N° d'ordre : **ANNÉE 2015**

THÈSE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Européenne de Bretagne

En Cotutelle Internationale avec
l'Université Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire

pour le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1

Mention : Chimie

Ecole doctorale "Sciences de la matière"

présentée par

Camille Déliko DAGO

Préparée à l'unité de recherche : UMR CNRS 6226, ICMV
Ingénierie Chimique et Molécules pour le Vivant
UFR : Sciences et Propriétés de la Matière

Développement synthétique d'une nouvelle librairie de 5-arylidène rhodanines sous irradiation micro-onde et d'analogues du SKF-96365 comportant des plateformes pyrazole, rhodanine et leurs évaluations biologiques.

Thèse soutenue à l'Université de Rennes 1, Campus de Beaulieu le 17 Décembre 2015

devant le jury composé de :

Paul-Alain JAFFRÈS
Professeur, Université de Bretagne Occidentale UBO / *Rapporteur*

Sylvain ROUTIER
Professeur, Université d'Orléans / *Rapporteur*

Jean-Pierre HURVOIS
Professeur, Université de Rennes 1 / *Examinateur*

Jean-Pierre BAZUREAU
Professeur, Université de Rennes 1 / *Directeur de thèse*

Yves-Alain BEKRO
Professeur, Université Nangui Abrogoua Abidjan-Côte d'Ivoire / *Co-Directeur de thèse*

La crainte de l'Éternel est le commencement de la science...
...connaître Celui qui est Saint procure l'intelligence.

Proverbes 1.7a; 9.10b

À toi Éternel, mon soutien et ma force.

Je veux bénir Ton nom Seigneur Jésus-Christ, pour m'avoir fait la grâce de Te connaître et de placer en Toi ma confiance. Je veux témoigner de Ta bonté et de Ta fidélité.

À toi la louange et la gloire pour des siècles et des siècles. Amen.

À mes deux fils chéris, Gnoupalé Chaï et Gnoupalé Gad, ma fierté. Merci
pour tout le bonheur que vous m'apportez, maman vous aime de tout son cœur.

À Ismaël, mon merveilleux mari, mon meilleur ami et mon coach, merci pour ton soutien et surtout pour tout l'amour et la joie que tu me donnes. Je bénie le Seigneur pour ta présence dans ma vie. Je t'aime.

À ma mère Lucie DAGO, que notre Seigneur et Sauveur Jésus-Christ te garde et te bénisse pour toute l'affection et l'amour dont tu m'entoures.

À toute ma famille, pour son soutien et de façon particulière à ma petite sœur Andrée et mes deux grands frères Bleigo et Honoré.

Sommaire

Remerciements ix

Principales abréviations et acronymes xi

Glossaire xv

INTRODUCTION GÉNÉRALE 1

PARTIE 1: GÉNÉRALITÉS 7

CHAPITRE 1: CIBLES BIOLOGIQUES 9

I. LES PROTEINES KINASES (PK) 11

1. Les généralités 11

1.1. Les tyrosines kinases (TKs) 14

1.2. Les Sérine/Thréonine protéines kinases (S/TKs) 14

1.3. Les autres familles de protéines kinases 16

2. Les protéines kinases ciblées pour notre étude 16

2.1. Les Caséines Kinases 1δ et 1ε (CK1δ/ε) 16

2.2. La Dual-specificity tyrosine regulated kinase 1A (DYRK1A) 18

2.3 La Cdc2-Like Kinase 1 (CLK1) 19

2.4. Les Glycogène Syntase Kinase-3α et β (GSK-3α/β) 20

2.5. Les Kinases Dépendantes des Cyclines (CDKs) 22

2.5.1. Fonctions biologiques des CDKs 22

2.5.2. La régulation des CDKs 23

2.5.3. Les CDK2, CDK5, CDK9 24

2.6. L'AURora Kinase B (AURKB) 26

2.7. La Receptor-Interacting Protein Kinase 3 (RIPK3) 26

2.8. La kinase Haspin 27

2.9. La Proto-Oncogène Sérine/Thréonine Kinase (PIM-1) 28

2.10. Les protéines kinases d'origine parasitaires (*Pf*GSK-3, *Lm*CK1 et *Ld*TLK) 29

3. Les inhibiteurs de protéines kinases et thérapeutiques 32

3.1. Les inhibiteurs de CK1δ/ε 34

3.2. Les inhibiteurs de DYRK1A 35

3.3. Les inhibiteurs de CLK1 36

3.4. Les inhibiteurs de GSK-3α/β 38
3.5. Les inhibiteurs des CDKs 40
3.6. Les inhibiteurs d'Aurora B 43
3.7. Les inhibiteurs de RIPK3 43
3.8. Les inhibiteurs de Haspin 44
3.9. Les inhibiteurs de PIM-1 45
3.10 . Les inhibiteurs des kinases parasitaires *Pf*GSK-3, *Lm*CK1 et *Ld*TLK 45
II. LES CANAUX SOCEs 46
1. Les canaux ioniques 46
1.1. L'activation des canaux ioniques 48
1.2. La sélectivité du canal 48
1.3. Le fonctionnement des canaux ioniques et pathologies 48
2. Les SOCEs 50
2.1. L'activation des SOCEs 51
2.2. Le rôle des SOCEs et les dérégulations pathologiques 51
2.3. La pharmacologie des SOCEs 52
CHAPITRE 2: PRINCIPALES MALADIES VISÉES 51
I. LA MALARIA 57
1. Du marais à la réalité du *Plasmodium* 57
2. Le *Plasmodium* et le cycle parasitaire 57
2.1. Les *Plasmodiums* pathogènes pour l'homme 57
2.2. Le cycle parasitaire 58
2.2.1. Le cycle asexué ou schizogonie chez l'homme 59
2.2.1.1. La schizogonie exo-érythrocytaire ou hépatique 59
2.2.1.2. La schizogonie endo-érythrocytaire 60
2.2.2. Le cycle sexué ou sporogonie chez l'anophèle 60
3. Les différentes formes d'accès palustre et les symptômes 60
3.1. La forme simple 61
3.1.1. L'accès palustre de primo-infection 61
3.1.2. L'accès palustre à fièvre périodique 61
3.2. La forme grave 62
4. L'épidémiologie et l'impact socio-économique 62

4.1. L'épidémiologie 62
4.2. L'impact socio-économique 64
5. La prévention et les traitements 64
5.1. La prévention 64
5.1.1. La lutte anti-vectorielle 65
5.1.2. La chimio-prophylaxie médicamenteuse 65
5.2. Le diagnostic et les traitements 66
5.2.1. Le diagnostic 66
5.2.2. Le traitement curatif 67
6. Les phénomènes de résistances 68
6.1. La résistance aux insecticides 68
6.2. La résistance aux médicaments 69
7. Les perspectives de traitement et la recherche vaccinale 71
7.1. Les perspectives de nouvelles thérapeutiques antimalariques 71
7.2. L'approche vaccinale 73
8. Quelques mots sur la Leishmaniose, une autre pathologie ciblée proche de la malaria 73
8.1. La transmission, les symptômes et les différents types de Leishmaniose 75
8.2. Le traitement et la prévention 76
II. LE CANCER 78
1. La naissance et les différentes phases d'un cancer 79
2. Les cancérogènes et les facteurs de risque du cancer 80
3. Le dépistage et le traitement 81
3.1. La chirurgie 81
3.2. La radiothérapie 82
3.3. La médecine oncologique 82
3.3.1. La chimiothérapie 82
3.3.1.1. Les inhibiteurs de la synthèse en amont de l'ADN 83
3.3.1.1.2. Les antimétabolites 83
3.3.1.1.2. Les inhibiteurs de topoismérases I et II 84
3.3.1.2. Les antinéoplasiques à action directe sur l'ADN 85
3.3.1.2.1. Les alkylants 85
3.3.1.2.2. Les intercalants 87

3.3.1.2.3. Les agents scindants 88
3.3.1.3. Les poisons du fuseau mitotiques en aval de l'ADN 88
3.3.1.3.1. Les vinca-alcaloïdes 88
3.3.1.3.2. Les taxanes et les épothilones 89
3.3.2. L'hormonothérapie 89
3.3.3. L'immunothérapie 90
3.3.4. La greffe de cellules souches du sang 91
3.3.5. La thérapie génique 91
3.3.6. Les traitements ciblés ou "biochimiothérapie" 92
3.3.6.1. Les anticorps monoclonaux 92
3.3.6.2. Les inhibiteurs de protéines kinases 93
3.3.6.2.1. Les inhibiteurs des tyrosines kinases 93
3.3.6.2.2. Les inhibiteurs de sérines/thréonines kinases 95
3.3.6.3. Les inhibiteurs de l'angiogénèse 95
3.3.6.4. Les nouvelles stratégies thérapeutiques 96
CHAPITRE 3: GÉNÉRALITÉS SUR LES MICRO-ONDES ET MATÉRIÉL ET MÉTHODES 99
I. MÉTHODE DE SYNTHÈSE PAR IRRADIATION MICRO-ONDE (MO) 101
1. Historique 101
2. Nature et caractéristiques de la micro-onde 101
3. Principe du chauffage et différents modes d'irradiation 103
4. Quelques avantages des MO 103
II. MATÉRIEL 104
1. Synthèse 104
1.1. Fours micro-ondes 104
1.1.1. Anton Paar Monowave® 300 104
1.1.2. Explorer 24 CEM® microwave reactor 105
1.2. Autres matériels participant à la synthèse 105
2. Chromatographie 106
3. Analyses 106
4. Point de fusion et schémas 108
5. Tests biologiques 108

PARTIE 2: TRAVAUX RÉALISÉS 109

CHAPITRE 1: SYNTHÈSE DE 5-ARYLIDÈNES RHODANINES 111

Introduction 113

I. GÉNÉRALITÉS SUR LES RHODANINES 113

1. Intérêt thérapeutique des 5-arylidènes rhodanines 113

2. Voies de synthèse des dérivés de 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones 116

2.1. Condensation de Knoevenagel 116

2.2. Voies de synthèse des rhodanines substituées en N-3 117

2.2.1. Route de la thio-urée 118

2.2.2. Voie de l'éthylxanthogénate 118

2.2.3. Voie du *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate 118

2.2.4. Voie de l'isothiocyanate 119

2.2.5. Voie du dithiocarbamate 120

2.3. Autres méthodes de synthèse des dérivés 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones 120

2.3.1. Par la réaction de Wittig 120

2.3.2. Par synthèse "one-pot" à trois composants 121

2.3.3. À partir d'un époxyde 121

II. TRAVAUX ANTÉRIEURS SUR LES RHODANINES AU LABORATOIRE ET OBJECTIF DE L'ÉTUDE 122

1. Contexte du travail 124

2. Objectif de l'étude 127

III. RÉSULTATS: SYNTHÈSE DES 5-ARYLIDÈNE RHODANINES DYSSYMÉTRIQUES 128

1. Monoprotection de la 1,4-diaminobutane 129

2. Synthèse des fragments (arylméthyl)aminobutyles 129

2.1. Synthèse d'arylaldimines à partir de la diamine mono-protégée 129

2.2. Réduction des imines 131

2.3. Déprotection des amines 131

3. Synthèse de 5-arylidène rhodanine par réaction "one-pot two-steps" à 3 composants sous irradiation micro-onde 132

Conclusion 135

CHAPITRE 1: PARTIE EXPÉRIMENTALE 137

CHAPITRE 2: SYNTHÈSE D'ANALOGUES DU SKF-96365 COMPORTANT DES PLATEFORMES PYRAZOLE ET RHODANINE (1) 161

Introduction 163

I. SKF-96365 163

II. PLATEFORMES RHODANINES ET PYRAZOLES 165

1. Propriétés biologiques des pyrazoles 165

2. Voies d'obtention de dérivés pyrazoliques 167

3. Objectif du travail 169

III. SYNTHÈSE D'ANALOGUES DU SKF-96365 AVEC UNE PLATEFORME PYRAZOLE 170

1. Synthèse des 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones 12(a-d) 171

2. Réduction des 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones 12(a-d) 172

3. Ethérification et salification des 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol 13(a-d) 174

IV. PRÉPARATION D'ANALOGUES DU SKF 96365 OPTIQUEMENT ACTIFS 178

1. Résolution de l'alcool (±)-1-(4-Méthoxyphényl)-2-(1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol 178

2. Préparation de sels de pyrazolium optiquement actifs 183

V. SYNTHÈSE DES ANALOGUES DU SKF-96365 AVEC UNE PLATEFORME RHODANINE 184

Conclusion 187

CHAPITRE 2: PARTIE EXPÉRIMENTALE 189

CHAPITRE 3: SYNTHÈSE D'ANALOGUES DU SKF-96365 COMPORTANT DES PLATEFORMES PYRAZOLE ET RHODANINE (2) 209

Introduction 211

I. SYNTHÈSE D'ANALOGUES AVEC UNE PLATEFORME PYRAZOLE 212

1. Alkylation du 2-(4-hydroxyphényl)éthanol 26 213

2. Mésylation des 2-(4-phénylalkyloxyphényl)éthanols 27 214

3. Synthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazoles 216

3.1. Synthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazoles (méthode 1) 216

3.1.1. Synthèse des sels sodés de pyrazole 29 216

3.1.2. Préparation des 1-aryl-1*N*-pyrazoles à partir des sels de pyrazoles isolés 216
3.2. Synthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazoles (méthode 2) 219
II. SYNTHÈSE D'ANALOGUES AVEC UNE PLATEFORME RHODANINE 221
1. Méthodes courtes 221
1.1. Essais 1 221
1.2. Essai 2 222
2. Méthode longue 223
2.1. Protection de la fonction amine de la tyramine 31 224
2.2. Préparation des 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamates de *tert*-butyle 35 224
2.3. Déprotection des 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamates de *tert*-butyle 35 225
2.4. Préparation des 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amine 37(b-d) par neutralisation 226
2.5. Synthèse des 3-(4-(phénylalkyloxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones 227
3. Préparation des 5-aylidène rhodanines 228
3.1. Réaction de condensation sur la 3-(4-Hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one 228
3.2. Réaction de *O*-alkylation de la rhodanine (5*Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one 39 229
Conclusion 230
CHAPITRE 3: PARTIE EXPÉRIMENTALE 233
CHAPITRE 4: MÉTHODOLOGIES ET RÉSULTATS DES ANALYSES BIOLOGIQUES 267
Introduction 269
I. MÉTHODOLOGIE DES DIFFÉRENTS TESTS RÉALISÉS 269
1. Screening de l'inhibition de l'activité des protéines kinases 269
1.1. Isolation et purification des protéines kinases testées 270
1.1.1. Extraction et purification des protéines kinases natives 270
1.1.2. Extraction et purification des protéines kinases recombinantes: cas de DYRK1A 270
1.2. Méthodologie de criblage des composés testés 271
2. Test de l'activité anti-cancéreuse 273
2.1. Culture des cellules et ensemencement des plaques 274
2.2. Mise en contact avec la drogue et lecture de la plaque 274

3. Principe du test de modulation des flux SOCE 275
II. RÉSULTATS DES TESTS ET DISCUSSION 278
1. Dérivés 5-arylidène rhodanines 9(a-n) 278
2. 1ère série des analogues du SKF-96365 280
3. 2ème série des analogues du SKF-96365 282
3.1. Tests anticancéreux 282
3.2. Tests de modulation des influx SOCE 284
Conclusion 287
CONCLUSION GÉNÉRALE 289
ANNEXES 295

Remerciements

Ces travaux de thèse sont issus d'une cotutelle entre l'Université de Rennes 1 (France) et l'Université Nangui Abrogoua (Abidjan-Côte d'Ivoire). Au terme de ce long travail d'investissement, je tiens à adresser mes sincères remerciements:

❖ Au Professeur Jean-Pierre BAZUREAU, qui a conduit ses travaux de thèse au sein du laboratoire NoTeSo&CiT (Nouvelles Technologies de la Synthèse Organique et Cibles Thérapeutiques) de l'Université de Rennes 1 dont il est le directeur. Je voudrais vous signifier toute ma gratitude pour votre disponibilité, votre soutien, votre gentillesse, vos conseils et votre perpétuel engagement aux côtés de vos doctorants, dont j'ai eu l'opportunité de faire partie. Vous avez été pour moi un excellent "père scientifique" et très souvent un "père" tout court, vous souciant de mon bien-être et de mon épanouissement. Encore merci à vous et puisse le Seigneur vous bénir et vous garder.

❖ Au Professeur Yves-Alain BÉKRO, Directeur du Laboratoire LCBOSN (Chimie Bio-Organique et des Substances Naturelles) de l'Université Nangui Abrogoua (Abidjan-Côte d'Ivoire), dont j'ai le privilège de faire partie et qui a codirigé ses travaux de thèse réalisés en cotutelle. Je voudrais vous témoigner toute ma reconnaissance pour l'encadrement et l'accompagnement de qualité dont je bénéficie depuis le Master 2 à vos côtés. Par votre soutien sans faille, vos encouragements et votre confiance en mes capacités, vous avez toujours su tirer le meilleur de moi et me faire avancer. Puisse Dieu vous bénir et vous rendre au centuple tout votre investissement.

❖ Au Professeur Janat MAMYRBÉKOVA-BÉKRO, du Laboratoire LCBOSN de l'Université Nangui Abrogoua (Abidjan-Côte d'Ivoire), qui avait conduit nos travaux de stage pour le Master 2 au sein dudit laboratoire et dont le soutien indéfectible n'a jusqu'à ce jour pas faibli. Merci infiniment à vous pour votre accompagnement, vos conseils et votre affection.

❖ Aux Professeurs Paul-Alain JAFFRÈS de l'Université de Bretagne Occidentale UBO, Sylvain ROUTIER de l'Université d'Orléans et Jean-Pierre HURVOIS de l'Université de Rennes 1, pour avoir bien voulu me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse. Merci d'avance pour vos judicieux conseils et remarques.

❖ Au Docteur Olivier MIGNEN, Directeur de la plateforme "Canalopathies et Signalisation Calcique" de l'unité Inserm U1078 au CHU de Brest, où ont été testés certains des composés synthétisés au cours de ce travail, et son collaborateur Christophe BRIGAUDEAU. Merci à vous pour votre disponibilité et vos conseils et aussi pour m'avoir permis d'effectuer un stage en biologie au sein de votre laboratoire. Christophe, encore merci pour ta sollicitude et ta gentillesse et merci également à toute l'équipe de la plateforme pour leur accueil.

❖ Au Docteur Sandrine RUCHAUD, Directrice de la Station Biologique CNRS de Roscoff, où ont été testés nos composés pour l'activité inhibitrice de kinase. Merci encore à vous pour m'avoir accueillie au sein de votre laboratoire pour un stage de découverte et d'initiation au criblage biologique sur kinases. Mes remerciements vont également au Docteur Stéphane BACH, Béatrice JOSSELIN et Thomas ROBERT, pour la gentillesse et la disponibilité dont ils ont fait preuve au cours de ce stage et pour les précieuses informations qu'ils m'ont communiquées. Merci également à toute l'équipe de la station pour leur hospitalité.

❖ Au Docteur Rémy LEGUEVEL, Directeur de la plateforme ImPACcell de l'Université de Rennes 1 au Campus médical de Villejean où les tests anticancéreux de la présente étude

ont été réalisés. Merci à vous et votre collaboratrice Hélène SOLHI pour m'avoir permis de réaliser un stage au sein de votre laboratoire et pour votre disponibilité et votre sollicitude.

❖ Au Docteur Paul LEMAUX, qui m'a accompagnée et m'a aidé à la réalisation des tests de pureté optique par chromatographie chirale au sein de son laboratoire. Encore merci à vous pour votre disponibilité et votre gentillesse.

❖ À Philippe JÉHAN et son collaborateur Fabian LAMBERT pour l'analyse en spectrométrie de masse, Thierry ROISNEL pour la diffractométrie, Elsa CAYTAN pour les analyses RMN, Jacques PERROCHEAU pour la RMN et son aide en informatique.

❖ À tous les membres de l'équipe NoTeSo&CiT du groupe ICMV, Docteur Ludovic PAQUIN, Emmanuelle LIMANTON, Docteur Solène GUIHENEUF et Christelle AMBEU (doctorante au sein du laboratoire), ainsi que les anciens membres, Docteur Jean-Martial L'HELGOUALC'H (Post-Doc 2010-2013) et Docteur Karim COULIBALY (Thèse 2009-2012), pour leur précieuse contribution à ces travaux, leur gentillesse et leurs conseils.

❖ À tous les autres membres du groupe ICMV, Docteur Patrick BAUCHAT, Docteur Fabienne GAUFFRE, Docteur Jean-Luc FILLAUT, Docteur Huriye AKDAS-KILIG, Docteur Soizic CHEVANCE, Flavien SCIORTINO (Doctorant), Gérald CASTEROU (ancien membre, Thèse 2011-2014) pour leur bonne humeur et leur convivialité. À Daniel CARRIE, merci pour ton aide, ta bonne humeur et ta gentillesse.

❖ Aux membres du groupe ICMV, "voisins" du palier du dessous, Docteur Irène NICOLAS, Professeur Michèle BAUDY-FLOC'H, Professeur Dominique LORCY et Yann LEGAL, à qui j'allais de temps en temps "piquer" des informations et/ou des produits, un grand merci.

❖ À tous les autres membres du groupe ICMV, mes amis étudiants et doctorants et toutes les personnes rencontrées dans le cadre de ce travail et qui d'une façon ou une autre, ont contribué à rendre ces 3 années intenses de travail agréables.

❖ À mes oncles de Rennes ainsi que toute leurs familles, et de façon particulière à mon oncle Guy ZAMA et ma tante Sophie Rivoal pour l'affection et le soutien indéfectible dont ils m'entourent. Enfin à mes amis, entres autres ceux que j'ai eu le bonheur de rencontrer ici (Lydie, Myriam, Nathan, Prince, Fatou, Kamagaté, la famille Lambert, le couple Guillemot, tous les frères et sœurs de l'Église du Thabor) et à Abidjan (Nadia, Françine, Elvire, Esther, Danielle).

❖ Si vous venez de lire ces paragraphes et que vous n'avez pas vu votre nom, sachez néanmoins qu'il est présent avec tous les autres dans une mémoire plus fidèle, celle de mon cœur et que ce petit cœur vous dit encore à tous: **un grand merci!**

Principales abréviations et acronymes

2APB	2-Aminoéthoxydiphénylborane ou
ACT	Artemisin-based combination therapies
ADBT	Acide dibenzoyltartrique
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADPT	Acide di-p-toluoyl tartrique
AGC	Groupe contenant les protéines kinases PK**A**/PK**G**/PK**C**
Akt	Protéine kinase b (PKB)
ALS	Sclérose latérale amyotrophique
APP	Peptide β-amyloïde
ARN	Acide ribonucléique
ASF1	Anti-Silencing Function protein 1
ATP	Adénosine-5′-triphosphate
AURKB	Aurora Kinase B
BHT	Butylhydroxytoluène
Boc	*tert*-Butyloxycarbonyl
Ca	calcium
Cam	Ca^{2+}/calmodulin-dependent kinase
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDK	Cyclin-dependent Kinase
Cease	Pancreatic cholesterol esterase
CI_{50}	Concentration d'inhibition 50
CK	Caséine kinases
CKI	Casein Kinase Inhibitor
CLEC-2	C-type lectin-like receptor 2
CLK	Cdc2-Like Kinase
CMGC	Groupe contenant les protéines kinases **C**DK/**M**APK/**G**SK/**C**DK
CNRS	Centre national de la recherche scientifique
Conv.	Conversion
CPFP	Chromatographie préparative à faible pression
Cpsé	Composé
CRAC	Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel
CT	Computed Tomography
DHFR	Dihydrofolate réductase
DHPS	Dihydroptéroate synthétase
DICS	Déficit Immunitaire Combiné Sévère
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxide
DOA	Darkener of Apricot
DSP	Dual-specificity phosphatase
DYRK1A	Dual-specificity tyrosine regulated kinase 1A
eEF2	translation elongation factor 2
EGCG	Epigallocatechin-gallate

EGF	Epidermal Growth Factor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
EGTA	Ethylene Glycol Tetraacetic Acid
eIF-4E	Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E
eq./ équiv.	Équivalent
Erk	Extracellular signal-regulated kinase
FGF	Fibroblast Growth Factor
GNP	Gold NanoParticles
GSK	Glycogène Syntase Kinase
GST	Glutathion-S-Transférase
GYC	Guanylate Cyclase
Haspin	Haploid germ cell-specific nuclear Protein kinase
HEK 293	Human Embryonic Kidney 293
HER	Human EGF receptor related
HLA	Human Leucocyte Antigen
HPLC	High performance liquid chromatography
HPr	Histidine containing Protein
Hsp90	Heat shock protein 90
IFNAR1	Interferon (alpha, beta and omega) Receptor 1
IFNα/β	Voie de signalisation de l'interféron α/β
$Im_2C=S$	Thiocarbonyldiimidazole
IPK	Inhibiteurs de protéines kinases
IPTG	Isopropyl-β-D-thiogalactoside
IRM	Imagerie par résonance magnétique
ISM	Industriel, scientifique et médical
JSP-1	JNK-stimulating phosphatase-1
Kd	Constante de dissociation
KISSf	Kinase Inhibitory Specialized Screening facility
*Ld*Tlk	*Leishmania donovani* Tousled Like Kinase
LH-RH	Luteinizing Hormone Releasing Hormone
*Lm*CK	*Leishmania major* Casein kinase
MaPI	Malaria Proteases Inhibition
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinases ou MEK
mGluR	Récepteur métabotropique du glutamate
MLKL	Mixed Lineage Kinase domain-Like
MO	Micro-onde
MSMS	Tandem Mass Spectrometry
mTOR	Mammalian target of rapamycin
Orai 1	Calcium Release-Activated Calcium Modulator 1 - CRACM1
OSCC	Oral Squamous Cell Carcinoma
OTSCC	Oral tongue squamous cell carcinoma
PAR-1	Protease-Activated Receptor 1
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCT	Phase Transfer Catalysis
PDGF	Platelet Derivative Growth Factor

PDGFR	Platelet Derivative Growth Factor Receptor
PEP	Phosphoénolpyruvate
Pfcrt	Plasmodium falciparum chloroquine resistance transporter
PfENR	Plasmodium falciparum enoyl ACP reductase
PfGSK3	*Plasmodium Falciparum* Glycogen Synthase Kinase 3
PfMDR1	*Plasmodium falciparum* multidrug resistance 1 gene
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PIM	Proto-oncogène sérine/thréonine kinase (Proviral Insertion in Murine lymphoma
PK	Protéine kinase
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PKG	Protéine kinase G
Ppm	Parties par million
PTP-1B	Protéine-tyrosine phosphatase 1B
Rdt	Rendement
RE	Réticulum endoplasmique
RIPK	Receptor-Interacting Protein Kinase
RMCE	Receptor-Mediated Calcium Entry
RMN	Résonance magnétique nucléaire
Rpm	Round per minute
RSA	Relation Structure-Activité
RTK	Récepteurs à activité de Tyrosine Kinase
S/TK	Sérine / Thréonine protéines kinases ou Ser/Thr
SERCA	Sarco(Endo)plasmic Reticulum Calcium ATPase
SNC	Système nerveux central
SOCE	Store Operating Calcium Entry
SPECT	Single-Photon Emission Computed Tomography
STE	Homologs of sterile yeast
STIM1	STromal Interacting Molecule 1
STK15	Serine/Threonine Kinase-15
TA	Température ambiante
TBAB	Tetrabutylammonium bromide
TEP	Tomographie par Emission de Positon
TFA	Trifluoroacetic acid
THF	Tétrahydrofurane
TK	tyrosine kinase
TKL	Tyrosine-Kinase Like
TMS	Tétraméthylsilane
TNF	Tumor Necrosis Factor
Tps	Temps
TRPC	Transient receptor potential canonical
T-type LVA	T-type low-voltage-activated
UMR	Unité Mixte de Recherche
US	Ultrasons

UV	Ultraviolets
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VPH	Virus du papillome humain
YPTP1	Yeast Protein Tyrosine Phosphatase

Glossaire

Amyloïde: peptide néfaste pour le système nerveux et dont la présence sous forme d'agrégat est un signe caractéristique de la maladie d'Alzheimer.

Anthrax: maladie du charbon ou anthrax en anglais, provoquée par une bactérie, le "*bacillus anthracis*".

Antifolinique: qualifie ou désigne une substance qui inhibe l'action de l'acide folique (sens strict) ou la transformation par la dihydrofolate réductase de l'acide dihydrofolique en acide tétrahydrofolique, nécessaire à la synthèse de l'ADN (sens large).

ARN polymérase II: enzyme qui réalise la transcription de l'ADN pour produire l'ARN prémessager et l'essentiel des petits ARN nucléaires et des micro-ARN.

Calmoduline ou Cam: protéine capable de se lier aux ions Ca^{2+} à l'intérieur des cellules pour donner naissance au complexe calcium-calmoduline qui stimule l'activité de certaines protéines, nommées les "CaM Kinases" (protéines kinases sensibles au complexe calcium-calmoduline).

Centrosomale: lié au centrosome, centre organisateur des microtubules et donc responsable de la formation du fuseau mitotique microtubulaire lors de la division cellulaire, sur lequel se déplacent les chromosomes.

Cortex: désigne la couche superficielle ou périphérique d'un tissu organique.

Cystéine protéase: enzyme (peptidase) qui catalyse l'hydrolyse de certaines liaisons peptidiques de protéines.

Cytokinèse: division du cytoplasme dans les dernières phases de la méïose (production de cellules sexuelles ou gamètes pour la reproduction) et de la mitose (division cellulaire), pour former des cellules filles.

Développement neural: appelé aussi neurodéveloppement, il désigne la mise en place du système nerveux au cours de l'embryogenèse et son développement ultérieur chez un organisme animal.

Dystrophie de Duchenne ou myopathie de Duchenne: une maladie génétique provoquant une dégénérescence progressive de l'ensemble des muscles de l'organisme.

Entérocytaire: concerne la surface interne de l'intestin grêle, formé de diverses cellules dont des entérocytes.

Épissage: chez les eucaryotes (organismes à noyau), c'est un processus par lequel les ARN transcrits à partir de l'ADN génomique peuvent subir des étapes de coupure et ligature qui conduisent à l'élimination de certaines régions dans l'ARN final (qui sera ensuite traduit en protéine).

Érythrocytaire: a un lien avec l'érythrocyte, appelé encore hématie ou globule rouge.

Excitotoxicité: processus pathologique d'altération et de destruction neuronale ou neurotoxicité, par hyperactivation par l'acide glutamique et ses analogues (neurotransmetteurs excitateurs).

Expression ectopique: consiste à faire exprimer un gène dans une région extérieure à son domaine d'expression.

Fibroblastes: ce sont les cellules spécifiques du tissu conjonctif comme le derme de la peau, le chorion du tube digestif, les tendons ou la paroi des veines et des artères.

Fièvre bilieuse hémoglobinurique: complication rarissime du paludisme à *Plasmodium falciparum*. Elle est secondaire à un éclatement des globules rouges à l'intérieur des vaisseaux (hémolyse intra vasculaire).

Glycogénolyse: processus par lequel le glycogène présent dans le foie est transformé en glucose à destination du sang.

Glycolyse: processus au cours duquel le glucose est dégradé pour fournir de l'énergie.

Groupe HLA ou Human Leucocyte Antigen: il se défini par des antigènes à la surface des globules blancs et de toutes les cellules à noyaux de l'organisme. Il représente une carte d'identité des tissus d'une personne donnée, comme le groupe ABO-rhésus pour le sang.

Hélicase: protéines utilisant l'énergie d'hydrolyse de l'ATP ou du GTP (guanosine triphosphate) pour catalyser l'ouverture d'acides nucléiques (ADN ou ARN) appariés sous forme double brins.

Hémolymphe: liquide plus ou moins "équivalent au sang" sur le plan fonctionnel chez certains invertébrés. Il circule librement dans tout le corps alors que chez les hommes le sang circule dans des vaisseaux (les veines par exemple).

Hétéromultimérique: protéine composée de plusieurs sous-unités.

Hexokinase: enzyme qui catalyse la phosphorylation d'hexoses comme le D-glucose, le D-mannose et le D-fructose. Elle déclenche la glycolyse.

Hippocampe: structure du cerveau des mammifères jouant un rôle central dans la mémoire et la navigation spatiale.

Histone H3: c'est une des 5 principales protéines histones qui sont impliquées dans la structure de la chromatine chez les cellules eucaryotes.

Homéostasie: processus physiologique, permettant de maintenir certaines constantes du milieu intérieur de l'organisme (ensemble des liquides de l'organisme), nécessaires à son bon fonctionnement (entre les limites des valeurs normales).

Hyperalgésie: désigne une sensibilité excessive face aux maux physiques. Fait de ne pas pouvoir supporter la douleur, même la plus minime.

Hypertrophie cardiaque: connu également sous le nom de cardiomégalie, c'est un accroissement de la taille du cœur, qui est habituellement causé par un autre problème de santé.

Ischémie-reperfusion: situation que subie par des tissus irrigués par une artère terminale où la circulation est interrompue soit par manœuvre expérimentale (clampage de l'artère), soit par un mécanisme pathologique (spasme de l'artère ou obstruction par un caillot).

Isoformes: différentes formes prises par une protéine est issue de gènes différents.

Jurkat: lignée cellulaire immortalisée de lymphocyte T humain.

Kinétochores: Gros complexes multiprotéiques qui lient les centromères des chromosomes aux microtubules du fuseau mitotique au cours de la métaphase du cycle cellulaire.

Lysosyme: protéine rencontrée dans un certain nombre de sécrétions (larmes, salive, lait maternel, mucus...) et dans le blanc d'œuf, chez de nombreuses espèces d'animaux, dont les insectes et les acariens.

Maladie de Huntington: également dénommée chorée de Huntington, cette affection génétique et héréditaire conduit à la destruction des neurones de certaines régions cérébrales.
Microcéphalie primaire: dimension anormale de la tête (plus petite), habituellement associée au retard mental.

Motilité: qui réfère à la capacité de se déplacer spontanément ou par réaction à des stimuli et activement, en consommant de l'énergie lors du processus.

Myalgies: souffrance physique désagréable et pénible située au niveau des muscles striés.

Neurofibromatose: maladie génétique qui touche le système nerveux. Les personnes atteintes de cette maladie présentent des tumeurs non cancéreuses le long des trajets nerveux. Ces tumeurs s'appellent des neurofibromes.

Neurotoxine botulique: toxine possédant des propriétés neurotoxiques et sécrétée par *Clostridium botulinum*, la bactérie responsable du botulisme (toxi-infection alimentaire généralement contractée lors de la consommation de conserves et responsable de paralysies musculaires).

Nociception: fonction défensive, d'alarme. C'est l'ensemble des phénomènes permettant l'intégration au niveau du système nerveux central d'un stimulus douloureux via l'activation des nocicepteurs cutanés, musculaires et articulaires.

Peptidoglycane: il forme la paroi bactérienne des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, maintenant la forme des cellules et assurant une protection mécanique contre la pression osmotique.

Préséniline: protéine dont la mutation du gène est responsable de formes familiales de la maladie d'Alzheimer.

Prodromique: qui a rapport aux prodromes d'une maladie (symptômes avant-coureurs, généralement bénins, annoncent la survenue de la phase principale de cette maladie).

Protéine Period: protéine de l'horloge circadienne.

Réticulum endoplasmique (RE): organite présent dans les cellules eucaryotes et lié à la membrane nucléaire. Il modifie les protéines, produit des macromolécules et transfère des substances vers l'appareil de Golgi via des vésicules.

Réticulum sarcoplasmique: nom donné au réticulum endoplasmique lisse des cellules musculaires striées ou squelettiques, lisses et cardiaques.

Rythme circadien: rythme biologique d'une durée d'environ 24 heures.

Sclérose latérale amyotrophique (ALS): encore appelée maladie de Charcot, c'est une maladie neurodégénérative des motoneurones de l'adulte.

Splénomégalie: désigne une augmentation du volume de la rate.

Transférase: enzyme dont le rôle est de catalyser le transfert d'un groupe fonctionnel (par exemple un groupe éthyle ou phosphate) d'une molécule (appelée donneur) à une autre (appelée accepteur).

Tubuline α/β: dimères (α et β) formant les microtubules (fibres constitutives du cytosquelette).

Voie de hedgehog: intervient dans la bonne mise en place des organes durant le développement embryonnaire.

Wnt: famille de glycoprotéines intervenant dans l'embryogenèse et le cancer.

β-caténine: protéine jouant un rôle dans l'adhésion cellulaire, la signalisation cellulaire et la transcription des protéines.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La présente thèse est le fruit de la collaboration entre l'Université de Rennes 1 (France) et l'Université Nangui Abrogoua d'Abidjan (Côte d'Ivoire) à travers une cotutelle internationale. Il a été réalisé au sein du Laboratoire NoTeSo&CiT (Nouvelles Technologies de la Synthèse Organique et Cibles Thérapeutiques) du groupe ICMV (Ingénierie Chimique et Molécules pour le Vivant) de l'Institut des Sciences Chimiques de Rennes ISCR UMR CNRS 6226. Il a été codirigé par le Pr. BAZUREAU Jean-Pierre, Directeur du laboratoire NoTeSo&CiT (Rennes-France) et le Pr. BEKRO Yves-Alain, Directeur du Laboratoire de Chimie Bio-Organique et des Substances Naturelles (LCBOSN, Abidjan-Côte d'Ivoire). Les travaux ont porté essentiellement sur la synthèse organique, dont l'une des vocations est le développement de composés à visée thérapeutique d'origine empirique ou basés sur des modèles d'origine naturelle.

En effet, le potentiel thérapeutique de chaque médicament provient d'un ou de plusieurs principes actifs qui sont en fait des molécules chimiques, et qui soignent la maladie par leur action sur les cibles biologiques qui en sont la cause. Plusieurs motifs hétérocycliques participent à l'activité biologique de ces principes actifs, dont les hétérocycles à 5 chaînons azotés, soufrés et oxygénés.[1]

Au plan chimique, nous avons axé nos travaux sur la rhodanine et le pyrazole, deux hétérocycles d'intérêt biologique, aux fins de contribuer au développement de nouvelles familles de composés potentiellement actifs contre le cancer, la malaria et la leishmaniose. Le cancer et la malaria, pathologies très invalidantes, comptent parmi celles enregistrant la plus grande mortalité au niveau mondial, avec en 2014 pour la malaria, 584.000 décès et pour le cancer, 8,2 millions de décès en 2012.[2]

Au plan biologique, les protéines kinases et les canaux ioniques SOCE ont particulièrement retenu notre attention pour leur implication dans les maladies ciblées. Ces protéines kinases en effet, participent à la régulation de nombreux processus cellulaires tels que la prolifération, la survie, la migration et la différenciation.[3] Elles jouent donc un rôle essentiel dans le fonctionnement du vivant et une dérégulation de leur fonctionnement est souvent associée à de nombreuses pathologies incluant les cancers.[4] Concernant les maladies parasitaires (malaria et leishmaniose), la stratégie thérapeutique adoptée vise à tuer le parasite responsable de la maladie par inhibition de kinases essentielles à sa survie. Ainsi, les composés synthétisés seront testés sur un panel de quatorze (14) protéines kinases à savoir les CDKs (CDK5/p25, CDK2/Cyclin A, CDK9/Cyclin T), CLK1, DYRK1A, GSK3α/β, CK1δ/ε, PIM1, Aurora B, Haspin, RIPK3, *Ld*Tlk1, *Lm*CK1 et *Pf*GSK3α/β, ces 3 dernières étant des kinases parasitaires.

Dans le premier volet de l'étude, une première série de composés 2-thioxo-3,4-thiazolidine-4-ones dissymétriques renfermant un bras espaceur diaminé, sera développée *via* un procédé de synthèse à 6 étapes à partir de la diamine commerciale 1,4-diaminobutane (figure 1). L'activité pharmacologique de cette famille de rhodanines sera évaluée uniquement

---

1 Mentgen T., Steuer, C., Klein, C.D., *J. Med. Chem*. **2012**, *55*, 743-753.

2 a) Organisation Mondiale de la Santé (2015). Rapport sur le paludisme dans le monde 2014: résumé b) World Cancer Report 2014, IARC.

3 Graves J.D., Krebs E.G., *Pharmacol. Therapeutics* **1999**, 82(2), 111-121.

4 Christoffersen T.; Guren T.K.; Spindler K.-L.G.; Dahl O.; Lønning P.E.; Gjertsen B.T., *Eur. J. Pharmacol.* **2009**, *625* (1), 6-22. b) Cruzalegui F., *Annales Pharmaceutiques Françaises*; Elsevier, **2010**; *68*, 254-259. c) Warmuth M.; Damoiseaux R.; Liu Y.; Fabbro D.; Gray N., *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9* (25), 2043-2059.

vis-à-vis des protéines kinases suscitées et également testée sur certaines lignées cellulaires cancéreuses.

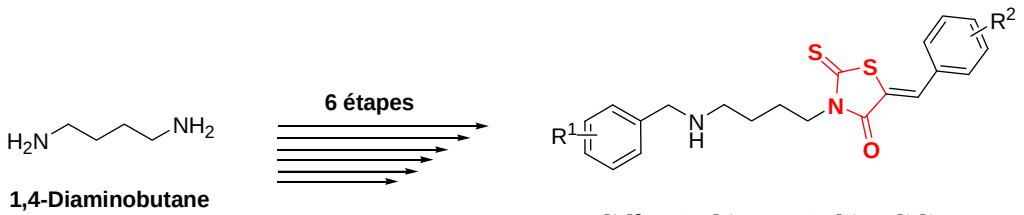


Figure 1: Travail envisagé pour la première partie de cette étude.

Le second volet de l'étude concernera les canaux ioniques SOCE, qui font l'objet d'un projet de recherche réalisé dans le cadre du Cancéropôle Grand Ouest et du réseau Canaux Ioniques "Ion Channel Network CGO". L'intérêt pour les canaux SOCE est lié au fait que leur défection est impliquée dans divers cancers tels que celui du sein[5] et de la prostate[6] et jusqu'à ce jour il n'existe aucun modulateur spécifique des influx SOCE, susceptible de pallier efficacement cette défection et d'aider ainsi à soigner la maladie. Les canaux SOCE (Store Operated Calcium Entry) sont en effet, les entrées calciques dépendantes des stocks intracellulaires, et sont essentiels pour l'homéostasie calcique et un fonctionnement efficace de la cellule.

Dans le but donc de développer une nouvelle famille de composés potentiellement actifs pour la modulation des influx SOCE, le SKF-96365 (Figure 2), un composé utilisé comme référence dans les tests d'inhibition des canaux SOCE, a été choisi comme modèle moléculaire. Au cours des recherches bibliographiques, nous avons constaté que certains auteurs (dans la littérature) se seraient trompés dans la représentation de la structure du SKF-96365. Vu que cette structure "erronée" présente certaines similarités avec le vrai SKF-96365, nous avons décidé d'y appliquer également la même étude que celle envisagée pour le SKF-96365 (Figure 2). Nous travaillerons donc sur les deux modèles moléculaires: la vraie structure du SKF-96365 et également la structure "erronée". Plusieurs nouvelles familles de composés analogues du SKF-96365 et renfermant des plateformes pyrazole et rhodanine seront à cet effet préparés (Figure 2). Différentes pharmacomodulations seront effectuées dans le but de réaliser une étude Relation Structure-Activité (RSA) autour du SKF-96365. Les analogues du SKF-96365 seront testés sur les canaux SOCE, les lignées de cellules tumorales et également sur les protéines kinases.

[5] a) Feng M.; Grice D.M.; Faddy H.M.; Nguyen N.; Leitch S.; Wang Y.; Muend S.; Kenny P.A.; Sukumar S.; Roberts-Thomson S.J., *Cell* **2010**, *143* (1), 84-98. b) Motiani R.K.; Abdullaev I.F.; Trebak M. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285* (25), 19173-19183.

[6] Flourakis M.; Lehen'Kyi V.; Beck, B.; Raphael M.; Vandenberghe M.; Abeele F.V.; Roudbaraki M.; Lepage G.; Mauroy B.; Romanin C., *Cell Death Dis.* **2010**, *1* (9), e75.

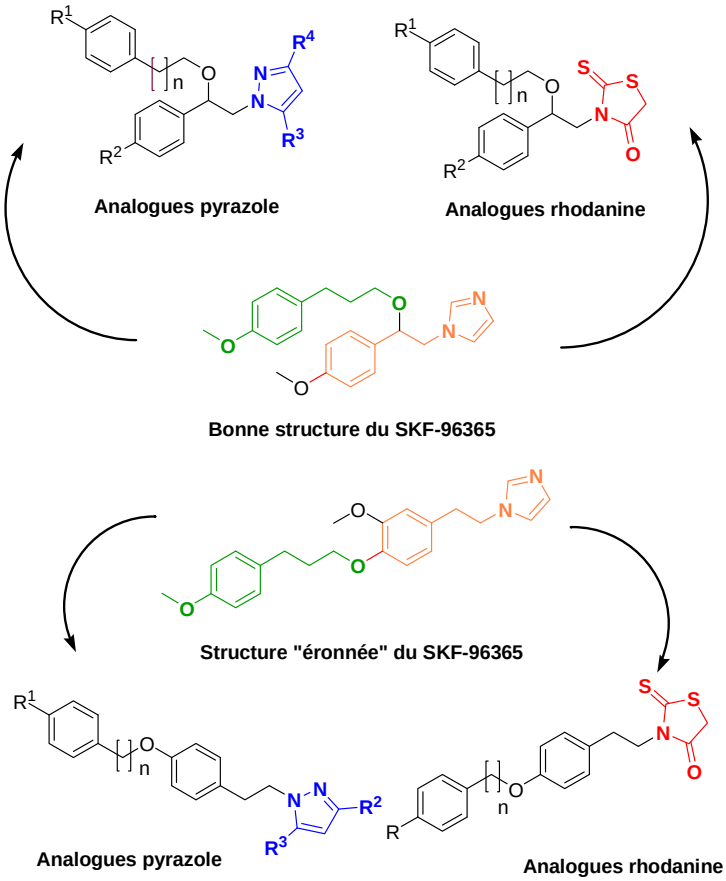


Figure 2: Travail envisagé pour la seconde partie de cette étude.

Ce manuscrit comporte deux parties, chacune se subdivisant en chapitres.

La partie 1 comprend trois chapitres consacrés aux généralités issues de la recherche bibliographique:

- Le chapitre 1 présentera les cibles biologiques à savoir les protéines kinases et les canaux SOCE, avec d'une part leur fonctionnement, leur régulation, de même que les conséquences pathologiques liées à leur dysfonctionnement, et d'autre part leur pharmacologie.
- Le chapitre 2 sera consacré au cancer, la malaria et la leishmaniose. Une revue bibliographique sera faite pour chacune de ces pathologies, laquelle présentera l'épidémiologie, les causes et les traitements actuellement utilisés.
- Dans le chapitre 3, nous présenterons quelques généralités sur la technologie micro-onde mise en œuvre pour la synthèse de certains composés, et également de façon succincte le matériel et les méthodes.

La partie 2 se compose de quatre chapitres consacrés aux résultats issus de cette étude:

- Le chapitre 1 présentera l'intérêt pharmacologique des rhodanines et des exemples de voies d'accès mentionnées dans la littérature, ainsi que certains travaux antérieurs issus de notre laboratoire sur ces composés. Nous présenterons ensuite la stratégie et les

voies de synthèse mises en œuvre pour la préparation des 5-arylidène rhodanines dissymétriques sous irradiation micro-onde.

- Le chapitre 2 portera sur la synthèse de la première série des analogues du SKF-96365 renfermant des plateformes pyrazole et rhodanine. Nous présenterons en outre, le modèle structural (SKF-96365) utilisé et nous insisterons brièvement sur l'intérêt du cycle pyrazole en chimie thérapeutique.
- Le chapitre 3 présentera la synthèse de la seconde série des analogues du SKF-96365, inspirée de la structure "erronée" et comportant des plateformes rhodanine et pyrazole.
- Le chapitre 4 sera consacré aux résultats issus des différentes analyses biologiques sur les protéines kinases, les lignées cellulaires cancéreuses et les canaux SOCE sélectionnés dans le cadre de cette étude.

***Remarques préliminaires**:*

Pour chaque chapitre, les références bibliographiques et la numérotation des figures, schémas, et tableaux sont indépendantes.

Tous les mots marqués d'un astérisque (*) sont définis dans le glossaire.

Les composés synthétisés ainsi que les différents intermédiaires sont les seuls à être identifiés par des chiffres en gras et la numérotation est continue pour tout le document. Les composés issus de la bibliographie sont référencés par une lettre majuscule et un chiffre, tous les deux en gras.

À la fin de chaque partie expérimentale, sont répertoriés tous les composés finaux synthétisés dans ladite partie.

PARTIE 1:
GÉNÉRALITÉS

CHAPITRE 1:

CIBLES BIOLOGIQUES

I. LES PROTEINES KINASES (PK)

1. Les généralités

Les kinases sont des protéines déterminantes dans le contrôle de la plupart des fonctions du vivant. Elles forment un groupe d'enzymes de la famille des transférases* impliquées dans un grand nombre de processus cellulaires, notamment dans les différentes voies de transduction du signal, dont elles sont des acteurs essentiels. En effet, la plupart des mécanismes de régulation intracellulaires impliquent des processus de phosphorylation/déphosphorylation assurés respectivement par les kinases et les phosphatases[1]. Les kinases ont pour rôle, la catalyse de la phosphorylation, qui consiste à transférer un groupement phosphate terminal de l'ATP vers un substrat qui peut être une protéine, un lipide, un sucre ou une autre kinase (Figure 1).

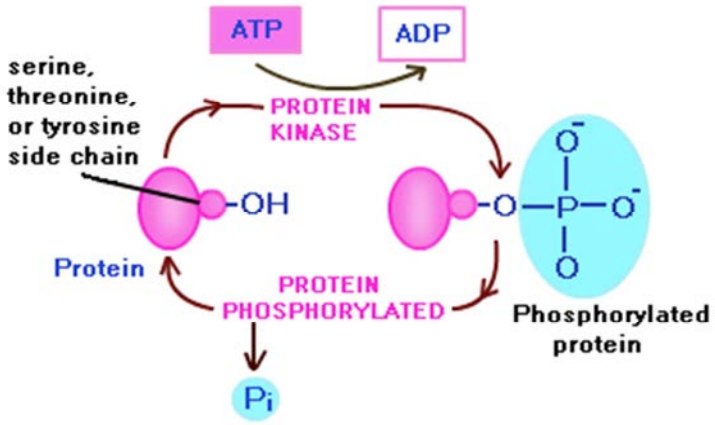


Figure 1: Phosphorylation d'une protéine.

Les protéines kinases appartiennent à une famille particulière de kinases. Ce sont des agents de phosphorylation des chaînes latérales d'acides aminés des protéines possédant une fonction hydroxyle (fonction alcool primaire aliphatique ou aromatique) comme la sérine, la thréonine et la tyrosine. La phosphorylation est un mécanisme classique de régulation chez les eucaryotes et a été mis en évidence pour la première fois grâce aux travaux de Krebs et Fischer au début des années 50[2]. Ce n'est seulement qu'au cours des années 70 que l'existence des protéines kinases et protéines phosphatases a été mise en exergue[3].

Les protéines kinases (PKs) participent à la régulation de nombreux processus cellulaires (prolifération, survie, migration et différenciation), jouant ainsi un rôle fondamental dans le fonctionnement du vivant.[4] Elles interviennent également dans le mécanisme en cascade de phosphorylation des protéines. En effet, ce mécanisme observé dans de nombreux cas, se traduit par le fait que l'activité de certaines kinases est contrôlée en amont par d'autres kinases donnant ainsi lieu à des interactions successives entre protéines

1 Hunter T., *Cell*, **1995**, *80*(2), 225-236.
2 Krebs E., Fischer E.H., *Biochim. Biophys. Acta.*, **1956**, *20*, 150-157.
3 a) Rubin C.S., Rosen O.M., *Annu. Rev. Biochem.* **1975**, *44*(1), 831-887 b) Krebs E.G., Beavo J.A., *Annu. Rev. Biochem.* **1979**, *48*(1), 923-959.
4 Graves J.D., Krebs E.G., *Pharmacol. Thera.* **1999**, *82*(2), 111-121.

kinases qui amplifient le signal membranaire. Le fonctionnement des protéines kinases est donc complexe car elles sont au cœur d'un réseau d'interactions avec d'autres protéines, en particulier avec d'autres kinases. Le dysfonctionnement d'une seule kinase pourrait entraîner donc de multiples autres complications (par effet domino) à la base de nombreuses pathologies.

De façon générale, la structure des PKs (Figure 2) est organisée en deux lobes: un lobe amino-terminal (N-terminal lobe) constitué majoritairement de feuillets β jouant un rôle important dans la fixation de l'ATP[5] et un lobe carboxy-terminal (C-terminal lobe) constitué majoritairement d'hélices α intervenant dans l'interaction avec le substrat qui est la protéine. Entre ces deux domaines, se trouve une zone de jonction appelée la "hinge region".

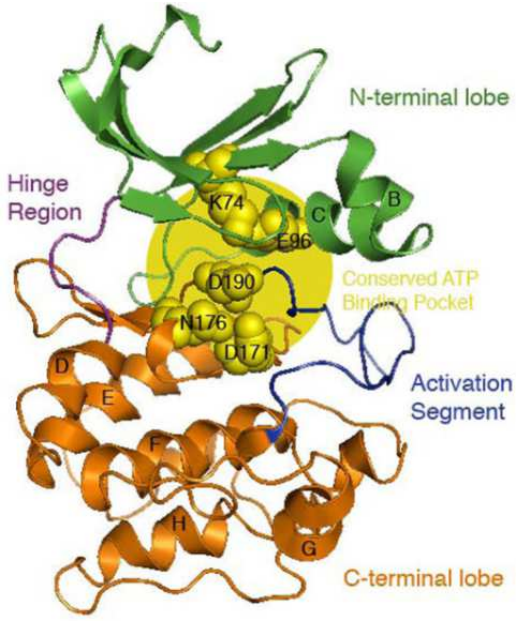


Figure 2: Structure générale des kinases.[6]

Les PKs comptent parmi les plus grandes familles de gènes chez les eucaryotes.[7] On n'en dénombre 518 pour le génome humain, denommé "kinome" par Manning et coll. depuis 2002.[8]

5 Taylor S.S., Radzio-Andzelm E., *Structure* **1994**, *2*, 345-55.

6 Izarzugaza J.M., Hopcroft L.E., Baresic A., Orengo C.A., Martin A.C., Valencia A., *BMC bioinformatics* **2011**, *12*(Suppl 4), S1. doi:10.1186/1471-2105-12-S4-S1

7 a) Manning G., Plowman G., Hunter T., Sudarsanam S., *Trends Biochem. Sci.* **2002**, 27, 514-520 b) Hunter T., Plowman G.D., *Trends Biochem Sci.*, 1997, 22, 18-22.

8 a) Hanks S.K., Hunter T., *FASEB J.* **1995**, *9*(8), 576-596 b) Manning G., Whyte D.B., Martinez R., Hunter T., Sudarsanam S., *Science* **2002**, *298*(5600), 1912-1934.

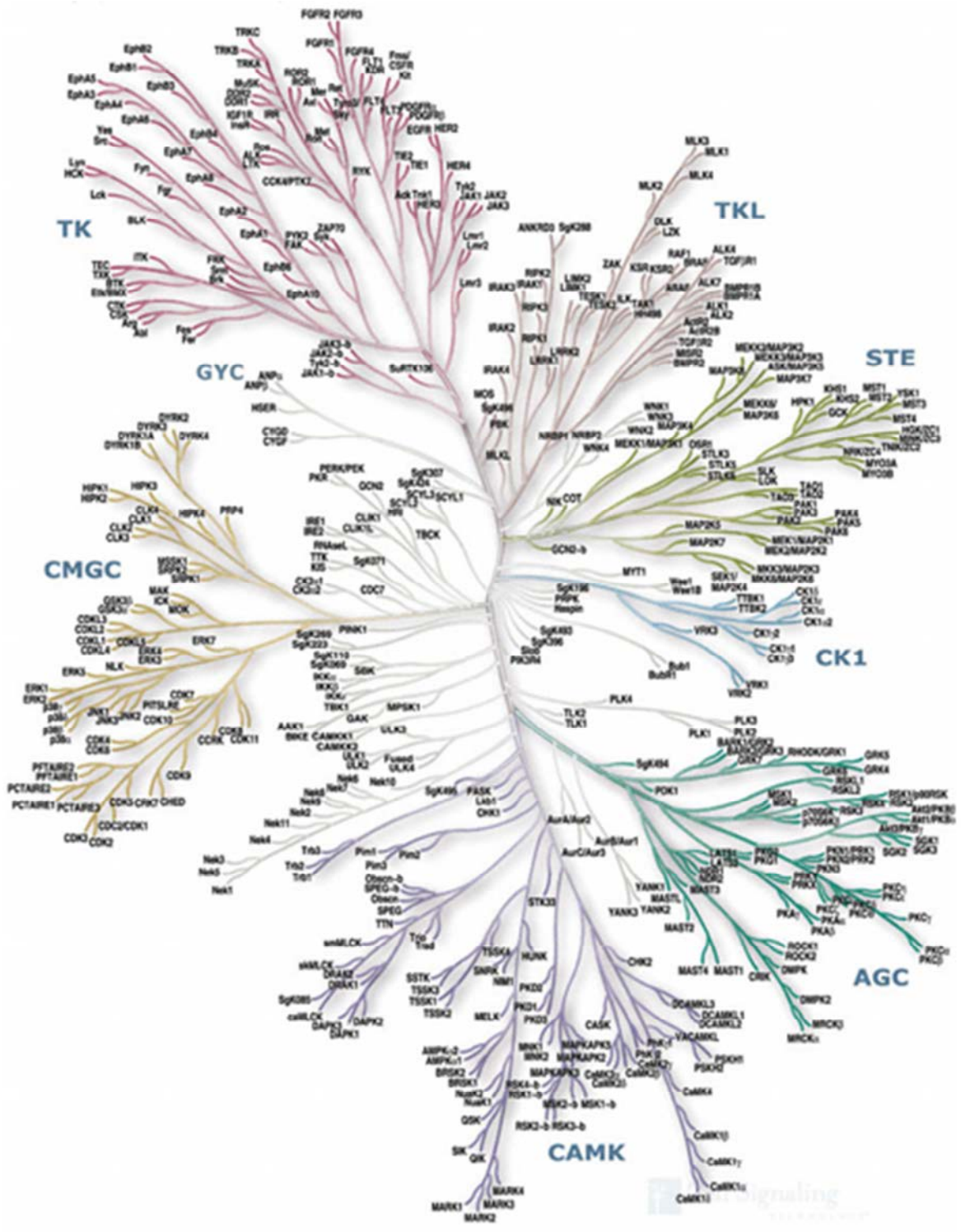


Figure 3: Dendrogramme des kinases humaines (kinome)[8b]: AGC (groupe contenant les protéines kinases PK**A**/PK**G**/PK**C**), CaMK (Ca^{2+}/calmodulin-dependent kinase), CK1(Casein Kinase 1), CMGC (groupe contenant les protéines kinases **C**DK/**M**APK/**G**SK/**C**DK), STE (homologs of sterile yeast -homologues de levure stériles), TKL (**T**yrosine **K**inase **L**ike), TK (**T**yrosine **K**inase), GYC (Guanylate Cyclase).

Leur classement peut se faire en fonction de plusieurs paramètres. Les PKs peuvent ainsi être classées selon la séquence du domaine catalytique des protéines[9] ou selon leur structure[10]. Cette classification peut être également envisagée en fonction de la localisation de ces PKs. Ils existent ainsi des PKs cytosoliques et des PKs membranaires qui présentent la propriété de récepteurs-enzymes. Une autre classification est possible en fonction de la nature du monoacide qu'elles phosphorylent.[8a] Il y a donc deux principales subdivisions au sein de la superfamille des PKs: les sérine/thréonine protéines kinases et les tyrosine protéines kinases.[8a]

1.1. Les tyrosines kinases (TKs)

Les Tyrosines Kinases (TKs) phosphorylent le groupement hydroxyle de certains résidus tyrosine de substrats protéiniques. On en décompte 90 chez l'homme[11] au nombre desquelles des TKs cytosoliques et des TKs membranaires présentant la propriété de récepteurs-enzymes:

- Les Tyrosines Kinases membranaires ou récepteurs à activité de Tyrosine Kinase (RTK): cette famille de kinases transmembranaires (localisées dans la membrane) comprend de nombreux récepteurs, entre autres ceux de plusieurs facteurs de croissance cellulaire protéinique (le facteur de croissance de l'épiderme l'EGF (Epidermal Growth Factor), le facteur de croissance des plaquettes le PDGF (Platelet-Derived Growth Factor), le facteur de croissance des fibroblastes* le FGF (Fibroblast Growth Factor) et le récepteur de l'insuline). Ce sont de petites protéines qui jouent un rôle important dans la communication entre les cellules ou les organes. Elles contrôlent de multiples étapes du développement embryonnaire, de la différenciation des tissus, de leur fonctionnement normal. Elles peuvent stimuler ou inhiber la prolifération cellulaire ou encore provoquer des effets indépendants de cette prolifération.

- Les Tyrosine Kinases cytosoliques (non-réceptrices): elles sont situées au niveau de la surface interne de la membrane plasmique. Elles interviennent dans différents processus cellulaires tels que la différenciation, la division cellulaire, la synthèse d'ADN, la migration cellulaire, l'activation lymphocytaire.

1.2. Les Sérine/Thréonine protéines kinases (S/TKs)

Les Ser/Thr protéines kinases phosphorylent le groupement hydroxyle de la chaîne latérale sur certains résidus d'acides aminés "sérine et/ou thréonine" de substrats protéiniques.

---

9 http://www.kinase.com/human/kinome consulté le 30-03-2015.

10 Cheek S., Zhang H., Grishin N.V., *J. Mol. Biol.* **2002**, *320*, 855-881.

11 Roskoski R., *Biochem. Biophys. Res. Com.* **2012**, *417*(1), 5-10.

Au nombre de 385[11], elles sont, à l'inverse des TKs, essentiellement cytoplasmiques. Elles se classent en plusieurs sous-groupes dont:

- Les protéines kinases C (PKCs): elles sont présentes dans tous les tissus, mais leurs isoformes au nombre de onze, réparties en trois groupes selon leur cofacteur et leur structure[12], ont des localisations distinctes. Elles sont impliquées dans plusieurs processus biologiques comme la désensibilisation des récepteurs, la régulation de la transcription, la médiation de la réponse immunitaire et la régulation de la croissance cellulaire.[13]

- Les S/TKs dépendantes des nucléotides cycliques: on distingue les protéines kinases A et G. La PKA a des fonctions de régulation des voies métaboliques et permet la régulation des grands flux tels que la glycogénolyse*, la glycolyse*. Elle joue également un rôle dans l'organisation du cytosquelette et dans le contrôle de la traduction de l'ARN en protéine.[13] La PKG quant à elle, est impliquée entre autres dans la régulation de la relaxation du muscle lisse, le métabolisme du sperme, la division cellulaire.

- Les protéines kinases dépendantes du couple Ca^{2+}/calmoduline: les protéines kinases Ca^{2+}/calmoduline dépendantes (CaM kinases) sont des enzymes présentes dans de nombreuses cellules dont l'activité est liée au Ca porté par la calmoduline*. Leur action concerne des organes variés mais principalement les muscles striés où elles agissent en synergie avec la protéine kinase A (PKA) dans le cadre de la contraction. Elles participent essentiellement au métabolisme énergétique.

- Les protéines kinases dépendantes de la cycline (CDKs): elles interviennent dans la progression des différentes phases du cycle de division cellulaire (phases G1, synthèse ADN, G2 et Mitose) en phosphorylant des facteurs de transcription, des protéines "anti-tumeurs" et d'autres protéines importantes de la réplication de l'ADN et de la division cellulaire. Les CDKs sont impliquées dans d'autres processus cellulaires tels que la régulation de la transcription, la différenciation et la mort cellulaire.[14]

- Les "Mitogen-Activated Protein Kinases" (MAPK): elles sont impliquées dans la régulation de plusieurs processus cellulaires comme la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire. Elles ont un rôle très important dans la transduction du signal chez les eucaryotes.

- Dans le groupe des S/TKs, sont comptés également les protéines kinases à double spécificité capables de phosphoryler aussi bien les résidus sérines et thréonines que tyrosines telles que les kinases MEK ou MAPKK (Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase).[11] Ces kinases participent à la régulation de plusieurs processus cellulaires tels que la prolifération, l'apoptose ou encore la différenciation.[11]

---

12 Jaken S., *Curr. Opin. Cell Biol.* **1996**, *8*(2), 168-173.

13 Newton A.C., *J. Biol. Chem.* **1995**, *270* (48), 28495-28498.

14 Knockaert M., Greengard P., Meijer L., *Trends Pharmacol. Sci*. **2002**, *23*, 417-425.

1.3. Les autres familles de protéines kinases

- Les protéines tyrosine-kinase like (TKLs): les TKLs présentent des similarités au niveau de la séquence avec les tyrosines kinases. Cependant, elles ne possèdent généralement pas le motif spécifique reconnu aux TKs. Tandis que les TKs phosphorylent essentiellement les résidus tyrosines des acides aminés cibles, les TKLs interagissent préférentiellement avec les résidus sérines et thréonines. Ce groupe de protéines kinases représente une importante partie des kinases des plantes (80%), lorsque chez l'homme elles sont minoritaires. On n'en dénombre que 43.

- L'HPr (Histidine containing Protein) kinase fait partie d'une nouvelle famille de sérine kinases dépendantes de l'ATP que l'on trouve essentiellement chez les bactéries Gram (+)[15]. L'HPr est impliquée dans le système de transfert de phosphate du phosphoénolpyruvate (PEP) vers les sucres.[16] Ce système permet de faire entrer des éléments nutritifs à l'intérieur de la cellule. Il catalyse la phosphorylation et le transport concomitant des sucres à travers la membrane cellulaire.

2. Les protéines kinases ciblées pour notre étude

Dans le cadre de la présente étude, certaines protéines kinases en particulier ont été ciblées sur la base des pathologies concernées par nos travaux et également de la disponibilité de ces kinases au sein du laboratoire partenaire (Station Biologique CNRS de Roscoff) pour les tests biologiques. Nous nous sommes intéressés ainsi à certaines protéines kinases impliquées notamment dans le cancer (programme "Canaux Ioniques et Cancer" du Cancéropôle Grand Ouest), la maladie d'Alzheimer et la trisomie 21 (programme TRIAD du FUI avec l'équipe du Dr Laurent Meijer de la société *ManRos Therapeutics*, Roscoff), la malaria et également dans la leishmania (Tableau 1). Il s'agit principalement de kinases de la famille des sérine/thréonine kinases appartenant aux sous familles des CK1 (CK1δ et ε), AGC (Aurora), CAMK (PIM 1) ou CMGC (DYRK1A, CLK1, GSK-3α et β, CDK2, CDK5 et CDK9), ainsi que les protéines kinase RIPK3 (sous famille des TKLs), Haspin et TLK du kinome humain (Figure 3).

2.1. Les Caséines Kinases 1δ et 1ε (CK1δ/ε)

Les protéines kinases CK1 ou caséines kinases 1 sont des sérine/thréonine protéines kinases, qui forment avec les caséines kinases 2 (CK2), la famille générale des caséines

[15] a) Hueck C.J., Hillen W., *Mol. Microbiol*. **1995**, *15*, 395-401. b) Saier M.H. Jr., *Res. Microbiol*. **1994**, *145*, 647-650. c) Fieulaine S., Morera S., Poncet S., Monedero V., Gueguen-Chaignon V., Galinier A., Janin J., Deutscher J., Nessler S., *EMBO J*. **2001**, *20*, 3917-3927.

[16] Reizer J., Saier M.H. Jr., Deutscher J., Grenier F., Thompson J., Hengstenberg W., *Crit. Rev. Microbiol.* **1988**, *15*, 297-338.

kinases. Cette famille de kinases se compose chez les vertébrés de 7 isoformes* qui sont CK1α, CK1α2, CK1δ, CK1ε, CK1γ1, CK1γ2 et CK1γ3, codés par 7 gènes.[17]

Les protéines kinases CK1 sont activement impliquées dans différents processus biologiques tels la régulation de la réparation de l'ADN, de la signalisation Wnt/β-caténine*, de la voie de Hedgehog*, du rythme circadien* et participent également au trafic membranaire et à la morphologie cellulaire[18]. Certains isoformes de CK1 interviennent également dans la mitose et ont une fonction anti-apoptotique (CKα), ou encore régulent la progression du cycle cellulaire (CK1δ)[17].

Les isoformes de CK1 qui nous intéressent spécialement dans le cadre de cette étude sont CK1δ et ε. Ces deux isoformes seraient directement impliqués dans les troubles du rythme circadien en plus de leurs autres fonctions. En effet, chez les mammifères, CK1δ et ε phosphorylent les protéines Period*, l'une des composantes clés de l'horloge circadienne*, provoquant leur dégradation.[19] La surexpression de CK1δ et ε se traduirait par l'accélération de cette horloge (chez le mammifère) dans le cerveau et la périphérie[18e]. CK1δ et ε sont également impliqués dans la biogenèse des petites sous-unités ribosomiques.

Concernant les conséquences sur la santé d'un dysfonctionnement de ces kinases, les CK1 sont impliquées dans plusieurs pathologies neurodégénératives telles que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, les troubles du sommeil ainsi que le cancer.[17,20]

De façon générale, les CK1s sont régulés par des modifications post-transcriptionnelles, en particulier par des phosphorylations ou par un traitement protéolytique. Il a été démontré pour les isoformes α, δ et ε que le domaine C-terminal est autophosphorylé, ce qui entraîne une inhibition de l'activité de la kinase[21]. Un clivage du domaine C-terminal accroît également l'activité de ces kinases[20]. Plusieurs autres mécanismes ont été identifiés comme régulant l'activité des CK1s, à savoir entre autres, la stimulation par l'insuline ou par transformation virale, le traitement des cellules avec des inhibiteurs des topoisomérases ou encore par γ-irradiation, conduisant à l'augmentation de l'activité kinase et/ou des taux de protéines[20]. Il a été récemment démontré également que l'hélicase* ATP-dépendante de l'ARN (DDX3) se liait à certains isoformes des CK1s (α, ε, δ, γ2) activant ainsi de façon allostérique le domaine kinase et déclenchant la signalisation Wnt/β-caténine.[22]

---

17 Schittek B., Sinnberg T., *Mol Cancer* **2014**, *13*, 231.

18 a) Perez D.I., Gil C., Martinez A., *Med. Res. Rev.* **2011**, *31*(6),924-954. b) del Valle-Pérez B., Arqués O., Vinyoles M., de Herreros A.G., Duñach M., *Mol. Cell. Biol.* **2011**, *31*(14), 2877-2888. c) Pooler A.M.; Usardi A.; Evans C.J.; Philpott K.L.; Noble W.; Hanger D.P., *Neurobiol. Aging* **2012**, *22*, 431.e27-431.e38. d) Gallego M.; Virshup D.M., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2007**, *8*, 139-148. e) Knippschild U., Gocht A., Wolff S., Huber N., Löhler J., Stöter M., *Cell. Signalling* **2005**, *17*(6), 675-689.

19 Meng Q.J., Logunova L., Maywood E.S., Gallego M., Lebiecki J., Brown T.M., Sladek M., Semikhodskii A.S., Glossop N.R., Piggins H.D., Chesham J.E., Bechtold D.A., Yoo S.H., Takahashi J.S., Virshup D M., Boot-Handford R.P., Hastings M.H., Loudon A.S., *Neuron* **2008**, *58*, 78-88.

20 Knippschild U., Wolff S., Giamas G., Brockschmidt C., Wittau M., WüRL P.U., Eismann T, Stöter M., *Oncol. Res. Treatm.* **2005**, *28*(10), 508-514.

21 a) Budini M., Jacob G., Jedlicki A., Pérez C., Allende C.C., Allende J.E., *J. Cell. Biochem.* **2009**, *106*(3), 399-408 b) Cegielska A., Gietzen K.F., Rivers A., Virshup D.M., *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*(3), 1357-1364. c) Graves P.R., Roach P.J., *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*(37), 21689-21694.

22 Cruciat C.M., Dolde C., de Groot R.E., Ohkawara B., Reinhard C., Korswagen H.C., Niehrs C., *Science* **2013**, *339*(6126), 1436-1441.

2.2. La Dual-specificity tyrosine regulated kinase 1A (DYRK1A)

Chez les mammifères, les DYRKs sont une famille de sérine/thréonine protéines kinases comptant 7 isoformes: DYRK1A, DYRK1B, DYRK1C, DYRK2, DYRK3, DYRK4A et DYRK4B. Ce sont des protéines kinases à double spécificité, c'est-à-dire phosphorylant aussi bien des résidus tyrosines que sérines/thréonines dans leur séquence et dans des substrats exogènes (Figure 4).

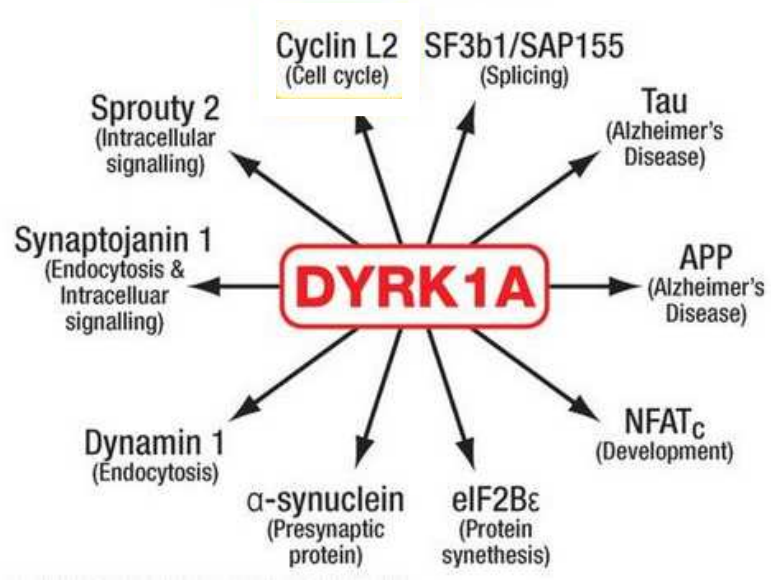


Figure 4: Protéines phosphorylées par DYRK1A.[23]

Au niveau de l'ARN, DYRK1A est exprimé dans de nombreux tissus fœtaux et adultes y compris le cerveau, le cœur, le poumon et le muscle squelettique.[24] Au niveau de la protéine, l'expression de DYRK1A chez l'homme a été étudiée principalement dans le système nerveux central, où il est détecté dans le cortex*, l'hippocampe, les amygdales, le thalamus et la substance noire.[25]

DYRK1A catalyse son autophosphorylation sur les résidus sérines/thréonines et tyrosines, mais phosphoryle les autres substrats seulement sur les résidus sérines ou thréonines. Elle joue un rôle important dans la prolifération des cellules, la régulation de la voie de signalisation et est impliqué dans le développement du cerveau.[26] Van Bon et coll. ont ainsi démontré que la suppression intragénique de cette protéine kinase a pour conséquence

---

23 Wiseman F.K., Alford K.A., Tybulewicz V.L., Fisher E.M., *Hum. Mol. Genet*. **2009**, *18*, R75-R83.

24 a) Guimera J., Casas C., Pucharcos C., Solans A., Domenech A., Planas A.M., Ashley J., Lovett M., Estivill X., Pritchard M.A., *Hum Mol Genet*. **1996**, *5*(9), 1305-10. b) Shindoh N., Kudoh J., Maeda H., Yamaki A., Minoshima S., Shimizu Y., Shimizu N., *Biochem. Biophys. Res. Com*. **1996**, *225*(1), 92-9. c) Song W.J., Sternberg L.R., Kasten-Sportes C., Keuren M.L., Chung S.H., Slack A.C., Miller D.E., Glover T.W., Chiang P.W., Lou L., Kurnit D.M., *Genomics* **1996**, *38*(3), 331-9.

25 Wegiel J., Kuchna I., Nowicki K., Frackowiak J., Dowjat K., Silverman W.P., Reisberg B., DeLeon M., Wisniewski T., Adayev T., Chen-Hwang M.C., Hwang Y.W., *Brain Res.* **2004**, *1010*(1-2), 69-80.

26 Fotaki V., Dierssen M., Alcantara S., Martinez S., Marti E., Casas C., Visa J., Soriano E., Estivill X., Arbones M.L., *Mol Cell Biol*. **2002**, *22*(18), 6636-47.

divers troubles tels qu'une arriération mentale ou encore une microcéphalie primaire*.[27] Le gène DYRK codant pour cette protéine chez l'homme est un homologue du gène mnb (minibrain) de *Drosophila* et du gène Dyrk chez le rat[24c]. Dans le syndrome de Down (ou Trisomie 21), il est localisé dans la région critique du chromosome 21, et est considéré comme un gène activement impliqué dans cette anomalie chromosomique.[24b,c] DYRK1A est également activement impliquée dans les maladies neurodégénératives. En effet, elle phosphoryle plusieurs protéines associées à ces maladies telles que les protéines tau, l'alpha-synucléine, la septin-4, la préséniline* ou le peptide β-amyloïde* (APP) et s'accumule dans les lésions amyloïdes.[28] En outre, en plus des pathologies déjà mentionnées, DYRK1A est liée entres autres à la maladie de Huntington* [28], à plusieurs types de cancer[29] et à l'hypertrophie cardiaque[30].

2.3 La Cdc2-Like Kinase 1 (CLK1)

Les protéines kinases CLKs forment une famille de kinases à double spécificité, capable de phosphoryler aussi bien des résidus sérines, thréonines que tyrosines. En particulier, elles s'autophosphorylent sur les résidus tyrosines, mais phosphorylent les autres substrats exclusivement sur les résidus sérines et thréonines.[31] Quatre isoformes les caractérisent: CLK1, CLK2, CLK3 et CLK4. L'isoforme CLK1 (cdc2-like kinase), a été une des premières kinases à double spécificité à être découverte.[32]

Bien que les CLKs soient impliqués dans la transduction du signal cellulaire, il existe peu d'informations sur leurs réelles fonctions biologiques. Cependant, une étude réalisée sur DOA (Darkener Of Apricot), l'homologue CLK chez la drosophile, a montré que les mouches exprimant de faibles niveaux d'émission de la protéine mutante DOA présentent des anomalies neurologiques et l'homozygotie pour l'allèle DOA nul est embryonnaire létale[33]. Les différents isoformes des CLKs présentent certaines fonctions biologiques qui leur sont propres. Par exemple chez l'homme, CLK1 est impliqué dans la différenciation neuronale[34], tandis que CLK2 régule l'épissage* de l'homologue de hTRA2béta[35] et que CLK3,

---

27 Van Bon B.W.M., Hoischen A., Hehir-Kwa J., de Brouwer A.P.M., Ruivenkamp C., Gijsbers A.C.J., Marcelis C.L., de Leeuw N., Veltman J.A., Brunner H.G., de Vries B.B.A., *Clin. Gen.* **2011**, *79*(3), 296-299.

28 Park J., Song W.J., Chung K.C., *Cell. Mol. Life Sci*. **2009**, *66*(20), 3235-40.

29 a) Baek K.H., Zaslavsky A., Lynch R.C., Britt C., Okada Y., Siarey R.J., Lensch M.W., Park I.H., Yoon S.S., Minami T., Korenberg J.R., Folkman J., Daley G.Q., Aird W.C., Galdzicki Z., Ryeom S., *Nature* **2009**, *459*(7250), 1126-30. b) de Wit N.J., Burtscher H.J., Weidle U.H., Ruiter D.J., van Muijen G.N., *Melanoma Res.* **2002**, *12*(1):57-69.

30 a) Kuhn C., Frank D., Will R., Jaschinski C., Frauen R., Katus H.A., Frey N., *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*(25), 17320-7. b) Raaf L., Noll C., Cherifi M., Benazzoug Y., Delabar J.M., Janel N., *Int. J. Cardiol*. **2010**, *145*(2), 306-307.

31 Nayler O., Stamm S., Ullrich A., *Biochem. J*. **1997**, *326*, 693-700.

32 a) Ben-David Y., Letwin K., Tannock L., Bernstein A., Pawson T., *EMBO J*. **1991**, *10*, 317-325. b) Howell B.W., Afar D.E., Lew J., Douville E.M., Icely P.L., Gray D.A., Bell J.C., *Mol. Cell Biol*. **1991**, *11*, 568-572. c) Johnson K.W., Smith K.A., *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 3402-3407.

33 Yun B., Farkas R., Lee K., Rabinow L., *Genes Dev.* **1994**, *8*, 1160-1173.

34 Myers M.P., Murphy M.B., Landreth G., *Mol. Cell. Biol.* **1994**, *14*(10), 6954-6961.

35 Stoilov P., Daoud R., Nayler O., Stamm S., *Hum. Mol. Gen.* **2004**, *13*(5), 509-524.

abondamment exprimé dans les spermatozoïdes adultes des souris, serait impliqué dans le processus de fertilisation[36].

CLK1 et CLK2 activent par phosphorylation la protéine-tyrosine phosphatase PTP-1B, qui est un important régulateur de la phosphorylation intracellulaire des protéines tyrosines, de même que son homologue YPTP1 chez les levures *S. Cerevisiae*.[37]

Selon Colwill et coll., CLK1 ou STY phosphorylerait également les protéines SR (Serine/arginine-Rich proteins), qui sont des protéines régulant l'épissage de l'ARN pré-messager et que cette phosphorylation participerait à la régulation de leur distribution intracellulaire[38], affectant ainsi l'épissage de l'ARN pré-messager[39]. Cependant, il a été démontré que si CLK1 affectait directement les protéines SR, il n'avait en revanche aucun impact sur les autres facteurs essentiels de l'épissage.[40]

2.4. Les Glycogène Syntase Kinase-3α et β (GSK-3α/β)

Les protéines kinases GSK-3α et β forment la famille des Glycogènes Syntases Kinase-3 (GSK-3) chez les mammifères. Un troisième isoforme, GSK-3β2 issu de l'épissage de GSK-3β, a été découvert par la suite dans le cerveau des rongeurs.[41] Ce sont des sérine/thréonine kinases dont l'une des premières fonctions biologiques reconnues a été la régulation du métabolisme du glycogène (la glycogène synthase) en réponse à l'insuline.[42]

Il a été également démontré que les GSK-3s seraient impliquées dans de nombreux autres processus cellulaires (voies de signalisation de l'insuline et Wnt, synthèse des protéines, régulation de la transcription des facteurs, développement embryonnaire, adhésion et prolifération cellulaires, tumorogénèse, mort neuronale, apoptose, rythme cicardien) chez les eucaryotes supérieurs [43].

La protéine kinase Cα (PKCα) et Akt phosphorylent conjointement GSK-3α et GSK-3β, provoquant ainsi leur inhibition, ce qui a pour conséquence une augmentation de la fonction plaquettaire[44]. Une récente étude à démontrer également que les CLEC-2 (C-type lectin-like receptor 2) régulent Akt et MAPK en aval de PI3K et de la PKC, ce qui conduit à la phosphorylation et l'inhibition de la GSK-3α/β et accroît l'agrégation et la sécrétion plaquettaires.[45]

---

36 Menegay H., Moeslein F., Landreth G., *Exp. Cell Res.* **1999**, *253*(2), 463-473.

37 Moeslein F.M., Myers M.P., Landreth G.E., *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 26697-26704.

38 Colwill K., Pawson T., Andrews B., Prasad J., Manley J.L., Bell J.C., Duncan P.I., *EMBO J.* **1996**, *15*, 265-275.

39 Duncan P.I., Stojdl D.F., Marius R.M., Bell, J.C., *Mol. Cell Biol.* **1997**, *17*, 5996-6001.

40 Prasad J., Colwill K., Pawson T., Manley J. L., *Mol. Cell Biol*. **1999**, *19*(10), 6991-7000.

41 Mukai F., Ishiguro K., Sano Y., Fujita S.C., *J. Neurochem.* **2002**, *81*(5), 1073-1083.

42 Cohen P., *Eur. J. Biochem* **1985**. *151*, 439-448.

43 Droucheau E., Primot A., Thomas V., Mattei D., Knockaert M., Richardson C., Sallicandro P., Alano P., Jafarshad A., Baratte B.,Kunick C., Parzy D., Pearl L., Doerig C., Meijer L., *Biochim. Biophys. Acta (BBA)-Proteins and Proteomics* **2004**, *1697*(1), 181-196.

44 Moore S.F., van den Bosch M.T.J., Hunter R.W., Sakamoto K., Poole A.W., Hers I., *J. Biol. Chem.* **2013,** *288*(6), 3918-3928.

45 Moroi A.J., Watson S.P., *J. Thromb. Haemost.* **2015**, *13*(6), 1139-1150.

La dérégulation de GSK-3 a été associée à diverses pathologies (Figure 5). La surexpression de GSK-3α et GSK-3β est notamment impliquée dans des cancers oraux humains. En effet, une inactivation progressive de GSK-3β dans les OSCC et en particulier dans les OTSCC a été observée, de même qu'une corrélation entre les expressions de $pS^{9}GSK3\beta^{*}$ et celles des protéines cycline D1 et p53 et la cycline D1 mRNA dans les cancers oraux humains et des échantillons de tissus de contrôle[46]. Selon Mishra et coll., l'expression de $pS^{9}GSK3\beta$ pourrait ainsi servir de marqueur afin d'évaluer la gravité de la maladie. La GSK-3β en particulier est impliquée dans les maladies neurodégénératives telle que la maladie d'Alzheimer. En effet, cette kinase est un acteur majeur de la phosphorylation de la protéine Tau, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*[47]. L'hyperphophorylation de cette protéine (Tau) a été associée à plusieurs maladies neurodégénératives dont la maladie d'Alzheimer.[48] Il a été rapporté que GSK-3 est également associée au diabète.[49]

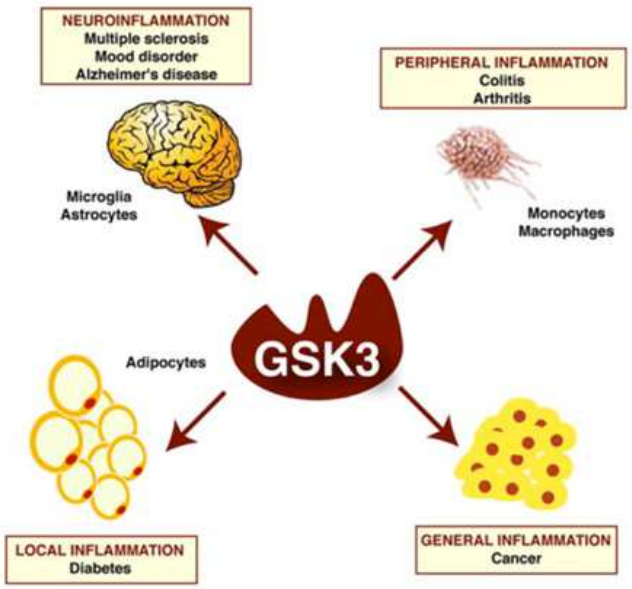


Figure 5: Pathologies ayant un lien avec une dérégulation de GSK-3.[50]

L'ensemble des facteurs participant à la régulation de l'activité de GSK-3 a été regroupé en cinq mécanismes principaux[51]:

- la formation de complexes protéiques;
- la pré-phosphorylation des substrats par certaines kinases dites "kinases d'amorçage" telles que CDK-5, PAR-1, CKI (Casein Kinase Inhibitor), PKC ou PKA;
- la localisation subcellulaire;

---

46 Mishra R., Nagini S., Rana A., *Mol. Can.* **2015**, *14*(1), 20.

47 a) Lovestone S., Reynolds C.H., Latimer D., Davis D.R., Anderton B.H., Gallo J.M., Hanger D., Mulot S., Marquardt B., Stabel S., Woodgett J.R., Miller C.C.J., *Curr. Biol.* **1994**, *4*, 1077-1086. b) Sperber B.R., Leight S., Goedert M., Lee V.M., *Neurosci Lett.* **1995**, *197*, 149-153. c) Wang J.Z., Wu Q., Smith A., Grundke-Iqbal I., Iqbal K., *FEBS Lett.* **1998**, *436*, 28-34. d) Zheng-Fischhofer Q., Biernat J., Mandelkow E.M., Illenberger S., Godemann R., Mandelkow E., *Eur. J. Biochem.* **1998**, *252*, 542-552.

48 a) Spillantini M.G., Goedert M., *Trends Neurosci.* **1998**, *21*, 428-433. b) Lee V.M., Goedert M., Trojanowski J.Q., *Annu. Rev. Neurosci.* **2001**, *24*, 1121-1159.

49 Jope R.S., Yuskaitis C.J., Beurel E., *Neurochem. Res.* **2007**, *32*(4-5), 577-595.

50 http://www.longecity.org/forum/topic/73888-anti-aging-firewalls-the-alpha-and-beta-of-gsk-3s-%E2%80%93-first-in-the-strange-but-powerful-molecules-series/) consulté le 15-05-2015

51 Medina M., Wandosell F., *Int. J. Alzheimer's Dis.* **2011**, *2011*.

- le clivage protéolytique;
- la phosphorylation au niveau de quatre sites et résidus identifiés dont le premier est un résidu sérine de GSK-3α (en position 21) et de GSK-3β (en position 9). Le deuxième site est constitué par le résidu thréonine 43 présent uniquement chez GSK-3β et qui serait phosphorylé par la kinase Erk avec pour conséquence une inhibition de l'activité de la kinase. La sérine 389 et la thréonine 390 de GSK-3β constituent le troisième site et sont phosphorylées par MAPKp38, augmentant la capacité de la Ser-9 à être phosphorylée. Le quatrième site est la tyrosine en position 279 chez GSK-3α et 216 chez GSK-3β, cette phosphorylation permettrait un accroissement de l'activité de la kinase.

2.5. Les Kinases Dépendantes des Cyclines (CDKs)

Les CDKs sont des sérine/thréonine kinases qui sont majoritairement actives sous forme hétérodimérique* et ce, par association du CDK monomérique avec une cycline. Le génome humain se composerait de 13 CDKs et 25 cyclines.[14] Néanmoins à ce jour, on note que tous les complexes CDKs/cyclines n'ont pas encore été identifiés et que certains isoformes comme CDK5 ne sont associés à aucune cycline. Certaines protéines, homologues avec les CDKs ont également été identifiées et regroupées sous l'appellation "CDK-Like".[52]

2.5.1. Fonctions biologiques des CDKs

Certains CDKs (Figure 6) sont responsables du contrôle du cycle cellulaire et d'autres ont un rôle clé dans plusieurs autres phénomènes cellulaires tels que l'apoptose, la transcription, les fonctions neuronales ou encore la différenciation.

- Le cycle cellulaire: CDK1, 2, 3, 4, 6 et 7 sont les isoformes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire. Ceux-ci contrôlent la progression des différentes phases du cycle cellulaire.[53]
- L'apoptose: l'implication des CDKs dans ce processus de mort cellulaire programmée est mitigée. En effet certaines études les désignent comme activateurs[54] et d'autres comme inhibiteurs de l'apoptose[55].
- La transcription: les isoformes CDK7, CDK8 et CDK9 participent activement à la transcription par la phosphorylation de la partie C-terminale de l'ARN polymérase II[56].

---

52 Malumbres M., *Cell Cycle* **2005**, *4*(2), 209-213.

53 Ren S., Rollins B.J., *Cell* **2004**, *117*, 239-251.

54 a) Meikrantz W., Schlegel R., *J. Biol. Chem*. **1996**, *271*(17), 10205-10209. b) Shi L., Nishioka W.K., Th'ng J., Bradbury E.M., Litchfield D.W., Greenberg A.H., *Science* **1994**, *263*(5150), 1143-1145. c) Ye K., Zhou J., Landen J.W., Bradbury E.M., Joshi H.C., *J. Biol. Chem* **2001**, *276*(50), 46697-46700.

55 Ongkeko W., Ferguson D.J., Harris A.L., Norbury C., *J. Cell Sci.* **1995**, *108*(8), 2897-2904.

56 a) Oelgeschläger T., *J. Cell. Physiol.* **2002**, *190*(2), 160-169. b) Fu T.-J., Peng J., Lee G., Price D.H., Flores O., *J. Biol. Chem* **1999**, *274*(49), 34527-34530. c) Galbraith M.D., Donner A.J., Espinosa J.M., *Transcription* **2010**, *1*(1), 4-12. d) Leucci E., de Falco G., Onnis A., Cerino G., Cocco M., Luzzi A., Crupi D., Tigli C., Bellan C., Piero Tosi P., Leoncini L., Giordano A., *J. Cell. Physiol.* **2007**, *212*(2), 411-415. e)

- La différenciation: selon certains auteurs, CDK2 et CDK6 interviendraient négativement dans la différenciation *in vitro*[57], tandis que CDK5 et CDK9 favoriseraient ce processus[58].
- Les fonctions neuronales: il a été démontré que CDK5 a un rôle fondamental dans le développement du système nerveux central[59] car il est impliqué dans de nombreuses fonctions neuronales telles que la survie cellulaire, le guidage axonal, la migration neuronale et la régulation de la densité de la colonne vertébrale synaptique[60].

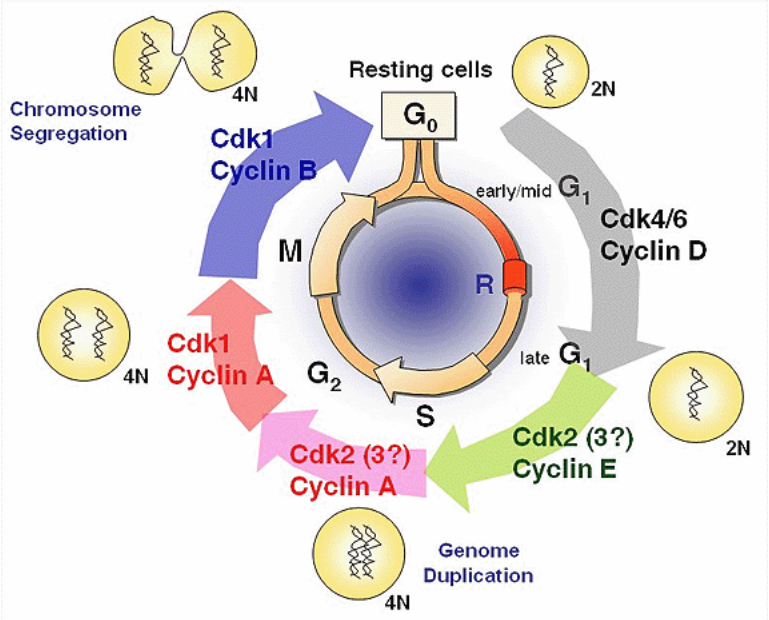


Figure 6: CDKs dans le cycle cellulaire.[61]

2.5.2. La régulation des CDKs

Le mécanisme d'action des CDKs est plus connu en ce qui concerne leur implication dans le cycle cellulaire du fait que c'est ce rôle biologique qui leur a été attribué initialement, tandis que leurs autres fonctions biologiques n'ont été mises en évidence que plus récemment.

Romano G., Kasten M., de Falco G., Pietro Micheli P., Khalili K., Giordano A., *J. Cell. Biochem.***1999**, *75*(3), 357-368. f) Weinmannand H., Metternich R., *Chem. Bio. Chem.* **2005**, *65*(3), 455-459. g) Malumbres M., Barbacid M., *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*(11), 630-641. h) Malumbres M., Barbacid M., *Curr. Opin. Gen. Dev.* **2007**, *17*(1), 60-65.

57 a) Guo K., Walsh K., *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*(2), 791-797. b) Matushansky I., Radparvar F., Skoultchi A. I., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2000**, *97*(26), 14317-14322. c) Tintignac L.A., Leibovitch M.P., Kitzmann M., Fernandez A., Ducommun B., Meijer L., Leibovitch S.A., *Exp. Cell Res.* **2000**, *259*(1), 300-307.

58 a) Nikolic M., Dudek H., Kwon Y.T., Ramos Y.F., Tsai L.H., *Gen. Dev.* **1996**, *10*(7), 816-825. b) Chen F., Studzinski G.P., *Blood* **2001**, *97*(12), 3763-3767. c) Bagella L., MacLachlan T.K., Buono R.J., Pisano M. M., Giordano A., De Luca A., *J. Cell. Physiol.* **1998**, *177*(2), 206-213.

59 a) Dhavan R., Tsai L.H., *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2001**, *2*(10), 749-759. b) Smith D.S., Tsai L.H., *Trends Cell Biol.* **2002**, *12*(1), 28-36.

60 a) Ohshima T., Ward J.M., Huh C.G., Longenecker G., Pant H.C., Brady R.O., Martin L.G., Kulkarni A.B., *Proc Natl Acad Sci USA* **1996**, *93*, 11173-11178. b) Xie Z., Sanada K., Samuels B.A., Shih H, Tsai L.H., *Cell* **2003**, *114*, 469-482. c) Kim Y.; Sung J.Y.; Ceglia I.; Lee K..-W.; Ahn J.-H.; Halford J.M.; Kim A.M.; Kwak S.P.; Park J.B.; Ryu S.H.; Schenck A., Bardoni B., Scott J.D., Nairn A.C., Greengard P., *Nature* **2006**, *442*, 814-817.

61 http://archive.sciencewatch.com/dr/fmf/2010/10julfmf/10julfmfMalu/ consulté le 15-05-2015.

Ainsi, l'activité des CDKs dans la progression du cycle cellulaire est régulée principalement par trois mécanismes qui sont l'association avec une cycline, l'activation ou l'inhibition par phosphorylation (Figure 7) et l'action de composés inhibiteurs.[62] Certaines anomalies dans la régulation des CDKs ont été observées dans le cas de plusieurs pathologies, notamment les maladies neurodégénératives (maladie d'Alzheimer, sclérose latérale amyotrophique (ALS)*) et le cancer[63]. En générale, ces anomalies se traduisent par une hyperactivité de ces protéines kinases conduisant à des surexpressions aussi bien des CDKs que des cyclines qui leur sont associées, de même qu'une inactivation des CKI (Cyclin-dependent Kinase Inhibitor).[56g,64]

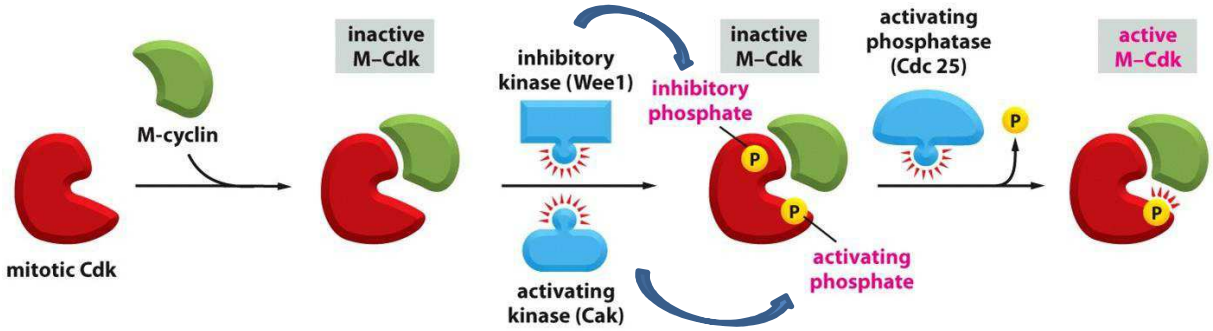


Figure 7: Activation des CDKs par complexation avec les cyclines et phosphorylation.

2.5.3. Les CDK2, CDK5, CDK9

Les CDKs concernés par cette étude sont CDK2, CDK5 et CDK9 associés à certains activateurs à savoir respectivement la cycline A, la protéine p25 et la cycline T.

- **CDK2/Cyclin A**

Ce complexe coordonne l'activation centrosomale* et nucléaire de CDK1/Cyclin B et son appauvrissement retarderait l'entrée en mitose[65]. Selon Mitras et Enders, les complexes CDK2/Cyclin A sont des régulateurs clés de l'activation de Cdc25 (inhibition de l'activité) et de CDK1 (déphosphorylation au niveau de la tyrosine 15) dans les cellules humaines et ces trois protéines sont liées par une voie commune qui contribue à l'initiation mitotique, laquelle semble être communément dérégulée dans le cancer.[66] En effet, le complexe CDK2/Cyclin A

62 a) Pavletich N.P., *J. Mol. Biol.* **1999,** *287*(5), 821-828. b) Morgan D.O., *Nature* **1995**, *374*(6518), 131-134.).

63 a) Kohzato N., Dong Y., Sui L., Masaki T., Nagahata S., Nishioka M., Konishi R., Tokuda M., *Hepatol. Res.* **2001**, *21*(1), 27-39. b) Keyomarsi K.; Herliczek T.W., *Progress Cell Cycle Res.*; *Springer* **1997**, 171-191. c) Keyomarsi K., Pardee A.B., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1993**, *90*(3), 1112-1116. d) Keyomarsi K., O'Leary N., Molnar G., Lees E., Fingert H.J., Pardee A.B., *Canc. Res.* **1994**, *54*(2), 380-385. e) Tsihlias J., Kapusta L., Slingerland J., *Ann. Rev. Med.* **1999**, *50*(1), 401-423.

64 Wolowiec D., Ffrench M., *Med. Sci.* **1996**, *12*(2), 165-73.

65 De Boer L., Oakes V., Beamish H., Giles N., Stevens F., Somodevilla-Torres M., DeSouza C., Gabrielli B., *Oncogene* **2008**, *27*(31), 4261-4268.

66 Mitra J., Enders G.H., *Oncogene* **2004**, *23*(19), 3361-3367.

serait fortement impliqué dans le cancer du poumon et l'expression de ce complexe et l'activité kinase qui y est associée pourrait servir de nouveaux marqueurs permettant de prédire l'activité prolifération et éventuellement, le pronostic de patients atteints de cette maladie.[67] L'autre complexe formé par CDK2, à savoir CDK2/Cyclin E, semble être inactif dans le processus cancéreux.[67]

- **CDK5/p25**

Comme précédemment évoqué, CDK5 fait partie des CDKs non activés par l'association avec une cycline. En effet, CDK5 est une kinase principalement neuronale[68] activée par les protéines p35 et p39. La dérégulation de l'activité de Cdk5 jouerait un rôle dans la pathogenèse de plusieurs accidents vasculaires cérébraux et les maladies neurodégénératives comme les maladies d'Alzheimer, de Parkinson, de Huntington et la sclérose latérale amyotrophique (ALS).[69] Plusieurs stimuli neurotoxiques, tels que le stress oxydatif, le dysfonctionnement mitochondrial, l'excitotoxicité*, l'exposition à la β-amyloïde, la surcharge de Ca ou encore la neuro-inflammation occasionnent des lésions neuronales ayant pour conséquence une dérégulation de l'activité de CDK5.[68] En effet, ceux-ci activent la cystéine protéase* calpaïne qui clive p35 (ou p39) en p25 (ou p29)[70], donnant ainsi naissance au complexe CDK5/p25 responsable entre autres d'une dégénérescence morphologique, d'une mort cellulaire par apoptose des neurones et d'une hyperphosphorylation de la protéine Tau dont la capacité à se lier aux microtubules est ainsi réduite [69a,71]. Ces différents évènements démontrent ainsi la forte implication de CDK5/p25 dans la neurodégénérescence.

- **CDK9/Cyclin T**

L'activation de CDK9 est soumise à l'action de quatre cyclines à savoir les cyclines T (T1, T2a et T2b) et K.[72] Concernant le complexe CDK9/Cycline T, l'activation de CDK9 est due non seulement à l'association avec la cycline mais également à la phosphorylation de T186, un résidu thréonine dans le segment d'activation.[73] Une dérégulation de l'activité de

---

67 Dobashi Y., Shoji M., Jiang S. X., Kobayashi M., Kawakubo Y., Kameya T., *Amer. J. pathol.* **1998**, *153*(3), 963-972.

68 Qu J., Nakamura T., Cao G., Holland E. A., McKercher S.R., Lipton S.A., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, *108*(34), 14330-14335.

69 a) Patrick G.N., Zukerberg L., Nikolic M., de La Monte S., Dikkes P., Tsai L.H., *Nature* **1999**, *402*, 615-622. b) Nguyen M.D., Larivière R.C., Julien J.P., *Neuron* **2001**, *30*, 135-147. c) Smith P.D., Crocker S. J., Jackson-Lewis V., Jordan-Sciutto K.L., Hayley S., Mount M.P., O'Hare M.J., Callaghan S., Slack R.S., Przedborski S., Anisman H., Park D.S., *Proc Natl Acad Sci USA* **2003**, 100, 13650-13655. d) Qu D.; Rashidian J.; Mount M.P.; Aleyasin H.; Parsanejad M.; Lira A.; Haque E.; Zhang Y.; Callaghan S.; Daigle M., Rousseaux M.W.C., Slack R.S., Albert P.R., Vincent I., Woulfe J.M., Park D.S., *Neuron* **2007**, *55*(1), 37-52. e) Paoletti P., Vila I., Rifé M., Lizcano J.M., Alberch J., Ginés S., *J. Neurosci.* **2008**, *28*, 10090-10101.

70 a) Lee M.S., Kwon Y.T., Li M., Peng J., Friedlander R.M., Tsai L.H., *Nature* **2000**, *405*, 360-364. b) Strocchi P., Pession A., Dozza B., *J. Cell Biochem.* **2003**, *88*, 758-765. c) Zambrano C.A., Egaña J.T., Núñez M.T., Maccioni R.B., González-Billault C., *Free Radic. Biol. Med.* **2004**, *36*, 1393-1402. d) Kitazawa M., Oddo S., Yamasaki T.R., Green K.N., LaFerla F.M., *J. Neurosci.* **2005**, *25*, 8843-8853. e) Sahlgren C.M., Pallari H.M., He T., Chou Y.H., Goldman R.D., Eriksson J.E., *EMBO J.* **2006**, *25*, 4808-4819.

71 Liu M., Choi S., Cuny G.D., Ding K., Dobson B.C., Glicksman M.A., Auerbach K., Stein R.L., *Biochem.* **2008**, *47*(32), 8367-8377.

72 Romano G., *ISRN oncology* **2013**, *2013*.

73 Kryštof V., Baumli S., Fürst R., *Curr. Pharm. Des.* **2012**, *18*(20), 2883-2890.

CDK9 serait impliquée dans de nombreuses pathologies comme les cancers, l'hypertrophie cardiaque, les infections à VIH et l'inflammation pathologique.[72,73,74]

2.6. L'AURora Kinase B (AURKB)

Découvertes en 1995 par David Glover[75], les protéines kinases Aurora sont des sérine/thréonine kinases comptant trois membres qui sont Aurora A, Aurora C et Aurora B. Les kinases Aurora jouent un rôle important dans la régulation de la mitose et de la division cellulaire. Elles régulent notamment l'entrée et la sortie en mitose et contrôlent l'intégrité de la séparation des chromosomes.[76] Elles ont donc un rôle majeur dans le maintien de la stabilité génétique des cellules.[77] Elles ne sont exprimées que dans les cellules qui se divisent et sont activées par phosphorylation.[76]

Une surexpression d'Aurora A et/ou B dans de nombreux cancers (côlon, sein, prostate, pancréas, thyroïde, leucémies, etc.) a été observée *in vitro*.[78] La surexpression de ces kinases est associée à un stade avancé de la maladie et est un facteur de mauvais pronostic notamment dans les cancers du côlon et de la prostate.[79]

L'Aurora B, située sur le gène STK15 dans une région du chromosome 20q13, phosphoryle l'histone H3* sur les sérines 8 et 10 pendant la mitose[80]. Elle est également impliquée dans la cytokinèse*, l'activation du checkpoint, la bi-orientation des kinétochores-microtubules* et l'alignement des chromosomes.[81]

2.7. La Receptor-Interacting Protein Kinase 3 (RIPK3)

Chez l'homme, la famille des RIPKs (ou RIPs) compte 3 membres qui sont RIPK1, RIPK2 et RIPK3.

---

74 a) Romano G, Giordano A., *Cell Cycle* **2008**, *7*, 3664-8. b) Krystof V, Chamrad I, Jorda R, Kohoutek J., *Med. Res. Rev.* **2010**, *30*, 646-66.

75 Glover D.M., Leibowitz M.H., McLean D.A., Parry H., *Cell* **1995**, *81*, 95-105.

76 Pinel S., Barbault-Foucher S., Lott-Desroches M.C., Astier A., *Annales Pharmaceutiques Françaises* **2009**, *67*(2), 69-77.

77 Kollareddy M., Zheleva D., Dzubak P., Brahmkshatriya P.S., Lepsik M., Hajduch M., *Investig. New Drugs* **2012**, *30*(6), 2411-2432.

78 a) Sen S., Zhou H., White R.A., *Oncogene* **1997**, *14*, 2195-2200. b) Reichardt W., Jung V., Brunner C., Klien A., Wemmert S., Romeike B.F., Zang K.D., Urbschat S., *Oncol. Rep.* **2003**, *10*, 1275-1279. c) Zhou H., Kuang J., Zhong L., Kuo W.L., Gray J.W., Sahin A., Brinkely B.R., Sen S., *Nat. Genet.* **1998**, *20*, 189-193. d) Tchatchou S., Wirtenberger M., Hemminki K., Sutter C., Meindl A., Wappenschmidt B., Kiechle M., Bugert P., Schmutzler R.K., Bartram C.R., Burwinkel B., *Cancer Lett.* **2007**, *247*, 66-72. e) Katayama H., Ota T., Jisaki F., Ueda Y., Tanaka T., Odashima S., Suzuki F., Terada Y., Tatsuka M., *J. Natl. Canc. Inst.* **1999**, *91*,1160-1162. f) Sorrentino R., Libertini S., Pallante P.L., Troncone G., Palombini L., Bavetsias V., Spalleti-Cernia D., Laccetti P., Linardopoulos S., Chieffi P., Fusco A., Portella G., *J. Clin. Endocr. Metab.* **2004**, *90*, 928-935. g) Zeng W.F., Navaratne K., Prayson R.A., Weil R.J., *J. Clin. Pathol.* **2007**, *60*, 218-221.

79 a) Ikezoe T., *Canc. Lett.* **2008**, *262*(1), 1-9. b) Tseng T.C., Chen S.H., Hsu Y.P.P., Tang T.K., *DNA Cell Biol.* **1998**, *17*(10), 823-833.

80 Andrews P.D., Knatko E., Moore W.J., Swedlow J.R., *Curr. Opin. Cell Biol.* **2003**, *15*(6), 672-683.

81 Kimura M., Matsuda Y., Yoshioka T., Sumi N., Okano Y., *Cytogenetics Genome Res.* **1998**, *82*(3-4), 147-152.

RIPK3 a été identifiée comme un acteur crucial dans la nécroptose (nécrose programmée) et une cible potentielle pour le contrôle des maladies inflammatoires.[82] Lorsqu'elle est surexprimée, cette kinase induirait également l'apoptose[83], passant ainsi sous l'effet non seulement de cette surexpression, mais aussi de mutations et d'influences pharmacologiques, d'une kinase pronécrotique à un adaptateur proapopotique qui nuclée l'assemblage de la plateforme d'activation de la caspase 8, une protéase impliquée dans la phase d'exécution de l'apoptose cellulaire[84]. La nécrose induite par RIPK3 est également un processus déterminant dans l'ischémie-reperfusion[*], la septicémie, la dégénérescence maculaire, les désordres neurodégénératifs, la pancréatite, la gastroentérite et la dermatite.[85]

RIPK3 interagit avec RIPK1 sous la forme d'un complexe (nécrosome) résultant de la phosphorylation de RIPK3 et qui induit la nécrose. L'activation de RIPK3 dans le processus nécrotique est initiée par divers médiateurs de l'immunité innée.[86] Zhao et coll. ont en outre identifié la MLKL (Mixed Lineage Kinase domain-Like), qui est une kinase se positionnant comme une composante clé en aval de RIPK3 dans la nécrose induite par le TNF (Tumor Necrosis Factor).[86]

2.8. La kinase Haspin

Haspin (**Ha**ploid germ cell-**s**pecific nuclear **P**rote**in** kinase) est une kinase identifiée initialement comme un gène spécifique testiculaire chez les souris,[87] qui a un rôle physiologique important dans la spermiogénèse[88]. Cependant, Higgins a démontré que Haspin n'était pas spécifiquement exprimée dans les testicules, mais également transcrite à des niveaux moindres dans le thymus, la moelle osseuse, le foie fœtal, d'autres tissus fœtaux, et dans toutes les lignées de cellules proliférantes qu'il a testées. Ses travaux présentent ainsi Haspin comme une kinase potentiellement importante dans la régulation des diploïdes ainsi que dans la différenciation des cellules haploïdes dans une variété de tissus.[89] Des expériences

---

82 a) Kaiser W.J., Upton J.W., Mocarski E.S., *Curr. Opin. Virol.* **2013**, *3*, 296-306. b) He S, Wang L, Miao L, Wang T, Du F, Zhao L, Wang X, *Cell* **2009**, *137*(6), 1100-11.

83 a) Kasof G.M., Prosser J.C., Liu D., Lorenzi M.V., Gomes B.C., *FEBS Lett.* **2000**, *473*, 285-291. b) Pazdernik N.J., Donner D.B., Goebl M.G., Harrington M.A., *Mol. Cell. Biol.* **1999**, *19*, 6500-6508. c) Yu P.W., Huang B.C., Shen M., Quast J., Chan E., Xu X., Nolan G.P., Payan D.G., Luo Y., *Curr. Biol.* **1999**, *9*, 539-542. d) Sun X., Lee J., Navas T., Baldwin D.T., Stewart T.A., Dixit V.M., *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*(24), 16871-5.

84 Mandal P., Berger S.B., Pillay S., Moriwaki K., Huang C., Guo H., Lich J.D., Finger J., Kasparcova V., Votta B., Ouellette M., King B.W., Wisnoski D., Lakdawala A.S., DeMartino M.P., Casillas L.N., Haile P.A , Sehon C.A., Marquis R.W., Upton J., Daley-Bauer L.P., Roback L., Ramia N., Dovey C M., Carette J. E., Chan F.K-M., Bertin J., Gough P.J., Mocarski E.S., Kaiser W.J., *Mol. Cell* **2014**, *56*(4), 481-495.

85 Kaczmarek A., Vandenabeele P., Krysko D.V., *Immunity* **2013**, *38*, 209-223.

86 Zhao J., Jitkaew S., Cai Z., Choksi S., Li Q., Luo J., Liu Z.G., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109*(14), 5322-5327.

87 Tanaka H., Yoshimura Y., Nozaki M., Yomogida K., Tsuchida J., Tosaka Y., Habu T., Nakanishi T., Okada M., Nojima H., Nishimune Y., *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 17049-17057.

88 Tanaka H., Iguchi N., Nakamura Y., Kohroki J., de Carvalho C. E., Nishimune Y., *Mol. Hum. Reprod.* **2001**, *7*(3), 211-218.

89 Higgins J. M., *Gene* **2001**, *267*(1), 55-69.

d'interférences de l'ARN et une surexpression de Haspin montrent que cette kinase est nécessaire pour l'alignement normal des chromosomes mitotiques.[90]

Le gène codant pour Haspin chez l'homme a été localisé au niveau du chromosome 17p13[88] et également dans le gène de l'intégrine αE[89]. Haspin se trouve dans les centrosomes et la broche lors de la mitose, processus au cours duquel elle phosphoryle *in vitro* l'histone H3 des cellules au niveau de la thréonine 3.[90] Une expression ectopique* de Haspin dans le noyau a une capacité de liaison de l'ADN et conduit à une réduction de la prolifération des cellules lorsqu'elle est exprimée dans des cellules HEK-293.[89]

Plusieurs interactions hydrophobes confèrent à l'hélice C et au segment d'activation de Haspin, une conformation compatible avec la catalyse, même en l'absence de phosphorylation de la boucle d'activation, ce qui suggère que Haspin est une kinase constitutivement active et donc probablement pas régulée par phosphorylation.[91]

2.9. La Proto-Oncogène Sérine/Thréonine Kinase (PIM-1)

Les protéines kinases Proviral Insertion in Murine (PIM) lymphoma (ou kinases PIMs) constituent une famille d'oncoprotéines dont les gènes pim ont été identifiés comme les sites d'intégration du virus de la leucémie Moloney[92] Ce sont des sérines/thréonines kinases comptant 3 isoformes (PIM-1, PIM-2 et PIM-3) fortement homologues.[93]

Les kinases PIMs sont impliquées dans le développement et la progression de plusieurs cancers.[94] La surexpression de PIM-1 dans les cellules lymphoïdes par transgénèse a formellement prouvé son potentiel oncogène.[95] Ces enzymes sont donc de plus en plus reconnues comme d'importants médiateurs de signaux de survie dans les cancers, les réactions de stress et le développement neural (ou neurodéveloppement).[93] Plusieurs protéines cibles de PIM-1 sont par exemple impliquées dans divers processus ayant un lien avec la survie cellulaire comme la régulation du cycle cellulaire, les voies de transduction du signal, l'apoptose, et la régulation transcriptionnelle.[96] La kinase PIM-1 est également un contributeur majeur de la réactivation du VIH-1.[97]

Chez l'homme, le gène codant pour PIM-1 est localisé sur le chromosome 6p21.1–p21.31 et la protéine PIM-1 est présente aussi bien dans le cytoplasme que dans le

---

90 Dai J., Sultan S., Taylor S.S., Higgins J. M., *Gen. Dev.* **2005**, *19*(4), 472-488.

91 Villa F., Capasso P., Tortorici M., Forneris F., de Marco A., Mattevi A., Musacchio A., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, *106*(48), 20204-20209.

92 Mondello P., Cuzzocrea S., Mian M., *J. Hematol. Oncol.* **2014**, *7*(1), 1-9.

93 Holder S., Zemskova M., Zhang C., Tabrizizad M., Bremer R., Neidigh J. W., Lilly M. B., *Mol. Canc. Ther.* **2007**, *6*(1), 163-172.

94 a) Swords R., Kelly K., Carew J., Nawrocki S., Mahalingam D., Sarantopoulos J., Bearss D., Giles F., *Curr. Drug Targets* **2011**, *12*(14), 2059-2066. b) Yh P., Jj L., Fw X., Jf C., Yh Y., *PloS one* **2013**, *8*(10), e76693.

95 Saris C. J., Domen J., Berns A., *EMBO J.* **1991**, *10*(3), 655-664.

96 Pang W., Tian X., Bai F., Han R., Wang J., Shen H., Zhang X., Liu Y., Yan X., Jieng F., Xing L., *Mol. Canc.* **2014**, *13*(1), 1-15.

97 Duverger A., Wolschendorf F., Anderson J. C., Wagner F., Bosque A., Shishido T., Jones J., Planelles V., Willey C., Cron R. Q., Kutsch O., *J. Virol.* **2014**, *88*(1), 364-376.

noyau.[98] L'expression de la kinase PIM-1 peut être stimulée par une variété de facteurs de croissance et régulée à quatre niveaux: transcription, post-transcription, traduction et post-traductionnel.[99] PIM-1 est particulièrement régulée de façon post-transcriptionnelle par eIF-4^{E} (Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E), stabilisée par Hsp90 (Heat shock protein 90) et dégradée par PP2A (Protein phosphatase 2A).[98]

2.10. Les protéines kinases d'origine parasitaires (*Pf*GSK-3, *Lm*CK1 et *Ld*TLK)

À la différence des autres kinases qui sont d'origine humaine, *Pf*GSK-3, *Lm*CK1 et *Ld*TLK sont des protéines kinases parasitaires. En effet, elles sont les homologues des protéines kinases humaines que sont GSK-3, CK1 et TLK pour *Plasmodium falciparum* (*Pf*), *Leishmania major* (*Lm*) et *Leishmania donovani* (*Ld*) qui sont des parasites impliqués dans la malaria et la leishmaniose. L'intérêt porté à ces protéines kinases parasitaires est due à leur rôle clé dans le métabolisme du microbe, rôle suggérant qu'une inhibition de leur activité kinase contribuerait à combattre efficacement le microbe et donc la maladie.

- ***Plasmodium falciparum* GSK-3 (*Pf*GSK-3)**: chez *Plasmodium falciparum*, microbe le plus virulent dans la malaria, *Pf*GSK-3 est localisée dans les fentes de Maurer dans le cytoplasme des érythrocytes, ce qui suggère un rôle dans le trafic des protéines[43]. *Pf*GSK-3 semble être sensible à certains inhibiteurs de petite masse moléculaire qui ne correspondent pas totalement à ceux inhibant l'activité de GSK-3 chez les mammifères.[43] Cette dernière suggestion laisse entrevoir la possibilité d'obtenir donc des inhibiteurs sélectifs pour *Pf*GSK-3 contre la malaria.

- ***Leishmania major* CK1 (*Lm*CK1)**: *Leishmania major* est le microbe impliqué dans la leishmaniose cutanée. *Lm*CK1 compte 6 isoformes chez *Leishmania major*.[100] Le plus abondant et le plus étudié parmi ces isoformes est CK1.2 (LmaCK1.2)[101]. Localisé dans le milieu intracellulaire du parasite, il est le seul isoforme présentant un haut dégré de similarité (71 % pour le domaine kinase) avec les CK1s humains[101c]. *Lm*CK1.2 a été identifié comme étant une hexokinase[*] capable de phosphoryler les protéines de l'hôte telle que IFNAR1 (Interferon (alpha, beta and omega) Receptor 1), un récepteur essentiel pour la voie de signalisation de l'interféron α/β (IFNα/β), exerçant ainsi une action

98 Bachmann M., Möröy T., *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2005**, *37*(4), 726-730.

99 Wang Z., Bhattacharya N., Weaver M., Petersen K., Meyer M., Gapter L., Magnuson N. S., *J. Veterinary Sci.* **2001**, *2*(3), 167-179.

100 Rachidi N., Taly J.F., Durieu E., Leclercq O., Aulner N., Prina E., Pescher P, Notredame C, Meijer L, Späth G.F., *Antimicr. Agents Chemother*. **2014**, *58*(3), 1501-1515.

101 a) Allocco J.J., Donald R., Zhong T., Lee A., Tang Y.S., Hendrickson R.C., Liberator P., Nare B.., *Int. J. Parasitol*. **2006**, *36*, 1249-1259. b) Silverman J.M., Chan S.K., Robinson D.P., Dwyer D.M., Nandan D., Foster L.J., Reiner N.E., *Genome Biol*. **2008**, *9*, R35. c) Paape D., Barrios-Llerena M.E., Le Bihan T., Mackay L., Aebischer T., *Mol. Biochem. Parasitol*. **2010**, *169*, 108-114. d) Silverman J.M., Clos J., de'Oliveira C.C., Shirvani O., Fang Y., Wang C., Foster L.J., Reiner N.E.., *J. Cell Sci.* **2010**, *123*, 842-852.

immunosuppressive potentielle sur les cellules hôtes infectées.[101b,d,102] En outre, Allocco et coll. ont montré qu'il est le seul isoforme responsable de l'activité de CK1 dans les promastigotes[101a] et a un rôle majeur dans la pathogénèse de la leishmaniose[103]. Lorsque *Lm*CK1.2 est inhibé, la croissance des promastigotes chez le parasite est réduite.[100]

- ***Leishmania donovani* TLK (*Ld*TLK)**: *Ld*TLK est l'homologue TLK de *Leishmania donovani*, l'agent pathogène de la leishmaniose viscérale. Les TLKs sont une famille de sérines/thréonines kinases présentent dans les plantes et les animaux. Chez l'homme, ils sont présents sous la forme de deux isoformes qui sont TLK1 et TLK2.[104] Localisés chez les mammifères, dans le noyau pendant l'interphase, leur activité est optimale au cours de la phase S du cycle cellulaire (réplication de l'ADN) lorsqu'ils phosphorylent la protéine ASF1 (Anti-Silencing Function protein 1), un chaperon de l'histone impliqué dans l'assemblage de la chromatine[105]. La fonction des TLKs dans l'assemblage de la chromatine concerne la réplication, la transcription, la réparation et la ségrégation des chromosomes pendant la mitose.[106] Ils phosphorylent notamment l'histone H3 au niveau de la sérine 10[107], la protéine kinase Aurora B[108] et Rad9[109] une protéine clé impliquée dans la réparation de l'ADN et la signalisation du cycle cellulaire selon les dommages de l'ADN. Les TLKs seraient également impliqués dans la régulation de la spermatogénèse.[110]

---

102 a) Vieira L.L., Sacerdoti-Sierra N., Jaffe C.L.., *Int. J. Parasitol*. **2002**, *32*, 108-1093. b) Liu J., Carvalho L.P., Bhattachariya S., Carbone C.J., Kumar K.G., Leu N.A., Yau P.M., Donald R.G., Weiss M.J., Baker D.P., McLaughlin K.J., Scott P., Fuchs S.Y., *Mol. Cell. Biol*. **2009**, *29*, 6401-6412.

103 Silverman J.M., Clos J., Horakova E., Wang A.Y., Wiesgigl M., Kelly I., Lynn M.A., McMaster W.R., Foster L.J., Levings M.K., Reiner N.E., *J. Immunol*. **2010**, 185:5011-5022.

104 Carrera P., Moshkin Y.M., Grönke S., Silljé H.H., Nigg E.A., Jäckle H., Karch F., *Genes Dev.* **2003**, *17*(20), 2578-2590.

105 Silljé H.H., Takahashi K., Tanaka K., Van Houwe G., Nigg E.A., *EMBO J*. **1999**, *18*, 5691-5702.

106 De Benedetti A., *ISRN molecular biology* **2012**, *2012*.

107 Li Y., DeFatta R., Anthony C., Sunavala G., De Benedetti A., *Oncogene* **2001**, *20*(6), 726-738.

108 Han Z., Riefler G.M., Saam J.R., Mango S.E., Schumacher J.M., *Curr. Biol.* **2005**, *15*(10), 894-904.

109 Sunavala-Dossabhoy G., De Benedetti A., *DNA Repair* **2009**, *8*(1), 87-102.

110 Shalom S., Don J., *Mol. Reprod. Dev.* **1999**, *52*, 392-405.

Tableau 1: Récapitulatif des kinases et de quelques fonctions et pathologies associées.

Protéines Kinases	**Famille**	**Quelques fonctions et pathologies concernées**
*Ld*TLK (***L****eishmania* ***d****onovani* **T**ousled **L**ike **K**inase)	S/TK	Malaria
HASPIN (**HA**ploid Germ Cell-**S**pecific Nuclear **P**rote***in*** Kinase)	S/TK	Mitose
AURKB (**AUR**ora **K**inase **B)**	S/TK	Maturation des centrosomes, séparation et condensation des chromosomes, mitose et cytokinèse Cancer de la prostate, du poumon, du gliome, leucémie, de la thyroïde, du colon
RIPK3 (**R**eceptor-**I**nteracting serine-threonine-**P**rotein **K**inase **3)**	TKL	Nécrose, apoptose
CDK2/Cyclin A (**C**yclin-**D**ependent **K**inase **2)**	S/TK	Mitose Diabète
CDK5/p25 ***(*****C**yclin-**D**ependent **K**inase **5/p25)**	S/TK	Fonction neuronale Maladies neurodégénératives, maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique , la maladie de Parkinson et la maladie de Huntington
CDK9/Cyclin T (**C**yclin-**D**ependent **K**inase **9)**	S/TK	Régulation de la transcription VIH (SIDA), cancer
CLK1 (**C**dc2-**L**ike **K**inase **1** Dual-specificity kinase CLK1)	S/TK	Régulation de l'épissage de l'ARN, cascades de transduction du signal Maladie d'alzheimer
DYRK1A (**D**ual specificity tyrosine-(**Y**)-phosphorylation-**R**egulated **K**inase **1A**	S/TK	Prolifération cellulaire, développement du cerveau. Syndrome de Down (trisomie 21), maladies d'Alzheimer et d'Huntington, plusieurs types de cancer et hypertrophie cardiaque.
GSK-3α/β (**G**lycogen **S**ynthase **K**inase **3*α* et β)**	S/TK	Prolifération cellulaire, apoptose, homéostasie des cellules épithéliales Hypertrophie des myocytes cardiaques, cancer, Alzheimer
*Pf*GSK-3 (***P****lasmodium* ***F****alciparum* **G**lycogen **S**ynthase **K**inase **3)**	S/TK	Malaria
PIM-1 (Proviral Insertion in Murine Proto-oncogene kinase)	S/TK	Division cellulaire, différenciation, apoptose, cancer
CK1δ/ε (**C**asein **K**inase **1δ/ε)**	S/TK	Trafic membranaire, rythme circadien, cancer, maladies neurodégénératives
*Lm*CK1 (***L****eishmania* ***m****ajor* **C**asein **K**inase **1)**	S/TK	Leishmaniose (Trypanosomiase)

3. Les inhibiteurs de protéines kinases et thérapeutiques

Les inhibiteurs de protéines kinases (IPK) sont de "petites molécules" dont le rôle est de bloquer un site déterminant dans la fonction de la kinase. Leurs noms portent généralement les suffixes "inib", "nib" ou "ib" et leur action inhibitrice peut être réversible ou non. On distingue différents types d'inhibiteurs en fonction de leur mode d'action:

- Les inhibiteurs compétitifs de l'ATP sur kinase active:
  Cette classe regroupe la majorité des IPK actuels[111]. Ceux-ci empêchent la fixation de l'ATP au niveau du site catalytique de la protéine kinase, par compétition. Ces derniers sont cependant généralement peu sélectifs, du fait de la forte homologie et du haut degré de conservation du site de liaison de l'ATP pour les kinases de façon générale.

- Les inhibiteurs compétitifs de l'ATP sur kinase inactive:
  Ces inhibiteurs se fixent sur une kinase inactive. Ils vont en se greffant, empêcher la boucle d'activation de s'ouvrir et bloquer ainsi l'activité de la protéine kinase. Ces composés, dans ce cas, montrent une meilleure sélectivité pouvant s'expliquer par le fait d'une compétition moindre avec l'ATP qui ne se lie que sur les kinases actives.

- Les inhibiteurs compétitifs du substrat ou allostériques (non-compétitifs de l'ATP):
  Ceux-ci dans le cas de la compétition avec le substrat se lient à son site de liaison sur l'enzyme (kinase), empêchant ainsi sa phosphorylation. Ils se fixent sur la kinase active et entraînent une modification de sa conformation et donc de son site actif, bloquant ainsi la réaction avec le substrat. Ils sont plus efficaces et moins toxiques car plus sélectifs. En effet, ils se lient à des domaines bien moins conservés que le domaine de liaison de l'ATP, ce qui minimise les interactions avec d'autres protéines. D'une manière générale, la plupart des inhibiteurs compétitifs du substrat sont des peptides basés sur la séquence peptidique du substrat ou d'un pseudo-substrat dans lequel le résidu phosphorysable est remplacé par un autre acide aminé non phosphorysable comme l'alanine (dans le cas des sérine kinases) ou encore des dérivés de tyrosine (1- ou 2- naphtylalanine, *p*-fluoro-,…) dans le cas des tyrosine kinases.

Compte tenu donc de leur meilleure sélectivité, les recherches actuelles s'orientent de plus en plus vers les inhibiteurs compétitifs du substrat. Il faudrait également noter qu'en plus de la sélectivité, un autre critère qualitatif pour les inhibiteurs de protéines kinases est la Concentration d'Inhibition 50 (CI_{50}). Il s'agit de la concentration de composé chimique testé nécessaire pour inhiber 50% de l'activité maximale de la protéine kinase considérée. Ainsi plus la CI_{50} est faible et plus le composé concerné est actif.

[111] Noble M.E., Endicott J.A., Johnson L.N., *Science* **2004**, *303*(5665), 1800-1805.



Figure 8: Sélectivité de 38 inhibiteurs sur un panel de 317 protéines kinases.[112]

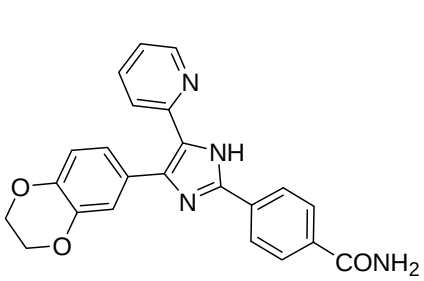
Les cercles rouges (Figure 8) représentent les Kd (Kd compris entre 1 nM et10 µM) d'inhibition des kinases qu'ils marquent sur le kinome humain. Plus le Kd est faible et plus le diamètre du cercle rouge concerné est grand. Les arbres phylogénétiques comportant le plus de cercles rouges représentent des inhibiteurs très peu sélectifs tels que la staurosporine tandis que ceux ne comportant que peu de cercles (GW-2580, Lapatinib) sont hautement sélectifs donc peu toxiques.

[112] Karaman M.W., Herrgard S., Treiber D.K., Gallant P., Atteridge C.E., Campbell B.T., Chan K.W., Ciceri P., Davis M.I., Edeen P.T., Faraoni R., Floyd M., Hunt J.P., Lockhart D.J., Milanov Z.V., Morrison M.J., Pallares G., Patel H.K., Pritchard S., Wodicka L.M., Zarrinkar, P.P., *Nat. Biotechnol.* **2008**, *26*(1), 127-132.

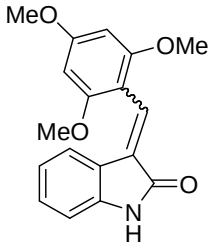
3.1. Les inhibiteurs de CK1δ/ε

Les inhibiteurs découverts ou conçus à ce jour avec pour cible les CK1s, sont ATP-compétitifs et d'origine synthétique ou naturelle. Le criblage virtuel à base d'approches structurelles[113] et les études de complexes cristallographiques font partie des méthodes mises en œuvre pour étudier ces inhibiteurs et leur spécificité.[114] À cause du haut degré de similitude des séquences de CK1δ et CK1ε, il est quelquefois difficile d'identifier la kinase responsable de l'activité biologique observée lorsque l'inhibiteur testé est doublement spécifique des isoformes δ et ε.[18a]

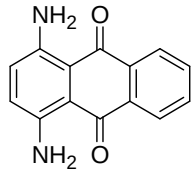
L'un des premiers inhibiteurs de CK1, actif au micromolaire a été le composé (N-(2-aminoéthyl)-5-chloroisoquinoline-8-sulfonamide) ou CKI-7 (CI_{50} = 9,5 µM).[115] Il a notamment inhibé sans spécificité les isoformes CK1δ et CK1ε. Par la suite d'autres inhibiteurs renfermant divers hétérocycles, plus ou moins spécifiques ont été identifiés. Quelques exemples relatifs majoritairement à CK1δ et CK1ε sont consignés ci-dessous (Figure 9).



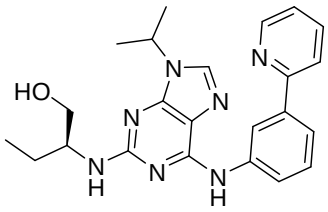
D4476
Plateforme imidazole
CK1 (CI_{50} = 0,2 µM)



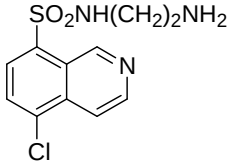
IC261
Plateforme oxoindole
CK1δ/ε (CI_{50} = 1 µM)
CK1α (CI_{50} = 16 µM)



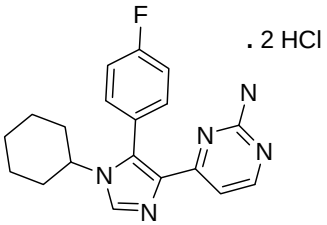
1,4-Diaminoanthraquinone
Plateforme anthraquinone
CK1δ (CI_{50} = 0,33 µM)
CK1α (CI_{50} = 4 µM), CK1γ (CI_{50} = 34 µM)



(*R*)-DRF053
Plateforme purine
CK1δ/ε (CI_{50} = 14 nM)



CKI-7
Plateforme isoquinoléine
CK1 (CI_{50}) = 9,5 µM



PF-670462
Plateforme imidazole
CK1δ (CI_{50} = 14 nM),
CK1ε (CI_{50} = 7,7 nM)

Figure 9: Quelques inhibiteurs de CK1δ/ε.

---

113 Cozza G., Gianoncelli A., Montopoli M., Caparrotta L., Venerando A., Meggio F., Pinna L.A., Zagotto G., Moro S., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5672-5675.

114 Mashhoon N., DeMaggio A.J., Tereshko V., Bergmeier S.C., Egli M., Hoekstra M.F., Kuret J., *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 20052-20060.

115 Chijiwa T., Hagiwara M., Hidaka H., *J. Bio.l Chem.* **1989**, *264*, 4924–4927.

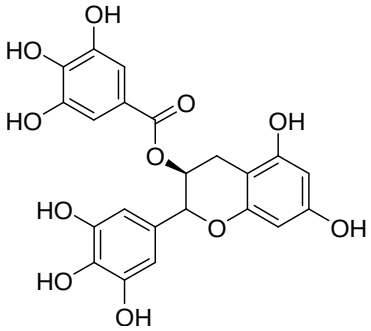
Plusieurs autres composés hétérocycliques présentés comme inhibiteurs de CK1ε ont été développés par Sanofi-Aventis (anciennement Sanofi). Ils renferment notamment les motifs pyrrolopyridine,[116] thiénopyrrole ou pyrrolothiazole,[117] et indole[118].

Certains inhibiteurs des CK1s sont également d'origine naturelle marine comme la Meriadinine E[119] (CK1 CI_{50} = 0,4 µM), le (-)-Matairenisol[120] (CK1 CI_{50} = 10 µM), les lamellarines 3 et 6 (CK1δ/ε CI_{50} = 0,41 et 0,8 µM) et l'Hymenialdisine (CK1 CI_{50} = 35 nM).

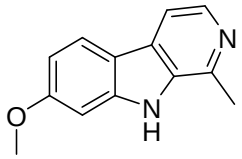
3.2. Les inhibiteurs de DYRK1A

Les premiers inhibiteurs développés pour DYRK1A ont été des pyrazolidinediones qui inhibaient son autophosphorylation avec des CI_{50} comprises entre 0,6 µM et 2,5 µM.[121]

Initialement isolée de la vigne *Banisteriopsis caapi*, l'Harmine (Figure 10), un alcaloïde végétal est un inhibiteur puissant et spécifique de DYRK1A *in vitro* sur cellules en culture (CI_{50} = 48 nM).[122] Deux autres inhibiteurs de DYRK1A d'origine naturelle sont la Roscovitine isolée des œufs d'étoile de mer avec une CI_{50} de 3,1 µM et l'EGCG (Epigallocatechin-gallate) un composé phénolique majeur du thé vert avec une CI_{50} de 0,33 nM.[123]



EGCG



Harmine

Figure 10: Inhibiteurs de DYRK1A d'origines naturelles.

116 Metz A., Halley F., Dutruc-Rosset G., Choi-Sledeski Y.M., Poli G.B., Fink D.M., Doerflinger G., Huang B.-G., Gelormini A.M., Gamboa J.A., Giovanni A., Roehr J.E., Tsay J.T., Camacho F., Hurst W.J., Harnish S.W., Chiang Y.., Patent WO2005061498 A1, **2005.**

117 Fink D.M., Chiang Y., Collar N.D., Patent WO2006021000 A2, **2006.**

118 a) Metz A., Ding F.-X.., Patent WO2006023467 A1, **2006**. b) Metz A., Patent US20070142454, **2007**.

119 Gompel M., Leost M., De Kier Joffe E.B., Puricelli L., Franco L.H., Palermo J., Meijer L., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1703-1707.

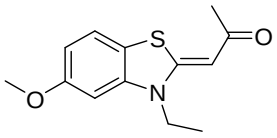
120 Yokoyama T., Okano M., Noshita T., Funayama S., Ohtsuki K., *Biol. Pharm. Bull.* **2003**, 26, 371-374.

121 a) Kim N.D., Yoon J., Kim J.H., Lee J.T., Chon Y.S., Hwang M.K., Ha I., Song W.J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3772-3776. b) Koo K.A., Kim N.D., Chon Y.S., Jung M.S., Lee B.J., Kim J.H., Song W.J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2324-2328.

122 Göckler N., Jofre G., Papadopoulos C., Soppa U., Tejedor F.J., Becker W., *FEBS J.* **2009**, *276*(21), 6324-6337.

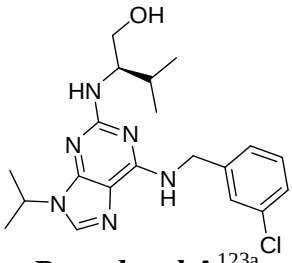
123 a) Bain J., McLauchlan H., Elliott M., Cohen P., *Biochem. J.* **2003**, *371*, 199-204. b) Bain J., Plater L., Elliott M., Shpiro N., Hastie C.J., McLauchlan H., Klevernic I., Arthur J.S., Alessi D.R., Cohen P., *Biochem. J.* **2007**, *408*, 297-15. c) Adayev T., Chen-Hwang M.C., Murakami N., Wegiel J., Hwang Y.W., *Biochem.* **2006**, *45*, 12011-12019.

Certains composés synthétiques (Figure 11) comme le TG003 et le Purvalanol A se sont révélés comme des inhibiteurs efficaces de DYRK1A, alors qu'ils avaient été premièrement développés comme inhibiteurs d'autres protéines kinases.



TG003[124]

DYRK1A (CI_{50} = 12 nM), CLK1 (CI_{50}= 19 nM), DYRK1B (IC_{50}= 130 nM)



Purvalanol A[123a]

DYRK1A (CI_{50} = 300 nM), CDK2/Cyclin A (CI_{50}= 100 nM)

Figure 11: Exemples d'inhibiteurs synthétiques de DYRK1A.

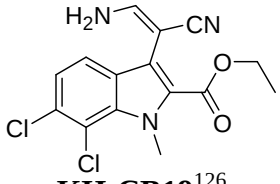
Un nouveau puissant inhibiteur ATP-compétitif de DYRK1A a été identifié récemment.[125] Il s'agit d'un dérivé de benzothiazole connu sous le nom d'INDY (CI_{50} = 240 nM).

3.3. Les inhibiteurs de CLK1

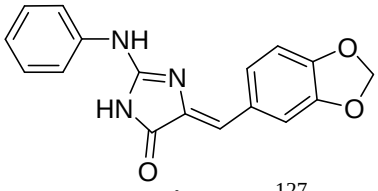
Plusieurs inhibiteurs de CLK1 (Figure 12) d'origine naturelle et principalement marine ont été identifiés. Cependant, comme de nombreux autres inhibiteurs, ceux-ci quoique puissants, sont peu sélectifs et inhibent également plusieurs autres kinases. Ils renferment une grande diversité structurale et exhibent divers hétérocycles aromatiques.

[124] Becker, W., Sippl, W., *FEBS J.* **2011**, *278*(2), 246-256.

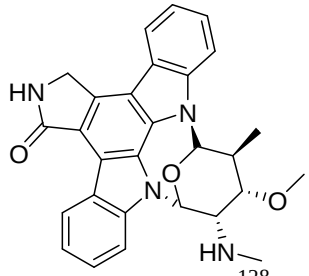
[125] Ogawa, Y., Nonaka, Y., Goto, T., Ohnishi, E., Hiramatsu, T., Kii, I., Yoshida M, Ikura T, Onogi H, Shibuya H., Hosoya T., Ito N., Hagiwara, M., *Nature Communications* **2010**, *1*, 86.



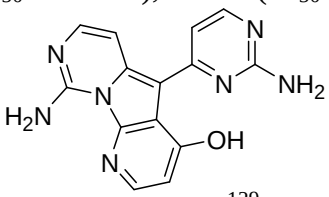
KH-CB19[126]
Plateforme dichloroindolyl enaminonitrile
isolé de la bauerine C (alcaloïde de l'algue *Dichothrix baueriana*) CLK1 (CI_{50} = 20 nM), Dyrk1A (CI_{50} =55 nM)



Leucettine L41[127]
Plateforme imidazole
Analogue de la Leucettamine B isolée de la *Leucetta microraphis* (éponge marine)
CLK1 (CI_{50} = 15 nM), Dyrk1A (CI_{50} = 40 nM), Dyrk2 (CI_{50} = 35 nM), CLK3 (CI_{50} = 4,5 µM)



Staurosporine[128]
Plateforme indolocarbazole
Isolée de *Streptomyces staurosporeus* (bactérie)
CLK1 (CI_{50} = 66 nM), FLT3 (FMS-like receptor tyrosine kinase 3) (CI_{50} = 1 nM)



Varioline B[129]
Plateforme pyrido[3',2':4,5]pyrrolo [1,2-*c*]pyrimidine
Isolée de *Kirkpatrickia variolosa* (éponge marine)
CLK1 (CI_{50} = 12 nM),
Dyrk1A (CI_{50} = 80 nM), CDK5 (CI_{50} = 90 nM), GSK-3β (CI_{50} = 70 nM), CK1 (CI_{50} = 5 nM)

Figure 12: Quelques inhibiteurs de CLK1.

Certains composés synthétiques ont également montré une bonne capacité à inhiber CLK1. Cependant, leur nombre reste faible comparé à ceux conçus pour les autres protéines kinases.[130] Parmi ces derniers figurent TG003 un dérivé de benzothiazole, inhibiteur ATP-compétitif de CLK1 mais également de CLK2[131] (Figure 11) et certains composés de la famille des *N*,*N'*-bis(5-arylidène-4-oxo-3,5-dihydro-4*H*-imidazol-2-yl)diamines (Figure 13) avec des CI_{50} de l'ordre du submicromolaire pour CLK1[132].

126 a) Fedorov O., Huber K., Eisenreich A., Filippakopoulos P., King O., Bullock A.N., Szklarczyk D., Jensen L.J., Fabbro D., Trappe J., Rauch U., Bracher F., Knapp S., *Chem. Biol.* **2011**, *18*, 67-76. b) Larsen L.K., Moore R.E., Patterson G.M., *J. Nat. Prod.* **1994**, *57*(3), 419-421.

127 Debdab M., Carreaux F., Renault S., Soundararajan M., Fedorov O., Filippakopoulos P., Lozach O., Babault L., Tahtouh T., Baratte B., Ogawa Y., Hagiwara M., Eisenreich A., Rauch U., Knapp S., Meijer L., Bazureau J.P., *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 4172-86.

128 Eriksson A., Hermanson M., Wickström M., Lindhagen E., Ekholm C., Jensen A.J., Löthgren A., Lehmann F., Larsson R., Parrow V., Höglund M., *Blood Canc. J.* **2012**, *2*, e81.

129 a) Carter E. Unpublished results, PhD candidate, University of Adelaide, **2005-2011** b) Huff BC. Unpublished results, PhD candidate, University of New South Wales, **2011.**

130 Jain P., Karthikeyan C., Hari Narayana Moorthy N.S., Kumar Waiker D., Kumar Jain A., Trivedi P., *Curr. Drug Targets* **2014**, *15*(5), 539-550.

131 a) Rosenthal A.S., Tanega C., Shen M., Mott B.T., Bougie J.M., Nguyen D.T., Mistelib T., Aulda D.S., Maloney D.J., Thomas C.J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 3152-8. b) Hagiwara M., *Biochim. Biophy. Acta* **2005**, *1754*(1), 324-331.

132 Coulibaly W.K.; Paquin L.; Bénié A.; Bekro Y.-A.; Durieu E.; Meijer L.; Bazureau J.-P. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *58*, 581-590.

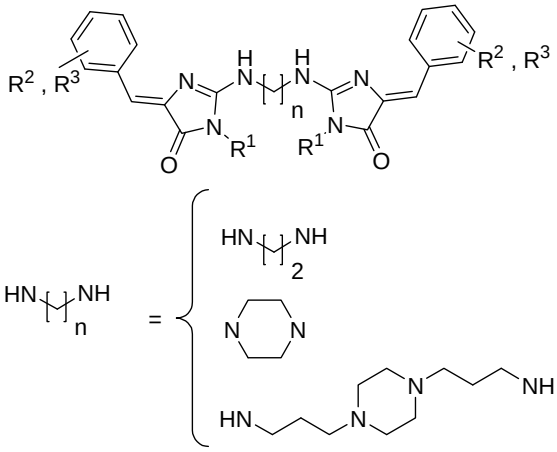


Figure 13: Dérivés *N*,*N'*-bis(5-arylidène-4-oxo-3,5-dihydro-4*H*-imidazol-2-yl)diamines inhibant CLK1.

3.4. Les inhibiteurs de GSK-3α/β

GSK-3 compte parmi les protéines kinases pour lesquelles la recherche d'inhibiteurs a connu ces dernières années une forte hausse. L'un des premiers inhibiteurs de GSK-3 (CI_{50} = 1-2 mM)[133] à être découvert a été le sel de Lithium (sous forme cationique) pour le traitement des troubles bipolaires.[133,134] Actuellement les inhibiteurs les plus connus sont des composés organiques synthétiques ou d'origine naturelle avec pour cibles diverses maladies (Figure 14).

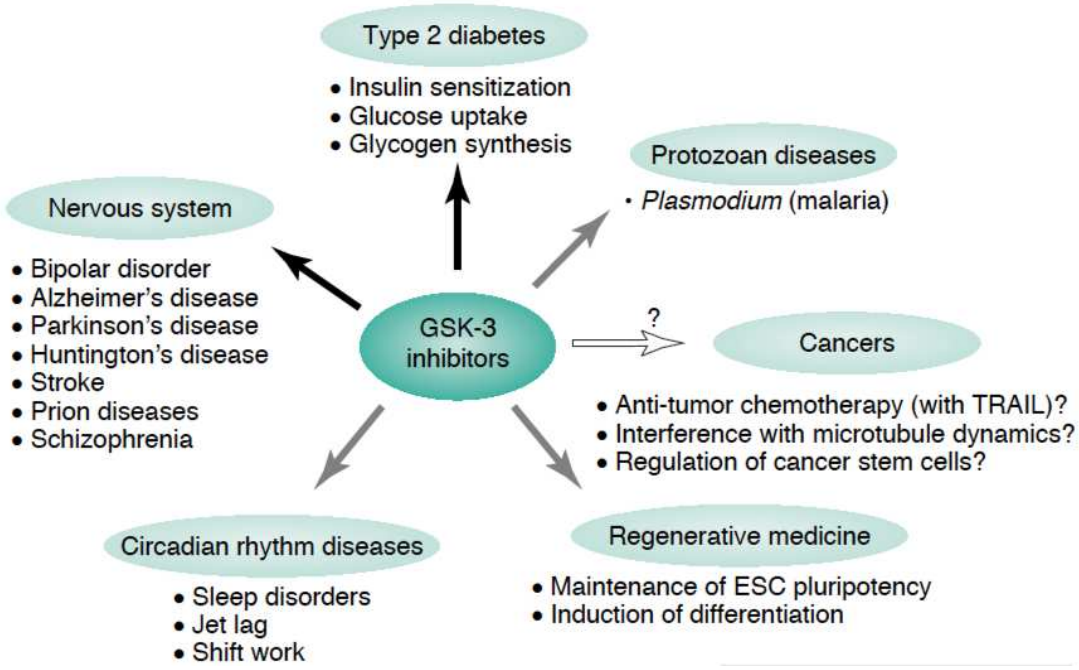
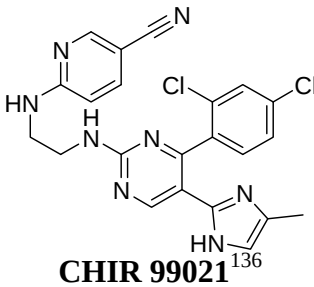


Figure 14: Maladies ciblées par les inhibiteurs de GSK-3.[135]

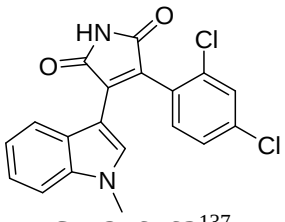
133 Klein P.S., Melton D.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 8455-8459.
134 Stambolic V., Ruel L., Woodgett J.R., *Curr. Biol.* **1996**, *6*, 1664-1668.
135 Meijer L., Flajolet M., Greengard P., *Trends Pharmacol. Sci.* **2004**, *25*(9), 471-480.

La majorité de ces inhibiteurs sont ATP-compétitifs et assez sélectifs des GSK-3:

- Les inhibiteurs synthétiques ATP-compétitifs:
  La famille des CHIRs [CHIR98014 (CT98014), CHIR98023 (CT98023), CHIR99021 (CT99021)] constitue un groupe d'inhibiteurs puissants et sélectifs des GSK-3 actifs au nanomolaire.[136] Un autre exemple pour cette catégorie est celui des dérivés de maléimide, SB-216763 (Figure 15) et SB-415286 développés par GlaxoSmith&Kline, tous les deux sont également très sélectifs des GSK-3 et actifs au nanomolaire.[137]



CHIR 99021[136]
GSK-3α (CI_{50} = 10 nM), GSK-3β (CI_{50} = 6,7 nM)

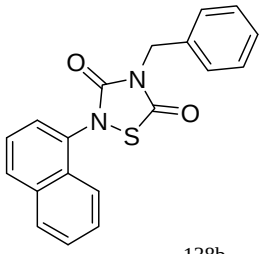


SB-216763[137]
GSK-3α (CI_{50} = 34,3 nM)
GSK-3β (activité idem que GSK-3α)

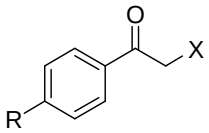
Figure 15: Deux inhibiteurs synthétiques ATP-compétitifs de GSK-3α/β

- Les inhibiteurs synthétiques non ATP-compétitifs:

Font partie de cette classe des dérivés hétérocycliques de la famille des thiadiazolidinones tel que NP031112 ou Tideglusib (Figure 16), ce dernier étant en phase Clinique II pour la maladie d'Alzheimer.[138] Récemment les dérivés halogénométhylcétones (Figure 16) ont été également décrits comme des inhibiteurs irréversibles de GSK-3.[139]



Tideglusib[138b]
GSK-3β (CI_{50} = 1,02 nM)



Halogénométhylcétones[139a]
R = H, Cl, Br, Me, MeO, Ph, NO_2
X = Cl, Br
GSK-3β (CI_{50} = 0,5-5 µM)

Figure 16: Deux inhibiteurs synthétiques non ATP-compétitifs de GSK-3.

---

136 Ring D.B., Johnson K.W., Henriksen E.J., Nuss J.M. Goff D., Kinnick T.R., Ma S.T., Reeder J.W., Samuels I., Slabiak T., Wagman A.S., Hammond M.E., Harrison S.D., *Diabetes* **2003**, *52*, 588-595.

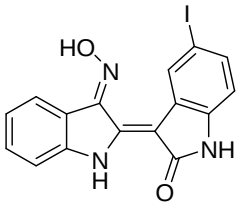
137 Coghlan M.P., Culbert A.A., Cross D.A., Corcoran S.L., Yates J.W., Pearce N.J., Rausch O.L., Murphy G.J., Carter P.S., Roxbee Cox L., Mills D., Brown M.J., Haigh D., Ward R.W., Smith D.G., Murray K.J., Reith A.D., Holder J.C., *Chem. Biol.* **2000**, *7*, 793-803.

138 a) Martinez A., Alonso M., Castro A., Perez C., Moreno F.J., *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1292-1299. b) Domínguez J.M., Fuertes A., Orozco L., del Monte-Millán M., Delgado E., Medina M., *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*(2), 893-904.

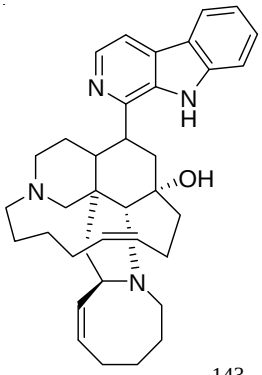
139 a) Conde S., Perez D.I., Martinez A., Perez C., Moreno F.J., *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4631-4633. b) Perez D.I., Conde S., Perez C., Gil C., Simon D., Wandosell F., Moreno F.J., Gelpi J.L., Luque F.J., Martinez A., *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 6914–6925.

❖ Les inhibiteurs d'origine naturelle ATP-compétitifs:
Ceux-ci sont majoritairement d'origine marine tels les dérivés (Figure 17) de l'Induribine, une bis-indole issue de l'indigo qui est une plante de la médecine traditionnelle chinoise[140] et les alcaloïdes débromohyménialdisine (DBH) et hyménialdisine (HD) isolés des éponges *Agelasidae, Axinellidae,* et *Halichondridae.*[141]

❖ Les inhibiteurs d'origine naturelle non ATP-compétitifs:
La manzamine A (Figure 17) est un alcaloïde de la famille des manzamines extraites d'éponges Indo-Pacifiques.[142] Il inhibe GSK-3β *in vitro* à 70 % à 25 µM.[143]



5-Iodoindirubin-3'-monoxime[140]
Plateforme oxindole (bis-indole)
GSK-3β (CI_{50} = 9 nM)



Manzamine A[143]
GSK-3β (CI_{50} = 10,2 µM)

Figure 17: Exemples d'inhibiteurs d'origine naturelle de GSK-3.

3.5. Les inhibiteurs des CDKs

Les inhibiteurs connus des CDKs sont pour la plupart compétitifs de l'ATP. Plusieurs d'entre eux, en plus de faciliter voire même induire la mitose, ont des propriétés antimitotiques marquées qui les positionnent comme de potentiels anticancéreux, dont certains à divers stades d'études précliniques.[144] Plusieurs types d'inhibiteurs de CDKs ont été décrits. Ceux-ci diffèrent par leur structure chimique et leur sélectivité d'inhibition, mais ils sont généralement tous ATP-compétitifs avec une faible masse moléculaire, un hétérocycle hydrophobe plan et interagissent avec la kinase par des liaisons hydrophobes et des ponts hydrogènes.[145] À ce jour, plusieurs dizaines de composés synthétiques ou d'origine naturelle,

140 Leclerc S., Garnier M., Hoessel R., Marko D., Bibb J.A., Snyder G.L., Greengard P., Biernat J., Wu Y.Z., Mandelkow E.M., Eisenbrand G., Meijer L., *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 251-260.

141 Williams D.H., Faulkner J., *Nat. Prod. Lett.* **1996**, *9*, 57-64.

142 Hu J.F., Hamann M.T., Hill R., Kelly M., *Alkaloids Chem. Biol.* **2003**, *60*, 207-285.

143 Hamann M., Alonso D., Martin-Aparicio E., Fuertes A., Perez-Puerto M.J., Castro A., Morales S., Navarro M.L., Del Monte-Millan M., Medina M., Pennaka H., Balaiah A., Peng J., Cook J., Wahyuono S., Martínez A., *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1397-1405.

144 a) Pestell R., Mani S., Wange C., Wu K., Francis R., *Expert Opin. Investig. Drugs* **2000**, *9*, 1849-70. b) Rosiana G.R., Chang Y.T., *Exp. Opin. Ther. Patents* **2000**, *10*(2), 215-230.c) Damiens E., Meijer L., *Pathol. Biol.* **2000**, *48*, 340-51.

145 Carassou P., Meijer L., Le Moulec S., Aoun J., Bengrine-Lefèvre L., *Bull. Canc.* **2012**, *99*(2), 163-171.

ont été ainsi identifiés comme inhibiteurs de kinases cyclines-dépendantes parmi lesquels l'olomoucine[146], la roscovitine[147], le purvalanol[148], le CVT-313[149], la toyocamycine[150], les pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-ones[151], l'induribine et certains de ses dérivés comme l'indirubine-5-sulfonate[140,152], une famille d'azepinones, les paullones[153] ou encore l'hymenialdisine.[154]
Aucun inhibiteur à ce jour n'a manifesté de sélectivité pour un unique CDK, la plupart d'entre eux étant actifs sur plusieurs CDKs à la fois. Nous vous proposons ci-dessous (Figure 18) quelques structures de ceux inhibant l'action de CDK2/Cyclin A, CDK5p25 et CDK9/Cyclin T qui nous intéressent particulièrement ici.

146 a) Veselý J., Havliček L., Strnad M., Blow J.J., Donella-Deana A., Pinna L., Letham D.S. J.-Y., Detivaud L., Leclerc S., Meijer L., *Eur. J. Biochem.* **1994**, *224*, 771-86. b) Schulze-Gahmen U., Brandsen J., Jones H.D., Morgan D.O., Meijer L., Vesely J., Kim S.H., *Proteins Struct. Funct. Gen*. **1995**, *22*, 378-391.

147 a) De Azevedo W.F., Leclerc S., Meijer L., Havlicek L., Strnad M., Kim S.H., *Eur. J. Biochem.* **1997**, *243*, 518-26. b) Inagaki M.J.G.D., Moulinoux, J.P., *Eur J Biochem* **1997**, *243*, 527-36.

148 Gray N.S., Wodicka L., Thunnissen A.M.W., Norman T.C., Kwon S., Espinoza F.H., Morgan D.O., Barnes G., LeClerc S., Meijer L., Kim S.-H., Lockhart D.J., Schultz, P.G., *Science* **1998**, *281*, 533-538.

149 Brooks E.E., Gray N.S., Joly A., Kerwar S.S., Lum R., Mackman R.L., Norman T.C., Rosete J., Rowe M., Schow S.R., Schultz P.G., Wang X., Wick M.M., Shiffman D., *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*(46), 29207-11.

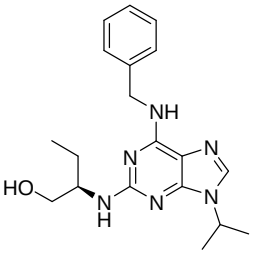
150 Zimmermann J., *U.S. Patent No. 5,728,708*, **1998**.

151 Barvian M., Boschelli D.H., Cossrow J., Dobrusin E., Fattaey A., Fritsch A., *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4606-16.

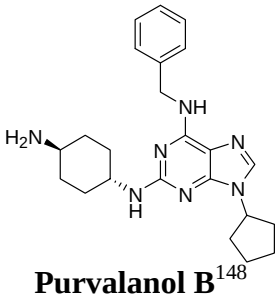
152 Marko D., Schätzle S., Friedel A., Genzlinger A., Zankl H., Meijer L, Eisenbrand G., *Br. J. Canc.* **2001**, *84* (2), 283-289.

153 a) Gussio R., Zaharevitz D.W., McGrath C.F., Pattabiraman N., Kellog G.E., Schultz C., Link A., Kunick C., Leost M., Meijer L., Sausville E.A., *Anticancer Drug Des.* **2000**, *15*(1), 53-66. b) Schultz C., Link A., Leost M., Zaharevitz D.W., Gussio R., Sausville E.A., Kunick C.M., Meijer L., *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2909-19. c) Leost M., Schultz C., Link A., Wu Y.Z., Biernat J., Mandelkow E.M., Bibb J.A., Snyder G.L., Greengard P., Zaharevitz D.W., Gussio R., Senderowicz A.M., Sausville E.A., Kunick C., Meijer L., *Eur. J. Biochem.* **2000**, *267*, 5983-94.

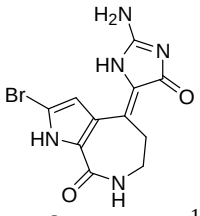
154 Meijer L., Thunnissen A.M.W.H., White A., Garnier M., Nikolic M., Tsai L.H., Walter J., Cleverley K.E., Salinas P.C., Wu Y.-Z., Biernat J., Mandelkow E.-M., Kim S.-H., Pettit G.R., *Chem. Biol.* **2000**, *7*(1), 51-63.



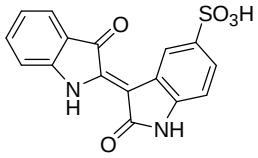
Seliciclib (*R*-Roscovitine)[147a]
Plateforme purine
CDK1/Cyclin B (CI_{50} = 0,45 µM), CDK2/Cyclin A (CI_{50}= 0,7 µM), CDK5p25 (CI_{50}= 0,16 µM)



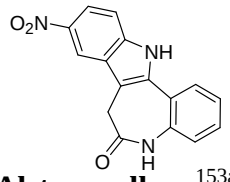
Purvalanol B[148]
Plateforme purine
CDK1/Cyclin B (CI_{50} = 6 nM), CDK2/Cyclin A (CI_{50}= 6 nM), CDK2/Cyclin E (CI_{50}= 9 nM), CDK5p25 (CI_{50}= 6 nM)



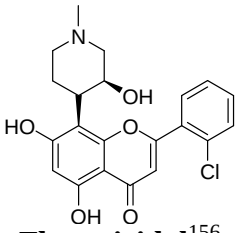
Hyménialdisine[154]
Plateforme Pyrroloazépine
CDK1/Cyclin B (CI_{50} = 22 nM), CDK2/Cyclin A (CI_{50}= 70 nM), CDK2/Cyclin E (CI_{50}= 40 nM), CDK5p25 (CI_{50}= 28 nM), CDK4/Cyclin D (CI_{50}= 600 nM), GSK-3 (CI_{50}= 10 nM)



Indirubine-5-sulfonate[155]
Plateforme oxindole (bis-indole)
CDK1/Cyclin B (CI_{50} = 55 nM), CDK2/Cyclin A (CI_{50}= 40 nM), CDK2/Cyclin E (CI_{50}= 150 nM), CDK5p25 (CI_{50}= 65 nM), CDK4/Cyclin D (CI_{50}= 300 nM), GSK-3 (CI_{50}= 280 nM)



Alsterpaullone[153a]
Plateforme benzazépinone
CDK1/Cyclin B (CI_{50} = 35 nM), CDK2/Cyclin A (CI_{50}= 15 nM), CDK2/Cyclin E (CI_{50}= 200 nM), CDK5p25 (CI_{50}= 40 nM), GSK-3 (CI_{50}= 4 nM)



Flavopiridol[156]
Plateforme flavone
CDK9/Cyclin T (CI_{50}= 6-10 nM), CDK1/Cyclin B (CI_{50} = 400 nM), CDK2/Cyclin A (CI_{50}= 100 nM), CDK4/Cyclin D (CI_{50}= 400 nM), GSK-3 (CI_{50}= 450 nM)

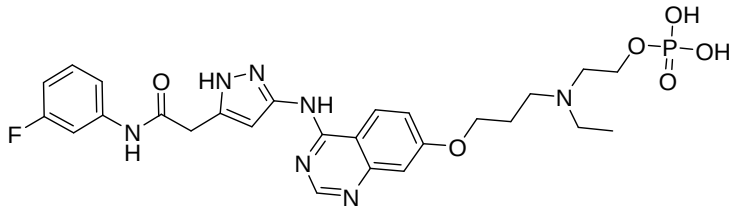
Figure 18: Quelques inhibiteurs des CDKs.

155 Hoessel R., Leclerc S., Endicott J.A., Nobel M.E., Lawrie A., Tunnah P., Leost M., Damiens E., Marie D., Marko D., Niederberger E., Tang W., Eisenbrand G., Meijer L., *Nat. Cell Biol.* **1999**, *1*, 60-67.

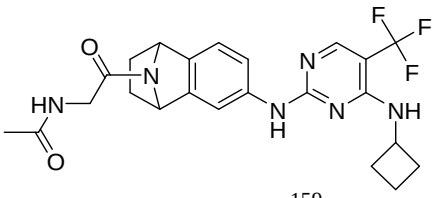
156 a) Chao S.H., Fujinaga K., Marion J.E., Taube R., Sausville E.A., Senderowicz A.M., Peterlin B.M., Price D.H., *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*(37), 28345-48. b) De Azevedo W.F., Mueller-Dieckmann H.J., Schulze-Gahmen U., Worland P.J., Sausville E., Kim S.H., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*(7), 2735-2740.

3.6. Les inhibiteurs d'Aurora B

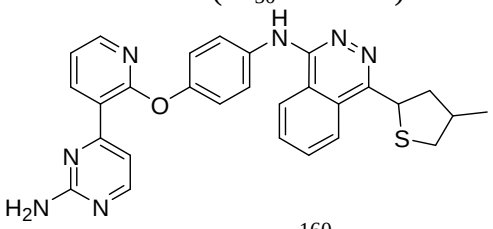
Les inhibiteurs des kinases Aurora connus et répertoriés dans la littérature, d'origine synthétique, sont tous compétitifs du site de liaison de l'ATP[157] et possèdent une très bonne spécificité pour ces kinases. La figure 19 présente certains des inhibiteurs les plus puissants d'aurora B.



AZD-1152[158]
Plateforme pyrazoloquinazoline
Aurora A (CI_{50} = 1369 nM)
Aurora B (CI_{50} = 0,36 nM)
Aurora C (CI_{50} = 17 nM)



PF-03814375[159]
Aurora A (CI_{50} = 5 nM)
Aurora B (CI_{50} = 0,8 nM)



AMG-900[160]
Aurora A (CI_{50} = 5 nM)
Aurora B (CI_{50} = 4 nM)
Aurora C (CI_{50} = 1 nM)

Figure 19: Inhibiteurs des kinases Aurora.

3.7. Les inhibiteurs de RIPK3

Très peu de composés inhibiteurs de RIPK3 ont été décrits à ce jour dans la littérature. Cependant les premiers inhibiteurs[161] synthétiques découverts (GSK'840 / 843 / 872) montrent une bonne sélectivité des kinases RIPKs et sont actifs au nanomolaire (Figure 20). Certaines molécules utilisées en cancérologie telles que le Ponatinib et le Dabrafénib ont également montré une très bonne capacité d'inhibition de RIPK3 (Figure 20).

---

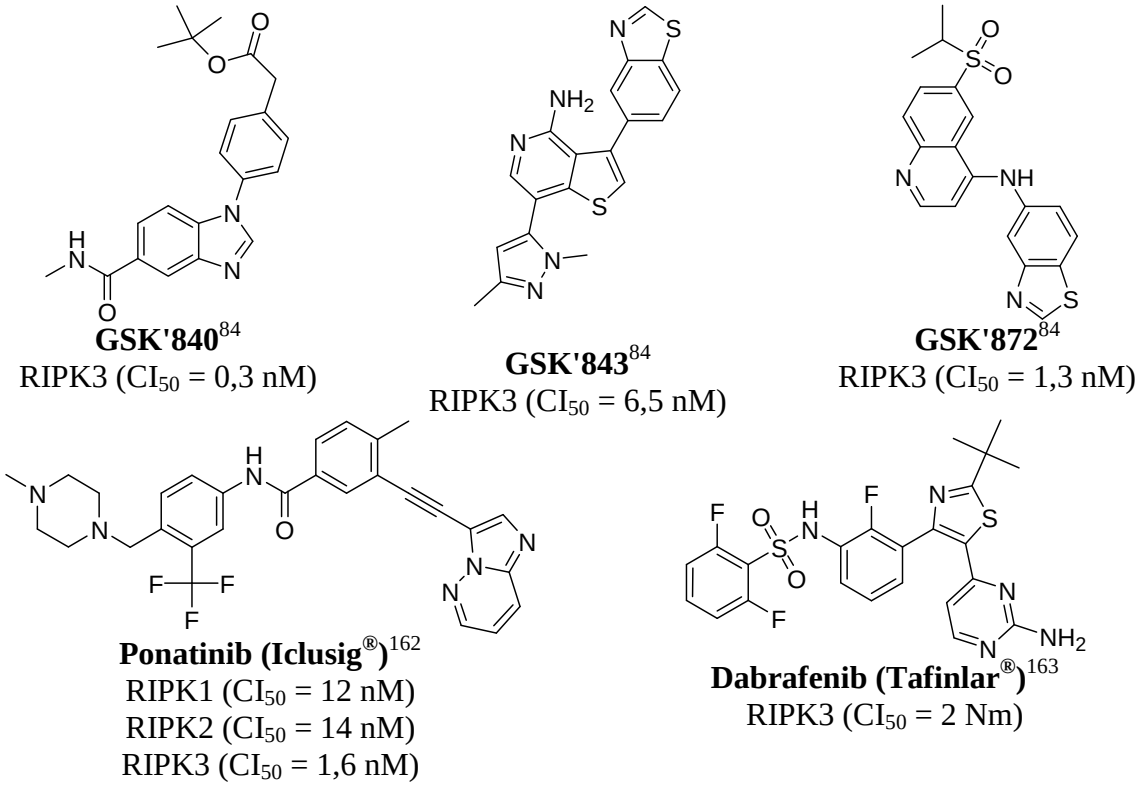
157 Talele T.T., McLaughlin M.L., *J. Mol. Graphics Modelling* **2008**, *26*(8), 1213-1222.

158 Mortlock A.A., Foote K.M., Heron N.M., Jung F.H., Pasquet G., Lohmann J.J.M., Warin N., Renaud F., De Savi C., Roberts N.J., Johnson T., Dousson C.B., Hill G.B., Perkins D., Wilkinson R.W., Wedge S.R., Heaton S.P., Odedra R., Keen N.J., Crafter C., Brown E., Thompson K., Brightwell S., Khatri L., Brady M. C, Kearney S., McKillop D., Rhead S., Parry T., Green S., *J. Med. Chem.* **2007**, *50*(9), 2213-2224.

159 Schöffski P., Jones S.F., Dumez H., Infante J.R., Van Mieghem E., Fowst C., Gerletti P., Xu H., Jakubczak J.L., English P.A., Pierce K.J., Burris H.A., *Eur. J. Cancer* **2011**, *47*(15), 2256-2264.

160 Payton M., Bush T.L., Chung G., Ziegler B., Eden P., McElroy P., Ross S., Cee V.J., Deak H.L., Hodous B.L., Nguyen H.N., Olivieri P.R., Romero K., Schenkel L.B., Bak A., Stanton M., Dussault I., Patel V.F., Geuns-Meyer S., Radinsky R., Kendall, R.L., *Cancer Res.* **2010**, *70*(23), 9846-9854.

161 Kaiser W.J., Sridharan H., Huang C., Mandal P., Upton J.W., Gough P.J., Sehon C.A., Marquis R.W., Bertin J., Mocarski E.S., *J. Biol. Chem.* **2013**, *288*, 31268-279.



GSK'840[84]
RIPK3 (CI_{50} = 0,3 nM)

GSK'843[84]
RIPK3 (CI_{50} = 6,5 nM)

GSK'872[84]
RIPK3 (CI_{50} = 1,3 nM)

Ponatinib (Iclusig®)[162]
RIPK1 (CI_{50} = 12 nM)
RIPK2 (CI_{50} = 14 nM)
RIPK3 (CI_{50} = 1,6 nM)

Dabrafenib (Tafinlar®)[163]
RIPK3 (CI_{50} = 2 Nm)

Figure 20: Quelques inhibiteurs de RIPK3.

3.8. Les inhibiteurs de Haspin

De puissants inhibiteurs de Haspin tels que la 5'-iodotubercidine ou encore le CHR6494 ont été récemment découverts (Figure 21). Ce sont des composés de synthèse ATP-compétitifs.



CHR6494[164]
Haspin (CI_{50} = 2 nM)

5'-iodotubercidine
Haspin (CI_{50} = 3 nM)[165]

Figure 21: Exemples d'inhibiteurs de Haspin.

[162] Najjar M., Suebsuwong C., Ray S.S., Thapa R.J., Maki J.L., Nogusa S., Shah S., Saleh D., Cough J.P., Bertin J., Yuan J., Balachandran S., Cuny G.D. Degterev A., *Cell Reports* **2015**, *10*(11), 1850-1860.

[163] Li J.X., Feng J.M., Wang Y., Li X.H., Chen X.X., Su Y., Shen Y.-Y., Chen Y., Xiong B., Yang C.-H., Ding J., Miao., Z.H., *Cell Death Disease* **2014**, *5*(6), e1278.

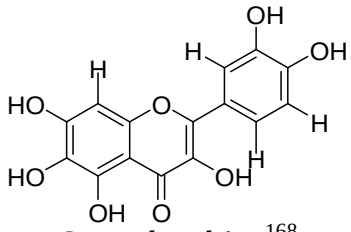
[164] Huertas D., Soler M., Moreto J., Villanueva A., Martinez A., Vidal A., Esteller M., *Oncogene* **2012**, *31*(11), 1408-1418.

[165] Wang F., Ulyanova N.P., Daum J.R., Patnaik D., Kateneva A.V., Gorbsky G.J., Higgins J.M., *J. Cell Biol.* **2012**, *199*(2), 251-268.

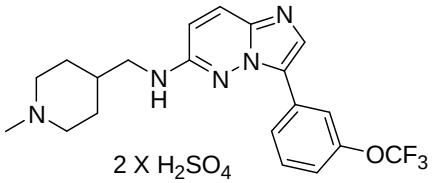
Certains dérivés de l'acridine ont également été identifiés comme inhibiteurs de la kinase Haspin (10 nM pour LDN-192960 et 100 nM pour LDN-211898)[166]. Sur la base des méthodes de screening mises en œuvre dans le cas de ces dérivés de l'acridine, Cuny et coll. ont développé une nouvelle classe d'inhibiteurs de Haspin, dérivés de l'Harmine. Ceux-ci montrent cependant une activité modérée ($IC_{50} \geq 0{,}1$ µM).[166b]

3.9. Les inhibiteurs de PIM-1

Les inhibiteurs connus à ce jour de PIM-1 sont tous ATP-compétitifs et présentent diverses structures chimiques parmi lesquelles des flavones (Figure 22), indolocarbazoles, des bisindolylmaléimides, des naphthyridines, des pyridazines, des isoxazoles, des thiazolidine-2,4-diones, des thiènopyrimidinones, des pyridones ou encore des isoxazoloquinolines.[167]



Quercétagétine[168]
Plateforme flavone
PIM-1 (CI_{50} = 0,34 µM)



SGI-1776[169]
Plateforme imidazo[1,2-b]pyridazine
PIM-1 (CI_{50} = 7 nM), PIM-2 (CI_{50} = 363 nM), PIM-3 (CI_{50} = 69 nM), Flt-3 (CI_{50} = 44 nM), Haspin (CI_{50} = 34 nM)

Figure 22: Inhibiteurs de PIM-1.

Certains composés déjà évoqués ultérieurement comme inhibiteurs d'autres kinases, tels que la staurosporine pour CLK1 et FLT3, inhibent également puissamment PIM-1 (CI_{50} = 10 nM).[170]

3.10. Les inhibiteurs des kinases parasitaires *Pf*GSK-3, *Lm*CK1 et *Ld*TLK

- **Inhibiteurs de *Pf*GSK-3**:
  *Pf*GSK-3 est fortement inhibé par plusieurs composés. Ceux-ci sont cependant déjà connus comme inhibiteurs de multiples autres protéines kinases (donc peu sélectifs).

166 a) Balzano D., Santaguida S., Musacchio, Villa. F., *Chem. Biol*. **2011**, *18*(8), 966-975. b) Cuny G.D., Ulyanova N.P., Patnaik D., Liu J.F., Lin X.A., Auerbach K., Ray S.S., Xian J., Glicksman M.A., Stein R.L., Higgins J.M.G., *Bioorg. Med. Chem. Lett*. **2012**, *22*, 2015-2019. c) Patnaik D., Jun Xian M.A., Glicksman M.A., Cuny G.D., Stein R.L., Higgins J.M.G., *J. Biomol. Screen*. **2008**, *13*, 1025-1034.

167 Merkel A.L., Meggers E., Ocker M., *Exp. Opin. Investig. Drugs* **2012**, *21*(4), 425-436.

168 Holder S., Zemskova M., Zhang C., Tabrizizad M., Bremer R., Neidigh J.W., Lilly M.B., *Mol. Canc. Ther.* **2007**, *6*(1), 163-172.

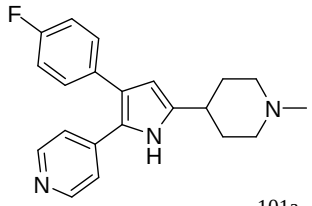
169 Chen L.S., Redkar S., Bearss D., Wierda W.G., Gandhi V., *Blood* **2009**, *114*(19), 4150-4157.

170 Jacobs M.D., Black J., Futer O., Swenson L., Hare B., Fleming M., Saxena K., *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 13728-34.

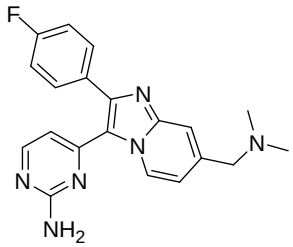
Certains d'entre eux ont déjà été énumérés dans ce document à savoir entre autres, la Staurosporine (CI_{50} = 10 nM), l'Indirubine-3'-monoxime (CI_{50} = 65 nM), l'Hyménialdisine (CI_{50} = 23 nM) et l'Alsterpaullone (CI_{50} = 320 nM).[43]

- **Inhibiteurs de *Lm*CK1**:

  Les inhibiteurs de *Lm*CK1 bloquent la croissance des promastigotes de *Leishmania major in vitro*.[101a] Ces inhibiteurs, dont certains ne sont actifs qu'au micromolaire, exhibent diverses structures chimiques comprenant des 2,3-diarylimidazo[1,2-a] pyridines[171] des amines renfermant des fractions *N*-[(1-benzyl-1*H*-1, 2, 3-triazol-4-yl) méthyl][172], des pyrroles ou encore des imidazopyridines (Figure 23).[101a]



Plateforme pyrrole[101a]
*Lm*CK1 (CI_{50} = 600 nM)



Plateforme imidazopyridine[101a]
*Lm*CK1 (CI_{50} = 200 nM)

Figure 23: Deux inhibiteurs de *Lm*CK1.

- **Inhibiteurs de *Ld*TLK**:

  Sur la base des recherches bibliographiques effectuées à ce jour, nous pouvons conclure qu'aucun inhibiteur de *Ld*TLK n'a été décrit dans la littérature.

II. LES CANAUX SOCEs

1. Les canaux ioniques

Toutes les cellules vivantes présentent un potentiel de membrane. Ce potentiel se traduit par une charge globalement négative dans le liquide intracellulaire (présence de protéines et phosphates chargés négativement) et une charge globalement positive dans le liquide extracellulaire (présence majoritairement d'ions Na^+).

Cet équilibre ionique (potentiel membranaire) est assuré et régulé par un constant flux d'ions à travers la membrane cellulaire et ce par l'intermédiaire de "portes" entre les milieux intracellulaire et extracellulaire appelées canaux ioniques. Ces canaux ioniques selon le cas, peuvent être ouverts et laisser donc passer les ions ou être fermés. Il existe cependant des

171 Marhadour S., Marchand P., Pagniez F., Bazin M.A., Picot C., Lozach O., Ruchaud S., Antoine M., Meijer L., Rachidi N., Le Pape P., *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *58*, 543-556.

172 Tahghighi A., Razmi S., Mahdavi M., Foroumadi P., Ardestani S.K., Emami S., Foroumadi A., *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *50*, 124-128.

canaux qui restent constamment ouverts. Ce sont des canaux de fuite. Il faut noter que la membrane cellulaire sans ces canaux est imperméable à ces ions.

Les canaux ioniques sont transmembranaires et constitués de protéines organisées en hélices tridimensionnelles délimitant un pore aqueux central (Figure 24), qui lorsqu'il est ouvert laisse donc passer les ions et l'eau. Ce pore s'ouvre généralement sur le versant cytoplasmique, mais il peut également s'ouvrir en son centre, ou sur les deux versants (intracellulaire et extracellulaire). Certains canaux possèdent ainsi deux portes c'est à dire une sur chaque versant de la membrane cellulaire. Il existe également une classe spéciale de canaux ioniques appelés connexines des jonctions communicantes. Alors que les canaux ioniques classiques font communiquer la cellule avec son extérieur, ces connexines font communiquer une cellule avec une autre.

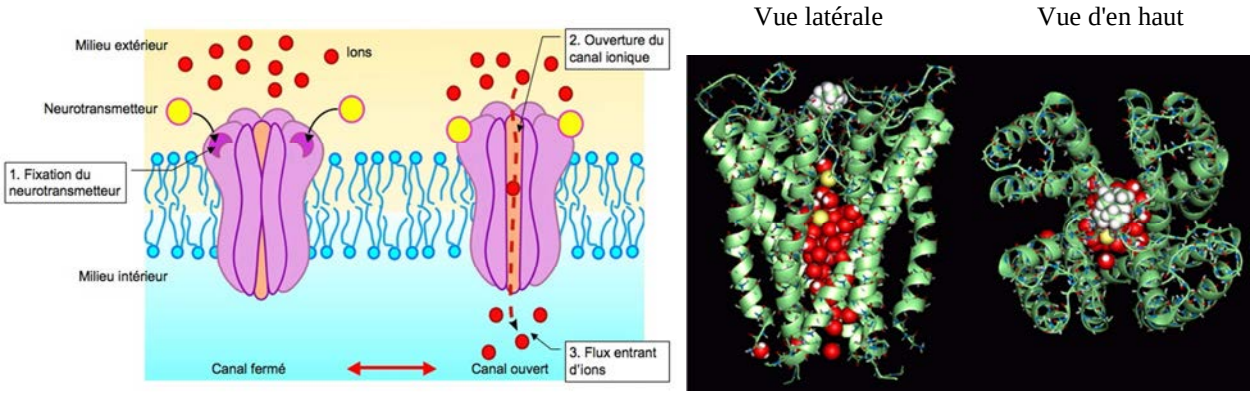


Figure 24: Représentation d'un canal ionique.[173]

Les quatre grandes classes de canaux ioniques (Ca^{2+}, Na^{+}, K^{+} et Cl^{-}) peuvent être regroupées en familles de gènes. En effet, le génome humain comprend plusieurs centaines de gènes codant pour les canaux ioniques au sein de la membrane cytoplasmique. On peut citer entres autres, 9 variantes de gènes codant pour des canaux Na^{+} voltage-dépendants, 10 gènes pour différents canaux Ca^{2+}, plus de 75 gènes pour les canaux K^{+}, 70 gènes pour les canaux chimio-dépendants, et plus d'une douzaine de gènes de canaux Cl^{-}.[174] Le nombre de gènes de canaux ioniques est cependant moins important que le nombre des canaux ioniques eux-mêmes. L'une des raisons de ce constat est que la plupart des canaux sont composés de plusieurs sous-unités codées chacune par une famille de gènes pouvant être étroitement apparentés. En outre, des combinaisons de ces sous-unités peuvent générer un large éventail de canaux hétéromultimériques* avec des propriétés fonctionnelles distinctes.

[173] a) https://sites.google.com/site/aphysionado/home/cellsnv/PA/recptrneurotransm b) http://irtsv.cea.fr/dsv/irtsv/Pages/CBM/MCT/Accueil.aspx consulté le 16-05-2015.

[174] http://www.cours-de-neurosciences.com/biologie-cellulaire-moleculaire-du-neurone/les-canaux-ioniques/ consulté le 16-05- 2015.

1.1. L'activation des canaux ioniques

Certains canaux ioniques dans leur rôle de transporteurs membranaires restent constamment ouverts comme précédemment évoqué. Certains par contre sont fermés et leur ouverture est rigoureusement régulée par des facteurs divers. Ainsi selon leur mode d'activation (ouverture ou fermeture), il existe:

- les canaux ioniques voltage-dépendants (sensibles au voltage) dont l'activation est fonction du potentiel membranaire. Le voltage entre les milieux intracellulaire et extracellulaire est modifié et induit un changement de conformation du canal qui entrainera son ouverture ou sa fermeture;
- les canaux ioniques activés par la fixation d'une enzyme extracellulaire;
- les canaux mécano-sensibles, réagissant à un stimulus mécanique comme le froid, la chaleur, l'étirement de la membrane, le volume cellulaire, etc;
- les canaux activés par l'augmentation de la concentration d'un ligand intracellulaire.

1.2. La sélectivité du canal

Un canal ionique lorsqu'il est ouvert, laissera passer toujours l'eau. Le passage des ions quant à lui dépendra de certains facteurs tels que la structure géométrique et le diamètre du canal, la charge électrique des acides aminés composant l'intérieur du canal ou encore la sélectivité ionique du canal. Ainsi, un canal étroit filtrera les plus grosses particules en bloquant systématiquement leur passage. Et si les acides aminés situés à l'intérieur du canal sont chargés négativement alors tous les anions (chargés négativement) se présentant à l'entrée de ce canal seront refoulés, tandis que les cations (chargés positivement) pourront traverser. Le phénomène inverse sera observé avec des acides aminés chargés positivement. Certains canaux tels que les canaux sodiques pour l'ion sodium Na^+, potassiques pour l'ion K^+, calciques pour l'ion Ca^{2+}, chlorure pour l'ion Cl^-, sont sélectifs d'un seul ion et ne permettent le passage d'aucun autre. D'autres cependant, pourront être spécifiques d'une classe d'ions (par exemple canaux à ions monovalents K^+, Na^+, Cl^-) ou encore spécifiques aux cations ou aux anions dans leur ensemble. Il existe des canaux ne laissant diffuser que l'eau, ce sont des aquaporines.

1.3. Le fonctionnement des canaux ioniques et les pathologies

Les canaux ioniques sont à l'origine de la génération et de la modulation de l'excitabilité neuronale.[175] Ils sont en outre intimement impliqués dans presque tous les aspects de la physiologie et ont un rôle crucial dans divers processus tels que la relaxation musculaire, la cognition, la transduction sensorielle, la régulation de la pression artérielle et la

[175] Mazzuca M., Lesage F., Lazdunski M., *Epileptic Dis.* **2004**, *6*(1), 1-16.

prolifération cellulaire.[176] L'activité des canaux ioniques peut être modifiée par l'action de divers ions qui agissent comme bloqueurs, ainsi que par des toxines, des poisons ou encore des médicaments (modulateurs de canaux ioniques). Cette activité peut être également influencée par des réactions métaboliques telles que la phosphorylation des protéines.

Le dysfonctionnement de ces canaux ioniques est à la base de plusieurs pathologies réunies sous le terme de "canalopathies". A ce jour, plus de 60 "canalopathies" ont été identifiées comme des maladies humaines provoquées par des mutations dans les canaux ioniques[177] Ces canalopathies comprennent entre autres des troubles cardiaques, neurologiques, musculaires, cérébraux, le diabète et également des cancers (Tableau 2).

Tableau 2: Exemples de canalopathies.[176-177]

Canalopathies	**Canaux impliqués**	**Canalopathies**	**Canaux impliqués**
Syndrome de Bartter	K_{ir}	Syndrome d'Andersen	K_{ir}
Hyperinsulinisme congénital	K_{ir}	Diabète néonatal	K_{ir}
Cardiomyopathie dilatée	K_{ir}	Ataxie épisodique	K_v (type1) Ca_v (type 2)
Syndrome du long QT ou LQT	K_v, Na_v	Syndrome du QT court ou SQT	K_v
Surdité non syndromique	Na_v	Maladie polykystique des reins	TRP
La rétinite pigmentaire	CNG (Ca^{2+})	Epilepsie	K_{Ca}, Na_v
Myotonie	Na_v	Paralysie périodique hyperkaliémique	Na_v
Diabète	Kir6.2 (K^+), Ca^{2+}	Mucoviscidose	CFTR (Cl^-)
Sclérose amyotrophique latérale	CCVD (Ca^{2+})	Maladie d'Alzheimer	Ca^{2+}
Ostéopétrose	CIC-7 (Cl^-)	Cancers	Ca^{2+}

Compte tenu de leur rôle important dans le vivant et des conséquences de leur modulation sur la santé, les canaux ioniques constituent d'excellentes cibles thérapeutiques pour le traitement de diverses maladies. Cependant, le nombre de médicaments ciblant les canaux ioniques comme modulateurs (Figure 25) et commercialisés reste faible car peu de ces drogues ont été approuvées et développées pour une mise à disposition des malades. Ce fait

176 Bagal S.K., Brown A.D., Cox P. ., Omoto K., Owen R.M., Pryde D.C., Swain N.A., *J. Med. Chem.* **2012**, *56*(3), 593-624.

177 a) Kass R.S., *J. Clinic. Investig.* **2005**, *115*(8), 1986-89. b) Anumonwo J.M., Lopatin A.N., *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2010**, 48(1), 45-54. c) Balser J.R., *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2001**, *33*(4), 599-613. c) Huang J.B., Kindzelskii A.L., Clark A.J., Petty H.R., *Cancer Res.* **2004**, *64*(7), 2482-2489. d) Stutzmann G.E., Mattson M.P., *Pharmacol. Rev.* **2011**, *63*, 700-727. e) Bermont Sophie, thèse soutenue le 18/02/2000, Faculté de médecine Nancy, N° ordre: 22.

est lié entres autres aux nombreux échecs cliniques dus à l'efficacité des drogues et l'épineuse question de la sécurité. Il faut également noter que ces médicaments pour la plupart possèdent une très faible sélectivité et provoquent par voie de conséquence de nombreux effets secondaires. Les médicaments les plus courants concernent entre autres certaines pathologies cardiaques et neurophysiologiques (le Vérapamil ou Isoptin® et l'Amlodipine ou Amlor®), la douleur (la Gabapentine ou Neurontin® et la Prégabaline ou Lyrica®), l'épilepsie (la Rétigabine ou Trobalt®), la sclérose amyotrophique latérale (le Riluzole ou Rilutek®), la dépression (le Diazépam ou Valium®) ou sont utilisés comme anesthésique local (la Lidocaïne®).

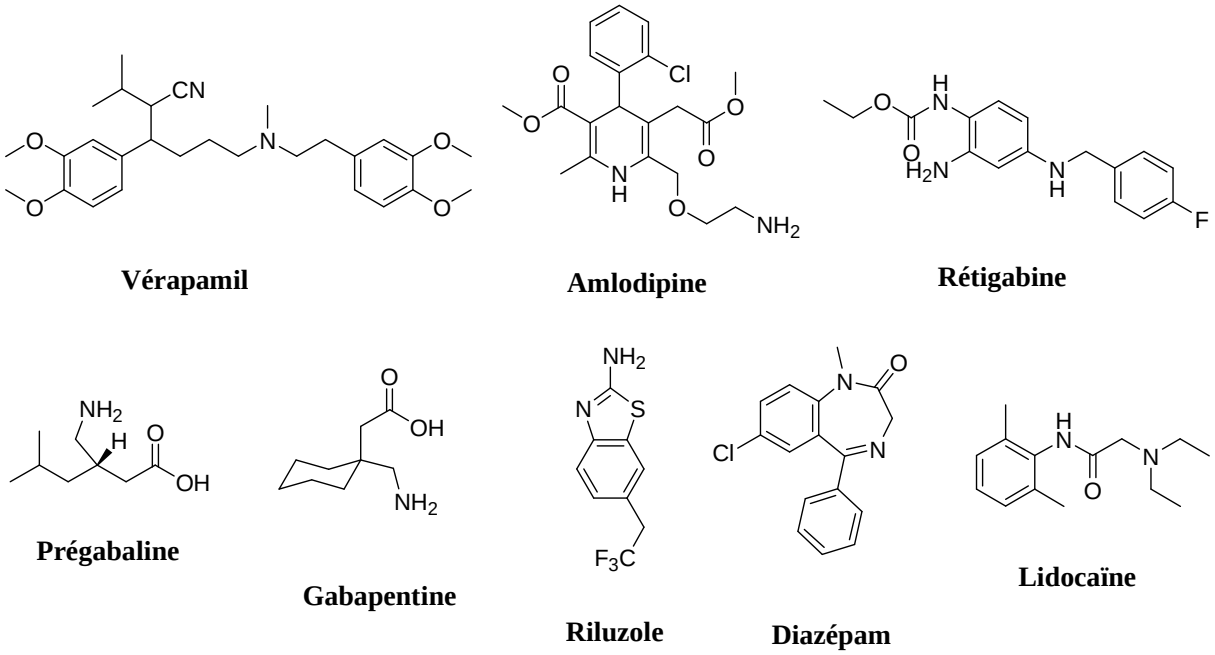


Figure 25: Quelques modulateurs de canaux ioniques utilisés en thérapeutique.

2. Les SOCEs

Les canaux SOCE (Store Operated Calcium Entry) sont les entrées calciques dépendantes des stocks intracellulaires, donc des canaux calciques (Ca^{2+}). Ces canaux sont essentiels pour l'homéostasie calcique* et pour un fonctionnement efficace de la cellule. En effet, lorsque les réserves calciques du réticulum endoplasmique* (RE) s'épuisent suite à l'activité cellulaire, cela induit l'ouverture de canaux calciques appelés Store-Operated Ca^{2+} Channels (SOCs), situés au niveau de la membrane plasmique et l'afflux massif de calcium extracellulaire dans la cellule (le cytosol). Ce processus, appelé entrée capacitive du Ca^{2+} (ECC) ou "Store-Operated Ca^{2+} Entry (SOCE)", participe ainsi à la signalisation et remplit les stocks. Cette voie de signalisation calcique est probablement la plus importante et la plus utilisée par les cellules non excitables. Cependant, elle est retrouvée également dans les cellules excitables telles que celles des neurones, des muscles, des neuroendocrines* et dans plusieurs différents types de cellules.[178]

[178] Targos B., Baranska J., Pomorski P., *Acta Biochimica Polonica-English Edition* **2005**, *52*(2), 397-409.

2.1. L'activation des SOCEs

Le canal CRAC (Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channel), considéré comme le prototype des SOCs, est sans nul doute le canal ionique jouant le rôle le plus important lors de la réponse immunitaire à travers l'activation des lymphocytes T et l'acquisition de leurs fonctions effectrices.[179]

Deux protéines clés impliquées dans les SOCEs ont été identifiées. Ce sont STIM1 (STromal Interacting Molecule 1) et ORAI1 (Calcium Release-Activated Calcium Modulator 1 - CRACM1).[180] La protéine ORAI1 (sous-unité ORAI) est la composante essentielle du canal CRAC tandis que la STIM1, protéine transmembranaire située principalement dans le réticulum endoplasmique (RE), est un senseur de Ca^{2+} et un messager.[181] Comme indiqué précédemment, le SOCE est activé par la déplétion du calcium intraréticulaire. Dans la pratique, la protéine STIM1 sonde l'état des réserves calciques du RE et en cas de nécessité interagit avec ORAI1 afin d'induire l'ouverture du pore permettant le passage des ions Ca^{2+} (canal CRAC) et ainsi le renflouement des stocks.[182b] L'activation du canal CRAC et donc du SOCE, est soumise à l'interaction entre les protéines ORAI1 et STIM1 (Figure 26).

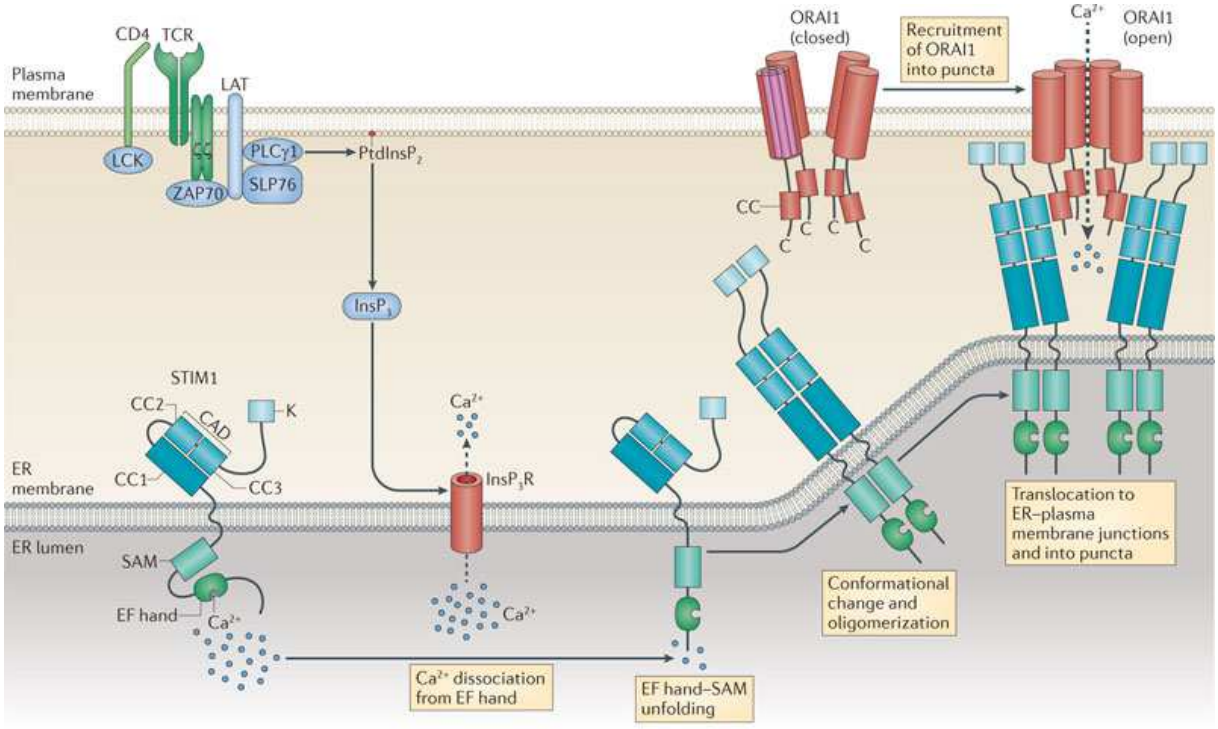


Figure 26: Activation d'un canal CRAC.[182]

---

179 Aubin Penna, 15ème Atelier théorique et pratique, Organisé par la formation permanente de la Délégation Régionale Midi-Pyrénées du CNRS, Le GDR 2688 du CNRS, SEIX, **2011**, p32-37.

180 a) Feske S., *Nat. Rev. Immunol*. **2007**, 7, 690-702. b) Cahalan M.D., Zhang S.L., Yeromin A.V., Ohlsen K., Roos J., Stauderman K.A., *Cell Calcium* **2007**, 42, 133-144. c) Potier M., Trebak M., *Pflügers Arch*. **2008**, *457*, 405-415. d) Frischauf I., Schindl R., Derler I., Bergsmann J., Fahrner M., Romanin C., *Channels* **2008**, *2*, 261-268. e) Soboloff J., Spassova M.A., Tang X.D., Hewavitharana T., Xu W., Gill D.L., *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*(30), 20661-65.

181 a) Lewis R.S., *Nature* **2007**, *446*(7133), 284-287. b) Cahalan M.D., *Nat Cell Biol* **2009**, 11, 669-677.

182 http://www.nature.com/nri/journal/v12/n7/fig_tab/nri3233_F2.html consulté le 16-05-2015.

2.2. Le rôle des SOCEs et les dérégulations pathologiques

Les SOCEs sont impliqués dans le cycle cellulaire, notamment dans la différenciation, l'apoptose ou encore la prolifération et interviennent dans divers aspects des fonctions cellulaires (la forme, la motilité*, la sécrétion, la neurotransmission).[179] La pancréatite aigüe, la dystrophie de Duchenne*, l'immunodéficience primaire, la neurofibromatose*, le cancer et les désordres neurodégénératifs tels que la maladie d'Alzheimer font partie des maladies qui ont été associées aux SOCEs.[179,183] Les voies de signalisation cellulaire médiée par le calcium jouent également un rôle important dans la réponse des lymphocytes B et des lymphocytes T.[181a,184] En particulier, les canaux CRAC assurent la médiation des fonctions essentielles de la sécrétion à l'expression du gène et la croissance cellulaire et forment un réseau essentiel pour l'activation des cellules immunitaires qui établissent la réponse immunitaire adaptative.[185] En effet, la défection de ce complexe STIM/ORAI à travers un dysfonctionnement d'une de ses protéines a été mise en évidence comme impliquée dans de nombreuses pathologies. Ainsi, une mutation dans la protéine ORAI1 a été associée à une déficience immunitaire connue sous la dénomination de Déficit Immunitaire Combiné Sévère (DICS).[186] Ces maladies génétiques graves se caractérisent par une dérégulation de l'activation des lymphocytes T et B et également par l'absence ou le déficit du courant CRAC, c'est-à-dire du flux d'ions Ca^{2+} (I_{CRAC}) dans ces lymphocytes[187]. Plusieurs études ont également associé une défection d'ORAI1 à certains cancers, tels que celui de la prostate[187] et du sein[188].

2.3. La pharmacologie des SOCEs

Au regard de l'implication des canaux CRAC dans ces différentes pathologies et de leur importance dans l'activation de la réponse immunitaire adaptative, la modulation de ce canal à travers ORAI1 apparaît comme une cible potentielle intéressante pour le traitement de maladies inflammatoires comme le psoriasis, l'asthme, la polyarthrite rhumatoïde et la maladie intestinale inflammatoire, [189]mais également pour certains cancers tels que celui du sein et de la prostate.

Certains médicaments ciblant les canaux calciques et agissant comme inhibiteurs sont utilisés en thérapie notamment pour certaines pathologies cardiovasculaires. Cependant, à ce

183 Parekh A.B., Putney J.W., *Physiological Rev.* **2005**, *85*(2), 757-810.

184 Oh-hora M., Rao A., *Curr. Opin. Immunol.* **2008**, *20*, 250-258.

185 Muthuppalaniappan M., Viswanadha S., Merikapudi G.S., Vakkalanka S.K., *U.S. Patent Application 14/539,470*, **2014**.

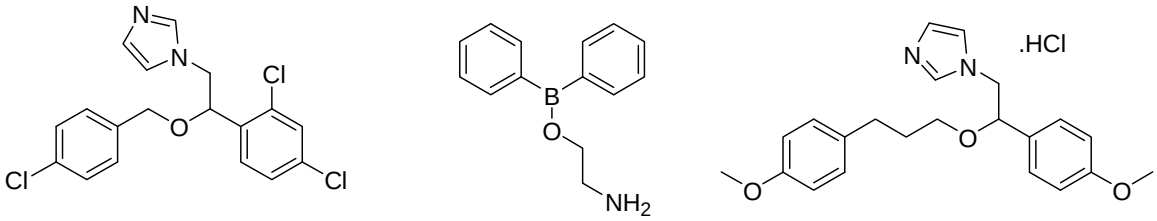
186 a) Feske S., Prakriya M., Rao A., Lewis R.S., *J. Exp. Med.* **2005**, *202*, 651-662. b) Feske S., Gwack Y., Prakriya M., Srikanth S., Puppel S.H., Tanasa B., Hogan P.G., Lewis R.S., Daly M., Rao A., *Nature* **2006**, *441*, 179-185.

187 Flourakis M., Lehen'Kyi, V.Y., Beck B., Raphael M., Vandenberghe M., Abeele F.V., Roudbaraki M., Lepage G., Mauroy B., Romanin C., Shuba Y., Skryma R., Prevarskaya N., *Cell Death Dis.* **2010**, *1*: e75.

188 a) Feng M., Grice D.M., Faddy H.M., Nguyen N., Leitch S., Wang Y., Muend S., Kenny P.A., Sukumar S., Roberts-Thomson S.J., Monteith G.R., Rao R., *Cell* **2010**, *143*, 84-98. b) Motiani R.K., Abdullaev I.F., Trebak M., *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 19173-83.

189 a) Huang Y.H., Hoebe K., Sauer K., *Exp. Opin. Ther. Targets* **2008**, 12, 391-413. b) Derler I., Fritsch R., Schindl R., Romanin C., *Expert Opin. Drug Discovery* **2008**, *3*, 787-800.

jour, aucune molécule modulant de façon spécifique les SOCEs n'a été découverte, ni utilisée en thérapeutique. L'un des plus grands facteurs limitant des composés développés dans ce sens réside donc dans leur absence de spécificité. En effet, ces composés (le 2-aminoéthoxydiphénylborane ou 2APB, Éconazole, SKF-96365, etc.) en plus d'inhiber les SOCEs, modulent également d'autres types de canaux et ce aux mêmes concentrations (Figure 27).[190] Comme tous les autres canaux calciques, les SOCEs sont aussi inhibés par les cations di- ou trivalents (La^{3+}, Gd^{3+}) à des concentrations de l'ordre du micromolaire.[191] Un autre exemple d'inhibiteur non sélectif des SOCEs est la capsaïcine vanilloïde, le composant piquant des piments rouges. La capsaïcine a inhibé I_{CRAC} rapidement et de manière réversible dans Jurkat*, avec une CI_{50} de 30 µM[192]. Il est donc nécessaire de poursuivre les recherches en vue de découvrir de véritables inhibiteurs des SOCEs, non seulement efficaces, mais également sélectifs.



Econazole **2-APB** **SKF 96365**

Figure 25: Quelques inhibiteurs non sélectifs des canaux ioniques

190 Franzius D., Hoth M., Penner R., *Pflügers Arch* **1994**, *428*, 433-8.
191 Hoth M., Penner R., *J. Physiol.* **1993**, *465*, 359-386.
192 Fischer B.S., Qin D., Kim K., McDonald T.V., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *299*, 238-246.

CHAPITRE 2

PRINCIPALES MALADIES VISÉES

I. LA MALARIA

1. Du marais à la réalité du *Plasmodium*

Le paludisme ou malaria, maladie infectieuse très ancienne, est connue depuis l'antiquité. En effet, ses symptômes auraient été décrits dans certains traités égyptiens comme le papyrus d'Ebers dont l'origine est estimée à 1550 avant J-C[1] et on retrouve même des traces de cette maladie, notamment du gène pfcrt de *Plasmodium falciparum*, au niveau de momies égyptiennes datant de 1500 à 500 avant J-C.[2] Plus tard, vers le 4^{éme} siècle avant J-C, Hippocrate réalisa ses premières descriptions cliniques des fièvres palustres observées chez ses patients, en évoquant la triade classique "frissons-sueur-fièvre" selon des séquences quotidiennes, tierces ou quartes. Selon Sallares et coll., l'apparition de la maladie pourrait remonter à l'origine de l'Homme en Afrique, avant de suivre par coévolution ses migrations vers l'Europe et l'Asie.[3]

Le paludisme (du latin *palus, paludis*, qui signifie marais), appelé aussi malaria (de l'italien mal'aria, qui signifie mauvais air) était aussi appelé entre autres fièvre des marais. En effet, les différentes épidémies de paludisme avaient été étroitement associées avec la présence de marais à proximité, censés produire des "miasmes marécageux" à l'origine de la maladie. Face à l'incapacité de la médecine d'alors à y apporter une explication scientifique fiable et rationnelle, cette hypothèse ou "croyance" a été pendant longtemps admise. Il a fallu attendre 1880, pour que Laveran Charles Louis Alphonse, officier français mobilisé à Constantine (Algérie), observa pour la première fois les protozoaires responsables de la maladie dans les globules rouges des patients souffrant de la malaria et le nomma *Oscillerai malariae*. Il se vit décerné le prix Nobel de médecine pour ses travaux sur la malaria en 1907. Le nom *Plasmodium* sous lequel est connu le parasite actuellement revient aux chercheurs italiens E. Marchiafava et A. Celli qui, cinq ans plus tard (1885), confirmèrent la découverte du français, après avoir observé et décrit le cycle de reproduction du parasite. À partir de 1886 Camillo Golgi décrit trois espèces pathogènes pour l'homme sur les cinq connues aujourd'hui. C'est en 1897 que le docteur Donald Ross, officier anglais en service en Inde, mis en cause pour la première fois l'anophèle comme agent vecteur du parasite et donc de l'infection. Ses travaux lui ont valu le prix Nobel de médecine en 1902. En 1899, le professeur Giovanni Battista Grassi, biologiste italien, confirma la découverte de Ross et identifie le moustique du genre Anophèle comme unique vecteur de la maladie chez l'homme. Cette même année, il décrivit avec ses confrères Bastianelli et Bignami, le cycle complet de développement du *Plasmodium* chez l'anophèle.

2. Le *Plasmodium* et cycle parasitaire

2.1. Les *Plasmodiums* pathogènes pour l'homme

---

1 Ebers G.M., Stern L., *Papyrus Ebers. Facsimile with a partial translation*, **1875.**

2 Pays J.F., *Bulletin de la Société de pathologie exotique* **2010**, *103*(2), 65-68.

3 Sallares R., Bouwman A., Anderung C., *Med. Hist.* **2004**, *48*(3), 311-28.

Le *Plasmodium* est un genre de parasite protozoaire. Il en existe plus de 100 espèces dont cinq seulement sont pathogènes, donc impliquées dans la maladie chez l'homme à savoir:

- *Plasmodium falciparum*, le plus virulent des cinq, est responsable de la majorité des cas de mortalité. C'est l'espèce la plus répandue dans les régions tropicales et intertropicales. Il est responsable de la forme la plus dangereuse du paludisme appelée encore "fièvre tierce maligne", qui est mortelle dans 30% des cas. Selon Rich et coll., *Plasmodium falciparum,* aurait été transmis à l'homme par un singe.[4] En effet, après comparaison du patrimoine génétique de ce parasite avec celui de *Plasmodium reichenowi,* qui infecte les chimpanzés, il a été conclu que le premier émanerait du second. Les deux parasites n'auraient donc pas évolué séparément à partir d'un ancêtre commun, comme on le pensait jusqu'alors. *Plasmodium reichenowi* aurait été transmis à l'homme (au plutôt il y a 3 millions d'années et au plus tard il y a 10 000 ans), ensuite aurait subi des mutations génétiques.

- *Plasmodium vivax,* qui sévit dans les zones plus tempérées et qui est donc absent des régions plus chaudes telles que l'Afrique Centrale ou Occidentale. Il est à l'origine d'une forme bénigne du paludisme (fièvre tierce), mais peut également occasionner des cas plus graves.

- *Plasmodium ovale,* l'espèce la plus rare dans ce sens où elle agit essentiellement en Afrique intertropicale. Elle cause également une forme bénigne du paludisme (fièvre tierce).

- *Plasmodium malariae,* une espèce que l'on retrouve dans toutes les zones endémiques et qui est responsable d'un paludisme bénin (fièvre quarte).

- *Plasmodium knowlesi,* une espèce qui a été découverte plus récemment en Malaisie. Elle provoque une infection bénigne. Elle est morphologiquement proche de *Plasmodium malariae* et est localisée essentiellement en Asie du Sud-Est.

La "fièvre quarte" est la forme la plus bénigne du paludisme. La forme intermédiaire qui est la "fièvre tierce" moins grave que la "fièvre tierce maligne", affecte néanmoins de façon notable l'état général du malade.

2.2. Le cycle parasitaire

Le cycle du *Plasmodium* se fait à travers deux intermédiaires qui sont l'homme l'hôte intermédiaire et "réservoir", et l'anophèle (femelle hématophage du moustique) vecteur et hôte définitif. Ce cycle commence chez l'homme par une courte phase hépatocytaire asymptomatique (exo-érythrocytaire*), suivie d'une phase érythrocytaire (endo-

[4] Rich S.M., Leendertz F.H., Xu G., LeBreton M., Djoko C.F., Aminake M.N, Takang E.E., Diffo J.L.D., Pike B.L., Rosenthal B.M., Formenty P., Boesch C., Ayala F.J., Wolfe N.D., *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2009**, *106*(35), 14902-14907.

érythrocytaire) et se termine par une phase sexuée (sporogonie) au niveau de l'anophèle (Figure 1).

Il faut noter qu'il existe plus de 400 espèces d'anophèles, mais seulement une quarantaine d'entre elles sont vecteurs du paludisme.

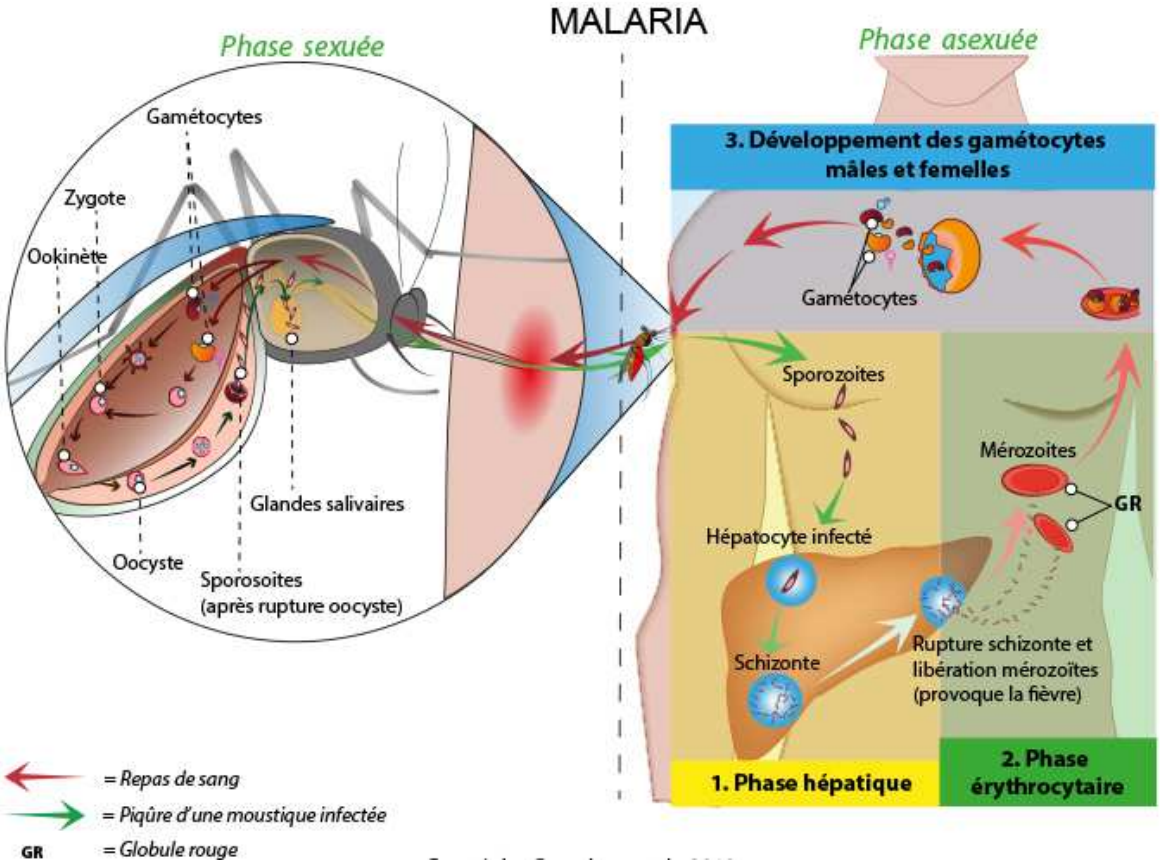


Figure 1: Cycle du *Plasmodium*.[5]

2.2.1. Le cycle asexué ou schizogonie chez l'homme

2.2.1.1. La schizogonie exo-érythrocytaire ou hépatique

Lors de la piqûre de l'anophèle, l'homme est infecté par des sporozoïtes de *Plasmodium* initialement présents dans les glandes salivaires du moustique. Ceux-ci sont transportés par le sang et parviennent au foie où ils pénètrent dans les hépatocytes et y forment des schizontes pré-érythrocytaires ou "corps bleus" (formes multinuclées) en effectuant une multiplication asexuée qui dure 14 jours dans le cas de *P. falciparum*. Cette phase de réplication aboutit à la production de dizaines de milliers de mérozoïtes qui sont ensuite libérés lors de l'éclatement de l'hépatocyte.

Pour certaines espèces, l'infection hépatique peut devenir latente au cours d'une phase appelée "hypnozoïte" qui touche le foie et permettre au parasite de survivre longtemps (plusieurs semaines ou années) dans l'organisme, alors qu'il aura disparu du sang. C'est ce qui explique les rechutes à longue échéance, lorsque ces hypnozoïtes finissent par libérer des

[5] http://www.creapharma.ch/malaria.htm consulté le 10-06-2015.

mérozoïtes dans le sang, pour deux des espèces infectant l'homme à savoir *P. vivax et P. ovale*. Il n'est pas observé d'hypnozoïtes, donc pas de rechute dans le cas d'une infection à *P. falciparum*. Ces hypnozoïtes n'ont également pas été mis en évidence dans l'infection à *P. malariae* malgré l'existence pour ce parasite de rechutes tardives.

2.2.1.2. La schizogonie endo-érythrocytaire

Les mérozoïtes une fois libérés vont soit infecter de nouveaux hépatocytes, soit infecter des globules rouges sanguins. Il y a alors formation d'un schizonte à l'intérieur de l'hématie, se nourrissant de l'hémoglobine. C'est de nouveau une phase de multiplication asexuée aboutissant à la libération de 8 à 32 nouveaux mérozoïtes par éclatement de l'hématie. Cette phase érythrocytaire dure 48 heures chez *P. falciparum* et est responsable des symptômes observés chez les malades (fièvres rythmiques caractéristiques dues à la libération d'antigènes et à une hémolyse). Cette phase est répétée plusieurs fois.

2.2.2. Le cycle sexué ou sporogonie chez l'anophèle

Certains de ces schizozoïtes issus de l'éclatement de l'hématie se différencient en gamétocytes mâles et femelles et restent dans la circulation sanguine pendant 10 à 15 jours. Ces derniers sont ingérés par l'anophèle lorsqu'elle aspire le sang d'une personne infectée pendant la piqûre. C'est au niveau de l'intestin du moustique que se déroule la reproduction sexuée. Les gamétocytes mâles (microgamètes) fécondent les gamétocytes femelles (macrogamètes) et forment un zygote qui est mobile après quelques heures et est appelé ookinète. Le zygote pénètre à l'intérieur des cellules du tube digestif et s'enkyste entre la lame basale et la membrane plasmique. Il se forme alors un oocyste dont la principale source de nutriments est l'hémolymphe[*].

Après une phase de développement (méiose et mitose), l'oocyste se rompt et libère des centaines de sporozoïtes qui pénètrent les glandes salivaires. Ils seront ensuite injectés à l'homme à travers la salive lors d'une piqûre ultérieure, étape qui clôt le cycle parasitaire dans le moustique. Il faudra alors moins de 45 minutes aux sporozoïtes pour gagner le foie et disparaître totalement de la circulation sanguine.

Selon les conditions climatiques et les espèces en cause, l'ensemble de ce cycle chez le moustique dure de 10 à 40 jours.

3. Les différentes formes d'accès palustre et les symptômes

Le paludisme peut se manifester sous une forme simple ou sous une forme grave en fonction entre autres, de l'espèce parasitaire impliquée, de la quantité de parasites dans le sang et également de certaines caractéristiques propres à la personne infectée (statut immunologique, âge, état de santé général, etc.).

Certaines personnes en effet, exhibent une immunité naturelle partielle face au paludisme qui serait due à certains facteurs génétiques érythrocytaires tels qu'un trait drépanocytaire (sujet hétérozygote AS), le groupe sanguin Duffy négatif, et des facteurs non

érythrocytaires comme le groupe HLA*, le polymorphisme de la réponse immune ou les facteurs ethniques.
Il existe également une immunité qui s'acquiert progressivement en situation d'exposition continue. Elle n'est pas stérilisante et n'empêche donc pas une nouvelle contamination, mais permet progressivement d'éviter la survenue de formes cliniques graves. Cette immunité "acquise" explique le peu de cas palustres enregistrés chez les adultes en général. Elle se transmet de la mère à l'enfant, mais s'amenuise à partir de l'âge de 4 à 6 mois. Ce qui explique la forte vulnérabilité des enfants en dessous de 6 ans en zone de transmission intense, qui ne bénéficient donc plus de l'immunité héritée de leur mère et qui n'ont pas connus une exposition assez longue pour développer leur propre immunité. Cette tranche d'âge enregistre en effet la majorité des cas graves de paludisme et enregistre la plus forte mortalité. Il est néanmoins à noter qu'un sujet n'ayant jamais vécu en zone d'endémie (voyageur) ou s'en étant absenté depuis un long moment (expatrié) est totalement exposé au risque de paludisme grave, quel que soit son âge. Deux autres groupes de personnes à risques, car pouvant également développer des formes graves de paludisme, sont constitués par les femmes enceintes et les personnes vivant avec le VIH-SIDA.

3.1. La forme simple

3.1.1. L'accès palustre de primo-infection

C'est la forme le plus souvent observée chez les voyageurs en provenance de pays à risque. En zone endémique elle est observée chez les jeunes enfants. La période d'incubation coïncide avec la phase hépatocytaire (7 à 12 jours pour *P. falciparum*) et est totalement asymptomatique. Survient ensuite l'invasion qui est marquée par l'apparition d'une fièvre brutale, continue, souvent accompagnée d'un malaise général accompagné de myalgies*, céphalées, et parfois des troubles digestifs (perte d'appétit, douleurs abdominales, nausées, vomissements et diarrhée). On observe parfois une splénomégalie* et une augmentation du volume du foie. L'examen clinique à ce stade est souvent normal. Cependant, en cas d'absence de prise en charge adaptée, le malade infecté par *P. falciparum* en particulier, peut à tout moment évoluer de "l'accès simple" (non compliqué) vers un accès grave, pouvant être mortel.

3.1.2. L'accès palustre à fièvre périodique

Cette forme clinique fait suite à un accès de primo-infection non traité et peut survenir longtemps après l'épisode fébrile initial. En pratique elle n'est observée de manière typique que dans les infections à *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae*. Cet accès est souvent précédé d'une phase prodromique* qui associe lassitude et troubles digestifs. Il débute en général le soir. On observe alors pendant environ une dizaine d'heures, une succession de 3 phases comprenant des frissons (frissons violents, 39°C de fièvre, chute de la tension artérielle, augmentation du volume de la rate), un stade de chaleur (40°C de fièvre et plus, peau sèche et

brûlante, céphalées et douleurs abdominales) et un stade de sueurs (chute de température allant parfois jusqu'à l'hypothermie, urines foncées, etc.) qui clôt la crise.

Cet état correspond à la schizogonie érythrocytaire et le rythme de ces accès fébriles est fonction de l'espèce. Il s'accompagne d'une anémie et d'une splénomégalie progressivement croissante et peut donc avoir de graves conséquences sur la santé.

3.2. La forme grave

Un paludisme grave peut prendre plusieurs formes cliniques dont la plus importante est l'atteinte cérébrale plus connus sous le terme de neuropaludisme. Il peut se manifester de façon brutale avec des symptômes caractéristiques tels que la fièvre, des convulsions ou le coma. Sa survenue peut également être progressive, marquée entre autres par une fièvre irrégulière associée à des troubles digestifs. Durant la manifestation de la maladie, il est généralement observé, en plus d'une forte fièvre, des désordres neurologiques tels que des convulsions, des troubles du tonus et de la conscience associés parfois à une défaillance multiviscérale. En cas d'absence de traitement, le neuropaludisme est mortel en quelques jours (deux ou trois) et même en cas de prise en charge adaptée, la mortalité reste élevée (10 à 30 %). En outre, la guérison chez l'enfant peut être suivie de séquelles (5 à 20 % des cas).[6]

Même si quelques cas de neuropaludisme provoqués par *P.vivax* ont été décrits, *P. falciparum* en reste le principal responsable.[7] Cette forme est assez fréquente en zone endémique chez l'enfant de moins de 5 ans et peut entraîner la mort en quelques heures. Comme précédemment indiqué, les femmes enceintes, les expatriés et les voyageurs non immunisés comptent également parmi les personnes susceptibles de développer un tel paludisme.

Il a été enregistré également certaines complications dues de façon directe ou indirecte à une infection palustre telles que le paludisme viscéral évolutif, la splénomégalie palustre hyper réactive et la fièvre bilieuse hémoglobinurique[*].

4. L'épidémiologie et l'impact socio-économique

4.1. L'épidémiologie

Selon l'OMS, près de la moitié de la population mondiale est exposée au risque de paludisme. En effet, pour 1,2 milliard de personnes et au cours d'une année, le risque est élevé avec plus d'une chance sur 1000 de contracter la maladie. La population susceptible d'être infectée par le parasite s'élève à 3,3 milliards répartis dans 97 pays et territoires au niveau mondial.[8]

Le nombre de cas de paludisme dans le monde était estimé à 198 millions (plage comprise entre 124 et 283 millions) en 2013 et le nombre de décès associés à 584.000 (plage

---

6 Murphy S.C., Breman J.G., *Am J Trop Med Hyg* **2001**, 64, 57-67.

7 Ozen M., Gungor S., Atambay M., Daldal N., *Ann Trop Pediatr* **2006**, *26*, 141-144.

8 Organisation mondiale de la Santé, Rapport sur le paludisme dans le monde 2014: résumé, **2015.**

comprise entre 367.000 et 755.000)[8] avec environ 82 % des cas de paludisme et 90 % des décès associés enregistrés en Afrique. La malaria est endémique dans presque toutes les régions tropicales et subtropicales du globe terrestre, notamment l'Asie, l'Amérique Latine, mais l'Afrique reste le continent le plus durement touché (Figure 2). La maladie touche plus particulièrement les enfants de moins de 5 ans et les femmes enceintes plus vulnérables. Elle tue un enfant chaque minute en Afrique.

Cependant, depuis le renforcement de la prévention et des mesures de lutte, l'on note une nette baisse du taux de mortalité par le paludisme de plus de 47 % à l'échelle mondiale depuis l'an 2000, de 54 % dans la région africaine de l'OMS, et de 58 % au niveau des enfants. Entre 2000 et 2013, la prévalence parasitaire a baissé de 46 % chez les enfants âgés de 2 à 10 ans, passant de 26 % à 14 %.[9]

Avec environ 63.000 cas de décès chaque année, le paludisme est responsable de 15% de la mortalité d'enfants de moins de 5 ans en Côte d'Ivoire (données 2013, OMS).[10] Toutes les heures, 7 enfants ivoiriens décèdent ainsi du paludisme et la Côte d'Ivoire totalise à elle seule 15 % de la mortalité infantile due à cette maladie sur le continent africain.[11] Le paludisme responsable de 43 % de cas de morbidité en Côte d'Ivoire, demeure un problème majeur de santé publique.[12]

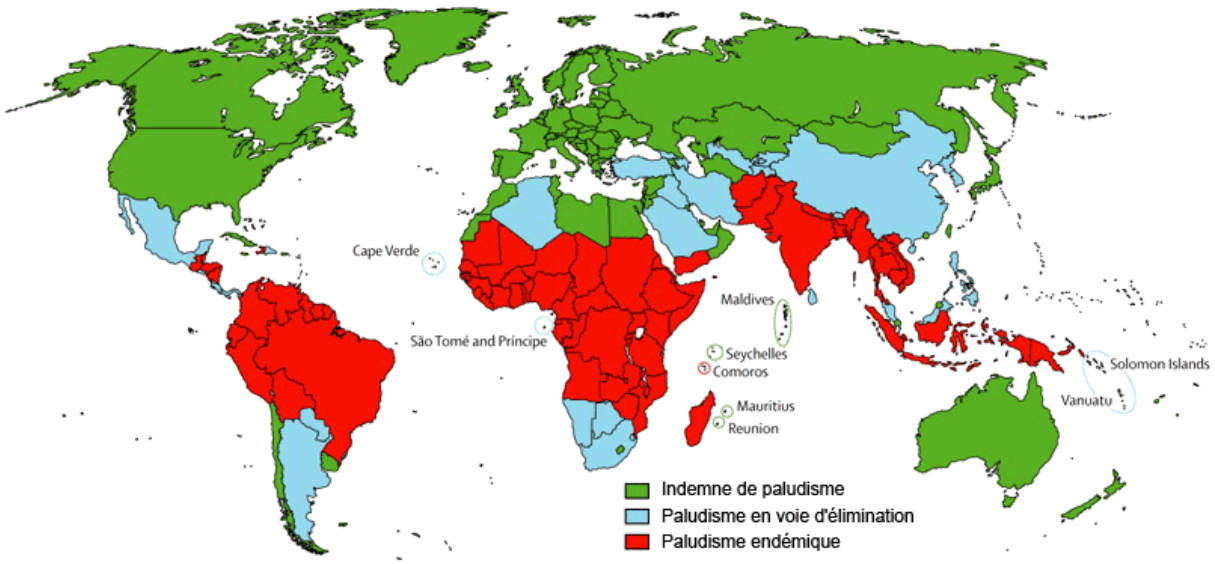


Figure 2: Zone d'endémie pour le paludisme.[13]

[9] http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/fr/ consulté le 10-06-2015.
[10] http://www.who.int/gho/countries/civ.pdf consulté le 10-06-2015.
[11] http://www.leparisien.fr/flash-actualite-sante/journee-mondiale-contre-le-paludisme-la-cote-d-ivoire-a-l-heure-de-la-moustiquaire-25-04-2015-4723861.php consulté le 10-06-2015.
[12] http://news.abidjan.net/h/496111.html consulté le 10-06-2015.
[13] http://geoconfluences.ens-lyon.fr/doc/transv/sante/SanteDoc.htm consulté le 10-06-2015.

4.2. L'impact socio-économique

En 2013, le financement des programmes antipaludiques s'est élevé à environ 2,7 milliard $ US.[8] Plusieurs coûts directs sont également enregistrés, notamment les dépenses individuelles (honoraires médicaux, antipaludiques, transport jusqu'au centre de santé, moustiquaire imprégnée) et les dépenses publiques (entretien des services de santé et des infrastructures sanitaires, lutte anti-vectorielle, éducation et recherche). Plusieurs coûts indirects sont également à mentionner et concernent l'absentéisme, la perte de journée de travail, de même que l'incapacité pour les malades à accomplir certaines tâches domestiques qui bien que non rémunérées, sont essentielles à une bonne qualité de vie.

Le coût d'un simple accès palustre en France est estimé à environ 4500 €.[14] En Afrique, le paludisme représente environ 50 % des consultations, 30-50 % des admissions hospitalières et jusqu'à 40 % des dépenses de santé publique.[15] Selon les économistes, le paludisme serait responsable d'un déficit de croissance annuelle pouvant atteindre 1,3 % dans certains pays d'Afrique[16] et de 47 % des absences professionnelles[17] et coûterait à ce continent une perte de PNB de 12 milliards $ US.[18]

En Côte d'Ivoire, le taux moyen d'incidence déclarée du paludisme dans la population générale est de 104 cas pour 1.000 habitants et le paludisme est responsable de 40 % des causes d'absentéisme en milieu scolaire et professionnel et de 50 % de perte de revenu agricole.[12] Ainsi, une étude réalisée par Tchicaya et coll., pendant une année sur les salariés (1.192) d'une entreprise privée ivoirienne et leurs ayants droit a révélé que le coût annuel global du paludisme était de 1.211.004,33 € dont 213.223,85 € pour le coût direct, l'absentéisme (chiffré à 121,33 mois) lié à la maladie à 64.738,33 € et le coût de productivité à 933.042,73 €.[19]

5. La prévention et les traitements

5.1. La prévention

Plusieurs programmes de prévention collective ont été mis sur pied à travers diverses initiatives et visent l'éradication du paludisme dans le monde, mais avec des résultats plus ou moins mitigés. La prévention ayant démontré son efficacité reste donc à ce jour celle réalisée à l'échelle individuelle. Elle comprend deux axes qui sont la lutte anti-vectorielle (contre les piqûres de moustiques) et la chimio-prophylaxie médicamenteuse.

---

14 http://fr.slideshare.net/atelier-paludisme/semaine2-n02 consulté le 10-06-2015.

15 https://africa-at-home.web.cern.ch/africa-at-home/fr/malaria.html consulté le 10-06-2015.

16 World Health Organization, *Guidelines for the treatment of malaria* **2006.**

17 Imbert P., Banerjee A., Paludisme de l'enfant. *Encycl Med Chir.* **2002.**

18 a) Eholié S.P., Ehui E., Adou-Bryn K., Kouamé, K.E., Tanon A., Kakou A., Bissagnené E., Kadio A., *Bull Soc Pathol Exot* **2004**, *97*(5), 340-344 b) Le Bras M., Malvy D, *Med. Trop* **2004**, *64*, 576-578.

19 Tchicaya A.F., Wognin S.B., Aka I.N.A., Kouassi Y.M., Guiza J., Bonny J.S., *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement* **2014**, *75*(4), 406-411.

5.1.1. La lutte anti-vectorielle

Elle a pour but de diminuer la population des anophèles responsables de la maladie et également de protéger contre les piqûres de moustiques. Elle reste actuellement l'un des moyens les plus efficaces pour réduire la transmission du pathogène.

La protection contre les piqûres comprend entre autres la destruction des moustiques dans les habitations par diffusion et pulvérisation d'insecticides domestiques, associée à l'utilisation de moustiquaires imprégnées d'insecticides à base notamment de pyréthrinoïdes à longue durée d'action[20]. C'est une technique à moindre coût et très efficace qui a permis la réduction de la mortalité globale de 33 % et de la survenue de paludisme grave chez 44 % des enfants de moins de 5 ans.[21] Un autre moyen de protection contre ces piqûres consiste à porter des vêtements longs imprégnés d'insecticides et à utiliser des répulsifs et des moustiquaires métalliques à l'entrée et aux fenêtres des maisons. Il est également possible d'associer climatisation et insecticide dans les intérieurs.

Une alternative ayant déjà fait ses preuves jadis dans les pays occidentaux tempérés est l'assèchement des points d'eau stagnante, niches de reproduction des anophèles. Mais cette technique est difficilement applicable en région tropicales du fait de l'abondance des précipitations et de la végétation qui favorisent l'apparition de ces points d'eau. Un autre aspect est l'utilisation en extérieur d'insecticides.

5.1.2. La chimio-prophylaxie médicamenteuse

Cette méthode n'est plus utilisée par les populations autochtones des zones d'endémie et y vivant en permanence, à part le cas particuliers des femmes enceintes. Cependant, elle est systématiquement préconisée pout tout voyageur se rendant en zone à risque. Le choix de la chimio-prophylaxie dépend de la zone visitée (intensité de transmission et niveau de résistance aux antipaludiques), de la saison et du sujet concerné (âge, femme enceinte, mode de vie, antécédents médicaux, etc.). Il cible le développement de la forme clinique de la maladie et est prescrit en fonction de la nature de la résistance enregistrée dans le zone de destination du voyageur. Sur cette base on distingue trois groupes avec pour chacune des prescriptions adaptées:

- Groupe 1, Zone sans chloroquinorésistance (Amérique centrale, Haïti et République Dominicaine): Chloroquine (Nivaquine®).
- Groupe 2, Zone de chloroquinorésistance isolée (une partie de l'Inde et Sri Lanka): Chloroquine (Nivaquine®) + Proguanil (Paludrine® ou Savarine®), ou Atovaquone-proguanil (Malarone®) (Figure 3).
- Groupe 3, Zone de prévalence élevée de chloroquinorésistance et de multirésistance (Afrique subsaharienne, bassin amazonien, Asie du Sud-Est, Madagascar):

[20] Beier J.C., Keating J., Githure J.I., Macdonald M.B., Impoinvil D.E., Novak R.J., *Malar J* **2008**, 7 Suppl 1, S4.

[21] Nevill C.G., Some E.S., Mung'ala V.O., Mutemi W., New L., Marsh K., Lengeler C., Snow R.W., *Trop Med Int Health* **1996**, 1, 139-146.

Atovaquone-proguanil (Malarone®), Méfloquine (Lariam®), ou Doxycycline (monohydrate de doxycycline).

Pour les nourrissons et la femme enceinte atteignant les 2ème et 3ème trimestres et vivant en zone de forte transmission, l'OMS recommande le traitement préventif intermittent par de la sulfadoxine-pyriméthamine.[22]

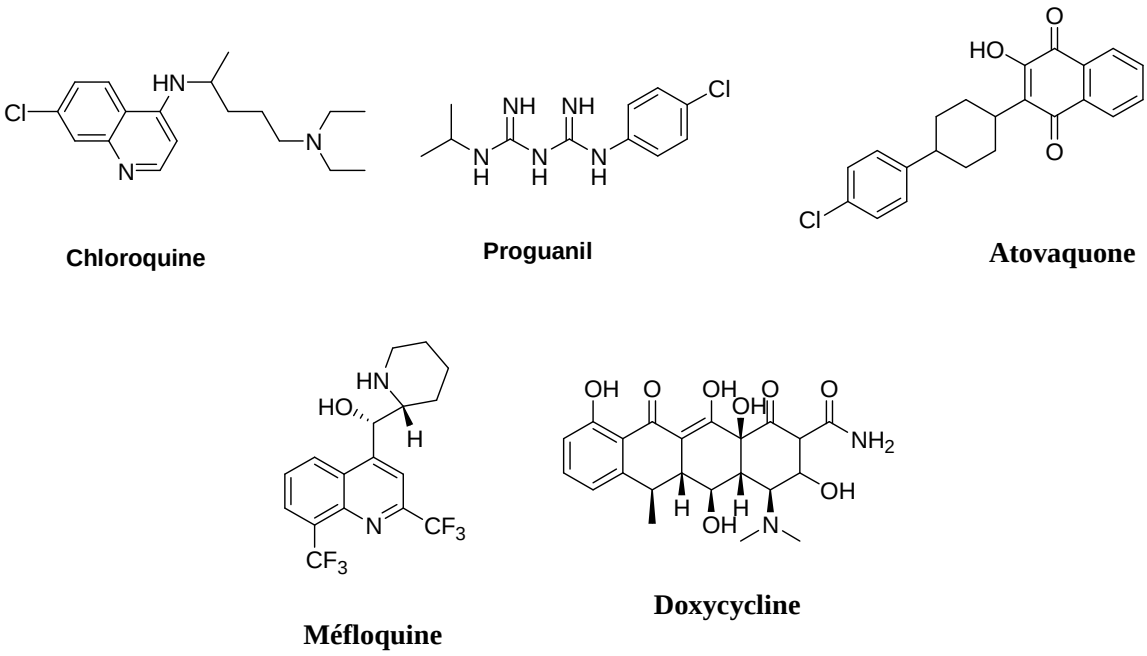


Figure 3: Structures de quelques principes actifs de médicaments antipaludiques utilisés en prophylaxie.

5.2. Le diagnostic et les traitements

5.2.1. Le diagnostic

Il repose sur la mise en évidence des formes érythrocytaires de *Plasmodium* sur un prélèvement de sang périphérique. C'est un diagnostic d'urgence dont le résultat doit être obtenu dans un délai maximal de 2 heures avec un contact direct entre le médecin prescripteur et le biologiste, vu que l'accès palustre chez une personne non prémunie peut évoluer en quelques heures vers un paludisme grave potentiellement mortel.

Les techniques couramment mises en œuvre présentement sont la "goutte épaisse" et le "frottis mince". Néanmoins, dans un souci de simplification et d'amélioration du diagnostic biologique du paludisme, d'autres techniques ont été développées dont les tests rapides par immuno-chromatographie sur bandelette.

[22] OMS, Paludisme, aide-mémoire, Avril **2012**.

5.2.2. Le traitement curatif

Face à un cas d'accès palustre avéré, le traitement mis en œuvre est fonction non seulement de la forme de paludisme (non compliqué ou grave), mais également du *Plasmodium* impliqué et du type de malade (enfant, femme enceinte, porteur du VIH/sida, etc.).

En cas de paludisme non compliqué ou simple, plusieurs médicaments (Figure 4) sont utilisés couramment. Parmi lesquels, la Quinine (Quinimax®, Lafran®, Surquina®), la Méfloquine (Lariam®), l'Halofantrine (Halfan®) et l'association Atovaquone-Proguanil (Malarone®), tous *per os* (Figure 3 et 4). Il peut être également mentionné entre autres les bithérapies telles que les associations Artéméther-Luméfantrine (Riamet®, Coartem®) et Dihydroartémisinine-Pipéraquine (Eurartesim®).

Pour les accès palustres à *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* ou *P. knowlesi*, la Chloroquine (Nivaquine®) (Figure 3) reste le principal produit préconisé, avec également la Primaquine® (Figure 4), une molécule active sur les formes hépatocytaires (hypnozoïtes) responsables des rechutes observées pour *P. vivax* ou *P. ovale*. Tous les deux sont administrés par voie orale.

Dans le cas d'une forme palustre grave, les traitements de base immédiatement mis en route sont la Quinine ou l'Artésunate (Malacef®) par voie intraveineuse. Un relais *per os* peut également être réalisé par l'Atovaquone-Proguanil ou par l'Artéméther-Luméfantrin.

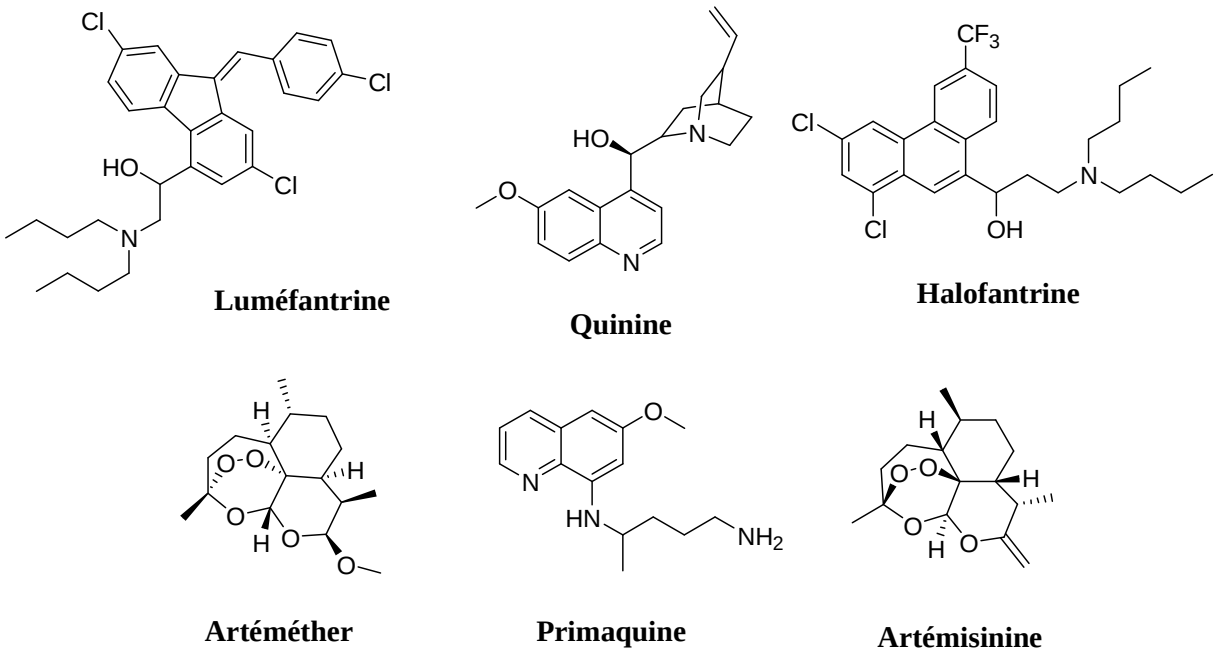


Figure 4: Quelques composés antipaludiques.

En résumé, les composés anti-malariques actuellement utilisés exhibent diverses spécificités structurales pouvant être regroupées en plusieurs grandes familles dont des Aryl aminoalcool (Chloroquine, Quinine, Méfloquine, Amodiaquine, Primaquine, Luméfantrine,

Halofantrine), des antifolates (Sulfadoxine, Pyriméthamine, Triméthoprime, Proguanil), des Naphtoquinones (atovaquone) et les dérivés de l'Artémisine (Artémisinine, Dihydroartémisine, Artesunate/Artémether).

Il convient de noter que la Quinine, a été le premier médicament utilisé avec succès pour traiter le paludisme et ce au 18e siècle. Extraite de l'écorce de l'arbre *Chinchona* et initialement connu sous l'appellation "quinquina", la quinine malgré l'émergence de molécules alternatives, reste aujourd'hui encore largement employée, notamment en cas de grossesse ou de paludisme sévère.[23] Un autre composé d'intérêt, utilisé efficacement contre le paludisme, est la pentamidine (Pentacarinat®) (Figure 5). Utilisée premièrement contre la trypanosomiase, puis la leishmaniose, elle a commencé à être administré en prophylaxie contre le paludisme au début des années 1940s. Son utilisation occasionnait cependant de lourds effets secondaires. Son efficacité préventive vis-à-vis du paludisme a été par la suite remise en cause et son utilisation pour cette maladie a été abandonnée. La pentamidine fait néanmoins l'objet de nombreuses études de pharmacomodulations en synthèse organique, avec pour but le développement d'analogues à diverses indications thérapeutiques.

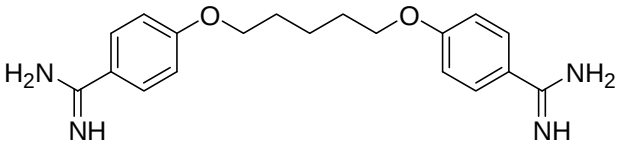


Figure 5: Structure moléculaire de la Pentamidine.

6. Les phénomènes de résistances

6.1. La résistance aux insecticides

Le contrôle des moustiques qui sont les vecteurs du paludisme compte parmi les méthodes les plus efficaces actuellement mises en œuvre afin de prévenir la transmission du parasite et donc de combattre ainsi la maladie. Malheureusement ce mode d'éradication des moustiques se heurte à un développement de plus en plus croissant de la résistance.[24] Cette résistance s'est ainsi manifestée successivement vis-à-vis des insecticides organochlorés, organophosphorés, carbamates, et tout récemment vis-à-vis des derniers encore efficaces, à savoir les pyréthrinoïdes.

Cette situation constitue une énorme menace contre la prévention des épidémies. Cependant, en 2015, les travaux réalisés par Faucon et coll., apportent un nouvel espoir dans la lutte contre cette résistance. En effet, ceux-ci ont identifié de nouveaux marqueurs

[23] Parija S.C., Praharaj I., *Indian J Med Microbiol* **2011**, *29*, 243-248.
[24] Cui F., Raymond M., Qiao C.L., *Pest Manag Sci* **2006**, *62*, 1013-1022.

génétiques de la résistance des moustiques aux insecticides permettant de mieux détecter ces résistances sur le terrain et donc de mieux les combattre.[25]

6.2. La résistance aux médicaments

La résistance à un antipaludique est définie comme "la capacité des parasites à se multiplier et à survivre malgré l'administration et l'absorption d'un principe actif à dose égale ou supérieure à celle usuellement recommandée, dans la limite de tolérance du sujet. La forme active du principe actif doit pouvoir accéder au parasite pendant la durée nécessaire à son action."[26]

Les premières résistances ont été observées pour la pyriméthamine, un antifolinique* inhibant la dihydrofolate réductase (DHFR) qui produit l'acide folinique et premier antipaludique utilisé massivement en Indochine. Face à la sélection rapide de parasites résistants, il a été introduit l'utilisation de la chloroquine.[27] Cependant, après plusieurs dizaines d'années d'emploi de ce nouveau médicament, les années 60s ont vu s'installer une résistance dans certains pays d'Asie à savoir à la frontière commune au Cambodge et la Thaïlande, en Colombie puis au Vénezuela, en Papouasie Nouvelle Guinée et aux Philippines.[28] Cette chloroquinorésistance s'est ensuite lentement mais graduellement propagée jusqu'à atteindre l'Afrique de l'Est à la fin des années 70s, puis ensuite plusieurs autres zones endémiques. À ce jour, les seuls pays où il n'a pas été enregistré de chloroquinorésistance sont Haïti, la République Dominicaine et quelques pays d'Amérique centrale (Panama). Les résistances de *P.falciparum* à la chloroquine (Figure 6) ont été attribuées à la mutation au niveau de plusieurs gènes dont PfCRT codant pour un transporteur vacuolaire[29] ou encore PfMDR1[30].

---

25 Faucon F., Dusfour I., Gaude T., Navratil V., Boyer F., Chandre F., Sirisopa P., Thanispong K., Juntarajumnong W., Poupardin R., Chareonviriyaphap T., Girod R., Corbel V., Reynaud S., David J.P., *Genome Research* **2015**. doi/10.1101/gr.189225.115.

26 Black R.H., Canfield C.J., Clyde D.F., Peters W., Wernsdorfer W.H., Chemotherapy of malaria. Second edition **1981**, *3*, 73-75. *Geneva: Bruce-Chwat t World and Health Organization monograph series.*

27 Verdrager J., *Southeast Asian J Trop Med Public Health* **1986**, *17*, 111-118.

28 Wellems T.E., Plowe C.V., *J Infect Dis* **2001**, *184*, 770-776.

29 White N.J., *J Clin Invest* **2004**, *113*, 1084-1092.

30 Dorsey G., Kamya M.R., Singh A., Rosenthal P.J., *J Infect Dis* **2001**, *183*, 1417-1420.

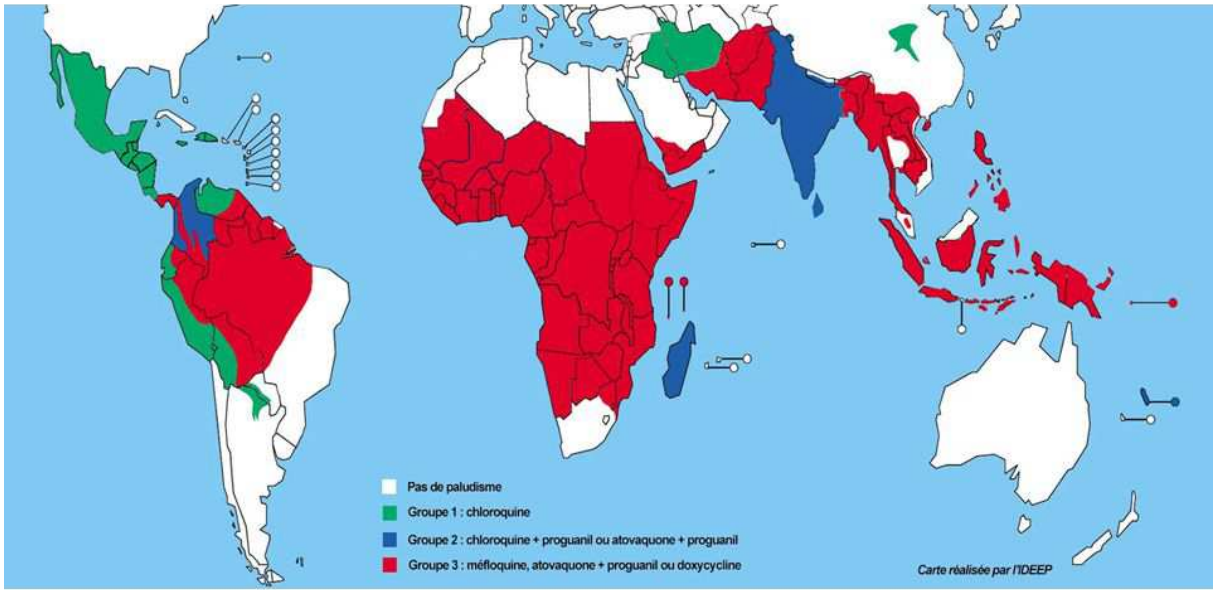


Figure 6: Zones de résistance du *Plasmodium.*[31]

Suite à la résistance à la chloroquine, de nouveaux composés ont été introduits dans les années 80s comme première ligne thérapeutique des accès palustres non compliqués dans de nombreux pays. Il s'agit des composés associés à la sulfadoxine, des antifoliques agissant au niveau de la voie de synthèse des folates et essentiels à la biosynthèse des acides nucléiques. Ils inhibent en particulier la dihydroptéroate synthétase (DHPS) qui produit l'acide folique. Pour ces composés également, des résistances sont apparues en Asie du Sud Est[32] pour se disséminer ensuite à l'ensemble des zones d'endémies.

Face à l'épineux et récurrent problème des résistances, la monothérapie a été remplacée peu à peu par la bithérapie qui consiste en l'association de deux molécules antipaludiques. Ces combinaisons médicamenteuses ont permis d'augmenter le nombre de guérisons et de diminuer la probabilité d'émergence de nouvelles résistances dues à la pression médicamenteuse.[33] Un composé que l'on retrouve assez communément dans cette nouvelle stratégie antimalarique, est l'artémisine. Extraite d'*Artemisia annua*, une armoise (herbe) issue de la médecine traditionnelle chinoise, l'artémisine a été découverte par la Professeure chinoise Youyou Tu. Ses travaux ont permis de mettre en évidence la forte efficacité de ce composé contre le *Plasmodium* et lui ont valu le prix Albert-Lasker en 2011 et le prix Nobel de médecine en 2015.[34] L'OMS, recommande l'artémisine en ACT (artemisin-based combination therapies) pour les zones touchées par les résistances aux antipaludiques classiques. On retrouve ainsi des traitements associant l'artésunate (dérivé de l'artémisine) et la méfloquine, l'artesunate et l'amodiaquine ou encore l'artéméther (dérivé de l'artémisine) et la luméfantrine.

Traitement de référence contre le paludisme, l'artémisinine connait depuis peu un phénomène de résistance, particulièrement en Asie du Sus-est (Cambodge, Laos, Myanmar,

31 http://www.hopitalkeurmassar.com/spip.php?article19 consulté le 10-06-2015
32 Hurwitz E.S., Johnson D., Campbell C.C., *Lancet* **1981**, *1*, 1068-1070.
33 Eastman R.T., Fidock D.A., *Nat Rev Microbiol* **2009**, *7*, 864-874.
34 Journal Le Monde du Mercredi 7 octobre **2015**.

Thaïlande, Vietnam)[8]. Plusieurs initiatives ont alors été mises en œuvre afin de contenir la propagation de cette nouvelle résistance, parmi lesquelles les résultats forts prometteurs de l'équipe internationale du docteur Frédéric Ariey, de l'Institut Pasteur de Paris. Leurs travaux ont en effet, permis d'identifier un gène spécifiquement associé à la résistance et de mettre ainsi sur pied un test de dépistage (de la résistance). Ce nouveau test devrait permettre de contenir la résistance pendant quelques années, le temps que de nouvelles molécules ou combinaisons de molécules soient proposées comme traitement.

7. Les perspectives de traitement et la recherche vaccinale

Face à l'épineux et récurrent problème des résistances du plasmodium aux différents composés antipaludiques utilisés, et particulièrement face aux nouveaux cas d'échecs de la bithérapie mise en place avec l'artémisinine, les recherches s'activent actuellement afin de découvrir soit de nouvelles combinaisons de molécules, soit de nouveaux composés antimalariques ou encore un vaccin.

7.1. Les perspectives de nouvelles thérapeutiques antimalariques

L'identification et l'évaluation de nouvelles cibles chez le *Plasmodium* constituent une piste largement explorée par les chercheurs afin de faire varier le mode d'action des composés proposés et de contourner ainsi les résistances déjà établies. Et cet engouement prend toute son importance face au fait que la majorité des molécules proposées actuellement sont des dérivés de l'artimisinine pour laquelle les résistances sont de plus en plus croissantes. Dans cette optique, Soulard et coll. ont validé un nouveau modèle de souris « humanisée » pour l'étude du *Plasmodium*, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives dans l'étude de la biologie de ces parasites dans des conditions plus proches de l'infection humaine naturelle.[35]

De nouvelles cibles thérapeutiques (agissant comme inhibiteurs de la protéase) sont ainsi en évaluation au sein du projet "Malaria Proteases Inhibition" (MaPI) coordonné par Jean-Christophe Barale, et démarré en 2012.[36] Les protéines SUB1 et SUB2, nécessaires au parasite pour entrer et sortir des cellules du foie et des globules rouges chez l'Homme, font partie des cibles concernées par ce projet.

Comme nouvelle combinaison, l'association atovaquone-proguanil, connue sous le nom de Malarone® a également vu le jour en 2000. Cette association, très efficace dans le traitement de l'accès simple, surtout chloroquinorésistant, même pour une souche résistante au proguanil, enregistre néanmoins une forte intolérance digestive (15 à 35 % de nausées-vomissements). Parmi les nombreux nouveaux composés ambitionnant de prendre la relève de l'artémisinine ou de la chloroquine, nous pouvons citer la pyronaridine et le DDD107498 (Figure 7). La pyronaridine, composé longtemps utilisé en Chine et testé en Afrique centrale et

---

35 Soulard V., Bosson-Vanga H., Lorthiois A., Roucher C., Franetich J.F., Zanghi G., Bordessoulles M., Tefit M., Thellier M., Morosan S., Le Naour G., Capron F., Suemizu H., Snounou G., Moreno-Sabater A., Mazier D., *Nat. Com.* **2015**, *6*. doi:10.1038/ncomms8690.

36 a) Barale J.C., Uzureau P., Braun-Breton C., *U.S. Patent No. 8,329,883,* **2012**. b) Barale J.C., Uzureau P., Braun-Breton C., *U.S. Patent No. 8,012,706,* **2011**. c) Barale J.C., Bouillon A., Gorgette O.L.G., Giganti D., Stoven V., Nilges M., Puijalon O., *U.S. Patent Application 13/989,844,* **2010.**

également en Asie, montre une très bonne efficacité contre les souches chloroquinorésistantes. Le DDD107498 est le représentant d'une autre nouvelle classe de composés antimalariques découverts cette année (2015) et agissant comme inhibiteur de eEF2 (translation elongation factor 2), gène responsable de la translocation de la GTP-dépendante du ribosome le long de l'ARN messager et essentiel pour la synthèse des protéines.[37] Il démontre un potentiel pour traiter une variété de besoins cliniques (Figure 8), y compris le traitement à dose unique, le blocage de la transmission et la chimioprotection.

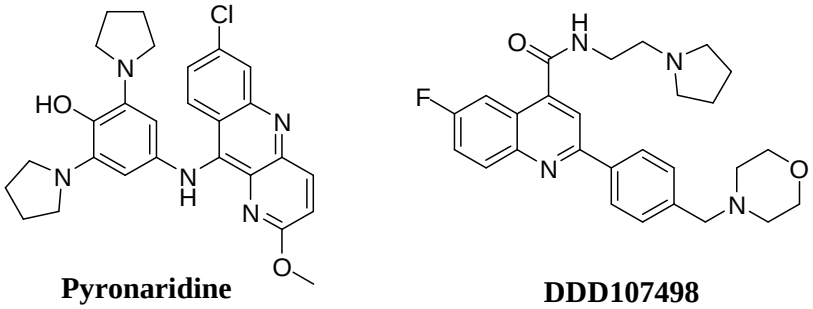


Figure 7: Nouveaux composés à potentiel antipaludique.

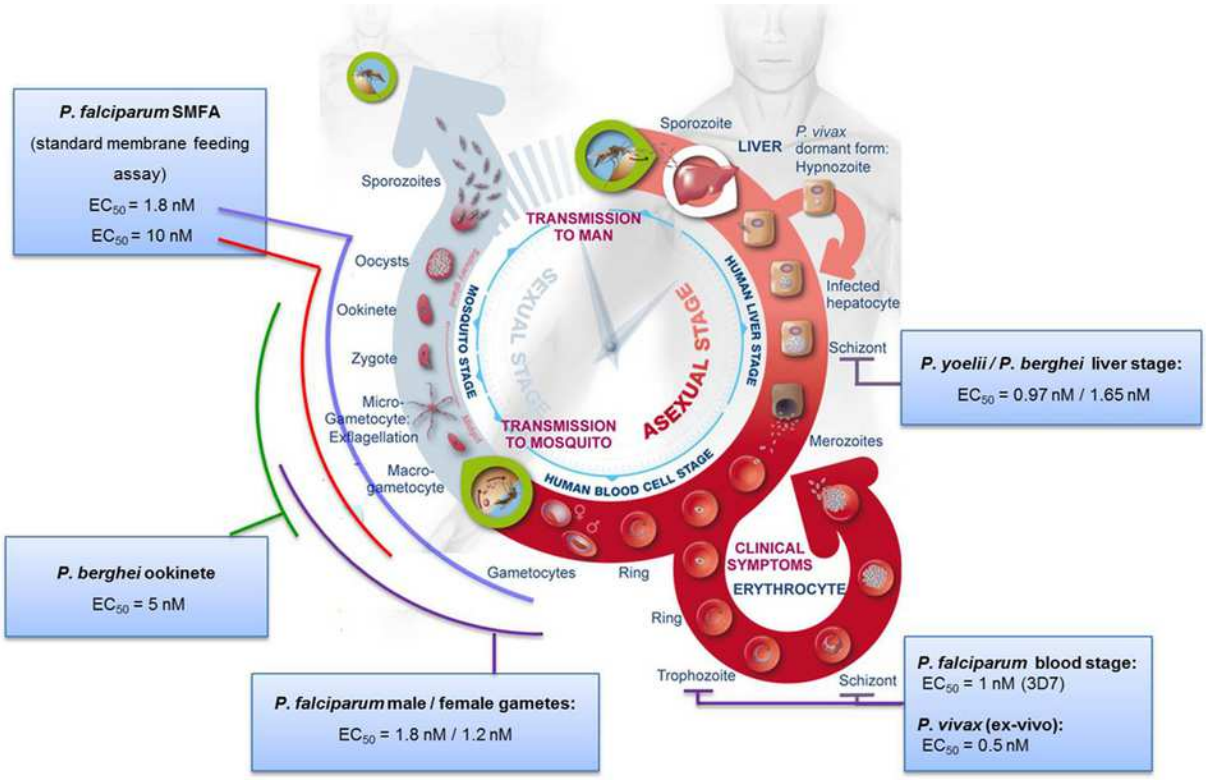


Figure 8: Efficacité du DDD107498 à différentes stades du cycle de vie de *P. falciparum.*[37]

[37] Baragaña B., Hallyburton I., Lee M.C., Norcross N.R., Grimaldi R., Otto T.D., Proto W.R., Blagborough A.M., Meister S., Wirjanata G., Ruecker A., Upton L.M., Abraham T.S., Almeida M.J., Pradhan A., Porzelle A., Martínez M.S., Bolscher J.M., Woodland A., Norval S., Zuccotto F., Thomas J.,Simeons F., Stojanovski L., Osuna-Cabello M., Riley J., Frearson J.A., Wyatt P.G., Gray D.W., Fairlamb A.H., Kevin D. Read K.D., Gilbert I.H., Basak R., Fidock D.A., Rayner J.C., Brock P.M., Churcher T.S., Sala K.A., Zakutansky S.E., Delves M.J., Sinden R.E., Winzeler E.A., Price R.N., Kyle D.E., Jiménez-Díaz M.B., Sanz L.M., Angulo-Barturen I., Ferrer-Bazaga S., Gamo F.J., Sauerwein R.W., Dechering K.J., Campbell M., Charman S.A., Avery V.M., Noviyanti R., Campo B., Leroy D., Siegl P., Bebrevska L., Simon Campbell S., Willis P.A., Wittlin S., Marfurt, J., *Nature* **2015**, *522*(7556), 315-320.

Un intérêt de plus en plus croissant est également montré pour les protéines kinases plasmodiales comme cibles potentielles dans la recherche de nouveaux composés antipaludiques, qui dans ce cas de figure, agiraient comme inhibiteur de l'activité kinase. Cela se justifie par le fait que, comme chez l'homme, ces protéines kinases sont essentielles pour la régulation des fonctions vitales du parasite. Concernant notre laboratoire, nous nous sommes intéressés à la protéine kinase plasmodiale *Pf*GSK-3.

7.2. L'approche vaccinale

Au cours de ces dernières décennies, la course à un vaccin contre le paludisme a connu une importante accélération marquée par l'accroissement des essais cliniques et des tests d'antigènes en zone d'endémie. Bien que ces essais aient clairement démontré la possibilité pour un vaccin de véritablement induire un certain niveau d'immunité clinique antipalustre, aucun candidat n'a encore montré d'efficacité suffisante et durable pour être adoubé par les organismes de santé publique.

Depuis le **SP166**, l'une des premières tentatives de vaccin développé par l'équipe de Manuel Elkin Patarroyo[38] et qui s'est finalement avéré peu efficace contre *P. falciparum*, plusieurs autres vaccins potentiels ont été développés et testés mais sans succès véritable. L'efficacité du dernier en date, le **RTS S/AS02** développé par la firme GlaxoSmith&Kline (GSK) à la fin des années 80, malgré des débuts prometteurs, est présentement source de nombreuses polémiques.

Les modes d'actions de ces "candidats-vaccins" peuvent être regroupés en trois stratégies principalement. La première anti-sporozoïtes, a pour but d'empêcher la pénétration et le développement du sporozoïte dans les hépatocytes (vaccin anti-stade exo-érythrocytaire). La seconde (vaccin anti-stade sanguin), vise à empêcher les mérozoïtes de pénétrer et de se développer dans les hématies. Enfin, la dernière est anti-gamétocytes, et tente de bloquer la transmission en induisant chez le moustique, la création d'anticorps empêchant la maturation des stades sexués.

Il faut noter qu'une des difficultés majeures dans la mise au point d'un vaccin contre *Plasmodium* réside dans son cycle de vie. Ce dernier, en effet, comportant comme précédemment vu, plusieurs stades (chez l'homme et l'anophèle), débouchant chacun sur la libération d'un parasite d'une forme différente, donc porteur d'antigènes différents et induisant donc des réponses immunitaires différentes.[39]

8. Quelques mots sur la Leishmaniose, une autre pathologie ciblée proche de la malaria

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires touchant plusieurs espèces de mammifères, notamment les hommes et certains de leurs compagnons animaliers à savoir les

[38] Patarroyo G., Franco L., Amador R., Murillo L.A., Rocha C.L., Rojas M., Patarroyo M.E., *Vaccine* **1992**, *10*(3), 175-178.

[39] http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/paludisme#sthash.TfUGX9Ep.dpuf consulté le 10-06-2015

chiens. Elles provoquent des affections cutanées ou viscérales très invalidantes, voire mortelles si elles ne sont pas traitées. La maladie est endémique dans 98 pays, dont la plupart en développement. L'on estime à 350 millions, le nombre de personnes risquant de contracter la leishmaniose.[40] Chaque année, l'incidence de cette pathologie se traduit par environ 2 millions de nouveaux cas dans le monde.[40b] On la retrouve sur tous les continents (Figure 9), à l'exception de l'Amérique du nord et de l'Australie, les zones de fortes endémies étant l'Inde, l'Afrique du Nord et l'Amérique du Sud.[40b] La Côte d'ivoire, comme l'ensemble des pays d'Afrique de l'Ouest, est exempte des formes les plus graves de leishmaniose. Toutefois, on n'y retrouve la forme cutanée, également présente au Burkina Faso. En Europe, les régions méditerranéennes sont les plus touchées avec plusieurs centaines de cas déclarés chaque année, notamment dans le Sud de la France (Côte d'Azur, Provence, Cévennes, Pyrénées Orientales et Corse).[41] Bien que considérée comme la neuvième des maladies infectieuses causant le plus lourd fardeau chez les individus, la leishmaniose est aujourd'hui considérée comme une maladie négligée, car largement ignorée dans les discussions sur les priorités de maladies tropicales.[42]

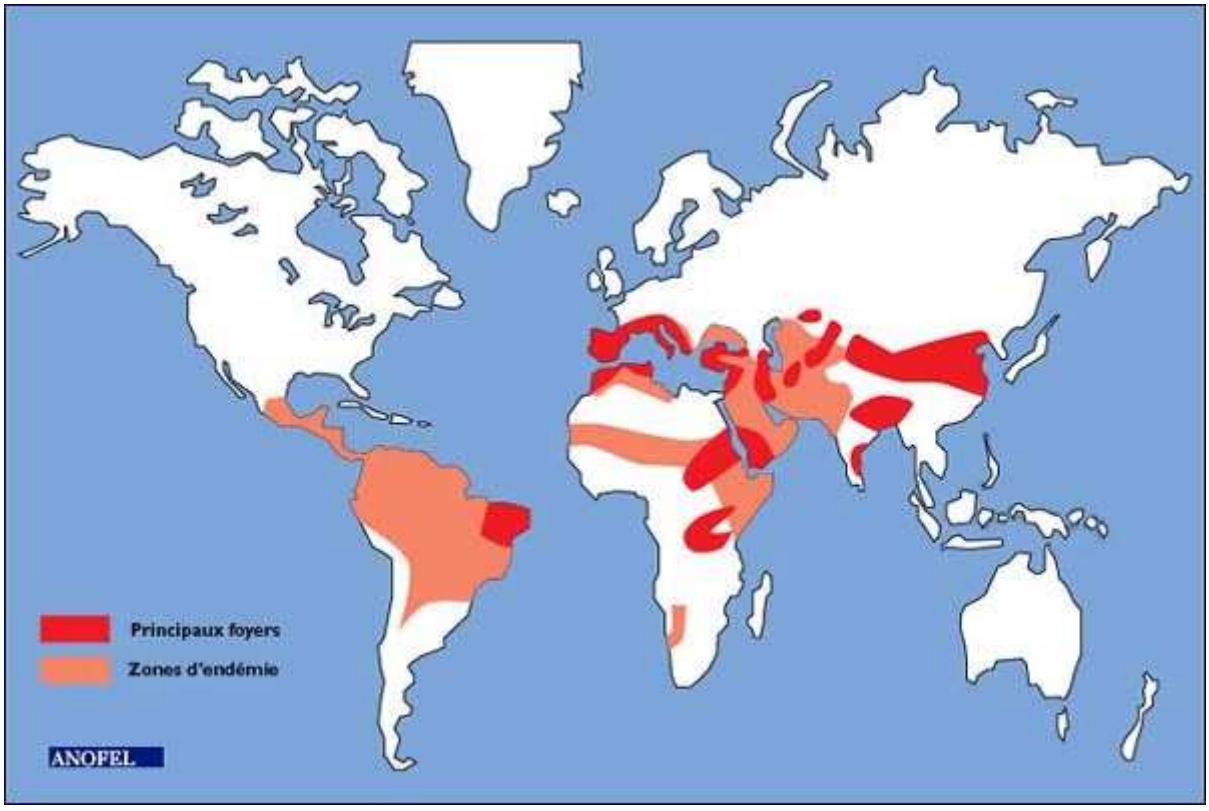


Figure 9: Zones géographiques où sévit la leishmaniose.[43]

[40] a) Desjeux P., *Clin Derm* **1996**, *14*, 417-23 b) Gangneux J.P., Belaz S., Robert-Gangneux F., *Journal des Anti-infectieux* **2015**, *17*(1), 25-28.

[41] Alvar J., Vélez I.D., Bern C., Herrero M., Desjeux P., Cano J., Jannin J., the WHO Leishmaniasis Control Team, den Boer M., *PloS one* **2012**, *7*(5), e35671.

[42] a) Hotez P.J., Molyneux D.H., Fenwick A., Ottesen E., Sachs S.E., , Sachs J.D., *PLoS Med* **2006**, *3*,: e102 b) Hotez P.J., Remme J.H., Buss P., George G., Morel C., Breman J.G., *Clin Infect Dis* **2004**, *38*, 871-878.

[43] http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/leishmanioses/site/html/2.html consulté le 10-06-2015

8.1. La transmission, les symptômes et les différents types de Leishmaniose

L'homme est contaminé via la piqûre d'un insecte femelle, une mouche hématophage appelée phlébotome. Lors de cette piqûre, les leishmanies, parasites responsables des leishmanioses, sont transmises à l'hôte mammifère. Elles sont injectées au stade dit "promastigote" (possédant un flagelle) et une fois dans le derme, ces leishmanies sont phagocytées par des macrophages et se transforment en "amastigotes" (stade sans flagelle à développement intracellulaire strict). Les cellules qui les hébergent peuvent ensuite se localiser dans différents tissus ou organes, en fonction de facteurs propres à l'hôte et à l'espèce de leishmanie impliquée. Comme pour le *Plasmodium* dans le cas du paludisme, les mammifères et l'homme constituent des réservoirs potentiels pour les parasites de la leishmaniose et participent au cycle de vie de ces derniers (Figure 10). En effet, le phlébotome s'infeste en ingérant le sang d'un homme ou d'un animal malade au cours d'une piqûre. Puis le parasite se multiplie dans l'intestin de l'insecte, et se différencie en promastigotes et migrent dans la trompe du phlébotome qui peut à son tour au bout d'une semaine, transmettre des parasites infectieux. Il faut également noter que la contamination directe à la faveur de lésions cutanées chez l'homme est possible et ce par contact avec par exemple des sécrétions d'animaux infectés, notamment des chiens.

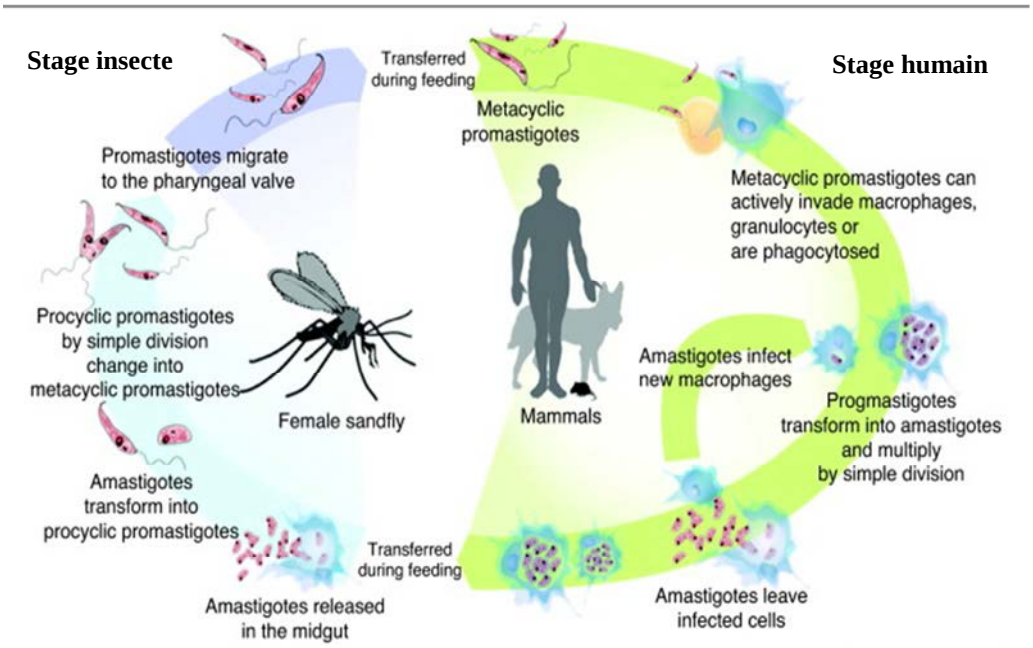


Figure 10: Cycle de la leishmania.[44]

On dénombre 17 espèces de leishmanies pathogènes pour l'homme, cependant les leishmanioses connues se présentent sous 3 formes principalement:

- La leishmaniose viscérale (kala-azar):

[44] Harhay M.O., Olliaro P.L., Costa D., Costa C.H.N., *Trends in Parasitology* **2011**, *27*(9), 403-409.

Les parasites impliqués ici sont *Leshmania donovani* et *Leshmania infantum*. C'est la forme la plus grave, car mortelle en l'absence de traitement. Elle se manifeste entre autres par de la fièvre, de l'anémie, un amaigrissement, un gonflement du foie, de la rate et des ganglions lymphatiques.

- La leishmaniose cutanée:

  Leshmania major et *Leshmania tropica* sont les parasites responsables de cette forme de leishmaniose. Le plus souvent bénigne, elle se caractérise par des lésions ulcérées ou ulcéro-croûteuses, parfois très nombreuses, localisées sur les parties découvertes du corps et qui guérissent en général spontanément en laissant des cicatrices.

- La leishmaniose cutanéo-muqueuse:

  Elle est provoquée par *Leishmania braziliensis* et se traduit par des lésions cutanées ulcéreuses et très mutilantes.

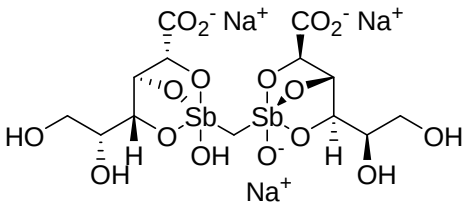
Les similitudes entre la leishmaniose et la malaria se situent entre autres au niveau du mode de transmission, toutes les deux sont à transmission vectorielle, moustique (paludisme) et mouche (leishmaniose), ces deux vecteurs étant tous les deux des insectes femelles hématophages. Dans les deux cas, les parasites responsables de la maladie ont un cycle à deux phases, une au niveau du vecteur et l'autre au niveau de l'homme. Une autre similitude se situe au niveau des symptômes observés dans le cas du paludisme et de la forme viscérale de la leishmaniose.

8.2. Le traitement et la prévention

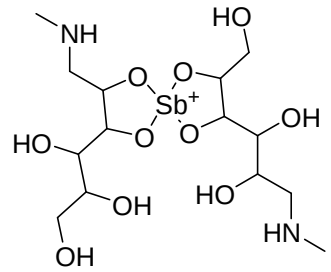
La maladie est diagnostiquée par examen sérologique ou par mise en évidence du parasite. Plusieurs molécules (Figure 11) ont été successivement mise à disposition des malades pour le traitement de la leishmaniose.[45] Parmi les premiers médicaments utilisés, on compte des dérivés pentavalents de l'antimoine, le stiboglocunate de sodium ou Pentostam® et l'antimoniate de méglumine ou Glucantime®. En 1940, puis en 1959 ont été introduits respectivement, la pentamidine (Pentacarinat®, anciennement Lomidine®) et un dérivé de l'amphotéricine B (Fungizone®). Tous comme les premiers composés antimoniés, les mécanismes d'action de ces deux derniers composés sont mal connus, ceux proposés restant à l'état d'hypothèses ou de suppositions. Tous ces composés ont en commun un coût de traitement élevé et des effets secondaires importants, témoignant d'une toxicité non négligeable pour les sujets traités. En 1994, une nouvelle formulation de l'amphotéricine B, les liposomes (Ambisome®), est introduite. Ce nouveau médicament, plus sélectif que les précédents, affiche donc une toxicité moindre, avec cependant comme inconvénient son prix qui est très élevé (152 € HT le flacon). En 1981, certains composés imidazolés, antifongiques agissant comme inhibiteurs de la synthèse des stérols chez le parasite, ont également été

[45] Myler P.J., Fasel N., *Leishmania: after the genome*. Horizon Scientific Press **2008**.

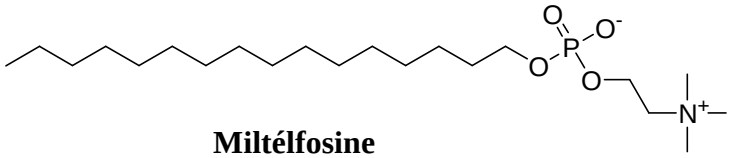
découverts.[46] En 2002, une nouvelle molécule est découverte, un dérivé de la miltélfosine (Impavido®), initialement utilisé pour le traitement de certains cancers. Contrairement aux premiers médicaments qui sont tous administrés par voie injectable, elle a pour avantage une utilisation par voie orale et une très bonne efficacité.



Stiboglocunate de sodium



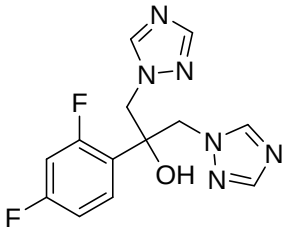
Antimoniate de méglumine



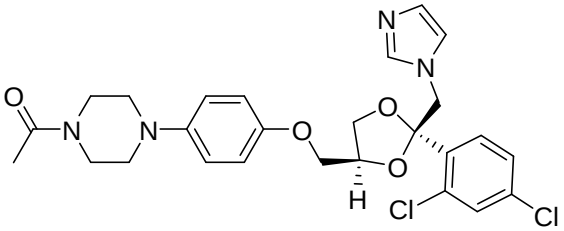
Miltélfosine

Figure 11: Quelques principes actifs de médicaments utilisés contre la leishmaniose.

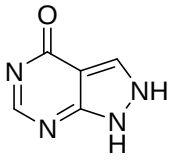
L'une des grandes difficultés dans la prise en charge de la maladie, réside, comme pour le paludisme, dans l'apparition de résistances de plus en plus croissantes des parasites aux médicaments utilisés.[46,47] De nombreux traitements traditionnels sont déjà utilisés et plusieurs substances naturelles sont à l'état d'étude. Du côté de la synthèse organique, plusieurs composés agissant comme des inhibiteurs de facteurs essentiels au métabolisme du parasite ont été découverts (Figure 12), parmi lesquels des azoles antifongiques (itraconazole, kétoconazole, fluconazole) et l'allopurinol (drogue utilisée contre la goutte).[46,48] Comme indiqué en introduction, notre étude s'inscrit dans cette dernière optique avec comme cibles biologiques les kinases *Lm*CK1 et *Ld*TLK respectivement pour les parasites *Leishmania major* et *Leishmania donovani*.



Fluconazole



Kétoconazole



Allopurinol

Figure 12: Composés à potentiel anti-leishmaniose.

[46] Janvier F., Morillon M., Olliaro P., *Médecine. Tropicale.* **2008**, *68*, 89-101.

[47] Légaré D., Ouellette M., Drug Resistance in Leishmania **2014.**

[48] a) Al-Abdely H.M., Graybill J.R., Loebenberg D., Melby P.C., *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, *43*(12), 2910-2914. b) Khazaeli P., Sharifi I., Talebian E., Heravi G., Moazeni E., Mostafavi M., *Envir. Toxicol. Pharmacol.* **2014**, *38*(1), 205-211. c) Aerts O., Duchateau N., Willemse P., Lambert J., *Pediat. Dermatol.* **2015**, *32*(1), 154-155. d) Alrajhi A.A., Ibrahim E.A., De Vol E.B., Khairat M., Faris R.M., Maguire J.H., *New Engl.J. Med.* **2002**, *346*(12), 891-895. e) Baroni A., Aiello F.S., Vozza A., Vozza G., Faccenda F., Brasiello M., Ruocco E., *Dermatol. Ther.* **2009**, *22*(s1), S27-S29.

Les recherches pour un vaccin contre la leishmaniose remontent à 1940, dans certains pays d'Europe centrale. Cependant jusqu'à ce jour, aucun vaccin n'a été découvert pour l'homme, le seul existant étant un vaccin pour les chiens (CaniLeish®).[49] Il n'existe également aucune médication en prophylaxie, l'unique prévention consistant en une protection contre les piqûres par l'utilisation d'insectifuges et de moustiquaires imprégnées de pyréthrinoïdes à mailles fines.

II. LE CANCER

Le terme général de "cancer" s'applique à un grand nombre de maladies pouvant toucher n'importe quelle partie de l'organisme. Il correspond à une prolifération rapide et incontrôlée de cellules anormales dans l'organisme. Prolifération qui conduit à la formation d'une masse appelée tumeur maligne ou encore néoplasmes. Ces cellules anormales s'exportent au-delà de leur délimitation habituelle et peuvent envahir des parties adjacentes de l'organisme, puis essaimer dans d'autres organes. On parle alors de métastases, celles-ci étant la principale cause de décès par cancer. Un cancer porte le nom de la partie du corps où il prend naissance. Ainsi un cancer qui débute dans la vessie et se propage ensuite aux poumons par exemple, est appelé cancer de la vessie avec métastases aux poumons (métastases pulmonaires).

Le cancer, avec 14 millions de nouveaux cas en 2012 et 8,2 millions de décès, se positionne comme l'une des principales causes de morbidité et mortalité dans le monde (Figure 13).[50] L'Afrique, l'Asie, l'Amérique centrale et l'Amérique latine enregistre plus de 60% des nouveaux cas de cancer et représentent 70 % des décès par cancer dans le monde. Selon l'OMS, le nombre de nouveaux cas devrait augmenter de 70 % environ au cours des deux prochaines décennies et passer ainsi à 22 millions. Les cancers les plus fréquemment diagnostiqués sont ceux du poumon, de la prostate, du côlon et du rectum, de l'estomac, du foie, du sein et du col de l'utérus.

Le cancer est une maladie très invalidante, impactant aussi bien la vie socio-économique du malade, que celle de ses proches. Les coûts du cancer sont également exorbitants. Ils se sont ainsi élevés à environ 126 milliards € en 2009 pour la zone euro, dont 17 milliards pour la France.[51] Ce chiffre englobe le coût des soins hospitaliers et de ville, les pertes de production induites par le cancer, les coûts des politiques publiques de prévention, de dépistage et de recherche.

En 2012, le nombre de nouveaux cas de cancer en France métropolitaine a été estimé à 355.000 (200.000 hommes et 155.000 femmes), occasionnant environ 148.000 décès. En Afrique, le cancer est devenu un véritable enjeu sanitaire face à la rapide évolution de la maladie. En effet, selon l'OMS, entre 800.000 et 1,6 million de nouveaux cas de cancer et entre 500.000 et 1,2 million de décès par an (soit 20 % de la charge de morbidité du

[49] Bourée, P., Bisaro, F., Ensaf, A., *Option/Bio* **2014**, *25*(502), 16-19.

[50] World Cancer Report 2014, IARC consulté le 12-06-2015.

[51] http://www.sciencesetavenir.fr/sante/20131014.OBS1024/le-cancer-coute-126-milliards-d-euros-a-l-europe.html consulté le 12-06-2015.

continent) y seront enregistrés d'ici à 2030, si des mesures de prévention et de prise en charge adéquate ne sont pas mises en œuvre d'urgence.[52] En Côte d'Ivoire, la progression du cancer est également préoccupante, le nombre de nouveaux cas par an étant désormais compris selon l'OMS entre 15.000 et 20.000 contre 2.815 et 3.248 entre 1995-1997 et 2004-2006 respectivement.[53]

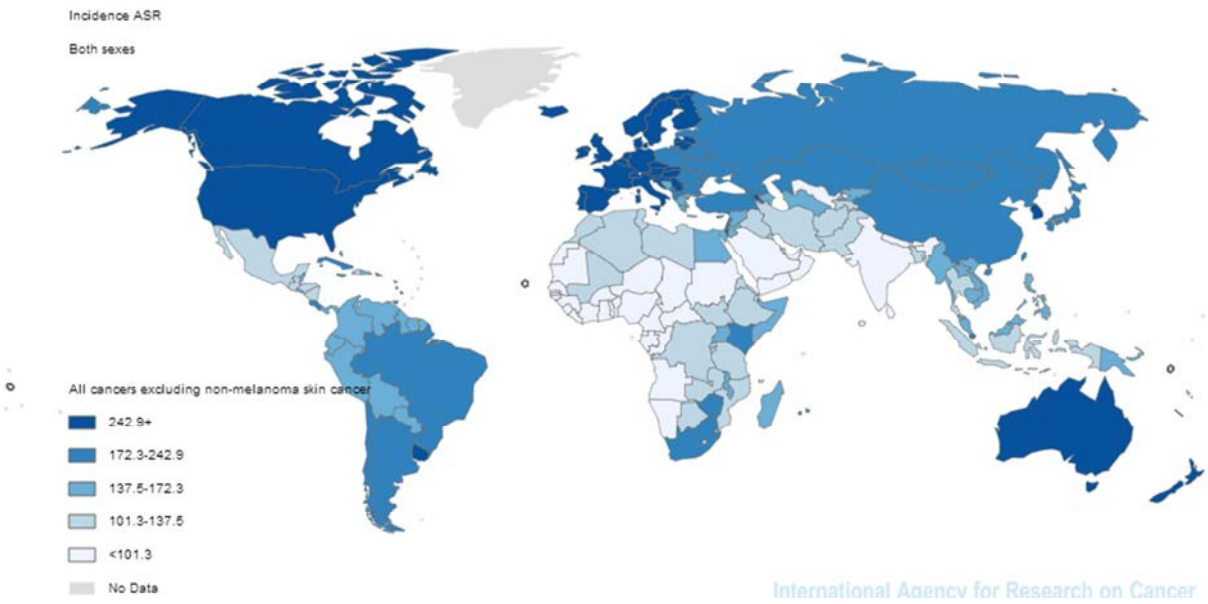


Figure 13: Répartition géographique du cancer dans le monde.[54]

1. La naissance et les différentes phases d'un cancer

Un cancer découle d'altérations ou de mutations dans le patrimoine génétique (ADN) de cellules saines et fonctionnelles, qui deviennent par la suite anormales. Ces altérations vont occasionner un dérèglement ou une inactivation des facteurs contrôlant la division cellulaire, donnant lieu ainsi, pour la cellule concernée, à une prolifération anarchique avec pour conséquence la formation de tumeur. Les cellules saines en effet, disposent de systèmes de détection et de réparation des lésions de l'ADN. Lorsque la lésion n'est pas réparable, la cellule déclenche un processus de "suicide" appelé apoptose. Ainsi, lorsque ces lésions atteignent en particulier les facteurs régulant ces processus clés que sont la détection et la réparation des lésions de l'ADN et l'apoptose, alors la prolifération de la cellule, en l'absence de censure, se poursuit, donnant naissance à un cancer dont le développement comporte quatre principales étapes (Figure 14):

- le stade 1 ou initiation correspond à l'apparition d'une tumeur unique et de petite taille;

[52] http://www.jeuneafrique.com/207537/societe/sant-la-redoutable-volution-du-cancer-en-afrique/ consulté le 12-06-2015.

[53] www.cancer-amcc.org/telecharger.php?Fichier_a_telecharger=Prise_en_charge_de_la_douleur_CTE_DaIVOIRE.pdf&chemin=galerie_rapport/fichiers_rapports_1269342245/les_rapports/ consulté le 12-06-2015.

[54] http://european-cancer-centers.com/fr/notre-vision-2/le-cancer-dans-le-monde/ consulté le 12-06-2015.

- le stade 2 ou prolifération (promotion) correspond à un volume local plus important;
- le stade 3 ou invasion correspond à un envahissement des ganglions lymphatiques ou des tissus avoisinants;
- le stade 4 ou colonisation correspond à une extension plus large dans l'organisme sous forme de métastases.

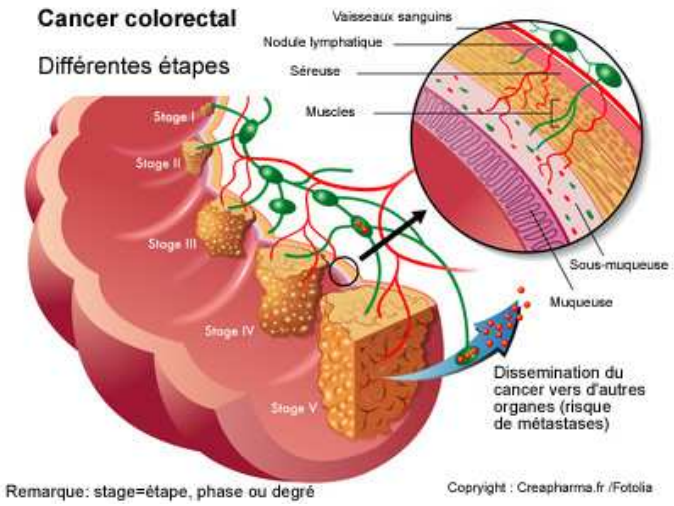


Figure 14: Différents stades de développement d'une tumeur cancéreuse (cas d'un cancer colorectal).[55]

2. Les cancérogènes et les facteurs de risque du cancer

Certaines personnes naissent avec une ou plusieurs lésions déjà présentes dans leur patrimoine génétique. Lésions souvent transmises par leurs parents et comme précédemment évoqué, constituant un facteur d'initiation de cancer. Ces personnes présentent un risque plus élevé de développer un cancer car la transformation de leurs cellules a déjà commencé au moment de leur naissance. On parle donc de prédisposition génétique au cancer. Il existe également des facteurs (cancérogènes) extérieurs, qui peuvent être chimiques (composés chimiques industriels ou par exemple la fumée du tabac, l'alcool, etc.), biologiques (papillomavirus, virus impliqué dans le cancer du col de l'utérus ou bactérie, *Helicobacter pylori* impliqué dans des cancers comme celui de l'estomac) ou physiques (rayonnements ionisants ou ultraviolets).
Un autre facteur non négligeable dans l'apparition du cancer est le vieillissement. En effet, il est observé un très fort accroissement de l'incidence avec l'âge, très vraisemblablement due à l'accumulation des risques de cancers spécifiques tout au long de la vie, conjuguée au fait que les mécanismes de réparation tendent généralement à perdre de leur efficacité avec l'âge.

Les principaux facteurs à risques selon l'OMS sont le tabagisme, la consommation d'alcool, une mauvaise alimentation, et la sédentarité. Parmi ceux-ci, le tabagisme se

[55] http://www.creapharma.ch/cancer-colorectal.htm consulté le 12-06-2015.

positionne comme le facteur de risque cancéreux le plus important, causant plus de 20 % de la mortalité par cancer et environ 70 % des décès par cancer du poumon dans le monde.[56]

3. Le dépistage et le traitement

Le dépistage précoce et une prise en charge adéquate des patients, augmentent les chances de guérison pour de nombreux cancers. Le dépistage vise à repérer les personnes présentant des anomalies évocatrices d'un cancer particulier ou d'un stade précancéreux et à les adresser rapidement à la structure appropriée pour le diagnostic et le traitement. Il existe plusieurs méthodes de dépistage, particulièrement efficaces pour les cancers fréquents tels que le cancer du col de l'utérus (test de dépistage du VPH et test de Papanicolaou), cancer colorectal (test Hémoccult II). On compte également les techniques d'imageries telles que les rayons X (radiographie et tomodensitométrie), le CT (Computed Tomography), les ultrasons (US), l'imagerie par résonance magnétique (IRM), le SPECT (Single-Photon Emission Computed Tomography), la TEP (Tomographie par Emission de Positon), et l'imagerie optique.

Il existe différents types de traitements pour le cancer en fonction du but visé. Ainsi dans le cadre d'un traitement susceptible d'aboutir à une guérison donc une rémission complète, il s'agira d'un traitement curatif. Cependant, lorsque la guérison n'est pas possible, le traitement cherche alors à arrêter ou ralentir le plus longtemps possible l'évolution de la maladie, tout en atténuant au maximum les symptômes. On parle dans ce cas de traitements ou de soins (pour les patients en fin de vie) palliatifs.

Le choix d'un traitement ou d'une combinaison de traitements contre un cancer est spécifique à la situation et la qualité de chaque patient. Plusieurs facteurs tels que le type de cancer et son degré d'extension, l'âge du malade et son état général et la présence ou non d'éventuelles autres maladies, sont en effet à prendre en compte. De ce fait, chaque patient atteint du cancer est un cas particulier, faisant donc appel à une prise en charge ciblée.

Plusieurs traitements du cancer sont mis en œuvre seul ou en association, tels que la chirurgie, la radiothérapie et la médecine oncologique incluant entre autres la chimiothérapie, l'hormonothérapie, l'immunothérapie, la thérapie génique, la greffe et les traitements ciblés.[57] Avec près de 370.000 patients traités chaque année par la chirurgie, 270.000 par chimiothérapie et 170.000 par radiothérapie, ces trois traitements sont les plus utilisés actuellement.[58]

3.1. La chirurgie

La chirurgie est un traitement local du cancer qui a pour objectif d'enlever la tumeur et d'évaluer sa gravité et son étendue. Elle nécessite souvent d'enlever également une marge de

[56] http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/fr/ consulté le 12-06-2015.

[57] a)http://www.cancer.be/la-chirurgie consulté le 12-06-2015. b) http://sante-medecine.commentcamarche.net/contents/122-traitement-du-cancer consulté le 12-06-2015.

[58] http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-traitements consulté le 12-06-2015.

tissus sains en périphérie de la tumeur, ainsi que les ganglions voisins. La chirurgie est certainement la technique la plus ancienne utilisée pour soigner les cancers. De nombreux progrès ont été réalisés, de l'anesthésie à la microchirurgie, permettant la mise en œuvre d'une chirurgie de moins en moins invasive et d'opérer davantage de malades. Elle est souvent utilisée en association avec la radiothérapie et la chimiothérapie, notamment en amont dans certains cas afin de réduire la taille de la tumeur avant l'opération et d'en faciliter ainsi l'ablation ou en aval afin de prévenir les récidives et l'apparition ou le développement des métastases.

3.2. La radiothérapie

Le choix de la radiothérapie dépend de la localisation et du stade de la lésion, ainsi que de l'état général du malade. C'est un traitement qui consiste à utiliser des rayons à haute énergie (électrons, photons ou protons émis par des accélérateurs linéaires de particules) ou à des rayonnements gamma délivrés par des sources radioactives, pour détruire les cellules cancéreuses. Dans la pratique, cette technique agit en modifiant le patrimoine génétique des cellules irradiées, les empêchant ainsi de se développer. La dose délivrée devant pouvoir provoquer des lésions suffisamment importantes de l'ADN de ces cellules pour qu'elles ne puissent pas les réparer.

Au cours des 20 dernières années, la radiothérapie a connu un essor considérable grâce à d'importants progrès techniques et concerne présentement environ 60 % des patients atteints d'un cancer. Il existe deux formes de radiothérapie qui sont la radiothérapie externe qui permet l'irradiation de la tumeur à partir d'une source extérieure à l'organisme et la radiothérapie interne ou curiethérapie, pour laquelle la source radioactive est placée à l'intérieur de l'organe ciblé au contact direct (à l'intérieur ou à proximité) avec la tumeur. C'est une méthode qui touche également aux tissus sains envoisinant, occasionnant ainsi des effets secondaires dont l'importance dépend de la fréquence et de la durée du traitement.

3.3. La médecine oncologique

3.3.1. La chimiothérapie[59]

La chimiothérapie consiste en l'utilisation de médicaments, donc de substances chimiques, administrés par voie orale ou par injection intramusculaire ou intraveineuse, afin d'éliminer les cellules cancéreuses. On l'emploie généralement, soit pour guérir définitivement la maladie, soit en vue d'une rémission ou encore pour soulager le malade (soins palliatifs).

[59] a) http://www.arcagy.org/infocancer/traitement-du-cancer/traitements-systemiques/chimiotherapie/les-medicaments/les-principes-generaux.html consulté le 12-06-2015. b) http://www.oncoprof.net/Generale2000/g09_Chimiotherapie/g09_ct01.php consulté le 12-06-2015. c) www.medicalistes.org/spip/IMG/ppt/anticancereux.ppt consulté le 12-06-2015. d) http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_2/Autres-Mod-Oblig/MB4/MB4_antineoplasmiques_141.pdf consulté le 12-06-2015.

C'est une méthode mise en œuvre le plus souvent en combinaison avec la chirurgie et/ou la radiothérapie.

Les médicaments utilisés en chimiothérapie peuvent être classés selon le protocole d'administration ou selon le mode d'action du traitement.

- Selon le protocole d'administration, on distingue trois classes de chimiothérapie à savoir la chimiothérapie néo-adjuvante (réalisée en amont de la chirurgie afin de réduire la taille de la tumeur et faciliter sa résection), la chimiothérapie adjuvante (en aval de la chirurgie afin d'éliminer toutes les cellules tumorales résiduelles et limiter ainsi la propagation tumorale) et la chimiothérapie métastatique (pour le traitement des tumeurs situées dans un foyer secondaire).
- Ces médicaments sont également classés en fonction de leur mode d'action. Ces substances chimiques antinéoplasiques vont intervenir principalement dans le cycle cellulaire. Elles vont notamment altérer la division cellulaire des cellules cancéreuses et avoir une action centrée sur l'ADN, soit en amont (antimétabolites, anti-topoisomérases I et II), soit à travers une interaction directe (alkylants, intercalants, scindants) ou encore en aval (poison du fuseau). Un des grand défauts de ces différents composés réside dans leur manque de spécificité (traitement systémique) vis-à-vis des cellules cancéreuses normalement ciblées, avec pour incidence la dégradation concomitante de cellules saines telles que les cellules sanguines, les cellules des muqueuses ou de la peau. Il en résulte donc de lourds effets secondaires pour les patients.

3.3.1.1. Les inhibiteurs de la synthèse en amont de l'ADN

3.3.1.1.2. Les antimétabolites

Ces composés affectent la cellule au cours de la phase S du cycle cellulaire en bloquant son développement et sa multiplication. Ils ont pour rôle d'inhiber la synthèse des acides nucléiques, première étape nécessaire à toute multiplication cellulaire. On peut classer ces antimétabolites en trois principaux sous-groupes (Figure 15):

- les antifoliques inhibiteurs d'enzymes: ce sont des analogues de l'acide folique qui inhibent la synthèse de l'acide folinique indispensable pour la synthèse des bases nucléiques (uridine, thymidine), en se combinant à la dihydrofolate réductase (DHFR), à l'instar du Méthotrexate, du Raltitrexed ou Tomudex® et du Pemetrexed ou Alimta®)
- les médicaments leurres: ce sont des substances possédant une structure chimique semblable à des composants métaboliques intermédiaires indispensables et vont donc être acceptées comme substrats et inhiber la biosynthèse des acides nucléiques, et des protéines indispensables pour la multiplication cellulaire. On y retrouve notamment les anti-pyrimidiques analogues de la cytosine, de la thymine ou de l'uracile (le 5-Fluoro-uracile, la Cytosine Arabinoside, la Gemcitabine, la Capécitabine, le Tégafur) et les

anti-puriques analogues de la guanine ou de l'adénine (la 6-Mercaptopurine, la Thioguanine, la Cladribine, la Fludarabine, la Pentostatine, la Clofarabine).

- L'Asparaginase (Kidrolase®) qui hydrolyse la L-asparagine circulante, précurseur de la synthèse protéique, et en prive les cellules cancéreuses.

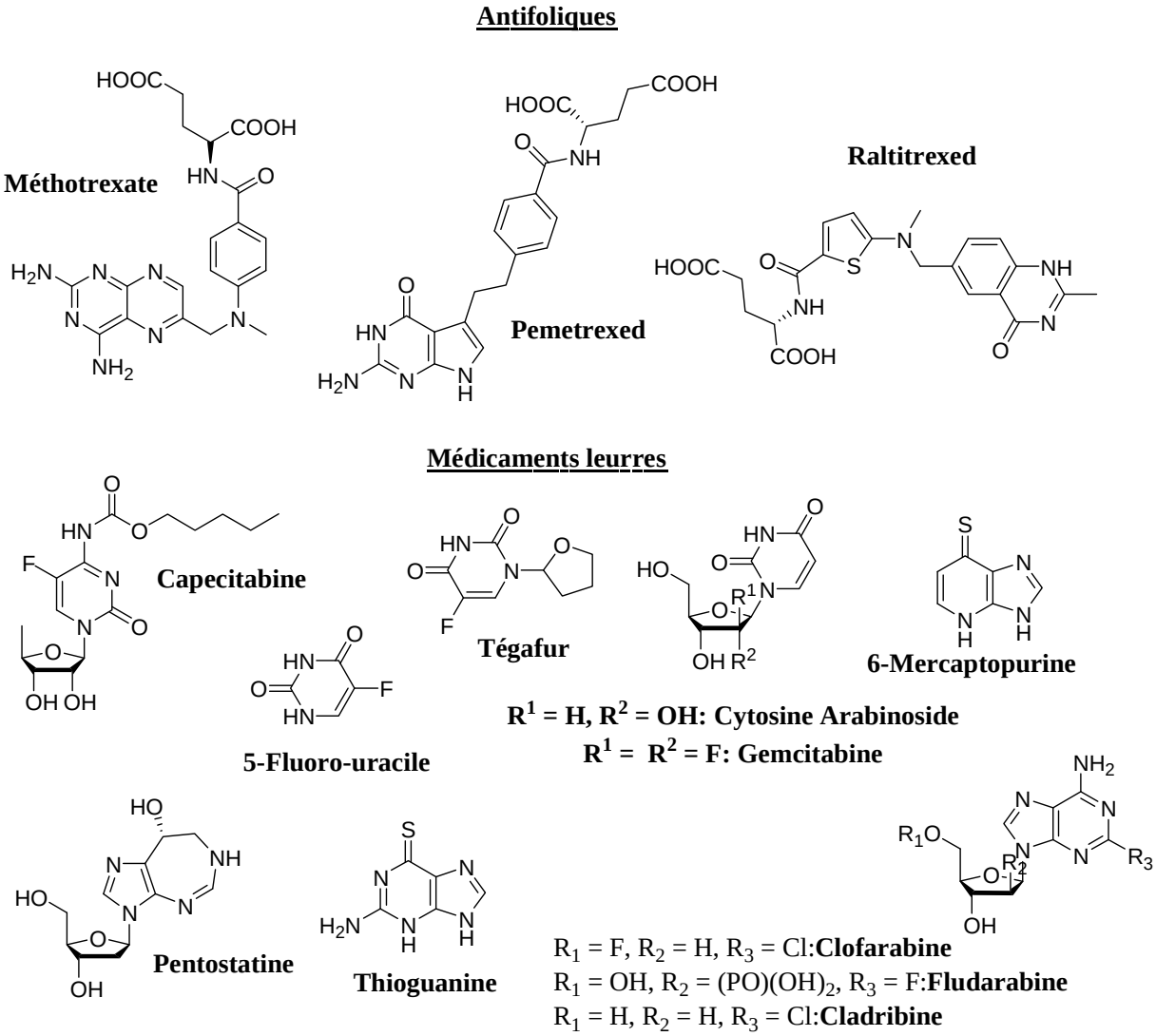


Figure 15: Les antimétabolites.

3.3.1.1.2. Les inhibiteurs de topoismérases I et II

Les topoisomérases I (action sur un seul brin de l'ADN) et II (action sur les deux brins en torsade), sont les enzymes indispensables à la transcription et la réplication de l'ADN. Les anti-topoisomérases, Irinotécan (Campto®), Topotécan (Hycamtin®) pour les topoisomérases I et VP-16 ou Etoposide (Vépéside®), VM-26 ou Téniposide (Vumon®), sont des inhibiteurs de ces deux enzymes (Figure 16).

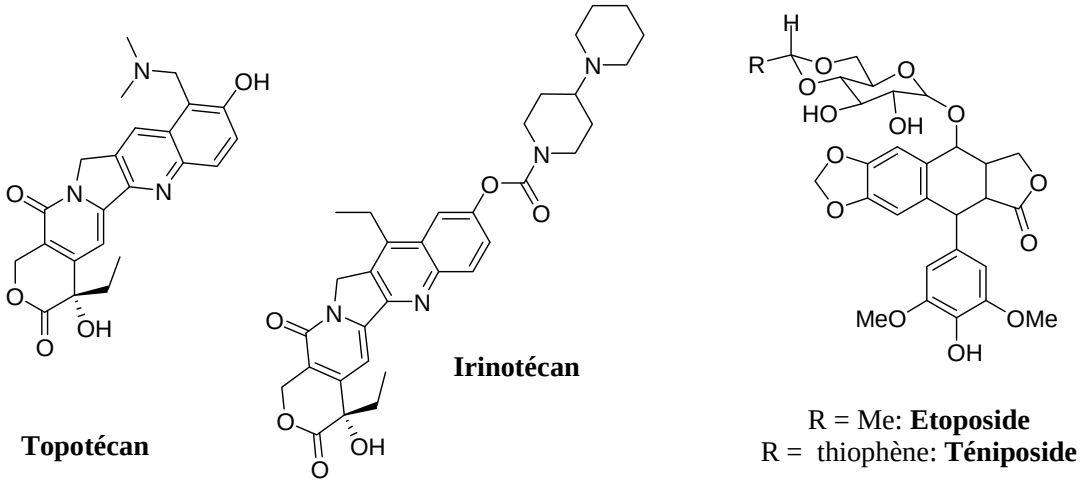


Figure 16: Inhibiteurs de topoisomérases.

3.3.1.2. Les antinéoplasiques à action directe sur l'ADN

3.3.1.2.1. Les alkylants

Ce sont des médicaments ayant pour particularité commune de former des liaisons covalentes fortes avec certains atomes de l'ADN ou de l'ARN via leurs radicaux alkyles (méthyles ou éthyles), d'où leur nom d'agents alkylants. En effet, le dédoublement des deux brins d'ADN devient difficile et la transcription est arrêtée au niveau de l'agent alkylant pendant la division cellulaire qui est donc elle-même généralement arrêtée, conduisant à l'apoptose. Il existe des agents alkylants monofonctionnels comportant un seul groupement réactif et des agents bifonctionnels avec deux groupements réactifs, ces deux types se déclinant en divers grandes familles (Figure 17 et 18):

- Les moutardes azotées: le Mélphalan (Alkéran®), la Chlormétine (Caryolysine®), le Chlorambucil (Chloraminophène®), l'Estramustine (Estracyt®), le Pipobroman (Vercyte®).
- Les éthylènimines et les aziridines: le Triphosphamide (Thiotépa®), l'Altrétamine (Hexastat®), la Mitomycine C (Amétycine®).
- Les alkyl alcane sulfonates: le Busulfan (Misulban®).

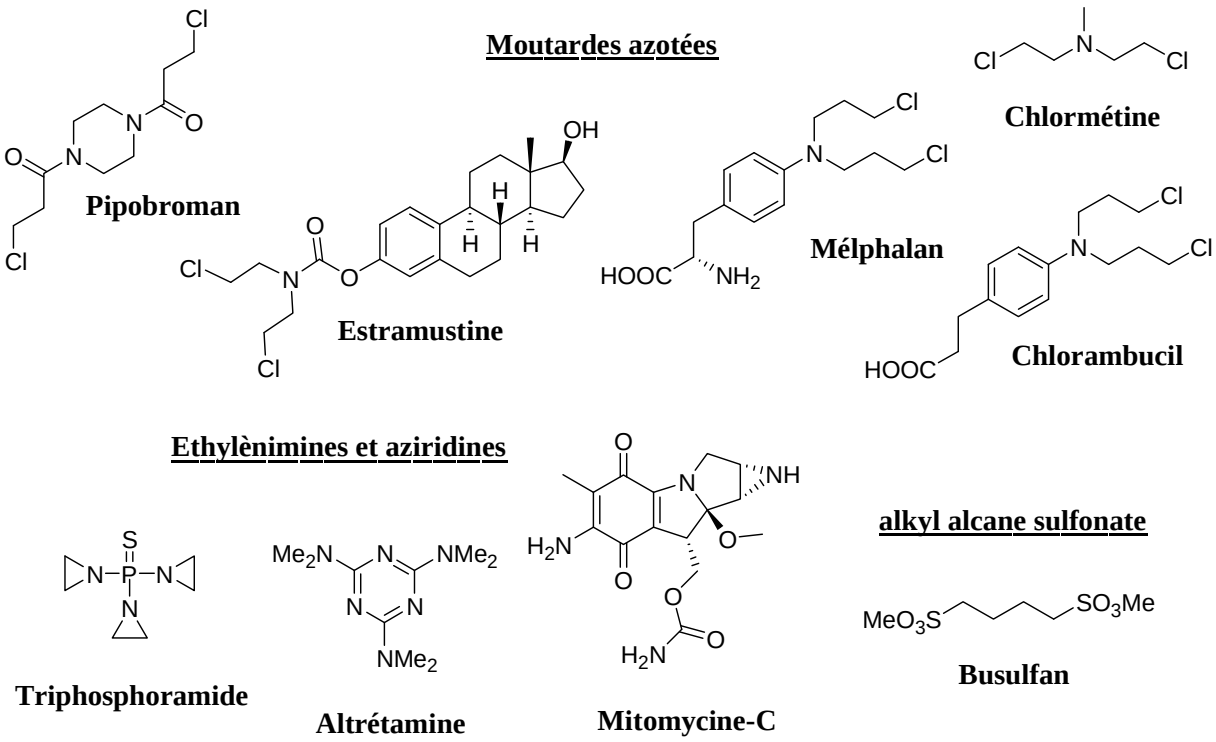


Figure 17: Exemples d'agents alkylants.

- Les triazènes et hydrazines: la Dacarbazine (Déticène®), le Témozolomide (Témodal®), la Procarbazine (Natulan®).
- Les nitroso-urées: la Carmustine (Bicnu®), la Lomustine (Bélustine®), la Fotémustine (Muphoran®), la Streptozocine (Zanosar®), la Bendamustine (Levact®).
- Les organoplatines: la Carboplatine (Paraplatine®), la Cisplatine (Cisplatyl®), l'Oxaliplatine (Eloxatine®).

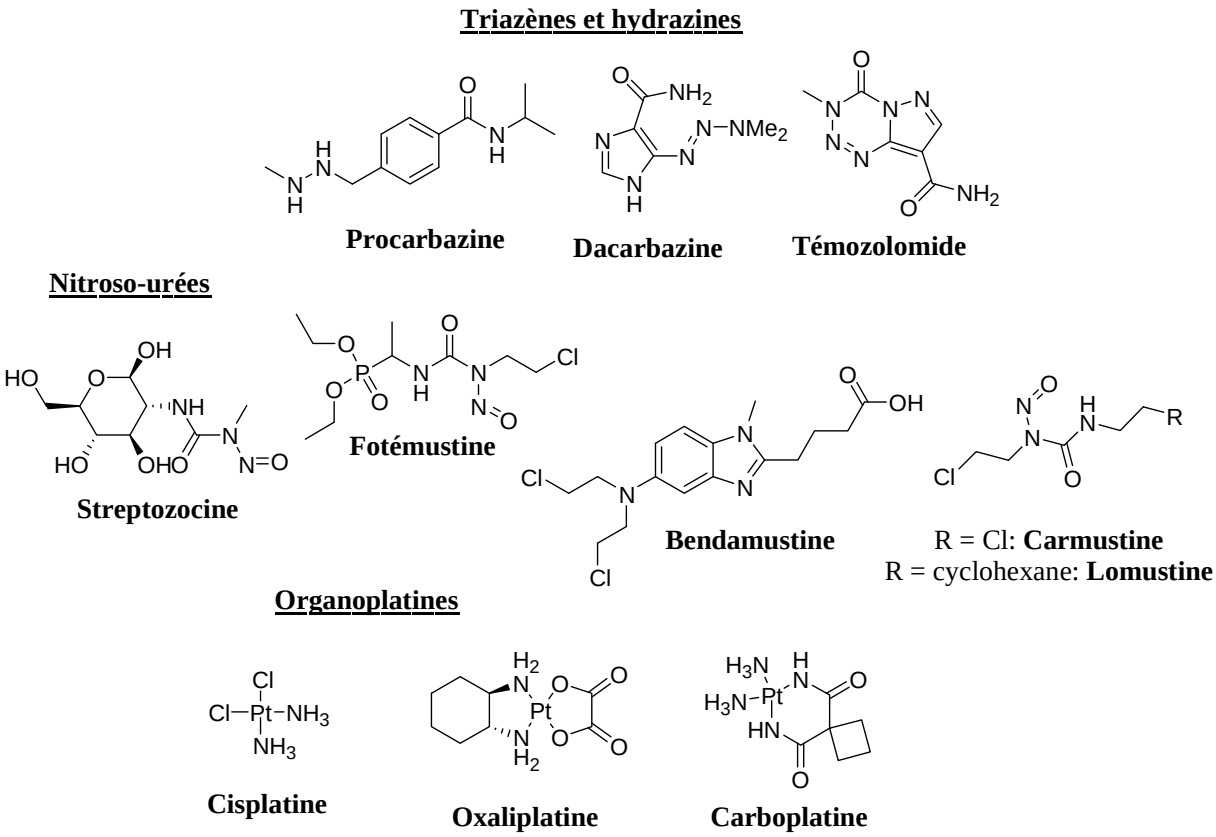


Figure 18: Structure chimique de quelques familles d'agents alkylants.

3.3.1.2.2. Les intercalants

Ce sont des composés polycycliques qui agissent en s'intercalant entre les deux brins de l'ADN, empêchant ainsi la réplication et la transcription, et donc la division cellulaire. On observe également comme conséquence de leur action, la formation de radicaux libres et de liaisons irréversibles aux topoisomérases II. Les composés les plus connus de cette famille, sont des antibiotiques de la famille des anthracyclines: Doxorubicine (driamycine®), Daunorubicine (Cerubidine®), Epirubicine (Farmorubicine®), Idarubicine (Zavedos®), en plus entre autres, des anthraquinones (Mitoxantrone ou Novantrone®, Pixantrone ou Pixuvri®) ou les phénoxazines (actinomycine-D ou Cosmegen®), l' Amsacrine (Amsidine®), la Mitomycine (Amétycine®) (Figure 19).

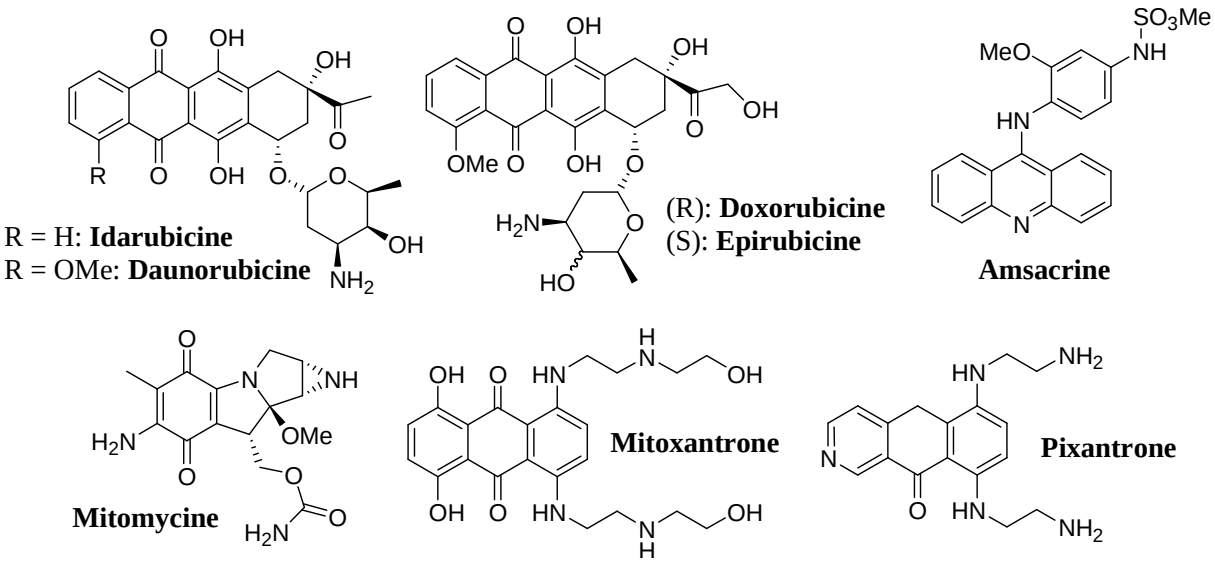


Figure 19: Structures chimiques d'intercalants.

3.3.1.2.3. Les agents scindants

Le mode d'action mis en jeu ici consiste à couper des brins d'ADN résultant d'une réaction radicalaire au niveau du désoxyribose des nucléotides GT ou GC. Le composé actuellement le plus connu pour ses propriétés de clivage de la double hélice de l'ADN est la Bléomycine.[60]

3.3.1.3. Les poisons du fuseau mitotiques en aval de l'ADN

Ces médicaments interviennent au cours de la mitose. Leur action entraîne une désorganisation des chromosomes (orientation), notamment en empêchant la formation ou la stabilisation du fuseau mitotique. Ce sont des composés interférant avec la polymérisation / dépolymérisation de la tubuline α/β^* en microtubules, processus essentiels à la mitose. Ils sont d'origine naturelle et sont repartis en différents groupes.

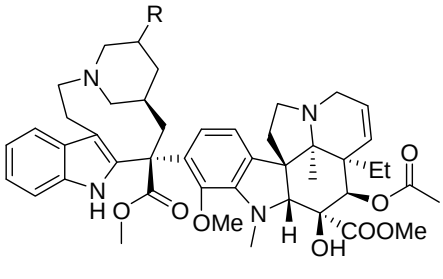
3.3.1.3.1. Les vinca-alcaloïdes

Ces composés, en véritables antimitotiques, empêchent la formation du fuseau chromatique qui permet la séparation des chromosomes au cours de la mitose, en inhibant la polymérisation de la tubuline en microtubules. Ainsi, les cellules restent bloquées au stade de la mitose et ne peuvent pas se diviser, ce qui induit l'apoptose.[61] Ce sont des alcaloïdes (Figure 20), dont la Vinblastine (Velbe®), extraite de la pervenche de Madagascar (*Catharanthus roseus*) et ses dérivés (la Vincristine ou Oncovin®, la Vindésine ou Eldésine®, la Vinorelbine ou Navelbine® et la Vinflunine ou Javlor®®).

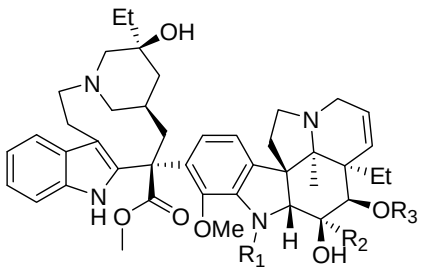
---

60 Galm U., Hager M.H., Van Lanen S.G., Ju J., Thorson J.S., Shen B., *Chem Rev* **2005**, *105*(2): 739-58.

61 Robert J., *Oncologie* **2007**, *9*(11), 766-772.



R = CH_2CH_3: **Vinorelbine**
R = CF_2CH_3: **Vinflunine**

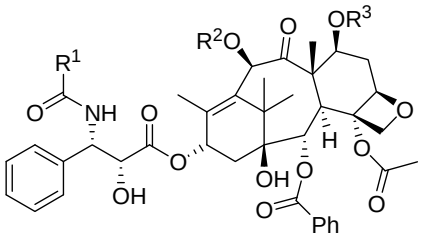


R_1 = CHO, R_2 = CO_2Me, R_3 = COMe: **Vincristine**
R_1 = Me, R_2 = $CONH_2$, R_3 = H: **Vindésine**
R_1 = Me, R_2 = CO_2Me, R_3 = COMe: **Vinblastine**

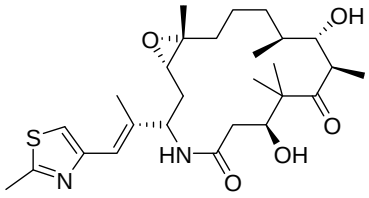
Figure 20: Structures chimiques de vinca-alcaloïdes.

3.3.1.3.2. Les taxanes et les épothilones

Ils inhibent la dépolymérisation des microtubules en tubuline, empêchant la résorption du fuseau achromatique;[61] ce qui bloque donc la mitose, entrainant la mort de la cellule. On distingue dans cette catégories les taxanes, des alcaloïdes de l'if (le Paclitaxel ou Taxol®, le Docétaxel ou Taxotère®, le Cabazitaxel ou Jevtana®) et les épothilones, isolés à partir de la myxobactérie *Sorangium cellulosum* (Ixabepilone ou Ixempra®) (Figure 21).



R^1 = *t*Bu, R^2 = Me, R^3 = Me: **Cabazitaxel**
R^1 = Ph, R^2 = COMe, R^3 = H: **Paclitaxel**
R^1 = *t*Bu, R^2 = H, R^3 = H: **Docétaxel**



Ixabepilone

Figure 21: Structures chimiques de taxanes et d'épothilones.

De nouveaux composés, agissant également comme des poisons du fuseau mitotique mais avec un mécanisme d'action différents de ceux sus-mentionnés, ont été récemment mis à disposition des malades à l'instar de l'Eribuline (Halaven®) appartenant à la famille des halichondrines, produits naturels isolés à partir d'une éponge marine, l'*Halichondria okadai.*[62]

3.3.2. L'hormonothérapie

Le développement de certaines cellules cancéreuses, par exemple la division cellulaire donc la prolifération, est stimulé par des hormones qui se fixent sur des récepteurs à la surface de ces cellules. L'hormonothérapie vise à réduire le taux naturel de ces hormones dans le corps, ou à empêcher les cellules cancéreuses de les utiliser pour croître. Contrairement à la

[62] Gonçalves A., *Bull. Cancer* **2011**, *98*(5), 455-455.

chimiothérapie ou à la radiothérapie, qui cherchent à tuer rapidement les cellules cancéreuses, l'hormonothérapie vise à entraîner leur mort à plus long terme en créant un milieu hormonal qui leur est défavorable. C'est une méthode pouvant aider à guérir certains cancers hormonodépendants comme celui du sein, de l'utérus, des ovaires, de la thyroïde ou de la prostate, dont la croissance peut être stimulée par des hormones, comme les œstrogènes ou la testostérone.

Ces médicaments (Figure 22) sont classés en fonction de leur mécanisme d'action et comptent entre autres des agonistes de la LH-RH (la Buséréline ou Suprefact ®, la Goséréline ou Zoladex®, la Leuproréline ou Enantone®/Lucrin®, la Triptoréline ou Decapeptyl®), les anti-œstrogènes (l'Oestradiol, le Tamoxifène ou Nolvadex®), les anti-androgènes (le Nilutamide ou Anandron®, le Flutamide ou Eulexin®/Drogenil®, le Bicalutamide ou Casodex®), les progestatifs (la Médroxyprogestérone ou Dépo-Prodasone®/Prodasone®, le Mégestrol (Mégace®) et l'Aminoglutéthimide (Orimétène®).

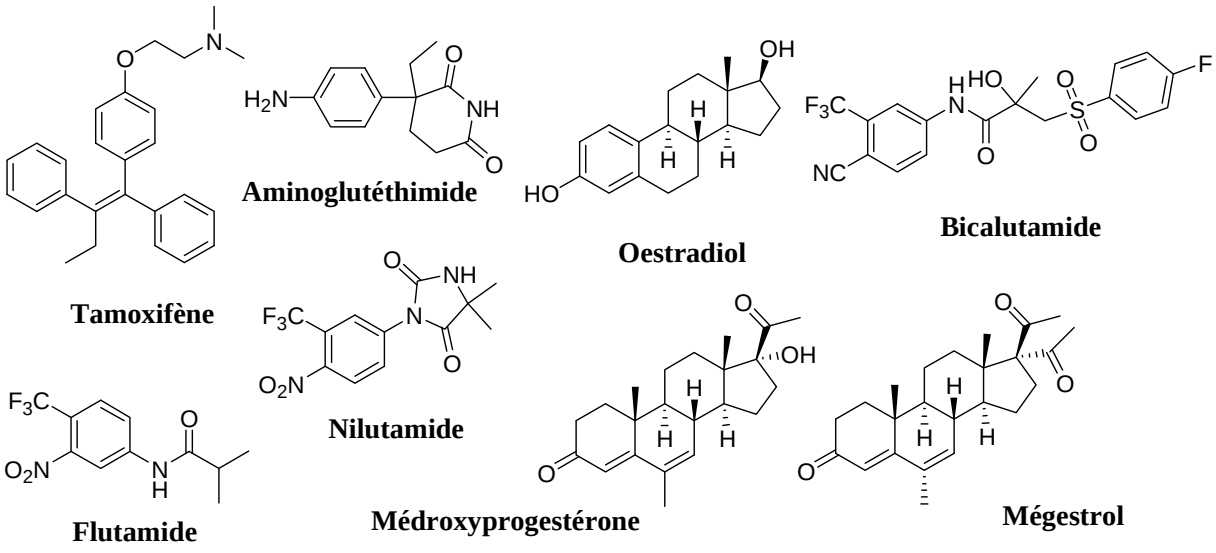


Figure 22: Structures chimiques de quelques principes actifs de médicaments utilisés en hormonothérapie.

La castration physique est également une option explorée par la médecine. Elle consiste à l'ablation de la zone productrice des hormones impliquées, telles que les ovaires, les testicules, le sein. Elle permet de réduire le risque de rechute et d'améliorer la survie globale, mais reste une expérience traumatisante pour la plupart des patients. Aussi existe-il une alternative consistant en une "castration chimique" par l'action des agonistes de la LH-RH.

3.3.3. L'immunothérapie

Lorsque l'organisme est agressé, le système immunitaire organise automatiquement une puissante défense à travers principalement les anticorps et les cytokines (l'interféron et l'interleukine 2), des substances chimiques sécrétées par les lymphocytes. Dans le cas du cancer, ce système de défense est incapable d'identifier les cellules cancéreuses comme corps étrangers donc comme dangereuses pour l'organisme et de les "attaquer" en vue de les détruire. L'immunothérapie est un traitement visant justement à mobiliser et stimuler ces

défenses immunitaires contre les cellules cancéreuses, et ce par injection de cytokines produites par génie génétique.

C'est une technique utilisée notamment dans le cas des cancers du sein résistants au traitement habituel et ce à travers des anticorps monoclonaux (voir plus loin paragraphe. 3.3.6.1) ou en association avec d'autres traitements. De nouveaux traitements sont actuellement mis en œuvre tel que le Nivolumab[63] ou Opdivo®, commercialisé depuis 2014, ou en développement, tel que le récepteur antigénique chimérique et le TCR transgénique, visant la reprogrammation du système immunitaire.[64]

3.3.4. La greffe de cellules souches du sang

Anciennement appelée "greffe de moelle", la greffe de cellules souches du sang est un traitement utilisé principalement pour les cancers qui touchent les cellules immunitaires tels que les lymphomes). Elle vise à remplacer la moelle osseuse (malade) renfermant les cellules souches qui fabriquent le sang (hématopoïétiques) par une moelle en bonne santé et permet donc la régénération du sang en globules rouges, globules blancs et plaquettes. Ces cellules souches de "régénération" sont prélevées au niveau de la moelle osseuse et du sang circulant (sang périphérique) chez l'adulte. On peut aussi utiliser des cellules souches hématopoïétiques du cordon ombilical. Il existe deux principaux types de greffes: la greffe allogénique ou allogreffe (cellules souches prélevées chez un donneur, une personne autre que le malade qui est ici le receveur) et la greffe autologue ou autogreffe (cellules souches prélevées dans la moelle osseuse ou le sang du receveur, la patient).

3.3.5. La thérapie génique

La thérapie génique, vu que les gènes codent pour des protéines, permet d'empêcher l'action des protéines qui activent la prolifération anarchique de cellules ou de restaurer les fonctions des protéines qui contrôlent la division cellulaire. Elle consiste à introduire par l'intermédiaire d'un vecteur, un gène dans une cellule (transfection), soit pour suppléer à un gène déficient, soit pour faire fabriquer une substance telle que l'Interleukine, afin de détruire les cellules tumorales. C'est une technique encore à l'état expérimental, mais pour laquelle certains résultats encourageants commencent à être obtenus. Par exemple, Touati et coll. ont en 2014, mis au point une nouvelle approche basée sur l'utilisation d'un système de "gène suicide" optimisé, permettant de transformer une molécule chimique (ici la Cyclophosphamide) en composés toxiques pour la tumeur.[65]

---

63 Bayless H., Schneider S., *Clin. J. Oncol. Nursing* **2015**, *19*(4), 430-432.

64 Kroemer M., Turco C., Galaine J., Deschamps M., Limat S., Borg C., *Transf. Clin. Biol.* **2015**, *22*(3), 132-140.

65 Touati W., Tran T., Seguin J., Diry M., Flinois J.P., Baillou C., Lescaille G., Andre F., Tartour E., Lemoine F., Beaune P., de Waziers I., *Current Gene Ther.* **2014**, *14*(3), 236-246.

3.3.6. Les traitements ciblés ou "biochimiothérapie"[66]

Complémentaires de la chimiothérapie, ou alternatives à celle-ci, ces traitements ciblent de façon spécifique les cellules responsables de la maladie cancéreuses. Contrairement à la chimiothérapie qui est un traitement systémique, donc non-spécifique, occasionnant de lourds effets secondaires, les traitements ciblés ne créent pas de dommage aux cellules et tissus sains environnants. Ces médicaments peuvent avoir pour cibles des récepteurs membranaires ou une cible intracellulaire. Leurs différentes cibles moléculaires (récepteurs, gènes ou protéines) sont étroitement impliquées dans les voies de signalisation intracellulaires jouant un rôle dans la transformation des cellules saines en cellules cancéreuses ou dans le développement des tumeurs malignes. Les traitements ciblés regroupent plusieurs familles de médicaments anticancéreux parmi lesquels, les inhibiteurs de récepteurs membranaires (anticorps monoclonaux et inhibiteurs de protéines kinases) et les inhibiteurs de l'angiogenèse. Ces thérapies peuvent être administrées par voie orale ou intraveineuse.

3.3.6.1. Les anticorps monoclonaux

Les anticorps monoclonaux sont de "grosses" molécules produites en laboratoire, à partir d'un clone de cellule (d'où le terme monoclonal). Leur mode d'action est similaire aux anticorps naturels produits par le système immunitaire (Figure 23). Ils reconnaissent et se lient spécifiquement à certaines protéines présentes à l'extérieur ou à la surface des cellules cancéreuses et qui les incitent à se diviser de façon incontrôlée ou à survivre. Ces anticorps neutralisent ainsi certains mécanismes spécifiques des cellules cancéreuses et par conséquent stoppent la croissance maligne. Les anticorps monoclonaux peuvent également être combinés à un médicament de chimiothérapie, à une toxine ou à une substance radioactive dans le but de les délivrer spécifiquement aux cellules cancéreuses.

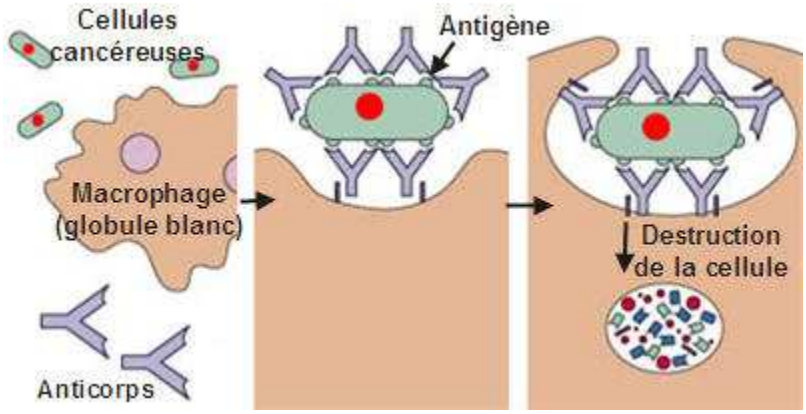


Figure 23: Mécanisme d'action des anticorps monoclonaux.[67]

Les premiers anticorps approuvés par la FDA et commercialisés ont été le Muromonab (Orthoclone OKTA®, 1986) et le Daclizumab (Zenapax®, 1997), tous deux contre le rejet de

[66] a) Azria D., Spano J.P., *Thérapies ciblées en cancérologie*. John Libbey Eurotext **2006** b) Gisselbrecht, S., *Histoire de la thérapie ciblée en cancérologie*. John Libbey Eurotext **2008.**

[67] http://www.linternaute.com/science/biologie/dossiers/06/0605-cancer/4.shtml consulté le 12-06-2015.

greffe, l'Abciximab (Reopro®, 1994) et le Rituximab (Rituxan®, 1997). À la suite de ces précurseurs, l'engouement autour de ces anticorps monoclonaux a permis la mise à disposition des malades, de plus d'une dizaine de nouveaux médicaments approuvés par la FDA. L'un d'entre eux, le Trastuzumab ou Herceptin®, est un des emblèmes des progrès réalisés dans ce domaine. C'est un anticorps monoclonal anti-récepteur HER2 (récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain), destiné au traitement de cancers chez des patients présentant une surexpression de ces récepteurs (HER2). Surexpression participant au processus de division et de développement des cellules cancéreuses. Il a été utilisé avec une grande efficacité dans certaines formes de cancers du sein agressifs et s'adresse aujourd'hui à environ 20 % des femmes atteintes. Chez les femmes opérées, il permet de réduire de moitié le risque de rechute, et pour celles qui ont des métastases, il prolonge la survie et en améliore la qualité. D'autres molécules ciblent le récepteur HER1, le récepteur EGFR (cancer du poumon) ou encore le récepteur 2 (VEGFR2) du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VGEF) dans le cancer gastrique avec comme anticorps, le Ramucirumab (Cyramza®).

3.3.6.2. Les inhibiteurs de protéines kinases

Ces inhibiteurs sont de petites molécules possédant une taille inférieure à celle des anticorps monoclonaux. Elles sont capables de pénétrer à l'intérieur des cellules cancéreuses et d'y neutraliser les enzymes, ici des protéines, responsables de la croissance maligne. Les premiers inhibiteurs développés concernaient les tyrosines kinases.

3.3.6.2.1. Les inhibiteurs des tyrosines kinases

Comme indiqué dans le chapitre 1 (Partie 1), les protéines tyrosine kinases (PTK) régulent entre autres la prolifération, la différenciation et la survie cellulaire et les processus de signalisation dans les cellules saines ou cancéreuses. Ces kinases sont reparties en deux grandes familles qui sont les tyrosines kinases membranaires ou récepteurs à activité tyrosine kinase et les tyrosines kinases intracellulaires (non récepteurs). Une dérégulation de la signalisation de ces récepteurs à activité tyrosine kinase et des tyrosines kinases intracellulaires est à l'origine de réponses inflammatoires et de plusieurs maladies dont le cancer. Aussi, une des stratégies thérapeutiques pour lutter contre ces cancers, consiste à bloquer l'action de ces proto-oncogènes, par inhibition de leur activité tyrosine kinase ainsi que des voies de signalisation qu'elle régule.

Dans le cadre des récepteurs de tyrosines kinases, les médicaments développés (Figure 24) sont spécifiquement dirigés contre les récepteurs des facteurs de croissance, situés à la surface des cellules cancéreuses, dont ils bloquent la fonction. Le premier médicament, chef de file de cette série d'inhibiteurs à être approuvé par la FDA et commercialisé, a été l'Imatinib (Glivec®) contre la leucémie myéloïde avec pour cibles, les facteurs de croissance BCR-ABL, c-KIT et PDGFR. Comme autres exemples de succès thérapeutiques anticancéreux dans cette catégorie, on peut citer le Gefitinib (Iressa®) et l'Erlotinib (Tarceva®), inhibiteurs d'ErbB1 (EGFR) contre le cancer du poumon. Le Lapatinib (Tykerb®), actif contre ErbB1 et ErbB2, après des tests cliniques contre divers cancers solides dont le cancer du sein, a été finalement approuvé pour le traitement de ce dernier. Plus

d'une vingtaine de ces composés sont actuellement commercialisés, dont les derniers en date en 2013.[68]

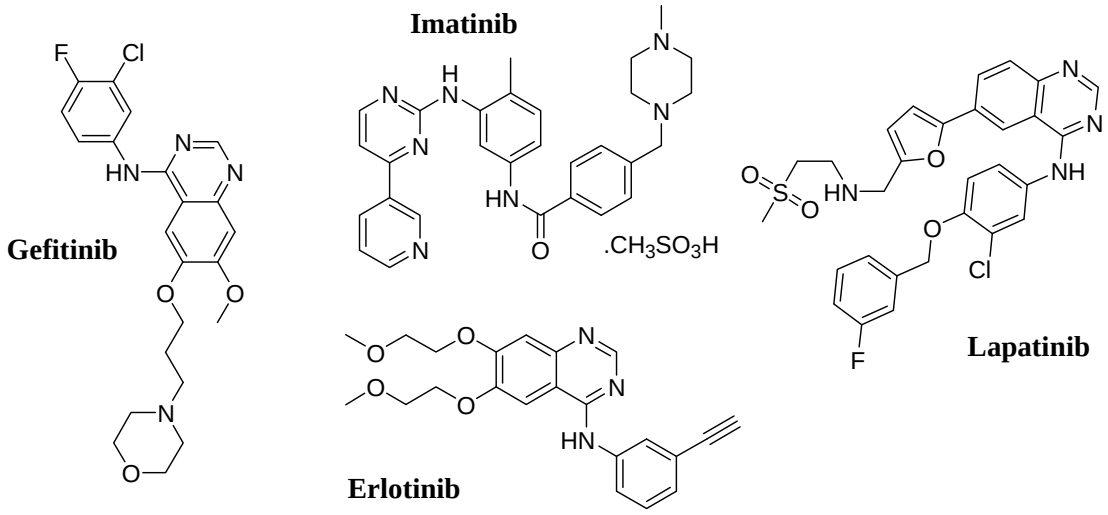


Figure 24: Structures chimiques de quelques inhibiteurs de tyrosines kinases membranaires.

Concernant les tyrosines kinases intracellulaires, leur inhibition bloque certaines voies de signalisation intracellulaires impliquées dans le développement de tumeurs. Le Dasatinib (Sprycel®) et le Bosutinib (Bosulif®) répondent à un tel mécanisme d'action. Ils inhibent l'activité des kinases intracellulaires de la famille SRC. Une des voies impactées par cette activité tyrosine kinase est la PI3 K/AKT/mTOR, fréquemment dérégulée dans les cellules cancéreuses. La Rapamycine est un inhibiteur de la voie mTOR. C'est un antibiotique initialement développé pour ses propriétés immunosuppressives et utilisé pour combattre le rejet après une greffe d'organe.[69] Actuellement, certains de ces analogues à savoir le Temsirolimus (Torisel®) et l'Everolimus (Afinitor®) sont également utilisé en thérapeutique anticancéreuse (Figure 25).

[68] Cariou B., *Médecine des Maladies Métaboliques* **2015**, 9(3), 269-272.
[69] Dreyer C., Raymond É., Faivre S., *Cancéro Digest.* **2009**, *1*(3), 187-189.

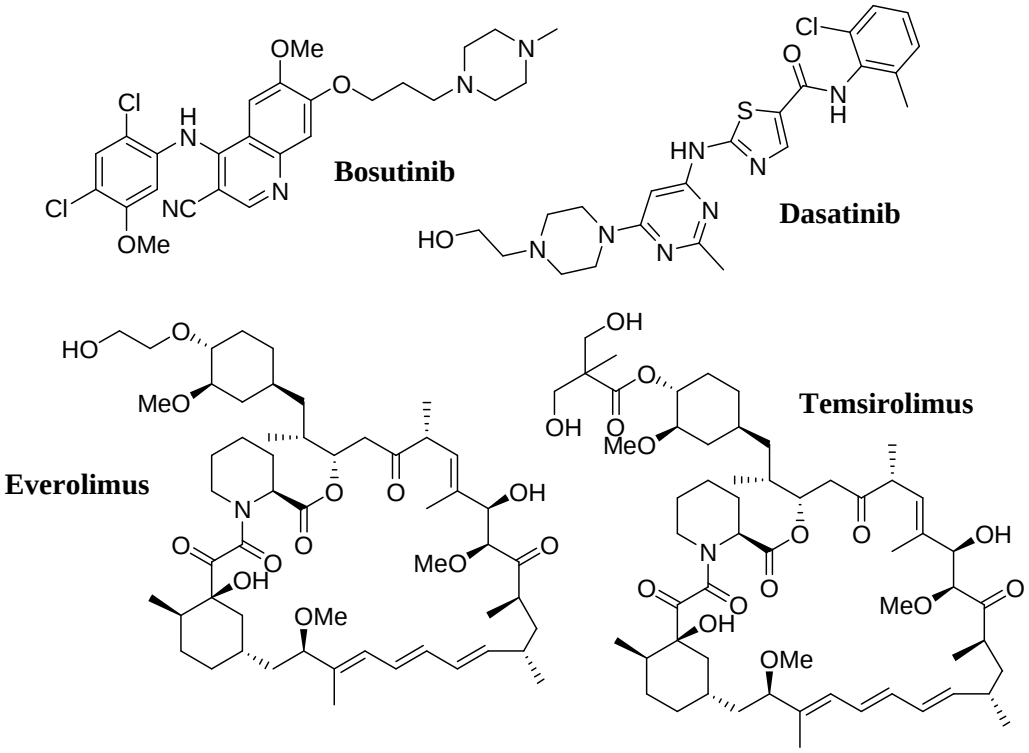


Figure 25: Structures chimiques d'inhibiteurs de tyrosines kinases intracellulaires.

3.3.6.2.2. Les inhibiteurs de sérines/thréonines kinases

Dans le chapitre précédent (*cf.* Partie 1, chapitre 1), nous avons évoqué l'implication de plusieurs sérines/thréonines dans le développement de divers cancers et donné des exemples d'inhibiteurs puissants dont plusieurs sont actuellement en tests cliniques pour le traitement contre le cancer.

3.3.6.3. Les inhibiteurs de l'angiogénèse

L'angiogenèse est l'ensemble des processus qui aboutissent à la formation de nouveaux capillaires sanguins à partir du réseau vasculaire préexistant (néo-vascularisation). Par conséquent, elle participe activement à la croissance tumorale et facilite le processus métastatique. Elle constitue donc une cible intéressante dans la lutte contre le cancer et la stratégie mise en œuvre ici consiste à inhiber l'angiogenèse. Dans la pratique, cette inhibition va arrêter l'approvisionnement en sang, donc en nutriments et oxygène de la tumeur afin de la faire mourir de "faim" (Figure 26).

L'angiogenèse est régulée par divers facteurs naturels pro- et anti-angiogéniques, parmi lesquels le facteur de croissance vasculaire endothélial VEGF (**V**ascular **E**ndothelial **G**rowth **F**actor), la famille du FGF (**F**ibroblast **G**rowth **F**actor), ou encore le facteur de croissance PDGF (**P**latelet **D**erivative **G**rowth **F**actor).

Certains médicaments comme le Bevacizumab (Avastin®) ciblant le VEGF ou encore le Sunitinib (Sutent®) et le Sorafenib (Nexavar®) (Figure 27) ont fait leur preuve dans le traitement de divers cancers dont celui du rein, du côlon, du rectum, du sein.

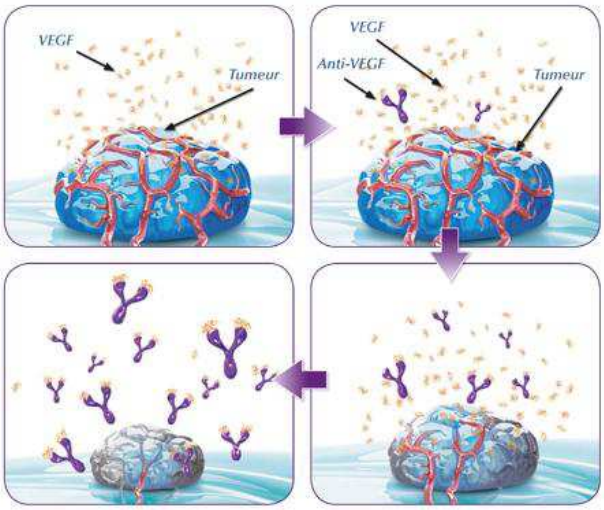
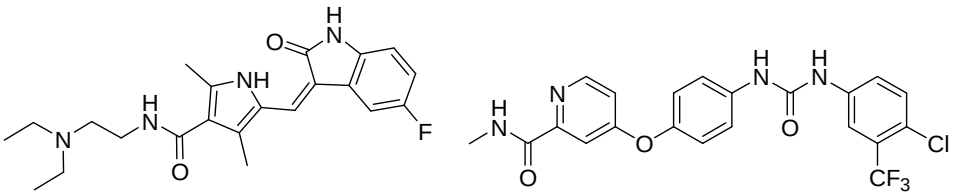


Figure 26: Mécanisme d'action des anti-angiogenèse ciblant le VEGF.[70]



Sunitinib **Sorafenib**

Figure 27: Structures chimiques de deux inhibiteurs de l'angiogenèse.

3.3.6.4. Les nouvelles stratégies thérapeutiques

Les recherches dans la thérapie du cancer sont en constante évolution dans le but de découvrir des traitements toujours plus performants et surtout moins toxiques et donc mieux tolérés par les malades. Plusieurs nouvelles cibles sont ainsi actuellement en test en vue de définir de nouvelles stratégies d'approche ou de développement de nouveaux médicaments.

Vasse et coll. à titre d'exemple, viennent d'identifier une nouvelle cible anti-angiogenèse prometteuse pour le cancer: les tétraspanines.[71] Ce sont des molécules transmembranaires présentes à la surface des cellules endothéliales et dont l'inhibition *in vitro* par des anticorps ou des petits ARN interférents, a mis en exergue l'implication dans l'angiogenèse.

Les nanoparticules, constituent également des agents fortement émergents en oncologie. En effet, utilisés jusqu'à présent comme vecteurs pour certains médicaments anticancéreux, les nanoparticules font actuellement l'objet de nombreux tests dans le cadre d'une nouvelle stratégie en radiothérapie. Il s'agit de les associer (particulièrement les

[70] http://fr.medipedia.be/cancer-ovaire/au-quotidien/cancer-de-lovaire-guerison-recidive-et-chimioresistance consulté le 13-06-2015.

[71] Vasse M., Colin S., Guilmain W., Creoff E., Muraine M., Vannier J.P., Al-Mahmood S., *Ann. Pharm. Fr.* **2015**, *73*(2), 100-107.

nanoparticules d'or ou GNP) aux rayons ionisants afin non seulement d'amplifier mais également de mieux cibler l'action de ces rayons sur la cellule cancéreuse. Une expérience réalisée récemment sur des cellules cancéreuses de rat a montré l'efficacité de cette nouvelle stratégie.[72]

Une autre nouvelle piste pour le traitement du cancer, consiste à inhiber des canaux ioniques, avec des cibles comme les canaux SOCEs (voir chapitre 1) et SK3 pour les cancers du sein et de la prostate ainsi que les cancers hématologiques. Si pour les canaux SOCEs, aucun inhibiteur spécifique n'a actuellement été découvert, concernant SK3, un composé, l'Ohmline (Figure 28), a récemment démontré une capacité d'inhibition efficace et spécifique.[73]

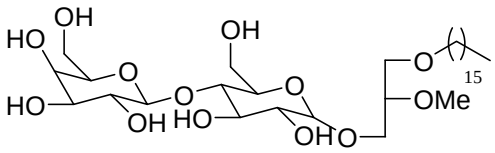


Figure 28: Structure moléculaire de l'Ohmline

[72] Vanpouille-Box C., Lacoeuille F., Belloche C., Lepareur N., Lemaire L., LeJeune J.J., Benoît J.P., Menei P., Couturier O.F., Garcion E., Hindré F., *Biomaterials* **2011**, *32*(28): 6781-90.

[73] Girault A., Haelters J.P., Potier M., Chantôme A., Pineau M., Marionneau-Lambot S., Oullier T., Simon, G., Couthon-Gourvès H., Jaffrès P.A., Joulin V., Corbel B., Bougnoux P., Vandier C., *Curr. Cancer Drug Target*, **2011**, *11*(9), 1111-1125.

CHAPITRE 3:
GÉNÉRALITÉS SUR
LES MICRO-ONDES ET
MATÉRIÉL ET MÉTHODES

I. MÉTHODE DE SYNTHÈSE PAR IRRADIATION MICRO-ONDE (MO)

Les réactions chimiques que nous avons mises en œuvre pour obtenir les molécules cibles recherchées sont faites en plusieurs étapes (réaction multi-étapes). Certaines de ces étapes ont été réalisées à température ambiante, mais la majorité de celles-ci a nécessité une montée en température plus ou moins importante selon le besoin. Deux méthodes de chauffage ont été utilisées, notamment le chauffage classique au bain d'huile de silicone (en ballon ouvert à la température ambiante ou au reflux d'un solvant) et le chauffage par irradiation micro-onde (MO). Si le chauffage au bain d'huile est un procédé de chauffage bien connu et utilisé depuis très longtemps en synthèse organique, la technologie MO, est un procédé novateur, fruit de la recherche de nouveaux procédés avec pour but une amélioration de l'efficacité des synthèses chimiques.

1. Historique

Les propriétés d'activation thermique des MO ont été découvertes grâce à l'avènement des radars militaires pendant la seconde guerre mondiale. À la fin des années 50, des brevets relatifs à ce nouveau mode d'irradiation et à l'appareil (four) mis au point pour sa mise en œuvre vont être déposés, puis publiés en 1952.[1] L'utilisation des MO concerne spécialement les matériaux diélectriques, c'est-à-dire isolants ou mauvais conducteurs d'électricité. Dédiée premièrement à divers usages tels que le séchage (bois), la pasteurisation, ou encore le chauffage des aliments, l'irradiation MO s'est graduellement immiscée dans le domaine scientifique. En 1969, la première synthèse organique, une polymérisation, réalisée à l'aide d'un four MO est mentionnée dans un brevet.[2] Mais c'est à partir de 1986 que cette nouvelle technique de chauffage commence à gagner une notoriété dans le monde académique en synthèse organique grâce aux travaux de Gedye.[3]

L'irradiation MO a ainsi permis de mettre au point de multiples réactions en synthèse organique et constitue aujourd'hui, un procédé de choix largement utilisé. Plusieurs marques de four à MO présentant divers caractéristiques et destinés à des usages bien définis, sont actuellement disponibles sur le marché.

2. Nature et caractéristiques de la micro-onde

Les MO sont des ondes électromagnétiques résultant de la superposition d'un champ magnétique et d'un champ électrique, perpendiculaires l'un par rapport à l'autre et variant de

---

1 a) Spencer P.L., US2605383 A, **1952.** b) Spencer P.L., US2593067 A, **1952**. c) Wild N.R., US2599033 A, **1952.** d) Seifried A.G., Jenkins W.L., US2603741 A, **1952.**

2 Vanderhoff J.W., Mich M., US3432413, **1969**.

3 a) Gedye R., Smith F., Westaway K., Ali H., Baldisera L., Laberge L., Rousell J., *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*(3), 279-282. b) Giguere R.J., Bray T.L., Duncan S.M., Majetich G., *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*(41), 4945-4948.

façon sinusoïdale dans le temps. Cet électromagnétisme provient du mouvement de particules chargées, les charges produisant le champ électrique et le mouvement induisant le champ magnétique. Ces ondes se propagent dans le vide, dans une direction perpendiculaire aux plans contenant les deux champs (magnétique et électrique) les composant, à la vitesse de la lumière ($c = 2{,}99.10^8$ $m.s^{-1}$) (Figure 1).

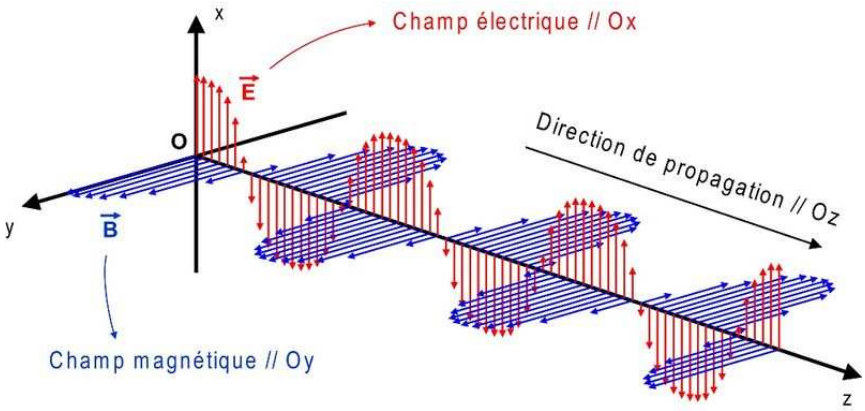


Figure 1: Propagation d'une onde électromagnétique.[4]

Les fréquences attribuées aux MO ont été définies par les autorités de régulation, afin d'éviter les interférences avec les télécommunications, les équipements militaires et navals.[5] Les fréquences MO autorisées pour les équipements domestiques, industriels, scientifiques (recherche) et médicaux (fréquences ISM), sont en général de 915 MHz (33 cm) et 2,45 GHz (12,2 cm).[5] Ces fréquences sont comprises entre 10^8 Hz pour les ondes radios et 10^{12} Hz pour l'infrarouge (Figure 2). Les irradiations MO ne sont pas ionisantes, donc pas directement dangereuses pour l'homme, mis à part l'effet thermique.

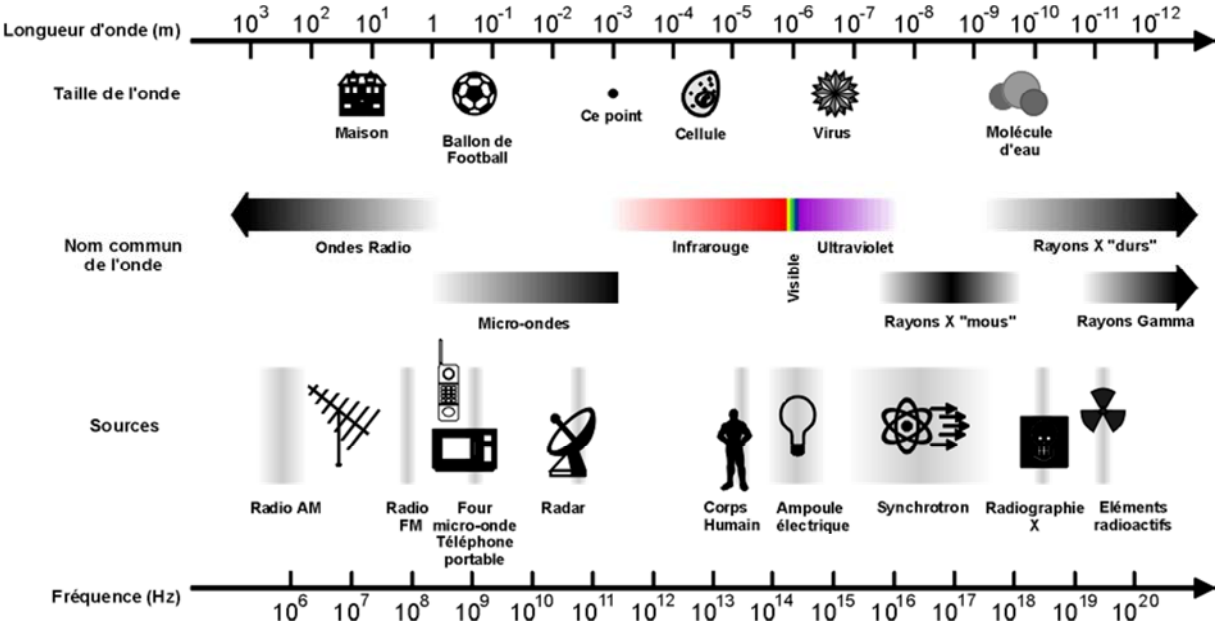


Figure 2: Longueurs d'ondes et fréquences associées.[6]

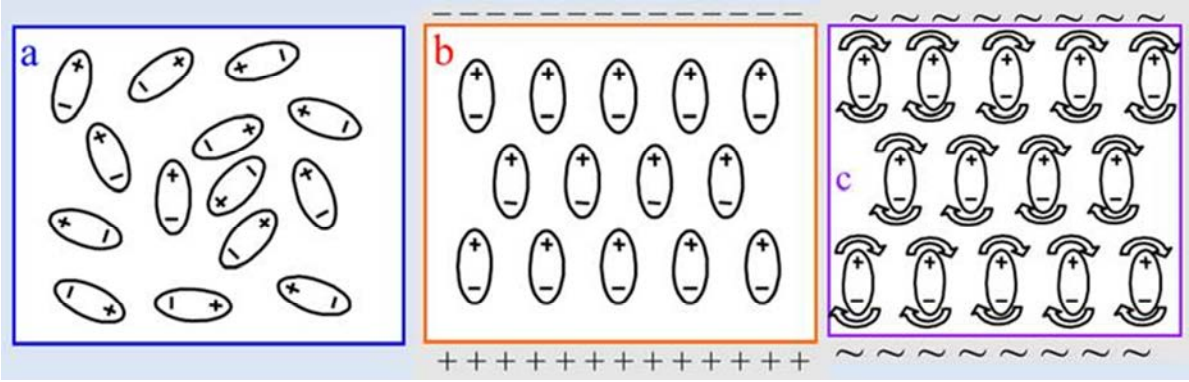
4 http://physiquelumiere.canalblog.com/archives/2010/09/28/16061336.html consulté le 21-07-2015.

5 Will, H.; Scholz, P., Ondruschka, B., *Chem. Engineer. Technol.* **2004**, *27* (2), 113-122.

6 http://www.polytech-lille.fr/cours-transistor-effet-champ/hyper/hyperc1.htm consulté 21-07-2015.

3. Principe du chauffage et différents modes d'irradiation

Le champ électrique MO est la source du chauffage de certaines matrices telles que des composés chimiques liquides ou solides, comme dans notre cas. Plus précisément, l'élévation de température observée est due à l'interaction onde-matière. Cette interaction d'un champ électrique avec un matériau diélectrique a son origine dans la réponse des charges des particules face au champ appliqué. En effet, le caractère alternatif du champ électromagnétique permet de faire basculer les molécules. Cette phase de basculement est alternée avec une phase de relaxation. L'échauffement résultant de ce phénomène de polarisation, est dû au retard de relaxation par rapport à la fréquence de basculement. Les molécules du milieu avant irradiation sont orientées individuellement dans différentes directions, donc de façon aléatoire. Lors de l'irradiation MO en champ alternatif, ces molécules (polaires) changent d'orientation à chaque alternance du champ, ce qui engendre de nombreuses collisions et frictions, qui sont à l'origine de la montée en température (Figure 3).



a) Absence de champ électromagnétique: les dipôles s'orientent de façon aléatoire;
b) Champ électromagnétique continu: les dipôles s'orientent dans le sens du champ;
c) Champ électromagnétique alternatif: les dipôles changent d'orientation à chaque alternance du champ.

Figure 3: Polarisation des molécules dipolaires sous l'action d'un champ électromagnétique.

Le mode d'irradiation dépend du type d'applicateur concerné. Un applicateur MO est le dispositif permettant de diffuser les ondes électromagnétiques produites par le magnétron vers l'échantillon à irradier. On distingue ainsi deux types d'applicateurs: le monomode et le multimode. Le monomode permet un seul mode de propagation de l'onde et donc une irradiation homogène et focalisée sur l'échantillon, tandis qu'avec le multimode, cette irradiation est aléatoire et non homogène. En outre avec le monomode, la puissance de l'onde émise par le magnétron correspond effectivement à la puissance souhaitée par l'utilisateur.

4. Quelques avantages des MO

L'un des principaux avantages du MO réside dans son mode de chauffage. En effet, au cours d'un chauffage classique au bain d'huile, la montée en température est fortement dépendante de la conductivité thermique du matériel car le transfert de chaleur se fait des

parois vers le milieu réactionnel. C'est un transfert lent et répondant à une diffusion thermique inégale, donc peu efficace (Figure 4). Dans le cas d'un chauffage au MO en revanche, la montée en température se fait directement au cœur de la matière (collisions et frictions entre molécules polaires sous l'effet du champ électromagnétique), avant de se répandre à toute la masse réactionnelle et aux parois (Figure 4). Le chauffage ici est rapide et homogène, ce qui permet un appréciable gain de temps. En outre, il est possible avec ce mode d'irradiation, de contrôler la puissance reçue. Les autres avantages sont entre autres, une automatisation, une meilleure pureté des composés finaux, un meilleur rendement. Avec les réacteurs MO, il a été également possible de réaliser des réactions sans solvant, permettant ainsi de réduire la production de polluants et déchets et donc les risques pour la santé et l'environnement, mais également d'économiser la quantité de matière première et d'énergie. Cette technique MO novatrice répond donc à plusieurs critères de la "chimie propre ou verte", s'inscrivant ainsi dans une dynamique de développement durable.

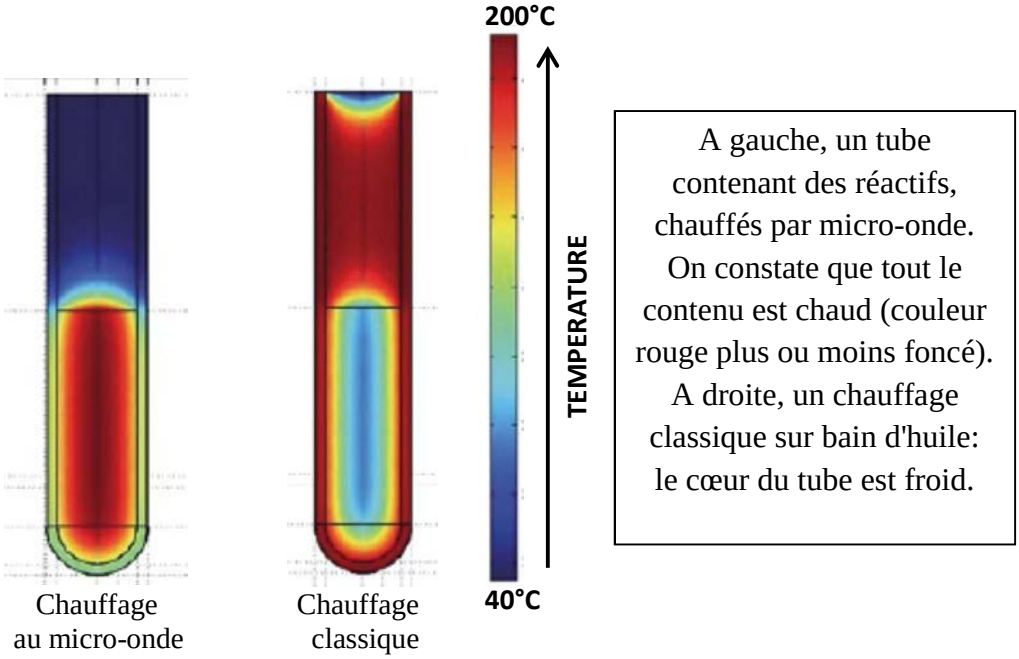


Figure 4: Chauffage classique et chauffage micro-onde.[7]

II. MATÉRIEL

1. Synthèse

1.1. Fours micro-ondes

1.1.1. Anton Paar Monowave® 300

[7] a) Kappe C.O., Pieber B., Dallinger D., *Angew. Chemie Inter. Edition* **2013**, *52*(4), 1088-1094.
b) http://pourquoilecielestbleu.cafe-sciences.org/articles/il-ny-a-pas-deffets-non-thermiques-des-micro-ondes/ consulté le 21-07-2015.

Pour la majorité des synthèses assistées par micro-onde que nous avons réalisées, nous avons eu recours à un four Monowave® 300 de marque Anton Paar (applicateur monomode). Il y a deux types de réacteurs (verre de borosilicate) cylindriques adaptés à ce four, d'une contenance de 10 mL et de 30 mL avec comme dimensions respectivement 2,2 cm x 9,4 cm et 3,2 cm x 9,4 cm. Les réactions se font en mode fermé et les réacteurs sont munis d'une capsule de fermeture. La montée en température se fait graduellement *via* une rampe de montée en température dont la durée est fixée par l'utilisateur et la réaction se déroule sous une agitation de 800 rpm (rotation par minute). Ce four est équipé d'un capteur infrarouge afin de contrôler la température dont la valeur maximale est de 300°C et la puissance est comprise entre 0 et 850 W. La température est ramenée à 55°C à la fin de l'irradiation (réaction) par le biais d'un flux d'air comprimé. La pression à l'intérieur du four est fonction de la température et de la puissance requises par l'utilisateur. Les réglages pour l'utilisation et le pilotage se font *via* un logiciel intégré à l'appareil.

1.1.2. Explorer 24 CEM® microwave reactor

Ce type de four ou réacteur micro-onde est livré avec des réacteurs cylindriques en verre de borosilicate de 10 mL, cependant il a la particularité contrairement au four Anton Paar, de pouvoir être utilisé avec de la verrerie classique (ballon ou bicol à fond rond surmonté d'un réfrigérant). Il est également possible de réaliser des réactions en mode ouvert à pression atmosphérique et dans ce cas le réacteur (avec son milieu de réaction) reste "ouvert". En mode fermé, la réaction est menée sous une pression comprise entre 0 et 20 bars et le réacteur est alors fermé par sertissage avec une capsule hermétique. La température est contrôlée par un capteur infrarouge et peut monter jusqu'à 250°C ou pour les temps de réactions courts, jusqu'à 300°C. La puissance appliquée peut varier de 0 à 300W et à la fin de la réaction, le réacteur est refroidi jusqu'à 50°C par un flux d'air comprimé. L'appareil est piloté *via* un logiciel (Synergy) à partir d'un ordinateur et est également muni d'un passeur d'échantillons, l'applicateur ici estt également un monomode.

1.2. Autres matériels participant à la synthèse

- Chromatographie sur couche mince (CCM):
  Le suivi de l'évolution des réactions est le plus souvent mené par CCM. Pour ce suivi réactionnel, nous avons utilisé des plaques de silice Merck 60 F254 sur support d'aluminium et ces dernières ont été interprétées par révélation grâce à une lampe UV Fischer Bioblock Scientific® à une longueur d'onde de 254 nm.

- Evaporation des solvants et séchage des produits:
  Les solvants sont éliminés soit avec un évaporateur rotatif de marque BUCHI (GROSSERON-France) couplé à une pompe à membranes (munie d'un régulateur de pression) de marque KNF Neuberger ou grâce à une rampe à vide *via* une pompe à

palettes Edwards RV5 (LEROY SOMER). Certains produits ont également été séchés dans une étuve de marque MEMMERT (GROSSERON-France) à 60°C.

- Réactifs et solvants:
  Les réactifs et les solvants sont tous d'une pureté requise pour la synthèse et proviennent de divers fournisseurs référencés par le Magasin Chimie de notre établissement (Aldrich, Acros, Prolabo, etc.). Certains solvants utilisés sont de qualité HPLC ou "pa". Certaines réactions ont été menées sous atmosphère inerte (avec flux d'argon). Ces différentes précisions sont données le cas échéant dans le mode opératoire (partie expérimentale).

2. Chromatographie

- Certains composés ont nécessité une purification ultérieure par chromatographie préparative à faible pression (CPFP). Elle a été réalisée avec un appareil Combi Flash *Rf* 200 psi de marque TELEDYNE ISCO (Serlabo Technologies France) sur des colonnes de gel de silice de marque Interchim Puriflash 60 25UM prêtes à l'emploi (pré-remplies). La détection s'est faite à l'aide d'un détecteur DAD UV/Vis 200-360 nm à un seuil d'absorption de 0,05.

- Nous avons également eu recours à la chromatographie chirale en phase liquide, afin de vérifier la pureté optique de diastéréoisomères et d'énantiomères isolés, et ce à l'aide d'une chaîne chromatographique du type HPLC VARIAN Prep Star 218 équipée d'un détecteur à barrette de diodes VARIAN Pro Star. La phase stationnaire est la cellulose (tris(4-méthylbenzoate)) sur gel de silice 10µm et des précisions sur les colonnes utilisées, l'éluant, le débit, etc., seront données dans la partie expérimentale pour chaque composé.

3. Analyses

- *Résonance magnétique nucléaire (RMN):*
  Les analyses RMN ont été réalisées à l'aide d'un appareil BRUKER AVANCE 300 MHz, muni d'un passeur d'échantillons et d'une sonde directe large bande (accordable) 5 mm, à des fréquences bien définies pour chaque type d'expérience à savoir 300,13 MHz pour le proton (^{1}H), 282,35 MHz pour le fluor (^{19}F) et 75,48 MHz pour les carbone (^{13}C). Ces différentes fréquences seront arrondies à l'unité, dans les différentes parties expérimentales, à savoir respectivement 300MHz, 282 MHz et 75 MHz. Les différents déplacements chimiques sont exprimés en parties par million (ppm) par rapport au tétraméthylsilane (TMS). Les constantes de couplage *J* sont exprimées en Hertz (Hz) et les multiplicités des signaux sont décrites par diverses abréviations à savoir m (multiplet), s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), qt (quintuplet), dd (doublet de doublet), dt (doublet de triplet). Pour interpréter les

spectres RMN obtenus, nous avons eu recours au logiciel MestReNova dans sa version 10.0.1.

- *Spectrométrie de masse:*
  Les analyses de spectrométrie de masse en haute résolution ont été réalisées au Centre Régional de Mesures Physiques de l'Ouest (CRMPO) à l'aide de deux spectromètres de masse équipés d'une source électrospray: un Waters Q-Tof 2 muni de deux quadrupôles et d'un analyseur orthogonal à temps de Vol et équipé; et un THERMO FISHER SCIENTIFIC Q-Exactive "Orbitrap" possédant un détecteur et un analyseur de type "orbitrap" et équipé d'un quadrupôle permettant une sélection des ions dans le cadre de spectres de fragmentation MSMS.

- *Diffractométrie:*
  Elle a servi à confirmer la structure de certains composés et a été réalisée au Centre de Diffractométrie X de l'Institut des Sciences Chimiques de Rennes. Toutes les structures cristallines ont été obtenues par diffraction de rayons X sur monocristal. Après sélection d'un cristal à l'aide d'un microscope binoculaire (Leica MZ16) équipé d'un polariseur/analyseur pour s'assurer du caractère monocristallin, et montage sur une boucle en nylon, celui-ci a été monté à basse température (150K) sur une tête goniométrique. Les données de diffraction ont été enregistrées à la longueur d'onde du molybdène (l=0,71073 Å) à l'aide d'un diffractomètre APEXII de type Bruker AXS équipé d'un détecteur bidimensionnel. Après intégration des intensités intégrées à l'aide du programme SAINT V7.68A (Bruker AXS, 2013), la réduction des données a été réalisée en utilisant le programme de mise à l'échelle et de correction d'absorption de type multiscan SADABS (Bruker AXS) intégré dans la suite de programme APEX2 Bruker. Les structures cristallographiques ont été résolues par méthodes directes à l'aide du programme SIR97[8] et ensuite affinées à l'aide du programme SHELXL[9].

- *Pouvoir rotatoire:*
  Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur un polarimètre Perkin Elmer modèle 341. Ils sont exprimés pour une longueur d'onde correspondant à la raie du sodium (589 nm), selon la loi de Biot suivante:

$$\alpha_{Lu} = [\alpha]_D \cdot l \cdot c$$

α_{Lu} = Angle de rotation observée

$[\alpha]_D$ = Pouvoir rotatoire absolu

l = Longueur du chemin optique (1 dm)

c = Concentration de l'échantillon ($g.mL^{-1}$)

[8] Altomare A., Burla M. C., Camalli M., Cascarano G., Giacovazzo C., Guagliardi A., Moliterni A. G. G., Polidori G., Spagna R., *J. Appl. Cryst.* **1999**, *32*, 115-119.

[9] Sheldrick G.M., *Acta Cryst*. **2008**, A64, 112-122.

4. Point de fusion et schémas

Les points de fusions (F) ont été mesurés sur un banc Kofler Leica VMBH en degrés Celsius (°C). Pour les tests biologiques, la lipophilie (log P) des molécules a été obtenue à partir des logiciels ChemDraw Ultra 7.0 et ChemBioDraw 14, ces derniers ont également servi à dessiner les structures des différents composés présentés dans ce document.

5. Tests biologiques

Nos composés ont été testés sur trois cibles biologiques à savoir les kinases, les cellules cancéreuses et les canaux SOCEs. Les informations sur les méthodologies mises en œuvre pour chacun de ces tests ainsi que l'appareillage seront fournies dans le chapitre dédié aux études biologiques (voir Partie 2, Chapitre 4).

PARTIE 2:
TRAVAUX RÉALISÉS

CHAPITRE 1:

SYNTHÈSE DE 5-ARYLIDÈNES RHODANINES

Introduction

La chimie des hétérocycles occupe une place de choix dans la synthèse organique à visée thérapeutique. Les hétérocycles à cinq chaînons en particulier sont récurrents et omniprésents dans la structure de plusieurs médicaments ou de multitudes de composés actuellement en tests cliniques contre diverses pathologies comme le cancer, la maladie d'Alzheimer, etc. (*cf.* Partie 1, Chapitres 1 et 2). Ainsi certains de ces cycles à cinq chaînons tels que les thiohydantoïnes, rhodanines, hydantoïnes et thiazolidinediones constituent un ensemble de plateformes intéressantes et leurs dérivés fonctionnalisés exhibent de nombreuses propriétés pharmacologiques. Ces plateformes sont considérées comme des motifs privilégiés en chimie médicinale.[1] Les rhodanines en général et les 5-arylidène rhodanines en particulier, sont depuis plusieurs années, au centre de plusieurs sujets d'études développés au sein de notre laboratoire.

I. GÉNÉRALITÉS SUR LES RHODANINES

1. Intérêt thérapeutique des 5-arylidènes rhodanines

Les composés dérivés des 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones ou 5-arylidène rhodanines, tout comme plusieurs autres dérivés des rhodanines, présentent un large panel d'activités biologiques.[2]

Certains de ces dérivés (Figure 1) se sont effectivement révélés être des inhibiteurs de diverses cibles impliquées dans certains processus pathologiques, parmi lesquelles:

- Le PRL-3[3], un gène lié à la métastase: inhibition par des dérivés benzylidène-rhodanines (Figure 1, Composés R1).
- Le DDX3[4], impliqué dans la réplication du VIH (Figure 1, Composés R2). Des dérivés de 5-arylidène rhodanines ont également inhibé à des concentrations de l'ordre du micromolaire, la réplication du VIH dans les cellules MT-4 et ce, avec une appréciable sélectivité, les positionnant ainsi comme de bons pharmocophores pour le développement de nouveaux inhibiteurs de l'intégrase VIH-1 (Figure 1, Composés R3).[5]

---

1 Mentgen T., Steuer C., Klein, C.D., *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 743–753.

2 Masic L.P.; Tomasic T., *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 1596–1629.

3 Ahn J.H., Kim S.J., Park W.S., Cho S.Y., Du Ha J., Kim S.S., Kang S.K., Jeong D.G., Jung S.-K., Lee S.-H., Kim H.M., Park S.K., Lee K.H., Lee C.W., Ryu S.E., Choi, J. K., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*(11), 2996-2999.

4 Maga G.; Falchi F.; Garbelli A.; Belfiore A.; Witvrow M.; Manetti F.; Botta M., *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 6635-6638.

5 Rinaldi M.; Tintori C.; Franchi L.; Vignaroli G.; Innitzer A.; Massa S.; Esté J.A.; Gonzalo E.; Christ F.; Debyser Z.; Botta M., *Chem. Med. Chem.* **2011**, *6*, 343-352.

- Un membre atypique de la famille des dual-specificity phosphatase (DSP), JNK-stimulating phosphatase-1 (JSP-1), à travers une activité inhibitrice puissante et sélective, leur conférant une activité anti-inflammatoire et antiprolifératives.[6]
- La CEase (pancreatic cholesterol esterase)[7], une enzyme impliquée dans l'hydrolyse d'une variété de lipides et le transport du cholestérol libre[8], avec des CI_{50} variant de 1,44 à 85 µM.
- La D-glutamic acid-base *Escherichia coli* MurD[9], une enzyme indispensable à la biosynthèse intracellulaire des peptidoglycanes, désignant les dérivés 5-benzylidènethiazolidin-4-ones concernés comme de potentiels nouveaux antibactériens pour la lutte contre la résistance bactérienne (Figure 1, Composés R4).

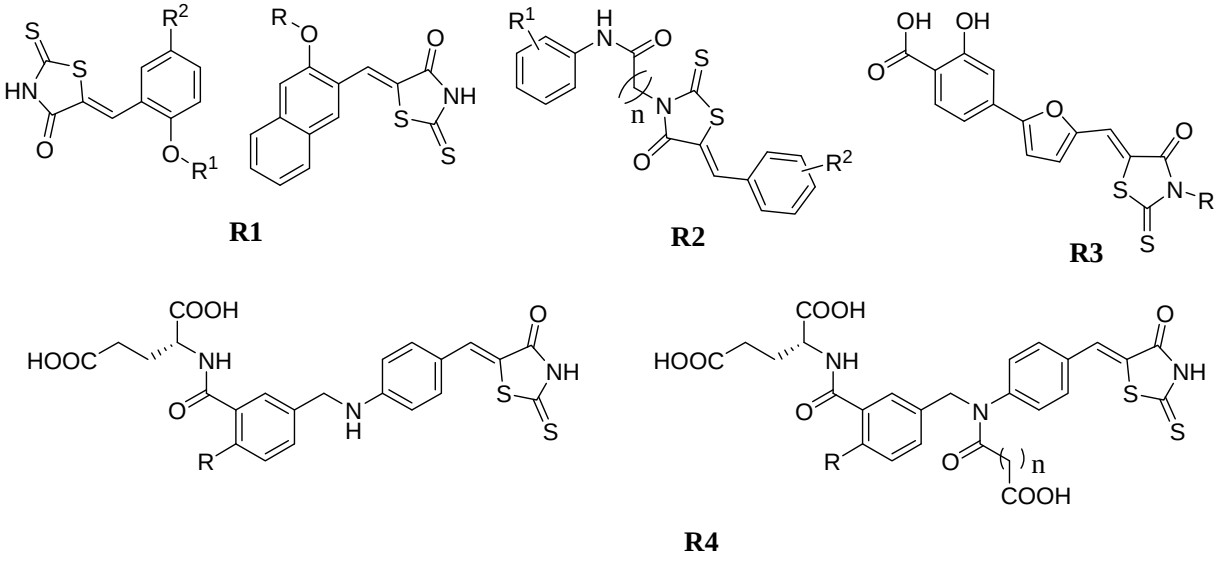


Figure 1: Structures chimiques des 5-arylidène rhodanines inhibant certains processus pathologiques.

Certains dérivés de rhodanines ont également montré une activité antivirale vis-à-vis du virus (LR2006_OPY1) du Chikungunya[10] (Figure 2, Composés R5). La malaria est une maladie parasitaire contre laquelle ces composés seraient également efficaces.[11] En effet, plusieurs dérivés 5-benzylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones testés, ont montré à des concentrations de l'ordre du nanomolaire, une bonne capacité d'inhibition de la PfENR (*Plasmodium falciparum* enoyl ACP reductase), une enzyme capitale dans la biosynthèse des acides chez le parasite. L'inhibiteur le plus puissant de cette série (Figure 2, Composé R6), avec une CI_{50} de 35,6 nM pour la PfENR, inhibe la croissance du parasite (*P. falciparum)* au niveau des globules rouges des cellules en culture avec une CI_{50} de 750 nM. En outre, une nouvelle classe d'hybrides dérivés de 4-aminoquinoline–rhodanines a exhibé une excellente

6 Cutshall N.S.; O'Day C.; Prezhdo M., *Bioorg. Med. Chem. Lett*. **2005**, *15*, 3374-3382.
7 John S., Thangapandian S., Sakkiah S., Lee K.W., *J. Enzyme Inhibition Med. Chem.* **2011**, *26*(4), 535-545
8 El-Kabbani M.; Ruiz F.; Darmanim C.; Chung R.P.T., *Cell. Mol. Life Sci*. **2004**, *61*, 750-752.
9 Tomašić T.; Zidar N.; Šink R.; Kovač A.; Blanot D.; Contreras-Martel C.; Dessen A.; Müller-Premru M.; Zega A.; Gobec S.; Kikelj D., Mašič L.P., *J. Med. Chem*. **2011**, *54*, 4600-4610.
10 Jadav S.S.; Sinha B.N.; Hilgenfeld R.; Pastorino B.; de Lamballerie X.; Jayaprakash V., *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *89*, 172-178.
11 Kumar G., Parasuraman P., Sharma S.K., Banerjee T., Karmodiya K., Surolia N., Surolia A., *J. med. chem.* **2007**, *50*(11), 2665-2675.

activité antiplasmodiale vis-à-vis des souches chloroquinorésistantes (K1) de *P. falciparum*, avec des CI_{50} variant de 13,2 à 45,5 nM (Figure 2, Composés R7).[12]

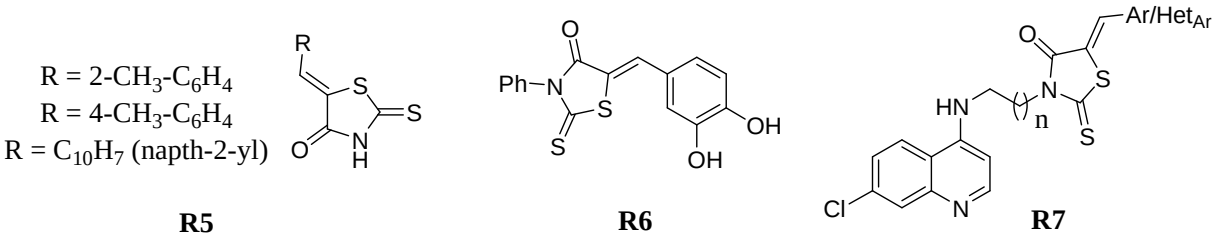


Figure 2: Structure moléculaire de 5-arylidene-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones à activité antivirale (chikungunya) et antiplasmodiale.

Dans la littérature, des dérivés de 5-arylidene-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones (Figure 3, Composés R8) ont également été décrits comme ayant un impact sur la maladie d'Alzheimer, notamment en tant qu'inhibiteurs de la formation des fibrilles polypeptides amyloïdes[*13] et de l'agrégation de la protéine tau[14] ou la régulation de l'immuno-réactivité de la Cathepsin D.[15] Johnson et coll., ont montré que les dérivés 5-arylidène rhodanines (Figure 3, Composés R9) pouvaient également inhiber de manière sélective des toxines bactériennes, à savoir les protéases du facteur létal de l'anthrax[*] et la neurotoxine botulique[*] de type A.[16] Des propriétés antioxydantes proches de celles du BHT (90,8% d'inhibition pour le Composé R10, Figure 3, contre 93,6% pour le BHT), ainsi qu'une bonne activité antimicrobienne ont été mises en évidence pour des dérivés 5-arylidène rhodanines renfermant des fragments 5-acylidène et 5-amino.[17]

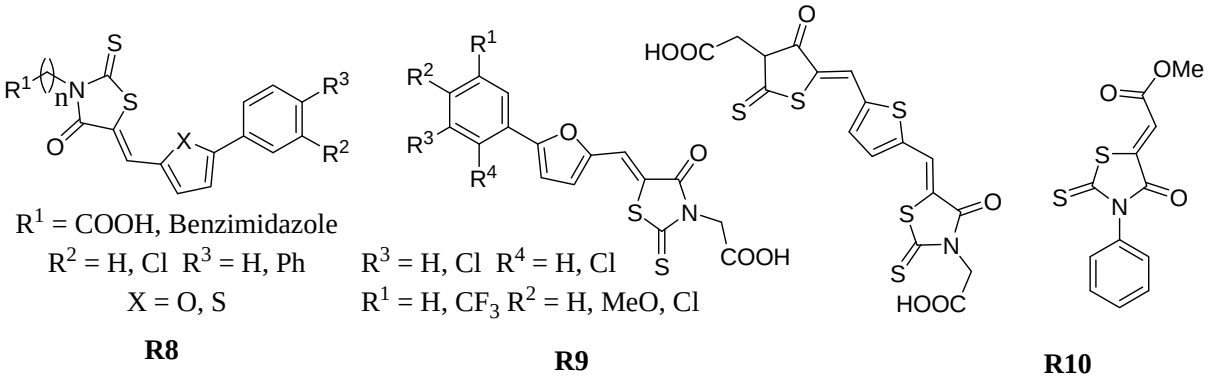


Figure 3: Dérivés 5-arylidène rhodanines exhibant diverses activités biologiques

Bien que manifestant un large spectre d'activités biologiques, les rhodanines sont encore l'objet de controverse. En chimie thérapeutique en effet, des auteurs émettent des réserves sur l'efficacité de ce fragment du fait entre autres, d'une faible sélectivité et des

---

12 Chauhan K., Sharma M., Saxena J., Singh S.V., Trivedi P., Srivastava K., Purib S.K., Saxenac J.K., Chaturvedid V., Chauhan, P.M., *Eur. J. med. chem.* **2013**, *62*, 693-704.

13 Bulic B.; Pickhardt M.; Schmidt B.; Mandelkow E.M.; Waldmann H.; Mandelkow E., *Angew. Chem. Int. Ed*. **2009**, *48*, 1740-1752.

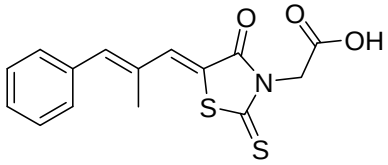
14 Strittmatter T.; Bareth B.; Immel T.A.; Huhn T.; Mayer T.U.; Marx A., *Chem. Biol*. **2011**, *6*, 314–319.

15 Bulic B.; Pickhardt M.; Schmidt B.; Mandelkow E.M., *Neuropharm.* **2010**, *59*, 276–289.

16 Johnson S.L., Chen L.H., Harbach R., Sabet M., Savinov A., Cotton N.J., Strongin A., Guiney D., Pellecchia M., *Chem. Boil. & Drug Design* **2008**, *71*(2), 131-139.

17 Üngören Ş.H., Albayrak S., Günay A., Yurtseven L., Yurttaş N., *Tetrah.* **2015**, *71*(25), 4312-4323.

difficultés d'optimisation d'un éventuel candidat médicament.[18] Un autre élément militant contre les dérivés rhodanines est l'insuffisance de médicaments commercialisés renfermant ledit fragment et ce, malgré les nombreuses études réalisées sur ces composés depuis plusieurs dizaines d'années. À ce jour, le seul dérivé 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones (Figure 4) utilisé actuellement en thérapeutique est l'Epalrestat[19], commercialisé dans certains pays d'Asie tels que le Japon, pour le traitement du diabète.



Epalrestat

Figure 4: Structure moléculaire de l'Epalrestat

Au regard de nombreux travaux régulièrement publiés, des auteurs considèrent cependant, le fragment 2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one (rhodanine) comme un motif privilégié pour la recherche de nouvelles drogues médicamenteuses potentielles. L'une des raisons de cet intérêt réside dans la forte affinité de ce fragment pour divers cibles thérapeutiques, laquelle permet l'identification rapide et fréquente de "hits" au cours des campagnes de screening biologique.[18a]

2. Voies de synthèse des dérivés de 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones

2.1. Condensation de Knoevenagel

Les 5-arylidène rhodanines sont communément préparées par condensation de Knoevenagel d'un aldéhyde aromatique avec soit une rhodanine non substituée commerciale, soit une rhodanine substituée en position N-3 (Schéma 1).[20] Ce type de condensation s'effectue au niveau du site nucléophile constitué par le méthylène actif, en position C-5 dans le cas de la rhodanine. C'est une réaction qui nécessite généralement l'usage d'un catalyseur basique. Elle est réalisée en présence d'un solvant, et nécessite généralement une élévation de température. Si le principe de la réaction reste le même, les modes opératoires mis en œuvre sont variés (Tableau 1).[21]

---

18 a) Tomašic T., Peterlin Mašic L., *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, *7*(7), 549-560 b) Baell J. B., Holloway G.A., *J. Med. Chem.* **2010**, *53*(7), 2719-2740.

19 a) Ramirez M.A., Borja N.L., *Pharmacother.: J. Hum. Pharmacol.Drug Ther.* **2008**, *28*(5), 646-655 b) Hotta N., Akanuma Y., Kawamori R., Matsuoka K., Oka Y., Shichiri M., Toyota T., Nakashima M., Yoshimura I., Sakamoto N., Shigeta Y., *Diabetes care* **2006**, *29*(7), 1538-1544.

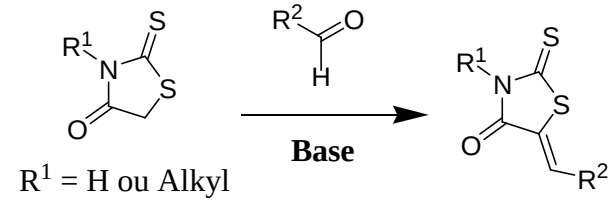
20 a) Ohishi Y.; Mukai T.; Nagahara M.; Yajima M.; Kajikawa N.; Miyahara K.; Takano T., *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 1911-1919. b) Grant E.B.; Guiadeen D.; Baum E.Z.; Foleno B.D.; Jin H.; Montenegro D.A.; Nelson E.A.; Bush K.; Hlasta D.J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 2179-2182.

21 a) Murugan R., Anbazhagan S., Narayanan S.S., *Eur. J. med. chem.* **2009**, *44*(8), 3272-3279 b) Lohray B. B.; Bhushan V.; Rao P.B.; Madhavan G.R.; Murali N.; Rao K.N.; Reddy K.A.; Rajesh B.M; Reddy P.G.; Chakrabarti R.; Rajagopalan R., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 785-788 c) Vicini P.; Geronikaki A.; Anastasia K.; Incerti M.; Zani F., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3859-3864 d) Song Y.; Connor D.T.;

Tableau 1: Quelques exemples de conditions opératoires de mise en œuvre de la condensation de Knoevenagel.

Solvant	Catalyseur	T (°C)	Durée
EtOH	Benzoate de pipéridinium	reflux	-
AcOH glacial	AcONa	reflux	4 h
PhMe	Pipéridine	reflux	3 h
AcOH glacial	AcONa	reflux, sous Ar	16
MeOH	AcONa	65 / TA	25 min / 6 h

La réaction de condensation entre la rhodanine et l'aldéhyde conduisant au 5-arylidène rhodanine, peut également être réalisée sous irradiation à l'aide d'un four micro-onde. Certains auteurs ont utilisé comme catalyseur, des bases inorganiques et minérales, Al_2O_3 ou K_2SO_3[22], montmorillonite KSF[23] ou encore du TBAB (Bromure de tétrabuthylammonium)[24].



R^1 = H ou Alkyl

Schéma 1: Chemin réactionnel général d'obtention des 5-arylidène rhodanines par condensation de Knoevenagel.

2.2. Voies de synthèse des rhodanines substituées en *N*-3

Comme précédemment indiqué, l'obtention des dérivés 5-arylidène rhodanines par condensation de Knoevenagel, nécessite une rhodanine non substituée ou substitué en position *N*-3, comme réactif précurseur. Dans la littérature, plusieurs méthodes de synthèse de ce précurseur ont été décrites.

Doubleday R.; Sorenson R.J.; Sercel A.; Unangst P.C.; Roth B.D.; Gilbertsen R.B.; Chan K.; Schrier D.J.; Guglietta A.; Bornemeier D.A.; Dyer R.D, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1151-1160. e) Powers J.P.; Piper D.E.; Li Y.; Mayorga V.; Anzola J.; Chen J.M.; Jaen J.C.; Lee G.; Liu J.; Peterson M.G.; Tonn G.R.; Ye Q.Y.; Walker N.P.C.; Wang Z., *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1034-1046.

22 Zhang M.; Wang C.D.; Yu S.L.; Tian Z.B.; Zhang L., Chen Z.J., *Chem. Res. Chin. Univ.* **1994**, *15*, 1647-1650.

23 Alloum A.B.; Bakkas S.; Bougrin K.; Soufiaoui M., *New. J. Chem.* **1998**, *22*, 809-812.

24 Zhou J.F., Zhu F.X., Song Y.Z., Zhu Y.L., *Arkivoc* **2006**, *14*, 175-180.

2.2.1. Route de la thio-urée

Cette voie réactionnelle[25] se fait en deux étapes (Schéma 2). La première consiste en la réaction d'une amine avec le thiocarbonyldiimidazole ($Im_2C=S$)[26] en présence de triéthylamine. Au cours de la réaction, l'imidazole est éliminé et la thio-urée (produit intermédiaire) est formée. Cette dernière réagit ensuite avec le thioglycolate de méthyle pour donner naissance à une rhodanine par cyclisation spontanée après élimination d'imidazole.

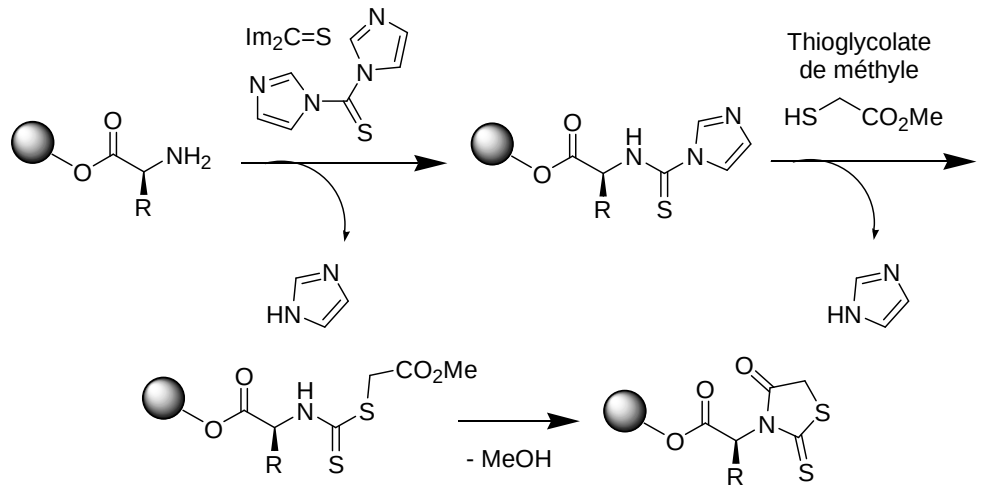


Schéma 2: Voie de synthèse de rhodanine par l'intermédiaire d'une thio-urée.

2.2.2. Voie de l'éthylxanthogénate

L'alkylrhodanine dans ce cas, est obtenue par réaction d'une chloroacétamide avec l'éthylxanthogénate de sodium en présence de CS_2 et de *tertio*-butylate de sodium (Schéma 3).[27]

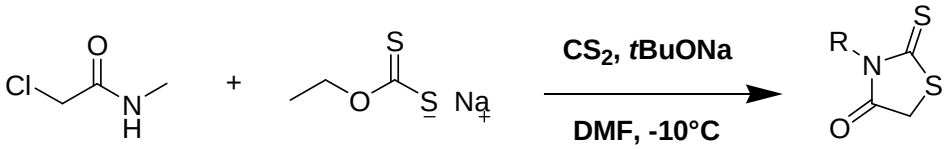


Schéma 3: Synthèse de rhodanines à partir de l'éthylxanthogénate de sodium.

2.2.3. Voie du *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate

Yarovenko et coll. pour l'obtention des rhodanines *N*-substituées ont fait réagir le *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate avec soit des amines, des hydrazides ou encore des acides thiohydrazides en présence de 1,1'-carbonyldiimidazole ou CDI (Schéma 4).[28]

---

[25] Lee C.L., Sim M.M., *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*(30), 5729-5732.
[26] Munson M.C.; Cook A.W.; Josey J.A.; Rao C., *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 7223-7226.
[27] Solling W., Friedmann K., Heinemann F., Hartng H.Z., *Naturforsch. B.* **1991**, *46*, 1251.

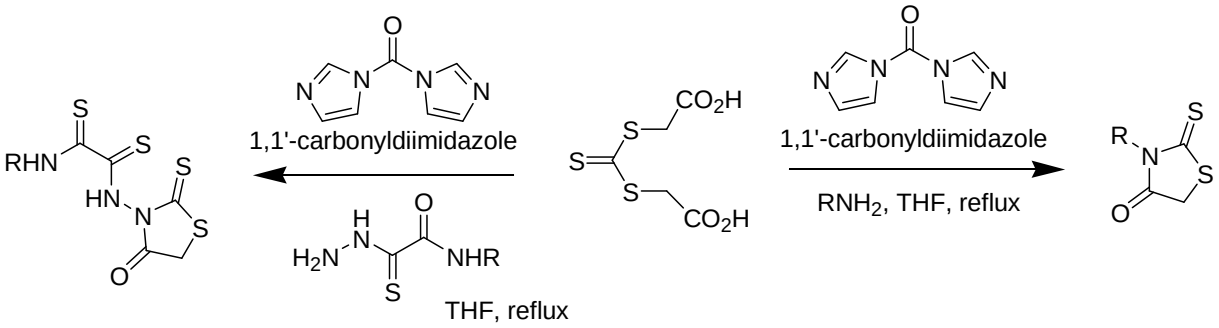


Schéma 4: Construction de la plateforme rhodanine à partir du réactif commercial *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate.

Le *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate réagit également avec certaines amines primaires dans l'eau (chauffage classique ou au micro-onde) pour conduire à des rhodanines substituées en position *N*-3.[29]

2.2.4. Voie de l'isothiocyanate

L'isothiocyanate est mis en réaction avec l'acide α-mercaptoacétique pour engendrer la rhodanine par cyclisation de l'acide thiocarbamoyle en milieu acide (Schéma 5).[30]

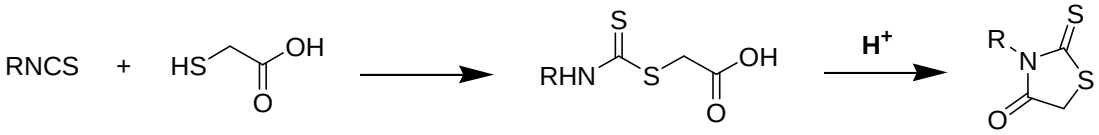


Schéma 5:Synthèse de rhodanines *N*-substituées à partir d'isothiocyanate.

Sing et Coll. ont eu recourt à cette route de synthèse, par réaction de l'isothiocyanate avec du thioglycolate de méthyle à température ambiante (Schéma 6).[31]

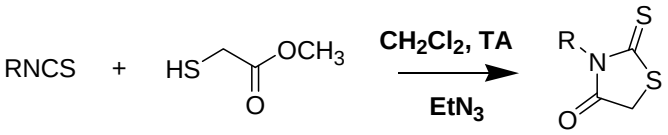


Schéma 6: Schéma de synthèse de rhodanines à partir de l'isothiocyanate.

---

28 Yarovenko V.N., Nikitina A.S., Zavarzin I.V. Krayushkin M.M., Kovalenko L.V., *Synthesis* **2006**, *8*, 1246-1248.

29 a) Kamila S., Ankati H., Harry E., Biehl E.R., *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*(17), 2195-2198 b) Nitsche C., Klein C.D., *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*(39), 5197-5201.

30 Chen L., Chen S., liu J.-J., Pattent N° US0084804A1, Avril **2006**.

31 Sing W.T., Lee C.L., Yeo S.L., Lim S.P., Sim M.M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 91-94.

2.2.5. Voie du dithiocarbamate

Cette voie synthétique de construction du motif rhodanine, consiste d'abord à mettre en réaction le disulfure de carbone (CS_2) et une amine primaire pour donner naissance à un sel de dithiocarbamate par réaction qui est ultérieurement cyclocondensé en présence d'un halogénoacétate. (Schéma7).[32]

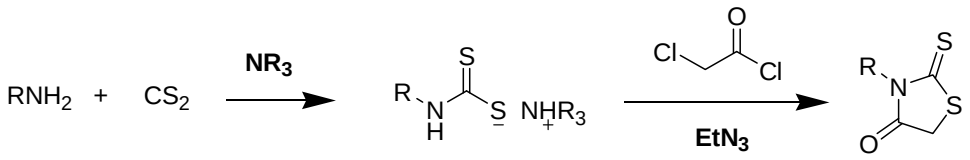


Schéma 7: Construction d'une plateforme rhodanine *via* un dithiocarbamate.

Une réaction similaire a été mise en œuvre par Chauhan et coll., les réactifs ont été cependant ajoutés ici en une seule fois. Ainsi du bromoacétate d'éthyle mis en présence de 4-aminoquinolines et de CS_2 dans de l'acétonitrile à température ambiante produit *via* un mécanisme réactionnel d'addition-élimination, l'intermédiaire souhaité (Schéma 8).[12,33]

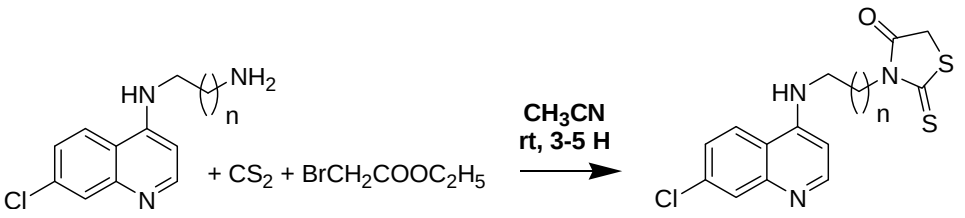


Schéma 8: Voie de synthèse de rhodanines *via* un dithiocarbamate.

2.3. Autres méthodes de synthèse des dérivés 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones

Certains auteurs ont décrit dans la littérature des méthodes de synthèse différentes de la condensation de Knoevenagel, mais qui permettent d'obtenir également des dérivés 5-arylidène rhodanines. Ces approches nécessitent l'utilisation ou la préparation d'un composé électrophile de structure proche de celle de la rhodanine nucléophile.

2.3.1. Par la réaction de Wittig

Dans cette méthode[17], l'intermédiaire de la réaction est la 3-aryl-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4,5-dione, obtenue par réaction d'un dithiocarbamate avec le chlorure d'oxalyle

[32] a) Singh S.P., Parmar S.S., Raman K., Stenberg V.I., *Chem. Rev.* **1981**, *81*(2), 175-203 b) Brown F.C., *Chem. Rev.* **1961**, *61*, 463-521.

[33] Yadav L.D.S., Tripathi R.K., Dwivedi R., Singh H., *J. Agric. Food. Chem.* **1992**, 40, 1700-1702.

au reflux du benzène. Cet intermédiaire conduit ensuite au 5-arylidène rhodanine souhaité par une réaction de Wittig avec un ylure du phosphore approprié (Schéma 9).

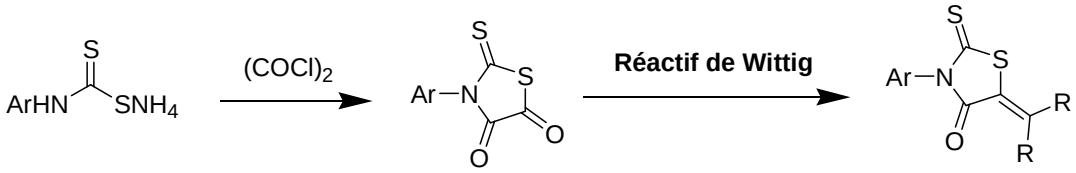


Schéma 9: Synthèse de 5-arylidène rhodanines par la réaction de Wittig.

2.3.2. Par synthèse "one-pot" à trois composants

Attanasi et coll.[34] ont mis au point une synthèse one-pot à trois composants permettant d'accéder à des dérivés 5-hydrazinoalkylidène rhodanines avec un temps de réaction assez court (10-30 min.) et de bons rendements. Le matériel de départ, une amine primaire a été mis en réaction avec du disulfure de carbone (CS_2) et un 1,2-diaza-1,3-diène (Schéma 10). Cette réaction est réalisée à température ambiante,

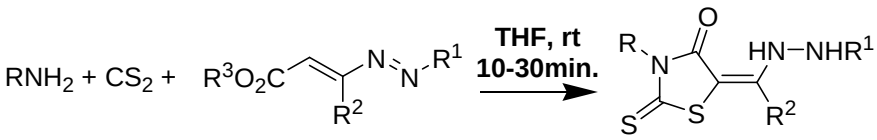


Schéma 10: Voie de synthèse "one-pot" de 5-arylidène rhodanines.

Alizadeh et coll.[35] ont également rapporté une synthèse similaire ("one-pot" à trois composants) pour l'obtention de (5*Z*) *N*-alkyl-arylidène rhodanines, par réaction d'une amine primaire, d'un ester acétylénique et du disulfure de carbone (CS_2) (Schéma 11).

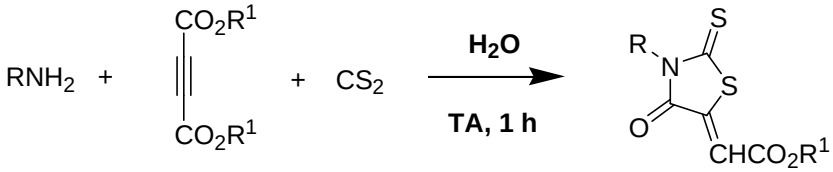


Schéma 11: Voie de synthèse "one pot" de dérivés (*5Z*) 5-arylidène rhodanines.

2.3.3.À partir d'un époxyde

Cette voie de synthèse originale développée par Roggero et coll. fait intervenir un dithiocarbamate d'ammonium[36] qui est condensé avec un époxyde (ester glycidique) pour

[34] Attanasi O.A., Crescentini L.D., Favi G., Filippone P., Giorgi G., Mantellini F., Moscatelli G., Behalo M. S., *Org. Lett.* **2009**, *11*(11), 2265-2268.

[35] Alizadeh A., Rostamnia S., Zohreh N., Hosseinpour R., *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 1533.

conduire aux 5-arylidène rhodanines désirées après une cyclisation/déshydratation (Schéma12).

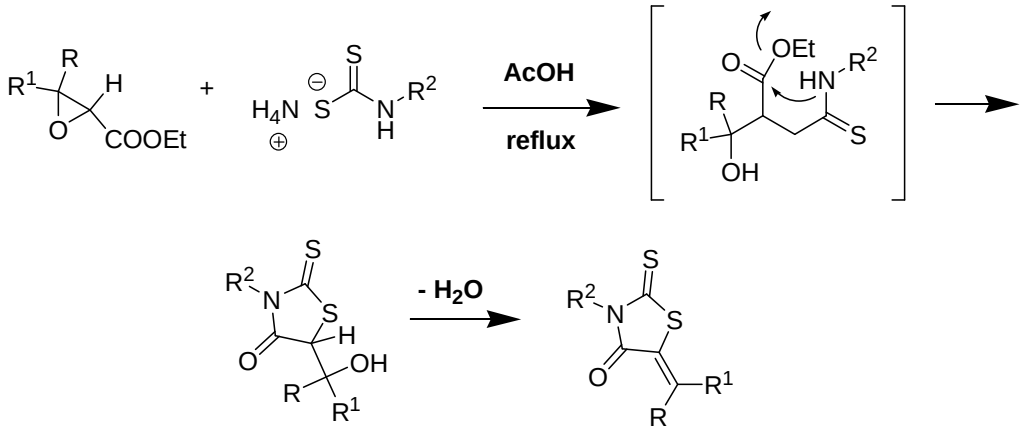


Schéma 12: Voie de synthèse de 5-arylidène rhodanines à partir d'un époxyde.

II. TRAVAUX ANTÉRIEURS DU LABORATOIRE SUR LES RHODANINES ET OBJECTIF DE L'ÉTUDE

L'intérêt de notre laboratoire (NoTeSo&CiT du groupe ICMV) pour les rhodanines au vu de leurs nombreuses propriétés pharmacologiques, remonte à plus d'une dizaine d'années. En effet, plusieurs intermédiaires ou composés finaux développés dans la mise en œuvre de certains projets de thèse ou d'étude, renferment la plateforme rhodanine.

Ainsi, des rhodanines *N*-substituées et des 5-arylidène rhodanines, ont servi par exemple de précurseurs pour la synthèse sous irradiation micro-onde de nouvelles rhodacyanines[37], analogues de la rhodacyanine MKT-077 (Figure 5), un composé à activité antiplasmodiale (Schéma 13).

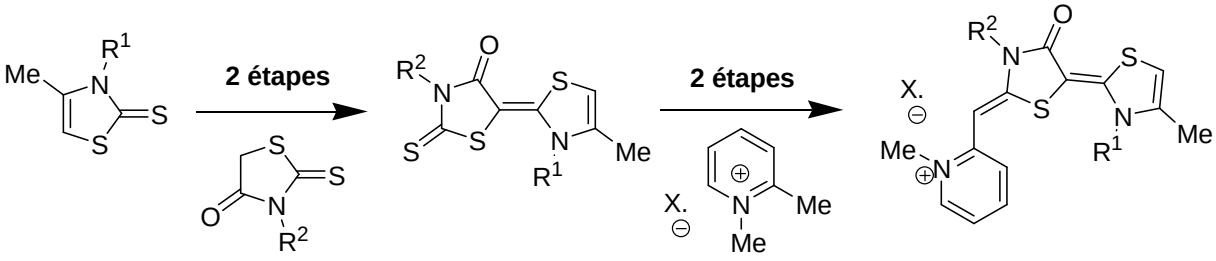
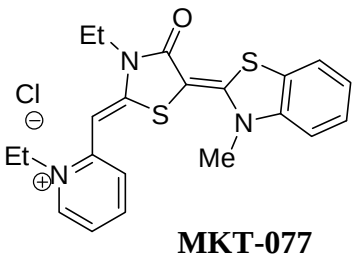


Schéma 13: Voie de synthèse de rhodacyanines à partir de rhodanines.

[36] a) Roggero J., Audibert M., *Bull. de la Société Chimique de France* **1971**, 4021. b) Gilbert, A. M., Bursavich, M. G., Lombardi, S., Georgiadis, K. E., Reifenberg, E., Flannery, C. R., Morris, E. A., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*(5), 1189-1192.

[37] Kasmi-Mir S., Djafri A., Hamelin J., Paquin L., Bazureau J.P, Rahmouni M., *Synth. Comm*. **2007**, *37*(22), 4017-4034.



MKT-077

Figure 5: Structure moléculaire du MKT-077.

Ces rhodanines utilisées comme intermédiaires, ont également permis la mise au point d'une nouvelle voie d'accès à des dérivés 2-amino-5-arylidène-1,3-thiazol-4(5*H*)-ones par chauffage micro-onde, *via* une réaction sans solvant mettant en jeu un échange soufre-azote (Schéma 14).[38]

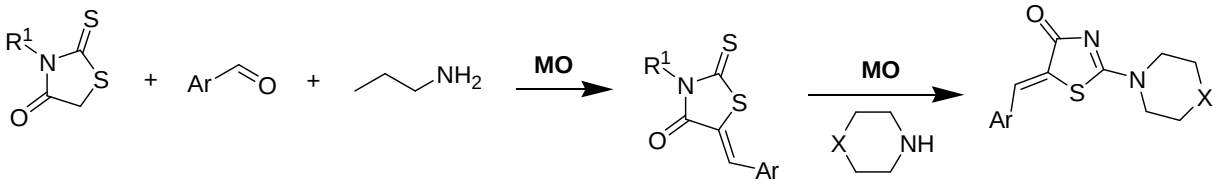


Schéma 14: Voie de synthèse de 2-amino-5-arylidène-1,3-thiazol-4(5*H*)-ones à partir de rhodanines *N*-substituées.

Une nouvelle classe de dérivés 5-isatinylidène rhodanines a été développée en une seule étape, sans solvant, sous irradiation micro-onde avec de très bons rendements. Cette réaction simple et efficace a consisté à condenser un dérivé d'isatine avec une rhodanine *N*-substituée. Un autre point fort de cette réaction est qu'elle a été menée sans catalyseur (Schéma 15), contrairement aux condensations de Knoevenagel rencontrées usuellement dans la littérature.[39]

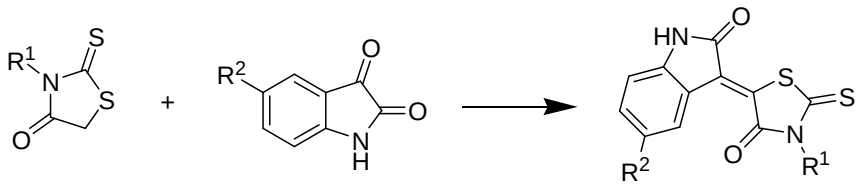


Schéma 15: Voie de synthèse de 5-isatinylidène rhodanines

Dans l'optique de découvrir de nouveaux inhibiteurs de protéines kinases contre les maladies neurodégénératives, des analogues du dispacamide A (Figure 6), alcaloïde extrait d'éponges marines, ont été ainsi développés.[40] Ce sont des 5-yldène rhodanines dérivés de 5-arylidène rhodanines renfermant le fragment (4,5-dihalogéno-pyrrol-2-yl)carbamoyl propre au dispacamide A. Ceux-ci ont été obtenus par condensation de Knoevenagel avec divers *N*-(4,5-

[38] Bourahla K., Derdour A., Rahmouni M., Carreaux F., Bazureau J.P., *Tetrahedron lett.* **2007**, *48*(33), 5785-5789.

[39] Safer A., Rahmouni M., Carreaux F., Paquin L., Lozach O., Meijer L., Bazureau J.P., *Chem. Pap.* **2011**, *65*(3), 332-337.

[40] Guihéneuf S., Paquin L., Carreaux F., Durieu E., Roisnel T., Meijer L., Bazureau J.-P., *Mol. Div.* **2014**, *18*(2), 375-388.

dihalogénopyrrol-2-yl)carbamoylaldéhydes avec des rhodanines *N*-substituées sous irradiation micro-onde (Schéma 16).

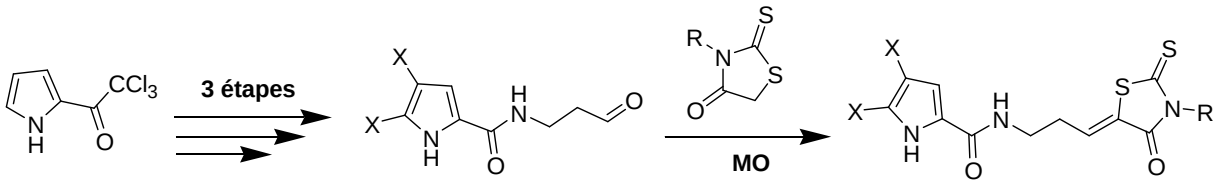


Schéma 16: Voie de synthèse de 5-yldènerhodanines.

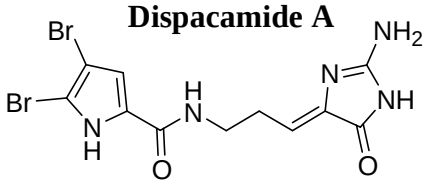


Figure 6: Structure du dispacamide A.

1. Contexte du travail

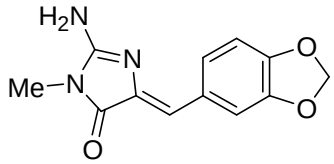
Les protéines kinases, comme précédemment souligné (*cf.* Partie 1, Chapitre 1), représentent une classe importante d'enzymes qui jouent un rôle important dans la régulation de divers processus. Par conséquent, des composés inhibiteurs de protéines kinases représentent des atouts intéressants pour l'industrie pharmaceutique, en vue de la découverte de nouveaux agents thérapeutiques. Au cours de cette dernière décennie, notre groupe de recherche s'est donc investi dans plusieurs projets d'étude visant ces cibles prometteuses que sont les protéines kinases. Pour ce faire, notre équipe a investiguer le développement chimique d'analogues de faible masse moléculaire au nombre desquels des dérivés d'alcaloïdes marins et renfermant des plateformes hétérocycliques à cinq chaînons. Ceci dans le but de découvrir des inhibiteurs des protéines kinases à double spécificité que sont les DYRKs et les CLKs (kinases cdc2-like)[41], deux familles de kinases impliquées dans diverses maladies, y compris celle d'Alzheimer[42] et le cancer[43]. Cette approche a permis le développement synthétique de nouvelles classes d'inhibiteurs de protéines kinases, analogues

[41] a) Bazureau J.P.; Carreaux F.; Renault S.; Meijer L.; Lozach O., Patent WO 2009/05032 A2, 23 Avril **2009** b) Debdab M.; Carreaux F.; Renault S.; Soundararajan M.; Fedorov O.; Filippakopoulos P.; Lozach O.; Babault L.; Tahtouh T.; Baratte B.; Ogawa Y., Hagiwara M., Eisenreich A., Rauch U, Knapp S., Meijer L., Bazureau J.-P., *J. Med. Chem*. **2011**, *54*, 4172-4186. c) Tahtouh T.; Elkins J.M.; Filippakopoulos P.; Soundararajan M.; Burgy G.; Durieu E.; Cochet C.; Schmid R.S.; Lo D.C.; Delhommel F.; Oberholzer A.E., Pearl L.H., Carreaux F., Bazureau J.-P., Knapp S., Meijer L., *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 9312-9330.

[42] Smith B.; Medda F.; Gokhale V.; Dunckley T.; Hulme C., *ACS Chem. Neurosci*. **2012**, *11*, 857-872.

[43] a) Ionescu A.; Dufrasne F.; Gelbcke M.; Jabin I.; Kiss R.; Lamoral-Theys D., *Mini-Rev. Med. Chem*. **2012**, *12*, 1315-1329. b) Xiao Y.A.; Wang Z.Q.; Wang X.M.; Hu, Y.; Ling Y.; Wang X.Y.; He L.Q., *Chin. Chem. Lett*. **2013**, *24*, 727-730. c) Ling Y.; Wang Z.Q.; Xiao Y.A.; Zhu C.; Shen L.; Wang X.M.; Hui Y.; Wang X.Y., *Chem. Pharm. Bull*. **2013**, *61*, 1081-1084.

d'alcaloïdes marins tels que le Dispacamide A (Figure 6) et la Leucettamine B (Figure 7).[40, 41b,c, 44]



Leucettamine B

Figure 7: Structure de la Leucettamine B.

Toujours dans l'optique de découvrir de nouvelles molécules ciblant les protéines kinases mais également d'autres pathologies comme la malaria ou encore la leishmaniose, notre équipe s'est aussi intéressée à la pentamidine (Schéma 17), molécule manifestant des propriétés antiplasmodiales et utilisée pour le traitement de la leishmaniose (*cf.* Partie 1, Chapitre 2). Une chimiothèque de composés résultant de pharmacomodulations réalisées autour de la pentamidine a été ainsi dévéloppée. Ces composés ont pour particularité de renfermer un bras espaceur diaminé et différents hétérocycles à 5 chaînons greffés à l'extrémité de celui-ci, c'est-à-dire des motifs 1,3-thiazolidine-4-one ou rhodanine et imidazolidine-4-one. Il convient de souligner que le motif imidazolinone est présent dans les alcaloïdes marins susmentionnés (Dispacamide A et Leucettamine B) (Figure 6 et 7). Il a été ainsi réalisé la synthèse de *N*,*N*-bis-(5-arylidène-4-oxo-3,5-dihydro-4*H*-imidazol-2-yl)diamines[45], de *N*,*N'*-bis-(5-arylidène-4-oxo-4,5-dihydrothiazolidine-2-yl)aminopropylpipérazines[46] et de bis-5-arylidène-rhodanines asymétriques[47] (Schéma 17).

[44] a) Debdab M., Renault S., Eid S., Lozach O., Meijer L., Carreaux F., et Bazureau J.P., *Heterocycles* **2009**, *78*(5), 1191-1203 b) Burgy G., Tahtouh T., Durieu E., Foll-Josselin B., Limanton E., Meijer L., Carreaux F., et Bazureau J.-P., *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *62*, 728-737.

[45] Coulibaly, W.K.; Paquin, L.; Bénie, A.; Bekro, Y.A.; Durieu, E.; Meijer, L.; Bazureau, J.P., *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *58*, 581–590.

[46] Coulibaly, W.K.; Paquin, L.; Bénie, A.; Bekro, Y.A.; Durieux, E.; Rucheau, S.; Meijer, L.; le Guével, R.; Corlu, A.; Bazureau, J.P., *Sci. Pharm.* **2012**, *80*, 825–836.

[47] Coulibaly, W.K.; Paquin, L.; Bénie, A.; Bekro, Y.A.; le Guével, R.; Ravache, M.; Corlu, A.; Bazureau, J.P., *Med. Chem. Res.* **2015**, *24*, 1653–1661.

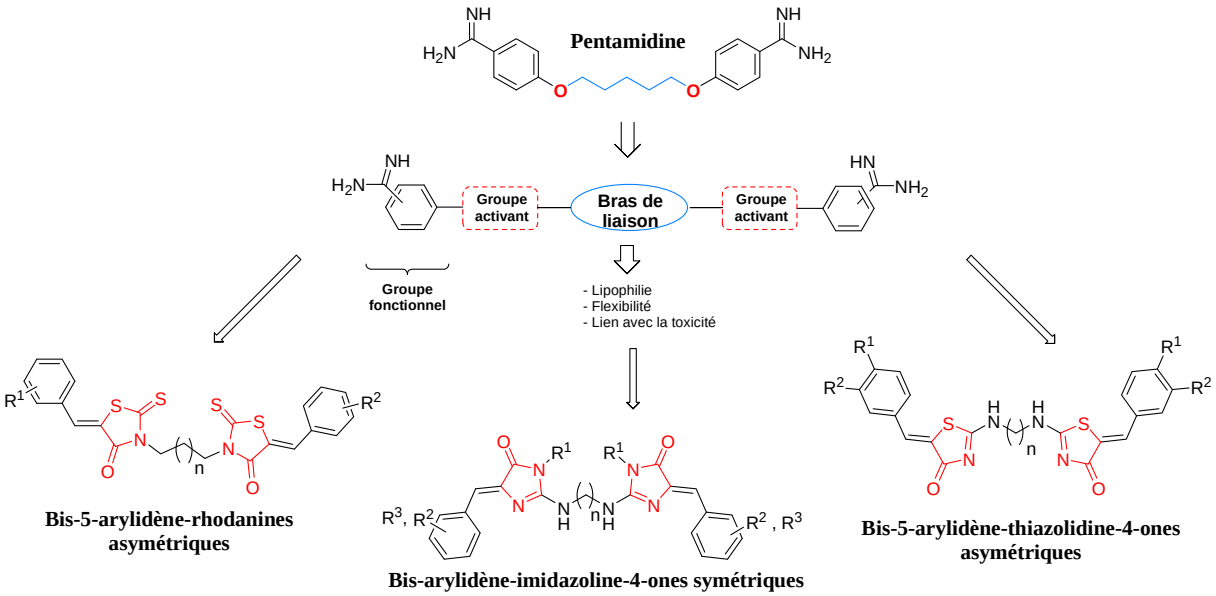
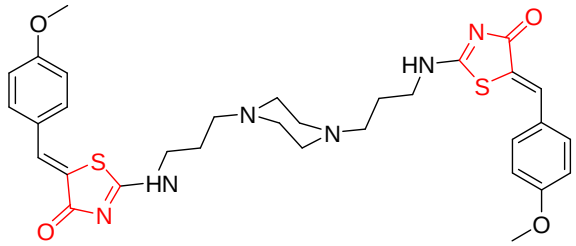


Schéma 17: Composés issus des pharmacomodulations autour du modèle de la pentamidine.

Ces trois séries de composés *N*,*N'*-diaminés (symétriques ou dissymétriques) ont tous été testés sur plusieurs protéines kinases, dont les DYRKs et les CLKs, sur des lignées cellulaires cancéreuses et également pour l'activité antiplasmodique *via* un test en milieu abiotique. À l'issue de ce screening, un de ces composés a montré une puissante activité inhibitrice de l'ordre du nanomolaire vis-à-vis de DYRK1A (Figure 8).



***N,N'*-Bis(5-arylidène-4-oxo-4,5-dihydrothiazolin-2-yl)aminopropylpipérazine**
DYRK1A (CI_{50} = 40 nM)

Figure 8: Inhibiteur de DYRK1A synthétisé au laboratoire.

Vu qu'aucune des *bis*-5-arylidène rhodanines dissymétriques testées n'a présenté d'activité significative aussi bien sur les kinases que sur les lignées tumorales, il a été décidé d'y apporter certains changements structuraux. Ainsi, l'une des deux plateformes hétérocycliques (rhodanine) a été remplacée par divers groupements (arylméthyl)aminobutyles greffés en position *N*-3 de ces nouvelles 5-arylidène rhodanines (Schéma 18). Le but étant d'obtenir pour ces nouveaux composés, des activités biologiques potentiellement plus significatives sur lignées de cellules tumorales et également des effets sur certaines autres protéines kinases d'intérêt telles que CDK5-p25, GSK3α/ß, Haspin ou encore CK1.

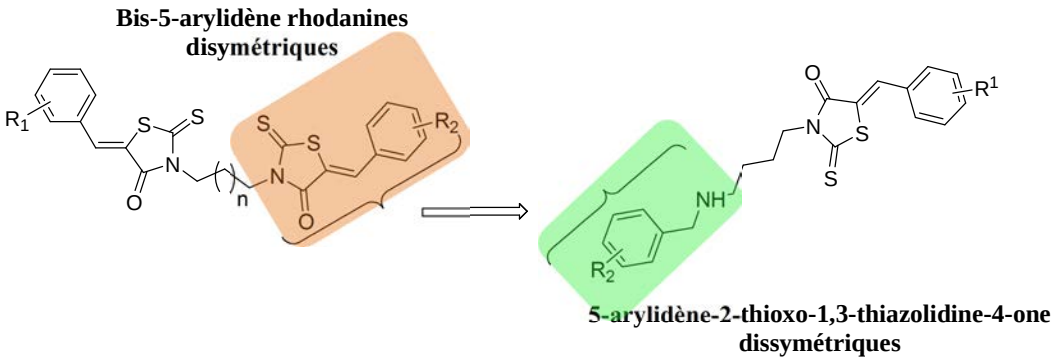


Schéma 18: Modification envisagé sur les *bis*-5-arylidène rhodanines dans le cadre de ce travail.

2. Objectif de l'étude

Ce travail a pour objectif, le développement synthétique d'une nouvelle famille de 3-(4-arylméthylamino)butyl-5-arylidène rhodanines comportant le fragment générique 5-arylidène-2-thioxo-1,3thiazolidine-4-ones (Schéma 19) à visée potentiellement pharmacologique vis-à-vis des différentes cibles biologiques visées (*cf.* Partie 1).

Pour accéder à ces 3-(4-arylméthylamino)butyl-5-arylidène rhodanines planes renfermant le fragment 5-arylidène-2-thioxo-1,3thiazolidine-4-ones, nous avons choisi comme bras espaceur diaminé, une chaîne butyle afin d'obtenir entre autres une bonne flexibilité moléculaire entre le fragment 4-arylméthyl et la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one. En effet, une molécule renfermant un nombre peu élevé de carbones au niveau du bras espaceur diaminé est plus restreinte au niveau de la conformation et a un faible impact sur les lignées cellulaires et vis-à-vis des protéines kinases.[48]

La voie de synthèse de ces différents composés comprendra plusieurs étapes, incluant une condensation de Knoevenagel de divers aldéhydes commerciaux sur des rhodanines *N*-substituées et ce par l'intermédiaire de l'irradiation micro-onde pour l'activation thermique de cette réaction.[49] Il convient de souligner que les rhodanines *N*-substituées concernées ne sont pas commerciales et seront obtenues en amont de cette étape finale de condensation, selon une stratégie de synthèse déjà bien établie (Schéma 19).

[48] Raj R.; Mehra V.; Gut J.; Rosenthal P.J.; Wicht K.J.; Egan T.J.; Hopper M.; Wrischnik L.A.; Land K.M.; Kumar V., *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *84*, 425-432.

[49] Bazureau J.P.; Paquin L.; L'Helgoual'ch J.M.; Carrié D.; Limanton E.; Guihéneuf S.; Burgy G.; Coulibaly, W.K.; Komaty S., "*Microwaves in Heterocyclic Chemistry" in: Microwaves in Organic Synthesis*, 3rd ed.; Loupy A., de la Hoz A., Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, **2012**; Chapter 14, pp 673-766.

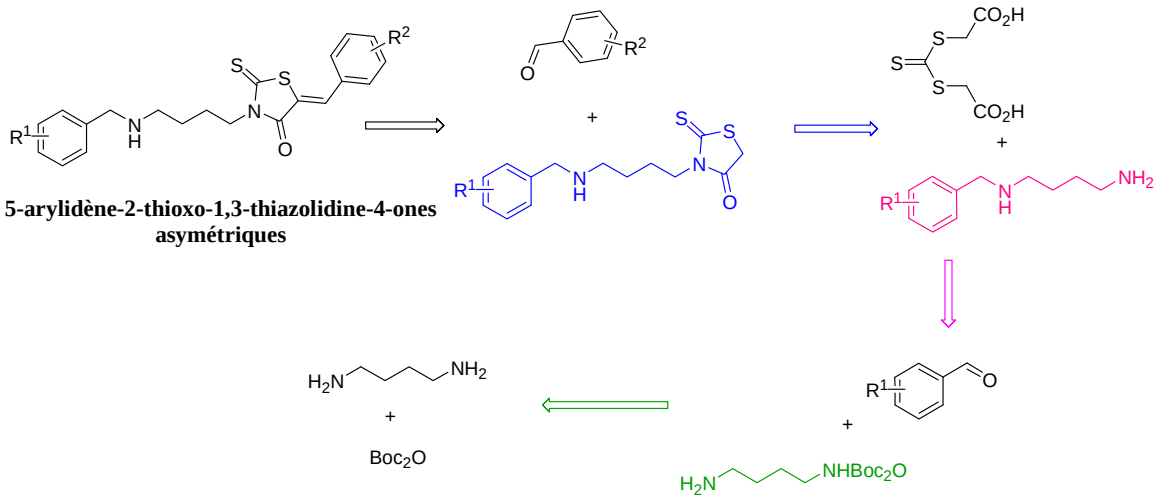


Schéma 19: Analyse rétrosynthétique des 5-arylidène rhodanines dissymétriques.

L'analyse rétrosynthétique décrite ci-dessus montre que l'accès à ces 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones fonctionnalisées en position *N*-3 induit les étapes clefs suivantes:

1. mettre en œuvre une amination-réductrice entre un aldéhyde aromatique et la 1,4-butanediamine mono-protégée.

2. réaliser la construction de la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one par réaction du groupement amino libre du produit d'amination-réductrice avec le réactif commercial *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate. Ce dernier est en fait la forme masquée du disulfure de carbone et d'un fragment acétique, deux éléments constitutifs de la plateforme rhodanine,

3. enfin la fonctionnalisation de la position C-5 de la plateforme rhodanine par réaction de Knoevenagel avec des aldéhydes aromatiques diversement substitués.

Il convient de souligner que cette stratégie de synthèse apporte deux points de diversité moléculaire, le premier par amination-réductrice et le second par condensation de Knoevenagel tout en conservant une chaîne butyle sur la position *N*-3. Cette diversité moléculaire sera essentiellement induite par le choix des aldéhydes commerciaux.

III. SYNTHÈSE DES 5-ARYLIDÈNE RHODANINES DYSSYMÉTRIQUES

La synthèse des 5-arylidène rhodanines développée au cours de cette étude a été réalisée en six étapes. Le réactif précurseur comme précédemment mentionné a été le 1,4-diaminobutane.

1. Monoprotection de la 1,4-diaminobutane

Cette diamine **1** a été traitée avec le réactif commercial di-*tert*-butyldicarbonate (Boc_2O) en solution de 1,4-dioxane, à température ambiante pour donner principalement l'amine mono-*N*-Boc protégée **2** avec un bon rendement (84 %) (Schéma 20).[50]

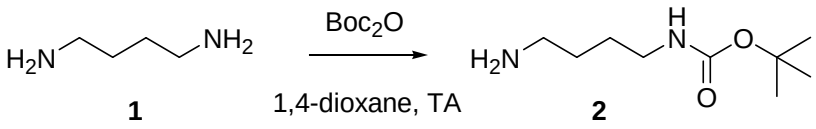


Schéma 20: Synthèse de la diamine monoprotégée.

2. Synthèse des fragments (arylméthyl)aminobutyles

Afin d'obtenir un nombre suffisant de composés, pour un criblage biologique préliminaire, nous avons privilégié la transformation du *N*-Boc-1,4-diamino-butane **2** en *N*-arylméthylediamine mono protégées **5** par amination-réductrice. La chaîne (arylméthylamino)butyle greffée en position *N*-3 de la plate-forme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one représente donc le premier point de diversité moléculaire des composés souhaités.

2.1. Synthèse d'arylaldimines à partir de la diamine mono-protégée

La première voie de synthèse que nous avons mise en œuvre pour l'obtention des imines monoprotégées **4** s'est faite par l'intermédiaire d'un chauffage par micro-onde en l'absence de solvant. Nous avons réalisé un premier essai de réaction de l'amine monoprotégée **2** avec un aldéhyde **3** en présence de triéthylamine. Le mélange a été irradié à 90 °C pendant 20 min.[51] Cependant, nous avons constaté après la réaction que toute l'amine avait été consommée et qu'il restait par contre dans le milieu réactionnel, environ 20 % de l'aldéhyde de départ, impossible à éliminer. Nous avons donc par la suite réalisé une série d'essais (Tableau 2) afin d'optimiser cette condensation, et pour obtenir à la fin de la réaction une aldimine pure, exempte de toute trace d'aldéhyde. Pour tous ces essais, l'aldéhyde et l'amine ont été mis en réaction avec des conditions stœchiométriques (ratio amine/aldéhyde: 1/1).

---

[50] a) Chadwick J., Jones M., Mercer A.E., Stocks P.A., Ward S.A., Park B.K., O'Neill P.M., *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*(7), 2586-2597.
b) Pittelkow M., Heurinsky R., Christensen J. P., *Synthesis* **2002**, 2195-2202.

[51] Debdab M., Renault S., Lozach O., Meijer L., Paquin L., Carreaux F., Bazureau J.P., *Eur. J. med. Chem.* **2010**, *45*(2), 805-810.

Tableau 2: Exploration des conditions de réaction pour la synthèse d'aldimines sous irradiation micro-onde.

Conditions	Remarques	Aldéhyde résiduel (%)
Et_3N (1.5 éq.), MO Monowave 300 (Anton-Paar), 90°C, 20 min.	-	20
MO Monowave 300 (Anton-Paar), 90°C, 20 min.	-	16
MO Monowave 300 (Anton-Paar), 90°C, 45 min.	-	8,5
MO Monowave 300 (Anton-Paar), 90°C, 1 h	-	5
MO Monowave 300 (Anton-Paar,) 90°C, 1,5 h min.		4.7
MO Discover (CEM), 90°C, 20 min.	Réaction en mode ouvert afin de favoriser l'élimination de l'eau issue de la condensation	16
$MgSO_4$, MO Monowave 300 Anton P., 90°C, 45 min.	$MgSO_4$ (absorption de l'eau issue de la condensation)	5
$MgSO_4$, MO Anton P., 90°C, 2 h	-	2,8

Malgré ces différentes tentatives, nous observons toujours la présence d'aldéhyde résiduel en fin de réaction, en conséquence nous avons opté pour une autre approche expérimentale.[52] Ainsi les aryladimines **4** souhaitées ont été finalement préparées par réaction entre la *N*-Boc diamine **2** et divers aldéhydes **3**, en présence de tamis moléculaire 3Å (Schéma 21). Cette condensation simple et facile à mettre en œuvre, a été conduite dans une solution de diéthyléther à température ambiante pendant 16 h, pour conduire à des aldimines pures avec d'excellents rendements (Tableau 3).

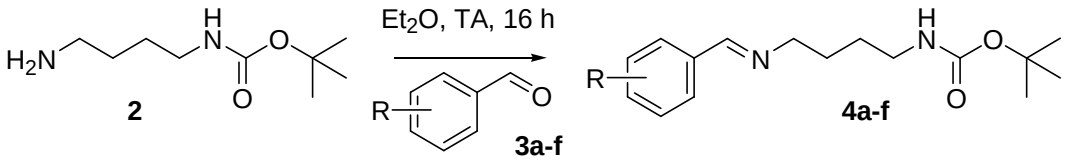
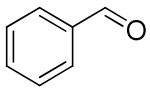
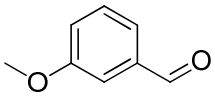
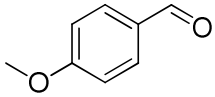
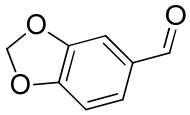
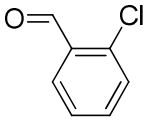
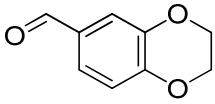


Schéma 21: Synthèse d'aldimines monoprotégées.

[52] Martin B., Possémé F., Le Barbier C., Carreaux F., Carboni B., Seiler N., Moulinoux J.P., Delcros J.G., *J. Med. Chem.* **2001**, *44*(22), 3653-3664.

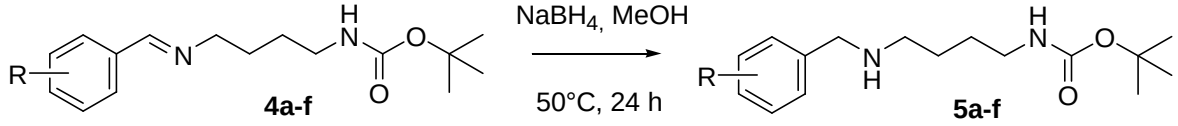
Tableau 3: Résultats des synthèses des arylaldimines **4(a-f)**.

Aldéhyde de départ		Rendement[a] (%)	Aldéhyde de départ		Rendement[a] (%)
3a		97	**3d**		98
3b		99	**3e**		98
3c		98	**3f**		99

[a] Rendement en produit isolé.

2.2. Réduction des imines

Cette étape a permis l'obtention des *N*-arylméthyl diamines monoprotégées **5** par réduction des aldimines **4(a-f)** par action du tétraborohydrure de sodium ($NaBH_4$) dans du méthanol, à 50°C pendant 24 h (Schéma 23).[51] Les composés **5(a-f)** ont été obtenus avec de bons rendements compris entre 85 et 99 %.



Shéma 22: Réduction des arylaldimines.

2.3. Déprotection des amines

Pour la déprotection d'amines protégées nous avons opté pour une approche expérimentale très pratique, simple et facile à mettre en œuvre en faisant intervenir comme agent clivant, un acide. Pour la déprotection d'amines *NH*-Boc en milieu acide il existe une pléthore de réactifs (TFA, HCl, H_3PO_4, H_3BO_3, etc) et de conditions de réactions qui dépendent essentiellement de la structure de la molécule (présence ou non d'autres groupements fonctionnels sensibles aux acides). Ainsi, la déprotection[50a] des *N*-arylméthyl diamines monoprotégées **5(a-f)** a été réalisée par l'action d'une solution HCl 6M, dans du 1,4-dioxane à la température ambiante pendant 4 h (Schéma 23). Ces différents chlorhydrates de *N*-(arylméthyl)butane-1,4-diamines **6**, ont été obtenus avec de bons rendements (72-99 %). Ces sels sont stables thermiquement et ne sont pas hygroscopiques. Ils représentent donc les

fragments (arylméthyl)aminobutylamines qui seront utiles à la construction des 5-arylidène rhodanines souhaitées.

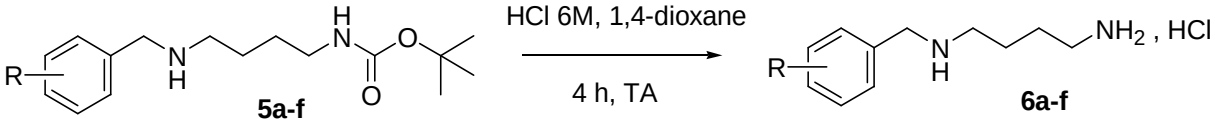


Schéma 23: Déprotection des *N*-arylméthyl diamines monoprotégées.

3. Synthèse de 5-arylidène rhodanine par réaction "one-pot two-steps" à 3 composants sous irradiation micro-onde

Cette étape consiste en la construction de la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one, suivie d'une condensation de Knoevenagel avec une série de divers arylaldéhydes **3** pour l'installation du fragment 5-arylidène. Le choix de ces différents aldéhydes pour cette condensation de Knoevenagel permet d'introduire le second point de diversité dans la structure finale des composés ciblés **9**.

Dans un précédent travail réalisé au sein de notre laboratoire[47], il a été développé une réaction à 3 composants "one-pot" en deux étapes sous irradiation micro-onde, permettant d'accéder à des *bis*-5-arylidène rhodanines dissymétriques comportant un bras espaceur constitué d'une diamine symétrique. Cette méthode a été conjointement inspirée par les travaux de Radi et coll.[53] et "la méthode de Holmberg". Cette dernière méthode, très ancienne (Holmberg, 1910), implique la cyclisation directe d'une large gamme d'amines avec le réactif *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate, en présence de carbonate de sodium. Cette méthode permet ainsi d'accéder en une seule étape à des rhodanines substituées en position *N*-3.[54]

La stratégie mise en œuvre dans le cadre de notre application a consisté à faire réagir au cours d'une première étape différents chlorhydrates de *N*-(arylméthyl)butane-1,4-diamines **6** avec le réactif commercial *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate **7** pour conduire à l'intermédiaire **8** *in situ*, soit ici à des rhodanines *N*-substituées. Celles-ci sont ensuite engagées *in situ* dans une seconde étape impliquant une condensation de Knoevenagel avec différents arylaldéhydes **3** pour conduire aux 5-arylidène rhodanines **9** (Schéma 24). Cette réaction "one-pot" en deux étapes a été réalisée sous le chauffage diélectrique d'un réacteur micro-onde.

[53] Radi, M., Botta, L., Casaluce, G., Bernardini, M., Botta, M., *J. Combinatorial Chem.***2009**, *12*(1), 200-205.

[54] Masoud G.N., Youssef A.M., Khalek M.M.A., Wahab A.E.A., Labouta I.M., Hazzaa A.A., *Medicinal Chem. Res*. **2013**, *22*(2),. 707-725.

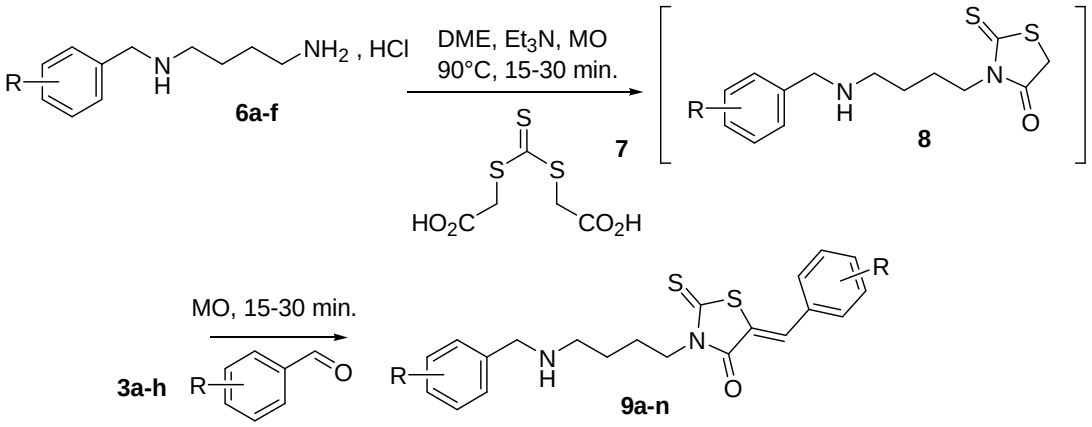


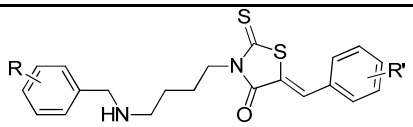
Schéma 24: Synthèse des 5-arylidène-rhodanines *N*-substituées.

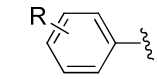
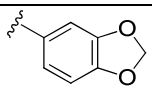
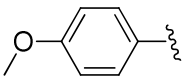
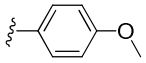
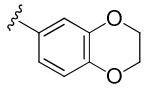
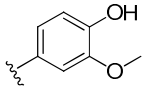
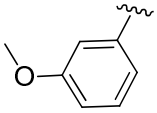
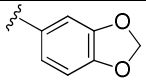
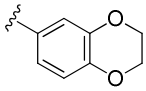
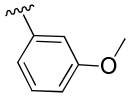
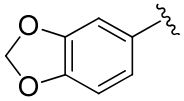
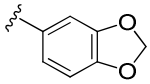
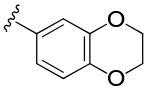
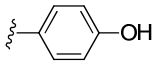
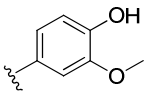
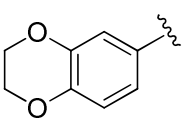
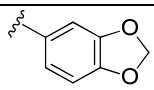
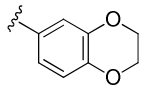
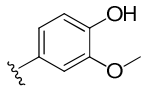
Nous avons réalisé plusieurs série d'essais pour l'optimisation de cette réaction à 3 composants "one-pot two-steps" afin d'obtenir les rhodanines **9** et ce aussi bien pour chacun des chlorhydrates **6** concernés, que les aldéhydes **3** sélectionnés. Les conditions réactionnelles retenues (Tableau 4) pour les deux étapes de cette synthèse impliquent d'utiliser un mélange stœchiométrique des réactifs **6** (chlorhydrate de la 1,4-butane-diamine), **7** (*bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate), et **3** (aldéhydes) en solution de diméthoxyéthane. Nous avons volontairement choisi ce mélange stœchiométrique afin de diminuer le nombre de paramètres de cette étude d'optimisation. L'emploi du diméthoxyéthane comme solvant est apparu satisfaisant au point de vue de la solubilité des réactifs sur ces deux étapes "one-pot".

L'utilisation d'une base pour la libération des sels lors de la première étape de construction de la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one avec le réactif *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate **7** et pour la déprotonation du méthylène actif de la plateforme rhodanine lors de la condensation a aussi induit de sélectionner une base. Après plusieurs essais de bases organiques ou minérales (pipéridine, MeONa, EtN_3), nous avons constaté que l'emploi de la triéthylamine était un bon compromis entre les cinétiques de déprotonation, de condensation et de la facilité d'élimination du sel mercaptoacétate de triéthylammonium (bon état cristallin) à la fin de cette réaction "one-pot" en deux étapes. L'anion mercaptoacétate de ce sel est en fait un sous-produit du réactif **7**. Par contre, les différences dans les modes opératoires mis en œuvre sont liés au nombre d'équivalents de triéthylamine utilisés (2 ou 3) et au temps d'irradiation micro-onde pour chaque étape de cette réaction "one-pot" (15-30 min.).

Enfin, nous avons aussi investigué l'impact de la température d'irradiation pour chaque étape de cette réaction "one-pot" (formation de la plateforme rhodanine suivie de la condensation). En nous appuyant sur les résultats des travaux antérieurs de notre laboratoire et de la littérature, en particulier les travaux de Radi et coll., nous avons sélectionné pour le mélange réactionnel de départ une température d'irradiation de 90°C puis de 110°C pour la condensation, avec un temps de réaction approprié (Tableau 4). Il convient aussi de souligner qu'à la fin de la première phase d'irradiation à 90°C, l'aldéhyde **3** est rapidement ajouté au milieu de réaction en admettant que l'intermédiaire **8** est au préalable complètement formé. Après l'addition de **3**, le milieu de réaction est immédiatement irradié à 110°C pour un temps de réaction défini.

Tableau 4: Préparation des 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones asymétriques **9(a-n)**.



R	R'	Composé	Durée (min): étape 1 (MO, 90°C)	Durée (min): étape 2 (MO, 110°C)	Nbre d'équi-valents de base	Rdt. (%)[a]
		**9a**	30	30	3	10
		**9b**	30	30	3	6
		**9c**	30	30	3	5
		**9d**	30	30	3	30
		**9e**	15	15	3	21
		**9f**	15	15	3	9
		**9g**	30	30	3	5
		**9h**	15	15	2	59
		**9i**	15	15	2	59
		**9j**	15	15	2	34
		**9k**	30	30	3	46
		**9l**	15	15	3	15
		**9m**	15	15	3	7
		**9n**	30	30	3	34

[a] Rendement obtenu après isolation du produit **9**

Les composés **9** souhaités ont été obtenus avec des rendements variant de 5 à 59 % (Tableau 4). Les 5-arylidène rhodanines comportant les fragments (arylméthyl)aminobutyles **6a** et **6c**, obtenus respectivement à partir du benzaldéhyde et du 2-chlorobenzaldéhyde (Tableau 3), n'ont pu être isolés, au regard du trop faible rendement obtenu lors de la réaction "one-pot two-steps" sous irradiation micro-onde (<< 1%).

Lors de cette réaction "one-pot two-steps", il y a création d'une double liaison exocyclique (CH=) en position C-5 de la plateforme rhodanine des composés 3-(4-arylméthylamino)butyl-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones **9** et il est possible d'obtenir soit des isomères *E* ou Z soit un mélange des deux avec des proportions variables. Pour cette série de composés, l'examen des différents spectres RMN ^{1}H d'une part du milieu réactionnel brut et d'autre part du produit **9** isolé a montré la présence d'un signal unique pour le proton du méthylène (CH=) avec des déplacements chimiques (δ) variant de 7,54 à 8,78 ppm[55]. Les valeurs de ces déplacements chimiques δ sont moins élevés que ceux attendues pour des *E*-isomères (9,7-10,78) selon les données de la littérature[56], ce qui indique que l'ensemble des composés **9** ont une configuration 5*Z*, ceci en raison du degré plus élevé de stabilité thermodynamique de cet isomère[40,57,57]. En outre, dans les spectres RMN ^{13}C, le signal aussi unique du C-5 (C=) pour chaque composé **9** apparaît dans une frange de déplacement chimique (δ) variant de 120,0 à 127,5 ppm, et nous avons également observé un seul signal pour le carbone du méthylène exocyclique (134,0 < $\delta_{CH=}$ <136,0 ppm), ce qui confirme la présence d'un seul isomère géométrique 5*Z* pour ces 5-arylidène rhodanines **9** et les différents valeurs de δ pour le signal C= en C-5 et du CH= exocyclique sont en accord avec des données antérieures du laboratoire et de la littérature.

Conclusion

En résumé, nous avons développé dans cette étude, une nouvelle voie d'accès à des 3-(4-arylméthylamino)butyl-5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones **9** avec une stéréochimie (5*Z)*. Le processus synthétique implique la mise en œuvre de six étapes, à partir de la butane-1,4-diamine **1** commerciale. L'étape clé de cette méthode est une réaction "one-pot two-steps" en phase liquide. La première étape consiste en la construction *in situ* de la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one sous irradiation micro-ondes, puis dans un second temps l'installation du fragment 5-arylidène *via* une condensation de Knoevenagel stéréocontrolée (5*Z*). Cette méthodologie a offert la possibilité de préparer avec des rendements plus ou moins appréciables, une nouvelle famille de 5-arylidène rhodanines substituées en position *N*-3 et comportant deux points de diversité moléculaire. Cette diversité moléculaire est apportée par les aldéhydes aromatiques **3** lors des étapes d'amination réductrice et de condensation.

---

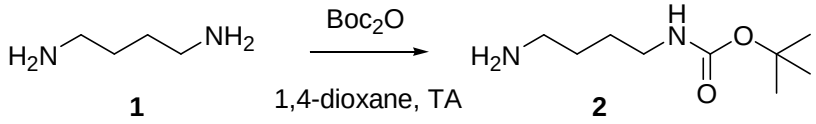
55 Dago C.D., Ambeu C.N., Coulibaly W-K., Bekro Y-A, Mamyrbékova-Békro J-A., Defontaine A., Baratte B., Bach S., Ruchaud S., Le Guével R., Ravache M., Corlu A., Bazureau J-P., *Molecules* **2015**, *20*(7), 12412-12435.

56 Fresneau P., Morand J. M., Thomasson F., Cussac M., *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectr.* **1999**, 55(14), 2893-2898.

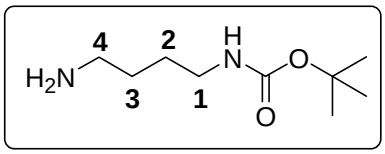
57 Krstenansky J.L.; Cotteril I., *Curr. Opin. Drug. Discov. Dev*. **2000**, *3*, 454-461.

CHAPITRE 1:
PARTIE EXPÉRIMENTALE

Synthèse de la diamine monoprotégée



(4-Aminobutyl)carbamate de tert-butyle

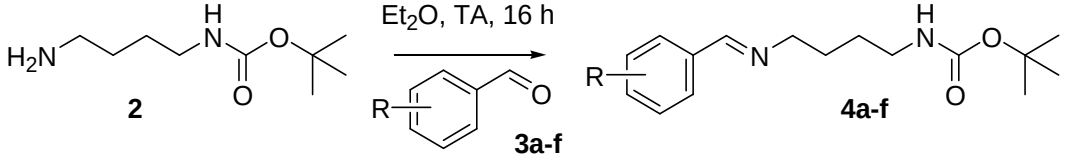


Rdt (%): 83 (10.77 g)
Aspect: huile translucide incolore
SMHR, *m/z*: 189.1603 trouvée (calculée pour $C_9H_{21}N_2O_2$:189.1600; $[M+H]^+$)

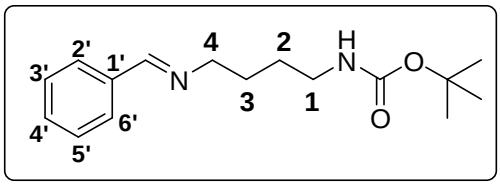
Une solution de dicarbonate de di-*tert*-butyle (4.96 g, 22.7 mmol) dans 65 mL de 1,4-dioxane anhydre est ajoutée pendant 3 h à une solution de 1,4-diaminobutane (10 g, 113.4 mmol) dans 53 mL de 1,4-dioxane anhydre sous vive agitation magnétique. Après 12 h d'agitation, le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite. On ajoute 115 mL d'eau déionisée au résidu d'évaporation, puis l'amine monoprotégée est extraite de la phase aqueuse avec 5x40 mL de dichlorométhane. Les phases organiques sont réunies et séchées sur $MgSO_4$ anhydre, puis filtrées sur papier plissé. Le solvant du filtrat est évaporé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle puis le résidu d'évaporation est mis sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg). On obtient une huile incolore assez mobile.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.29-1.50 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3); 2.50 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH_2, H-4); 2.90 (q, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-1); 6.80 (m, 1H, N**H**).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 26.9 (C-3); 28.2 (OC(**C**$H_3)_3$); 30.6 (C-2); 39.7 (C-4); 41.3 (C-1); 77.2 (O**C(**$CH_3)_3$); 155.6 (**C**=O).

Synthèse des imines monoprotégées

À une solution d'amine (1.99 g, 10.50 mmol) dans 50 mL d'éther anhydre contenant du tamis moléculaire 3 Å (2 g), est ajoutée, très lentement, une solution d'aldéhyde (10 mmol) dans 30 mL d'éther anhydre. Le mélange est maintenu sous agitation magnétique à température ambiante pendant 16 h, jusqu'à complète consommation de l'aldéhyde (suivi réactionnel par RMN ^{1}H). Après élimination du tamis moléculaire par filtration sur verre fritté de porosité N°4, le milieu de réaction est concentré à l'évaporateur rotatif sous vide partiel puis le résidu d'évaporation est séché sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pour conduire au produit attendu.



[4-(Benzylidène-amino)-butyl]-carbamate de tert-butyle

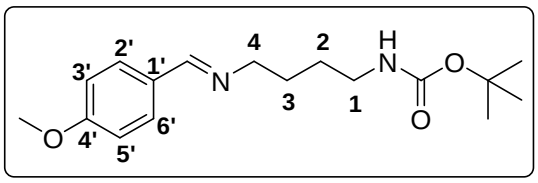


4a

Rdt (%): 97 (0.27 g)
Aspect : huile jaune
SMHR, *m/z*: 277.1916 trouvée (calculée pour $C_{16}H_{25}N_2O_2$: 277.1922; $[M+H]^+$)
299.1736 trouvée (calculée pour $C_{16}H_{24}N_2O_2Na$: 299.1732; $[M+Na]^+$)

Le composé [4-(benzylidène-amino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du (4-aminobutyl)carbamate de *tert*-butyle (0.2 g, 1.06 mmol, 1.05 éq), de benzaldéhyde (0.11 g, 0.1 mL, 1.01 mmol, 1 éq) en présence de 0.19 g de tamis moléculaire selon le mode opératoire général.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.40-1.48 (m, 2H, CH_2, H-2); 1.54-1.62 (m, 2H, CH_2, H-3); 2.96 (q, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-1); 3.55 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-4); 6.79-6.83 (m, 1H, N**H**); 7.41-7.46 (m, 3H, H-3', H-4', H-5', Ar); 7.71-7.75 (m, 2H, H-2', H-6', Ar); 8.32 (s, 1H, C**H**=N)
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 27.3 (C-2); 27.8 (C-3); 28.2 (OC(**C**$H_3)_3$); 39.6 (C-1); 60.1 (C-4); 77.2 (O**C(**$CH_3)_3$); 127.7 (C-2', C-6'); 128.5 (C-3', C-5'); 130.4 (C-4'); 136.1 (C-1'); 155.5 (**C**=O); 160.5 (**C**H=N)

{4-[(4-Méthoxy-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de tert-butyle

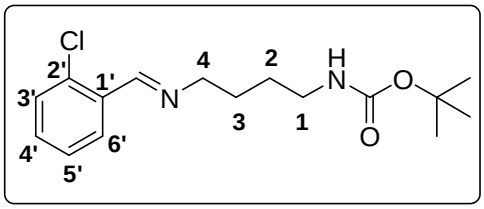


4b

Rdt (%): 99 (3.08 g)
Aspect: huile jaune
SMHR, *m/z*: 307.2022 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{27}N_2O_3$: 307.2021; $[M+H]^+$)

Le composé {4-[(4-méthoxy-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du *tert*-butyl (4-aminobutyl)carbamate de *tert*-butyle (2 g, 10.62 mmol, 1.05 éq), de *p*-anisaldéhyde (1.38 g, 1.23 mL, 10.12 mmol, 1 éq) en présence de 1.93 g de tamis moléculaire selon le mode opératoire général.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.32-1.46 (m, 2H, CH_2, H-2); 1.52-1.61 (m, 2H, CH_2, H-3); 2.94 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1); 3.50 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-4); 3.80 (s, 3H, OC**H**$_3$); 6.77-6.82 (m, 1H, N**H**); 6.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H-2', H-6', Ar); 7.66 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H-3', H-5', Ar); 8.24 (s, 1H, C**H**=N)
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 27.4 (C-2); 28.0 (C-3); 28.2 (OC(**C**$H_3)_3$); 39.6 (C-1); 55.2 (O**C**H_3); 60.1 (C-4); 77.3 (O**C(**$CH_3)_3$); 114.0 (C-2', C-6'); 129.0 (C-1'); 129.3 (C-3', C-5'); 155.5 (**C**=O); 159.7 (**C**H=N); 161.0 (C-4')

{4-[(2-Chloro-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de tert-butyle

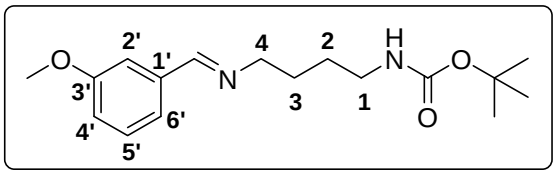


4c

Rdt (%): 98 (0.31 g)
Aspect: huile jaune
SMHR, *m/z*: 333.1346 trouvée (calculée pour $C_{16}H_{23}N_2O_2{}^{35}ClNa$: 333.1347; $[M+Na]^+$);
255.0900 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{16}N_2O_2{}^{35}Cl$: 255.0908; $[M-C_4H_8+H]^+$)

Le composé {4-[(2-chloro-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du (4-aminobutyl)carbamate de *tert*-butyle (0.2 g, 1.06 mmol, 1.05 éq), de 2-chlorobenzaldéhyde (0.14 g, 0.11 mL, 1.01 mmol, 1 éq) en présence de 0.19 g de tamis moléculaire selon le mode opératoire général.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.34-1.48 (m, 2H, CH_2, H-2); 1.56-1.63 (m, 2H, CH_2, H-3); 2.96 (q, *J*= 6.7 Hz, 2H, CH_2, H-1); 3.61 (t, *J*= 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-4); 6.78-6.82 (m, N**H**COO, 1H); 7.36-7.52 (m, 3H, H-4', H-5', H-6', Ar); 7.94-7.97 (m, 1H, H-3', Ar); 8.65 (s, C**H**=N, 1H)
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 27.3 (C-2); 27.7 (C-3); 28,2 (OC(**C**$H_3)_3$); 39.6 (C-1); 60.4 (C-4); 77.2 (O**C**$(CH_3)_3$); 127.4 (C-5'); 128.0 (C-4'); 129.8 (C-6'); 132.0 (C-3'); 132.7 (C-1' ou C-2'); 133.8 (C-1' ou C-2'); 155.5 (**C**OO); 156.6 (**C**=N).

{4-[(3-Méthoxy-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de tert-butyle

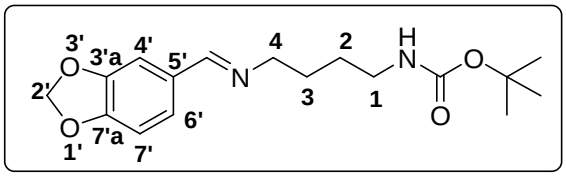


4d

Rdt (%): 98 (3.06 g)
Aspect: huile jaune
SMHR, *m/z*: 307.2022 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{27}N_2O_3$: 307.2039; $[M+H]^+$);
329.1841 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{26}N_2O_3Na$: 329.1838; $[M+Na]^+$)

Le composé {4-[(3-méthoxy-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du (4-aminobutyl)carbamate de *tert*-butyle (2 g, 10.62 mmol, 1.05 éq), de *m*-anisaldéhyde (1.38 g, 1.23 mL, 10.12 mmol, 1 éq) en présence de 1.93 g de tamis moléculaire selon le mode opératoire général.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.36-1.45 (m, 2H, CH_2, H-2); 1.54-1.64 (m, 2H, CH_2, H-3); 2.96 (q, *J*= 6.7 Hz, 2H, CH_2, H-1); 3.54 (t, *J*= 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-4); 3.78 (s, OC**H**$_3$, 3H), 6.76-6.82 (m, **H**NCOO, 1H); 6.99-7.03 (m, 1H, H-5', Ar); 7.27-7.38 (m, 3H, H-2', H-4', H-6', Ar); 8.29 (s, **H**C=N, 1H)
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 27.3 (C-2); 27.8 (C-3); 28,2 (OC(**C**$H_3)_3$); 39.6 (C-1); 55.0 (O**C**H_3); 60.1 (C-4); 77.2 (O**C**$(CH_3)_3$); 111.9 (C-5'); 116.6 (C-6'); 120.6 (C-4'); 129.6 (C-2'); 137.6 (C-1'); 155.5 (**C**OO); 159.4 (C-3'); 160.4 (**C**=N).

{4-[(Benzo[1,3]dioxol-5-ylméthylène)-amino]-butyl}-carbamate de tert-butyle



4e

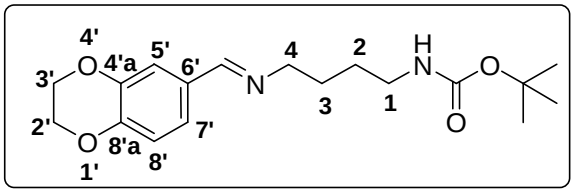
Rdt (%): 98 (0.30 g)
Aspect: huile jaune
SMHR, *m/z*: 321.1814 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{25}N_2O_4$: 321.1814; $[M+H]^+$)

Le composé {4-[(benzo[1,3]dioxol-5-ylméthylène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du (4-aminobutyl)carbamate de *tert*-butyle (0.2 g, 1.06 mmol, 1.05 éq), de pipéronal (0.15 g, 1.01 mmol, 1 éq) en présence de 0.19 g de tamis moléculaire selon le mode opératoire général.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.30-1.46 (m, 2H, CH_2, H-2); 1.51-1.61 (m, 2H, CH_2, H-3); 2.94 (q, *J*= 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1); 3.49 (t, *J*= 6.7 Hz, 2H, CH_2, H-4); 6.07 (s, 2H, CH_2, H-2'), 6.77-6.82 (m, N**H**COO, 1H); 6.97 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, H-6' ou H-7', Ar); 7.16-7.20 (m, 1H, H-6' ou H-7', Ar); 7.27-7.28 (m, 1H, H-4', Ar), 8.20 (s, C**H**=N, 1H)

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 27.3 (C-2); 27.9 (C-3); 28,2 (OC(**C**$H_3)_3$); 39.6 (C-1); 59.8 (C-4); 77.4 (O**C**$(CH_3)_3$); 101.4 (C-2'); 105.8 (C-6'); 108.1 (C-7'); 124.0 (C-4'); 130.9 (C-5'); 147.8 (C-3'a ou C-7'a); 149.3 (C-3'a ou C-7'a); 155.5 (**C**OO); 160.0 (**C**=N)

{4-[(2,3-Dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylène)-amino]-butyl}-carbamate de tert-butyle



4f

Rdt (%): 99 (0.34 g)
Aspect: huile jaune
SMHR, *m/z*: 335.1971 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{27}N_2O_2$: 335.1967; $[M+H]^+$);
357.1790 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{26}N_2O_2Na$: 357.1811; $[M+Na]^+$)

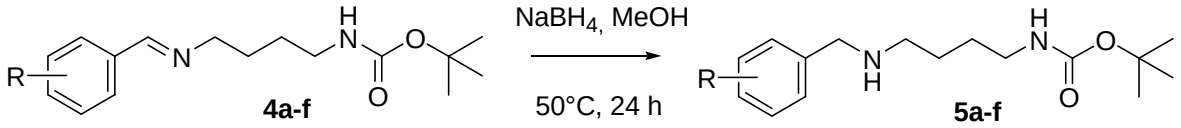
Le composé {4-[(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du (4-aminobutyl)carbamate de *tert*-butyle (0.2 g, 1.06 mmol, 1.05 éq), de 1.4-benzodioxan-6-carboxaldéhyde (0.17 g, 1.01 mmol, 1 éq) en présence de 0.19 g de tamis moléculaire selon le mode opératoire général.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.34-1.45 (m, 2H, CH_2, H-2); 1.51-1.60 (m, 2H, CH_2, H-3); 2.94 (q, *J*= 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-1); 3.50 (t, *J*= 6.7 Hz, 2H, CH_2, H-4); 4.23-4.30 (m, 4H, CH_2, H-2', H-3'), 6.77-6.81 (m, N**H**COO, 1H); 6.88-6.91 (m, 1H, H-7', Ar); 7.18-7.21 (m, 2H, H-5', H-8', Ar); 8.17 (s, C**H**=N, 1H).

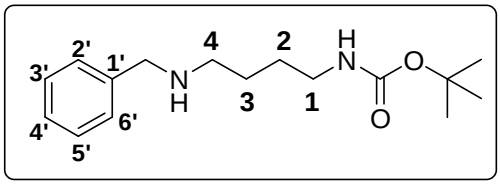
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 27.3 (C-2); 27.9 (C-3); 28,2 (OC(**C**$H_3)_3$); 39.6 (C-1); 60.0 (C-4); 63.9 (C-2'), 64,2 (C-3'), 77.2 (O**C**$(CH_3)_3$); 116.0 (C-7'); 117.1 (C-8'); 121.2 (C-5'); 129.8 (C-6'); 143.4 (C-4'a ou C-8'a); 145.4 (C-4'a ou C-8'a); 155.5 (**C**OO); 159.6 (**C**=N)

Réduction des imines monoprotégées

Une solution de 5 mmol de {4-[(benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle dans 30 mL de méthanol est refroidie à 0° C (sur un bain de glace) sous vive agitation magnétique. À cette solution refroidie est ajouté en petites portions 25 mmol (0.95 g) de $NaBH_4$. À la fin de l'addition de l'agent de réduction, le milieu réactionnel homogène est chauffé progressivement à 50° C puis est maintenu sous agitation magnétique à cette température pendant 24h (la réaction est suivie par CCM sur silice, éluant CH_2Cl_2:MeOH 94:6). Le solvant de réaction est éliminé à l'évaporateur rotatif sous vide partiel. Le résidu est ensuite repris avec de l'eau déionisée (40 mL), puis est transféré dans une ampoule à décanter. On extrait avec 3 x 50 mL de dichlorométhane. Les phases organiques d'extraction sont recueillies et jointes, puis sont séchées sur $MgSO_4$ anhydre et filtrées sur papier plissé. Le filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif sous vide partiel puis le résidu d'évaporation est séché sous vide à l'aide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg).



(4-Phénylméthylamino-butyl)-carbamate de tert-butyle



5a

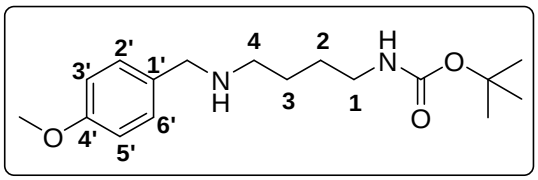
Rdt (%): 93 (3.04 g)
Aspect: huile jaune
SMHR, *m/z*: 279.2073 trouvée (calculée pour $C_{16}H_{27}N_2O_2$: 279.2072; $[M+H]^+$)

Le composé (4-phénylméthylamino-butyl)-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du [4-(benzylidène-amino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle (3.23 g, 11.68 mmol, 1 éq) et de $NaBH_4$ (2.21 g, 58.41 mmol, 5 éq) selon le mode opératoire général

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.34-1.42 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3); 2.45 (t, *J* = 6.2 Hz, 2H, CH_2, H-4); 2.89-2.91 (m, 2H, CH_2, H-1); 3.66 (s, 2H, C-1', C**H**$_2$NH); 6.78-6.82 (m, 1H, N**H**COO); 7.13-7.18 (m, 1H, H-4', Ar); 7.26-7.33 (m , 4H, H-2', H-3', H-5', H-6', Ar).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 27.4 (C-3); 26.8 (C-2); 28.2 (OC(**C**H_3)$_3$); 39.8 (C-1); 48.4 (C-4); 53.0 (C1'**C**H_2NH); 77.2 (O**C**(CH_3)$_3$); 126.3 (C-4'); 127.8 (C-2', C-6'); 128.0 (C-3', C-5'); 141,0 (C-1'); 155,5 (**C**=O).

[4-(4-Méthoxy-phénylméthylamino)-butyl]-carbamate de tert-butyle

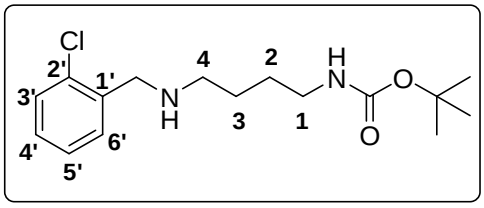


5b

Rdt (%): 99 (1.61 g)
Aspect : huile jaune
SMHR, *m/z*: 309.2178 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{29}N_2O_3$: 309.2180; $[M+H]^+$)

Le composé [4-(4-méthoxy-phénylméthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du {4-[(4-méthoxy-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle (1.6 g, 5.26 mmol, 1 éq) et de $NaBH_4$ (0.99 g, 26.28 mmol, 5 éq) selon le mode opératoire général.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.33-1.41 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3); 2.45 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-4); 2.88-2.90 (m, 2H, CH_2, H-1); 3.60 (s, 2H, C-1', C**H**$_2$NH); 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$); 6.76-6.80 (m, 1H, N**H**COO); 6.85 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2', H-6', Ar); 7.22 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3', H-5', Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 26.6 (C-2); 27.4 (C-3); 28.2 (OC(**C**H_3)$_3$); 39.8 (C-4); 48.2 (C-1); 52.3 (C1', **C**H_2NH); 54.9 (O**C**H_3); 77.2 (O**C**$(CH_3)_3$); 113.4 (C-2', C-6'); 129.0 (C-3', C-5'); 132.6 (C-1'); 155.5 (**C**=O); 158.0 (C-4').

[4-(2-Chloro-phénylméthylamino)-butyl]-carbamate de tert-butyle

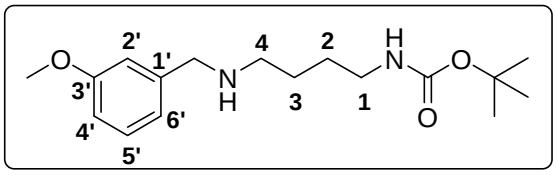


5c

Rdt (%): 85 (3.32 g)
Aspect: huile jaune
SMHR, *m/z*: 313.1683 trouvée (calculée pour $C_{16}H_{26}N_2O_2{}^{35}Cl$: 313.1686; $[M+H]^+$)

Le composé [4-(2-chloro-phénylméthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du {4-[(2-chloro-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle (3.85 g, 12.38 mmol, 1 éq) et de $NaBH_4$ (2.34 g, 61.90 mmol, 5 éq) selon le mode opératoire général.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.34-1.43 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3); 2.47-2.52 (m, 2H, CH_2, H-4); 2.88-2.92 (m, 2H, CH_2, H-1); 3.75 (s, C-1', C**H**$_2$NH, 2H); 6.77-6.80 (m, N**H**COO, 1H); 7.21-7.33 (m, 2H, H-4', H-5', Ar); 7.37-7.4 (m, 1H, H-6', Ar); 7.5-7.53 (m, 1H, H-3', Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 26.7 (C-2); 27.4 (C-3); 28,2 (OC(**C**H_3)$_3$); 39.8 (C-4); 48.5 (C-1); 50.0 (C-1', **C**H_2NH); 77.2 (O**C**$(CH_3)_3$); 126.9 (C-5'); 128.0 (C-4'); 128.9 (C-6'); 129.6 (C-3'); 132.5 (C-1'); 138.2 (C-2'); 155.5 (**C**OO).

[4-(3-Méthoxy-phénylméthylamino)-butyl]-carbamate de tert-butyle



5d

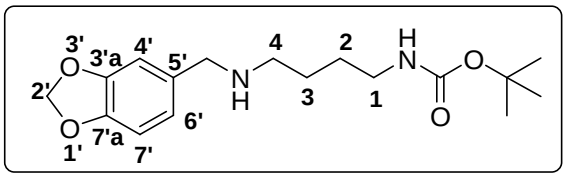
Rdt (%): 90 (2.67 g)
Aspect: huile rose pâle
SMHR, *m/z*: 309.2178 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{29}N_2O_3$: 309.2175; $[M+H]^+$)

Le composé [4-(3-méthoxy-phénylméthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du {4-[(3-méthoxy-benzylidène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle (2.93 g, 9.57 mmol, 1 éq) et de $NaBH_4$ (1.81 g, 47.83 mmol, 5 éq) selon le mode opératoire général.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.34-1.46 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3); 2.45 (t, *J*= 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-4); 2.89-2.91 (m, 2H, CH_2, H-1); 3.64 (s, 2H, C-1', C**H**$_2$NH); 3.74 (s, 3H, OC**H**$_3$); 6.75-6.80 (m, 1H, N**H**COO); 6.75-6.91 (m, 3H, H-4', H-5', H-6', Ar); 7.17-7.22 (m, 1H, H-2', Ar).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 26.8 (C-2); 27.4 (C-3); 28,2 (OC(**C**H$_3$)$_3$); 39.8 (C-4); 48.4 (C-1); 52.9 (C-1', **C**H$_2$NH); 54.8 (O**C**H$_3$); 77.2 (O**C**(CH$_3$)$_3$); 111.8 (C-5'); 113.2 (C-6'); 120.0 (C-4'); 128.9 (C-2'); 142.8 (C-1'); 155.5 (**C**OO); 159.2 (C-3').

{4-[(Benzo[1,3]dioxol-5-yl)méthylamino]-butyl}-carbamate de tert-butyle



5e

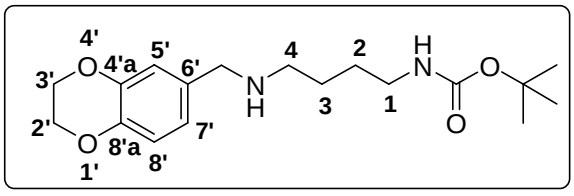
Rdt (%): 97 (3.65 g)
Aspect: huile jaune pâle
SMHR, *m/z*: 323.1971 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{27}N_2O_4$: 323.1971; $[M+H]^+$)

Le composé {4-[(benzo[1,3]dioxol-5-yl)méthylamino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du {4-[(benzo[1,3]dioxol-5-ylméthylène)amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle (3.72 g, 11.61 mmol, 1 éq) et de $NaBH_4$ (2.20 g, 58.05 mmol, 5 éq) selon le mode opératoire général

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.23-1.40 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3); 2.43 (t, *J*= 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-4); 2.89-2.91 (m, 2H, CH_2, H-1); 3.64 (s, 2H, C-5', C**H**$_2$NH); 5.96 (s, 2H, CH_2, H-2'); 6.73-6.82 (m, 1H, N**H**COO); 6.73-6.90 (m, 3H, H-4', H-6', H-7', Ar).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 26.8 (C-2); 27.4 (C-3); 28,2 (OC(**C**H$_3$)$_3$); 39.8 (C-4); 48.1 (C-1); 52.7 (C-5', **C**H$_2$NH); 77.2 (O**C**(CH$_3$)$_3$); 100.6 (C-2'); 107.7 (C-6'); 108.2 (C-7'); 120.8 (C-4'); 135.0 (C-5'); 145.7 (C-3'a ou C-7'a); 147.1 (C-3'a ou C-7'a); 155.5 (**C**OO).

{4-[(2,3-Dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-yl)méthylamino]-butyl}-carbamate de tert-butyle



5f

Rdt (%): 88 (3.16 g)
Aspect: huile jaune pâle
SMHR, *m/z*: 337.2127 trouvé (calculée pour $C_{18}H_{29}N_2O_4$: 337.2129; $[M+H]^+$)

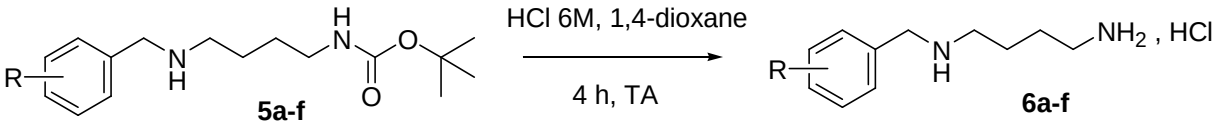
Le composé {4-[(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-yl)méthylamino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle est préparé à partir du {4-[(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylène)-amino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle (3.55 g, 10.62 mmol, 1 éq) et de $NaBH_4$ (2.01 g, 53.11 mmol, 5 éq) selon le mode opératoire général.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.37 (s, 9H, Me_3C); 1.33-1.43 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3); 2.42 (t, *J*= 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-4); 2.88-2.90 (m, 2H, CH_2, H-1); 3.53 (s, 2H, C-6', C**H**$_2$NH);

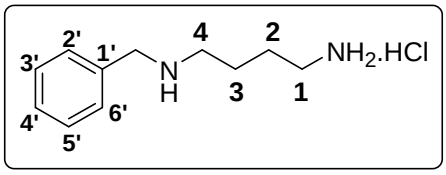
4.2 (s, 4H, CH_2, H-2', H-3'); 6.75-6.80 (m, N**H**COO, 1H); 6.75-6.80 (m, 3H, H-5', H-7', H-8', Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 26.8 (C-2); 27.4 (C-3); 28,2 (OC(**C**H_3)$_3$); 39.8 (C-4); 48.2 (C-1); 52.3 (C-6', **C**H_2NH); 63.9 (C-2' ou C-3'); 64.0 (C-2' ou C-3') ; 77.2 (O**C**(CH_3)$_3$); 116.4 (C-7'); 116.5 (C-8'); 120.6 (C-5'); 134.0 (C-6'); 141.9 (C-4'a ou C-8'a); 143.0 (C-4'a ou C-8'a); 155.5 (**C**OO).

Déprotection des amines

À une solution de [4-(arylméthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle (12.1 mmol) dans 80 mL de 1,4-dioxane sous vive agitation magnétique, est ajoutée une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 6 M (20 mL, 10 éq). Le mélange est maintenu sous agitation pendant 4 h à température ambiante. Le solvant de réaction est éliminé à l'évaporateur rotatif sous vide partiel. Le solide obtenu est ensuite trituré dans 50 mL d'éther, puis est collecté sur verre fritté de porosité N°4 et, lavé avec 50 mL d'éther. Le produit attendu est séché sous vide à l'aide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pendant 4 h à la température ambiante.



Chlorhydrate de N-1-phénylméthyl-butane-1,4-diamine

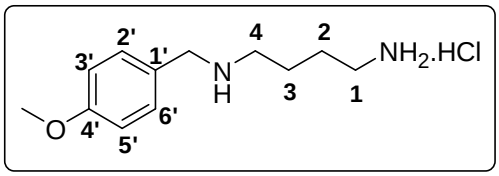


6a

Rdt (%): 84 (1.94 g)
Aspect: poudre jaune clair
F (°C): > 260
SMHR, *m/z*: 179.1548 trouvée (calculée pour $C_{11}H_{19}N_2$: 179.1547; $[M+H]^+$)

Le chlorhydrate *N*-1-phénylméthyl-butane-1,4-diamine est préparé selon le mode opératoire général à partir de [4-(phénylméthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle (2.97 g, 10.67 mmol).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.57-1.67 (m, 2H, CH_2, H-3); 1.70-1.81 (m, 2H, CH_2, H-2); 2.79 (t, *J*= 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-4); 2.89 (t, *J*= 7.5, 2H, CH_2, H-1); 4.10 (s, 2H, C-1', C**H**$_2$NH); 7.4-7.45 (m, 3H, H-3', H-4', H-5', Ar); 7.58-7.62 (m, 2H, H-2', H-6', Ar); 8.19 (s, 2H, N**H**$_2$); 9.57 (s, 1H, N**H**).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 22.3 (C-3); 24.0 (C-2); 38.0 (C-4); 45.5 (C-1); 49.7 (C-1', **C**H_2NH); 128.5 (C-3', C-5'); 128.8 (C-4'); 130.1 (C-2', C-6'); 132.0 (C-1').

Chlorhydrate de N-1-(4-méthoxy-phénylméthyl)-butane1,4-diamine

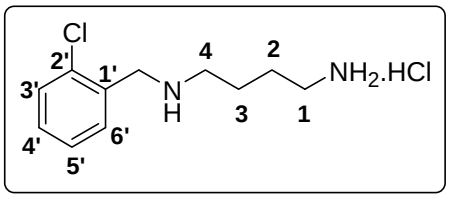


6b

Rdt (%): 97 (0.89 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): > 260
SMHR, *m/z*: 209.1654 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{21}N_2O$: 209.1655; $[M+H]^+$)

Le chlorhydrate *N*-1-(4-méthoxy-phénylméthyl)-butane-1,4-diamine est préparé selon le mode opératoire général à partir de [4-(4-méthoxyphénylméthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle (1.51 g, 4.88 mmol).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.57-1.66 (m, 2H, CH_2, H-3); 1.69-1.79 (m, 2H, CH_2, H-2); 2.77-2.84 (m, 4H, CH_2, H-1, H-4); 3.76 (s, 3H, OC**H**$_3$); 4.03 (s, 2H, C-1', C**H**$_2$NH); 6.97 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-2', H-6', Ar); 7.51 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3', H-5', Ar), 8.15 (s, 2H, N**H**$_2$); 9.41 (s, 1H, N**H**).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 22.3 (C-3); 24.0 (C-2); 38.0 (C-4); 45,3 (C-1); 49.2 (C-1', **C**H_2NH); 55.2 (O**C**H_3); 113.9 (C-2', C-6'); 123.7 (C-1'); 131.6 (C-3', C-5'); 159.6 (C-4').

Chlorhydrate de N-1-(2-chloro-phénylméthyl)-butane-1,4-diamine

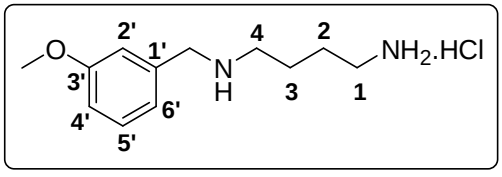


6c

Rdt (%): 99 (2.56 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 206-207
SMHR, *m/z*: 213.1159 trouvée (calculée pour $C_{11}H_{18}N_2{}^{35}Cl$: 213.1157; $[M+H]^+$)

Le chlorhydrate *N*-1-(2-chloro-phénylméthyl)-butane-1,4-diamine est préparé selon le mode opératoire général à partir de [4-(2-chlorophénylméthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle (3.22 g, 10.29 mmol).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.60-1.69 (m, 2H, CH_2, H-3); 1.74-1.84 (m, 2H, CH_2, H-2); 2.73-2.84 (m, 2H, CH_2, H-4); 2.93-3.02 (m, 2H, CH_2, H-1); 4.23 (t, *J*= 5.9 Hz, 2H, C-1', C**H**$_2$NH); 7.39-7.48 (m, 2H, H-4', H-5', Ar); 7.52-7.56 (m, 1H, H-6', Ar); 7.81-7.85 (m, 1H, H-3', Ar); 8.18 (s, 2H, N**H**$_2$); 9.68 (s, 1H, N**H**).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 22.3 (C-3); 24.0 (C-2); 38.0 (C-4); 46.1 (C-1); 46.7 (C-1', **C**H_2NH); 127.5 (C-5'); 129.5 (C-4'); 129.9 (C-1'); 130.7 (C-6'); 131.9 (C-3'); 133.5 (C-2').

Chlorhydrate de N-1-(3-méthoxy-phénylméthyl)-butane-1,4-diamine



6d

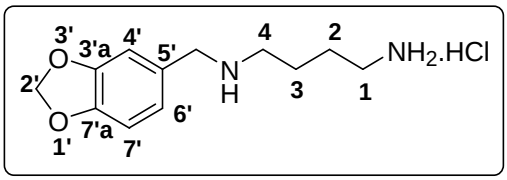
Rdt (%): 99 (2.04 g)
Aspect : poudre blanche
F (°C): 190-192
SMHR, *m/z*: 209.1654 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{21}N_2O$: 209.1654; $[M+H]^+$)

Le chlorhydrate *N*-1-(3-méthoxy-phénylméthyl)-butane-1,4-diamine est préparé selon le mode opératoire général à partir de [4-(3-méthoxyphénylméthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle (2.58 g, 8.28 mmol).

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.58-1.67 (m, 2H, CH_2, H-3); 1.71-1.81 (m, 2H, CH_2, H-2); 2.78 (t, *J*= 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-4); 2.87 (t, *J*= 7.6 Hz, 2H, CH_2, H-1); 3.77 (s, 3H, OC**H**$_3$); 4.08 (t, *J*= 5.6 Hz, 2H, C-1', C**H**$_2$NH); 6.94-6.97 (m, 1H, H-5', Ar); 7.12-7.14 (m, 1H, H-6', Ar); 7.29-7.35 (m, 2H, H-2', H-4', Ar); 8.18 (s, 2H, N**H**$_2$); 9.58 (s, 1H, N**H**).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 22.3 (C-3); 24.0 (C-2); 38.0 (C-4); 45.5 (C-1); 49.7 (C-1'**C**H_2NH); 55.2 (O**C**H_3); 114.5 (C-5'); 115.5 (C-6'); 122.0 (C-4'); 129.6 (C-2'); 133.4 (C-1'); 159.2 (C-3').

Chlorhydrate de N-1-benzo[1,3]dioxol-5-ylméthyl-butane-1,4-diamine



6e

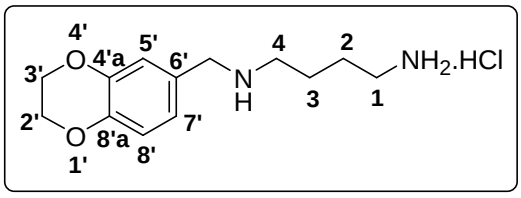
Rdt (%): 72 (2.03 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): >260
SMHR, *m/z*: 223.1447 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{19}N_2O_2$: 223.1447; $[M+H]^+$)

Le chlorhydrate *N*-1-(benzo[1,3]dioxol-5-ylméthyl-butane-1,4-diamine est préparé selon le mode opératoire général à partir de [4-(benzo[1,3]dioxol-5-yl-méthylamino)-butyl]-carbamate de *tert*-butyle (3.48 g, 10.78 mmol).

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.53-1.66 (m, 2H, CH_2, H-3); 1.67-1.76 (m, 2H, CH_2, H-2); 2.74-2.83 (m, 4H, CH_2, H-1, H-4); 4.01 (t, *J*= 5.5 Hz, 2H, C-5', C**H**$_2$NH); 6.04 (s, 2H, CH_2, H-2'); 6.94 (d, *J*= 7.9 Hz, 1H, H-6', Ar); 7.03-7.06 (m, 1H, H-7', Ar); 7.24-7.25 (m, 1H, H-4', Ar); 8.15 (s, 2H, N**H**$_2$); 9.45 (s, 1H, N**H**).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 22.3 (C-3); 24.0 (C-2); 38.0 (C-4); 45.2 (C-1); 49.4 (C-5', **C**H_2NH); 101.2 (C-2'); 108.2 (C-6'); 110.4 (C-7'); 124.1 (C-4'); 125.4 (C-5'); 147.2 (C-3'a, C-7'a); 147.6 (C-3'a, C-7'a).

Chlorhydrate de N-1-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthyl)-butane-1,4-diamine



6f

Rdt (%): 92 (2.31 g).
Aspect: poudre blanche
F (°C): 239-241
SMHR, *m/z*: 237.1603 trouvée (calculée pour $C_{13}H_{21}N_2O_2$: 237.1600; $[M+H]^+$)

Le chlorhydrate de *N*-1-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthyl)-butane-1,4-diamine est préparé selon le mode opératoire général à partir de {4-[(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-yl)méthylamino]-butyl}-carbamate de *tert*-butyle (3.07 g, 9.14 mmol).

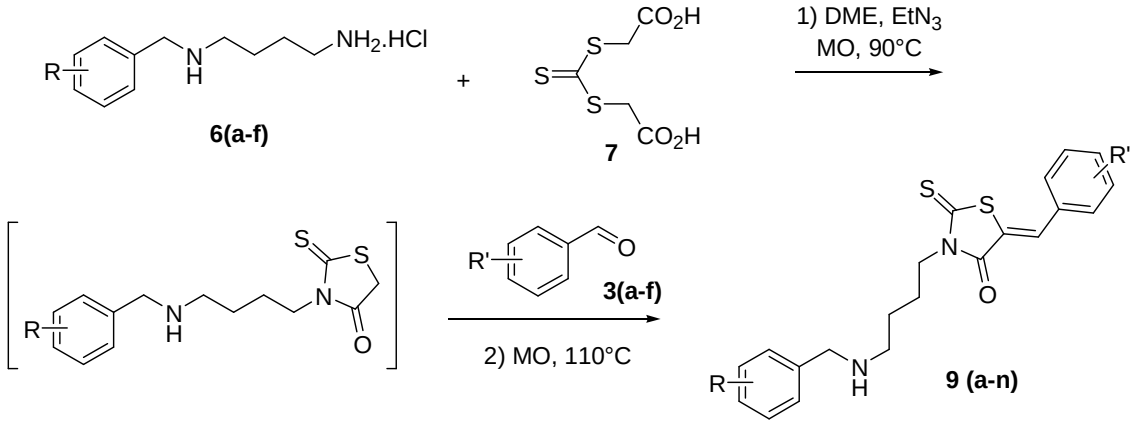
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.57-1.66 (m, 2H, CH_2, H-3); 1.68-1.78 (m, 2H, CH_2, H-2); 2.73-2.82 (m, 4H, CH_2, H-1, H-4); 3.97 (t, *J*= 5.4 Hz, 2H, C-6', C**H**$_2$NH); 4.24 (s, 4H, CH_2, H-2', H-3'); 6.87 (d, *J*= 8.2 Hz, 1H, H-7', Ar); 7.01-7.04 (m, 1H, H-8', Ar); 7.15 (m, 1H, H-5', Ar); 8.18 (s, 2H, N**H**$_2$); 9.43 (s, 1H, N**H**).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 22.3 (C-3); 24.0 (C-2); 38.0 (C-4); 45.2 (C-1); 49.1 (C-6'**C**H$_2$NH); 64.0 (C-2'); 64.1 (C-3'); 117.0 (C-7'); 119.0 (C-8'); 123.2 (C-5'); 124.7 (C-6'); 143.1 (C-4'a ou C-8'a); 143.8 (C-4'a ou C-8'a).

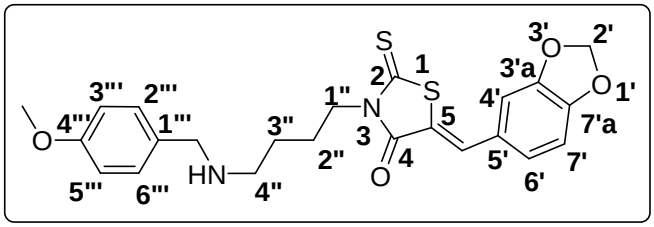
Synthèse "one pot-two steps" de *(5z)* 5-arylidène-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones.

Dans un tube cylindrique (volume = 10 mL) adapté au réacteur micro-onde Monowave® 300 de marque Anton-Parr, on ajoute successivement du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (0.131 g, 0,58 mmol), 2 mL de diméthoxyéthane, de la triéthylamine (2-3 équivalents *cf*. Tableau 4) et le chlorhydrate *N*-1-(arylméthyl)-butane-1,4-diamine (0,58 mmol, 1 éq). Ce tube cylindrique est ensuite clos avec un "snap-cap" et introduit dans la cavité du réacteur micro-onde. Le mélange réactionnel est chauffé à 90° C pendant un temps de réaction approprié (15-30 min.), avec une puissance de 300 W (puissance maximale autorisée). L'irradiation microonde est programmée avec une rampe de montée en température de 2 min. Après cette première phase de réaction, le tube est ouvert et l'aldéhyde aromatique (0.58 mmol, 1 éq) est ajouté au milieu réactionnel. Ce mélange est soumis à un nouveau chauffage à 110° C pendant un temps de réaction approprié (15-30 min.) sous irradiation micro-onde (P_{max}: 300 W - Rampe de température: 2 min).

Après refroidissement du milieu de réaction à la température ambiante, on ajoute 4 mL de méthanol afin de précipiter le composé attendu. Après un temps adéquat de décantation, ce précipité est ensuite collecté sur verre fritté de porosité N°4 puis est trituré dans 10 mL d'eau. Cette suspension est ensuite mise sous agitation magnétique pendant 24 h. Le produit insoluble est à nouveau collecté par filtration, lavé avec 5 mL d'eau, puis à nouveau trituré dans 5 mL d'éthanol pendant 3 h. Celui-ci est filtré, lavé successivement avec 5 mL d'éthanol, 5x2 mL d'éther et est finalement séché sous vide à l'aide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pendant 2 h.



(5Z) 3-[4-(4-Méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one

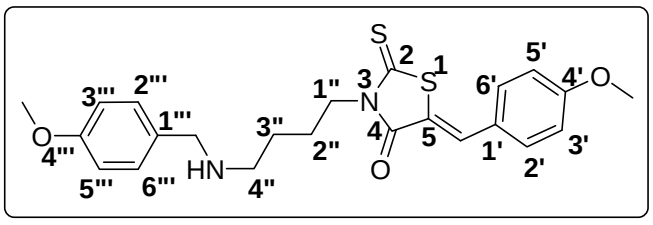


9a

Rdt (%): 10 (19 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 170-229 (décomposition)
λ_{max} (nm): 401.10; 288.01
SMHR, *m/z*: 457.1256 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{25}N_2O_4S_2$: 457.1253; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(4-méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(4-méthoxy-phénylméthyl)-butane1,4-diamine (100 mg, 0.41 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (92.5 mg, 0.41 mmol, 1 éq), de triéthylamine (124 mg, 0.17 mL, 1.22 mmol, 3 éq), de piperonaldéhyde (61.3 mg, 0.41 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 30 min. et une seconde de 30 min.
RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA :3): **δ** = 1.61-1.69 (m, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.05-3.11 (m, 2H, C1"', C**H**$_2$NH); 3.73 (s, 3H, OC**H**$_3$); 4.00-4.08 (m, 4H, CH_2, H-1", H-4"), 5.97 (s, 2H, CH_2, H-2'); 6.80-7.16 (m, 7H, H-2"', H-3"', H-5"', H-6"', H-4', H-6', H-7', Ar), 7.61 (s, 1H, C**H**=)
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 97:3): **δ** = 23.1 (C-2" ou C-3"); 23.8 (C-3" ou C-2"); 44.2 (C-4" ou C-1"); 47.0 (C1"', **C**H_2NH); 52.1 (C-1"ou C-4"); 55.5 (O**C**H_3); 102.2 (C-2'); 109.4 (C-2"', C-6"'); 109.5 (C-3"', C-5"'); 115.0 (C-6'); 120.0 (C-1"'); 127.5 (**C**=); 128.2 (C-7'); 131.2 (C-4'); 135.0 (**C**H=); 148.8 (C-5'); 148.9 (C-4"'); 150.6 (C-3'a); 150.9 (C-7'a); 169.4 (C=O); 192.9 (C=S).

(5Z) 3-[4-(4-Méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(4-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



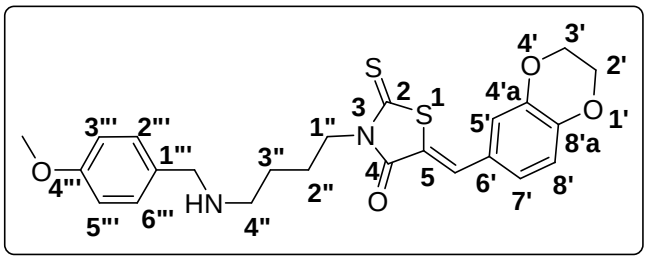
9b

Rdt (%): 6 (22 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 253-255
λ_{max} (nm): 399.00; 292.99
SMHR, *m/z*: 443.1463 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{27}N_2O_3S_2$: 443.1460; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(4-méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(4-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(4-méthoxy-phénylméthyl)-butane1,4-diamine (200 mg, 0.82 mmol, 1 éq), de *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (185 mg, 0.82 mmol, 1 éq), de triéthylamine (248 mg, 0.34 mL, 2.45 mmol, 3 éq), de *p*-anisaldéhyde (111.2 mg, 0.1 mL, 0.82 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 30 min et une seconde de 30 min
RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 1.67-1.73 (m, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.81 (s, 6H, OC**H**$_3$); 4.04-4.11 (s, 4H, CH_2, H-1", H-4"), 6.94 (dd, *J*= 8.8 Hz, 4H, H-2', H-6', H-2"', H-6"', Ar); 7.40 (d, *J*= 8.8 Hz, 4H, H-3', H-5', H-3"', H-5"', Ar); 7.67 (s, 1H, C**H**=).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 24.3 (C-2", C-3"); 44.0 (C-1", C-4"); 55.6 (O**C**H_3); 115.1 (C-2', C-6', C-2"', C-6"'); 119.6 (C-1', C-1"'); 126.0 (**C**=); 133.1 (C-3', C-5', C-3"', C-5"'); 130.5 (C-5', C-5"'); 134.6 (**C**H=); 162.0 (C-4', C-4"'); 169.0 (C=O); 193.2 (C=S).

(5Z) 3-[4-(4-Méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one.

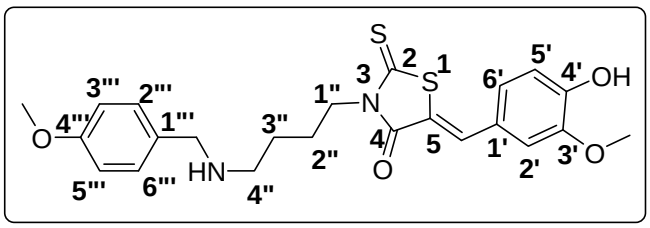


9c

Rdt (%): 5 (19.30 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 255-261
λ_{max} (nm): 403.98; 292.01
SMHR, *m/z*: 471.1412 trouvée (calculée pour $C_{24}H_{27}N_2O_4S_2$: 471.1413; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(4-méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(4-méthoxy-phénylméthyl)-butane1,4-diamine (200 mg, 0.82 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (185 mg, 0.82 mmol, 1 éq), de triéthylamine (248 mg, 0.34 mL, 2.45 mmol, 3 éq), de 1,4-benzodioxan-6-carboxaldéhyde (134.2 mg, 0.82 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 30 min. et une seconde de 30 min.
RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 97:3): **δ** = 1.68 (s, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.73 (s, 3H, OC**H**$_3$); 4.07 (s, 4H, CH_2, H-1", H-4"), 4.20-4.25 (m, 2H, CH_2, H-2', H-3'); 6.84-6.97 (m, 7H, H-5', H-7', H-8', H-2"', H-3"', H-5"', H-6"', Ar); 7.58 (s, 1H, C**H**=).
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 97:3): **δ** = 24.2 (C-2", C-3"); 44.1 (C-4", C-1"); 55.0 (O**C**H_3); 64.2 (C-2'); 64.8 (C-3'); 118.4 (C-5', C-7', C-8'); 119.7 (C-2"', C-6"'); 120.3 (**C**=); 125.7 (C-3"', C-5"'); 126.8 (C-6'); 135.0 (**C**H=); 143.9 (C-8'a); 146.7 (C-4'a); 169.5 (C=O); 193.2 (C=S).

(5Z) 3-[4-(4-Méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(4-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one.



9d

Rdt (%): 30 (57 mg)
Aspect: poudre rouge
F (°C): 191-193
λ_{max} (nm): 564.01; 425.01; 296.99
SMHR, *m/z*: 459.1412 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{27}N_2O_4S_2$: 459.1416; $[M+H]^+$)

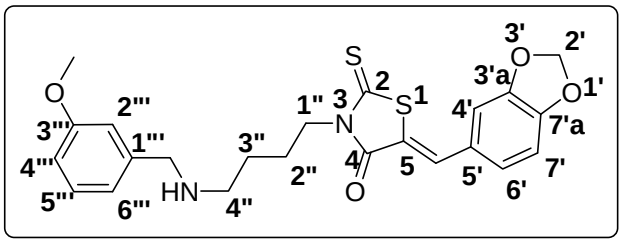
Le composé *(5Z)* 3-[4-(4-méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(4-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(4-méthoxy-phénylméthyl)-butane1,4-diamine (100 mg, 0.41 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (92.5 mg, 0.41 mmol, 1 éq), de triéthylamine (124 mg, 0.17 mL, 1.22 mmol, 3 éq), de 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldehyde ou

vanilline (62.2 mg, 0.41 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 30 min. et une seconde de 30 min.

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 95:5): **δ** = 1.69 (m, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.06-3.07 (m, 2H, C1"', C**H**$_2$NH); 3.72 (s, 3H, C-4"'OC**H**$_3$); 3.86 (s, 3H, C-3'OC**H**$_3$); 4.04-4.08 (m, 4H, CH_2, H-1", H-4"), 6.81-7.17 (m, 7H, H-2', H-5', H-6', H-2"', H-3"', H-5"', H-6"', Ar); 7.60 (s, 1H, C**H**=).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 95:5): **δ** = 23.1 (C-2" ou C-3"); 23.9 (C-2" ou C-3"); 43.1 (C-1" ou C-4"); 47.0 (C1"', **C**H$_2$NH); 55.5 (C-4"'O**C**H$_3$); 56.1 (C-3'O**C**H$_3$); 112.6 (C-6'); 115.0 (C-2"', C-6"'); 115.6 (C-2'); 118.9 (C-1"'); 121.2 (**C**=); 125.9 (C-1'); 126.8 (C-5'); 131.2 (C-3"', C-5"'); 135.9 (**C**H=); 147.2 (C-4"'); 148.9 (C-3'); 160.8 (C-4'); 169.4 (C=O); 193.1 (C=S).

(5Z) 3-[4-(3-Méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



9e

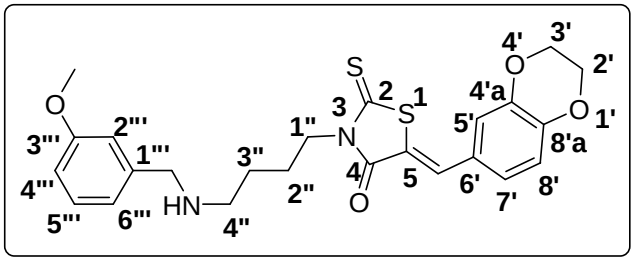
Rdt (%): 21 (40 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 178-246 (décomposition)
λ_{max} (nm): 405.99; 292.01
SMHR, *m/z*: 457.1256 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{25}N_2O_4S_2$: 457.1257; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(3-méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(3-méthoxy-phénylméthyl)-butane-1,4-diamine (100 mg, 0.41 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate (92.5 mg, 0.41 mmol, 1 éq), de triéthylamine (124 mg, 0.17 mL, 1.22 mmol, 3 éq), de pipéronaldehyde (61.3 mg, 0.41 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 15 min. et une seconde de 15 min.

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 1.82 (s, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.19-3.22 (m, 2H, C1"', C**H**$_2$NH); 3.83 (s, 3H, OC**H**$_3$); 4.13-4.23 (m, 4H, CH_2, H-1",H-4"), 6.10 (s, 2H, CH_2, H-2'); 6.92-7.28 (m, 6H, H-2"', H-4"', H-6"', H-4', H-6', H-7', Ar), 7.33-7.38 (m, 1H, H-5"', Ar), 7.70 (s, 1H, C**H**=)

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 23.1 (C-2" ou C-3"); 23.9 (C-3" ou C-2"); 42.9 (C-4"ou C-1"); 46.8 (C1"', **C**H$_2$NH); 52.1 (C-1"ou 4"); 55.3 (O**C**H$_3$); 102.1 (C-2'); 109.3 (C-6"'); 109.4 (C-5"'); 114.9 (C-4"'); 115.9 (C-2"'); 119.8 (C-1"'); 121.8 (C-6'); 127.4 (**C**=); 127.6 (C-5'); 127.9 (C-7');130.7 (C-4'); 134.5 (C=**C**H); 148.8 (C-7'a); 150.5 (C-3'a); 160.3 (C-3"'); 168.5 (C=O); 193.1 (C=S).

(5Z) 3-[4-(3-Méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



9f

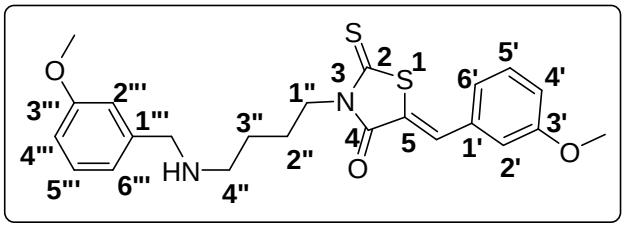
Rdt (%): 9 (17.9 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 247-251
λ_{max} (nm): 410.00; 292.01
SMHR, *m/z*: 471.1412 trouvée (calculée pour $C_{24}H_{27}N_2O_4S_2$: 471.1415; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(3-méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(3-méthoxy-phénylméthyl)-butane-1,4-diamine (150 mg, 0.61 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (138.7 mg, 0.61 mmol, 1 éq), de triéthylamine (186 mg, 0.26 mL, 1.84 mmol, 3 éq) et de 1,4-benzodioxan-6-carboxaldéhyde (100.6 mg, 0.61 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 15 min. et une seconde de 15 min.

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 95:5): **δ** = 1.84 (s, 4H, CH_2, H-2'', H-3''); 3.95 (s, 3H, OC**H**$_3$); 4.23 (s, 4H, CH_2, H-1'', H-4''); 4.37-4.40 (m, 4H, H-2', H-3'); 6.99-7.28 (m, 6H, H-2''', H-4''', H-5''', H-6''', H-5', H-7', H-8', Ar); 7.74 (s, 1H, C**H**=).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 95:5): **δ** = 24.1 (C-2'', C-3''); 44.1 (C-1'', C-4''); 64.2 (C-2'); 64.8 (C-3'); 118.5 (C-5', C-7', C-8'); 119.8 (C-4''', C-6'''); 125.9 (C-2''', C-5'''); 126.8 (**C**=); 135.3 (**C**H=); 143.8 (C-8'a); 146.6 (C-4'a); 193.3 (C=S).

(5Z) 3-[4-(3-Méthoxyphenylméthylamino)butyl]-5-(3-méthoxybenzylidene)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



9g

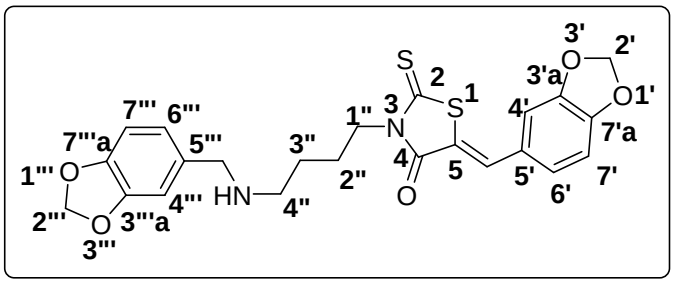
Rdt (%): 5 (19 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 225-227
λ_{max} (nm): 105.19; 292.99
SMHR, *m/z*: 443.1463 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{27}N_2O_3S_2$: 443.1465; $[M+H]^+$).

Le composé (*5Z*) 3-[4-(3-méthoxyphénylméthylamino)butyl]-5-(3-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(3-méthoxy-phénylméthyl)-butane-1,4-diamine (200 mg, 0.82 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (185 mg, 0.82 mmol, 1 éq), de triéthylamine (248 mg, 0.34 mL, 2.45 mmol, 3 éq), de *m*-anisaldéhyde (111.2 mg, 0.1 mL, 0.82 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 30 min et une seconde de 30 min.

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 1.73 (s, 4H, CH_2, H-2'', H-3''); 3.80 (s, 6H, OC**H**$_3$); 4.11 (s, 4H, CH_2, H-1'', H-4''), 6.93-6.96 (m, 4H, H-2', H-6', H-2''', H-6''', Ar); 7.04 (d, *J*= 7.7 Hz, 2H, H-4', H-4''', Ar), 7.32 (m, 2H, H-5', H-5''', Ar), 7.66 (s, 1H, C**H**=).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 24.3 (C-2", C-3"); 44.0 (C-1", C-4"); 55.5 (O**C**H_3); 115.3 (C-6', C-6'"); 117.3 (C-2', C-2'"); 123.1 (**C**=); 123.6 (C-4', C-4'"); 130.5 (C-5', C-5'"); 134.0 (**C**H=); 134.5 (C-1', C-1'"); 160.0 (C-3', C-3'"); 168.5 (C=O); 193.3 (C=S)

(5Z) 3-[4-(1,3-Benzodioxol-5-ylméthylamino)butyl]-5-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one.

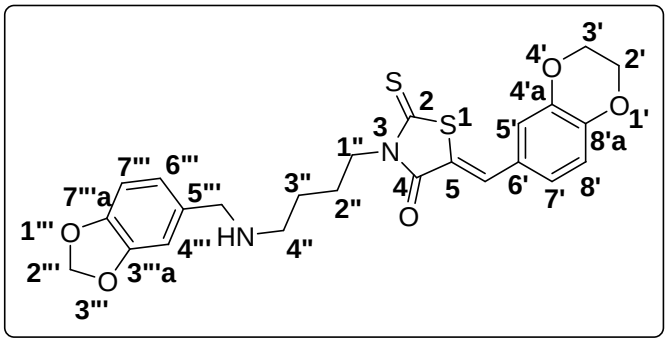


9h

Rdt (%): 59 (115 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 245-256
λ_{max} (nm): 410.00; 292.01
SMHR, *m/z*: 471.1048 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{23}N_2O5S_2$: 471.1049; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylamino)butyl]-5-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-benzo[1,3]dioxol-5-ylméthyl-butane-1,4-diamine (106 mg, 0.41 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (92.5 mg, 0.41 mmol, 1 éq), de triéthylamine (82.7 mg, 0.11 mL, 0.82 mmol, 2 éq), de pipéronal (61.3 mg, 0.41 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 15 min. et une seconde de 15 min.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6/TFA 97:3): **δ** = 1.74 (s, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.04-3.05 (m, 2H, C5'", C**H**$_2$NH); 4.05-4.07 (m, 4H, CH_2, H-1", H-4"); 5.91 (s, 2H, CH_2, H-2'"); 6.00 (s, 2H, CH_2, H-2'); 6.72-7.01 (m, 6H, H-4', H-6', H-7', H-4'", H-6'", H-7'", Ar); 7.58 (s, C**H**=, 1H).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6/TFA 97:3): **δ** = 23.1 (C-2" ou C-3"); 24.0 (C-3"); 43.1 (C-1" ou C-4"); 46.5 (C5'", **C**H_2NH); 51.9 (C-4" ou C-1"); 101.8 (C-2' ou C-2'"); 102.2 (C-2'" ou C-2'); 109.0 (C-6'"); 109.3 (C-6'); 109.4 (C-7'"); 109.8 (C-7'); 119.8 (C-5'"); 122.6 (**C**=); 124.3 (C-4'"); 127.4 (C-4'); 128.1 (C-5'); 134.9 (**C**H=); 148.6 (C-7'a); 148.9 (C-3'a); 149.2 (C-7'"a); 150.6 (C-3'"a); 168.9 (C=O); 193.0 (C=S).

(5Z) 3-[4-(1,3-Benzodioxol-5-ylméthylamino)butyl]-5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one.



9i

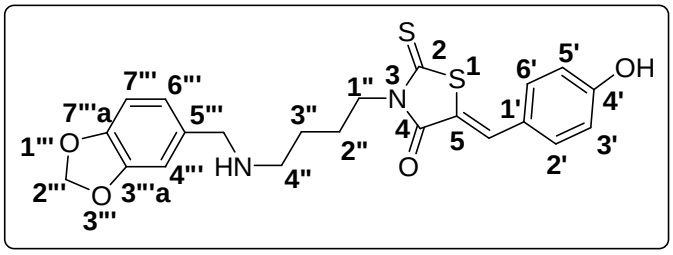
Rdt (%): 59 (117 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 253-257
λ_{max} (nm): 405.99; 290.01
SMHR, *m/z*: 485.1205 trouvée (calculée pour $C_{24}H_{25}N_2O_5S_2$: 485.1203; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylamino)butyl]-5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-benzo[1,3]dioxol-5-ylméthyl-butane-1,4-diamine (106 mg, 0.41 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (92.5 mg, 0.41 mmol, 1 éq), de triéthylamine (82.7 mg, 0.11 mL, 0.82 mmol, 2 éq), du 1,4-benzodioxan-6-carboxaldéhyde (67.1 mg, 0.41 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 15 min. et une seconde de 15 min.

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 97:3): **δ** = 1.68 (s, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.05-3.06 (m, 2H, C5"', C**H**$_2$NH); 4.03-4.04 (m, 4H, CH_2, H-1", H-4"); 4.20-4.25 (m, 4H, CH_2, H-2', H-3'); 5.89 (s, 2H, CH_2, H-2"'); 6.70 (s, 3H, H-4"', H-6"', H-7"', Ar); 6.85-6.96 (m, 3H, H-5', H-7', H-8', Ar); 7.55 (s, 1H, C**H**=)

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 97:3): **δ** = 23.1 (C-2" ou C-3"); 23.8 (C-3" ou C-2"); 43.1 (C-1" ou C-4"); 47.0 (C5"', **C**H$_2$NH); 52.4 (C4" ou C-1"); 64.2 (C-2' ou C-3'); 64.8 (C-3' ou C-2'); 101.8 (C-2"'); 109.1 (C-6"'); 109.5 (C-7"'); 118.5 (C-7'); 119.7 (C-5"'); 119.8 (C-8'); 122.3 (**C**=); 124.1 (C-4"'); 125.9 (C-5'); 126.6 (C-6'); 135.5 (**C**H=); 144.0 (C-7"'a); 146.9 (C-3"'a); 148.6 (C-8'a); 149.4 (C-4'a); 169.5 (C=O); 193.2 (C=S).

(5Z) 3-[4-(1,3-Benzodioxol-5-ylméthylamino)butyl]-5-(4-hydroxy-benzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



9j

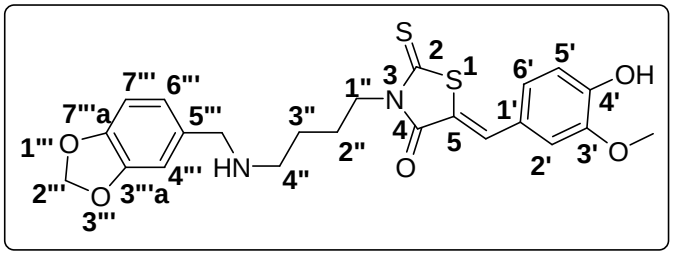
Rdt (%): 34 (31 mg)
Aspect: poudre orange
F (°C): 93-124 (décomposition)
λ_{max} (nm): 543.01; 407.01; 292.01
SMHR, *m/z*: 443.1099 trouvée (calculée pour $C_{22}H_{23}N_2O_4S_2$: 443.1095; $[M+H]^+$)

Le composé *(5Z)* 3-[4-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylamino)butyl]-5-(4-hydroxy-benzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-benzo[1,3]dioxol-5-ylméthyl-butane-1,4-diamine (53 mg, 0.20 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (46.2 mg, 0.20 mmol, 1 éq), de triéthylamine (41.3 mg, 0.06 mL, 0.40 mmol, 2 éq), de 4-hydroxybenzaldéhyde (25 mg, 0.20 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 15 min. et une seconde de 15 min. La précipitation pour ce composé s'est faite au bout de 5 jours de repos à température ambiante.

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 1.59-1.73 (m, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.01-3.13 (m, 2H, C5"', C**H**$_2$NH); 4.00-4.05 (m, 4H, C**H**$_2$, H-1", H-4"); 5.88 (s, 2H, CH_2, H-2"'); 6.66-6.69 (m, H-4"', H-6"', H-7"', Ar); 6.86 (dd, *J*= 8.7 Hz, 2H, H-2', H-6', Ar); 7.32 (dd, *J*= 8.7 Hz, 2H, H-3', H-5', Ar); 7.60 (s, C**H**=, 1H)

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 22.5 (C-2" ou C-3"); 23.2 (C-3" ou C-2"); 42.5 (C-1" ou C-4"); 46.4 (C5"', **C**H$_2$NH); 51.9 (C-4" ou C-1"); 101.2 (C-2"'); 108.5 (C-6"'); 108.8 (C-7"'); 116.1 (C-2', C-6'); 118.6 (C-5"'); 121.7 (**C**=); 123.4 (C-4"'); 125.6 (C-1'); 132.9 (C-3', C-5'); 134.8 (**C**H=); 148.0 (C-7"'a); 148.8 (C-3"'a); 157.6 (C-4'); 169.0 (C=O); 192.6 (C=S).

(5Z) 3-[4-(1,3-Benzodioxol-5-ylméthylamino)butyl]-5-(4-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



9k

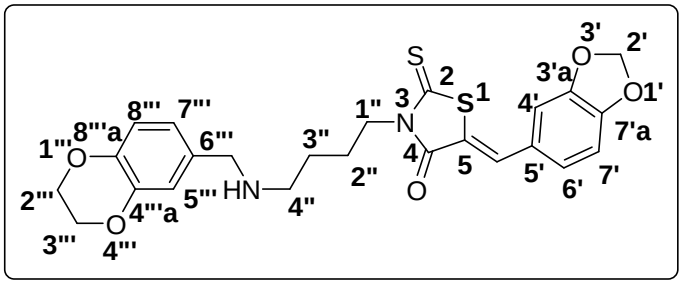
Rdt (%): 46 (90.2 mg)
Aspect: poudre rouge
F (°C): 200-203
λ_{max} (nm): 564.01; 422.01; 293.00
SMHR, *m/z*: 473.1205 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{25}N_2O_5S_2$: 473.1206; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylamino)butyl]-5-(4-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-benzo[1,3]dioxol-5-ylméthyl-butane-1,4-diamine (106 mg, 0.41 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (92.5 mg, 0.41 mmol, 1 éq), de triéthylamine TEA (124 mg, 0.17 mL, 1.22 mmol, 3 éq), de 4-hydroxy-3-méthoxybenzaldehyde ou vanilline (62.2 mg, 0.41 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 30 min. et une seconde de 30 min.

RMN ^{1}H (300 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 1.71 (s, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.05-3.06 (m, 2H, C5"', C**H**$_2$NH); 3.88 (s, 3H, OC**H**$_3$); 4.04 (s, 4H, CH_2, H-1", H-4"); 5.91 (s, 2H, CH_2, H-2"'); 6.74 (s, 3H, H-4"', H-6"', H-7"', Ar); 6.87-7.02 (m, 3H, H-2', H-5', H-6', Ar); 7.58 (s, 1H, C**H**=).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$/TFA 98:2): **δ** = 23.1 (C-2" ou C-3"); 23.9 (C-3" ou C-2"); 42.9 (C-1" ou C-4"); 46.6 (C5"', **C**H$_2$NH); 52.1 (C-4" ou C-1"); 56.1 (O**C**H$_3$); 101.8 (C-2"'); 109.0 (C-6"'); 109.6 (C-7"'); 112.3 (C-6')); 115.5 (C-2'); 119.1 (C-5"'); 122.7 (**C**=); 124.0 (C-5'); 125.8 (C-1'); 126.5 (C-4"'); 134.9 (**C**H=); 147.1 (C-3'); 148.6 (C-7"'a); 148.8 (C-4'); 149.2 (C-3"'a); 168.5 (C=O); 193.2 (C=S).

(5Z) 3-[4-(2,3-Dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylamino)butyl]-5-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one.



9l

Rdt (%): 15 (20 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 172-233 (décomposition)
λ_{max} (nm): 410.00; 292.01
SMHR, *m/z*: 485.1205 trouvée (calculée pour $C_{24}H_{25}N_2O_5S_2$: 485.1206; $[M+H]^+$)

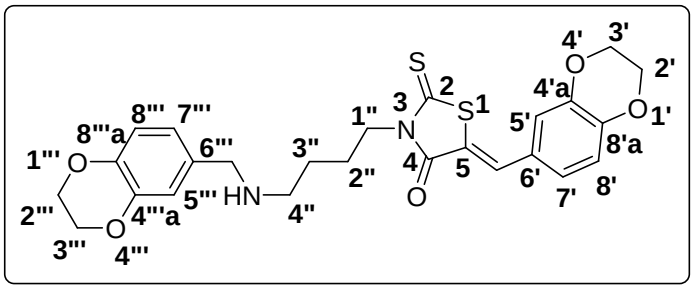
Le composé *(5Z)* 3-[4-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylamino)butyl]-5-(1,3-benzodioxol-5-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthyl)-butane-1,4-diamine (75 mg, 0.27 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (62.2 mg, 0.27 mmol, 1 éq), de triéthylamine (83.5 mg, 0.12 mL, 0.82 mmol, 3 éq), de

pipéronaldéhyde (41.3 mg, 0.27 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 15 min. et une seconde de 15 min.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6/TFA 97:3): **δ** = 1.66-1.69 (m, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.03-3.10 (m, 2H, C6"', C**H**$_2$NH); 4.03-4.07 (m, 4H, CH_2, H-1", H-4"); 4.16-4.19 (m, 4H, CH_2, H-2"', H-3"'); 5.97 (s, 2H, CH_2, H-2'); 6.66-7.00 (m, 6H, H-4', H-6', H-7', H-5"', H-7"', H-8"', Ar); 7.59 (s, 1H, C**H**=)

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6/TFA 97:3): **δ** = 23.8 (C-2" ou C-3"); 24.2 (C-3"); 43.1 (C-1" ou C-4"); 47.0 (C6"', **C**H_2NH); 52.1 (C-4" ou C-1"); 64.2 (C-2"'); 64.4 (C-3"'); 102.2 (C-2'); 109.4 (C-7"'); 109.5 (C-8"'); 118.5 (C-5"'); 119.5 (C-6"'); 122.0 (**C**=); 122.9 (C-6'); 127.3 (C-5'); 128.2 (C-7'); 135.0 (C-4'); 135.5 (**C**H=); 143.9 (C-4"'a); 145.1 (C-8"'a); 150.6 (C-3'a); 150.8 (C-7'a); 193.0 (C=S).

(5Z) 3-[4-(2,3-Dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylamino)butyl]-5-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



9m

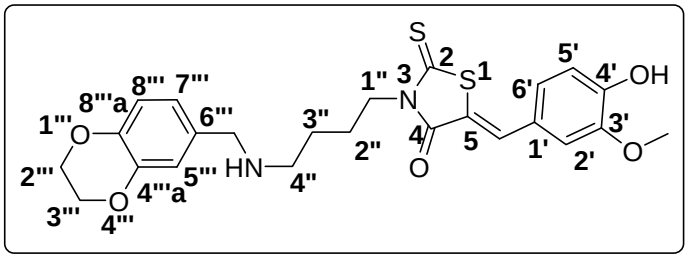
Rdt (%): 7 (30 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 170-243 (décomposition)
λ_{max} (nm): 403.98; 290.01
SMHR, *m/z*: 499.1361 trouvée (calculée pour $C_{25}H_{27}N_2O_5S_2$: 499.1366; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylamino)butyl]-5-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthyl)-butane-1,4-diamine (224 mg, 0.82 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (185 mg, 0.82 mmol, 1 éq), de triéthylamine (248 mg, 0.34 mL, 2.45 mmol, 3 éq), du 1,4-benzodioxan-6-carboxaldéhyde (134.2 mg, 0.61 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 30 min. et une seconde de 30 min.

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6/TFA 98:2): **δ** = 1.64-1.69 (m, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.04-3.10 (m, 2H, C6"', C**H**$_2$NH); 4.03-4.08 (m, 4H, CH_2, H-1", H-4"); 4.16-4.23 (m, 8H, CH_2, H-2', H-3', H-2"', H-3"'); 6.75-7.57 (m, 6H, H-5', H-7', H-8', H-5"', H-7"', H-8"', Ar); 8.77 (s, 1H, C**H**=)

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6/TFA 98:2): **δ** = 24.2 (C-2", C-3"); 44.0 (C-1", C-4"); 64.2 (C-2', C-2"'); 64.8 (C-3', C-3"'); 118.4 (C-7', C-7"'); 119.6 (C-8', C-8"'); 120.3 (**C**=); 125.6 (C-5', C-5"'); 126.8 (C-6', C-6"'); 134.5 (**C**H=); 144.0 (C-8'a, C-8"'a); 146.6 (C-4'a, C-4"'a); 166.6 (C=O); 182.5 (C=S).

(5Z) 3-[4-(2,3-Dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylamino)butyl]-5-(4-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



9n

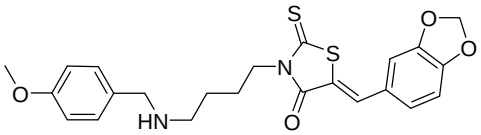
Rdt (%): 34 (68 mg)
Aspect: poudre rouge
F (°C): 202-204
λ_{max} (nm): 401.01; 292.99
SMHR, *m/z*: 487.1361 trouvée (calculée pour $C_{24}H_{27}N_2O_5S_2$: 487.1359; $[M+H]^+$).

Le composé *(5Z)* 3-[4-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthylamino)butyl]-5-(4-hydroxy-3-méthoxybenzylidène)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de *N*-1-(2,3-dihydro-benzo[1,4]dioxin-6-ylméthyl)-butane-1,4-diamine (112 mg, 0.41 mmol, 1 éq), du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (92.5 mg, 0.41 mmol, 1 éq), de triéthylamine (124 mg, 0.17 mL, 1.22 mmol, 3 éq), de vanilline (62.2 mg, 0.41 mmol, 1 éq) avec une première période d'irradiation de 30 min. et une seconde de 30 min.

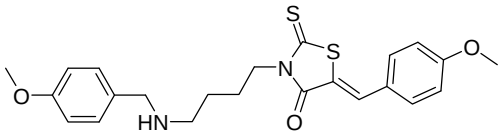
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6/TFA 95:5): **δ** = 1.69 (s, 4H, CH_2, H-2", H-3"); 3.06 (s, 2H, C6"', C**H**$_2$NH); 3.86 (s, 3H, OC**H**$_3$); 4.03 (s, 4H, CH_2, H-1", H-4"); 4.16 (s, 4H, CH_2, H-2"', H-3"'); 6.67-7.03 (m, 6H, H-2', H-5', H-6', H-5"', H-7"', H-8"', Ar); 7.60 (s, 1H, C**H**=C).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6/TFA 95:5): **δ** = 23.1 (C-2" ou C-3"); 23.8 (C-3" ou C-2"); 43.1 (C-1" ou C-4"); 47.0 (C6"', **C**H$_2$NH); 52.1 (C-4" ou C-1"); 56.1 (O**C**H$_3$); 64.4 (C-2"' ou C-3"'); 64.4 (C-3"' ou C-2"'); 112.6 (C-6'); 115.6 (C-2'); 118.4 (C-7"'); 118.6 (C-8"'); 119.0 (C-6"'); 122.0 (**C**=); 122.9 (C-5"'); 125.9 (C-1'); 126.8 (C-5'); 135.9 (**C**H=); 143.9 (C-8"'a); 145.1 (C-3'a); 147.2 (C-4"'a); 148.9 (C-4');169.4 (C=O); 193.1 (C=S).

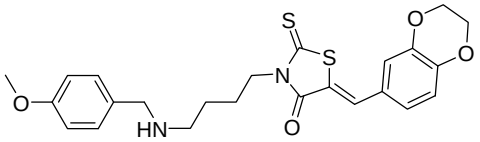
RÉCAPITULATIF DES COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS



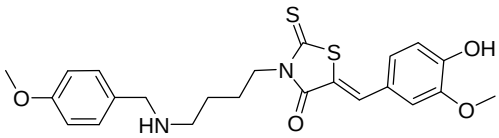
9a



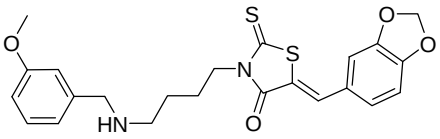
9b



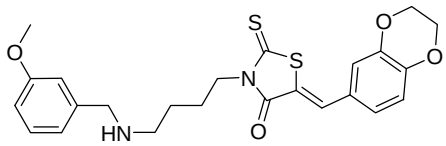
9c



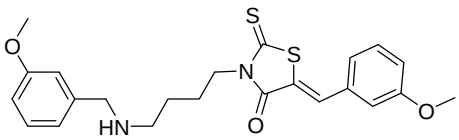
9d



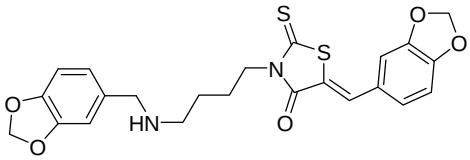
9e



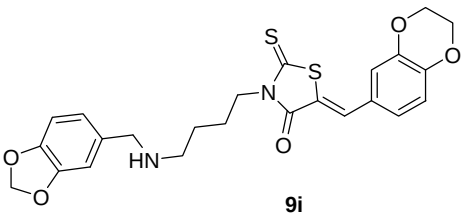
9f



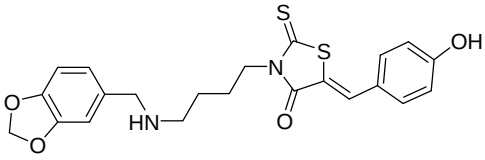
9g



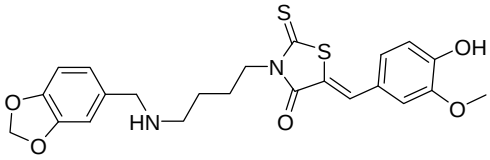
9h



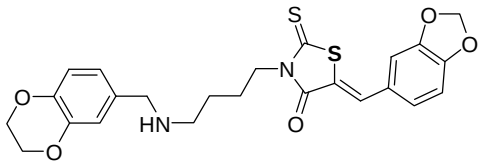
9i



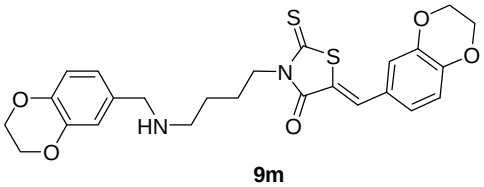
9j



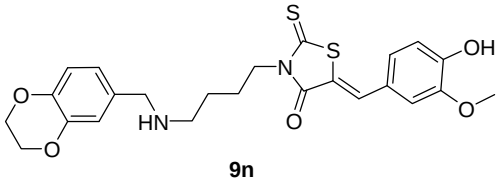
9k



9l



9m



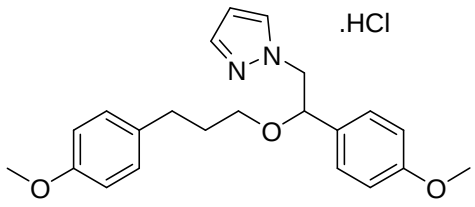
9n

CHAPITRE 2:

SYNTHÈSE D'ANALOGUES DU SKF-96365 COMPORTANT DES PLATEFORMES PYRAZOLE ET RHODANINE (1)

Introduction

Au cours de cette dernière décennie, il a été mis en évidence l'implication des canaux ioniques, en particulier les canaux calciques tels que les canaux CRAC, dans le développement de plusieurs cancers (*cf.* Partie 1, Chapitre 1). Malgré le fait que plusieurs études soient menées sur le sujet et que ces canaux ioniques soient facilement accessibles par la modulation chimique, il n'existe à ce jour aucun modulateur spécifique commercialisé des canaux calciques impliqués dans des cancers comme celui de la prostate ou du sein. En effet, les composés modulant les canaux calciques, notamment les canaux SOCE (Store Operating Calcium Entry) qui nous intéressent ici, inhibent également d'autres types de canaux ioniques à des concentrations similaires faisant ainsi preuve d'une très mauvaise sélectivité.[1] Ce manque de sélectivité constitue le principal handicap de ces composés. L'un de ces inhibiteurs non spécifiques est le SKF-96365 (Figure 1) qui a retenu notre attention pour cette étude. En effet, la seconde partie de nos travaux à consister à développer une nouvelle classe de composés analogues du SKF-96365 avec des plateformes rhodanine et pyrazole. Le but étant la potentielle modulation de ces canaux SOCE et plus précisément la modulation de la protéine Orai 1, principale composante du canal CRAC qui est considéré comme le prototype des SOCEs.[2]



SKF-96365

Figure 1: Structure moléculaire du SKF-96365.

I. SKF-96365

Le SKF-96365 ou chlorhydrate de 1-[β-[3-(4-méthoxyphényl)propoxy]-4-méthoxyphénéthyl]-1*H*-imidazole est un composé dérivé de l'imidazole, synthétisé pour la première fois au sein des laboratoires de la société britannique GlaxoSmithKline (GSK), anciennement Smith, Kline & French (SK&F). Le SKF-96365, à notre connaissance (sur la base de nos recherches bibliographiques), n'a pas été l'objet d'un brevet par la société SK&F et est actuellement commercialisé par plusieurs entreprises. Il a été mentionné pour la première fois par Merrit et coll. en 1989, dans une communication de la British

1 Franzius D., Hoth M., Penner R., *Pflugers Arch* **1994**, *428*, 433-8.

2 a) Feske S., *Nat. Rev. Immunol*. **2007**, *7*, 690-702. b) Cahalan M.D., Zhang S.L., Yeromin A.V., Ohlsen K., Roos J., Stauderman K.A., *Cell Calcium* **2007**, *42*, 133-144. c) Potier M., Trebak M., *Pfluegers Arch*. **2008**, *457*, 405-415. d) Frischauf I., Schindl R., Derler I., Bergsmann J., Fahrner M., Romanin C., *Channels* **2008**, *2*, 261-268. e) Soboloff J., Spassova M.A., Tang, X.D., Hewavitharana T., Xu W., Gill D.L., *J. Biolog. Chem.* **2006**, *281*(30), 20661-20665.

Pharmacological Society[3], concernant ses effets sur les plaquettes humaines, résultats qui ont été publiés plus tard en 1990[3b]. En effet, ces travaux présentaient un nouveau composé, le SKF-96365, identifié comme étant un inhibiteur des récepteurs médiés par les entrées calciques (RMCE/Receptor-Mediated Calcium Entry). Dans la pratique, les différents tests réalisés ont montré que le SKF-96365 inhibait sélectivement les RMCE dans les plaquettes, les neutrophiles et les cellules endothéliales, avec une CI_{50} minimale de 8,5 µM. Cette capacité du SKF-96365 à inhiber les canaux calciques voltage-dépendants a par la suite été également confirmée par les travaux de Mason et coll.[4] en 1991, puis Graier et coll.[5] en 1992.

Plusieurs autres auteurs se sont par la suite intéressés au SKF-96365. Ainsi, Mason et coll.[6], ont montré en 1993, que le SKF-96365 est également un puissant inhibiteur des entrées de Ca^{2+} et Mn^{2+} activées par la déplétion des réserves calciques intracellulaires induites par la Thapsigargine et un puissant inhibiteur du réticulum sarcoplasmique* Ca^{2+}-ATPase. Selon Chung et coll.[7], le SKF-96365 serait le premier inhibiteur organique déclaré des courants calciques I_{CRAC} car les inhibant dans les cellules T avec une CI_{50} de 12 µM.

Le SKF-96365, en plus d'inhiber puissamment les canaux TRPC ("transient receptor potential canonical" type), est également un puissant inhibiteur des canaux calciques T-type LVA (low-voltage-activated)[8]. La toxine MTX (dinoflagellate toxin maitotoxin) entraîne une augmentation soutenue de Ca^{2+} dans les cellules de gliome C6. Cette réponse a été inhibée par SKF-96365 à hauteur de 75 % pour une concentration de 30 µM.[9]

En plus des canaux calciques susmentionnés, il a été démontré que le SKF-96365 inhibait également les canaux potassiques dans les cellules endothéliales[10] et les canaux chroriques[1].

Du point de vue thérapeutique, le SKF-96365 est aussi efficace dans la prévention de l'hyperalgésie* thermique et mécanique primaire, que contre la nociception* spontanée persistante.[11] L'inhibition des SOCEs au niveau des cellules PC12 par le SKF-96365, aurait également un effet thérapeutique contre la maladie de Parkinson.[12] En outre, en tant qu'inhibiteur de l'entrée capacitive du calcium dans plusieurs différentes cellules, le SKF-96365, se positionne aussi comme un puissant inducteur de l'apoptose.[13]

Plusieurs études ont démontré que le SKF-96365 inhibe le courant calcique (I_{crac}) et les SOCEs avec des concentrations de l'ordre du micromolaire.[1,14] Cependant, comme nous

---

3 a) Merritt J.E., Armstrong W.P., Hallam T.J., Jaxa-Chamiec A., Leigh B.K., Moores K.E., Rink, T.J., *Br. J. Pharmacol*. **1989b**, *98*, 674P. b) Merritt J.E., Armstrong W.P., Benham C.D., Hallam T.J., Jacob R., Jaxachamiec A., Leigh B.K., McCarthy S.A., Moores K.E., Rink T.J., *Biochem. J*. **1990**, *271*, 515-522.

4 Mason M.J., Mahaut-Smith M.P., Grinstein S., *J. Biolog. Chem*. **1991**, *266*(17), 10872-10879.

5 Graier W.F., Groschner K., Schmidt K., Kukovetz W.R., *Biochem. Biophys. Res. Commun*. **1992**, *186*, 1539-1545.

6 Mason M.J., Mayer B., Hymel L.J., *Americ. J. Physiol.-Cell Physiol.* **1993**, *264*(3), C654-C662.

7 Chung S.C., McDonald T.V., Gardner P., *British J. Pharmacol.* **1994**, *113*(3), 861-868.

8 Singh A., Hildebrand M.E., Garcia E., Snutch T.P., *British J. Pharmacol.* **2010**, *160*(6), 1464-1475.

9 Soergel D.G., Yasumoto T., Daly J.W., Gusovsky F., *Molecular Pharm.* **1992**, *41*(3), 487-493.

10 Schwarz G., Droogmans G., Nilius B., *Cell calcium* **1994**, *15*(1), 45-54.

11 Ding J., Zhang J.-R., Wang Y., Li C.-L., Lu D., Guan S.-M., Chen J., *Neurosc. Bull.* **2012**, *28*(2), 173-181.

12 Chen T., Zhu J., Zhang C., Huo K., Fei Z., Jiang X.F., *PloS one* **2013**, *8*(1), e55601.

13 Williams S.S., French J.N., Gilbert M., Rangaswami A.A., Walleczek J., Knox S.J., *Cancer Res.* **2000**, *60*(16), 4358-4361.

14 a) Prakriya M., Lewis R.S., *J. General Physiol*. **2002**, *119*(5), 487-508. b) Kozak, J. A., Kerschbaum, H. H., Cahalan, M. D., *J. General Physiol.* **2002**, *120*(2), 221-235.

pouvons le constater avec cette revue documentaire, l'action du SKF-96365 sur les canaux CRAC, bien qu'établie, est non spécifique.

II. PLATEFORMES RHODANINES ET PYRAZOLES

Comme précédemment indiqué, les analogues du SKF-96365 ciblés renfermeront les noyaux rhodanines et pyrazoles. Le choix de ces deux plateformes a été guidé par les nombreuses propriétés pharmacologiques qu'elles manifestent (pour les rhodanines, *cf.* Partie 2, Chapitre 1).

1. Propriétés biologiques des pyrazoles

Le pyrazole ou 1,2-diazole, est un hétérocycle aromatique azolé à 5 chaînons. C'est un isomère structural de l'imidazole, que l'on retrouve dans plusieurs médicaments et autres composés biologiquement actifs (Figure 2). Il est notamment présent dans certains herbicides, fongicides et insecticides.[15] Le pyrazole, ainsi que plusieurs autres hétérocycles azolés à 5 chaînons, représentent une importante classe de structures pour le développement de nouvelles drogues anti-VIH.[16] En effet, ce sont des motifs pouvant servir de blocs polyvalents de construction pour l'introduction de différents nouveaux groupes fonctionnels:[16]

- comme échafaudages afin de permettre un ancrage optimal de ces groupes fonctionnel pendant les interactions avec la cible;
- comme éléments de pharmacophores basiques pouvant établir des liaisons hydrogène ou des interactions hydrophobes pour faciliter le remplissage de la poche au niveau du site de liaison;
- en tant que substituts d'ester pour améliorer la stabilité métabolique;
- en tant que motif pharmacophore de coordination métallique afin de coordonner les ions métalliques tels que le magnésium (Mg) dans le site actif de la cible (exemple de l'intégrase).

[15] Lamberth C., *Heterocycles* **2007**, *71*(7), 1467-1502.

[16] Zhan P., Li D., Chen X., Liu X., De Clercq E., *Curr. Med. Chem*. **2011**, *18*(1), 29-46.

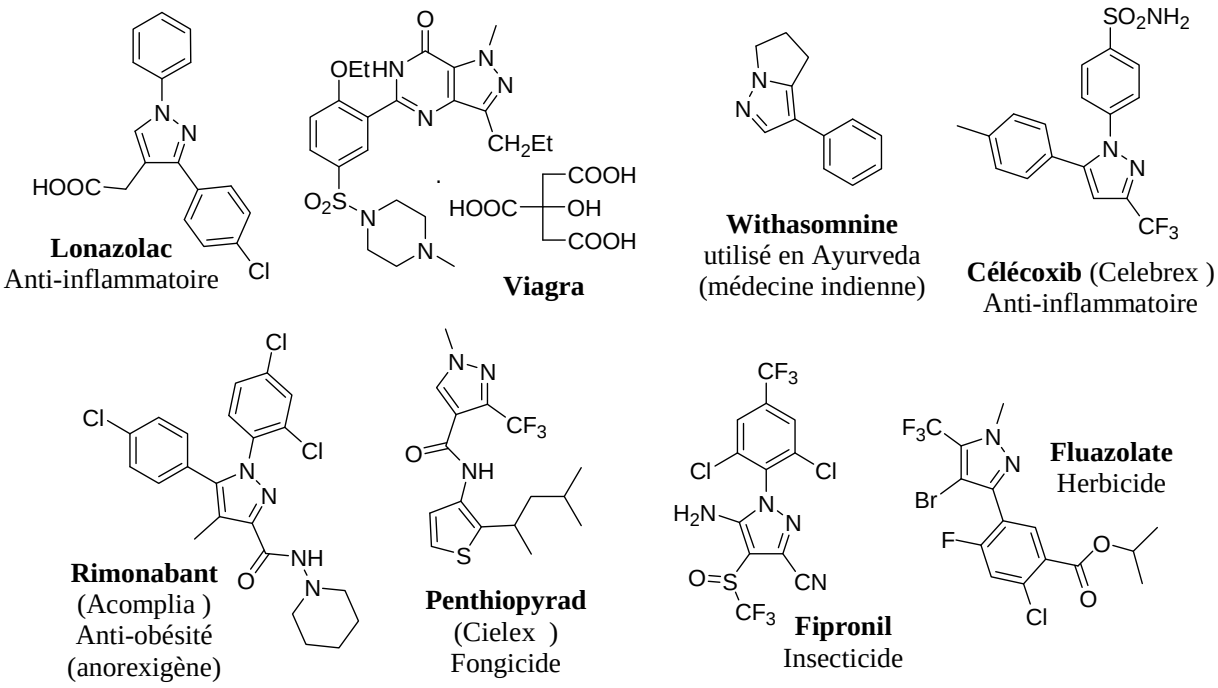


Figure 2: Composés pyrazoliques utilisés en thérapeutique et en agrochimie.

Dans la littérature, il a été mis en évidence divers autres propriétés pharmacologiques pour les dérivés pyrazoliques. Ainsi, des dérivés du sulfaphénazole renfermant un noyau pyrazole (Figure 3), inhibent les cytochromes P450 du foie humain, enzymes jouant un rôle essentiel dans le métabolisme oxydatif des composés exogènes et endogènes, avec des CI_{50} de valeur minimale 3 µM[17]. Un autre composé renfermant un motif pyrazole, le VU-1545 (4-nitro-*N*-(1-(2-fluorophényl)-3-phényl-1*H*-pyrazol-5-yl)benzamide) (Figure 3), est un puissant modulateur allostérique du récepteur métabotropique du glutamate (mGluR) humain et du rat, un récepteur important dans le contrôle de l'excitabilité neuronale et de la transmission synaptique pour le système nerveux central (SNC) du cerveau des mammifères, avec une CE_{50} de 9,6 nM.[18] Les composés pyrazoliques montrent également des activités antiparasitaire et antibactérienne. En effet, un nouveau composé, le 4-[2-(1-(éthylamino)-2-méthylpropyl)phényl]-3-(4-méthyphényl)-1-phénylpyrazole (Figure 3), présente une activité antileishmaniale et antibactérienne vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Entrococcus feacalis*. Il inhibe *in vitro* la multiplication de *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, et *Leishmania infantum*, des parasites responsables de diverses formes de leishmanioses, avec une activité légèrement meilleure que celle de l'Amphotéricine B, l'un des agents antileishmanioses les plus actifs qui est utilisé comme un substitut satisfaisant quand les traitements au Pentostam® sont inefficaces.[19]

[17] Ha-Duong N.-T., Dijols S., Marques-Soares C., Minoletti C., Dansette P.M., Mansuy D., *J. Med. Chem.* **2001**, *44*(22), 3622-3631.

[18] de Paulis T., Hemstapat K., Chen Y., Zhang Y., Saleh S., Alagille D., Baldwin R.M., Tamagnan G.D., Conn P.J., *J. Med. Chem*. **2006**, *49*(11), 3332-3344.

[19] Dardari Z., Lemrani M., Sebban A., Bahloul A., Hassar M., Kitane S., Berrada M., Boudouma M., *Archiv der Pharmazie* **2006**, *339*(6), 291-298.

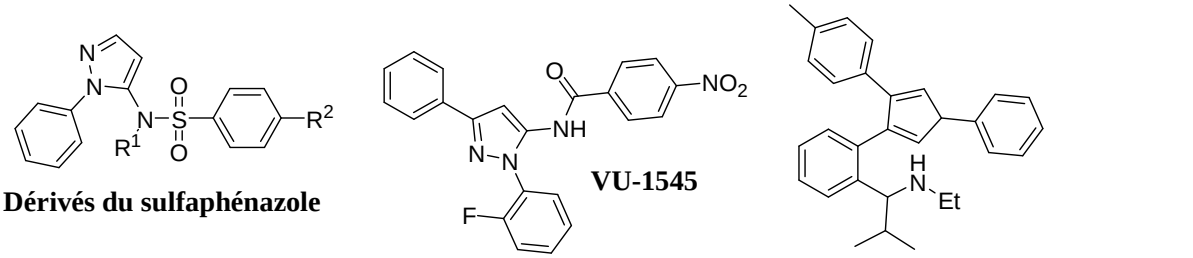


Figure 3: Dérivés pyrazoliques biologiquement actifs.

Dans le cadre des canaux CRAC, l'exploration de dérivés comportant un noyau pyrazole comme potentiels modulateurs apparaît également judicieuse. En effet, les composés appartenant à une nouvelle classe de 2,4,5,6-tétrahydrocyclopenta[c]pyrazoles (Figure 4), ont montré, *in vivo via* des tests sur rat, une bonne capacité à inhiber le canal calcique de type N ($Ca_v2.2$), une cible dans la douleur inflammatoire chronique.[20] Plusieurs autres dérivés pyrazoliques ont également été identifiés comme étant de puissants inhibiteurs des CRAC, à l'instar de YM-58483 (ou BTP2) (Figure 4) et de ses dérivés 4'-[(trifluoromethyl)pyrazol-1-yl]carboxanilides.[21] Muthuppalaniappan et coll. ont aussi découvert une nouvelle classe de dérivés pyrazoliquess capables de moduler les canaux CRAC et pouvant être utilisés pour le traitement du cancer du poumon.[22] Ces différents modulateurs des CRAC, bien que non sélectifs, montrent néanmoins une puissante activité vis-à-vis desdits canaux et encouragent donc la recherche de nouveaux modulateurs pyrazoliques.

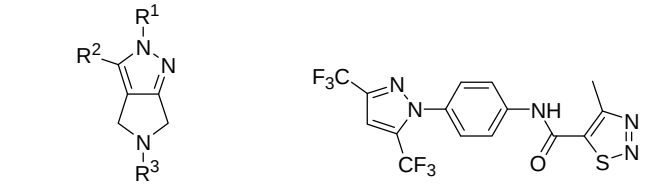


Figure 4: Dérivés pyrazoliques modulant les CRAC.

2. Voies d'obtention de dérivés pyrazoliques

Les composés renfermant le cycle pyrazole peuvent être obtenus, soit par cyclisation conduisant à la formation du motif pyrazole substitué, soit par fonctionnalisation directe du noyau pyrazole.

---

20 Winters M.P., Subasinghe N., Wall M., Beck E., Brandt M.R., Finley M.F., Liu Y., Lubin M.L., Neeper M.P., Qin N., Flores C.M., Sui Z., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, *24*(9), 2053-2056.

21 a) Zitt C, Strauss B, Schwarz EC, Spaeth N, Rast G, Hatzelmann A, Hotz M., *J Biol Chem.* **2004**, *279*(13), 12427-12437. b) Yonetoku, Y., Kubota, H., Okamoto, Y., Ishikawa, J., Takeuchi, M., Ohta, M., Tsukamoto, S. I., *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*(15), 5370-5383. c) Yonetoku, Y., Kubota, H., Miyazaki, Y., Okamoto, Y., Funatsu, M., Yoshimura-Ishikawa, N., Ishikawa J., Yoshino T., Takeuchi M., Ohta, M., *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*(21), 9457-9466. d) Yoshino, T., Ishikawa, J., Ohga, K., Morokata, T., Takezawa, R., Morio, H., Okada Y., Hond K., Yamada, T., *Eur. J. Pharmacol.* **2007**, *560*(2), 225-233.

22 Muthuppalaniappan, M., Viswanadha, S., Merikapudi, G. S., Vakkalanka, S. K., US20150166526, **2014**.

La cyclisation comme voie d'accès aux dérivés du pyrazole, peut se faire de diverses façons:

- par cyclocondensation de l'hydrazine (et de ses dérivés) sur des systèmes carbonylés[23] (Schéma 1);

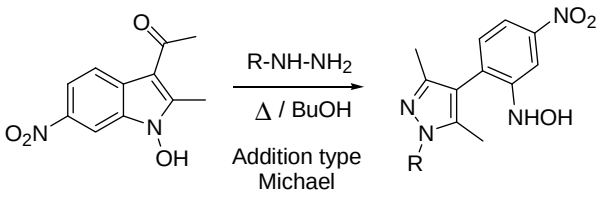


Schéma 1: Chemin de synthèse de dérivés du pyrazole par réaction avec une hydrazine.

- par cycloaddition dipolaire[24] (Schéma 2);

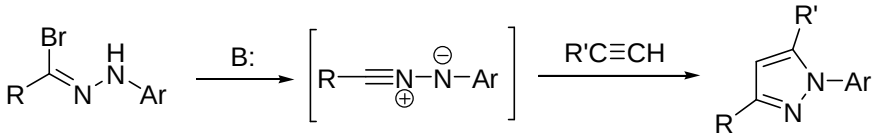


Schéma 2: Voie de synthèse de pyrazoles fonctionnalisés par cyclo-addition dipolaire-1,3.

- par réactions "one pot" multi-composants[25] (Schéma 3)

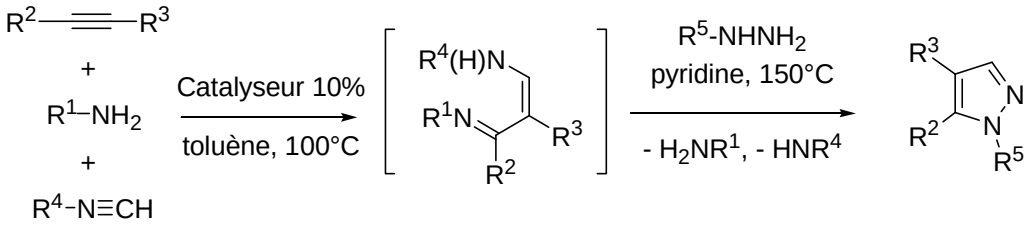


Schéma 3: Voie de synthèse de pyrazoles par réaction "one pot" multi-composants.

La fonctionnalisation du noyau pyrazole déjà formé, peut se faire par C-arylation ou par *N*-alkylation (Figure 5). La C-arylation peut être réalisée par substitution nucléophile sur le carbone C-5, ou par substitution électrophile en position C-4. En effet, la position C-5 est celle qui montre la meilleure réactivité pour une substitution car portant le proton le plus acide, suivie de la position C-4 et enfin de la position C-3 qui est très faiblement réactive.[26]

---

[23] Attar K., Camara H., Benchidmi M., Essassi E.M., Garrigues B., *Comptes Rendus Chimie* **2002**, *5*(6–7), 551-557.

[24] Tronchet J.M.J., Perret M.F., *Helv. Chim. Acta* **1972**, *55*(6), 2121-2133.

[25] Majumder S., Gipson K.R., Staples R.J., Odom A.L., *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*(11-12), 2013-2023.

[26] Goikhman R., Jacques T.L., Sames D., *J. Amer. Chem. Soc.* **2009**, *131*(8), 3042-3048.

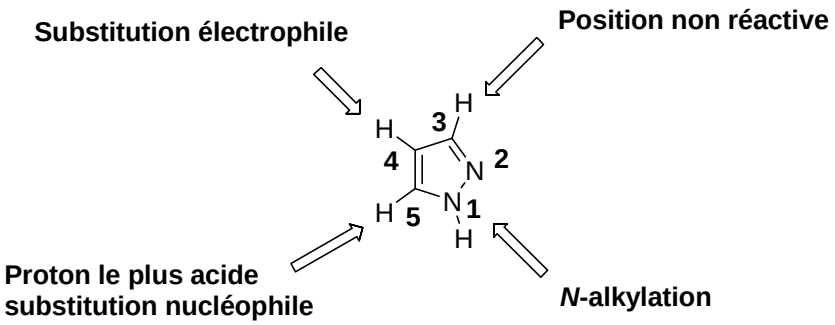


Figure 5: Possibilité de fonctionnalisation du cycle pyrazole.

La *N*-alkylation du cycle pyrazole en particulier, est une approche synthétique largement utilisée pour la construction de fragments importants dans la préparation de composés actifs, soit dans les conditions classiques, soit par irradiation micro-onde.[27] À cause de la présence de l'atome d'hydrogène acide porté par l'azote, cette *N*-alkylation peut se faire par un traitement basique approprié du pyrazole, suivie d'une substitution nucléophile du sel obtenu avec l'agent alkylant.[28] Un autre exemple de méthode de *N*-alkylation, consiste à réaliser la réaction avec des conditions de transfert de phase "PCT" (Phase Transfer Catalysis), les halogénures réagissent alors directement avec l'hétérocycle sans le convertir préalablement en sel.[29]

3. Objectif de l'étude

Pour l'étude Relation Structure-Activité (RSA) sur le SKF-96365, nous avons envisagé la synthèse d'analogues en mettant en œuvre diverses pharmacomodulations successives (Figure 6). Plusieurs points de diversité sont possibles, notamment la variation de la longueur de la chaîne carbonée latérale du SKF-96365, le remplacement du cycle imidazole par les plateformes pyrazole et rhodanine, et également la présence ou non des groupements méthoxy en position *para*. Ainsi, il a été prévu la synthèse de rhodanines *N*-substituées (ou 3-aryléthyl-2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones) et de pyrazoles fonctionnalisés en position *N*-1 (1-aryléthyl-1*H*-pyrazoles).

[27] Matos I., Pérez-Mayoral E., Soriano E., Zukal A., Martín-Aranda R. M., López-Peinado A. J., Fonseca I., Čejka, J., *Chem. Eng. J.* **2010**, *161*(3), 377-383.

[28] Bogdal D., Pielichowski J., Jaskot K., *Heterocycles* **1997**, *45*(4), 715-722.

[29] Pielichowski J., Popielarz R., Chrzaszcz R., *J. Polym. Sci.* **1985**, *23*(7), 387-393.

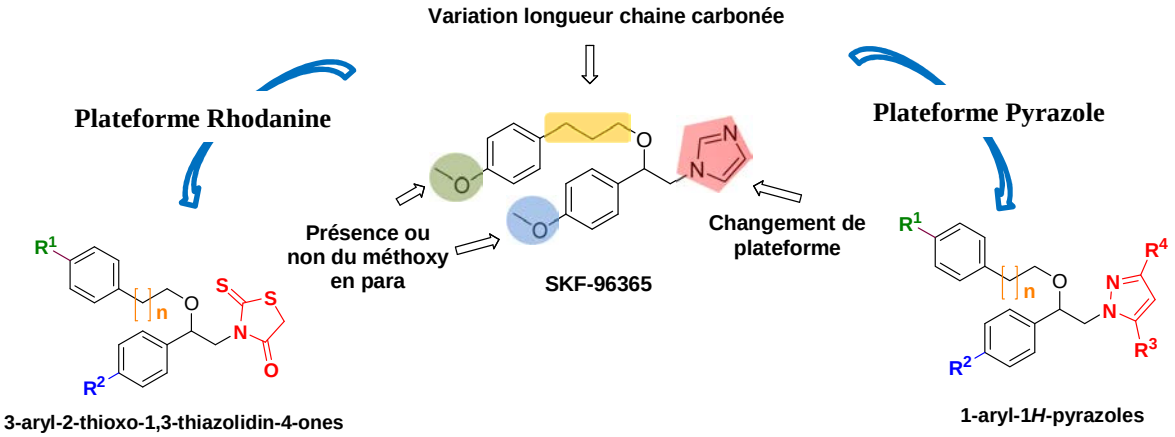


Figure 6: Pharmacomodulations envisagées pour ce travail.

III. SYNTHÈSE D'ANALOGUES DU SKF-96365 AVEC UNE PLATEFORME PYRAZOLE

La synthèse du SKF-96365, modèle pour cette série de composés pyrazoliques, a été succinctement mentionnée en 1990 par Merritt et coll.[3b]. Il a en effet, été synthétisé par alkylation du 1-(β-hydroxy-4-méthoxyphénéthyl)-1*H*-imidazole avec le *p*-toluènesulfonate de 3-(4méthoxyphényl)propane en présence de KOH en solution de DMSO, puis le produit d'alkylation a été converti en son chlorhydrate par l'action du HCl dans du diéthyl éther. L'alcool précurseur a été préparé par réduction de la cétone 1-(β-oxo-4-méthoxyphenethyl)-1*H*-imidazole par $NaBH_4$.

La méthode que nous avons mise en œuvre pour obtenir les dérivés 1-aryléthyl-1*H*-pyrazoles est proche de celle décrite pour le SKF-96365 (Schéma 4), compte tenu que le pyrazole (plateforme de nos composés) et l'imidazole (plateforme du SKF-96365), montrent pour certaines transformations, une réactivité similaire propre aux hétérocycles azotés.

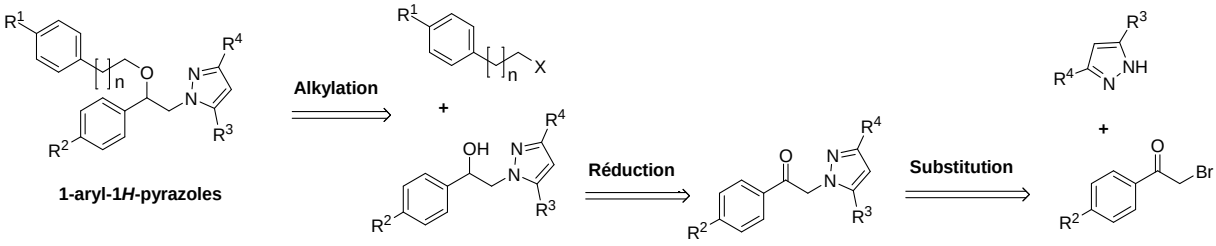


Schéma 4: Rétrosynthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazoles.

La voie de synthèse envisagée pour les 1-aryl-1*H*-pyrazoles comporte trois principales phases:

- Une première étape consistant en une *N*-fonctionnalisation du pyrazole par une réaction de substitution nucléophile avec une cétone halogénée commerciale;
- La seconde impliquant la réduction de cette cétone greffée sur le cycle pyrazole en alcool, en prélude de l'alkylation;

❖ L'étape finale consiste en une réaction de *O*-alkylation de l'alcool précédemment formé avec divers agents alkylants et la diversité moléculaire sera apportée par la variation de la longueur de la chaîne carbonée de ces agents alkylants.

1. Synthèse des 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones 12(a-d)

Pour cette première étape, nous avons opté pour l'intégration directe de la plateforme pyrazole, par fonctionnalisation de la position *N*-1 du noyau pyrazole commercial par le biais d'une substitution nucléophile. Dans ce dessein, un excès de pyrazole **11** a été mis en réaction avec la 2-bromoacétophénone **10a** (R = H) ou la 2-bromo-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-one **10b** (R = OCH_3) qui sont des β-halogénocétones commerciales. Cette réaction de *N*-alkylation a été réalisée dans de l'acétonitrile à température ambiante,[30] en présence de K_2CO_3, base qui favorise la déprotonation du pyrazole, et assure ainsi la formation *in situ* du sel précurseur de la substitution (Schéma 5). Si la méthode générale de synthèse est la même pour ces deux halogénocétones de départ **10a** et **10b**, les temps de réaction et les quantités de pyrazole **11** sont différents (Tableau 1).

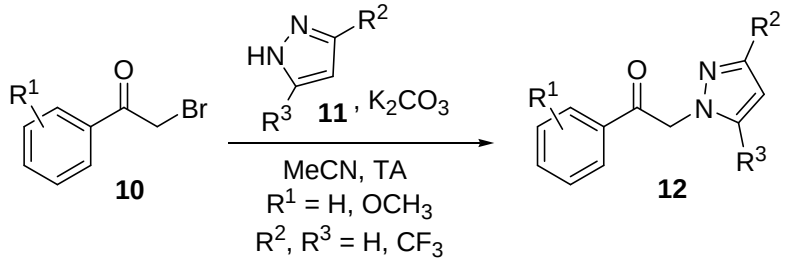
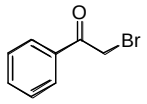
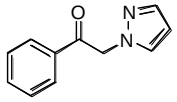
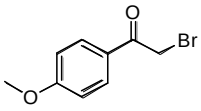
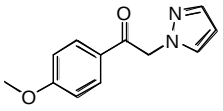
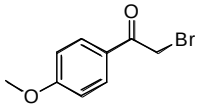
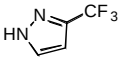
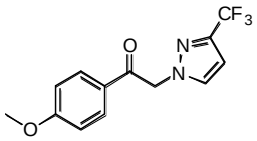
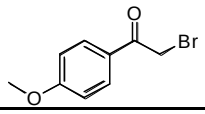
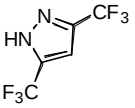
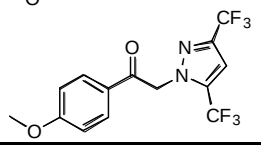


Schéma 5: Voie de synthèse des 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones.

Dans plusieurs cas, la réaction de *N*-alkylation des hétérocycles azotés a abouti à un mélange du produit souhaité et de dérivés secondaires issus de *C*-alkylations parasites.[28] Dans notre cas, nous avons effectivement observé la formation d'un tel mélange et avons donc eu recours à une séparation par chromatographie préparative sur phase stationnaire de gel de silice, afin d'aboutir aux 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones pures **12a** et **12b** (Tableau 1). Les composés **12c** et **12d** (Tableau 1) n'ont pas nécessité de purification ultérieure par chromatographie. La suppression du groupement méthoxy en position *para* de **12a**, ainsi que le choix de trois noyaux pyrazole comportant différents substituants **11(a-c)** constituent les premiers points de diversité.

[30] Shah S., Truong Q., Qi H., Hagmann W., Brevet PCT/US2004/035846, **2004**.

Tableau 1: Conditions de réactions pour la préparation des 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones **12(a-d)**.

Halogénocétones		Pyrazole		Equiv. pyrazole	Tps (h)	Produits		Rdt[a] (%)
10a		**11a**		1,06	8	**12a**		53
10b		**11a**		2	12	**12b**		66
10b		**11b**		3	12	**12c**		68
10b		**11c**		4	24	**12d**		69

[a] Rendement obtenu après isolation et purification du composé **12**

Concernant le composé **12c** possédant un substituant trifluorométhyle CF_3, nous avons observé en RMN ^1H et en ^{13}C, une multiplicité inadéquate pour le proton H-5 du pyrazole et un dédoublement des signaux des carbones, ce qui indique la présence d'un autre produit.

2. Réduction des 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones 12(a-d)

Les alcools **13(a-d)** ont été obtenus par réduction des cétones **12(a-d)** portant une plateforme pyrazole par action du tétraborohydrure de sodium ($NaBH_4$), ajouté par petites portions à 0°C (Schéma 6). La réaction a été réalisée en solution de méthanol à température ambiante, avec un temps et un nombre d'équivalents de $NaBH_4$ appropriés pour conduire aux alcools secondaires 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13(a-d)** avec de très bons rendements qui varient de 82 à 98 % (Tableau 2).

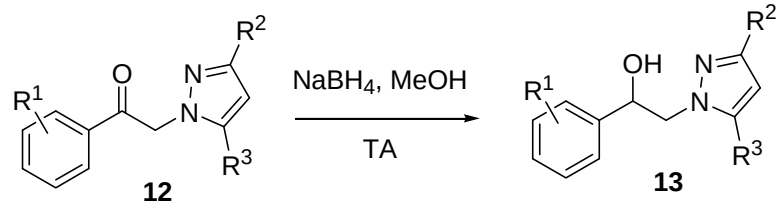
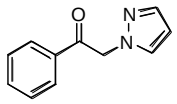
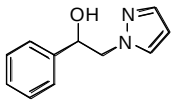
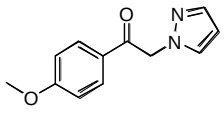
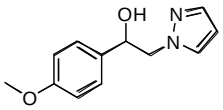
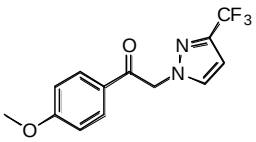
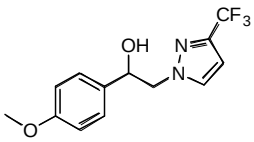
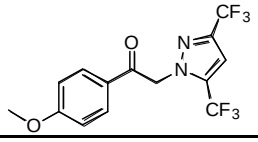
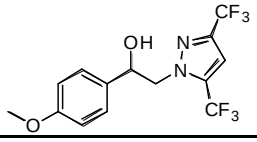


Schéma 6: Réaction de réduction des 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones.

Tableau 2: Conditions de réaction pour la préparation des 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13(a-d)**.

Produit de départ		Equiv. $NaBH_4$	Temps de réaction (h)	Produits		Rdt[a] (%)
12a		1	5	**13a**		82
12b		1	7	**13b**		86
12c		1	7	**13c**		94
12d		2	7	**13d**		98

[a] Rendement obtenu après isolation du composé **13**

Nous avions indiqué pour la cétone pyrazolique **12c**, la présence d'un composé secondaire. Le même constat est fait pour l'alcool **13c** issu de la réduction de **12c** par $NaBH_4$. En effet, nous observons un dédoublement des signaux en RMN ^{13}C, notamment ceux du motif benzylique CH_2Ph. Afin d'élucider la structure des composés en présence, nous avons réalisé une étude de diffractométrie de l'alcool **13c**. Les résultats confirment la présence de deux conformères (Figure 7, Annexe 1). La différence entre ces deux structures provient de la rotation autour de l'axe de rotation formé par les carbones C16B et C13B (en jaune sur la Figure 7). Ce résultat confirme également l'absence de *C*-alkylation compétitive. L'alkylation ne s'est donc faîte qu'au niveau de l'azote *N*-1 souhaité.

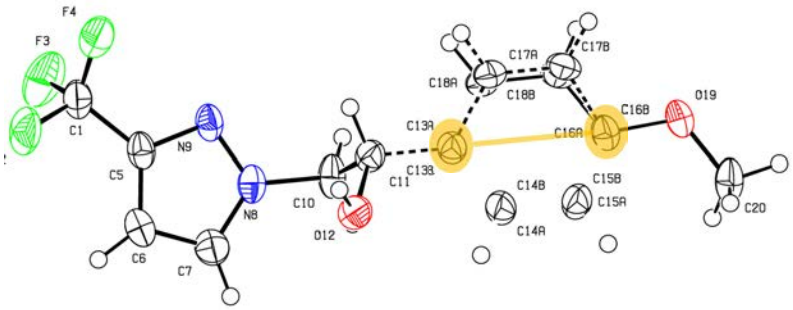


Figure 7: Structure cristalline du composé **13c**.

3. Ethérification et salification des 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol 13(a-d)

Ces deux étapes de synthèse ont permis premièrement de greffer *via* une réaction de *O*-alkylation ou d'éthérification, la chaîne latérale alkyle, fragment propre au modèle du SKF-96365 qui sous-tend nos travaux. Ensuite, le produit d'éthérification a été transformé en sel de pyrazolium pour une meilleure conservation et une meilleure praticabilité ultérieure.

Afin de réaliser cette éthérification, les alcools secondaires 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13(a-d)** ont réagi avec divers agents alkylants **14 (a-d)** en proportions stœchiométriques dans du DMSO en présence de pastilles de KOH (Schéma 5).

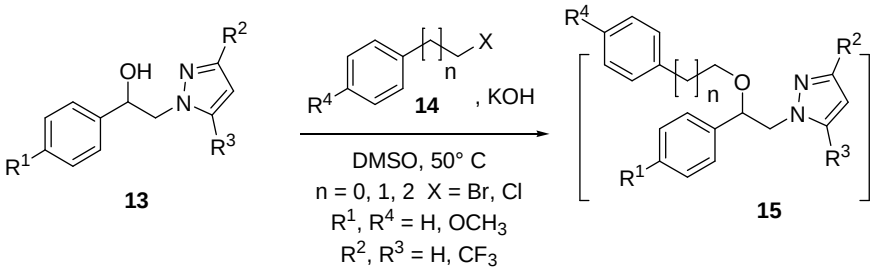
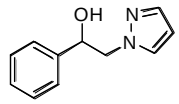
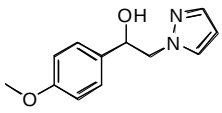


Schéma 5: Éthérification des alcools secondaires **13(a-d)**.

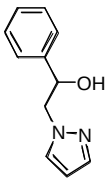
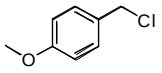
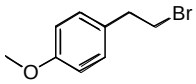
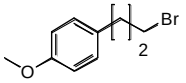
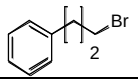
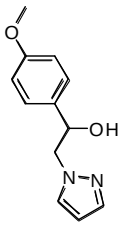
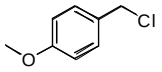
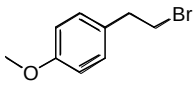
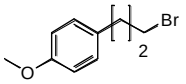
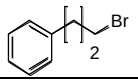
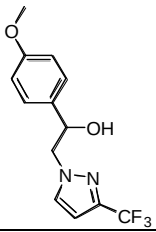
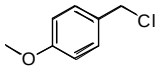
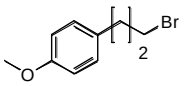
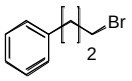
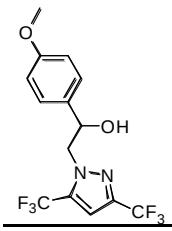
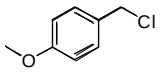
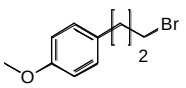
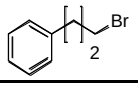
Compte tenu que les composés **13** sont des alcools secondaires, le choix d'utiliser une base forte pour déprotoner le groupement hydroxyle, est apparu plus approprié. Ainsi, nous avons opté pour KOH après comparaison avec l'hydrure de sodium (NaH). En effet, il s'avère que l'élimination de l'huile minérale de NaH peut être un frein à l'accessibilité du produit souhaité ainsi qu'à sa qualité finale pour les tests biologiques ultérieurs. Une série d'essais a été réalisés afin de déterminer la température et le temps de réaction, ainsi que le nombre d'équivalents de KOH adéquats pour chacun des alcools secondaires précurseurs (Tableau 3). Pour chacun de ces essais, un suivi par chromatographie sur couche mince (CCM) a été mis en oeuvre afin de vérifier l'évolution de la réaction, mais également de détecter les produits secondaires formés. Nous avons également testé d'autres solvants, plus facile à éliminer après les traitements, comme l'acétonitrile et le *N*,*N*-diméthylformamide. Cependant, l'alcoolate formé après déprotonation de l'alcool secondaire précurseur par action de KOH, n'est pas soluble dans ces deux solvants, mais l'est en revanche dans le DMSO, qui apparaît comme le solvant approprié pour cette réaction d'éthérification.

Tableau 2: Essais d'éthérification des alcools secondaires **13(a-d)**.

Alcool de départ	Equiv. KOH	Temps de réaction (h)	T (° C)	Commentaires
13a 	2	48	50	65 % de conversion (présence d'un produit secondaire)
	2	48	80	50 % de conversion présence de 3 produits secondaires
	2	48	TA	45 % de conversion présence du produit secondaire observé à 50°C
	2	72	TA	50 % conversion présence du produit secondaire observé à 50°C
	2	72	50	50 % de conversion présence de 2 produits secondaires
13b 	2	60	50	alcool de départ peu consommé et présence d'un produit secondaire
	3	72	50	traces de l'alcool de départ présence d'un produit secondaire
	5	72	50	75 % conversion présence d'un produit secondaire

Ces différents essais ont permis de choisir deux modes opératoires (en couleur dans le tableau ci-dessus) pour l'éthérification des 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ols **13**. La méthode mise en œuvre pour **13b** a également été appliquée aux alcools secondaires **13c** et **13d**. Ainsi, les différents alcools **13(a-d)** ont été mis à réagir avec un nombre d'équivalents adéquat de KOH dans du DMSO de qualité "pa" à température ambiante, afin de conduire à l'alcoolate. Puis, après 30 minutes de réaction, l'agent alkylant **14** est rajouté et le mélange est chauffé à 50°C pendant un temps approprié. Pour cette étape, différents halogénures d'alkyles **14(a-d)** ont été utilisés, introduisant ainsi un autre point de diversité structurale. Une série de 1-aryléthyl-1*H*-pyrazoles **15** a été synthétisée (Tableau 3). Les composés escomptés n'ont cependant pas été obtenus purs, car la réaction d'éthérification a abouti à un mélange de produits (Tableau 2 et 3).

Tableau 3: Conditions opératoires de synthèse des 1-aryléthyl-1*H*-pyrazoles **15**.

Alcool de départ 13	Agent alkylant		Equiv. KOH	Temps de réaction (h)	Conv.[a] de 15 (%)
13a 	**14a**		2	48	64
	14b		2	48	Produit escompté absent
	14c		3	48	76
	14d		2	48	50
13b 	**14a**		5	72	68
	14b		5	72	produit escompté absent
	14c		5	72	43
	14d		5	72	42
13c 	**14a**		5	72	86
	14c		5	72	80
	14d		5	72	74
13d 	**14a**		5	72	78
	14c		5	72	70
	14d		5	72	67

[a] Taux de conversion déterminé par RMN ^{1}H pour les composés **15** non isolés

Comme cela est indiqué dans le tableau 3, les réactions d'éthérification réalisées avec l'agent alkylant **14b** (en l'occurrence, le bromure de 4-méthoxyphénéthyle) n'ont pas conduit aux produits escomptés.

Concernant les autres agents alkylants **14a**, **14c** et **14d**, l'analyse du milieu réactionnel brut par RMN ^{1}H (en solution de DMSO-d_6) montre que ce mélange après la réaction d'éthérification est composé essentiellement d'agent alkylant résiduel **14**, de l'éther attendu **15** et d'un produit secondaire non identifié. Ces analyses par RMN ^{1}H et ^{13}C montrent que le produit secondaire formé ne renferme pas de cycle pyrazole, donc pas d'azote susceptible de réagir avec un acide au cours d'une réaction de salification. Étant donné que ce mélange de produits issus de la réaction d'*O*-alkylation conduit à un état liquide, nous avons donc décidé de procéder directement à l'étape de salification sans séparation préalable.

Ainsi, ce mélange repris dans de l'éther diéthylique, a été traité avec un équivalent de HCl 1M dans de l'éther diéthylique à température ambiante sous flux d'argon, pour aboutir aux chlorhydrates de pyrazolium **16(a-e)** purs avec des rendements variant de 10 à 33 % (Schéma 6). Cette étape s'est déroulée sous agitation magnétique moyenne (200 rpm) pendant un temps adéquat. En effet, le traitement de la masse réactionnelle à l'acide chlorhydrique (1M) conduit à une huile très peu mobile, dont le temps de cristallisation varie d'un sel de pyrazolium à l'autre (Tableau 4). Pour les éthers **15(f-l)** cependant, la cristallisation conduisant aux sels de pyrazolium souhaités, ne s'est pas réalisée, ce qui n'a donc pas permis l'isolation du produit (Tableau 4). Il convient également de souligner que les rendements mentionnés sont des rendements globaux, c'est-à-dire qu'ils concernent conjointement les deux étapes de cette voie de synthèse, à savoir la réaction de *O*-alkylation et l'étape finale de salification.

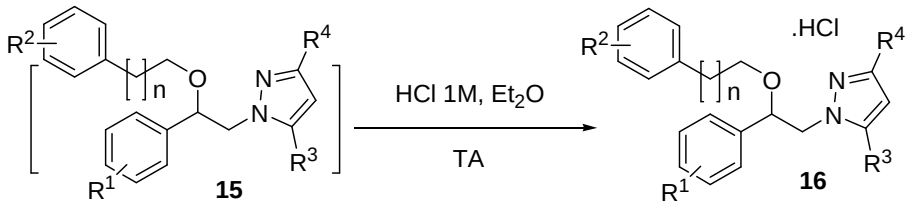
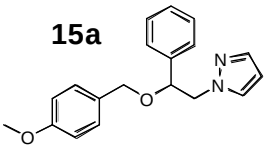
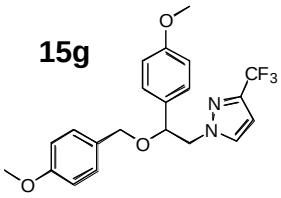
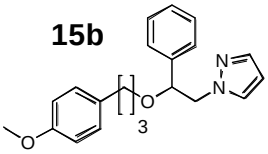
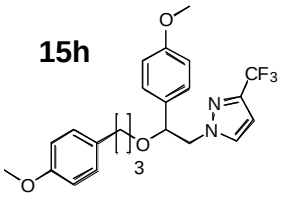
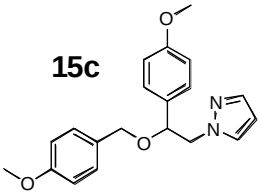
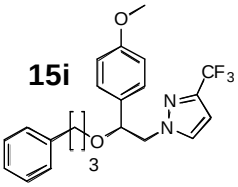
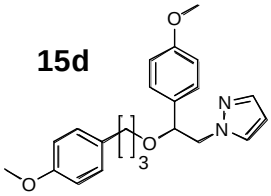
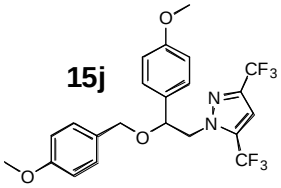
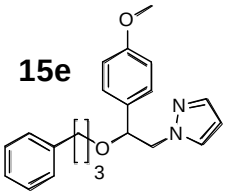
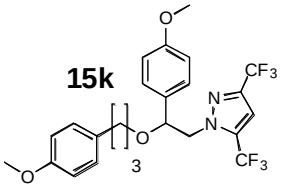
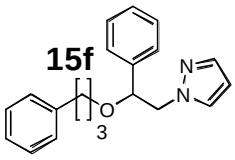
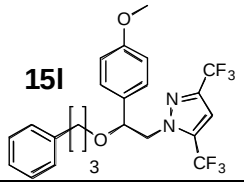


Schéma 6: Réaction de salification des 1-aryl-1*H*-pyrazoles **15** sous l'action d'HCl 1M.

Tableau 4: Conditions opératoires de synthèse des sels de pyrazolium **16(a-e)**.

1-Aryl-1*H*-pyrazoles de départ 15	Temps de réaction (h)	Rdt[a] (%)	Sels 16	1-Aryl-1*H*-pyrazoles de départ 15	Temps de réaction (h)	Rdt[a] (%)	Sels 16
15a 	120	10	**16a**	**15g** 	336	N	-
15b 	72	21	**16b**	**15h** 	336	N	-
15c 	72	33	**16c**	**15i** 	336	N	-
15d 	72	18	**16d**	**15j** 	336	N	-
15e 	72	22	**16e**	**15k** 	336	N	-
15f 	168	N	-	**15l** 	336	N	-

[a] Rendement global (éthérification et salification) pour les chlorhydrates de pyrazolium **16(a-e)** isolés
N: pas de cristallisation du sel attendu.

IV. PRÉPARATION D'ANALOGUES DU SKF-96365 OPTIQUEMENT ACTIFS

1. Résolution de l'alcool (±)-1-(4-Méthoxyphényl)-2-(1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol

Les analogues du SKF-96365 **16(a-e)** décrits et obtenus précédemment, se présentent sous la forme d'un mélange racémique. Nous avons donc décidé de réaliser la séparation de ces énantiomères par dédoublement, afin d'étudier l'impact éventuel de la chiralité sur leurs activités biologiques. Le SKF-96365 également est commercialisé sous la forme d'un racémique. En 1990, Reid et coll. du Département de la Recherche de la société anglaise Smith, Kline & French "SK&F" (aujourd'hui dénommée GlaxoSmithKline "GSK"), ont rapporté dans la littérature la séparation des deux énantiomères du SKF-96365 par chromatographie chirale.[31] Selon ces auteurs, ces deux énantiomères interagissent avec la CaM, la protéine de régulation de la calmoduline pour la fixation du calcium. Il n'a cependant, pas été établi que le SKF-96365 montre une spécificité de ces énantiomères vis-à-vis de sa cible pharmacologique.

Plusieurs méthodes alternatives à la séparation chromatographique énantiosélective, ont été mises en œuvre avec succès pour la préparation de composés optiquement purs. Nous pouvons citer comme exemples, la résolution spontanée induite par cristallisation, la résolution par formation de diastéréoisomères ou encore la résolution par des réactions sélectives du substrat.[32]

Pour la préparation d'analogues du SKF-96365 optiquement actifs, nous avons décidé de réaliser la séparation des énantiomères de l'alcool **13b** (**1R** et **1S**), précurseur de l'éthérification. Comme l''alcool **13b** comporte une plateforme pyrazolique à caractère basique, nous avons donc choisi pour cette séparation, une méthode classique utilisée pour la résolution des bases racémiques, qui est la résolution par la formation de sels diastéréoisomériques par action d'un acide optiquement pur. Plusieurs acides ont été utilisés dans la littérature avec succès pour le dédoublement de racémiques basiques, comme l'acide dibenzoyltartrique (ADBT) et l'acide di-*p*-toluoyl tartrique (ADPT)[33], l'acide (*S*)-phénylpropionique[34], l'acide (*S*)-mandélique[35], l'acide camphorsulphonique[36], l'acide (1*R*)-3-bromocamphor-8-sulphonique[37].

Nous avons ainsi fait un premier essai de dédoublement de l'alcool **13b** avec comme agent dédoublant l'acide camphorsulphonique. Nous avons premièrement mis en œuvre la procédure classique qui consiste à faire réagir un équivalent de base racémique avec un équivalent d'agent dédoublant. Ainsi un équivalent de 1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol (**13b)** a été traité avec un équivalent de l'acide (*R*)-camphorsulphonique à température ambiante dans de l'acétone.[38] Le diastéréoisomère insoluble dans l'acétone après la réaction, a été isolé et sa pureté a été estimée par chromatographie énantiosélective (phase stationnaire de cellulose sur gel de silice 10µm, colonne Chiracel OJ-H, hexane:*i*-PrOH 94:6, débit = 0,8 mL/min., longueur d'onde = 220 nm) (ed = 55%). Malgré deux recristallisations

---

31 Reid D.G., MacLachlan L.K., Robinson S.P., Camilleri P., Dyke C.A., Thorpe C.J., *Chirality* **1990**, *2*(4), 229-232.

32 Fogassy E., Nógrádi M., Kozma D., Egri G., Pálovics E., Kiss V., *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*(16), 3011-3030.

33 Kozma D., Madar´asz Z., Kassai C., Fogassy E., *Chirality* **1999**, *11*(5-6), 373-375.

34 Sakurai R., Sakai K., *Tetrahedron: Asymm.* **2003**, *14*(4), 411-413.

35 Sakurai R., Sakai K., Yuzawa A., Hirayama N., *Tetrahedron: Asymm.* **2003**, *14*(23), 3713-3718.

36 Bálint J., Hell Z., Markovits I., Párkányi L., Fogassy E., *Tetrahedron: Asymm.* **2000**, *11*(6), 1323-1329.

37 Bálint J., Egri G., Fogassy E., Böcskei Z.S., Simon K., Gajáry A., Friesz A., *Tetrahedron: Asymm*. **1999**, *10*(6), 1079-1087.

38 Johnson C.R.; Schroeck C.W., *J. Am. Chem. Soc*. **1973**, *95*(22), 7418-7423.

dans l'acétone à chaud, la purification de ce diastéréoisomère n'a pas été satisfaisante (ed < 95% après la troisième recristallisation).

Nous avons donc exploré d'autres méthodes de résolution optique de bases racémiques impliquant la formation de sels diastéréoisomériques et nous nous sommes intéressés à la méthode des "half-quantities". Cette méthode consiste à traiter la base ou l'acide racémique avec un demi-équivalent d'agent dédoublant, au lieu d'un équivalent comme dans la méthode classique. Ce procédé très original de dédoublement a été écrit initialement par Pope et Peachey, qui ont réalisé le dédoublement de la 2-méthyltétrahydroquinoline avec 0,5 équivalent de sel d'ammonium de l'acide (+) 3-bromocamphor-8-sulphonique.[32,39] Le principe de cette séparation repose sur le fait que le diastéréoisomère formé, moins soluble, reste majoritairement en suspension dans le milieu réactionnel, tandis que l'autre énantiomère, soluble, demeure dissout dans le milieu. Ce procédé cependant, est spécifique à la résolution des acides et des bases[32].

Pour la résolution optique de l'alcool **13b**, nous avons donc appliqué la méthode des "half-quantities ", en nous appuyant sur les travaux de Brandt et Gais relatifs à la résolution du (±)-*S*-méthyl-*S*-phénylsulfoximine avec comme agent dédoublant, l'acide (+)-10-camphorsulphonique.[40]

La procédure mise en œuvre (Schéma 7) à consister à traiter le racémique **13b** avec 0,5 équivalent d'acide (*R*)-camphorsulphonique ((-)-(*R*)-CSA) en solution d'acétone à température ambiante pendant 12 h et a conduit à un diastéréoisomère ((-)-(*S*)-alcool/(-)-(*R*)-CSA) **17a** sous forme de sel (ed = 85%). Après recristallisation dans l'acétone à chaud, ce sel (ed = 97 %), est enrichi avec 0,02 équivalent de racémique pour conduire au sel diastéréoisomérique **17a** pur (ed > 99 %, $[\alpha_D]$ = -6 (*c* 1,0, MeOH)) qui après traitement basique, conduit à l'énantiomère (-)-(*S*)-1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **18a** optiquement pur (ee > 99 %, $[\alpha_D]$ = -10 (*c* 1,0, MeOH)). Le filtrat issu de cette première étape est évaporé puis le résidu est trituré dans du toluène pour conduire à l'énantiomère (+)-(*R*)-1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **18b** (ee = 65 %). Cet autre énantiomère est à nouveau traité avec un équivalent de l'acide (*S*)-camphorsulphonique ((+)-(*S*)-CSA) pour conduire au sel diastéréoisomérique ((+)-(*R*)-alcool/(+)-(*S*)-CSA) **17b** (ed = 96 %), qui après enrichissement avec 0,04 équivalent de racémique **13b**, donne **17b** (ed > 99 %, $[\alpha_D]$ = +6 (*c* 1,0, MeOH)). Ce sel soumis ensuite à un traitement basique conduit à l'énantiomère (+)-(*R*)-1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **18b** (ee > 99 %, $[\alpha_D]$ = +10 (*c* 1,0, MeOH)).

Toute cette procédure a été également mise en œuvre pour l'alcool racémique **13b** avec cette fois-ci un premier traitement avec 0,5 équivalent d'acide (*S*)-camphorsulphonique ((+)-(*S*)-CSA) suivi d'un second traitement acide de l'énantiomère résiduel à partir d'un équivalent d'acide (*R*)-camphorsulphonique ((-)-(*R*)-CSA) (Schéma 7).

[39] Pope W.J., Peachey S.J., *J. Chem. Soc., Transac.* **1899**, *75*, 1066-1093.
[40] Brandt J., Gais H.J., *Tetrahedron: Asymm.* **1997**, *8*(6), 909-912.

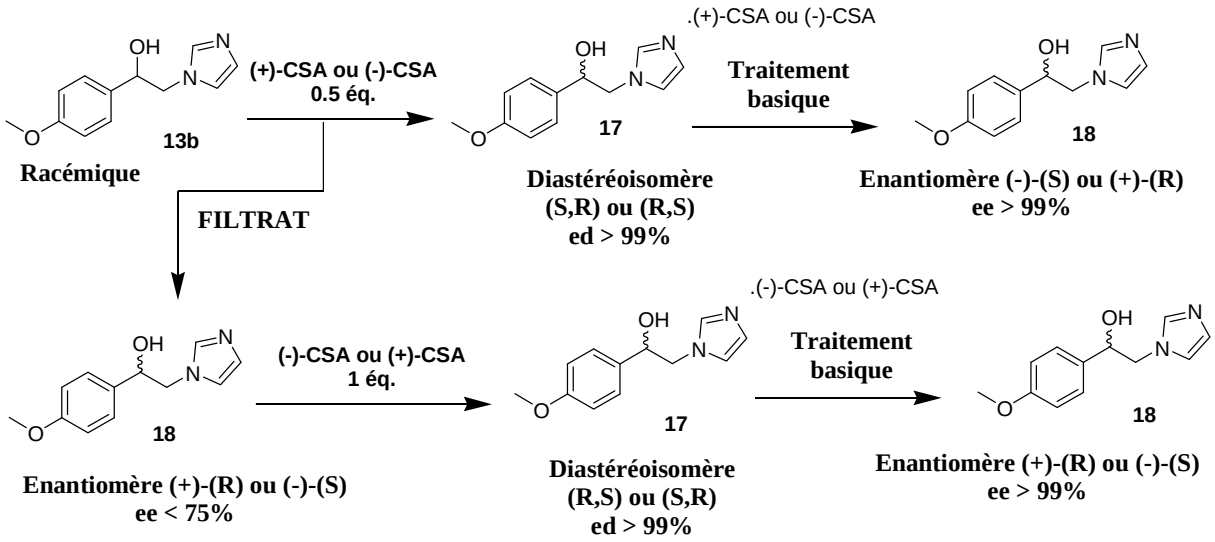
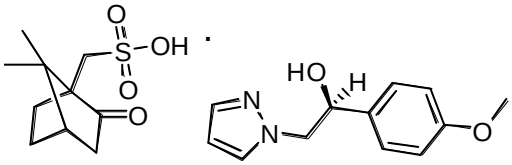
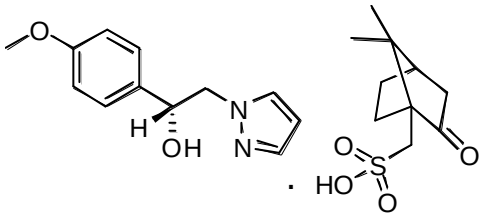
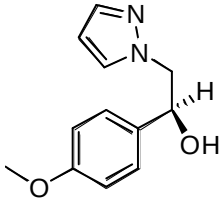
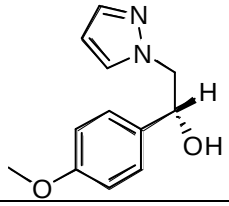


Schéma 7: Procédure de résolution de l'alcool (±)-1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13b**.

La pureté optique des diastéréoisomères ainsi préparés et des énantiomères obtenus après traitement basique, a été systématiquement vérifiée d'une part par chromatographie chirale (phase stationnaire de cellulose sur gel de silice 10µm, colonne Chiracel OJ-H, hexane:*i*-PrOH 94:6 ou 96:4, débit = 0,8 mL/min. ou 0,6 mL/min., longueur d'onde = 220 nm) (Annexe 2) et d'autre part par la mesure du pouvoir rotatoire. Il convient également de souligner que nous avons préalablement verifier la qualité optique (ee = 50 %) du racémique **13b** (phase stationnaire de cellulose sur gel de silice 10µm, colonne Chiracel OJ-H, hexane:*i*-PrOH 96:4, débit = 0,6 mL/min., longueur d'onde = 220 nm) (Annexe 2). En outre, afin de confirmer les résultats obtenus, nous avons procédé à une analyse structurale par diffractométrie de l'un des sels diastéréoisomèriques préparés, laquelle a confirmé, la pureté des cristaux salins obtenus (Figure 8, Annexe 3). Tous les composés ont été isolés avec une pureté supérieure à 99 %, et avec pour chacun d'entre eux, un rendement global compris entre 35 et 60 % (Tableau 5).

Tableau 5: Produits issus de la résolution de (±)-1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13b**.

	Produits	Configuration	Rdt[a] (%)
17a		((-)-(*S*)-alcool/(-)-(*R*)-CSA	60
17b		((+)-(*R*)-alcool/(+)-(*S*)-CSA	51
18a		((-)-(*S*)-alcool	43
18b		(+)-(*R*)-alcool	41

[a] Rendement pour les composés **17** et **18** isolés

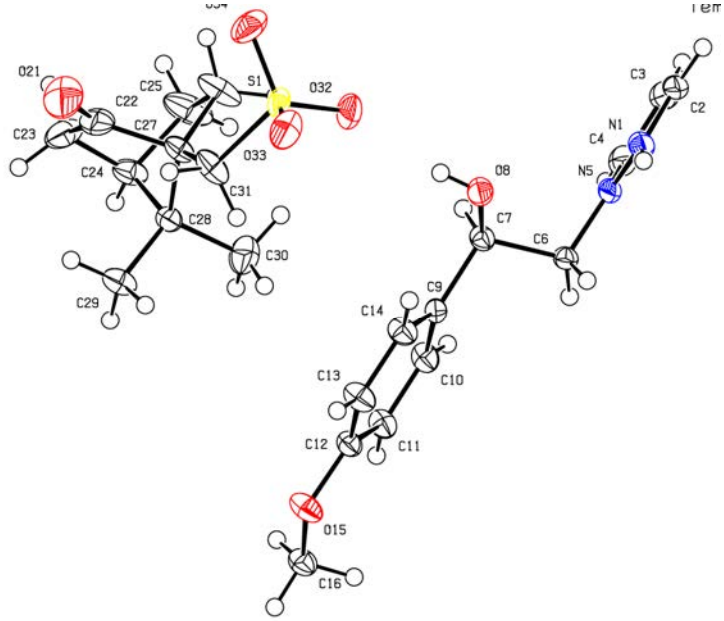
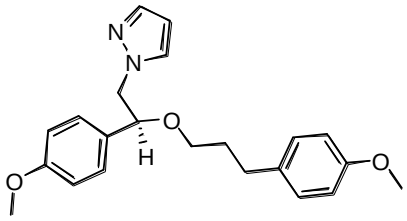
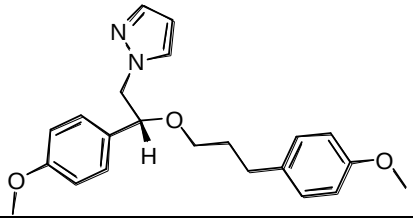


Figure 8: Strucuture critalline du diastéréoisomère **17b**.

2. Préparation de sels de pyrazolium optiquement actifs

La stratégie de synthèse mise en œuvre pour la préparation des sels de 1-aryl-1*H*-pyrazolium optiquement purs est la même que celle adoptée pour préparer les chlorhydrates de pyrazolium **16** (Schémas 5 et 6). Les énantiomères **18a** et **18b** ont été soumis à l'action de KOH pour conduire aux alcoolates correspondants formés *in situ*, qui ont ensuite été mis en réaction avec l'halogénure d'alkyle **14c** (1-(3-bromopropyl)-4-méthoxybenzène) pour conduire à un mélange de produits dont le dérivé 1-aryl-1*H*-pyrazole escompté **19**, l'agent alkylant résiduel et un composé secondaire non identifié. Ce mélange de composés a été ensuite directement traité avec une solution de HCl 1M à température ambiante afin de conduire aux sels de pyrazolium optiquement purs. Cependant, nous n'avons pu obtenir des chlorhydrates de qualité cristalline suffisante (Tableau 6). Dans le cas de l'énantiomère **18a** ((-)-(*S*)-1-(4-Méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol), malgré un temps d'agitation relativement long associé à plusieurs tentatives de modification expérimentales, telle qu'un changement de solvant (de l'éther diéthylique à l'hexane), le chlorhydrate (**19a**) attendu n'a pas cristallisé. Concernant l'énantiomère **18b**, après 7 jours d'agitation dans l'éther diéthylique nous n'avons pas pu obtenir de résultats probants, aussi le solvant de cristallisation a été remplacé par l'hexane. Après une semaine d'agitation à la température ambiante, nous avons observé la formation du sel de chlorhydrate de pyrazolium **19b** en suspension. Malheureusement, nous n'avons pu récupérer ce sel sous la forme de cristaux, car celui-ci s'est rapidement transformé en un produit visqueux ou déliquescent sur le verre fritté lors de sa filtration.

Tableau 6: Enantiomères issus de **15d**.

Produits	Configuration	Conversion[a] (%)
19a 	1S	42
19b 	1R	73

[a] Taux de conversion déterminé par RMN ^{1}H pour les composés **19** non isolés

Dans les travaux de Reid et coll.[31] publiés en 1990, les auteurs ont seulement étudié la séparation des deux énantiomères du SKF-96365 par chromatographie liquide sur une phase stationnaire chirale, et il n'est pas mentionné dans cet article une quelconque isolation expérimentale sous forme cristalline de ces chlorhydrates optiquement actifs. Également dans cet article, il n'y a pas de résultats de mesure du pouvoir rotatoire de ces énantiomères ou de leur structure par diffraction des rayons X. Compte tenu de l'absence de ces informations et en comparant nos résultats avec ceux de ces auteurs, nous constatons que pour la séparation de

ces deux énantiomères, l'utilisation d'HCl avec cette plateforme pyrazole ne permet pas d'obtenir des énantiomères cristallisés alors que le chlorhydrate du mélange racémique est plus facile à obtenir.

V. SYNTHÈSE DES ANALOGUES DU SKF-96365 AVEC UNE PLATEFORME RHODANINE

La première stratégie explorée pour l'obtention des analogues 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-ones du SKF-96365 consiste premièrement à construire la plateforme rhodanine, suivie d'une *O*-alkylation de la rhodanine *N*-substituée **23**, avec des halogénures d'alkyles **14(a-d)**. La méthode de synthèse mise en œuvre pour l'obtention de cette rhodanine **23**, a été inspirée par les travaux de Singh et coll. et Brown[41]. Il s'agit d'une réaction multi-étapes au cours de laquelle, l'aminoalcool commercial (2-hydroxy-2-phényléthylamine) **20**, le CS_2 et l'ammoniaque (NH_4OH) réagissent successivement ensemble pour conduire au dithiocarbamate **21**, qui réagit ensuite avec l'acide chloroacétique **22** pour aboutir à la rhodanine **23** (Schéma 8). Notre stratégie de synthèse se différencie par le fait que le dithiocarbamate intermédiaire n'a pas été isolé dans notre cas, mais a réagi *in situ* avec l'acide chloroacétique **22**. Si la formation de la rhodanine **23** selon cette méthode "one-pot two-steps" a conduit au produit souhaité avec un rendement de 34 %, la réaction d'éthérification en revanche avec les agents alkylants **14(a-d)**, n'a pas abouti au produit escompté (Schéma 8). En effet, l'analyse RMN ^1H du milieu réactionnel montre une diminution significative du singulet (et de son intégration) caractéristique du méthylène actif de cette rhodanine, en raison d'une *C*-alkylation compétitive sur la position C-5 de cette rhodanine **23**. La comparaison rétrospective des pKa dans le DMSO, apporte une explication à cette *C*-alkylation compétitive. En effet, le pKa pour un alcool secondaire (dans le DMSO) est environ de 30[42] et celui de certains méthylènes actifs référencés dans la littérature[43] est compris entre 9 et 13. Les protons du méthylène actif de la plateforme rhodanine **23** sont donc beaucoup plus acides que le proton de l'alcool, et peuvent donc préférentiellement conduire à cette réaction de *C*-alkylation parasite.

---

41 (a) Singh S.P., Parmar S.S., Raman K., Stenberg V.I., *Chem. Rev.* **1981**, *81*(2), 175-203. b) Brown F. C., *Chem. Rev.* **1961**, *61*, 463-521.

42 Bordwell, F. G., *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*(12), 456-463.

43 a) http://www.nptel.ac.in/courses/122106029/pdf/6_Chemistry_of_Carbanions.pdf consulté le 14/09/2015 b) http://www.chem.ucalgary.ca/courses/350/Carey5th/Ch21/ch21-2.html consulté le 14/09/2015 c) http://www.chem.wisc.edu/areas/reich/pkatable/ consulté le 14/09/2015.

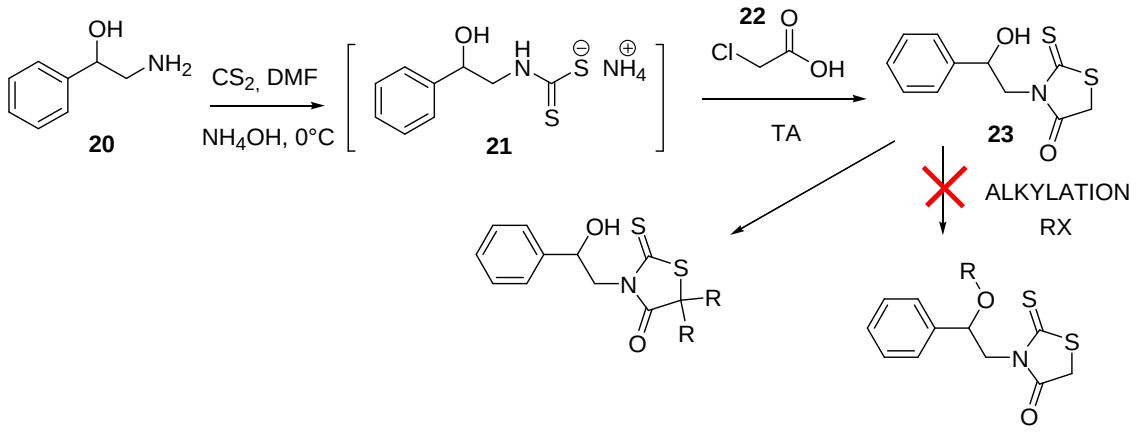


Schéma 8: 1ère voie de synthèse envisagée d'obtention des analogues rhodanine.

Pour s'affranchir de cette réaction de *C*-alkylation parasite, nous avons donc exploré une nouvelle voie d'accès aux analogues rhodanines du SKF-96365. Cette nouvelle stratégie de synthèse consistait en une protection de la fonction amine avec un groupement *N*-Boc, suivie d'une réaction d'éthérification et d'une déprotection en milieu acide pour conduire à l'amine libre. La dernière étape a concerné l'installation de la plateforme rhodanine selon la méthode "one-pot two-steps" décrite précédemment (Schéma 9).

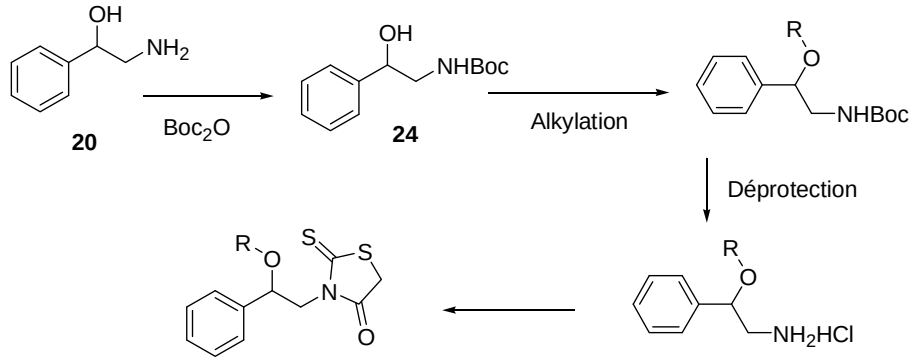


Schéma 9: 2ème voie de synthèse envisagée d'obtention des analogues rhodanine.

La fonction amine libre (NH_2) du 2-hydroxy-2-phényléthylamine **20** a été protégée avec un groupement *N*-Boc, puis une tentative de *O*-alkylation avec diverses halogénures d'alkyles **14** a été réalisée, mais sans succès. Pour la protection de la fonction amine par un groupement Boc[44], l'amine **20** (2-hydroxy-2-phényléthylamine) a été mise à réagir avec du dicarbonate de di-*tert*-butyl en proportion stœchiométrique, en présence de triéthylamine dans du dichlorométhane à l'ambiante pendant 24 h, pour conduire au *tert*-butyl carbamate **24** (Schéma 10). Pour la réaction de *O*-alkylation de **24** et compte tenu du caractère peu acide de l'hydrogène de la fonction alcool secondaire qu'il possède, nous avons réalisé des essais avec des bases fortes comme l'hydrure de sodium (NaH) et KOH, afin de déterminer le nombre d'équivalents adéquat pour cette réaction. L'utilisation de K_2CO_3, base trop faible et peu appropriée, ne peut assurer la déprotonation de cet alcool secondaire pour cette réaction de *O*-alkylation. La réaction d'éthérification, a donc été menée en solution de *N*,*N*-diméthylformamide anhydre à 50°C pendant 24 h, en présence de KOH (5 équivalents)

[44] kawamoto A.M., Wills M., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* **2001**, *1*(16), 1916-1928.

(Schéma 9). Cependant, l'analyse RMN ^{1}H du brut réactionnel a montré que la déprotonation et donc l'alkylation ont été toutes les deux réalisées au niveau du groupement NH de l'amine protégée **24**, et non sur la fonction de l'alcool secondaire afin d'obtenir l'aminoalcool **25**. Ce constat s'accorde avec l'analyse que nous avons faite des pKa afin de vérifier la cohérence du résultat obtenu. En effet, le pKa pour le groupement NHBoc dans le DMSO est environ de 24[43c,45] tandis que le pKa pour un alcool secondaire (dans le DMSO également) est environ de 30[42]. Ces données signifient que le proton porté par le groupement NHBoc est plus acide que celui de la fonction hydroxyle secondaire de **24** et donc normalement plus réactif pour une déprotonation en vue d'une éthérification.

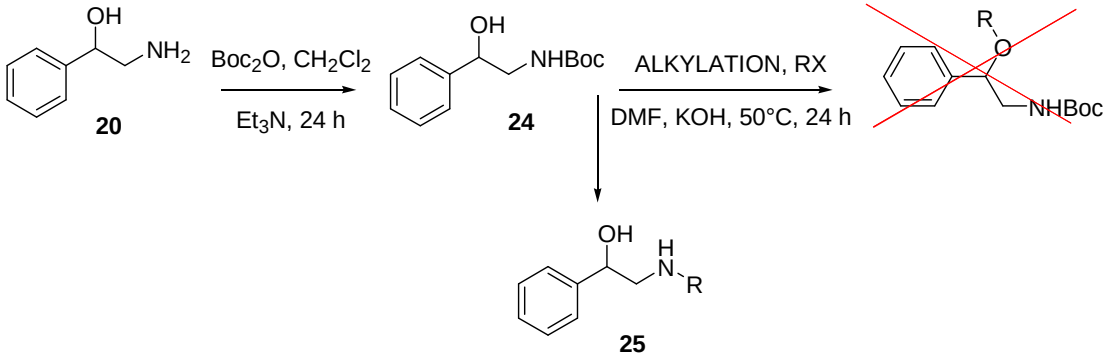


Schéma 10: Tentative d'alkylation de l'amine NHBoc **24**.

Nous avons également observé à l'issue de cette *N*-alkylation un clivage du groupement *N*-Boc de l'amine protégée. Des cas de déprotection de groupement *N*-Boc sous conditions basiques ont été cités dans la littérature pour certaines amines activées portant un radical R du type pyrrole, pyrazole, indole, etc.[46] Sous l'action du KOH, le *tert*-butyl carbamate **24** a donc été déprotégée pour conduire à l'amino-alcool **25** suivant un mécanisme réactionnel proposé par Tom et coll.[46c] (Schéma 11).

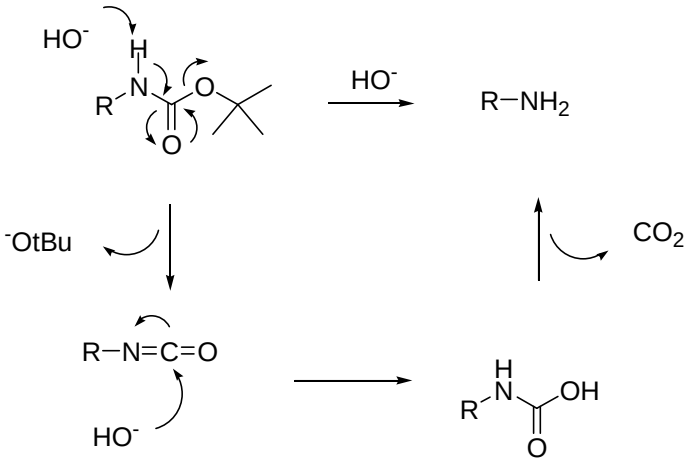


Schéma 11: Mécanisme de déprotection d'une amine NHBoc sous l'action d'une base.

45 Bordwell F.G., Fried H.E., *J. Org. Chem.* **1991**, *56*(13), 4218-4223.

46 a) El Kazzouli S., Koubachi J., Berteina-Raboin S., Mouaddib A., Guillaumet G., *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*(48), 8575-8577. b) Hasan I., Marinelli E.R., Lin L.C.C., Fowler F.W., Levy A.B., *J. Org. Chem.* **1981**, *46*(1), 157-164. c) Tom N.J., Simon W.M., Frost H.N., Ewing M., *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*(5), 905-906.

Conclusion

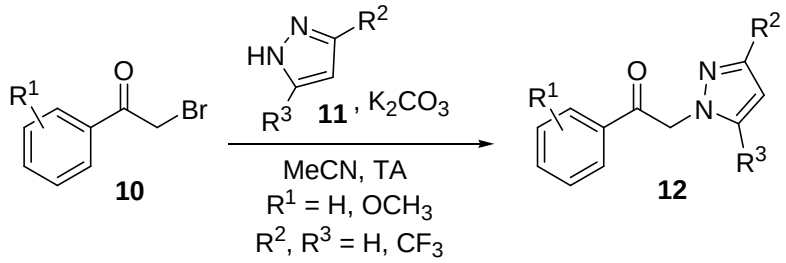
Ce travail a eu pour objectif le développement synthétique de composés susceptibles de moduler les canaux ioniques, plus précisément les canaux SOCE. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés au SKF-96365, un modulateur non spécifique des SOCE, comme modèle moléculaire. Nous avons ainsi synthétisé une nouvelle famille de chlorhydrates de 1-aryl-1*H*-pyrazolium **16(a-e)**, analogues du SKF-96365. L'étude de pharmacomodulations réalisée autour du SKF-96365 a permis d'introduire divers points de diversité, dont le remplacement de la plateforme imidazole du SKF-96365 par une plateforme pyrazole, la variation de la longueur de la chaîne carbonée latérale et enfin la suppression ou le maintien des groupements méthoxy en position *para* des radicaux phényles du SKF-96365. Nous avions souhaité initialement pouvoir également réaliser la synthèse d'analogues du SKF-96365 comportant une plateforme rhodanine, cependant les différentes tentatives de synthèse réalisées n'ont pu aboutir aux composés escomptés. Les différents chlorhydrates de 1-aryl-1*H*-pyrazolium **16(a-e)** étant sous forme racémique, nous avons procédé à une résolution optique. Nous avons ainsi réussi à isolé les deux énantiomères optiquement purs **18a** et **18b** de l'alcool précurseur **13b** et avons réalisé la synthèse des énantiomères du chlorhydrate de pyrazolium **16d**.

CHAPITRE 2:

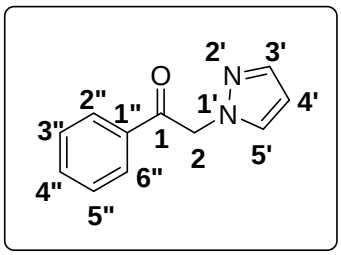
PARTIE EXPÉRIMENTALE

Analogues pyrazoles du SKF-96365

Préparation des 1-aryl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ones



1-Phényl-2-(1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-one



12a

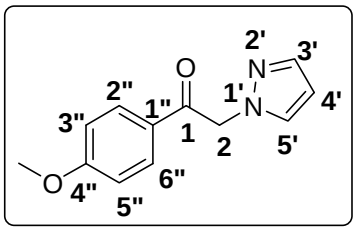
Rdt (%): 53 (3.743 g)
Aspect: mousse jaune clair
F (°C): 96-97
SMHR, *m/z*: 209.0689 (calculée pour $C_{11}H_{10}N_2ONa$: 209.0691; $[M+Na]^+$).

À une solution de 2-bromoacétophénone **10a** (4 g, 20.10 mmol) dans 20.8 mL d'acétonitrile anhydre, est ajouté 1.45 g de pyrazole **11a** (21.30 mmol, 1.06 éq.). Après dissolution complète des réactifs en suspension, du K_2CO_3 (2.92 g, 21.10 mmol, 1.05 éq.) est ajouté et le mélange résultant est maintenu sous agitation magnétique vive à température ambiante pendant 8 h (la réaction est suivie par CCM de silice 60F 254 Merck en utilisant comme éluant un mélange de cyclohexane/AcOEt, 50:50 v/v). Le milieu réactionnel est dilué avec 20 mL d'acétate d'éthyle, filtré sur verre fritté de porosité N°4 et le solide résiduel est lavé avec 20 mL d'acétate d'éthyle. Le filtrat transféré dans une ampoule à décanter est ensuite lavé avec 3x80 mL d'eau et 3x80 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium, puis est séché sur $MgSO_4$ anhydre et filtré sur papier plissé. Le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle et le résidu d'évaporation solide est purifié par chromatographie préparative sur phase stationnaire de silice 60F 254 Merck avec un gradient de 0-50% cyclohexane-AcOEt pendant 60 min.). On obtient le produit désiré **12a** sous la forme d'une mousse jaune claire.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 5.84 (s, 2H, CH_2, H-2), 6.31 (dd, *J* = 2.3, 1.9 Hz, 1H, H-4'), 7.48 (dd, *J* = 1.9, 0.7 Hz, 1H, H-3'), 7.52-7.63 (m, 2H, H-3", H-5", Ar), 7.66-7.77 (m, 2H, H-4", H-5', Ar),7.97-8.09 (m, 2H, H-2", H-6").

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 57.7 (C-2), 105.6 (C-4'), 128.1 (C-3", C-5"), 129.0 (C-2", C-6"), 131.6 (C-5'), 134.0 (C-4"), 134.6 (C-1"), 139.0 (C-3'), 193.7 (C=O).

1-(4-Méthoxyphényl)-2-(1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-one

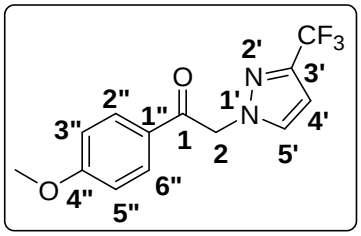


12b

Rdt (%): 66 (4.346 g)
Aspect: paillettes jaune-argent
F (°C): 102-103
SMHR, *m/z*: 239.0798 (calculée pour $C_{12}H_{12}N_2O_2Na$: 239.07965; $[M+Na]^+$).

À une solution de 4.60 g (20.10 mmol) de 2-bromo-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-one **10b** dans 20.8 mL d'acétonitrile, est ajouté 2.74 g de pyrazole **11a** (40.20 mmol, 2 éq.). Après dissolution complète des réactifs en suspension, 5.56 g (40.20 mmol, 2 éq.) de K_2CO_3 sont ajoutés et le mélange résultant est maintenu sous vive agitation magnétique à température ambiante pendant 12 h (la réaction est suivie par CCM sur silice 60F 254 Merck en utilisant comme éluant un mélange de cyclohexane-AcOEt 30:70 v/v). Le milieu réactionnel est ensuite dilué avec 20 mL d'acétate d'éthyle, filtré sur verre fritté de porosité N°4 et le solide résiduel est lavé avec 20 mL d'acétate d'éthyle. Le filtrat transféré dans une ampoule à décanter est ensuite lavé avec 3x80 mL d'eau, 3x80 mL d'une solution saturée en chlorure de sodium. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre et filtrée sur papier plissé. Le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle et le résidu d'évaporation solide est purifié par chromatographie préparative (avec l'appareil Combi Flash R_f 200psi Teledyne ISCO) sur phase stationnaire de silice avec un gradient de 0-70% cyclohexane/acétate d'éthyle pendant 60 min.). On obtient le produit désiré **12b** sous forme de paillettes jaune à éclat métallique.
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.86 (s, 3H, OC**H**$_3$), 5.77 (s, 2H, CH_2, H-2), 6.30 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-4'), 7.09 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-3", H-5", Ar), 7.47 (dd, *J* = 1.9, 0.7 Hz, 1H, H-3'), 7.72 (dd, *J* = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-5'), 8.01 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-2", H-6", Ar).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 55.7 (O**C**H$_3$), 57.3 (C-2), 105.5 (C-4'), 114.2 (C-3", C-5"),127.4 (C-5'), 130.4 (C-2", C-6"), 131.6 (C-1"), 138.8 (C-3'), 163.6 (C-4"),191.9 (C=O).

2-(3-(Trifluorométhyl)-1H-pyrazol-1-yl)-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-one



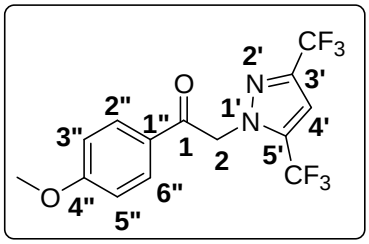
12c

Rdt (%): 68 (0.62 g)
Aspect: mousse blanche
F (°C): 146-147
SMHR, *m/z*: 307.0671 trouvée (calculée pour $C_{13}H_{11}N_2O_2F_3Na$: 307.0670; $[M+Na]^+$);
285.0862 trouvée (calculée pour $C_{13}H_{12}N_2O_2F_3$: 285.08509; $[M+H]^+$);
323.0417 trouvée (calculée pour $C_{14}H_{10}N_2O_2F_6K$: 323.0410; $[M+K]^+$).

À une solution de 0.5 g (2.18 mmol) de 2-bromo-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-one **10b** dans 2.25.mL d'acétonitrile, est ajouté 0.89 g de 3-(trifluoromethyl)pyrazole **11b** (6.54 mmol, 3 éq.). Après dissolution complète des réactifs en suspension, 0.905 g (6.54 mmol, 3 éq.) de K_2CO_3 sont ajoutés et le mélange résultant est maintenu sous vive agitation magnétique à

température ambiante pendant 12 h (la réaction est suivie par CCM sur silice en utilisant comme éluant un mélange de cyclohexane/acétate d'éthyle, 50:50). Le milieu réactionnel est dilué avec 5 mL d'acétate d'éthyle, filtré sur verre fritté de porosité N°4 et le solide résiduel est lavé avec 5 mL d'acétate d'éthyle. Le filtrat est ensuite lavé avec 3x20 mL d'eau et 3x20 mL d'une solution saturée en chlorure de sodium, séché sur $MgSO_4$ anhydre et filtré sur papier plissé. Le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle et le résidu solide est trituré (par agitation magnétique) dans 40 mL d'hexane pendant 4 h. Le solide en suspension est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4 et séché à l'étuve pendant 3 h pour donner le produit attendu **12c** sous la forme d'une mousse blanche.
Le filtrat issu du traitement précédent est évaporé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle pour donner le 3-(trifluoromethyl)pyrazole de départ (0.33 g).
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.87 (s, 3H, OC**H**$_3$), 5.94 (s, 2H, CH_2, H-2), 6.78 (dd, *J* = 2.4, 0.7 Hz, 1H, H-4', Ar), 7.12 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-3", H-5", Ar), 7.95 (dq, *J* = 2.1, 1.0 Hz, 1H, H-5', Ar), 8.02 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-2", H-6", Ar).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 55.8 (O**C**H$_3$), 58.1 (C-2), 104, 4 (C-4'), 104.4 (C-4'), 114.2 (C-2", C-6"), 114.3 (C-2", C-6"), 127.1 (C-1"), 130.4 (C-3", C-5"), 130.5 (C-3", C-5"), 134.2 (C-5'), 134.3 (C-5'), 163.8 (C-4"), 191.0 (C-1).

2-(3,5-Bis(trifluorométhyl)-1H-pyrazol-1-yl)-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-one



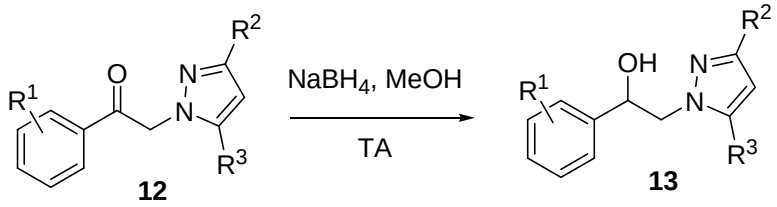
12d

Rdt (%): 69
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 114-115
SMHR, *m/z*: 375.0544 trouvée (calculée pour $C_{14}H_{10}N_2O_2F_6Na$: 375.0544; $[M+Na]^+$);
353.0734 trouvée (calculée pour $C_{14}H_{11}N_2O_2F_6$: 353.0734; $[M+H]^+$);
391.0294 trouvée (calculée pour $C_{14}H_{10}N_2O_2F_6K$: 391.02836; $[M+K]^+$);
333.0679 trouvée (calculée pour $C_{14}H_{10}N_2O_2F_5$: 391.02836; $[M-HF+H]^+$).

À une solution de 0.5 g (2.18 mmol) de 2-bromo-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-one **10b** dans 2.25.mL d'acétonitrile, est ajouté 1.778 g de 3,5-*bis*(trifluorométhyl)pyrazole **11c** (8.72 mmol, 4 éq.). Après dissolution complète des réactifs en suspension, 1.205 g (8.72 mmol, 4 éq.) de K_2CO_3 sont ajoutés et le mélange résultant est maintenu sous vive agitation magnétique à température ambiante pendant 24 h (la réaction est suivie par CCM sur silice 60F 254 Merck en utilisant comme éluant un mélange de cyclohexane-AcOEt 50:50 v/v). Le milieu réactionnel est dilué avec 5 mL d'acétate d'éthyle, filtré sur verre fritté de porosité N°4 et le solide résiduel est lavé avec 5 mL d'acétate d'éthyle. Le filtrat transféré dans une ampoule à décanter est ensuite lavé avec 3x20 mL d'eau et 3x20 mL d'une solution saturée en chlorure de sodium. La phase organique est ensuite séchée sur $MgSO_4$ anhydre et filtrée sur papier plissé. Le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle pour donner le composé escompté **12d** sous la forme d'une poudre blanchâtre.
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.88 (s, 3H, OC**H**$_3$), 6.19 (s, 2H, CH_2, H-2), 7.12 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H, H-3", H-5", Ar), 7.69 (s, 1H, H-4', Ar), 8.05 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, H-2", H-6", Ar).

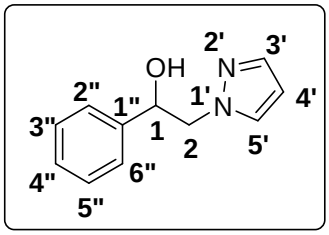
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 55.8 (O**C**H$_3$), 58.5 (C-2), 107.5 (C-4') , 114.3 (C-3", C-5"), 126.3 (C-1"), 130.8 (C-2", C-6"), 164.2 (C-4"), 189.9 (C=O).

Transformation des 2-(1*H*-pyrazol-1-yl)-1-(phényl)éthan-1-ones en alcools secondaires par réduction



12 **13**

1-Phényl-2-(1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol



13a

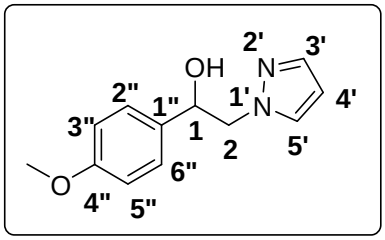
Rdt (%): 82 (0.94 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 132-133
SMHR, *m/z*: 211.0848 trouvée (calculée pour $C_{11}H_{12}N_2O_2Na$: 211.0847; $[M+Na]^+$).

À une solution de 0.93 g de 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-one **12a** (5 mmol) dans 9.3 mL de méthanol anhydre (distillé ou de qualité HPLC), maintenue à 0°C sur bain de glace, est ajouté par petites portions, 0.189 g (5 mmol, 1 éq.) de $NaBH_4$. Le mélange est ensuite agité à température ambiante pendant 5 h (la réaction est suivie par CCM sur silice en utilisant comme éluant un mélange de CH_2Cl_2-MeOH 90:10 v/v), puis le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. Le résidu solide est ensuite lavé avec 3x45 mL d'eau pour donner l'alcool désiré **13a** sous la forme d'une poudre blanche qui est séchée à l'étuve pendant 3 h.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 4.14-4.30 (m, 2H, CH_2, H-2), 4.83-5.01 (m, 1H, CH, H-1), 5.65 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H, OH), 6.18 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4'), 7.19-7.39 (m, 5H, H-2", H-3", H-4", H-5", H-6", Ar), 7.43 (dd, *J* = 1.9, 0.7 Hz, 1H, H-3'), 7.58 (dd, *J* = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-5').

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 58.7 (C-2), 71.8 (C-1), 104.7 (C-4'), 126.1 (C-3", C-5"), 127.4 (C-4"), 128.2 (C-2", C-6"), 130.7 (C-5'), 138.5 (C-1"), 142.8 (C-3').

1-(4-Méthoxyphényl)-2-(1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol



13b

Rdt (%): 86 (1.091 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 116-117
SMHR, *m/z*: 241.0954 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{14}N_2O_2Na$: 241.0953; $[M+Na]^+$).

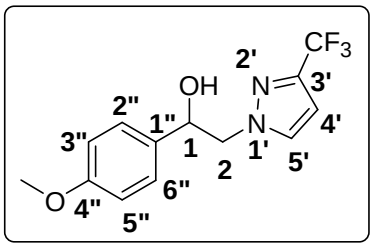
À une suspension de 1.08 g de 1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-one **12b** (5 mmol) dans 14.4 mL de méthanol anhydre (distillé ou de qualité HPLC), maintenue à 0°C sur bain de glace, est ajouté par petites portions, 0.189 g (5 mmol, 1 éq.) de $NaBH_4$. Le mélange est ensuite agité à température ambiante pendant 7 h (la réaction est suivie par CCM sur silice en utilisant comme éluant un mélange de CH_2Cl_2-MeOH 80:20 v/v), puis le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. Le résidu solide est ensuite lavé avec 3x47 mL d'eau pour donner l'alcool désiré **13b** sous la forme d'une poudre blanchâtre qui est séchée à l'étuve pendant 3 h.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 3.73 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.10-4.27 (m, 2H, CH_2, H-2), 4.87 (dt, *J* = 7.5, 5.1 Hz, 1H, CH, H-1), 5.54 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, OH), 6.17 (dd, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-4'), 6.88 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3", H-5",Ar), 7.15-7.29 (m, 2H, H-2", H-6", Ar), 7.42 (dd, *J* = 1.8, 0.7 Hz, 1H, H-3'), 7.57 (dd, *J* = 2.2, 0.8 Hz, 1H, H-5').

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 55.0 (O**C**H$_3$), 58.7 (C-2), 71.4 (C-1), 104.6 (C-4'), 113.5 (C-3", C-5"), 127.2 (C-2", C-6"), 130.5 (C-1"), 134.8 (C-5'), 138.4 (C-3'), 158.5 (C-4").

[α_D] = 0.0 (*c* 1.0, MeOH), ed = 50 % (conditions HPLC: colonne Chiracel OJ-H, hexane:*i*-PrOH 96:4, débit = 0.6 mL/min., longueur d'onde = 220 nm, t_R (énantiomère 1) = 65.92 min, t_R (énantiomère 2) = 71.38 min).

1-(4-Méthoxyphényl)-2-(3-(trifluorométhyl)-1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol



13c

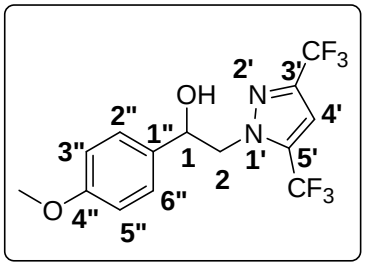
Rdt (%): 94 (1.431 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 110-111
SMHR, *m/z*: 309.0824 trouvée (calculée pour $C_{13}H_{13}N_2O_2F_3Na$: 309.0827; $[M+Na]^+$);
269.0907 trouvée (calculée pour $C_{13}H_{12}N_2OF_3$: 269.0902; $[M-H2O+H]^+$);
249.0851 trouvée (calculée pour $C_{13}H_{11}N_2OF_2$: 249.0840; $[M-H2O-HF+H]^+$).

À une suspension de 1.42 g de 2-(3-(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazol-1-yl)-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-one **12c** (5 mmol) dans 39 mL de méthanol anhydre (distillé ou de qualité HPLC), maintenue à 0°C sur bain de glace, est ajouté par petites portions, 0.189 g (5 mmol, 1 éq.) de $NaBH_4$. Le mélange est ensuite agité à température ambiante pendant 7 h (la réaction est suivie par CCM sur silice en utilisant comme éluant un mélange d'hexane/acétate d'éthyle, 50:50), puis le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. Le résidu solide est ensuite lavé avec 3x47 mL d'eau pour donner l'alcool désiré **13c** sous la forme d'une poudre blanchâtre qui est séchée à l'étuve pendant 3 h.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 7.85 (s, 0H), 7.28 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.66 (d, *J* = 2.3 Hz, 0H), 5.63 (s, 0H), 4.90 (t, *J* = 6.5 Hz, 0H), 4.27 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 3.74 (s, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 55.0 (O**C**H$_3$), 55.1 (O**C**H$_3$), 59.3 (C-2), 71.0 (C-1), 103.7, (C-4'), 103.7 (C-4'), 113.6 (C-2", C-6"), 113.6 (C-2", C-6"), 127.2 (C-3", C-5"), 127.3 (C-3", C-5"), 133.1 (C-5'), 133.2 (C-5'), 134.2 (C-1"), 140.13 (q, *J* = 37.1 Hz, **C**F$_3$), 158.7 (C-4").

2-(3,5-Bis(trifluorométhyl)-1H-pyrazol-1-yl)-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-ol

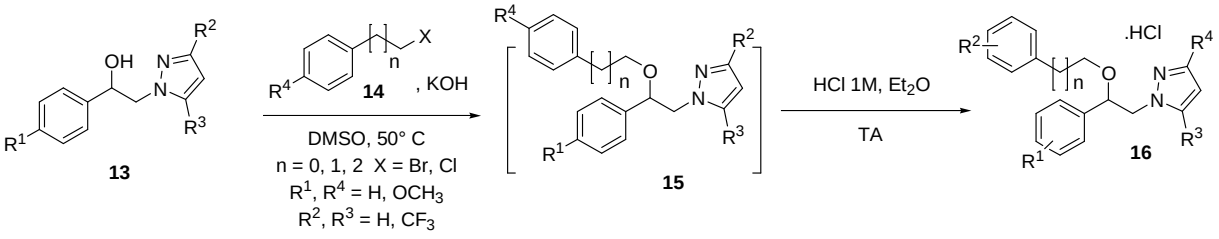


13d

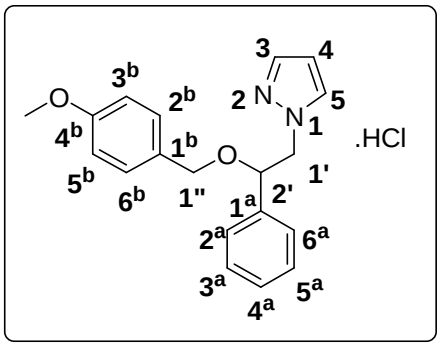
Rdt (%): 98 (1.771 g)
Aspect: huile jaune clair
SMHR, *m/z*: 377.0700 trouvée (calculée pour $C_{14}H_{12}N_2O_2F_6Na$: 377.0701; $[M+Na]^+$);
337.0763 trouvée (calculée pour $C_{14}H_{11}N_2OF_6$: 337.0776; $[M-H2O+H]^+$);
317.0704 trouvée (calculée pour $C_{14}H_{10}N_2OF_5$: 317.0713; $[M-H2O-HF+H]^+$).

À une suspension de 1.76 g de 2-(3,5-bis(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazol-1-yl)-1-(4-méthoxyphényl)éthan-1-one **12d** (5 mmol) dans 31 mL de méthanol anhydre (distillé ou de qualité HPLC), maintenue à 0°C sur bain de glace, est ajouté par petites portions, 0.378 g (10 mmol, 2 éq.) de $NaBH_4$. Le mélange est ensuite agité à température ambiante pendant 7 h (la réaction est suivie par CCM sur silice 6F 254 Merck en utilisant comme éluant un mélange d'hexane-AcOEt 50:50 v/v), puis le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. Au résidu liquide d'évaporation sont rajoutés 44 mL d'eau déionisée, puis le milieu est extrait avec 3x44 mL d'acétate d'éthyle. Les phases organiques réunies sont ensuite lavées avec 44 ml d'une solution saturée en chlorure de sodium, séchées sur $MgSO_4$ anhydre et filtrées sur papier plissé. Après évaporation du solvant du filtrat à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle, le produit attendu **13d** est obtenu sous la forme d'une huile jaune clair, qui est séchée sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mmHg).
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 3.74 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.29 (dd, *J* = 13.9, 8.9 Hz, 1H, CH, H-2), 4.40 (dd, *J* = 13.9, 4.4 Hz, 1H, CH, H-2), 5.01 (dt, *J* = 8.9, 4.4 Hz, 1H, CH, H-1), 5.73 (dd, *J* = 4.6, 0.7 Hz, 1H, OH), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3", H-5", Ar), 7.28 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-2", H-6", Ar), 7.50-7.54 (m, 1H, H-4', Ar).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 55.1 (O**C**H$_3$), 58.8 (C-2), 70.6 (C-1), 106.8 (C-4'), 113.7 (C-3", C-5"), 127.2 (C-2", C-6"), 133.5 (C-1"), 158.9 (C-4").

Ethérification des 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol par réaction de *O*-alkylation



Chlorhydrate de 1-(2-((4-méthoxybenzyl)oxy)-2-phényléthyl)-1H-pyrazolium



16a

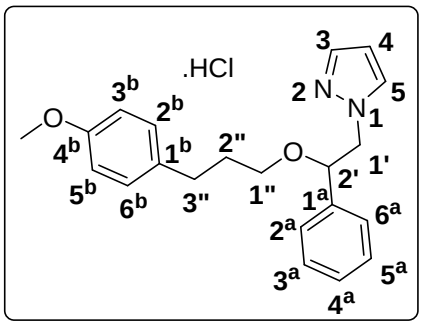
Rdt (%): 10 (35.72 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 62-65
SMHR, *m/z*: 331.1418 trouvée (calculée pour $C_{19}H_{20}N_2O_2Na$: 331.1417; $[M+Na]^+$);
121.0653 trouvée (calculée pour C_8H_9O: 121.0648; [M-C11H12N2O+H]$^+$).

L'hydroxyde de potassium en pastilles (0.112 g, 2 mmol, 2 éq.) est ajouté à une solution 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13a** (0.188 g, 1 mmol) dans 3.76 mL de diméthylsulfoxide de qualité pa. Le mélange est agité à température ambiante pendant 30 minutes puis du chlorure de 4-méthoxybenzyle **14a** (0.157 g, 1 mmol, 1 éq.) est ajouté. L'agitation est ensuite maintenue à 50°C pendant 2 jours. Après refroidissement du milieu réactionnel à la température ambiante, 18.70 mL de solution saturée en chlorure de sodium y sont ajoutés. Ce mélange est ensuite transféré dans une ampoule à décanter et extrait avec 18.70 mL d'éther diéthylique. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre, filtrée sur papier plissé et le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. L'huile du résidu d'évaporation (0.199 g, 0.65 mmol), est ensuite reprise avec 4.6 mL d'éther et cette solution est mise sous courant d'argon. Au milieu réactionnel est ajouté 0.65 mL d'une solution 1M d'acide chlorhydrique pur dans de l'éther diéthylique (0.65 mmol, 0.65 éq.). Il se forme sur les parois du ballon, une huile jaune qui ne se solidifie pas au bout d'une semaine d'agitation à température ambiante. Cette huile dans l'éther est alors maintenue à 4°C au réfrigérateur pendant plusieurs semaines jusqu'à formation d'un solide mou. Ce semi-solide est ensuite trituré (par agitation magnétique) dans 4 mL d'hexane pendant 5 jours pour donner une poudre blanche bien divisée qui est récupérée par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis lavée avec 0.5 mL d'éther diéthylique. Le chlorhydrate blanchâtre obtenu (**16a**) est ensuite séché à l'ambiante pendant 4 h.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.09 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H, CH, H-1''), 4.19-4.32 (m, 2H, CH, H-1'', H-1'), 4.40 (dd, *J* = 13.9, 8.5 Hz, 1H, CH, H-1'), 4.78 (dd, *J* = 8.4, 4.4 Hz, 1H, CH, H-2'), 6.22 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4, Ar), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 6.99 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.27-7.44 (m, 5H, H-2^a, H-3^a, H-4^a, H-5^a, H-6^a), 7.46 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-3, Ar), 7.62 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-5, Ar).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 55.1 (O**C**H$_3$), 57.0 (C-1'), 69.7 (C-1''), 79.4 (C-2'), 104.9 (C-4), 113.6 (C-3^a, C-5^a), 126.8 (C-2^a, C-6^a), 128.1 (C-4^a), 128.6 (C-2^a, C-6^a), 128.8 (C-3^a, C-5^a), 129.9 (C-1^b), 130.9 (C-5), 138.6 (C-3), 139.0 (C-1^a), 158.6 (C-4^b).

Chlorhydrate de 1-(2-phényl-2-(3-phénylpropoxy)éthyl)-1H-pyrazolium



16b

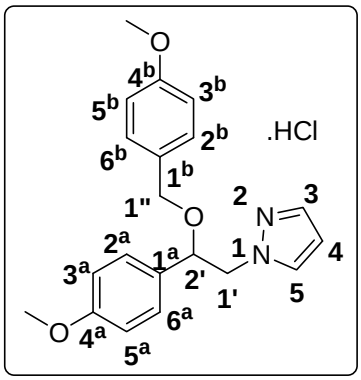
Rdt (%): 21 (78.3 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 76-80
SMHR, *m/z*: 359.1733 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{24}N_2O_2Na$: 359.1735; $[M+Na]^+$);
337.1906 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{25}N_2O_2$: 337.1916; $[M+H]^+$).

L'hydroxyde de potassium en pastilles (0.168 g, 3 mmol, 3 éq.) est ajouté à une solution de 1-phényl-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13a** (0.188 g, 1 mmol) dans 3.76 mL de diméthylsulfoxide de qualité pa. Le mélange est agité à température ambiante pendant 30 minutes puis du 1-(3-bromopropyl)-4-méthoxybenzène **14c** (0.229 g, 1 mmol, 1 éq.) est ajouté. L'agitation est ensuite maintenue à 50°C pendant 2 jours. Après refroidissement du milieu réactionnel à température ambiante, 18.70 mL de solution saturée en chlorure de sodium y sont ajoutés. Ce mélange est ensuite transféré dans une ampoule à décanter et extrait avec 18.70 mL d'éther diéthylique. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre, filtrée sur papier plissé et le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. L'huile du résidu d'évaporation (0.151 g, 0.45 mmol), est ensuite reprise avec 3 mL d'éther et cette solution est mise sous courant d'argon. Au milieu réactionnel est ajouté 0.45 mL d'une solution 1M d'acide chlorhydrique pur dans de l'éther diéthylique (0.45 mmol, 0.45 éq.). Il se forme sur les parois du ballon, une huile jaune clair qui commence à se solidifier au bout de 24 h d'agitation moyenne (200 rpm) à température ambiante. Après 72 h d'agitation, le sel formé est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis lavé avec 3x0.5 mL d'éther diéthylique. Le chlorhydrate blanchâtre obtenu (**16b**) est ensuite séché à l'ambiante pendant 4 h.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.62 (dt, *J* = 8.2, 6.2 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 2.36 (dd, *J* = 8.4, 6.7 Hz, 2H, CH_2, H-3''), 3.05 (dt, *J* = 9.5, 6.1 Hz, 1H, CH, H-1''), 3.22 (dt, *J* = 9.5, 6.0 Hz, 1H, CH, H-1''), 3.69 (s, O**C**$\mathbf{H}_3$), 4.23 (dd, *J* = 13.9, 4.4 Hz, 1H, CH, H-1'), 4.37 (dd, *J* = 13.9, 8.7 Hz, 1H, CH, H-1'), 4.69 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 1H, CH, H-2'), 6.23 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-4, Ar), 6.77 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 6.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.27-7.44 (m, 5H, H-2^a, H-3^a, H-4^a, H-5^a, H-6^a, Ar), 7.46-7.50 (m, 1H, H-3), 7.68 (dd, *J* = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-5).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.4 (C-3''), 31.1 (C-2''), 54.9 (O**C**H_3), 57.2 (C-1'), 67.4 (C-1''), 80.1 (C-2'), 104.9 (C-4), 113.6 (C-3^b, C-5^b), 126.7 (C-2^a, C-6^a), 128.0 (C-4^a), 128.5 (C-3^a, C-5^a), 129.2 (C-2^b, C-6^b), 131.0 (C-5), 133.4 (C-1^b), 138.4 (C-3), 139.3 (C-1^a), 157.3 (C-4^b).

Chlorhydrate de 1-(2-((4-méthoxybenzyl)oxy)-2-(4-méthoxyphényl)éthyl)-1H-pyrazolium



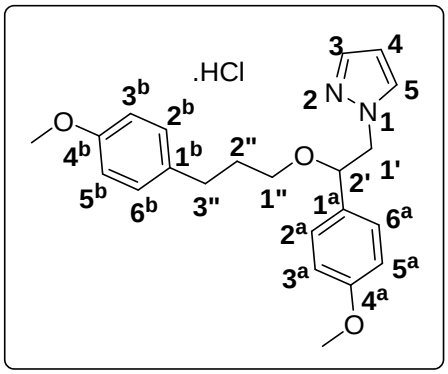
16c

Rdt (%): 33 (123.7 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 112-113
SMHR, *m/z*: 361.1526 trouvée (calculée pour $C_{20}H_{22}N_2O_3Na$: 361.1528; $[M+Na]^+$);
339.1715 trouvée (calculée pour $C_{20}H_{23}N_2O_3$: 339.1709; $[M+H]^+$).

L'hydroxyde de potassium (0.28 g, 5 mmol, 5 éq.) est ajouté à une solution de 1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13b** (0.218 g, 1 mmol) dans 3.76 mL de diméthylsulfoxide de qualité pa. Le mélange est agité à température ambiante pendant 30 minutes puis du chlorure de 4-méthoxybenzyle **14a** (0.157 g, 1 mmol, 1 éq.) est ajouté. L'agitation est ensuite maintenue à 50°C pendant 3 jours. Après refroidissement du milieu réactionnel à la température ambiante, 18.70 mL de solution saturée en chlorure de sodium y sont ajoutés. Ce mélange est ensuite transféré dans une ampoule à décanter et extrait avec 18.70 mL d'éther diéthylique. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre, filtrée sur papier plissé et le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. L'huile du résidu d'évaporation (0.231 g, 0.68 mmol), est ensuite reprise avec 4.57 mL d'éther et cette solution est mise sous courant d'argon. Au milieu réactionnel est ajouté 0.68 mL d'une solution 1M d'acide chlorhydrique pur dans de l'éther diéthylique (0.68 mmol, 0.68 éq.). Il se forme sur les parois du ballon, une huile rosée qui commence à se solidifier au bout de quelques minutes d'agitation moyenne (200 rpm) à température ambiante. Après 72 h d'agitation, le sel formé est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis lavé avec 3x0.5 mL d'éther diéthylique. Le chlorhydrate blanchâtre obtenu (**16c**) est ensuite séché à l'ambiante pendant 4 h.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.76 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.06 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H, CH, H-1"), 4.16-4.30 (m, 2H, CH, H-1', H-1"), 4.40 (dd, *J* = 13.8, 8.5 Hz, 1H, CH, H-1'), 4.71 (dd, *J* = 8.4, 4.5 Hz, 1H, CH, H-2'), 6.22 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4, Ar), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 6.89-7.03 (m, 4H, H-2^a H-6^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.26 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.47 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-3, Ar), 7.62 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-5, Ar).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 55.1 (O**C**H$_3$), 55.1 (O**C**H$_3$), 57.0 (C-1'), 69.3 (C-1"), 78.9 (C-2'), 104.9 (C-4), 113.6 (C-3^a, C-5^a), 114.0 (C-3^b, C-5^b), 128.2 (C-2^a C-6^a), 128.8 (C-2^b, C-6^b), 130.0 5 (C-1^a), 130.8 (C-1^b), 130.9 (C-5), 138.5 (C-3), 158.6 (C-4^a), 159.1 (C-4^b).

Chlorhydrate de 1-(2-(4-méthoxyphényl)-2-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)éthyl)-1H-pyrazolium



16d

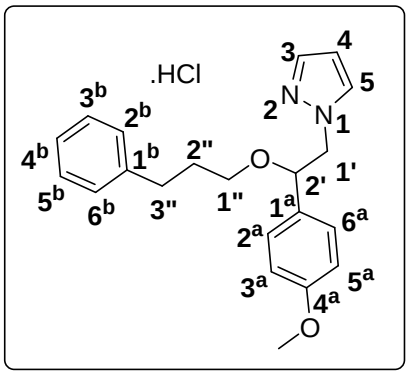
Rdt (%): 18 (72.53 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 92-93
SMHR, *m/z*: 389.1838 trouvée (calculée pour $C_{22}H_{26}N_2O_3Na$: 389.1841; $[M+Na]^+$).

L'hydroxyde de potassium (0.28 g, 5 mmol, 5 éq.) est ajouté à une solution de 1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13b** (0.218 g, 1 mmol) dans 3.76 mL de diméthylsulfoxide de qualité pa. Le mélange est agité à température ambiante pendant 30 minutes puis du 1-(3-bromopropyl)-4-méthoxybenzène **14c** (0.229 g, 1 mmol, 1 éq.) est ajouté. L'agitation est ensuite maintenue à 50°C pendant 3 jours. Après refroidissement du milieu réactionnel à la température ambiante, 18.70 mL de solution saturée en chlorure de sodium y sont ajoutés. Ce mélange est ensuite transféré dans une ampoule à décanter et extrait avec 18.70 mL d'éther diéthylique. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre, filtrée sur papier plissé et le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. L'huile du résidu d'évaporation (0.156 g, 0.42 mmol), est ensuite reprise avec 2.84 mL d'éther et cette solution est mise sous courant d'argon. Au milieu réactionnel est ajouté 0.42 ml d'une solution 1M d'acide chlorhydrique pur dans de l'éther diéthylique (0.42 mmol, 0.42 éq.). Il se forme sur les parois du ballon, une huile rosée qui commence à se solidifier au bout de 12 h d'agitation moyenne (200 rpm) à température ambiante. Après 72 h d'agitation, le sel formé est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis lavé avec 3x0.5 mL d'éther diéthylique. Le chlorhydrate blanchâtre obtenu (**16d**) est ensuite séché à l'ambiante pendant 4 h.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.47-1.70 (m, 2H, CH_2, H-2''), 2.36 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH_2, H-3''), 3.03 (dt, *J* = 9.6, 6.2 Hz, 1H, CH, H-1''), 3.19 (dt, *J* = 9.5, 6.0 Hz, 1H, CH, H-1''), 3.69 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.18 (dd, *J* = 13.8, 4.3 Hz, 1H, CH, H-1'), 4.35 (dd, *J* = 13.8, 8.7 Hz, 1H, CH, H-1'), 4.62 (dd, *J* = 8.7, 4.2 Hz, 1H, CH, H-2'), 6.22 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4, Ar), 6.77 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 6.86-7.02 (m, 4H, H-3^a, H-5^a,H-2^b, H-6^b, Ar), 7.26 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.47 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-3, Ar), 7.67 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-5, Ar).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.4 (C-3''), 31.1 (C-2''), 54.9 (O**C**H$_3$), 55.1 (O**C**H$_3$), 57.2 (C-1'), 67.0 (C-1''), 79.7 (C-2'), 104.9 (C-4), 113.6 (C-3^b, C-5^b), 113.9 (C-3^a, C-5^a), 128.0 (C-2^a, C-6^a), 129.2 (C-2^b, C-6^b), 130.8 (C-3), 131.1 (C-1^a), 133.4 (C-1^b), 138.5 (C-5), 157.3 (C-4^b), 159.0 (C-4^a).

Chlorhydrate de 1-(2-(4-méthoxyphényl)-2-(3-phénylpropoxy)éthyl)-1H-pyrazolium



16e

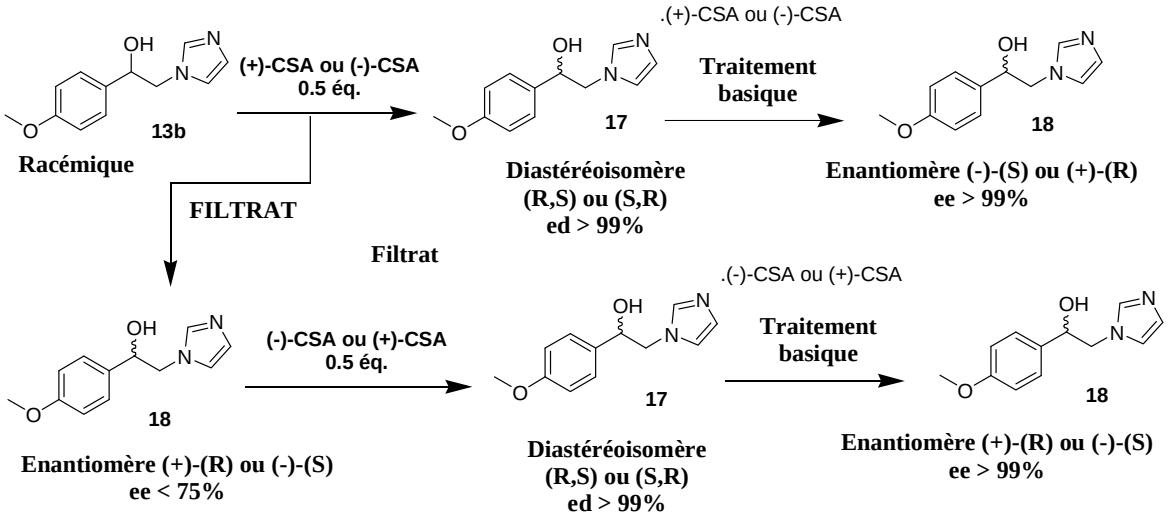
Rdt (%): 22 (82.04 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 87-88
SMHR, *m/z*: 359.1736 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{24}N_2O_2Na$: 359.1736; $[M+Na]^+$).

L'hydroxyde de potassium (0.28 g, 5 mmol, 5 éq.) est ajouté à une solution de 1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol **13b** (0.218 g, 1 mmol) dans 3.76 mL de diméthylsulfoxide de qualité pa. Le mélange est agité à température ambiante pendant 30 minutes puis du 1-bromo-3-phénylpropane **14d** (0.199 g, 1 mmol, 1 éq.) est ajouté. L'agitation est ensuite maintenue à 50°C pendant 3 jours. Après refroidissement du milieu réactionnel à la température ambiante, 18.70 mL de solution saturée en chlorure de sodium y sont ajoutés. Ce mélange est ensuite transféré dans une ampoule à décanter et extrait avec 18.70 mL d'éther diéthylique. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre, filtrée sur papier plissé et le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. L'huile du résidu d'évaporation (0.124 g, 0.37 mmol), est ensuite reprise avec 2.5 mL d'éther et à cette solution est mise sous courant d'argon. Au milieu réactionnel est ajouté 0.37 ml d'une solution 1M d'acide chlorhydrique pur dans de l'éther diéthylique (0.37 mmol, 0.37 éq.). Il se forme sur les parois du ballon, une huile claire qui commence à se solidifier au bout de 24 h d'agitation moyenne (200 rpm) à température ambiante. Après 72 h d'agitation, le sel formé est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis lavé avec 3x0.5 mL d'éther diéthylique. Le chlorhydrate blanchâtre obtenu (**16e**) est ensuite séché à l'ambiante pendant 4 h.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.54-1.76 (m, 2H, CH_2, H-2"), 2.37-2.46 (m, 2H, CH_2, H-3"), 3.04 (dt, *J* = 9.6, 6.1 Hz, 1H, CH, H-1"), 3.21 (dt, *J* = 9.6, 6.0 Hz, 1H, CH, H-1"), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.18 (dd, *J* = 13.8, 4.3 Hz, 1H, CH, H-1'), 4.35 (dd, *J* = 13.8, 8.7 Hz, 1H, CH, H-1'), 4.63 (dd, *J* = 8.7, 4.3 Hz, 1H, CH, H-2'), 6.21 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-4, Ar), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 6.99-7.06 (m, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.08-7.17 (m, 1H, H-4^b, Ar), 7.17-7.31 (m, 4H, H-2^a H-6^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.46 (dd, *J* = 1.9, 0.7 Hz, 1H, H-3, Ar), 7.66 (dd, *J* = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-5, Ar).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.9 (C-2"), 31.4 (C-3"), 55.1 (O**C**H$_3$), 57.2 (C-1'), 67.1 (C-1"), 79.7 (C-2'), 104.9 (C-4), 113.9 (C-3^a, C-5^a), 125.7 (C-4^b), 128.1 (C-2^a, C-6^a), 128.2 (C-3^b, C-5^b), 128.4 (C-2^b, C-6^b), 130.8 (C-5), 131.2 (C-1^a), 138.6 (C-3), 141.7 (C-1^b), 159.1 (C-4^a).

Dédoublement du racémique



Méthode 1

À une solution de 1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol racémique **13b** (0.5 g, 2.29 mmol) dans 5 mL d'acétone anhydre, est ajoutée goutte à goutte pendant 5 min. à la pipette, une solution de (-)-(*R*)-acide camphorsulfonique [(-)-CSA] (0.266 g, 1.145 mmol, 0.5 éq.) dans 2 mL d'acétone anhydre. Ce mélange est agité à température ambiante pendant 12 h. Il convient de souligner que pendant l'addition, il est observé la formation d'un sel blanc en suspension. Ce premier sel est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4 et lavé avec 4x0.3 mL d'acétone pour donner le diastéréoisomère (-)-(*S*)-alcool/(-)-(*R*)-CSA (ed < 85%, m = 0.363 g). Ce sel est recristallisé dans l'acétone et conduit à une masse de 0.271 g (52%), ed = 97% en (-)-(*S*)-alcool/(-)-(*R*)-CSA. Ce nouveau sel est enrichi avec 0.02 éq. de racémique **13b** pour donner 0.251 g (48%), ed > 99%, T_f = 168-170°C de sel (-)-(*S*)-alcool/(-)-(*R*)-CSA **17a** sous la forme d'une poudre blanche [α_D] = -6 (*c* 1.0, MeOH). Le traitement basique (MeONa, MeOH, TA, 12 h) de ce sel permet d'accéder à l'alcool de configuration (-)-(*S*) **18a** qui a l'aspect d'une poudre blanche, m = 0.096 g (38%), ee > 99%, T_f = 113-114°C, [α_D] = -10 (*c* 1.0, MeOH).

Après récupération du premier sel ayant un ed < 85%, le filtrat est évaporé et le résidu solide (0.345 g) est trituré pendant 4 h (par agitation magnétique) dans 14.5 mL de toluène. Après filtration sur verre fritté de porosité N°4, la phase liquide est évaporée pour conduire à une masse = 0.190 g (0.87 mmol) de l'énantiomère **18b** (+)-(*R*) ee = 65%. Celui-ci est mis en solution dans 3.8 mL d'acétone et à cette solution est ajoutée goutte à goutte pendant 4 min. à la pipette, 0.20 g de (+)-(*S*)-CSA (0.87 mmol, 1 éq.) dans 1.52 mL d'acétone. De nouveau, il se forme un sel blanc en suspension au cours de l'addition. Cette suspension est agitée à température ambiante pendant 12 h et le sel formé est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4 et lavé avec 4x0.23 ml d'acétone pour conduire à une masse de 0.249 g (63%), ed = 96% du diastéréoisomère (+)-(*R*)-alcool/(+)-(*S*)-CSA qui a l'aspect d'une poudre blanche. Un enrichissement avec 0.04 éq. de racémique **13b** conduit à une masse de 0.202 g (51%), ed > 99%, T_f =169-171 du sel (+)-(*R*)-alcool/(+)-(*S*)-CSA **17b** [α_D] = +6 (*c* 1.0, MeOH). L'énantiomère (+)-(*R*) **18b** est obtenu après traitement basique (MeONa, MeOH, TA, 12 h) de ce sel, sous la forme d'une poudre blanche, 0.078 g (41%), ee > 99%, T_f = 110-111°C, [α_D] = +10 (*c* 1.0, MeOH).

Principe de l'enrichissement: le sel (0.2 g, 0.44 mmol) est placé dans 0.6 mL d'acétone et à cette suspension est ajouté la proportion adéquate de racémique (0.02-0.04 éq.). Ce mélange est ensuite agité pendant 18 h à température ambiante et le sel est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4 et lavé avec 0.5 ml d'acétone.

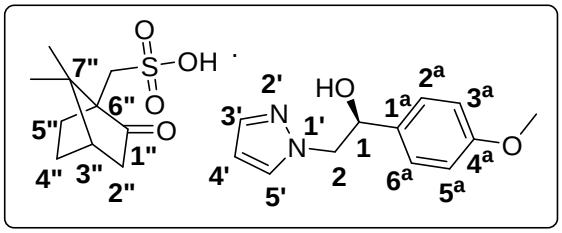
Traitement basique: à une solution de 0.2 g de sel (0.44 mmol) dans 2.5 mL de méthanol, est ajouté 1 éq. de MeONa et ce mélange est agité à température ambiante pendant 12 h. Le solvant est ensuite éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle et le résidu solide est lavé avec 4x2 mL d'eau pour donner l'énantiomère désiré sous la forme d'une poudre blanche.

Méthode 2

À une solution de 1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol racémique **13b** (0.5 g, 2.29 mmol) dans 5 mL d'acétone anhydre, est ajoutée goutte à goutte pendant 5 min. à la pipette, une solution de (+)-(*S*)-acide camphorsulfonique[(+)-CSA] (0.266 g, 1.145 mmol, 0.5 éq.) dans 2 mL d'acétone anhydre. Puis ce mélange est agité à température ambiante pendant 12 h. Il convient de souligner que pendant l'addition, il est observé la formation d'un sel blanc en suspension. Ce premier sel est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4 et lavé avec 4x0.3 mL d'acétone pour conduire au diastéréoisomère (+)-(*R*)-alcool/(+)-(*S*)-CSA (ed < 87%, m = 0.358 g). Ce sel est recristallisé dans l'acétonitrile et conduit à une masse de 0.280 g (54%), ed = 96% en (+)-(*R*)-alcool/(+)-(*S*)-CSA. Ce nouveau sel est enrichi avec 0.02 éq. de racémique **13b** pour donner 0.229 g (44%), ed > 99%, T_f = 169-171°C de sel (+)-(*R*)-alcool/(+)-(*S*)-CSA **17b** sous la forme d'une poudre blanche $[\alpha_D]$ = +6 (*c* 1.0, MeOH). Le traitement basique (MeONa, MeOH, TA, 12 h) de ce sel permet l'obtention de l'alcool de configuration (+)-(*R*) **18b** qui a l'aspect d'une poudre blanche, m = 0.089 g (35%), ee > 99%, T_f = 110-111°C, $[\alpha_D]$ = +10 (*c* 1.0, MeOH).

Après récupération du premier sel **17b** ayant un ed < 87%, le filtrat est évaporé et le résidu solide (0.366 g) est trituré pendant 4 h (par agitation magnétique) dans 14.5 mL de toluène. Après filtration sur verre fritté de porosité N°4, la phase liquide est évaporée et conduit à 0.207 g (0.95 mmol) de l'énantiomère (-)-(*S*) **18a** ee = 74%. Celui-ci est mis en solution dans 4.2 mL d'acétone et à cette solution est ajoutée goutte à goutte pendant 4 min. à la pipette, 0.219 g de (-)-(*R*)-CSA (0.95 mmol, 1 éq.) dans 1.66 mL d'acétone. Pendant l'addition, il est également noter la formation d'un sel blanc en suspension. Cette suspension est agitée à température ambiante pendant 12 h et le sel formé est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4 et lavé avec 4x0.25 ml d'acétone pour produire une masse de 0.285 g (66%), ed = 98% du diastéréoisomère (-)-(*S*)-alcool/(-)-(*R*)-CSA qui a l'aspect d'une poudre blanche. Un enrichissement avec 0.01 éq. de racémique **13b** conduit à une masse de 0.258 g (60%), ed > 99%, T_f = 168-170°C du sel (-)-(*S*)-alcool/(-)-(*R*)-CSA **17a** $[\alpha_D]$ = -6 (*c* 1.0, MeOH). L'énantiomère (-)-(*S*) **18a** est obtenu après traitement basique (MeONa, MeOH, TA, 12 h) de ce sel, sous la forme d'une poudre blanche, masse obtenue = 0.090 g (43%), ee > 99%, T_f = 113-114°C, $[\alpha_D]$ = -10 (*c* 1.0, MeOH).

((1R)-7,7-diméthyl-2-oxobicyclo[2.2.1]heptan-1-yl)méthanesulfonate de (1S)-2-(1H-Imidazol-1-yl)-1-(4-methoxyphenyl)ethan-1-ol

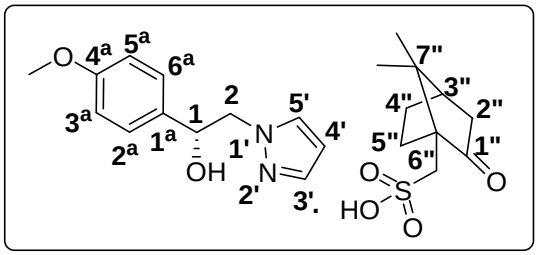


17a

Rdt (%): 48 (251 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 168-170
SMHR, *m/z*: 241.0946 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{14}N_2O_2Na$: 241.0947; $[C\text{-}H+Na]^+$);
201.1021 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{13}N_2O$: 201.1022; $[C\text{-}H2O]^+$);
277.0483 trouvée (calculée pour $C_{10}H_{15}O_4Na_2S$: 277.0481; $[A+2Na]^+$).

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 0.75 (s, 3H, C-7"C**H**$_3$), 1.04 (s, 3H, C-7"C**H**$_3$), 1.19-1.40 (m, 2H, CH_2, H-2",H-5"), 1.81 (d, *J* = 18.1 Hz, 1H, CH, H-4"), 1.80-1.92 (m, 1H, CH, H-5"), 1.95 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H, CH, H-4"), 2.16-2.34 (m, 1H, CH, H-3"), 2.46 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H, CH, C**H**$_2$SO$_3$H), 2.55-2.76 (m, 1H, CH, H-2"), 2.93 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H, CH, C**H**$_2$SO$_3$H), 3.73 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.10-4.32 (m, 2H, CH_2, H-2), 4.87 (dd, *J* = 7.3, 5.5 Hz, 1H, CH, H-1), 6.20 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-4', Ar), 6.87 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.22 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.47 (dd, *J* = 1.9, 0.7 Hz, 1H, H-3', Ar), 7.61 (dd, *J* = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-5', Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 19.5 (C-7"**C**H$_3$), 20.0 (C-7"**C**H$_3$), 24.2 (C-2"), 26.4 (C-5"), 42.1 (C-3"), 42.2 (C-4"), 46.8 (**C**H$_2$SO$_3$H), 47.1 (C-7"), 55.0 (O**C**H$_3$), 58.1 (C-6"), 58.6 (C-2), 71.3 (C-1), 104.8 (C-4'), 113.5 (C-3^a, C-5^a), 127.2 (C-2^a, C-6^a), 130.9 (C-5'), 134.7 (C-1$^{a)}$, 138.1 (C-3'), 158.5 (C-4^a), 216.0 (C=O).
$[\alpha_D]$ = -6.0 (*c* 1.0, MeOH), ed > 99 % (conditions HPLC: colonne Chiracel OJ-H, hexane:*i*-PrOH 94:6, débit = 0.8 mL/min., longueur d'onde = 220 nm, t_R = 34.01 min).

((1S)-7,7-diméthyl-2-oxobicyclo[2.2.1]heptan-1-yl)méthanesulfonate de (1R)-1-(4-methoxyphenyl)-2-(1H-pyrazol-1-yl)ethan-1-ol



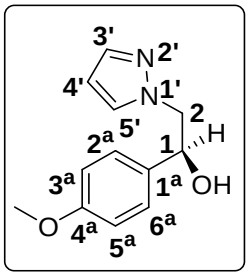
17b

Rdt (%): 51 (202 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 169-171
SMHR, *m/z*: 241.0946 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{14}N_2O_2Na$: 241.0947; $[C\text{-}H+Na]^+$);
201.1021 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{13}N_2O$: 201.1022; $[C\text{-}H2O]^+$);
277.0484 trouvée (calculée pour $C_{10}H_{15}O_4Na_2S$: 277.0481; $[A+2Na]^+$);
219.1128 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{13}N_2O$: 219.1128; $[C^+]$);
459.2004 trouvée (calculée pour $C_{24}H_{28}N_4O_4Na$: 459.2003; $[2C\text{-}2H+Na]^+$).

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 0.75 (s, 3H, C-7"C**H**$_3$), 1.04 (s, 3H, C-7"C**H**$_3$), 1.17-1.42 (m, 2H, CH_2, H-2",H-5"), 1.81 (d, *J* = 18.1 Hz, 1H, CH, H-4"), 1.78-1.93 (m, 1H, CH, H-5"), 1.95 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H, CH, H-4"), 2.25 (dt, *J* = 18.0, 4.0 Hz, 1H, CH, H-3"), 2.45 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H, CH, C**H**$_2$SO$_3$H), 2.54-2.76 (m, 1H, CH, H-2"), 2.93 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H, CH, C**H**$_2$SO$_3$H), 3.73 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.08-4.32 (m, 2H, CH_2, H-2), 4.87 (dd, *J* = 7.3, 5.5 Hz, 1H,

CH, H-1), 6.20 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-4', Ar), 6.87 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.22 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.43-7.41 (m, 1H, H-3', Ar), 7.60 (dd, *J* = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-5', Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 19.5 (C-7"**C**H$_3$), 20.0 (C-7"**C**H$_3$), 24.2 (C-2"), 26.4 (C-5"), 42.1 (C-3"), 42.2 (C-4"), 46.8 (**C**H$_2$SO$_3$H), 47.1 (C-7"), 55.0 (O**C**H$_3$), 58.1 (C-6"), 58.6 (C-2), 71.3 (C-1), 104.8 (C-4'), 113.5 (C-3^a, C-5^a), 127.2 (C-2^a, C-6^a), 130.9 (C-5'), 134.7 (C-1$^{a)}$, 138.1 (C-3'), 158.5 (C-4^a), 216.0 (C=O).
[α_D] = +6.0 (*c* 1.0, MeOH), ed > 99 % (conditions HPLC: colonne Chiracel OJ-H, hexane:*i*-PrOH 94:6, débit = 0.8 mL/min., longueur d'onde = 220 nm, t_R = 31.50 min).

(-)-(S)-1-(4-Méthoxyphényl)-2-(1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol

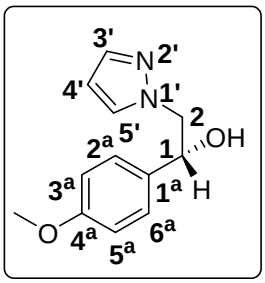


18a

Rdt (%): 38 (96 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 113-114
SMHR, *m/z*: 241.0950 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{14}N_2O_2Na$: 241.0953; $[M+Na]^+$);
263.0778 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{13}N_2O_2Na$: 263.0772; $[M-H+2Na]^+$).

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 3.73 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.06-4.30 (m, 2H, H-2, CH$_2$, H-2), 4.87 (q, *J* = 5.6 Hz, 1H, CH, H-1), 5.50 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, O**H**), 6.16 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4', Ar), 6.87 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.21 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.41 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-3', Ar), 7.56 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-5', Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 55.0 (O**C**H$_3$), 58.7 (C-2), 71.4 (C-1), 104.6 (C-4'), 113.5 (C-3^a, C-5^a), 127.2 (C-2^a, C-6^a), 130.5 C-5') , 134.8 (C-1^a), 138.4 (C-3'), 158.5 (C-4^a).
[α_D] = -10.0 (*c* 1.0, MeOH), ed > 99 % (conditions HPLC: colonne Chiracel OJ-H, hexane:*i*-PrOH 96:4, débit = 0.6 mL/min., longueur d'onde = 220 nm, t_R = 52.62 min).

(+)-(R)-1-(4-Méthoxyphényl)-2-(1H-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol



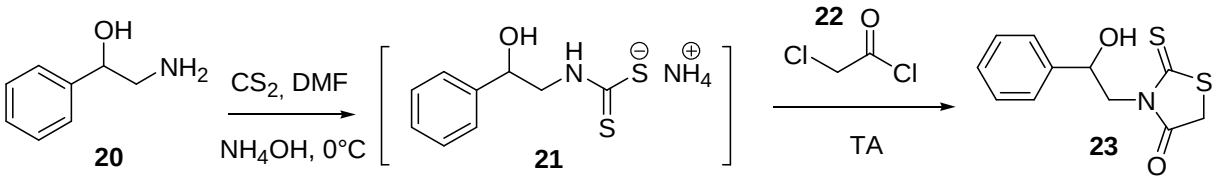
18b

Rdt (%): 41 (78 mg)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 110-111
SMHR, *m/z*: 241.0954 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{14}N_2O_2Na$: 241.0953; $[M+Na]^+$);
263.0778 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{13}N_2O_2Na$: 263.0772; $[M-H+2Na]^+$).

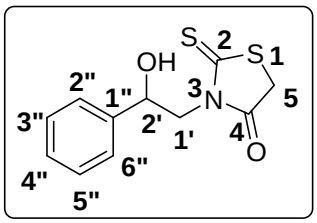
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 3.73 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.09-4.29 (m, 2H, H-2, CH$_2$, H-2), 4.87 (q, *J* = 5.6 Hz, 1H, CH, H-1), 5.50 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, O**H**), 6.16 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4', Ar), 6.87 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.22 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.41 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-3', Ar), 7.56 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-5', Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 55.0 (O**C**H$_3$), 58.7 (C-2), 71.4 (C-1), 104.6 (C-4'), 113.5 (C-3^a, C-5^a), 127.2 (C-2^a, C-6^a), 130.5 C-5') , 134.8 (C-1^a), 138.4 (C-3'), 158.5 (C-4^a).
[α_D] = +10.0 (*c* 1.0, MeOH), ed > 99 % (conditions HPLC: colonne Chiracel OJ-H, hexane:*i*-PrOH 96:4, débit = 0.6 mL/min., longueur d'onde = 220 nm, t_R = 63.51 min).

Analogues du SKF-96365 avec une plateforme "2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one"

Synthèse de la 3-phényléthyl-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



3-(2-Hydroxy-2-phényléthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one

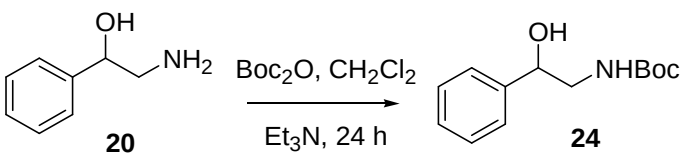


23

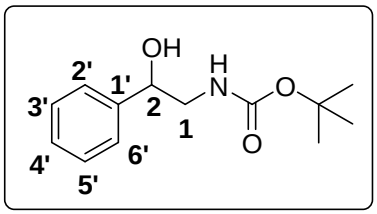
Rdt (%): 34 (1.256 g)
Aspect: mélange de mousse jaune clair et de granules jaunes orangé
F (°C): 104-106
SMHR, *m/z*: 276.0127 trouvée (calculée pour $C_{11}H_{11}NO_2NaS_2$: 276.0129; $[M+Na]^+$)
308.0394 trouvée (calculée pour $C_{12}H_{15}NO_3NaS_2$: 308.0391; $[M+Na+CH_3OH]^+$)

À une solution de 2-hydroxy-2-phényléthylamine **20** (2 g, 14.58 mmol) dans 50 mL de *N*,*N*-diméthylformamide maintenue sous agitation magnétique à 0°C sur un bain de glace, est ajouté successivement du disulfure de carbone (1.605 g, 21.87 mmol, 1.5 éq.), puis goutte à goutte de l'ammoniaque 28-30% (1.124 g, 32.08mmol, 2.2 éq.). Le mélange est agité à 0°C pendant 3 h, puis est additionné par petites portions de l'acide chloroacétique (1.378 g, 14.58 mmol, 1 éq.). Ce mélange est agité à température ambiante pendant 2 h, puis est progressivement chauffé à 70°C pendant 3 h. Après refroidissement du milieu réactionnel à la température ambiante, 150 mL d'eau y sont ajoutés et est homogénéisé par agitation manuelle. Le milieu de réaction est abandonné à température ambiante sans agitation pendant 12 h pour favoriser la décantation. La suspension résultante est ensuite filtrée sur verre fritté de porosité N°4, le précipité obtenu est lavé avec 4x20 mL d'eau et séché sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ = 3.90 (dd, *J* = 13.2, 4.1 Hz, 1H, H-1'), 4.10 (dd, *J* = 13.1, 9.3 Hz, 1H, H-1'), 4.15-4.33 (m, 2H, CH_2, H-5), 5.09 (dt, *J* = 8.6, 4.0 Hz, 1H, H-2'), 5.59 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H, OH), 7.16-7.49 (m, 5H, H-2", H-3", H-4", H-5", H-6", Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 35.7 (C-5), 51.3 (C-1'), 68.3 (C-2'), 125.7 (C-2", C-6"), 127.5 (C-4"), 128.3 (C-3", C-5"), 142.1 (C-1"), 174.3 (C=O), 203.4 (C=S).

Synthèse de la *N*-Boc 4-hydroxyphényléthylamine



tert-Butyl (2-hydroxy-2-phényléthyl)carbamate



24

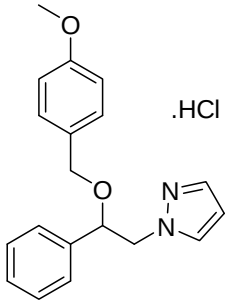
DAD2.225
Rdt (%): 89 (3.079 g)
Aspect: poudre planche
F (°C): 126-127
SMHR, *m/z*: 260.1263 trouvée (calculée pour $C_{13}H_{19}NO_3Na$: 260.1263; $[M+Na]^+$)

À une solution de 2-hydroxy-2-phényléthylamine **20** (2g, 14.58 mmol) dans 43.8 mL de dichlorométhane est ajoutée successivement sous agitation magnétique à 25°C, de la triéthylamine (2.213g, 21.87 mmol, 1.5 éq.) puis du dicarbonate de di-*tert*-butyl (3.182g, 14.58 mmol, 1 éq.). Le mélange réactionnel est maintenu sous agitation pendant 24 h à l'ambiante, puis 43.80 mL d'une solution saturée en chlorure d'ammonium y sont ajoutés. Le milieu de réaction est transféré dans une ampoule à décanter. Après décantation et récupération de la phase organique, la phase aqueuse est lavée avec 2x43.80 mL de dichlorométhane. Les phases organiques sont ensuite réunies, séchées sur $MgSO_4$ anhydre, filtrées sur papier plissé et le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. La poudre blanche obtenue est séchée sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pour donner le carbamate attendu.

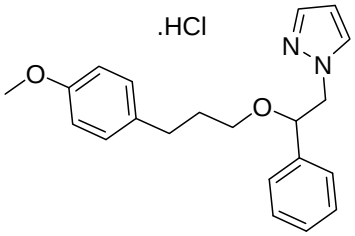
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.36 (s, 9H, Me_3C), 2.95-3.19 (m, 2H, CH_2, H-1), 4.59 (dt, *J* = 7.8, 4.7 Hz, 1H, H-2), 5.36 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, OH), 6.72 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, NH), 7.17-7.39 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6', Ar).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 28.2 ($C(\mathbf{C}H_3)_3$), 48.2 (C-1), 71.5 (C-2), 77.6 ($\mathbf{C}(CH_3)_3$), 126.0 (C-2', C-6'), 126.9 (C-4') , 127.9 (C-3', C-5'), 143.7 (C-1'), 155.6 (C=O).

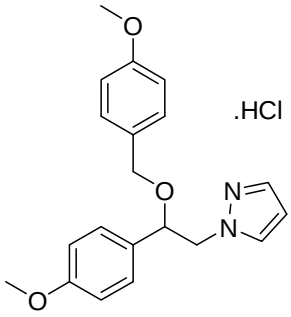
RÉCAPITULATIF DES COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS



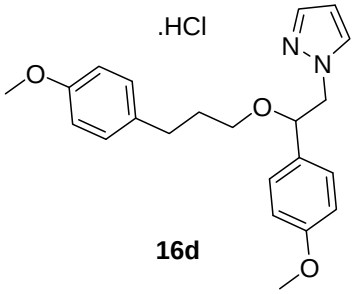
16a



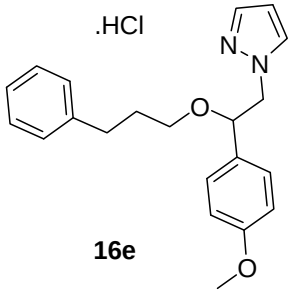
16b



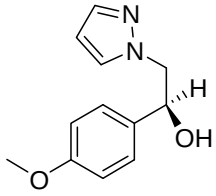
16c



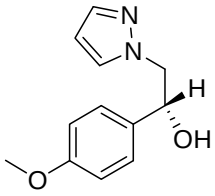
16d



16e



18a



18b

CHAPITRE 3:

SYNTHÈSE D'ANALOGUES DU SKF-96365 COMPORTANT DES PLATEFORMES PYRAZOLE ET RHODANINE (2)

Introduction

La structure du SKF-96365 (Figure 1) est bien connue et ce composé a été cité plusieurs fois dans la littérature (*cf.* Partie 2, Chapitre 2) car il est utilisé comme élément de référence pour la mesure des influx SOCE. Cependant, au cours de nos recherches bibliographiques sur le SKF-96365, nous avons constaté que certains auteurs se seraient trompés dans la représentation de la structure attribuée à ce composé.[1] Cette structure "éronnée" est également un composé dérivé de l'imidazole dont le nom est le 1-(2-{3-méthoxy-4[3-(4-méthoxy-phényl)-propoxy]-phényl}éthyl)-1*H*-imidazole (Figure 1). Il convient de signaler que l'interrogation de la base de données SciFinder de l'ACS ne donne aucun élément de réponse pour d'éventuels articles de synthèse, de brevets ou d'une utilisation possible en biologie pour ce composé. Cependant, ce composé a néanmoins retenu notre attention, car cette structure "éronnée" présente certaines similitudes structurales avec la structure correcte du SKF-96365 (Figure 1).

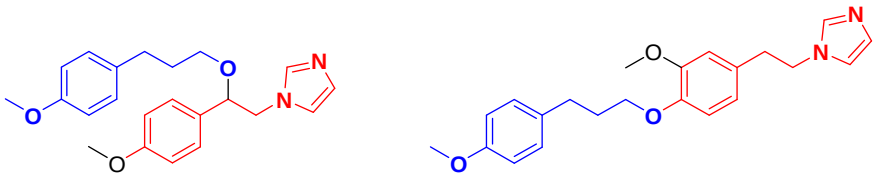


Figure 1: Similitudes entre la bonne et la mauvaise structure du SKF-96365.

Nous avons donc décidé d'appliquer à cette structure "erronée" du SKF-96365, qui a constitué notre modèle pour ces travaux, la même étude de pharmacomodulations réalisée autour du "vrai" SKF-96365 et ce, dans le but de développer une nouvelle librairie de composés, potentiellement actifs pour la modulation des influx SOCE (Figure 2). Ainsi, nous envisageons d'introduire plusieurs points de diversité pour la construction synthétique de cette nouvelle classe de composés. Les éléments de modulation structurale sont en conséquence les suivants:

- remplacement de l'imidazole par des plateformes du type pyrazole et rhodanine;
- maintien ou suppression du groupement méthoxy en position *para* du fragment phényle;
- variation de la longueur de la chaîne carbonée latérale de la fonction éther.

[1] Sweeney Z.K., Minatti A., Button D.C., Patrick S., *ChemMedChem* **2009**, *4*(5), 706-718.

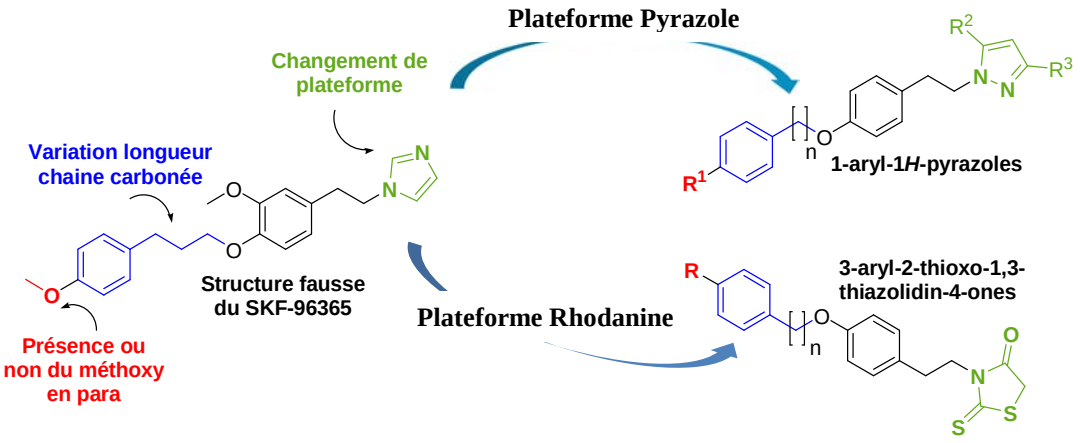


Figure 2: Pharmacomodulations envisagées autour de la structure "erronée" du SKF-96365.

La synthèse de rhodanines *N*-substituées (3-aryléthyl-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones) et de pyrazoles fonctionnalisés en position *N*-1 (1-aryl-1*H*-pyrazoles) (Figure 2) a été envisagée pour ce travail.

I. SYNTHÈSE D'ANALOGUES AVEC UNE PLATEFORME PYRAZOLE

L'analyse rétrosynthétique pour les analogues pyrazoliques de cette nouvelle série de composés autour de la structure "erronée" du SKF-96365 est représentée dans la figure 3. Ceci induit en conséquence pour la synthèse de mettre en place une stratégie en 3 étapes qui sont les suivantes:

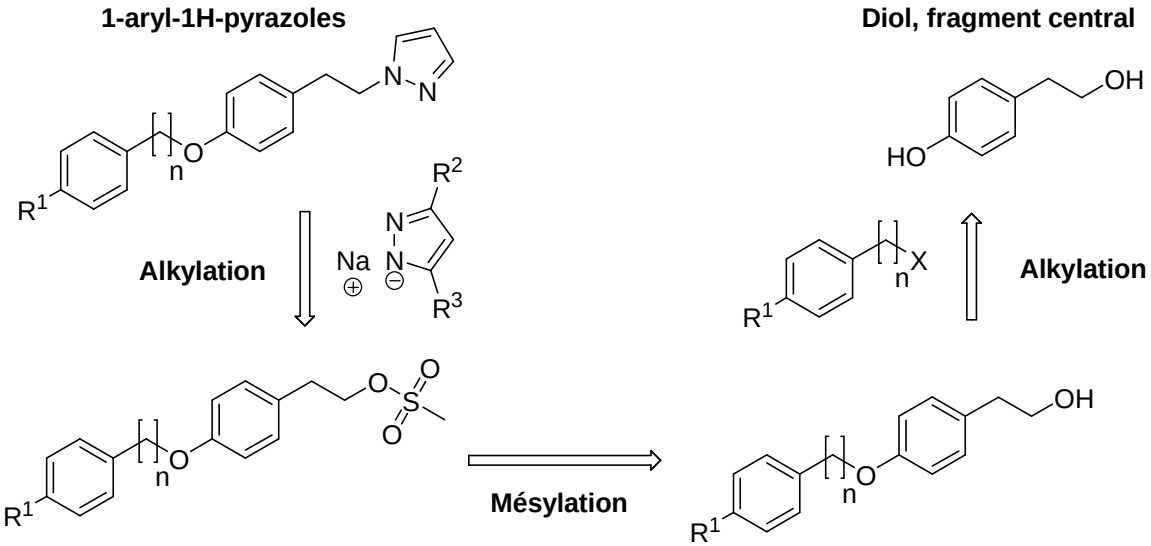


Figure 3: Stratégie de synthèse de la deuxième série d'analogues pyrazoliques.

- La première étape a consisté à installer la chaîne alkyle en position *para* du phényle à partir du 2-(4-hydroxyphényl)éthanol, fragment central de cette structure. Quatre

halogénures d'alkyles différents ont été utilisés afin d'introduire un premier point de diversité structurale;

- ❖ La seconde étape a eu pour objectif de réaliser la mésylation de la fonction hydroxyle du fragment phényléthanol afin de conférer un bon caractère électrophile au carbone adjacent de cette fonction;
- ❖ La dernière étape a concerné l'installation de la plateforme pyrazole *via* une réaction de substitution nucléophile entre le mésylate précédemment synthétisé et divers sels sodés de pyrazoles substitués ou non, et a offert ainsi un second point de diversité structurale.

1. Alkylation du 2-(4-hydroxyphényl)éthanol 26

Pour cette réaction de *O*-alkylation (Schéma 1) entre le 2-(4-hydroxyphényl)éthanol **26** et divers halogénures d'alkyles **14(a-d)** et compte tenu de la différence d'acidité entre le groupement OH en position *para* du fragment phényl et la fonction OH de la chaîne éthanol, l'emploi d'une base faible sera suffisante pour transformer la fonction phénol en phénate. Ainsi cette réaction de *O*-alkylation[2] a été conduite en présence de K_2CO_3 en solution de *N*,*N*-diméthylformamide, à température ambiante pendant 24 h et a conduit aux 2-(4-phénylalkyloxyphényl)éthanols **27(a-d)** avec des rendements variant de 63 à 91 %.

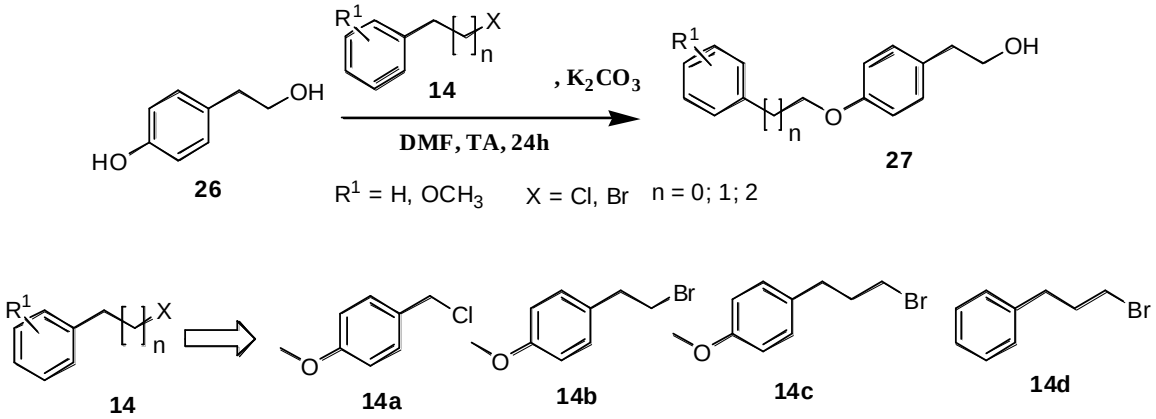
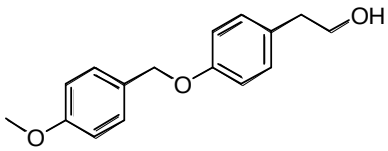
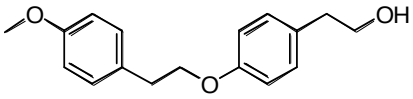
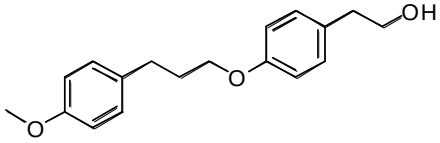
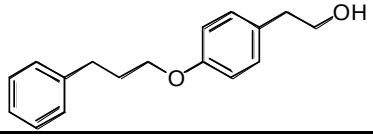


Schéma 1: Réaction de *O*-alkylation du 2-(4-hydroxyphényl)éthanol **26**.

[2] Nadkarni D.H., Murugesan S., Velu S.E., *Tetrahron* **2013**, *69*(20), 4105-4113.

Tableau 1: Résultats pour la préparation des 2-(4-phénylalkyloxyphényl)éthanols **27(a-d)**.

	Produit	Agent alkylant	Rdt[a] (%)
27a		**14a**	91
27b		**14b**	63
27c		**14c**	73
27d		**14d**	79

[a] Rendement en composé **27** isolé

2. Mésylation des 2-(4-phénylalkyloxyphényl)éthanols 27

En prélude de l'étape finale de synthèse qui est une substitution nucléophile, nous avons opté pour une réaction de sulfonation des alcools **27** (Schéma 2) en amont, eu égard au très bon caractère nucléofuge des sulfonates. En outre, remplacer les halogénures par des mésylates ou des tosylates permet de réduire potentiellement la production de déchets halogénés nocifs pour l'environnement.[3] Plusieurs voies de synthèse permettent d'aboutir aux sulfonates, telles que la sulfonation catalysée par un métal de transition[4], la synthèse sans solvant avec[5] ou sans[6] activation thermique par irradiation micro-onde, la tosylation d'hétéropolyacide catalysée[7], la réaction des phénols avec des thiols en utilisant le système H_2O_2/$POCl_3$[8], la tosyloxylation des anilides[9], la deméthylation-mésylation d'éther méthylique d'aryles *via* une réaction "one-pot"[10] et la décomposition thermique d'arènediazonium *o*-benzènedisulfonimides en milieu acide méthanesulfonique[11]. Cependant, la sulfonation d'hydroxyarènes par action de chlorure de mésyle ou de chlorure de tosyle en présence d'une

[3] Lei X., Jalla A., Shama M.A.A., Stafford J.M., Cao B., *Synthesis* **2015**, sous presse, DOI: 10.1055/s-0034-1378867.

[4] a) Kim J.G., Jang D.O., *Synlett* **2007**, (16), 2501-2504 b) Meshram G.A., Patil V.D., *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*(10), 1117-1121.

[5] Xu L.W., Xia C.G., *Synth. Commun.* **2004**, *34*(7), 1199-1205.

[6] Zhao N., Li Y., Wang Y., Wang J., *J. Sulfur. Chem.* **2006**, *27*(5), 427-432.

[7] Fazaeli R., Tangestaninejad S., Aliyan H., *Canad. J. Chem.* **2006**, *84*(5), 812-818.

[8] Bahrami K., Khodaei M.M., Abbasi J., *Tetrahedron* **2012**, *68*(25), 5095-5101.

[9] Liu H., Xie Y., Gu Y., *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*(33), 4324-4326.

[10] Kaboudin B., Abedi Y., *Synthesis* **2009**, *2009*(12), 2025-2028.

[11] Barbero M., Degani I., Dughera S., Fochi R., Perracino P., *Synthesis* **1998**, *9*, 1235-1237.

amine basique telle que la pyridine ou la triéthylamine dans un solvant anhydre comme le dichlorométhane, demeure la méthode la plus utilisée pour la préparation de mésylates ou de tosylates.[12] Nous avons opté pour cette dernière méthode.

Ainsi, l'agent de mésylation (en l'occurrence le chlorure de méthanesulfonyle), rajouté en excès à 0°C, a réagi avec les 2-(4-phénylalkyloxyphényl)éthanols **27(a-d)** en présence de triéthylamine.[13] La réaction a été réalisée à température ambiante en solution de dichlorométhane pendant 8 h et a conduit aux mésylates souhaités **28(a-d)** avec des rendements variant de 42 à 68 % (Tableau 2).

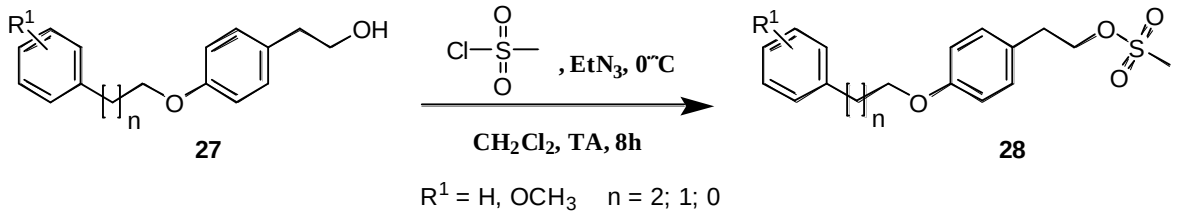
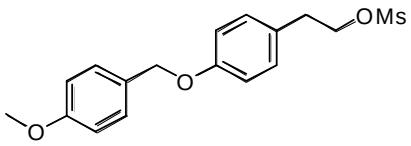
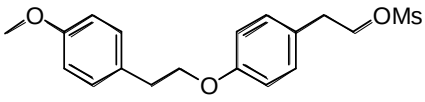
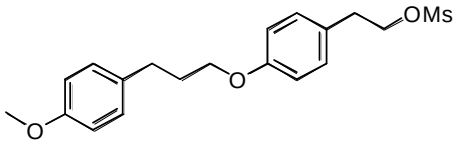
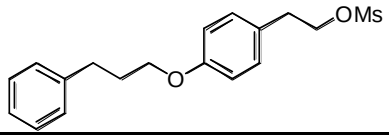


Schéma 2: Réaction de sulfonation des alcools **27**.

Tableau 2: Résultats pour la préparation des mésylates **28(a-d)**.

Produit		Alcool de départ	Rdt[a] (%)
28a		**27a**	42
28b		**27b**	63
28c		**27c**	59
28d		**27d**	68

[a] Rendement pour les composés **28** isolés

[12] a) Fujikawa N., Ohta T., Yamaguchi T., Fukuda T., Ishibashi F., Iwao M., *Tetrahedron* **2006**, *62*(4), 594-604. b) Nishihara Y., Ogawa D., Noyori S., Iwasaki M., *Chem. Lett.* **2012**, *41*(11), 1503-1505. c) Zim D., Lando V.R., Dupont J., Monteiro A.L., *Org. Lett.* **2001**, *3*(19), 3049-3051. d) Grandāne A., Mishnev A.F., Vozny I.V., Žalubovskis R., *Chem. Heterocyclic Compd*, *48*(6), 974-976.

[13] Lebegue N., Gallet S., Flouquet N., Carato P., Pfeiffer B., Renard P., Léonce S., Pierré A., Chavatte P., Berthelot P., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*(23), 7363-7373.

3. Synthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazoles

Cette étape a permis d'aboutir aux composés finaux **30** par construction de la plateforme pyrazole par réaction de *N*-alkylation entre les mésylates **28(a-d)** et divers sels sodés de pyrazole **29(a-c)**. Deux principales méthodes de synthèse ont été mises en œuvre pour cette étape:

- La première méthode (méthode 1) s'est déroulée en deux phases. En effet, le sel de pyrazole **29** a été préparé séparément avant d'être engagé dans la réaction de substitution avec le mésylate **28**.
- La deuxième méthode (méthode 2) est une réaction "one pot" multi-composants, au cours de laquelle le sel de pyrazole **29** est formé *in situ*.

3.1. Synthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazoles (méthode 1)

3.1.1. Synthèse des sels sodés de pyrazole 29

Pour la préparation des sels sodés **29**, les pyrazoles commerciaux **11 (a-c)** ont été soumis à un traitement basique avec de la soude (NaOH) pendant 3 h à température ambiante (Schéma 3),[14] pour aboutir aux sels sodés de pyrazoles **29(a-c)** avec des rendements quantitatifs.

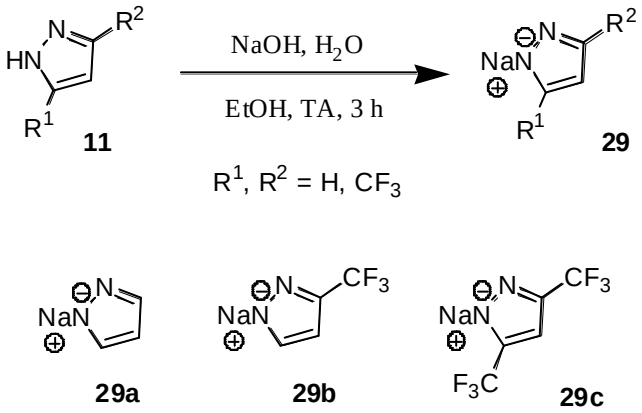


Schéma 3: Synthèse des sels sodés de pyrazole **29(a-c)**.

3.1.2. Préparation des 1-aryl-1*N*-pyrazoles à partir des sels de pyrazoles isolés

Cette première méthode de préparation des 1-aryl-1*N*-pyrazoles (Schéma 4), consiste à faire réagir les méthanesulfonates de 4-(arylalkoxy)phénéthyle **28(a-d)** avec les différents sels

[14] Shaglaeva, N. S., Bayandin, V. V., Sultangareev, R. G., Vakul'skaya, T. I., Khutsishvili, S. S., Orkhokova, E. A., Prozorova, G. F., *Russ. J. Appl. Chem.* **2013**, *86*(10), 1576-1580.

sodés de pyrazole **29(a-c)** en solution de *N*,*N*-dimethylformamide ou de THF pendant 12 h à 60 °C.[15] Le nombre d'équivalents de sels sodés, de même que le solvant ont été choisi en fonction du composé 1-aryl-1*N*-pyrazole **30** envisagé (Tableau 3).

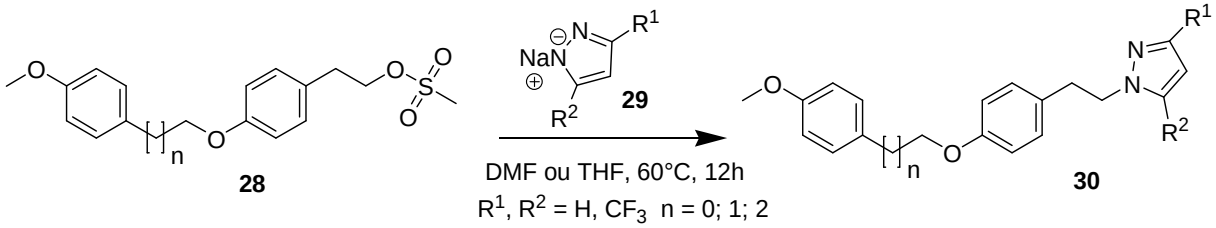
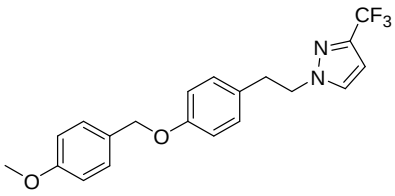
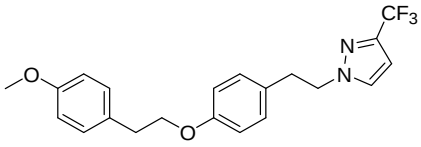
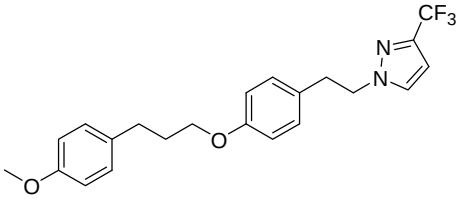
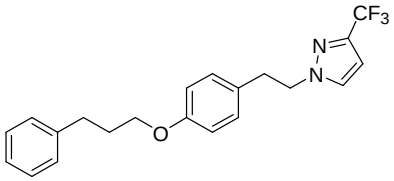
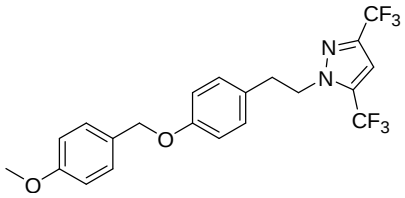
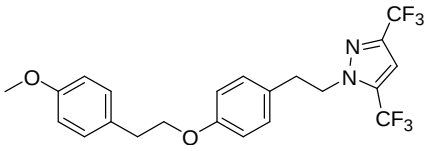
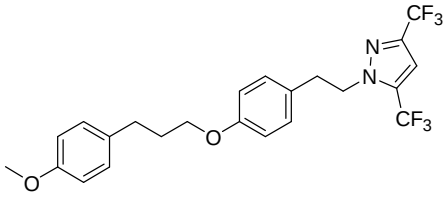
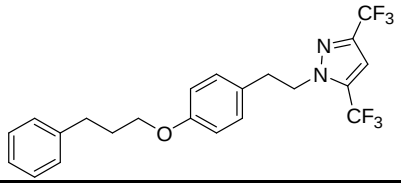


Schéma 4: 1ère méthode de synthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazole.

[15] Machin P.J., Hurst D.N., Bradshaw R.M., Blaber L.C., Burden D.T., Melarange R.A., *J. Med. Chem.* **1984**, *27*(4), 503-509.

Tableau 3: Résultats pour la préparation des 1-aryl-1*H*-pyrazoles **30(a-h)** selon la méthode 1.

Produit		Sel de pyrazole	Nbre d'équiv. 29	Solvant	Rdt[a] (%)
30a		**29b**	2	DMF	85
30b		**29b**	3	THF	48
30c		**29b**	2	DMF	47
30d		**29b**	3	THF	54
30e		**29c**	2	DMF	74
30f		**29c**	2	THF	53
30g		**29c**	2	DMF	78
30h		**29c**	2	THF	49

[a] Rendement pour les composés **30** isolés.

Cette première méthode de synthèse des composés 1-aryl-1*H*-pyrazole **30(a-h)** n'a pu être mise en œuvre pour le sel sodé de pyrazole **29a** (R^1, R^2 = H) car ce dernier n'est pas

soluble dans les solvants testés (THF ou DMF), à l'exception du diméthylsulfoxide, moins indiqué et moins pratique pour cette réaction. Nous avons donc opté pour une seconde méthode de synthèse afin d'aboutir aux analogues 1-aryl-1*H*-pyrazole comportant le cycle pyrazole non substitué, fragment issu du sel **29a**.

Pour les composés 1-aryl-1*H*-pyrazoles **30** obtenus à partir du sel de pyrazole **29b** substitué avec un seul trifluorométhyle, nous nous sommes interrogés sur la nature des composés obtenus et de la régiosélectivité de cette réaction de *N*-alkylation. En effet, ce sel est susceptible en raison de la tautomérie du pyrazole,[16] de se présenter sous deux tautomères **I** et **II** (Figure 4). Ainsi, selon le tautomère concerné, les différents produits **30(a-d)** de *N*-alkylation (Schéma 4, Tableau 3), étaient susceptibles d'avoir le substituant trifluorométhyle soit en position C-3 (forme **I**) ou en position C-5 (forme **II**).

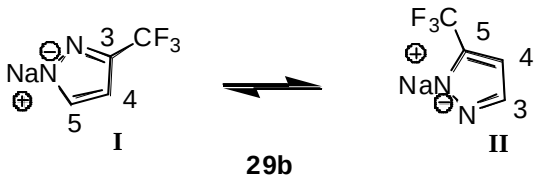


Figure 4: Tautomérie possible pour **29b**.

Nous avons donc réalisé l'analyse du dérivé 1-aryl-1*H*-pyrazole **30c** par diffraction des rayons X afin d'en vérifier la structure. Le résultat de cette analyse indique que nous avons effectivement obtenu le composé souhaité car le groupement trifluorométhyle est en position C-3 sur la plateforme pyrazole (Figure 5, Annexe 4). Ce même résultat avait également obtenu pour le composé **13c** (*cf.* Partie 2, Chapitre 2), dont la structure cristalline avait confirmé l'obtention du produit escompté.

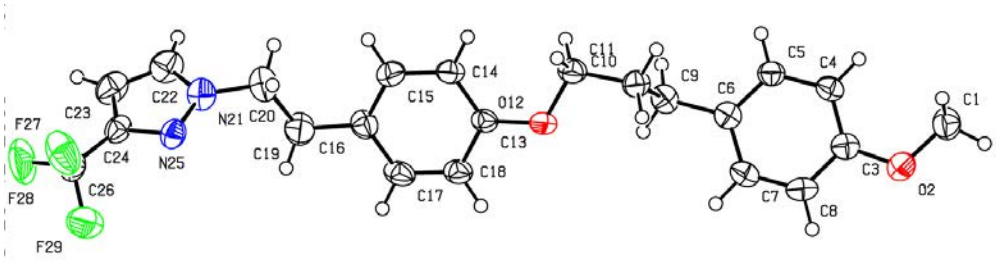


Figure 5: Structure cristalline du composé **30c**.

3.2. Synthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazoles (méthode 2)

Pour cette seconde méthode, le sel de pyrazole **29**, formé *in situ* est consommé au fur et à mesure de la substitution avec les méthanesulfonates de 4-(arylalkoxy)phénéthyle **28(a-d)** (Schéma 5). Ainsi, une solution de pyrazole **11a** dans du *N*,*N*-diméthylformamide est traitée avec de l'hydrure de sodium pendant 5 minutes, puis à l'anion formé, est ensuite ajouté le

[16] a) Martins M.A., Zanatta N., Bonacorso H.G., Rosa F.A., Claramunt R.M., García M.A., Maria M.D.S., Elguero J., *Arkivoc* **2006**, *4*, 29-37. b) Aguilar-Parrilla F., Cativiela C., de Villegas M.D.D., Elguero J., Foces-Foces C., Laureiro J.I.G., Cano F.H., Limbach H.-H., Smith J.A.S., Toiron C., *J. Chem. Soc., Perk. Trans.* **1992**, *2*, (10), 1737-1742.

méthanesulfonate de 4-(arylalkoxy)phénéthyle.[15] Ce mélange maintenu à 60°C pendant 12 h, permet d'aboutir aux 1-aryl-1*H*-pyrazoles **30(i-l)** avec des rendements variant de 56 à 84 % (Tableau 4).

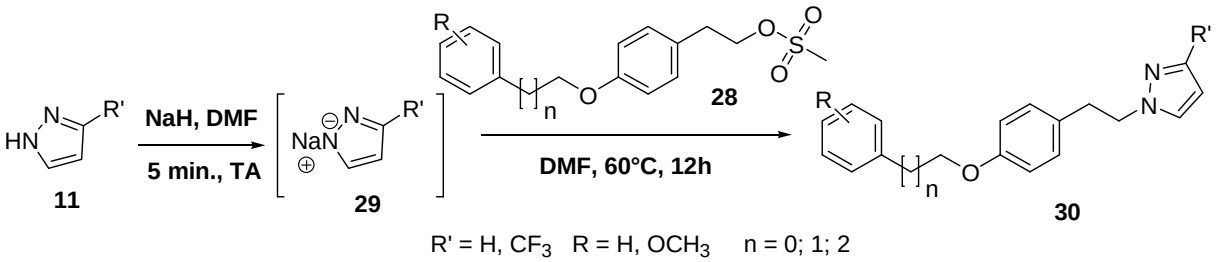
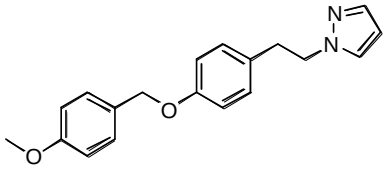
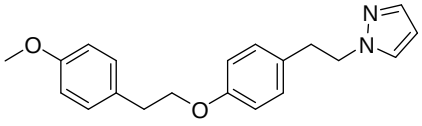
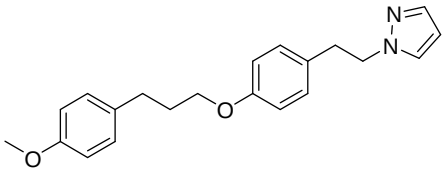
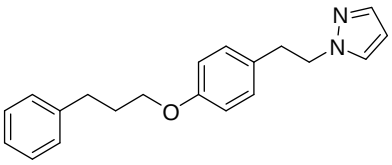
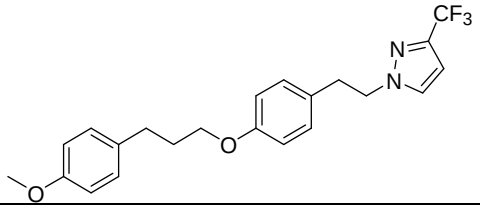


Schéma 5: 2ème méthode de synthèse des analogues 1-aryl-1*H*-pyrazoles.

Nous avons également réalisé à nouveau la synthèse du composé **30c**, obtenu à partir de la première méthode, mais cette fois-ci en appliquant cette seconde méthode de synthèse. Les deux méthodes conduisent au produit **30c** présentant une pureté similaire. Cependant le rendement pour le composé **30c** est meilleur avec la seconde méthode, pour laquelle il était de 73 %, contre 47 % pour la première méthode. La seconde méthode nous apparaît plus avantageuse, car elle permet de faire l'économie d'une étape de synthèse et ainsi non seulement un gain de temps, mais également une économie de solvant et d'énergie. Nous avons également constaté que le sel sodé de pyrazole **29b** comportant un seul substituant trifluorométhyle est très hygroscopique et donc partiellement instable. La seconde méthode nous affranchi de cette difficulté de conservation et d'utilisation du sel **29b**, car celui-ci est formé *in situ* et directement engagé dans la réaction d'alkylation.

Tableau 4: Résultats pour la préparation des 1-aryl-1*H*-pyrazoles **30c** et **30(i-l)** selon la méthode 2.

	Produit	Rdt[a] (%)
30i		84
30j		71
30k		82
30l		56
30c		73

[a] Rendement pour les composés **30** isolés

II. SYNTHÈSE D'ANALOGUES AVEC UNE PLATEFORME RHODANINE

Plusieurs méthodes ont été mises en œuvre à travers divers essais pour l'obtention des analogues comportant la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one ou rhodanine. Nous avons essayé premièrement des méthodes de synthèse courtes à 2 ou 3 étapes, avant de nous résoudre à nous investir dans une voie de synthèse plus longue à 5 étapes, mais permettant d'aboutir effectivement aux composés escomptés.

1. Méthodes courtes

1.1. Essais 1

Ce premier essai a été réalisé simultanément avec celui effectué pour la synthèse de la première série d'analogues du SKF-96365 à partir de l'aminoalcool **20** (*cf.* Partie 2, Chapitre 2) et les mêmes difficultés de réactivité ont été rencontrées.

Ainsi, la plateforme rhodanine a été mise en place par le biais d'une réaction multi-étapes[17] au cours de laquelle, la 2-phényléthylamine ou tyramine **31**, le disulfure de carbone (CS_2) et l'ammoniaque réagissent successivement ensemble pour conduire au dithiocarbamate **32**. Celui-ci réagit ensuite avec l'acide chloroacétique **22** et aboutit à la 3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one **33** (Schéma 6). Cette rhodanine **33** a ensuite été engagée dans une réaction de *O*-alkylation par réaction avec l'halogénure d'alkyle **14d**, puis avec l'iodure de méthane. Ce changement d'agent alkylant pour les essais d'optimisation, a été guidé par le fait que l'interprétation du spectre RMN ^1H du brut de réaction était difficile avec le réactif **14d** en raison de l'abondance des signaux observés. En effet, avec l'iodure de méthane, le singulet correspondant au méthyle greffé aurait été observé pour chaque composé en présence. Comme pour l'aminoalcool **20**, nous avons observé une alkylation compétitive sur le méthylène actif du cycle rhodanine. En effet, le phénol est moins acide, avec un pKa de 18[18] contre 9-13[18c,19] pour certains méthylènes actifs mentionnés dans la littérature.

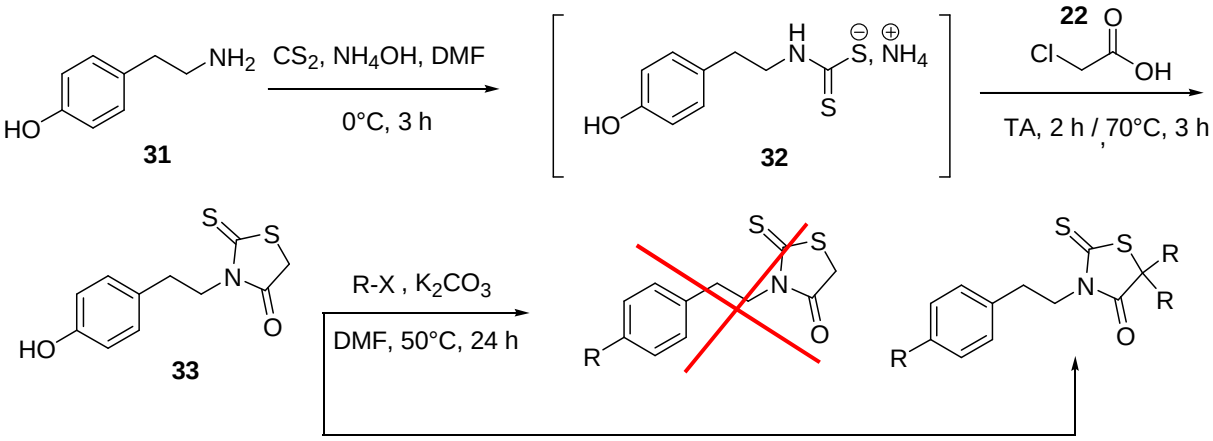


Schéma 6: Méthode de synthèse pour l'essai 1.

1.2. Essai 2

Pour essayer de s'affranchir des réactions parasites d'alkylation sur le groupement CH_2 de la rhodanine, nous avons décidé d'exacerber la réactivité de la position *para* du phénol de la rhodanine **33** par réaction de salification, qui conduirait à un phénolate, plus réactif. Ainsi, la rhodanine **33** a été traitée avec un équivalent d'hydroxyde de lithium à 70°C en solution de

[17] a) Singh S.P., Parmar S.S., Raman K., Stenberg V.I., *Chem. Rev.* **1981**, *81*(2), 175-203 b) Brown F. C., *Chem. Rev.* **1961**, *61*, 463-521.

[18] a) Bordwell F.G., McCallum R.J., Olmstead W.N., *J. Org. Chem.* **1984**, *49*(8), 1424-1427. b) Bordwell F.G., *Acc. Chem. Res.* **1988**, *21*(12), 456-463. c) http://www.chem.wisc.edu/areas/reich/pkatable/ consulté le 14/09/2015.

[19] a) http://www.nptel.ac.in/courses/122106029/pdf/6_Chemistry_of_Carbanions.pdf consulté le 14/09/2015 b) http://www.chem.ucalgary.ca/courses/350/Carey5th/Ch21/ch21-2.html consulté le 14/09/2015.

tétrahydrofurane, pour conduire au bout de 3,5 heures de réaction, à un sel (Schéma 7). Cependant, l'analyse RMN ^{1}H du milieu réactionnel brut indique la disparition totale du singulet caractéristique du méthylène actif de la rhodanine et une sur-intégration pour les protons benzyliques, suggérant la présence d'un composé secondaire. Nous n'avons donc pas obtenu le phénolate de lithium escompté.

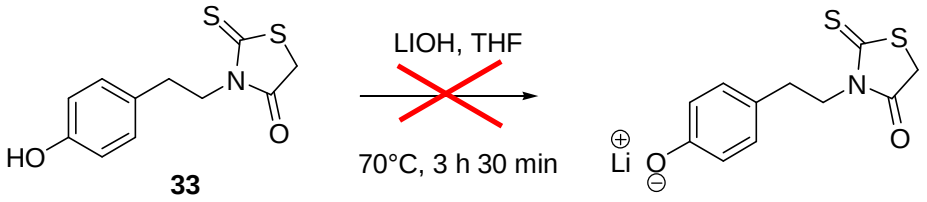


Schéma 7: Essai de salification du phénol **33.**

2. Méthode longue

Afin de contourner les difficultés liées à la réactivité du méthylène actif de la rhodanine, nous avons décidé de réaliser l'alkylation avant la cyclisation conduisant à la rhodanine. Cette voie de synthèse comporte 5 étapes (Schéma 8). Selon cette stratégie de construction, nous avons dans un premier temps procédé à la protection de la fonction amine (NH_2) avec un groupement *N*-Boc (1) afin de la désactiver, puis après alkylation de la fonction phénol de ce carbamate dans un second temps (2), nous avons réalisé la déprotection de la fonction carbamate NH-Boc en milieu acide (3). Le sel a été ensuite traité en milieu basique pour libérer la fonction amine primaire (4) qui a finalement été engagée dans une réaction d'hétérocyclisation pour construire la plateforme rhodanine (5).

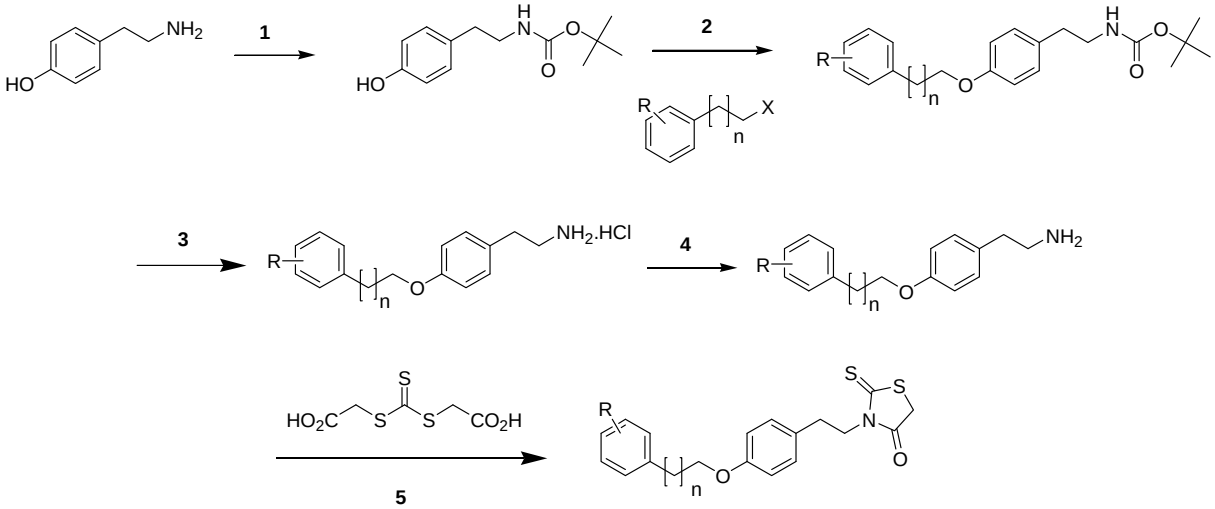


Schéma 8: Voie de synthèse envisagée pour les analogues rhodanines *N*-3 substitués.

2.1. Protection de la fonction amine de la tyramine 31

À une solution de tyramine **31** et de carbonate de di-*tert*-butyle dans du tétrahydrofurane, est ajoutée une solution de $NaHCO_3$. La réaction est ensuite agitée à température ambiante pendant 24 h pour conduire à la *N*-Boc 4-hydroxyphényléthylamine **34** pure avec un rendement de 78 % (Schéma 9).[20]

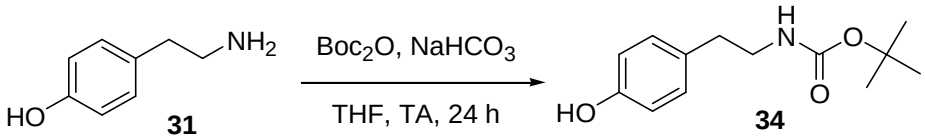


Schéma 9: Protection de la fonction amine **31**.

2.2. Préparation des 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamates de *tert*-butyle 35

Les 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamates de *tert*-butyle **35** sont obtenus par réaction du carbamate **34** avec les halogénures d'alkyles **14(a-d)** en présence de K_2CO_3 dans du *N*,*N*-diméthylformamide (Schéma 10).[21] Ce mélange est ensuite maintenu à 50°C pendant 24 h pour conduire aux composés escomptés avec des rendements de *O*-alkylation compris entre 50 et 89 % (Tableau 5).

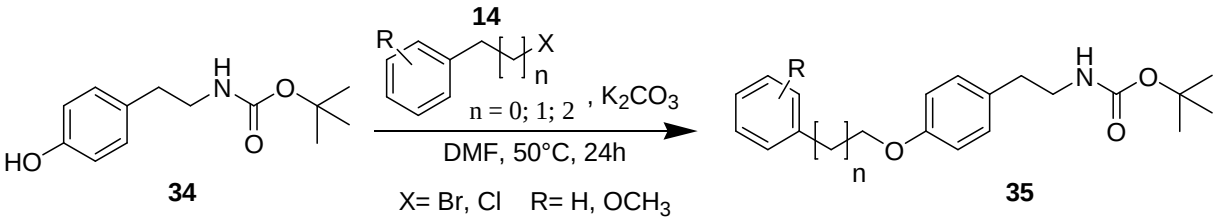
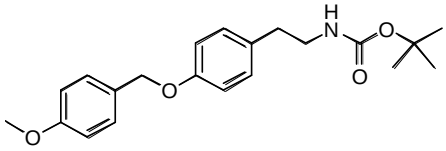
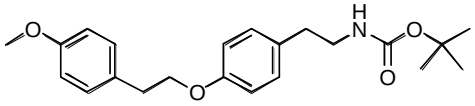
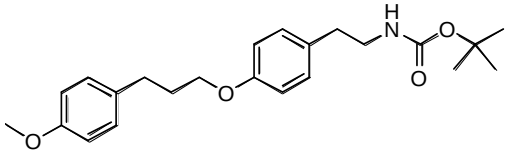
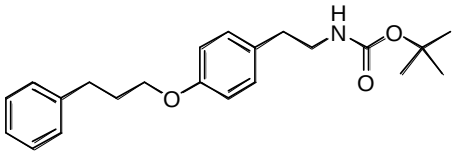


Schéma 10: Alkylation du *tert*-butyl (4-hydroxyphénéthyl)carbamate **34**.

[20] Hart M.E., Suchland K.L., Miyakawa M., Bunzow J.R., Grandy D.K., Scanlan T.S., *J. Med. Chem.* **2006**, *49*(3), 1101-1112.

[21] Banister S.D., Moussa I.A., Jorgensen W.T., Chua S.W., Kassiou M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*(12), 3622-3626.

Tableau 5: Résultats pour la préparation des 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamates de *tert*-butyle **35(a-d)**.

	Composé	Rendement [a] (%)
35a		**89**
35b		**50**
35c		**83**
35d		**84**

[a] Rendement pour les composés **35** isolés

2.3. Déprotection des 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamates de *tert*-butyle 35

Les 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamate de *tert*-butyle **35(a-d)** ont été soumis à l'action d'une solution aqueuse d'HCl 6M en large excès (10 équivalents), à température ambiante pendant 4 heures. Les chlorhydrates de 2-(4-aryl-phényl)éthan-1-amine **36(b-d)** attendus ont été obtenus avec d'excellents rendements variant de 92 à 99 % (Schéma 11).[22] Cette méthode de déprotection n'a cependant, pas permis d'effectuer la déprotection de l'amine **35a** (n = 1). En effet, l'analyse RMN ^{1}H du milieu réactionnel brut montre que la fonction éther a été clivée suite à ce traitement acide, pour conduire au réactif de départ, à savoir la tyramine **31**. Compte tenu que cette déprotection est réalisée avec un excès de HCl 6M, nous avons donc modifié les conditions de réaction en réduisant progressivement le nombre d'équivalents de HCl 6 M utilisé pour cette déprotection jusqu'à atteindre des conditions de déprotection en proportions stœchiométriques. Néanmoins, nous n'avons pas pu isoler le sel **36a**. Nous avons également exploré l'utilisation d'autres acides comme l'acide trifluoroacétique, l'acide acétique ou formique, mais nous n'avons pas réussi à atteindre l'objectif visé, à savoir la déprotection du carbamate **35a**. Il est vraisemblable que cette fonction éther benzylique soit plus sensible à un traitement acide que les autres fonctions éther des autres carbamates **35(b-d)**.

[22] Chadwick J., Jones M., Mercer A.E., Stocks P.A., Ward S.A., Park B.K., O'Neill P.M., *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*(7), 2586-2597.

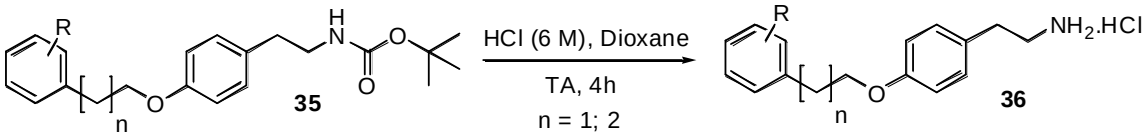


Schéma 11: Déprotection des carbamates **35(a-d)** en milieu acide HCl 6M.

2.4. Préparation des 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amine 37(b-d) par neutralisation

En prélude à la dernière phase de cette synthèse multi-étapes qui a consisté à former la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one ou rhodanine, nous avons procédé à la neutralisation des chlorhydrates **36(b-d)** afin d'aboutir aux amines libres **37(b-d)**. Les chlorhydrates de 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amine **36(b-d)** ont été ainsi soumis à l'action de MeONa au reflux du méthanol pendant 6 h, pour conduire aux 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amines **37(b-d)** (Schéma 12), avec des rendements compris entre 46 et 92 % (Tableau 6).

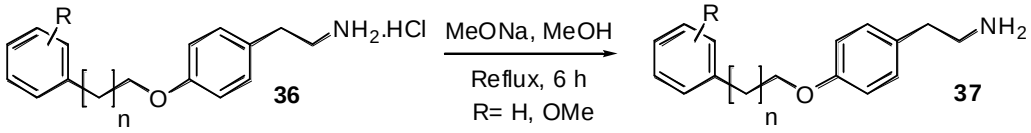
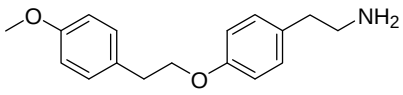
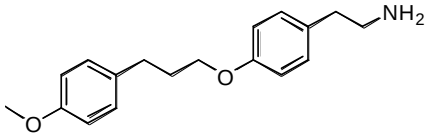
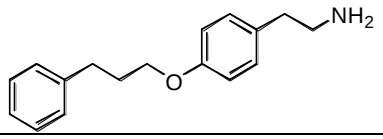


Schéma 12: Neutralisation des chlorhydrates **36(b-d)**.

Tableau 6: Résultats pour la préparation des 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl) éthan-1-amines **37(b-d)**.

	Composé	Rendement[a] (%)
37b		46
37c		92
37d		74

[a] Rendement pour les composés **37** isolés

2.5. Synthèse des 3-(4-(phénylalkyloxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones

Pour la préparation des 3-(4-(phénylalkyloxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones, nous avons envisagé d'essayer la voie du dithiocarbamate (Schéma 6) pour la formation de la plateforme rhodanine, mais malheureusement les amines **37(b-d)** sont insolubles dans le *N*,*N*-diméthylformamide et partiellement dans le diméthoxysulfoxide à froid. Comme cette méthode implique que la première phase de ce protocole de synthèse soit réalisée à 0°C, nous l'avons donc abandonnée, car les amines **37(b-d)** ne sont solubles qu'à chaud dans le diméthoxysulfoxide. Pour contourner ce problème de solubilité, nous avons en conséquence opté pour une méthode de synthèse inspirée des travaux de Radi et coll.[23], impliquant d'une part la construction de la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one sous irradiation micro-onde et d'autre part l'utilisation du réactif commercial *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate.

Pour ce protocole de synthèse, nous avons utilisé un mélange équimolaire constitué de *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate **7**, de diméthoxyéthane, de triéthylamine et de 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amine **37**, puis ce mélange réactionnel a été chauffé à 90°C pendant 15 minutes sous irradiation micro-onde et a conduit aux 3-(4-(phénylalkyloxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones **38** (Schéma 13). Pour cette première approche, nous avons utilisé les amines libres **37** issues du traitement basique. Nous avons également exploré au cours d'une seconde méthode l'utilisation directe des chlorhydrates de 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amines **36** (Schéma 13) en exploitant la même composition du milieu de réaction de la première approche, mais avec 20 minutes comme temps d'irradiation.

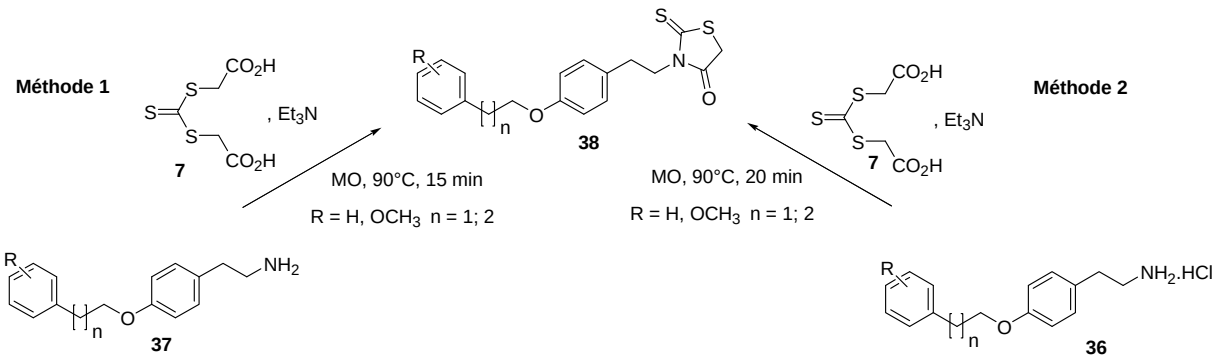


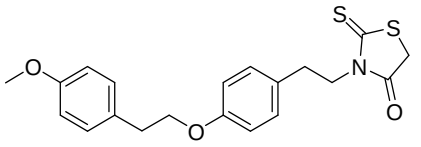
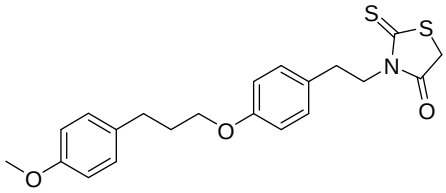
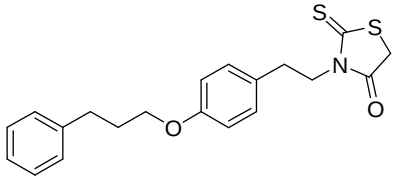
Schéma 13: Voies de synthèse **1** et **2** des 3-(4-(phénylalkyloxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones **36** et **37**.

Les rendements obtenus pour chacune de ces deux méthodes sont répertoriés dans le tableau 7. L'examen de ce tableau nous permet de constater que ceux-ci sont similaires pour les deux méthodes hormis pour le composé **38d** dont le rendement de synthèse est doublé avec la seconde méthode. Globalement, les deux méthodes permettent d'aboutir à des composés de pureté similaire mais la seconde offre néanmoins l'avantage de s'affranchir de

[23] Radi M., Botta L., Casaluce G., Bernardini M., Botta M., *J. Comb. Chem.* **2009**, *12*(1), 200-205.

l'étape supplémentaire de neutralisation des chlorhydrates et permet donc indirectement de faire des économies substantielles en temps et en solvants.

Tableau 7: Résultats pour la préparation des 3-(4-(phénylalkyloxy)phénéthyl) -2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones **38(b-d)** selon les deux protocoles de synthèse.

Produit		Rendement[a] (%)	
		Méthode 1	**Méthode 2**
38b		64	77
38c		65	57
38d		24	52

[a] Rendement pour les composés **38** isolés

3. Préparation des 5-arylidène rhodanines

N'ayant pu contrôler la régiosélectivité d'addition de réactifs électrophiles (dérivés halogénés) sur la fonction phénol du composé **33** en raison de la réactivité compétitive du méthylène actif en position C-5 de la plateforme 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one de **33**, nous envisagerons dans le travail ci-après de "neutraliser" ce site en réalisant l'addition d'aldéhyde par réaction de Knoevenagel de façon à obtenir des 5-arylidène rhodanines, qui sont des composés capables d'exhiber des propriétés biologiques potentiellement intéressantes (*cf.* Partie 2, Chapitre 1). Ainsi, la méthodologie de synthèse qui sera mise en œuvre pour atteindre cet objectif comportera deux étapes: la première impliquera la condensation d'un aldéhyde aromatique (le pipéronal **3e**) avec la rhodanine **33**, puis sera suivie d'une réaction de *O*-alkylation avec des halogénures d'alkyles **14**.

3.1. Réaction de condensation sur la 3-(4-Hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one

Nous nous sommes appuyés sur les travaux de Radi et coll.[23], mais avons opté pour une réaction sans solvant. Ainsi un mélange équimolaire de 3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-

1,3-thiazolidin-4-one **33**, de pipéronal **3e** et de triéthylamine, a été chauffé sous irradiation micro-onde pendant 10 minutes à 110°C, pour conduire au (5*Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one **39** (Schéma 14).

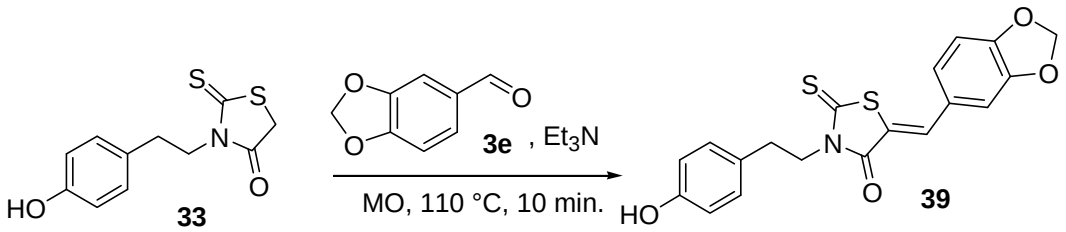


Schéma 14: Condensation du pipéronal sur la rhodanine **33**.

3.2. Réaction de *O*-alkylation de la rhodanine (5*Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one 39

Pour cette réaction d'alkylation, la rhodanine **39** a été mise en réaction avec les halogénures d'alkyles **14(a-d)** en solution du *N*,*N*-diméthylformamide, en présence d'un excès de K_2CO_3, pendant 24 h à 50°C, pour conduire aux nouvelles 5-arylidène rhodanines **40** escomptés (Schéma 15).[21] Les rendements de cette réaction de *O*-alkylation varient de 16 à 67 % (Tableau 8).

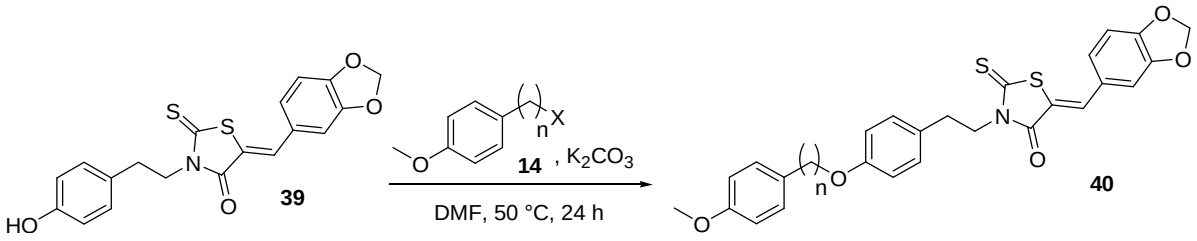
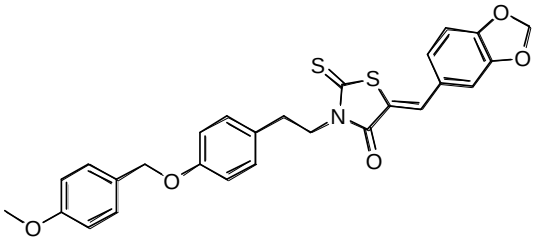
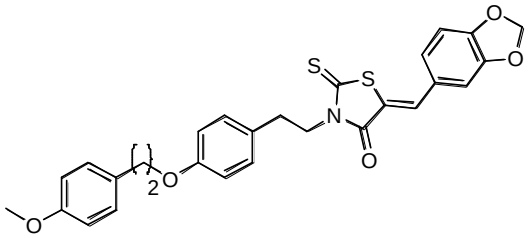
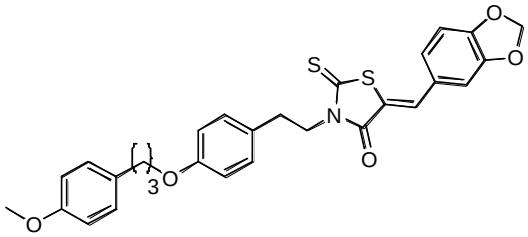
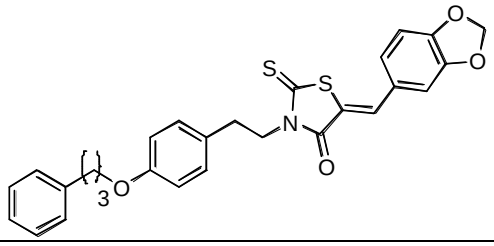


Schéma 15: *O*-Alkylation de la rhodanine **39**.

Tableau 8: Résultats pour la préparation des 5-arylidène rhodanines **40(a-d)** par réaction de *O*-alkylation.

Composé		Rendement[a] (%)
40a		44
40b		16
40c		67
40d		61

[a] Rendement pour les composés **40** isolés

Conclusion

Les travaux réalisés dans le cadre de cette étude autour de la structure "erronée" du SKF-96365, ont permis la synthèse de deux nouvelles familles de composés. Plusieurs points de diversité ont été apportés à la structure initiale ayant servi de modèle. Ainsi, nous avons remplacé la plateforme imidazole initiale du SKF-96365 par deux nouvelles plateformes qui sont respectivement un motif 2-thioxo-1,3-thiazolidine-4-one ou rhodanine et un motif pyrazole susbstitué ou non, deux cycles d'intérêt et largement présents dans de nombreux médicaments et composés biologiquement actifs. Dans une démarche synthétique orientée vers une étude Relation Structure-Activité (RSA), nous avons en conséquence fait varier la longueur de la chaîne carbonée latérale sur la fonction éther ou supprimer chez certains composés le groupement méthoxy en position *para* du phényle de la chaîne latérale. Ces

différents points de diversité ont été envisagés pour certains composés afin d'évaluer leur impact sur les tests d'activités biologiques.

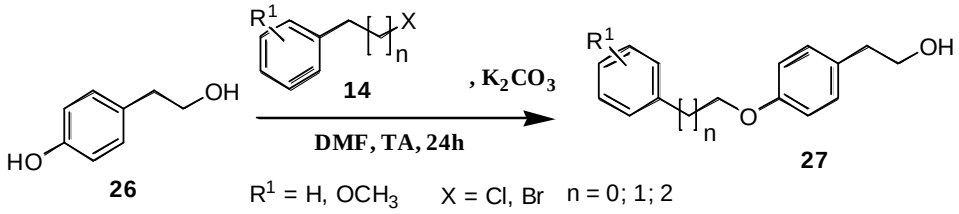
CHAPITRE 3:

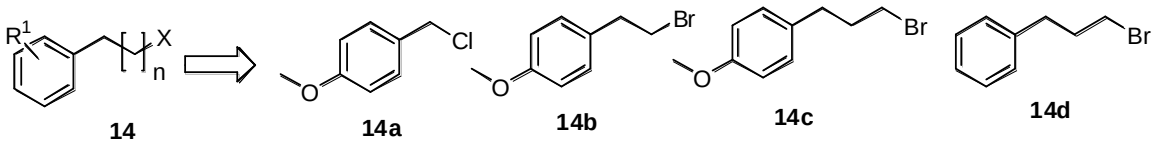
PARTIE EXPÉRIMENTALE

Analogues du SKF-96365 avec une plateforme pyrazole

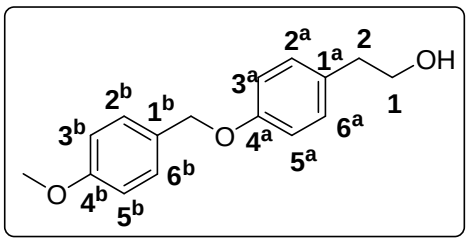
Procédure générale pour l'alkylation du diol

À une solution de 2-(4-hydroxyphényl)éthanol (1.38 g, 10 mmol) dans 5.52 mL de *N*,*N*-diméthylformamide est ajouté du K_2CO_3 solide (4.15 g, 3 éq.). Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, l'agent d'alkylation (10 mmol, 1 éq.) est ajouté puis le mélange est agité, toujours à température ambiante, pendant 24 h (l'évolution de la réaction est suivie par CCM sur silice, en utilisant comme éluant un mélange de CH_2Cl_2-MeOH 95:5 v/v). De l'eau déionisée (55 mL) est ensuite ajoutée et on observe la formation d'un précipité. Celui-ci est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis est lavé successivement avec de l'eau (3x28 mL) et de l'hexane (5x28 mL) pour conduire au produit attendu.





2-(4-((4-Méthoxybenzyl)oxy)phényl)éthan-1-ol

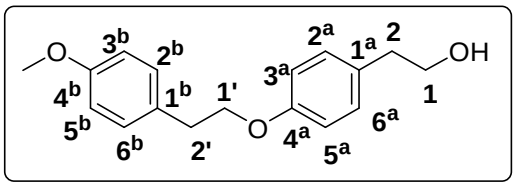


27a

Rdt (%): 91 (2.35 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 95-98
SMHR, *m/z*: 281.1150 trouvée (calculée pour $C_{16}H_{18}O_3Na$: 281.1151; $[M+Na]^+$).

Le composé 2-(4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phényl)éthan-1-ol est préparé selon le mode opératoire général à partir du 2-(4-hydroxyphényl)éthanol (1.38 g, 10 mmol, 1 éq.), de K_2CO_3 solide (4.15 g, 30 mmol, 3 éq.) et du chlorure de 4-méthoxybenzyle (1.57 g, 10 mmol, 1 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 2.64 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.54 (td, *J* = 7.1, 5.1 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.60 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H, OH), 4.97 (s, 2H, OCH_2), 6.89 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 6.94 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.11 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.36 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 38.2 (C-2), 55.1 (O**C**H$_3$), 62.5 (C-1), 68.9 (O**C**H$_2$), 113.8 (C-3^b, C-5^b), 114.6 (C-3^a, C-5^a), 129.2 (C-1^b), 129.4 (C-2^a, C-6^a), 129.8 (C-2^b, C-6^b), 131.5 (C-1^a), 156.7 (C-4^a), 158.9 (C-4^b).

2-(4-(4-Méthoxyphénéthoxy)phényl)éthan-1-ol

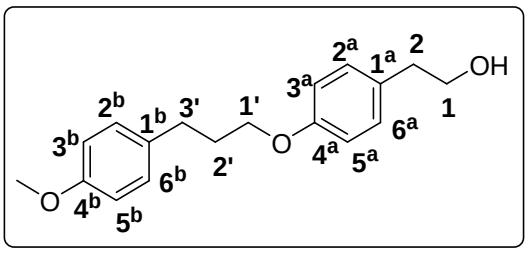


27b

Rdt (%): 63 (1.716 g)
Aspect: Poudre blanche
F (°C): 73-74
SMHR, *m/z*: 295.1310 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{20}O_3Na$: 295.1311; $[M+Na]^+$)

À une solution de 2-(4-hydroxyphényl)éthanol (1.38 g, 10 mmol) dans 5.52 mL de *N*,*N*-diméthylformamide est ajouté du K_2CO_3 solide (4.15 g, 3 éq.). Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, du bromure de 4-méthoxyphénéthyle (2.151 g, 10 mmol, 1 éq.) est ajouté puis le mélange est agité, toujours à température ambiante, pendant 24 h (l'évolution de la réaction est suivie par CCM sur silice, en utilisant comme éluant un mélange de CH_2Cl_2-MeOH 95:5 v/v). De l'eau déionisée (55 mL) est ensuite ajoutée et on observe la formation d'un précipité. Celui-ci est récupéré par filtration sur verre fritté de porosité N°4, lavé avec de l'eau (3x28 mL), trituré dans 28 mL d'hexane pendant 2 h (par agitation magnétique), puis lavé avec 2x28 ml d'hexane pour conduire au produit attendu.
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 2.64 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-2), 2.94 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.54 (td, *J* = 7.1, 4.5 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.09 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, H-1'), 4.60 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H, OH), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 6.87 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.10 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.23 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 34.1 (C-2), 38.2 (C-2'), 55.0 (O**C**H$_3$), 62.5 (C-1), 68.3 (C-1'), 113.7 (C-3^b, C-5^b), 114.2 (C-3^a, C-5^a), 129.8 (C-2^b, C-6^b), 129.9 (C-2^a, C-6^a), 130.2 (C-1^a),131.4 (C-1^b), 156.7 (C-4^a), 157.8 (C-4^b).

2-(4-(3-(4-Méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-ol

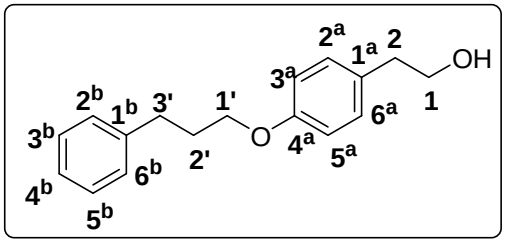


27c

Rdt (%): 73
Aspect: poudre blanche
F (°C): 82-85
SMHR, *m/z*: 309.1467 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{22}O_3Na$: 309.1465; $[M+Na]^+$)

Le composé 2-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-ol est préparé selon le mode opératoire général à partir du 2-(4-hydroxyphényl)éthanol (1.38 g, 10 mmol, 1 éq.), du K_2CO_3 solide (4.15 g, 30 mmol, 3 éq.) et du 1-(3-bromopropyl)-4-méthoxybenzène (2.29 g, 10 mmol, 1 éq.)
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.96 (m, 2H, CH_2, H-2'), 2.65 (td, *J* = 7.1, 5.1 Hz, 4H, CH_2, H-2, H-3'), 3.55 (q, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.71 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.89 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, H-1'), 4.61 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H, OH), 6.83 (t, *J* = 7.7 Hz, 4H, H-2^a, H-6^a, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.12 (t, *J* = 8.6 Hz, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 30.6 (C-3'), 30.7 (C-2'), 38.2 (C-2), 55.0 (O**C**H$_3$), 62.5 (C-1), 66.5 (C-1'), 113.8 (C-3^b, C-5^b), 114.2 (C-3^a, C-5^a), 129.3 (C-2^b, C-6^b), 129.8 (C-2^a, C-6^a), 131.3 (C-1^a),133.2 (C-1^b), 156.9 (C-4^a), 157.5 (C-4^b).

2-(4-(3-Phénylpropoxy)phényl)éthan-1-ol



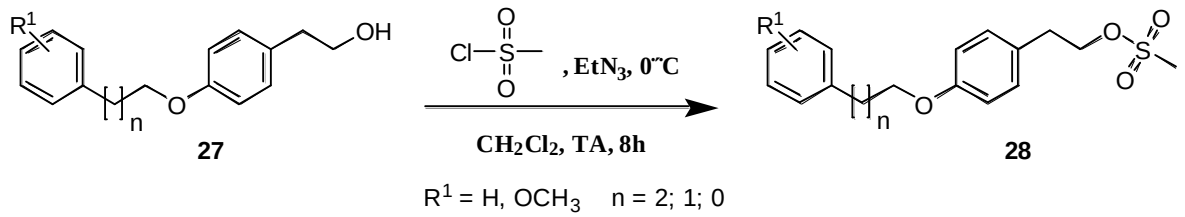
27d

Rdt (%): 79 (2.025 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 51-52
SMHR, *m/z*: 279.1361 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{20}O_2Na$: 279.1362; $[M+Na]^+$).

Le composé 2-(4-(3-phénylpropoxy)phényl)éthan-1-ol est préparé selon le mode opératoire général à partir du 2-(4-hydroxyphényl)éthanol (1.38 g, 10 mmol, 1 éq.), de K_2CO_3 solide (4.15 g, 30 mmol, 3 éq.) et du 1-bromo-3-phénylpropane (1.99 g, 10 mmol, 1 éq.)
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 2.01 (dt, *J* = 8.6, 6.3 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 2.65 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH_2, H-3'), 2.73 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.55 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.91 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, H-1'), 4.40-4.78 (m, 1H, OH), 6.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.11 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.15-7.33 (m, 5H, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^b, Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 30.4 (C-2'), 30.7 (C-3'), 38.2 (C-2), 62.4 (C-1), 66.6 (C-1'), 114.2 (C-3^a, C-5^a), 125.8 (C-4^b), 128.3 (C-2^b, C-6^b), 128.4 (C-3^b, C-5^b), 129.8 (C-2^a, C-6^a), 131.3 (C-1^a),141.4 (C-1^b), 156.9 (C-4^a).

Procédure générale de mésylation des alcools

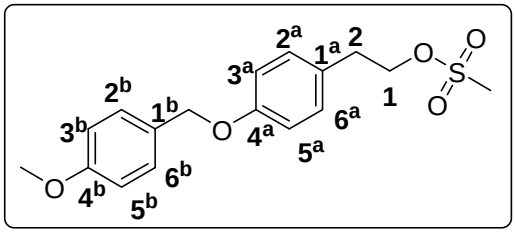
Une solution de chlorure de méthanesulfonyle (1.15 g, 10 mmol, 2 éq.) dans 2.6 mL de dichlorométhane est ajoutée goutte à goutte pendant 15 min. à une solution de 4-alkyloxyphényléthanol (5 mmol, 1 éq.) et de triéthylamine (1.27 g, 12.5 mmol, 2.5 éq.) dans 6 mL de dichlorométhane refroidie au préalable à 0°C (sous vive agitation magnétique) dans un bain de glace. Ce mélange est ensuite agité à température ambiante pendant 8 h. Le milieu réactionnel est lavé successivement avec de l'eau déionisée (3x85 mL) et une solution saturée de $NaHCO_3$ (3x85 mL). La phase organique est ensuite séchée sur $MgSO_4$ anhydre, filtrée sur papier plissé et le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. Lorsque le résidu d'évaporation obtenu est un solide, celui-ci est trituré et lavé avec de l'eau déionisée (3x43 mL) et lorsqu'il se présente sous la forme d'une d'huile (cas de **28b**), celle-ci est triturée dans 7 mL de di *iso*-propyléther et le solide résultant est lavé et trituré avec 3x43 mL d'eau. Dans les deux cas, le solide finalement obtenu est séché sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg).



27 **28**

R^1 = H, OCH_3 n = 2; 1; 0

Méthanesulfonate de 4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyle

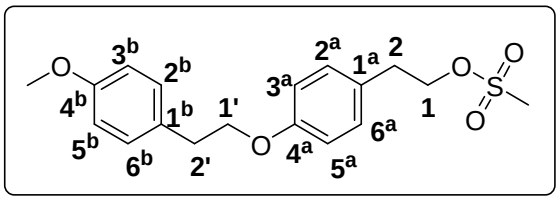


28a

Rdt (%): 42 (0.706 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 100-103
SMHR, *m/z*: 359.0929 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{20}O_5NaS$: 359.0930; $[M+Na]^+$).

Le méthanesulfonate de 4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyle est préparé selon le mode opératoire général à partir du 2-(4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phényl)éthan-1-ol (1.29 g, 5 mmol, 1 éq.), de chlorure de méthanesulfonyle (1.15 g, 10 mmol, 2 éq.) et de la triéthylamine (1.27 g, 12.5 mmol, 2.5 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 2.92 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.10 (s, 3H, SC**H**$_3$), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.35 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-1), 4.99 (s, 2H, OC**H**$_2$), 6.79-7.02 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.20 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.37 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 33.9 (C-2), 36.6 (S**C**H$_3$), 55.1 (OCH$_3$), 68.9 (O**C**H$_2$), 70.9 (C-1), 113.8 (C-3^b, C-5^b), 114.8 (C-3^a, C-5^a), 128.8 (C-1^b), 129.0 (C-1^a), 129.5 (C-2^b, C-6^b), 130.0 (C-2^a, C-6^a), 157.2 (C-4^a), 159.0 (C-4^b).

Méthanesulfonate de 4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyle

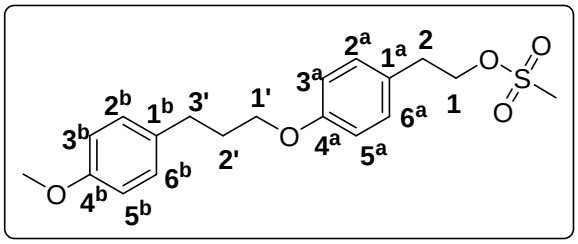


28b

Rdt (%): 63 (1.104 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 51-52
SMHR, *m/z*: 373.1086 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{22}O_5NaS$: 373.1084; $[M+Na]^+$).

Le méthanesulfonate de 4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyle est préparé selon le mode opératoire général à partir du 2-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phényl)éthan-1-ol (1.36 g, 5 mmol, 1 éq.), de chlorure de méthanesulfonyle (1.15 g, 10 mmol, 2 éq.) et de la triéthylamine (1.27 g, 12.5 mmol, 2.5 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 2.93 (dt, *J* = 10.4, 6.8 Hz, 4H, CH_2, H-2, H-2'). 3.10 (s, 3H, SC**H**$_3$), 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.11 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1), 4.35 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.79-6.98 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.19 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.24 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 33.9 (C-2), 34.1 (C-2'), 36.6 (S**C**H$_3$), 55.1 (OCH$_3$), 68.4 (C-1'), 70.9 (C-1), 113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.4 (C-3^b, C-5^b), 128.8 (C-1^a), 129.9 (C-2^b, C-6^b), 130.0 (C-2^a, C-6^a), 130.2 (C-1^b),157.3 (C-4^a), 157.8 (C-4^b).

Méthanesulfonate de 4-(3-(4-Méthoxyphényl)propoxy)phénéthyle

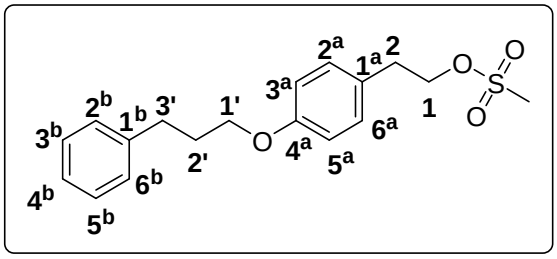


28c

Rdt (%): 59 (1.075 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 117-120
SMHR, *m/z*: 387.1242 trouvée (calculée pour $C_{19}H_{24}O_5NaS$: 387.1242; $[M+Na]^+$)
269.1542 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{21}O_2$: 269.1543; $[M-.OSO2CH3]^+$).

Le méthanesulfonate de 4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyle est préparé selon le mode opératoire général à partir du 2-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-ol (1.43 g, 5 mmol, 1 éq.), de chlorure de méthanesulfonyle (1.15 g, 10 mmol, 2 éq.) et de la triéthylamine (1.27 g, 12.5 mmol, 2.5 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 1.82-2.06 (m, 2H, CH_2, H-2'), 2.58-2.72 (m, 2H, CH_2, H-3'), 2.92 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.10 (s, 3H, SC**H**$_3$), 3.71 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.92 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1), 4.36 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.83-6.89 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.20 (d, *J* = 8.4, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 30.5 (C-2'), 30.6 (C-3'), 33.8 (C-2), 36.6 (S**C**H$_3$), 55.0 (O**C**H$_3$), 66.6 (C-1'), 70.9 (C-1), 113.8 (C-3^b, C-5^b), 114.4 (C-3^a, C-5^a), 128.6 (C-1^a), 129.3 (C-2^b, C-6^b), 130.0 (C-2^a, C-6^a), 133.2 (C-1^b),157.4 (C-4^b).

Méthanesulfonate de 4-(3-phénylpropoxy)phénéthyle



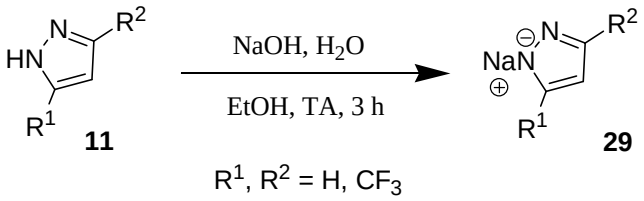
28d

Rdt (%): 68 (1.137 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 51-52
SMHR, *m/z*: 357.1137 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{22}O_4NaS$: 357.1138; $[M+Na]^+$).

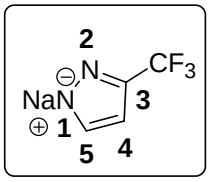
Le méthanesulfonate de 4-(3-phénylpropoxy)phénéthyle est préparé selon le mode opératoire général à partir du 2-(4-(3-phénylpropoxy)phényl)éthan-1-ol (1.28 g, 5 mmol, 1 éq.), de chlorure de méthanesulfonyle (1.15 g, 10 mmol, 2 éq.) et de la triéthylamine (1.27 g, 12.5 mmol, 2.5 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 1.87–2.09 (m, 2H, CH_2, H-2'), 2.73 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-3'), 2.92 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.09 (s, 3H, SC**H**$_3$), 3.94 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH_2, H-1), 4.36 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.87 (d, *J* = 8.4, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.10-7.35 (m, 7H, H-2^a, H-6^a, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^b, , Ar).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d_6*): **δ** = 30.5 (C-2'), 31.6 (C-3'), 34.0 (C-2), 36.7 (S**C**H$_3$), 66.7 (C-1'), 71.0 (C-1), 114.6 (C-3^a, C-5^a), 126.0 (C-4^b), 128.5 (C-2^b, C-6^b, C-3^b, C-5^b), 128.8 (C-1^a), 130.2 (C-2^a, C-6^a), 141.5 (C-1^b), 157.5 (C-4^a).

Méthode générale de synthèse des sels sodés de pyrazole

À une solution de pyrazole (10 mmol) dans 10.6 mL d'éthanol, est ajouté 0.4 g de pastilles de soude (10 mmol, 1 éq.) dissoute dans 2 mL d'eau. Ce mélange est agité à température ambiante durant 3 heures sous vive agitation magnétique. Le solvant est ensuite éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite et les éventuelles traces d'eau, sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pendant 8 heures.



3-(Trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium

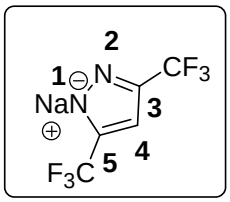


29b

Rdt (%): quantitatif
Aspect: poudre jaune clair
F (°C): > 260
SMHR, *m/z*: 135.0176 trouvée (calculée pour $C_4H_2N_2F_3$: 135.0175; [A^-]).

Le composé 3-(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium est préparé selon le mode opératoire général à partir du 3-(trifluorométhyl)pyrazole (1.36 g, 10 mmol, 1 éq.) et de soude (0.4 g, 10 mmol, 1 éq).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 6.18 (dd, *J* = 1.6, 0.7 Hz, 1H, CH, H-5), 7.33 (qt, *J* = 1.2 Hz, 1H, CH, H-4).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 100.08 (C-4), 125.10 (q, *J* = 267.0 Hz, **C**F_3), 136.37 (C-5), 138.66 (q, *J* = 32.2 Hz, C-3).
RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = -55.9, -60.8 (tautomère 2).

3,5-Bis(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium



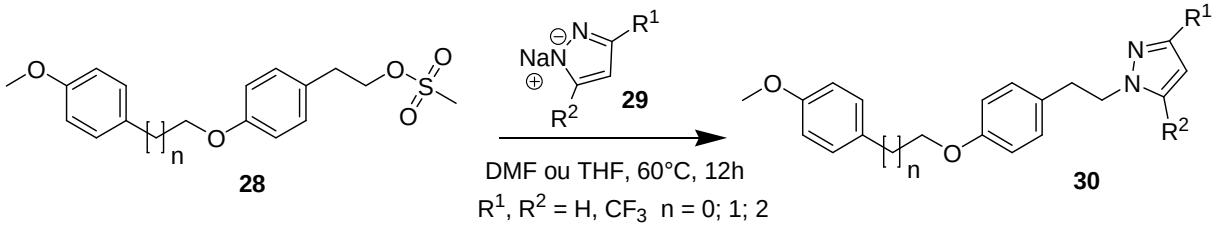
29c

Rdt (%): quantitatif
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 167-169
SMHR, *m/z*: 203.0049 trouvée (calculée pour $C_5HN_2F_6$: 203.0045; A^-)
428.9986 trouvée (calculée pour $C_{10}H_2N_4F_{12}Na$: 428.9994; [$2A^-$, Na^+]$^-$)
654.9933 trouvée (calculée pour $C_{15}H_3N_6F_{18}Na_2$: 654.9944; [$3A^-$, $2Na^+$]$^-$).

Le composé 3,5-bis(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium est préparé selon le mode opératoire général à partir du 3,5-bis(trifluorométhyl)pyrazole (2.05 g, 10 mmol, 1 éq.) et de soude (0.4 g, 10 mmol, 1 éq).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 6.47 (q, *J* = 0.7 Hz, 1H, CH, H-4).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 99.9 (qt, *J* = 2.1 Hz, C-4), 124.0 (q, *J* = 267.4 Hz, C-3**C**F_3, C-5**C**F_3), 140.2 (q, *J* = 33.1 Hz, C-3, C-5).

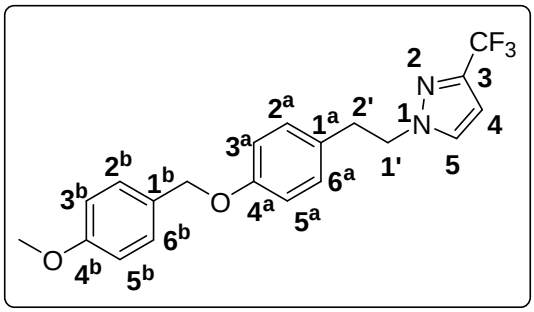
RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-d_6): **δ** = -57.

Procédure générale de synthèse des 1-aryl-1*H*-pyrazoles



Méthode 1: À une solution de méthanesulfonate de 4-(arylalkoxy)phénéthyle (1 mmol) dans 3.3 mL de *N*,*N*-dimethylformamide est ajouté le 3-(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.316 g, 2 mmol, 2 éq.). Le mélange résultant est maintenu sous vive agitation magnétique pendant 12 h à 60°C (la réaction est suivie par CCM sur silice en utilisant comme éluant le mélange CH_2Cl_2-MeOH 90:10). Après refroidissement à la température ambiante, 33 mL d'eau déionisée sont ajoutés directement dans le milieu réactionnel et le précipité obtenu est recueilli par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis lavé successivement avec 3x6.6 mL d'eau et 3.3 mL d'hexane afin d'obtenir le produit attendu.

1-(4-((4-Méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)-3-(trifluorométhyl)-1H-pyrazole

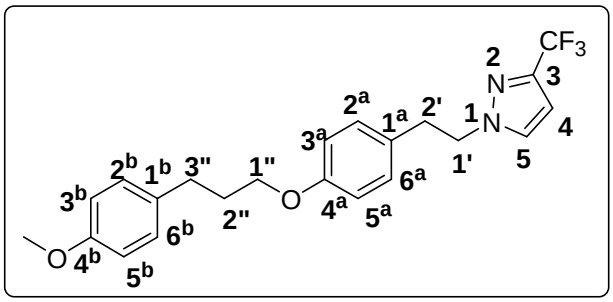


30a

Rdt (%): 85 (0.32 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 79-83 (décomposition)
SMHR, *m/z*: 399.1296 trouvée (calculée pour $C_{20}H_{19}N_2O_2F_3Na$: 399.1294; $[M+Na]^+$)
415.1036 trouvée (calculée pour $C_{20}H_{19}N_2O_2F_3K$: 415.1048; $[M+K]^+$).

Le composé 1-(4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)-3-(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyle (0.336 g, 1 mmol, 1 éq.) et de 3-(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.316 g, 2 mmol, 2 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 3.05 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), , 4.39 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 4.96 (s, 1H, OC**H**$_2$), 6.65 (dd, *J* = 2.4, 0.7 Hz, 1H, H-4), 6.88-6.95 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, H-2^b, H-6^b, 2H, Ar), 7.36 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.83 (dd, *J* = 2.4, 1.0 Hz, 1H, H-5).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 34.8 (C-2'), 53.3 (C-1'), 55.1 (O**C**H$_3$), 68.9 (O**C**H$_2$), 103.9 (C-4),113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.7 (C-3^b, C-5^b), 129.0 (C-1^a), 129.5 (C-2^a, C-6^a), 129.6 (C-2^b, C-6^b), 129.8 (C-1^b), 132.4 (C-5), 157.1 (C-4^a), 158.9 (C-4^b).
RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-d_6): **δ** = -60.07, 58.0 (2nd produit d'alkylation).

1-(4-(3-(4-Méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)-3-(trifluorométhyl)-1H-pyrazole



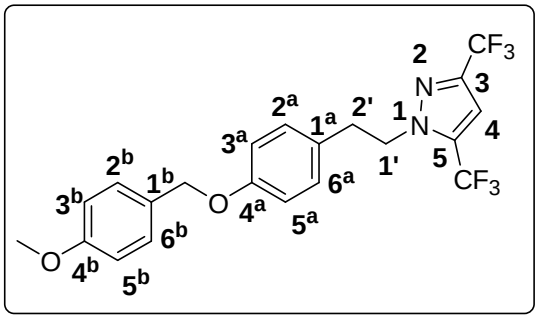
30c

Rdt (%): 47 (0.19 g)
Aspect: poudre blanchâtre
F (°C): 70-71
SMHR, *m/z*: 427.1604 trouvée (calculée pour $C_{22}H_{23}N_2O_2F_3Na$: 427.1610; $[M+Na]^+$).

Le composé 1-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)-3-(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyle (0.364 g, 1 mmol, 1 éq.) et de 3-(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.316 g, 2 mmol, 2 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.83-2.03 (m, 2H, CH_2, H-2''), 2.66 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH_2, H-3''), 3.04 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.71 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.89 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 4.39 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.65 (dd, *J* = 2.4, 0.7 Hz, 1H, H-4), 6.81-6.86 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.06 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.13 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.83 (dd, *J* = 2.4, 1.0 Hz, 1H, H-5).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 30.6 (C-2''), 30.7 (C-3''), 34.9 (C-2'), 53.3 (C-1''), 55.0 (O**C**H_3), 66.5 (C-1'), 103.9 (C-4),113.8 (C-3^b, C-5^b), 114.4 (C-3^a, C-5^a), 129.3 (C-2^a, C-6^a), 129.6 (C-1^a), 129.7 (C-2^b, C-6^b), 132.4 (C-5), 133.2 (C-1^b), 157.3 (C-4^a), 157.5 (C-4^b).
RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = -60.06, -58.0 (2nd produit d'alkylation)

Méthode 2: À une solution de méthanesulfonate de 4-(arylalkoxy)phénéthyle (1 mmol) dans 3.3 mL de *N*,*N*-dimethylformamide est ajouté le 3,5-*bis*(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.452 g, 2 mmol, 2 éq.). Le mélange résultant est maintenu sous vive agitation magnétique pendant 12 h à 60°C (la réaction est suivie par CCM sur plaque de silice en utilisant comme éluant le mélange CH_2Cl_2-MeOH 90:10). Après refroidissement du milieu de réaction à la température ambiante, 33 mL d'eau sont ajoutés à celui-ci et le précipité obtenu est lavé avec 3x6.6 mL d'eau pour conduire au produit attendu.

1-(4-((4-Méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)-3,5-bis(trifluorométhyl)-1H-pyrazole



30e

Rdt (%): 74 (0.329 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 129-130
SMHR, *m/z*: 467.1170 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{18}N_2O_2F_6Na$: 467.1173; $[M+Na]^+$).

Le composé 1-(4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)-3,5-*bis*(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-((4-

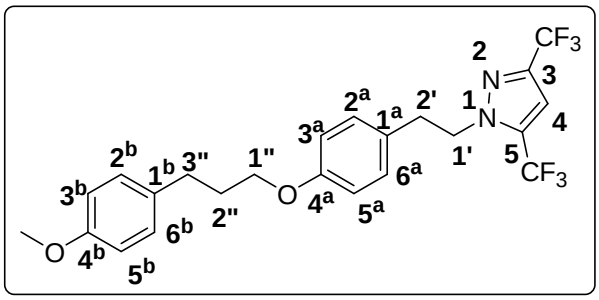
méthoxybenzyl)oxy)phénéthyle (0.336 g, 1 mmol, 1 éq.) et de 3,5-*bis*(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.452 g, 2 mmol, 2 éq.).

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 3.10 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), , 4.48 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 4.96 (s, 1H, OC**H**$_2$), 6.81-6.98 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.03 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.35 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.46-7.57 (m, 1H, H-4).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 34.5 (C-2'), 53.2 (C-1'), 55.1 (O**C**H$_3$), 68.9 (O**C**H$_2$), 106.9 (C-4),113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.8 (C-3^b, C-5^b), 128.9 (C-1^a), 129.0 (C-1^b),129.5 (C-2^a, C-6^a), 129.7 (C-2^b, C-6^b), 132.4 (C-3), 140.5 (C-5), 157.3 (C-4^a), 159.0 (C-4^b).

RMN ^{19}F (282.15 MHz, DMSO-d_6): **δ** = -58.59; -60.84

1-(4-(3-(4-Méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)-3,5-bis(trifluorométhyl)-1H-pyrazole



30g

Rdt (%): 78 (0.368 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 117-120
SMHR, *m/z*: 495.1483 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{22}N_2O_2F_6Na$: 495.1483; $[M+Na]^+$).

Le composé 1-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)-3,5-*bis*(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyle (0.364 g, 1 mmol, 1 éq.) et de 3,5-*bis*(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.452 g, 2 mmol, 2 éq.).

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 1.94 (q, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 2.65 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH_2, H-3''), 3.09 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.71 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.88 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, 2H, CH_2, H-1'), 4.49 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.80-6.85 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b Ar),7.01 (d, *J* = 8.6 Hz, H-2^b, H-6^b, 2H,), 7.12 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.51 (s, 1H, H-4).

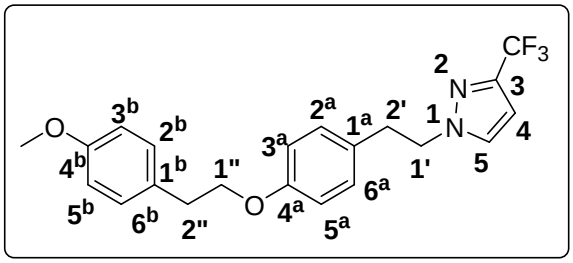
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 30.5 (C-2''), 30.6 (C-3''), 34.5 (C-2'), 53.3 (C-1''), 55.0 (O**C**H$_3$), 66.5 (C-1'), 106.7 (C-4), 113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.5 (C-3^b, C-5^b), 128.8 (C-1^a), 129.3 (C-2^a, C-6^a), 129.7 (C-2^b, C-6^b), 133.2 (C-1^b), 157.5 (C-4^b), 157.5 (C-4^a). 180.6 (C-3), 187.0 (C-5).

RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-d_6): **δ** = -58.58; -60.83.

Méthode 3: A une solution de méthanesulfonate de 4-(arylalkoxy)phénéthyle (1 mmol) dans 3.3 mL de tétrahydrofurane est ajouté le 3-(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.474 g, 3 mmol, 3 éq.). Le mélange résultant est maintenu sous vive agitation magnétique pendant 12 h à 60°C. Après refroidissement du milieu réactionnel à la température ambiante, le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle et le résidu d'évaporation est repris dans 16.6 mL d'acétate d'éthyle, puis est lavé avec 3x66 mL d'eau, 2x66 mL d'une solution de chlorure de sodium saturée et finalement, séché sur $MgSO_4$ anhydre et filtré sur papier plissé. Après élimination du solvant du filtrat à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle, l'huile obtenue est reprise dans 12.4 mL d'acétonitrile. À cette phase organique est ajoutée 12.4 mL d'hexane et le mélange résultant est agité vigoureusement

pendant 1 h. La phase acétonitrile est récupérée et le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle pour donner le produit attendu sous la forme d'une huile qui est séchée sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mmHg). L'huile résultante est purifiée par chromatographie préparative sur phase stationnaire de silice 60F 254 Merck en éluant avec un gradient de 0-20% en cyclohexane/AcOEt et conduit au produit escompté.

1-(4-(4-Méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)-3-(trifluorométhyl)-1H-pyrazole

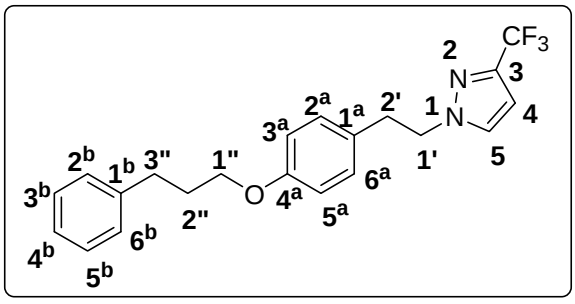


30b

Rdt (%): 48 (0.187 g)
Aspect: huile jaune clair
SMHR, *m/z*: 391.1629 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{22}N_2O_2F_3$: 391.1628; $[M+H]^+$).

Le composé 1-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)-3-(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyle (0.350 g, 1 mmol, 1 éq.) et de 3-(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.474 g, 3 mmol, 3 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 2.94 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.04 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.08 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, 2H, CH_2, H-1'), 4.37 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.64 (dd, *J* = 2.4, 0.7 Hz, 1H, H-4), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 6.87 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.06 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.22 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.82 (dd, *J* = 2.4, 1.1 Hz, 1H, H-5).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 34.1 (C-2'), 34.9 (C-2''), 53.3 (C-1''), 55.0 (O**C**H$_3$), 68.3 (C-1'), 103.9 (C-4),113.7 (C-3^a, C-5^a), 114.4 (C-3^b, C-5^b), 129.6 (C-1^a), 129.7 (C-2^a, C-6^a), 129.9 (C-2^b, C-6^b), 130.2 (C-1^b), 132.4 (C-5), 157.1 (C-4^a), 157.8 (C-4^b).
RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = -60.08, -58.0, -61.1 (2nd produit d'alkylation).

1-(4-(3-Phénylpropoxy)phénéthyl)-3-(trifluorométhyl)-1H-pyrazole



30d

Rdt (%): 54 (0.202 g)
Aspect: huile jaune clair
SMHR, *m/z*: 397.1497 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{21}N_2OF_3Na$: 397.1498; $[M+Na]^+$);
375.168 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{22}N_2OF_3$: 375.168; $[M+H]^+$).

Le composé 1-(4-(3-phénylpropoxy)phénéthyl)-3-(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(3-phénylpropoxy)phénéthyle (0.334 g, 1 mmol, 1 éq.) et de 3-(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.474 g, 3 mmol, 3 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 1.90-2.06 (m, 2H, CH_2, H-2''), 2.72 (dd, *J* = 8.7, 6.7 Hz, 2H, CH_2, H-3''), 3.05 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.92 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 4.39 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.60-6.67 (m, 1H, H-4, Ar), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-

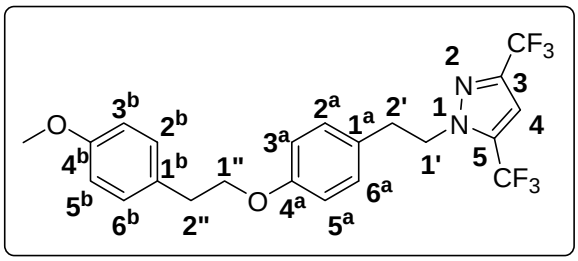
5[a], Ar), 7.06 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2[a], H-6[a], Ar), 7.12-7.37 (m, 5H, H-2[b], H-3[b], H-4[b], H-5[b], H-6[b], Ar), 7.83 (dd, *J* = 2.3, 1.0 Hz, H-5, Ar).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 30.4 (C-2''), 31.5 (C-3''), 34.9 (C-2'), 53.3 (C-1''), 66.6 (C-1'), 103.9 (C-4), 114.4 (C-3[a], C-5[a]), 125.8 (C-4[b]), 128.3 (C-2[b], C-6[b], C-3[b], C-5[b]), 129.6 (C-1[a]), 129.7 (C-2[a], C-6[a]), 132.4 (C-5), 141.4 (C-1[b]), 157.3 (C-4[a]).

RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = -60.09, -58.0 et -62.0 (produits secondaires d'alkylation)

Méthode 4: À une solution de méthanesulfonate de 4-(arylalkoxy)phénéthyle (1 mmol) dans 3.3 mL de tétrahydrofurane est ajouté le sel de 3,5-*bis*(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.452 g, 2 mmol, 2 éq.) et le mélange résultant est maintenu sous vive agitation magnétique pendant 12 h à 60°C. Après refroidissement du milieu de réaction à l'ambiante, le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. Le résidu d'évaporation repris dans 16.6 mL d'acétate d'éthyle et transféré dans une ampoule à décanter, est lavé avec 3x66 mL d'eau, 2x66 mL d'une solution de chlorure de sodium saturée. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre et filtré sur papier plissé. Après élimination du solvant du filtrat à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle, l'huile obtenue est reprise par 12.4 mL d'acétonitrile. À cette phase organique est ajoutée 12.4 mL d'hexane et le mélange est agité vigoureusement pendant 1 h. La phase acétonitrile est récupérée et le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle pour donner le produit escompté sous la forme d'une huile qui est séchée sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mmHg).

1-(4-(4-Méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)-3,5-bis(trifluorométhyl)-1H-pyrazole



30f

Rdt (%): 53 (0.243 g)
Aspect: huile incolore
SMHR, *m/z*: 481.1325 trouvée (calculée pour $C_{22}H_{20}N_2O_2F_6Na$: 481.1327; $[M+Na]^+$); 497.1072 trouvée (calculée pour $C_{22}H_{20}N_2O_2F_6K$: 497.1066; $[M+H]^+$).

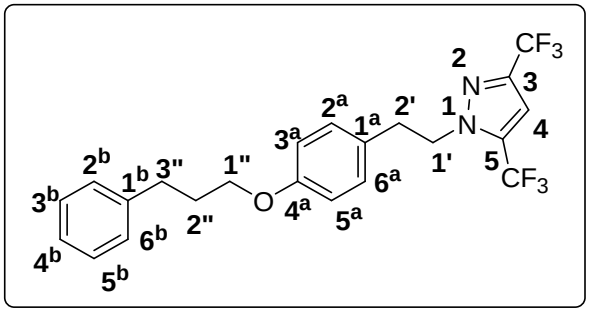
Le composé 1-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)-3,5-*bis*(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyle (0.350 g, 1 mmol, 1 éq.) et de 3,5-*bis*(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.452 g, 2 mmol, 2 éq.)

RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 2.93 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 3.09 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.08 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 4.48 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3[b], H-5[b], Ar), 6.86 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3[a], H-5[a], Ar), 7.01 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2[b], H-6[b], Ar), 7.21 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H-2[a], H-6[a], Ar), 7.50 (s, 1H, H-4).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = 34.0 (C-2''), 34.5 (C-2'), 53.2 (C-1''), 55.0 (O**C**H$_3$), 68.3 (C-1'), 106.9 (C-4),113.7 (C-3[a], C-5[a]), 114.5 (C-3[b], C-5[b]), 129.6 (C-1[a]), 129.7 (C-2[b], C-6[b]), 129.9 (C-2[a], C-6[a]), 130.1 (C-1[b]), 157.3 (C-4[a]), 157.8 (C-4[b]).

RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-*d*$_6$): **δ** = -58.59,-60.86.

1-(4-(3-Phénylpropoxy)phénéthyl)-3,5-bis(trifluorométhyl)-1H-pyrazole

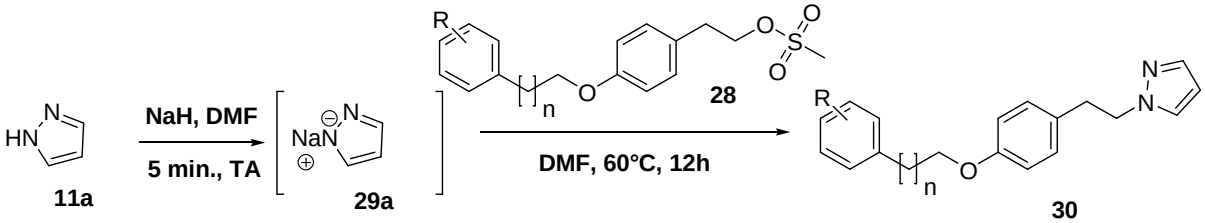


30h

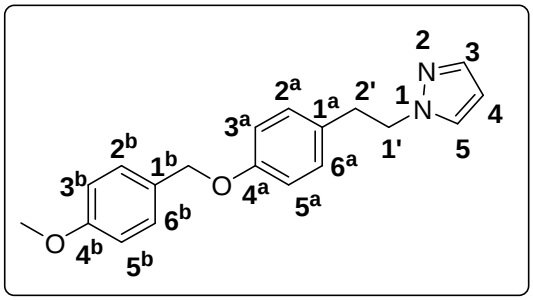
Rdt (%): 49 (0.217 g)
Aspect: huile incolore
SMHR, *m/z*: 465.1377 trouvée (calculée pour $C_{22}H_{20}N_2OF_6Na$: 465.1377; $[M+Na]^+$).

Le composé 1-(4-(3-phénylpropoxy)phénéthyl)-3,5-*bis*(trifluorométhyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(3-phénylpropoxy)phénéthyle (0.334 g, 1 mmol, 1 éq.) et 3,5-*bis*(trifluorométhyl)pyrazol-1-ide de sodium (0.452 g, 2 mmol, 2 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 1.90-2.07 (m, 2H, CH_2, H-2''), 2.72 (dd, *J* = 8.7, 6.6 Hz, 2H, CH_2, H-3''), 3.10 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.91 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 4.49 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.01 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.13-7.34 (m, 5H, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^b, Ar), 7.50 (s, 1H, H-4).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 30.4 (C-2''), 31.4 (C-3''), 34.5 (C-2'), 53.2 (C-1''), 66.6 (C-1'), 106.9 (C-4), 114.5 (C-3^a, C-5^a), 125.8 (C-4^b), 128.3 (C-2^b, C-6^b), 128.3 (C-3^b, C-5^b), 128.7 (C-1^a), 129.7 (C-2^a, C-6^a), 141.4 (C-1^b), 157.5 (C-4^a).
RMN ^{19}F (282 MHz, DMSO-d_6): **δ** = -58.6, -60.9.

Méthode 5: Une solution de pyrazole (0.34 g, 5 mmol, 2 éq.) dans 5.9 mL de *N*,*N*-diméthylformamide est traitée avec de l'hydrure de sodium (0.12 g, 5 mmol, 2 éq.). Ce mélange est agité à température ambiante sous vive agitation magnétique pendant 5 minutes. À l'anion formé, est ensuite ajouté le méthanesulfonate de 4-(arylalkoxy)phénéthyle (1 mmol, 1 éq.) puis le mélange est agité à 60 °C pendant 12 h (la réaction est suivie par CCM sur silice en utilisant comme éluant, un mélange CH_2Cl_2-MeOH 90:10). Après refroidissement du milieu de réaction à température ambiante, 69 mL d'eau y sont ajoutés et le précipité obtenu après décantation complète est lavé avec 3x35 mL d'eau et 2x7 mL d'hexane pour conduire au produit souhaité.



1-(4-((4-Méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)-1H-pyrazole

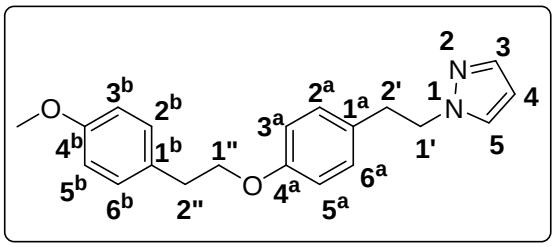


30i

Rdt (%): 84 (0.259 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 131-133
SMHR, *m/z*: 331.1424 trouvée (calculée pour $C_{19}H_{20}N_2O_2Na$: 331.1424; $[M+Na]^+$).

Le composé 1-(4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyle (0.336 g, 1 mmol, 1 éq.), d'hydrure de sodium (0.12 g, 5 mmol, 2 éq.) et de pyrazole (0.34 g, 5 mmol, 2 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 3.01 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), , 4.28 (dd, *J* = 7.8, 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 4.96 (s, 1H, OC**H**$_2$), 6.17 (dd, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-4), 6.88 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 6.93 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.04 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.35 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.42 (dd, *J* = 1.8, 0.7 Hz, 1H, H-3), 7.57 (dd, *J* = 2.2, 0.7 Hz, 1H, H-5).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 35.2 (C-2'), 52.6 (C-1'), 55.1 (O**C**H$_3$), 68.9 (O**C**H$_2$), 104.8 (C-4),113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.7 (C-3^b, C-5^b), 129.1 (C-1^a), 129.5 (C-2^a, C-6^a), 129.6 (C-2^b, C-6^b), 129.8 (C-1^b), 130.4 (C-5), 138.5 (C-3), 157.0 (C-4^a), 159.0 (C-4^b).

1-(4-(4-Méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)-1H-pyrazole

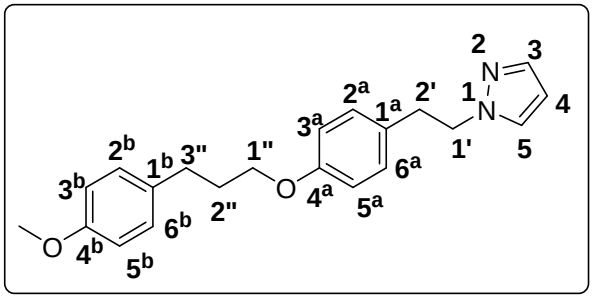


30j

Rdt (%): 71 (0.229 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 56-60
SMHR, *m/z*: 345.1580 trouvée (calculée pour $C_{20}H_{22}N_2O_2Na$: 345.1579; $[M+Na]^+$).

Le composé 1-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyle (0.350 g, 1 mmol, 1 éq.), d'hydrure de sodium (0.12 g, 5 mmol, 2 éq.) et de pyrazole (0.34 g, 5 mmol, 2 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 2.93 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.00 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.08 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 4.27 (dd, *J* = 7.8, 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.16 (dd, *J* = 2.2, 1.8 Hz, 1H, H-4), 6.80 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 6.86 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.02 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.22 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.42 (dd, *J* = 1.8, 0.7 Hz, 1H, H-3), 7.55 (dd, *J* = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-5).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 34.1 (C-2'), 35.2 (C-2''), 53.6 (C-1''), 55.0 (O**C**H$_3$), 68.3 (C-1'), 104.7 (C-4),113.7 (C-3^a, C-5^a), 114.3 (C-3^b, C-5^b), 129.6 (C-2^b, C-6^b), 129.8 (C-5), 129.9 (C-2^a, C-6^a), 130.2 (C-1^a), 130.2 (C-1^b), 138.4 (C-3), 157.0 (C-4^a), 157.8 (C-4^b).

1-(4-(3-(4-Méthoxyphényl)propoxy)phénétyl)-1H-pyrazole

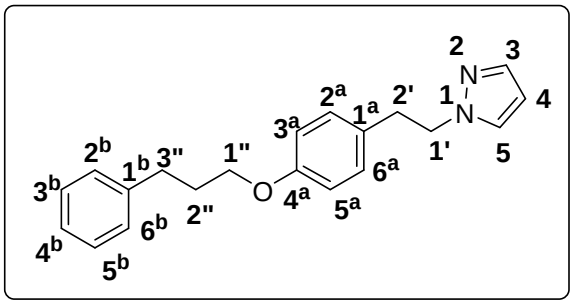


30k

Rdt (%): 82 (0.276 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 69-73
SMHR, *m/z*: 359.1736 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{24}N_2O_2Na$: 359.1736; $[M+Na]^+$).

Le composé 1-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénétyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyle (0.364 g, 1 mmol, 1 éq.), d'hydrure de sodium (0.12 g, 5 mmol, 2 éq.) et de pyrazole (0.34 g, 5 mmol, 2 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 1.84-2.05 (m, 2H, CH_2, H-2''), 2.59-2.72 (m, 2H, CH_2, H-3''), 3.00 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.71 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.89 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, 2H, CH_2, H-1'), 4.28 (dd, *J* = 7.9, 6.7 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.16 (dd, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-4), 6.80 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 6.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.03 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.13 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.42 (dd, *J* = 1.8, 0.7 Hz, 1H, H-3), 7.56 (dd, *J* = 2.3, 0.7 Hz, 1H, H-5).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 30.6 (C-2''), 30.6 (C-3''), 35.3 (C-2'), 52.6 (C-1''), 55.0 (O**C**H$_3$), 66.5 (C-1'), 104.7 (C-4), 113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.3 (C-3^b, C-5^b), 129.3 (C-2^b, C-6^b), 129.6 (C-2^a, C-6^a), 129.8 (C-5), 130.2 (C-1^a), 133.2 (C-1^b), 138.5 (C-3), 157.5 (C-4^a), 157.5 (C-4^b).

1-(4-(3-Phénylpropoxy)phénéthyl)-1H-pyrazole



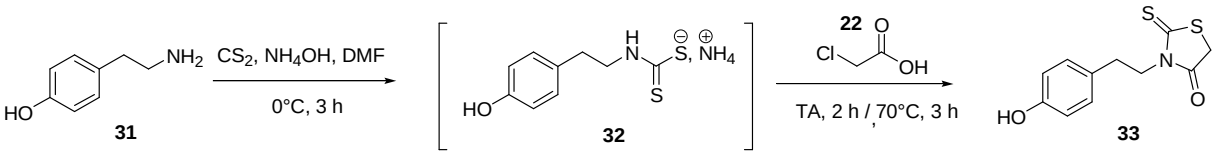
30l

Rdt (%): 56 (0.172 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): < 50
SMHR, *m/z*: 329.1632 trouvée (calculée pour $C_{20}H_{22}N_2ONa$: 329.1630; $[M+Na]^+$).

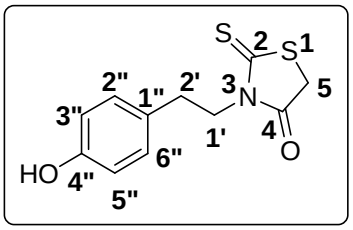
Le composé 1-(4-(3-phénylpropoxy)phénéthyl)-1*H*-pyrazole est préparé selon le mode opératoire général à partir du méthanesulfonate de 4-(3-phénylpropoxy)phénéthyle (0.334 g, 1 mmol, 1 éq.), d'hydrure de sodium (0.12 g, 5 mmol, 2 éq.) et de pyrazole (0.34 g, 5 mmol, 2 éq.).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.82-2.10 (m, 2H, CH_2, H-2''), 2.72 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-3''), 3.00 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.90 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 4.28 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.16 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, H-4), 6.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.03 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.12-7.34 (m, 5H, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^b, Ar), 7.42 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H-3), 7.55 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H-5).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.5 (C-2''), 31.6 (C-3''), 35.3 (C-2'), 52.6 (C-1''), 66.7 (C-1'), 104.8 (C-4), 114.4 (C-3^a, C-5^a), 125.9 (C-4^b), 128.4 (C-2^b, C-3^b, C-5^b, C-6^b), 129.7 (C-2^a, C-6^a), 129.9 (C-5), 130.3 (C-1^a), 138.5 (C-3), 141.5 (C-1^b), 157.3 (C-4^a).

Analogues du SKF-96365 avec une plateforme "2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one"

Procédure de synthèse de la 3-phényléthyl-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



3-(4-Hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one

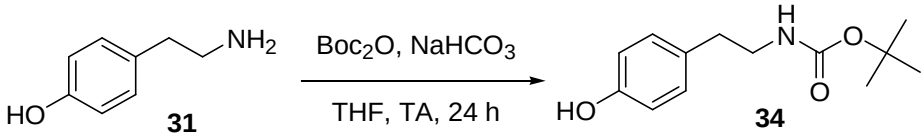


33

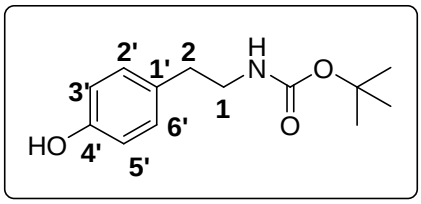
Rdt (%): 71 (2.623 g)
Aspect: poudre jaune orangé
F (°C): 196-200
SMHR, *m/z*: 254.031 trouvée (calculée pour $C_{11}H_{12}NO_2S_2$: 254.031; $[M+H]^+$).

À une solution de tyramine (2 g, 14.58 mmol) dans 50 mL de *N*,*N*-diméthylformamide maintenue sous agitation magnétique à 0°C sur un bain de glace, est ajouté successivement du disulfure de carbone (1.605 g, 21.87 mmol, 1.5 éq.), puis goutte à goutte de l'ammoniaque 28-30% (1.124 g, 32.08mmol, 2.2 éq.). Le mélange est agité à 0°C pendant 3 h, puis est additionné par petites portions de l'acide chloroacétique (1.378 g, 14.58 mmol, 1 éq.). Ce mélange est agité à température ambiante pendant 2 h, puis est progressivement chauffé à 70°C pendant 3 h. Après refroidissement du milieu réactionnel à la température ambiante, 150 mL d'eau y sont ajoutés et est homogénéisé par agitation manuelle. Le milieu de réaction est abandonné à température ambiante sans agitation pendant 12 h pour favoriser la décantation. La suspension résultante est ensuite filtrée sur verre fritté de porosité N°4, le précipité obtenu est lavé avec 4x20 mL d'eau et séché sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg).
RMN ^{1}H (300 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 2.64-2.78 (m, 2H, CH_2, H-2'), 3.90-4.08 (m, 2H, CH_2, H-1'), 4.24 (s, 2H, CH_2, H-5), 6.69 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-3", H-5", Ar), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-2", H-6", Ar), 9.26 (s, 1H, OH).
RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO-d_6): **δ** = 31.2 (C-5), 35.8 (C-2'), 45.4 (C-1'), 115.3 (C-3", C-5"), 127.7 (C-1"), 129.5 (C-2", C-6"), 156.0 (C-4"), 174.1 (C=O), 202.9 (C=S).

Synthèse de la *N*-Boc 4-hydroxyphényléthylamine



***tert*-Butyl (4-hydroxyphénéthyl)carbamate**



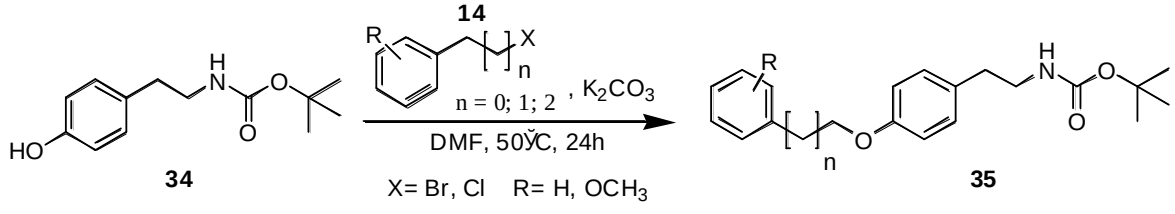
34

Rdt (%): 78 (2.699 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 79-80
SMHR, *m/z*: 260.1262 trouvée (calculée pour $C_{13}H_{19}NO_3Na$: 260.1263; $[M+Na]^+$).

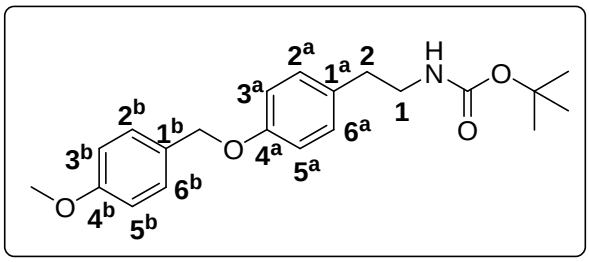
Une solution de $NaHCO_3$ (1.355 g, 16.18 mmol, 1.11 éq.) dans 31.65 mL d'eau est ajoutée à un mélange de tyramine (2 g, 14.58 mmol) et de dicarbonate de di-*tert*-butyle (3.26 g, 14.87 mmol, 1.02 éq.) dans 63.30 mL de tétrahydrofurane. Après 24 h d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est transféré dans une ampoule à décanter et extrait avec 2x95 mL d'éther diéthylique. Les phases organiques réunies sont ensuite lavées successivement avec 25 mL d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 0.5 N, 5x120 mL d'eau, 4x127 mL d'une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre et filtrée sur papier plissé. Le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle pour produire une huile claire. Celle-ci est purifiée par chromatographie préparative sur phase stationnaire de silice avec un gradient d'élution 0-25% en cyclohexane-AcOEt pour conduire à la *N*-Boc 4-hydroxyphényléthylamine pure ayant un aspect de poudre blanche.
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.37 (s, 9H, Me_3C), 2.56 (dd, *J* = 8.7, 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.04 (dd, *J* = 8.3, 6.0 Hz, 2H, CH_2, H-1), 6.66 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-3', H-5', Ar), 6.82 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH), 6.97 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-2', H-6'), 9.17 (s, 1H, OH).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 28.3 (C(**C**H_3)$_3$), 34.8 (C-2), 41.9 (C-1), 77.5 (**C**(CH_3)$_3$), 115.1 (C-3', C-5') , 129.5 (C-2', C-6'), 129.5 (C-1'), 155.5 (C-4'), 155.6 (C=O).

Méthode générale de synthèse des 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamates de *tert*-butyle par *O*-alkylation

L'agent alkylant (1 mmol, 1éq.) et le K_2CO_3 (0.415 g, 3 mmol, 3 éq.) sont ajoutés à une solution de *tert*-butyl (4-hydroxyphénéthyl)carbamate (0.237 g, 1 mmol) dans 1.9 mL de *N*,*N*-diméthylformamide sous agitation magnétique à 25°C. Le mélange est chauffé à 50 °C pendant 24 h en maintenant l'agitation. Après refroidissement du milieu de réaction à la température ambiante, 15.9 mL d'eau y sont ajoutés afin d'amorcer la précipitation du produit attendu. Le milieu de réaction est abandonné à 25°C pendant 3 h et l'insoluble est recueilli par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis le précipité collecté est lavé avec 4 mL d'eau déionisée et 5x4 mL d'hexane pour conduire au produit attendu.



(4-((4-Méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)carbamate de tert-butyle

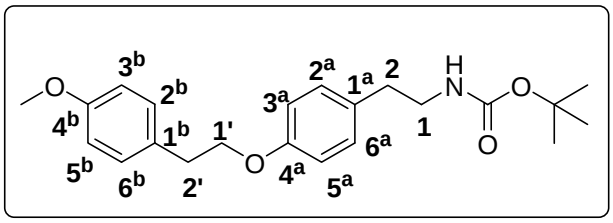


35a

Rdt (%): 89 (0.318 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 104-107
SMHR, *m/z*: 380.1840 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{27}NO_4Na$: 380.1838; $[M+Na]^+$).

Le (4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)carbamate de *tert*-butyle est préparé selon le mode opératoire général à partir du (4-hydroxyphénéthyl)carbamate de *tert*-butyle (0.237 g, 1 mmol), 4-méthoxybenzyl (1 mmol, 1éq.) et de K_2CO_3 (0.415 g, 3 mmol, 3 éq.).
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.37 (s, 9H, Me_3C), 2.61 (dd, *J* = 8.6, 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.08 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 4.97 (s, 2H, CH_2, O**C**$\mathbf{H}_2$), 6.85 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H, NH), 6.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 6.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.09 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.36 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 28.3 (C(**C**$H_3)_3$), 34.6 (C-2), 41.7 (C-1), 55.1 (O**C**H_3), 68.9 (O**C**H_2), 77.5 (**C**$(CH_3)_3$), 113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.7 (C-3^b, C-5^b), 129.1 (C-1^b), 129.4 (C-2^b, C-6^b), 129.6 (C-2^a, C-6^a), 131.5 (C-1^a), 155.5 (C=O), 156.8 (C-4^a), 158.9 (C-4^b).

(4-(4-Méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)carbamate de tert-butyle

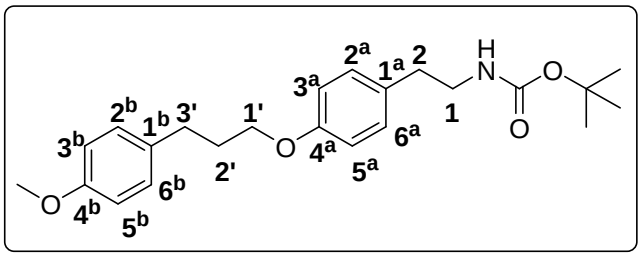


35b

Rdt (%): 50 (0.186 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 81-84
SMHR, *m/z*: 394.1993 trouvée (calculée pour $C_{22}H_{29}NO_4Na$: 394.1994; $[M+Na]^+$).

Le (4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)carbamate de *tert*-butyle est préparé selon le mode opératoire général à partir du (4-hydroxyphénéthyl)carbamate de *tert*-butyle (0.237 g, 1 mmol), du bromure de 4-méthoxyphénéthyle (1 mmol, 1éq.) et de K_2CO_3 (0.415 g, 3 mmol, 3 éq.).
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.36 (s, 9H, Me_3C), 2.60 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, CH_2, H-2), 2.94 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 3.07 (q, *J* = 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 4.09 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.80–6.90 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.08 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.23 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 28.3 (C(**C**$H_3)_3$), 34.1 (C-2), 34.6 (C-2'), 41.8 (C-1), 55.0 (O**C**H_3), 68.4 (C-1'), 77.5 (**C**$(CH_3)_3$), 113.7 (C-3^a, C-5^a), 114.3 (C-3^b, C-5^b), 129.6 (C-2^b, C-6^b), 129.9 (C-2^a, C-6^a), 130.2 (C-1^a), 131.3 (C-1^b), 155.5 (C=O), 156.8 (C-4^a), 157.8 (C-4^b).

(4-(3-(4-Méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)carbamate de tert-butyle



35c

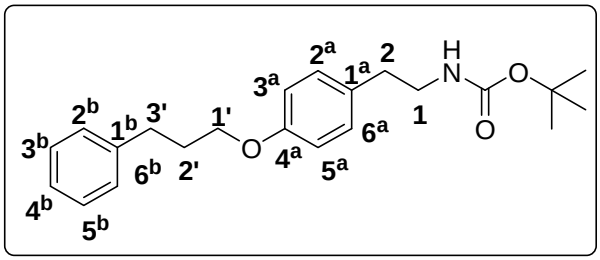
Rdt (%): 83 (0.32 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 89-92
SMHR, *m/z*: 408.2153 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{31}NO_4Na$: 408.2151; $[M+Na]^+$) 424.1895 trouvée (calculée pour $C_{23}H_{31}NO_4K$: 424.1890; $[M+K]^+$).

Le (4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)carbamate de *tert*-butyle est préparé selon le mode opératoire général à partir du (4-hydroxyphénéthyl)carbamate de *tert*-butyle (0.237 g, 1 mmol), de 1-(3-bromopropyl)-4-méthoxybenzène (1 mmol, 1éq.) et de K_2CO_3 (0.415 g, 3 mmol, 3 éq.).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.36 (s, 9H, Me_3C), 1.86-2.05 (m, 2H, CH_2, H-2'), 2.56-2.76 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3'), 2.96-3.18 (m, 2H, CH_2, H-1), 3.71 (OCH_3), 3.90 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.80-6.90 (m, 5H, NH, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.01-7.22 (m, 4H, H-2^a, H-6^a, H-2^b, H-6^b, Ar).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 28.3 (C(**C**H_3)$_3$), 30.6 (C-2'), 30.7 (C-3'), 34.6 (C-2), 41.8 (C-1), 55.0 (O**C**H_3), 66.5 (C-1'), 77.5 (**C**(CH_3)$_3$), 113.7 (C-3^a, C-5^a), 114.3 (C-3^b, C-5^b), 129.3 (C-2^b, C-6^b), 129.6 (C-2^a, C-6^a), 131.3 (C-1^a), 133.2 (C-1^b), 155.5 (C=O), 157.0 (C-4^a), 157.4 (C-4^b).

(4-(3-Phénylpropoxy)phénéthyl)carbamate de tert-butyle



35d

Rdt (%): 84 (0.299 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 99-102
SMHR, *m/z*: 378.2050 trouvée (calculée pour $C_{22}H_{29}NO_3Na$: 378.2045; $[M+Na]^+$).

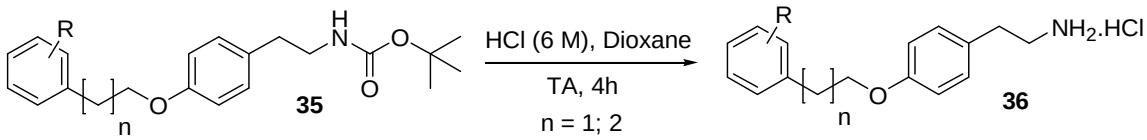
Le (4-(3-phénylpropoxy)phénéthyl)carbamate de *tert*-butyle est préparé selon le mode opératoire général à partir du (4-hydroxyphénéthyl)carbamate de tert-butyle (0.237 g, 1 mmol), de 1-bromo-3-phénylpropane (1 mmol, 1éq.) et de K_2CO_3 (0.415 g, 3 mmol, 3 éq.).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ = 1.91-2.05 (m, 2H, CH_2, H-2'), 2.60 (dd, *J* = 8.5, 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-3'), 2.71 (dd, *J* = 8.6, 6.7 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.08 (dt, *J* = 8.0, 6.2 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.90 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.78 (t, *J* = 5.4 Hz, NH), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.14-7.32 (m, 5H, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^b, Ar).

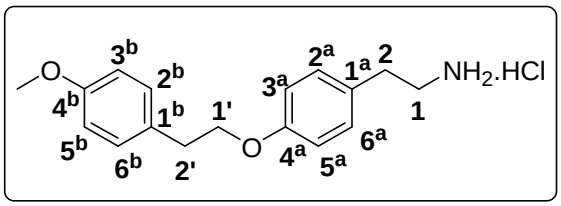
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 28.5 (C(**C**H_3)$_3$), 30.6 (C-2'), 31.7 (C-3'), 34.8 (C-2), 42.0 (C-1), 66.8 (C-1'), 77.9 (**C**(CH_3)$_3$), 114.6 (C-3^a, C-5^a), 126.1 (C-4^b), 128.6 (C-2^b, C-3^b, C-5^b, C-6^b), 129.8 (C-2^a, C-6^a), 131.5 (C-1^a), 141.6 (C-1^b), 155.9 (C=O), 157.2 (C-4^a).

Mode opératoire général pour la déprotection des 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamates de *tert*-butyle

À une solution de 4-(phénylalkyloxy)phénéthylcarbamate de *tert*-butyle (12.1 mmol) dans 80 mL de 1,4-dioxane sous vive agitation magnétique, est ajoutée une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 6 M (20 mL, 121 mmol, 10 éq). L'agitation du milieu réactionnel est maintenue pendant 4 h à température ambiante, puis le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. Le solide du résidu d'évaporation est ensuite trituré dans 50 mL d'éther, l'insoluble est collecté par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis le solide est lavé avec 50 mL d'éther. Le produit attendu est séché sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pendant 4 h à l'ambiante.



Chlorhydrate de 2-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phényl)éthan-1-amine

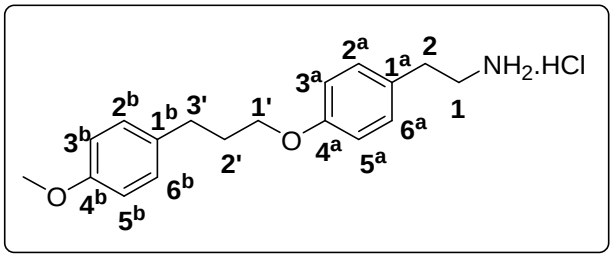


36b

Rdt (%): 92 (3.427 g)
Aspect: paillettes argentées
F (°C): 210-211
SMHR, *m/z*: 272.1649 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{22}NO_2$: 272.1650; $[M+H]^+$).

Le chlorhydrate de la 2-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phényl)éthan-1-amine est préparé selon le mode opératoire général à partir du (4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)carbamate de *tert*-butyle (4.495 g, 12.1 mmol) et d'acide chlorhydrique 6 M (20 mL, 121 mmol, 10 éq).
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 2.82 (dd, *J* = 9.6, 6.0 Hz, 2H, CH_2, H-2), 2.95 (t, *J* = 6.8 Hz, 4H, CH_2, H-1, H-2'), 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.11 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.81-6.94 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.16 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.23 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 8.06 (s, 3H, NH_3).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 32.1 (C-2), 34.1 (C-1), 40.1 (C-2'), 55.0 (OCH_3), 68.4 (C-1'), 113.7 (C-3^a, C-5^a), 114.6 (C-3^b, C-5^b), 129.2 (C-1^b), 129.7 (C-2^a, C-2^a), 129.9 (C-2^b, C-6^b), 130.2 (C-1^a), 157.3 (C-4^a), 157.8 (C-4^b).

Chlorhydrate de 2-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-amine



36c

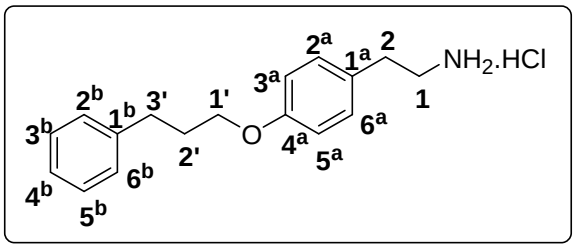
Rdt (%): 94 (3.653 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 218-247 (décomposition)
SMHR, *m/z*: 286.1805 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{24}NO_2$: 286.1807; $[M+H]^+$); 269.1562 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{21}O_2$: 269.1542; $[M-NH_3+H]^+$).

Le chlorhydrate de la 2-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-amine est préparé selon le mode opératoire général à partir du (4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)carbamate de *tert*-butyle (4.665 g, 12.1 mmol) et d'acide chlorhydrique 6 M (20 mL, 121 mmol, 10 éq).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.96 (dq, *J* = 8.6, 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 2.66 (dd, *J* = 8.5, 6.6 Hz, 2H, CH_2, H-3'), 2.82 (dd, *J* = 9.5, 6.0 Hz, 2H, CH_2, H-2), 2.96 (s, 2H, CH_2, H-1), 3.71 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.91 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.78-6.93 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.06-7.23 (m, 4H, H-2^a, H-6^a, H-2^b, H-6^b, Ar), 8.04 (s, 3H, NH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.6 (C-2'), 30.6 (C-3'), 32.2 (C-2), 40.2 (C-1), 55.0 (O**C**H$_3$), 66.6 (C-1'), 113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.6 (C-3^b, C-5^b), 129.1 (C-1^a), 129.3 (C-2^a, C-6^a), 129.7 (C-2^b, C-6^b), 133.2 (C-1^b), 157.5 (C-4^a), 157.5 (C4^b).

Chlorhydrate de 2-(4-(3-phénylpropoxy)phényl)éthan-1-amine



36d

Rdt (%): 99 (3.523 g)
Aspect: paillettes argentées
F (°C): décomposition à partir de 212->260
SMHR, *m/z*: 256.1705 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{22}NO$: 256.1701; $[M+H]^+$).

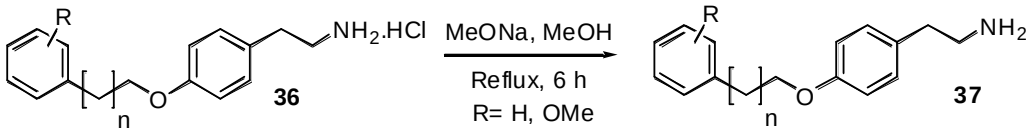
Le chlorhydrate de la 2-(4-(3-phénylpropoxy)phényl)éthan-1-amine est préparé selon le mode opératoire général à partir du (4-(3-phénylpropoxy)phénéthyl)carbamate de *tert*-butyle (4.30. g, 12.1 mmol) et d'acide chlorhydrique 6 M (20 mL, 121 mmol, 10 éq).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.87-2.12 (m, 2H, CH_2, H-2'), 2.73 (dd, *J* = 8.7, 6.6 Hz, 2H, CH_2, H-3'), 2.82 (dd, *J* = 9.6, 6.0 Hz, 2H, CH_2, H-2), 2.97 (dd, *J* = 9.1, 5.9 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.93 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.88 (d, *J* = 8.4, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.06-7.38 (m, 7H, H-2^a, H-6^a, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^b, Ar), 8.06 (s, 3H, NH_3).

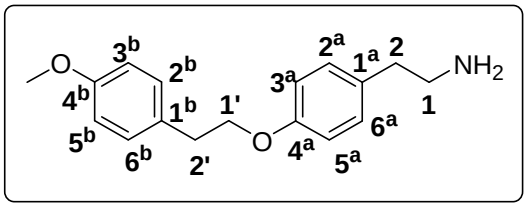
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.4 (C-2'), 31.5 (C-3'), 32.1 (C-2), 40.1 (C-1), 66.6 (C-1'), 114.6 (C-3^a, C-5^a), 125.8 (C-4^b), 128.3 (C-2^b, C-3^b, C-5^b, C-6^b), 129.2 (C-1^a), 129.7 (C-2^a, C-6^a), 141.4 (C-1^b), 157.4 (C-4^a).

Préparation des 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amine par neutralisation

À une suspension de chlorhydrate de la 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amine (1 mmol) dans 2.9 mL de méthanol maintenue sous agitation à 25°C, est ajouté en une portion 0.081 g (1.5 mmol, 1.5 éq.) de MeONa. Le mélange est porté au reflux du solvant pendant 6 h. Le milieu de réaction est concentré à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle puis le résidu solide est lavé avec 5x1 mL d'eau pour conduire à la 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amine escomptée sous la forme d'une poudre, qui est ensuite séchée sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pendant 2 h.



2-(4-(4-Méthoxyphénéthoxy)phényl)éthan-1-amine



37b

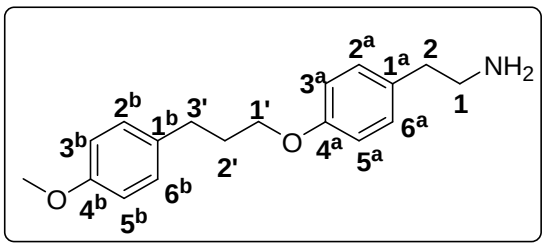
Rdt (%): 46 (0.125 g)
Aspect: poudre ocre clair
F (°C): 216-220
SMHR, *m/z*: 272.1649 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{22}NO_2$: 272.1650; $[M+H]^+$);
255.1392 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{19}O_2$: 255.1385; $[M-NH_3+H]^+$).

La 2-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phényl)éthan-1-amine est préparée selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de 2-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phényl)éthan-1-amine (0.308 g, 1 mmol) et de MeONa (0.081 g, 1.5 mmol, 1.5 éq).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 2.78 (dd, *J* = 9.5, 6.1 Hz, 2H, CH_2, H-2), 2.87-3.01 (m, 4H, CH_2, H-1, H-2'), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 4.10 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.82-6.94 (m, 4H, H-2^a, H-6^a, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.15 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.23 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 32.7 (C-2), 34.1 (C-2'), 40.5 (C-1), 55.0 (OCH_3), 68.4 (C-1'), 113.8 (C-2^a, C-6^a), 114.6 (C-2^b, C-6^b), 129.5 (C-1^a), 129.7 (C-3^b, C-5^b), 129.9 (C-3^a, C-5^a), 130.2 (C-1^b), 157.2 (C-4^b), 157.8 (C-4^a).

2-(4-(3-(4-Méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-amine



37c

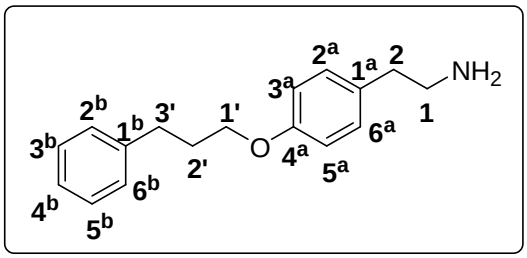
Rdt (%): 92 (0.263 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 195-199
SMHR, *m/z*: 286.1811 trouvée (calculée pour $C_{18}H_{24}NO_2$: 286.1807; $[M+H]^+$).

Le composé 2-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-amine est préparé selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de la 2-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-amine (0.321 g, 1 mmol) et de MeONa (0.081 g, 1.5 mmol, 1.5 éq).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.85-2.07 (m, 2H, CH_2, H-2'), 2.59-2.76 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3'), 2.86 (dd, *J* = 8.9, 6.2 Hz, 2H, CH_2, H-2), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.79-6.93 (m, 4H, H-2^a, H-6^a, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.07-7.21 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.6 (C-2'), 30.7 (C-3'), 35.1 (C-2), 41.7 (C-1), 55.0 (OCH_3), 66.6 (C-1'), 113.8 (C-2^a, C-6^a), 114.5 (.C-2^b, C-6^b), 129.3 (C-3^b, C-5^b), 129.7 (C-3^a, C-5^a), 130.5 (C-1^a), 133.2 (C-1^b), 157.2 (C-4^b), 157.5 (C-4^a).

2-(4-(3-Phénylpropoxy)phényl)éthan-1-amine



37d

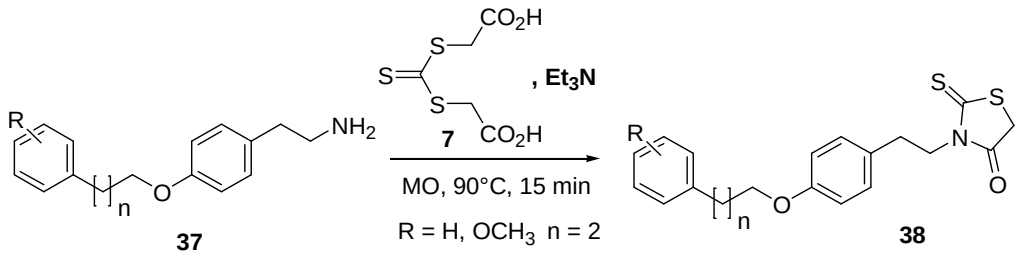
Rdt (%): 74 (0.189 g)
Aspect: poudre blanche
F (°C): 172-174
SMHR, *m/z*: 256.1701 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{22}NO$: 256.1701; $[M+H]^+$);
239.1438 trouvée (calculée pour $C_{17}H_{19}O$: 239.1436; $[M-NH_3+H]^+$).

La 2-(4-(3-phénylpropoxy)phényl)éthan-1-amine est préparée selon le mode opératoire général à partir du chlorhydrate de la 2-(4-(3-phénylpropoxy)phényl)éthan-1-amine (0.291 g, 1 mmol) et de MeONa (0.081 g, 1.5 mmol, 1.5 éq).
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.99 (dq, *J* = 9.0, 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-2'), 2.60-2.78 (m, 4H, CH_2, H-2, H-3'), 2.82 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH_2, H-1), 3.92 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 6.85 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.11 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.15-7.35 (m, 5H, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^b, Ar).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.4 (C-2'), 31.5 (C-3'), 35.6 (C-2), 42.0 (C-1), 66.6 (C-1'), 114.4 (C-3^a, C-5^a), 125.8 (C-4^b), 128.3 (C-2^b, C-3^b, C-5^b, C-6^b), 129.6 (C-2^a, C-6^a), 130.7 (C-1^b), 141.4 (C-1^a), 157.1 (C-4^a).

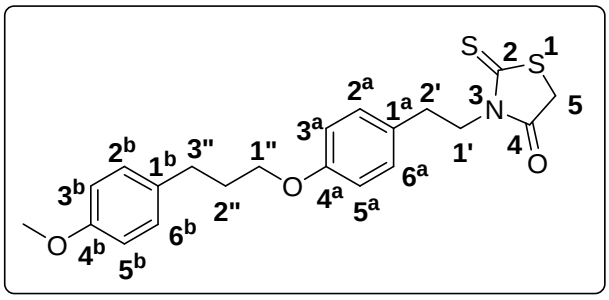
Synthèse des 3-(4-(phénylalkyloxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-ones

Méthode 1

Dans un tube cylindrique (vol. = 10 mL) adapté au réacteur micro-onde Monowave® de marque Anton Parr sont ajoutés successivement du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (0.131 g, 0,58 mmol), 2 mL de diméthoxyéthane, de la triéthylamine (0.059 g, 0.58 mmol, 1 éq.) et la 2-(4-(phénylalkyloxy)phényl)éthan-1-amine (0,58 mmol, 1 éq.). Ce tube cylindrique avec un "snap-cap" est introduit dans la cavité du réacteur micro-onde. Le mélange réactionnel est chauffé à 90° C pendant 15 min avec une puissance de 300 W (puissance maximale autorisée). L'irradiation microonde est programmée avec une rampe de montée en température de 2 min. Après refroidissement du milieu de réaction à la température ambiante, celui-ci est concentré à l'évaporateur rotatif sous vide partiel et le résidu d'évaporation est repris dans 1 mL de méthanol et 2 mL d'eau y sont ajoutés. L'insoluble est collecté par filtration sur verre fritté de porosité N°4 et le précipité obtenu est recristallisé dans l'éthanol.



3-(4-(3-(4-Méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



38c

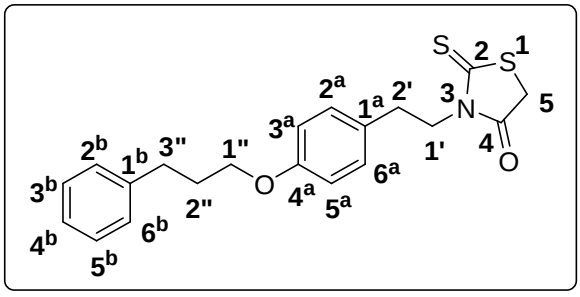
Rdt (%): 65 (0.151 g)
Aspect: poudre rose
F (°C): 105-106
SMHR, *m/z*: 424.1019 trouvée (calculée pour $C_{21}H_{23}NO_3NaS_2$: 424.1017; $[M+Na]^+$).

Le composé 3-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (0.131 g, 0,58 mmol), de la triéthylamine (0.059 g, 0.58 mmol, 1 éq.) et du 2-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phényl)éthan-1-amine (0.166 g, 0,58 mmol, 1 éq.).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.96 (dq, *J* = 13.3, 6.5 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 2.66 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH_2, H-3''), 2.71-2.83 (m, 2H, CH_2, H-2'), 3.71 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 3.94-4.06 (m, 2H, CH_2, H-1''), 4.24 (s, 1H, CH_2, H-5), 6.85 (dd, *J* = 8.4, 5.0 Hz, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.12 (dd, *J* = 8.4, 5.6 Hz, 4H, H-2^a, H-6^a, H-2^b, H-6^b, Ar).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ = 30.6 (C-3''), 30.7 (C-2''), 31.2 (C-2'), 35.9 (C-5), 45.3 (C-1''), 55.0 (OCH_3), 66.6 (C-1'), 113.8 (C-3^a, C-5^a), 114.6 (C-3^b, C-5^b), 129.3 (C-2^b, C-6^b), 129.5 (C-1^a), 129.7 (C-2^a, C-6^a), 133.2 (C-1^b), 157.4 (C-4^a), 157.5 (C-4^b), 174.2 (C=O), 203.0 (C=S).

3-(4-(3-Phénylpropoxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



38d

Rdt (%): 24 (0.052 g)
Aspect: poudre saumon
F (°C): 82-86
SMHR, *m/z*: 394.0912 trouvée (calculée pour $C_{20}H_{21}NO_2NaS_2$: 394.0911; $[M+Na]^+$).

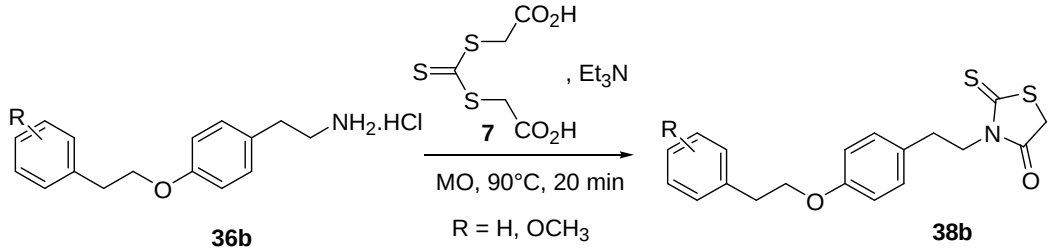
Le composé 3-(4-(3-phénylpropoxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparé selon le mode opératoire général à partir du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (0.131 g, 0,58 mmol), de la triéthylamine (0.059 g, 0.58 mmol, 1 éq.) et du 2-(4-(3-phénylpropoxy)phényl)éthan-1-amine (0.148 g, 0,58 mmol, 1 éq.).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 1.91-2.08 (m, 2H, CH_2, H-2''), 2.75 (dt, *J* = 11.1, 8.0 Hz, 4H, CH_2, H-2', H-3''), 3.93 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1'), 3.96-4.05 (m, 2H, CH_2, H-1''), 4.23 (s, 2H, CH_2, H-5), 6.86 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-3^a, H-5^a, Ar), 7.12 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.15-7.34 (m, 5H, H-2^b, H-3^b, H-4^b, H-5^b, H-6^b, Ar).

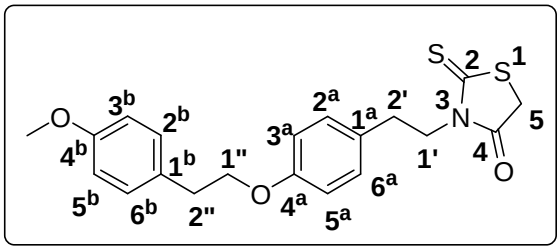
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ= 30.4 (C-2''), 31.2 (C-2'), 31.5 (C-3''), 35.8 (C-5), 45.3 (C-1''), 66.6 (C-1'), 114.6 (C-3^a, C-5^a), 125.9 (C-4^b), 128.4 (C-2^b, C-3^b, C-5^b, C-6^b), 129.5 (C-1^a), 129.7 (C-2^a, C-6^a), 141.4 (C-1^b), 157.4 (C-4^a), 174.2 (C=O), 203.0 (C=S).

Méthode 2

Dans un tube cylindrique (vol. = 10 mL) adapté au réacteur micro-onde Monowave® de marque Anton Parr, sont ajoutés successivement du *bis*(carboxymethyl)trithiocarbonate (0.131 g, 0,58 mmol), 2 mL de diméthoxyéthane, de la triéthylamine (0.58 mmol, 1 éq.) et le chlorhydrate de 2-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phényl)éthan-1-amine (0.157 g, 0,58 mmol, 1 éq). Ce tube cylindrique clos avec un "snap-cap" est ensuite introduit dans la cavité du réacteur micro-onde. Le mélange réactionnel est chauffé à 90° C pendant 20 min avec une puissance de 300 W (puissance maximale autorisée). L'irradiation microonde est programmée avec une rampe initiale de montée en température de 2 min. Après refroidissement du milieu de réaction à la température ambiante, celui-ci est concentré à l'évaporateur rotatif sous vide partiel et le résidu d'évaporation est repris dans 1 mL de méthanol et 2 mL d'eau y sont ajoutés. L'insoluble est collecté par filtration sur verre fritté de porosité N°4 et le précipité obtenu est recristallisé dans l'éthanol.



3-(4-(4-Méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)-2-thioxothiazolidin-4-one



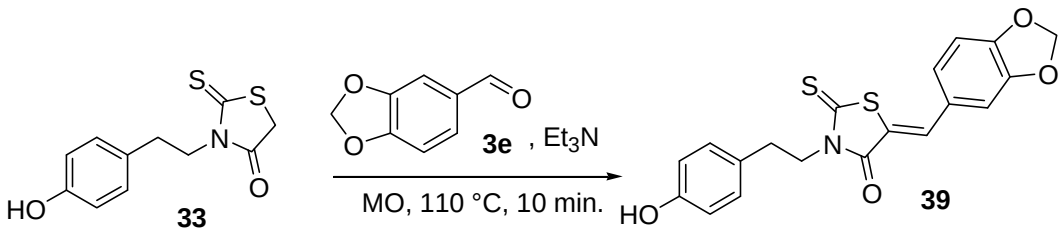
38b

Rdt (%): 77 (0.173 g)
Aspect: poudre saumon
F (°C): 98-99
SMHR, *m/z*: 410.0862 trouvée (calculée pour $C_{20}H_{21}NO_3NaS_2$: 410.0861; $[M+Na]^+$).

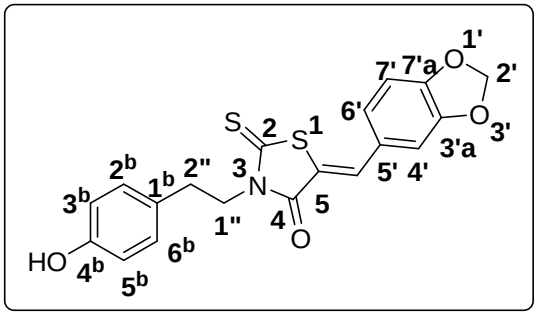
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ= 2.70-2.83 (m, 2H, CH_2, H-2'), 2.95 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 3.72 (s, 3H, OCH_3), 3.95-4.05 (m, 2H, CH_2, H-1'), 4.10 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 4.23 (s, 2H, CH_2, H-5), 6.81-6.92 (m, 4H, H-3^a, H-5^a, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.11 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2^a, H-6^a, Ar), 7.23 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ= 31.1 (C-2'), 34.0 (C-2''), 35.8 (C-5), 45.3 (C-1'), 55.0 (O**C**H$_3$), 68.3 (C-1''), 113.7 (C-3^a, C-5^a), 114.6 (C-3^b, C-5^b), 129.5 (C-2^a, C-6^a), 129.6 (C-1^a), 129.9 (C-1^b), 130.2 (C-2^b, C-6^b), 157.2 (C-4^a), 157.8 (C-4^b), 174.1 (C=O), 203.0 (C=S).

Réaction de condensation sur la 3-(4-(phénylalkyloxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one

Dans un tube cylindrique (vol. = 10 mL) adapté au réacteur micro-onde Monowave® de marque Anton Parr, sont ajoutés successivement la 3-(4-arylalkoxy-phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one (0,253 g, 1 mmol), le pipéronal (0,153 g, 1 mmol, 1 éq.) et de la triéthylamine (0,101 g, 1 mmol, 1 éq.). Ce tube cylindrique clos avec un "snap-cap" est ensuite introduit dans la cavité du réacteur micro-onde. Le mélange réactionnel est chauffé à 110° C pendant 10 min avec une puissance de 300 W (puissance maximale autorisée). L'irradiation microonde est programmée avec une rampe initiale de montée en température de 2 min. Après refroidissement du milieu de réaction à la température ambiante, 1 mL de méthanol y est ajouté et après trituration, l'insoluble est recueilli par filtration sur verre fritté de porosité N°4. Le solide obtenu est ensuite trituré dans 40 mL d'eau pendant 4 h et après filtration sur verre fritté de porosité N°4, le solide obtenu est séché sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pour conduire au produit souhaité.



(5Z)-5-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



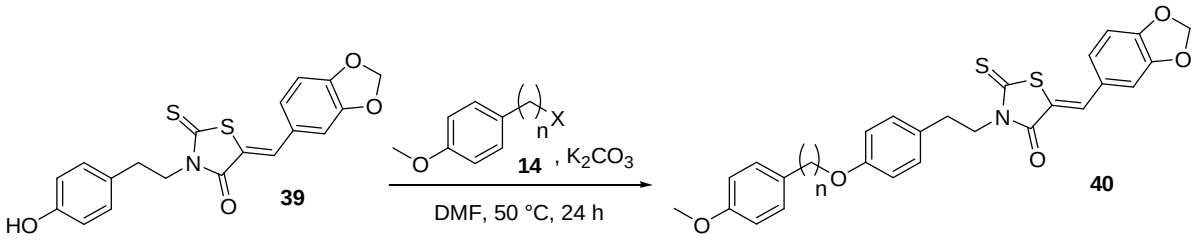
39

Rdt (%): 73 (0.281 g)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 202-206
SMHR, *m/z*: 394.0546 trouvée (calculée pour $C_{19}H_{17}NO_3NaS_2$: 394.05476; $[M+Na]^+$).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ= 2.82 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 4.16 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 6.15 (s, 2H, CH_2, H-2'), 6.67 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-3^b, H-5^b, Ar), 7.00 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.07-7.29 (m, 3H, H-4', H-6', H-7'), 9.26 (s, 1H, CH=), 7.72 (s, 1H, OH).

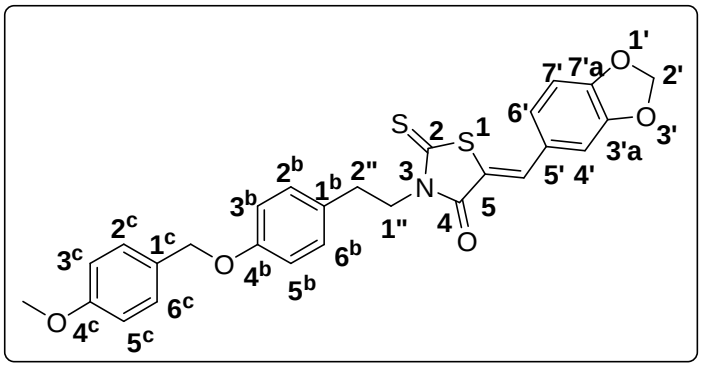
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-*d*$_6$): δ= 31.3 (C-2''), 45.6 (C-1''), 102.2 (C-2'), 109.4 (C-7'), 109.7 (C-4'), 115.3 (C-3^b, C-5^b), 119.6 (**C**=), 127.1 (C-6'), 127.2 (C-5'), 127.6 (C-1^b), 129.6 (C-2^b, C-6^b), 133.2 (**C**H=), 148.4 (C-7'a), 149.9 (C-3'a), 156.0 (C-4^b), 166.7 (C=O), 192.9 (C=S).

Procédure générale de *O*-alkylation de la (*5Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



À une solution de la *(5Z)*-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one (0.193 g, 0.5 mmol) dans 1.93 mL de *N*,*N*-diméthylformamide, est ajouté successivement 0.346 g de K_2CO_3 (2.5 mmol, 5 éq.) et l'agent alkylant (0.5 mmol, 1 éq.). Ce mélange est ensuite maintenu sous agitation à 50°C pendant 24 h. Après refroidissement du milieu réactionnel, 4 mL d'eau y sont ajoutés. Le précipité obtenu après agitation est collecté par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis lavé successivement avec 2x4 ml d'eau et 4x4 mL d'éther. Le produit attendu (poudre) est séchée sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg).

(5Z)-5-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



40a

Rdt (%): 44 (111.23 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 188-192
SMHR, *m/z*: 528.0916 trouvée (calculée pour $C_{27}H_{23}NO_5NaS_2$: 528.0915; $[M+Na]^+$).

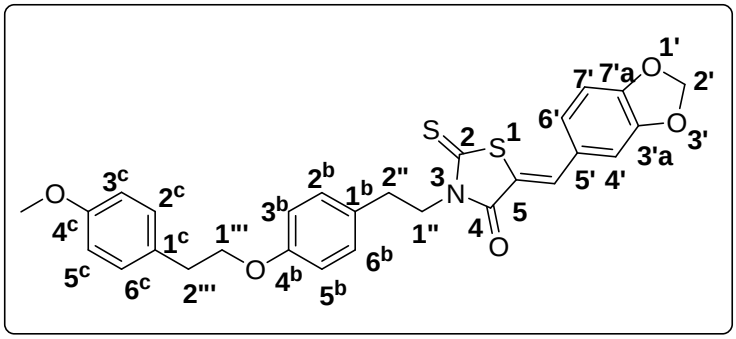
La (*5Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-((4-méthoxybenzyl)oxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparée selon le mode opératoire général à partir de la (*5Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one (0.193 g, 0.5 mmol), de K_2CO_3 (0.346 g, 2.5 mmol, 5 éq.) et de bromure de 4-méthoxybenzyle (0.5 mmol, 1 éq.).

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ= 2.88 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 3.75 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.19 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 4.97 (s, 2H, CH_2, OC**H**$_2$), 6.16 (s, 2H, CH_2, H-2'), 6.85-7.02 (m, 4H, H-3^b, H-5^b, H-3^c, H-5^c, Ar), 7.13 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H-2^c, H-6^c, Ar), 7.15-7.28 (m, 3H, H-4', H-6', H-7', Ar), 7.35 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H-2^b, H-6^b, Ar), 7.73 (s, 1H, CH=).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ= 30.9 (C-2''), 44.9 (C-1''), 54.8 (O**C**H$_3$), 69.0 (O**C**H$_2$), 101.6 (C-2'), 108.8 (C-7'), 109.0 (C-4'), 113.5 (C-3^b, C-5^b), 114.8 (C-3^c, C-5^c), 119.6 (**C**=), 126.3 (C-6'), 126.9 (C-5'), 128.6 (C-2^c, C-6^c), 128.9 (C-1^b), 129.1 (C-2^b, C-6^b), 129.4 (C-1^c),

132.6 (**C**H=), 148.0 (C-4[b]), 149.4 (C-4[c]), 157.0 (C-7'a), 158.7 (C-3'a), 166.2 (C=O), 192.5 (C=S).

(5Z)-5-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-(4-méthoxyphénéthoxy)phénéthyl)-2-thioxothiazolidin-4-one



40b

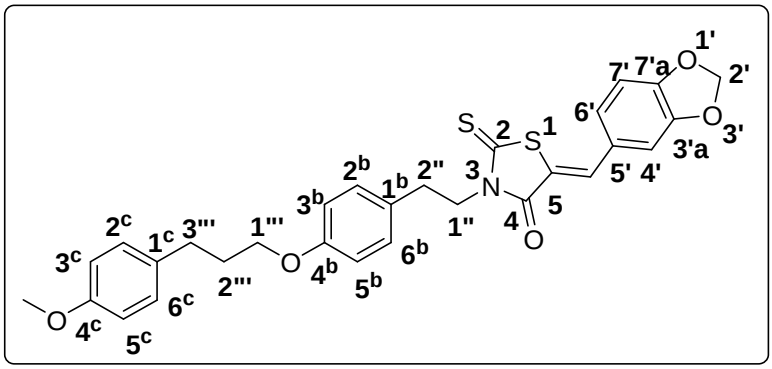
Rdt (%): 16 (41.57 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 143-144
SMHR, *m/z*: 542.1070 trouvée (calculée pour $C_{28}H_{25}NO_5NaS_2$: 542.1072; $[M+Na]^+$).

À une solution de (*5Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphényléthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one (0.193 g, 0.5 mmol) dans 1.93 mL de *N*,*N*-diméthylformamide, est ajouté successivement 0.346 g de K_2CO_3 (2.5 mmol, 5 éq.) et du bromure de 4-méthoxyphénéthyle (0.5 mmol, 1 éq.). Ce mélange est ensuite maintenu sous agitation à 50°C pendant 24 h. Après refroidissement du milieu réactionnel à l'ambiante, 12 mL de solution aqueuse saturée en chlorure de sodium y sont ajoutés. Le milieu de réaction est transféré dans une ampoule à décanter puis le produit attendu est extrait avec 12 mL d'éther. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$ anhydre, filtrée sur papier plissé puis le solvant du filtrat est éliminé à l'évaporateur rotatif sous pression réduite partielle. Le résidu d'évaporation huileux (huile jaune mobile) conduit après 12 heures (au repos à l'ambiante) à un produit pâteux. Cette pâte est triturée dans 0.3 mL d'éther afin d'amorcer la cristallisation et l'insoluble résultant est collecté par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis lavé successivement avec 2x4 ml d'eau et 4 mL d'éther. Cette poudre est ensuite séchée sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg) pendant 4 heures.

^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ= 2.80-3.00 (m, 2H, CH_2, H-2'', H-2'''), 3.72 (s, 3H, OC**H**$_3$), 4.08 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 4.18 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H, CH_2, H-1'''), 6.16 (s, 2H, CH_2, H-2'), 6.78-6.92 (m, 4H, H-3[b], H-5[b], H-3[c], H-5[c], Ar), 7.05-7.31 (m, 7H, H-4', H-6', H-7', H-2[b], H-6[b], H-2[c], H-6[c], Ar), 7.72 (s, 1H, C**H**=).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ= 34.0 (C-2''), 40.2 (C-2'''), 45.5 (C-1'''), 55.0 (O**C**H$_3$), 68.3 (C-1''), 102.2 (C-2'), 109.4 (C-7'), 109.7 (C-4'), 113.7 (C-3[b], C-5[b]), 114.6 (C-3[c], C-5[c]), 119.6 (**C**=), 127.1 (C-4'), 127.2 (C-5'), 129.5 (C-1[b]), 129.7 (C-2[b], C-6[b]), 129.9 (C-2[c], C-6[c]), 130.2 (C-1[c]), 133.2 (**C**H=), 148.4 (C-4[b]), 149.9 (C-4[c]), 157.2 (C-7'a), 157.8 (C-3'a), 166.7 (C=O), 193.0 (C=S).

(5Z)-5-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one

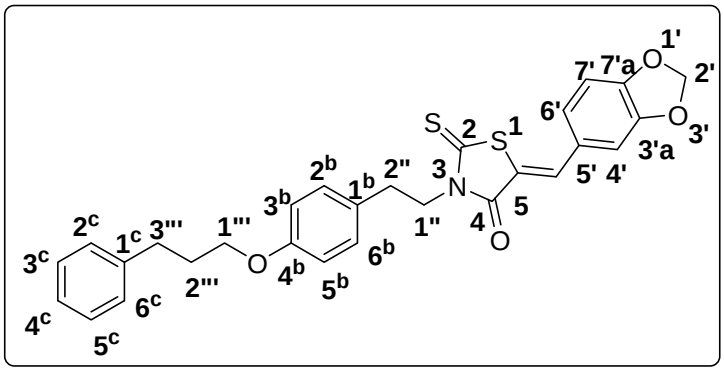


40c

Rdt (%): 67 (178.78 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 140-141
SMHR, *m/z*: 556.1230 trouvée (calculée pour $C_{29}H_{27}NO_5NaS_2$: 556.1228; $[M+Na]^+$); 572.0975 trouvée (calculée pour $C_{29}H_{27}NO_5S_2K$: 572.0976; $[M+K]^+$).

La (*5Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-(3-(4-méthoxyphényl)propoxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one est préparée selon le mode opératoire général à partir de la (*5Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one (0.193 g, 0.5 mmol), de K_2CO_3 (0.346 g, 2.5 mmol, 5 éq.) et du 1-(3-bromopropyl)-4-méthoxybenzène (0.5 mmol, 1 éq.).
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ= 1.85-2.05 (m, 2H, CH_2, H-2'''), 2.65 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH_2, H-3'''), 2.88 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 3.71 (s, 3H, OC**H**$_3$), 3.90 (t, *J* = 6.3 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 4.19 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-1'''), 6.16 (s, 2H, CH_2, H-2'), 6.77-6.93 (m, 4H, H-3^b, H-5^b, H-3^c, H-5^c, Ar), 7.04-7.32 (m, 7H, H-4', H-6', H-7', H-2^b, H-6^b, H-2^c, H-6^c, Ar), 7.73 (s, 1H, CH=).
^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ= 31.0 (C-3'''), 31.1 (C-2'''), 31.7 (C-2''), 46.0 (C-1'''), 55.4 (O**C**H$_3$), 67.0 (C-1''), 102.7 (C-2'), 109.8 (C-7'), 110.1 (C-4'), 114.2 (C-3^b, C-5^b), 115.0 (C-3^c, C-5^c), 120.1 (**C**=), 127.5 (C-6'), 127.6 (C-5'), 129.7 (C-2^c, C-6^c), 129.9 (C-1^b), 130.1 (C-2^b, C-6^b), 133.6 (**C**H=), 133.7 (C-1^c), 148.8 (C-4^b), 150.4 (C-4^c), 157.8 (C-7'a), 157.9 (C-3'a), 167.2 (C=O), 193.4 (C=S).

(5Z)-5-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-(3-phénylpropoxy)phénéthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one



40d

Rdt (%): 61 (153.61 mg)
Aspect: poudre jaune
F (°C): 150-152
SMHR, *m/z*: 526.1118 trouvée (calculée pour $C_{28}H_{25}NO_4NaS_2$: 526.1123; $[M+Na]^+$).

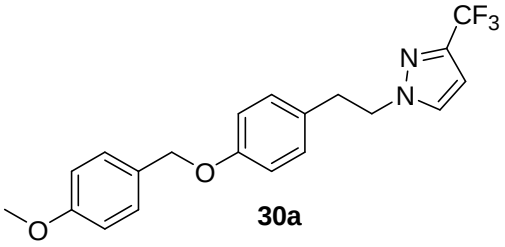
À une solution de (*5Z*)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ylméthylène)-3-(4-hydroxyphényléthyl)-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-one (0.193 g, 0.5 mmol) dans 1.93 mL de *N*,*N*-diméthylformamide, est ajouté successivement 0.346 g de K_2CO_3 (2.5 mmol, 5 éq.) et du 1-bromo-3-

phénylpropane (0.5 mmol, 1 éq.). Ce mélange est ensuite maintenu sous agitation à 50°C pendant 24 h. Après refroidissement du milieu de réaction à l'ambiante, 4 mL d'eau y sont ajoutés. L'insoluble gommeux obtenu après agitation, est collecté par filtration sur verre fritté de porosité N°4, puis trituré avec 2 mL d'éther pour conduire à une poudre bien divisée (cette méthode est réitérée sur le produit gommeux adhérant aux parois du ballon). Le produit désiré poudreux est lavé successivement avec 2x4 mL d'eau et 3x4 mL d'éther puis séchée sous le vide d'une pompe à palettes (10^{-2} mm Hg).

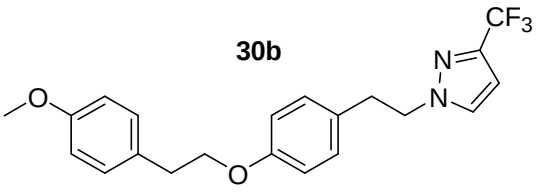
^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ= 1.86-2.10 (m, 2H, CH_2, H-2'''), 2.72 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-3'''), 2.88 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, CH_2, H-2''), 3.92 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H, CH_2, H-1''), 4.19 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H, CH_2, H-1'''), 6.16 (s, 2H, CH_2, H-2'), 6.85 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H-3^{b}, H-5^{b}, Ar), 7.12 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, H-2^{b}, H-6^{b}, Ar), 7.15-7.35 (m, 8H, H-4', H-6', H-7', H-2^{c}, H-3^{c}, H-4^{c}, H-5^{c}, H-6^{c}, Ar), 7.73 (s, 1H, C**H**=).

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO-d_6): δ= 29.8 (C-2'''), 30.9 (C-2''), 31.0 (C-3'''), 44.9 (C-1'''), 66.7 (C-1''), 101.6 (C-2'), 108.7 (C-7'), 109.0 (C-4'), 114.5 (C-3^{b}, C-5^{b}), 119.6 (**C**=), 125.2 (C-4^{c}), 126.3 (C-6'), 126.9 (C-5'), 127.7 (C-2^{c}, C-3^{c}, C-5^{c}, C-6^{c}), 129.1 (C-2^{b}, C-6^{b}), 129.2 (C-1^{b}), 132.6 (**C**H=), 140.9 (C-1^{c}), 148.0 (C-4^{b}), 149.4 (C-7'a), 157.1 (C-3'a), 166.2 (C=O), 192.5 (C=S).

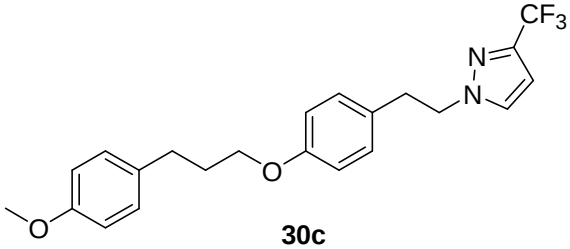
RÉCAPITULATIF DES COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS



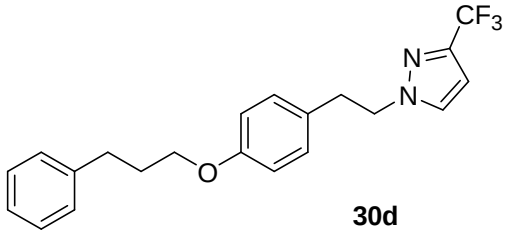
30a



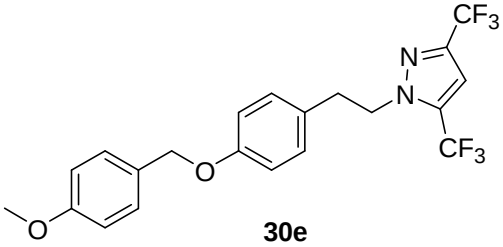
30b



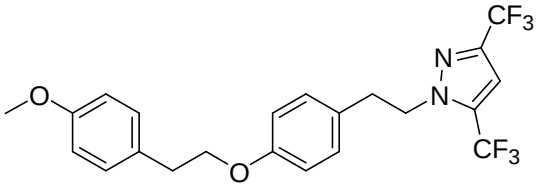
30c



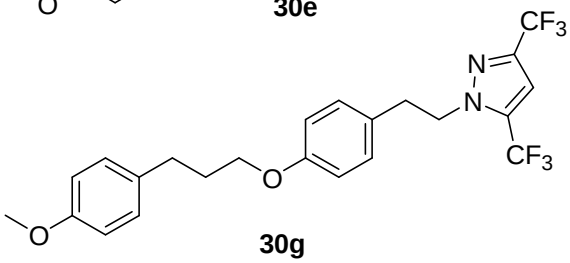
30d



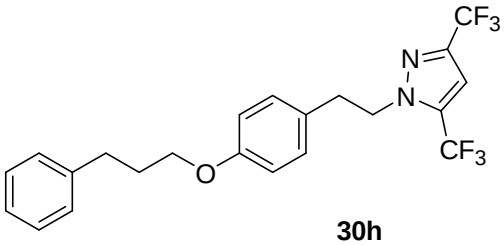
30e



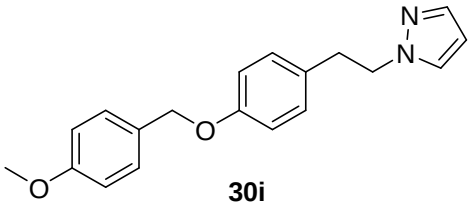
30f



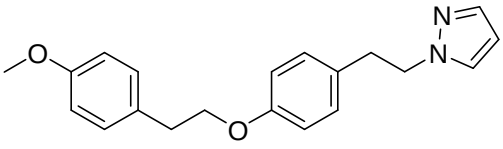
30g



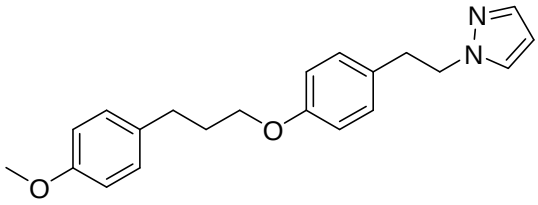
30h



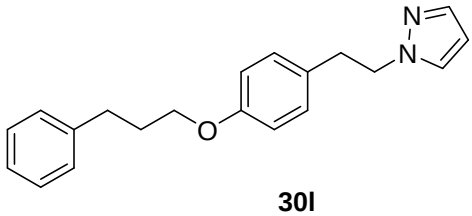
30i



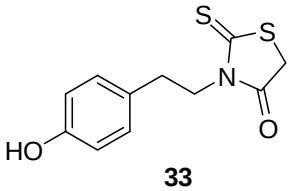
30j



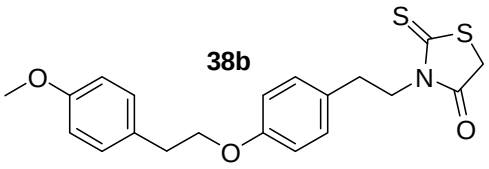
30k



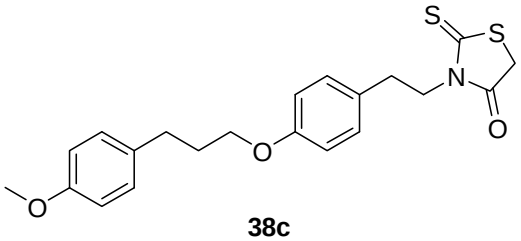
30l



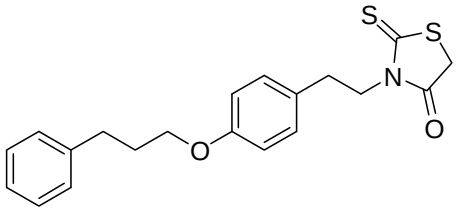
33



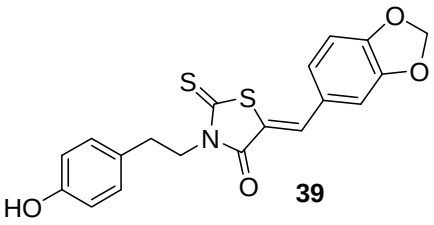
38b



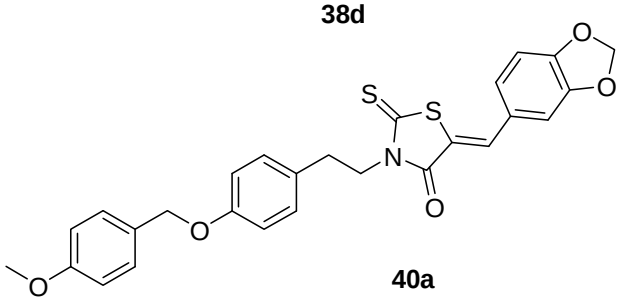
38c



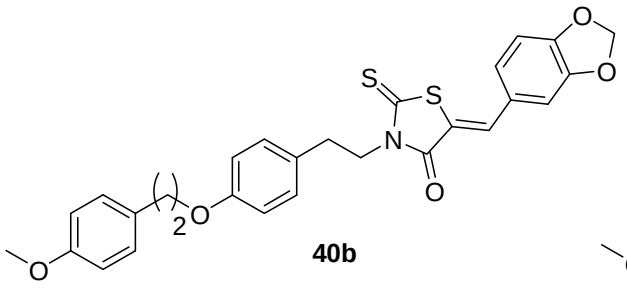
38d



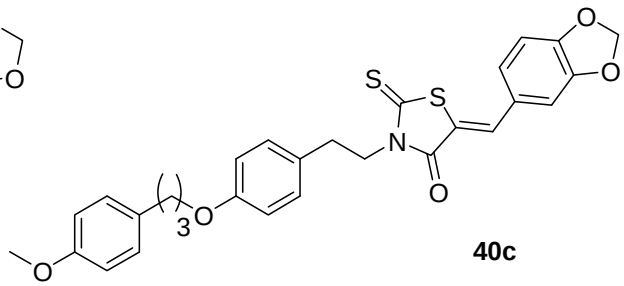
39



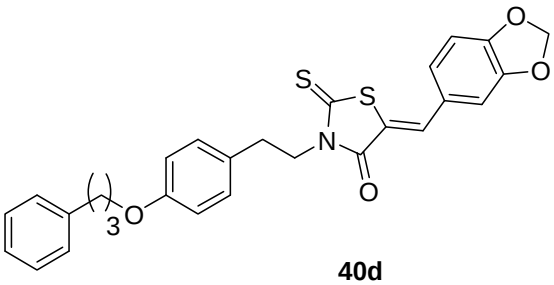
40a



40b



40c



40d

CHAPITRE 4:

MÉTHODOLOGIES ET RÉSULTATS DES ANALYSES BIOLOGIQUES

Introduction

L'étude biologique des composés synthétisés au cours de ces travaux s'articule principalement autour de trois cibles biologiques, à savoir les protéines kinases, les lignées de cellules tumorales et les canaux SOCE (Store Operated Calcium Entry).

Pour chacune de ces cibles, un test spécifique a été mis en œuvre en vue de la détection d'une quelconque activité biologique pour le composé concerné. Cependant, un des points communs à ces 3 tests, réside dans la méthodologie de présentation finale du résultat obtenu. En effet, ce résultat pour les 3 cibles biologiques concernées, est représenté par la Concentration d'Inhibition 50 ou CI_{50}. Il s'agit de la concentration en composé chimique testé nécessaire pour:

- Inhiber 50% de l'activité maximale de la protéine kinase considérée;
- Inhiber 50% de la prolifération des cellules cancéreuses testées;
- Inhiber 50% de l'activité maximale des canaux SOCE concernés.

Ainsi, plus la CI_{50} est faible, plus le composé concerné est actif.

Les résultats biologiques obtenus, permettront dans ce chapitre, d'effectuer également différents commentaires qui s'inscrivent dans une dynamique d'étude Relation Structure-Activité (RSA) autour des analogues du SKF-96365. Dans cette partie cependant, seuls les résultats des composés ayant effectivement présenté une activité seront présentés. Un récapitulatif de tous les résultats biologiques concernant l'ensemble de la chimiothèque issue de ce travail, est consigné dans l'annexe 5 et une présentation générale du matériel utilisé pour ces différents tests est consignée en annexe 6.

I. MÉTHODOLOGIE DES DIFFÉRENTS TESTS REALISÉS

1. Screening de l'inhibition de l'activité des protéines kinases

Les composés pour l'inhibition de l'activité des protéines kinases, ont été testés à la Station Biologique CNRS de Roscoff dans le cadre de la plateforme "*Kinase Inhibitory Specialized Screening facility*" (KISSf) de l'USR 3151. Quatorze protéines kinases ont été ciblées à savoir des CDKs (CDK5/p25, CDK2/Cyclin A, CDK9/Cyclin T), CLK1, DYRK1A, GSK3α/β, *Pf*GSK3α/β, CK1δ/ε, *Lm*CK1, PIM1, *Ld*Tlk1, Haspin, RIPK3 et Aurora B.

Les gènes codant pour chacune de ces kinases utilisées au sein du laboratoire de Roscoff proviennent de diverses sources:

- origine humaine: *Hs*_CDKs, *Hs*_PIM1, *Hs*_AURKB/INCENP (Aurora B), *Hs*_HASPIN, *Hs*_RIPK3, "*Hs*" signifiant *Homo sapiens* pour faire référence à l'humain;

- origine parasitaire: *Pf*GSK3α/β, *Lm*CK1, *Ld*Tlk1 issus respectivement des parasites *P. falciparum* (*Pf*), *Leishmania major* (*Lm*) et *Leishmania donovani* (*Ld*);
- origine animale: *Ssc*_CK1δ/ε et *Ssc*_GSK3α/β du porc ou *Sus Scrofa* référencé par "*Ss*", *Rn*_DYRK1A du rat brun ou *Rattus norvegicus* référencé par "*Rn*" et enfin *Mm*_CLK1 de la souris grise ou *Mus musculus* référencé par "*Mm*".

Deux types de protéines kinases sont distingués: les protéines kinases natives extraites de l'organe animal concerné, et les protéines recombinantes produites par des cellules dont l'ADN a été modifié par recombinaison génétique.

1.1. Isolation et purification des protéines kinases testées

1.1.1. Extraction et purification des protéines kinases natives

Les protéines kinases natives, sont directement extraites de l'organe de l'animal concerné et purifiées, par chromatographie d'affinité. Au nombre de celle testées, seules CK1 et GSK3 sont des natives. Elles sont extraites du lysat de cerveau de porc et purifiées par chromatographie d'affinité par l'intermédiaire de billes sur lesquelles sont fixées une fraction de protéine axine complexant spécifiquement avec les kinases contenues dans ledit lysat. L'élution de ce complexe a permis ensuite de récupérer les kinases escomptées.

Les différents isoformes de CK1 (δ et ε), de même que ceux de GSK3 (α et β), sont extraits de façon simultanée et ne sont pas isolés. Pour ces deux kinases, l'extraction et la purification ont abouti directement à un mélange des deux isoformes, qui ont donc été testés ensemble.

1.1.2. Extraction et purification des protéines kinases recombinantes: cas de DYRK1A

Parmi les 14 kinases testées, 12 sont recombinantes à savoir les CDKs (CDK5/p25, CDK2/Cyclin A, CDK9/Cyclin T), CLK1, DYRK1A, *Pf*GSK3α/β, *Lm*CK1, PIM1, *Ld*Tlk1, Haspin, RIPK3 et Aurora B. Concernant le cas particulier de CDK5/p25, CDK5 et p25 sont purifiées séparément (p25 étant une version tronquée de p35, l'activateur de CDK5 de taille 35 kDa). Ces deux protéines, une fois extraites et purifiées, sont ensuite mélangées pour conduire au complexe CDK5/p25 actif.

Méthode d'extraction et de purification de DYRK1A

DYRK1A est une protéine recombinante, dont le gène codant est issu d'une cellule de rat. Il est transfecté dans un plasmide provenant de la bactérie *E. coli*. Ce plasmide comporte 3 régions importantes dans son génome qui sont un promoteur T7, une zone de transcription pour GST (Glutathion-*S*-Transférase) et une région de résistance à un antibiotique,

l'ampicilline. Les bactéries transfectées sont ensuite mises en culture dans un milieu enrichi en ampicilline qui permet de les différencier de celles qui ne le sont pas. Après une phase d'incubation et de multiplication de ces bactéries, un activateur du promoteur est ajouté. Il s'agit d'un analogue du lactose, l'IPTG (isopropyl-β-D-thiogalactoside). Cette activation a pour but l'expression des protéines kinases DYRK1A associées à un GST.
Afin de récupérer les kinases exprimées au sein des cellules, celles-ci doivent être détruites. Pour ce faire, elles sont soumises à un choc mécanique par sonication et également à l'action biologique destructrice de lysosymes*, pour conduire à un lysat, auquel est ensuite ajouté du GSH (Glutathion) associé à des billes de Sépharose permettant une association par affinité avec les protéines GST-DYRK1A. Après centrifugation, les billes de Sépharose-GSH-GST-DYRK1A obtenues, s'agrègent au niveau du culot tandis le lysat résiduel constitue le surnageant. Les billes une fois isolées, sont lavées plusieurs fois à l'aide d'un tampon (pH = 7,3), puis du glutathion réduit (GSSG) y est ajouté en excès avec un tampon (pH = 8). Après centrifugation, le lysat contenant les protéines DYRK1A, est récupéré et la vérification du produit de la manipulation est faîte par authentification des protéines sur gel d'acrylamide.

1.2. Méthodologie de criblage des composés testés

L'identification des composés inhibiteurs de kinases a été réalisée en deux phases. La première étape à consister à faire un criblage préliminaire réalisé avec des solutions de produits à tester ayant une concentration de 10 µM. À l'issue de ce premier screening de sélection, ne sont retenus pour la suite des tests que les composés enregistrant un taux d'inhibition d'au moins 50 % et considérés donc comme actifs. Ces derniers sont ensuite testés à nouveau au cours d'une seconde phase, mais cette fois-ci à différentes concentrations (de 10 µM à 3,3 nM), afin de calculer la CI_{50} pour chacun d'entre eux et de déterminer ainsi leur activité inhibitrice. La détermination de la CI_{50} pour les composés actifs, a été faite graphiquement à l'aide du logiciel Excel, par analyse des courbes dose / réponse établies à partir des résultats d'inhibition (en pourcentage) obtenus à différentes concentrations. Au cours du test, l'Induribine (Figure 1), un inhibiteur performant vis-à-vis des kinases testées au sein de la plateforme *KISSf* de la Station Biologique CNRS de Roscoff, a été utilisé comme témoin correspondant à l'inhibition maximale.

.

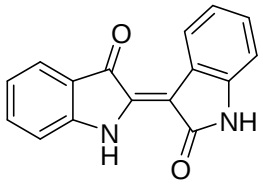


Figure 1: Structure moléculaire de l'Induribine.

La méthode générale de criblage (Schéma 1) mise en œuvre pour ces deux phases du criblage, est la même. Les solutions de produits à tester sont préparées à partir d'une solution mère de concentration 1 mM. Concernant le criblage visant le calcul des CI_{50}, 8 gammes de concentrations sont préparées par dilutions successives à savoir 10 µM; 3,33 µM; 1 µM;

0,333 µM; 0,1 µM; 0,0333 µM; 0,01 µM et 0,0033 µM (3,3 nM). Le mode opératoire appliqué pour ce test se décline en plusieurs grandes étapes:

1) Les plaques contenant les solutions à tester sont préparées soit à l'aide d'un robot soit manuellement, à partir de la solution mère de 1 mM diluée au 1/10ème avec de l'eau pour le premier criblage et à partir d'une solution à 100 µM dans 10 % de DMSO, les autres dilutions successives étant réalisées avec le même solvant de dilution. Les solutions finales contenues dans chaque puits (mix réactionnel) de la plaque pour le test, sont constituées de 3 µL de solution du produit à tester, 21 µL de mix enzymatique et 6 µL d'ATP marqué P33. Le mix enzymatique est constitué d'un substrat que la kinase testée peut phosphoryler, d'un tampon permettant de maintenir le pH à 7 et 0,3 µL de kinase. La distribution de l'ATP a été faite par un robot spécialisé en zone contrôlée et les substrats phosphorylables utilisés diffèrent selon la kinase concernée.

2) Les plaques, une fois la distribution de l'ATP radiomarqué terminée, sont ensuite placées dans un incubateur à 30°C pendant 30 minutes afin de permettre à la réaction enzymatique de se faire.

3) Après l'incubation, les mix réactionnels sont filtrés sur une membrane de phosphocellulose, sur laquelle adhère le substrat qui est ainsi isolé. Puis le filtre est lavé plusieurs fois à l'acide phosphorique 1 %. Le substrat, lorsqu'il est phosphorylé est alors marqué par le phosphore 33 (P33).

4) Afin de révéler le taux de phosphorylation du substrat, un scintillant est alors ajouté. Ce scintillant permet la conversion de la radioactivité en énergie lumineuse observable.

5) Enfin, les cassettes contenant les substrats (sur la membrane), sont introduites dans un lecteur Topcount, qui par lecture de la luminosité observée, quantifie la radioactivité et donc le taux de phosphorylation, et ainsi celui de l'inhibition (en pourcentage).

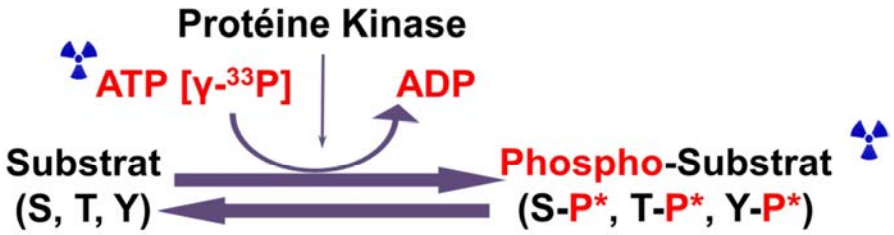


Schéma 1: Principe du test d'inhibition des kinases.
(*Source: Station.biologique de Roscoff*)

2. Test de l'activité anti-cancéreuse

Afin d'identifier les composés possédant une activité anticancéreuse, toutes les molécules synthétisées ont été testées sur 8 lignées de cellules tumorales humaines. Les lignées tumorales humaines concernées par cette étude sont Huh7D12 (cancer du foie), Caco2 (cancer du côlon, cellules à différenciation de type entérocytaire*), MDA-MB231 (cancer du sein), HCT116 (cancer du côlon, cellules à haute capacité prolifération), PC3 (cancer de la prostate), NCl-H727 (cancer du poumon), HaCat (cancer de la peau), MCF7 (cancer du sein). En plus des lignées cancéreuses, les différents composés ont été testés aussi sur de la peau saine (Fibroblaste*) afin de mesurer également leur impact sur des cellules saines.

Les tests ont été réalisés au sein de la plateforme ImPACcell de l'Université de Rennes 1 au Campus médical de Villejean.

Le test anticancéreux se fait également en deux étapes. Un premier test est réalisé avec une dose unique à 25 µM, à l'issue duquel les composés ayant inhibé au moins 50 % du taux de prolifération maximale des cellules testées, sont considérés comme actifs et donc retenus pour un second test. Dans la pratique, tous les composés enregistrant un taux de prolifération inférieur à 70 %, sont présélectionnés. Le second test est réalisé sur 6 gammes de concentrations (25 µM; 8,3 µM; 2,77 µM; 0,926 µM; 0,308 µM et 0,103 µM), préparées à partir d'une cascade de dilution au tiers, dans le but de calculer la CI_{50}. La détermination de la CI_{50} pour les composés actifs, a été faite graphiquement à l'aide des courbes dose / réponse (Figure 2) établies à partir des résultats d'inhibition (en pourcentage) obtenus pour ces 6 gammes de concentrations.

La méthodologie de criblage mise en œuvre pour ces deux étapes est généralement la même et comporte une première phase sans drogues, au cours de laquelle les cellules qui ont servi à ensemencer les plaques sont mises en culture, puis une seconde phase de mise en contact avec la drogue en vue de la détermination effective de l'activité anticancéreuse. Tous les tests sont réalisés en triplicat.

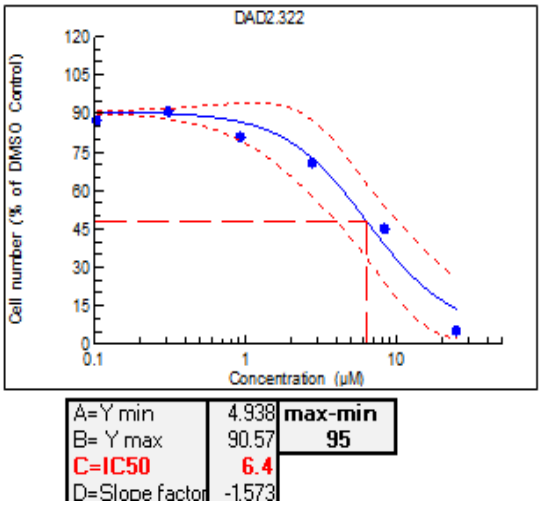


Figure 2: Exemple de calcul de la CI_{50} à partir de la courbe dose / réponse pour **37b**.

2.1. Culture des cellules et ensemencement des plaques

Les cellules sont préalablement mises en culture dans des flasques pendant un temps approprié dans un incubateur maintenu à 37°C avec 5 % de CO_2. Ces cellules au cours de la prolifération *in vitro*, adhèrent au support adéquat qui leur est fourni et forment un tapis unicellulaire.

Pour l'ensemencement, les flasques contenant les cellules, sont sorties de l'incubateur et le tapis cellulaire est observé au microscope inversé afin de vérifier le niveau de confluence des cellules. Les flasques de culture sont transférées sous une hotte à flux laminaire afin de travailler en milieu stérile et d'éviter toute contamination des cellules:

- Le milieu de culture est retiré et le tapis cellulaire est lavé avec du PBS (Phosphate Buffered Saline) afin de retirer toute traces de sérum pouvant empêcher l'action ultérieure de la trypsine.
- **Trypsination**: la trypsine est ensuite ajoutée (1 mL) dans la flasque afin de décoller les cellules de la paroi et de les individualiser. La flasque est ensuite laissée au repos sous la hotte ou dans l'incubateur (à 37°C afin d'accélérer l'action de la trypsine) et ce pendant le temps nécessaire à une bonne individualisation. Dès que le tapis cellulaire est décollé, la trypsine est neutralisée par ajout dans la flasque de 3 mL de milieu de culture.
- **Numération**: une fois la trypsine neutralisée, la suspension résultante est transférée dans un tube conique, puis centrifugée afin d'agréger les cellules. Le surnageant est retiré et les cellules sont reprises dans 3 mL de milieu de culture. 10 µL de cette suspension sont ensuite mis en présence de Bleu de Trypan (10 µL) dans une cellule de comptage. Après lecture au compteur de cellules, la concentration de cellules vivantes par mL (viabilité) disponible pour la suite de la manipulation, est obtenue.
- **Ensemencement**: afin d'obtenir une solution de 4000 cellules pour 100 µL par puits, le volume adéquat de suspension cellulaire est ensuite prélevé puis repris dans du milieu de culture. Après ensemencement, les plaques sont placées pendant 24 h dans l'incubateur. Pour les cellules HTC116, 2000 cellules sont placées par puits parce qu'elles prolifèrent beaucoup plus vite.

2.2. Mise en contact avec la drogue et lecture de la plaque

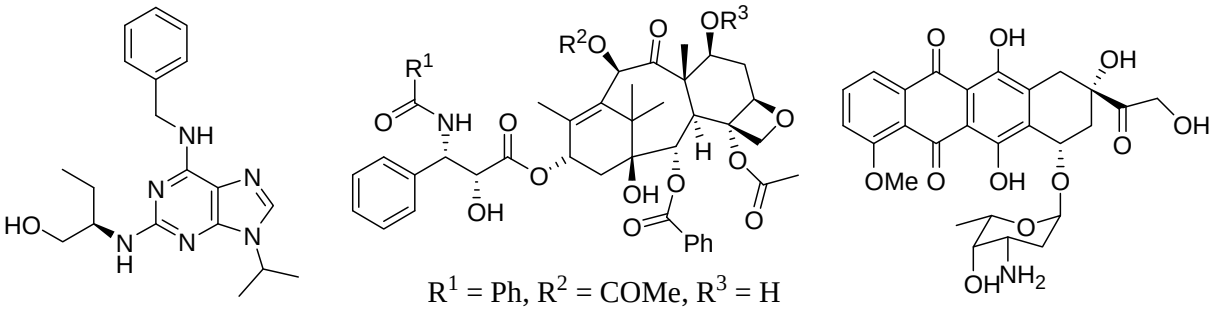
Après l'ensemencement, l'étape suivante permet l'évaluation effective de l'activité anticancéreuse. Il s'agit de soumettre les cellules ensemencées dans les plaques à l'action des composés à testés. Cette étape comporte quatre grandes phases:

- Après 24 h de culture (à l'issue de l'ensemencement), les cellules sont mises en contact avec la drogue. *(les solutions mères à 10 mM dans du DMSO servent à préparer la concentration adéquate ou les gammes de concentrations-CI_{50} adéquates par dilution avec du milieu de culture. Et ces solutions sont introduites dans chaque puits selon le*

plan de plaque établie. Les plaques sont ensuite remises dans l'incubateur pendant 48 h)

- **Fixation des plaques**: cette étape consiste à arrêter la prolifération des cellules de même que l'action de la drogue. Pour ce faire, le milieu de culture est retiré des puits et les cellules sont détruites par l'action d'un fixateur, ici un mélange (60 µL) d'acide acétique (5 %)-eau (5 %)-éthanol (90 %). Après 30 minutes, le fixateur est retiré et les plaques ouvertes sont séchées à l'air libre à température ambiante pendant 30 minutes. Cette étape et les suivantes, contrairement aux étapes précédentes ne sont pas effectuées en milieu aseptisé.
- **Coloration**: après l'étape de la fixation, 60 µL de colorant, le *bis*benzimide H 33342 trihydrochloride ou Hoechst 33342 (dilué au 1/5 000ème dans du PBS), est ajouté dans chaque puits. L'étape de la coloration est faite à l'abri de la lumière. Après 30 minutes de charge, le colorant est retiré et il est introduit à la place 80 µL de PBS, puis la plaque est conservée au réfrigérateur.
- **Lecture des plaques**: les plaques sont ensuite lues à l'aide d'un compteur Thermo Scientific Cellomics (Array Scan VTI HCS Reader) (Annexe 6). Dans la pratique, cet appareil compte le nombre de noyaux par puits et permet ainsi d'établir le taux de prolifération observé pour les cellules soumises à l'effet de la drogue par comparaison avec celui d'un blanc sans drogue et enregistrant une prolifération maximale. Ces différents taux sont exprimés en pourcentage.

La doxorubicine, la roscovitine et le taxol (Figure 3), composés dont l'activité anticancéreuse sur les lignées testées est bien connue, sont utilisés comme références au sein de la plateforme ainsi que le diméthylsulfoxyde (DMSO).



***R*-Roscovitine**

R^1 = Ph, R^2 = COMe, R^3 = H

Taxol

Doxorubicine

Figure 3: Structures moléculaires des composés références pour les tests anticancéreux.

3. Principe du test de modulation des flux SOCE

Le test d'inhibition des flux SOCE (Store Operated Calcium Entry) a été réalisé au sein de la plateforme "Canalopathies et Signalisation Calcique" de l'unité Inserm U1078 au CHU de Brest. Ces tests sont effectués sur des cellules préalablement mises en culture en vue de l'ensemencement des plaques. La méthodologie générale pour cette étape, est la même que celle mise en œuvre dans le cadre des tests anticancéreux. La différence réside dans le fait

qu'ici, 40.000 cellules sont introduites dans chaque puits pendant l'ensemencement. Les cellules utilisées pour ce test, sont des cellules HEK-293 (cellules du rein) et la lignée JOK (lymphocytes B leucémiques).

Après 12 h (une nuit) dans l'incubateur, le milieu de culture (100 µL/puits) est retiré des plaques ensemencées et remplacé par 60 µL/puits de fluorochrome (Fura-2). Les plaques sont ensuite placées dans l'incubateur à 37°C pendant 1 h, afin de permettre que les cellules se chargent en colorant. Le niveau de charge est ensuite vérifié par lecture du basal avec la Flexstation (Annexe 6), puis le fluorochrome est retiré et la drogue, ainsi qu'un milieu sans calcium sont ajoutés. La plaque contenant les produits à tester est à nouveau insérée dans l'appareil d'injection et de lecture (la Flexstation). Cet appareil est préalablement réglé à 37°C, puis chargé en solution de Thapsigargine ou Tg (2 µM) et en solution de calcium (Ca), chaque solution a été placée dans une colonne individuelle. La solution de Tg est préparée avec 50 mL d'une solution d'EGTA (Ethylene Glycol Tetraacetic Acid**)** sans Ca, 49,5 mg de glucose et 4 µL de Tg et la solution de calcium est constituée d'une solution de glucose sans EGTA de concentration 1,8 mM en Ca.

La lecture de la plaque a démarré 3 minutes après que la drogue et les cellules aient été mises en contact et dure 1000 secondes. Après les 100 premières secondes, la Flexstation injecte dans chaque puits 25 µL de solution Tg, laquelle a pour rôle de bloquer les pompes SERCA en position fermée, obligeant ainsi le réticulum endoplasmique* (RE) à libérer ses réserves calciques dans le cytoplasme. On observe ainsi une augmentation du niveau de fluorescence (pic 1 = pic Tg, Figure 4) lié au fait que le fluorochrome (Fura-2) va se lier spécifiquement au calcium présent dans le cytoplasme. Ce premier pic décroît rapidement du fait de l'épuisement des réserves calciques du RE (Figure 4). Cette déplétion du taux de Ca du RE entraîne l'activation et donc l'ouverture des canaux SOCE afin de permettre l'entrée du Ca extracellulaire et reconstituer les réserves dans le RE. À partir de 750 secondes, 320 µL de la solution de Ca à 1,8 mM est injectée dans chaque puits. Ce calcium (Ca) est alors pompé par les canaux SOCE (ouverts) et introduit ainsi à l'intérieur de la cellule. Il est alors observé sur l'écran de l'ordinateur, une seconde courbe (pic 2 = pic SOCE, Figure 4). Selon leurs mécanismes d’action, les composés testés peuvent être actif soit sur le pic Tg soit sur le pic SOCE ou sur les 2, l'objectif visé pour ces tests étant la modulation (activation ou inhibition) des canaux SOCE (pic 2). Ainsi, lorsqu'un composé est actif (inhibition), il serait susceptible de bloquer l'ouverture des canaux SOCE, empêchant ceux-ci de pomper le Ca, d'où une pente beaucoup plus faible pour la seconde courbe que celle observée pour les témoins sans drogue (cellules non traitées). Le pourcentage de modulation (inhibition ou activation) est calculé par comparaison avec le résultat obtenu pour le témoin sans drogue qui enregistre une activité maximale pour les SOCE.

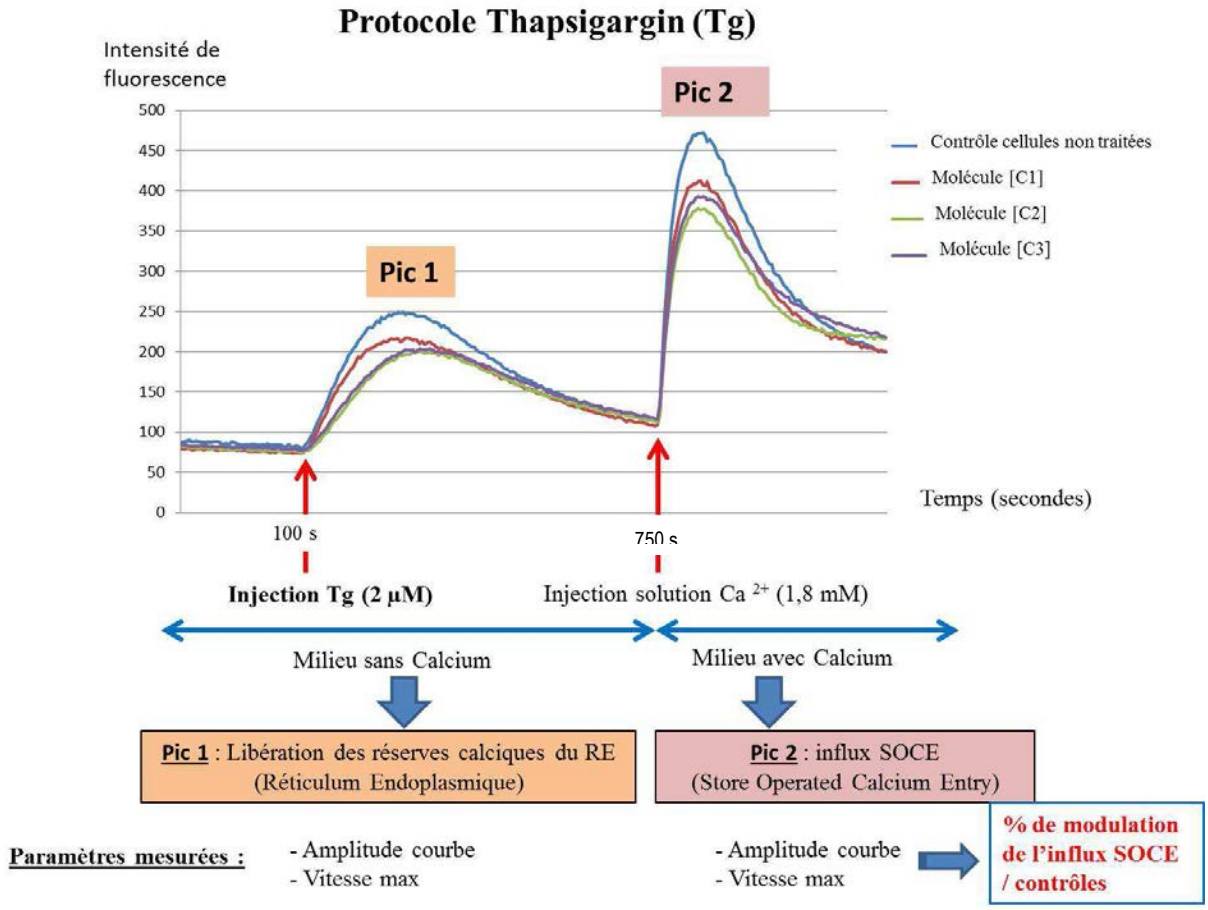
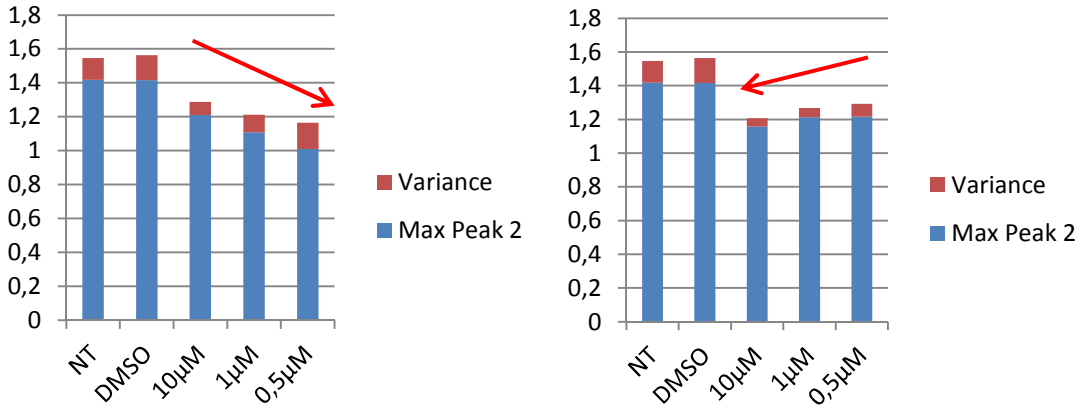


Figure 4: Principe du test sur les SOCE.
(*Source: Laboratoire Canalopathies et Signalisation Calcique, Brest*)

Les solutions de composés à tester sont préparées à partir d'une solution mère à 10 mM par dilution successives dans le DMSO. Contrairement aux tests sur les kinases et les cellules cancéreuses, un premier screening en dose unique n'est pas réalisé. En effet, les différents composés sont directement testés à diverses concentrations dans un premier screening, afin d'évaluer le comportement global des canaux SOCE en présence de la drogue concernée (Figure 5). Pour que la CI_{50} soit calculée, il faudrait que le composé ait un pourcentage d'inhibition des canaux SOCE supérieur à 50 %. Tous les tests ont été réalisés en triplicat.



Graphes d'amplitude du pic SOC: sur le graphe de gauche, nous constatons que l'inhibition augmente lorsque la concentration baisse, tandis que sur le graphe de droite, elle croît simultanément avec la concentration signe que le composé concerné n'est actif qu'à de fortes concentrations. Le composé de gauche dans cet exemple, apparaît plus prometteur que celui de droite, car susceptible de montrer une bonne inhibition à de faibles concentrations, et fera donc l'objet d'un second test à des concentrations encore plus faibles. NT = non testé

Figure 5: Exemples de lecture pour les résultats du premier screening

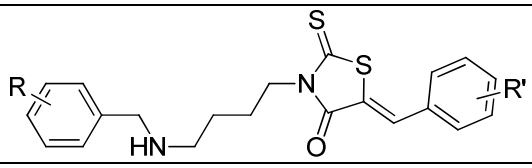
Les composés de références utilisés au sein de la plateforme "Canalopathies et Signalisation Calcique" pour ce test sont le SKF-96365, le GSK-7975A et la Synta 66, des modulateurs non sélectifs des canaux SOCE. L'analyse des données issues de la lecture des plaques par la Flexstation, notamment le calcul des pourcentages de modulation et le cas échéant des CI_{50}, a été réalisée à l'aide du logiciel GraphPad Prism.

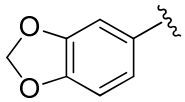
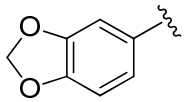
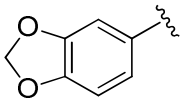
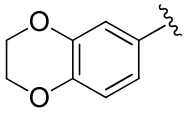
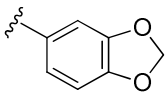
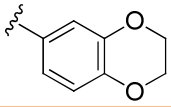
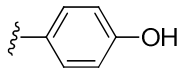
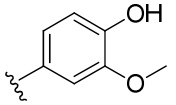
II. RÉSULTATS DES TESTS ET DISCUSSION

1. Dérivés 5-arylidène rhodanines 9(a-n)

Les dérivés 5-arylidène rhodanines **9(a-n)** ont été testés sur les protéines kinases et les lignées de cellules tumorales. Les résultats obtenus pour les tests d'inhibition des protéines kinases sont consignés dans le tableau 1.

Tableau 1: 5-arylidène rhodanines présentant une activité inhibitrice des kinases testées.

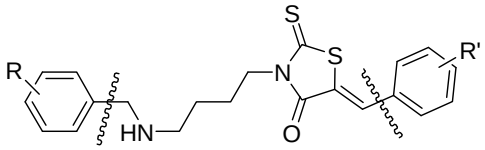


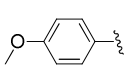
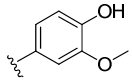
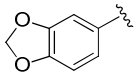
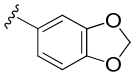
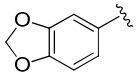
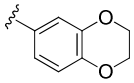
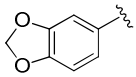
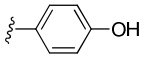
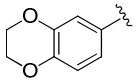
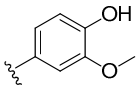
	9h	**9i**	**9j**	**9n**
R				
R'				
CI_{50} CDK5/p25 (µM)	1,1	1,3	10	10
CI_{50} GSK3 α /β (µM)	> 10	> 10	> 10	> 10
CI_{50} *Pf*GSK3 (µM)	> 10	> 10	> 10	> 10
CI_{50} CK1 δ /ε (µM)	6,6	5,1	1,4	2
CI_{50} *Lm*CK1 (µM)	≥ 10	≥ 10	> 10	≥ 10
CI_{50} *Ld*Tlk 1 (µM)	> 10	> 10	> 10	> 10
CI_{50} Haspin (µM)	> 10	> 10	> 10	> 10

Nous constatons une inhibition de l'activité kinase de manière spécifique vis-à-vis des kinases CDK5/p25 et CK1 δ /ε, deux kinases impliquées entre autres dans la maladie d'Alzheimer et de Parkinson. Cependant, les composés **9h** et **9i** montrent une meilleure affinité pour CDK5/p25, ce qui se traduit par une meilleure activité (1,1/1,3 µM) comparativement à celle enregistrée pour la protéine kinase CK1 (5,1/6,6 µM). Les composés **9j** et **9n** qui renferment un groupement phénol dans le fragment droit, sont quant à eux plus actifs vis-à-vis de CK1 δ /ε.

Les résultats des tests réalisés sur les lignées cellulaires cancéreuses (Tableau 2), montrent que les composés **9(h-j) et 9n** ayant montré une activité inhibitrice vis-à-vis des kinases, sont également les seuls avec le composé **9d** a montré une activité anticancéreuse. Ces composés possèdent une réactivité similaire modeste avec des CI_{50} comprises entre 8 et 23 µM.

Tableau 2: Résultat du test des rhodanines sur les lignées cancéreuses.



Composé			CI_{50} Huh 7 (µM)	CI_{50} Caco 2 (µM)	CI_{50} MDA (µM)	CI_{50} HCT 116 (µM)	CI_{50} PC 3 (µM)	CI_{50} NCl (µM)	CI_{50} HaCat (µM)	CI_{50} Fibro. (µM)
9d			10	15	11	10	17	10	10	23
9h			10	14	10	13	13	> 25	10	23
9i			9	13	9	14	14	11	8	9
9j			11	27	19	22	19	19	13	> 25
9n			15	16	15	21	19	17	15	> 25
DMSO			> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25
Roscovitine			15	15	12	9	13	43	11	> 25
Doxorubicine			0,03	0,03	0,01	0,03	0,03	0,01	0,02	> 25
Taxol			0,003	0,04	0,04	<0,001	<0,001	0,05	0,001	> 25

Les 5-arylidène rhodanines **9(a-n)** se sont avérées très peu solubles dans la totalité des solvants classiquement utilisés au sein du laboratoire (DMF, DMSO, $CHCl_3$, etc.). Afin d'obtenir une solubilisation adéquate pour les différentes analyses RMN, nous avons eu recours à un mélange $CDCl_3$-TFA. Cette faible solubilité pourrait être à l'origine d'une baisse de réactivité.

2. 1ère série des analogues du SKF-96365

Cette première série d'analogues du SKF-96365 a été testée sur l'ensemble des 14 protéines kinases ciblées, 8 lignées cellulaires tumorales et sur les canaux SOCE des cellules HEK-293 du rein et les cellules JOK (lymphocytes B leucémiques). Tous ces composés sont inactifs vis-à-vis des protéines kinases testées. Concernant l'activité antiprolifératives, seul le composé **16d** (Figure 6) à montré une activité significative avec une CI_{50} de 4 µM concernant

le test sur Huh 7, des cellules cancéreuses du foie. Ce composé est celui dont la structure est la plus proche du SKF-96365 comparativement aux autres.

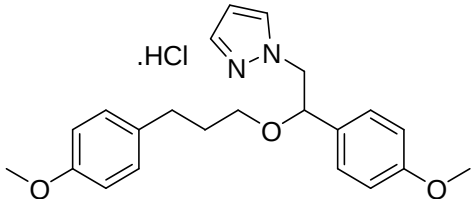
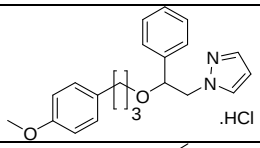
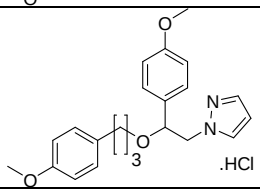


Figure 6: Structure moléculaire du composé **16d**.

Concernant les tests sur les canaux SOCE, nous présentons les différents résultats sous forme de pourcentage de modulation, les valeurs négatives indiquant une inhibition du flux calcique (I_{CRAC}) et les valeurs positives, une activation (Tableau 3).

Pour cette série, nous observons une activité modeste pour 2 des 5 analogues du SKF-96365 testés avec des inhibitions de 16-29 % pour une concentration de 10 µM. Cette activité est bien inférieure à celles de GSK-7975A et de Synta 66 pour la lignée HEK. À cette même concentration le SKF-96365 inhibe aussi bien le pic Tg que le pic SOC et ce dans les mêmes proportions (15-16 %) et apparaît donc moins efficace sur les cellules HEK. Les composés **16b** et **16d** concernés possèdent 3 carbones au niveau de la chaîne alkyle latérale, les analogues avec des chaînes à 1 et 2 carbones sont inactifs. Concernant les cellules JOK par contre, le SKF-96365 montre une meilleure activité aux faibles concentrations avec un taux d'inhibition de 20 % à 0,5 µM, tandis que les composés **16b** et **16d** ne commence à montrer d'activité significative qu'à partir de 10 µM (27-29 %).

Tableau 3: Effet des analogues pyrazoles **16** sur les influx SOCE.

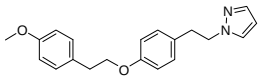
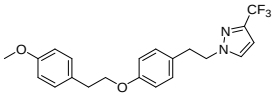
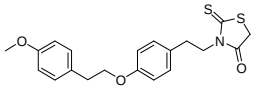
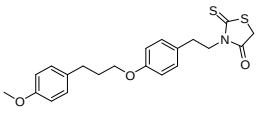
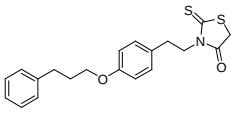
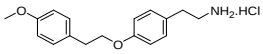
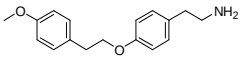
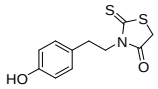
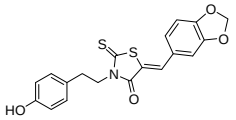
			Cellules HEK		**Cellules JOK**	
Composés		Concentration (µM)	Pic Tg	Pic SOC	Pic Tg	Pic SOC
16b		10	-3,55	-16,85	2,8	-27,4
		1	-3,91	-3,24	-7,8	-13,5
		0,5	-6,92	-1,91	0	0
16d		10	-4,72	-18,51	7,8	-29,2
		1	0,42	2,86	-3,1	3,8
		0,5	5,98	4,85	0	0
SKF-96365		10	-16,77	-15,38	7,6	-4,8
		1	-11,90	-12,01	-8,1	-12,5
		0,5	-8,58	-8,60	-9,9	-20,9
Synta 66		10	-0,01	-42,11		
		1	1,21	-14,69		
		0,5	1,19	-5,36		
GSK-7975A		10	-0,33	-24,27		
		1	1,51	-17,40		
		0,5	-2,48	-6,49		

3. 2ème série des analogues du SKF-96365

3.1. Tests anticancéreux

Comme pour les composés de la première série des analogues du SKF-96365, ceux-ci sont également tous inactifs sur les protéines kinases testées. Par contre quelques "hits" ont été observés dans le cadre des tests antiprolifératifs pour le cancer aussi bien pour les molécules finales que pour certains intermédiaires réactionnels (Tableau 4).

Tableau 4: Résultats des tests anticancéreux pour la seconde série des analogues du SKF-96365.

	Composé	CI_{50} Huh 7 (µM)	CI_{50} Caco 2 (µM)	CI_{50} MDA (µM)	CI_{50} HCT 116 (µM)	CI_{50} PC 3 (µM)	CI_{50} NCl (µM)	CI_{50} HaCat (µM)	CI_{50} Fibro. (µM)	CI_{50} MCF 7 (µM)
30j		33	17	> 25	23	> 25	> 25	> 25	NT	> 25
30b		3	19	30	> 25	> 25	> 25	NT	> 25	32
38b		> 25	> 25	20	10	> 25	> 25	NT	> 25	20
38c		28	17	> 25	19	22	22	> 25	NT	34
38d		> 25	> 25	> 25	> 25	6	> 25	NT	> 25	3
36b		> 25	38	> 25	8	> 25	> 25	> 25	NT	> 25
37b		> 25	23	> 25	6	> 25	> 25	> 25	NT	36
33		7	3	2	2	4	4	5	5	NT
39		19	> 25	18	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	NT
	DMSO	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25	> 25
	Roscovitine	17	15	15	9	10	25	15	25	11
	Doxorubicine	0,04	0,05	0,01	0,03	0,03	0,01	0,03	25	0,02
	Taxol	0,02	0,07	0,15	<0,001	<0,001	0,05	0,001	25	0,02

NT: Non Testé

Nous constatons que les deux analogues renfermant une plateforme pyrazole et montrant une activité sont ceux possédant 2 carbones au niveau du fragment alkyle de gauche, ceux à 1 et 3 carbones étant complètement inactifs. La différence entre ces deux composés réside dans le fait que l'un possède un groupement trifluorométhyle (**30b**) et l'autre non (**30j**). La présence de ce substituant trifluorométhyle CF_3 améliorerait de façon très significative l'activité anticancéreuse du composé **30b** sur la lignée Huh 7, lignée de cellules cancéreuses

du foie. En effet, l'activité antitumorale de **30b** est de 3 µM (CI_{50}), soit dix fois meilleure que celle du composé **30j** qui est de 33 µM (CI_{50}).

Pour les analogues 5-arylidène rhodanines **38c** et **38d**, nous faisons un constat similaire. En effet, le composé **38d** qui ne possède pas de groupe méthoxy en position *para* du phényle latéral, enregistre une activité dix fois meilleure (CI_{50} = 3 µM) à celle du composé **38c** (CI_{50} = 34 µM) vis-à-vis de la lignée MCF 7 pour le cancer du sein. La présence du méthoxy en position *para* du phényle chez **38c** entraînerait donc une perte d'activité.

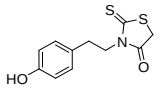
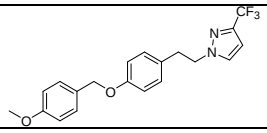
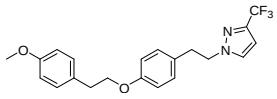
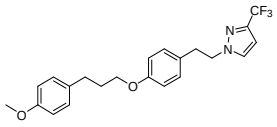
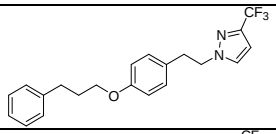
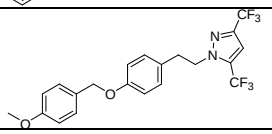
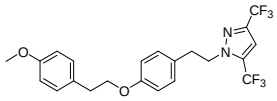
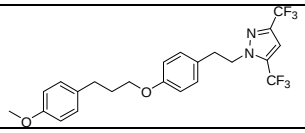
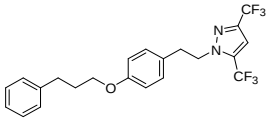
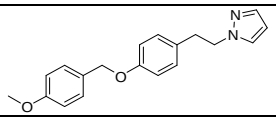
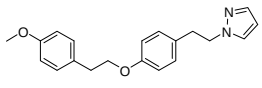
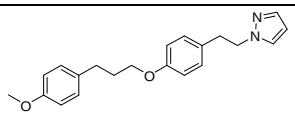
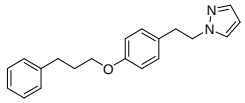
Le composé **33** bien que montrant les activités les plus élevées avec les CI_{50} les plus faibles (2-7 µM), est cependant très peu sélectif et inhibe dans les mêmes proportions la prolifération des cellules saines (fibroblastes) signe d'une nocivité pour l'organisme.

Deux des intermédiaires réactionnels testés ont également montré une activité antiproliférative particulière. Ce sont le chlorhydrate **36b** et l'amine libre correspondante **37b**. Ces deux composés ne sont actifs que vis-à-vis d'une seule des lignées tumorales testées, la lignée HCT 116 pour le cancer du côlon avec des CI_{50} de 8 µM (**36b**) et 6 µM (**37b**). Cette réactivité est intéressante car il est rare qu'un composé antiprolifératif ne soit sélectif que d'une seule lignée de cellules cancéreuses. Ces deux composés ont été les précurseurs de la rhodanine **38b** qui affiche également une certaine sélectivité pour la lignée HCT 116 vis-à-vis de laquelle elle est plus active avec une CI_{50} de 10 µM. La présence du groupement amine serait déterminante dans la réactivité du composé **37b**, car il est observé une perte graduelle d'activité, d'abord avec le chlorhydrate **36b** dans lequel l'amine est complexée avec l'acide, puis avec le composé **38b** dans lequel l'amine est totalement engagée dans le cycle rhodanine entraînant une réduction de 50 % de l'activité. Les composés **36b**, **37b**, et **38b** renferment tous également une chaîne latérale à 2 carbones.

3.2. Tests de modulation des influx SOCE

Les résultats des tests réalisés sur les lignées HEK-293 et JOK à différentes concentrations sont consignés dans le tableau 5. Ils concernent les composés finaux et certains intermédiaires réactionnels. L'une des premières conditions pour qu'un composé soit considéré comme actif est qu'il doit moduler l'influx SOCE (pic SOC), sans influencer le pic Tg.

Tableau 5: Résultats des tests de modulations des influx SOCE.

			Cellules HEK		Cellules JOK	
	Composé	Concentration (µM)	Pic Tg	Pic SOC	Pic Tg	Pic SOC
33		10 1 0,5	1,71 2,16 7,91	-6,82 -9,18 -15,25	1,0 -6,6	2,2 -6,4
30a		10 1 0,5	9,35 4,99 3,73	3,03 -2,04 -5,17		
30b		10 1 0,5	-9,30 4,62 5,41	-23,62 0,42 2,04	9,8 -0,6	-32,7 -6,6
30c		10 1 0,5	-1,00 2,09 -1,96	-18,25 -14,31 -14,03	-9,6 -0,3	-9,2 5,4
30d		10 1 0,5	-1,70 -3,94 -2,58	-26,25 -13,51 -11,46	-6,3 3,8	-19,1 -7,7
30e		10 1 0,5	4,83 -2,21 -2,07	0,40 0,17 -1,04		
30f		10 1 0,5	8,42 5,90 -3,40	-36,45 -19,63 -21,26	-3,5 4,0	-16,9 -4,3
30g		10 1 0,5	-3,50 -2,10 -6,57	-11,80 0,08 -4,63		
30h		50 20 10 1 0,5	4,41 0,80 6,58 6,28 4,99	-43,73 -38,03 -32,15 -28,72 -24,62	0,1 -6,3	-2,9 -11,6
30i		10 1 0,5	11,07 10,27 4,47	16,80 0,49 1,97		
30j		10 1 0,5	17,78 16,66 3,54	1,00 -10,98 -22,16	-9,9 -2,3	-35,4 -10,2
30k		10 1 0,5	3,28 3,17 4,43	0,50 -1,02 1,33		
30l		10 1 0,5	-3,73 -13,25 -17,98	-14,45 -21,70 -28,71	-7,8 -3,3	-28,8 -1,8

Suite du Tableau 5

		Cellules HEK		Cellules JOK	
Composé	Concentration (µM)	Pic Tg	Pic SOC	Pic Tg	Pic SOC
SKF-96365	10	-16,77	-15,38	7,6	-4,8
	1	-11,90	-12,01	-8,1	-12,5
	0,5	-8,58	-8,60	-9,9	-20,9
Synta 66	10	-0,01	-42,11		
	1	1,21	-14,69		
	0,5	1,19	-5,36		
GSK-7975A	50	-31,69	-52,19		
	20	-2,37	-36,54		
	10	-0,33	-24,27		
	1	1,51	-17,40		
	0,5	-2,48	-6,49		

Les analogues rhodanines de la seconde série pour le SKF-96365 sont inactifs sur les influx SOCE. Il est observé une activité modeste pour l'intermédiaire rhodanine **33** avec une inhibition de 15 % à 0,5 µM.

Les analogues renfermant le noyau pyrazole montrent une meilleure réactivité sur la lignée HEK:

- Les composés contenant la plateforme pyrazole non substitué enregistre l'activité la plus faible avec 14 et 22 % d'inhibition du pic SOC respectivement pour **30l** à 10 µM et **30k** à 0,5 µM.
- Les analogues avec un seul groupement trifluorométhyle CF_3 au niveau du pyrazole sont plus réactifs que les précédents (sans trifluorométhyle) avec des taux d'inhibition compris entre 18 et 26 % pour les composés **30(b-d)** à 10 µM. L'activité de **30d** étant à cette concentration meilleure que celle de GSK-7975A.
- Les composés montrant la meilleure activité pour cette seconde série d'analogues du SKF-96365 sont ceux comportant deux groupements trifluorométhyles. Les composés **30f** et **30h** sont actifs dès la plus faible concentration de 0,5 µM, avec des pourcentages d'inhibition de 21-24 %, bien supérieurs à ceux de la GSK-7975A et de la Synta 66 à cette même concentration. Il est observé pour ces deux composés, à une concentration de 10 µM, des inhibitions de 32 % (**30h**) et de 36 % (**30f**) traduisant une activité supérieure à celle de GSK-7975A qui à cette même concentration enregistre 24 % d'inhibition. Le composé **30h** particulièrement n'influence pas le pic SOC même aux plus fortes concentrations (4 % d'inhibition à 50 µM).

Tous les composés ayant montré une inhibition significative du pic SOC pour la lignée HEK, sont plus actifs que le SKF-96365 qui non seulement inhibe modestement les influx SOC mais également de façon simultané le pic Tg et ce dans les mêmes proportions. Les deux composés les plus actifs **30f** et **30h** enregistrent une meilleure activité que la GSK-7975A. Ils sont également plus actifs aux faibles concentrations que la Synta 66 (0,5 µM).

Les analogues ayant montré une inhibition du pic SOCE sur la lignée HEK (**30(b-d)**, **30f**, **30h**) sont inactifs sur la lignée JOK. En effet, seuls les composés **30b**, **30l** et **30j** montrent pour cette lignée une activité significative avec des taux d'inhibition compris entre 28 et 35 % à 10 µM. Cette réactivité apparaît cependant, plus faible que celle du SKF-96365 qui montre une inhibition du pic SOC de 20 % à 0,5 µM, donc dès les faibles concentrations.

Conclusion

Les composés issus de ce travail ont été testés sur différentes cibles biologiques afin d'évaluer leur activité pharmacologique. La première famille de 5-arylidène rhodanines a été testée sur 7 protéines kinases et sur 7 lignées cellulaires tumorales. Quatre composés (**9h**, **9i**, **9j**, **9n**) parmi ceux qui ont été évalués ont montré une activité inhibitrice vis-à-vis de deux protéines kinases en particulier que sont la CK1δ/ε et CDK5/p25, impliquées notamment dans la maladie d'Alzheimer et de Parkinson avec des CI_{50} comprises entre 1,1 et 10 µM. L'activité anticancéreuse manifestée est également modeste avec des CI_{50} variant de 8 à 23 µM pour les composés **9d**, **9(h-j)** et **9n**.

La seconde évaluation biologique qui concerne les deux séries d'analogues du SKF-96365 a été réalisée sur 11 protéines kinases, 8 lignées de cellules cancéreuses et sur les canaux SOCE des cellules HEK-293 et JOK. Les composés appartenant à la seconde série d'analogues inspirés de la structure "erronée" du SKF-96365 montrent les meilleures activités. Ainsi **30b** et **38d** enregistrent des CI_{50} de 3 µM vis-à-vis respectivement des lignées cellulaires tumorales Huh 7 (cancer du foie) et MCF 7 (cancer du sein), tandis que les intermédiaires **36b** et **37b** sont sélectifs d'une seule des 8 lignées testées (CI_{50} (HCT 116) = 8 et 6 µM).

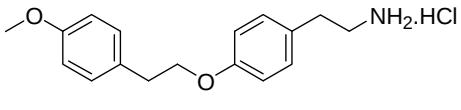
Concernant les canaux SOCE, ces analogues, plus actifs sur la lignée HEK-293 que sur la lignée JOK, possèdent dans l'ensemble une activité meilleure à celle de la GSK-7975A et du SKF-96365 qui a servi de modèle structural pour cette étude. Les deux composés ayant retenu notre attention sont **30f** et **30h**, car ils enregistrent la meilleure réactivité vis-à-vis des canaux SOCE de la lignée HEK-293 et montrent en plus une activité plus élevée (> 20 % d'inhibition à 0,5 µM) que celle de Synta 66 (5 % d'inhibition à 0,5 µM) aux faibles concentrations. Ces deux composés renferment le cycle pyrazole substitué avec deux groupements trifluorométhyles, lequel apparaît comme une plateforme plus adéquate que les deux autres sans substituant ou avec un seul groupement trifluorométhyle. Tous les composés de cette série sont totalement inactifs vis-à-vis de l'ensemble des 11 protéines kinases testées, ce qui est intéressant car démontrant une sélectivité biologique pour les canaux SOCE.

CONCLUSION GÉNÉRALE

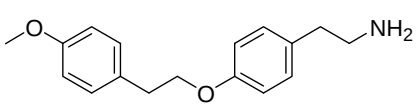
Ces travaux de thèse ont eu pour objectif le développement synthétique de nouvelles familles de composés hétérocycliques à visée thérapeutique. Pour ce faire, les cycles rhodanine et pyrazole, deux hétérocycles à 5 chaînons possédant de très bonnes capacités biologiques, ont retenu notre attention; le cycle rhodanine en particulier étant au centre de plusieurs thématiques de recherche au sein de notre laboratoire depuis plus d'une dizaine d'années. Ainsi, quatre nouvelles librairies de composés ont été synthétisées *via* différents processus synthétiques que nous avons élaborés et optimisés.

Dans la pratique, la première partie de cette étude a été consacrée à la synthèse d'une nouvelle famille de 5-arylidène rhodanines *N*-substituées renfermant un bras espaceur diaminé. Nous avons eu recours à la technologie micro-onde, notamment pour la construction du motif rhodanine à partir du réactif commercial *bis*(carboxyméthyl)trithiocarbonate et pour la fonctionnalisation de la rhodanine obtenue au niveau de sa position C-5 par condensation avec divers aldéhydes. Les activités pharmacologiques visées pour ces composés étaient une inhibition des protéines kinases et une activité antiproliférative pour les pathologies telles que le cancer, la malaria ou encore la leishmaniose. Les analyses réalisées sur 7 protéines kinases ont montré que 4 des 14 composés rhodanines testés inhibent de manière spécifique les protéines kinases CK1δ/ε et CDK5/p25 avec des CI_{50} variant de 1,1 à 10 µM. De façon générale, ces mêmes composés ont manifesté également une activité anticancéreuse, mais celle-ci reste modeste avec des CI_{50} comprises entre 8 et 23 µM.

Le second volet des travaux s'est intéressé au SKF-96365 comme modèle structural en vue de développer de nouveaux composés potentiellement actifs comme modulateurs des canaux SOCE (Store Operated Calcium Entry) pour le cancer. Divers études de pharmacomodulations ont permis d'aboutir à trois familles de composés analogues du SKF-96365 qui renferment des plateformes pyrazole et rhodanine. Ces composés ont été testés sur 11 protéines kinases, 8 lignées cellulaires tumorales et les canaux SOCE des lignées HEK-293 et JOK. Nous notons certains "hits" intéressants pour le test anticancéreux, notamment deux intermédiaires (**36b** et **37b**) qui ont montré une sélectivité assez rare pour une seule des 8 lignées cellulaires tumorales sélectionnées (Figure 1). Les analogues rhodanines n'ont montré aucune activité significative vis-à-vis des canaux SOCE. Les analogues pyrazoles qui ont inhibé les canaux SOCE de la lignée HEK, montrent une activité supérieure à celles de la GSK-7975A et du SKF-96365. Parmi ceux-ci deux composés (**30f** et **30h**) enregistrent non seulement les meilleurs taux d'inhibition, mais sont également plus actifs que la Synta 66 aux faibles concentrations (Figure 2). Il convient également de souligner que tous ces analogues sont totalement inactifs vis-à-vis des protéines kinases testées, ce qui indique une sélectivité pour les canaux SOCE.



36b
CI_{50} (HCT 116) = 8 µM



37b
CI_{50} (HCT 116) = 6 µM

Figure 1: Structures moléculaires des intermédiaires **36b** et **37b**.

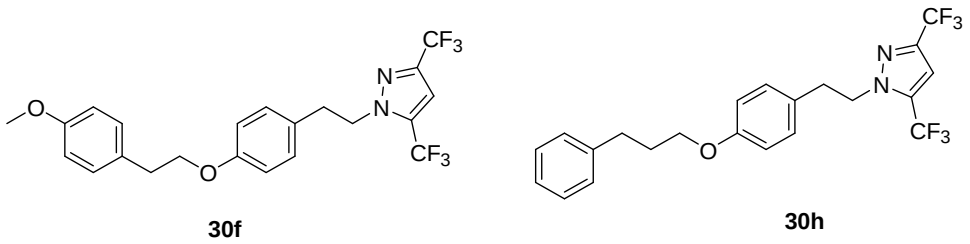


Figure 2: Structures moléculaires des composés **30f** et **30h**.

L'analyse Relation Structure-Activité (RSA) réalisée sur les analogues du SKF-96365 montre que des deux plateformes testées (rhodanine et pyrazole), le cycle pyrazole serait plus indiqué pour le développement de potentiels modulateurs des SOCE. Par ailleurs, nous notons que le motif pyrazole comportant deux substituants trifluorométhyles apparaît le plus adéquat au regard des meilleurs résultats obtenus.

Ce travail réalisé sur les analogues du SKF-96365 pour une modulation potentielle des influx SOCE, constitue une étude préliminaire. En effet, les résultats obtenus sont les premiers pour ce projet réalisé dans le cadre du Cancéropôle Grand Ouest et du Réseau Canaux ioniques "Ion Channel Network CGO" dans le but d'aiguillonner et d'affiner les recherches qui seront réalisées ultérieurement en vue d'approfondir ce travail. Ainsi, sur la base des analyses Relation Structure-Activité (RSA) réalisées, il serait intéressant en perspectives que les futures explorations s'appuient non seulement sur l'apport du cycle pyrazole et donc des atomes d'azote qu'il renferme, mais également sur l'impact de ses substituants trifluorométhyles. Il serait par exemple intéressant d'introduire comme nouvelle plateforme azole, le 1,2,4-triazole, qui permettrait d'analyser le réel impact des atomes d'azote présents dans ces hétérocycles sur les influx SOCE et également d'explorer d'autres positions (*ortho*, *méta*) de la chaîne alkyle latérale en position *para* du phényle. Les propositions suivantes s'inscrivent dans cette optique d'approfondissement:

1. En se basant sur les modes opératoires que nous avons établis et optimisés, il pourrait être envisagé la construction d'analogues avec une plateforme 1,2,4-triazole. Ces derniers seraient de façon général similaires à ceux de notre deuxième série (composés **30(a-l)**) au niveau structural, afin de conserver les mêmes repères de comparaison et pouvoir établir ainsi l'apport de cette nouvelle plateforme (1,2,4-triazole) sur la modulation des influx SOCE (Schéma 1).

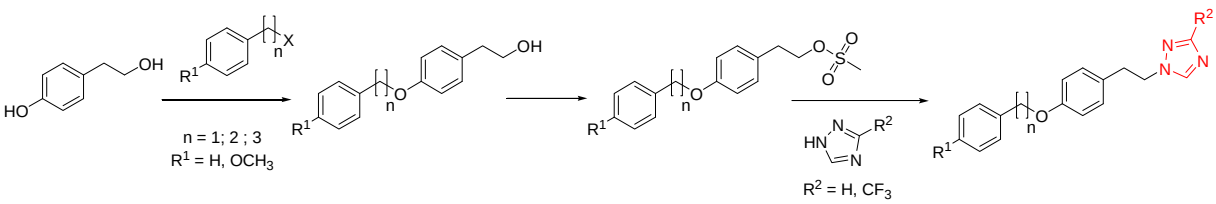


Schéma 1: Voie d'accès à des analogues du SKF-96365 avec une plateforme 1,2,4-triazole.

2. Nous proposons une approche similaire pour les composés **16(a-e)** de la première série des analogues du SKF-96365 (Schéma 2) avec les plateformes 1,2,4-triazole (substituée et non substituée).

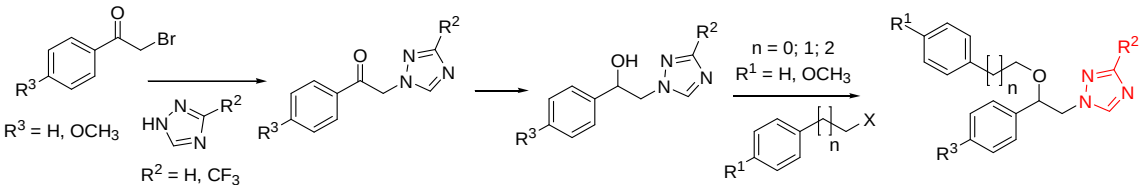


Schéma 2: Voie d'accès à des analogues du SKF-96365 avec une plateforme 1,2,4-triazole.

3. Une prospection de l'impact de la position de la chaîne alkyle greffée au phénol. Vu que nos composés ont concerné la position *para*, les positions *ortho* et *méta* pourraient être investiguées (Figure 2 et 3), avec les plateformes 1,2,4-triazole mais également avec les plateformes pyrazole afin de conserver des éléments de comparaison probants.

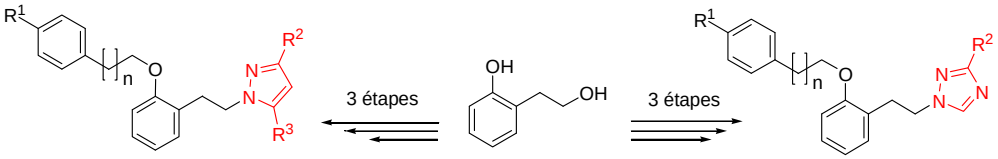


Figure 3: Analogues "*ortho*" pyrazoles et triazoles du SKF-96365.

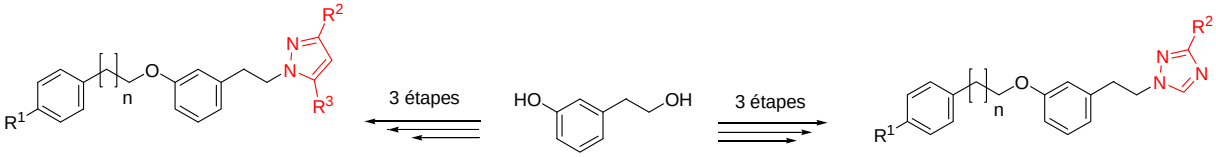


Figure 4: Analogues "*méta*" pyrazoles et triazoles du SKF-96365.

4. Il convient de souligner que nous avions également au cours de nos travaux, tenté sans succès d'accéder à des analogues du SKF-96365 renfermant une fonction aza en lieu et place de la fonction éther (Figure 4). Nous proposons donc, que la synthèse de ces analogues 'aza'' soit à nouveau investiguée sur la base de nouvelles stratégies de synthèse.

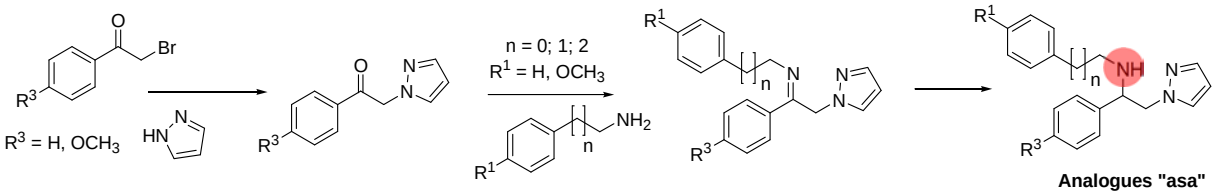


Schéma 3: Voie de synthèse envisagée et testée pour l'accès à des analogues "aza" du SKF-96365

5. Enfin, nous pensons qu'il pourrait être également intéressant de prospecter autour d'une plateforme comme le benzimidazole (la substitution serait portée par la position *N*-1), connue pour son haut potentiel pharmacologique (Figure 5).

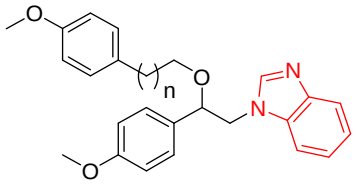
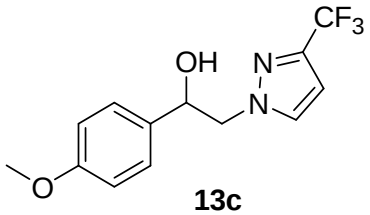


Figure 5: Structure d'analogues du SKF-96365 comportant une plateforme benzimidazole.

ANNEXES

ANNEXE 1: Résultat de l'analyse RX de l'alcool 13c (Crystal structure report)



13c

X-ray crystallographic study

(C_{13} H_{13} F_3 N_2 O_2); M = 286.25. APEXII, Bruker-AXS diffractometer, Mo-Kα radiation (λ = 0.71073 Å), T = 150(2) K; monoclinic P $2_1/c$ (I.T.#14), a = 14.0443(10), b = 10.4195(7), c = 8.9690(6) Å, β = 96.617(4) °, V = 1303.73(15) $Å^3$.Z = 4, d = 1.458 $g.cm^{-3}$, μ = 0.128 mm^{-1}. The structure was solved by direct methods using the *SIR97* program [1], and then refined with full-matrix least-square methods based on F^2 (*SHELXL-97*) [2] with the aid of the *WINGX* [3] program. All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic atomic displacement parameters. Except oxygen linked hydrogen atoms that was introduced in the structural model through Fourier difference maps analysis, H atoms were finally included in their calculated positions. A final refinement on F^2 with 2971 unique intensities and 192 parameters converged at $\omega R(F^2)$ = 0.1356 ($R(F)$ = 0.0553) for 2086 observed reflections with $I > 2\sigma(I)$.

[1] A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, J. Appl. Cryst. (1999) 32, 115-119.
[2] Sheldrick G.M., Acta Cryst. A64 (2008), 112-122.
[3] L. J. Farrugia, J. Appl. Cryst., 2012, 45, 849-854.

Structural data

Empirical formula	C_{13} H_{13} F_3 N_2 O_2
Formula weight	286.25
Temperature	150(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	monoclinic, P $2_1/c$
Unit cell dimensions	a = 14.0443(10) Å, α = 90 °
	b = 10.4195(7) Å, β = 96.617(4) °
	c = 8.9690(6) Å, γ = 90 °
Volume	1303.73(15) $Å^3$
Z, Calculated density	4, 1.458 ($g.cm^{-3}$)

Absorption coefficient	0.128 mm^{-1}
F(000)	592
Crystal size	0.58 x 0.39 x 0.13 mm
Crystal color	colourless
Theta range for data collection	2.92 to 27.45 °
h_min, h_max	-16, 18
k_min, k_max	-13, 10
l_min, l_max	-11, 11
Reflections collected / unique	7996 / 2971 [R(int)[a] = 0.0255]
Reflections [I>2σ]	2086
Completeness to theta_max	0.996
Absorption correction type	multi-scan
Max. and min. transmission	0.984 , 0.841
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
Data / restraints / parameters	2971 / 0 / 192
[b]Goodness-of-fit	1.101
Final *R* indices [I>2σ]	$R1^c$ = 0.0553, $wR2^d$ = 0.1356
R indices (all data)	$R1^c$ = 0.0806, $wR2^d$ = 0.1518
Largest diff. peak and hole	0.486 and -0.368 $e^-.Å^{-3}$

[a] $R_{int} = \sum |F_o^2 - < F_o^2>| / \sum[F_o^2]$
[b] $S = \{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)\}^{1/2}$
[c] $R1 = \sum | |F_o| - |F_c| | / \sum |F_o|$
[d] $wR2 = \{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$
$w = 1 / [\sigma(F_o^2) + aP^2 + bP]$ where $P = [2F_c^2 + MAX(F_o^2, 0)] /3$

Atomic coordinates, site occupancy (%) and equivalent isotropic displacement parameters (Å^2). U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

Atom	X	Y	Z	OCC.	U(eq)
C1	0.06153(16)	0.7272(3)	0.2666(3)	1	0.0413(6)
F2	-0.02772(9)	0.71298(18)	0.30093(18)	1	0.0642(5)
F3	0.05603(12)	0.7098(2)	0.11862(16)	1	0.0733(6)
F4	0.08442(12)	0.84975(16)	0.2917(2)	1	0.0713(5)
C5	0.12869(14)	0.6368(2)	0.3523(2)	1	0.0334(5)
C6	0.10846(15)	0.5160(2)	0.4060(2)	1	0.0390(5)
H6	0.0484	0.473	0.3963	1	0.047
C7	0.19387(16)	0.4729(2)	0.4757(3)	1	0.0413(5)
H7	0.205	0.3931	0.5258	1	0.05
N8	0.25985(12)	0.56494(19)	0.4601(2)	1	0.0362(4)
N9	0.22127(12)	0.66803(19)	0.38422(19)	1	0.0357(4)
C10	0.36014(15)	0.5668(3)	0.5241(3)	1	0.0418(6)
H10A	0.4001	0.5965	0.4469	1	0.05

H10B	0.3805	0.4785	0.5534	1	0.05
C11	0.37691(14)	0.6541(2)	0.6608(2)	1	0.0325(5)
H11	0.3574	0.7436	0.6308	1	0.039
O12	0.31973(11)	0.61017(16)	0.77073(17)	1	0.0389(4)
H12	0.2875(19)	0.679(3)	0.803(3)	1	0.05
C13A	0.48327(14)	0.6527(2)	0.7187(2)	0.832(4)	0.0324(5)
C14A	0.52125(15)	0.5628(3)	0.8222(3)	0.832(4)	0.0425(6)
H14A	0.4797	0.5009	0.8579	0.832(4)	0.051
C15A	0.61833(15)	0.5596(2)	0.8761(2)	0.832(4)	0.0416(6)
H15A	0.6423	0.4967	0.9473	0.832(4)	0.05
C16A	0.67918(14)	0.6492(2)	0.8246(2)	0.832(4)	0.0355(5)
C17A	0.6449(2)	0.7278(3)	0.7057(4)	0.832(4)	0.0400(7)
H17A	0.6879	0.7815	0.66	0.832(4)	0.048
C18A	0.54805(19)	0.7284(3)	0.6529(3)	0.832(4)	0.0365(7)
H18A	0.5257	0.7817	0.5702	0.832(4)	0.044
C13B	0.48327(14)	0.6527(2)	0.7187(2)	0.168(4)	0.0324(5)
C14B	0.52125(15)	0.5628(3)	0.8222(3)	0.168(4)	0.0425(6)
H14B	0.4797	0.5009	0.8579	0.168(4)	0.051
C15B	0.61833(15)	0.5596(2)	0.8761(2)	0.168(4)	0.0416(6)
H15B	0.6423	0.4967	0.9473	0.168(4)	0.05
C16B	0.67918(14)	0.6492(2)	0.8246(2)	0.168(4)	0.0355(5)
C17B	0.6327(10)	0.7766(15)	0.7773(19)	0.168(4)	0.0400(7)
H17B	0.6684	0.8542	0.7857	0.168(4)	0.048
C18B	0.5390(10)	0.7761(15)	0.7229(18)	0.168(4)	0.0365(7)
H18B	0.5083	0.8533	0.6875	0.168(4)	0.044
O19	0.77496(11)	0.65900(17)	0.8728(2)	1	0.0471(4)
C20	0.81697(16)	0.5628(3)	0.9723(3)	1	0.0471(6)
H20A	0.7893	0.5677	1.0676	1	0.071
H20B	0.8864	0.5766	0.9905	1	0.071
H20C	0.8041	0.4779	0.9273	1	0.071

Anisotropic displacement parameters ($Å^2$)

The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2$ [$h^2 a^{*2} U_{11}$ + ... + 2 h k a* b* U_{12}].

Atom	U11	U22	U33	U23	U13	U12
C1	0.0295(11)	0.0592(17)	0.0342(11)	0.0021(11)	-0.0006(9)	-0.0031(11)
F2	0.0258(7)	0.0967(14)	0.0698(11)	0.0204(9)	0.0042(7)	0.0093(8)
F3	0.0756(12)	0.1117(15)	0.0312(8)	0.0085(8)	0.0000(7)	0.0221(10)
F4	0.0621(10)	0.0534(11)	0.0899(13)	0.0129(9)	-0.0284(9)	0.0006(8)
C5	0.0239(10)	0.0499(14)	0.0270(10)	-0.0036(9)	0.0047(8)	-0.0012(9)
C6	0.0290(11)	0.0462(14)	0.0417(12)	-0.0085(10)	0.0031(9)	-0.0046(10)

C7	0.0390(13)	0.0365(13)	0.0479(13)	-0.0058(10)	0.0032(10)	0.0017(10)
N8	0.0258(9)	0.0449(12)	0.0372(10)	-0.0055(8)	0.0007(7)	0.0051(8)
N9	0.0229(9)	0.0527(12)	0.0315(9)	0.0004(8)	0.0034(7)	-0.0015(8)
C10	0.0234(10)	0.0610(16)	0.0402(12)	-0.0071(11)	0.0006(9)	0.0075(10)
C11	0.0274(10)	0.0381(12)	0.0324(10)	0.0049(9)	0.0057(8)	0.0026(9)
O12	0.0320(8)	0.0440(10)	0.0423(9)	0.0071(7)	0.0112(7)	0.0048(7)
C13A	0.0273(11)	0.0383(12)	0.0317(10)	0.0027(9)	0.0037(8)	-0.0013(9)
C14A	0.0289(11)	0.0591(16)	0.0394(12)	0.0163(11)	0.0035(9)	-0.0073(10)
C15A	0.0321(12)	0.0570(16)	0.0351(12)	0.0135(10)	0.0011(9)	-0.0009(10)
C16A	0.0240(10)	0.0428(13)	0.0395(11)	-0.0010(10)	0.0027(8)	-0.0024(9)
C17A	0.0335(14)	0.0284(16)	0.059(2)	0.0086(13)	0.0082(13)	-0.0051(11)
C18A	0.0354(13)	0.0268(15)	0.0469(18)	0.0077(12)	0.0030(12)	0.0006(11)
C13B	0.0273(11)	0.0383(12)	0.0317(10)	0.0027(9)	0.0037(8)	-0.0013(9)
C14B	0.0289(11)	0.0591(16)	0.0394(12)	0.0163(11)	0.0035(9)	-0.0073(10)
C15B	0.0321(12)	0.0570(16)	0.0351(12)	0.0135(10)	0.0011(9)	-0.0009(10)
C16B	0.0240(10)	0.0428(13)	0.0395(11)	-0.0010(10)	0.0027(8)	-0.0024(9)
C17B	0.0335(14)	0.0284(16)	0.059(2)	0.0086(13)	0.0082(13)	-0.0051(11)
C18B	0.0354(13)	0.0268(15)	0.0469(18)	0.0077(12)	0.0030(12)	0.0006(11)
O19	0.0242(8)	0.0536(11)	0.0618(11)	0.0068(9)	-0.0023(7)	-0.0058(7)
C20	0.0265(11)	0.0697(18)	0.0440(13)	-0.0032(12)	-0.0013(9)	0.0055(11)

Bond lengths [Å]

C1	- F4 = 1.330(3)	C13A	- C14A = 1.381(3)
C1	- F3 = 1.333(3)	C13A	- C18A = 1.387(3)
C1	- F2 = 1.333(2)	C14A	- C15A = 1.393(3)
C1	- C5 = 1.484(3)	C14A	- H14A = 0.95
C5	- N9 = 1.339(3)	C15A	- C16A = 1.381(3)
C5	- C6 = 1.388(3)	C15A	- H15A = 0.95
C6	- C7 = 1.363(3)	C16A	- O19 = 1.368(2)
C6	- H6 = 0.95	C16A	- C17A = 1.386(4)
C7	- N8 = 1.352(3)	C17A	- C18A = 1.387(4)
C7	- H7 = 0.95	C17A	- H17A = 0.95
N8	- N9 = 1.351(3)	C18A	- H18A = 0.95
N8	- C10 = 1.458(3)	C17B	- C18B = 1.35(2)
C10	- C11 = 1.523(3)	C17B	- H17B = 0.95
C10	- H10A = 0.99	C18B	- H18B = 0.95
C10	- H10B = 0.99	O19	- C20 = 1.424(3)
C11	- O12 = 1.418(2)	C20	- H20A = 0.98
C11	- C13A = 1.524(3)	C20	- H20B = 0.98
C11	- H11 = 1	C20	- H20C = 0.98
O12	- H12 = 0.91(3)		

Angles [°]

F4	- C1	- F3	= 106.5(2)	C13A	- C11	- H11	= 109.2
F4	- C1	- F2	= 106.4(2)	C11	- O12	- H12	= 108.0(17)
F3	- C1	- F2	= 105.49(19)	C14A	- C13A	- C18A	= 116.8(2)
F4	- C1	- C5	= 113.26(19)	C14A	- C13A	- C11	= 121.57(18)
F3	- C1	- C5	= 113.0(2)	C18A	- C13A	- C11	= 120.9(2)
F2	- C1	- C5	= 111.60(19)	C13A	- C14A	- C15A	= 122.4(2)
N9	- C5	- C6	= 112.3(2)	C13A	- C14A	- H14A	= 118.8
N9	- C5	- C1	= 120.0(2)	C15A	- C14A	- H14A	= 118.8
C6	- C5	- C1	= 127.7(2)	C16A	- C15A	- C14A	= 119.1(2)
C7	- C6	- C5	= 104.7(2)	C16A	- C15A	- H15A	= 120.4
C7	- C6	- H6	= 127.7	C14A	- C15A	- H15A	= 120.4
C5	- C6	- H6	= 127.7	O19	- C16A	- C15A	= 124.6(2)
N8	- C7	- C6	= 107.2(2)	O19	- C16A	- C17A	= 116.2(2)
N8	- C7	- H7	= 126.4	C15A	- C16A	- C17A	= 118.9(2)
C6	- C7	- H7	= 126.4	C16A	- C17A	- C18A	= 120.4(2)
N9	- N8	- C7	= 112.08(17)	C16A	- C17A	- H17A	= 119.8
N9	- N8	- C10	= 120.05(18)	C18A	- C17A	- H17A	= 119.8
C7	- N8	- C10	= 127.7(2)	C13A	- C18A	- C17A	= 121.1(2)
C5	- N9	- N8	= 103.73(18)	C13A	- C18A	- H18A	= 119.4
N8	- C10	- C11	= 112.16(17)	C17A	- C18A	- H18A	= 119.4
N8	- C10	- H10A	= 109.2	C18B	- C17B	- H17B	= 121
C11	- C10	- H10A	= 109.2	C17B	- C18B	- H18B	= 120.2
N8	- C10	- H10B	= 109.2	C16A	- O19	- C20	= 117.83(18)
C11	- C10	- H10B	= 109.2	O19	- C20	- H20A	= 109.5
H10A	- C10	- H10B	= 107.9	O19	- C20	- H20B	= 109.5
O12	- C11	- C10	= 108.62(18)	H20A	- C20	- H20B	= 109.5
O12	- C11	- C13A	= 111.76(16)	O19	- C20	- H20C	= 109.5
C10	- C11	- C13A	= 108.85(17)	H20A	- C20	- H20C	= 109.5
O12	- C11	- H11	= 109.2	H20B	- C20	- H20C	= 109.5
C10	- C11	- H11	= 109.2				

Torsion angles [°]

F4	- C1	- C5	- N9	= -31.7(3)	N8	- C10	- C11	- C13A	= -178.93(18)
F3	- C1	- C5	- N9	= 89.6(3)	O12	- C11	- C13A	- C14A	= 31.5(3)
F2	- C1	- C5	- N9	= -151.8(2)	C10	- C11	- C13A	- C14A	= -88.4(3)
F4	- C1	- C5	- C6	= 149.4(2)	O12	- C11	- C13A	- C18A	= -158.5(2)
F3	- C1	- C5	- C6	= -89.4(3)	C10	- C11	- C13A	- C18A	= 81.5(3)
F2	- C1	- C5	- C6	= 29.3(3)	C18A	- C13A	- C14A	- C15A	= 9.4(4)
N9	- C5	- C6	- C7	= 0.7(2)	C11	- C13A	- C14A	- C15A	= 179.8(2)
C1	- C5	- C6	- C7	= 179.7(2)	C13A	- C14A	- C15A	- C16A	= -0.1(4)
C5	- C6	- C7	- N8	= -0.8(2)	C14A	- C15A	- C16A	- O19	= 177.5(2)
C6	- C7	- N8	- N9	= 0.7(2)	C14A	- C15A	- C16A	- C17A	= -9.1(4)
C6	- C7	- N8	- C10	= 175.61(19)	O19	- C16A	- C17A	- C18A	= -177.4(2)
C6	- C5	- N9	- N8	= -0.3(2)	C15A	- C16A	- C17A	- C18A	= 8.6(4)
C1	- C5	- N9	- N8	= -179.42(18)	C14A	- C13A	- C18A	- C17A	= -9.9(4)
C7	- N8	- N9	- C5	= -0.2(2)	C11	- C13A	- C18A	- C17A	= 179.8(2)

C10	- N8	- N9	- C5	= -175.60(17)	C16A	- C17A	- C18A	- C13A	= 1.0(5)
N9	- N8	- C10	- C11	= 72.4(3)	C15A	- C16A	- O19	- C20	= 6.3(3)
C7	- N8	- C10	- C11	= -102.2(3)	C17A	- C16A	- O19	- C20	= -167.3(2)
N8	- C10	- C11	- O12	= 59.2(2)					

Hydrogen bonds [Å and deg.]

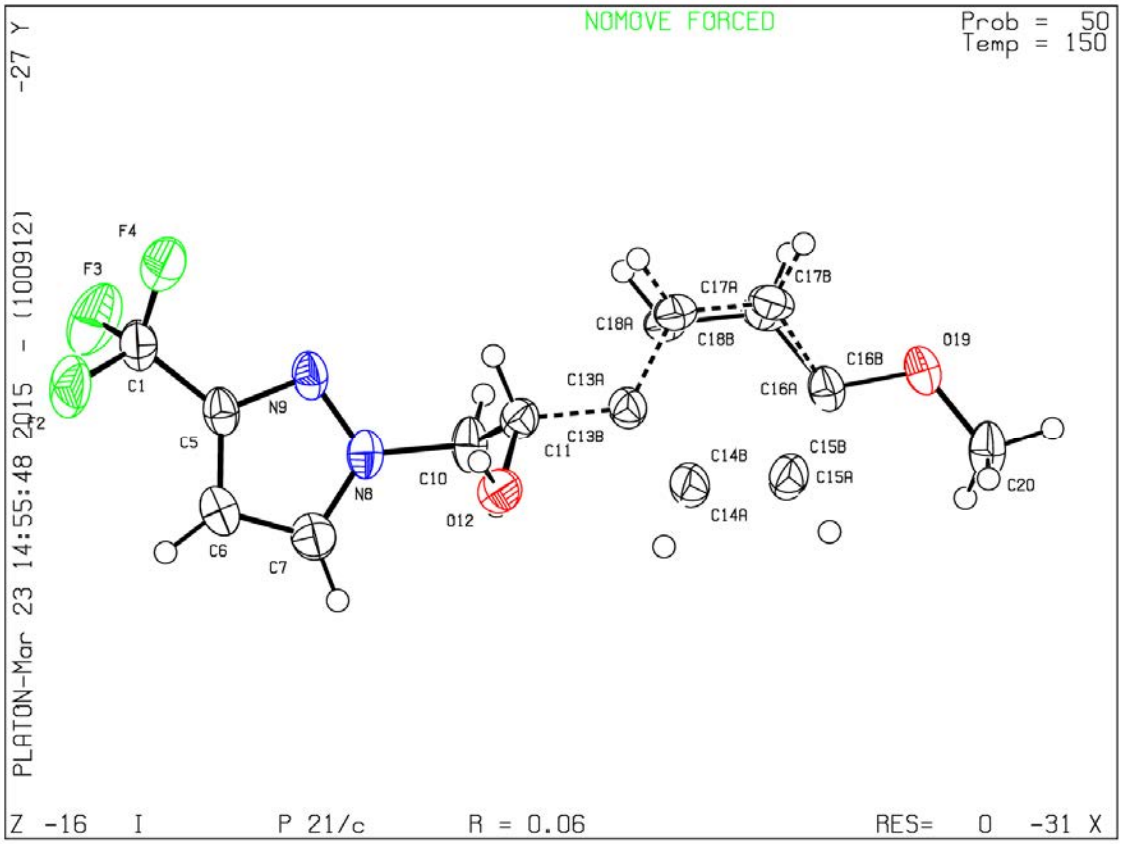
C7 - H7 .... O19 _#1	0.95	2.61	3.550(3)	171.8
O12 - H12 .... N9 _#2	0.91(3)	2.02(3)	2.935(3)	177(2)

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 -x, y+1/2, -z+1/2 T = [1, -1, 1]

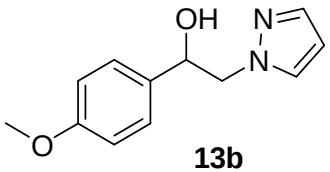
#2 x, -y-1/2, z-1/2 T = [0, 2, 1]

Structure visualisation

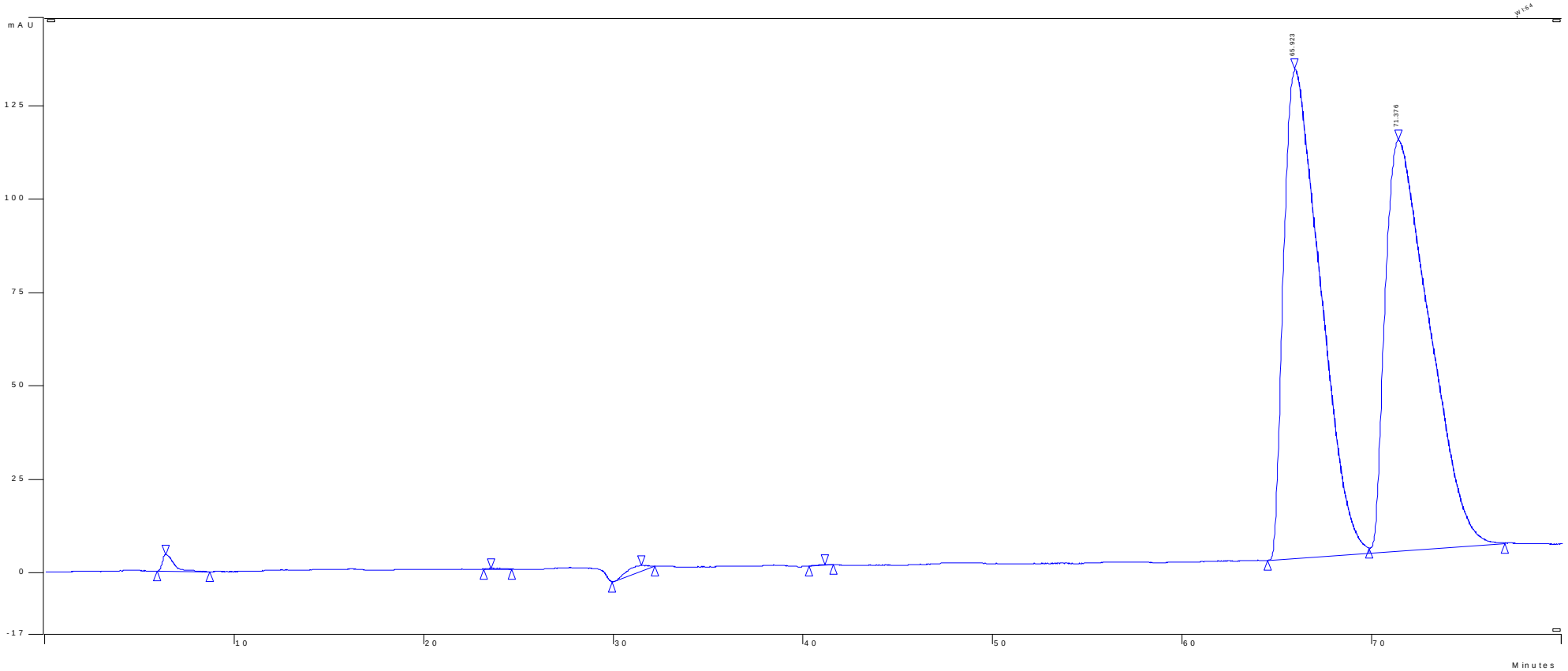


ANNEXE 2: Chromatogrammes (HPLC chirale)

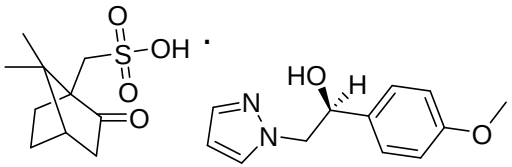
Alcool racémique 13b ((±)-1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol)



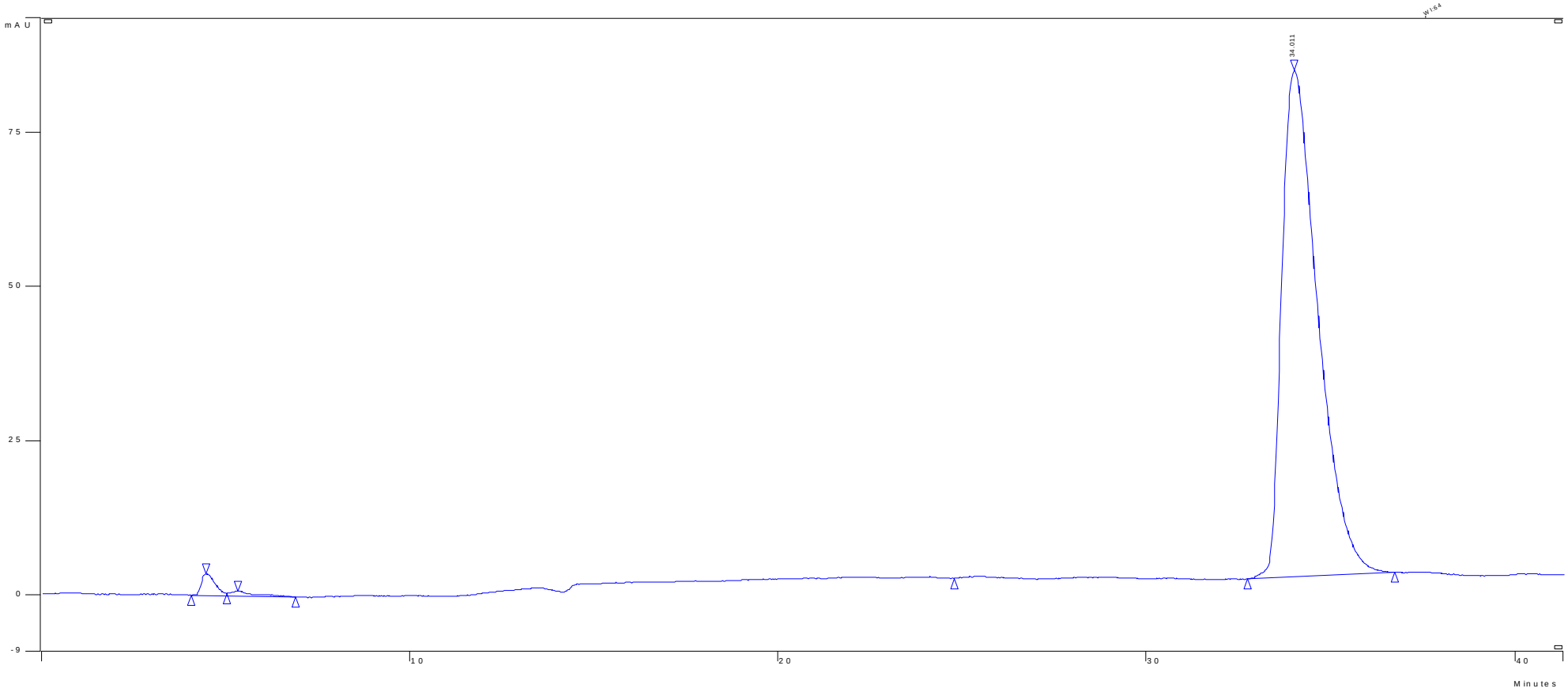
13b



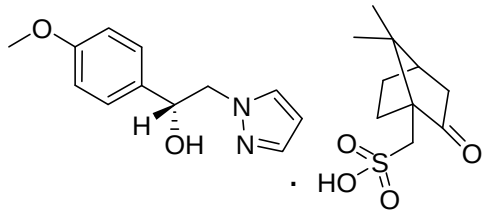
Diastéréoisomère 17a ((-)-(*S*)-alcool/(-)-(*R*)-CSA)



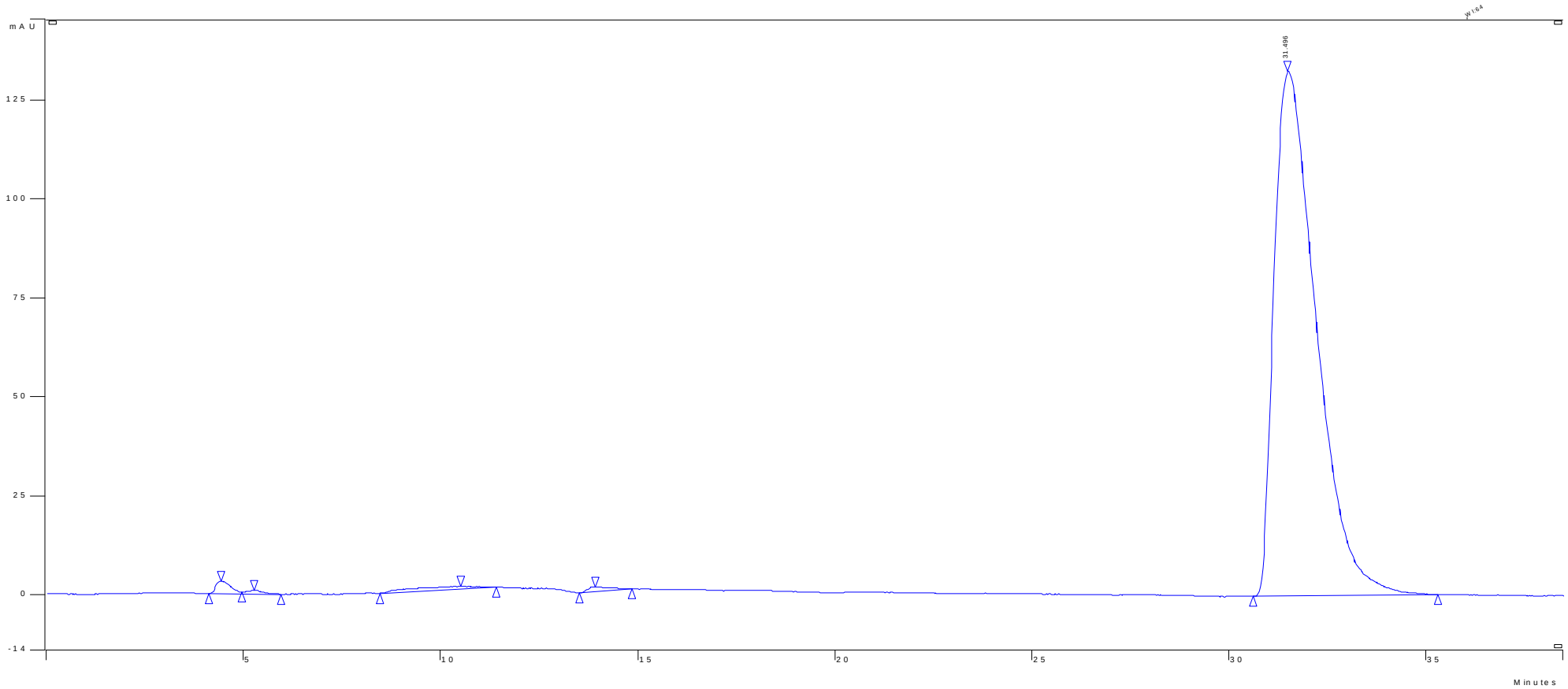
17a



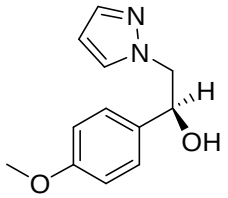
Diastéréoisomère 17b ((+)-(*R*)-alcool/(+)-(*S*)-CSA)



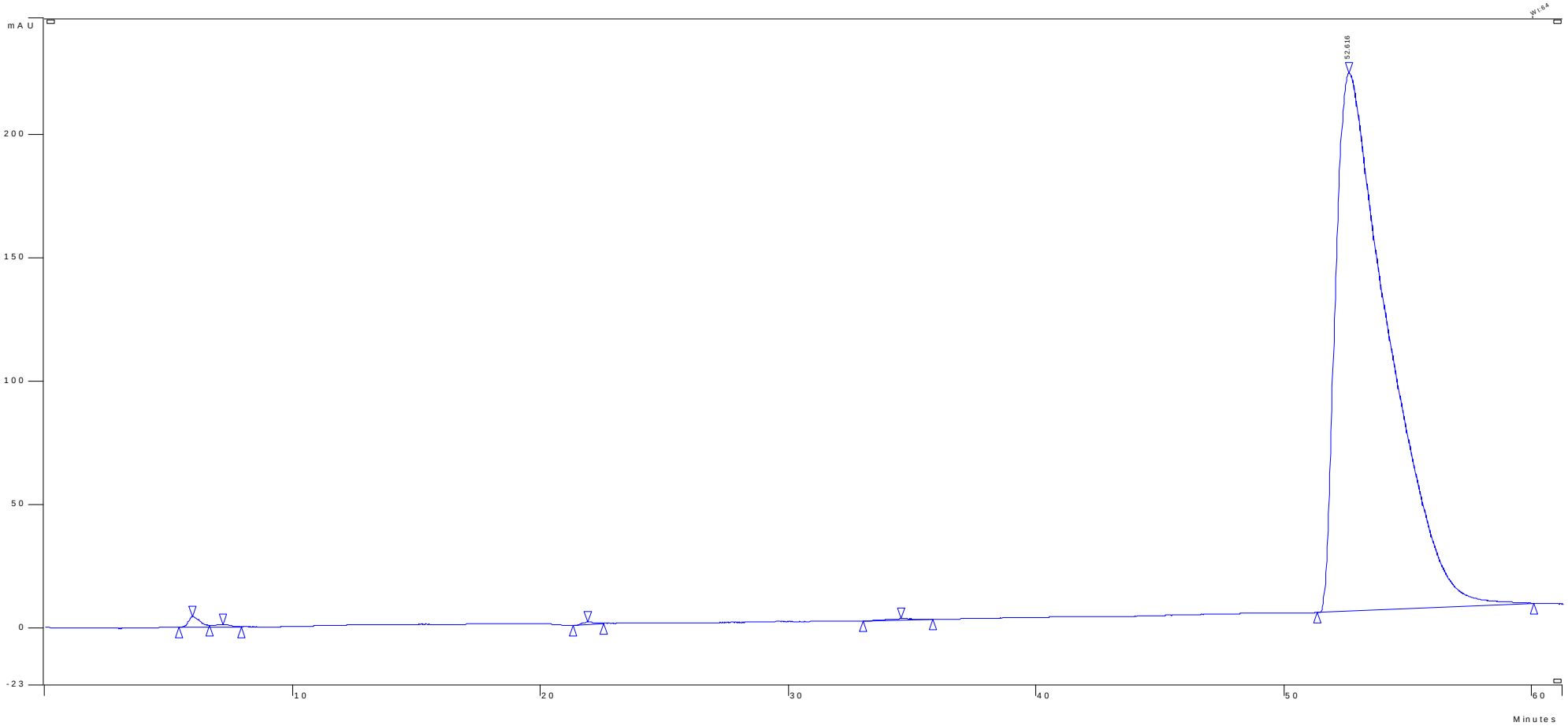
17b



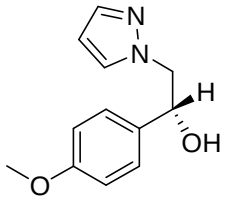
Énantiomère 18a ((-)-(*S*)-1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol)



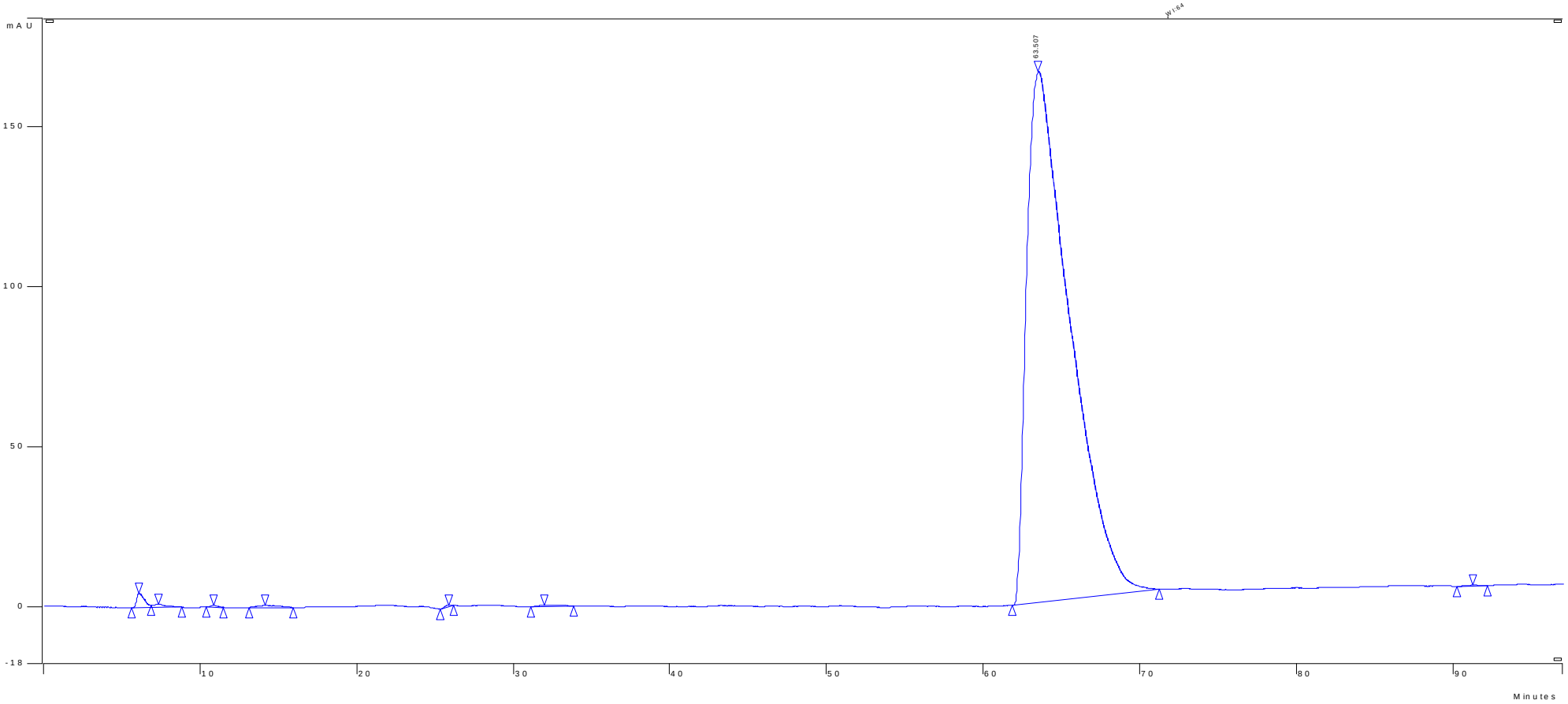
18a



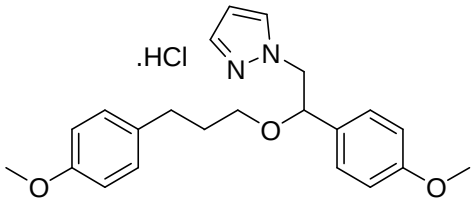
Énantiomère 18b ((+)-(*R*)-1-(4-méthoxyphényl)-2-(1*H*-pyrazol-1-yl)éthan-1-ol)



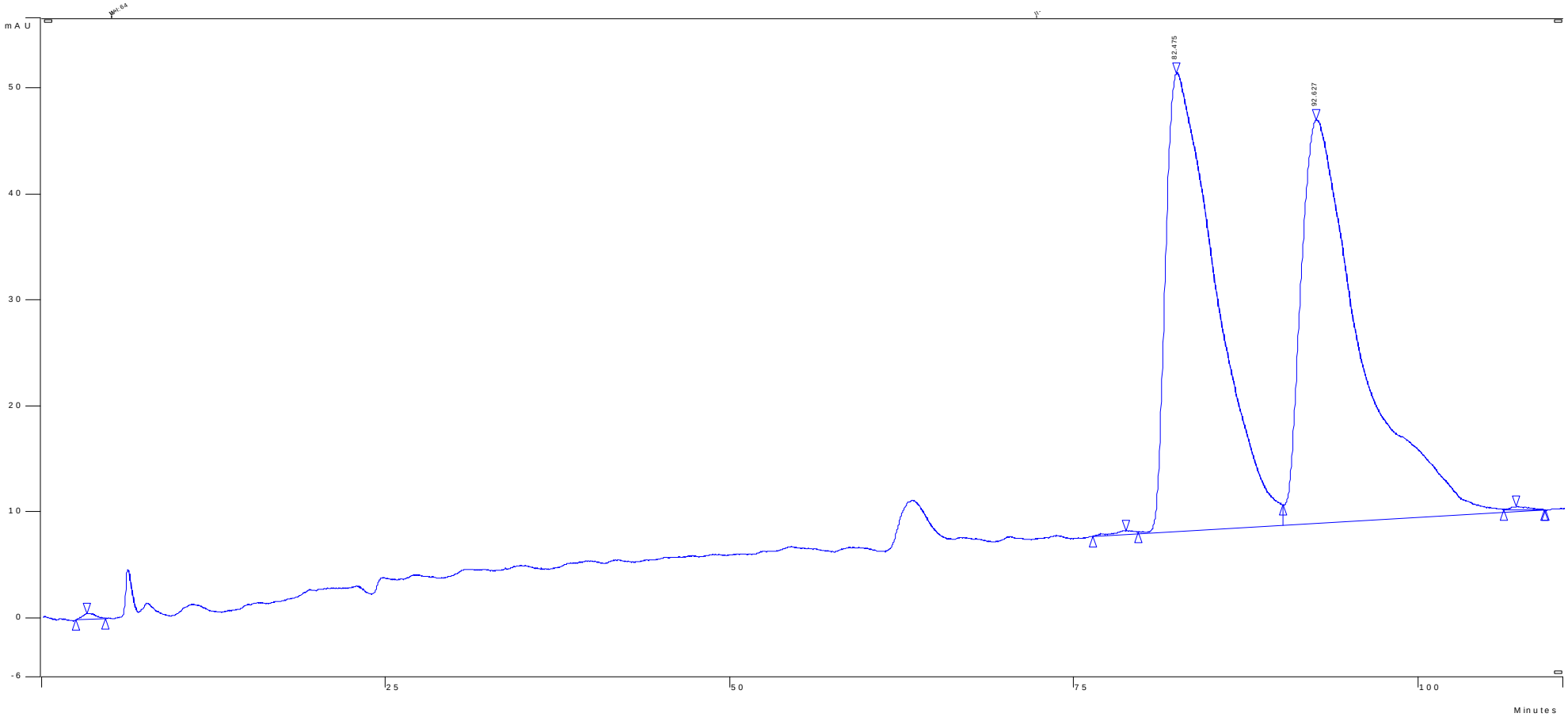
18b



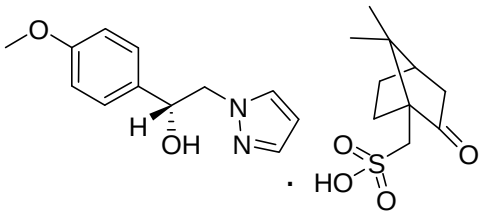
Chlorhydrate racémique 16d



16d



ANNEXE 3: Résultat de l'analyse RX du diastéréoisomère 17b (Crystal structure report)



17b

X-ray crystallographic study

(C_{12} H_{15} N_2 O_2, C_{10} H_{15} O_4 S); *M* = 450.54. APEXII, Bruker-AXS diffractometer, Mo-Kα radiation (λ = 0.71073 Å), *T* = 150(2) K; orthorhombic *P* 2_1 2_1 2_1 (I.T.#19), a = 7.2781(5), b = 9.5344(5), c = 32.8134(19) Å, *V* = 2277.0(2) $Å^3$.*Z* = 4, *d* = 1.314 $g.cm^{-3}$, μ = 0.182 mm^{-1}. The structure was solved by direct methods using the *SIR97* program [1], and then refined with full-matrix least-square methods based on F^2 (*SHELXL-97*) [2] with the aid of the *WINGX* [3] program. All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic atomic displacement parameters. Except oxygen and nitrogen linked hydrogen atoms that were introduced in the structural model through Fourier difference maps analysis, H atoms were finally included in their calculated positions. A final refinement on F^2 with 4854 unique intensities and 289 parameters converged at ω*R*(F^2) = 0.0932 (*R*(*F*) = 0.0415) for 4347 observed reflections with $I > 2\sigma(I)$.

[1] A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, J. Appl. Cryst. (1999) 32, 115-119

[2] Sheldrick G.M., Acta Cryst. A64 (2008), 112-122

[3] L. J. Farrugia, J. Appl. Cryst., 2012, 45, 849-854

Structural data

Empirical formula	C_{22} H_{30} N_2 O_6 S
Extended formula	C_{12} H_{15} N_2 O_2, C_{10} H_{15} O_4 S
Formula weight	450.54
Temperature	150(2) *K*
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	orthorhombic, *P* 2_1 2_1 2_1
Unit cell dimensions	a = 7.2781(5) Å, α = 90 °
	b = 9.5344(5) Å, β = 90 °
	c = 32.8134(19) Å, γ = 90 °
Volume	2277.0(2) $Å^3$

Z, Calculated density	4, 1.314 ($g.cm^{-3}$)
Absorption coefficient	0.182 mm^{-1}
F(000)	960
Crystal size	0.58 x 0.13 x 0.07 mm
Crystal color	colourless
Theta range for data collection	3.06 to 27.42 °
h_min, h_max	-9, 8
k_min, k_max	-12, 12
l_min, l_max	-42, 35
Reflections collected / unique	8526 / 4854 [$R(int)^a$ = 0.0203]
Reflections [I>2σ]	4347
Completeness to theta_max	0.992
Absorption correction type	multi-scan
Max. and min. transmission	0.987 , 0.889
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
Data / restraints / parameters	4854 / 0 / 289
Flack parameter	0.04(8)
[b]Goodness-of-fit	1.024
Final *R* indices [I>2σ]	$R1^c$ = 0.0415, $wR2^d$ = 0.0932
R indices (all data)	$R1^c$ = 0.049, $wR2^d$ = 0.0973
Largest diff. peak and hole	0.249 and -0.323 $e^-.Å^{-3}$

[a] $R_{int} = \sum |F_o^2 - < F_o^2>| / \sum[F_o^2]$
[b] $S = \{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)\}^{1/2}$
[c] $R1 = \sum | |F_o| - |F_c| | / \sum |F_o|$
[d] $wR2 = \{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$
$w = 1 / [\sigma(F_o^2) + aP^2 + bP]$ where $P = [2F_c^2 + MAX(F_o^2, 0)] /3$

Atomic coordinates, site occupancy (%) and equivalent isotropic displacement parameters ($Å^2$). U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

Atom	X	Y	Z	OCC.	U(eq)
N1	0.2984(3)	0.57683(19)	0.77033(6)	1	0.0258(4)
H1	0.214(4)	0.623(3)	0.7869(8)	1	0.05
C2	0.4757(3)	0.5468(2)	0.77642(8)	1	0.0326(6)
H2	0.5496	0.5814	0.7981	1	0.039
C3	0.5332(3)	0.4571(2)	0.74604(8)	1	0.0337(6)
H3	0.6527	0.4188	0.7426	1	0.04
C4	0.3817(3)	0.4344(2)	0.72170(7)	1	0.0289(5)
H4	0.3784	0.3771	0.698	1	0.035
N5	0.2408(2)	0.50632(17)	0.73696(5)	1	0.0217(4)
C6	0.0527(3)	0.5210(2)	0.72138(6)	1	0.0201(4)
H6A	-0.0325	0.5364	0.7445	1	0.024
H6B	0.016	0.4333	0.7074	1	0.024

C7	0.0380(3)	0.6439(2)	0.69153(6)	1	0.0204(4)
H7	0.1372	0.6356	0.6706	1	0.025
O8	0.0672(2)	0.76693(15)	0.71495(5)	1	0.0273(4)
H8	0.089(4)	0.823(3)	0.6985(9)	1	0.05
C9	-0.1486(3)	0.6401(2)	0.67037(6)	1	0.0190(4)
C10	-0.1889(3)	0.5342(2)	0.64269(6)	1	0.0243(5)
H10	-0.0994	0.464	0.6374	1	0.029
C11	-0.3567(3)	0.5284(2)	0.62257(6)	1	0.0244(5)
H11	-0.3816	0.4546	0.6039	1	0.029
C12	-0.4877(3)	0.6313(2)	0.62996(6)	1	0.0216(4)
C13	-0.4498(3)	0.7385(2)	0.65774(7)	1	0.0265(5)
H13	-0.5391	0.8089	0.663	1	0.032
C14	-0.2816(3)	0.7422(2)	0.67771(7)	1	0.0247(5)
H14	-0.2569	0.8153	0.6966	1	0.03
O15	-0.6577(2)	0.63704(18)	0.61198(5)	1	0.0290(4)
C16	-0.7123(3)	0.5198(2)	0.58760(6)	1	0.0251(5)
H16A	-0.6328	0.5135	0.5636	1	0.038
H16B	-0.8401	0.5321	0.5789	1	0.038
H16C	-0.7015	0.4335	0.6036	1	0.038
O21	0.0442(3)	1.30243(19)	0.54600(6)	1	0.0575(6)
C22	0.0679(4)	1.1770(3)	0.54069(7)	1	0.0380(6)
C23	0.1068(4)	1.1061(3)	0.50020(8)	1	0.0428(7)
H23A	0.228	1.1341	0.4892	1	0.051
H23B	0.0103	1.1278	0.4799	1	0.051
C24	0.1041(3)	0.9499(3)	0.51221(7)	1	0.0294(5)
H24	0.0805	0.884	0.4891	1	0.035
C25	0.2842(4)	0.9234(4)	0.53522(9)	1	0.0497(8)
H25A	0.3907	0.9604	0.5199	1	0.06
H25B	0.3027	0.822	0.5403	1	0.06
C26	0.2566(3)	1.0049(3)	0.57604(8)	1	0.0432(7)
H26A	0.3457	1.0829	0.5785	1	0.052
H26B	0.2706	0.9417	0.5998	1	0.052
C27	0.0556(3)	1.0615(2)	0.57287(6)	1	0.0251(5)
C28	-0.0409(3)	0.9448(2)	0.54659(6)	1	0.0221(4)
C29	-0.2336(3)	0.9843(3)	0.53293(7)	1	0.0298(5)
H29A	-0.2801	0.913	0.514	1	0.045
H29B	-0.2304	1.0756	0.5192	1	0.045
H29C	-0.3147	0.9897	0.5567	1	0.045
C30	-0.0526(4)	0.8031(3)	0.56832(8)	1	0.0398(6)
H30A	-0.1505	0.8062	0.5888	1	0.06
H30B	0.0649	0.7829	0.5817	1	0.06
H30C	-0.0798	0.7294	0.5484	1	0.06
C31	-0.0457(3)	1.1061(3)	0.61123(7)	1	0.0340(6)
H31A	-0.1367	1.0321	0.6177	1	0.041
H31B	-0.1158	1.1922	0.6047	1	0.041
O32	0.1453(3)	1.00505(17)	0.67172(5)	1	0.0389(4)

O33	-0.0527(3)	1.20574(17)	0.68369(5)	1	0.0388(4)
O34	0.2333(3)	1.23309(18)	0.64682(5)	1	0.0450(5)
S1	0.08305(9)	1.13973(5)	0.656364(15)	1	0.02633(14)

Anisotropic displacement parameters ($Å^2$)

The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2$ [h^2 a^{*2} U_{11} + ... + 2 h k a* b* U_{12}].

Atom	U11	U22	U33	U23	U13	U12
N1	0.0297(11)	0.0190(9)	0.0286(10)	0.0009(7)	-0.0098(9)	-0.0031(8)
C2	0.0291(12)	0.0264(11)	0.0423(14)	0.0137(10)	-0.0163(11)	-0.0106(10)
C3	0.0232(12)	0.0269(12)	0.0511(15)	0.0119(10)	-0.0033(11)	0.0013(10)
C4	0.0286(12)	0.0225(11)	0.0357(13)	0.0050(9)	-0.0008(10)	0.0029(9)
N5	0.0228(9)	0.0168(8)	0.0255(9)	0.0038(7)	-0.0068(8)	-0.0018(7)
C6	0.0186(10)	0.0169(9)	0.0248(10)	0.0004(8)	-0.0044(8)	-0.0011(8)
C7	0.0215(10)	0.0184(9)	0.0214(10)	-0.0012(8)	-0.0033(8)	0.0008(9)
O8	0.0364(9)	0.0184(7)	0.0271(8)	0.0015(6)	-0.0101(8)	-0.0054(7)
C9	0.0207(10)	0.0187(9)	0.0175(9)	0.0026(8)	-0.0022(8)	-0.0004(9)
C10	0.0271(11)	0.0185(10)	0.0275(11)	-0.0031(8)	-0.0034(9)	0.0059(9)
C11	0.0295(12)	0.0192(10)	0.0245(11)	-0.0053(8)	-0.0060(9)	0.0022(9)
C12	0.0212(10)	0.0226(10)	0.0209(10)	-0.0008(8)	-0.0039(8)	0.0000(9)
C13	0.0242(11)	0.0241(10)	0.0312(12)	-0.0087(9)	-0.0058(10)	0.0069(9)
C14	0.0273(12)	0.0204(10)	0.0263(11)	-0.0066(8)	-0.0053(10)	0.0010(9)
O15	0.0259(8)	0.0274(8)	0.0337(8)	-0.0098(7)	-0.0112(7)	0.0051(7)
C16	0.0256(11)	0.0247(11)	0.0251(11)	-0.0042(9)	-0.0059(9)	-0.0001(9)
O21	0.0892(17)	0.0282(9)	0.0550(12)	-0.0048(8)	-0.0193(13)	-0.0175(11)
C22	0.0419(15)	0.0358(13)	0.0363(13)	-0.0032(10)	-0.0100(12)	-0.0188(12)
C23	0.0486(17)	0.0493(16)	0.0306(13)	-0.0013(11)	0.0061(12)	-0.0265(13)
C24	0.0225(11)	0.0400(13)	0.0256(11)	-0.0099(10)	-0.0009(10)	-0.0042(10)
C25	0.0216(12)	0.080(2)	0.0476(16)	-0.0268(15)	-0.0020(12)	0.0053(14)
C26	0.0230(12)	0.0653(18)	0.0413(14)	-0.0193(13)	-0.0123(11)	0.0067(13)
C27	0.0214(11)	0.0323(11)	0.0216(10)	-0.0058(9)	-0.0062(9)	0.0007(9)
C28	0.0206(11)	0.0225(10)	0.0232(10)	-0.0009(8)	-0.0028(9)	-0.0001(9)
C29	0.0219(11)	0.0382(13)	0.0294(12)	-0.0078(10)	-0.0043(10)	-0.0010(10)
C30	0.0504(17)	0.0287(12)	0.0403(14)	0.0071(10)	-0.0003(13)	0.0025(12)
C31	0.0311(13)	0.0464(15)	0.0246(11)	-0.0087(10)	-0.0092(10)	0.0091(11)
O32	0.0507(11)	0.0255(8)	0.0404(10)	0.0137(7)	-0.0115(8)	-0.0040(8)
O33	0.0648(13)	0.0276(8)	0.0239(8)	-0.0039(6)	0.0018(9)	-0.0087(9)
O34	0.0663(14)	0.0374(10)	0.0312(9)	0.0002(7)	-0.0010(9)	-0.0297(10)
S1	0.0427(3)	0.0179(2)	0.0184(2)	0.0025(2)	-0.0078(2)	-0.0088(2)

Bond lengths [Å]

N1	- C2 = 1.337(3)	O21	- C22 = 1.221(3)
N1	- N5 = 1.351(2)	C22	- C23 = 1.517(3)
N1	- H1 = 0.93(3)	C22	- C27 = 1.528(3)
C2	- C3 = 1.379(4)	C23	- C24 = 1.541(3)
C2	- H2 = 0.95	C23	- H23A = 0.99
C3	- C4 = 1.378(3)	C23	- H23B = 0.99
C3	- H3 = 0.95	C24	- C25 = 1.534(3)
C4	- N5 = 1.332(3)	C24	- C28 = 1.546(3)
C4	- H4 = 0.95	C24	- H24 = 1
N5	- C6 = 1.468(3)	C25	- C26 = 1.561(3)
C6	- C7 = 1.531(3)	C25	- H25A = 0.99
C6	- H6A = 0.99	C25	- H25B = 0.99
C6	- H6B = 0.99	C26	- C27 = 1.563(3)
C7	- O8 = 1.419(2)	C26	- H26A = 0.99
C7	- C9 = 1.525(3)	C26	- H26B = 0.99
C7	- H7 = 1	C27	- C31 = 1.520(3)
O8	- H8 = 0.78(3)	C27	- C28 = 1.574(3)
C9	- C10 = 1.389(3)	C28	- C29 = 1.520(3)
C9	- C14 = 1.394(3)	C28	- C30 = 1.530(3)
C10	- C11 = 1.389(3)	C29	- H29A = 0.98
C10	- H10 = 0.95	C29	- H29B = 0.98
C11	- C12 = 1.390(3)	C29	- H29C = 0.98
C11	- H11 = 0.95	C30	- H30A = 0.98
C12	- O15 = 1.372(2)	C30	- H30B = 0.98
C12	- C13 = 1.397(3)	C30	- H30C = 0.98
C13	- C14 = 1.389(3)	C31	- S1 = 1.782(2)
C13	- H13 = 0.95	C31	- H31A = 0.99
C14	- H14 = 0.95	C31	- H31B = 0.99
O15	- C16 = 1.431(2)	O32	- S1 = 1.4519(17)
C16	- H16A = 0.98	O33	- S1 = 1.4754(19)
C16	- H16B = 0.98	O34	- S1 = 1.4442(18)
C16	- H16C = 0.98		

Angles [°]

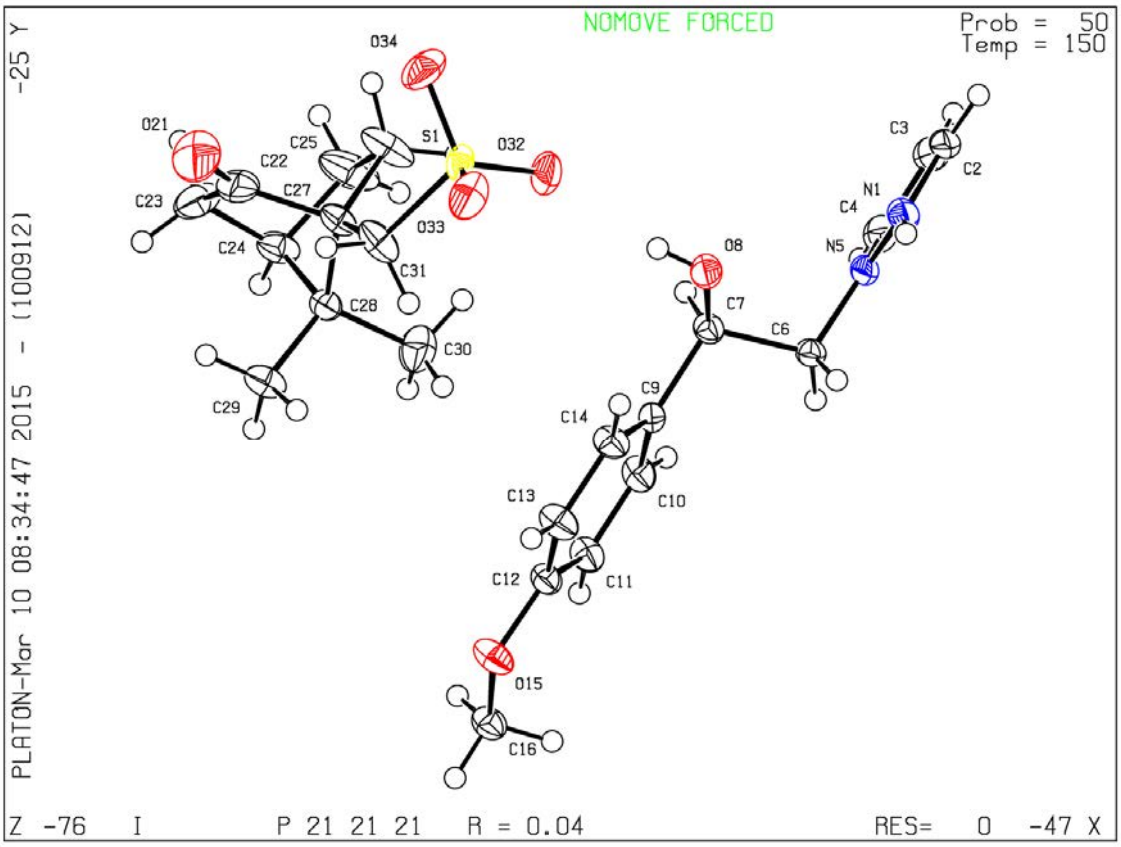
C2	- N1	- N5	= 108.3(2)	C24	- C23	- H23A	= 111.4
C2	- N1	- H1	= 130.6(18)	C22	- C23	- H23B	= 111.4
N5	- N1	- H1	= 120.3(18)	C24	- C23	- H23B	= 111.4
N1	- C2	- C3	= 108.5(2)	H23A	- C23	- H23B	= 109.3
N1	- C2	- H2	= 125.7	C25	- C24	- C23	= 106.0(2)
C3	- C2	- H2	= 125.7	C25	- C24	- C28	= 102.65(19)
C4	- C3	- C2	= 105.9(2)	C23	- C24	- C28	= 103.06(18)
C4	- C3	- H3	= 127.1	C25	- C24	- H24	= 114.6
C2	- C3	- H3	= 127.1	C23	- C24	- H24	= 114.6
N5	- C4	- C3	= 108.5(2)	C28	- C24	- H24	= 114.6
N5	- C4	- H4	= 125.8	C24	- C25	- C26	= 103.3(2)
C3	- C4	- H4	= 125.8	C24	- C25	- H25A	= 111.1
C4	- N5	- N1	= 108.78(18)	C26	- C25	- H25A	= 111.1

C4 - N5 - C6 = 129.52(18)
N1 - N5 - C6 = 121.61(18)
N5 - C6 - C7 = 111.18(16)
N5 - C6 - H6A = 109.4
C7 - C6 - H6A = 109.4
N5 - C6 - H6B = 109.4
C7 - C6 - H6B = 109.4
H6A - C6 - H6B = 108
O8 - C7 - C9 = 113.54(17)
O8 - C7 - C6 = 106.00(15)
C9 - C7 - C6 = 109.63(17)
O8 - C7 - H7 = 109.2
C9 - C7 - H7 = 109.2
C6 - C7 - H7 = 109.2
C7 - O8 - H8 = 103(2)
C10 - C9 - C14 = 118.27(19)
C10 - C9 - C7 = 120.17(18)
C14 - C9 - C7 = 121.57(18)
C11 - C10 - C9 = 121.71(19)
C11 - C10 - H10 = 119.1
C9 - C10 - H10 = 119.1
C10 - C11 - C12 = 119.45(19)
C10 - C11 - H11 = 120.3
C12 - C11 - H11 = 120.3
O15 - C12 - C11 = 124.87(19)
O15 - C12 - C13 = 115.44(19)
C11 - C12 - C13 = 119.69(19)
C14 - C13 - C12 = 120.02(19)
C14 - C13 - H13 = 120
C12 - C13 - H13 = 120
C13 - C14 - C9 = 120.87(19)
C13 - C14 - H14 = 119.6
C9 - C14 - H14 = 119.6
C12 - O15 - C16 = 117.39(17)
O15 - C16 - H16A = 109.5
O15 - C16 - H16B = 109.5
H16A - C16 - H16B = 109.5
O15 - C16 - H16C = 109.5
H16A - C16 - H16C = 109.5
H16B - C16 - H16C = 109.5
O21 - C22 - C23 = 126.0(2)
O21 - C22 - C27 = 126.8(2)
C23 - C22 - C27 = 107.1(2)
C22 - C23 - C24 = 101.80(19)
C22 - C23 - H23A = 111.4
C24 - C25 - H25B = 111.1
C26 - C25 - H25B = 111.1
H25A - C25 - H25B = 109.1
C25 - C26 - C27 = 103.60(19)
C25 - C26 - H26A = 111
C27 - C26 - H26A = 111
C25 - C26 - H26B = 111
C27 - C26 - H26B = 111
H26A - C26 - H26B = 109
C31 - C27 - C22 = 113.5(2)
C31 - C27 - C26 = 119.73(19)
C22 - C27 - C26 = 103.9(2)
C31 - C27 - C28 = 115.78(19)
C22 - C27 - C28 = 99.05(16)
C26 - C27 - C28 = 102.12(18)
C29 - C28 - C30 = 107.8(2)
C29 - C28 - C24 = 114.03(18)
C30 - C28 - C24 = 113.97(19)
C29 - C28 - C27 = 113.47(18)
C30 - C28 - C27 = 113.22(18)
C24 - C28 - C27 = 94.15(16)
C28 - C29 - H29A = 109.5
C28 - C29 - H29B = 109.5
H29A - C29 - H29B = 109.5
C28 - C29 - H29C = 109.5
H29A - C29 - H29C = 109.5
H29B - C29 - H29C = 109.5
C28 - C30 - H30A = 109.5
C28 - C30 - H30B = 109.5
H30A - C30 - H30B = 109.5
C28 - C30 - H30C = 109.5
H30A - C30 - H30C = 109.5
H30B - C30 - H30C = 109.5
C27 - C31 - S1 = 118.91(17)
C27 - C31 - H31A = 107.6
S1 - C31 - H31A = 107.6
C27 - C31 - H31B = 107.6
S1 - C31 - H31B = 107.6
H31A - C31 - H31B = 107
O34 - S1 - O32 = 112.59(12)
O34 - S1 - O33 = 112.08(11)
O32 - S1 - O33 = 112.04(10)
O34 - S1 - C31 = 109.20(12)
O32 - S1 - C31 = 107.07(11)
O33 - S1 - C31 = 103.27(11)

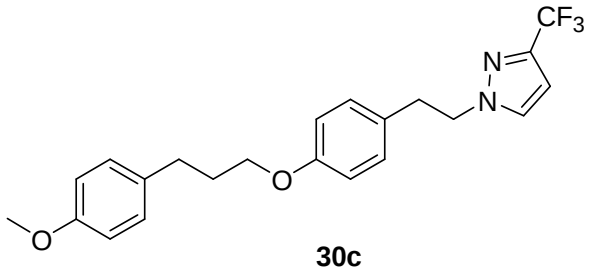
Torsion angles [°]

N5	- N1	- C2	- C3	= 0.9(2)	C28	- C24	- C25	- C26	= -38.0(3)
N1	- C2	- C3	- C4	= -0.4(3)	C24	- C25	- C26	- C27	= 3.6(3)
C2	- C3	- C4	- N5	= -0.3(3)	O21	- C22	- C27	- C31	= 17.5(4)
C3	- C4	- N5	- N1	= 0.9(2)	C23	- C22	- C27	- C31	= -159.9(2)
C3	- C4	- N5	- C6	= 177.36(19)	O21	- C22	- C27	- C26	= -114.1(3)
C2	- N1	- N5	- C4	= -1.1(2)	C23	- C22	- C27	- C26	= 68.4(2)
C2	- N1	- N5	- C6	= -177.93(18)	O21	- C22	- C27	- C28	= 140.9(3)
C4	- N5	- C6	- C7	= -88.2(3)	C23	- C22	- C27	- C28	= -36.5(2)
N1	- N5	- C6	- C7	= 87.8(2)	C25	- C26	- C27	- C31	= 160.5(2)
N5	- C6	- C7	- O8	= -67.1(2)	C25	- C26	- C27	- C22	= -71.6(3)
N5	- C6	- C7	- C9	= 170.02(16)	C25	- C26	- C27	- C28	= 31.1(3)
O8	- C7	- C9	- C10	= 172.65(19)	C25	- C24	- C28	- C29	= 173.6(2)
C6	- C7	- C9	- C10	= -69.0(2)	C23	- C24	- C28	- C29	= 63.6(2)
O8	- C7	- C9	- C14	= -6.6(3)	C25	- C24	- C28	- C30	= -62.1(3)
C6	- C7	- C9	- C14	= 111.7(2)	C23	- C24	- C28	- C30	= -172.1(2)
C14	- C9	- C10	- C11	= -0.1(3)	C25	- C24	- C28	- C27	= 55.6(2)
C7	- C9	- C10	- C11	= -179.37(19)	C23	- C24	- C28	- C27	= -54.4(2)
C9	- C10	- C11	- C12	= 0.5(3)	C31	- C27	- C28	- C29	= 57.3(2)
C10	- C11	- C12	- O15	= 179.9(2)	C22	- C27	- C28	- C29	= -64.4(2)
C10	- C11	- C12	- C13	= -0.6(3)	C26	- C27	- C28	- C29	= -170.9(2)
O15	- C12	- C13	- C14	= 179.9(2)	C31	- C27	- C28	- C30	= -65.9(3)
C11	- C12	- C13	- C14	= 0.2(3)	C22	- C27	- C28	- C30	= 172.3(2)
C12	- C13	- C14	- C9	= 0.2(3)	C26	- C27	- C28	- C30	= 65.9(2)
C10	- C9	- C14	- C13	= -0.3(3)	C31	- C27	- C28	- C24	= 175.75(19)
C7	- C9	- C14	- C13	= 179.0(2)	C22	- C27	- C28	- C24	= 54.03(19)
C11	- C12	- O15	- C16	= 7.8(3)	C26	- C27	- C28	- C24	= -52.4(2)
C13	- C12	- O15	- C16	= -171.77(19)	C22	- C27	- C31	- S1	= -106.0(2)
O21	- C22	- C23	- C24	= -174.7(3)	C26	- C27	- C31	- S1	= 17.4(3)
C27	- C22	- C23	- C24	= 2.8(3)	C28	- C27	- C31	- S1	= 140.40(18)
C22	- C23	- C24	- C25	= -74.3(2)	C27	- C31	- S1	- O34	= 49.8(2)
C22	- C23	- C24	- C28	= 33.2(2)	C27	- C31	- S1	- O32	= -72.4(2)
C23	- C24	- C25	- C26	= 69.8(3)	C27	- C31	- S1	- O33	= 169.20(19)

Structure visualisation



ANNEXE 3: Résultat de l'analyse RX du 1-aryl-1*H*-pyrazole 30c (Crystal structure report)



30c

X-ray crystallographic study

(C_{22} H_{23} F_3 N_2 O_2); M = 404.42. APEXII, Bruker-AXS diffractometer, Mo-Kα radiation (λ = 0.71073 Å), T = 150(2) K; monoclinic P $2_1/c$ (I.T.#14), a = 10.748(2), b = 8.4359(19), c = 22.102(5) Å, β = 90.537(9) °, V = 2003.9(7) Å^3.Z = 4, d = 1.341 g.cm^{-3}, μ = 0.105 mm^{-1}. The structure was solved by direct methods using the *SIR97* program [1], and then refined with full-matrix least-square methods based on F^2 (*SHELXL-97*) [2] with the aid of the *WINGX* [3] program. All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic atomic displacement parameters. H atoms were finally included in their calculated positions. A final refinement on F^2 with 4561 unique intensities and 263 parameters converged at ωR(F^2) = 0.1752 (R(F) = 0.0741) for 2269 observed reflections with $I > 2\sigma(I)$.

[1] A. Altomare, M. C. Burla, M. Camalli, G. Cascarano, C. Giacovazzo, A. Guagliardi, A. G. G. Moliterni, G. Polidori, R. Spagna, J. Appl. Cryst. (1999) 32, 115-119
[2] Sheldrick G.M., Acta Cryst. A64 (2008), 112-122
[3] L. J. Farrugia, J. Appl. Cryst., 2012, 45, 849-854

Structural data

Empirical formula	C_{22} H_{23} F_3 N_2 O_2
Formula weight	404.42
Temperature	150(2) *K*
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system, space group	monoclinic, P $2_1/c$
Unit cell dimensions	a = 10.748(2) Å, α = 90 °
	b = 8.4359(19) Å, β = 90.537(9) °
	c = 22.102(5) Å, γ = 90 °
Volume	2003.9(7) Å^3
Z, Calculated density	4, 1.341 (g.cm^{-3})
Absorption coefficient	0.105 mm^{-1}

$F(000)$	848
Crystal size	0.6 x 0.25 x 0.15 mm
Crystal color	colourless
Theta range for data collection	3.04 to 27.47 °
h_min, h_max	-13, 13
k_min, k_max	-10, 6
l_min, l_max	-28, 25
Reflections collected / unique	16130 / 4561 [R(int)[a] = 0.0721]
Reflections [I>2σ]	2269
Completeness to theta_max	0.997
Absorption correction type	multi-scan
Max. and min. transmission	0.984 , 0.872
Refinement method	Full-matrix least-squares on F^2
Data / restraints / parameters	4561 / 0 / 263
[b]Goodness-of-fit	1.048
Final *R* indices [I>2σ]	$R1^c$ = 0.0741, $wR2^d$ = 0.1752
R indices (all data)	$R1^c$ = 0.1561, $wR2^d$ = 0.2122
Largest diff. peak and hole	0.56 and -0.354 $e^-.Å^{-3}$

[a] $R_{int} = \sum |F_o^2 - < F_o^2>| / \sum[F_o^2]$
[b] $S = \{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / (n - p)\}^{1/2}$
[c] $R1 = \sum | |F_o| - |F_c| | / \sum |F_o|$
[d] $wR2 = \{\sum [w(F_o^2 - F_c^2)^2] / \sum [w(F_o^2)^2]\}^{1/2}$
$w = 1 / [\sigma(F_o^2) + aP^2 + bP]$ where $P = [2F_c^2 + MAX(F_o^2, 0)] /3$

Atomic coordinates, site occupancy (%) and equivalent isotropic displacement parameters (Å^2). U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

Atom	X	Y	Z	OCC.	U(eq)
C1	0.0325(3)	0.8086(4)	0.40757(13)	1	0.0511(9)
H1A	0.0075	0.9172	0.4175	1	0.077
H1B	-0.0239	0.7655	0.3766	1	0.077
H1C	0.1177	0.809	0.3922	1	0.077
O2	0.0268(2)	0.7127(3)	0.46056(10)	1	0.0508(6)
C3	0.0943(3)	0.7619(4)	0.51018(13)	1	0.0375(7)
C4	0.1668(3)	0.8955(4)	0.51223(13)	1	0.0370(7)
H4	0.1731	0.9619	0.4777	1	0.044
C5	0.2310(3)	0.9335(4)	0.56532(13)	1	0.0383(7)
H5	0.2813	1.0261	0.5663	1	0.046
C6	0.2237(3)	0.8403(4)	0.61667(13)	1	0.0354(7)
C7	0.1491(3)	0.7056(4)	0.61339(14)	1	0.0403(8)
H7	0.1417	0.6397	0.648	1	0.048
C8	0.0862(3)	0.6660(4)	0.56137(14)	1	0.0441(8)
H8	0.0368	0.5726	0.5602	1	0.053

C9	0.2950(3)	0.8805(4)	0.67343(13)	1	0.0407(8)
H9A	0.2506	0.8363	0.7086	1	0.049
H9B	0.2975	0.9972	0.6781	1	0.049
C10	0.4282(3)	0.8167(4)	0.67355(13)	1	0.0405(8)
H10A	0.4257	0.701	0.6661	1	0.049
H10B	0.474	0.8662	0.6398	1	0.049
C11	0.4983(3)	0.8470(4)	0.73154(13)	1	0.0413(8)
H11A	0.5857	0.8113	0.7277	1	0.05
H11B	0.4985	0.9617	0.7409	1	0.05
O12	0.43791(17)	0.7606(2)	0.77892(9)	1	0.0392(5)
C13	0.4846(2)	0.7754(3)	0.83616(13)	1	0.0330(7)
C14	0.5886(3)	0.8630(4)	0.85198(13)	1	0.0389(8)
H14	0.6338	0.9174	0.8217	1	0.047
C15	0.6271(3)	0.8717(4)	0.91195(13)	1	0.0443(8)
H15	0.6979	0.9338	0.9222	1	0.053
C16	0.5644(3)	0.7918(4)	0.95721(13)	1	0.0419(8)
C17	0.4609(3)	0.7021(4)	0.93997(15)	1	0.0445(8)
H17	0.4162	0.6457	0.97	1	0.053
C18	0.4222(3)	0.6934(4)	0.88099(14)	1	0.0414(8)
H18	0.3519	0.6305	0.8706	1	0.05
C19	0.6040(3)	0.7954(5)	1.02290(14)	1	0.0558(10)
H19A	0.5498	0.8708	1.0446	1	0.067
H19B	0.5903	0.689	1.0405	1	0.067
C20	0.7354(3)	0.8411(5)	1.03372(14)	1	0.0541(10)
H20A	0.7901	0.7719	1.0094	1	0.065
H20B	0.7479	0.9517	1.0201	1	0.065
N21	0.7708(2)	0.8283(4)	1.09729(12)	1	0.0474(7)
C22	0.7797(3)	0.9467(4)	1.13735(16)	1	0.0541(9)
H22	0.7608	1.0552	1.1303	1	0.065
C23	0.8209(3)	0.8812(5)	1.19020(16)	1	0.0534(9)
H23	0.8372	0.9339	1.2274	1	0.064
C24	0.8340(3)	0.7216(4)	1.17788(13)	1	0.0396(8)
N25	0.8030(2)	0.6863(3)	1.12077(11)	1	0.0413(7)
C26	0.8784(3)	0.5938(5)	1.21890(14)	1	0.0496(9)
F27	0.98706(17)	0.5311(3)	1.20298(9)	1	0.0788(8)
F28	0.8893(3)	0.6435(3)	1.27494(9)	1	0.0946(9)
F29	0.80115(19)	0.4704(3)	1.22121(10)	1	0.0784(7)

Anisotropic displacement parameters ($Å^2$)

The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2$ [h^2 a^{*2} U_{11} + ... + 2 h k a* b* U_{12}].

Atom	U11	U22	U33	U23	U13	U12
C1	0.0509(19)	0.061(2)	0.0416(19)	0.0000(19)	-0.0013(15)	-0.0005(17)
O2	0.0525(13)	0.0551(16)	0.0448(13)	-0.0015(12)	-0.0028(10)	-0.0135(11)
C3	0.0356(15)	0.0385(19)	0.0386(17)	-0.0037(16)	0.0090(13)	0.0013(14)
C4	0.0410(16)	0.0339(19)	0.0361(17)	0.0019(15)	0.0071(13)	-0.0002(14)
C5	0.0422(16)	0.0344(18)	0.0383(17)	-0.0002(16)	0.0032(13)	-0.0043(14)
C6	0.0375(15)	0.0336(18)	0.0353(17)	-0.0044(15)	0.0067(13)	0.0057(14)
C7	0.0450(17)	0.037(2)	0.0388(18)	0.0049(16)	0.0088(14)	0.0006(15)
C8	0.0443(17)	0.0338(19)	0.054(2)	0.0004(17)	0.0066(15)	-0.0089(15)
C9	0.0491(17)	0.0366(19)	0.0364(17)	-0.0030(15)	0.0040(14)	0.0062(15)
C10	0.0448(16)	0.041(2)	0.0359(17)	-0.0059(16)	0.0057(13)	-0.0038(15)
C11	0.0410(16)	0.041(2)	0.0419(18)	0.0029(16)	0.0056(14)	-0.0071(15)
O12	0.0409(11)	0.0337(12)	0.0431(12)	0.0077(10)	-0.0012(9)	-0.0086(9)
C13	0.0319(14)	0.0268(16)	0.0404(17)	0.0059(15)	-0.0002(13)	0.0022(13)
C14	0.0401(16)	0.0348(18)	0.0419(18)	0.0030(16)	0.0048(14)	-0.0068(14)
C15	0.0400(16)	0.047(2)	0.0457(19)	0.0006(17)	0.0007(14)	-0.0112(15)
C16	0.0347(15)	0.052(2)	0.0386(17)	0.0057(17)	0.0042(13)	0.0019(15)
C17	0.0311(15)	0.047(2)	0.056(2)	0.0177(18)	0.0054(14)	-0.0010(15)
C18	0.0312(15)	0.041(2)	0.052(2)	0.0114(17)	-0.0007(14)	-0.0036(14)
C19	0.0398(17)	0.084(3)	0.0442(19)	0.004(2)	0.0076(14)	-0.0088(18)
C20	0.056(2)	0.063(3)	0.044(2)	0.0008(19)	-0.0014(16)	0.0069(18)
N21	0.0484(15)	0.0480(19)	0.0458(16)	-0.0027(16)	-0.0016(12)	0.0070(14)
C22	0.062(2)	0.040(2)	0.060(2)	-0.012(2)	0.0021(18)	0.0064(17)
C23	0.0537(19)	0.056(2)	0.050(2)	-0.021(2)	0.0082(16)	-0.0041(18)
C24	0.0341(15)	0.049(2)	0.0362(17)	-0.0099(17)	0.0033(13)	-0.0051(15)
N25	0.0455(14)	0.0417(17)	0.0366(15)	-0.0083(13)	-0.0040(11)	-0.0003(12)
C26	0.0420(18)	0.068(3)	0.0388(19)	-0.0010(19)	-0.0003(14)	-0.0073(18)
F27	0.0554(12)	0.113(2)	0.0684(14)	0.0298(13)	0.0021(10)	0.0242(12)
F28	0.150(2)	0.099(2)	0.0340(12)	-0.0032(13)	-0.0213(13)	-0.0044(17)
F29	0.0735(14)	0.0705(16)	0.0910(17)	0.0273(13)	-0.0135(12)	-0.0164(12)

Bond lengths [Å]

C1 - O2	= 1.425(4)	C13 - C18	= 1.386(4)
C1 - H1A	= 0.98	C14 - C15	= 1.387(4)
C1 - H1B	= 0.98	C14 - H14	= 0.95
C1 - H1C	= 0.98	C15 - C16	= 1.386(4)
O2 - C3	= 1.374(3)	C15 - H15	= 0.95
C3 - C4	= 1.371(4)	C16 - C17	= 1.396(4)

C3	- C8	= 1.394(4)	
C4	- C5	= 1.394(4)	
C4	- H4	= 0.95	
C5	- C6	= 1.384(4)	
C5	- H5	= 0.95	
C6	- C7	= 1.392(4)	
C6	- C9	= 1.503(4)	
C7	- C8	= 1.370(4)	
C7	- H7	= 0.95	
C8	- H8	= 0.95	
C9	- C10	= 1.529(4)	
C9	- H9A	= 0.99	
C9	- H9B	= 0.99	
C10	- C11	= 1.503(4)	
C10	- H10A	= 0.99	
C10	- H10B	= 0.99	
C11	- O12	= 1.436(3)	
C11	- H11A	= 0.99	
C11	- H11B	= 0.99	
O12	- C13	= 1.362(3)	
C13	- C14	= 1.382(4)	
C16	- C19	= 1.509(4)	
C17	- C18	= 1.367(4)	
C17	- H17	= 0.95	
C18	- H18	= 0.95	
C19	- C20	= 1.481(4)	
C19	- H19A	= 0.99	
C19	- H19B	= 0.99	
C20	- N21	= 1.456(4)	
C20	- H20A	= 0.99	
C20	- H20B	= 0.99	
N21	- C22	= 1.337(4)	
N21	- N25	= 1.350(4)	
C22	- C23	= 1.362(5)	
C22	- H22	= 0.95	
C23	- C24	= 1.381(5)	
C23	- H23	= 0.95	
C24	- N25	= 1.336(3)	
C24	- C26	= 1.485(5)	
C26	- F28	= 1.312(3)	
C26	- F27	= 1.332(4)	
C26	- F29	= 1.333(4)	

Angles [°]

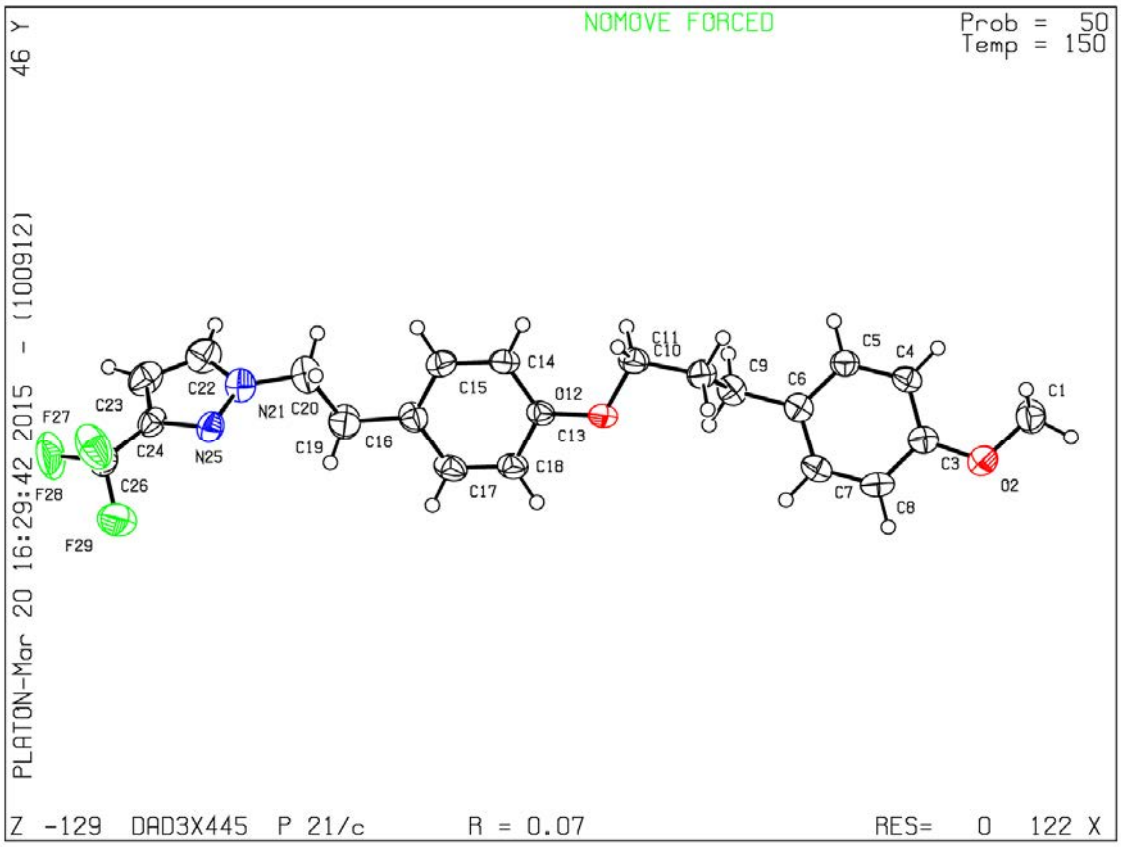
O2	- C1	- H1A	= 109.5	C13	- C14	- C15	= 120.2(3)
O2	- C1	- H1B	= 109.5	C13	- C14	- H14	= 119.9
H1A	- C1	- H1B	= 109.5	C15	- C14	- H14	= 119.9
O2	- C1	- H1C	= 109.5	C16	- C15	- C14	= 121.4(3)
H1A	- C1	- H1C	= 109.5	C16	- C15	- H15	= 119.3
H1B	- C1	- H1C	= 109.5	C14	- C15	- H15	= 119.3
C3	- O2	- C1	= 117.3(2)	C15	- C16	- C17	= 117.3(3)
C4	- C3	- O2	= 124.8(3)	C15	- C16	- C19	= 123.4(3)
C4	- C3	- C8	= 119.4(3)	C17	- C16	- C19	= 119.4(3)
O2	- C3	- C8	= 115.9(3)	C18	- C17	- C16	= 121.6(3)
C3	- C4	- C5	= 119.6(3)	C18	- C17	- H17	= 119.2
C3	- C4	- H4	= 120.2	C16	- C17	- H17	= 119.2
C5	- C4	- H4	= 120.2	C17	- C18	- C13	= 120.7(3)
C6	- C5	- C4	= 121.9(3)	C17	- C18	- H18	= 119.7
C6	- C5	- H5	= 119.1	C13	- C18	- H18	= 119.7
C4	- C5	- H5	= 119.1	C20	- C19	- C16	= 114.8(3)
C5	- C6	- C7	= 117.3(3)	C20	- C19	- H19A	= 108.6
C5	- C6	- C9	= 121.6(3)	C16	- C19	- H19A	= 108.6
C7	- C6	- C9	= 121.1(3)	C20	- C19	- H19B	= 108.6
C8	- C7	- C6	= 121.5(3)	C16	- C19	- H19B	= 108.6
C8	- C7	- H7	= 119.2	H19A	- C19	- H19B	= 107.5
C6	- C7	- H7	= 119.2	N21	- C20	- C19	= 112.1(3)
C7	- C8	- C3	= 120.3(3)	N21	- C20	- H20A	= 109.2
C7	- C8	- H8	= 119.8	C19	- C20	- H20A	= 109.2
C3	- C8	- H8	= 119.8	N21	- C20	- H20B	= 109.2
C6	- C9	- C10	= 113.1(2)	C19	- C20	- H20B	= 109.2

C6	- C9	- H9A	= 109	H20A	- C20	- H20B	= 107.9
C10	- C9	- H9A	= 109	C22	- N21	- N25	= 113.1(3)
C6	- C9	- H9B	= 109	C22	- N21	- C20	= 126.9(3)
C10	- C9	- H9B	= 109	N25	- N21	- C20	= 120.0(3)
H9A	- C9	- H9B	= 107.8	N21	- C22	- C23	= 106.6(3)
C11	- C10	- C9	= 113.8(2)	N21	- C22	- H22	= 126.7
C11	- C10	- H10A	= 108.8	C23	- C22	- H22	= 126.7
C9	- C10	- H10A	= 108.8	C22	- C23	- C24	= 105.0(3)
C11	- C10	- H10B	= 108.8	C22	- C23	- H23	= 127.5
C9	- C10	- H10B	= 108.8	C24	- C23	- H23	= 127.5
H10A	- C10	- H10B	= 107.7	N25	- C24	- C23	= 112.2(3)
O12	- C11	- C10	= 108.0(2)	N25	- C24	- C26	= 119.4(3)
O12	- C11	- H11A	= 110.1	C23	- C24	- C26	= 128.4(3)
C10	- C11	- H11A	= 110.1	C24	- N25	- N21	= 103.1(3)
O12	- C11	- H11B	= 110.1	F28	- C26	- F27	= 107.8(3)
C10	- C11	- H11B	= 110.1	F28	- C26	- F29	= 105.3(3)
H11A	- C11	- H11B	= 108.4	F27	- C26	- F29	= 104.4(3)
C13	- O12	- C11	= 117.8(2)	F28	- C26	- C24	= 111.7(3)
O12	- C13	- C14	= 125.0(3)	F27	- C26	- C24	= 113.9(3)
O12	- C13	- C18	= 116.2(2)	F29	- C26	- C24	= 113.2(3)
C14	- C13	- C18	= 118.8(3)				

Torsion angles [°]

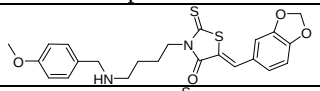
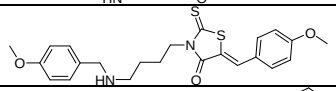
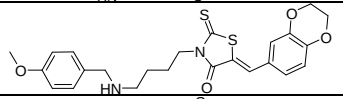
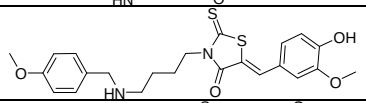
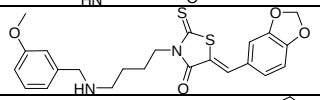
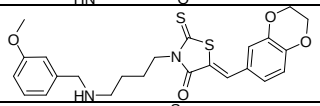
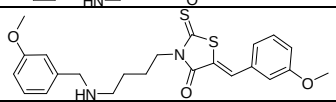
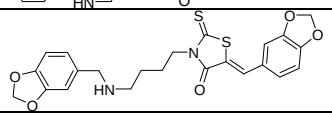
C1	- O2	- C3	- C4	= -0.3(4)	C19	- C16	- C17	- C18	= -179.2(3)
C1	- O2	- C3	- C8	= 179.7(3)	C16	- C17	- C18	- C13	= -0.6(5)
O2	- C3	- C4	- C5	= 179.9(3)	O12	- C13	- C18	- C17	= -179.2(3)
C8	- C3	- C4	- C5	= 0.0(4)	C14	- C13	- C18	- C17	= 1.6(4)
C3	- C4	- C5	- C6	= -0.3(4)	C15	- C16	- C19	- C20	= -20.4(5)
C4	- C5	- C6	- C7	= 0.1(4)	C17	- C16	- C19	- C20	= 158.5(3)
C4	- C5	- C6	- C9	= 178.9(3)	C16	- C19	- C20	- N21	= -174.8(3)
C5	- C6	- C7	- C8	= 0.5(4)	C19	- C20	- N21	- C22	= -100.7(4)
C9	- C6	- C7	- C8	= -178.4(3)	C19	- C20	- N21	- N25	= 81.6(4)
C6	- C7	- C8	- C3	= -0.8(5)	N25	- N21	- C22	- C23	= 0.6(4)
C4	- C3	- C8	- C7	= 0.6(4)	C20	- N21	- C22	- C23	= -177.3(3)
O2	- C3	- C8	- C7	= -179.4(3)	N21	- C22	- C23	- C24	= -0.3(4)
C5	- C6	- C9	- C10	= -85.3(3)	C22	- C23	- C24	- N25	= -0.1(4)
C7	- C6	- C9	- C10	= 93.5(3)	C22	- C23	- C24	- C26	= 178.8(3)
C6	- C9	- C10	- C11	= -176.4(3)	C23	- C24	- N25	- N21	= 0.4(3)
C9	- C10	- C11	- O12	= 64.5(3)	C26	- C24	- N25	- N21	= -178.6(2)
C10	- C11	- O12	- C13	= -178.0(2)	C22	- N21	- N25	- C24	= -0.6(3)
C11	- O12	- C13	- C14	= -2.4(4)	C20	- N21	- N25	- C24	= 177.4(2)
C11	- O12	- C13	- C18	= 178.5(3)	N25	- C24	- C26	- F28	= -171.7(3)
O12	- C13	- C14	- C15	= 179.1(3)	C23	- C24	- C26	- F28	= 9.5(5)
C18	- C13	- C14	- C15	= -1.8(4)	N25	- C24	- C26	- F27	= 65.9(4)
C13	- C14	- C15	- C16	= 1.1(5)	C23	- C24	- C26	- F27	= -112.9(4)
C14	- C15	- C16	- C17	= 0.0(5)	N25	- C24	- C26	- F29	= -53.1(4)
C14	- C15	- C16	- C19	= 178.9(3)	C23	- C24	- C26	- F29	= 128.1(3)
C15	- C16	- C17	- C18	= -0.2(5)					

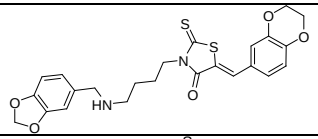
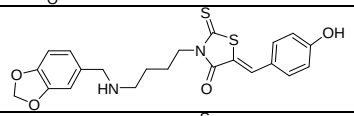
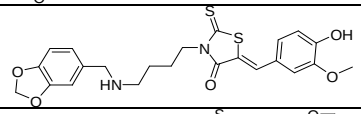
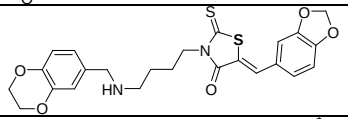
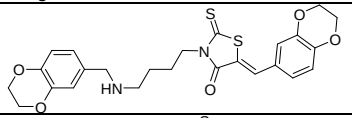
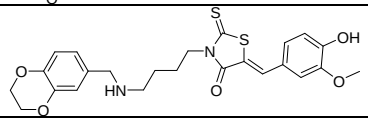
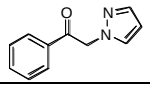
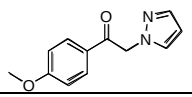
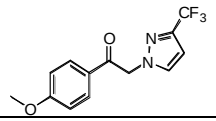
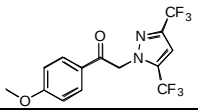
Structure visualisation

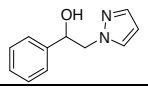
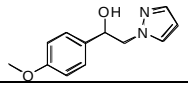
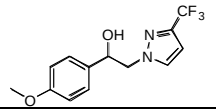
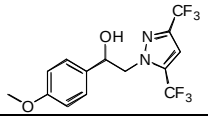
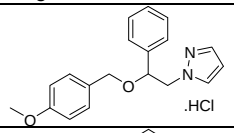
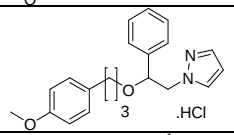
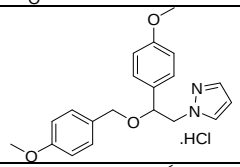
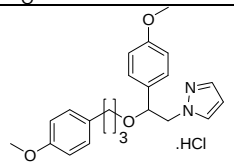
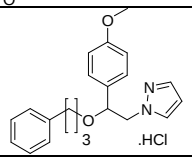


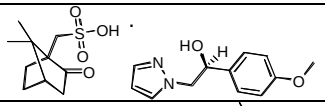
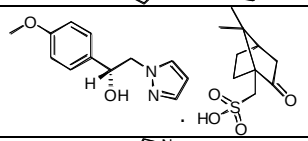
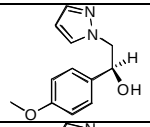
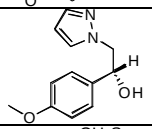
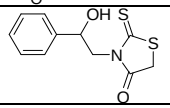
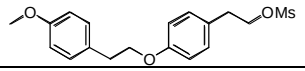
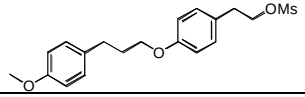
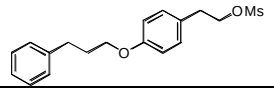
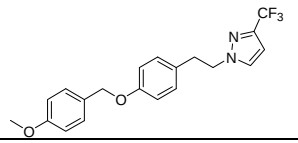
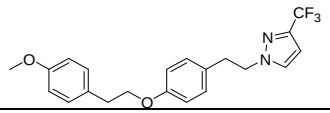
ANNEXE 5: Résultats biologique pour l'ensemble de la chimiothèque issue de cette étude

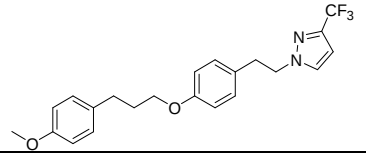
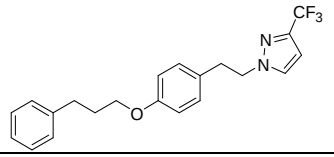
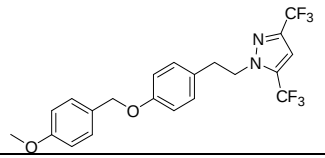
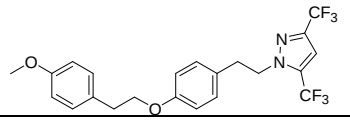
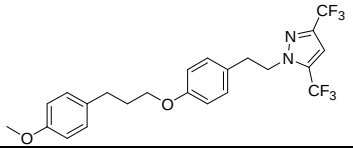
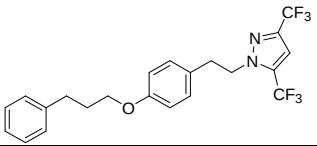
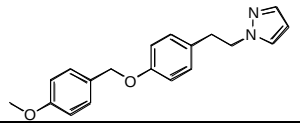
1. Test d'inhibition des kinases

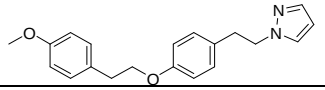
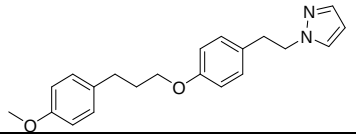
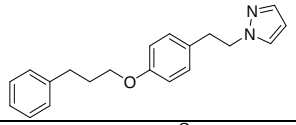
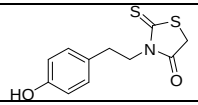
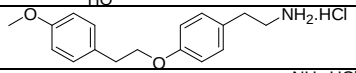
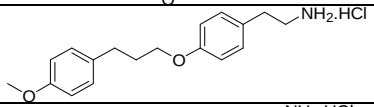
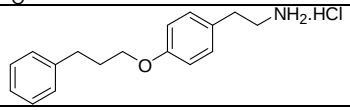
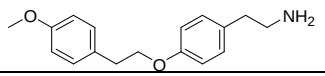
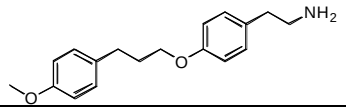
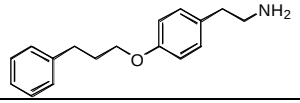
			CI_{50} (µM)												
Composé		CDK5 /p25	CDK2/ Cyclin A	CDK9/ Cyclin T	CLK1	DYRK1A	GSK3 α/β	*Pf*GSK3	CK1 δ/ε	*Lm*CK1	PIM1	*Ld*Tlk	Haspin	RIPK3	Aurora B
9a		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9b		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9c		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9d		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9e		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9f		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9g		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9h		**1,1**	NT	NT	NT	NT	>10	>10	**6,6**	≥ 10	NT	>10	>10	NT	NT

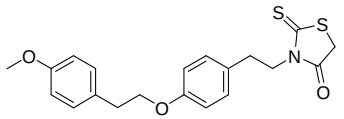
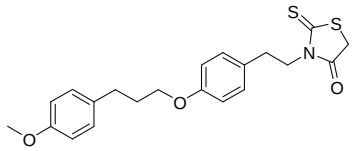
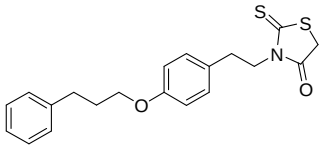
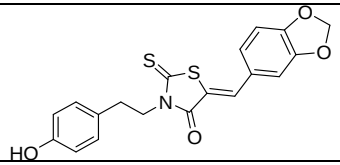
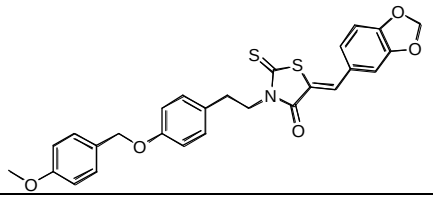
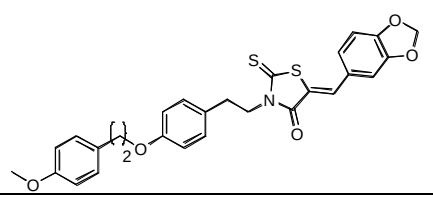
9i		**1,3**	NT	NT	NT	NT	>10	>10	**5,1**	≥ 10	NT	>10	>10	NT	NT
9j		**10**	NT	NT	NT	NT	>10	>10	**1,4**	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9k		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9l		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9m		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
9n		**10**	NT	NT	NT	NT	>10	>10	**2**	≥ 10	NT	>10	>10	NT	NT
12a		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
12b		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
12c		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
12d		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

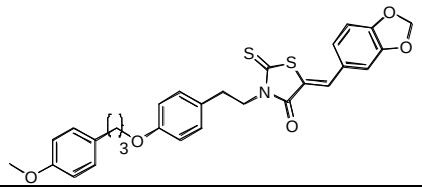
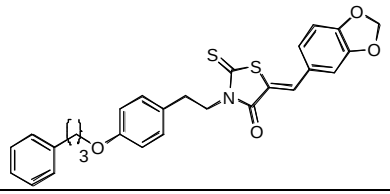
13a		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
13b		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
13c		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
13d		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
16a		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
16b		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
16c		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
16d		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
16e		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

17a		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
17b		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
18a		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
18b		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
23		>10	NT	NT	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
28b		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
28c		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
28d		>10	NT	NT	>10	>10	**4**	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30a		>10	NT	NT	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30b		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

30c		>10	NT	NT	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30d		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
30e		>10	NT	NT	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30f		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30g		>10	NT	NT	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30h		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30i		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10

30j		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30k		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
30l		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
33		>10	NT	NT	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
36b		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
36c		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
36d		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
37b		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
37c		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
37d		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10

38b		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
38c		>10	NT	NT	>10	>10	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	>10	>10
38d		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
39		>10	NT	NT	NT	NT	>10	>10	>10	>10	NT	>10	>10	NT	NT
40a		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
40b		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

40c		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
40d		>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10

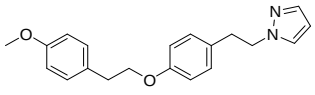
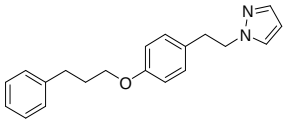
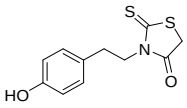
2. Tests anticancéreux

	Toxicité à 25 µM (48 h dose unique) & *IC_{50} (48 h; 6 concentrations de 0.1 à 25 µM)*								
Composé	**Huh7**	**Caco2**	**MDA**	**HCT116**	**PC3**	**NCI**	**HaCat**	**Fibroblaste**	**MCF7**
9a	85	109	100	109	92	104	103	104	NT
9b	105	108	97	102	99	90	104	167	NT
9c	88	93	92	97	97	95	101	102	NT
9d	7 (10)	23 (15)	15 (11)	1 (10)	41 (17)	11 (10)	2 (10)	29 (23)	NT
9e	74	97	97	99	85	102	86	122	NT
9f	102	110	98	113	98	96	100	134	NT
9g	111	117	104	118	98	95	110	100	NT
9h	7 (10)	42 (14)	49 (10)	65 (13)	51 (13)	43 (>25)	10 (10)	80 (23)	NT
9i	5 (9)	17 (13)	17 (9)	8 (14)	39 (14)	9 (11)	6 (8)	54 (19)	NT
9j	22 (11)	41 (27)	42 (19)	40 (22)	38 (19)	33 (19)	21 (13)	77 (>25)	NT
9k	72	98	92	98	83	96	80	84	NT
9l	90	105	98	106	93	96	95	128	NT
9m	97	107	99	103	96	98	94	149	NT
9n	41 (15)	28 (16)	55 (15)	52 (21)	61 (19)	63 (17)	48 (15)	86 (>25)	NT
12a	102	91	106	85	100	135	NT	NT	72
12b	132	100	117	100	103	152	NT	NT	110
12c	108	104	103	120	100	107	NT	112	118
12d	127	93	99	128	99	90	NT	105	106
13a	121	100	103	109	108	137	NT	NT	92
13b	117	109	119	112	108	123	NT	NT	120
13c	91	93	104	117	99	90	NT	106	115
13d	120	100	89	112	101	102	NT	104	96
16a	84	94	94	126	100	77	97	NT	NT
16b	83	101	101	142	95	96	NT	102	88
16c	107	94	107	117	98	96	NT	97	106
16d	58 (4)	58 (28)	61 (38)	82 (>25)	81 (>25)	101 (>25)	NT	98 (>25)	61 (>25)
16e	81	69	68	115	90	83	NT	106	83
17a	95	108	101	124	108	105	101	NT	NT
17b	98	98	99	125	104	105	90	NT	NT
18a	97	97	101	116	107	92	91	NT	NT
18b	91	91	103	129	103	99	94	NT	NT

23	88	82	92	91	87	106	104	NT	NT
28b	122	93	118	104	109	144	NT	NT	125
28c	111	97	122	105	108	132	NT	NT	106
28d	103	103	124	116	115	135	NT	NT	119
30a	83	70	111	84	79	108	87	NT	NT
30b	58 (3)	48 (19)	90 (30)	104 (>25)	84 (>25)	110 (>25)	NT	98 (>25)	52 (32)
30c	68	75	126	85	76	69	90	NT	NT
30d	103	76	98	109	89	91	NT	102	94
30e	108	76	118	98	104	94	99	NT	NT
30f	123	100	110	98	104	132	NT	NT	97
30g	118	57	113	93	74	101	94	NT	NT
30h	80 (>25)	56 (>25)	66 (>25)	53 (>25)	77 (>25)	76 (>25)	NT (>25)	NT	44 (>25)
30i	104	96	112	93	102	145	NT	NT	86
30j	72 (33)	64 (17)	116 (>25)	81 (23)	96 (>25)	136 (>25)	NT (>25)	NT	77 (>25)
30k	96	82	112	107	102	154	NT	NT	102
30l	80	92	98	92	89	99	NT	NT	95
33	7 (7)	9 (3)	30 (2)	1 (2)	23 (4)	13 (4)	13 (5)	NT	NT
36b	118 (>25)	100 (38)	99 (>25)	9 (8)	104 (>25)	131 (>25)	NT (>25)	NT	72 (>25)
36c	53 (28)	84 (>25)	33 (>25)	67 (>25)	94 (>25)	135 (>25)	NT (>25)	NT	81 (>25)
36d	121	87	95	94	108	136	NT	NT	94
37b	114 (>25)	103 (23)	98 (>25)	12 (6)	103 (>25)	138 (>25)	NT (>25)	NT	47 (36)
37c	65 (24)	100 (27)	56 (44)	88 (25)	102 (25)	139 (46)	NT (>25)	NT	122 (>25)
37d	100	108	75	103	104	106	NT	NT	102
38b	90 (>25)	50 (>25)	36 (20)	38 (10)	90 (>25)	82 (>25)	NT	105 (>25)	30 (20)
38c	87 (28)	66 (17)	90 (>25)	72 (19)	82 (22)	107 (22)	NT (>25)	NT	89 (34)
38d	80 (>25)	55 (>25)	65 (>25)	58 (>25)	95 (6)	73 (>25)	NT	105 (>25)	72 (3)
39	51 (19)	53 (>25)	50 (18)	100 (>25)	59 (>25)	75 (>25)	80 (>25)	88 (>25)	NT
40a	477	204	258	301	128	217	NT	230	135
40b	101	76	95	118	90	85	NT	106	70
40c	101	98	95	122	95	92	NT	107	125
40d	83	72	73	84	89	102	NT	98	95
DMSO	100 (> 25)	100 (> 25)	100 (> 25)	100 (> 25)	100 (> 25)	100 (> 25)	100 (> 25)	100 (> 25)	100 (> 25)
Roscovitine	21 (17)	3 (15)	21 (15)	10 (9)	24 (10)	30 (25)	6 (15)	53 (25)	82 (11)
Doxorubicine	63 (0,04)	43 (0,05)	38 (0,01)	22 (0,03)	34 (0,03)	65 (0,01)	26 (0,03)	74 (25)	67 (0,02)
Taxol	34 (0,02)	29 (0,07)	41 (0,15)	9 (<0,001)	35 (<0,001)	59 (0,05)	11 (0,001)	76 (25)	77 (0,02)

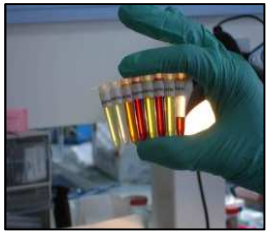
NT: non testé

3. Test sur les SOCE (Faible dose)

			Cellules HEK	
Composé	**Structure**	**Concentration (µM)**	**Pic Tg**	**Pic SOC**
30j		1	-10,6	-9,2
		0,1	-7,0	-17,3
		0,05	-15,5	-2,2
		0,01	-16,1	-10,8
30l		1	4,6	10,3
		0,1	-3,5	5,3
		0,05	5,2	17,9
		0,01	-13,0	-16,6
33		1	3,1	-2,4
		0,1	-0,2	-8,1
		0,05	-3,7	-14,4
		0,01	-9,5	-18,4

ANNEXE 6: Matériel utilisé pour les tests biologiques

1. Chaîne de criblage moléculaire pour les tests sur kinases *(Photos fournies par la plateforme de Roscoff)*





Mise en solution des composés

Perkin, TopCount.NXT



Compteur à scintillation

Perkin, Filtermate



Filtreur/laveur pour plaque

Perkin, JANUS®

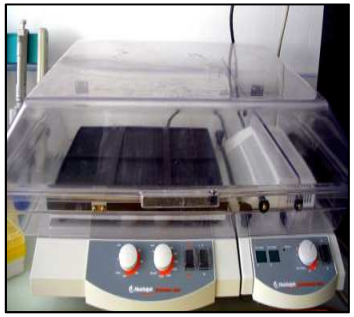


Robot de distribution: Préparation des plaques

Thermo Scientific, Multidrop™



Robot de distribution: ^{33}ATP- γ P



Incubateur pour microplaques

2. Compteur Thermo Scientific Cellomics (Array Scan VTI HCS Reader) (Test anticancéreux)



Photo: Dago Déliko

Compteur Thermo Scientific Cellomics

3. Flexstation (test sur les SOCE)



Photo: Dago Déliko

Flexstation

RESUMÉ

Ce travail de thèse a eu pour but la synthèse de nouveaux composés hétérocycliques (rhodanines et pyrazoles) potentiellement actifs sur des protéines kinases, des lignées cellulaires tumorales, les influx SOCE (Store Operated Calcium Entry) et a ciblé principalement comme pathologies la malaria, la leishmaniose et le cancer.

La première partie de cette étude a permis la synthèse d'une nouvelle famille de dérivés 5-arylidène rhodanines dissymétriques comportant un bras espaceur diaminé et ce par l'intermédiaire de la technologie micro-onde. Sur les 7 protéines kinases testées avec ces composés, CK1δ/ε et CDK5/p25 ont été inhibées spécifiquement avec des CI_{50} comprises entre 1,1 et 10 µM. L'activité anticancéreuse enregistrée est moyenne avec des CI_{50} variant de 8 à 23 µM.

Les travaux réalisés au cours de la seconde partie de cette étude se sont appuyés sur le SKF-96365 comme modèle structural et ont permis d'accéder à 3 librairies inédites d'analogues comportant les plateformes pyrazole et rhodanine. L'activité pharmacologique visée ici était une modulation des influx SOCE et diverses variations structurales ont été effectuées en vue de réaliser une étude Relation Structure-Activité (RSA). Plusieurs analogues "pyrazoles" ont montré une activité supérieure à celle du SKF-96365 et de la GSK-7975A sur les influx SOCE de la lignée HEK-293. Les 2 composés montrant la meilleure activité (**30f** et **30h**), sont également plus actifs que la Synta 66 aux faibles concentrations. Ces analogues ont également une activité sélective des canaux SOCE concernés car totalement inactifs sur l'ensemble des protéines kinases testées. Les CI_{50} les plus significatives pour l'activité anticancéreuse varient entre 3 et 8 µM.

Mots clés: micro-onde, rhodanine, pyrazole, SKF-96365, influx SOCE, protéine kinase, cancer, malaria, leishmaniose.

ABSTRACT

This thesis work has been aimed the synthesis of new heterocyclic compounds (rhodanines and pyrazoles) potentially active on kinase proteins, tumor cell lines, SOCE impulses (Store Operated Calcium Entry) and has mainly targeted pathologies such as malaria, leishmaniasis and cancer.

The first part of this study allowed the synthesis of a new family of 5-arylidene rhodanine derivatives asymmetric having a diamino spacer arm and via microwave technology. Of the 7 protein kinases tested with these compounds, CK1δ/ε and CDK5/p25 have been specifically inhibited with IC_{50} between 1.1 and 10 µM. The recorded anticancer activity is average with IC_{50} ranging from 8 to 23 µM.

The work carried out during the second part of this study was based on SKF-96365 as structural model and provided access to 3 unpublished libraries of analogs containing pyrazole and rhodanine platforms. The desired pharmacological activity was SOCE modulating and various structural changes were made to undertake a study Structure-Activity Relationship (SAR). Several "pyrazole" analogs have shown a higher activity than SKF-96365 and GSK-7975A on SOCE of HEK-293 line. The two compounds showing the best activity (**30f** and **30h**) are also more active than Synta 66 at low concentrations. These analogs are completely inactive on all protein kinases tested, indicating selectivity for SOCE channels concerned. The most significant IC_{50} for the anticancer activity vary between 3 and 8 µM.

Keywords: microwave, rhodanine, pyrazole, SKF-96365, SOCE impulse, protein kinase, cancer, malaria, leishmaniasis.