez I.D., Robert J.M., Le Baut G., Le Pape P. Inhibition of parasite protein kinase C by new antileishmanial imidazolidin-2-one compounds. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2002**, *17*, 443-447.

41. Grant K.M., Hassan P., Anderson J.S., Mottram J.C. The *crk3* gene of *Leishmania mexicana* encodes a stage-regulated cdc2-related histone H1 kinase that associates with p12cks1. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 10153–10159.
42. Grant K.M., Dunion M.H., Yardley V., Skaltsounis A.L., Marko D., Eisenbrand G., Croft S.L., Meijer L., Mottram J.C. Inhibitors of *Leishmania mexicana* CRK3 Cyclin-Dependent Kinase: chemical library screen and antileishmanial activity. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 3033-3042.
43. Abdala H., Alvarez N., Delmas F., Di Giorgio C., Robert J.M.H., Le Baut G., Le Pape P. *In vitro* and *in vivo* antileishmanial activity of 2-amino-4,6-dimethylpyridine derivatives against *Leishmania mexicana*. *Parasite* **2002**, *9*, 367-370.
44. Robert J.M.H., Sabourin C., Alvarez N., Robert-Piessard S., Le Baut G., Le Pape P. Synthesis and antileishmanial activity of new imidazolin-2-one derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 711-718.
45. Marchand P., Le Borgne M., Na Y.M., Pagniez F., Abdala H., Le Baut G., Le Pape P. Synthesis and antileishmanial activity of 3-(α -azolybenzyl)indoles. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2002**, *17*, 353-358.
46. De Mello H., Echevarria A., Bernardino A.M., Canto-Cavalheiro M., Leon L.L. Antileishmanial pyrazolopyridine derivatives: synthesis and structure-activity relationship analysis. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 5427-5432.
47. Sanders J.M., Gómez A.O., Mao J., Meints G.A., Van Brussel E.M., Burzynska A., Kafarski P., González-Pacanowska D., Oldfield E. 3-D QSAR investigations of the inhibition of *Leishmania major* farnesyl pyrophosphate synthase by bisphosphonates. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5171-5183.
48. Cortes-Selva F., Campillo M., Reyes C.P., Jimenez I.A., Castanys S., Bazzocchi I.L., Pardo L., Gamarro F., Ravelo A.G. SAR studies of dihydro- β -agarofuran sesquiterpenes as inhibitors of the multidrug-resistance phenotype in a *Leishmania tropica* line overexpressing a P-glycoprotein-like transporter. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 576-587.
49. Cramer III R.D., Patterson D.E., Bunce J.D. Comparative molecular field analysis (CoMFA). 1. Effect of shape on binding of steroids to carrier proteins. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5959-5967.
50. Klebe G., Abraham U., Mietzner T. Molecular similarity indices in a comparative analysis (CoMSIA) of drug molecules to correlate and predict their biological activity. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 4130-4146.
51. Doddareddy M.R., Cho Y.S., Koh H.Y., Pae A.N. CoMFA and CoMSIA 3D QSAR analysis on *N*1-arylsulfonylindole compounds as 5-HT₆ antagonists. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 3977-3985.

52. Klebe G., Abraham U. Comparative molecular similarity index analysis (CoMSIA) to study hydrogen-bonding properties and to score combinatorial libraries. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1999**, *13*, 1-10.
53. Böhm M., Stürzebecher J., Klebe G. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship analyses using comparative molecular field analysis and comparative molecular similarity indices analysis to elucidate selectivity differences of inhibitors binding to trypsin, thrombin, and factor Xa. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 458-477.
54. Böhm M., Klebe G. Development of new hydrogen-bond descriptors and their application to comparative molecular field analyses. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1585-1597.
55. Oprea T.I., Waller C.L., Marshall G.R. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship of human immunodeficiency virus (I) protease inhibitors. 2. Predictive power using limited exploration of alternate binding modes. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2206-2215.
56. Höltje H.D., Sippl W., Rognan D., Folkers G. *Molecular modeling. Basic principles and applications*. 2nd edition. **2003**. Wiley-VCH. 65-72.
57. SYBYL molecular modeling software, version 7.1, August 2005, Tripos Associated Ltd., St Louis, MO.
58. Stewart J.J. MOPAC: a semiempirical molecular orbital program. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **1990**, *4*, 1-105.
59. Giraud F., Logé C., Le Borgne M., Pagniez F., Na Y.M., Le Pape P. A 3D-QSAR CoMSIA study on 3-azolylmethylindoles as anti-leishmanial agents. *SAR QSAR Environ. Res.* **2006**, *17*, 299-309.
60. Robinson B. The reduction of indoles and related compounds. *Chem. Rev.* **1969**, *69*, 785-797.
61. (a) Jones C.D., Winter M.A., Hirsch K.S., Stamm N., Taylor H.M., Holden H.E., Davanport J.D., Krumkalns E.V., Suhr R.G. Estrogen synthetase inhibitors. 2. Comparison of the in vitro activity for a variety of nitrogen heterocycles substituted with diarylmethane or diarylmethanol groups. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 416-429. (b) Ogata M. Synthesis of antifungal imidazoles and triazoles. *Annals New York Acad. Sci.*, **1988**, *544*, 12-31. (c) Staab H.A. New methods of preparative organic chemistry IV. Syntheses using heterocyclic amides (azolides). *Angew. Chem. Int. Ed.* **1962**, *1*, 351-367.
62. Tottleben M.J., Freeman J.P., Szmuszkovicz J. Imidazole transfer from 1,1'-carbonylimidazole and 1,1'-(thiocarbonyl)diimidazole to alcohols. A new protocol for the conversion of alcohols to alkylheterocycles. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7319-7323.
63. Njar V.C.O. High-yield synthesis of novel imidazoles and triazoles from alcohols and phenols. *Synthesis* **2000**, *14*, 2019-2028.

64. Massa S., Di Santo R., Retico A., Artico M., Simonetti N., Fabrizi G., Lamba D. Antifungal agents. 1. Synthesis and antifungal activities of estrogen-like imidazole and triazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **1992**, *27*, 495-502.
65. Le Pape P., Pagniez F., Abdala H., A new fluorometric method for anti-*Leishmania* drug screening, *Acta Parasitologica*, **2002**, *47*, 79-81.
66. (a) Cavallini G., Ravenna F., Grasso I. Several derivative of indole with probable biological interest. II. Synthesis of 5-bromo-3-indolealdehyde. *Farmaco* **1958**, *13*, 113-116; (b) Duflos M., Nourrisson M.R., Brelet J., Courant J., Le Baut G., Grimaud N., Petit J.Y. *N*-Pyridinyl-indole-3-(alkyl)carboxamides and derivatives as potential systemic and topical inflammation inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.*, **2001**, *36*, 545-553.
67. Coowar D., Bouissac J., Hanbali M., Paschaki M., Mohier E., Luu B. Effect of indole fatty alcohols on the differentiation of neural stem cell derived neurospheres. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6270-6284.
68. Na Y.M., Le Borgne M., Pagniez F., Le Baut G., Le Pape P. Synthesis and antifungal activity of new 1-halogenobenzyl-3-imidazolylmethylindole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 75-87.
69. Torisu K., Kobayashi K., Iwahashi M., Egashira H., Nakai Y., Okada Y., Nanbu F., Ohuchida S., Nakai H., Toda M. Development of a prostaglandin D₂ receptor antagonist: discovery of a new chemical lead. *Eur. J. Med. Chem.*, **2005**, *40*, 505-519.
70. Chimie pharmaceutique, Graham L. Patrick, De Boeck Université, éd. **2002**, 654 pages.
71. Mitsunobu O., Yamada M. Preparation of esters of carbonylic and phosphoric acid via quaternary phosphonium salts. *Bull. Chem. Soc. Jap.* **1967**, *40*, 2380-2382.
72. (a) Guthrie R.D., Jenkins I.D. The mechanism of the Mitsunobu reaction. A ³¹P NMR study. *Aust. J. Chem.* **1982**, *35*, 767-774 ; (b) Morrison D.C. Reactions of alkyl phosphites with diethyl azodicarboxylate. *J. Org. Chem.* **1958**, *23*, 1072-1074 ; (c) Grochowski E., Hilton B.D., Kupper R.J. Mechanism of the triphenylphosphine and diethyl azodicarboxylate induced dehydration reactions (Mitsunobu reaction). The central role of pentavalent phosphorus intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6876-6877.
73. Susuki E., Katsuragawa B., Inoue S., A mild, neutral *O*-alkylation of 4-hydroxy-6-methyl-2-pyrene and 4-hydroxycoumarin with activated alcohols. *J. Chem. Res.* **1979**, (S), 110-111.
74. Von Itzstein M., Jenkins I.D. The mechanism of the Mitsunobu reaction. II Dialkoxypentaphenylphosphoranes. *Aust. J. Chem.* **1983**, *36*, 557-563.
75. Zhang H., Larock R.C. Synthesis of annulated γ -carbolines and heteropolycycles by the palladium-catalyzed intramolecular annulation of alkynes. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 5132-5138.

76. Fiumana A., Jones K. Annulation of indole via indole radicals: addition of the 2-indolyl radical to aromatic rings. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4209-4211.
77. Bombrun A., Casi G. *N*-Alkylation of 1*H*-indoles and 9*H*-carbazoles with alcohols. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2187-2190.
78. Kawasaki M., Goto M., Kawabata S., Kometani T. The effect of vinyl esters on the enantioselectivity of the lipase-catalysed transesterification of alcohols. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 585-596.
79. Kametani T., Kondoh H., Honda T., Ishizone H., Suzuki Y., Mori W. Simple and chemoselective deprotection of acetals using aqueous dimethyl sulfoxide. *Chem. Lett.* **1989**, *18*, 901-904.
80. Murakami Y., Watanabe T., Takahashi H., Yokoo H.O., Nakazawa Y., Koshimizu M., Adachi N., Kurita M., Yoshino T., Inagaki T., Ohishi M., Watanabe M., Tani M., Yokoyama Y. Fischer indolization of 2-sulfonyloxyphenylhydrazones: a new and practical approach for preparing 7-oxygenated indoles and application to the first synthesis of Eudistomidin-A. (Fischer indolization and its related compounds. Part 28). *Tetrahedron* **1998**, *54*, 45-64.
81. Suzuki H., Unemoto M., Hagiwara M., Ohyama T., Yokoyama Y., Murakami Y. Synthetic studies on indoles and related compounds. Part 46. First total syntheses of 4,8-dioxygenated β -carboline alkaloids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1999**, 1717-1723.
82. Liu M., Wilairat P., Croft S.L., Tan A.L-C., Geo M.L. Structure-activity relationships of antileishmanial and antimalarial chalcones. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2727-2738.
83. Gamage S.A., Figgitt D.P., Wojcik S.J., Ralph R.K., Ransijn A., Mauel J., Yardley V., Snowdon D., Croft S.L., Denny W.A. Structure-activity relationships for the antileishmanial and antitrypanosomal activities of 1'-substituted 9-anilinoacridines. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2634-2642.
84. http://www.pfizer.ch/internet/fr/home/health_information/fungus_infections.html.
85. Tortorano A.M., Kibbler C., Peman J., Bernhardt H., Klingspor L., Grillot R. Candidaemia in Europe: epidemiology and resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2006**, *27*, 359-366.
86. Martin G.S., Maninno D.M., Eaton S., Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 1546-1554.
87. Adapté de « Infections fongiques : épidémiologie et problématique ». Pr. Dardé M.L. Service de parasitologie-mycologie. CHU Dupuytren. Limoges.
88. Association française des enseignants en parasitologie. Parasitologie, mycologie. 7^{ième} édition. Ed C. et R. **2002**, St Maur. 494 pages.

89. André M.H., Lortholary O. Mycoses viscérales, pour la pratique. *La revue du praticien* **2001**, *51*, 758-760.
90. Patel R., Paya C.V. Infections in solid-organ transplant recipients. *Clin. Microbiol. Rev.* **1997**, *10*, 86-124.
91. Site internet : <http://www.pasteur.fr/actu/presse/documentation/mycoses.htm>.
92. Infections fongiques : résistances, nouvelles modalités thérapeutiques, ed. optimed, **2003**, Paris, 170 pages.
93. Dossier du Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament ; Candidoses et aspergilloses invasives : stratégie thérapeutique. **2004**, XXV, 6. 72 pages.
94. Odds F.C., Brown A.J.P., Gow N.A.R. Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends Microbiol.* **2003**, *11*, 272-279.
95. Wingard J.R., Leather H. A new Era of antifungal therapy. *Biol. Blood Marrow Transplant.* **2004**, *10*, 73-90.
96. Pettrikos G., Skiada A. Recent advances in antifungal chemotherapy. *Int. J. Antimicrob. Agents* **2007**, *30*, 108-117.
97. Ikeda F., Tanaka S., Ohki H., Matsumoto S., Maki K., Katashima M., Barrett D., Aoki Y. Role of micafungin in the fungal armamentarium. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 1263-1275.
98. Murdoch D., Plosker G.L. Anidulafungin. *Drugs* **2004**, *64*, 2249-2258.
99. Kontoyannis D.P., Mantadakis E., Samonis G. Systemic mycoses in the immunocompromised host: an update in antifungal therapy. *J. Hosp. Infect.* **2003**, *53*, 243-258.
100. Andrès E., Tiphine M., Letscher-Bru V., Herbrecht R. Nouvelles formes lipidiques de l'amphotéricine B. Revue de la littérature. *Rev. Med. Interne* **2001**, *22*, 141-150.
101. AFECT. Traité de chimie thérapeutique Vol 5 ; principaux antifongiques et antiparasitaires Tome 1 : Antifongiques. Ed. TEC&DOC, Paris, **1999**.
102. Ansari S., Prasad R. Effect of miconazole on the structure and function of plasma membrane of *Candida albicans*. *FEMS Microbiol. Lett.* **1993**, *114*, 93-98.
103. Hitchcock C.A., Dickinson K., Brown S.B., Evans E.G., Adams D.J. Interaction of azole antifungal antibiotics with cytochrome P450-dependant 14 alpha sterol demethylase purified from *Candida albicans*. *Biochem. J.* **1990**, *266*, 475-480.
104. Heel R.C., Brogden R.N., Carmine A., Morley P.A., Speight T.M., Avery G.S. Ketoconazole: a review of its therapeutic efficacy in superficial and systemic fungal infections. *Drugs* **1982**, *23*, 1-36.

105. Charlier C., Hart E., Lefort A., Ribaud P., Dromer F., Denning D.W., Lortholary O. Fluconazole for the management of invasive candidiasis: where do we stand after 15 years? *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, *57*, 384-410.
106. Wolff M., Bouadma L., Mourvillier B. Emerging azole antifungals. *Therapie* **2006**, *61*, 227-233.
107. Kunze K.L., Nelson W.L., Karasch E.D., Thummel K.E., Isoherranen N. Stereochemical aspects of itraconazole metabolism *in vitro* and *in vivo*. *Drug Metab. Dispos.* **2006**, *34*, 583-590.
108. Heykants J., Van Peer A., Van de Velde V., Van Rooy P., Meuldermans W., Lavrijsen K., Woestenborghs R., Van Cutsem J., Cauwenbergh G. The clinical pharmacokinetics of itraconazole: an overview. *Mycoses* **1989**, *32* (S1), 67-87.
109. Herbrecht R. Voriconazole: therapeutic review of a new azole antifungal. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **2004**, *2*, 485-497.
110. Dupont B. New antifungal agents: voriconazole and caspofungin. *Arch. Pediatr.* **2003**, *10* (S5), 592s-598s.
111. Humphrey M.J. Combinaison de voriconazole et d'un inhibiteur de CYP2C19 antifongique. Brevet européen EP1713477 publié le 25 octobre **2006**.
112. Muijsers R.B.R., Goa K.L., Scott L.J. Voriconazole in the treatment of invasive aspergillosis. *Drugs* **2002**, *62*, 2655-2664.
113. Scott L.J., Simpson D. Voriconazole: a review of its use in the management of invasive fungal infections. *Drugs* **2007**, *67*, 269-298.
114. Kwon D.S., Mylonakis E. Posaconazole: a new broad-spectrum antifungal agent. *Expert Opin. Pharmacother.* **2007**, *8*, 1167-1178.
115. Fung-Tome J.C., Huczko E., Minassion B., Bonner D.P. *In vitro* activity of a new oral triazole, BMS-207147 (ER-30346). *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, *42*, 313-318.
116. Groll A.H., Mickiene D., Petraitis V., Petraitiene R., Kelaher A., Sarafandi A., Wuerthwein G., Bacher J., Walsh T.J. Compartmental pharmacokinetics and tissue distribution of the antifungal triazole ravuconazole following intravenous administration of its di-lysine phosphoester prodrug (BMS-379224) in rabbits. *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, *56*, 899-907.
117. Kyle A.A., Dahl M.V. Topical therapy for fungal infections. *Am. J. Clin. Dermatol.* **2004**, *5*, 443-451.
118. Groll A.H., Piscitelli S.V., Walsh T.J. Antifungal pharmacodynamics: concentration-effect relationship *in vitro* and *in vivo*. *Pharmacotherapy* **2001**, *21*(8 Part 2), 133S-148S.

119. Larcher G., Morel C., Torchin G., Landreau A., Seraphin D., Richomme P., Bouchara J.P. Investigation of the antifungal activity of caledonixanthone E and other xanthonones against *Aspergillus fumigatus*. *Planta Med.* **2004**, *70*, 569-571.
120. Ryu C.K., Choi K.U., Shim J.Y., You H.J., Choi I.H., Chae M.J. Synthesis and antifungal activity of 6-arylthio-/6-arylamino-4,7-dioxobenzothiazoles. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4003-4008.
121. Kauffman C.A., Carver P. Antifungal agents in the 1990s. Current status and future developments. *Drugs* **1997**, *53*, 539-549.
122. Obi K., Uda J., Iwase K., Sugimoto O., Ebisu H., Matsuda A. Novel nikkomycin analogues: inhibitors of the fungal cell wall biosynthesis enzyme chitine synthase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1451-1454.
123. Masubuchi K., Taniguchi M., Umeda I., Hattori K., Suda H., Kohchi Y., Isshiki Y., Sakai T., Kohchi M., Shirai M., Okabe H., Sudoh M., Yamazaki T., Shimma N. Synthesis and structure-activity relationships of novel fungal chitine synthase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1459-1462.
124. Masubuchi M., Ebiike H., Kawasaki K., Sogabe S., Morikami K., Shiratori Y., Tsujii S., Fujii T., Sakata K., Hayase M., Shindoh H., Aoki Y., Ohtsuka T., Shimma N. Synthesis and biological activities of benzofuran antifungal agents targeting fungal *N*-myristoyltransferase. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 4463-4478.
125. Yamazaki K., Kaneko Y., Suwa K., Ebara S., Nakazawa K., Yasuno K. Synthesis of potent and selective inhibitors of *Candida albicans* *N*-myristoyltransferase based on the benzothiazole structure. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2509-2522.
126. Nakayama H., Moi T., Nagahashi S., Kokado M., Arisawa M., Aoki Y. Tetracycline-regulatable system to tightly control gene expression in the pathogenic fungus *Candida albicans*. *Infect. Immun.* **2000**, *68*, 6712-6719.
127. Chevreuil F., Landreau A., Seraphin D., Larcher G., Bouchara J.P., Richomme P. Synthesis and antifungal activity of new thienyl and aryl conazoles. *J. Enz. Inhib. Med. Chem.* **2006**, *21*, 293-303.
128. Menozzi G., Merello L., Fossa P., Schenone S., Ranise A., Mosti L., Bondavalli F., Loddo R., Murgioni C., Mascia V., La Colla P., Tamburini E. Synthesis, antimicrobial activity and molecular modeling studies of halogenated 4-[*1H*-imidazol-1-yl(phenyl)methyl]-1,5-diphenyl-*1H*-pyrazoles. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5465-5483.
129. Di Santo R., Tafi A., Costi R., Botta M., Artico M., Corelli F., Forte M., Caporuscio F., Angiolella L., Palamara A.T. Antifungal agents. 11. *N*-substituted derivatives of 1-[(aryl)(4-aryl-*1H*-pyrrol-3-yl)methyl]-*1H*-imidazole: synthesis, anti-*candida* activity, and QSAR studies. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5140-5153.

130. Sun Q.Y., Zhang W.N., Xu J.M., Cao Y.B., Wu Q.Y., Zhang D.Z., Liu C.M., Yu S.C., Jiang Y.Y. Synthesis and evaluation of novel 1-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-[(4-substitutedphenyl)-piperazin-1-yl]-propan-2-ols as antifungal agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2007**, *42*, 1151-1157.
131. Pinori M., Lattanzio M., Modena D., Mascagni P. Dérivés d'azolés utiles en tant qu'agents antifongiques, ayant une interaction limitée avec les cytochromes métaboliques. Brevet européen EP1673368 publié le 28 juin **2006**.
132. Lebouvier N. Travaux de thèse, Université de Nantes, Laboratoire de Chimie thérapeutique, Faculté de pharmacie de Nantes, « Synthèse et évaluation pharmacologique de composés indoliques ou apparentés à activité antifongique et antileishmanienne » soutenue le 14 octobre **2004**.
133. Le Borgne M., Na Y.M., Pagniez F., Le Baut G., Le Pape P., 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**.
134. Lebouvier N., Pagniez F., Duflos M., Le Pape P., Na Y.M., Le Baut G., Le Borgne M. Synthesis and antifungal activities of new fluconazole analogues with azaheterocycle moiety. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3686-3689.
135. Site internet Protein DataBank : <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.
136. Pour un aperçu bibliographique sur la réaction de formation de l'époxyde : (a) Corey E.J., Chaykovsky M. Dimethylsulfoxonium methylide. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 867-868 ; (b) Corey E.J., Chaykovsky M. Dimethylsulfonium methylide, a reagent for selective oxirane synthesis from aldehydes and ketones. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3782-3783 ; (c) Corey E.J., Chaykovsky M. Dimethyloxosulfonium methylide and dimethylsulfonium methylide. Formation and application to organic synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 1353-1364.
137. Lebouvier N., Giraud F., Corbin T., Na Y.M., Le Baut G., Marchand P., Le Borgne M. Efficient microwave-assisted synthesis of 1-(*1H*-indol-1-yl)-2-phenyl-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)-propan-2-ols as antifungal agents. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 6479-6483.
138. Vedejs E., Little J.D. Synthesis of the aziridinomitosenone skeleton by intramolecular Michael addition of α -lithioaziridines: an aromatic route featuring deuterium as a removable blocking group. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1794-1799.
139. Pagniez F., Le Pape P. New fluorometric screening test for possible antifungal drugs, *J. Mycol. Med.* **2001**, *11*, 73-78.
140. Site internet de la Protein Information Resource : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>.
141. Altshul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman J.D. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* **1990**, *215*, 403-410. BLAST : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>.

142. Chakrabarti S., Lanczycki C.J., Panchenko A.R., Przytycka T.M., Thiessen P.A., Bryant S.H. State of the art: refinement of multiple sequence alignments. *BMC Bioinformatics* **2006**, *7*, 499-508.
143. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTALW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 4673-4680. <http://www.nbrf.georgetown.edu/pirwww/search/multialn.shtml>.
144. Jones D.T. Protein secondary structure prediction based on position-specific scoring matrices. *J. Mol. Biol.* **1999**, *292*, 195-202. <http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/psiform.html>.
145. Sali A., Blundell T.L. Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints. *J. Mol. Biol.* **1993**, *234*, 779-815.
146. Xiang Z., Honig B. Extending the accuracy limits of prediction for side chains conformation. *J. Mol. Biol.* **2001**, *311*, 421-430.
147. Levitt M. Accurate modeling of protein conformation by automatic segment matching. *J. Mol. Biol.* **1992**, *226*, 507-533.
148. Laskowski R.A., MacArthur M.W., Moss D.S., Thornton J.M.. Procheck: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *J. Appl. Crystallogr.* **1993**, *26*, 283-291. <http://biotech.ebi.ac.uk:8400/>.
149. Lüthy R., Bowie J.U., Eisenberg D. Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Nature* **1992**, *356*, 83-85. http://nihserver.mbi.ucla.edu/Verify_3D.
150. Jones G., Willet P., Glen R.C. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.* **1997**, *267*, 727-748.
151. Wang R., Lai L., Wang S. Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction, *J. Comput.-Aided Mol. Des.* **2002**, *16*, 11-26.
152. Boscott P.E., Grant G.H. Modeling cytochrome P450 14alpha-demethylase (*Candida albicans*) from P450Cam. *J. Mol. Graph.* **1994**, *12*, 185-192.
153. Poulos T.L., Finzel B.C., Howard A.J. High-resolution crystal structure of cytochrome P450Cam. *J. Mol. Biol.* **1987**, *195*, 687-700.
154. Ravichandran K.G., Boddupalli S.S., Hasemann C.A., Peterson J.A., Deisenhofer J. Crystal structure of Hemoprotein domain of P450BM3, a prototype for microsomal P450's. *Science* **1993**, *261*, 731-736.

155. Ji H., Zhang W., Zhou Y., Zhang M. Zhu J., Song Y., Lü J., Zhu J. A three-dimensional model of lanosterol 14 α -demethylase of *Candida albicans* and its interaction with azole antifungals. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2493-2505.
156. Podust L.M., Poulos T.L., 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. USA.* **2001**, *98*, 3068-3073.
157. Macchiarulo A., Costantino G., Fringuelli D., Vecchiarelli A., Schiafella F., Fringuelli R. 1,4-Benzothiazine and 1,4-benzoxazine imidazole derivatives with antifungal activity: a docking study. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 3415-3423.
158. Xiao L., Madison V., Chau A.S., Leobenberg D., Palermo R.E., 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*, 568-574.
159. Halgren T.A. Merck Molecular Force Field. Parts I to V. *J. Comput. Chem.* **1996**, *17*, 490-641.
160. Schaus J., Xu Y.C. Indole derivatives and their use as 5-HT_{1F} agonists. **2000**, Brevet WO 00/34266.
161. Yang Y., Martin A.R., Nelson D.L., Regan J. Synthesis of some 5-substituted indoles. *Heterocycles* **1992**, *34*, 1169-1175.
162. Takahashi O., Umezawa J., Furuhashi K., Takagi M. Stereocontrol of a tertiary hydroxyl group via microbial epoxidation: a facile synthesis of prostaglandin ω -chain. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1583-1584.
163. Song Y., Zhang Y., Wang H., Raker A., Sanders J., Broderick E., Clark A., Morita G., Oldfield E. Synthesis of chiral phosphoantigens and their activity in $\gamma\delta$ T cell stimulation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 4471-4477.
164. Davis D.D., Gray C.E. Deoxymetalation reactions. Mechanism of deoxystannylation. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 1303-1307.
165. Pour un aperçu bibliographique sur le couplage de Stille, voir : (a) Stille J.K. The palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organotin reagents with organic electrophiles. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 508-524 ; (b) Marshall J.A. Synthesis and reactions of allylic, allenic, vinylic and arylmetal reagents from halides and esters via transient organopalladium intermediates. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3163-3185.
166. Zanon J., Klapars A., Buchwald S.L. Copper-catalyzed domino halide exchange-cyanation of aryl bromides. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2890-2891.

167. Castro J.L., Matassa V.G. Methiodide approach to the synthesis of 3-[2-(dimethylamino)ethyl]-5-[(1,1-dioxo-5-methyl-1,2,5-thiadiazolidin-2-yl)methyl]-*1H*-indole and analogues. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4705-4708.
168. Secrist III J.A., Logue M.W. Amine hydrochlorides by reduction in the presence of chloroform. *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 335-336.
169. Bakshi P., Wolfe M.S. Stereochemical analysis of (hydroxyethyl)urea peptidomimetic inhibitors of γ -secretase. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6485-6489.
170. Hetenyl A., Szakonyi Z., Klika K.D., Pihlaja K., Fülöp F. Formation and characterization of a multicomponent equilibrium system derived from *cis*- and *trans*-1-aminomethylcyclohexane-1,2-diol. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2175-2182.
171. Garcia-Delgado N., Subba Reddy K., Sola L., Riera A., Pericas M.A., Verdaguer X. Synthesis of heavily substituted 1,2-amino alcohols in enantiomerically pure form. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7426-7428.
172. Kempf D.J., De Lara E., Stein H.H., Cohen J., Platnner J.J. Renin inhibitors based on novel dipeptide analogs. Incorporation of the dehydrohydroxyethylene isostere at the scissile bond. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1978-1983.
173. Fringuelli F., Pizzo F., Rucci M., Vaccaro L. First one-pot copper-catalyzed synthesis of α -hydroxy- β -amino acids in water. A new protocol for preparation of optically active norstatines. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 7041-7045.
174. Shiozaki M., Arai M., Kobayashi Y., Kasuya A., Miyamoto S., Furukawa Y., Takayama T., Haruyama H. Stereocontrolled Syntheses of 6-*epi*-Trehazolin and 6-*epi*-Trehalamine from D-Ribonolactone. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4450-4460.
175. Kamal A., Srinivasa K., Reddy B., Prasad R., Hari Babu A., Venkata Ramana A. Microwave enhanced reduction of nitro and azido arenes to N-arylformamides employing Zn-HCOONH₄: synthesis of 4(3*H*)-quinazolinones and pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepines. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6517-6521.
176. Mangelinckx S., Boeykens M., Vliegen M., Van der Eycken J., De Kimpe N. Synthesis of new 3,3-dimethoxyazetidines-2-carboxylic acid derivatives. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 525-529.
177. Reitz A.B., Tuman R.W., Marchione C.S., Jordan A.D., Bowden C.R., Maryanoff B.E. Carbohydrate biguanides as potential hypoglycemic agents. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 2110-2116.
178. Cao J., Lever J.R., Kopajtic T., Katz J.L., Pham A.T., Holmes M.L., Justice J.B., Newman A.H. Novel azido and isothiocyanato analogues of [3-(4-phenylalkyl)piperazin-1-yl]propyl]bis(4-fluorophenyl)amines as potential irreversible ligands for the dopamine transporter. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6128-6136.

179. Koradin C., Dohle W., Rodriguez A.L., Schmid B., Knochel P. Synthesis of polyfunctional indoles and related heterocycles mediated by cesium and potassium bases. *Tetrahedron* **2003**, *49*, 1571-1587.
180. Taylor E.C., Katz A.H., Salgado-Zamora H. Thallium in organic synthesis 68. A convenient synthesis of 2-phenylindoles from anilides. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 5963-5966.
181. Lu B.Z., Zhao W., Wei H.X., Dufour M., Farina V., Senanayake C.H. A practical mild, one-pot, regioselective synthesis of 2,3-disubstituted indoles via consecutive Sonogashira and Cacchi reactions. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 3271-3274.
182. Ezquerro J., Pedregal C., Lamas C. Efficient reagents for the synthesis of 5-, 7- and 5,7-substituted indoles starting from aromatic amines : scope and limitations. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 5804-5812.
183. Kondo Y., Kojima S., Sakamoto T. A concise synthesis of 7-substituted indoles. *Heterocycles* **1996**, *43*, 2741-2746.
184. Kym P.R., Iyengar R., Souers A.J., Lynch J.K., Judd A.S., Gao J., Freeman J., Mulhern M., Zhao G., Vasudevan A., Wodka D., Blackburn C., Brown J., Che J.L., Cullis C., Lai S.J., La Marche M.J., Marsilje T., Roses J., Sells T., Geddes B., Govek E., Patane M., Fry D., Dayton B.D., Brodjian S., Falls D., Brune M., Bush E., Shapiro R., Knourek-Segel V., Fey T., McDowell C., Reinhart G.A., Preusser L.C., Marsh K., Hernandez L., Sham H.L., Collins C.A. Discovery and characterization of aminopiperidinecoumarin melanin concentrating hormone receptor 1 antagonists. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5888-5891.
185. Dhanoa D.S., Bagley S.W., Chang R.S.L., Lotti V.J., Bau Chen T., Kivlighn S.D., Zingaro G.J., Siegl P.K.S., Patchett A.A., 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*, 4230-4236.
186. Sheng C., Zhang W., Ji H., Zhang M., Song Y., Xu H., Zhu J., Miao Z., Jiang Q., Yao J., Zhou Y., Zhu J., Lu J. Structure-based optimization ofazole antifungal agents by CoMFA, CoMSIA, and molecular docking. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2512-2525.
187. Vaccaro W.D., Sher R., Berlin M., Shih N.Y., Aslanian R., Schwerdt J.H., McCormick K.D., Piwinski J.J., West R.E., Anthes J.C. Novel histamine H₃ receptor antagonists based on the 4-[(1*H*-imidazol-4-yl)methyl]piperidine scaffold. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 395-399.
188. Ting P.C., Lee J.F., Anthes J.C., Shih N.Y., Piwinski J.J. Synthesis of substituted 4(*Z*)-(methoxyimino)pentyl-1-piperidines as dual NK₁/NK₂ inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 491-494.

189. Castro S., Peczuh M.W. Sequential cyclization-elimination route to carbohydrate-based oxepines. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 3312-3315.
190. Sagara Y., Sagara T., Uchiyama M., Otsuki S., Kimura T., Fugikawa T., Noguchi K., Ohtake N. Identification of a novel 4-aminomethylpiperidine class of M₃ muscarinic receptor antagonists and structural insight into their M₃ selectivity. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 5653-5663.
191. Chen S.H., Sheng C.Q., Xu X.H., Jiang Y.Y., Zhang W.N., 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*, 1246-1253.
192. Yee Y.K., Bernstein P.R., Adams E.J., Brown F.J., Cronk L.A., Hebbel K.C., Vacek E.P., Krell R.D, Snyder D.W. A novel series of selective leukotriene antagonists: exploration and optimization of the acidic region in 1,6-disubstituted indoles and indazoles. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2437-2451.
193. Pieck J.C., Kuch D., Grolle F., Linne U., Haas C., Carell T. PNA-based reagents for the direct and site-specific synthesis of thymine dimer lesions in genomic DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 1404-1405.
194. Naganawa A., Matsui T., Ima M., Saito T., Murota M., Aratani Y., Kijima H., Yamamoto H., Mayurama T., Ohuchida S., Nakai H., Toda M. Further optimization of sulfonamide analogues as EP1 receptor antagonists: synthesis and evaluation of bioisosteres for the carboxylic acid group. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7121-7137.
195. Yang S.D., Shi Y., Sun Z.H., Zhao Y.B., Liang Y.M. Asymmetric borane reduction of prochiral ketones using imidazolium-tagged sulfonamide catalyst. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 1895-1900.
196. Weber V., Rubat C., Duroux E., Lartigue C., Madesclaire M., Coudert P. New 3- and 4-hydroxyfuranones as anti-oxydant and anti-inflammatory agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4552-4564.
197. Villalobos A., Blake J.F., Biggers C.K., Butler T.W., Chapin D.S., Chen Y.L., Ives J.L., Jones S.B., Liston D.R., Nagel A.A., Nason D.M., Nielsen J.A., Shalaby I.A., White W.F. Novel benzisoxazole derivatives as potent and selective inhibitors of acetylcholinesterase. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2721-2734.
198. (a) Hewawasam P., Ding M., Chen N., King D., Knipe J., Pajor L., Ortiz A., Gribkoff V.K., Starrett J. Synthesis of water-soluble prodrugs of BMS-191011: a maxi-K channel opener targeted for post-stroke neuroprotection. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1695-1698 ; (b) Ichikawa T., Kitazaki T., Matsushita Y., Yamada M., Hayashi R., Yamaguchi M., Kiyota Y., Okonogi K., Itoh K. Optically active antifungal azoles. XII. Synthesis and antifungal activity of the water-soluble prodrugs of 1-[(1*R*,2*R*)-2-(2,4-difluorophenyl)-2-

hydroxy-1-methyl-3-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-3-[4-(*1H*-1-tetrazolyl)phenyl]-2-imidazolinone. *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, *49*, 1102-1109.

199. Bedford C.D., Harris R.N., Howd R.A., Goff D.A., Koolpe G.A., Petesch M., Miller A., Nolen H.W., Musallam H.A., Pick O.R.O, Jones A.D.E., Koplovitz I., Sultans W.E. Quaternary salts of 2-[(hydroxyimino)methyl]imidazole. 2. Preparation and in vitro and in vivo evaluation of 1-(alkoxymethyl)-2-[(hydroxyimino)methyl]-3-methylimidazolium halides for reactivation of organophosphorus-inhibited acetylcholinesterases. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 493-503.

200. Nam N.H., Sardari S., Selecky M., Parang K. Carboxylic acid and phosphate ester derivatives of fluconazole: synthesis and antifungal activities. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 6255-6269.

201. Bentley A., Butters M., Green S.P., Learmonth W.J., MacRae J.A., Morland M.C., O'Connor G., Skuse J. The discovery and process development of a commercial route to the water soluble prodrug, fosfluconazole. *Org. Process Res. Dev.* **2002**, *6*, 109-112.

202. (a) Maerten E., Hassouna F., Couve-Bonnaire S., Mortreux A., Carpentier J.F., Castanet Y. Direct synthesis of benzoylpyridines from chloropyridines via a palladium-carbene catalyzed carbonylative Suzuki cross-coupling reaction. *Synlett* **2003**, 1874-1876 ; (b) Maerten E., Sauthier M., Mortreux A., Castanet Y. Palladium-*N*-heterocyclic carbene an efficient catalytic system for the carbonylative cross-coupling of pyridine halides with boronic acids. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 682-689.

203. Cross P.E., Dickinson R.P., Parry M.J., Randall M.J. Selective Thromboxane synthetase inhibitors. 3. *1H*-imidazol-1-yl-substituted benzo[*b*]furan-, benzo[*b*]thiophene-, and indole-2- and -3-carboxylic acids. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 1637-1643.

204. Norlander J.E., Catalane D.B., Kotian K.D., Stevens R.M., Haky J.E. Synthesis of indoles from *N*-(trifluoroacetyl)-2-anilino acetals. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 778-782.

205. Pour un aperçu bibliographique sur la lithiation sélective en position 2 : (a) Mahboobi S., Uecker A., Sellmer A., Cenac C., Hoher H., Pongratz H., Eichhorn E., Hufsky H., Trumpler A., Sicker M., Heidel F., Fischer T., Stocking C., Elz S., Bohmer F. D., Dove S. Novel bis(*1H*-indol-2-yl)methanones as potent inhibitors of FLT3 and Platelet-Derived Growth Factor receptor tyrosine kinase. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 3101-3115 ; (b) Bennasar M.L., Zulaica E., Tummers S. A synthetic entry to 2,3-fused ring indole derivatives by ring-closing metathesis reactions. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6283-6285 ; (c) Kuethe J.T., Wong A., Davies I.W. Effective strategy for the preparation of indolocarbazole aglycons and glycosides: Total synthesis of Tjipanazoles B, D, E, and I. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3721-3723 ; (d) Kuethe J.T., Davies I.W., Dormer P.G., Reamer R.A., Mathre D.J., Reider P.J. Asymmetric aza-Diels–Alder reactions of indole 2-carboxaldehydes. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 29-32.

206. Wager T.T. 2-(aminomethyl)indoles as histamine-3 receptor antagonists, their preparation, pharmaceutical compositions and use in therapy. US Pat. Appl. Publ. US 2006069087 publié le 12 septembre 2005.

Nom, Prénom : **GIRAUD Francis**

Titre : **Conception rationnelle, synthèse et évaluation de dérivés hétérocycliques azotés à activités antifongique et/ou antileishmanienne**

Title: **Design, synthesis and biological evaluation of aza-heterocyclic derivatives with potential antifungal and/or antileishmanial activities**

Résumé :

Les infections fongiques invasives (*C. albicans*, *A. fumigatus*) et les maladies parasitaires (*L. mexicana*) sont un problème majeur de santé publique. Une approche rationnelle a permis de préparer de nouveaux azolés.

Un modèle QSAR-3D basé sur des 3-(*1H*-imidazol-1-ylméthyl)indoles à activité antileishmanienne préparés au laboratoire ($0,3 < CI_{50} (\mu M) < 80$) a permis d'envisager 23 nouvelles molécules. Parmi celles-ci, 19 ont une CI_{50} de 2,3 à 6 μM .

En parallèle, la préparation d'inhibiteurs possédant un motif 2-phényl-1-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol greffé sur la position *N*-1 de l'indole a permis d'isoler un chef de file ($CI_{80} = 7$ nM, *C. albicans*). Cette série a été étendue par des substitutions en C-3. Un modèle de la cible a alors été construit par homologie afin d'envisager la fixation du pharmacophore en position C-5 pour mieux cibler les acides aminés du site actif. Quatre nouvelles familles d'azolés (pyridines, benzylamines, pipéridines et indoles) ont été préparées et testées.

Abstract :

Invasive fungal infections (*C. albicans*, *A. fumigatus*) and protozoan diseases (*L. mexicana*) are considered as a major health problem. New azole compounds have been designed using computational methods.

A 3D-QSAR model based on a former series of 3-(*1H*-imidazol-1-ylmethyl)indoles active against *Leishmania* parasites ($0.3 < IC_{80} (\mu M) < 80$) led us to design 23 original derivatives. 19 of them have an IC_{50} between 2.3 and 6 μM .

In parallel, preparation of inhibitors with a 2-phenyl-1-(*1H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol side chain on the *N*-1 indole nucleus led to a lead compound ($IC_{80} = 7$ nM, *C. albicans*). This series was extended with the introduction of various substituents on position C-3. A homology model of the target was built from *M. tuberculosis*-CYP51 which helped us to introduce pharmacophore to position C-5 to make specific interactions with amino acids of the active site. Four original azoles families (pyridines, benzylamines, piperidines and indoles) have been prepared and tested.

Mots clés :

Candida albicans, *Aspergillus fumigatus*, *Leishmania mexicana*, lanostérol 14 α -déméthylase, indole, imidazole, triazole, micro-ondes, QSAR-3D, homologie comparative, docking, scoring.

Keywords :

Candida albicans, *Aspergillus fumigatus*, *Leishmania mexicana*, Lanosterol 14 α -demethylase, indole, imidazole, triazole, microwaves, 3D-QSAR, homology model, docking, scoring.

Adresse de l'auteur :

Laboratoire de Chimie Thérapeutique, BioCiT UPRES EA1155
Nantes Atlantique Universités
U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques
1, rue Gaston Veil
F-44035 NANTES Cedex 01