

THESE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université Louis Pasteur (Strasbourg I)

Discipline : Chimie Organique
Spécialité : Pharmacochimie

Présentée par

Malik HELLAL

**Phtalazinones et 2,3-benzodiazépinones
dérivées de l'azélastine :
Synthèses et activités anti-cytokine**

Soutenue publiquement le 8 octobre 2007

Membres du Jury :

Mme Françoise COLOBERT,
Professeur, Université Strasbourg I

Rapporteur interne

M. Jean-Daniel BRION,
Professeur, Université Paris XI

Rapporteur externe

M. Steven NOLAN,
Professeur, Institut Català d'Investigació Química

Rapporteur externe

M. Jean-Jacques BOURGUIGNON,
Directeur de recherches CNRS, Université Strasbourg I

Directeur de thèse

M. Camille-Georges WERMUTH,
Professeur, Université Strasbourg I

Examineur

Je dédie cette thèse,

A Perrine,

Pour m'avoir accompagné, encouragé et surtout supporté pendant ces trois années.

A mes parents,

Pour leur soutien. Qu'ils trouvent dans ce travail une récompense des espoirs qu'ils ont su mettre en moi.

A toute ma famille et à mes amis.

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Pharmacochimie de la communication cellulaire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg dirigé par le Professeur Marcel Hibert. Je tiens à lui exprimer toute ma reconnaissance pour m'avoir accueilli.

Mes plus vifs remerciements vont également au Docteur Jean-Jacques Bourguignon (Directeur de Recherche au CNRS) qui m'a encadré durant ces trois années. Je le remercie pour l'intérêt qu'il a porté à ce sujet, pour la confiance qu'il m'a accordée ainsi que pour les conseils qu'il a su me prodiguer. Son enthousiasme, son expérience et sa disponibilité ont été d'une aide considérable. Je n'oublierai pas les « fameuses manip en parallèle lancées dans un coin de paillasse ».

Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements à Monsieur Jean-Daniel Brion, Professeur à l'Université de Paris XI et à Monsieur Steven Nolan, Professeur à l'Institut Català d'Investigació Química, pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail, ainsi qu'à Madame Françoise Colobert, Professeur de l'Université Strasbourg I, et Monsieur Camille-Georges Wermuth, Professeur de l'Université Strasbourg I, pour avoir pris le temps de juger cette thèse.

Je tiens également à exprimer ma très profonde reconnaissance au Docteur Frédéric Bihel (Chargé de Recherche au CNRS) qui a été indispensable à la réalisation de cette thèse. Depuis notre arrivée commune au laboratoire il y a trois ans, il m'a constamment encouragé et soutenu pour ainsi accompagner mes premiers pas en recherche. Je n'oublierai pas toutes ces années passées ensemble.

Je tiens à remercier le Docteur Martine Schmitt (Chargée de recherche au CNRS) pour sa grande disponibilité, ses conseils et son soutien.

Je remercie Cyril Antheaume pour son aide précieuse en RMN, Pascale Buisine et Patrick Wehrung pour les analyses en spectrométrie de masse et surtout pour avoir supporté mon harcèlement presque quotidien.

Je remercie aussi le Dr. Pascal Villa (IFR 85) sans qui je n'aurais pu présenter de résultats pharmacologiques.

Un remerciement particulier au Docteur Bruno Didier pour sa bonne humeur, sa disponibilité et pour m'avoir sauvé maintes fois des aléas de l'informatique.

Je remercie chaleureusement toutes les personnes de l'UMR 7175 qui m'ont accompagné pendant cette thèse : Alexandre, Arthur, André, Benoît, Carolina, Céline, Chris, Claire, Dominique, Emilie, Etienne, Françoise, François, Gaëlle, Hadjila, Jaqz, Jean-Phi, Joao, Marianne, Marie-Céline, Mathieu, Pascal, Patrick dit L'escroc, Ricardo, Ronan, Saïd, Seb, Stéphanie, Séverine, Thomas et tous ceux que j'oublie...

Je remercie la région Alsace pour avoir financé ce projet.

Enfin, je n'oublie pas les personnes qui ont cru en moi pendant toutes ces années.

Liste des abréviations

Ac	Acétyle
AcOEt	Acétate d'éthyle
AcOH	Acide acétique
ADME	Absorption Distribution Métabolisation Excrétion
ADN	Acide désoxyribonucléique
AgTFA	Trifluoroacétate d'argent
AlCl ₃	Trichlorure d'aluminium
AIBN	Azobisisobutyronitrile
AINS	anti-inflammatoires non-stéroïdiens
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
AP-1	Activator Protein-1
APTS	Acide para-toluène sulfonique
Ar	Aryle
ARN	Acide ribonucléique
5-ASA	Acide 5-amino salicylique
AuCl ₃	Trichlorure d'or
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BINAP	2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphthyle
Bn	Benzyle
Boc	<i>Tert</i> -butyloxycarbonyl
Boc ₂ O	Di- <i>tert</i> -butyldicarbonate
BZD	Benzodiazépine
Br ₂	Brome
C	Charbon
°C	Degré(s) Celsius
cat.	Catalytique
CCM	Chromatographie sur couche mince
CI ₅₀	Concentration requise pour l'inhibition à 50% de l'activité biologique
COSY	Homonuclear correlation spectroscopy
COX	Cyclooxygénases
Cs ₂ CO ₃	Carbonate de césium
Cu	Cuivre
CuBr	Bromure de cuivre
CuCl	Chlorure de cuivre
CuI	Iodure de cuivre
CuCl ₂	Dichlorure de cuivre
Cu ₂ O	Oxyde de cuivre
CuOAc	Acétate de cuivre
Cu(OAc) ₂	Diacétate de cuivre
CuCN	Cyanure de cuivre
CuTc	Thiophène-2-carboxylate de cuivre
Cu(OTf) ₂	Ditriplate de cuivre
Cy	Cyclohexyle
δ	Déplacement chimique exprimée en ppm
Δ	Chauffage
d	Doublet
DCM	Dichlorométhane

dd	Doublet dédoublé
ddd	Doublet dédoublé dédoublé
DMAP	4-(diméthylamino)-pyridine
DMB	2,4-diméthoxybenzyle
DME	1,2-diméthoxyéthane
DMF	N,N-diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EDC	1-[3-(diméthylamino)propyl]-3-éthylcarbodiimide
équiv.	Equivalent
ESI	Electrospray
Et	Ethyle
EtOH	Ethanol
Et ₂ O	Ether diéthylique
GC	Glucocorticoïdes
g	Gramme(s)
h	Heure(s)
H	Histamine
H ₂	Hydrogène
HBTU	Hexafluorophosphate de 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tétraméthyluronium
HCl	Acide Chloridrique
H ₂ O	Eau
Het	Hétérocycle
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMPA	Hexaméthylphosphotriamide
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HRMS	High Resolution Mass Spectrum
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
H ₂ SO ₄	Acide sulfurique
Hz	Hertz
IFN- γ	Interféron γ
ICE	IL-1 Converting Enzyme
IL	interleukine
iPr	Isopropyle
iNOS	Inductive NO synthase
I.R.	Infrarouge.
J	Constante de Couplage
j	Jour(s)
K ₂ CO ₃	Carbonate de calcium
kDa	KiloDalton(s)
LC-MS	HPLC couplé à un spectrophotomètre de masse
LiAlH ₄	Hydruire d'aluminium lithium
LPS	Lipopolysaccharides
LT	Leucotriènes
μ L	Microlitre(s)
m	Mètre(s)
m	Multiplet
mm	Millimètre(s)
mL	Millilitre(s)
mmol	Millimolaire(s)
mg	Milligramme(s)

MHz	Mégahertz
min.	Minute(s)
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinase
MC	Maladie de Crohn
Me	Méthyle
MeCN	Acétonitrile
MeOH	Méthanol
MICI	Maladie inflammatoire chronique intestinale
MMP	Matrix MetalloProtease
MO	Microondes
Ms	Mésyle
ν	Fréquence en I.R. (exprimé en Hz)
NaBH ₃ CN	Cyanoborohydrure de sodium
NaCl	Chlorure de sodium
NaH	Hydrure de sodium
NaHCO ₃	Hydrogénocarbonate de sodium
Na ₂ SO ₄	Sulfate de sodium
NO ₂	Nitro
nb	Nombre
nBuLi	n-butyl lithium
nBuOH	n-butanol
NF- κ B	Nuclear Factor- κ B
NHC	N-heterocyclic carbene
NIS	N-iodosuccinimide
NOE	Nuclear Overhauser effect
Nos	Nosyle
OAc	Acétate
OEt	Ethoxy
OMe	Méthoxy
OTf	Triflate
PAF	Platelet Activating Factor
PCC	Pyridium chlorochromate
Pd	Palladium
pf	Point de fusion
PG	Prostaglandines
Ph	Phényle
PKC	Protéine Kinase C
PLA2	Phospholipase A2
PNN	Polynucléaires neutrophiles
POCl ₃	Oxyde de trichlorure de phosphore
PPA	Polyphosphoric acid
ppm	Partie par million
PR	Polyarthrite rhumatoïde
RCPG	Récepteurs couplés à des protéines G
Rdt	Rendement
Rf	Rapport frontal
RMN	Résonance magnétique nucléaire
R-H ₁	Récepteurs Histamine 1
SmI ₂	Iodure de samarium
SOCl ₂	Chlorure de thionyle

Sat.	Saturée
S_NAr	Substitution nucléophile aromatique
TACE	TNF Alpha Converting Enzyme
TBAF	Tétrabutylammonium fluoride
TBP	TNF Binding Protein
tBu	<i>Tert</i> -butyle
tBuOH	<i>Tert</i> -butanol
tBuOK	<i>Tert</i> -butanolate de potassium
t.a.	Température ambiante
TEA	Triéthylamine
Tf ₂ O	Anhydride triflique
TFA	Trifluoroacétique acid
TGF- β	Transforming Growth Factor
THF	Tétrahydrofurane
Thp	T helper précurseurs
TIMP	Inhibiteurs tissulaires endogènes des métalloprotéases
TMS	Triméthylsilane
TNF- α	Tumor Necrosis Factor α
TNF-R	TNF-recepteur
Ts	Tosyle
TX	Thromboxane
Xantphos	4,5-Bis(diphénylphosphino)-9,9-diméthylxanthène

Résumé

La recherche rationnelle de nouveaux **anti-inflammatoires** s'appuie en général sur la connaissance d'une protéine-cible (récepteurs, enzymes) impliquée dans l'un des processus complexes de la réponse inflammatoire. Une seconde approche, plus innovante, repose sur l'utilisation d'un modèle non plus moléculaire, mais cellulaire. Il s'agit de monocytes humains qui, sous l'action de lipopolysaccharides (LPS), provoquent la libération de messagers (cytokines) du signal inflammatoire.

Le **TNF- α** est une cytokine pro-inflammatoire pivot fortement impliquée dans les maladies inflammatoires chroniques telles que la **polyarthrite rhumatoïde** (PR) ou la **maladie de Crohn** (MC). Sa neutralisation est bénéfique dans la plupart de ces maladies, comme l'atteste l'efficacité des thérapies basées sur l'utilisation des anticorps anti-TNF- α dans la PR ou la MC. Néanmoins, les traitements actuels, ne sont pas efficaces chez tous les patients et sont à l'origine de nombreux effets secondaires.

Le développement d'agents synthétiques anti-TNF- α présentent un double intérêt : un coût nettement plus faible (comparé aux anticorps), et une possibilité d'administration par voie orale. C'est dans ce contexte que ce travail de thèse a été élaboré.

L'**azélastine** est un **anti-histaminique** commercial. Associée à une activité antagoniste sur les récepteurs H₁ de l'histamine, l'azélastine possède une faible composante anti-TNF- α . L'azélastine est constitué d'un cycle phtalazinone sur lequel est greffé un groupement lipophile en position 4 et un groupement cationique en position 2.

Une étude des relations structure-activité concernant ces groupements a été réalisée via des substitutions nucléophiles aromatiques, des couplages pallado-catalysés, ou des réactions d'alkylation. La **phtalazinone** a été remplacée par différents hétérocycles (**pyridazinone**, benzodiazépinone). Ces modifications autour de l'azélastine nous ont amené à développer de nouvelles méthodologies autour d'un châssis moléculaire peu étudié, les **2,3-benzodiazépines**. Ces travaux ont porté aussi bien sur la synthèse que la fonctionnalisation de cet hétérocycle.

Enfin, dans l'optique de synthétiser de nouveaux châssis moléculaires, nous avons développé une méthode originale de **cycloisomérisation** régiosélective catalysée par un acide de Lewis en présence d'un acide de Brønsted donnant accès à différentes « **2,3-hétéroaryldiazépines** ».

Ces travaux ont permis d'identifier un composé possédant une activité submicromolaire sur l'inhibition de la libération monocyttaire de TNF- α .

Mots-clés : Anti-inflammatoires, TNF- α , Azélastine, Phtalazinones, Pyridazines, 2,3-benzodiazépines, Cycloisomérisation 6-endo *dig*.

SOMMAIRE

Sommaire

Chapitre I. L'inflammation	14
1. Les mécanismes de l'inflammation	15
1.1. Définition	15
1.2. Les médiateurs de l'inflammation	16
1.2.1. La composante cellulaire	16
a) Les granulocytes	16
b) Les monocytes et les macrophages	17
c) Les lymphocytes	18
d) Les mastocytes et les basophiles	19
e) Les cellules endothéliales vasculaires	19
1.2.2. Les médiateurs solubles de l'inflammation	19
a) Les médiateurs lipidiques de l'inflammation	19
b) Les cytokines	21
• Le <i>Tumor Necrosis Factor</i> (TNF)	21
• Les <i>Interleukines</i> (IL)	22
• Autres cytokines	24
2. La réaction inflammatoire aiguë non spécifique	25
2.1. Déclenchement de la réaction	25
2.2. Recrutement des cellules immunocompétentes	25
2.3. Amplification de la réaction	26
2.4. Retour à l'homéostasie ou passage à la chronicité	26
3. Les maladies inflammatoires chroniques	27
3.1. La polyarthrite rhumatoïde (PR)	27
3.2. La maladie de Crohn (MC)	29
3.3. Mécanismes physiologiques communs et implications thérapeutiques	31
4. Stratégies thérapeutiques	33
4.1. Les thérapies actuelles	33
4.1.1. Les glucocorticoïdes (GC)	33
4.1.2. Les stratégies anti-TNF- α	34
4.1.3. Les dérivés salicylés	35
4.1.4. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)	35
4.1.5. Autres stratégies	36
4.2. Les thérapies en développement : les anti-TNF- α	37
4.2.1. Stratégies utilisant les cytokines	37
4.2.2. Stratégies anti-cytokines	38
4.2.3. Les inhibiteurs de phosphodiesterase 4 (iPDE4)	39
4.2.4. Les inhibiteurs de la p38 MAP kinase	40
4.2.5. Les inhibiteurs de métalloprotéases	42
4.2.6. La voie NF- κ B	43
5. Les anti-histaminiques et l'inflammation	45
5.1. L'histamine	45
5.2. Les anti-histaminiques	46
5.3. Action anti-inflammatoire de certains anti-histaminiques	47
6. Objectifs	48

Chapitre II. Synthèse de dérivés de l'azélastine 51

1. Modifications structurales autour du cycle phtalazinone	52
1.1. Introduction	52
1.2. Modification structurale de la position 4 de l'azélastine	54
1.2.1. Introduction d'un groupement benzylique en position 4 de la phtalazine	54
a) Synthèse de dérivés benzylés catalysée par des métaux de transition	54
b) Synthèse de dérivés benzylés catalysée par S_NAr	57
1.2.2. Introduction d'autres groupements lipophiles en position 4 de la phtalazine	59
1.2.3. Conclusion	60
1.3. Introduction de la tête polaire en position 2 de la phtalazinone	61
1.3.1. Synthèse de la N-desméthyl-azélastine	61
1.3.2. Préparation des pipéridines O-mésylées	62
1.3.3. Insertion des différentes pipéridines en position 2 de la phtalazinone	63
1.3.4. Alkylation de l'azote pipéridinyle par amination réductrice	64
1.4. Conclusions et perspectives	64
2. Modifications structurales autour du cycle pyridazin-3-one	66
2.1. Objectifs	66
2.2. Introduction d'un groupe benzyle en position 6 de la pyridazinone	68
2.3. Préparation d'autres 6-aryl-pyridazin-3-ones	71
2.3.1. Préparation de l'intermédiaire-clé	71
2.3.2. Introduction de groupements lipophiles par couplage pallado-catalysé	72
2.3.3. Déprotection des pyridazinones N-benzylées par un acide de Lewis	73
2.4. Introduction du cycle pipéridine en position 2 de la pyridazinone	74
2.5. Conclusions	76

Chapitre III. Les 2,3-benzodiazépines : Synthèse et fonctionnalisation donnant accès à des analogues structuraux de l'azélastine 78

1. Objectifs	79
2. Données bibliographiques	81
3. Synthèse de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione	82
3.1. Essais de préparation de la 2,3-benzodiazépine-dione à partir d'hydrazines non ou mono-substituées	82
3.2. Synthèse de la 2,3-benzodiazépine-dione à partir d'hydrazines N,N'-disubstituées	85
3.2.1. Stratégie	86
3.2.2. Préparation de diverses hydrazines N,N'-disubstituées	87
3.2.3. Accès à la 2,3-benzodiazépine-1,4(5H)-dione	88
4. Synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépin-1-ones	90
4.1. Essais d'arylation de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione	90
4.1.1. Activation en condition acide des fonctions amides de la 2,3-benzodiazépinédione	91
4.1.2. Activation en condition basique des fonctions amides de la 2,3-benzodiazépinédione	92
4.2. Accès aux 4-aryl-2,3-benzodiazépinones à partir de l'anhydride homophtalique	93
4.3. Nouvelle voie de synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépinones	94

4.3.1. Synthèse des aryl-alcynylbenzoates par réaction de Sila-Sonogashira	95
4.3.2. Accès aux isocoumarines par cycloisomérisation	96
a) La cycloisomérisation 6-endo <i>dig</i>	96
b) Préparation des isocoumarines en présence d'un acide de Brønsted	98
c) Effet de groupements électrodonneurs	99
d) Effet de groupements électroattracteurs	99
e) Influence des hétérocycles azotés sur la cycloisomérisation	99
f) Conclusion	99
4.3.3. Réaction de condensation à l'hydrazine	100
5. Synthèse des 1-aryl-2,3-benzodiazépin-4-ones	102
5.1. Essais de préparation des 1-aryl-2,3-benzodiazépinones à partir de l'anhydride homophtalique	102
5.2. Accès aux 1-aryl-2,3-benzodiazépinones à partir de l'indanone	103
5.2.1. Introduction de l'aromatique sur l'indanone	104
a) Arylation par attaque nucléophile d'un organomagnésien	104
b) Arylation par une réaction de Suzuki-Miyaura	104
5.2.2. Clivage oxydatif et condensation avec l'hydrazine	105
6. Alkylation des 2,3-benzodiazépinones	106
6.1. Réactivité des 2,3-benzodiazépinones et de la 2,3-benzodiazépine-dione	106
6.2. Introduction du groupement pipéridinyle	108
6.3. Conclusions	109
7. Amination des 2,3-benzodiazépinones	110
7.1. Accès aux amino-2,3-benzodiazépinones par S_NAr	110
7.2. Amination activée par un métal de transition	111
7.2.1. Etude de la réactivité de l'amination activée par $TiCl_4$	112
7.2.2. Résultats de l'amination	113
7.2.3. Régiosélectivité de l'amination	116
8. Synthèse des « 2,3-hétéroaryldiazépinones »	118
8.1. Objectifs	118
8.2. Accès aux « 4-aryl-2,3-hétéroaryldiazépinones » à partir de dérivés pyridinyles	119
8.2.1. Préparation des phényléthynilnicotines	120
8.2.2. Cycloisomérisation en condition acide	120
8.2.3. Cycloisomérisation catalysée par un acide de Lewis	121
a) Données de la littérature	121
b) Optimisation des conditions de la cycloisomérisation	122
c) Utilisation d'un cosolvant	125
8.3. Extension de la réaction de cycloisomérisation à d'autres hétérocycles azotés	126
8.3.1. Synthèses des « esters alcynyl-hétérocycliques »	126
a) Autres dérivés pyridines	126
b) Dérivé pyrimidine	127
c) Dérivés d'indoles	128
• Accès au 3-alcynyl-indole-2-carboxylate d'éthyle	128
• Accès au 2-alcynyl-indole-3-carboxylate de méthyle	128
d) Dérivés imidazopyridines	132
e) Dérivé tétrahydropyridine	132
8.3.2. Cycloisomérisation des différents hétérocycles azotés	133
8.3.3. Synthèses des « 4-aryl-2,3-hétéroaryldiazépinones »	135
9. Conclusions	136

Chapitre IV. Evaluation de l'activité anti-cytokine de l'azélastine et de ses analogues structuraux	140
1. Objectifs	141
2. Résultats du test	142
3. Discussion	148
4. Conclusion	150
Conclusion générale et perspectives	152
Annexes	156
Partie expérimentale	168
Références bibliographiques	306

Chapitre I. L'inflammation

Chapitre I. L'inflammation

Ce chapitre a pour objectif d'introduire les mécanismes physiologiques liés à l'inflammation afin de comprendre les différentes stratégies thérapeutiques appliquées contre les maladies inflammatoires. Un éclairage particulier sera porté sur les traitements actuels ciblant certains mécanismes et/ou médiateurs clés de l'inflammation chronique, avant de présenter notre stratégie dans la quête de nouveaux anti-inflammatoires.

1. Les mécanismes de l'inflammation

1.1. Définition

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité (figure 1). L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire.

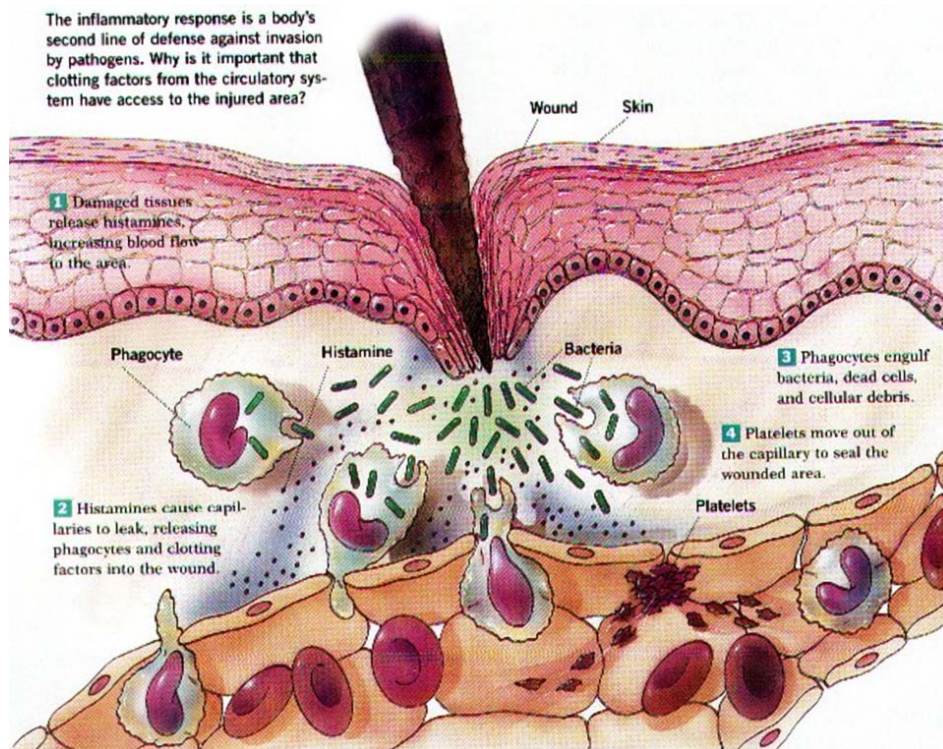


Figure 1. La réponse inflammatoire.

Ce processus comprend :

- **des phénomènes généraux**, exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, par de la fièvre (le plus souvent) et éventuellement une altération de l'état général.
- **des phénomènes locaux** : l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé. Les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage, cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète. Les tissus épithéliaux n'ont pas de rôle actif dans le déroulement de la réaction inflammatoire mais ils peuvent être altérés par l'agression qui déclenche l'inflammation puis être réparés au cours de la phase terminale de l'inflammation.

1.2. Les médiateurs de l'inflammation

Cette partie introduit les principaux médiateurs cellulaires et moléculaires de l'inflammation. Les acteurs, dont le rôle dans la pathogénie des maladies inflammatoires chroniques est connu, y sont particulièrement mis en relief.¹

1.2.1. La composante cellulaire

A l'exception des cellules endothéliales, toutes les cellules participant à la réponse inflammatoire et immunitaire ont pour origine des cellules souches de la moelle épinière. Ces dernières se différencient au niveau médullaire sous l'effet de cytokines et de facteurs de croissance particuliers avant d'être libérées dans la circulation générale.

a) Les granulocytes

Les granulocytes sont les cellules les plus nombreuses dans le sang périphérique. Ils regroupent les polynucléaires neutrophiles (PNN), éosinophiles et basophiles. En raison de leur caractère particulier, les caractéristiques des basophiles seront abordées dans un paragraphe commun avec les mastocytes.

Les **PPN** jouent essentiellement deux rôles : (1) la phagocytose des éléments étrangers et (2) la dégranulation. La phagocytose est l'ensemble des processus par lesquels la cellule englobe, dans une vacuole hydrolytique lysosomale, une structure figurée étrangère et/ou délétère. Les PPN sont également capables de synthétiser un grand nombre de médiateurs inflammatoires lipidiques [leucotriènes (LT) et prostaglandines (PG)], et cytokiniques [les

interleukines IL-1 β et IL-6 ou le Tumor Necrosis Factor α (TNF- α)]. Les PPN sont les cellules pivots de l'inflammation aigue.

Les **éosinophiles** résident essentiellement au niveau tissulaire. Ils libèrent différents médiateurs inflammatoires comme le Platelet Activating Factor (PAF) et les leucotriènes B4 (LTB4), une grande variété de cytokines pro-inflammatoires [IL-1, IL-6, Interféron- γ (IFN- γ), TNF- α] ainsi que des chimiokines comme l'IL-8. Au niveau pathologique, les éosinophiles ont été impliqués dans les lésions tissulaires liées à l'asthme allergique.

b) Les monocytes et les macrophages

Les monocytes représentent 2 à 10 % des leucocytes. Ce sont des cellules jeunes qui possèdent toutes les activités migratoires, chimiotactiques, phagocytaires et sécrétoires nécessaires à leur fonction. A terme, ils migrent dans les tissus où ils se différencient en macrophages tissulaires multifonctionnels (tableau 1).

Nom	Localisation
Histiocyte	thymus, rate et lganglions
Cellule de Kupffer	foie
Macrophage alvéolaire	poumon
Macrophage	plèvre et péritoine
Cellule de Langerhans	peau
Ostéoclaste	tissu osseux
Astrocyte	cerveau

Tableau 1. Localisations des macrophages tissulaires.

Les monocytes et macrophages sont des cellules phagocytaires. Ils libèrent des espèces réactives de l'oxygène, des enzymes hydrolytiques ou des protéases qui contribuent à la destruction d'éléments étrangers. Ils interviennent particulièrement dans l'amplification de l'inflammation par une libération massive de cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12), de facteurs chimiotactiques (IL-8), de prostaglandines ou de leucotriènes (essentiellement PGE2 et LTB4) qui contribuent au recrutement et à l'activation d'autres cellules immunitaires. Par une libération plus tardive de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10, ils contribuent à rétablir l'homéostasie au niveau du foyer inflammatoire.

Les monocytes sont considérés comme les **cellules pivots** de l'inflammation chronique. Ils jouent un rôle prépondérant dans la destruction tissulaire et l'entretien du processus inflammatoire.

c) Les lymphocytes

Il existe deux populations de lymphocytes (B et T) dont les rôles sont fondamentalement différents. Les lymphocytes B sont essentiellement impliqués dans la synthèse d'anticorps et dans l'immunité spécifique.

Les précurseurs des lymphocytes T donnent naissance à des **lymphocytes CD4** (régulateurs) et **CD8** (cytotoxiques ou suppresseurs). Les lymphocytes CD8 exercent des fonctions cytotoxiques qui leur permettent d'éliminer les cellules infectées par les pathogènes intracellulaires. Ils libèrent essentiellement de l'IFN- γ et du TNF- α . Leur implication dans les maladies inflammatoires est mal connue, et semble *a priori* mineur.

Les lymphocytes CD4 jouent en revanche un rôle régulateur majeur dans la réponse immunitaire et inflammatoire par la libération de cytokines spécifiques. Différentes sous-populations de lymphocytes T ont été identifiées : les cellules *T helper precursors* (Thp) qui se différencient, selon l'environnement cytokinique, en cellules de type Th1 avec un profil de sécrétion pro-inflammatoire (IL-2, IFN- γ , TNF- α), Th2 avec un profil anti-inflammatoire (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) ou Th3 (encore appelées Tr1 ou lymphocytes T régulateur), libérant du *Transforming Growth Factor* β (TGF- β) et de l'IL-10.

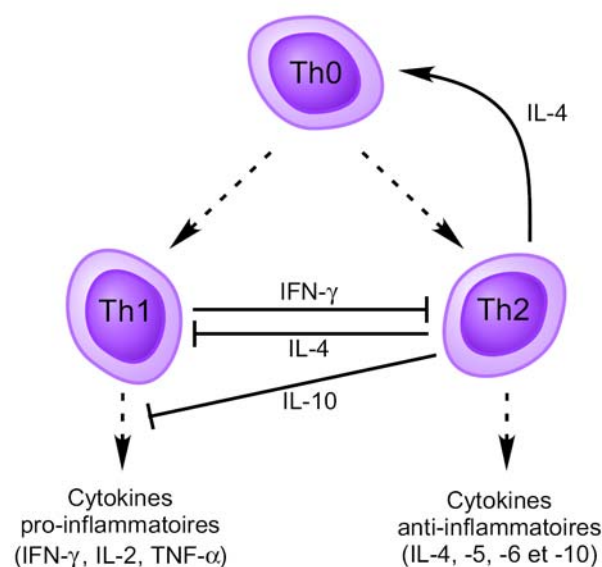


Figure 2. La balance lymphocytaire Th1/Th2

Les cellules Th1 et Th2 produisent des cytokines qui inhibent mutuellement l'activité et la prolifération de l'autre type cellulaire, définissant une « **balance Th1/Th2** » (figure 2).

Au niveau pathologique, un déséquilibre orienté vers un type cellulaire Th1 ou Th2 a été mis en évidence dans la plupart des maladies inflammatoires chroniques. La balance lymphocytaire pourrait constituer l'une des cibles d'intervention thérapeutique.

d) Les mastocytes et les basophiles

Les polynucléaires basophiles partagent par bien des aspects certaines des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles des éosinophiles.

Les mastocytes et les basophiles sont impliqués dans l'initiation du phénomène inflammatoire et le recrutement des cellules immunes. Plus tardivement, ils constituent également une source de cytokines : les mastocytes libèrent des cytokines pro-inflammatoires (IL-1- β , IL-6, IFN- γ , TNF- α ,) tandis que les basophiles sécrètent essentiellement des cytokines régulatrices (IL-4 et IL-13).

A l'heure actuelle, il semble que les mastocytes et les basophiles jouent essentiellement un rôle dans l'entretien et la formation de lésions dans l'**asthme**.²

e) Les cellules endothéliales vasculaires

L'intégralité de l'appareil cardiovasculaire est tapissée d'une monocouche de cellules endothéliales (l'endothélium), régulant l'ensemble des étapes impliquées dans le **transport** transendothélial des leucocytes au niveau du foyer inflammatoire.

1.2.2. Les médiateurs solubles de l'inflammation

a) Les médiateurs lipidiques de l'inflammation

Sous ce terme sont regroupés tous les produits terminaux du métabolisme de l'**acide arachidonique**, principalement les prostaglandines, les leucotriènes et le PAF. Cette voie métabolique est essentiellement catalysée par la **phospholipase A2** (PLA2) de type IV, une enzyme permettant la libération de l'acide arachidonique à partir des lipides membranaires. Deux voies enzymatiques principales divergent ensuite pour conduire, à partir de l'acide arachidonique, à la formation de médiateurs lipidiques de l'inflammation biologiquement actifs : la voie des **cyclooxygénases** (COX) et celles des **lipoxygénases** (figure 3).

L'activité COX conduit à la formation de **prostaglandine** (PG) et **thromboxane** (TX). Ces médiateurs sont essentiellement libérés, à des niveaux variables selon l'appareil enzymatique disponible, par les cellules endothéliales, les macrophages, les mastocytes, les plaquettes et les fibroblastes.

Les **leucotriènes** (LT) sont synthétisés par des réactions catalysées par les lipoxygénases. La **5-lipoxygénase** est une enzyme dont la distribution est limitée à certaines cellules d'origine médullaire, aux PNN, éosinophiles, basophiles, aux monocytes / macrophages, mastocytes et lymphocytes B.

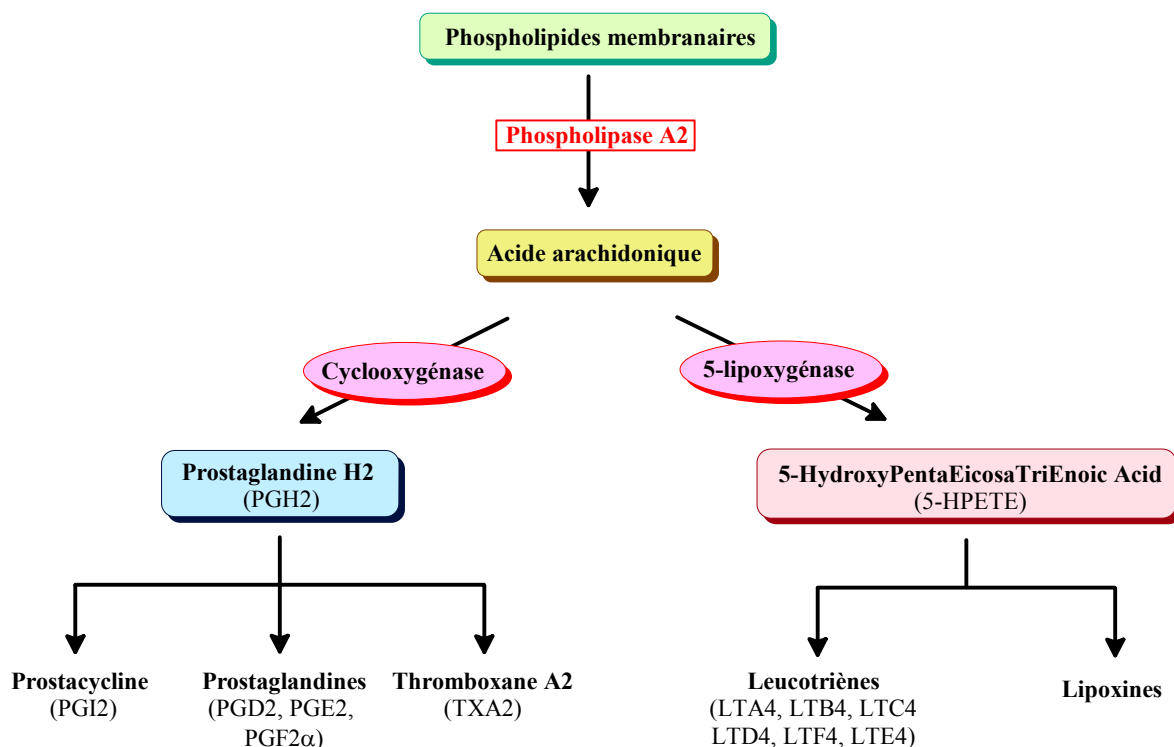


Figure 3. Biosynthèse des eicosanoïdes.¹

Les médiateurs inflammatoires lipidiques les plus puissants sont sans conteste la PGE2, la PGI2, et le LTB4 qui contribuent au recrutement des cellules immunitaires sur le site inflammatoire.

b) Les cytokines

Les cytokines constituent une famille de médiateurs pro-inflammatoires et immunorégulateurs, sécrétées principalement par les cellules effectrices du système immunitaire. Seuls le **TNF- α** (Tumor Necrosis Factor) et les **interleukines** IL-1 β , IL-6 et IL-8, jouent vraisemblablement un rôle majeur dans la plupart des maladies inflammatoires et seront abordés ici. Les activités biologiques d'autres cytokines intervenant dans la régulation des processus inflammatoires seront plus succinctement détaillées en fin de chapitre.

- Le Tumor Necrosis Factor (TNF)

Le TNF existe sous deux isoformes, α et β . Le TNF- β (ou lymphotoxine- α), essentiellement sécrété par les lymphocytes T activés, est l'isoforme le moins actif. Nous n'envisagerons ici que la description du TNF- α dont l'implication dans les maladies inflammatoires est certaine. Le TNF- α est une protéine soluble non glycosylée de 17 kDa constituée de 157 acides aminés. Sa maturation est assurée par clivage protéolytique d'une protéine transmembranaire de 26 kDa au moyen d'une métalloprotéase, la *TNF Alpha Converting Enzyme* (TACE).^{3,4} Son ADNc a été cloné en 1984 et les gènes codant pour les formes α et β ont été associés au chromosome 16 chez l'Homme.⁵ Son promoteur contient des séquences de fixation pour des facteurs de transcription comme le *Nuclear Factor- κ B* (NF- κ B) ou *Activator Protein-1* (AP-1).

Le TNF- α soluble sous sa forme trimérisée ainsi que son précurseur membranaire sont biologiquement actifs chez l'Homme.⁶ Le TNF- α est sécrété par une grande variété de cellules, essentiellement les monocytes et les macrophages, les PNN et dans une moindre mesure les lymphocytes T, les mastocytes et les fibroblastes.⁷

Le TNF- α agit en se fixant sur des récepteurs membranaires **TNF-R1** (encore appelé p55 ou CD120a) et **TNF-R2** (p75 ou CD120b), respectivement de 55 kDa et 75 kDa.^{8,9} Il existe des formes solubles des récepteurs au TNF- α (*soluble TNFR* ou *sTNFR*), ou dérivées de ces récepteurs (*TNF Binding Protein* ou *TBP*) qui moduleraient son activité biologique par capture de la cytokine circulante.^{10,11}

Les effets qui résultent de la fixation du TNF- α sur ces récepteurs sont relativement pléiotropes.^{12,13} En effet, le TNF- α induit la prolifération des lymphocytes, augmente le

recrutement et l'activité phagocytaire des PNN ainsi que le métabolisme oxydatif par la libération d'espèces réactives de l'oxygène.

In vivo, il est capable de stimuler la synthèse de diverses protéines comme certaines cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, IL-8, IFN- γ , TNF- α), la NO synthase inductible (iNOS) ou les métalloprotéases. En induisant l'expression de la COX, il stimule également la synthèse des médiateurs lipidiques de l'inflammation.¹⁴

Le rôle du TNF- α dans la pathogénie des maladies inflammatoires chroniques est maintenant clairement établi : outre sa présence à des taux anormalement élevés sur les sites inflammatoires des patients atteints de la maladie de Crohn (MC)¹⁵ ou de la polyarthrite rhumatoïde (PR),¹⁶ sa **neutralisation spécifique** par des agents chimiques ou biologiques s'est révélée être particulièrement efficace dans le traitement de ces maladies chez l'Homme, y compris chez des patients réfractaires aux thérapies plus classiques.^{17, 18}

- Les *interleukines* (IL)

- ✓ **L'IL-1**

L'IL-1 est une protéine de 17 kDa qui se présente également sous deux isoformes, α et β , respectivement de 159 et de 153 acides aminés. Ils sont synthétisés sous la forme de précurseurs de 31 kDa. Les protéines matures sont générées par clivage protéolytique, notamment par la *IL-1 Converting Enzyme* (ICE). Leur synthèse peut être induite par une grande variété d'autres cytokines (incluant l'IL-1 elle-même) comme le TNF- α , l'IFN- γ et les endotoxines bactériennes. L'IL-1 est essentiellement libéré par les mononucléaires phagocytaires stimulés, les PNN, et, dans une moindre mesure, par de nombreuses autres cellules comme les cellules endothéliales, les lymphocytes B et T, les fibroblastes ou encore les ostéoclastes.¹⁹

Les isoformes α et β sont sensiblement équivalents sur le plan fonctionnel, mais l'IL-1 β reste la forme prédominante chez l'Homme. Ils exercent leur activité en se liant à deux récepteurs membranaires appartenant à la superfamille des immunoglobulines, **IL1-R1** et **IL1-R2**. L'activation d'IL1-R1 implique des effets biologiques semblables à ceux des récepteurs au TNF.

L'IL1- β est une cytokine relativement pléiotrope, au même titre que le TNF- α , et leurs spectres d'activités se recoupent largement. L'IL1- β est capable, entre autres, de stimuler les monocytes, les macrophages et les lymphocytes T.

Le rôle de l'IL-1 dans la pathogénie des maladies inflammatoires chroniques est soupçonné depuis sa découverte à des concentrations anormalement élevées dans les fluides synoviaux de patients atteints de PR^{20,21} ou dans des explants intestinaux de patients atteints de MC.^{22,23}

✓ *L'IL-6*

L'IL-6, protéine de 185 acides aminés, est synthétisée par une grande variété de cellules parmi lesquelles les phagocytes mononucléaires représentent la source la plus importante. Les lymphocytes T, les fibroblastes, les neutrophiles, les mastocytes et les éosinophiles peuvent également la synthétiser. La libération d'IL-6 est principalement induite par les endotoxines bactériennes, le TNF- α et l'IL-1 β . L'IL-6 peut également induire ou inhiber sa propre synthèse en fonction des types cellulaires considérés.²⁴

L'IL-6 agit en se fixant à un récepteur spécifique (IL-6R), et est impliquée dans la prolifération des lymphocytes T.^{25,26} En revanche, l'IL-6 possède par bien des aspects des **propriétés anti-inflammatoires**. Au niveau systémique, il induit la synthèse des glucocorticoïdes (GC) endogènes. Enfin, certains des effets de l'IL-6 impliquent une inhibition de la production du TNF- α , sous la forme d'un rétrocontrôle négatif afin de limiter la réponse inflammatoire aiguë.²⁷ Des travaux ont mis en évidence le rôle pro-inflammatoire de l'IL-6 en démontrant l'effet protecteur de sa délétion ou de la neutralisation de son récepteur dans des modèles animaux d'arthrite induite.^{28,29}

Malgré la présence d'IL-6 à des taux anormalement élevés dans la majorité des maladies inflammatoires chroniques,^{30,31,32} sa dualité d'action en fait une cytokine dont le rôle dans les maladies inflammatoires chroniques n'est pas bien déterminé.

✓ *L'IL-8*

L'IL-8 est un membre de la famille des chimiokines, ensemble de cytokines impliquées dans le recrutement des cellules immunes sur le site inflammatoire par chimiotactisme. Le gène de l'IL-8 a été associé au chromosome 4.³³

L'IL-8 appartient au groupe des CXC, nommé ainsi en raison de la présence d'un acide aminé entre deux résidus cystéines. C'est une protéine non glycosylée de 72 acides aminés. Il est essentiellement libéré par les monocytes, les lymphocytes T, les fibroblastes, les cellules endothéliales et les chondrocytes. L'IL-8 exerce son activité en se liant à des récepteurs couplés aux protéines G, essentiellement CXCR1 et CXCR2. Ses effets incluent une augmentation du chimiotactisme, l'expression de molécules d'adhésion, la dégranulation et l'augmentation du métabolisme oxydatif des PNN.³⁴

L'IL-8 est exprimée à des taux anormalement élevés sur les sites inflammatoires au cours de la MC^{35,36} et de la PR.^{37,38}

- Autres cytokines

Il existe un très grand nombre de cytokines intervenant dans la régulation des processus inflammatoires. Le tableau 2 en présente quelques unes parmi les plus importantes. Dans la mesure où la plupart des cytokines exercent des activités variées selon le type cellulaire considéré, seuls les effets biologiques particuliers intervenant dans la réponse inflammatoire sont mentionnés.

Cytokine	Sources cellulaires majeures	Effets biologiques majeurs dans l'inflammation
INF- γ	Lymphocytes Th1, B.	Activation des macrophages, prolifération des lymphocytes B, inhibition de la prolifération des lymphocytes Th2
IL-2	Lymphocytes Th1.	Prolifération des lymphocytes T, libération de TNF- α , IL-1 β et IFN- γ par les leucocytes.
IL-4	Lymphocytes Th2.	Inhibition de la libération des cytokines pro-inflammatoires par les monocytes/macrophages. Stimulation de la prolifération des lymphocytes T.
IL-10	Lymphocytes Th2, Monocytes, macrophages	Inhibition de la libération des cytokines par les lymphocytes Th1, activité anti-inflammatoire générale.
IL-12	Monocytes, macrophages, Lymphocytes B.	Libération d'IL-2 et d'IFN- γ par les lymphocytes Th1
IL-13	Lymphocytes T CD8.	Régulation de l'activité des monocytes et macrophages, inhibition de la libération des cytokines inflammatoires
IL-15	Monocytes, macrophages.	Prolifération des lymphocytes T
IL-17	Lymphocytes Th1.	Production de métalloprotéases par les macrophages, Libération d'IL-6, IL-8 et PGE2 par les fibroblastes
IL-18	Monocytes, macrophages.	Croissance, différenciation et activation des lymphocytes Th1, libération d'IL-8 par les fibroblastes synoviaux.

Tableau 2. Sources et effets biologiques majeurs de quelques cytokines impliqués dans la réponse inflammatoire.

2. La réaction inflammatoire aiguë non spécifique

L'inflammation aiguë est caractérisée par sa durée limitée dans le temps et par un rétablissement, à terme, de l'homéostasie tissulaire. Elle est dite non-spécifique lorsque l'évènement déclencheur de la réaction inflammatoire est rencontré pour la première fois par l'organisme, et qu'elle ne fait pas intervenir la « mémoire lymphocytaire ». Chez les mammifères, la réaction inflammatoire peut être artificiellement divisée en quatre grandes étapes : (1) la reconnaissance de l'agent initiateur, (2) une étape vasculaire impliquant un recrutement de cellules immunocompétentes au foyer inflammatoire, (3) une amplification de la réaction par l'ensemble des cellules effectrices de l'inflammation et (4) l'élimination de l'agent initiateur et la réparation tissulaire.

2.1. Déclenchement de la réaction

Il est possible de classer les agents initiateurs de l'inflammation en trois grandes catégories : physiques, chimiques et infectieux. Parmi ceux-ci citons, au niveau exogène : les peptides de surface et les endotoxines bactériennes, les toxines, les virus, ou encore les composés toxiques libérés à l'occasion de destructions cellulaires ou tissulaires. Au niveau endogène, il s'agit essentiellement de complexes immuns anormaux ou en quantité trop importante. Sur le plan moléculaire et cellulaire, le déclenchement de la réaction inflammatoire reste toujours dépendant de la nature de l'agresseur.

La reconnaissance de l'agent fait principalement intervenir des effecteurs cellulaires précoces comme les macrophages ou les mastocytes résidents sur le site inflammatoire, ou moléculaires comme le système multimoléculaire du complément.

2.2. Recrutement des cellules immunocompétentes

Les cellules endothéliales constituent les principaux acteurs cellulaires de cette étape. Celles-ci sont activées sous l'effet des médiateurs libérés à l'étape précédente, aussi divers que le produit des systèmes d'activation plasmatiques (dérivés du complément, thrombine, bradykinine), l'histamine libérée par les mastocytes, le PAF, les prostaglandines, les cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-1 β , INF- γ), ou les espèces réactives de l'oxygène.

2.3. Amplification de la réaction

Les PNN, suivis des monocytes et des lymphocytes, sont à l'origine de la libération d'un grand nombre de médiateurs lipidiques et cytokiniques de l'inflammation, contribuant à l'amplification de la réaction inflammatoire.

Il est possible de distinguer les médiateurs précoces et tardifs. Les médiateurs précoces incluent l'ensemble des enzymes (protéases, lipases, COX, lipoxygénases, NO-synthase, ...) et espèces réactives de l'oxygène, constituant de puissants bactéricides qui peuvent contribuer à la destruction de l'agent initiateur. Les médiateurs tardifs sont essentiellement les cytokines (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) et les facteurs de croissance nécessitant une synthèse protéique. Ces médiateurs réactivent toutes les cellules présentes sur le site inflammatoire, et entretiennent la réaction jusqu'à élimination de l'agent initiateur.

2.4. Retour à l'homéostasie ou passage à la chronicité

Le retour à l'homéostasie tissulaire implique l'élimination des éléments inducteurs de l'inflammation et des produits résultants de la dégradation du tissu altéré par les cellules à vocation phagocytaire (monocytes/macrophages et PNN). Les lymphocytes et les macrophages libèrent alors des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-4 et l'IL-10 qui suppriment l'ensemble des processus amorcés au cours de l'étape d'amplification. Les facteurs de croissance, libérés par exemple par les macrophages, permettent la réparation des tissus lésés par l'intermédiaire d'une prolifération des fibroblastes, d'une synthèse de collagènes et de protéoglycanes.

Dans certaines conditions (persistance de l'agent initiateur, réponse inflammatoire inadaptée, facteurs génétiques et/ou environnementaux), une évolution du phénomène inflammatoire vers une chronicité pathologique peut se produire. De telles situations se caractérisent principalement par une dérégulation du système immunitaire de l'individu : celui-ci échappe à son contexte protecteur et réparateur pour occasionner d'importants dommages tissulaires caractéristiques de la gravité de ces maladies.

De façon schématique, l'inflammation chronique se différencie de l'inflammation aiguë essentiellement par (1) la coexistence des étapes vasculaires et d'amplification décrites ci-dessus, (2) une persistance de l'inflammation dans le temps et (3) des destructions tissulaires importantes.

3. Les maladies inflammatoires chroniques

Les maladies inflammatoires chroniques sont des maladies d'étiologie inconnue, et affectent aussi bien le système nerveux central que les tissus périphériques. Au niveau central, la principale maladie inflammatoire chronique est une maladie neurodégénérative, la sclérose en plaque. Au niveau périphérique, il s'agit essentiellement de la polyarthrite rhumatoïde et d'une maladie inflammatoire chronique intestinale (MICI), la maladie de Crohn. Dans cette section, nous nous proposons d'aborder les mécanismes physiopathologiques connus des deux principales maladies inflammatoires chroniques périphériques afin d'en dégager, dans un chapitre ultérieur, les principaux traits communs.

3.1. *La polyarthrite rhumatoïde (PR)*

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est la plus fréquente parmi les rhumatismes inflammatoires chroniques, et aboutit à une destruction articulaire. Sa prévalence est de 0,3% de la population adulte. La PR atteint surtout les femmes (80%) et peut survenir à n'importe quel âge mais débute le plus souvent entre 35 et 55 ans. Elle représente un véritable problème de santé publique car 50% des malades ont arrêté leur activité professionnelle moins de cinq ans après son début et la durée de vie des patients est réduite en moyenne de cinq à dix ans.³⁹ La cause initiale de la maladie reste jusqu'à aujourd'hui inconnue.

La phase initiale de la maladie présuppose un recrutement de lymphocytes T, essentiellement CD4+, au travers de la membrane synoviale (figure 4). Les lymphocytes acquièrent alors un phénotype Th1 et libèrent des cytokines pro-inflammatoires stimulant les macrophages résidents. La libération d'IL-1 β , et de TNF- α contribue au maintien de la réaction inflammatoire, et induit l'expression de métalloprotéases par les fibroblastes synoviaux et les chondrocytes, ainsi que l'activation des ostéoclastes. Ces cellules sont directement responsables de la dégradation du cartilage et de la résorption osseuse.^{40,41}

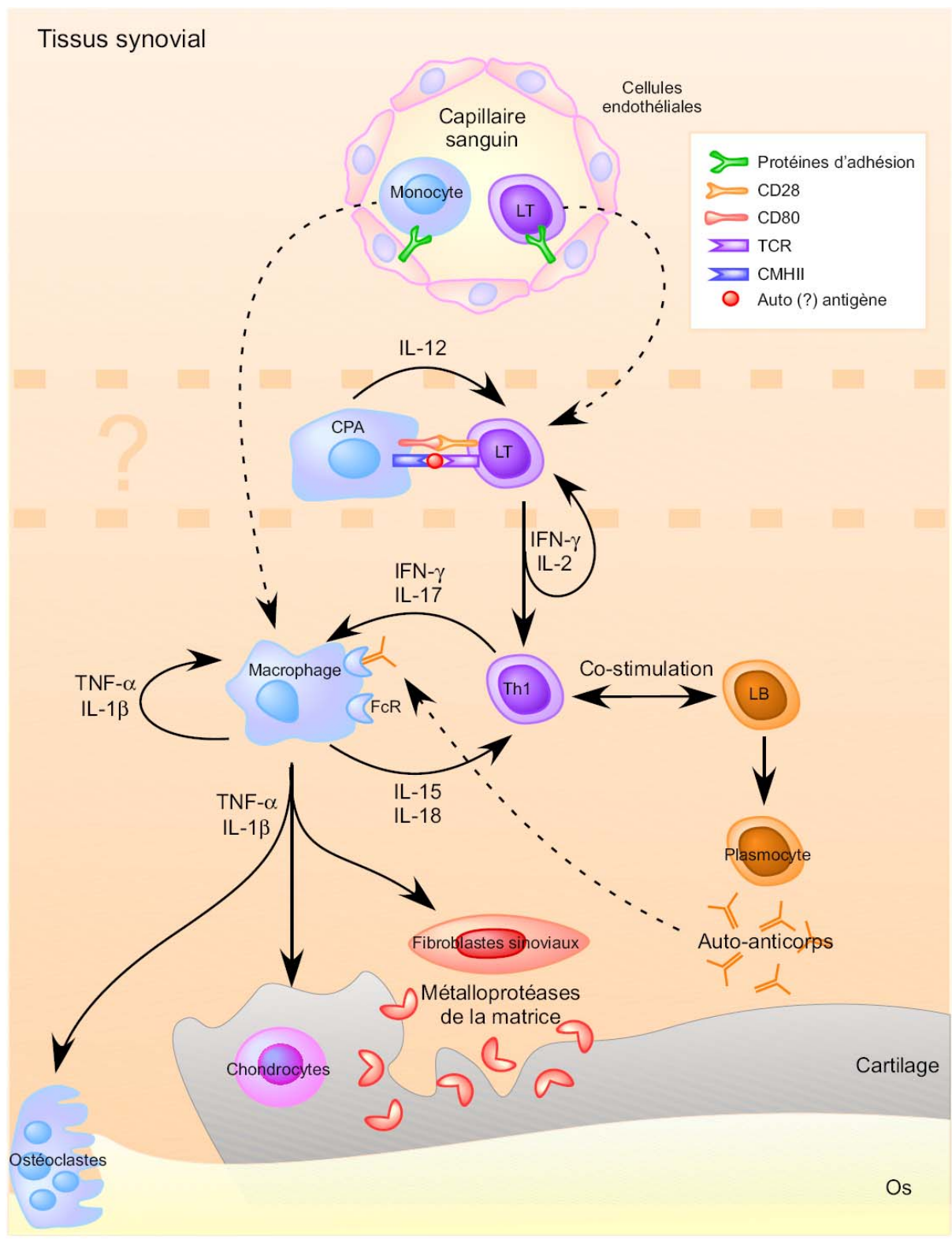


Figure 4. Représentation schématique des évènements cellulaires intervenant au cours de la polyarthrite rhumatoïde (adapté de Smolen et al.⁴¹).

3.2. *La maladie de Crohn (MC)*

La MC affecte près de 1,5‰ de la population des pays industrialisés, avec une incidence de plus en plus importante dans leur forme juvénile. Si, à l'image de la PR, leur étiologie est à l'heure actuelle inconnue, l'implication de facteurs génétiques et environnementaux dans leur déclenchement est maintenant démontrée. A ce jour, le seul facteur de risque clairement associé à la MC est le tabagisme.⁴²

Chez l'individu sain, la muqueuse intestinale est un tissu particulièrement exposé aux antigènes alimentaires et à la flore microbienne, maintenu dans un état d'inflammation contrôlé, tout en conservant sa faculté de réponse aux agents pathogènes. Une dérégulation de la perception immunitaire peut entraîner une rupture de l'homéostasie, et exposer l'individu à une réponse inflammatoire incontrôlée et pathologique.

L'initiation du phénomène inflammatoire est hypothétique et ferait intervenir un déséquilibre dans la tolérance immunitaire digestive aux antigènes bactériens et/ou alimentaires. De façon similaire à la PR, un phénotype lymphocytaire de type Th1 a été associé à la MC qui pourrait être responsable de l'initiation de la maladie et de l'activation de l'ensemble des cellules immunes présentes au foyer inflammatoire.

Les cellules pivots de la MC sont également les monocytes et les macrophages, qui, par l'intermédiaire d'une importante libération de cytokines comme le TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-6 ou l'IL-8, vont directement ou indirectement être à l'origine de l'entretien du processus inflammatoire et de destructions tissulaires (figure 5).

L'entretien du processus inflammatoire est assuré par un phénomène de résistance lymphocytaire à l'apoptose sous la dépendance de l'IL-6. La modification de la perméabilité intestinale suite aux destructions tissulaires ou à l'action du TNF- α contribue, par la pénétration d'éléments bactériens, à maintenir la muqueuse à l'état inflammatoire. Les métalloprotéases, les enzymes protéolytiques ou les espèces réactives de l'oxygène libérées sur le site inflammatoire sont, au même titre que dans la PR, directement responsables des dégradations tissulaires observés dans les MICI, entraînant une destruction de la matrice extracellulaire et de l'épithélium intestinal.⁴³

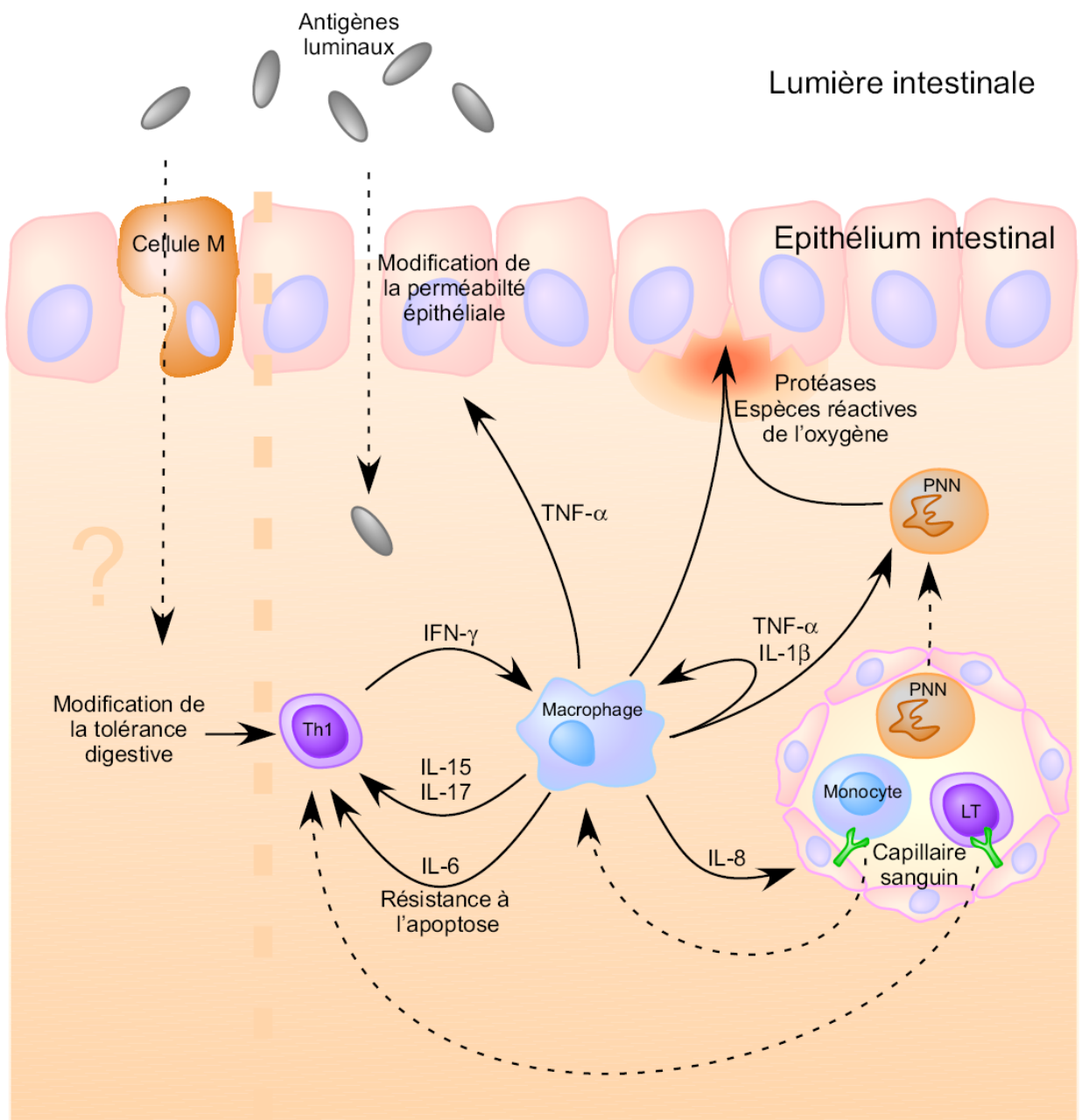


Figure 5. Représentation schématique des événements cellulaires intervenant au cours de la maladie de Crohn.⁴³

3.3. Mécanismes physiologiques communs et implications thérapeutiques

Il est possible de dégager de façon très schématique des caractéristiques communes dans la physiopathologie des maladies inflammatoires chroniques périphériques (figure 6).⁴⁴

En premier lieu, un grand nombre d'arguments, notamment au travers d'études de familles à risques et de jumeaux d'origine monozygote,⁴³ indiquent qu'une association de facteurs exogènes (ou environnementaux) et endogènes (ou génétiques) est nécessaire au développement de la maladie.

Deuxièmement, les intervenants cellulaires sont relativement semblables : l'ensemble de ces maladies est caractérisé par un infiltrat cellulaire important, plus particulièrement lymphocytaire (CD4+) et monocytaire. Les monocytes et les macrophages jouent un rôle pivot dans l'entretien du phénomène inflammatoire, notamment par l'intermédiaire d'un recrutement de cellules immunes par la périphérie. Leurs effets sont le résultat d'une libération de médiateurs lipidiques, mais surtout cytokiniques, dont le TNF- α est le représentant le plus important dans la réponse inflammatoire.⁴⁵

Troisièmement, les destructions tissulaires sont essentiellement dues à une libération d'espèces réactives de l'oxygène ou de protéases, dont l'expression est, encore une fois essentiellement sous la dépendance de l'environnement cytokinique cellulaire.

Dans la mesure où il est à l'heure actuelle impossible de prévenir ces maladies, un certain nombre de stratégies thérapeutiques ont été envisagées, visant essentiellement la neutralisation des médiateurs inflammatoires et/ ou la prévention des lésions tissulaires.⁴⁶

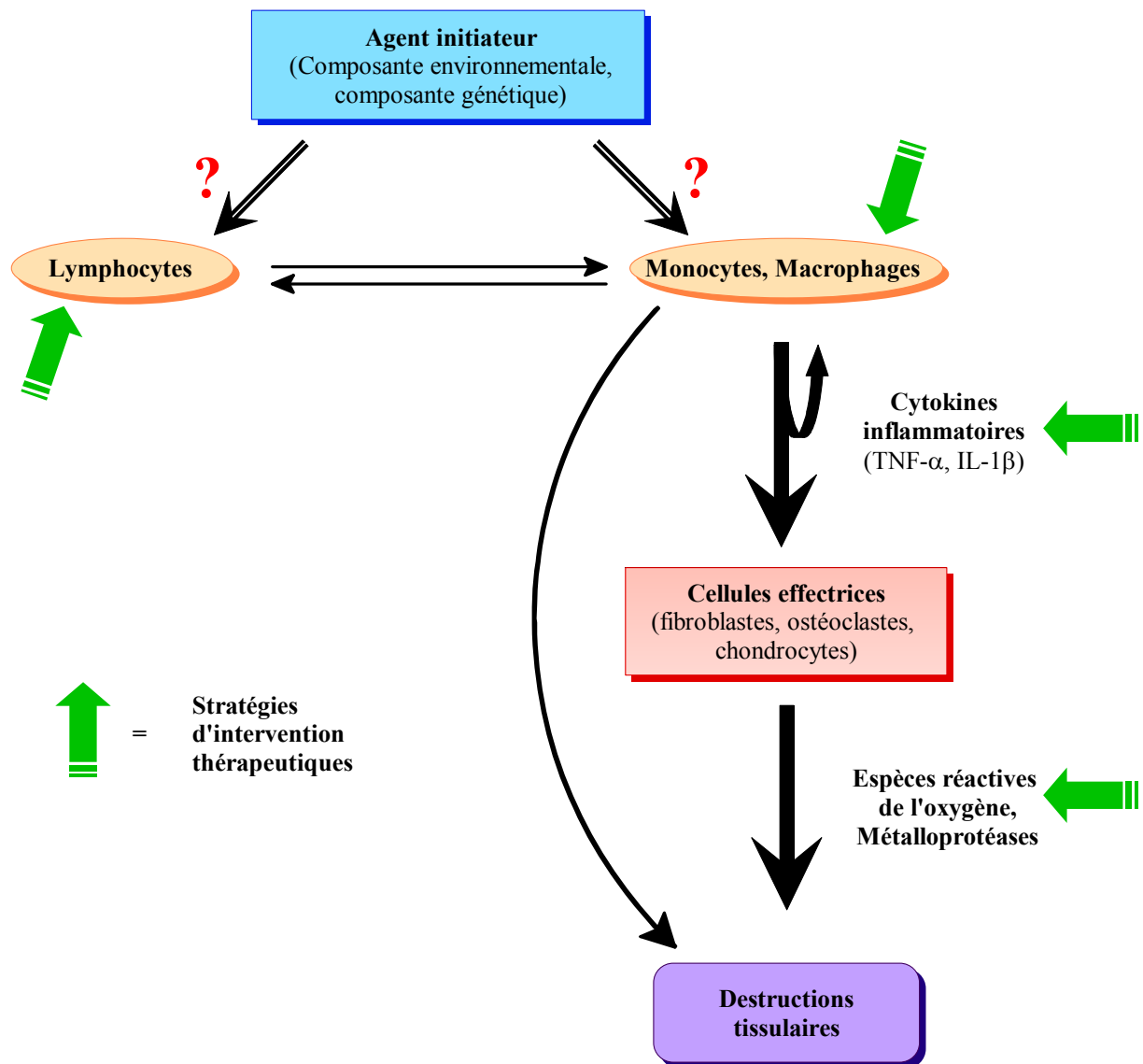


Figure 6. Représentation schématique des mécanismes physiopathologiques communs aux maladies inflammatoires chroniques.

Les stratégies d'intervention thérapeutiques impliquent une neutralisation des médiateurs inflammatoires ou une inhibition de leur libération par les cellules mononucléées (lymphocytes et monocytes). Il est également possible d'intervenir plus en aval de la cascade en neutralisant les médiateurs responsables des destructions tissulaires.

4. Stratégies thérapeutiques

Cette section a pour objectif d'introduire dans une première partie les traitements les plus couramment utilisés et/ou les plus efficaces en clinique humaine.^{34,47} Dans une seconde partie seront abordées les perspectives thérapeutiques actuellement à l'étude à la lumière des récentes découvertes dans la pathogénie des maladies inflammatoires chroniques.⁴⁸

4.1. Les thérapies actuelles

4.1.1. Les glucocorticoïdes (GC)

Les GC sont à l'origine des molécules endogènes synthétisées par les glandes surrénales à partir du cholestérol. Leur chef de file, isolé en 1937, est le cortisol. Les GC agissent essentiellement sur le métabolisme glucidique et protéique chez l'individu sain et exercent une puissante activité anti-inflammatoire dans des conditions pathologiques. Depuis leurs premières utilisations thérapeutiques, les GC ont fait l'objet d'intenses recherches.

L'industrie pharmaceutique a mis au point de nombreux dérivés du cortisol comme la prednisone, prednisolone ou la dexaméthasone (figure 7), visant à amplifier ses propriétés anti-inflammatoires et immunosuppressives tout en minimisant ses effets hormonaux propres. Les GC sont régulièrement utilisés dans le traitement de toutes les formes de maladies inflammatoires chroniques périphériques, souvent en association avec d'autres composés.

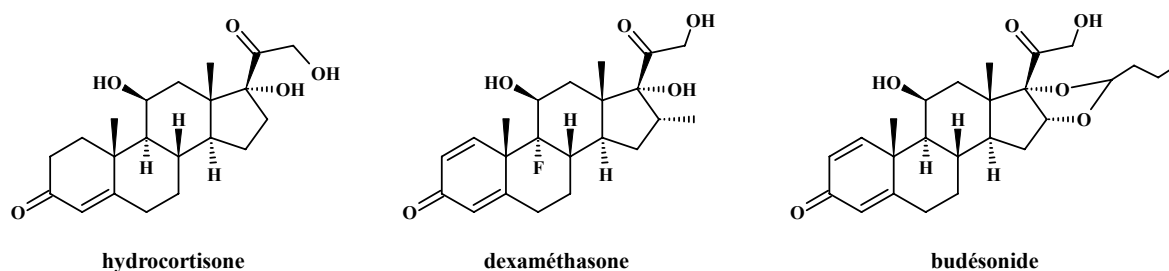


Figure 7. Exemples de structures de glucocorticoïdes

Le mode d'action des GC se situe essentiellement au niveau transcriptionnel. Ils se lient à leurs récepteurs intracellulaires pour exercer leurs effets par la répression ou l'induction de gènes. Leur activité anti-inflammatoire est relativement étendue : les GC suppriment la libération des prostaglandines et des leucotriènes, des cytokines inflammatoires (IL-1 β , IL-6, TNF- α), des chimiokines comme l'IL-8, du NO, et inhibent l'expression de

molécules d'adhésion. Les GC inhibent également la prolifération et la différenciation des lymphocytes T par des mécanismes multiples.⁴⁹

Malgré leur efficacité, ces traitements ont de nombreux effets aderses sur le long terme incluant la résorption osseuse,⁵⁰ des désordres hydro-électrolytique, des troubles endocriniens et métaboliques, digestifs, cutanés ou oculaires. Par ailleurs, leur utilisation est limitée chez les patients corticorésistants.

4.1.2. Les stratégies anti-TNF- α

La mise en évidence du rôle pivot de certaines cytokines pro-inflammatoires dans la pathogénie des maladies inflammatoires a permis d'envisager des traitements basés sur leur neutralisation spécifique à l'aide d'anticorps ou de récepteurs solubles. Parmi les anticorps anti-TNF- α développés, on dénombre principalement le cA2 (commercialisé sous le nom d'Infliximab/Rémicade®), un anticorps monoclonal chimérique et un anticorps monoclonal humain, le D2E7. Les molécules de type récepteurs solubles, pour leur part, sont essentiellement des protéines de fusion entre le fragment Fc d'immunoglobulines humaines de type IgG1 et le domaine extracellulaire du récepteur TNF-R1 (lenercept) ou TNF-R2 (etanercept).

Tous ces inhibiteurs se lient avec une grande affinité à la fois avec les formes solubles et transmembranaires du TNF- α , neutralisant leur activité fonctionnelle dans une grande variété de tests biologiques *in vitro*. *In vivo*, les essais sur divers modèles expérimentaux d'inflammation chronique induite chez l'animal se sont révélés suffisamment concluants pour envisager les premiers essais cliniques chez l'Homme. Depuis 1993, l'utilisation des stratégies spécifiquement anti-TNF- α chez l'homme ont montré des résultats spectaculaires dans le rétablissement de patients atteints de maladies inflammatoires chroniques, et plus particulièrement dans des cas de PR⁵¹ ou de MC^{8,52,53}.

Cependant, ces traitements restent immunogènes sur le long terme,⁵⁴ probablement en raison de la fraction non humaine de la plupart d'entre eux. Ils sont également à l'origine d'effets secondaires légers comme des maux de têtes ou des nausées. Dans de rares cas, ils pourraient être responsables d'effets aderses plus graves comme des désordres neurologiques, hématologiques ou le développement de tumeurs chez des patients présentant certaines prédispositions.⁵⁵ Par ailleurs, un autre de leurs désavantages reste leur mode d'administration, exclusivement par voie parentérale.

4.1.3. Les dérivés salicylés

La sulfasalazine est un dérivé azoïque (figure 8), combinaison d'un sulfamide antibactérien, la sulfapyridine, et d'un dérivé salicylé, l'acide 5-amino salicylique (5-ASA). La sulfasalazine est métabolisée par la flore du côlon pour libérer ses deux composants, alors capables d'exercer leurs effets. La sulfasalazine et le 5-ASA sont capables d'inhiber la prolifération des lymphocytes T, le chimiotactisme, l'adhésion des cellules phagocytaires et l'expression de molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales. Ils sont aussi capables d'inhiber la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, dont l'IL-1 β et le TNF- α , ainsi que l'activité des COX et des 5-lipoxygénases.

Le 5-ASA exerce par ailleurs une puissante activité de type « piège à radicaux libres ». Il semble que la majeure partie de l'activité anti-inflammatoire de ce composé soit due à une inhibition du facteur de transcription NF- κ B par le 5-ASA.⁵⁶ Le risque d'effets indésirables associés à ces médicaments implique une intolérance digestive et des réactions allergiques.

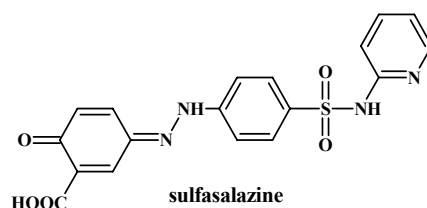


Figure 8. Structure de la sulfasalazine.

4.1.4. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)

Les anti-Inflammatoires non-stéroïdiens (figure 9) regroupent l'ensemble des inhibiteurs non sélectifs, préférentiels, ou sélectifs de la COX-2. Le **méloxicam** et le **nimésulide** sont deux inhibiteurs préférentiels de la COX-2 dont la sélectivité d'inhibition n'apparaît qu'aux faibles posologies. Parmi les inhibiteurs sélectifs de la COX-2, on compte principalement le **célécoxib** et le **rofécoxib**.

Ces nouveaux AINS possèdent des structures chimiques différentes de celles des AINS classiques, s'en distinguant notamment l'absence de fonction acide. Ils sont dénués d'un grand nombre des effets secondaires connus des inhibiteurs de COX (intolérance digestive notamment). Le rofécoxib et le celecoxib sont indiqués dans le traitement symptomatique de la polyarthrite rhumatoïde. En revanche, leur activité sur la progression de la maladie est plus discutable.⁵⁷

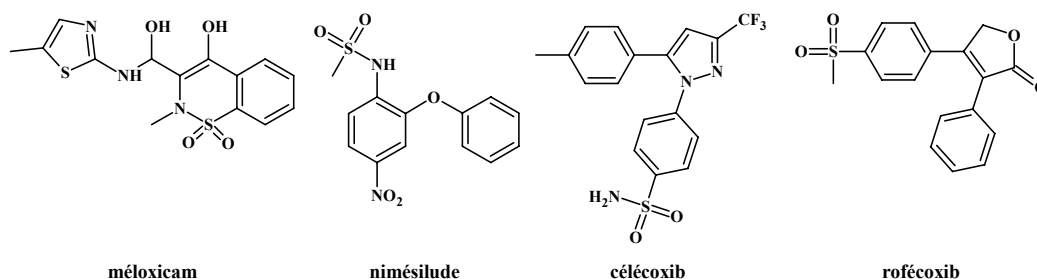


Figure 9. Structure de quelques AINS.

Les AINS ne sont pas employés dans le traitement des affections inflammatoires chroniques de l'intestin en raison d'un effet aggravant sur l'état inflammatoire de la muqueuse des malades.⁵⁸ Les risques cardio-vasculaires⁵⁹ engendrés par les AINS inhibiteurs sélectifs de COX-2 impliquent la nécessité de trouver de nouvelles stratégies thérapeutiques. Le rofécoxib (Vioxx[®]) et le célécoxib (Celebrex[®]) ont ainsi été retirés du marché en 2004.

4.1.5. Autres stratégies

Le **méthotrexate** (figure 10) est un analogue de l'acide dihydrofolique, inhibiteur de la dihydrofolate réductase, utilisé dans le traitement de certains lymphomes ou ostéosarcomes pour ses effets anti-prolifératifs et cytotoxiques. A plus faible dose il exerce une activité anti-inflammatoire sans effets cytotoxiques, probablement par une augmentation de la libération d'adénosine. Dans les neutrophiles stimulés, l'occupation des récepteurs à l'adénosine inhibe l'explosion du métabolisme oxydatif, l'adhésion aux cellules endothéliales et la libération de LTB4 et de TNF- α . De façon semblable, dans les monocytes, l'adénosine inhibe le TNF- α , l'IL-6, l'IL-8 tout en augmentant la libération d'IL-10 et de l'IL-1Ra. Le méthotrexate est actuellement utilisé régulièrement dans le traitement de la PR, souvent en association avec d'autres principes actifs (leflunomide, corticoïdes). Il est également utilisé dans le traitement de certaines formes de MC. En revanche, ce composé est connu pour exercer une certaine toxicité hépatique pouvant conduire dans les cas les plus graves à une cirrhose du foie. Il s'agit également d'un composé tératogène.⁶⁰

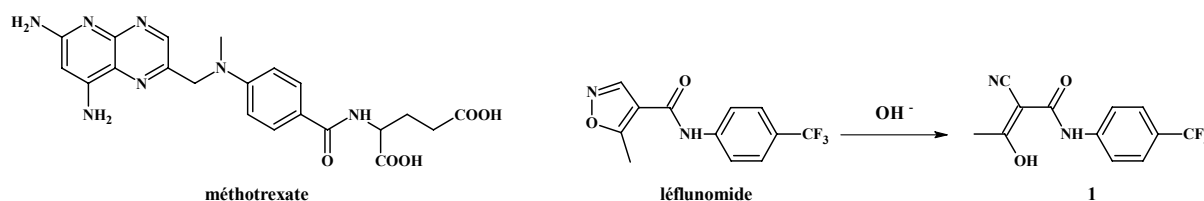


Figure 10. Structure du méthotrexate, du leflunomide et de son métabolite actif 1.

Le **leflunomide** (figure 10) est un nouveau composé anti-inflammatoire utilisé avec succès dans le traitement de la PR où il s'est révélé plus efficace que le méthotrexate. Récemment, le léflunomide a également été utilisé dans le traitement de la MC.⁶¹ Après un premier passage hépatique, le leflunomide est métabolisé en un composé actif dans la modulation de la réponse inflammatoire, capable de bloquer la néosynthèse des pyrimidines en inhibant la dihydro-orotate deshydrogénase mitochondriale.

Le mode d'action communément admis serait une inhibition de la prolifération des lymphocytes CD4 via une inhibition de la synthèse d'ADN.⁶² Cependant d'autres mécanismes non élucidés pourraient être mis en jeu : ainsi, il a été récemment démontré que le leflunomide était capable de diminuer la libération de TNF- α , d'IL-1 β , de NO et de métalloprotéases par des tissus synoviaux de patients atteints de PR en culture.⁶³ Ses effets secondaires restent mal connus en raison du caractère récent de son utilisation.

4.2. Les thérapies en développement : les anti-TNF- α

4.2.1. Stratégies utilisant les cytokines

Plusieurs cytokines possèdent des activités anti-inflammatoires particulièrement dans le contexte de maladies avec un profil lymphocytaire Th1. L'IL-4 est une cytokine inhibant la libération d'IL-1 β et de TNF- α par les macrophages et orientant la balance Th1/Th2 vers un phénotype lymphocytaire anti-inflammatoire Th2.⁶⁴ Malgré des effets remarquables dans des modèles d'arthrite expérimentale,⁶⁵ son administration au cours d'essais cliniques chez l'Homme n'a pas eu de succès probant. Au même titre que l'IL-4, l'administration d'IL-10, une cytokine inhibant la libération de cytokines inflammatoires (IFN- γ , TNF- α et IL-2) par les lymphocytes Th1, est une autre voie en cours d'exploration qui a démontré des effets encourageants chez des patients atteints de MC.⁶⁶ L'injection d'IL-11, un membre de la famille de l'IL-6, s'est également montrée efficace chez des patients atteints de MC.⁶⁷

L'IL-13 enfin, est une cytokine réduisant la libération des cytokines inflammatoires par les monocytes/macrophages. Sa surexpression par thérapie génique sur le site inflammatoire d'un modèle animal d'arthrite réduit considérablement son score de gravité, indiquant l'intérêt potentiel de cette cytokine dans le traitement d'affections inflammatoires chroniques.⁶⁸

4.2.2. Stratégies anti-cytokines

Sur la base de l'efficacité thérapeutique des **anticorps anti-TNF- α** , diverses stratégies visant spécifiquement la neutralisation d'autres cytokines ont été envisagées.^{69,70} Deux cibles de choix, en raison de leur caractère pro-inflammatoire, sont l'IL-1 β et l'IL-6.

Chez l'Homme, un **antagoniste recombinant** du récepteur à l'IL-1 est actuellement à l'étude en phase clinique et présente des effets thérapeutiques chez des patients atteints de PR.⁷¹ En revanche, et malgré certains rapports encourageants d'essais effectués sur un grand nombre de modèles animaux, aucun traitement efficace basé sur la neutralisation spécifique de l'IL-1 β n'a pu être mis au point chez l'Homme. Plusieurs résultats indiquent que la neutralisation de l'IL-6 pourrait être bénéfique dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques. Chez l'Homme, des essais cliniques d'anticorps neutralisants anti-IL6 ont montré une amélioration de l'état symptomatique de malades atteints de PR.⁷²

D'autres cytokines à caractère pro-inflammatoire comme l'IL-12, l'IL-15, l'IL-17, ou l'IL-18 sont également des sujets d'étude sur la base d'observations effectuées dans des modèles animaux. L'IL-12 est essentiellement responsable de l'orientation des lymphocytes Th0 vers un phénotype pro-inflammatoire Th1, et sa neutralisation sélective se traduit par des effets thérapeutiques dans des modèles animaux de PR.^{73,74} L'IL-15 est une cytokine pro-inflammatoire qui a été impliquée dans le recrutement et l'activation lymphocytaire dans la membrane synoviale de patients atteints de PR⁷⁵ et dans la libération du TNF- α par les macrophages.⁷⁶ Récemment, la neutralisation de l'IL-15 par l'IL-15R α , un récepteur soluble, démontre des effets bénéfiques dans des modèles d'arthrite expérimentale murins.⁷⁷ L'IL-18 est également une cytokine pro-inflammatoire de la famille de l'IL-1 β , capable d'induire la libération d'IL-1 β , de TNF- α et d'IFN- γ . Sa neutralisation est bénéfique dans des modèles murins de PR.⁷⁸

Enfin, l'IL-17, qui exerce une activité pro-inflammatoire en conjonction avec l'IL-1 β et le TNF- α en induisant l'expression de métalloprotéases, est également retrouvée à des taux anormalement élevés sur les sites inflammatoires de PR.⁷⁹

4.2.3. Les inhibiteurs de phosphodiesterase 4 (iPDE4)

Les inhibiteurs de phosphodiesterase (PDE) présente un intérêt en tant qu'outils pharmacologiques pour augmenter la teneur intracellulaire en adénosine-3',5'-monophosphate

cyclique (AMPc) ou guanosine-3',5'-monophosphate cyclique (GMPc) et, par ce biais, représente une nouvelle classe d'agents thérapeutiques potentiels dans le traitement de diverses maladies (figure 11). La PDE4, qui hydrolyse spécifiquement l'AMPc, est présente dans de nombreux tissus dont le cœur, les vaisseaux sanguins, le cerveau et le poumon.

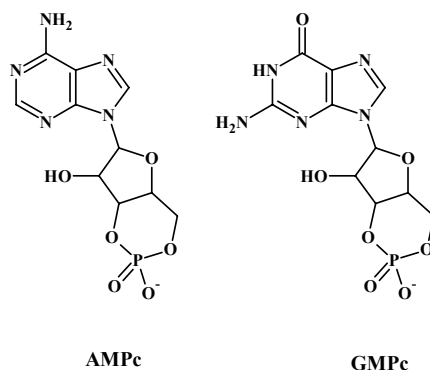


Figure 11. Structure de l'AMPc et GMPc.

Le **rolipram**, inhibiteur de référence de la PDE4 a été le point de départ de nombreuses recherches, en particulier dans le traitement des maladies autoimmunes et inflammatoires (figure 12).^{80,81}

Certains iPDE mixtes ont été développés tel que la **zardavérine**, qui agit sur les PDE3 et PDE4, et possède des **propriétés bronchodilatatrices** et **anti-inflammatoires**. Cependant, des effets secondaires gastrointestinaux et cardiaques liés en particulier à la PDE3, ont limité le développement clinique de ce type de composé.^{82,83} Ces dernières années, de nombreux efforts ont été portés sur l'identification d'inhibiteurs puissants de la PDE4. Cependant, le développement des premiers iPDE4 a été fortement limité par leur capacité à induire des effets secondaires variés tels que la nausée, des effets émétiques, une acidité gastrique ainsi que des effets au niveau du système nerveux central (SNC).^{84,85}

Plusieurs familles de composés, non apparentées structurellement au rolipram, ont été synthétisées au laboratoire. Certains dérivés de la 9-benzyladénine,⁸⁶ comme le **NCS 823**, ont présenté des propriétés anti-inflammatoires⁸⁷ et anti-TNF- α .⁸⁸ Des dérivés de la zardavérine ont aussi donné des activités anti-inflammatoires intéressantes (**2**).⁸⁹ Des composés issus de 1,4-benzodiazépinones, comme le composé **3**, ont aussi donné des résultats prometteurs contre les maladies inflammatoires.⁹⁰

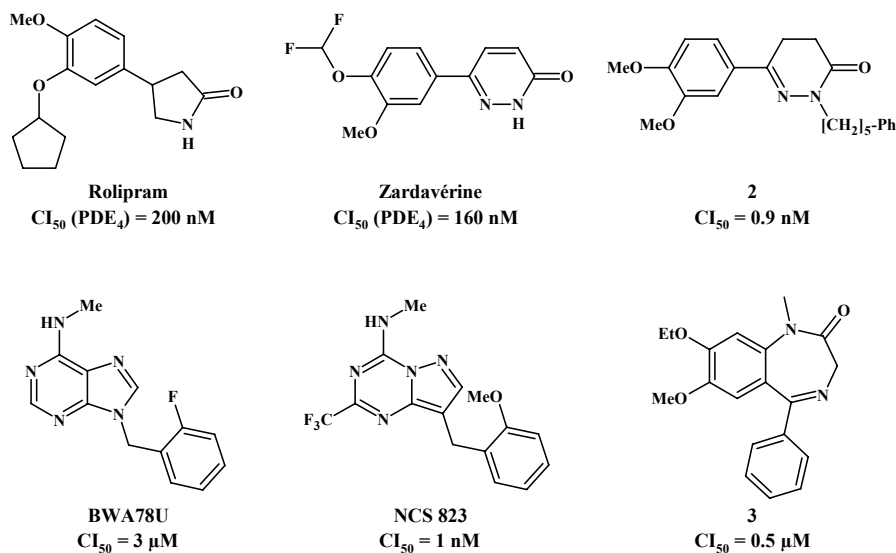


Figure 12. Différents inhibiteurs de la PDE4.

4.2.4. Les inhibiteurs de la p38 MAP kinase

L'un des axes de recherche les plus récents visant à réguler la biosynthèse des cytokines concerne l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques de la p38 MAP kinase (*Mitogen Activated Protein kinase*).⁹¹ Le rôle majeur de cette voie dans l'expression des cytokines inflammatoires a été mis en évidence en 1994, par l'utilisation d'un inhibiteur spécifique des p38 qui s'est révélé être un puissant suppresseur de la libération du TNF- α et de l'IL-1 β , avec une CI_{50} submicromolaire.⁹²

Depuis, les p38 MAP kinases ont été impliquées dans l'expression de l'IL-6, l'IL-8, ou de la COX-2. Le rôle des p38 dans la pathogénie des maladies inflammatoires a été confirmé par l'efficacité clinique d'inhibiteurs spécifiques de la p38 MAP kinase testés chez des patients atteints de maladies inflammatoires chroniques,⁹³ et à l'heure actuelle, un grand nombre de nouveaux inhibiteurs de structures très diverses sont en développement (figure 13).

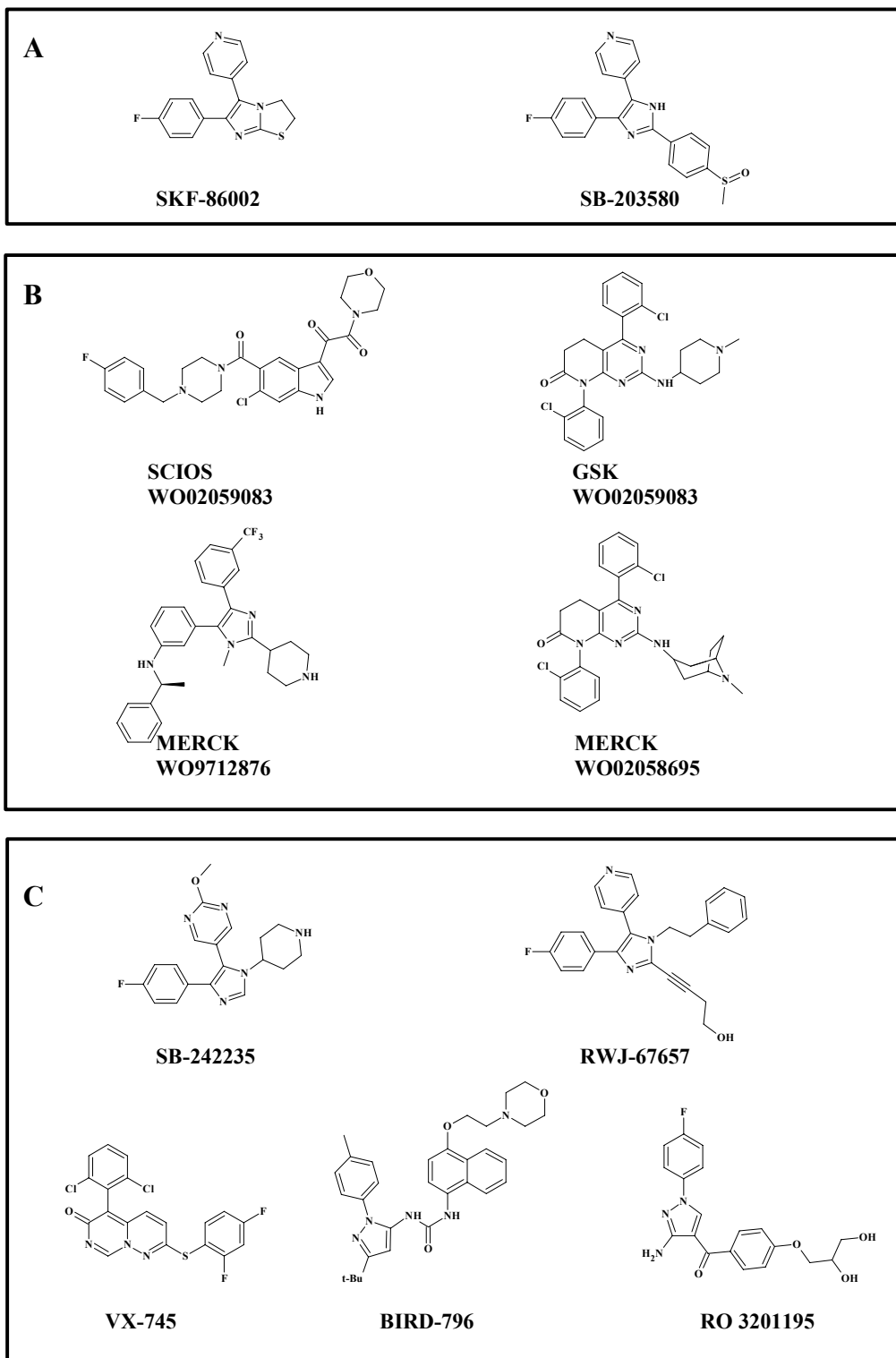


Figure 13. Structures représentatives de quelques inhibiteurs de p38 MAPK
(D'après Kumar et al.).⁷⁵

A : Composés pyridinylimidazoles. **B** : Autres composés d'intérêt actifs *in vitro*.
C : Inhibiteurs des p38 à l'étude en phase clinique.

4.2.5. Les inhibiteurs de métalloprotéases

Les métalloprotéases (*MMP* ou *Matrix MetalloProtease*) sont des vecteurs importants des destructions tissulaires associées aux maladies inflammatoires chroniques. Ce groupe d'enzymes comprend plus de 20 membres dont les collagénases (MMP-1, MMP-8 et MMP-13), les gélatinases (MMP2 et MMP-9), les stromélysines (MMP-3, MMP-10, MMP-11 et MMP-7) et les adamalysines (ADAMs) dont fait partie la TACE (ADAM17) impliquée dans le clivage de la forme membranaire du TNF- α . Les inhibiteurs de métalloprotéases incluent des composés synthétiques peptidomimétiques et non-peptidomimétiques du collagène,⁹⁴ ainsi que les inhibiteurs tissulaires endogènes des métalloprotéases, les TIMP.

Des arguments expérimentaux indiquent que la surexpression de TIMP-1, l'inhibiteur majeur des métalloprotéases synthétisé principalement par les monocytes et les macrophages, a des effets bénéfiques sur un modèle d'arthrite induite chez la souris surexprimant le TNF- α .⁹⁵

Cependant, les principales cibles des inhibiteurs synthétiques des métalloprotéases en développement restent la **TACE** et l'*IL-1 Converting Enzyme (ICE)*. Plusieurs de ces composés se sont déjà révélés efficaces dans des modèles inflammatoires aigus^{96,97} ou d'arthrite induite⁹⁸, démontrant ainsi leur potentiel thérapeutique (figure 14). Un inhibiteur de l'ICE, le pralnacasan,^{78,99} est actuellement à l'étude en phase clinique chez des patients atteints de PR.¹⁰⁰

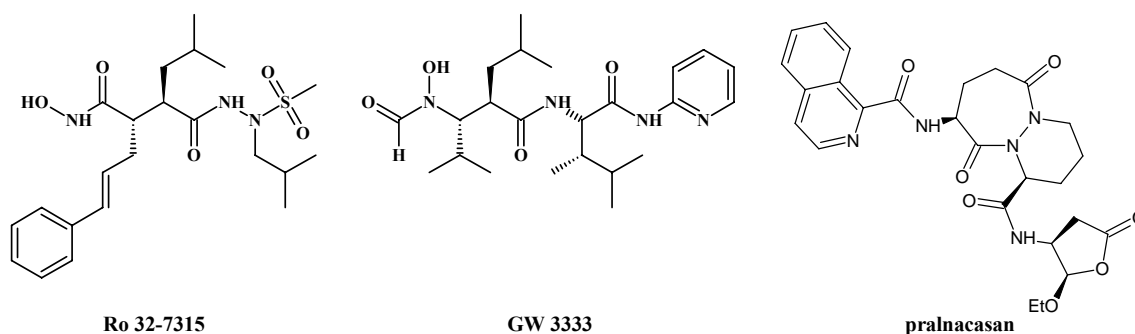


Figure 14. Structures de deux inhibiteurs des métalloprotéases actifs *in vivo*.

Le **Ro 32-7315** est un inhibiteur de la TACE inhibant la libération du TNF- α *in vitro*, sur un modèle animal d'arthrite induite ainsi que chez l'homme.⁷⁸ Le **GW 3333** est un inhibiteur mixte de la TACE et des métalloprotéases, actif sur des modèles animaux d'inflammation aiguë et d'arthrite induite.⁸⁰

4.2.6. La voie NF- κ B

Il existe dans cette voie de nombreuses cibles thérapeutiques, mais qui sont loin d'être spécifiques car plus de 70 gènes interviennent dans l'inflammation sous la dépendance de NF- κ B.¹⁰¹

- **Inhibiteurs du protéasome** : ils agissent en empêchant la libération de NF- κ B par I κ B ; ils bloquent aussi le cycle cellulaire et induisent l'apoptose.
- **Antioxydants** : la production de radicaux libres étant capable d'activer NF- κ B, les molécules anti-oxydantes modulent l'activation de NF- κ B, mais agissent aussi sur le facteur AP-1.
- **Inhibiteurs de la kinase I- κ B** : ils agissent sur le site ATP de phosphorylation de cette kinase. Ils sont capables de réduire la production de TNF- α de 85% par des macrophages de rats stimulés au LPS.

Si ces molécules possèdent une certaine spécificité, leur mode d'action est commun à des molécules plus connues comme les corticoïdes, la mésalamine et la cyclosporine, qui sont aussi capables de réduire la synthèse du TNF- α en agissant sur les voies des MAPK et de NF- κ B.

Au cours de ce chapitre introductif, nous avons mis en évidence l'existence de médiateurs pivots dans la pathogénie des maladies inflammatoires chroniques périphériques. Parmi ceux-ci, l'inhibition ou la neutralisation des cytokines comme le TNF- α ou l'IL-1 β reste la cible des stratégies thérapeutiques les plus efficaces. Néanmoins, aucune des thérapies disponibles à l'heure actuelle n'est totalement dénuée d'effets secondaires et certains patients restent réfractaires à nombre d'entre elles. Pour cette raison, la recherche de nouveaux traitements reste un enjeu majeur de la recherche médicale. C'est dans ce cadre que nous avons entrepris d'identifier de nouveaux composés inhibant la libération de TNF- α .

Le but de cette étude est de rechercher les effets *in vitro* de composés sur la sécrétion de cytokines par des cellules monocytaires sanguines humaines. Les effets sur la libération de deux cytokines, le TNF- α et l'IL-1 β , seront étudiés grâce à un test cellulaire.

Pour représenter simplement le fonctionnement de ce test cellulaire, nous pouvons dire qu'il se comporte comme une « boîte noire » (figure 15). Effectivement, une perturbation est engendrée à l'entrée de la cellule, puis on regarde à la sortie l'effet de cette perturbation. Les lipopolysaccharides (LPS), qui induisent une augmentation de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β) représente cette perturbation. La mesure de la concentration en cytokines libérées représente quant à elle l'effet de la perturbation. Ce test présente l'avantage d'effectuer une étude pharmacochimique sur un système qui comporte donc toute la « machinerie cellulaire » (enzymes, protéines, ADN, ARN, ...). En revanche, les cibles induisant l'effet physiologique recherché ne peuvent pas être identifiées par ce processus.

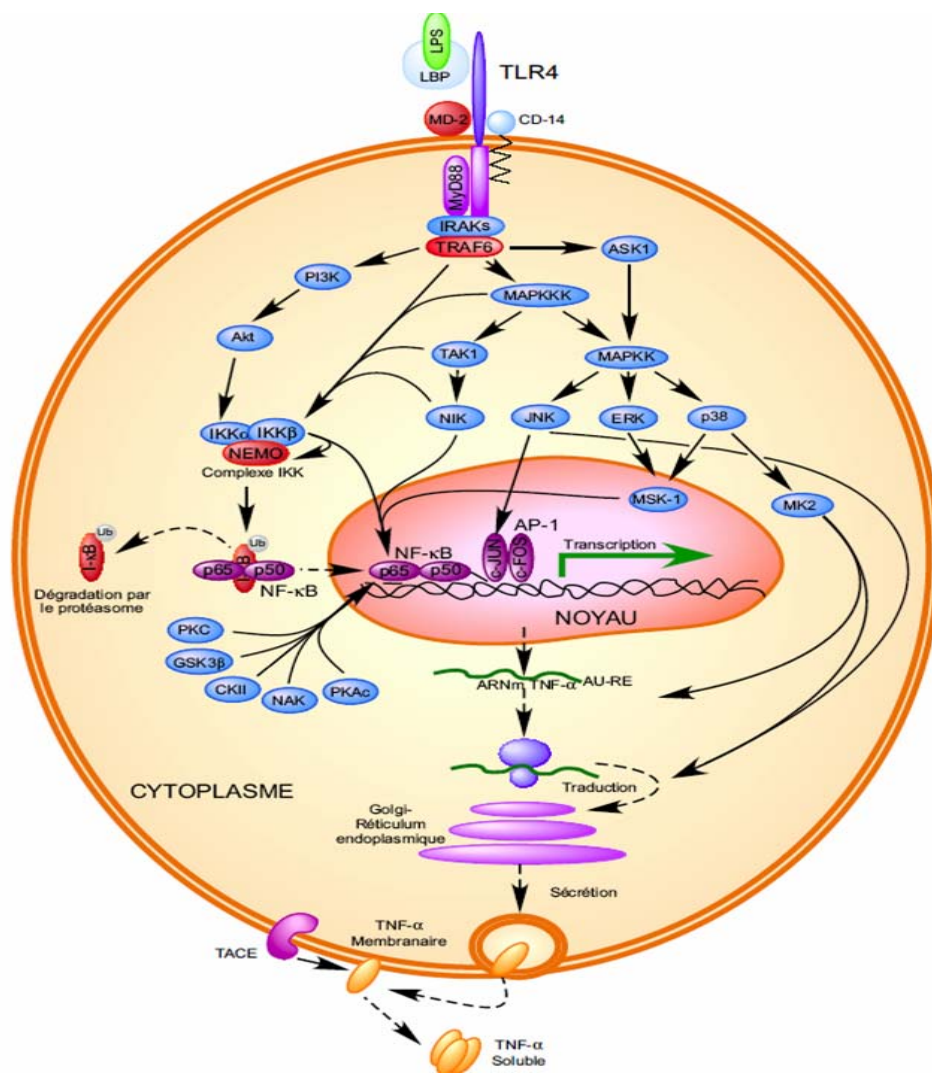


Figure 15. La « boîte noire ».

Nous nous sommes intéressés à une classe de molécules connues comme anti-histaminiques et possédant une activité anti-cytokine prometteuse (anti-TNF- α).

5. Les anti-histaminiques et l'inflammation

5.1. L'histamine

Les anti-histaminiques sont des antiallergiques qui ont la faculté d'agir spécifiquement sur une molécule qui intervient de façon prépondérante dans les mécanismes d'**inflammation** et d'**allergie** : l'histamine.¹⁰²

Depuis longtemps, on sait que l'histamine est un neuromédiateur largement impliqué dans les phénomènes inflammatoires et allergiques.¹⁰³ Elle est biosynthétisée à partir d'un acide aminé : l'**histidine** (Schéma 1), puis est stockée principalement dans des cellules immunitaires, les mastocytes, qui la libèrent lorsqu'ils sont stimulés par la présence d'un corps étranger comme un allergène.

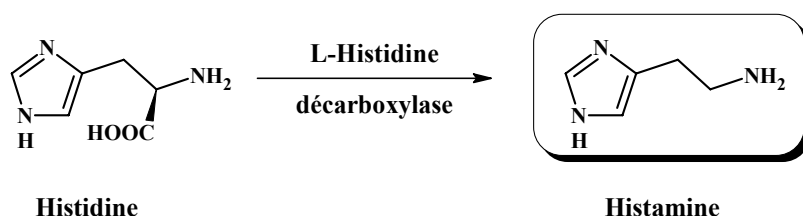


Schéma 1. Biosynthèse de l'histamine

L'histamine est donc une **amine biogène** qui joue un rôle physiologique important dans les tissus centraux et périphériques. Une fois libérée, l'histamine va agir en se fixant sur des récepteurs couplés à des protéines G (RCPG) qui lui sont propres et dont il existe quatre formes.

Les récepteurs de type 1 (H1) sont présents partout dans l'organisme et sont impliqués dans l'inflammation. Les antagonistes de R-H1 sont la principale cible thérapeutique contre les phénomènes allergiques tels que la rhinite allergique, le psoriasis ou la conjonctivite.¹⁰⁴

Les récepteurs de type 2 (H2) sont présents au niveau de l'estomac et interviennent dans la sécrétion acide de l'estomac. Ces derniers ont d'ailleurs une application thérapeutique puisqu'ils sont la cible de médicaments anti-ulcéreux dits antihistaminiques H2.

Le récepteur H3, situé sur les terminaisons des neurones histaminergiques, agit comme un "frein" à la fabrication et à la libération de l'histamine par ces mêmes neurones.¹⁰⁵

Le récepteur H4 est localisé sur les cellules immuno-inflammatoires et serait aussi impliqué dans l'inflammation au niveau gastrique.¹⁰⁶

5.2. Les anti-histaminiques

La première génération d'anti-histaminiques (figure 16, **A**), incluant l'**hydroxyzine**, la **chlorpheniramine** et la **diphénhydramine**, possède une faible sélectivité pour R-H1. S'ils réduisent les effets de la réaction allergique, leur utilisation est limitée en raison d'**effets secondaires indésirables**, sédation et troubles gastro-intestinaux, respectivement causés par leur capacité à passer la barrière hémato-encéphalique (BHE) et par une action anticholinergique.

Une seconde génération d'anti-histaminiques (**terfénadine**, **cétirizine**, **ketotifène**, **azélastine**, **ébastine**, etc.), présentant une meilleure sélectivité pour R-H1 et une faible capacité de pénétration de la BHE, a été développée afin de diminuer ces effets secondaires (figure 16, **B**). Depuis, plusieurs études ont montré que ces composés possèdent des effets anti-inflammatoires *in vivo*, indépendamment de leur action antagoniste sur RH1.^{107,108}

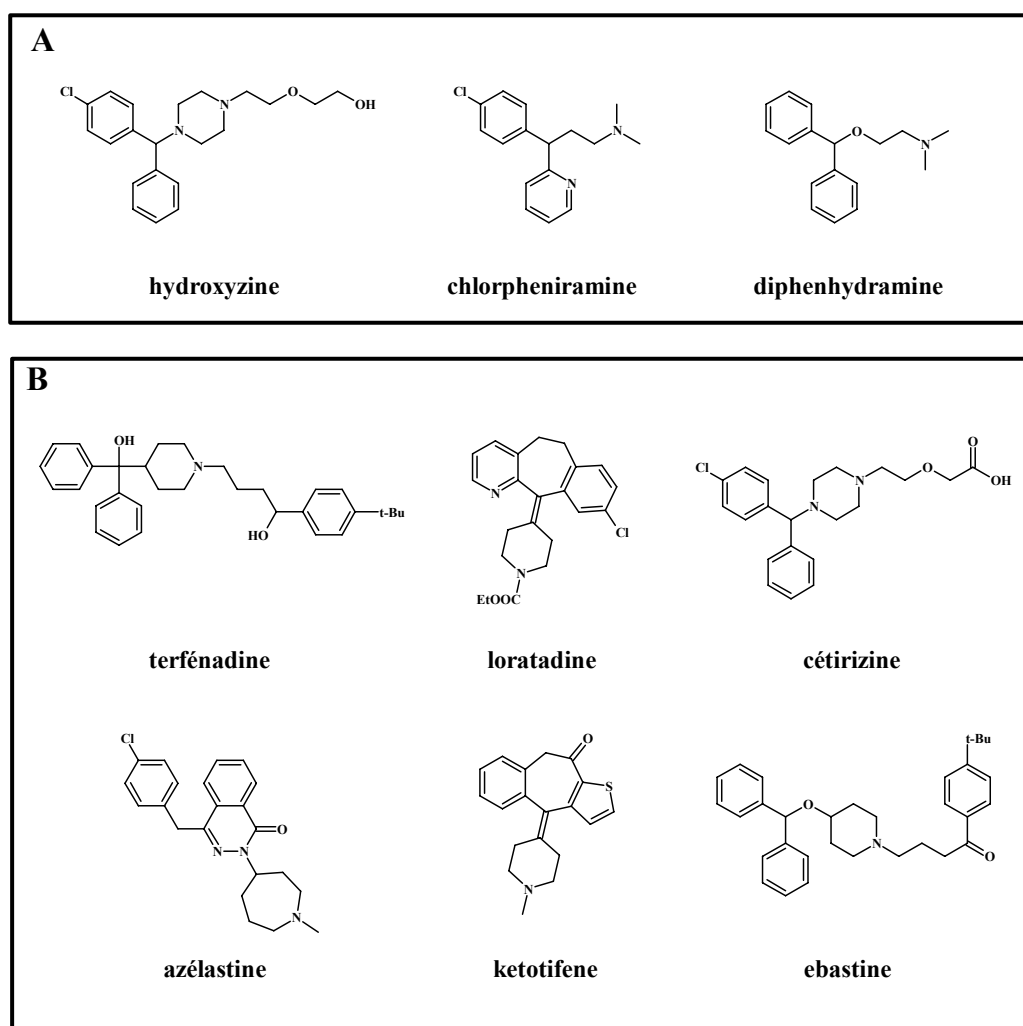


Figure 16. Structures de quelques anti-histaminiques

A. anti-histaminique de première génération

B. anti-histaminique de seconde génération

5.3. Action anti-inflammatoire de certains anti-histaminiques

De nombreuses études ont montré l'activité anti-cytokine de différents anti-histaminiques.^{109,110} Lippert et al. ont montré que des antagonistes de R-H₁, tels que la cétirizine ou la loratadine, inhibent la production d'IL-3, IL-6 et IL-8 ou de TNF- α sur des mastocytes humains (Tableau 3). Leur étude a aussi montré que la ranitidine, un antagoniste de R-H₂, inhibe de manière moins efficace la libération de ces cytokines. De plus, ces anti-H₁ possèdent une activité anti-cytokine supérieure à la dexaméthazone, un corticoïde de référence.¹¹¹

	Conc (x 10 ⁻⁹)	IL-3	IL-6	IL-8	TNF- α
Loratadine	1	32	33	33	65
Cétirizine	1	18	8	23	29
Ranitidine	10	18	10	7	33
Dexaméthasone	10	14	32	46	54

Tableau 3. Comparaison de l'inhibition de cytokines par différents anti-histaminiques dans des mastocytes humains (en %)

Il existe plusieurs hypothèses sur les mécanismes expliquant l'activité anti-inflammatoire de ces anti-histaminiques : (1) prévention contre l'augmentation du calcium intracellulaire, (2) modulation du niveau intracellulaire d'AMPc, (3) inhibition de la Protéine Kinase C (PKC), (4) inhibition de la fonction de protéine G, (5) inhibition de la fixation de NF- κ B.

L'azélastine possède des actions anti-inflammatoires diverses : (1) inhibition de la synthèse des leukotriènes, (2) inhibition de la synthèse des radicaux superoxydes, (3) inhibition des cytokines^{109,110} (tableau 4), (4) inhibition de la synthèse de PAF, (5) inhibition de la production de NF- κ B,¹¹² (6) inhibition de la dégranulation des éosinophiles, des mastocytes et des basophiles.¹¹³

	TNF- α	IL-6	IL-8
Azélastine (6 μ M)	80 %	83 %	53 %

Tableau 4. Inhibition de libération de cytokines par l'azélastine dans des mastocytes humains.¹⁰⁹

Plus récemment, Matsubara *et al.* ont montré que l'activité anti-inflammatoire des antagonistes de R-H1 provient de l'inhibition de la PKC calcium dépendante, elle-même étant impliquée dans l'activation de la cascade NF-kB.¹⁰⁴ C'est donc par la voie NF-kB que les anti-histaminiques inhiberaient la libération des cytokines.

C'est dans ce contexte que ce travail a été élaboré. Notre intérêt s'est porté sur un anti-histaminique commercial : l'azélastine. Cette stratégie présente plusieurs avantages pour la conception de nouveaux anti-inflammatoires :

- ✓ Connaissance des propriétés d'ADME-tox du médicament,
- ✓ Connaissance des voies de synthèse,
- ✓ Activité anti-TNF- α identifiée,
- ✓ Faible capacité de passage de la BHE par rapport aux anti-histaminique de 1^{ère} génération.

6. Objectifs

L'azélastine (Figure 17) est un anti-histaminique (commercialisé sous le nom d'Astelin® ou d'Allergodil®).¹¹⁴ Associée à une activité antagoniste sur les récepteurs H1 ($K_i \sim 1\text{nM}$) de l'histamine, l'azélastine possède une faible composante anti-TNF- α ($CI_{50} \sim 10\mu\text{M}$).

Ainsi, l'objectif de l'optimisation structurale autour de ce composé est d'augmenter son activité anti-inflammatoire. Comme nous avons pu le voir dans le chapitre introductif sur les cytokines, le TNF- α et l'IL-1 β sont les 2 principaux médiateurs solubles de l'inflammation. L'inhibition de leur libération semble donc être une voie thérapeutique privilégiée. L'intérêt de l'azélastine est que son activité anti-cytokine a été démontrée sur différents types cellulaires, mastocytes ou monocytes, d'origines animales ou humaines. Par contre, si l'activité anti-TNF- α de l'azélastine est clairement identifiée, sa cible n'est pas connue à ce jour. Cependant, il semblerait que l'azélastine ait la capacité d'inhiber la protéine kinase C, cette dernière étant fortement impliquée dans l'activation de la cascade du NF-kB.^{93,101}

L'optimisation structurale nous permettra de synthétiser plusieurs dérivés ou analogues structuraux de l'azélastine dont l'activité anti-TNF- α et anti-IL-1 β sera évaluée *in*

in vitro sur des monocytes humains. L'objectif de cette étude est d'identifier un candidat possédant une activité anti-cytokine significative ($IC_{50} \leq 1 \mu M$)

A travers ce projet, nous nous proposons d'étudier les relations structure-activité de l'azélastine vis-à-vis d'un effet anti-TNF- α et anti-IL-1 β . L'azélastine comporte un cycle phtalazine, assimilée à une benzo-pyridazine. Or, les pyridazines sont des hétérocycles que l'on retrouve fréquemment dans des composés possédant des activités biologiques variées et dont la chimie est bien documentée dans la littérature^{115,116,117}, et développée dans notre laboratoire depuis une vingtaine d'années.^{118,119,120}

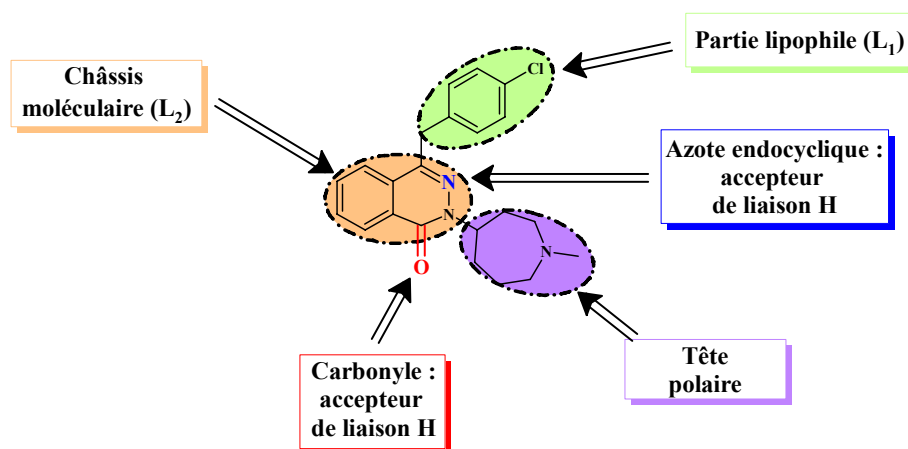


Figure 17. Optimisation structurelle autour de l'azélastine.

L'étude des relations structure-activité (Figure 17) a porté autour de 3 modifications principales de l'azélastine :

- ✓ La partie lipophile (L₁),
- ✓ La tête polaire,
- ✓ Le noyau hétérocyclique (L₂).

Nous avons considéré le carbonyle d'amide comme un élément critique pour l'activité et l'avons maintenu présent dans tous nos composés. De plus, nous n'avons pas évalué l'importance de l'azote sp² endocyclique pour l'effet pharmacologique recherché.

Les groupements lipophiles seront de nature diverse afin d'évaluer l'espace nécessaire pour optimiser l'activité anti-TNF- α (Figure 18). L'aromatique pourra soit être « éloigné » soit être « rapproché » de l'hétérocycle. Ces substitutions seront introduites par S_NAr ou par des couplages pallado-catalysés de type Suzuki-Miyaura ou Sila-Sonogashira.

Concernant la tête polaire, l'azépine initiale pourra être remplacée par une pipéridine. La position et la substitution de l'azote seront étudiées.

L'optimisation portera enfin sur le châssis hétérocyclique. Le cycle phthalazinone sera substitué par des 4- ou 5-phényl-pyridazinones (**A**, **B**). Une homologation (cycle à 6 maillons → cycle à 7 maillons) de l'hétérocycle sera envisagée en synthétisant des dérivés 2,3-benzodiazépinones de l'azélastine (**C**, **D**). Afin de remplir cet objectif, nous serons amenés à développer une chimie variée autour de la construction et la fonctionnalisation de cet hétérocycle. Effectivement, les travaux sur ce type de structure sont très peu répandus dans la littérature.

La dernière modification de l'hétérocycle portera sur la synthèse d'hétérocycles totalement originaux, les « 2,3-hétéroaryldiazépinones » **E**.

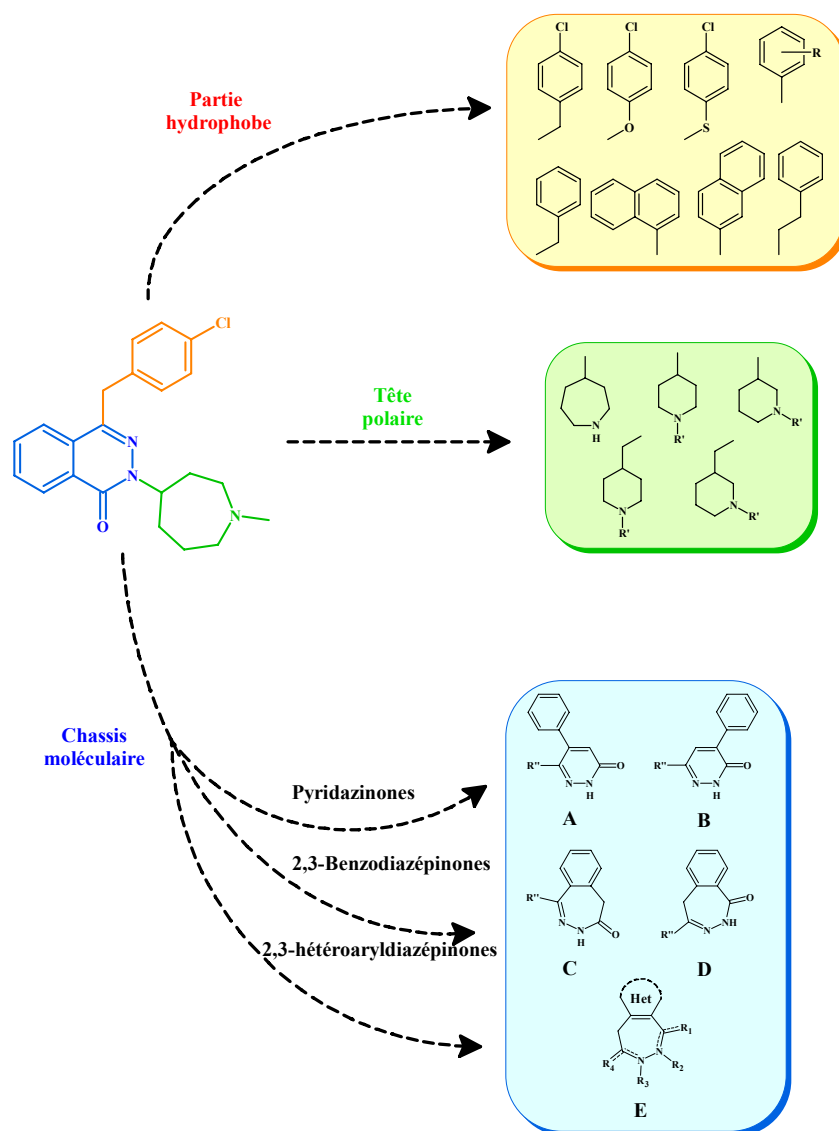


Figure 18. Modification structurale de l'azelastine

**Chapitre II.
Synthèse de dérivés
de l'azélastine**

Chapitre II. Synthèse de dérivés de l'azélastine

1. Modifications structurales autour du cycle phtalazinone

1.1. Introduction

L'objectif de cette partie est d'étudier les relations structure-activité autour du noyau phtalazine (figure 19). En effet, l'azélastine peut être décomposé en 3 parties : un groupement lipophile (le *p*-chlorobenzyle) en position 4 de la phtalazinone, un cation (la N-méthyl-azépine) en position 2, et l'hétérocycle lui-même. Nous allons chercher donc à optimiser la nature des groupements autour de ce noyau hétérocyclique afin d'en améliorer l'activité anti-cytokine.

Cette optimisation structurale devrait nous permettre de répondre à plusieurs interrogations :

- Nécessité du groupement benzyle en position 4 ?
- Importance du Chlore en *para* du groupement benzyle ?
- Choix de la tête polaire en position 2 ?
- Substitution de l'azote de la tête polaire ?

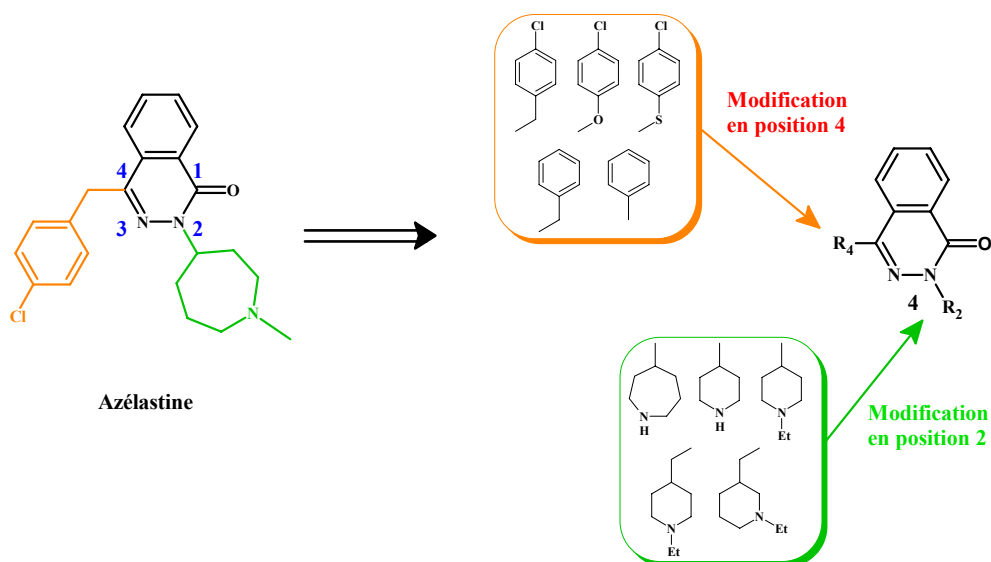


Figure 19. Modifications autour du châssis phtalazinone.

Pour connaître l'importance du chlore en *para* du benzyle sur l'effet anti-cytokine, nous synthétiserons le composé substitué par un groupement benzyle. L'influence de cette

plage lipophile sera évaluée par l'introduction d'autres groupements. Ainsi, le méthylène benzylique pourra être, soit supprimé (phényle), soit substitué par un oxygène (*p*-chlorophénol) ou un soufre (*p*-chlorothiophénol). La présence de cet oxygène ou de ce soufre pourrait induire la naissance d'une nouvelle interaction avec une cible, ou plus simplement modifier la position du groupement phényle dans l'espace afin de renforcer l'effet biologique désiré.

Concernant la tête polaire, la synthèse de la N-desméthylazélastine permettra de juger de l'intérêt du méthyle sur l'azote. Cette déméthylation pourrait induire une perte ou une augmentation d'activité biologique conséquente. En effet, il existe dans les tissus vivants des enzymes capables très rapidement de démétyler. Ainsi, la forme active de la drogue pourrait être le dérivé déméthylé et, de ce fait, l'alkylation deviendrait une étape inutile. La seconde modification pourrait être de remplacer le cycle azépine par une pipéridine. La pipéridine serait soit directement greffée à l'azote hétérocyclique, soit éloignée de cet azote par un méthylène. Cet éloignement du cation engendre un degré de liberté permettant au cation d'explorer l'espace tridimensionnelle et peut-être de trouver une meilleure interaction avec des cibles biologiques (enzymes, récepteurs, ...). Pour la même raison, la position de l'azote sera modifiée au sein même de la pipéridine.

Les différents dérivés de l'azélastine seront obtenus à partir de phthalazinones diversement substituées en position 4, elles-mêmes provenant de la 2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione commerciale (figure 20). Dans un premier temps, nous nous intéresserons à la synthèse de ces différentes phthalazinones substituées en position 4, avant d'étudier l'étape de N-alkylation de l'azote hétérocyclique.

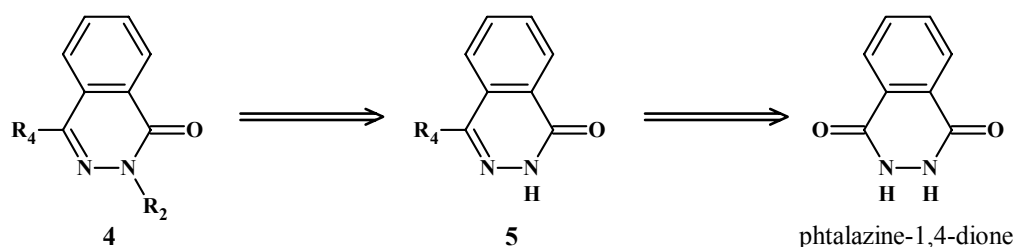


Figure 20. Stratégie de synthèse.

1.2. Modification structurale de la position 4 de l'azélastine

1.2.1. Introduction d'un groupement benzylique en position 4 de la phthalazine

a) Synthèse de dérivés benzylés catalysée par des métaux de transition

La première synthèse de l'azélastine a été décrite dans un brevet datant de 1974.¹²¹ A partir de l'acide 2-[(4-chlorophényl)acétyl]benzoïque **6**, dont nous ne détaillerons pas la synthèse, les auteurs ont obtenu par un traitement acide le phthalide **7** qui a été ensuite condensé avec la N-méthyl-1-azépine-4-yl-hydrazine **8** pour donner l'azélastine (Schéma 2). Cette méthode reste pratique pour synthétiser l'azélastine, elle s'avère plus fastidieuse dans le cadre d'une étude de relation structure-activité où diverses modifications sont envisagées.

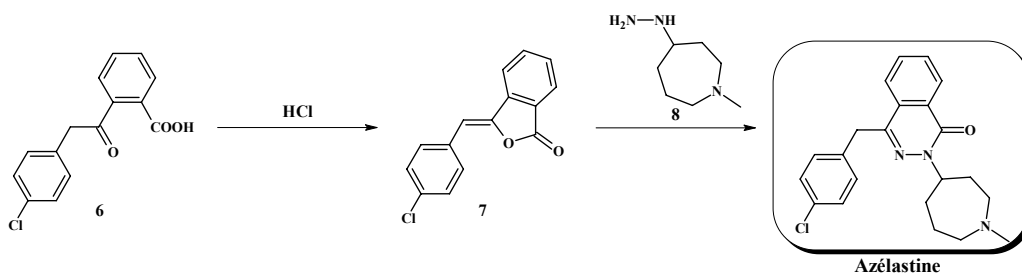


Schéma 2. Première synthèse de l'azélastine.

Récemment, plusieurs équipes ont décrit la synthèse de phthalazinones benzylées en position 4 à partir de l'anhydride phtalique. Effectivement, l'anhydride phtalique est condensé avec l'acide phénylacétique pour donner la 3-(benzylidène)-2-benzofuran-1(3H)-one **9**. Ce phthalide, en réagissant avec différentes hydrazines donne les dérivés phthalazinones benzylés **10** (Schéma 3).^{122,123}

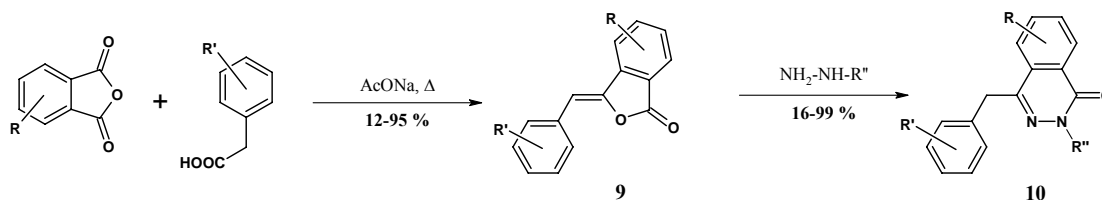


Schéma 3. Synthèse des 4-(benzyl)phthalazin-1(2H)-ones.

Nous avons cherché à développer une synthèse permettant d'introduire les différents groupements hydrophobes directement sur le noyau phthalazine. La méthode la plus directe pour introduire un groupement benzyle par une catalyse par des métaux de transition est d'utiliser des organométalliques. Cependant, les dérivés organométalliques du benzyle ne

jouissent pas d'une grande stabilité. On trouve tout de même dans la littérature de nombreux exemples d'insertion de dérivés organométalliques de benzyle par l'utilisation de catalyseurs issus de métaux de transition.^{124,125,126}

La benzylation peut être réalisée par une catalyse au nickel en présence de chlorure de benzylmagnésium par substitution d'un iode (**11**),¹²⁷ d'un triflate (**13**)¹²⁸ ou d'un iminochlorure (**15**).¹²⁹ Cette méthode est donc applicable à des systèmes hétérocycliques (**15**), même si dans le cas présent le rendement est faible (Schéma 4).

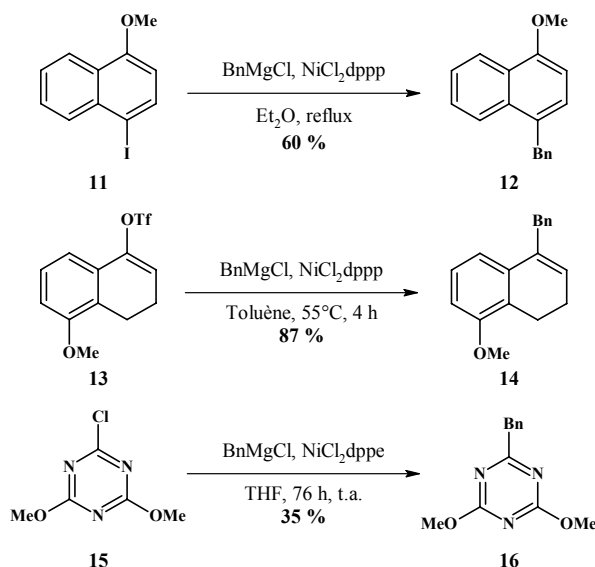


Schéma 4. Benzylation catalysée au nickel à partir d'organomagnésiens

Une alternative pour améliorer le rendement sur la triazine **15** est d'utiliser sur l'iminochlorure des organoalanes (synthétisés *in situ* à partir de chlorure d'aluminium et d'un excès d'organomagnésien) en présence de palladium (Schéma 5).¹²⁸

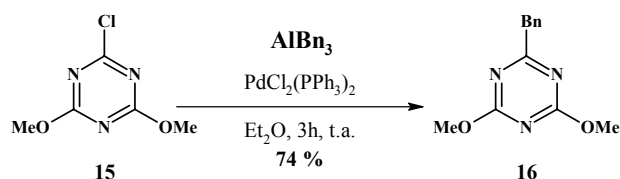


Schéma 5. Benzylation à partir d'organoalanes

Le groupement benzyle peut être introduit par une catalyse au palladium en présence d'organozinciques.¹³⁰ Cette réaction de Négishi, est décrite sur des iminochlorures,¹³¹ des tosylates¹³² ou des triflates¹³³ (Schéma 6).

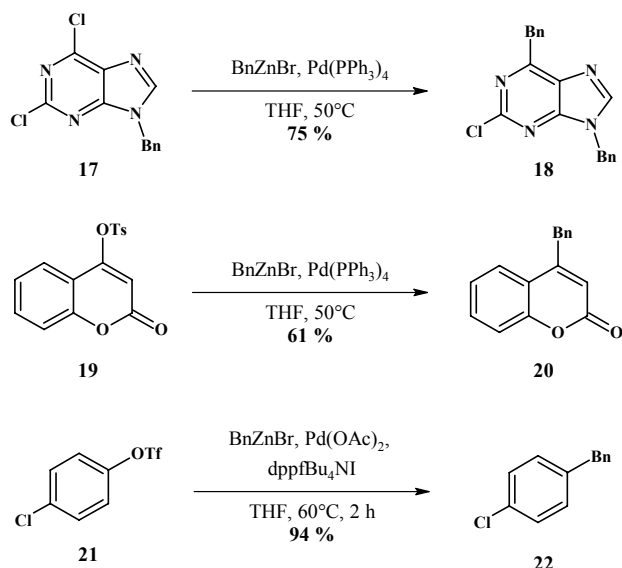


Schéma 6. Benzylation à partir d'organozinciques et catalysée au palladium

Les travaux de Molander et al. ont montré que le groupement benzyle pouvait être inséré par une pseudo-réaction de Suzuki-Miyaura à partir de triflates (Schéma 7).^{134, 135}

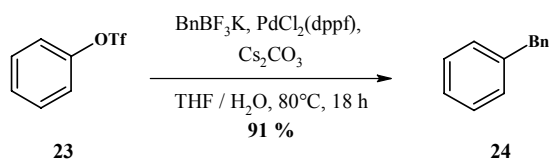


Schéma 7. Benzylation à partir de sel de boronates

Enfin, une catalyse au fer en présence d'organomagnésiens peut être une alternative à l'introduction de groupes benzyles sur des iminochlorures (schéma 8).¹³⁶

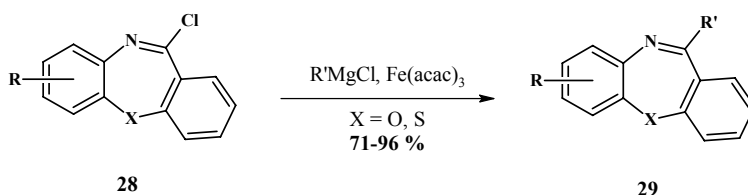


Schéma 8. Benzylation catalysée au fer

Nous avons donc souhaité utiliser ces méthodes pour synthétiser les dérivés phthalazinones benzylées en position 4. Dans un premier temps, nous avons pensé que la 1,4-dichlorophthalazine **30**, obtenu par traitement au POCl₃ de la phthalazine-1,4-dione à 80°C pendant 4 heures avec un rendement de 79 %, ¹³⁷ était un composé idéal afin d'insérer le groupement benzyle par un couplage catalysé par des métaux de transition. Malheureusement,

tous les essais menés sur la phtalazine **30** ont été des échecs (Schéma 9). Le dérivé benzylé n'a jamais pu être isolé en raison, soit d'absence de réaction, soit de la formation de mélanges complexes. Les résultats ont été identiques à partir de la 3,6-dichloropyridazine **31**.

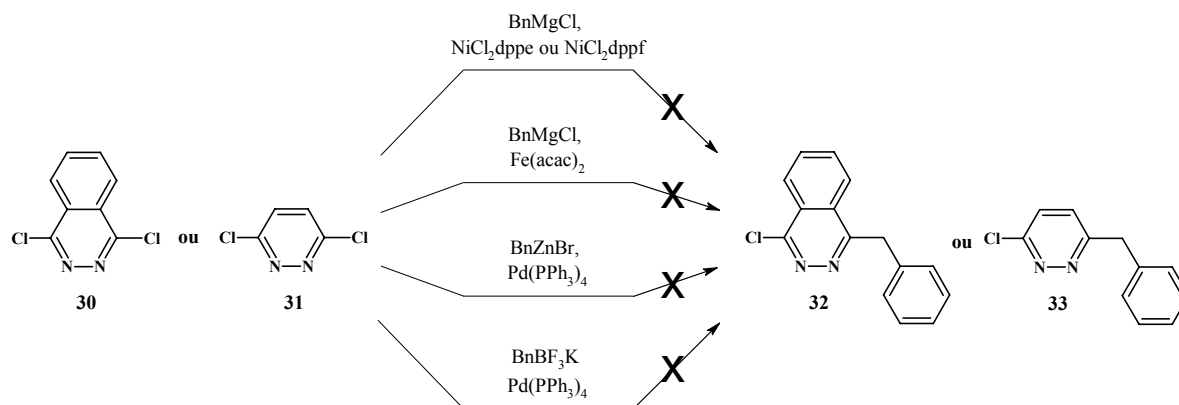


Schéma 9. Essais de benzylation.

Devant les échecs de benzylation par catalyse (Pd, Ni, Fe) en présence d'organométalliques (Mg, Zn) ou de sel de bore, nous nous sommes tournés vers des méthodes de substitution nucléophile aromatique.

b) Synthèse de dérivés benzylés catalysée par S_NAr

Une méthode pour introduire un groupement benzyle sur la 3,6-dichloropyridazine prévoit d'insérer le phénylacétonitrile en lieu et place d'un chlore (schéma 10). En effet, en présence d'une base, le carbanion issu du phénylacétonitrile réagit sur l'iminochlorure pour former l'intermédiaire (6-chloropyridazin-3-yl)(phényl)acétonitrile **34**. Ensuite, une étape d'hydrolyse acide permet de générer la 6-benzylpyridazin-3(2H)-one **35**.^{138, 139}

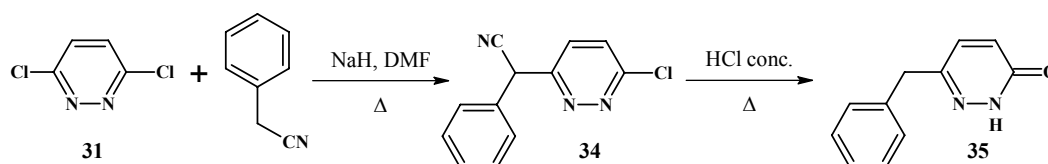


Schéma 10. Insertion d'un groupement benzyle par S_NAr .^{137,138}

Nous avons donc transposé cette réaction pour la synthèse de benzyl-phthalazinone. Une étude d'optimisation de l'insertion du phénylacétonitrile a été menée afin d'obtenir les meilleures conditions de réaction. Les paramètres étudiés ont été le choix du solvant, de la base, de la température et enfin le temps de réaction (tableau 5).

Ainsi, NaH n'apparaît pas comme la base adéquate à cette réaction (entrées 1 & 2). Concernant le solvant, des rendements très moyens ont été obtenus avec le DMF ou le THF (entrées 1 à 3). Finalement, la substitution a été la plus efficace en milieu protique en utilisant le couple tBuOK / tBuOH à 60°C pendant 4 h (entrées 4 & 5).¹⁴⁰ Comme attendu, le chlore en para a un effet bénéfique sur l'attaque nucléophile. En effet, l'effet attracteur du chlore augmente l'acidité du proton en α du nitrile. La formation du carbanion est alors facilitée, ce qui permet d'obtenir le phthalazine **36a** avec un excellent rendement de 91 %.

Entrée	R	Base	Solvant	Température (°C)	Temps (h)	Rdt (%)
1	H	NaH	DMF	25	5	44
2	H	NaH	THF	25	5	11
3	H	tBuOK	DMF	25	24	32
4	H	tBuOK	tBuOH	60	4	69
5	Cl	tBuOK	tBuOH	60	4	91

Tableau 5. Optimisation des conditions d'addition du phénylacétonitrile.

La seconde étape pour générer la phthalazinone **37** est une hydrolyse acide. En réalité, trois réactions ont lieu *in situ* :

- (1) hydrolyse du nitrile,
- (2) décarboxylation,
- (3) hydrolyse de l'iminochlorure.

Cette dernière hydrolyse nous intéresse tout particulièrement puisqu'elle nous permet d'obtenir directement la phthalazinone d'intérêt. Dans un premier temps, la méthode décrite dans la littérature sur les 3,6-dichloropyridazines (HCl conc / AcOH glac. / H₂O),¹³⁷ appliquée au composé **36b**, donne en 48 heures à 100°C la phthalazinone **37b** avec un faible rendement

(tableau 6). Ce résultat s'explique probablement en raison de la faible solubilité de la phtalazine **36b** en comparaison d'une pyridazine. La suppression de l'acide acétique n'a pas amélioré la conversion. En revanche, l'ajout d'un solvant organique miscible à l'eau, le 1,2-diméthoxyéthane (DME), a permis d'obtenir des rendements satisfaisants et de ramener le temps de réaction à 24 heures.

R	Conditions	Conditions	Rdt (%)
H	HCl conc. / AcOH glac. / H ₂ O (2 : 1 : 1)	100°C, 48 h	36
H	HCl conc. / H ₂ O (2 : 1)	100°C, 48 h	37
H	HCl conc. / DME (1 : 1)	100°C, 24 h	62
Cl	HCl conc. / DME (1 : 1)	100°C, 24 h	55

Tableau 6. Synthèse de la benzyl-phtalazinone **37**.

1.2.2. Introduction d'autres groupements lipophiles en position 4 de la phtalazine

Dans l'optique de notre étude des relations structure-activité autour de l'azélastine, nous souhaitons modifier l'espaceur en position 4, qui sépare le chlorophényle du noyau phtalazine. Le méthylène du groupement benzyle peut ainsi être supprimé pour donner la 4-phénylphtalazinone **38**, ou substitué par un oxygène ou un soufre pour donner respectivement les phtalazinones **39a** et **39b** (figure 21).

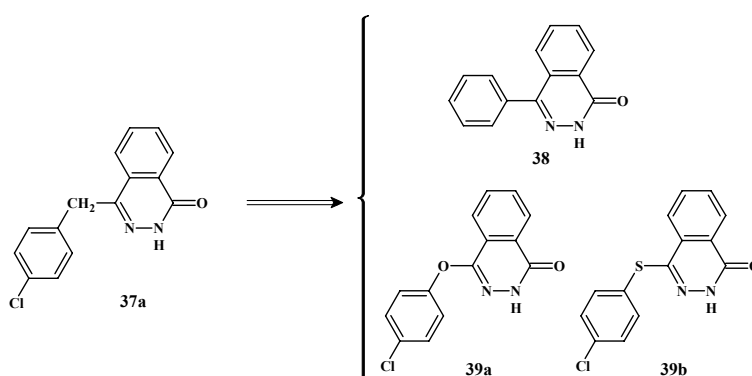


Figure 21. Modification du groupement lipophile.

Il n'a pas été nécessaire de synthétiser le dérivé **38** puisqu'il est commercial. Les groupements phénoxy ou thiophényle ont été introduits par S_NAr , à partir de la 1,4-dichlorophthalazine **30** via la formation *in situ* du phénolate ou du thiophénate de sodium, conduisant respectivement aux iminochlorures **40a** et **40b**.¹⁴¹ L'hydrolyse des iminochlorures **40a-b** dans l'acide acétique en présence d'acétate de sodium génère les phtalazinones **39a** et **39b** avec de bons rendements (Schéma 11).¹⁴²

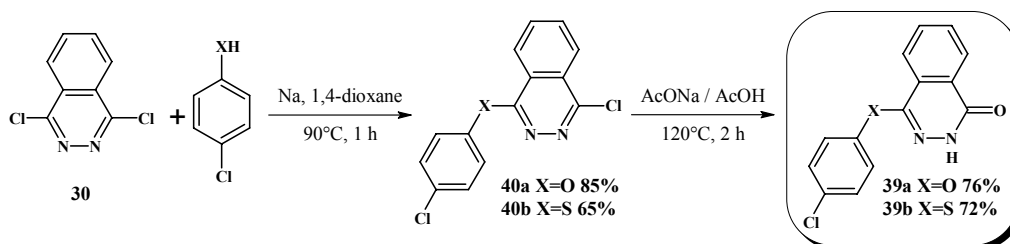


Schéma 11. Synthèse des dérivés phénoxy- et thiophényl-phtalazinone **40**.

1.2.3. Conclusion

Dans cette première partie, différents groupements ont été introduits en position 4 de la phtalazinone. L'introduction de benzyle à partir de la 1,4-dichlorophthalazine **30** s'est avérée plus difficile que prévue puisque les techniques récentes (réactions organométalliques catalysées) n'ont pas fonctionné. C'est finalement par une réaction plus conventionnelle de type S_NAr utilisant le phénylacétonitrile comme nucléophile, suivie d'une hydrolyse acide qui ont permis de synthétiser les dérivés **37a** et **37b** benzylés en position 4.

Afin d'étudier l'importance de ce méthylène benzylique, nous l'avons supprimé (phtalazinone **38**) ou substitué par un oxygène ou un soufre (phtalazinone **39a** et **39b**). Cet oxygène ou ce soufre ont en plus la capacité de générer des liaisons hydrogène avec d'éventuelles cibles biologiques.

L'étape suivante abordera l'alkylation de l'azote en position 2 de la phtalazinone **5** (figure 22).

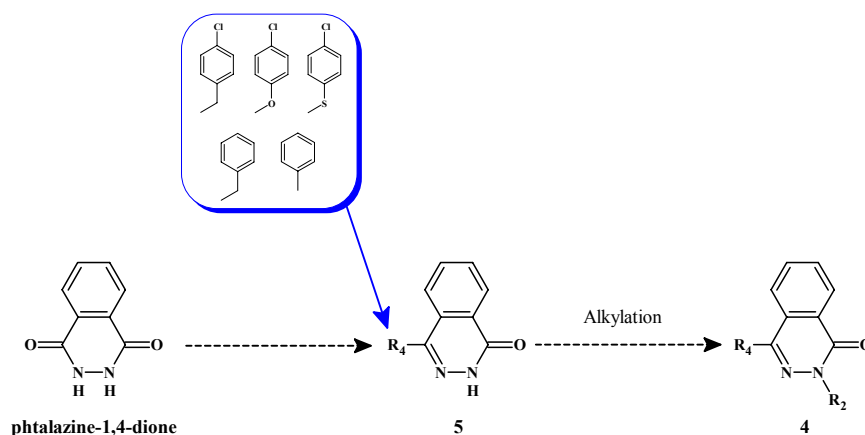


Figure 22. Modification structurale en position 4 de la phthalazinone

1.3. Introduction de la tête polaire en position 2 de la phthalazinone

La seconde modification concerne la partie polaire de l'azélastine, qui, en l'occurrence, est une N-méthylazépine. La première étape de l'étude des relations structure-activité est de remplacer cette azépine par une pipéridine. Cette pipéridine sera soit insérée directement sur l'azote de la phthalazinone, soit éloignée par un linker afin que le cation ait la possibilité d'explorer l'espace tridimensionnel.

La position de l'azote au sein même de la pipéridine sera modifiée ainsi que sa substitution. En effet, l'azépine de l'azélastine est méthylé. Ce groupement méthyle est-il important pour l'activité anti-inflammatoire ? Pour y répondre, nous synthétiserons le dérivé déméthylé de l'azélastine.

1.3.1. Synthèse de la N-desméthyl-azélastine

La N-desméthyl-azélastine **42** a été synthétisée à partir de l'azélastine (Schéma 12). La déméthylation se réalise en 2 étapes.¹⁴³ Dans un premier temps, l'addition de chloroformiate d'éthyle génère la N-éthoxycarbonyl-azélastine **41** dont l'hydrolyse basique permet de libérer la N-desméthyl-azélastine **42** avec un rendement global de 57 %.¹⁴⁴

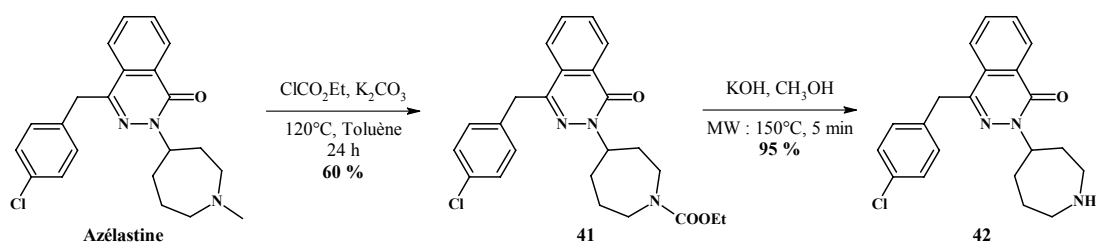


Schéma 12. Synthèse de la N-des-méthylazélastine **42**.

1.3.2. Préparation des pipéridines O-mésylées

Afin de pouvoir introduire les différentes pipéridines sur les phthalazones, nous avons au préalable préparé les dérivés mésylés de chacune d'entre elles (Schéma 13). L'azote de la pipéridine est dans un premier temps protégé en carbamate **43**,¹⁴⁵ puis le groupement hydroxyle est mésylé **47**.¹⁴⁶ Concernant les 3- et 4-hydroxypipéridines ou la 4-hydroxyméthylpipéridine, les dérivés N-Boc étant commerciaux, seule l'étape de mésylation a été nécessaire.¹⁴⁷

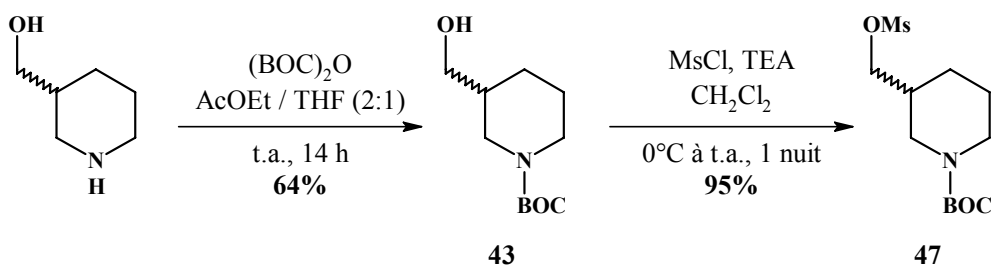


Schéma 13. Synthèse de la 3-O-mésyl-méthyl-N-Boc-pipéridine **47**.

Nous avons ainsi préparé deux O-mésyl-N-Boc-pipéridines (**44**, **45**) et deux O-mésyl-méthyl-N-Boc-pipéridines (**46**, **47**), dans lesquelles l'azote est placé soit en position 3, soit en position 4 (tableau 7).

Alcool de départ	base	Solvant	Conditions de réaction	produits	Rdt (%)
	pyridine	CH ₂ Cl ₂	0°C à t.a. 6 h		94
					99
	triéthylamine	CH ₂ Cl ₂	0°C à t.a. 15 h		94
					95

Tableau 7. Synthèse des pipéridines O-mésylées

1.3.3. Insertion des différentes pipéridines en position 2 de la phthalazínone

L'étape suivante dans la synthèse de dérivés de l'azélastine est la N-alkylation de ces pipéridines **44** à **47** sur l'azote endocyclique. La réaction de substitution nucléophile a été effectuée à 90°C pendant 4 heures dans le DMF en présence d'une base (NaH) avec des rendements variables allant de 53 à 98 % (tableau 8).^{148,149}

Il est important de préciser qu'aucun produit issu d'une O-alkylation n'a été observé. Les rendements de la substitution des phthalazínones benzylées **37a-b** sont inférieurs à ceux des phthalazínones portant un phényle **38**, un phénol **39a** ou un thiophénol **39b**.

De plus, la substitution du mésyle des méthylpéridines **46** et **47** s'avère moins efficace que celle du mésyle de la pipéridine **44**. Effectivement, les dérivés mésylés d'alcools primaires semblent moins réactifs que les dérivés d'alcools secondaires.

Reaction scheme: Phthalazinone **4** (with R₄ at position 2) reacts with a BOC-protected mesylated piperidine (**44-47**) in the presence of NaH and DMF at 0°C to 90°C for 4 hours to yield the N-alkylated product **48a-g**.

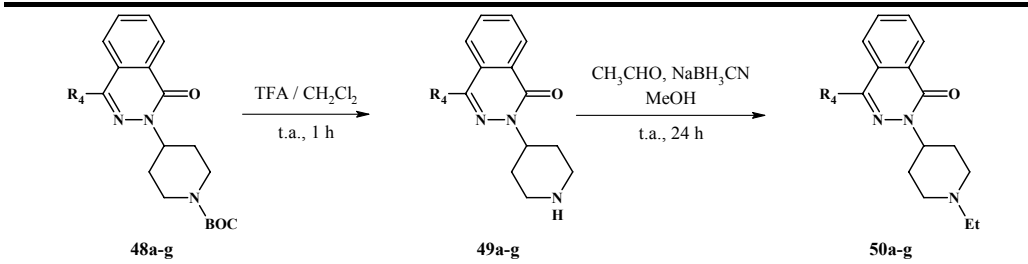
Phtalazínones	4-O-Mésylpipéridines	R ₄	Produits	Rdt (%)
37b	44		48a	65
37a	44		48b	74
	46		48c	53
	47		48d	52
38	44		48e	95
39a	44		48f	83
39b	44		48g	98

Tableau 8. Résultats de l'alkylation.

1.3.4. Alkylation de l'azote pipéridinyle par amination réductrice

La dernière partie de la synthèse consiste à alkyler l'azote de la pipéridine. Une première étape de clivage du carbamate en condition acide (TFA) a permis d'obtenir une première série de dérivés « NH libre » **49a-g** qui seront aussi testés pour leurs propriétés anti-TNF- α afin de vérifier la nécessité de la substitution sur l'azote (Tableau 7).¹⁵⁰

Enfin, la pipéridine est fonctionnalisée par amination réductrice de l'acétaldéhyde en présence de cyanoborohydrure de sodium pour donner les dérivés **50a-g** avec de bons rendements (tableau 9).¹⁵¹



Phtalazones de départ	Rdt de la Déprotection (%)	Produits	Rdt de l'alkylation (%)	Produits
48a	99	49a	74	50a
48b	98	49b	83	50b
48c	85	49c	87	50c
48d	85	49d	78	50d
48e	95	49e	71	50e
48f	98	49f	90	50f
48g	95	49g	84	50g

Tableau 9. Déprotection et alkylation des phtalazinones **48**.

1.4. Conclusions et perspectives

Notre objectif était de synthétiser un ensemble de dérivés de l'azélastine issu de modifications soit en position 4 soit en position 2 d'un squelette phtalazinone. A partir de composés commerciaux (2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione ou 4-phenylphthalazin-1(2H)-one), nous avons obtenu 15 dérivés de l'azélastine (schéma 14). Les différents groupements introduits en position 4 ou en position 2 permettront de répondre à plusieurs interrogations évoquées précédemment (figure 23).

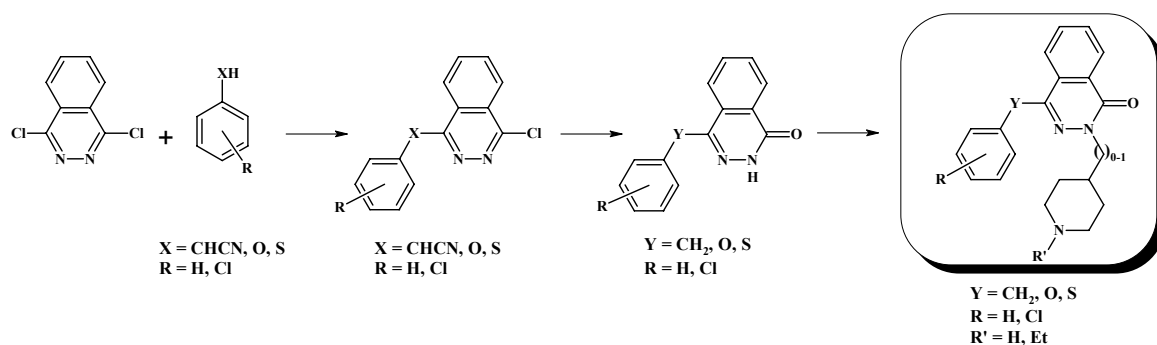


Schéma 14. Schéma réactionnel de la synthèse des phtalazinones.

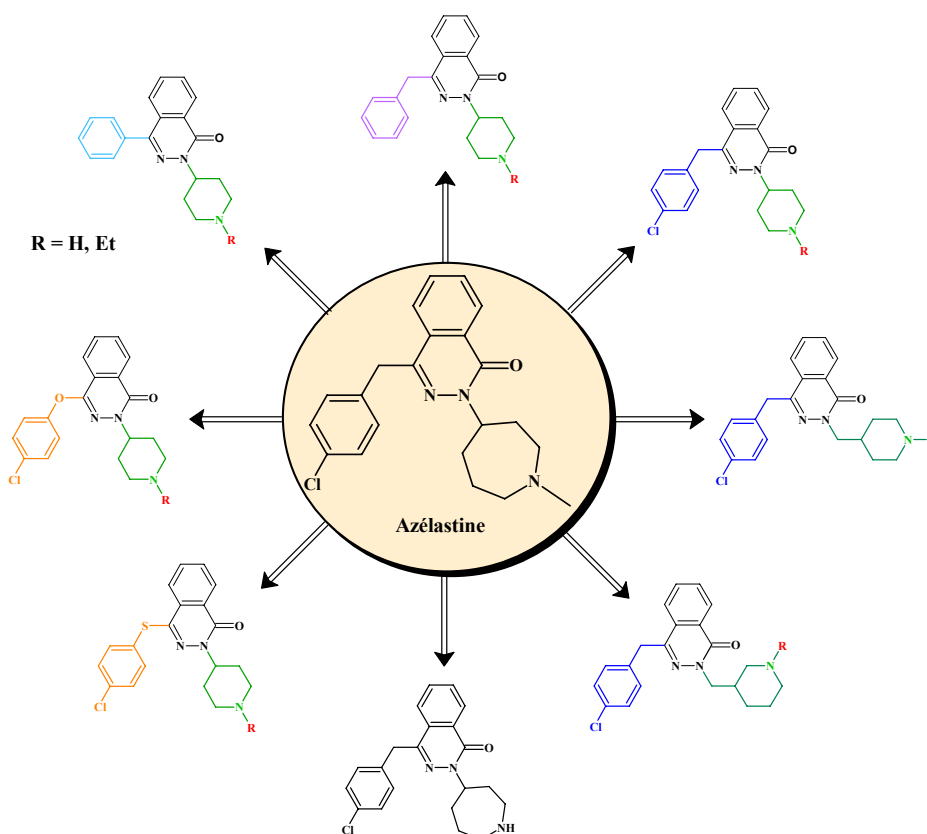


Figure 23. Dérivés phtalazinones de l'azélastine.

L'insertion d'un groupement benzyle a été une étape délicate, et finalement réalisée par l'insertion d'un phénylacétonitrile sur un iminochlorure, suivie d'une hydrolyse acide. Une perspective intéressante pour la synthèse des 4-benzylphtalazinones serait d'utiliser les travaux d'Uchiyama et al. sur la cycloisomérisation d'acide éthynylbenzoïque **51** en milieu basique (schéma 15).¹⁵²

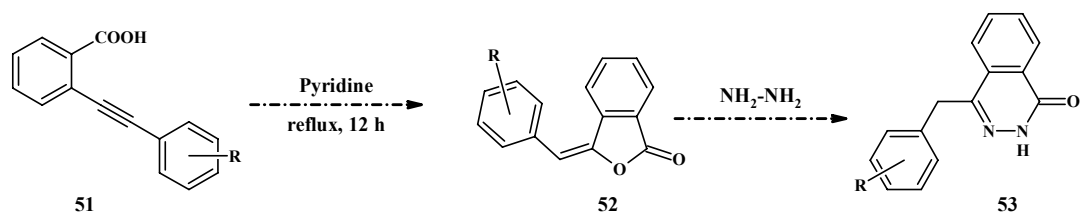


Schéma 15. Perspectives pour l'introduction du benzyle en position 4 de la phthalazine

Les voies de synthèse mises au point pour obtenir des dérivés phthalazines de l'azélastine pourront être utilisées dans la suite de l'optimisation structurale. Effectivement, la méthode de benzylation ainsi que l'insertion de groupement pipéridinyle seront transposées dans la synthèse des dérivés pyridaziniques de l'azélastine afin de poursuivre notre étude pharmacochimique.

2. Modifications structurales autour du cycle pyridazin-3-one

2.1. Objectifs

Dans cette partie, poursuivant notre étude des relations structure-activité, nous aborderons la modification du squelette phthalazinone. En effet, le châssis phthalazinone de l'azélastine peut être considéré comme un noyau pyridazine accolé en position 4 et 5 à un cycle benzène. Le passage à une phénylpyridazinone par « translation » du cycle en position 4 ou 5 de la pyridazinone permet d'envisager une exploration différente de l'espace tout en conservant une interaction de type hydrophobe, comparable à la phthalazinone de référence. Les deux positions du phényle (4 ou 5) seront explorées (figure 24).

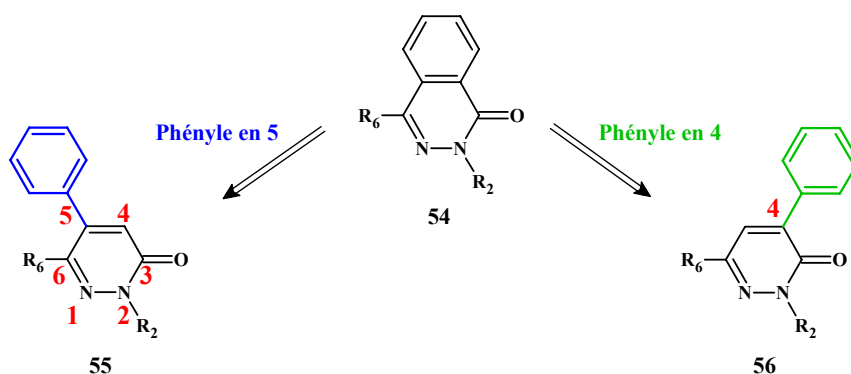


Figure 24. Pyridazinones d'intérêt.

D'un point de vue chimique, cette modification structurale apporte une difficulté supplémentaire puisque nous devons être capable de synthétiser les 2 régioisomères **55** et **56**. De manière similaire aux travaux précédents, les modifications structurales sur la pyridazinone seront effectuées sur trois positions (figure 25) :

- (1) le groupement lipophile en position 6,
- (2) les groupements lipophiles en position 4 ou 5,
- (3) la tête polaire en position 2.

Concernant la position 6, le premier groupement a inséré est le *p*-chlorobenzyle, présent dans l'azélastine. Afin de rigidifier la position du benzyle par rapport au cycle pyridazine, un groupement α -naphtyle sera inséré en position 6. Il pourrait donc occuper le même espace que le benzyle dans la poche hydrophobe d'une cible biologique.

Afin d'évaluer quel est l'espace lipophile optimum, il sera intéressant de synthétiser les dérivés phényle et *p*-chlorophényle (plus court que le *p*-chlorobenzyle) et le dérivé phénéthyle (plus long que le benzyle). Le dérivé β -naphtyle sera aussi synthétisé, toujours pour évaluer l'effet de la rigidification par rapport au phénéthyle.

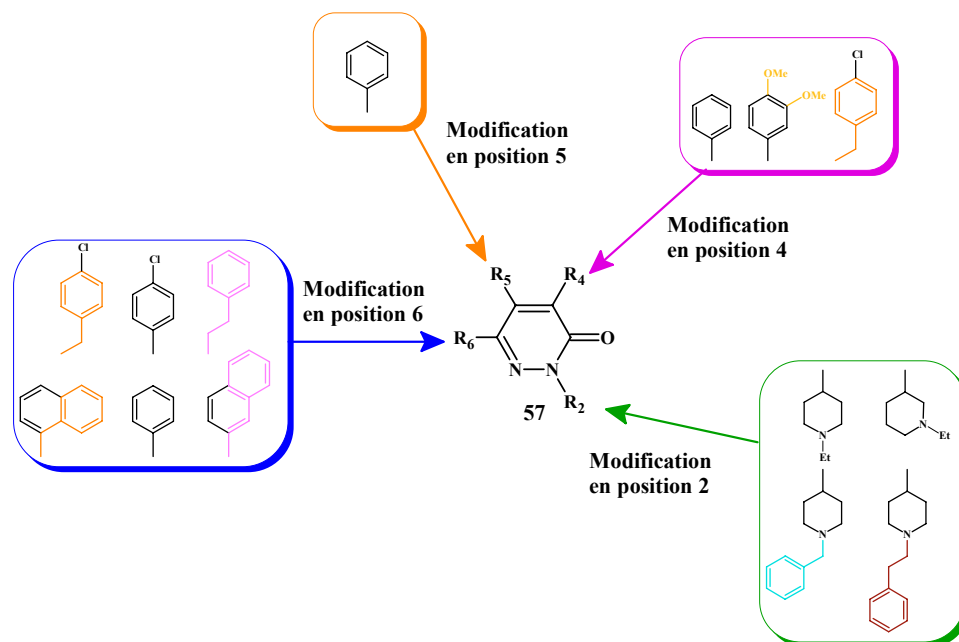


Figure 25. Stratégies de modification structurale autour du cycle pyridazinone.

Le « basculement » du groupement benzo de la phthalazinone pouvant se faire sur 2 positions (4 ou 5), chacun des 2 représentants sera synthétisé. En position 4, nous insérerons aussi un groupement 3,4-diméthoxyphényle afin de trouver peut-être de nouvelles interactions

capables de renforcer l'effet anti-TNF- α . La présence de ce groupement 3,4-méthoxyphényle pourrait aussi induire une activité inhibitrice sur la phosphodiesterase 4 et donc renforcer le pouvoir anti-inflammatoire. Un groupement *p*-chlorobenzyle sera aussi introduit dans cette position 4 pour évaluer là aussi l'espace hydrophobe disponible dans cette zone.

Enfin, le travail d'optimisation du cation entamé sur les phtalazinones sera poursuivi sur les pyridazinones. La position préférentielle de l'azote cationique sera évaluée en introduisant différentes pipéridines. L'azote de la pipéridine sera diversement substitué par des groupements lipophiles (benzyle, phénéthyle) afin de chercher de nouvelles interactions hydrophobes.

Pour réaliser cette optimisation structurale, nous avons été amenés à développer de nouvelles méthodes de fonctionnalisation des pyridazines. Nous mettrons aussi à profit les travaux effectués sur la phtalazinone pour synthétiser les dérivés de l'azélastine en série pyridazine.

2.2. Introduction d'un groupement benzyle en position 6 de la pyridazinone

Afin de synthétiser un dérivé pyridazinone de l'azélastine, nous devons insérer un groupement *p*-chlorobenzyle en position 6. Par transposition des travaux effectués sur la phtalazine, la benzylation a été effectuée suivant la même stratégie, via la synthèse du précurseur 3,6-dichloro-4-phénylpyridazine **59**. Ainsi, la condensation de l'anhydride phénylmaléique commercial avec l'hydrazine donne la 4-phénylpyridazine-3,6-dione **58**, qui, par chloration dans POCl₃, génère la 3,6-dichloro-4-phénylpyridazine **59** avec un excellent rendement global (Schéma 16).¹⁵³

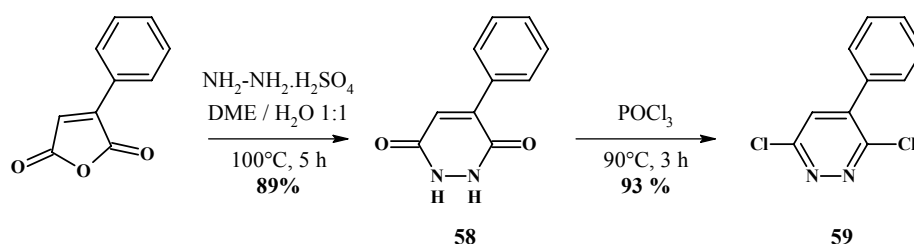


Schéma 16. Synthèse de la 3,6-dichloro-4-phénylpyridazine.

La 3,6-dichloro-4-phénylpyridazine **59** n'étant pas symétrique, l'attaque du *p*-chlorophénylacétonitrile par S_NAr (voir partie 3.2.1. page 55 de la thèse) peut avoir lieu en position 3 ou 6 (schéma 17). La régiosélectivité de la réaction est néanmoins orientée par des effets stériques. La position 6 étant bien moins encombrée que la position 3, nous obtenons un

mélange d'isomères **60** + **61** avec un ratio 5 : 1 (déterminé par RMN ^1H). Les deux isomères ne sont pas séparables par chromatographie à ce stade de la synthèse.

Nous avons donc poursuivi la synthèse par l'hydrolyse acide qui a donné un mélange inséparable des 2 pyridazinones **62** + **63** avec un excellent rendement de 93 % (ratio 5 : 1 déterminé par RMN ^1H).

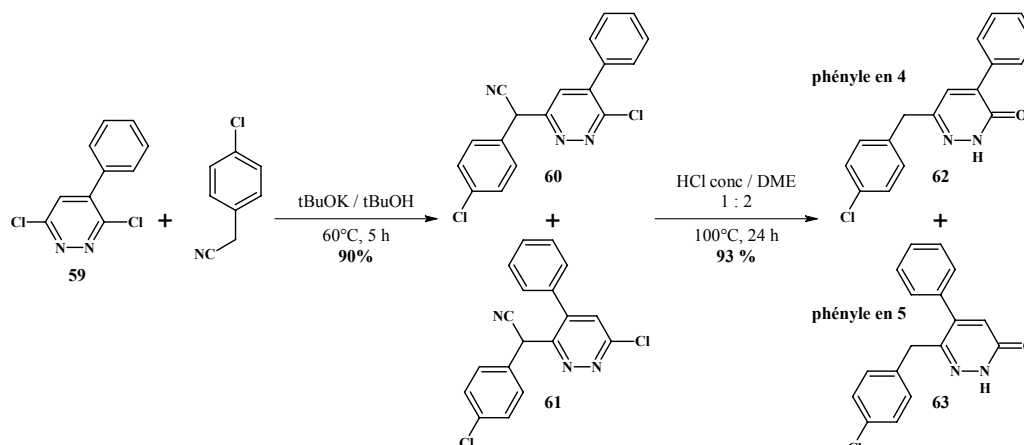


Schéma 17. Synthèse des 3- et 6-benzylpyridazine-3-ones.

Afin de séparer les 2 régioisomères, nous avons opté pour une résolution chimique passant par la transformation en iminochlorure et conduisant ainsi à des composés moins polaires et plus faciles à purifier. Ainsi, le mélange des pyridazinones **62** + **63** a été engagé dans une étape de chloration par POCl_3 , générant les deux régioisomères **64** et **65** qui ont été séparés et isolés par chromatographie sur gel de silice (schéma 18). L'hydrolyse acide des 2 iminochlorures a fourni les pyridazinones correspondantes avec d'excellents rendements. Finalement, par cette méthode, les deux régioisomère **62** et **63** ont été synthétisés.

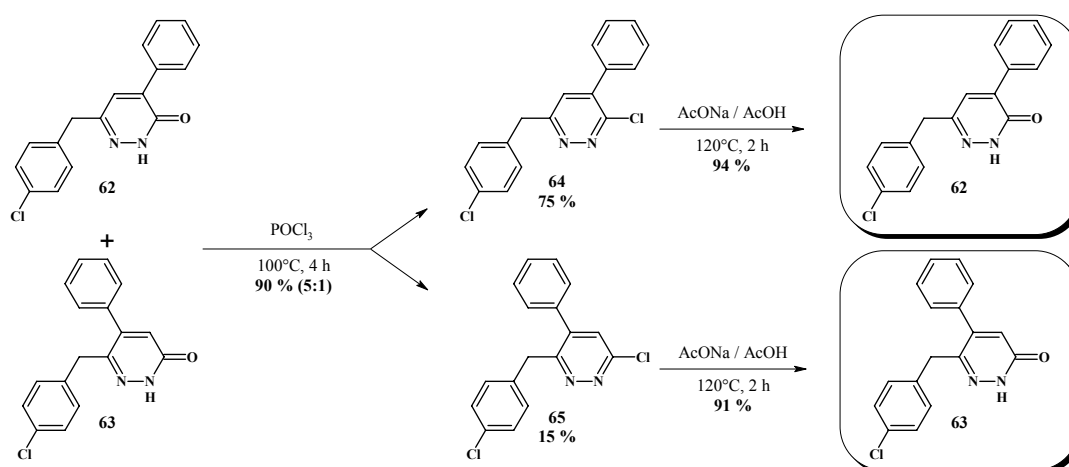


Schéma 18. Séparation des 3 et 4-benzylpyridazin-3-ones.

Nous avons aussi cherché à introduire des groupements phényl substitués en position 4 ou 5 en utilisant la même stratégie développée ci-dessus. La condensation de l'anhydride bromomaléique avec l'hydrazine a généré la 4-bromopyridazine-3,6-dione **66**.¹⁵⁴ Par un couplage pallado-catalysé de Suzuki-Miyaura, le brome de la pyridazine-3,6-dione **66** a été mis en réaction avec un acide arylboronique (Schéma 19). La chloration de **67** a ensuite conduit à la 3,6-dichloro-4-(3,4-diméthoxyphényl)pyridazine **68**, sur laquelle, une S_NAr à l'aide de *p*-chlorophénylacétonitrile a été réalisée. De façon surprenante, seul le régioisomère **69** (déterminé par RMN), présentant le groupement 3,4-diméthoxyphényle en position 4 et le *p*-chlorophénylacétonitrile en position 6, a été isolé avec un rendement faible de 39 %. On peut raisonnablement émettre l'hypothèse que l'effet mésomère donneur et donc désactivant des 2 méthoxy rend difficile la S_NAr . Concernant la régiosélectivité de cette réaction, l'effet mésomère donneur du méthoxy en para favorise une coplanéité des cycles aromatiques et pyridazine, ce qui a pour résultat d'exacerber la gêne stérique apportée par le cycle aromatique empêchant l'approche de la position 3. Finalement, la 6-(4-chlorobenzyl)-4-(3,4-diméthoxyphényl)pyridazin-3(2*H*)-one **70** a été obtenu après hydrolyse acide.

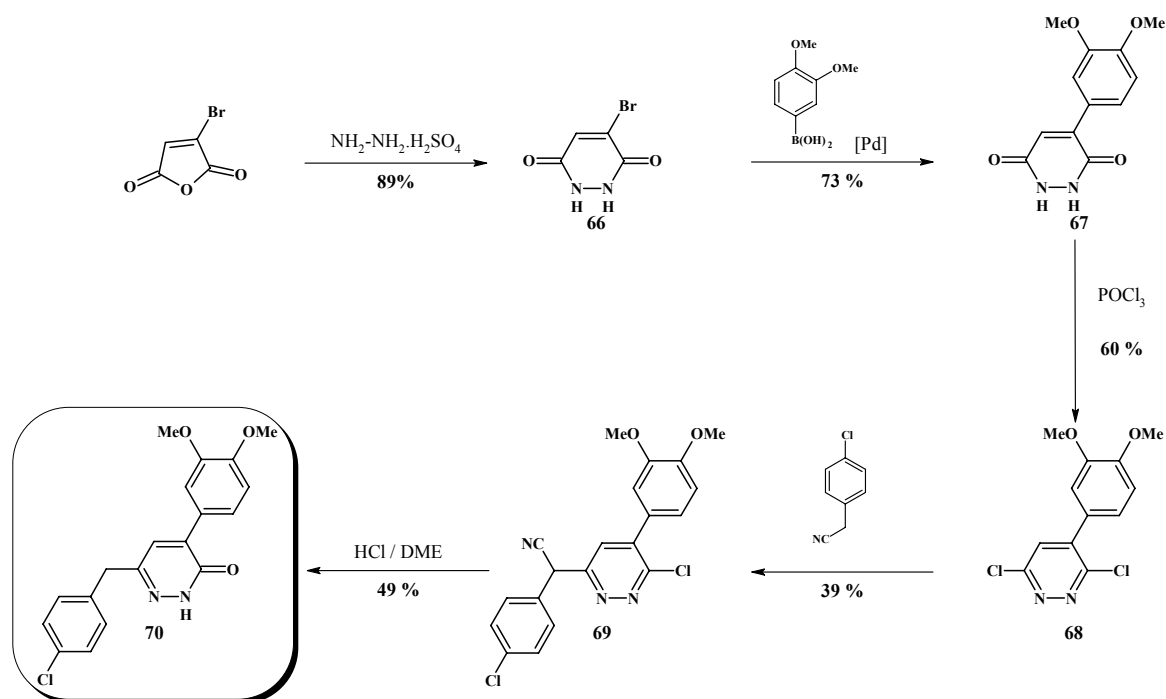


Schéma 19. Introduction d'un aromatique substitué en position 4 du cycle pyridazine

2.3. Préparation d'autres 6-aryl-pyridazin-3-ones

L'optimisation structurale prévoit de synthétiser d'autres pyridazinones ayant des groupements p-chlorophényle, α -naphtyle, β -naphtyle et phénéthyle. Pour introduire sélectivement sur le noyau pyridazine d'autres types d'aromatiques en position 3 ou 6, nous avons utilisé une méthode mise au point au laboratoire mettant en jeu des différences de solubilité induites par une protection spécifique d'un des 2 azotes de la pyridazine-3,6-dione (schéma 20).¹⁵⁵

2.3.1. Préparation de l'intermédiaire-clé

La condensation de l'anhydride bromomaléique avec la benzyldiazine conduit à un mélange des 2 régioisomères **71** et **72** (schéma 20). Cependant, ces deux composés possèdent des solubilités différentes et ont donc pu être séparés facilement par recristallisation dans un mélange éther de pétrole / AcOEt.¹⁵⁶

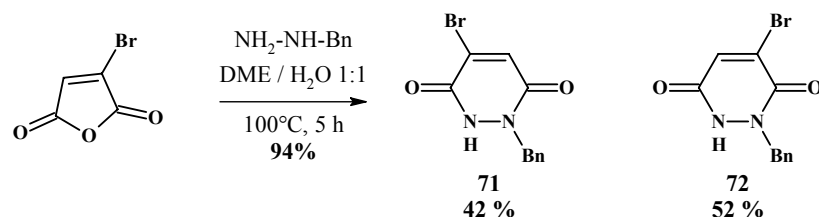


Schéma 20. Synthèse des bromo-N-benzylpyridazine-3,6-diones

Avec ces dérivés, deux points de fonctionnalisation sont contrôlés. En effet, dans un premier temps, le brome peut être substitué par couplage pallado-catalysé (Suzuki-Miyaura, Sila-Sonogashira, Buchwald-Hartwig, Heck-Mizoroki, ...). Nous n'aborderons ici que le couplage de Suzuki-Miyaura sur le composé **72** qui a été réalisé quantitativement avec l'acide phénylboronique en présence de palladium(0) tetrakis (5 mol %) sous irradiation micro-ondes 20 minutes à 160°C (Schéma 21). Dans un second temps, l'amide libre a été activé en intermédiaire iminosyle **74**, précurseur d'une nouvelle série de couplage pallado-catalysé.¹⁵⁷

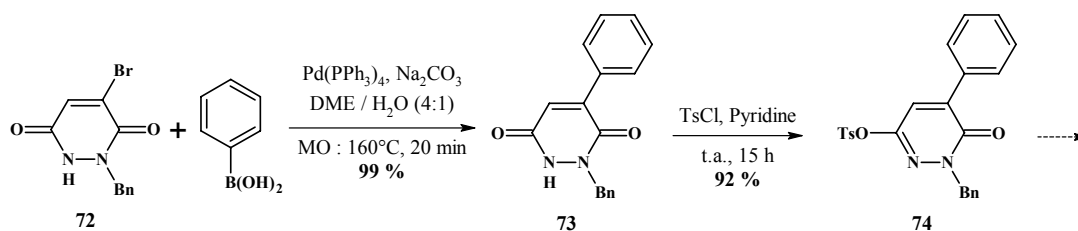


Schéma 21. Préparation du synthon 6-O-tosyl-4-phénylpyridazine-3-one **74**.

Cette méthode donne donc régiosélectivement accès aux dérivés 4-phénylpyridazin-3-ones **74** possédant un groupement tosylo susceptible d'être substitué en position 3 par différents aromatiques, alcènes, alcynes ou encore amines.

2.3.2. Introduction de groupements lipophiles par couplage pallado-catalysé

A partir de cette pyridazin-3-one tosylée **74**, nous avons tenté dans un premier temps d'insérer un groupement benzyle suivant la stratégie de S_NAr décrite auparavant. Cependant, le groupe phénylacétonitrile n'a pas substitué le tosylo. Il faudrait peut-être remplacer ce tosylo par un triflate, qui est plus réactif.

Finalement, le dérivé **74** a été engagé avec succès dans différentes réactions de couplage de Suzuki-Miyaura pour introduire les groupes *p*-chlorophényle (**75a**), α - et β -naphtyles (**75b-c**),¹⁵⁸ ainsi que dans une réaction de Sonogashira pour donner l'alcyne **76** (schéma 22).¹⁵⁹ Le dérivé phénéthyle **77** a alors été obtenu par une hydrogénation catalytique avec un rendement de 57 %.¹⁶⁰

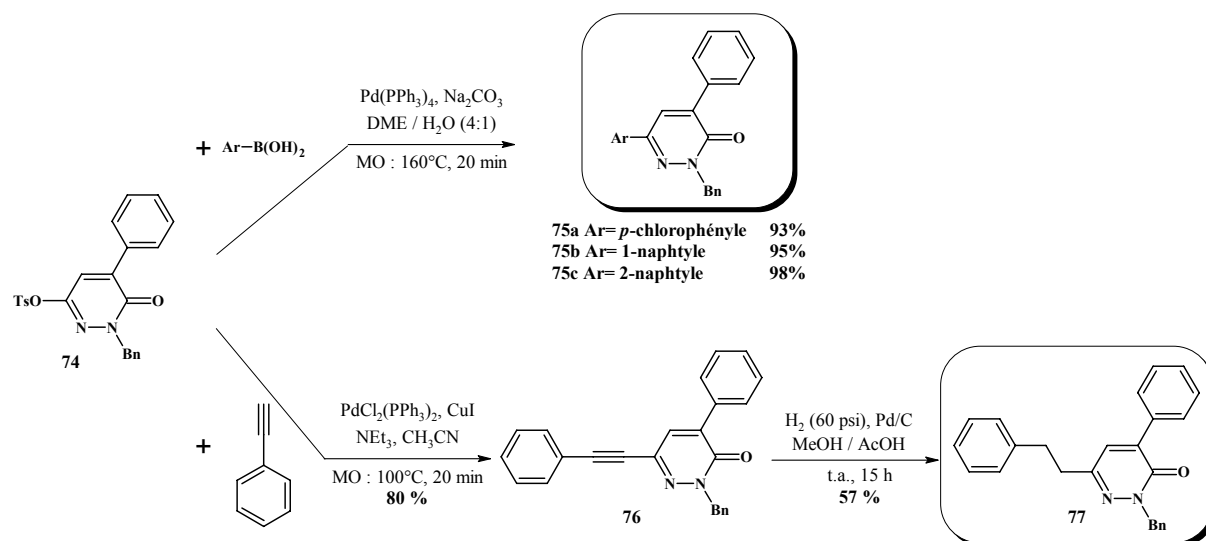


Schéma 22. Couplages de Suzuki-Miyaura ou de Sonogashira sur l'iminosylo **74**.

Deux composés que nous n'avons pas synthétisés ont été ajoutés car il représentait un intérêt dans l'étude RSA (figure 26). Le premier, qui est commercial, est la 6-phénylpyridazin-3-one **78**. Elle permettra de juger de l'intérêt de la plage aromatique en position 5 et 6. Le second, dont la synthèse a été effectuée au laboratoire par mes

prédécesseurs, est la (4-chlorobenzyl)-6-phénylpyridazin-3-one **79**.¹⁶¹ Ce composé nous renseignera sur l'espace hydrophobe disponible en position 4 de la pyridazine.

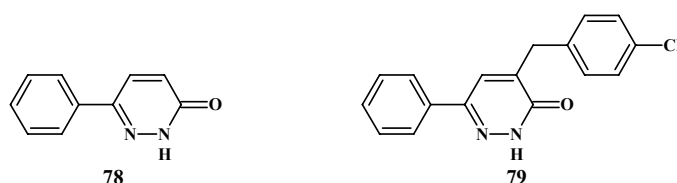


Figure 26. Autres pyridazin-3-ones d'intérêt pour l'étude pharmacologique

2.3.3. Déprotection des pyridazin-3-ones N-benzylées par un acide de Lewis

Afin d'obtenir les amides libres des pyridazinones synthétisées précédemment, pour pouvoir y insérer différents chaînes aminées, une étape de débenzylation a été nécessaire (tableau 10).¹⁶² Cette réaction a été effectuée en présence d'un excès d'acide de Lewis (AlCl_3) avec d'excellents rendements quand elle est réalisée par irradiation aux micro-ondes.¹⁶³ La réaction est beaucoup plus lente en chauffage classique.

composés	R ₃	Conditions	Produits	Rdt (%)
75a			80	98
75b		MO : 140°C, 5 minutes	81	93
75c			82	98
77		120°C, 15 heures	83	73

Tableau 10. Clivage du groupement benzyle.

A partir de ces 6-aryl-4-phényl-pyridazin-3-ones synthétisées, nous allons maintenant effectuer l'alkylation de l'azote endocyclique, pour y introduire le cycle pipéridine nécessaire à l'activité recherchée.

2.4. Introduction du cycle pipéridine en position 2 de la pyridazin-3-one

Sur le même schéma réactionnel décrit dans le chapitre sur les phtalazines (partie 3.3.3. pages 59-60), la substitution nucléophile du mésyle des pipéridines **44** ou **45** par l'azote endocyclique de la pyridazin-3-one conduit aux pyridazines alkylées **84a-j** (tableau 11).

On remarque que les rendements de N-alkylation des pyridazinones sont inférieurs à ceux observés lors de la N-alkylation des phtalazinones. L'amidure de la pyridazin-3-one est donc sûrement moins stable que l'amidure de la phtalazinone. De plus, l'insertion du groupement 3-pipéridinyle a été réalisée avec un rendement faible de 31 % par rapport à celle du groupement 4-pipéridinyle (65 %). Cependant, ces rendements n'ont pas été optimisés.

composés	R ₄	R ₅	R ₆	R ₂	Produits	Rdt (%)
62	Phényle	H		A	84a	65
63	H	Phényle	p-chlorobenzyle	B	84b	31
70	3,4-diméthoxyphényle	H		A	84c	54
78	H	H	phényle	A	84d	63
79	p-chlorobenzyle	H		A	84e	97
80		H	p-chlorophényle		84f	49
81	Phényle	H	1-naphtyle	A	84g	73
82		H	2-naphtyle		84h	61
83		H	Phénéthyle		84i	76
					84j	48

Tableau 11. Introduction des cycles pipéridines.

Enfin, l'hydrolyse du carbamate de la pipéridine a été réalisée en milieu acide sur l'ensemble des pyridazines avec des rendements variant de 80 à 97 % (tableau 12). L'amination réductrice des pipéridines par l'acétaldéhyde, le benzaldéhyde ou le phénylacétaldéhyde permet d'obtenir les pyridazinones finales **86**.

Composés	Structure	Déprotection (%)	R	Alkylation (%)	Produits
84a		94	Et	78	86a
			Bn	46	86b
			Phénéthyle	77	86c
84b		92	Et	74	86d
84c		94	Et	88	86e
84d		86	Et	63	86f
84e		95	Et	71	86g
84f		93	Et	58	86h
84g		96	Et	88	86i
84h		97	Et	78	86j
84i		95	Et	81	86k
84j		80	Et	91	86l

Tableau 12. Déprotection et alkylation des pipéridines

2.5. Conclusions

Dans cette seconde partie, la modification structurale a concerné la substitution du cycle phthalazine de l'azélastine par un cycle pyridazine. Pour étudier les relations structure-activité autour de cet hétérocycle, 22 dérivés ont été synthétisés (**85a-j** & **86a-l**).

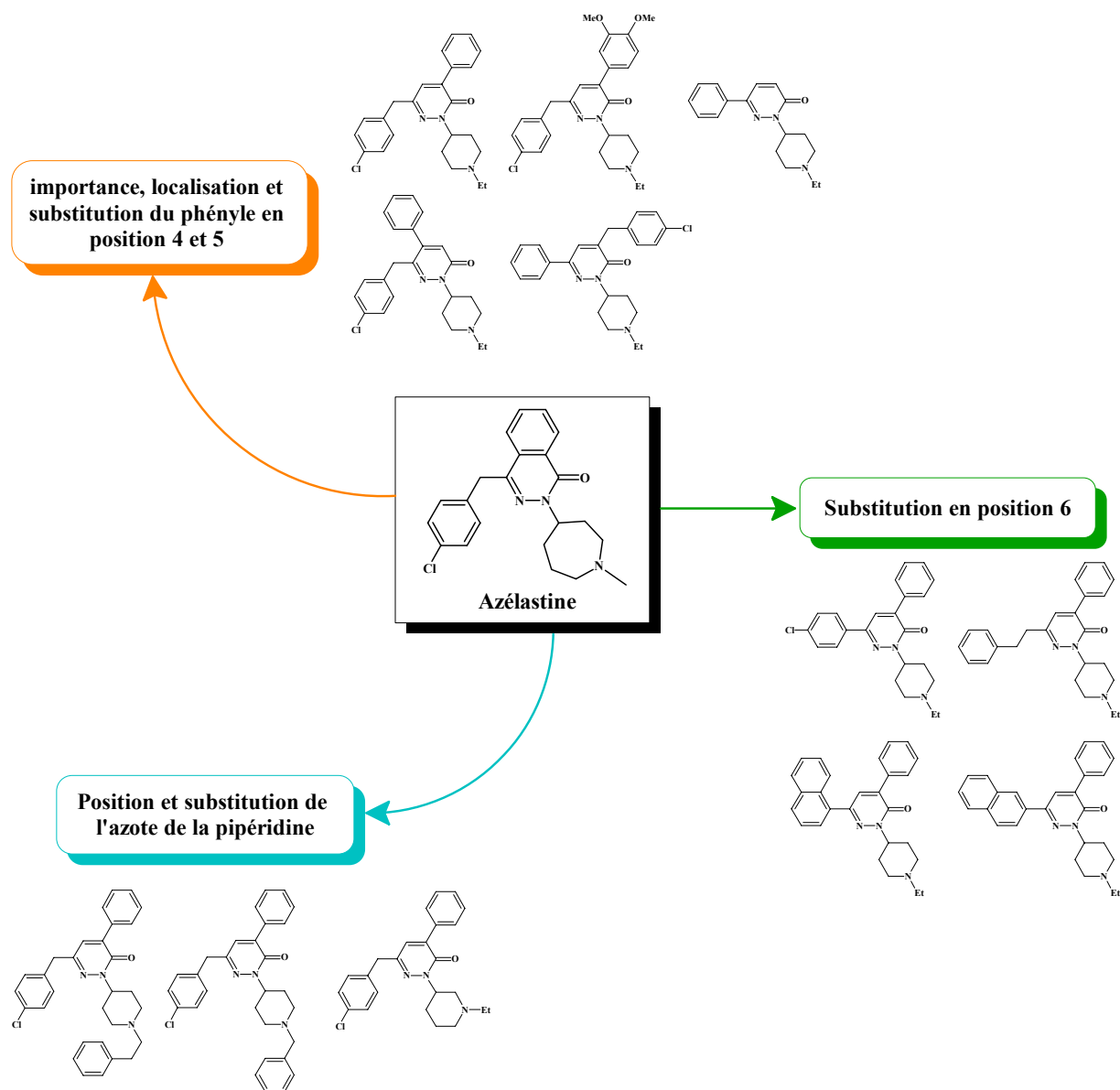


Figure 27. Optimisation structurale.

Ainsi, le groupement *p*-chlorobenzyle a été introduit en position 6 par une S_NAr du phénylacétonitrile sur l'iminochlorure de la pyridazine. A l'aide d'un intermédiaire-clé (composé **71**), il a été possible d'insérer de manière régiosélective différents groupements lipophiles. Enfin, l'azote de l'amide a été substitué par différents groupements cationiques.

Pour réaliser cette étude pharmacochimique, nous avons été amené à développer de nouvelles méthodologies de fonctionnalisation du noyau pyridazine. Avec le passage par des N-benzylpyridazine-3,6-diones, nous avons en main une méthode de choix pour développer de manière combinatoire une chimiothèque de pyridazines diversement substituées en position 3,4 et 6, ou 3,5 et 6 (schéma 23).

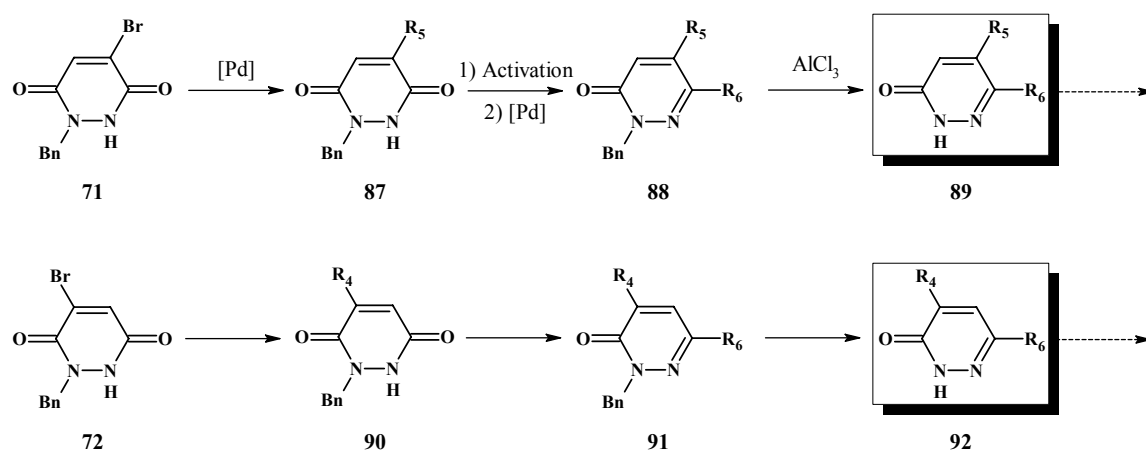


Schéma 23. Synthèses combinatoires de pyridazinones.

Chapitre III.
Les 2,3-benzodiazépines :
Synthèse et fonctionnalisation
donnant accès à des analogues
structuraux de l'azélastine

Chapitre III. Les 2,3-benzodiazépines : Synthèse et fonctionnalisation donnant accès à des analogues structuraux de l'azélastine

1. Objectifs

Dans cette partie, nous envisagerons une autre modification structurale, touchant l'hétérocycle de l'azélastine. En réalité, nous parlerons d'homologation du noyau phtalazine en 2,3-benzodiazépine. Cet hétérocycle est intéressant car la présence d'un cycle à 7 maillons implique qu'il n'a pas une structure plane (figure 28). Les différences conformationnelles permettraient peut-être :

- de trouver de nouvelles interactions avec une cible biologique,
- de renforcer les interactions existantes pour augmenter l'effet anti-inflammatoire, tout en modifiant de manière satisfaisante les propriétés physico-chimiques.

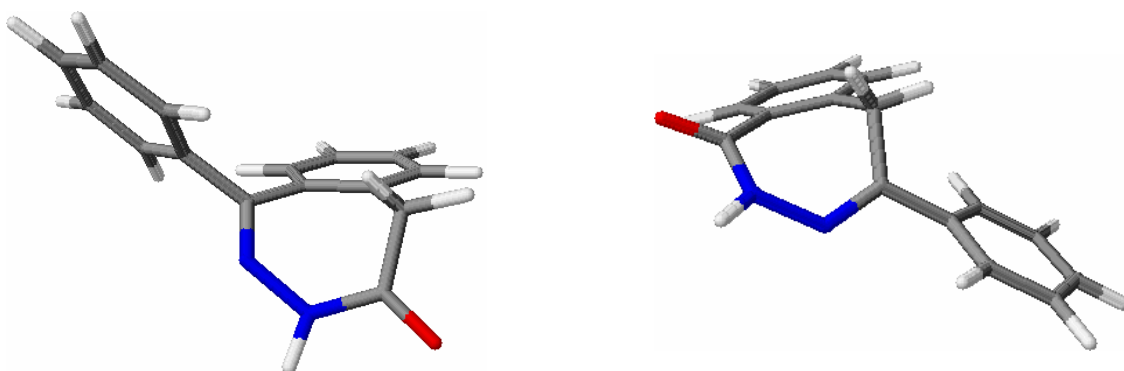


Figure 28. Représentation 3D de la 1-phényl-2,3-benzodiazépin-4-one et de la 4-phényl-2,3-benzodiazépin-1-one.¹⁶⁴

L'absence de planéité pourrait engendrer un gain de solubilité par rapport aux phtalazines qui, par leur capacité à faire du « π -stacking », sont peu solubles aussi bien en milieu organique que biologique.

Par ailleurs, le passage d'un bicyclic [6+6] au bicyclic [6+7] engendre une désymétrisation (figure 29). Effectivement, la fonction amide sur laquelle est lié le groupement cationique peut être en position 4 (2,3-benzodiazépinone **C**) ou en position 1 (2,3-benzodiazépinone **D**). De manière réciproque, le groupement lipophile peut se trouver soit en position 1 (2,3-benzodiazépine **C**), soit en position 4 (2,3-benzodiazépine **D**).

De manière semblable à l'azélastine, la tête polaire pourrait être insérée sur les azotes en position 2 ou 3. En revanche, étant donné les variations structurales qui existent entre la phtalazinone et la 2,3-benzodiazépinone, la position optimale du groupement cationique pourrait être différente. Nous envisagerons alors d'introduire ce groupement en position 1 ou 4 sous la forme d'une liaison amidine (2,3-benzodiazépine E & F). La synthèse de ces 4 types de 2,3-benzodiazépines sera abordée au cours de ce chapitre.

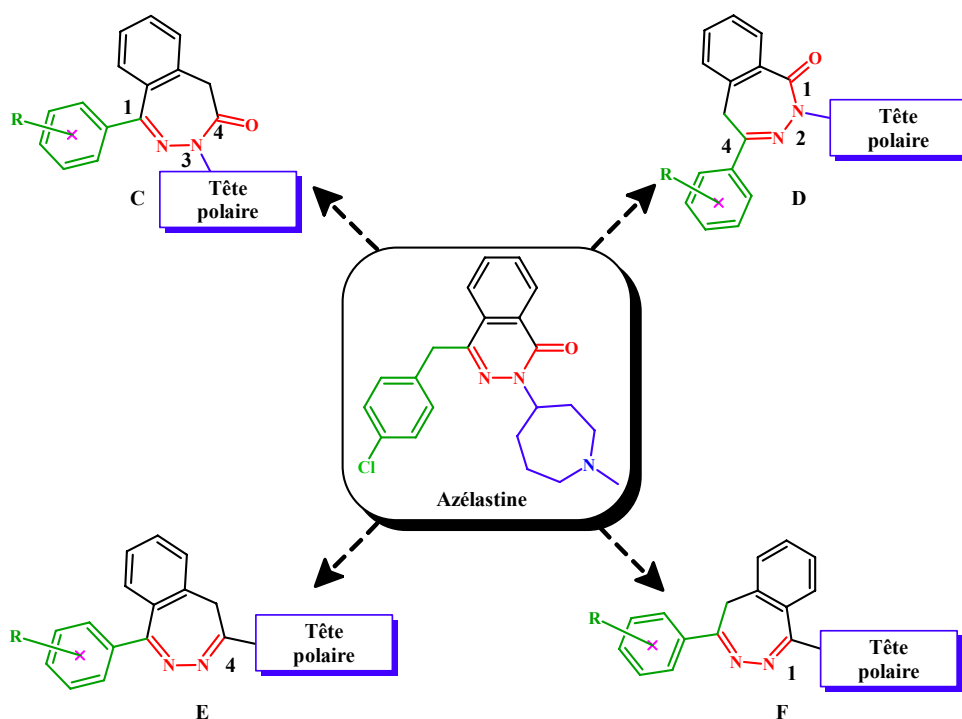


Figure 29. Stratégie pour l'optimisation structurale.

Les données sur les 2,3-benzodiazépinones étant assez rares dans la littérature, nous avons été amenés à développer de nouvelles méthodologies de synthèse. Ces travaux ont concerné aussi bien la synthèse de l'hétérocycle lui-même que sa fonctionnalisation (arylation, alkylation, amination,...). Afin de pouvoir insérer cette diversité fonctionnelle sur les 4 positions du noyau 2,3-benzodiazépine, nous avons cherché à synthétiser la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** en tant que précurseur clé de la série (figure 30). Sur les mêmes principes évoqués auparavant pour la synthèse des phtalazines et des pyridazines, les fonctions amides du composé **94** pourraient être activées sous la forme d'iminochlorure ou d'iminosyle afin d'y introduire des aryles, des alkyles ou des amines par couplage pallado-catalysé ou S_NAr .

Ce composé donnerait accès aux fonctionnalisations souhaitées pour notre étude des relations structure-activité par (figure 30) :

- alkylation des positions 2 ou 3,
- arylation des positions 1 ou 4,
- formation d'amidines en position 1 ou 4.

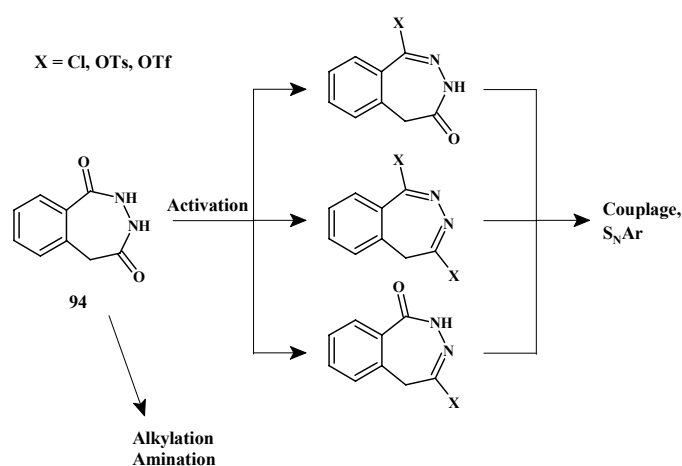


Figure 30. Fonctionnalisation du noyau 2,3-benzodiazépine

2. Données bibliographiques

La synthèse des 2,3-benzodiazépines et leur utilisation en pharmacologie ne sont pas très répandues dans la littérature. Les seuls exemples concernent la synthèse et les effets anti-convulsivant des 7,8-alkoxy-2,3-benzodiazépinones (7,8-diméthoxy ou 7,8-méthylènedioxy).^{165,166} La préparation de ces composés est facilitée par la présence des groupements alkoxy. En effet, à partir des (3,4-alkoxyphényl)acétates de méthyle, l'acylation de Friedel et Crafts, orientée en para du groupe alkoxy OR₇, génère les benzophénones **98** et **99** (schéma 24). La condensation avec l'hydrazine donne alors les benzodiazépinones **101** ou **102**.^{167,168}

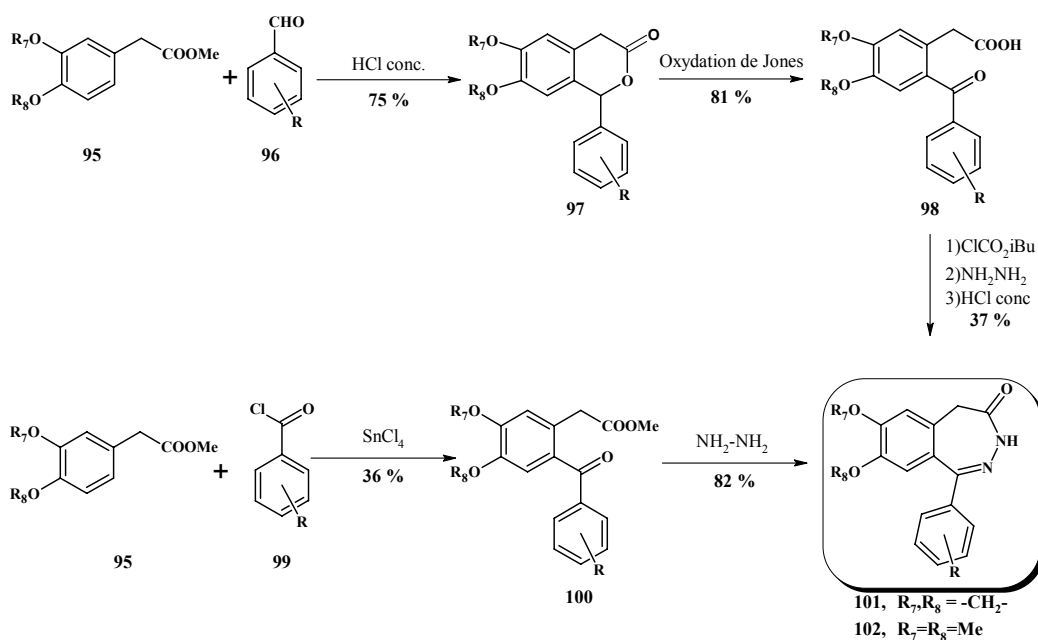


Schéma 24. Synthèse de 7,8-alkoxy-1-arylbenzodiazépines.

Ces synthèses présentent plusieurs inconvénients. Elles ne permettent que de synthétiser des 1-**aryl**-2,3-benzodiazépines. De plus, en l'absence de ces groupements alkoxy, il devient plus difficile de synthétiser des dérivés 2,3-benzodiazépines. La réaction de Friedel et Crafts n'est plus applicable et de nouvelles stratégies de synthèse ont dû être développées.

3. Synthèse de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione

3.1. Essais de préparation de la 2,3-benzodiazépine-dione à partir d'hydrazines non ou mono-substituées

Les premiers travaux sur la synthèse de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** ont été décrits en 1944, par Withmore et Cooney.¹⁶⁹ Ils pensaient avoir préparé ce composé par condensation dans l'éthanol à reflux entre l'anhydride homophtalique et l'hydrazine hydrate (schéma 25). Ces auteurs remarquaient aussi que la même réaction effectuée dans l'acide acétique à 100°C pendant 30 minutes donnait transitoirement la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** qui se réarrangeait en 2-aminoisoquinoline-1,3-dione **103**.

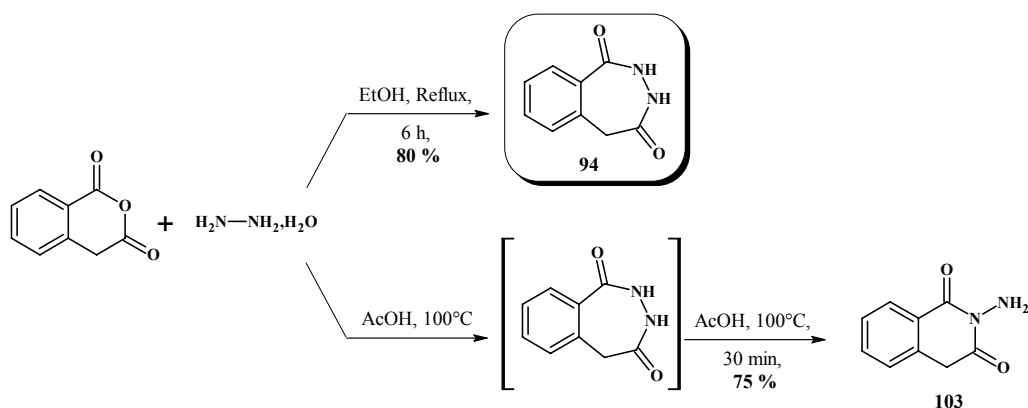


Schéma 25. Synthèse à partir de l'anhydride homophtalique

Cependant, Rosen et Popp,¹⁷⁰ puis Flammang et Wermuth,¹⁷¹ ont montré, qu'en condition acide, la condensation de l'anhydride homophtalique avec l'hydrazine donne 3 composés : la 2-aminoisoquinoline-1,3-dione **103**, l'isoquinolinyl-acétamide **104** et la bis-isoquinoline **105** (schéma 26), et que, quelques soient les conditions employées, la condensation entre l'hydrazine et l'anhydride homophtalique ne donne pas la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94**.

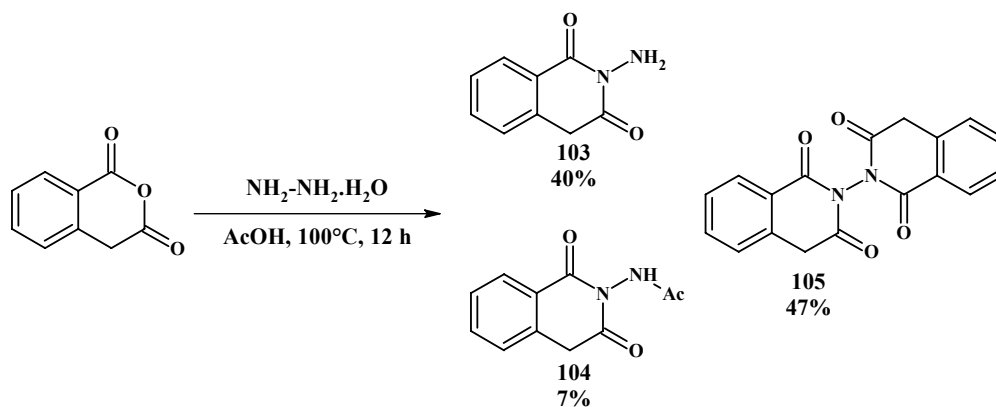


Schéma 26. Réaction en milieu acide à partir d'hydrazine hydratée.¹⁷⁰

Nous avons refait la réaction de condensation entre l'anhydride homophtalique et l'hydrazine, dans les conditions décrites par Withmore et Cooney (EtOH, Reflux, 6 h), et seule l'isoquinoline **103** a été isolée (schéma 27).

L'anhydride homophtalique ne permettant pas d'obtenir la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **97**, nous avons essayé à partir de l'isocoumarine **106**. Ce composé est un analogue de

l'anhydride homophthalique dans lequel une des fonctions carbonyles est masqué sous forme d'éther d'énol. L'attaque nucléophile a lieu préférentiellement en position 1 du composé **106**, tandis qu'elle se fait en position 3 de l'anhydride homophthalique.

L'isocoumarine **106** est préparée en 2 étapes. La fonction acide acétique de l'acide homophthalique est estérifiée sélectivement pour donner le monoester **105**.¹⁷² La cyclisation en présence d'anhydride triflique fournit l'isocoumarine **106**.¹⁷³ Dans des conditions similaires à celles évoquées ci-dessus, la condensation de l'isocoumarine **106** avec l'hydrazine donne aussi l'isoquinoline **103**.

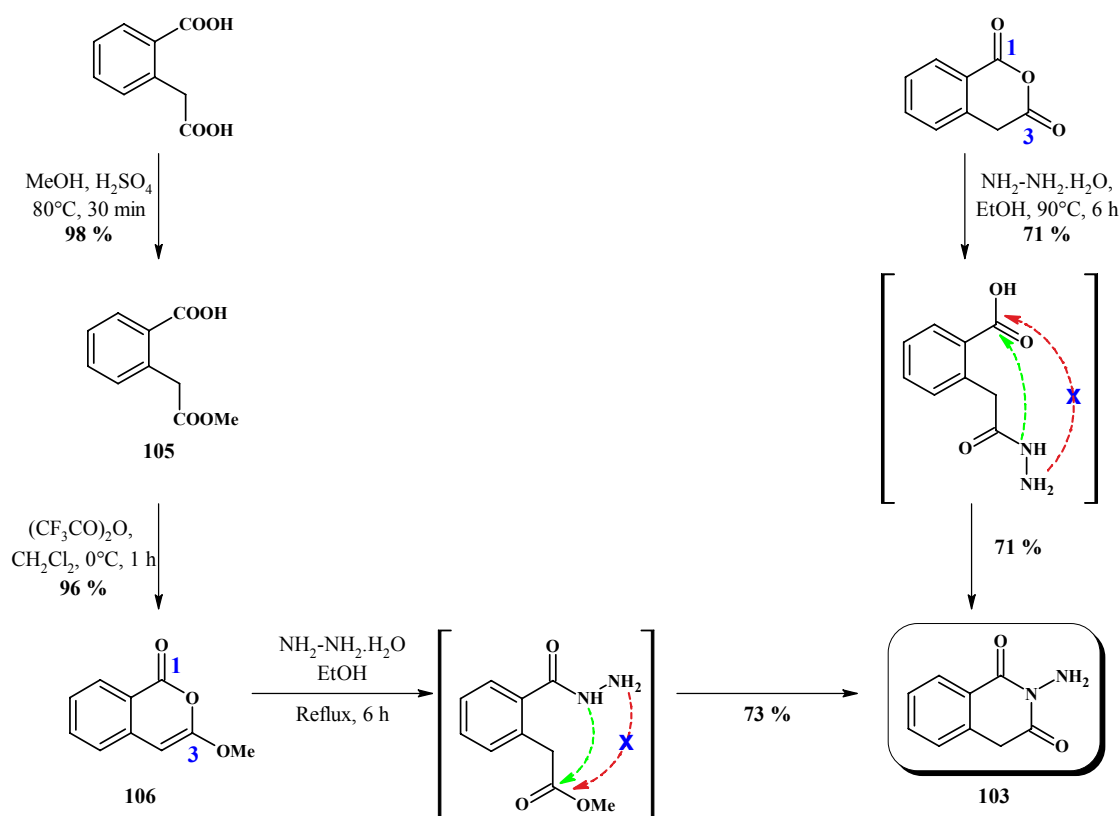


Schéma 27. Comparatif de réactivité entre l'anhydride homophthalique et l'isocoumarine **106**.

La formation exclusive de l'isoquinoline **103** au profit de la 2,3-benzodiazépino-dione **94** s'explique d'un point de vue mécanistique par l'attaque nucléophile intramoléculaire de l'azote de l'amide. Nous supposons que cette sélectivité est liée à la géométrie de l'hydrazide (schéma 27). Ainsi, la conformation trans de l'amide secondaire favoriserait l'attaque du NH amidique bien qu'il soit moins nucléophile que le NH₂.

Devant ces considérations, nous avons pensé que l'utilisation d'hydrazines substituées permettrait de modifier la conformation de la liaison amide et aussi favoriser la formation du

cycle à 7 maillons. Cependant, les travaux de Rosen et Pope montrent que l'utilisation d'hydrazine mono-substituée n'inverse pas la réactivité. Ainsi, en présence de phénylhydrazine, dans les conditions mises au point par Withmore et Cooney (éthanol à reflux), les deux produits isolés sont la mono- **107** et la diphénylhydrazide **108** (Schéma 28). De plus, à partir de la phényl- ou de la méthylhydrazine, la réaction en condition acide, donne exclusivement les isoquinolines **109** et **110**.

Le résultat obtenu avec la méthylhydrazine est surprenant étant donné que l'azote le plus nucléophile est celui qui porte le méthyle du fait de l'effet donneur de ce dernier. C'est donc cet azote qui aurait dû attaquer le carbonyle. Or, la formation de l'isoquinolinone **110** implique que c'est le NH₂ qui a réagi.

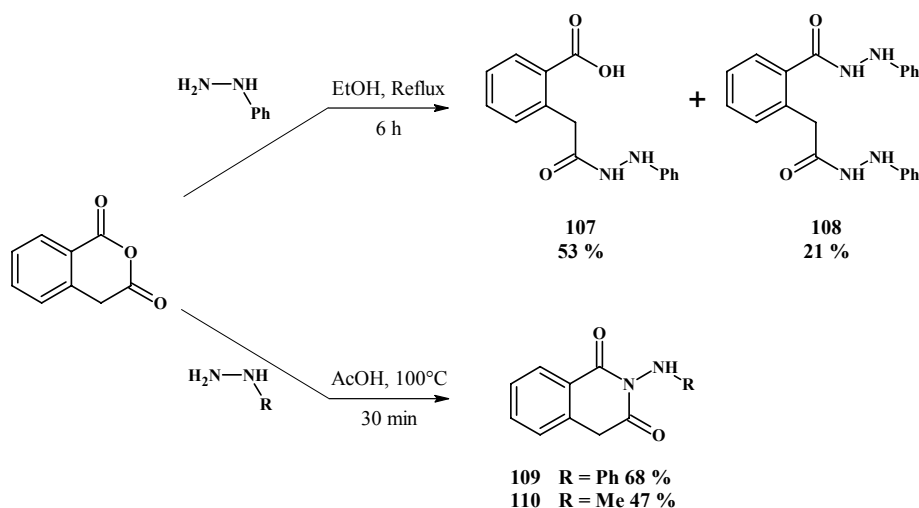


Schéma 28. Réaction à partir d'une hydrazine monosubstituée.

A ce jour, la synthèse de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** n'a jamais été réalisée, puisque tous les essais à partir d'hydrazines non- ou monosubstituées se sont révélés infructueux sur l'anhydride homophthalique ou l'isocoumarine **106**. La solution serait alors d'utiliser une hydrazine N,N'-disubstituée.

3.2. Synthèse de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione à partir d'hydrazines N,N'-disubstituées

Un début de réponse quant à la pertinence de l'utilisation d'hydrazine N,N'-disubstituée est venu des travaux de Rosen et Popp. Effectivement, à partir de N,N'-diméthylhydrazine, ils

ont obtenu la N,N'-diméthyl-2,3-benzodiazépine-1,4-dione **111** avec un bon rendement de 84 % (Schéma 29).

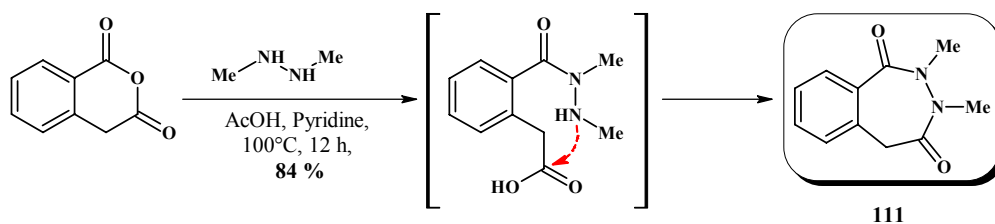


Schéma 29. Réaction en milieu acide à partir d'hydrazines disubstituées

3.2.1. Stratégie

Ces travaux montrent qu'une substitution sur l'azote de l'amide est donc le seul moyen pour synthétiser la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione. Cependant, l'utilisation d'une hydrazine N,N'-dialkylée limite les perspectives puisqu'il devient alors difficile de fonctionnaliser par la suite l'hétérocycle 2,3-benzodiazépine. Ainsi, nous nous proposons d'utiliser une stratégie de protection orthogonale visant à synthétiser la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** via une hydrazine diprotégée par des groupements labiles (figure 31). Nous avons aussi remplacé l'anhydride homophthalique par le composé **105**, qui conduira à un intermédiaire ester méthylique plus réactif vis-à-vis de la cyclisation.

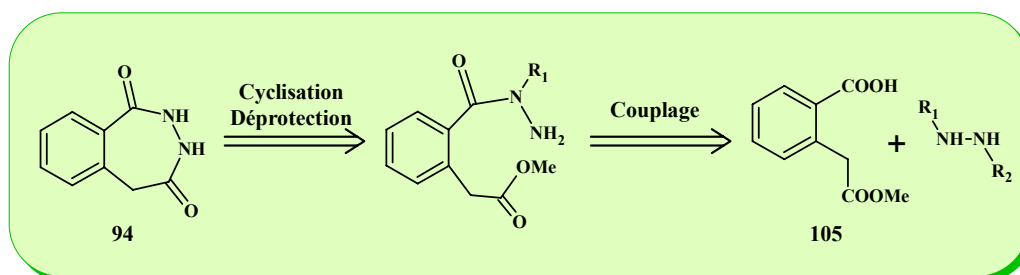


Figure 31. Stratégie rétrosynthétique

Le choix des protections est primordial puisqu'elles doivent conjointement obéir à plusieurs règles :

- Les protections doivent être labiles.
- Les déprotections doivent être orthogonales.
- La première protection doit masquer la nucléophilie de l'azote auquel elle est liée.
- La seconde protection doit permettre de conserver la nucléophilie de l'azote auquel elle est liée, afin de permettre une réaction de couplage peptidique.

Ainsi la protection que nous avons décidé d'utiliser pour masquer la nucléophilie de l'azote est la fonction carbamate du tert-butyloxycarbonyle (Boc), puisque les méthodes de clivage en milieu acide du Boc sont bien connues et la Boc-hydrazine présente l'avantage d'être commerciale (figure 32).

Pour la seconde protection, plusieurs possibilités ont été envisagées. Un groupement benzyle nous a semblé être un choix judicieux puisqu'il n'altère pas la nucléophilie de l'azote. Nous avons aussi utilisé un autre type de protection, qui permet aussi de conserver la nucléophilie de l'azote : les sulfonyles tels que le tosyloyle ou le nosyloyle (*p*-nitrobenzènesulfonyloyle). Les méthodes de déprotection sont aussi nombreuses et orthogonales par rapport à celle du Boc.

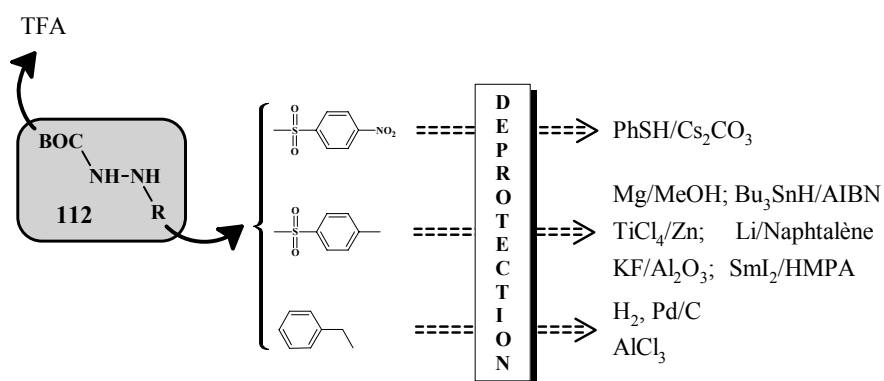


Figure 32. Protections de l'hydrazine et leurs méthodes de clivage.

3.2.2. Préparation de diverses hydrazines N,N'-disubstituées

La condensation du benzaldéhyde avec la Boc-hydrazine, suivie d'une hydrogénation catalytique, permet de préparer en 2 étapes à l'échelle du gramme, la 2-benzyl-1-Boc-hydrazine **114a** avec d'excellents rendements (schéma 30).¹⁷⁴ Parallèlement, la réaction entre les chlorures de sulfonyle et la Boc-hydrazine nous a permis de préparer la 1-Boc-2-tosyl-hydrazine **114b** et la 1-Boc-2-nosyl-hydrazine **114c** avec des rendements de 80 %.

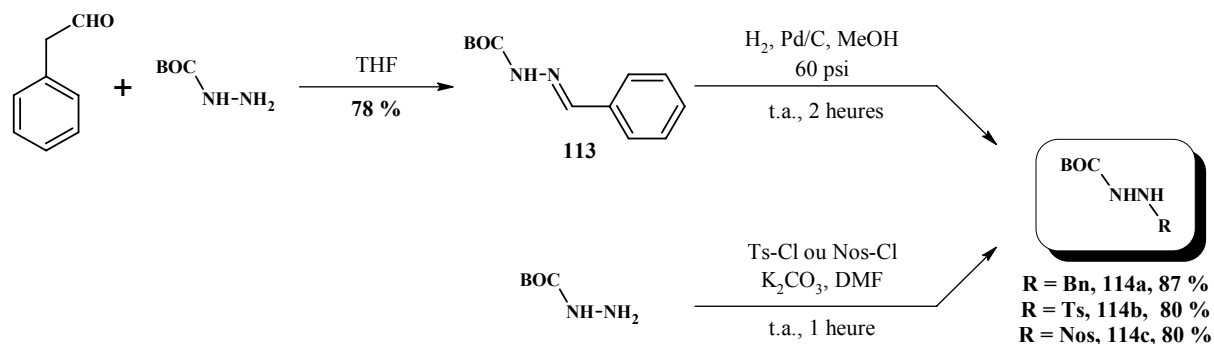


Schéma 30. Synthèse de la tert-butyl-2-benzylcarbazate

3.2.3. Accès à la 2,3-benzodiazépine-1,4(5H)-dione

A l'aide d'un agent de couplage peptidique (HBTU), les différentes hydrazines ont été couplées à l'acide **105** pour donner les amides **115a-c** avec des rendements variables, mais satisfaisants (schéma 31).¹⁷⁵ L'étape suivante est le clivage du Boc. Cette déprotection de l'hydrazine a été réalisée en milieu acide dans l'acide trifluoroacétique (TFA) à température ambiante en une heure. L'amide **116**, ainsi généré *in situ*, subit une cyclisation spontanée conduisant aux 2,3-benzodiazépine-1,4-diones **117a-c** avec un excellent rendement.

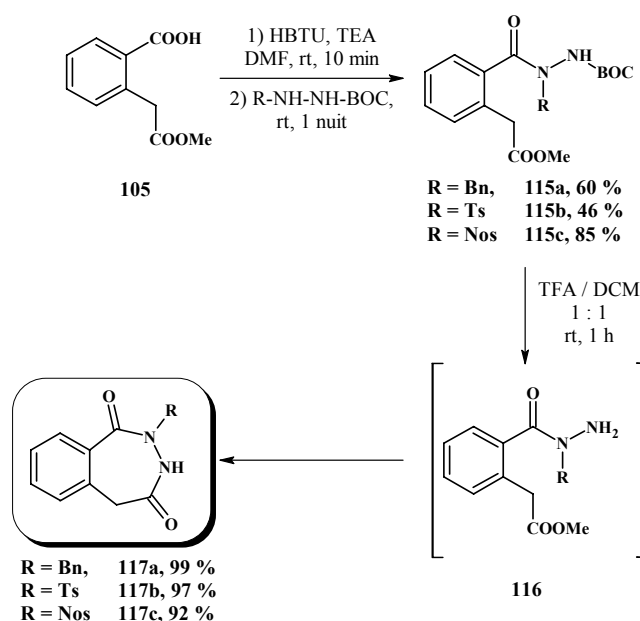


Schéma 31. Préparation des 2,3-benzodiazépine-1,4-diones N-substituées

Nous avons ainsi synthétisé les premières 2,3-benzodiazépine-1,4-diones **117** substituées (R = Bn, Ts, Nos) uniquement en position 2. L'étape ultime pour obtenir la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** est la déprotection de l'azote en position 2 (schéma 32).

Nous avons vu sur les pyridazines que le groupement benzyle peut être clivé à l'aide d'un acide de Lewis. Dans le cas de la benzodiazépine-1,4-dione **117a**, en présence d' AlCl_3 , nous n'avons jamais observé de déprotection.¹⁶¹ D'autres tentatives par hydrogénation catalytique sur Pd/C se sont révélées infructueuses.¹⁷⁶ Toutefois, la débenzylation a été observée par hydrogénation catalytique en milieu acide à l'aide de PdCl_2 avec un rendement faible de 26%.¹⁷⁷ L'optimisation des conditions expérimentales n'a pas permis d'augmenter les rendements.

De manière identique aux dérivés benzylés, le clivage du tosylo s'est avéré délicat. En effet, dans les conditions classiques décrites dans la figure 31, nous n'avons jamais réussi à effectuer cette désulfonation.^{178,179,180,181} En revanche, la déprotection du nosyle a été réalisée en milieu nucléophile (PhSH , Cs_2CO_3 , DMF) avec un bon rendement (schéma 32).¹⁸²

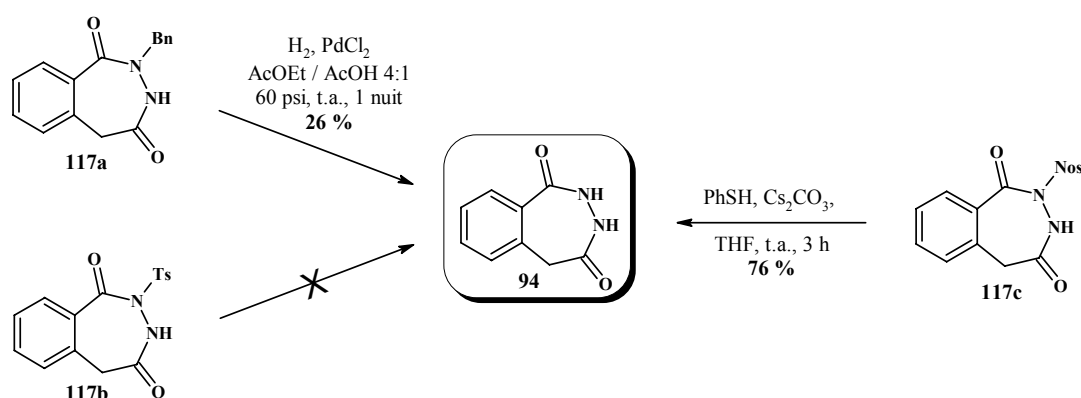


Schéma 32. Déprotection de l'amide.

Finalement, la première synthèse de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** a été réalisée en quatre étapes à partir de l'acide homophthalique commercial avec un rendement global de 58%. Cette synthèse permet d'obtenir rapidement et en grande quantité (plusieurs grammes) ce composé, qui pourrait représenter un synthon-clé intéressant afin de fonctionnaliser ou substituer le cycle 2,3-benzodiazépine.

4. Synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépinones

Cette partie aborde la synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépinones. L'objectif initial est d'utiliser la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94**, afin d'introduire différents groupements aromatiques de la manière la plus convergente possible. C'est à partir de tels dérivés que nous comptons synthétiser les dérivés benzodiazépiniques de l'azélastine.

4.1. Essais d'arylation de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione

La fonctionnalisation du cycle 2,3-benzodiazépine à partir du composé **94** implique une étape préalable d'activation des fonctions amides (figure 33). L'intérêt de cette activation est de pouvoir introduire de la diversité chimique en position 1 et/ou 4. Ainsi, la fonction amide peut être activée en condition acide sous la forme d'iminochlorure, ou en condition basique sous la forme d'iminososyle ou d'imino triflate. Les réactions envisageables sur les amides activés sont alors diverses :

- Réactions catalysées au palladium (Suzuki-Miyaura, Sila-Sonogashira, Buchwald-Hartwig, Heck-Mizoroki...),
- Substitutions nucléophiles aromatiques.

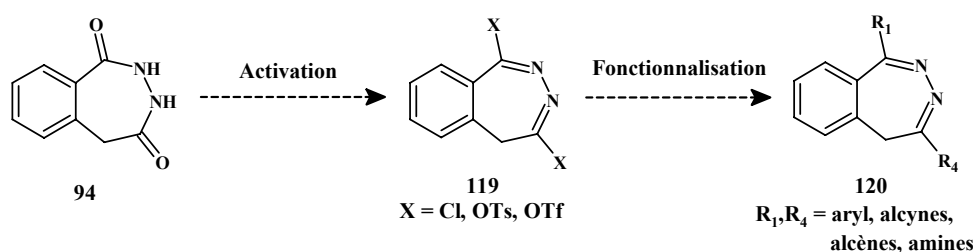


Figure 33. Stratégie pour la fonctionnalisation des 2,3-benzodiazépine-1,4-diones.

La présence des 2 azotes vicinaux dans la structure de la 2,3-benzodiazépin-1,4-dione nous laisse à penser que la réactivité de cet hétérocycle est comparable à celle des phtalazines et aussi des pyridazines. Nous nous sommes inspirés de nombreux travaux effectués au laboratoire sur l'activation et la fonctionnalisation de divers hétérocycles tels que les pyridazines, phtalazines ou pyrimidines (schéma 33).¹⁸³ L'activation des fonctions amides hétérocycliques peut être effectué en condition acide ou en condition basique. Ces deux types d'activation ont été envisagés sur les 2,3-benzodiazépine-diones.

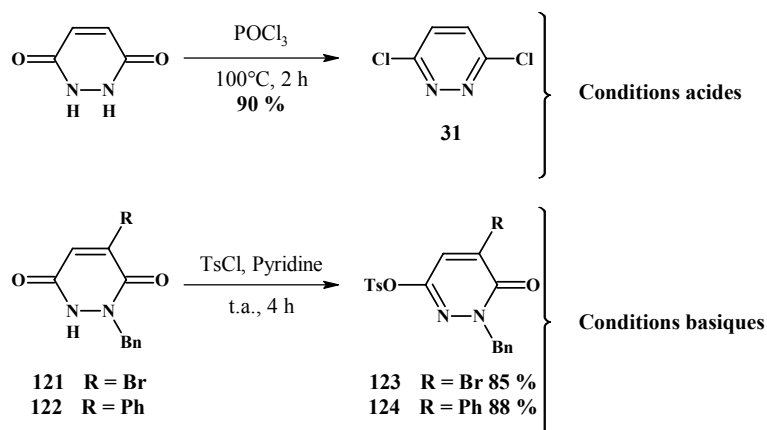


Schéma 33. Exemples d'activation de pyridazines.

4.1.1. Activation en condition acide des fonctions amides de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione

Il existe plusieurs méthodes pour synthétiser des iminochlorures à partir d'amides hétérocycliques. Ainsi, la chloration a été réalisée avec un large excès de POCl_3 sur les 2,3-benzodiazépine-1,4-diones **94** et **117a**. Cependant, au départ de ces 2 composés, nous n'avons que de la dégradation. Les 2,3-benzodiazépine-1,4-diones semblent instables dans des conditions acides fortes.

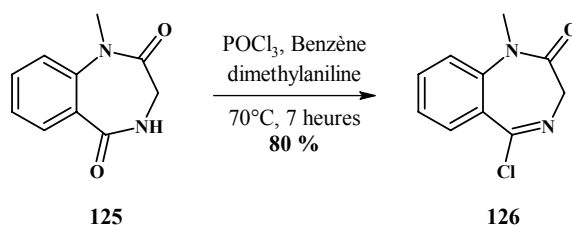


Schéma 34. Chloration d'une 1,4-benzodiazépine-2,5-dione.¹⁸⁴

Nous avons alors utilisé une autre méthode plus douce où la chloration est effectuée en présence de diméthylaniline (2 éq.) avec 1 équivalent de POCl_3 (schéma 34).¹⁸⁴ La diméthylaniline permet de piéger l'acide chloridrique formé lors de la réaction. Si cette méthode est efficace pour la chloration de la 1,4-benzodiazépine-2,5-dione **125**, la formation d'iminochlorure à partir du composé **117a** n'a pas été observée (schéma 35), ces conditions provoquant une nouvelle fois la dégradation du composé **117a**.

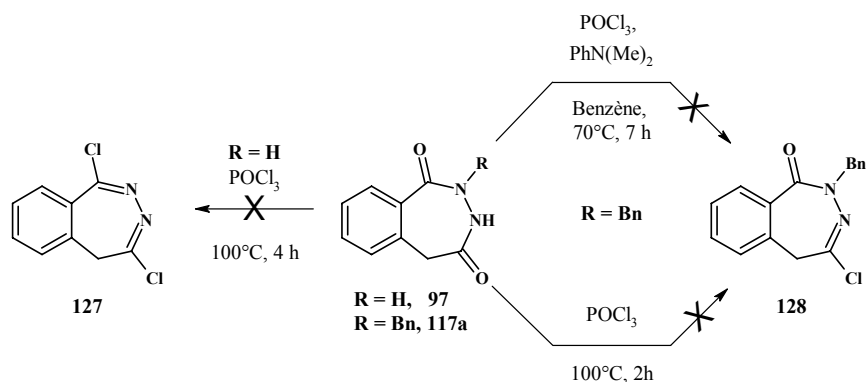


Schéma 35. Essais de chloration sur la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione

4.1.2. Activation en condition basique des fonctions amides de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione

Nous avons alors envisagé d'activer ces fonctions amides en milieu basique. Plusieurs modes opératoires ont été expérimentés (schéma 36). Ainsi, la sulfonylation à température ambiante dans la pyridine en présence d'un léger excès de chlorure de sulfonyle (1.2 éq.), méthode habituellement utilisée sur les pyridazinones, n'a pas permis de synthétiser le composé **129**. En effet, aucune réaction n'a été observée dans ces conditions.

L'utilisation d'une base minérale telle que K_2CO_3 dans l'acétonitrile à reflux n'a pas permis non plus d'obtenir les iminosulfonyles **129** ou **130** au départ des composés **94** ou **117a**. En revanche, l'utilisation d'une base forte, NaH, dans le THF a engendré la formation du dérivé N-sulfonylé **131** avec un rendement de 67 %. Si l'obtention du dérivé **131** en présence d'une base forte est en adéquation avec les données de la littérature,^{185,186} l'absence de formation des composés O-sulfonylés est assez inattendue. Le dérivé O-sulfonylé **130** serait peut-être formé in situ quelques soient les conditions, mais son instabilité nous empêcherait d'en observer la formation en CCM.

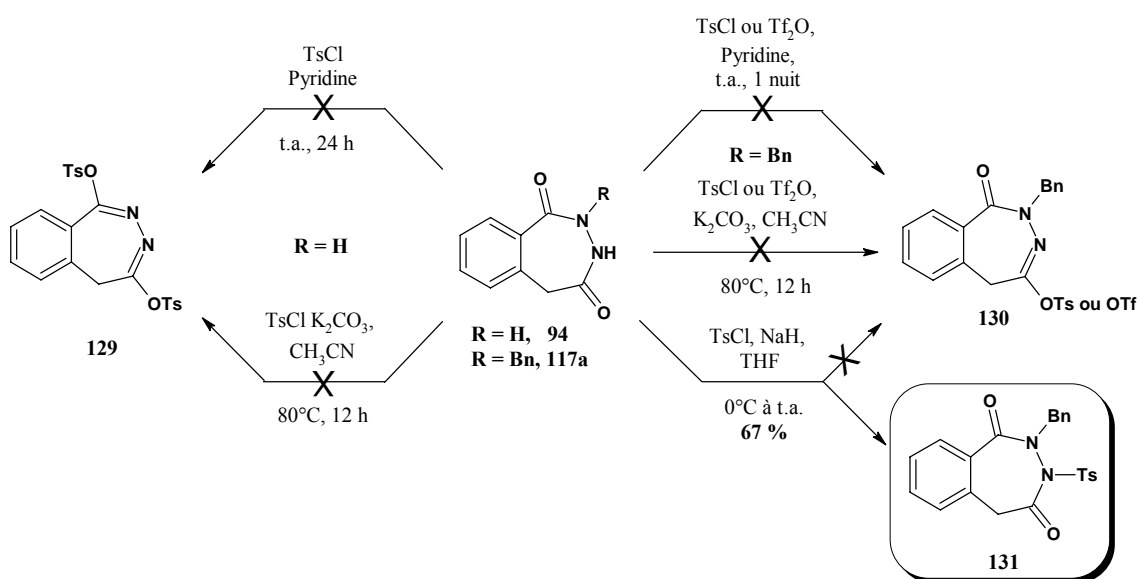


Schéma 36. Essais de sulfonation des benzodiazépines

En conclusion, toutes les tentatives d'activation des fonctions amides des 2,3-benzodiazépine-1,4-diones **97** ou **117a** ont été un échec. Nous avons cherché d'autres moyens pour insérer différents groupements aromatiques sur le noyau 2,3-benzodiazépines par des méthodes semi-convergentes.

4.2. Accès aux 4-aryl-2,3-benzodiazépinones à partir de l'anhydride homophthalique

Les premiers travaux de synthèse de 4-aryl-2,3-benzodiazépin-1-ones ont été réalisés par Flammang et Wermuth.¹⁸⁷ La 4-phényl-2,5-dihydro-1*H*-2,3-benzodiazépin-1-one **135** provient de la condensation entre l'isocoumarine **134** et l'hydrazine à 120°C dans le n-butanol (schéma 37). L'isocoumarine **134** est synthétisée par une réaction de Friedel et Crafts entre l'anhydride homophthalique et le benzène. Cependant, cette réaction aboutit à un mélange en quantités sensiblement égales de deux composés, l'acide 2-(2-oxo-2-phényléthyl)benzoïque **133** souhaité et l'acide (2-benzoylphényl)acétique **132**. Pour séparer ces 2 acides, les auteurs ont mis à profit la possibilité de cyclisation thermique de l'acide **133** en isocoumarine **134**. Toutefois, cette méthode est difficilement applicable à d'autres acides.

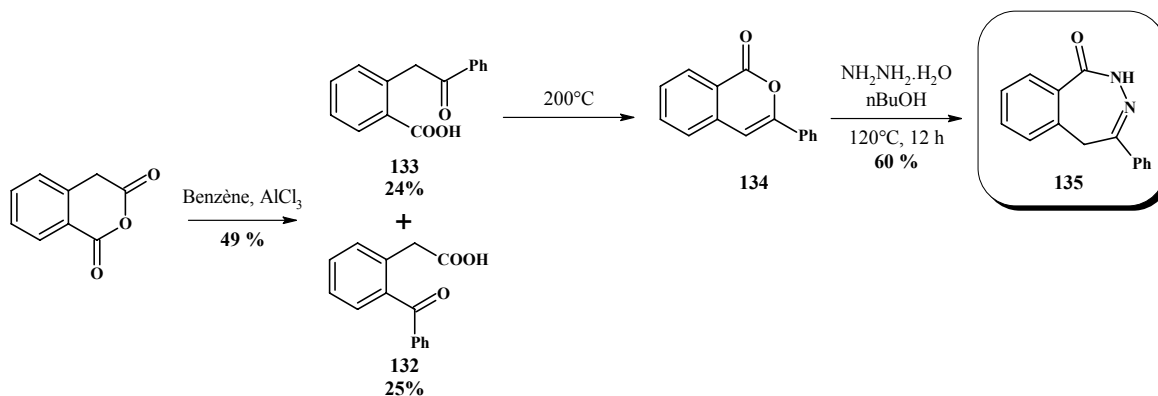


Schéma 37. Synthèse de la 4-phényl-2,5-dihydro-1H-2,3-benzodiazépin-1-one.

Cette méthode, bien qu'intéressante en terme de rapidité, limite la diversité des composés à synthétiser. De plus, le rendement de l'acylation reste faible. Par contre, nous pouvons déduire de ces travaux que le passage par l'isocoumarine est une bonne stratégie, et qu'il serait judicieux de trouver une méthode simple et efficace d'obtention de ces isocoumarines.

4.3. Nouvelle voie de synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépinones

Afin d'obtenir des 2,3-benzodiazépinones **136** diversement substituées en position 4, nous avons cherché à développer une synthèse rapide et efficace en terme de rendement de l'intermédiaire isocoumarine **137** (figure 34). Nous avons choisi de nous appuyer sur des travaux récents permettant la cycloisomérisation de dérivés *o*-alcynyl-benzoate **138** pour obtenir les isocoumarines diversement substituées en position 3. Dans un premier temps, il nous a fallu mettre au point la synthèse de ces alcynes.

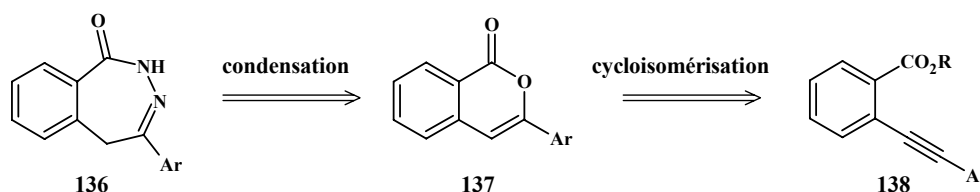


Figure 34. Stratégie de synthèse

4.3.1. Synthèse des aryl-alcynylbenzoates par réaction de Sila-Sonogashira

A partir du 2-iodobenzoate de méthyle, le 2-triméthylsilanyléthynyl-benzoate **139** de méthyle a été synthétisé par une réaction pallado-catalysée de Sila-Sonogashira avec un excellent rendement (schéma 38).¹⁸⁸ Le clivage du groupe triméthylsilyle en présence de fluorure de tétrabutylammonium conduit à l'alcyne vrai **140**,¹⁸⁹ qui, engagé dans une seconde réaction de Sila-Sonogashira, aurait du conduire au composé **141**. Malheureusement, cette réaction n'a pas aboutit au résultat souhaité puisque seul le composé **142** issu de l'homocouplage s'est formé.

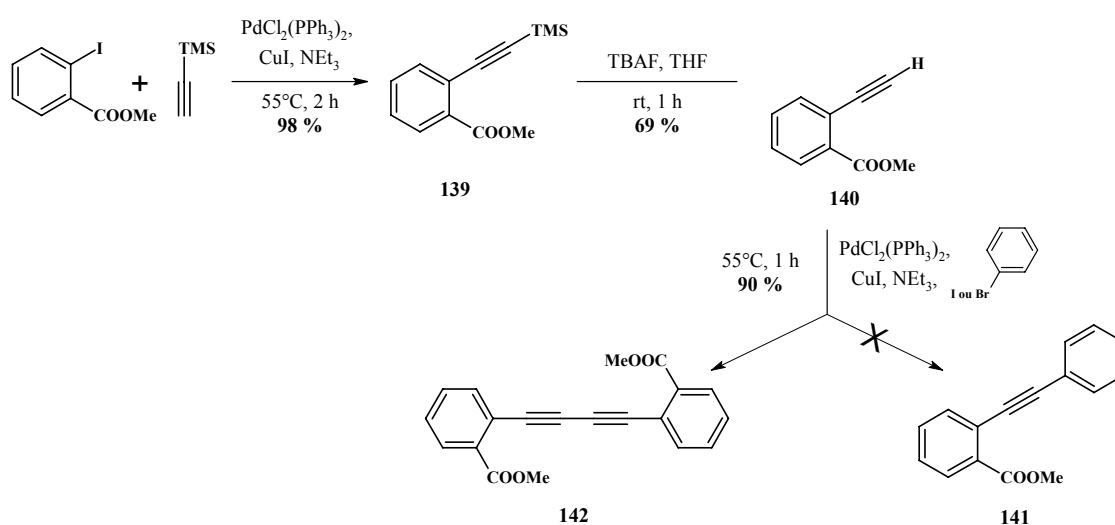
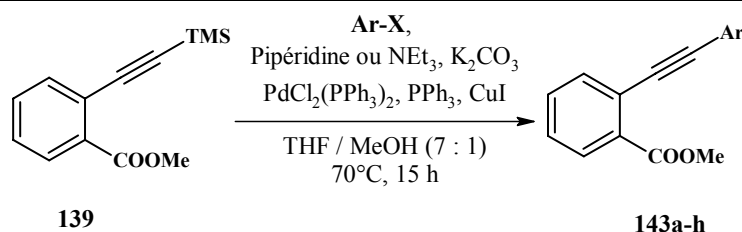


Schéma 38. Essai avec l'alcyne vrai

Nous nous sommes alors inspirés des travaux de Spivey *et al.* fondés sur une réaction de Sila-Sonogashira mettant en jeu une déprotection *in situ* de l'alcyne.¹⁹⁰ La réaction de Sila-Sonogashira est effectuée directement à partir du dérivé silylé **139**. Le groupe triméthylsilyle est alors clivé *in situ* en présence de K₂CO₃ / MeOH pour réagir ensuite par couplage de Sila-Sonogashira avec le bromobenzène, afin de donner le dérivé **143a** avec un excellent rendement (tableau 13). Cette déprotection étant particulièrement lente, l'alcyne vrai généré *in situ* est toujours en large défaut par rapport au dérivé halogéné. Ainsi, les proportions d'homocouplage restent faibles, voire inexistantes.

Nous avons utilisé cette méthode afin de synthétiser différents alcynes **143a-h**. L'étude menée sur cette réaction nous a permis de conclure que :

- Il n'existe pas de différence de réactivité significative entre un dérivé iodé et bromé.
- Le couplage se fait sélectivement sur le brome par rapport au chlore.
- La présence de groupement donneur fait diminuer le rendement de la réaction de Sonogashira, augmentant ainsi la proportion d'homocouplage.
- La présence d'un groupement attracteur n'altère en rien les rendements de couplage.
- L'introduction d'hétérocycles est possible, même si le composé **143g** a été obtenu avec un rendement de 53 % en raison de la présence de l'azote en méta.



	143a	143b	143c	143d	143e	143f	143g	143h
Ar-X								
Rdt (%)	94	92	73	85	70	74	85	53

Tableau 13. Essais à partir de différents dérivés benzéniques et pyridinyles.

4.3.2. Accès aux isocoumarines par cycloisomérisation

a) La cycloisomérisation 6-endo *dig*

L'étape suivante consiste à cycliser les alcynes obtenus en isocoumarines. On trouve dans la littérature plusieurs conditions afin de réaliser cette cyclisation. Ainsi, Larock *et al.*¹⁹¹ ont développé une méthode de cyclisation électrophile. A partir de différents dérivés d'esters acétyléniques, la lactonisation peut être réalisée en présence d'un électrophile (schéma 39). L'électrophile joue un rôle important dans l'activation de la triple liaison. Les auteurs

montrent qu'en présence de HI, il est possible d'obtenir en 96 heures l'isocoumarine. Dans ce cas-là, c'est un proton qui vient donc activer l'alcyne pour engendrer la cyclisation.¹⁹²

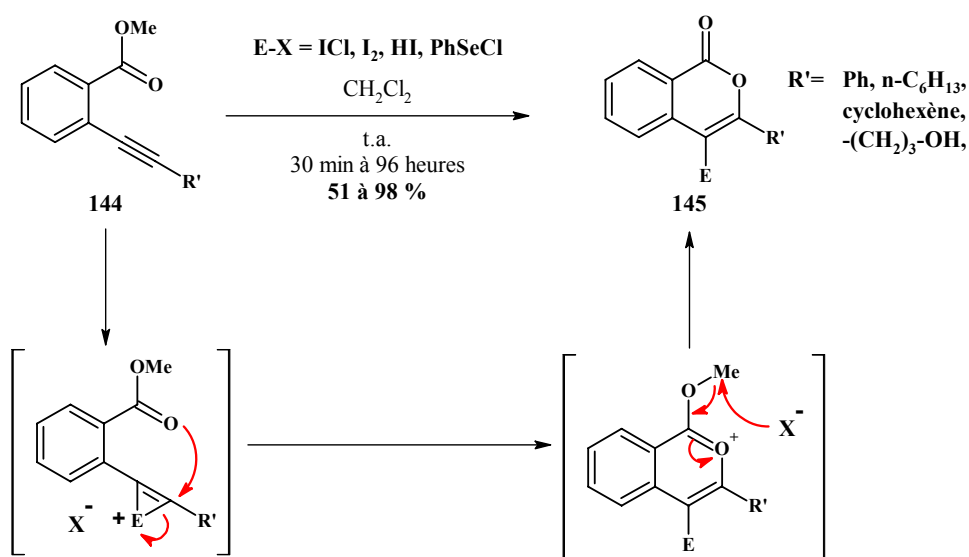


Schéma 39. Cycloisomérisation électrophile.

Uchiyama *et al.*¹⁵² ont étudié l'influence des conditions acide ou basique sur la cyclisation intramoléculaire d'acide 2(2-phényléthynyl)benzoïque **146** (schéma 40). Les auteurs montrent par calcul DFT (Density Functional Theory) que le carbone α est plus électropositif que le carbone β en condition acide, ce qui favorise une cyclisation de type 6-endo-*dig*. En revanche, en condition basique, la polarisation de l'alcyne est inversée ; le carbone α est donc le plus électronégatif et la 5-exo-*dig* est privilégiée.

Outre ces études théoriques, des données expérimentales sont venues appuyer leur analyse. Ainsi, dans des solvants acides tels que l'acide triflique ou l'acide trifluoroacétique, en 12 heures à température ambiante, la cycloisomérisation donne l'isocoumarine **147** avec des rendements de 96 %. Par contre, dans la pyridine, en 12 heures à reflux, le phtalide **148** est obtenu avec un rendement de 96 %.

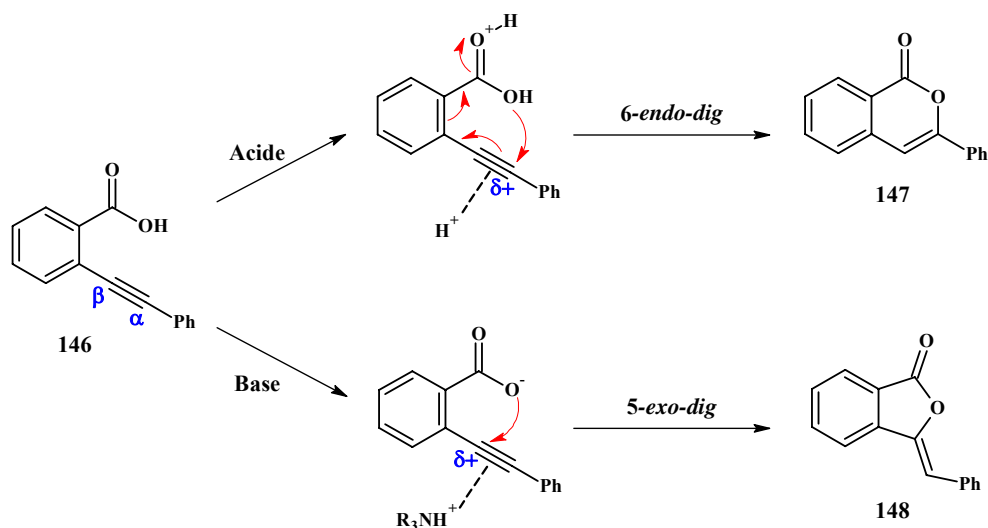


Schéma 40. Mécanismes supposés de cycloisomérisation.¹⁵²

b) Préparation des isocoumarines en présence d'un acide de Brønsted

Nous nous sommes donc inspiré de ces travaux pour synthétiser les différentes isocoumarines. En revanche, nous avons réalisé la cyclisation à partir des esters et non des acides. Les réactions ont été réalisées dans l'acide trifluoroacétique à température ambiante (tableau 14). A partir du dérivé **143a**, nous avons obtenu l'isocoumarine **149a** en 1 heure à température ambiante dans le TFA avec un rendement de 83 %. De manière surprenante, la cyclisation de l'ester est bien plus rapide que celle de l'acide (cf Uchiyama et al.).

Produits	149a	149b	149c	149d	149e	149f	149g	149h	149i
Ar									
Temps	60 min	30 min	15 min	60 min	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h
Rdt (%)	83	96	97	98	-	-	-	-	-

Tableau 14. Résultats de la cycloisomérisation 6-endo dig

c) Effet de groupements électrodonneurs

En présence de groupements électrodonneurs (méthoxy), la cycloisomérisation a été effectuée avec d'excellents rendements (96-98 %). Seulement 15 minutes sont nécessaires pour obtenir la cyclisation de **143c** en **149c** (tableau 14). Ainsi, plus il y a de groupements électrodonneurs, plus la cyclisation est rapide. La présence de ces groupements enrichit en électron la triple liaison. De ce fait, son activation par des protons est alors facilitée.

d) Effet de groupements électroattracteurs

Le dérivé **143e**, portant un groupement nitro, n'a pas donné de cyclisation même au bout de 24 heures (tableau 14). Ainsi, le nitro diminue la densité électronique de la triple liaison, ce qui rend difficile son activation. Le dérivé **143e** a ensuite été chauffé aux micro-ondes 10 minutes à 100°C, mais, même cet apport de chaleur n'a pas permis d'effectuer la cyclisation. Nous avons alors réduit le nitro en NH₂ (Fe, NH₄Cl, EtO₂ / H₂O, Reflux, 1H, 70 %) pour donner l'alcyne **143i**.¹⁹³ Le NH₂ étant un groupement électrodonneur, la cycloisomérisation doit être favorisée. Cependant, la cyclisation n'a pas eu lieu, ni à température ambiante, ni à 100°C sous irradiation micro-ondes. En effet, en milieu acide, le groupement NH₂ doit être protoné. Le NH₃⁺ résultant, comme le nitro, est alors électroattracteur et défavorise la cycloisomérisation.

e) Influence des hétérocycles azotés sur la cycloisomérisation

En présence de groupements 2-, 3- ou 4-pyridinyles, nous n'avons jamais observé de cycloisomérisation à température ambiante ou à 100°C sous irradiation micro-ondes (tableau 14). En effet, en milieu acide, nous sommes en présence de cations pyridiniums, qui sont alors électroattracteurs.

f) Conclusion

Nous avons développé une méthode de cycloisomérisation d'*o*-alcyne-benzoate de méthyle. Cette réaction est effectuée à température ambiante dans l'acide trifluoroacétique. De plus, elle s'est avérée très efficace en présence de substituants électro-donneurs ou halogénés. En revanche, la cyclisation n'a pas été observée quand l'aryle porté par l'alcyne comporte des

groupements électrodonneurs ou des hétérocycles azotés. D'un point de vue mécanistique, l'acide de Brønsted (le TFA dans notre cas) serait responsable de l'activation de la triple liaison nécessaire pour la cyclisation (schéma 41).

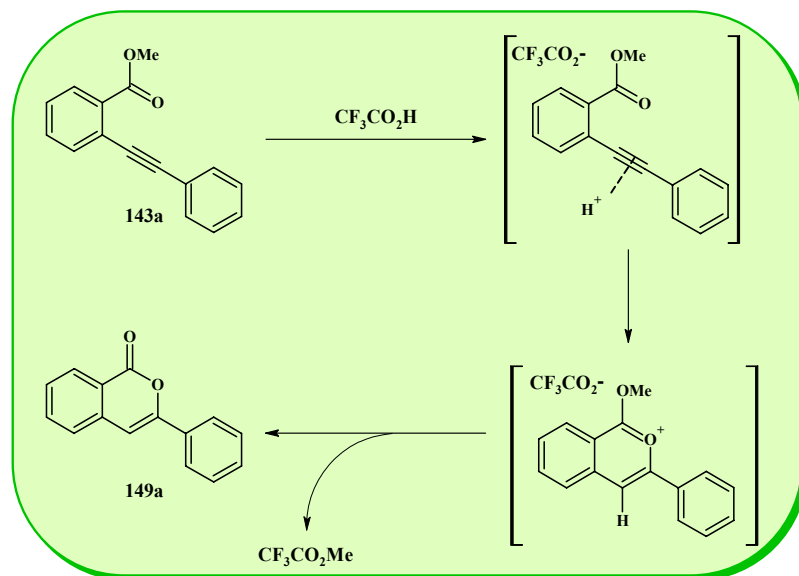


Schéma 41. Mécanisme supposé de cycloisomérisation en milieu acide

4.3.3. Réaction de condensation à l'hydrazine

Sur la base des travaux de Flammang et Wermuth, nous avons synthétisé à partir des isocoumarines **149a-d**, les différentes 4-aryl-2,3-benzodiazépinones **150a-d** avec de très bons rendements (tableau 15).

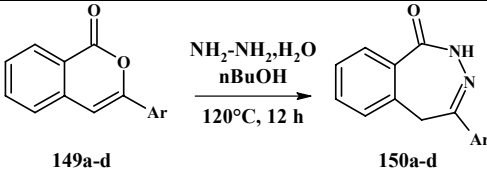
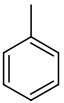
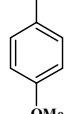
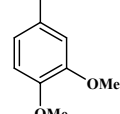
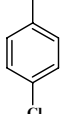
				
	150a	150b	150c	150d
Ar				
Rdt (%)	83	91	98	87

Tableau 15. Synthèse des benzodiazépinones.

Pour conclure, nous avons mis au point une nouvelle voie de synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépinones **150**. Cette synthèse en 4 étapes permet d'obtenir rapidement et avec des rendements relativement élevés les dérivés souhaités (Schéma 42). Enfin, nous avons vu que si l'introduction de groupements électrodonneurs au niveau de l'aryle conduit aisément aux BZD correspondantes, la présence de groupements électroattracteurs ou d'hétérocycles azotés ne permet pas d'obtenir les BZD correspondantes.

Pour pallier cette limitation, de nouvelles pistes basées sur l'activation de la triple liaison seront abordées ultérieurement (*partie 8.2.3. page 115*). Enfin, il serait intéressant d'étendre la synthèse à l'insertion d'autres groupements (alkyles, alcènes,...).

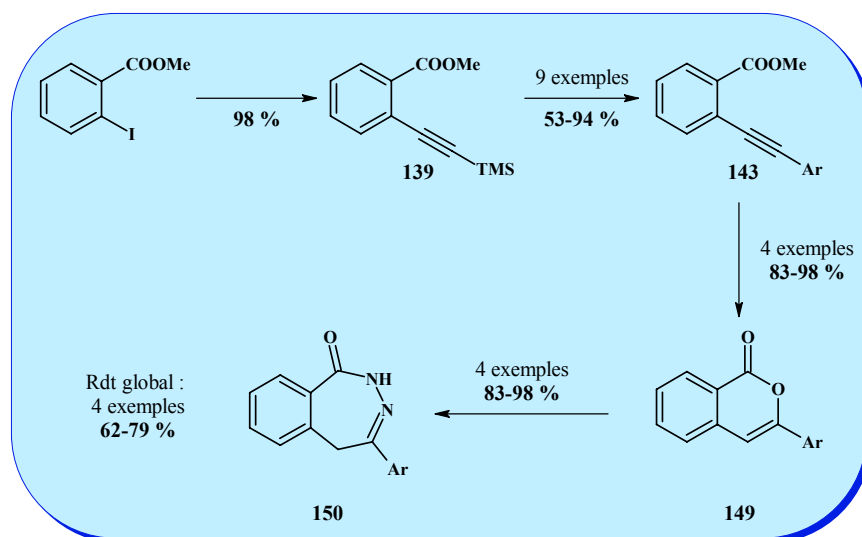


Schéma 42. Synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépinones

5. Synthèse des 1-aryl-2,3-benzodiazépinones

Nous avons ensuite cherché à développer une voie de synthèse des 1-aryl-2,3-benzodiazépin-4-ones. L'accès le plus direct à la 1-phényl-2,3-benzodiazépinone **152** consiste en une cyclisation entre une diarylcétone **151** avec une hydrazine (schéma 43). Cette condensation passe par une hydrazone intermédiaire qu'il n'est pas nécessaire d'isoler.

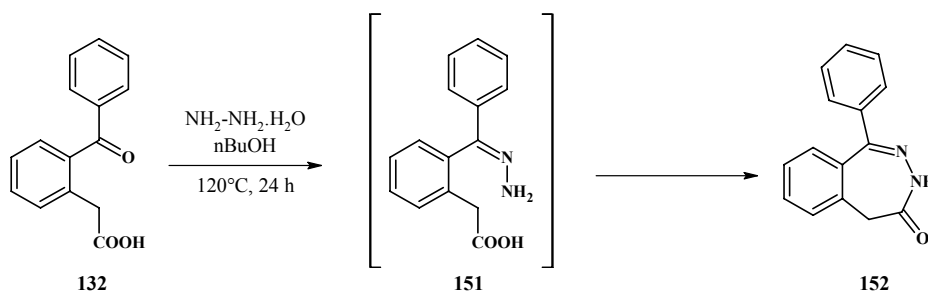


Schéma 43. Synthèse de la 1-phényl-3,5-dihydro-4H-2,3-benzodiazépin-4-one

5.1. Essais de préparation des 1-aryl-2,3-benzodiazépinones à partir de l'anhydride homophtalique

Comme l'avaient décrit Flammang et Wermuth, l'acylation de Friedel et Crafts à partir de l'anhydride homophtalique donne un mélange inséparable des 2 acides **132** et **133** (schéma 44).

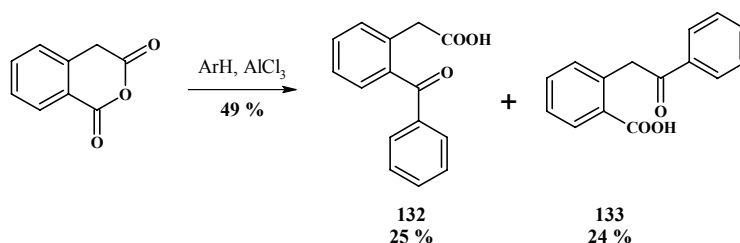


Schéma 44. Réaction de Friedel et Crafts sur l'anhydride homophtalique

Etant donné l'absence de sélectivité de l'acylation sur l'anhydride homophtalique, nous avons réalisé une réaction de Friedel et Crafts sur l'isocoumarine **106** (schéma 45). Cependant, aucune sélectivité n'a été observée sur ce système. De même, par une réaction de Fries entre le chlorure d'acide généré *in situ* à partir de l'acide **105**, il n'a pas été possible d'isoler la biarylcétone **154**.

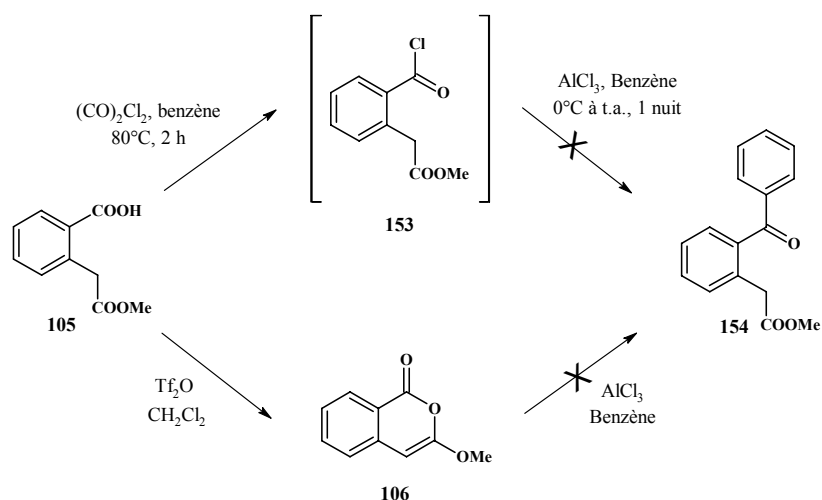


Schéma 45. Essais de synthèse de biraylcétone par action d' AlCl_3 .

Les réactions en présence d'acide de Lewis n'ayant pas été concluantes, de nouveaux essais ont été réalisés avec des organomagnésiens sur l'anhydride homophtalique ou l'isocoumarine **106** (schéma 46). Malheureusement, nous n'avons pas observé de sélectivité de l'attaque du magnésien, ce qui a conduit à des mélanges complexes. Finalement, l'obtention de ces acides δ cétoniques n'a pas pu être réalisée de manière directe.

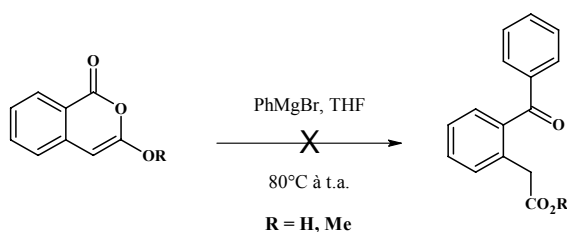


Schéma 46. Réaction avec un organomagnésien.

5.2. Accès aux 1-aryl-2,3-benzodiazépinones à partir de l'indanone

Le biarylcétone **132** nécessaire à la synthèse des 1-aryl-2,3-benzodiazépin-4-ones peut être obtenu par clivage oxydatif d'un dérivé 1-aryl-indène **155** (figure 35). Ce dernier serait synthétisé à partir de l'indanone. L'objectif est donc de pouvoir insérer différents groupements aryles de la manière la plus convergente possible.

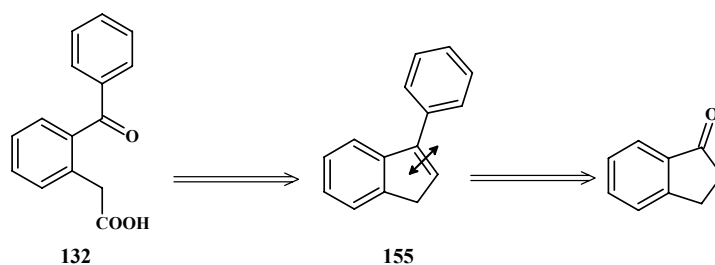


Figure 35. Accès aux acides ortho-benzoyl-phénylacétique.

5.2.1. Introduction de l'aromatique sur l'indanone

a) Arylation par attaque nucléophile d'un organomagnésien

L'indène **155** a été synthétisé à partir de l'indanone en présence de bromure de phénylmagnésium, suivi d'une étape de déshydratation de l'indanol **156**.¹⁹⁴

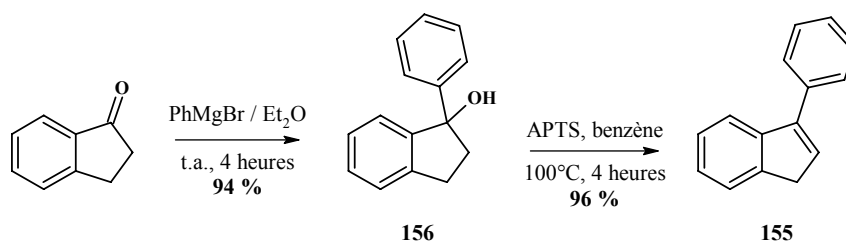


Schéma 47. Synthèse du phényl-indène par réaction de Grignard.

Cette méthode, dont les rendements sont excellents, limite la possibilité de substitution à la capacité de générer d'autres organomagnésiens substitués.

b) Arylation par une réaction de Suzuki-Miyaura

Nous avons alors développé une autre méthode afin d'obtenir une plus grande variété de 1-aryl-indènes (Schéma 48). La fonction cétone de l'indanone a été activée par la formation d'un éther d'énol triflique stable **156**.¹⁹⁵ Par la suite, un couplage pallado-catalysé de Suzuki utilisant divers acides arylboroniques a permis de générer les indènes **157a-c** avec d'excellents rendements.¹⁹⁶

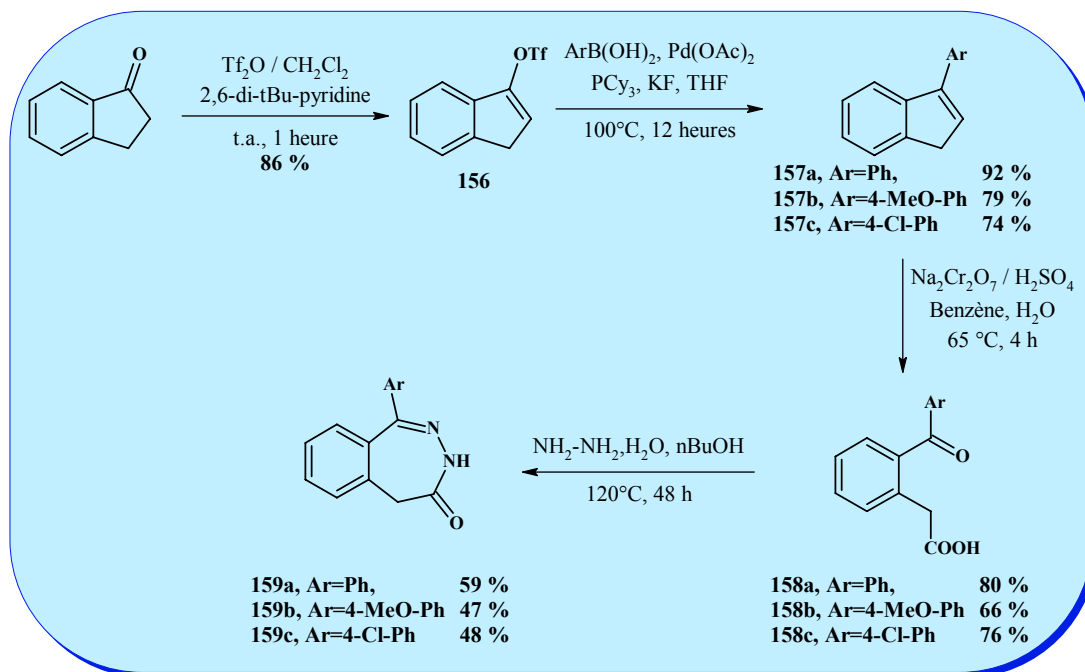


Schéma 48. Synthèse des 1-aryl-2,3-benzodiazépinones.

5.2.2. Clivage oxydatif et condensation avec l'hydrazine

Les indènes **157a-c** sont alors engagés dans une réaction de clivage oxydatif au dichromate de potassium pour donner les acides δ -cétoniques souhaités **158a-c**.¹⁹⁷ Ces derniers sont enfin condensés avec l'hydrazine pour donner les 1-aryl-2,3-benzodiazépin-4-ones **159a-c** (schéma 48).

Finalement, il a été possible de synthétiser différentes 1-aryl-2,3-benzodiazépinones en 4 étapes à partir de l'indanone. L'intérêt d'utiliser des acides boroniques plutôt que des organomagnésiens réside dans le fait qu'il en existe à ce jour une très grande variété commercialement disponible.

6. Alkylation des 2,3-benzodiazépines

Nous avons synthétisé précédemment des 2,3-benzodiazépines possédant un groupement aryles en position 1 ou en position 4. Afin de synthétiser des analogues benzodiazépines de l'azélastine, un groupement pipéridinyle doit être inséré sur l'azote de l'amide. Nous avons tout d'abord étudié la réactivité des différents châssis benzodiazépiniques synthétisés.

6.1. Réactivité des 2,3-benzodiazépines et de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione

L'étude sur l'alkylation a été menée sur trois 2,3-benzodiazépines (figure 36):

- La 4-phényl-2,3-benzodiazépin-1-one **150a**, qui possède une fonction **benzamide**,
- La 1-phényl-2,3-benzodiazépin-4-one **159a**, qui possède une fonction **acétamide**,
- La 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **97**, qui possède une fonction **benzamide** et une fonction **acétamide**.

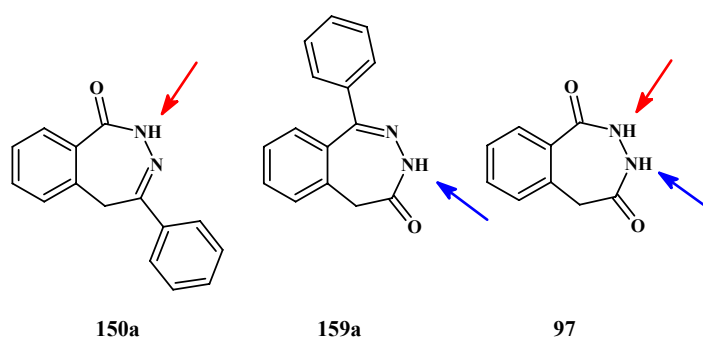


Figure 36 . Benzodiazépine sélectionnée pour l'alkylation

La première constatation est que, dans les conditions réactionnelles utilisées, nous n'avons jamais observé de O-alkylation. L'alkylation des benzodiazépines **150a** et **159a** a été effectuée en présence d'une base forte (NaH) dans le THF en 4 heures (schéma 49).

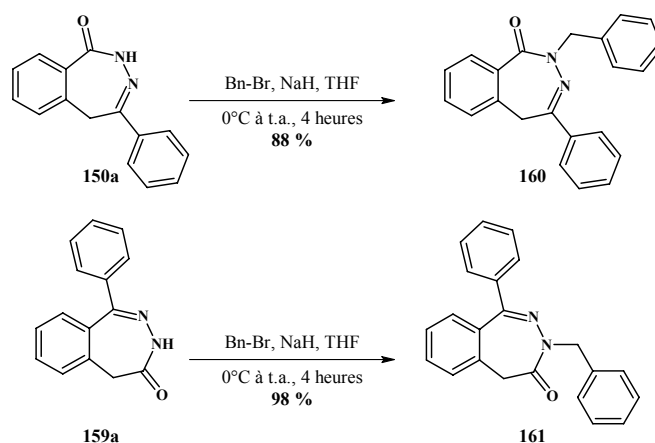


Schéma 49. N-Alkylation par le bromure de benzyle.

Considérant son insolubilité dans le THF, l'alkylation de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** a été effectuée dans le DMF. Nous nous sommes placés en défaut de bromure de benzyle afin d'observer la réactivité intrinsèque des 2 types d'amides.

La première remarque est que la conversion est totale (tableau 16). De plus, la base a un effet seulement sur la cinétique de réaction, et non sur les proportions de chaque composé. En considérant le fait que **177a** et **162** sont exactement dans les mêmes proportions, on peut dire que la fonction benzamide et la fonction acétamide possèdent la même réactivité vis-à-vis de l'alkylation. Enfin, le produit dialkylé **163** est largement majoritaire (56 %), ce qui laisserait à penser qu'une fois la première alkylation effectuée, qu'elle soit sur l'une ou l'autre des fonctions amides, le produit monoalkylé résultant devient plus réactif à l'alkylation que la benzodiazépine **94**.

Conditions	117a	162	163
NaH / DMF, 0°C à t.a., 1 heure	22 %	22 %	56 %
K ₂ CO ₃ / DMF, t.a. 24 heures	24 %	20 %	56 %

Tableau 16. Etude de la régiosélectivité de l'alkylation.

6.2. Introduction du groupement pipéridinyle

Afin de poursuivre notre optimisation structurale, de manière similaire à l'introduction du groupement pipéridinyle effectuée auparavant sur les phtalazinones et pyridazinones, nous avons utilisés la 4-O-mésyl-N-Boc-pipéridine **44** pour synthétiser les dérivés benzodiazépiniques de l'azélastine (schéma 50). Les différentes tentatives d'alkylation à partir de la pipéridine mésylée ont été un échec. Il semblerait que, contrairement aux phtalazinones et pyridazinones, l'amidure générée à partir des 2,3-benzodiazépinones **150a** et **159a** ne soit pas assez réactif pour attaquer le dérivé O-mésyle **44**.

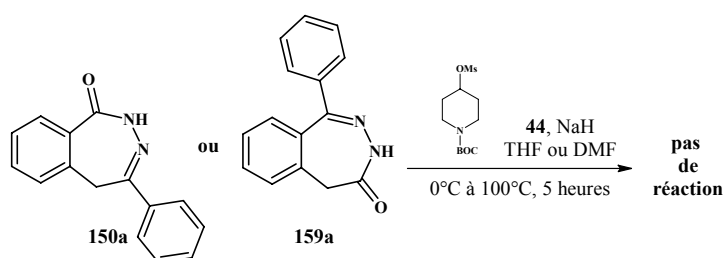


Schéma 50. N-alkylation par substitution d'un groupement mésyle.

Finalement, l'alkylation a été réalisée à partir de la 4-bromo-N-Boc-pipéridine **164** (schéma 51). La déprotection suivie de l'amination réductrice ont donné les premiers analogues structuraux de l'azélastine, les 2,3-benzodiazépinones **167** et **170**.

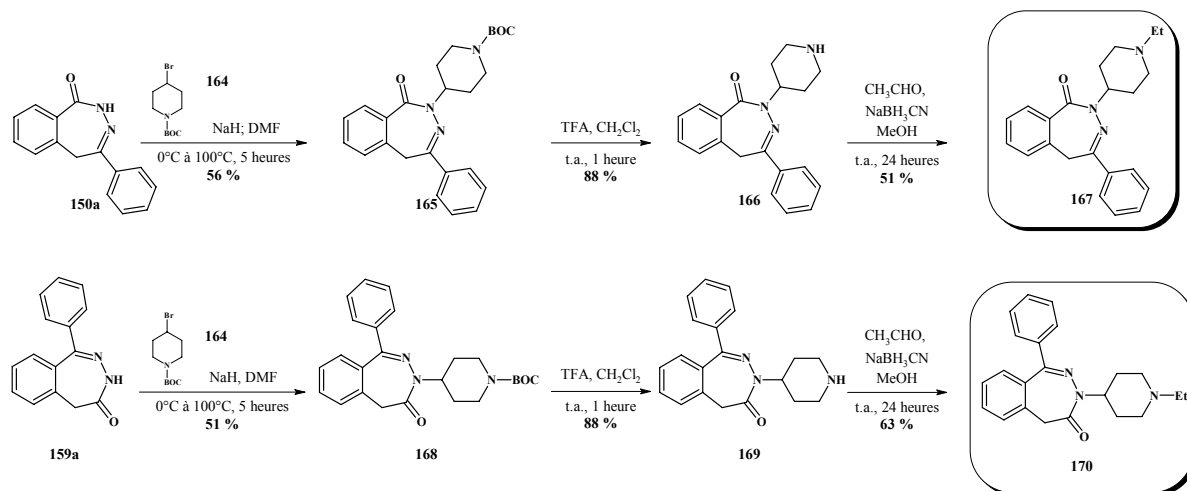


Schéma 51. Synthèse des dérivés benzodiazépiniques de l'azélastine

6.3. Conclusion

Nous avons été amenés à développer de nouvelles voies de synthèse des 2,3-benzodiazépinones. Faciles à réaliser, rapides et avec de bons rendements, ces synthèses permettent d'obtenir à l'échelle du gramme un grand nombre de dérivés autour de ce châssis moléculaire. Grâce à ces méthodes, nous pouvons entrevoir la possibilité de mener une étude des relations structure-activité autour du noyau 2,3-benzodiazépine.

D'un point de vue pharmacochimique, nous avons synthétisé deux 2,3-benzodiazépinones comme analogues structuraux de l'azélastine (schéma 52). L'évaluation biologique de ces 2 composés permettra de voir si le cycle à 7 diversement substitué permet ou pas un bon positionnement dans l'espace des différents groupements fonctionnels afin de conserver voire d'augmenter l'effet anti-inflammatoire.

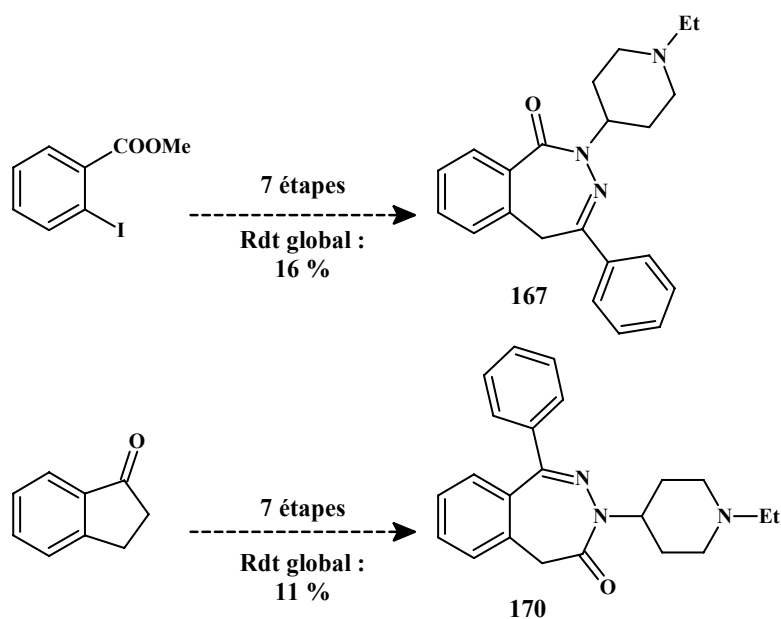


Schéma 52. Analogues structuraux de l'azélastine.

7. Amination des 2,3-benzodiazépinones

Au laboratoire, de nombreux amides hétérocycliques ont été développés comme intermédiaire de choix pour fonctionnaliser et substituer les hétérocycles par des amines primaires ou secondaires via des réactions de Buchwald-Hartwig ou de substitution nucléophile.^{198,199,200}

7.1. Accès aux amino-2,3-benzodiazépines par S_NAr

La méthode standard pour insérer une amine sur un amide consiste à activer la fonction amide via un iminochlorure,^{181,201} un iminotosyle ou un iminotriflate.²⁰² Comme nous l'avons montré auparavant sur les 2,3-benzodiazépine-1,4-diones **94** ou **117a**, l'activation des amides n'a pas pu être réalisée.

Différents essais de tosylation (TsCl/Pyridine ; TsCl/K₂CO₃/CH₃CN ; TsCl/NaH/THF) ont été réalisés sur la 1-aryl-benzodiazépine-4-one **159a**, mais aucun essai n'a conduit au dérivé O-tosylé.

Une autre méthode consiste à transformer l'amide en thioamide puis d'insérer l'amine par substitution nucléophile (schéma 53). Ainsi, le 2,3-benzodiazépinethione **171** a été obtenue en présence du réactif de Lawesson avec un rendement de 77 %. La morpholine a alors été introduite par substitution nucléophile avec un rendement satisfaisant pour générer l'amidine **172**.^{203,204}

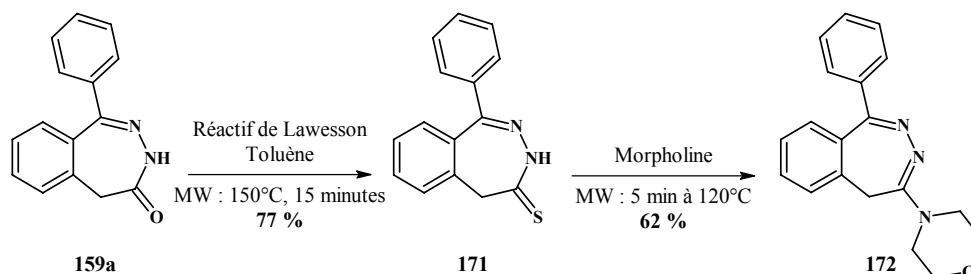


Schéma 53. Synthèse d'amidines via la formation d'un thioamide

En revanche, la synthèse du thioamide s'est avérée inefficace sur les 2,3-benzodiazépine-1,4-diones **117b-c** (schéma 54).

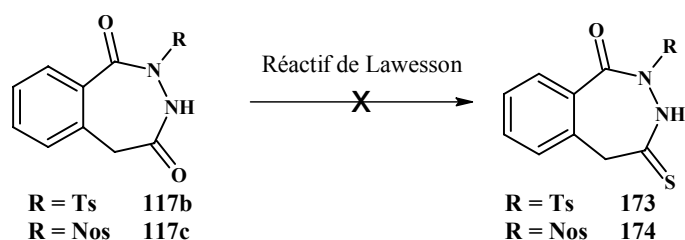


Schéma 54. Essais de préparation de thioamides à partir de benzodiazépine-1,4-diones **117**.

7.2. Amination activé par un métal de transition

En 1969, Fryer et al. ont décrit une méthode d'amination directe d'amide par l'intermédiaire d'un complexe au titane.²⁰⁵ Depuis, cette méthode n'a été que très peu utilisée, exceptée dans la synthèse de dérivés de la clozapine.^{206,207,208}

Cette méthode présente l'avantage d'être directe par rapport aux techniques standard d'amination qui nécessitent une activation préalable de la fonction amide (schéma 55).

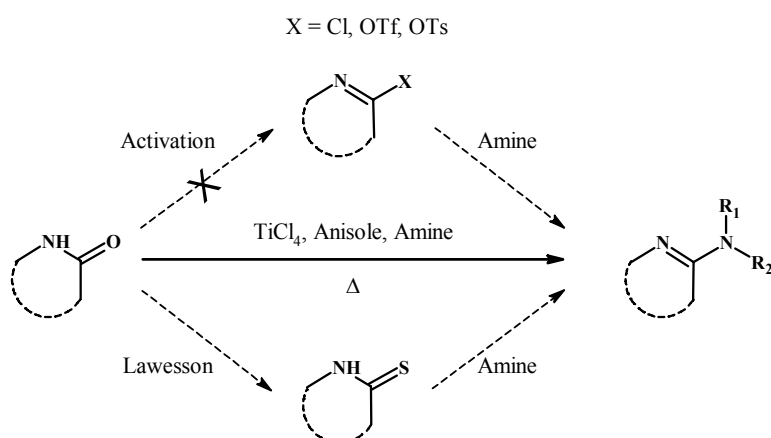


Schéma 55. Stratégies pour l'amination à partir d'amides cycliques.

7.2.1. Etude de la réactivité de l'amination activée par TiCl₄

Afin d'étudier le comportement de cette réaction, plusieurs systèmes modèles ont été choisis :

- la 4-phényl-2,5-dihydro-1*H*-2,3-benzodiazépin-1-one **150a**,
- la 1-phényl-3,5-dihydro-4*H*-2,3-benzodiazépin-4-one **159a**,
- la 5-phényl-1,3-dihydro-2*H*-1,4-benzodiazépin-2-one **175**,
- la 4-phénylphthalazin-1(2*H*)-one **38**.

Le choix des benzodiazépines modèles s'est fait afin de représenter un panel d'amides très différents, puisque **150a** est un benzamide, **159a** un acétamide et **175** un acétanilide. La 4-phénylphthalazin-1-one **38** a été ajoutée à cette étude car elle présente l'intérêt d'être un benzamide entièrement conjugué (figure 37).

Quatre amines ont par ailleurs été utilisées pour mener cette étude : deux amines primaires (l'aminoéthylpipéridine **G** et la benzylamine **H**), et deux amines secondaires (la N-méthyl-pipérazine **I** et la N-pyrimidinyl-pipérazine **J**).

Les amines **G**, **I** et **J** ont été choisies car elles pourraient être intéressantes dans l'optique de la synthèse des dérivés benzodiazépines de l'azélastine puisqu'elles comportent une espèce susceptible d'être protonée au même titre que le groupement pipéridinyle de l'azélastine. Ces composés présentent aussi un intérêt pharmacologique dans d'autres projets non-précisés ici. L'amine **J** est intéressante d'un point de vue réactivité car elle possède un cycle hétéroaromatique.

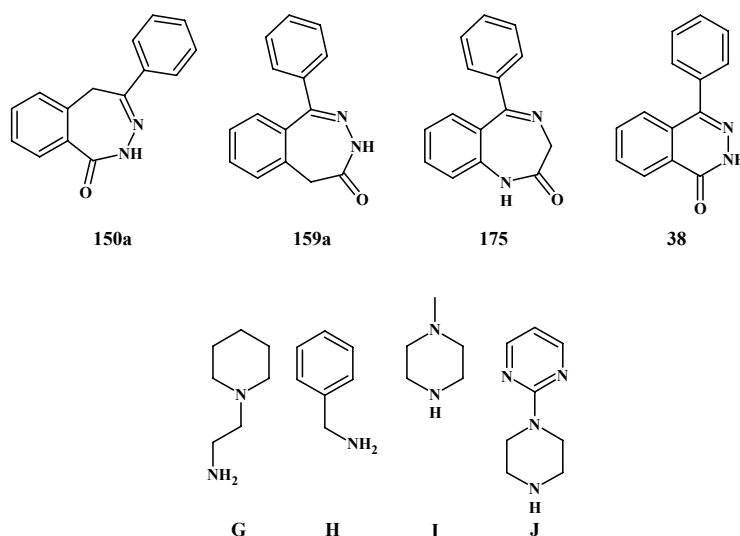


Figure 37. Choix des amides et amines pour l'étude de réactivité.

Pour comparer la réactivité de ces 4 amides vis-à-vis de l'amination par TiCl_4 , plusieurs paramètres réactionnels ont été étudiés :

- la nature du chauffage (micro-ondes ou bain d'huile),
- la température,
- le type et la quantité d'amines,
- la quantité de TiCl_4 ,
- le temps de réaction.

7.2.2. Résultats de l'amination (tableau 17)

La première constatation est que le chauffage par irradiation aux micro-ondes n'a pas d'influence sur le rendement mais, par contre, diminue significativement le temps de réaction. Effectivement, l'amination aux micro-ondes de **175** avec les amines **G** et **I** a été réalisé en 5 minutes à 100°C avec des rendements de 95 et 92 % (entrée 1 & 2), alors qu'il faut 60 minutes en chauffage classique pour obtenir un rendement similaire (entrée 5). En revanche, avec 5 minutes en chauffage classique, le rendement chute à 36 % (entrée 4). Des résultats similaires ont été observés sur les autres amides **150a**, **159a** et **38** (entrées 10, 15 et 23).

La première tentative d'optimisation des conditions aux micro-ondes a concerné la température. Cependant, à des températures supérieures à 120°C , une dégradation partielle de l'amidine formée a été observée. Finalement, la température optimale est de 100°C .

La transformation de l'amide en amidine est une réaction en deux étapes (schéma 56). Premièrement, l'amide réagit avec le complexe activé de titane pour former un intermédiaire imidotitanium, qui va à son tour réagir avec l'amine pour former l'amidine correspondante.²⁰⁹

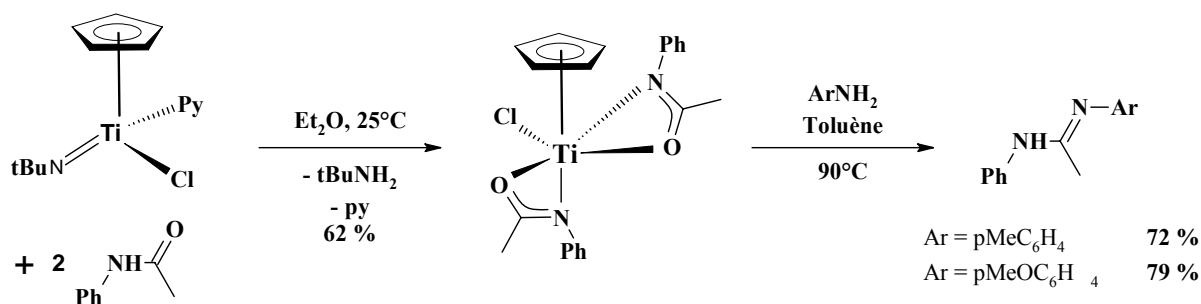


Schéma 56. Mécanisme de l'amination médiée par un complexe au titane.²⁰⁹

Afin de trouver les meilleures conditions expérimentales, l'augmentation de la quantité d'amine (1, 3, 10 et 30 équivalents), et de la quantité de TiCl_4 (0.3, 0.6, 1.2, 3.0 équivalents) ont été étudiées. Ainsi, la 1,4-benzodiazépinone **175** est apparue comme étant la plus réactive. En effet, 0.6 équivalent de TiCl_4 et 10 équivalents d'amines sont suffisants pour achever la réaction en 5 minutes à 100°C avec un excellent rendement (entrées 1 & 2).

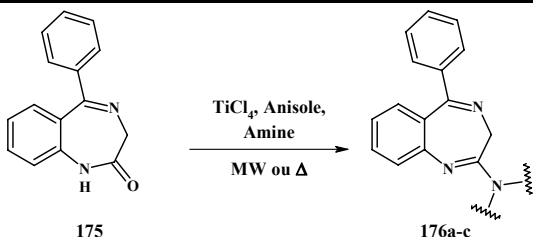
La 1-phényl-2,3-benzodiazépin-4-one **159a** présente une réactivité similaire à la 1,4-benzodiazépinone **175** vis-à-vis de l'amine primaire **G** (entrée 6), mais est moins réactive avec l'amine secondaire **I**. Nous avons augmenté la quantité d'amine à 30 équivalents pour donner l'amidine **177b** avec un rendement de 67 % (entrée 7). Il nous a fallu augmenter aussi la quantité de TiCl_4 pour obtenir de meilleurs rendements (entrée 8).

La 4-phényl-2,3-benzodiazépin-1-one **150a** semble bien moins réactive par rapport à la 5-phényl-1,4-benzodiazépin-2-one **175**. Dans des conditions similaires à **175** (10 éq. d'amines, 0.6 éq. de TiCl_4), il faut 30 min à 100°C pour effectuer l'amination avec l'amine primaire **G** pour un rendement de 74 % (entrée 12). La différence de réactivité est encore plus flagrante avec l'amine secondaire, puisque, dans les mêmes conditions décrites ci-dessus, le rendement n'est que de 31 % (entrée 13).

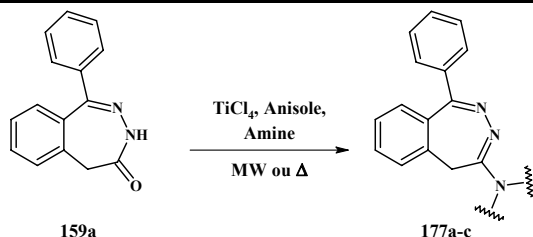
L'amination à partir de l'amine **J** donne des rendements inférieurs à ceux observés avec l'amine **I** quelque soit la benzodiazépinone (entrées 3, 9 & 14). Même si les rendements restent satisfaisants, le groupement pyrimidyle a donc un effet néfaste sur la réaction.

Comme la 2,3-benzodiazépinone **150a**, la phtalazinone **38** présente une réactivité de benzamide vis-à-vis de l'amine secondaire **I**, et donne l'amidine **178b** avec un rendement de 44 % (entrée 19). L'utilisation de 3 éq. de TiCl_4 (entrée 22) ou l'augmentation du temps de chauffage (entrée 20) n'ont pas amélioré le rendement. Même un chauffage pendant 24 h n'a pas permis d'augmentation de la conversion (entrée 25).

Il est important de noter que, sans TiCl_4 , nous n'observons pas de conversion de l'amide **38** en amidine **179** (entrée 21). De même, aucune réaction n'a été observée entre la phtalazine **38** et les amines primaires **G** et **H**. Cette faible réactivité de la phtalazine serait peut-être due au caractère aromatique plus marqué de l'amide hétérocyclique de départ.

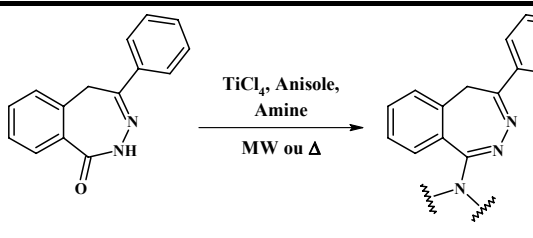


175 176a-c

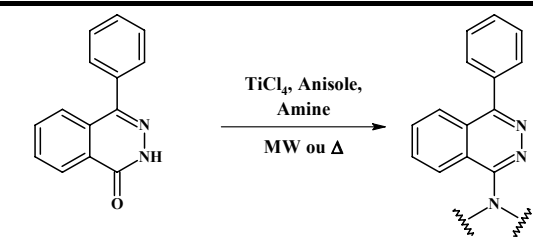


159a 177a-c

Entrée	Amide	Amine	Amine (équiv.)	TiCl ₄ (équiv.)	Conditions	Amidine	Rdt (%)
1	175	G	10	0.6	MW-5 min-100°C	176a	95
2		I	10	0.6	MW-5 min-100°C	176b	92
3		J	10	1.2	MW-5 min-100°C	176c	67
4		I	10	0.6	Δ-5 min-100°C	176b	36
5		I	10	0.6	Δ-60 min-100°C	176b	93
6	159a	G	10	0.6	MW-5 min-100°C	177a	97
7		I	30	0.6	MW-5 min-100°C	177b	67
8		I	30	1.2	MW-5 min-100°C	177b	89
9		J	30	1.2	MW-5 min-100°C	177c	62
10		I	30	1.2	Δ-5 min-100°C	177b	77
11		I	30	1.2	Δ-60 min-100°C	177b	98



150a 178a-c



38 179a-c

Entrée	Amide	Amine	Amine (équiv.)	TiCl ₄ (équiv.)	Conditions	Amidine	Rdt (%) ^b
12	150a	G	10	0.6	MW-30 min-100°C	178a	74
13		I	30	0.6	MW-30 min-100°C	178b	31
14		J	30	1.2	MW-30 min-100°C	178c	74
15		I	30	1.2	Δ-30 min-100°C	178b	8
16		I	30	1.2	Δ-180 min-100°C	178b	31
17	38	G	30	1.2	MW-60 min-100°C	179a	0
18		H	30	1.2	MW-60 min-100°C	179b	0
19		I	30	1.2	MW-30 min-100°C	179c	44
20		I	30	1.2	MW-60 min-100°C	179b	45
21		I	30	0	MW-60 min-100°C	179b	0
22		I	30	3	MW-60 min-100°C	179b	35
23		I	30	1.2	Δ-30 min-100°C	179b	7
24		I	30	3	Δ-60 min-100°C	179b	44
25		I	30	1.2	Δ-24 h-100°C	179c	40

Tableau 17. Optimisation des conditions réactionnelles.

L'analyse de ces résultats permet de tirer plusieurs conclusions. Premièrement, le fait que 0.6 éq. de TiCl_4 soient suffisant pour convertir l'amide **175** en amidines **176** montre qu'une molécule de TiCl_4 serait le siège de deux aminations. Ensuite, une grande quantité d'amine est nécessaire pour déplacer l'intermédiaire bis(imidio)titanium vers l'amidine. L'optimisation des différentes variables de la réaction a permis d'établir une classification des différents amides vis-à-vis de l'amination par TiCl_4 :

Acétanilide (175) > Acétamide (159) > Benzamide (38 & 150).

7.2.3. Régiosélectivité de l'amination

Afin de vérifier la différence de réactivité des différents amides, nous avons étudié la régiosélectivité de l'amination de la 1,4-benzodiazépine-2,5-dione **180** et de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94**. La 1,4-benzodiazépine-2,5-dione **180** comporte 2 fonctions amides, un groupe acétanilide et un benzamide tandis que la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** possède un acétamide et un benzamide. En général, la présence de deux fonctions amides provoque des problèmes de solubilité, ainsi que des problèmes de régiosélectivité.¹⁸²

L'amination du composé **180** a été réalisée avec 1.2 éq. de TiCl_4 et 10 éq. de N-méthylpipérazine pendant 5 minutes à 100°C. Seule l'amidine **181** a été obtenue avec un rendement de 91 % (Schéma 57). L'amination en position 2 a été déterminée par l'étude RMN de l'effet NOE entre le méthylène en position 3 de la 1,4-benzodiazépine-dione, les méthylènes de la pipérazine, et enfin le NH en position 4 (figure 38, voir annexes).

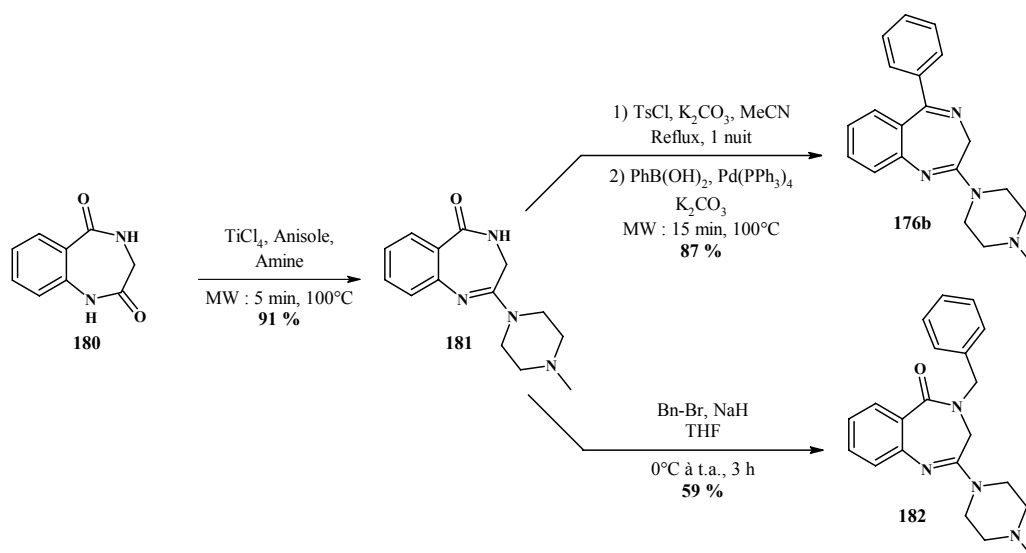


Schéma 57. Amination régiosélective et fonctionnalisation du cycle 1,4-benzodiazépine.

Le dérivé **181** a servi de plate-forme afin de fonctionnaliser l'amide de la 1,4-benzodiazépinone soit par alkylation de l'azote en position 2 (composé **182**), soit par activation de l'amide sous forme d'iminosyle puis un couplage pallado-catalysé. L'activation et le couplage ont été réalisés *in situ* avec un rendement de 87 %. Cette méthode permettrait donc de synthétiser rapidement une chimiothèque de 1,4-benzodiazépinones.

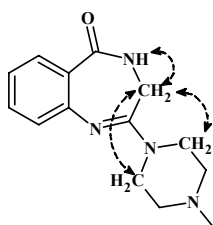


Figure 38. Confirmation de la régiosélectivité par corrélation RMN.

De la même manière que précédemment observée avec la 1,4-benzodiazépine-2,5-dione **180**, l'amination par TiCl₄ sur la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** a conduit sélectivement à l'amidine en position 4, que cela soit avec une amine primaire ou une amine secondaire (tableau 18). La réaction a été effectuée avec 1.2 éq de TiCl₄, et 10 à 30 éq. d'amines à 100°C pendant 5 à 30 minutes pour donner les dérivés **183a-e**. La régiosélectivité a été déterminée par analyse RMN 2D (voir annexes).

O=C1NC(=O)C2=CC=CC=C2N1
 $\xrightarrow[\text{MW : 5 à 30 min, 100°C}]{\text{TiCl}_4, \text{ Anisole, Amine}}$
O=C1NC(=O)C2=CC=CC=C2N1N(R)R

94
183a-e

Amines (équiv.)	Tps (min)	Produits	Rdt (%)
N-méthylpipérazine (30)	30	183a	53
Aminoéthylpipéridine (10)	5	183b	53
Morpholine (30)	30	183c	50
Pipéridine (30)	30	183d	49
Cyclohexylamine (10)	5	183e	51

Tableau 18. Amination de la 2,3-benzodiazépine-dione 94.

Etant donné les différences de réactivité, une synthèse régiosélective d'amidines a été réalisée sur des systèmes hétérocycliques de type « diamides », qui, en règle général, sont très difficiles à fonctionnaliser en raison de leur forte insolubilité, ou de leur absence de réactivité. Effectivement, n'ayant pas réussi à activer les fonctions amides en thioamides, l'amination par TiCl_4 est la seule méthode qui nous ait permis de réaliser l'amination des benzodiazépine-diones.

8. Synthèse des « 2,3-hétéroaryldiazépinones »

8.1. Objectifs

Les méthodes que nous avons développées auparavant permettent de fonctionnaliser 4 points du cycle 2,3-benzodiazépine (arylation, amination, alkylation). Par contre, aucune exploration structurale n'avait été apportée à la partie « benzo » de l'hétérocycle (6+7). Cette modification est l'objet de cette dernière partie (figure 39). Ainsi, notre objectif est de substituer le groupement « benzo » par divers hétérocycles azotés tels que :

- la pyridine, la pyrimidine, la pipéridine, pour les hétérocycles à 6 chaînons aromatiques ou non-aromatiques,
- l'indole, l'imidazopyridine, pour les bicycles et les hétérocycles à 5 chaînons.

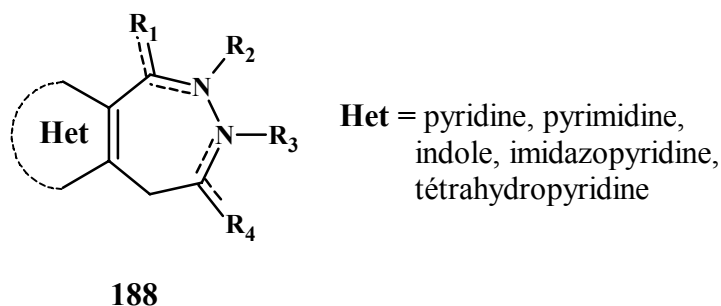


Figure 39. Construction de nouveaux châssis moléculaires.

Afin de synthétiser les premières « 2,3-hétéroaryldiazépines » **188**, nous nous sommes inspirés de la synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépines (figure 40). L'étape clé est la cycloisomérisation d'esters acétyléniques **189** pour engendrer les isocoumarines **190**, qui condensées avec l'hydrazine, conduiront aux différentes « 4-aryl-2,3-hétéroaryldiazépines » **191**.

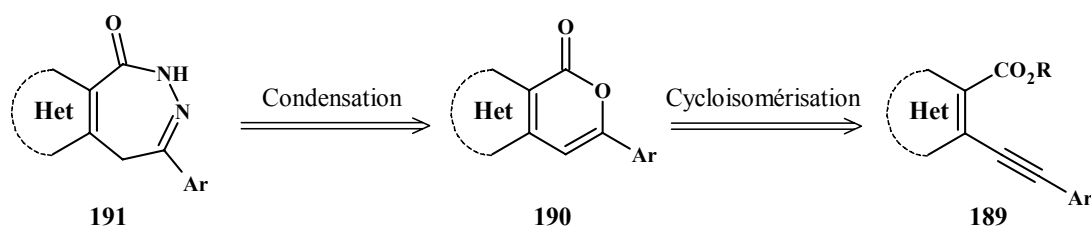


Figure 40. Stratégie de synthèse.

8.2. Accès aux « 4-aryl-2,3-hétéroaryldiazépines » à partir de dérivés pyridinyles

On trouve plusieurs exemples de synthèse de la 7-phényl-pyranopyridin-5-one **194** (schéma 58). La cyclisation est réalisée soit à partir du 2-(phényléthynyl)nicotinonitrile **192** dans l'acide sulfurique²¹⁰ ou dans l'acide polyphosphorique,²¹¹ soit à partir de l'acide 2-(2-oxo-2-phényléthyl)nicotinique **193** dans l'acide sulfurique.²¹²

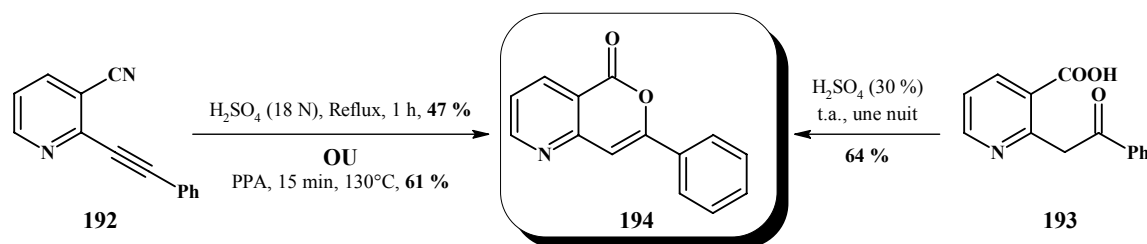


Schéma 58. Cycloisomérisation en condition acide.

Ces méthodes, en plus d'avoir des rendements moyens, sont réalisées en milieu aqueux en présence d'acides forts. Nous nous proposons de développer une méthode de cycloisomérisation régiosélective (*6-endo dig*) à partir d'ester ortho-aryléthyne hétérocyclique.

8.2.1. Préparation des phénylalcynyl-nicotinates

Le (phényléthyne)-nicotinate est obtenu en 2 étapes à partir de l'acide 2-nicotinique. Une estérification par la formation *in situ* du chlorure d'acide donne le nicotinate **195**. Un couplage pallado-catalysé de Sila-Sonogashira permet alors l'accès aux alcynes **196a-b** (schéma 59).²¹³ Deux esters, méthylique et éthylique ont été synthétisés afin d'étudier leur influence dans l'étape de cyclisation.

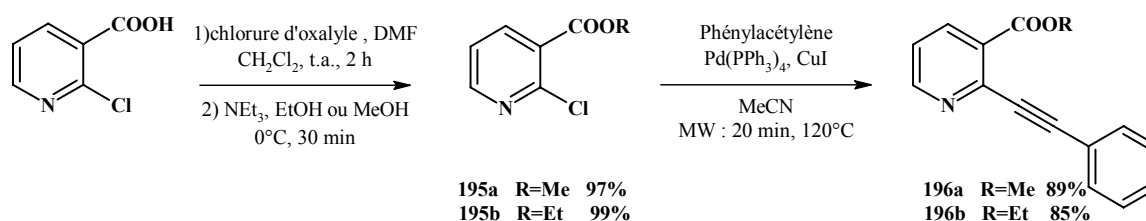


Schéma 59. Synthèse des phényléthyne-nicotinates.

8.2.2. Cycloisomérisation en condition acide

Nous avons vu auparavant que la cycloisomérisation sur des dérivés benzoates donne de bons résultats dans le TFA en 1 heure à t.a (*partie 4.3.2. page 93*). Ces conditions sont d'autant plus efficaces en présence de groupements donneurs sur le benzène. En revanche, aucune cyclisation n'a été observée en présence de groupements tels que 4-nitrophényle, 4-aminophényle ou pyridines. Probablement en raison de la protonation de la pyridine, le nicotinate **196a** dans le TFA pendant 12 heures à t.a. ne cyclise pas non plus.

Par contre, une irradiation aux micro-ondes 20 minutes à 100°C a permis de former la lactone **194** avec un rendement faible (18 %). D'autres conditions acides utilisant des sels de mercure (HgO/H₂SO₄)²¹⁴, l'acide *p*-toluène sulfonique²¹⁵ ou HI^{112,216} ont été utilisées (schéma 60). Jamais la lactone **194** issue de la cyclisation n'a été observée.

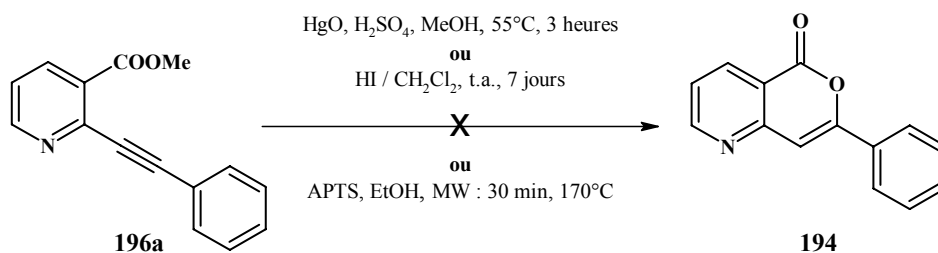


Schéma 60. Essais de cyclisation en condition acide.

Les conditions acides seules ne suffisent donc pas pour observer la cycloisomérisation avec de bons rendements. La densité électronique de la triple liaison étant affaiblie en présence de l'hétérocycle azoté, il faudrait donc ajouter un élément qui permettrait d'activer la triple liaison. La solution serait peut-être d'utiliser un acide de Lewis dont les propriétés physico-chimiques en font un bon complexant des alcynes.

8.2.3. Cycloisomérisation catalysée par un acide de Lewis

a) Données de la littérature

De nombreux et récents travaux décrivent l'utilisation de métaux de transition tels que l'or,^{217,218,219} l'argent²²⁰ et le cuivre²²¹ pour la réaction de cycloisomérisation de carbonyles sur des alcynes. Ces métaux appartiennent à la colonne Ib de la classification périodique des éléments. Ils possèdent donc des propriétés physico-chimiques assez semblables. Dans le cas d'activation d'alcynes, c'est leur caractère acide de Lewis qui nous intéresse.²²²

Ainsi, Michelet *et al.* ont montré que la synthèse régiosélective de type *5-exo-dig* de γ -lactones **198** était effectuée à partir d'acides acétyléniques en 2 heures à t.a. en présence d' Au^{I} ou d' Au^{III} (schéma 61).²²³ La cycloisomérisation peut aussi avoir lieu entre un alcyne et un aldéhyde en présence d'un nucléophile, le tout catalysé par l'argent.²²⁴

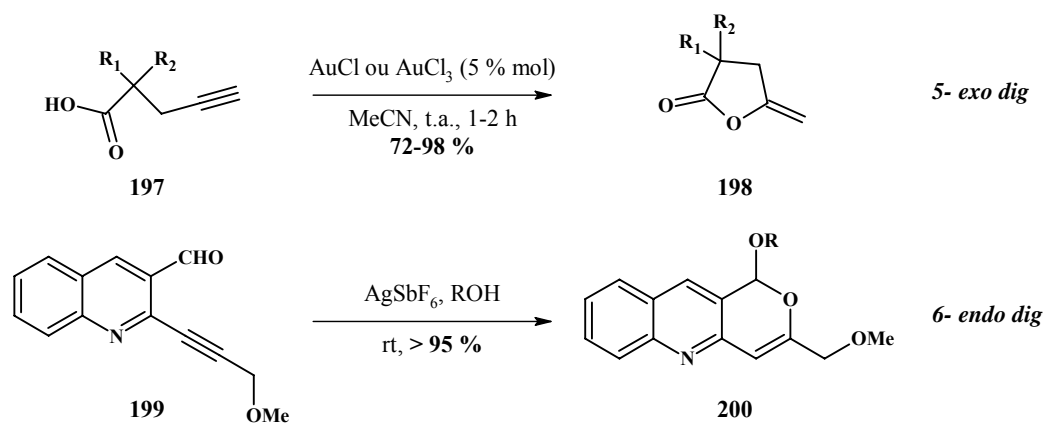


Schéma 61. Exemples de cycloisomérisation catalysée à l'or ou à l'argent.

Comme l'on montré Porco *et al.*²²⁵ dans leurs travaux de cycloisomérisation d'un benzaldéhyde acétylénique **201**, la cyclisation peut aussi bien être catalysée par le cuivre, l'or ou l'argent, avec des rendements variables (tableau 19).

Catalyseur (% mol)	Tps (min)	Conversion (%)
AuCl ₃ (5%)	20	< 1
Au(OAc) ₃ (5%)	1	100
Cu(OTf) ₂ (5%)	20	41
Cu(OTf) ₂ .tol (2.5%)	20	74
AgNO ₃ (5%)	20	94

Tableau 19. Influence du catalyseur sur la cycloisomérisation.

b) Optimisation des conditions de la cycloisomérisation

Un acide de Brønsted (ici le TFA) n'est pas suffisant pour activer la triple liaison et induire la cyclisation de **196**. L'ajout d'un acide de Lewis pourrait catalyser la formation de la lactone **194**. Nous avons donc étudié la réactivité de différents métaux pour cette étape de

cycloisomérisation (tableau 20). Nous nous sommes tout d'abord intéressés aux dérivés du cuivre qui présentent l'avantage d'être moins onéreux que l'argent ou l'or. En règle générale, plus le degré d'oxydation du cuivre est élevé, plus son caractère acide de Lewis est important.²²⁶

La cyclisation du nicotinate **196** en lactone **194**, a donc été réalisée sous irradiation micro-ondes avec plusieurs catalyseurs au cuivre à différents degrés d'oxydation (entrées 1 à 11 & 15). Le premier résultat important est que, quelque soit le catalyseur, nous n'avons jamais observé de cyclisation type 5-exo *dig*.

Ensuite, nous observons avec surprise que le Cu⁰ sous forme de poudre ou de copeaux est capable de catalyser la réaction avec des rendements honorables de 43 et 47 %. De plus, comme attendu, les complexes de Cu^{II} sont plus réactifs que les complexes de Cu⁰ ou Cu^I. La réactivité semble donc être gérée par les propriétés d'acide de Lewis du cuivre (Cu^{II}>Cu^I>Cu⁰).

Le catalyseur Cu(OTf)₂, qui possède le contre-ion le plus électroattracteur, est le meilleur catalyseur pour générer la lactone **194** avec un rendement de 92 %. Ainsi, plus le ligand sur le cuivre est électroattracteur, plus le complexe sera un bon acide de Lewis, ce qui explique que :

- Pour les catalyseurs au Cu^{II} : Cu(OTf)₂>Cu(OAc)₂>>CuCl₂.
- Pour les catalyseurs au Cu^I : CuCN>CuTc>CuCl ou CuBr.

Nous avons ensuite optimisé les conditions réactionnelles de la cyclisation :

- Une augmentation de la quantité de catalyseur n'améliore pas le rendement (entrée 12).
- Une irradiation aux micro-ondes de 20 minutes est nécessaire pour compléter la réaction, et une augmentation de ce temps de réaction n'améliore pas la conversion (entrées 11, 13 & 14).
- La cyclisation peut être effectuée à température ambiante mais le rendement n'est que de 29 % au bout de 15 heures.
- Quand la réaction est effectuée en chauffage classique (bain d'huile), le rendement n'est que de 45 %, ce qui confirme l'effet bénéfique des micro-ondes (entrée 15).
- Le rendement de cyclisation est identique avec un ester méthylique ou un ester éthylique.

Enfin, d'autres catalyseurs possédant un caractère d'acide de Lewis peuvent être utilisés. Cependant, $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Ag}$, tout comme AuCl_3 , ont donné des rendements légèrement inférieurs à $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ (entrées 19 & 21).

Entrée	Catalyseur	% mol.	Conditions	Rdt (%)
1	Cu° (poudre)	5	MO (100°C, 20 min)	43
2	Cu° copeaux	70	MO (100°C, 20 min)	47
3	Cu_2O	5	MO (100°C, 20 min)	74
4	$\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cl}$	5	MO (100°C, 20 min)	61
5	$\text{Cu}^{\text{I}}\text{Br}$	5	MO (100°C, 20 min)	65
6	Cu^{I}	5	MO (100°C, 20 min)	74
7	$\text{Cu}^{\text{I}}\text{CN}$	5	MO (100°C, 20 min)	86
8	$\text{Cu}^{\text{I}}\text{Tc}$	5	MO (100°C, 20 min)	74
9	$\text{Cu}^{\text{I}}\text{OAc}$	5	MO (100°C, 20 min)	68
10	$\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cl}_2$	5	MO (100°C, 20 min)	61
11	$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{OAc})_2$	5	MO (100°C, 20 min)	86
12	$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{OAc})_2$	10	MO (100°C, 20 min)	83
13	$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{OAc})_2$	5	MO (100°C, 5 min)	56
14	$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{OAc})_2$	5	MO (100°C, 30 min)	83
15	$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{OTf})_2$	5	MO (100°C, 20 min)	92
16	$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{OTf})_2$	5	CH (100°C, 20 min)	45
17	$\text{Cu}^{\text{II}}(\text{OTf})_2$	5	t.a., 24 h	29
18	$\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Ag}^{\text{I}}$	5	t.a., 15 h	32
19	$\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Ag}^{\text{I}}$	5	MO (100°C, 20 min)	75
20	$\text{Au}^{\text{III}}\text{Cl}_3$	5	t.a., 15 h	38
21	$\text{Au}^{\text{III}}\text{Cl}_3$	5	MO (100°C, 20 min)	83

Tableau 20. Optimisation des conditions réactionnelles de la réaction de cyclisation (MO : micro-onde ; CH : conventionnal heating).

c) Utilisation d'un cosolvant

L'utilisation d'un co-solvant et la diminution de la quantité d'acide trifluoroacétique induisent une diminution significative du rendement (tableau 21). Cependant, 3 équivalents de TFA dans le toluène sont suffisants pour engendrer un rendement satisfaisant de 63 % (entrée 6). Le rendement n'est pas amélioré avec 6 équivalents de TFA (entrée 7). Par contre, le DMF n'est pas un solvant adéquat pour la cycloisomérisation du nicotinate (entrée 4).

Entrée	Solvant	Additif	Equiv.	Rdt (%)
1	TFA	-	-	92
2	THF	TFA	1	nd
3	THF	TFA	3	36
4	DMF	TFA	3	nd
5	Dichloroéthane	TFA	3	38
6	Toluène	TFA	3	63
7	Toluène	TFA	6	61

Tableau 21. Cycloisomérisation en présence d'un co-solvant
(nd : non-déecté).

Ce résultat permet de soulever une interrogation sur le mécanisme de la cycloisomérisation et de l'importance du TFA dans ce processus de cyclisation (schéma 61). Effectivement, la pyridine et les hétérocycles apparentés sont connus pour complexer les acides de Lewis tels que le cuivre. Or, la complexation du cuivre empêcherait ce dernier d'activer la triple liaison.

Nous avons observé par RMN du proton d'un brut réactionnel dans le TFA que la pyridine est sous forme protonée. Ainsi, cette protonation supprime la possibilité de coordination de la pyridine sur le cuivre et, en plus, augmente le caractère électrophile de la triple liaison. Le cycle pyridinium agit comme un groupe électroattracteur, induisant une polarisation de l'alcyne favorable à une cyclisation de type Michaël (6-endo). L'attaque nucléophile de l'atome d'oxygène du carbonyle sur la triple liaison électro-déficente génère le complexe cuprate **194B**, qui, après protonolyse par l'acide de Brønsted (l'acide trifluoroacétique), donne la lactone **194** et la régénération du catalyseur au cuivre initial.

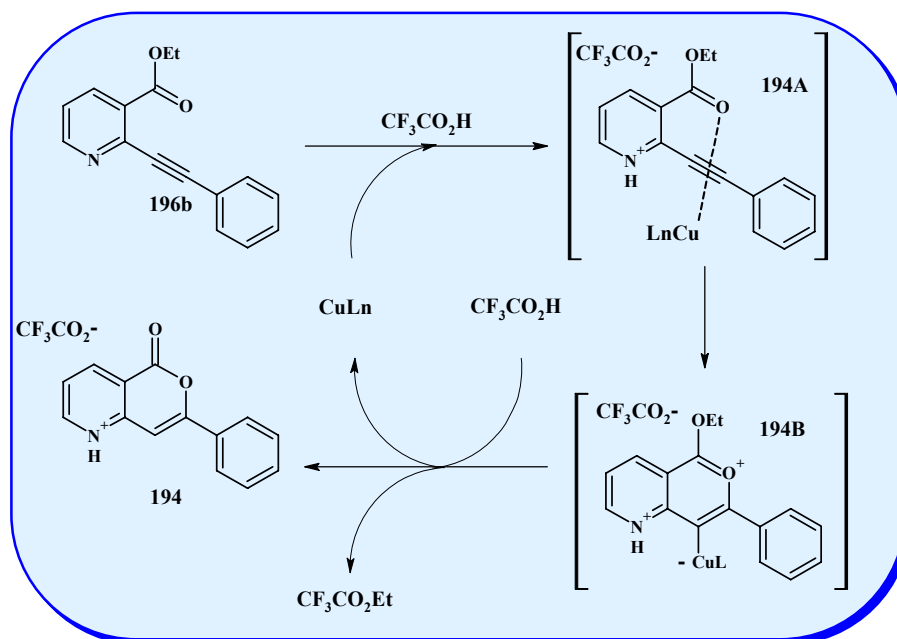


Schéma 62 . Proposition de mécanisme de la cyclisation catalysée au Cu.

Finalement, les conditions optimisées de cycloisomérisation sont une irradiation aux micro-ondes 20 minutes à 100°C dans l'acide trifluoroacétique en présence de Cu(OTf)₂ (5%).

8.3. Extension de la réaction de cycloisomérisation à d'autres hétérocycles azotés

Après avoir mis au point une méthode de cycloisomérisation en série pyridine en condition acide catalysée au cuivre, l'objectif est de l'étendre et donc de vérifier sa faisabilité sur d'autres systèmes hétérocycliques. Dans un premier temps, nous évoquerons la synthèse des différents alcynyl-hétérocycliques.

8.3.1. Synthèses des « esters alcynyl-hétérocycliques »

a) Autres dérivés pyridines

Nous nous sommes tout d'abord intéressé à la substitution du nicotinate, en l'occurrence à l'aryle porté par l'alcyne. Sur les mêmes principes de fonctionnalisation évoqués pour la synthèse des 4-aryl-2,3-benzodiazépinones, différents aryles ont été introduits à partir du 2-(triméthylsilyléthynyle)nicotinate d'éthyle **203** avec de bons rendements (schéma 63). Durant cette étape, qui a lieu en présence de K₂CO₃ / MeOH pour la désilylation, une

transestérification s'est produite. Elle n'influencera pas la cyclisation puisque nous avons vu que la nature de l'ester ne joue pas de rôle dans la cycloisomérisation.

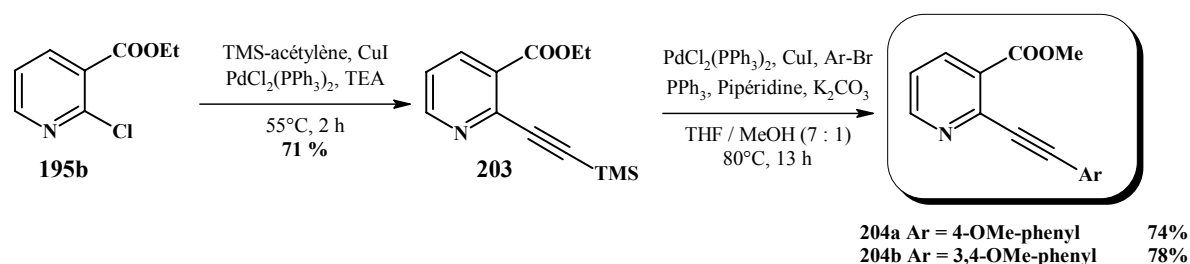


Schéma 63. Introduction de groupes aryles sur l'alcyne.

b) Dérivé pyrimidine

Dans la continuité des pyridines, un dérivé pyrimidine a été synthétisé. Le 4-chloro-2-(méthylthio)pyrimidine-5-carboxylate d'éthyle, composé commercial, a été engagé dans une transhalogénéation du chlore en iode dans HI aqueux pour donner la pyrimidine iodée **205** (schéma 64).²²⁷ Cette étape s'est révélée nécessaire car le couplage de Sila-Sonogashira effectué à partir du dérivé chloré a donné un mélange complexe. En effet, l'essai de couplage sur le chlore a été réalisé à 60°C, et, à cette température, les dérivés SMe peuvent réagir avec le cuivre comme l'ont montré de nombreux travaux de Liebeskind.^{228,229} De plus, le soufre peut « polluer » le catalyseur au palladium. Ainsi, le passage à l'iode permet de réaliser le couplage pallado-catalysé à température ambiante, entraînant une sélectivité par rapport au SMe.²³⁰

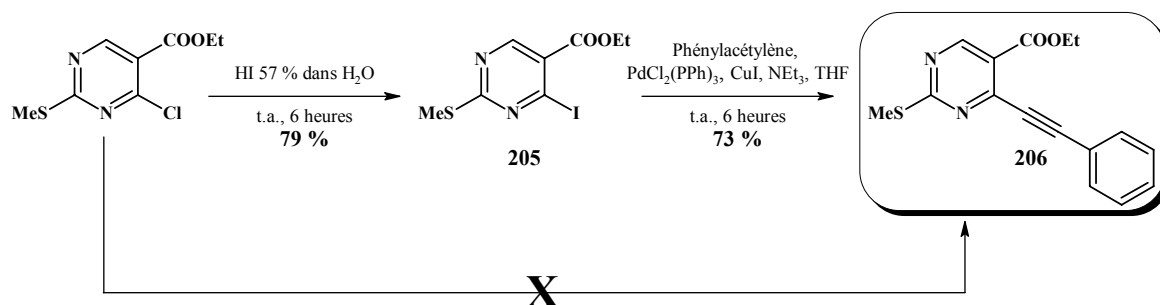


Schéma 64. Synthèse du phényléthynyl-pyrimidine carboxylate **206**.

c) Dérivés d'indoles

Notre intérêt s'est aussi porté sur des systèmes bicycliques tels que les indoles. En terme de réactivité, les indoles sont intéressants puisque le doublet de l'azote endocyclique est libre. De plus, l'indole comporte un cycle à 5 chaînons. La synthèse de 2 types d'indoles a été envisagée.

- Accès au 3-alcynyl-indole-2-carboxylate d'éthyle :

L'indole avec l'acide en position 2 est le plus simple et le plus rapide à synthétiser (schéma 65). En effet, à partir de l'acide indole-2-carboxylique commercial, une étape d'estérification par catalyse acide suivie d'une étape de iodation par le N-iodosuccinimide donne accès au 3-iodo-1*H*-indole-2-carboxylate d'éthyle **208**.²⁰⁷ Ce dérivé peut alors soit être engagé dans un couplage de Sonogashira pour donner l'alcyne **209**, soit être préalablement N-méthylé puis couplé au phénylacétylène pour donner l'alcyne indolique N-méthylé **211**.

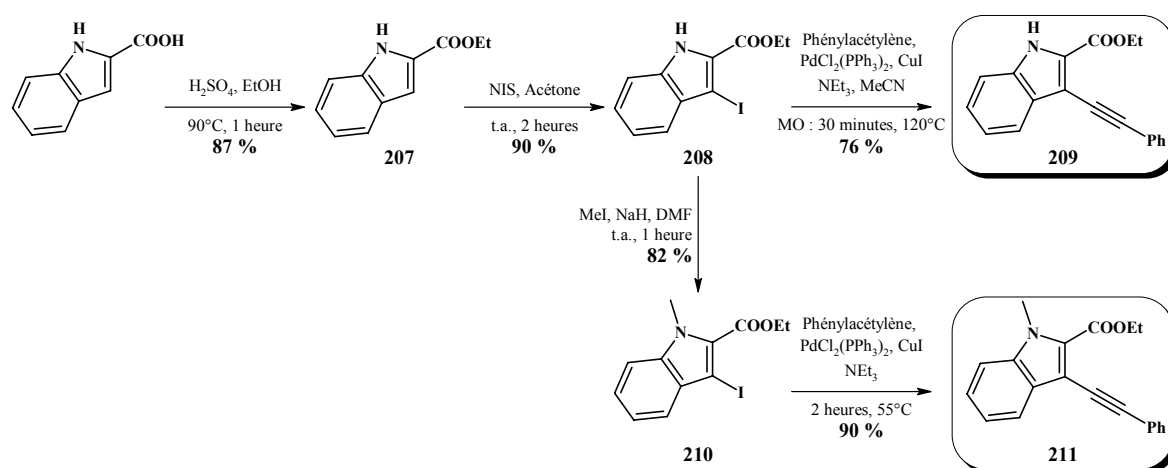


Schéma 65. Synthèse des 3-(phényléthynyl)-indole-2-carboxylates d'éthyle.

- Accès au 2-alcynyl-indole-3-carboxylate de méthyle :

La synthèse de l'indole-3-carboxylate de méthyle **215** a été effectuée à partir l'oxindole. Par une réaction de Vilsmeier, l'oxindole donne le 2-chloroindole-3-carboxaldéhyde **212** (Schéma 66).^{231,232} L'alkylation de l'azote indolique, obtenu quantitativement, est nécessaire pour l'étape suivante d'oxydation. L'oxydation de l'aldéhyde **213** en acide **214**, effectuée par KMnO_4 , donne un mélange complexe de produits. Cette étape

a donc été réalisée selon la méthode de Kraus.^{226,233} Effectivement, le traitement de l'aldéhyde **212** par l'hypochlorite de sodium et le monohydrate du phosphate de sodium génère l'acide 1-benzyl-2-chloro-indole-3-carboxylique **214** avec un excellent rendement de 99 %. L'estérification à l'aide d'EDC et de DMAP donne accès à l'ester **215**.

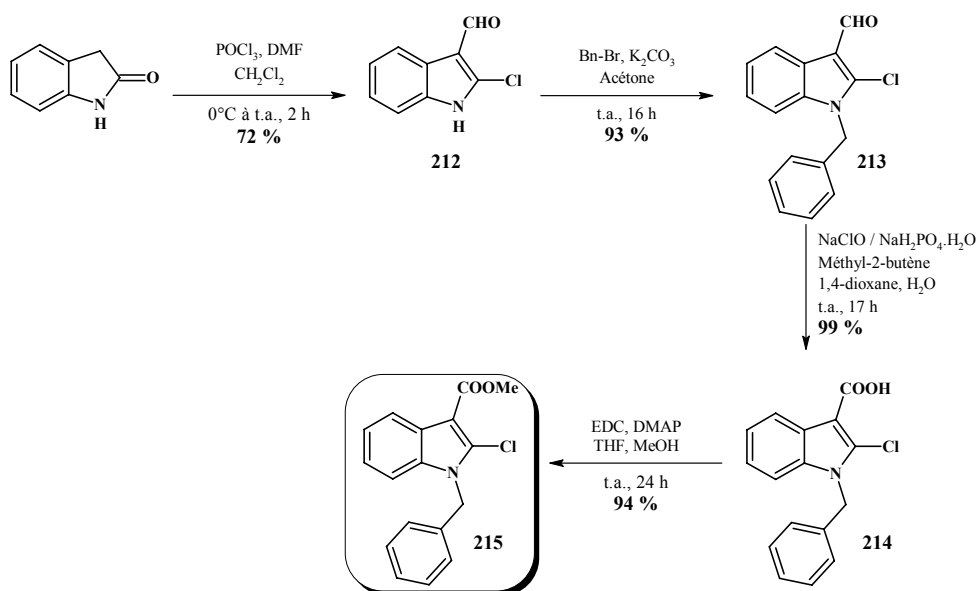


Schéma 66. Synthèse du 2-chloroindole-3-carboxylate de méthyle.

La dernière étape, le couplage de Sila-Sonogashira, nous a posé beaucoup de problème. En effet, dans les conditions classiques que nous avons utilisées auparavant (schéma 67), le dérivé **215** ne réagit pas. Le seul produit formé est issu de l'homocouplage du phénylacétylène sur lui-même. Nous avons supposé que le problème venait de la difficulté du palladium à s'insérer sur l'indole. Il est vrai que le chlore n'est pas un nucléofuge très réactif, surtout dans un couplage de Sila-Sonogashira. De plus, l'encombrement stérique induit par l'ester méthylique et le benzyle ne facilite pas cette insertion du palladium. L'ajout d'un ligand plus riche en électrons tel que la tricyclohexylphosphine n'a pas permis de synthétiser l'alcyne **216**.

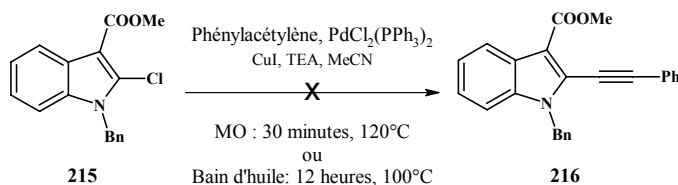


Schéma 67. Essais de couplage de Sonogashira.

Si le problème vient du chlore, nous avons supposé que sa substitution par un iode résoudrait le problème de réactivité (schéma 68). Cependant, probablement pour des raisons d'encombrement stérique, les essais de iodation n'ont pas abouti.

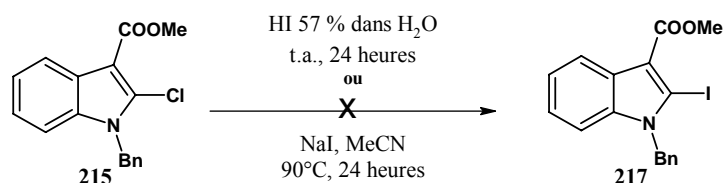


Schéma 68. Essais de transhalogénéation.

La réaction de Sila-Sonogashira ne fonctionnant pas sur ce système, nous avons pensé utiliser les travaux de Colobert *et al.*^{234,235} sur le couplage de Suzuki-Miyaura à partir d'esters alcynylboroniques (schéma 69). L'ester boronique est préparé *in situ*, puis est engagé dans le couplage à 80°C pendant la nuit. Cependant, aucune réaction ne s'est produite avec l'indole 215.

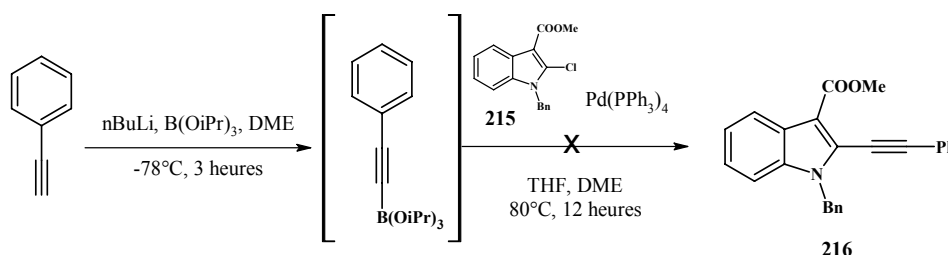


Schéma 69. Essai à partir de l'ester boronique.

Nous nous sommes finalement inspirés des travaux de D. Gelman et S.L. Buchwald.²³⁶ qui démontrent l'impact négatif que peut avoir le cuivre dans les couplages de Sila-Sonogashira sur des dérivés peu réactifs tels que les chlores ou les tosyloxy (figure 41). Ils montrent qu'en absence de cuivre, il est possible de réaliser le couplage sur des systèmes aussi peu réactifs que le 4-chloroanisole. En revanche, si du cuivre est ajouté au cours de la réaction, la conversion est totalement inhibée au profit de la formation du produit issu de l'homocouplage.

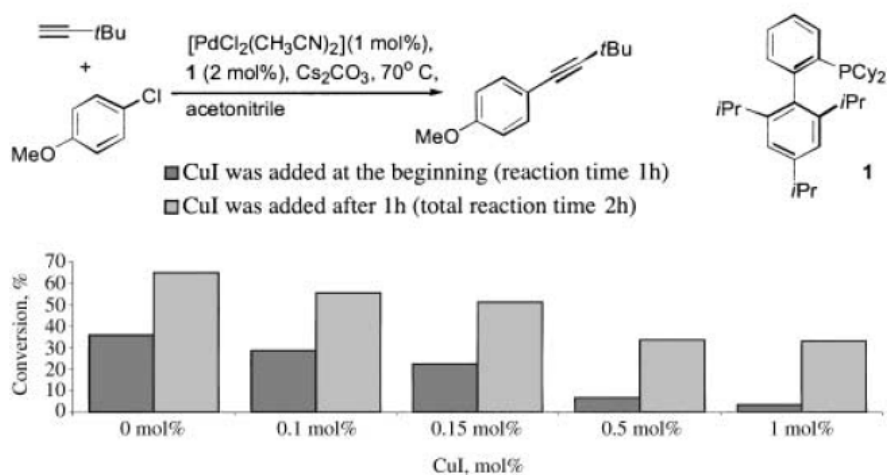


Figure 41. Influence du cuivre sur la réaction de Sonogashira.²³⁴

L'alkyne **216** a été synthétisé après une optimisation concernant le choix du ligand (tableau 22). C'est finalement avec le BINAP que le rendement a été le meilleur.

Ligand	Rdt (%)
	29
	traces
	58
	nd
	52

Tableau 22. Choix du ligand.

D'autres travaux d'optimisation de cette étape seraient à effectuer. Ainsi, nous n'avons utilisé que des phosphines comme ligands. L'utilisation de carbènes d'hétérocycles (NHC), connus pour être plus riches en électrons, pourrait favoriser la réaction de Sonogashira, comme décrit par C. Yang et S. Nolan.²³⁷

d) Dérivés imidazopyridines

L'imidazo[1,2-*a*]pyridine est un hétérocycle intéressant et bien étudié dans notre équipe. Le cycle imidazole, enrichi en électrons peut avoir une influence sur la polarisation de la triple liaison et donc sur la régiosélectivité de la cyclisation (5-*exo* / 6-*endo*).

L'imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **218** provient de la condensation de la 2-aminopyridine avec le bromopyruvate d'éthyle (schéma 70).²³⁸ Deux voies pour l'halogénéation ont été utilisées. La première est une iodation à partir de I₂ dans la pyridine à 50°C pendant 4 heures.²³⁹ Elle donne le 3-iodoimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **219a** avec un rendement de 41 %. La seconde méthode d'halogénéation utilise Br₂ dans l'acétonitrile à température ambiante pour conduire au 3-bromoimidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **219b** avec un rendement de 84 %.²⁴⁰ Le 3-(phényléthynyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **220** est alors obtenu par un couplage de Sonogashira avec un rendement de 84 % à partir du dérivé iodé **219a** et avec un rendement de 90 % au départ du dérivé bromé **219b**.

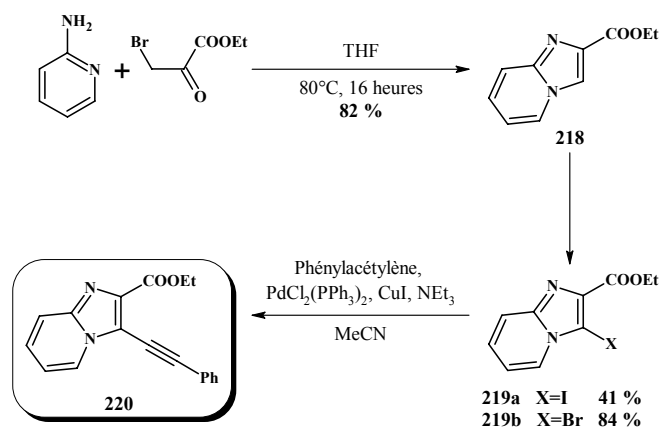


Schéma 70. Préparation du dérivé imidazopyridine.

e) Dérivé tétrahydropyridine

La pipéridine est un hétérocycle intéressant pour cette étude, car elle n'est pas aromatique. De plus, nous avons choisi de travailler sur la 1-benzyl-3-oxopipéridine-4-carboxylate d'éthyle car l'azote est en β par rapport à la cétone sur laquelle sera greffée l'alcyne (schéma 71). Ainsi, l'azote n'aura que très peu d'influence sur la polarisation de la triple liaison. Cette

cétone est donc activée sous forme de triflate **221**,²⁴¹ puis un couplage de Sonogashira donne le dérivé **222** avec un rendement de 80%.²⁴²

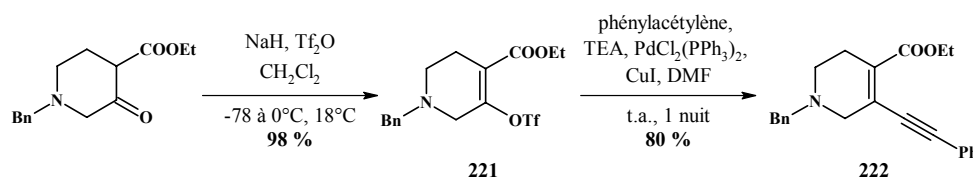


Schéma 71. Préparation du dérivé tétrahydropyridinyle.

8.3.2. Cycloisomérisation des différents hétérocycles azotés

L'étude de la cyclisation des différents hétérocycles synthétisés dans la partie précédente a été menée en utilisant les conditions optimisées sur le nicotinate **196b** : les réactions ont été effectuées à partir d'ester (0.2 mmol) dans le TFA (1 mL) en présence de $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ (5 % mol.) au micro-onde (20 minutes à 120°C).

La première constatation de cette étude est que, quelque soit l'hétérocycle ou sa substitution, nous n'avons jamais observé de cyclisation 5-*exo dig* (tableau 23). Toutes les structures des lactones synthétisées ont été confirmées par RMN 2D (NOESY, COSY, HSQC, HMBC,...). Les spectres et leur analyse sont disponibles en annexe.

La présence de groupements donneurs d'électrons sur le benzène du nicotinate (composés **204a** et **204b**) n'altère pas la cyclisation. Bien au contraire, les rendements sont meilleurs (entrées 1 & 2). La pyrimidine **206**, l'indole **216** et la pipéridine **222** présentent la même réactivité que la pyridine et donnent les lactones **226**, **227** et **231** avec de bons rendements (entrées 3, 4 & 10).

En revanche, aucune cyclisation n'a été obtenue avec l'ester **220** de l'imidazopyridine. C'est à partir de l'acide correspondant **224** (obtenu par saponification de l'ester **220**) que l'imidazopyridine a conduit à la lactone **230** (entrée 9). Enfin, la formation de la lactone n'a pas été observée à partir du dérivé indolique **209**. Un produit s'est bien formé, mais ni la RMN du proton ni la masse exacte n'ont permis à ce jour d'identifier sa structure. Une étude complémentaire est actuellement en cours (RMN 2D). L'alkylation de l'azote indolique (composé **211**) ou la saponification de l'ester éthylique (composé **223**) n'ont pas engendré non plus de formation de la lactone **229**.

Het : Pyridine, pyrimidine, indole, tetrahydropyridine, imidazopyridine
Ar : Phényle, 4-méthoxyphényle, 3,4-diméthoxyphényle)

Entrée	Alcyne	R ₁	R ₂	R ₃	Lactone	Rdt (%)		
1		204a	Et	4-MeOPh	-		225a	98
2		204b	Et	3,4-MeOPh	-		225b	94
3		206	Et	Ph	-		226	91
4		216	Me	Ph	-		227	83
5		209	Et	Ph	H		228	nd
6		211	Et	Ph	Me		229	nd
7		223	H	Ph	Me		229	nd
8		220	Et	Ph	-		230	nd
9		224	H	Ph	-		230	90
10		222	Et	Ph	-		231	89

Tableau 23. Résultats de la cyclisomérisation.

Finalement, la cyclisomérisation en condition acide et catalysée par un acide de Lewis a été généralisée à différents hétérocycles azotés. Même sur des systèmes moins réactifs tel que l'imidazopyridine, il a été possible d'obtenir la lactone correspondante à partir de l'acide.

Nous avons vu dans le chapitre V que la cyclisation de dérivés 2, 3 ou 4 pyridinyles **143f-h** n'a pas été possible en condition acide. Les conditions utilisées ci-dessus ont été appliquées afin d'obtenir les lactones correspondantes (tableau 24).

Le 2-(pyridin-2-yléthynyl)benzoate d'éthyle **143f** a été transformé de manière quantitative en lactone. Cependant, cette cyclisomérisation n'a pas été régiosélective et nous avons obtenu majoritairement le dérivé **233a** issu de la cyclisation 5-exo *dig* par rapport au dérivé **232a**. Il en a été de même avec le 2-(pyridin-4-yléthynyl)benzoate d'éthyle **143h**. En revanche, le 2-(pyridin-3-ylethynyl)benzoate d'éthyle **143g** a généré majoritairement le composé **233c** issu de la cyclisation 6-endo *dig*.

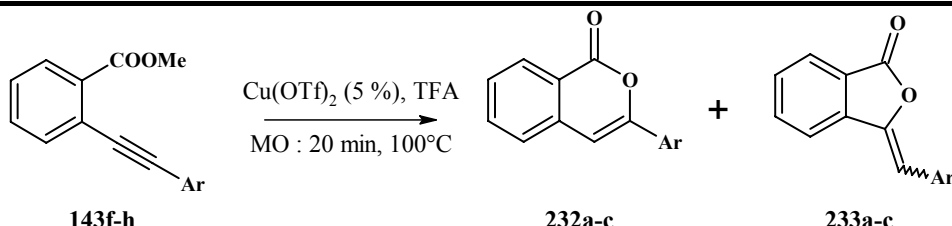
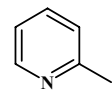
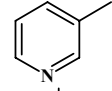
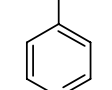
				
alcynes	Ar	Rdt global (%)	232a-c (6-endo <i>dig</i>)	233a-c (5-exo <i>dig</i>)
143f		96	23	77
143g		57	70	30
143h		71	35	65

Tableau 24. Influence du groupement pyridinyle.

La présence d'un hétérocycle à l'opposé du benzoate sur la triple liaison a donc modifié la polarisation de l'alkyne. Ainsi, dans nos conditions de cycloisomérisation, les groupements 2- et 4-pyridinyles orientent préférentiellement la réaction vers une cyclisation 5-exo *dig*, tandis que le cycle 3-pyridinyle oriente vers une cyclisation 6-endo *dig*.

8.3.3. Synthèses des « 4-aryl- 2,3-hétéroaryldiazépinones »

A partir des « aza-isocoumarines » synthétisées, il a été possible de synthétiser les premières « 2,3-hétéroaryldiazépine-1-ones » (schéma 72 & 73). Ainsi, la pyridine **194** a généré en 1 heure à 120°C la 8-phényl-6,9-dihydro-5*H*-pyrido[3,2-*d*][1,2]diazépin-5-one **234**. De même, la pyrimidine **226** a généré la 2-(methylthio)-8-phényl-6,9-dihydro-5*H*-pyrimido[5,4-*d*][1,2]diazépin-5-one **235**.

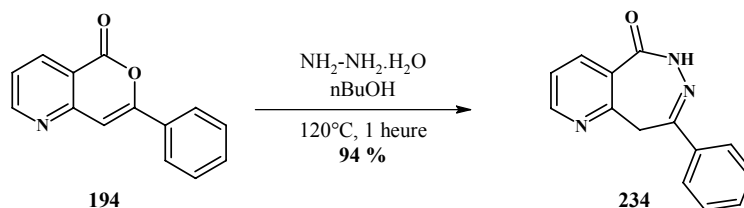


Schéma 72. Synthèse de la pyridobenzodiazépinone.

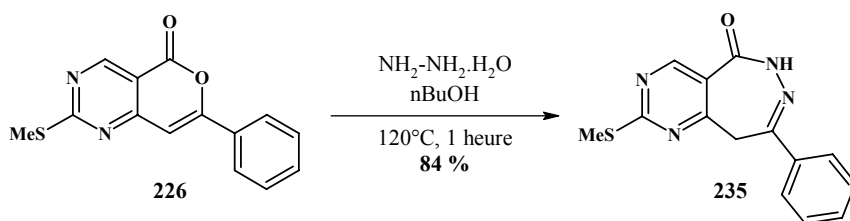


Schéma 73. Synthèse de la pyrimidobenzodiazépinone.

Nous avons à ce jour synthétisé deux représentants des aza-2,3-benzodiazépinones. Suivant les mêmes conditions, nous devrions être capables de synthétiser d'autres hétérocycles indolyle, pipéridinyle ou imidazopyridinyles.

9. Conclusion

Notre objectif de départ était de développer des méthodes de fonctionnalisation du cycle 2,3-benzodiazépine en 4 points, afin de synthétiser des dérivés benzodiazépinones, plus particulièrement quelques analogues structuraux de l'azélastine.

Pour remplir cet objectif, nous avons dans un premier temps synthétisé pour la première fois la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94** à partir d'hydrazines disubstituées (figure 42). Ce composé représentait le dérivé privilégié afin de fonctionnaliser le noyau benzodiazépine. Cependant, tous les essais d'activation des amides, visant à une fonctionnalisation ou une substitution, ont été un échec. Les problèmes rencontrés pour l'activation viennent en partie de la très grande insolubilité de ces diamides (**94** et **117a**) dans les solvants organiques usuels. Deux synthèses « semi-convergentes » ont alors été développées pour obtenir les 1- et 4-aryl-2,3-benzodiazépinones.

Ces synthèses présentent l'avantage d'être rapides, d'avoir de bons rendements et de pouvoir être réalisées à l'échelle du gramme.

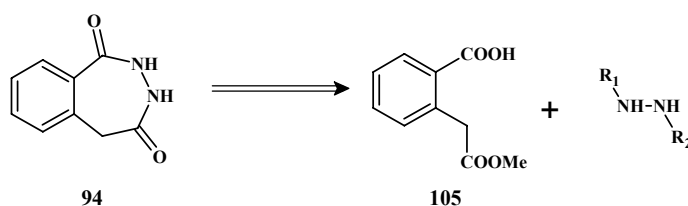


Figure 42. Synthèse de la 2,3-benzodiazépine-1,4-dione **94**.

Nous avons développé une méthode rapide et efficace d'amination à partir de TiCl_4 . Plusieurs conclusions ont été dégagées de cette étude :

- Les micro-ondes diminuent significativement les temps de réaction sur les 4 systèmes.
- Un phénomène de dégradation est observé à une température supérieure à 120°C .
- Réactivité : Amines primaires > Amines secondaires.
- Une molécule de TiCl_4 est le site de 2 aminations.
- acétanilide > acétamide > benzamide.

Les travaux sur l'étape d'amination par TiCl_4 nous ont permis de mettre au point une méthode simple, efficace et généralisable. Finalement, nous avons maintenant entre nos mains tout le savoir-faire pour réaliser une étude RSA autour du noyau 2,3-benzodiazépine sur ce projet, ainsi que d'autres thématiques pharmacologiques (figure 43).

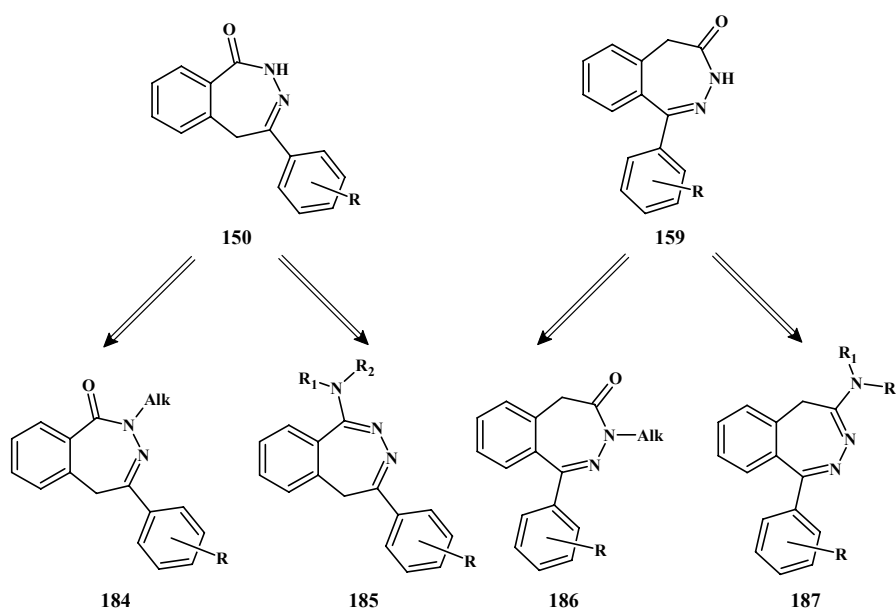


Figure 43. Possibilités de diversification fonctionnelle autour du cycle 2,3-benzodiazépine.

A partir de ces composés, nous avons synthétisé plusieurs analogues structuraux de l'azélastine par N-alkylation ou par amination.

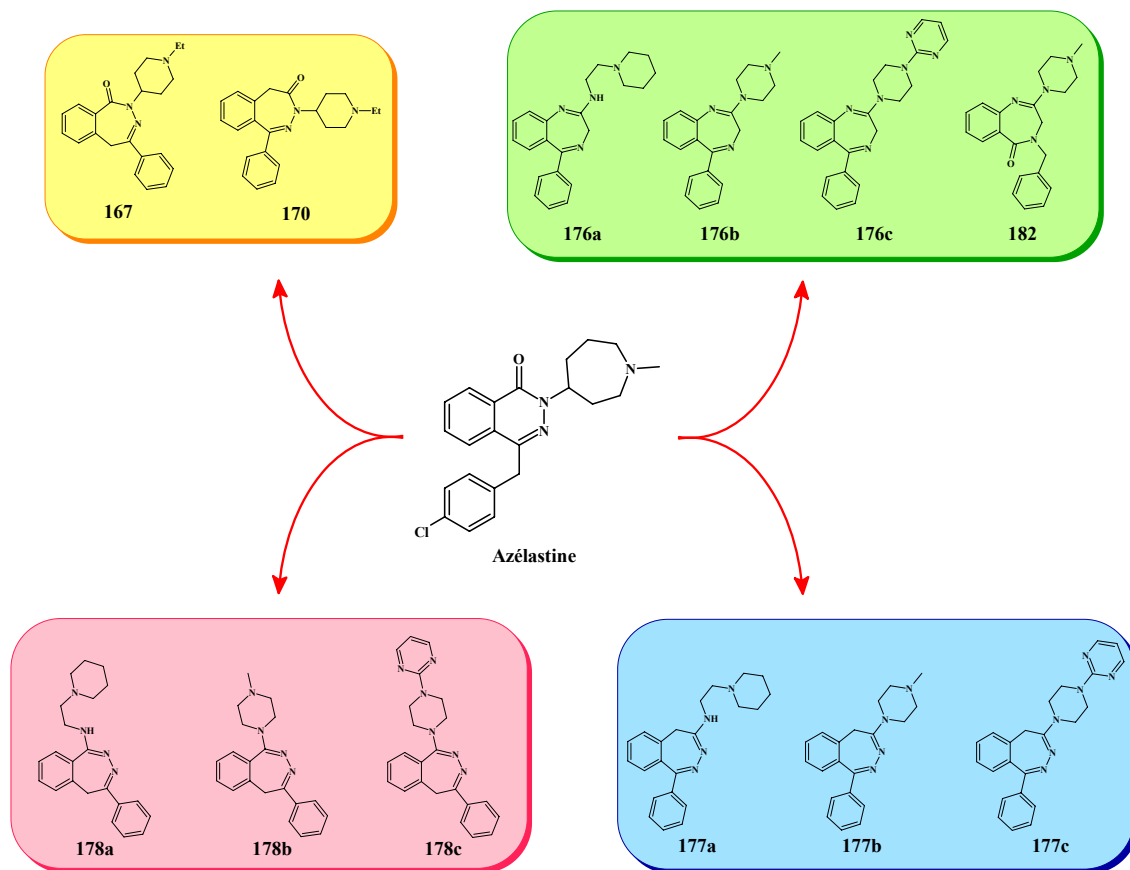


Figure 44. Récapitulatif des analogues structuraux benzodiazépiniques de l'azélastine et d'autres benzodiazépines d'intérêt pharmacologique

Enfin, nous avons synthétisé les premières « 2,3-hétéroaryldiazépinones » en développant une nouvelle méthode de cycloisomérisation en condition acide et catalysée au cuivre.

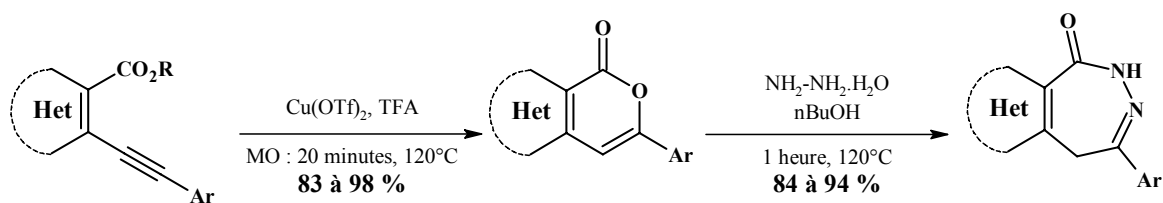


Schéma 74. Synthèse des aza-2,3-benzodiazépinones.

Ce travail pourrait être poursuivi en fonctionnalisant la partie « hétéroaryl » de ces nouveaux hétérocycles afin de chercher de nouvelles interactions avec d'éventuelles cibles biologiques. Enfin, il serait intéressant de poursuivre l'étude débutée sur la régiosélectivité de la cycloisomérisation en présence de 2- 3- ou 4-pyridinyle. Ainsi, la modification des conditions

réactionnelles (conditions basiques, neutres ; changement de catalyseur) pourraient nous permettre d'obtenir sélectivement l'une ou l'autre des cyclisations. L'étude pourrait alors être poussée à l'introduction d'autres hétérocycles azotés (pyrimidine, pyridazine, pyrazine, imidazole,...).

Dans la perspective de l'étude des relations structure-activité autour de l'azélastine, les « 2,3-hétéroaryldiazépines » représentent un intérêt important en terme d'innovation et peut ouvrir d'autres perspectives intéressantes dans des domaines variés de la pharmacologie.

Chapitre IV.
Evaluation de l'activité
anti-cytokine de l'azélastine
et de ses analogues structuraux

Chapitre IV. Evaluation de l'activité anti-cytokine de l'azélastine et de ses analogues structuraux

1. Objectifs

Les propriétés anti-inflammatoires des dérivés de l'azélastine et de ses analogues structuraux ont été évaluées par différents tests *in vitro*.

Les trois premières questions posées dans le cadre de la recherche d'anti-TNF- α à partir de la structure de l'azélastine sont (figure 45) :

- Une modification du châssis moléculaire est-elle permise ?
- Quel est le groupement lipophile optimal ?
- Où doit être positionnée la tête polaire ?

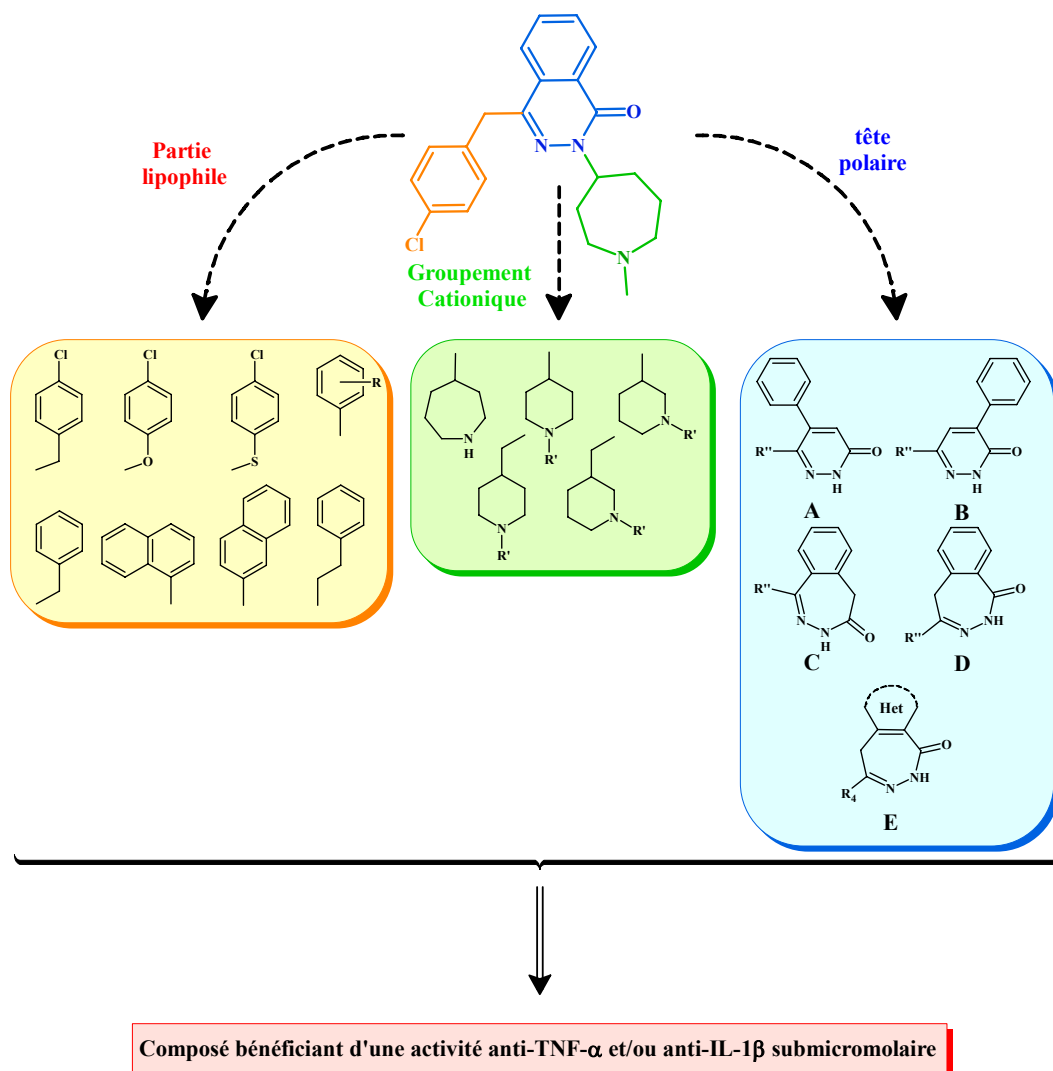


Figure 45. Récapitulatif des composés synthétisés.

2. Résultats du test

L'étude de l'inhibition de la libération de TNF- α et d'IL-1 β a été réalisée en double sur des monocytes humains pour des concentrations en composés égales à 10 μ M et 1 μ M. Les résultats représentés dans les figures 45 et 46 indiquent les pourcentages d'inhibition pour une concentration donnée.

A ce jour, tous les composés synthétisés n'ont pu être testés. Ainsi, l'évaluation des propriétés anti-cytokines a été réalisée sur 27 dérivés représentant un panel suffisamment intéressant afin de répondre, en partie, aux interrogations soulevées précédemment.

La première information que nous montrent les figures 46 et 47 est que les composés les plus actifs sur le TNF- α et sur l'IL-1 β sont des analogues structuraux de type pyridazinone de l'azélastine.

L'azélastine a été mesurée à 46 % d'inhibition de la libération de TNF- α à 10 μ M sur des monocytes. Ce résultat coïncide avec les données de la littérature (80 % à 6 μ M sur des mastocytes). L'azélastine, comme tous les composés phthalazinones et benzodiazépinones de cette étude, n'a pas d'effet sur la libération d'IL-1 β . Ainsi, dans l'analyse pharmacochimique, nous évoquerons seulement l'activité anti-TNF- α .

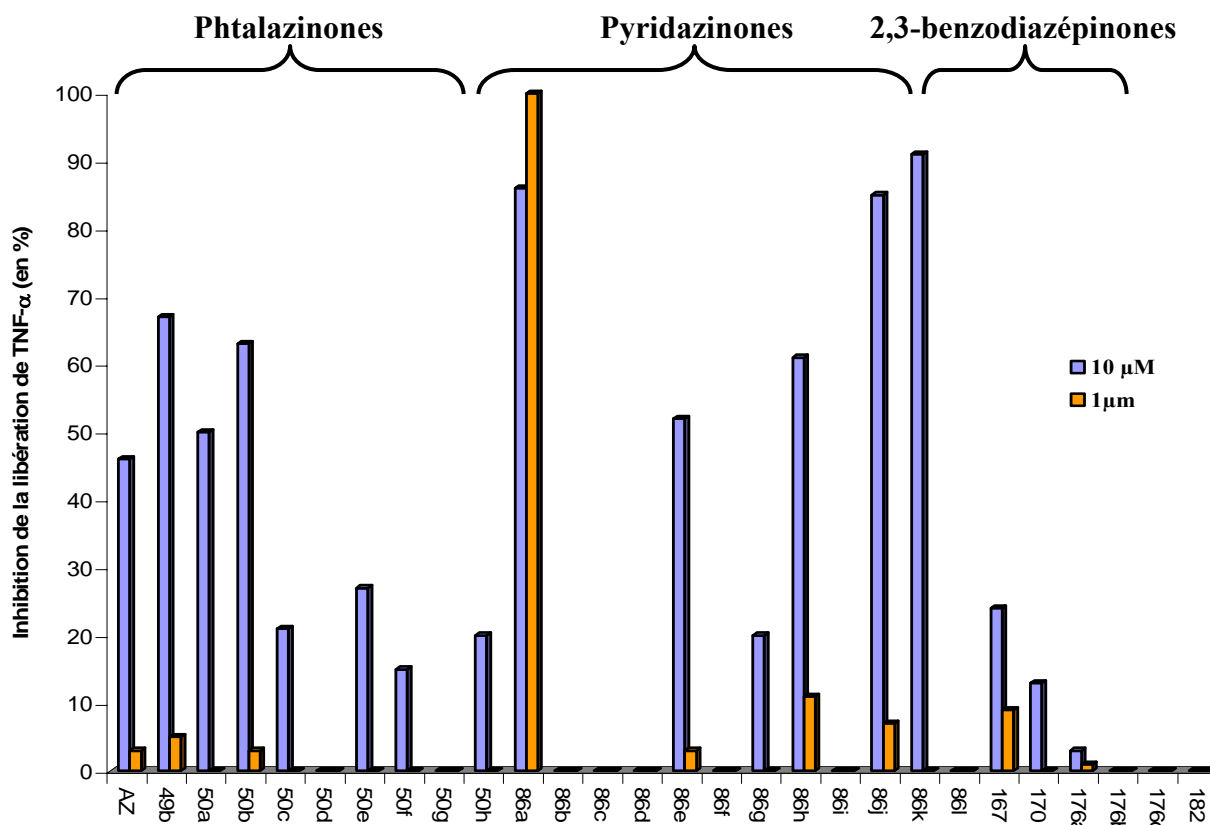


Figure 46. Résultats de l'inhibition de la libération de TNF- α .

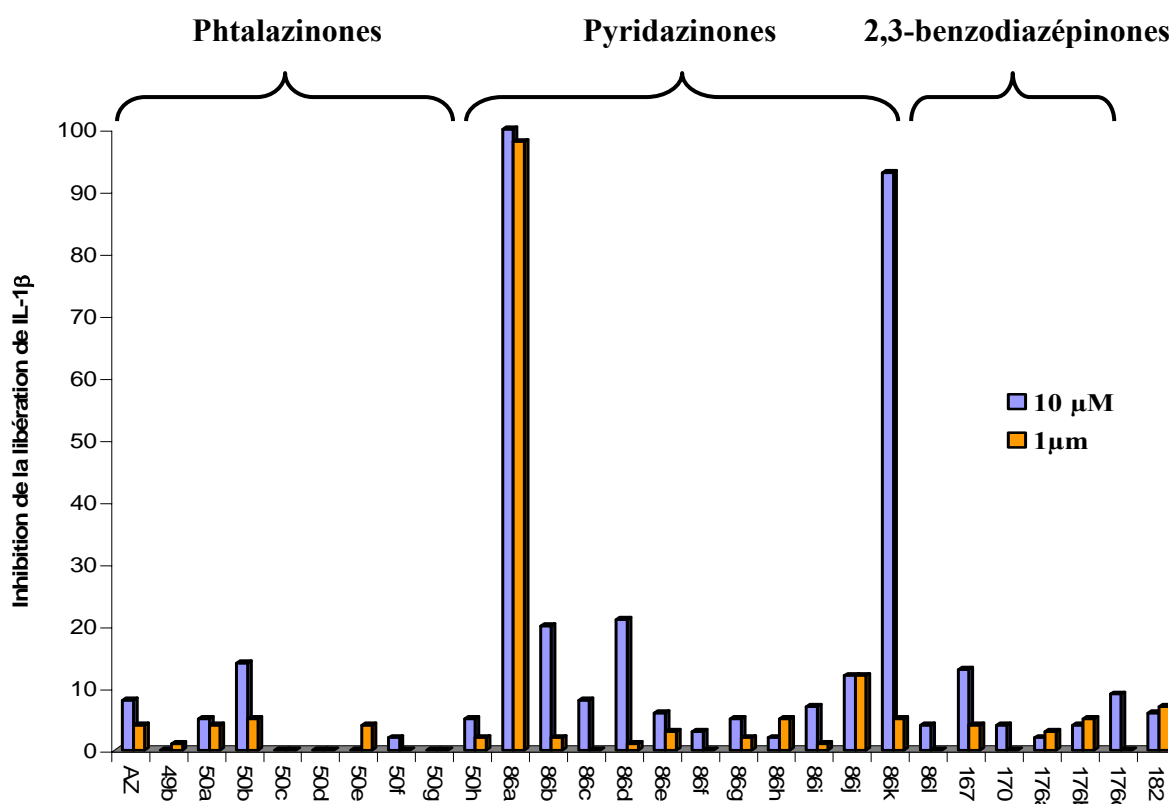


Figure 47. Résultats de l'inhibition de la libération de IL-1 β .

Nous nous intéresserons tout d'abord à l'étude des relations structure-activité des dérivés de phtalazinones. Le remplacement de la N-méthyl-azépine par la N-éthyl-pipéridine permet d'augmenter légèrement l'inhibition du TNF- α à 10 μ M. Nous constatons aussi que la substitution de l'azote pipéridinyle n'a pas d'influence sur l'activité puisque le composé **49b** inhibe à 67 % la libération de TNF- α contre 63 % au composé **50b**. L'introduction d'un degré de liberté entre l'hétérocycle et la pipéridine a eu un effet néfaste sur l'activité puisque nous observons une chute très importante de l'activité anti-TNF- α des composés **50c** et **50d**.

La seconde partie de notre analyse concerne la modification de la partie lipophile L1 en position 4 de la phtalazinone. La présence du chlore en para du benzyle joue un rôle dans l'activité. Ainsi, puisque le dérivé ne comportant pas ce chlore (**50a**) est moins actif que son analogue chloré (**50b**). Intéressons nous maintenant au groupement benzyle. Le dérivé **50e**, constitué d'un phényle en position 4, est bien moins actif que le dérivé **50a** qui porte un benzyle. De même, la substitution du méthylène benzylique par un oxygène ou un soufre (composés **50f-g**) a un effet négatif sur l'inhibition du TNF- α .

	TNF- α (en %)			TNF- α (en %)			TNF- α (en %)	
	10 μ M	1 μ M		10 μ M	1 μ M		10 μ M	1 μ M
Az	46	3	50b	63	3	50e	27	ns
49b	67	5	50c	21	ns	50f	15	ns
50a	50	ns	50d	ns	ns	50g	9	ns

Tableau 25. Résultats de l'inhibition de la libération de TNF- α par les dérivés de l'azélastine. [ns : non-significatif (< 2 %)].

Après avoir fait une première analyse sur les groupements portés par la phtalazinone, nous avons étudié l'effet du remplacement du cycle phtalazinone par d'autres chassiss moléculaires monocycliques (pyridazinones) ou bicycliques (2,3benzodiazépinones). En particulier, une 4(ou 5)-phényl-pyridazinone peut être considérée comme un analogue de la phtalazinone dans lequel le groupement benzo a été « translaté ». Cette translation peut être effectuée en position 4 ou en position 5 du cycle pyridazinone.

Nous constatons que :

- si le groupement phényle est en position 5 (composé **86e**), l'activité anti-TNF- α est similaire à celle du composé **50b**. En déplaçant ce groupement hydrophobe, nous ne modifions pas significativement l'activité anti-TNF- α .
- En revanche, si le groupement phényle est en position 4 (composé **86a**), l'inhibition de la libération de deux cytokines est fortement augmentée. En effet, le composé **86a** inhibe quasiment toute la libération de TNF- α et d'IL-1 β , que cela soit à 10 ou à 1 μ M.

L'introduction de groupement méthoxy sur le phényle en position 4 de la pyridazinone (composé **86f**) a provoqué une chute importante de l'activité. Le dérivé **86h** est un analogue de la pyridazinone **86a** dans lequel les groupements lipophiles ont été inversés. (p-chlorobenzyle est en position 4 et le phényle en position 6 de la pyridazinone). Cette inversion engendre une diminution de l'activité. Toutefois, le composé **86h** reste aussi actif que le composé de référence **50b** et la pyridazinone **86e**.

Concernant à la modification du groupement cationique, il a été montré précédemment sur les phtalazinones que la substitution de l'azote de la pipéridine n'était pas indispensable. De plus, l'absence d'effets anti-TNF- α des dérivés **86c** et **86d**, portant respectivement un benzyle ou un phénéthyle sur cet azote, montre qu'il n'existe pas d'interactions hydrophobes additionnelles dans cette zone. La modification du substituant de l'azote de la pipéridine pourrait faire l'objet d'une exploration topologique plus (recherche d'interactions autres que des interactions hydrophobes). Cependant, la position du cation est critique comme le montre l'inactivité d'un isomère de position (**86d**).

La dernière modification possible autour du cycle pyridazinone concerne l'étude de la substitution du groupement lipophile en position 6. Sans surprise par rapport à ce que nous avons observé sur les phtalazinones, la suppression du méthylène benzyliques provoque une

diminution de l'effet, comme le montre l'activité du composé **86i**. L'allongement de la chaîne avec un groupement phénéthyle induit aussi une perte d'activité.

Nous avons introduit en position 6 de la pyridazinone des groupements naphtyles. Le dérivé α -naphthyle (**86j**) représente la forme rigidifiée d'un groupement benzyle du composé **86a** tandis que le dérivé β -naphthyle (**86k**) est la forme rigidifiée d'un groupement cinnamyle et peut, de ce fait être comparé avec le composé phénéthyle **86l**. On constate que les dérivés naphtyles **86j** et **86k** sont puissants à 10 μ M comme anti-TNF- α . Cependant, contrairement au meilleur de nos composés (**86a**), cette activité n'est pas retrouvée à 1 μ M. De manière inattendue, le dérivé phénéthyle **86l** est inactif.

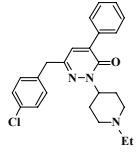
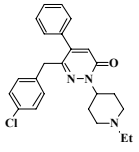
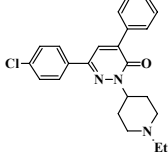
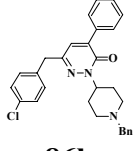
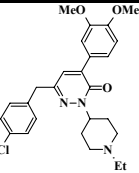
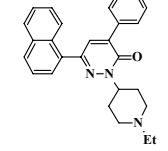
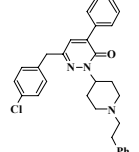
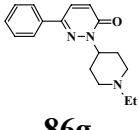
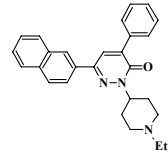
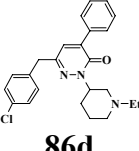
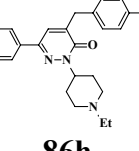
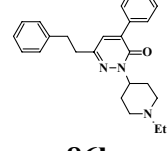
	TNF- α (en %)			TNF- α (en %)			TNF- α (en %)	
	10 μ M	1 μ M		10 μ M	1 μ M		10 μ M	1 μ M
	86	100		52	3		ns	ns
86a			86e			86i		
	ns	ns		ns	ns		85	7
86b			86f			86j		
	ns	ns		20	ns		91	ns
86c			86g			86k		
	ns	ns		61	11		ns	ns
86d			86h			86l		

Tableau 26. Résultats de l'inhibition de la libération de TNF- α par des pyridazinones, analogues structuraux de l'azélastine.

La dernière modification structurale a aussi concerné l'hétérocycle. Ainsi, la phtalazinone du composé **50e** a été remplacée par une 2,3-benzodiazépinone (composés **167** et **170**). Aucune des 2,3-benzodiazépines n'a présenté une activité supérieure ou égale à l'azélastine. Cependant, si l'on compare au composé 6-phényle en série phtalazinone **50e**, ce dernier était légèrement actif. Ce niveau d'activité est retrouvé avec la 2,3-benzodiazépinone **167**.

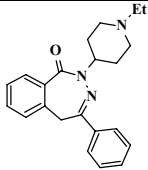
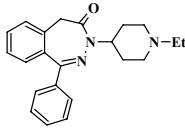
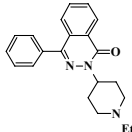
	TNF- α (en %)			TNF- α (en %)			TNF- α (en %)	
	10 μ M	1 μ M		10 μ M	1 μ M		10 μ M	1 μ M
	24	9		13	ns		27	ns
167			170			50e		

Tableau 27. Résultats de l'inhibition de la libération de TNF- α par des benzodiazépinones, analogues structuraux de l'azélastine.

Activité anti-IL-1 β :

La figure 46 montre clairement l'intérêt du composé **86a**, qui reste un dérivé très puissant à 1 μ M. On trouve aussi, mais seulement à 10 μ M, un effet puissant pour le composé naphthalénique **86j**.

Effets cytotoxiques :

Dans le tableau 27, un composé est considéré comme cytotoxique à une concentration donnée si l'absorbance (DO) est inférieure à 0.060 à cette même concentration. Le test de viabilité cellulaire a révélé qu'aucun des composés n'était cytotoxique excepté ceux présentant une activité anti-TNF- α supérieure à 85 %. Effectivement, la pyridazinone **86a** est cytotoxique à 10 et 1 μ M. En revanche, les pyridazinones **86j** et **86k** sont cytotoxiques seulement à 10 μ M.

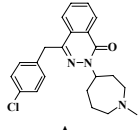
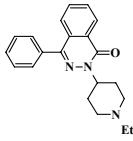
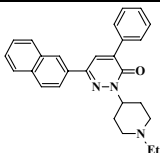
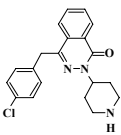
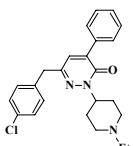
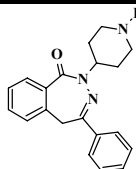
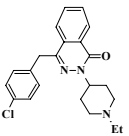
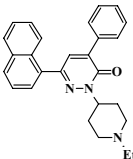
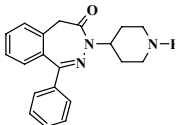
	Absorbance (x10 ⁻³)			Absorbance (x10 ⁻³)			Absorbance (x10 ⁻³)	
	10 μM	1 μM		10 μM	1 μM		10 μM	1 μM
 Az	87	109	 50e	69	72	 86k	45	93
 49b	73	98	 86a	48	47	 167	67	65
 50b	87	109	 86j	58	116	 170	65	73

Tableau 27. Résultats du test de viabilité cellulaire des composés synthétisés à des concentrations de 10 μM et 1 μM.

3. Discussion

La difficulté de ce travail était de réaliser une étude des relations structure-activité à partir d'un test cellulaire où la ou les cibles ne sont pas clairement identifiées. Il est tout de même possible d'émettre quelques commentaires sur les résultats obtenus.

Le choix, la position et la substitution du groupement cationique sont critiques pour l'activité anti-cytokine. La position en para de l'azote cationique par rapport à l'azote de l'amide est critique pour l'effet biologique recherché. Ni le rapprochement, ni l'éloignement de cet azote par rapport au châssis moléculaire n'ont permis une amélioration de l'effet recherché. De plus, la substitution de l'azote cationique par des groupements aralkyles semble peu prometteuse. Toutefois, il serait intéressant d'évaluer l'effet de substituants accepteur ou donneur de liaisons H. Les chaînes lipophiles étant proscrites sur cet azote, nous pouvons supposer que la poche contenant un site anionique putatif interagisse avec le cation pipéridinium. Cette poche semble assez petite et interdit la possibilité d'interactions

hydrophobes. Le groupement 4-pipéridinyle semble être le groupement cationique de choix pour l'activité anti-cytokine des ces dérivés de l'azélastine.

Concernant la partie lipophile L1, le *p*-chlorobenzyle est le groupement engendrant la meilleure activité anti-cytokine. Il doit exister au sein de la cible biologique de ces dérivés une poche hydrophobe assez grande pour accueillir ce groupement *p*-chlorobenzyle. Cette poche hydrophobe semble posséder un volume assez important étant donné que l'introduction de groupements α - et β -naphtyles en cette position permet de conserver une activité anti-TNF- α intéressante. Il existe tout de même une sélectivité surprenante sur l'activité anti-IL-1 β à 10 μ M engendrée par la présence d'un groupement β -naphtyle par rapport au groupement α -naphtyle. Ce résultat pourrait provenir de l'existence d'une seconde cible biologique intervenant dans l'activité anti-cytokine de nos composés. L'absence d'activité des dérivés portant des groupements *p*-chlorophénoxy ou *p*-chlorothiophényle est, elle aussi, assez surprenante mais pourrait être comparée à l'inactivité du dérivé phénéthyle **86I**. Etant donné que nous sommes dans un test cellulaire, il se pourrait que ces dérivés aient été dégradés par le métabolisme cellulaire.

La modification du châssis hétérocyclique L2 montre que le cycle phtalazinone peut être remplacé par une pyridazinone convenablement substituée par un cycle aromatique. En particulier, la 4-phényl-pyridazinone est bien plus active sur l'inhibition de la libération de TNF- α et d'IL-1 β . L'introduction de groupements accepteurs de liaison H sur le phényle en position 4 de la pyridazinone induit une perte complète d'activité. Il semblerait que seules des interactions hydrophobes soient possibles dans cette zone.

La substitution du noyau phtalazinone par un noyau benzodiazépinone n'a pas permis d'améliorer l'effet anti-cytokine. Cependant, seule la 2,3-benzodiazépinone portant la partie lipophile L1 en position 4 présente une activité similaire à la phtalazinone et mériterait une exploration plus détaillée, par exemple la synthèse du composé **236**.

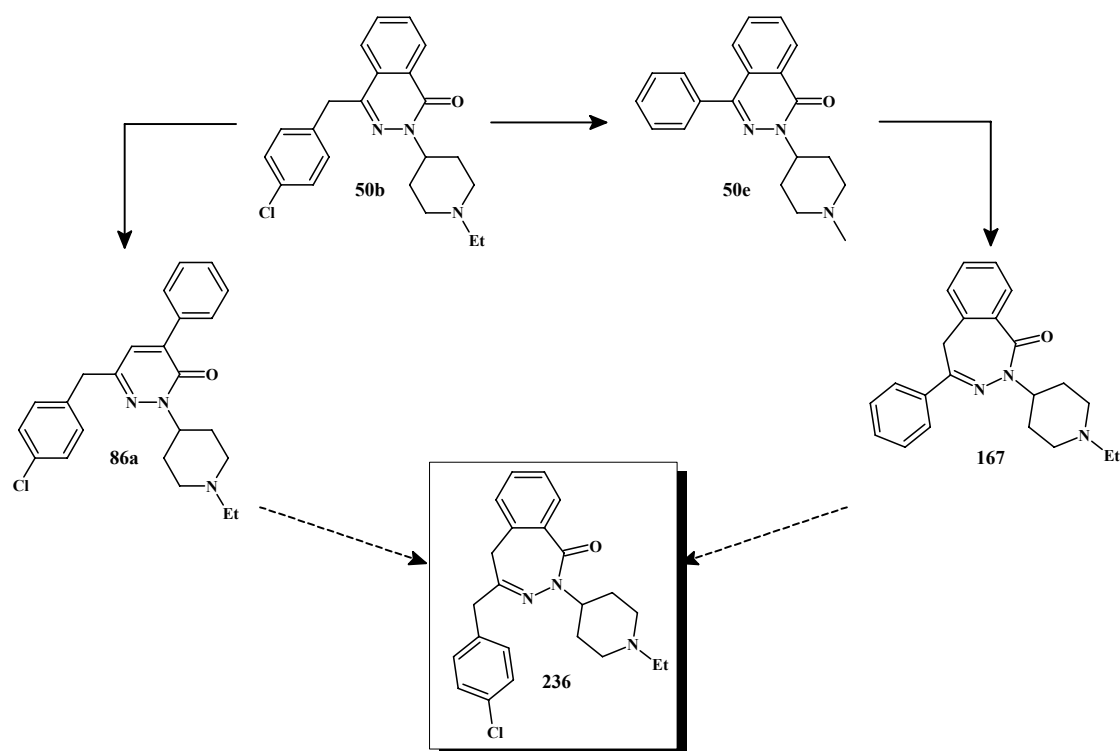


Figure 468. Perspective d'exploration structurale.

4. Conclusion

L'étude RSA autour de l'azélastine nous a permis d'identifier un composé présentant une activité submicromolaire pour l'inhibition de la libération de TNF- α et d'IL-1 β , deux des principaux messagers de la réaction inflammatoire. Les modifications ont porté sur la partie lipophile L1, le groupement cationique et le châssis moléculaire, et c'est finalement la pyridazinone **86a** qui a présenté cette activité prometteuse.

Ces résultats devront être confirmés par la mesure de la CI_{50} de ce dérivé. Il serait aussi intéressant d'étudier le mécanisme d'action de ce composé à travers de nouveaux tests cellulaires. Effectivement, les travaux sur l'azélastine ont montré que son activité anti-TNF- α provenait de son action au niveau de la cascade NF- κ B, plus particulièrement de l'inhibition de la protéine kinase C (PKC). Il faudrait donc vérifier si le composé **86a** présente un même profil d'activité et aussi s'il ne possède pas une autre cible moléculaire. Enfin, les modifications structurales doivent être poursuivies. Ces perspectives seront évoquées dans la conclusion générale.

Cependant, l'effet cytotoxique du composé **86a** est préoccupant. Cet effet est peut-être le résultat de la puissance de l'effet anti-cytokine observé. Il sera intéressant, après connaissance de la CI_{50} de ce composé, d'évaluer à des concentrations correspondant à la CI_{50} , une toxicité encore importante de ce produit. Effectivement, l'effet cytotoxique par lui-même pourrait être à l'origine de nombreux événements moléculaires et cellulaires, en particulier l'arrêt de la production des cytokines en général, et particulièrement la production de $TNF-\alpha$ et $IL-1\beta$.

**Conclusion générale
Et
Perspectives**

Conclusion générale et perspectives

L'ambition de ce travail contenait un double objectif :

- Pharmacochimique : découverte de nouveaux anti-inflammatoires,
- Chimique : Développement de nouvelles voies de synthèse et de fonctionnalisation d'hétérocycles azotés
Synthèse de nouveaux châssis moléculaires bi et tricycliques.

L'objectif général que nous nous étions fixé a été atteint, à savoir la synthèse de nouveaux inhibiteurs de la libération de TNF- α et d'IL-1 β dérivant de l'azélastine, un antagoniste du récepteur de l'histamine de type H1. Les modifications structurales ont concernées la partie lipophile L1, le groupement cationique et le châssis moléculaire L2 de l'azélastine.

Nous avons été amené à développer des nouvelles méthodes de fonctionnalisation de châssis moléculaires tels que les phtalazines, les pyridazines, les pyrimidines, les pipéridines, les indoles, les imidazopyridines, les 1,4- et 2,3-benzodiazépines. Par des réactions chimiques aussi diverses et variées que la substitution nucléophile aromatique, le couplage catalysé par des métaux de transition (Pd, Ti, Cu, Ag, Au), la cycloisomérisation, le couplage peptidique, la protection/déprotection, l'oxydation/réduction, nous avons réussi à synthétiser différents dérivés hétérocycliques de l'azélastine.

Ces travaux ont permis de développer autour d'un hétérocycle peu décrit dans la littérature, la 2,3-benzodiazépine, des stratégies originales de synthèses (utilisation d'hydrazines N,N'-disubstituées) et de fonctionnalisation (arylation, amination).

De plus ces nouvelles méthodologies nous ont amené à synthétiser des aza-2,3-benzodiazépinones originales par une réaction de cycloisomérisation généralisable à divers aza-hétérocycles catalysée par un acide de Lewis en présence d'un acide de Brønsted.

Il existe maintenant des perspectives intéressantes en continuation de ces travaux :

- Introduire d'autres groupements aromatiques, hétéroaromatiques ou non aromatiques en position 1 ou 4 du cycle 2,3-benzodiazépinone (figure 46),
- Poursuivre la synthèse de nouvelles aza-2,3-benzodiazépinones,
- Contrôler la régiosélectivité de la cycloisomérisation (6-endo / 5-exo),

Sur le plan pharmacochimique, nous avons synthétisé une nouvelle famille de dérivés présentant une activité anti-TNF- α intéressante. En particulier, un dérivé de pyridazinone de l'azélastine possède une activité anti-TNF- α et IL- β prometteuse **86a**.

Toutefois, le travail d'optimisation structurale doit être poursuivi. Certaines modifications du châssis moléculaire comme le remplacement du benzène par un cycle hétéroaromatique (aza-2,3-benzodiazépinone), l'extension de cycle (2,3-diazépinone), ou la rigidification avec ses substituants (pyrrolopyridazine, indolopyridazine, imidazopyridazine) pourraient être une bonne alternative, afin d'obtenir des composés possédant une activité anti-cytokine. De plus, la diversification des substituants permettrait peut-être de trouver de nouvelles interactions avec de nouvelles cibles biologiques afin d'augmenter l'effet recherché (figure 46).

C'est pourquoi l'ensemble des composés synthétisés au cours de ce travail, du fait de leurs caractères « drug-like », et de la diversité des châssis moléculaires développés vient enrichir la chimiothèque patrimoniale. Cette chimiothèque (environ 7000 composés) constitue le vivier de futurs projets pharmacochimiques. Elle s'enrichit grâce à ces travaux d'environ 200 nouveaux composés hétérocycliques.

Ces nouveaux systèmes hétérocycliques peu ou pas décrits dans la littérature, font aussi actuellement l'objet d'études non seulement en chimie et pharmacochimie, mais aussi en physicochimie.

L'ensemble de ce travail a été aussi l'un des premiers au sein de l'équipe à faire clairement une distinction entre châssis moléculaire (propriétés structurales, mono/bi/tricycles), et fonctionnalisation (substitutions, recherche d'interactions additionnelles) du châssis sélectionné. Cet exemple en fait a servi à préciser des objectifs plus spécifiques de manière à conduire à l'avenir la phase d'optimisation structurale de manière plus efficace.

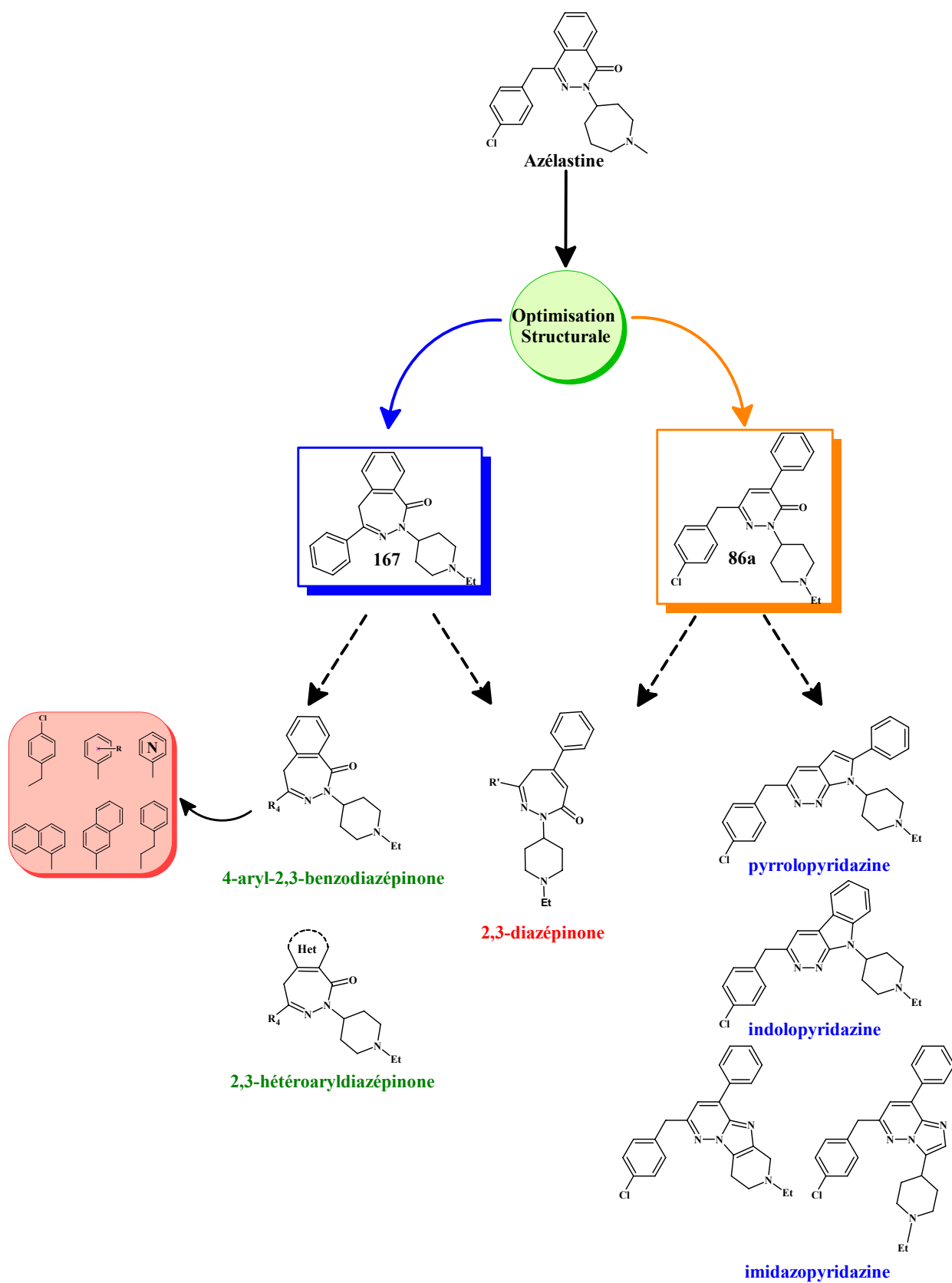
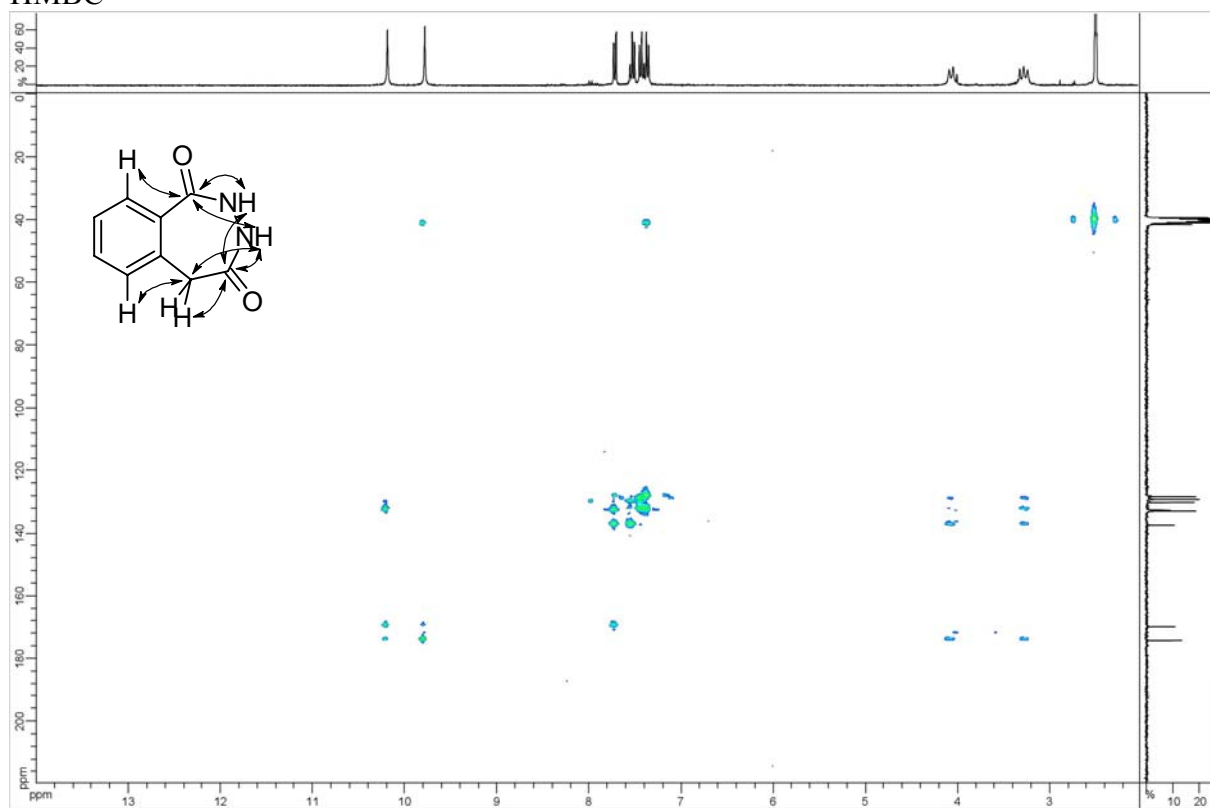


Figure 479. Conclusion et perspectives.

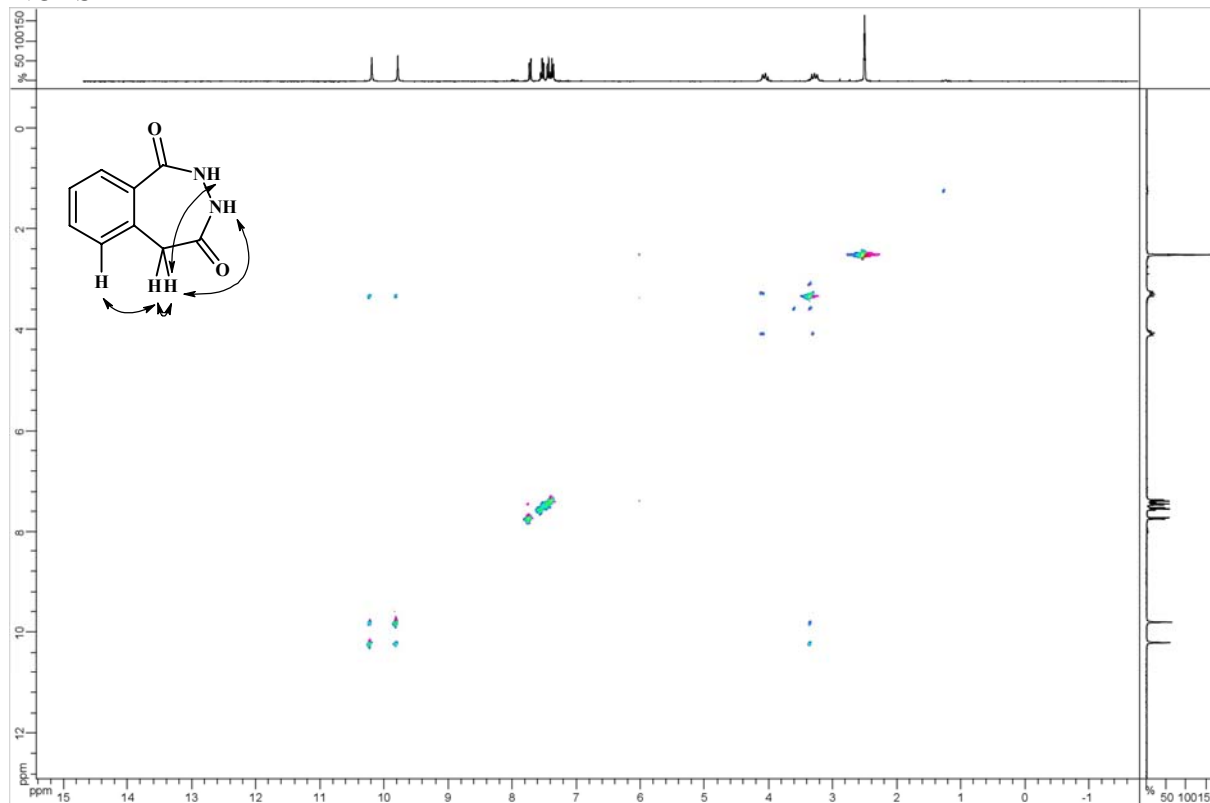
ANNEXES

2,3-dihydro-5H-2,3-benzodiazepine-1,4-dione (**94**)

HMBC

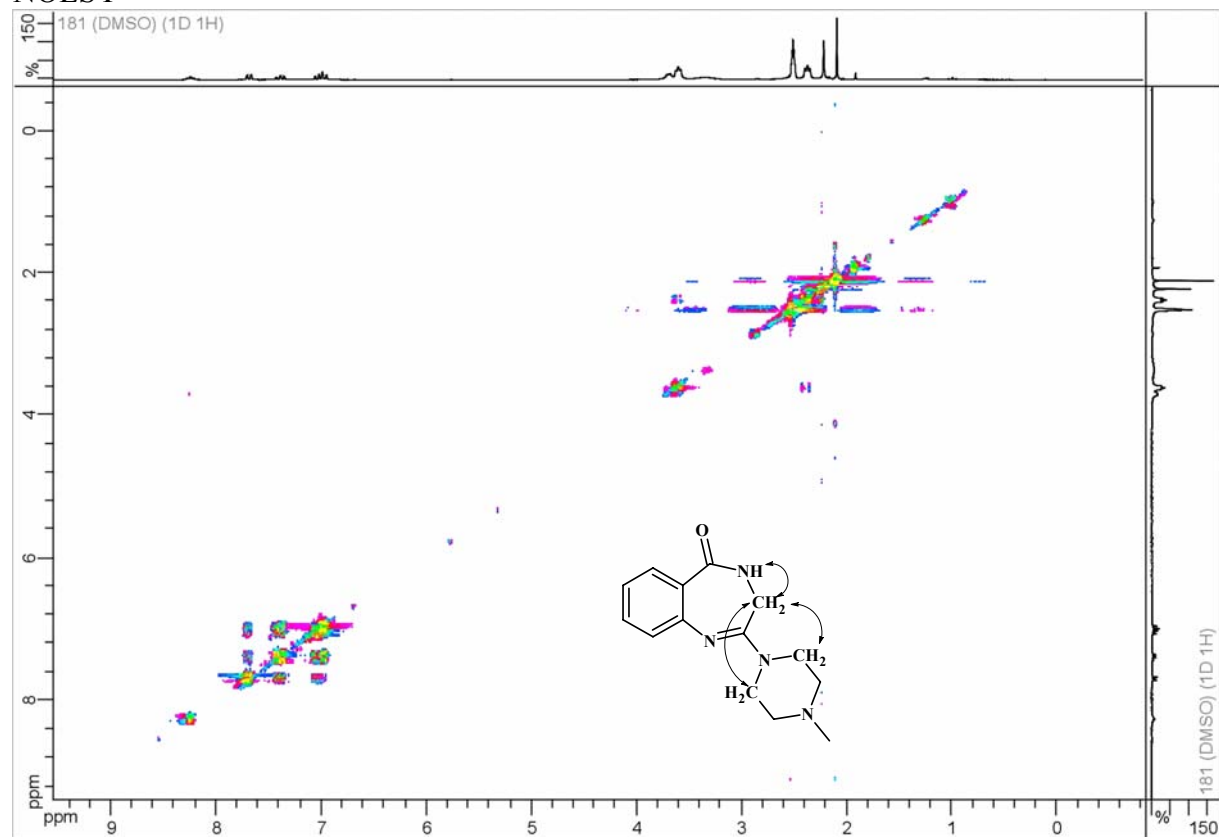


NOESY



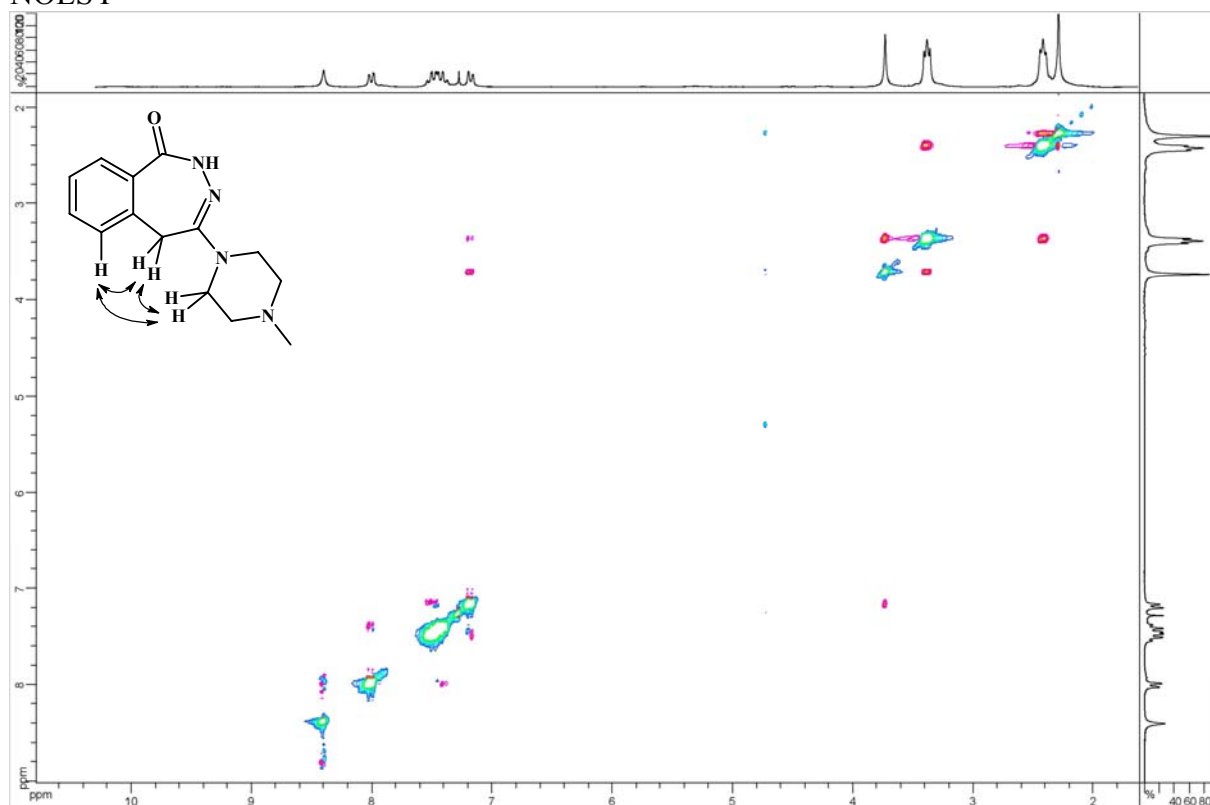
2-(4-méthylpipérazin-1-yl)-3,4-dihydro-5H-1,4-benzodiazépin-5-one (**181**)

NOESY

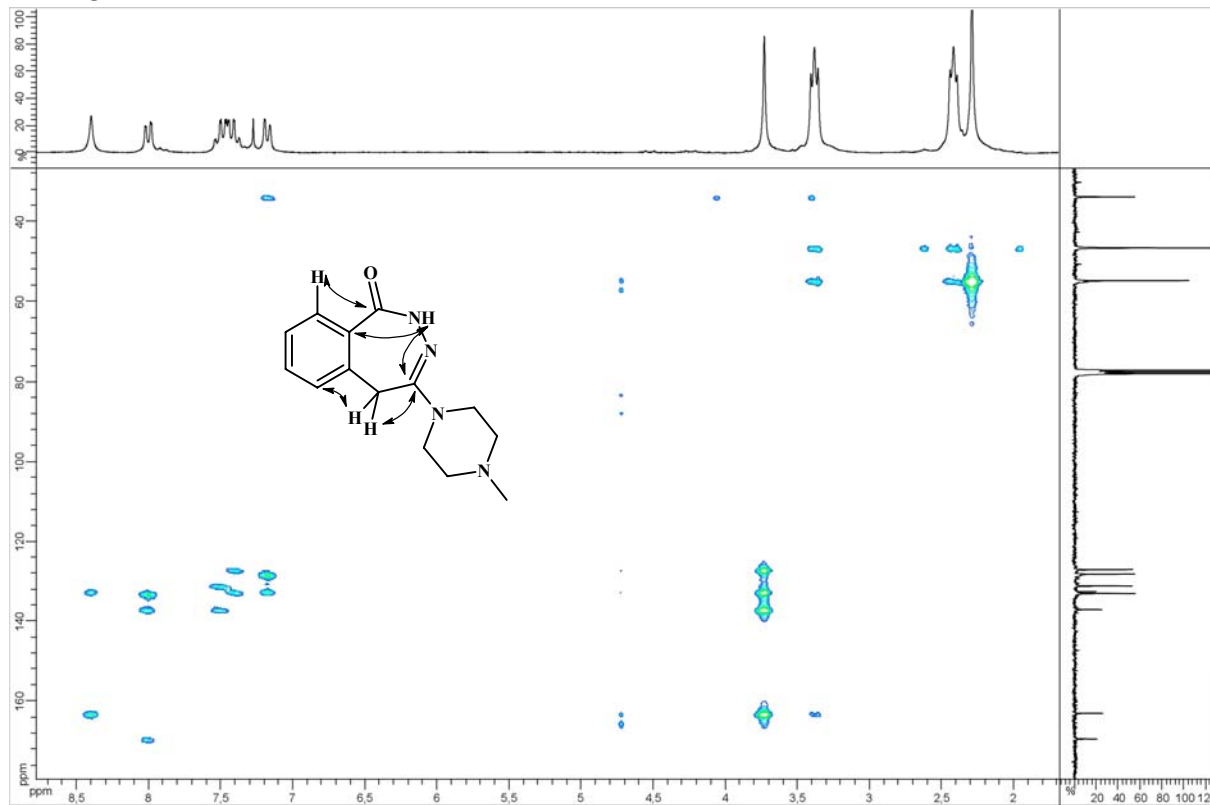


4-(4-methylpiperazin-1-yl)-2,5-dihydro-1*H*-2,3-benzodiazepin-1-one (**183a**)

NOESY

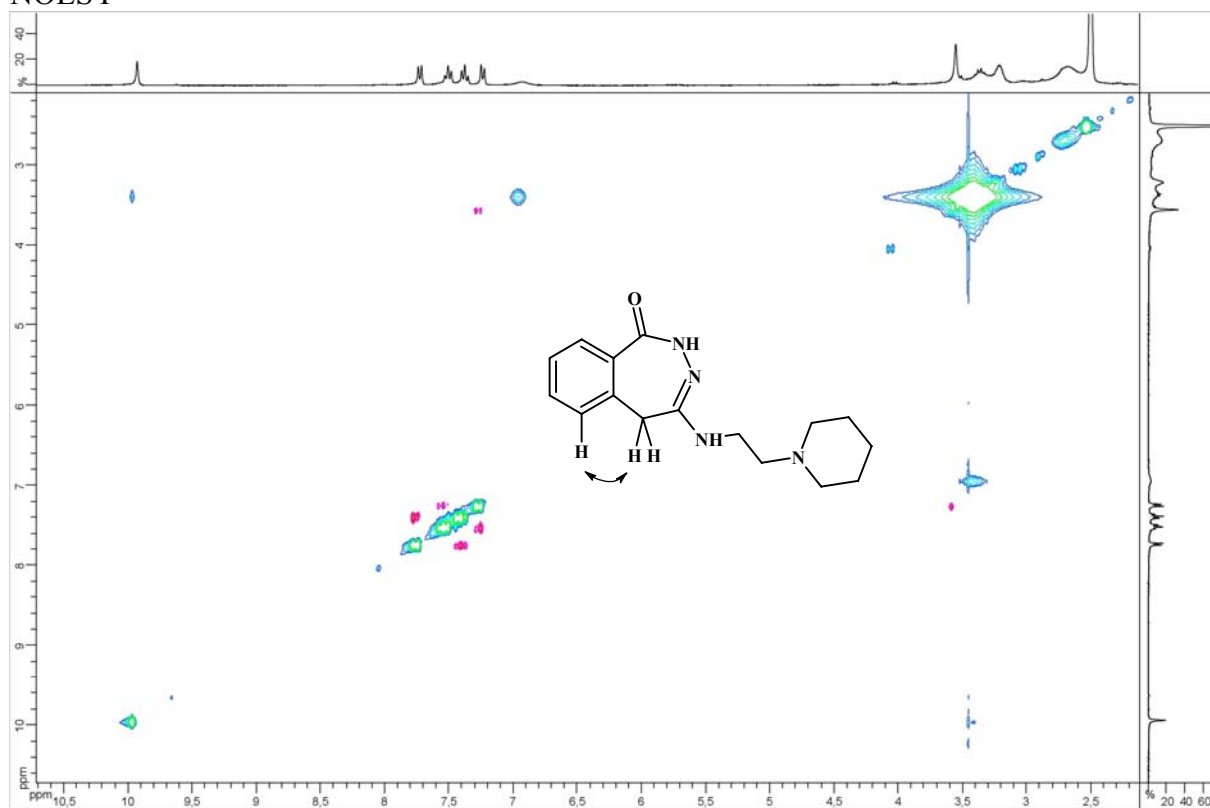


HMBC

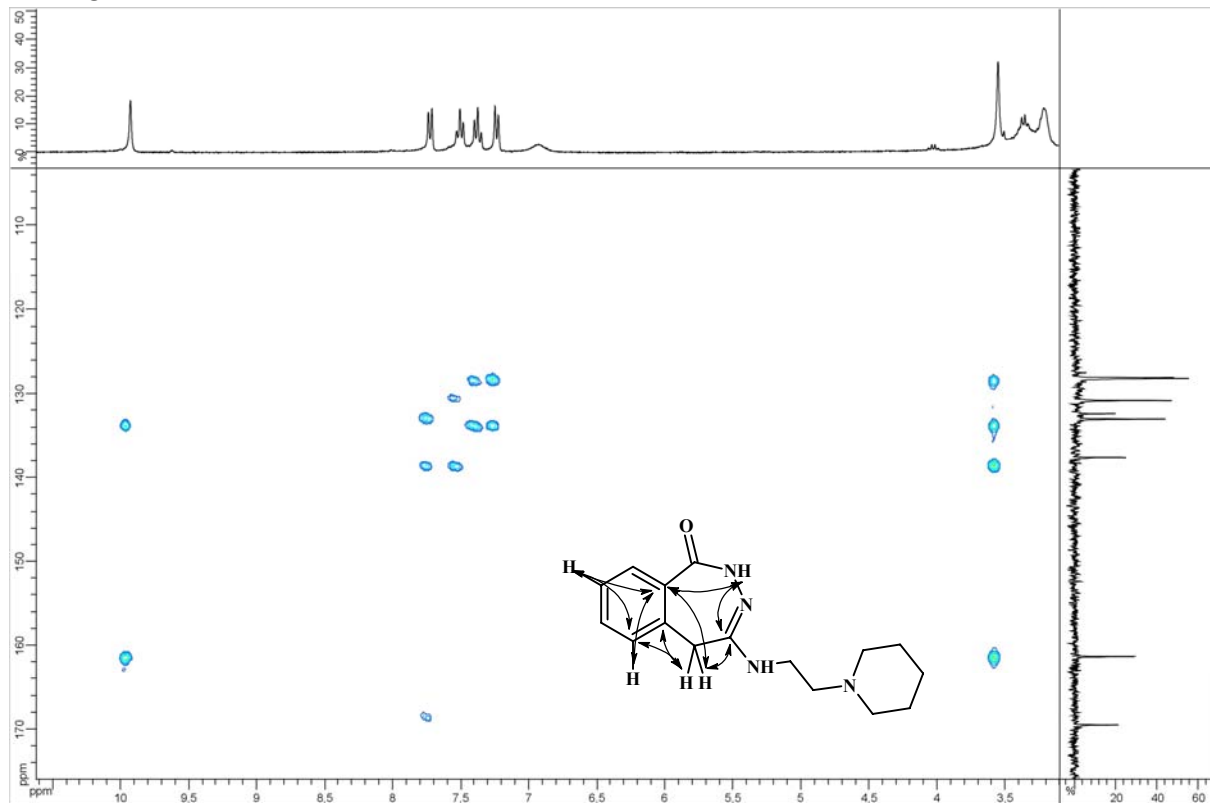


4-[(2-Piperidin-1-ylethyl)amino]-2,5-dihydro-1*H*-2,3-benzodiazepin-1-one (**183b**)

NOESY

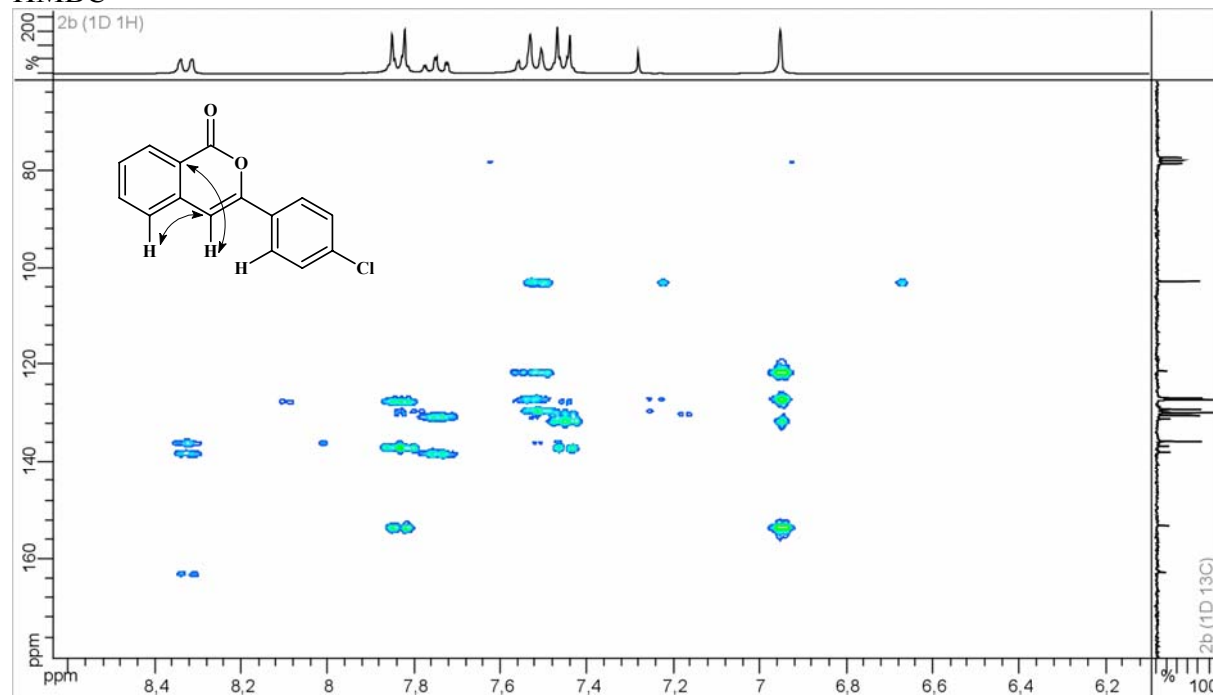


HMBC

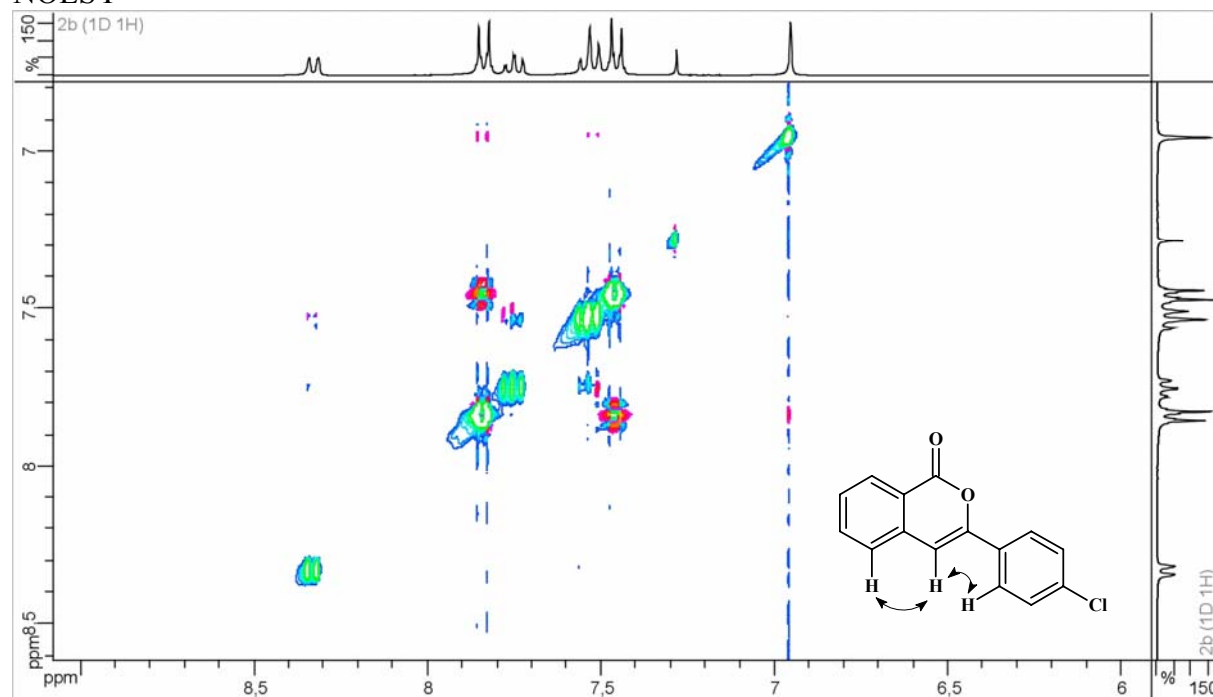


3-(4-chlorophényl)-isocoumarine (**149d**)

HMBC

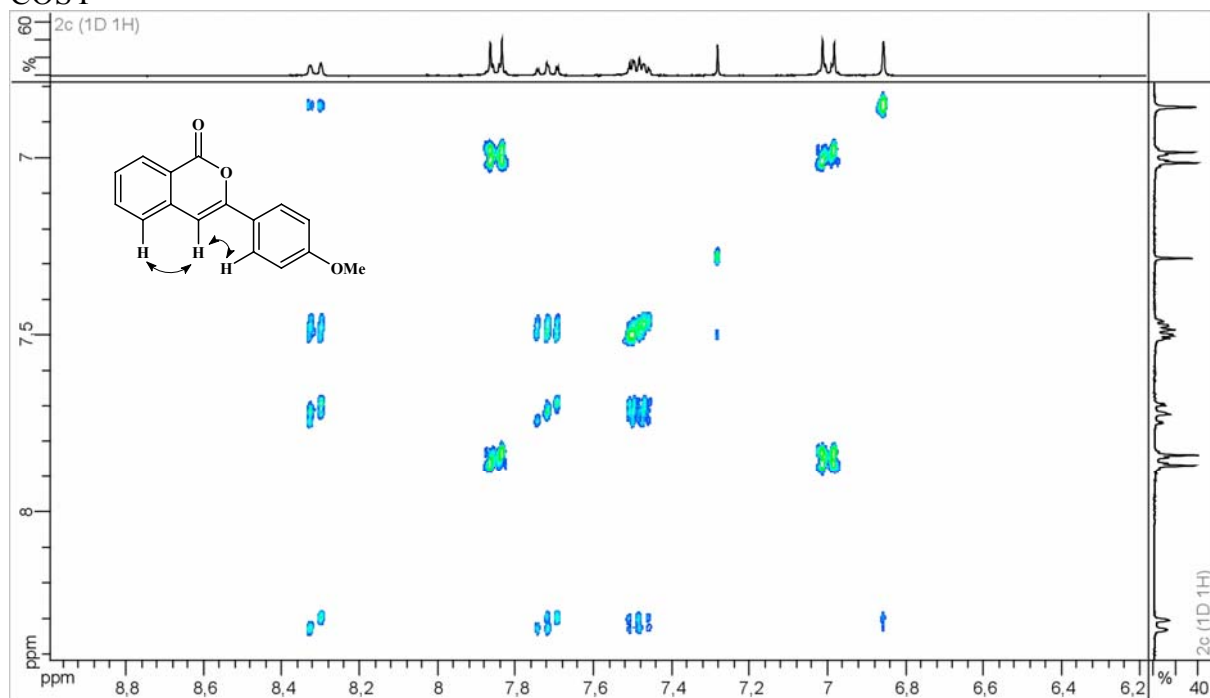


NOESY

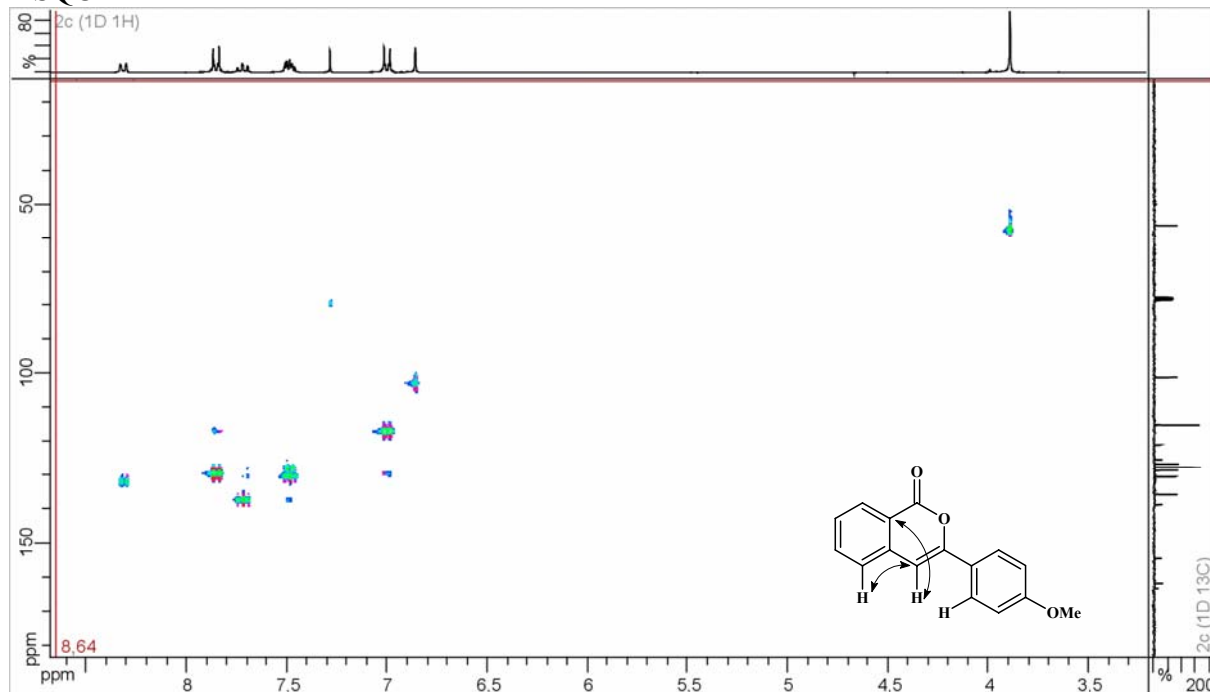


3-(4-méthoxyphényl)-isocoumarine (**149b**)

COSY

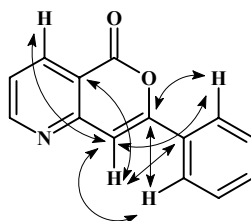
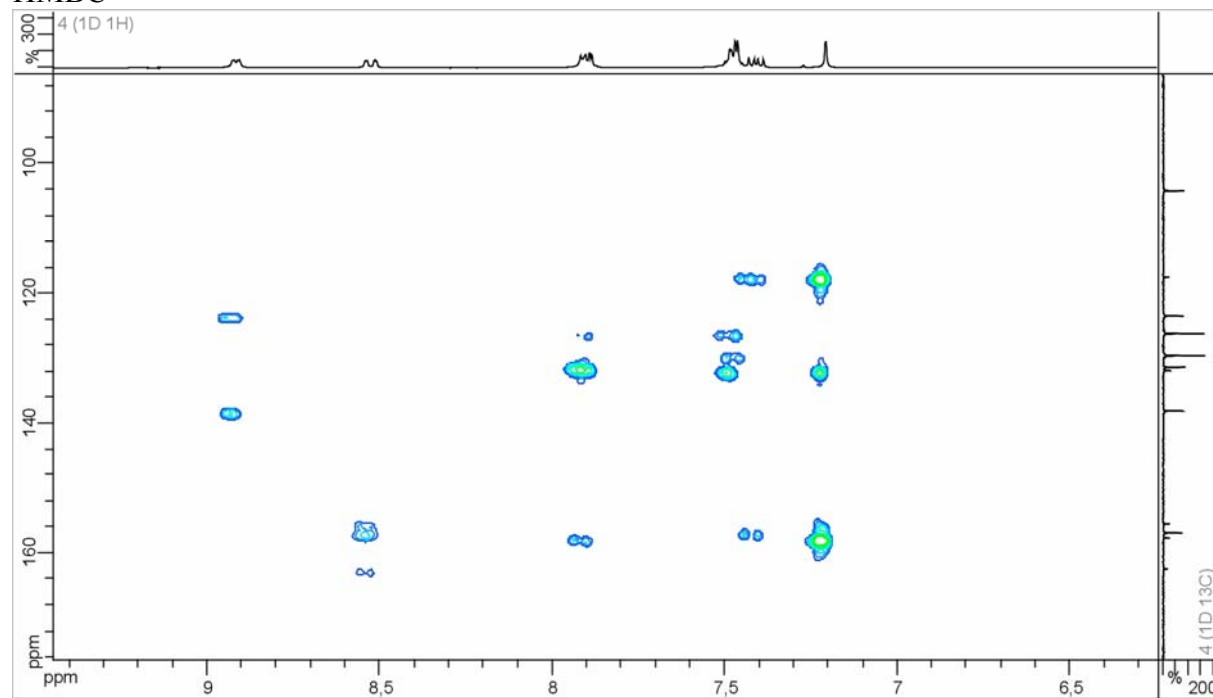


HSQC



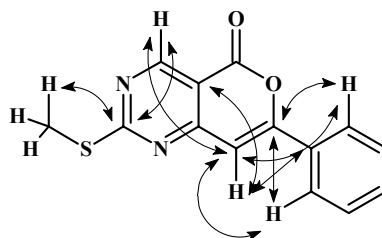
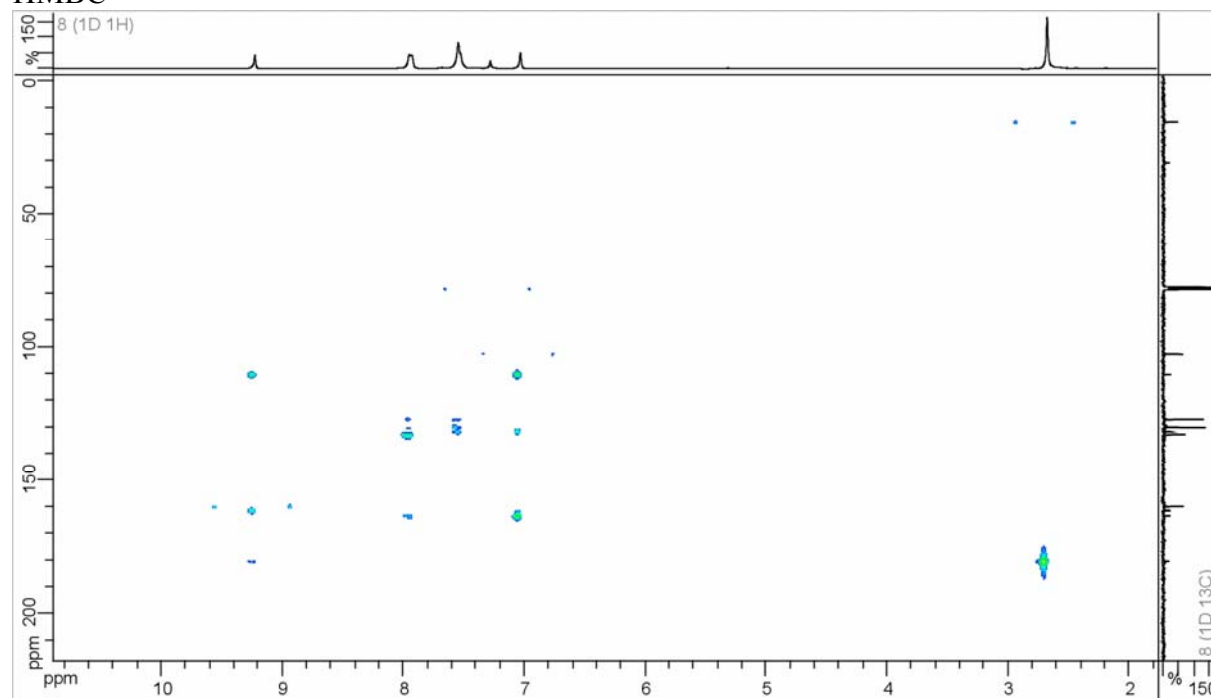
7-phényl-5*H*-pyrano[4,3-*b*]pyridin-5-one (194)

HMBC



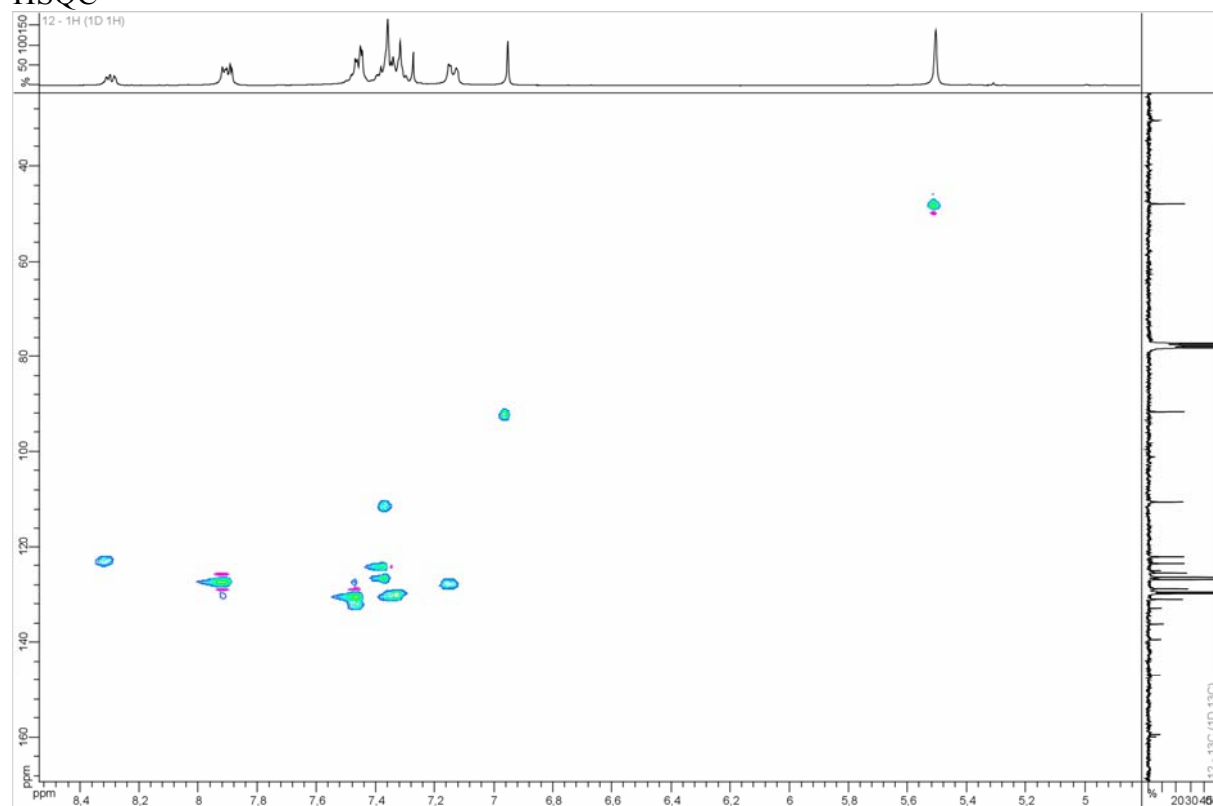
2-(méthylthio)-7-phényl-5*H*-pyrano[4,3-*d*]pyrimidin-5-one (226)

HMBC

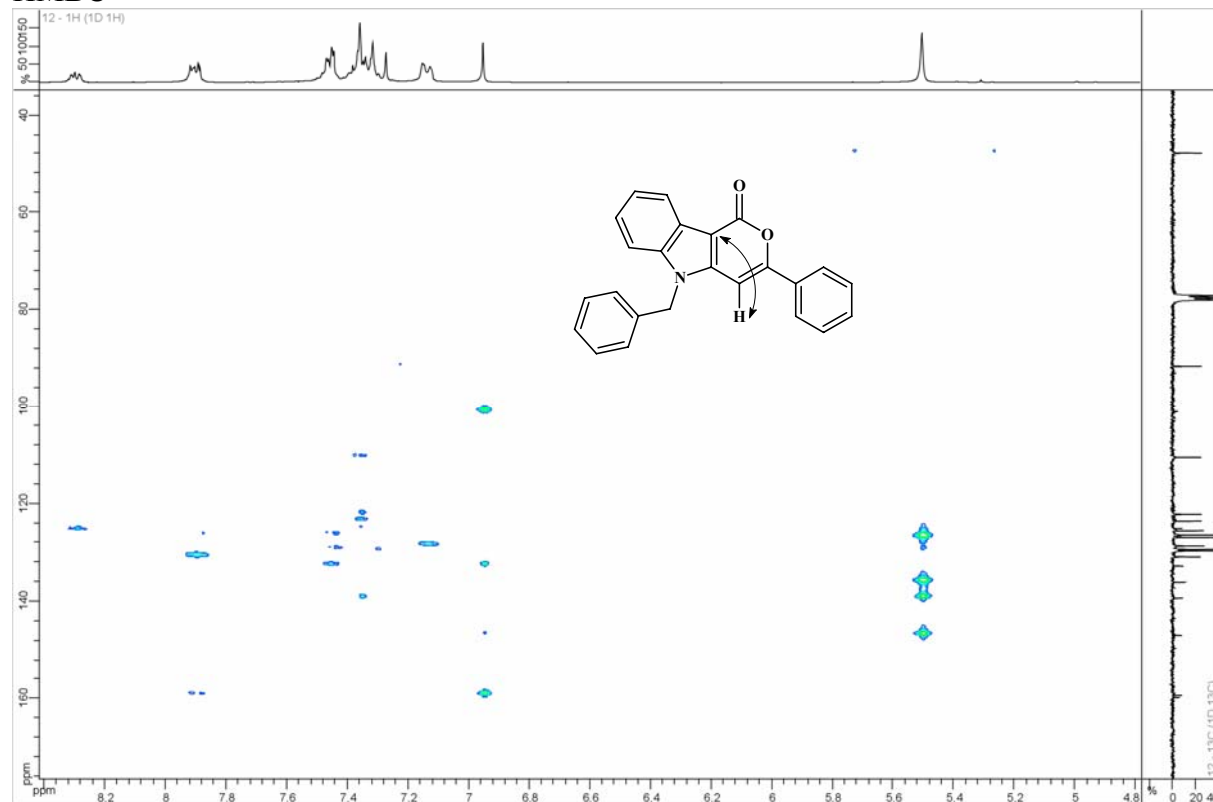


5-benzyl-3-phénylpyrano[4,3-*b*]indol-1-one (**227**)

HSQC

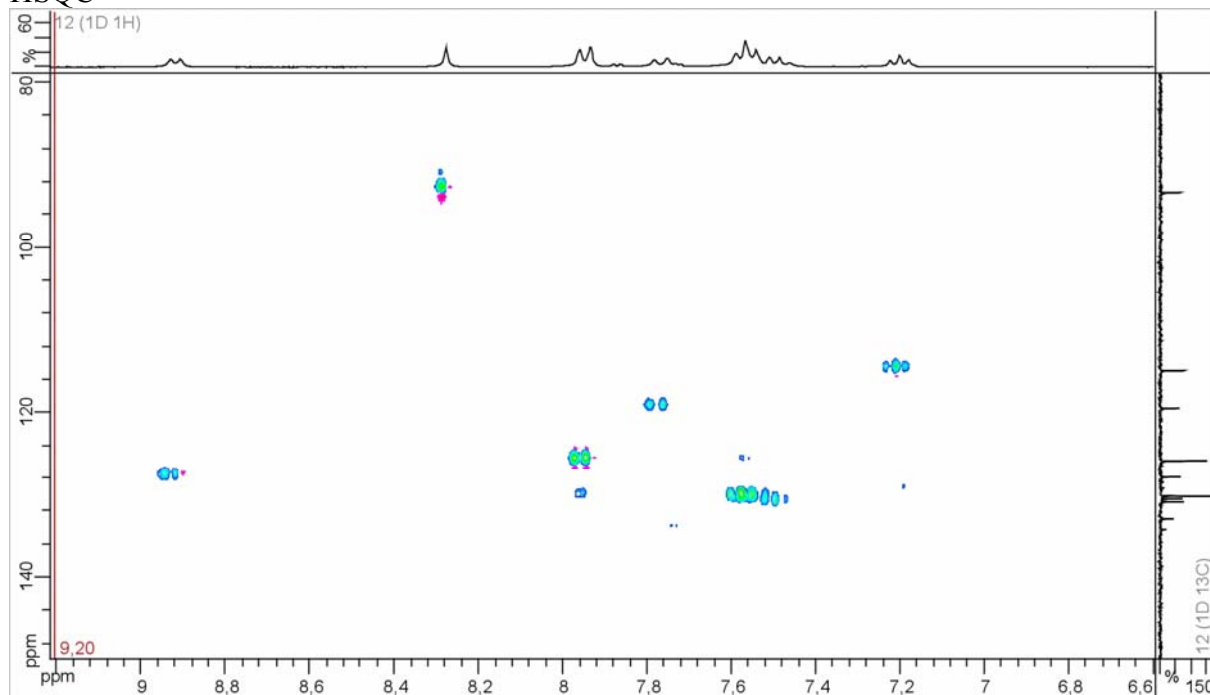


HMBC

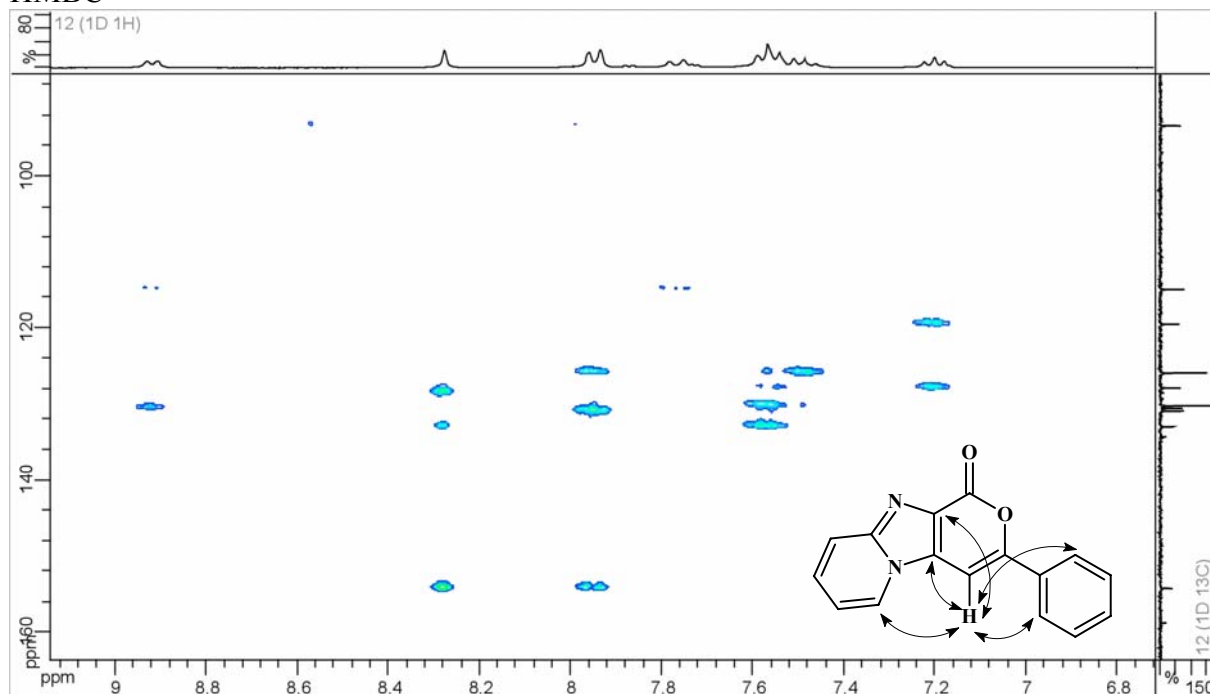


3-phényl-pyrano[3',4':4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridin-1-one (**230**)

HSQC

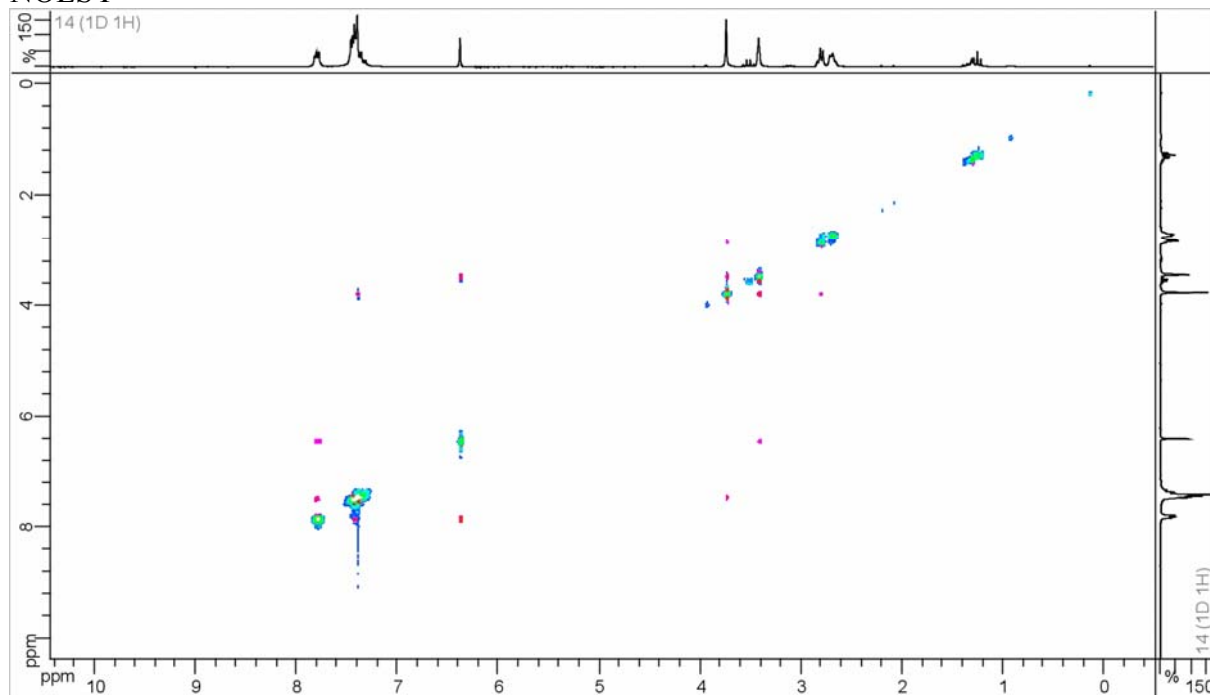


HMBC

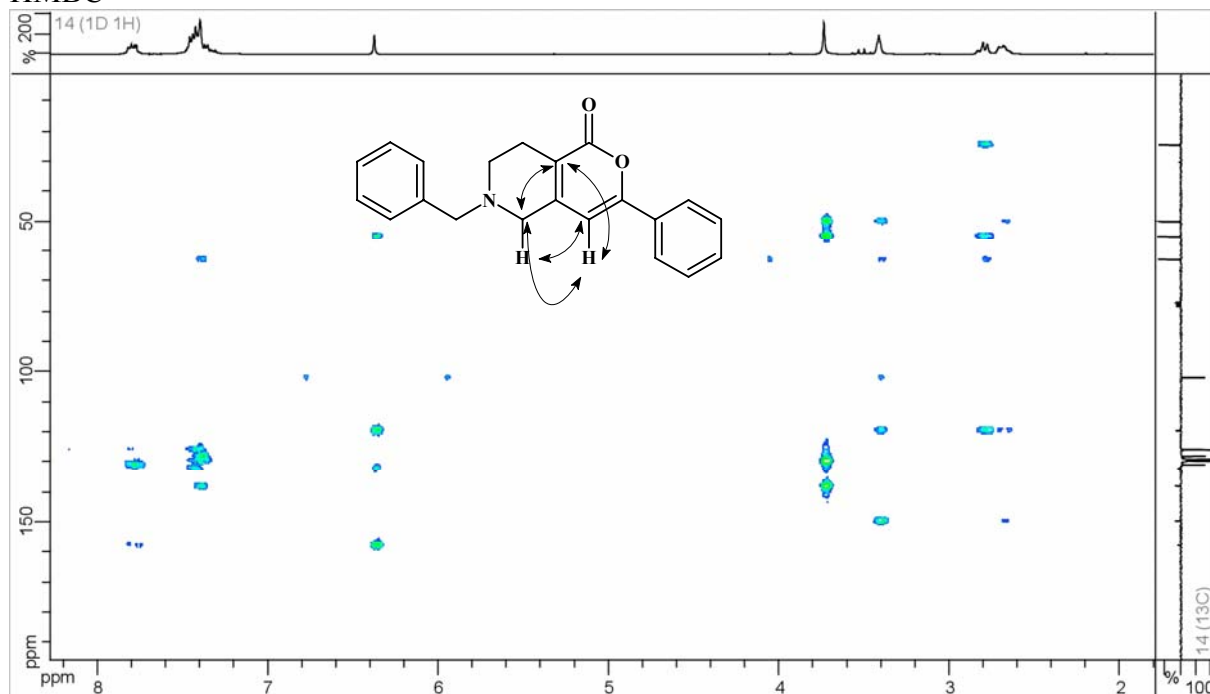


6-benzyl-3-phényl-5,6,7,8-tétrahydro-1*H*-pyrano[4,3-*c*]pyridin-1-one (231)

NOESY



HMBC



Partie expérimentale

Procédures générales

Les réactifs utilisés pour les synthèses sont commandés chez Sigma-Aldrich, Lancaster, Acros, Interchim ou CombiBlock.

Tous les solvants commerciaux sont purifiés avant utilisation :

- le tétrahydrofurane (THF) et l'éther sont distillés sur sodium et benzophénone,
- le dichlorométhane est distillé sur hydrure de calcium,
- le diméthylformamide (DMF), l'acétonitrile, le 1,2-diméthoxyéthane (DME), la triéthylamine sont conservés sur tamis moléculaire 3Å.
- la pyridine est conservée sur KOH.

Tous les rendements sont des rendements isolés.

Les réactions sous irradiation microondes ont été effectuées avec un appareil Biotage Smith Createore où la température choisie est constante et régulée par irradiation.

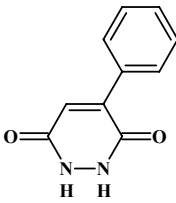
Les chromatographies sur colonne ont été effectuées sur gel de silice Geduran Si 60 (32-63 μm , Merck). Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur des plaques de gel de silice 60F₂₅₄ (Merck). Les spots sont révélés sous lumière UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$) ou par chauffage au décapeur après immersion dans un révélateur au cérium/molybdate (eau/H₂SO₄ concentré/(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O/Ce(SO₄)₂·3H₂O : 90/10/15/1), à la nihydrique ou au KMnO₄.

Les spectres de RMN ¹H, ¹³C ont été réalisés sur des spectromètres Bruker AC 200 ou Bruker DPX 300 à température ambiante. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane et calibrés par rapport au CHCl₃ ($\delta_{\text{H}} = 7,27$, $\delta_{\text{C}} = 77,0$) ou au DMSO ($\delta_{\text{H}} = 2,52$, $\delta_{\text{C}} = 40,0$). Les constantes de couplage (J) sont exprimées en hertz (Hz). La forme des signaux est abrégée de la façon suivante : s (singulet), bs (singulet élargi), d (doublet), dd (doublet dédoublé), ddd (doublet dédoublé dédoublé), t (triplet), td (triplet dédoublé), q (quadruplet), quint (quintuplet), sept (septuplet), m (multiplet).

Les spectres de masse (SM) basses et hautes résolutions ont été réalisés en mode électrospray respectivement sur un spectromètre Agilent 1200SL et sur un spectromètre IonSpec FTMS. Seules les masses (m/z) des pics moléculaires sont rapportées. Les masses couplées à une chromatographie liquide ont été effectuées sur un spectromètre Agilent 1200SL. Les temps de rétention sont donnés en minutes et les produits ont été passés selon un gradient (MeCN 1 à 100 % dans H₂O + 0.1 % d'HCO₂H).

Les spectres infra-rouge (IR) ont été enregistrés sur un spectromètre à transformée de Fourier Thermo FT-IR Nicolet 380.

Les points de fusion (P_f) ont été mesurés sur des appareils Büchi Melting-Point B-540 et sont rapportés sans correction.

<ul style="list-style-type: none"> 4-phényl-1,2-dihydropyridazine-3,6-dione 58 	
Formule brute : $C_{10}H_8N_2O_2$ Masse molaire : $188.19 \text{ g.mol}^{-1}$	

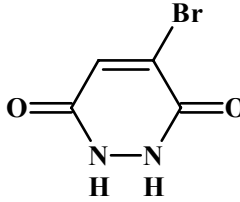
Rendement : 89 %.

Rf : 0.75 (AcOEt 30 % dans l'heptane + 2 % AcOH).

A une solution d'anhydride phénylmaléique (6.00 g, 34 mmol) dans 50 mL d'eau distillée et 50 mL de DME, ajouter l'hydrazine hydrate (4.48 g; 34 mmol) et porter à 100°C pendant 5 heures. Revenir à température ambiante, filtrer et rincer à l'eau (50 mL) puis à l'éther diéthylique (100 mL). Sécher sous vide pour donner un solide blanc (5.78 g, 30.71 mmol).

RMN 1H (200 MHz, DMSO) : 12.28 (s, 2H), 7.89-7.80 (m, 2H), 7.54-7.42 (m, 3H), 7.18 (s, 1H).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) : 163.6, 151.9, 142.2, 134.5, 133.0, 129.2, 129.0, 127.6.

<ul style="list-style-type: none"> 4-bromo-1,2-dihydropyridazine-3,6-dione 66 	
Formule brute : $C_4H_3BrN_2O_2$ Masse molaire : $190.98 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 91 %.

Rf : 0.47 (AcOEt 30 % dans l'heptane + 2 % AcOH).

A une solution d'anhydride bromomaléique (5.25 mL, 56.51 mmol) dans l'eau distillée (50 mL), ajouter l'hydrazine hydrate (7.35 g, 56.51 mmol) et porter à 100°C pendant une nuit. Revenir à température ambiante, filtrer et rincer à l'eau (100 mL) puis à l'acétone (100 mL). Sécher sous vide pour donner un solide blanc (9.8 g, 51.31 mmol).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) : 12.34 (bs, 1H), 11.18 (bs, 1H), 7.55 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) : 162.4, 155.1, 136.1, 129.5.

Procédure de synthèse des pyridazinones 71 et 72 :

A une solution à 100°C de benzylhydrazine chlorhydrate (11.02 g, 56.50 mmol) dans l'eau distillée (100 mL), ajouter l'anhydride bromomaléique (5.25 mL, 56.50 mmol). Chauffer à 100°C pendant une nuit. Après retour à t.a., récupérer le précipité par filtration, le rincer à l'acétone et sécher sous vide pour donner un solide beige contenant les 2 isomères **71** et **72**. Triturer le solide avec un mélange AcOEt / Et₂O 1 : 4. La filtration permet d'obtenir **72** qui est recristallisé dans l'éthanol. Evaporer la solution mère contenant majoritairement **71**. Recristalliser le solide obtenu pour donner le dérivé **71**.

<ul style="list-style-type: none">1-benzyl-4-bromo-1,2-dihydropyridazine-3,6-dione 71	
Formule brute : C ₁₁ H ₉ BrN ₂ O ₂ Masse molaire : 281.11g.mol ⁻¹	

Rendement : 42 %.

Rf : 0.45 (AcOEt 50 % dans l'heptane)

Sécher sous vide pour donner un solide beige (6.7 g, 23.83 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 12.11 (bs, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.36-7.24 (m, 5H), 5.06 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) : 162.4, 149.9, 137.1, 134, 128.8, 127.8, 127.9, 123.9, 53.2.

ESI-HRMS calculée pour C₁₁H₁₀BrN₂O₂ [M+H]⁺ 280.9920, trouvée 280.9919.

<ul style="list-style-type: none">1-benzyl-5-bromo-1,2-dihydropyridazine-3,6-dione 72	
Formule brute : C ₁₁ H ₉ BrN ₂ O ₂ Masse molaire : 281.11g.mol ⁻¹	

Rendement : 52 %.

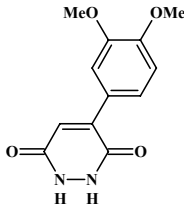
Rf : 0.45 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Sécher sous vide pour donner un solide beige (8.3 g, 29.52 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) : 11.49 (bs, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.42-7.31 (m, 5H), 5.12 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.3, 149.9, 137.1, 134.8, 128.5, 127.9, 127.8, 123.9, 53.2.

ESI-HRMS calculée pour C₁₁H₁₀BrN₂O₂ [M+H]⁺ 280.9920, trouvée 280.9916.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(3,4-diméthoxyphényl)-1,2-dihydropyridazine-3,6-dione 67 	
Formule brute : $C_{12}H_{12}N_2O_4$ Masse molaire : $248.24 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 73 %.

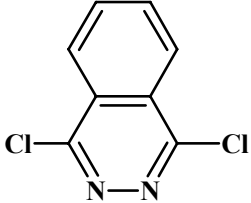
Rf : 0.12 (AcOEt 50 % dans l'heptane + 1 % de AcOH).

A une solution de 4-bromo-1,2-dihydropyridazine-3,6-dione (1 g, 5.24 mmol) dans le DME (60 mL) et l'eau (10 mL), ajouter successivement l'acide 3,4-diméthoxyphénylboronique (1.9 g, 10.47 mmol), $Pd(PPh_3)_4$ (302 mg, 0.26 mmol) et la triéthylamine (2.2 mL, 15.71 mmol). Chauffer à 120 °C pendant 24 h. Evaporer à sec et purifier par chromatographie sur gel de silice ($CH_2Cl_2/CH_3OH/AcOH : 98:2:2$) pour donner un solide blanc (950 mg, 3.83 mmol).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) : 12.04(bs, 1H), 10.79(bs, 1H), 7.67-7.44 (m, 2H), 7.22 (s, 1H), 7.01 (d, 1H, $J = 8.3 \text{ Hz}$), 3.91 (s, 6H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) : 159.3, 154.0, 150.3, 148.5, 126.4, 122.1, 112.4, 111.5, 55.9.

LC / MS : $t_r = 0.900$; (M+H) 248.9.

<ul style="list-style-type: none"> 1,4-dichlorophthalazine 30 	
Formule brute : $C_8H_4Cl_2N_2$ Masse molaire : $199.04 \text{ g.mol}^{-1}$	

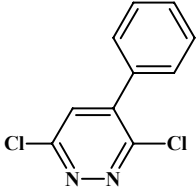
Rendement : 79 %.

Rf : 0.43 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Chauffer une solution de 2,3-dihydrophthalazine-1,4-dione (6 g, 37.00 mmol) dans $POCl_3$ (150 mL) pendant 18 h. Après retour à t.a., évaporer sous pression réduite puis diluer l'huile dans CH_2Cl_2 (70 mL). Laver à l'eau (150 mL) puis amener à pH 11 par addition d'une solution saturée de $NaHCO_3$. Après extraction au CH_2Cl_2 , sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (5.81 g, 29.20 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.36 (dd, 2H, $J = 3.0, 3.4 \text{ Hz}$), 8.10 (dd, 2H, $J = 3.0, 3.4 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 150.5, 130.7, 128.1, 127.2.

<ul style="list-style-type: none"> 3,6-dichloro-4-phénylpyridazine 59 	
Formule brute : $C_{10}H_6Cl_2N_2$ Masse molaire : $225.07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 93 %.

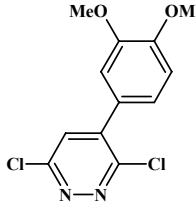
Rf : 0.48 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Chauffer une solution de **58** (4.3 g, 22.85 mmol) dans $POCl_3$ (60 mL) à $100^\circ C$ pendant 3 h. Après retour à t.a., évaporer sous pression réduite puis refroidir à $0^\circ C$ l'huile obtenue. Ajouter de l'eau distillée puis extraire la phase aqueuse à l'AcOEt (2x100mL). Laver à la saumure, joindre les phases organiques, sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous vide. Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (4.80 g, 21.25 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.12 (s, 1H), 7.65-7.60 (m, 2H), 7.59-7.54 (m, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 154.8, 147.3, 132.2, 131.3, 129.5, 128.0.

MS (ES+) m/z : 225, 227 $[M+H]^+$.

<ul style="list-style-type: none"> 3,6-dichloro-4-(3,4-diméthoxyphényl)pyridazine 68 	
Formule brute : $C_{12}H_{10}Cl_2N_2O_2$ Masse molaire : $285.13 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 60 %.

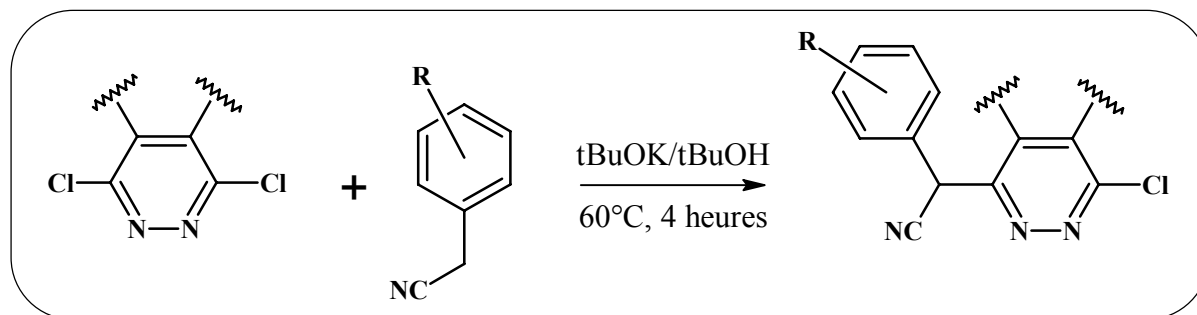
Rf : 0.43 (AcOEt 50 % dans l'heptane + 1 % de AcOH).

Chauffer une solution de **67** (760 mg, 3.06 mmol) dans $POCl_3$ (10 mL) à $100^\circ C$ pendant une nuit. Après retour à t.a., évaporer sous pression réduite puis refroidir à $0^\circ C$ l'huile obtenue. Ajouter de l'eau distillée puis extraire la phase aqueuse à l'AcOEt (2 x 100mL). Laver à la saumure, rassembler les phases organiques, sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous vide. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 25 à 40 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune pâle (520 mg, 1.82 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.52 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz), 7.48 (s, 1H), 7.06 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz), 7.01 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz), 3.89 (s, 6H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 156.8, 155.2, 148.3, 133.8, 133.3, 128.3, 127.1, 117.3, 55.8.

Procédure générale pour la S_NAr du phénylacétonitrile sur un iminochlorure :



A une solution à 60°C de tert-butanolate de potassium (1 M dans tBuOH) (2 éq.) dans le tBuOH (6mL), ajouter une solution à 60°C de l'iminochlorure et de phénylacétonitrile (1 éq) dans le tBuOH (4mL). Chauffer le mélange à 60°C pendant 4 h. Après retour à t.a., ajouter une solution saturée de chlorure d'ammonium (10mL), puis de l'eau distillée(100mL). Extraire au CH_2Cl_2 (2x100mL). Joindre les phases organiques, sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer.

<ul style="list-style-type: none"> (4-chlorophthalazin-1-yl)(phényl)acétonitrile 36a 	
<p>Formule brute : $C_{16}H_{10}ClN_3$</p> <p>Masse molaire : $279.73 \text{ g.mol}^{-1}$</p>	

Rendement : 69 %.

Rf : 0.31 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 40 % dans l'heptane) pour donner un solide orange (554 mg ; 1.98 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.38 (dd, 1H, $J = 0.6, 8.1$ Hz), 8.08 (dd, 1H, $J = 0.6, 8.1$ Hz), 7.99 (dd, 1H, $J = 0.9, 8.1$ Hz), 7.94 (dd, 1H, $J = 0.9, 8.1$ Hz), 7.53-7.48 (m, 2H), 7.40-7.33 (m, 3H), 6.10 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 156.6, 153.2, 136.1, 134.3, 132.3, 130.9, 129.3, 129.0, 127.5, 126.3, 118.3, 42.2.

MS (ES+) m/z 280, 282 $[M+H]^+$.

<ul style="list-style-type: none"> (4-chlorophényl)(4-chlorophthalazin-1-yl)acétonitrile 36b 	
Formule brute : $C_{16}H_9Cl_2N_3$ Masse molaire : $314.17 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 91 %.

Rf : 0.33 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide orange (719 mg, 2.29 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.38 (dd, 1H, $J = 0.7, 8.1$ Hz), 8.05 (dd, 1H, $J = 0.7, 8.1$ Hz), 7.96 (dd, 1H, $J = 1.0, 8.1$ Hz), 7.92 (dd, 1H, $J = 1.0, 8.1$ Hz), 7.45 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.34 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 6.05 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 157.0, 154.7, 135.5, 134.6, 132.5, 131.6, 130.1, 129.1, 126.9, 124.6, 117.5, 42.1.

<ul style="list-style-type: none"> (4-chlorophényl)(6-chloro-4-phénylpyridazin-3-yl)acétonitrile 60 (4-chlorophényl)(6-chloro-5-phénylpyridazin-3-yl)acétonitrile 61 	
Formule brute : $C_{18}H_{11}N_3Cl_2$ Masse molaire : $340.21 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 90 %.

Rf : 0.26 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide orange (1.10 g, 3.57 mmol).

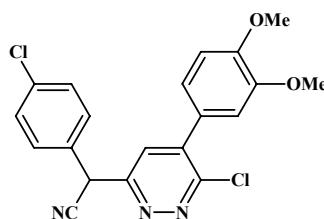
- [6-chloro-5-(3,4-diméthoxyphényl)pyridazin-3-yl](4-chlorophényl)acétonitrile **69**

Formule brute :

$C_{20}H_{15}Cl_2N_3O_2$

Masse molaire :

$400.26 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$



Rendement : 39 %.

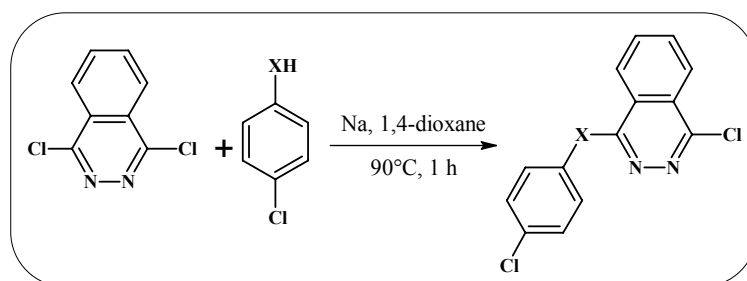
Rf : 0.28 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide orange (271 mg, 0.68 mmol).

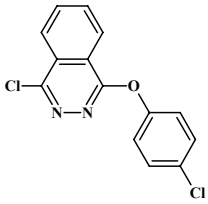
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.57 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz), 7.50-7.38 (m, 4H), 7.06 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz), 7.01 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz), 6.10 (s, 1H), 5.61 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.89 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 158.9, 156.7, 148.2, 133.8, 133.6, 133.3, 131.4, 130.6, 130.2, 128.9, 128.2, 127.1, 117.3, 55.8, 43.5.

Procédure générale pour la synthèse de la phtalazine 39a et 39b.



A une solution de phénol ou thiophénol (1.11 mmol) dans du 1,4-dioxane anhydre (5 mL), ajouter le sodium (1.11 mmol) et chauffer la mixture à 100°C jusqu'à dissolution complète du sodium. Revenir à t.a. puis ajouter **30** (200 mg, 1.00 mmol). Chauffer à 100°C pendant 1 h puis filtrer à chaud. Diluer dans AcOEt, laver à l'eau distillée et au NaCl sat.. Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer.

<ul style="list-style-type: none"> 1-chloro-4-(4-chlorophénoxy)phthalazine 39a 	
Formule brute : $C_{14}H_8Cl_2N_2O$ Masse molaire : $291.14 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 85 %.

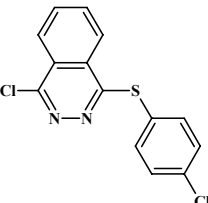
Rf : 0.35 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 25 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (250 mg, 0.86 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.42 (dd, 1H, $J = 4.3, 9.4$ Hz), 8.27 (dd, 1H, $J = 4.3, 9.4$ Hz), 8.04 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz), 7.42 (d, 2H, $J = 9.4$ Hz), 7.28 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 156.2, 151.9, 134.2, 133.8, 131.3, 130.1, 128.6, 125.8, 124.0, 123.4, 121.77.

LC / MS : $t_r = 0.311$; (M+H) 292.9.

<ul style="list-style-type: none"> 1-chloro-4-[(4-chlorophényl)thio]phthalazine 39b 	
Formule brute : $C_{14}H_8Cl_2N_2S$ Masse molaire : $307.20 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 65 %.

Rf : 0.42 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

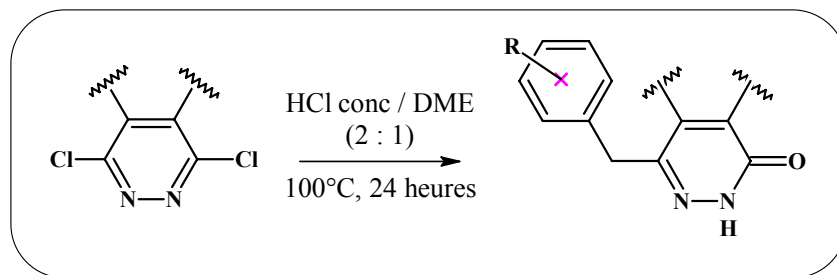
Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 25 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (200 mg, 0.65 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.37 (dd, 1H, $J = 4.2, 9.4$ Hz), 8.31 (dd, 1H, $J = 4.2, 9.4$ Hz), 8.04 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz), 7.45 (d, 2H, $J = 9.4$ Hz), 7.31 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 158.4, 150.8, 134.1, 133.8, 131.3, 130.4, 128.3, 127.3, 125.1, 123.4, 121.8.

LC / MS : $t_r = 0.321$; (M+H) 308.9.

Procédure générale pour la synthèse des phthalazones 37-b, des pyridazones 62, 63 et 70 :



A une solution de nitrile dans le DME (20 mL), ajouter de l'HCl conc. (10 mL). Chauffer à 100°C pendant 24 h. Revenir à ta. Extraire à l'AcOEt (3 x 20 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer.

<ul style="list-style-type: none">4-benzylphthalazin-1(2H)-one 37a	
Formule brute : C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	
Masse molaire : 236.27g.mol ⁻¹	

Rendement : 62 %.

Rf : 0.33 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Recristalliser dans l'éthanol et sécher sous vide pour donner un solide blanc (260 mg, 1.10 mmol).

RMN ¹H (200 MHz, DMSO) : 12.55 (bs, 1H), 8.22 (dd, 1H, *J* = 1.8, 7.8 Hz), 8.01-7.85 (m, 2H), 7.83-7.71 (m, 2H), 7.29-7.15 (m, 4H), 4.26 (s, 2H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO) : 162.1, 143.4, 137.9, 137.7, 133.8, 131.5, 131.1, 130.3, 128.7, 127.4, 127.2, 41.2.

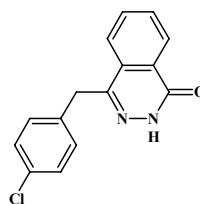
- 4-(4-chlorobenzyl)phthalazin-1(2H)-one **37b**

Formule brute :

$C_{15}H_{11}ClN_2O$

Masse molaire :

$270.72 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 58 %.

Rf : 0.33 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Recristalliser dans l'éthanol et sécher sous vide pour donner un solide blanc (500 mg, 1.85 mmol).

RMN 1H (200 MHz, DMSO) : 12.55, 8.22 (dd, 2H, $J = 2.3, 7.6$ Hz), 7.99-7.71 (m, 4H), 7.33-7.28 (m, 3H), 4.27 (s, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) : 162.4, 143.3, 138.1, 137.3, 133.9, 131.4, 131.0, 130.5, 128.5, 127.6, 127.0, 40.9.

LC / MS : $t_r = 0.264$; (M+H) 271.0

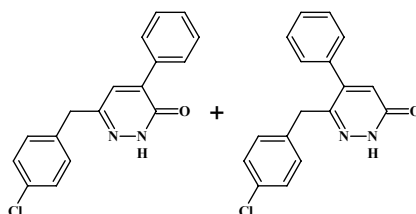
- 6-(4-chlorobenzyl)-4-phénylpyridazin-3(2H)-one **62**
6-(4-chlorobenzyl)-5-phénylpyridazin-3(2H)-one **63**

Formule brute :

$C_{17}H_{13}ClN_2O$

Masse molaire :

$296.76 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 93 %.

Rf : 0.26 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 10 % dans CH_2Cl_2) pour donner une poudre blanche (710 mg, 2.13 mmol).

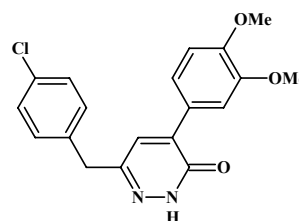
- 6-(4-chlorobenzyl)-4-(3,4-diméthoxyphenyl)pyridazin-3(2H)-one **70**

Formule brute :

$C_{19}H_{17}ClN_2O_3$

Masse molaire :

356.81 $g \cdot mol^{-1}$



Rendement : 49 %.

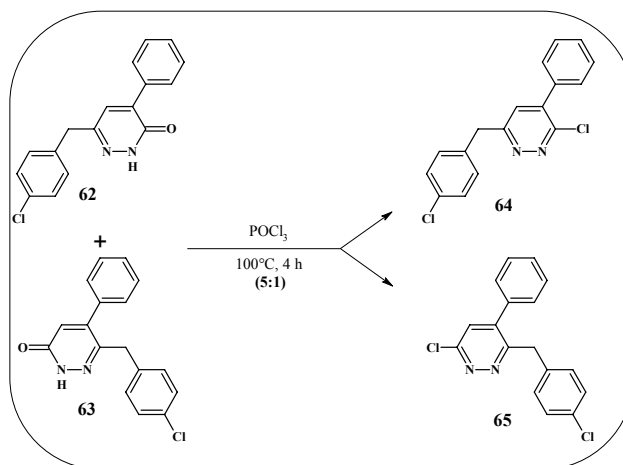
Rf : 0.13 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 10 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide jaune (118 mg, 0.33 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 12.90 (bs, 1H), 7.61 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz), 7.50-7.38 (m, 4H), 7.11 (d, 1H, $J = 2.2$ Hz), 7.01 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz), 6.10 (s, 1H), 4.02 (s, 2H), 3.91 (s, 3H), 3.89 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.3, 150.1, 148.2, 134.0, 133.1, 133.0, 131.6, 130.9, 130.4, 129.1, 128.0, 127.4, 117.7, 55.9, 43.3.

Procédure de purification des pyridazines **64** et **65**.



Chauffer une solution du mélange **62** et **63** (700 mg, 2.36 mmol) dans $POCl_3$ (25 mL) à $100^\circ C$ pendant 4 h. Evaporer à sec dans la glace et reprendre dans l'AcOEt. Diluer dans AcOEt (40 mL) et ajouter de l'eau distillée (20 mL). Extraire à l'AcOEt (2 x 30 mL). Laver à NaCl sat. Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 40 % dans l'heptane) pour donner 558 mg de **64** (huile jaune pâle, 558 mg, 1.77 mmol) et 110 mg de **65** (huile jaune pâle, 110 mg, 0.35 mmol), soit un rendement global de 90 %.

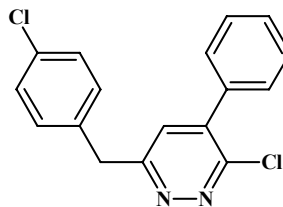
- 3-chloro-6-(4-chlorobenzyl)-4-phénylpyridazine **64**

Formule brute :

$C_{17}H_{12}Cl_2N_2$

Masse molaire :

315.20 g.mol⁻¹



Rendement : 75 %.

Rf : 0.27 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.49-7.38 (m, 5H), 7.29 (s, 1H), 7.26-7.18 (m, 4H), 4.30 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.5, 154.5, 141.1, 136.7, 134.7, 133.3, 130.9, 130.1, 129.4, 129.2, 128.4, 41.4.

LC / MS : t_r = 0.314 ; (M+H) 316.9.

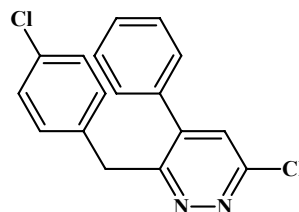
- 6-chloro-3-(4-chlorobenzyl)-4-phénylpyridazine **65**

Formule brute :

$C_{17}H_{12}Cl_2N_2$

Masse molaire :

315.20 g.mol⁻¹



Rendement : 15 %.

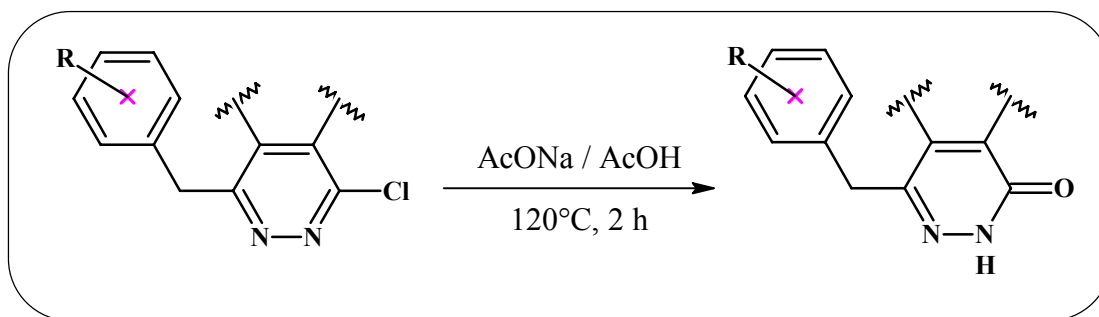
Rf : 0.39 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.49-7.40 (m, 3H), 7.33 (s, 1H), 7.16-7.06 (m, 4H), 6.85 (d, 2H, J=8.5 Hz), 4.28 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 160.0, 155.8, 143.7, 136.6, 135.3, 132.8, 130.5, 129.8, 129.3, 128.9, 128.7, 41.4.

LC / MS : t_r = 0.320 ; (M+H) 316.9.

Procédure générale d'hydrolyse d'iminochlorure :



A un mélange d'iminochlorure dans l'acide acétique glacial, ajouter l'acétate de sodium (0.3 éq.). Chauffer à 120°C pendant 2 h. Après retour à ta, évaporer à sec et reprendre dans CH₂Cl₂. Laver à l'eau distillée puis NaCl sat. Extraire les phases aqueuses au CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Sécher la phase organique sur Na₂SO₄, filtrer, évaporer sous pression réduite.

<ul style="list-style-type: none">4-(4-chlorophénoxy)phthalazin-1(2H)-one 40a	
Formule brute : C ₁₄ H ₉ ClN ₂ O ₂	
Masse molaire : 272.69 g.mol ⁻¹	

Rendement : 76 %.

Rf : 0.18 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 1 à 10 % dans CH₂Cl₂) pour obtenir un solide blanc (150 mg, 0.55 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) : 12.32 (bs, 1H), 8.32 (dd, 2H, *J* = 4.0, 7.5 Hz), 7.85 (dd, 2H, *J* = 4.0, 7.5 Hz), 7.67 (d, 2H, *J* = 7.8 Hz), 7.39 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz), 7.29 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz).

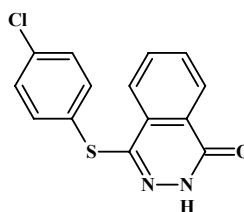
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) : 158.9, 152.5, 149.3, 133.8, 132.2, 130.9, 129.6, 129.4, 128.1, 124.47, 123.3, 122.9.

LC / MS : *t_r* = 0.261 ; (M+H) 274.0.

- 4-[(4-chlorophényl)thio]phthalazin-1(2H)-one **40b**

Formule brute :
C₁₄H₉ClN₂OS

Masse molaire :
288.76g.mol⁻¹



Rendement : 72 %.

Rf : 0.20 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 1 à 10 % dans CH₂Cl₂) pour obtenir un solide blanc (135 mg, 0.47 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) : 12.26 (bs, 1H), 8.39 (dd, 2H, *J* = 3.8, 7.7 Hz), 7.9 (dd, 2H, *J* = 3.8, 7.7 Hz), 7.79 (d, 2H, *J* = 7.8 Hz), 7.35 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz), 7.26 (d, 1H, *J* = 8.5 Hz).

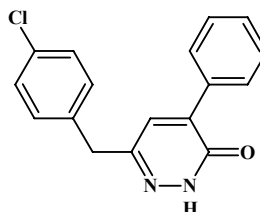
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) : 159.1, 155.2, 143.7, 137.8, 135.2, 134.2, 133.4, 132.6, 132.7, 129.9, 127.2, 125.4, 125.5.

LC / MS : t_r = 0.271 ; (M+H) 290.9.

- 6-(4-chlorobenzyl)-4-phénylpyridazin-3(2H)-one **63**

Formule brute :
C₁₇H₁₃ClN₂O

Masse molaire :
296.76 g.mol⁻¹



Rendement : 93 %.

Rf : 0.17 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 1 à 10 % dans CH₂Cl₂) pour obtenir un solide blanc (610 mg, 2.06 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) : 13.01 (bs, 1H), 7.82 (dd, 2H, *J* = 2.3, 7.5 Hz), 7.56 (s, 1H), 7.46-7.41 (m, 3H), 7.39-7.31 (m, 4H), 3.94 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) : 160.0, 147.5, 138.7, 137.7, 134.0, 131.6, 131.1, 130.3, 129.7, 128.9, 128.5, 43.2.

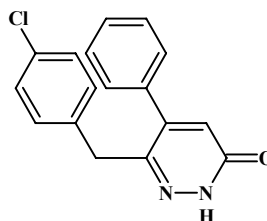
- 6-(4-chlorobenzyl)-5-phénylpyridazin-3(2H)-one **64**

Formule brute :

$C_{17}H_{13}ClN_2O$

Masse molaire :

$296.76 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 91 %.

Rf : 0.16 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 10 % dans CH_2Cl_2) pour obtenir un solide blanc (120 mg, 0.40 mmol).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) : 12.94 (bs, 1H), 7.77-65 (m, 2H), 7.49 (s, 1H), 7.42-7.29 (m, 3H), 7.24.-7.11 (m, 4H), 3.98 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) : 162.4, 148.1, 137.9, 137.7, 135.1, 133.6, 132.5, 130.9, 129.2, 128.4, 128.1, 43.1.

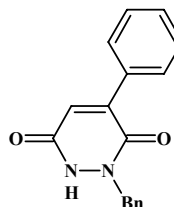
- 1-benzyl-5-phényl-1,2-dihydropyridazine-3,6-dione **73**

Formule brute :

$C_{17}H_{14}N_2O_2$

Masse molaire :

$278.31 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 99 %.

Rf : 0.35 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de **72** (500 mg, 1.78 mmol) dans DME (8 mL) sous Ar, ajouter successivement l'acide benzèneboronique (260 mg, 2.13 mmol), le carbonate de sodium (377 mg, 3.56 mmol) puis l'eau distillée (2 mL). Dégazer 5 minutes à l'argon et ajouter $Pd(PPh_3)_4$ (103 mg, 0.09 mmol). Irradier le mélange aux micro-ondes pendant 20 min à $160^\circ C$. Diluer dans AcOEt (30 mL), laver à l'eau et NaCl sat. Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 25 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (490 mg, 1.76 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 9.06 (bs, 1H), 7.81-7.74 (m, 2H), 7.48-7.42 (m, 5H), 7.35-7.29 (m, 3H), 7.09 (s, 1H), 5.23 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.1, 154.0, 144.9, 136.9, 136.4, 134.4, 133.5, 130.7, 129.6, 129.4, 129.3, 129.2, 128.7, 123.2, 55.5.

LC / MS : $t_r = 0.244$; (M+H) 279.0.

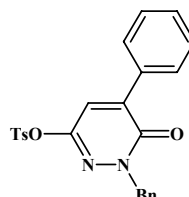
- 2-benzyl-4-phényl-6-tosyl-pyridazin-3-one **74**

Formule brute :

$C_{24}H_{20}N_2O_4S$

Masse molaire :

$432.50 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 92 %.

Rf : 0.36 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

A une solution à 0°C de **73** (450 mg, 1.62 mmol) dans la pyridine (5 mL) sous Ar, ajouter le chlorure de tosyloxy (617 mg, 3.23 mmol) et laisser revenir à t.a. Laisser agiter une nuit. Evaporer sous pression réduite et reprendre dans AcOEt (20 mL). Laver avec une solution aqueuse de $CuSO_4$ 10 % et NaCl sat. Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (644 mg, 1.49 mmol).

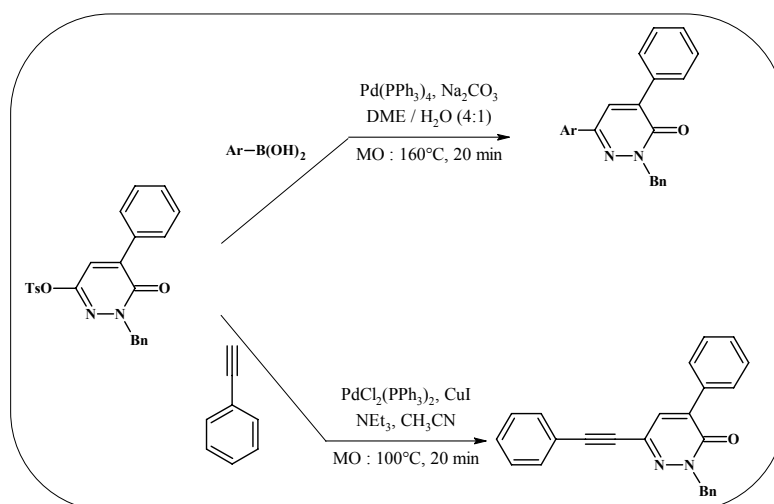
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.81 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.80-7.73 (m, 2H), 7.50-7.43 (m, 3H), 7.33 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz), 7.31-7.25 (m, 6H), 5.15 (s, 2H), 2.49 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 158.3, 154.3, 146.5, 136.8, 136.1, 135.4, 133.5, 130.5, 130.2, 129.2, 129.1, 129.0, 128.7, 128.6, 123.3, 55.1, 22.2.

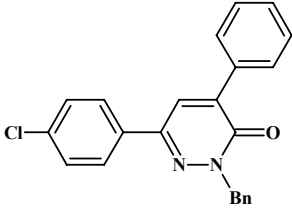
LC / MS : $t_r = 0.304$; (M+H) 433.0

ESI-HRMS calculée pour $C_{24}H_{21}N_2O_4S$ [M+H] $^+$ 433.1152, trouvée 433.1148.

Procédure générale de couplage de Suzuki-Miyaura sur l'iminosyle.



A une solution de **74** dans le DME sous Ar, ajouter successivement l'acide boronique (1.2 éq.), le carbonate de sodium (2 éq.) puis l'eau distillée. Dégazer 5 minutes à l'argon et ajouter $Pd(PPh_3)_4$ (0.05 éq.). Irradier le mélange aux micro-ondes pendant 20 min à 160°C. Diluer dans AcOEt, laver à l'eau et NaCl sat. Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer.

<ul style="list-style-type: none"> 2-benzyl-6-(4-chlorophényl)-4-phénylpyridazin-3-one 75a 	
Formule brute : $C_{23}H_{17}ClN_2O$ Masse molaire : $372.85 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 93 %.

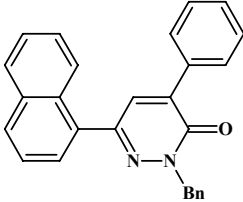
Rf : 0.53 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 30 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (241 mg, 0.65 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.89-7.85 (m, 2H), 7.83-7.79 (m, 2H), 7.72 (s, 1H), 7.65-7.61 (m, 2H), 7.50-7.44 (m, 5H), 7.42-7.34 (m, 3H), 5.52 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.5, 143.8, 140.6, 136.7, 135.9, 134.5, 134.0, 130.1, 129.5, 129.2, 129.1, 128.9, 128.4, 127.7, 126.6, 56.8.

LC / MS : $t_r = 1.647$; (M+H) 373.0.

<ul style="list-style-type: none"> 2-benzyl-6-(1-naphthyl)-4-phénylpyridazin-3-one 75b 	
Formule brute : $C_{27}H_{20}N_2O$ Masse molaire : $388.47 \text{ g.mol}^{-1}$	

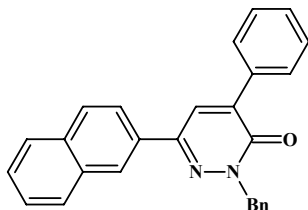
Rendement : 95 %.

Rf : 0.56 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 35 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (85 mg, 0.22 mmol).

RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$) : 8.09 (d, 1H, $J = 7.3 \text{ Hz}$), 8.04-7.85 (m, 5H), 7.68 (s, 1H), 7.63-7.53 (m, 4H), 7.52-7.39 (m, 7H), 5.62 (s, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) : 159.6, 146.6, 140.1, 136.9, 134.4, 134.1, 131.2, 131.0, 130.2, 130.1, 129.7, 129.3, 129.1, 128.9, 128.5, 127.7, 127.4, 126.7, 125.8, 125.5, 56.7.

<ul style="list-style-type: none"> 2-benzyl-6-(2-naphthyl)-4-phénylpyridazin-3-one 75c 	
Formule brute : $C_{27}H_{20}N_2O$ Masse molaire : $388.47\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

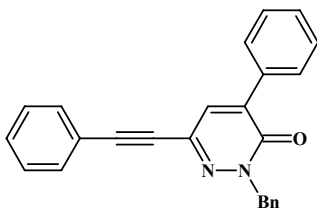
Rendement : 98 %.

Rf : 0.57 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 35 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (88 mg, 0.23 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 8.26 (s, 1H), 8.12 (d, 1H, $J = 7.1$ Hz), 8.02-7.84 (m, 6H), 7.76-7.64 (m, 2H), 7.63-7.48 (m, 5H), 7.47-7.35 (m, 3H), 5.59 (s, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) : 159.7, 144.8, 142.3, 140.5, 136.9, 134.7, 134.0, 133.7, 132.9, 130.0, 129.6, 129.3, 129.1, 128.9, 128.4, 128.2, 127.4, 127.1, 125.7, 123.8, 56.8.

<ul style="list-style-type: none"> 2-benzyl-4-phenyl-6-(phényléthynyl)pyridazin-3-one 76 	
Formule brute : $C_{25}H_{18}N_2O$ Masse molaire : $362.44\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 80 %.

Rf : 0.41 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution de **74** (600 mg, 1.39 mmol) dans le CH_3CN (5 mL) sous Ar, ajouter successivement $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (49 mg, 0.07 mmol) le phénylacétylène (183 μL , 1.67 mmol) et la triéthylamine (672 μL , 4.92 mmol) puis l'eau distillée. Dégazer 5 minutes à l'Argon et ajouter CuI (11 mg, 0.06 mmol). Irradier le mélange aux micro-ondes pendant 20 min à 120°C . Diluer dans AcOEt, laver à l'eau et NaCl sat. Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 25 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (400 mg, 1.10 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 7.84-7.79 (m, 2H), 7.63-7.54 (m, 5H), 7.48-7.33 (m, 9H), 5.45 (s, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) : 159.7, 143.4, 141.6, 140.9, 136.3, 136.2, 134.9, 134.4, 130.8, 129.4, 129.3, 129.0, 128.7, 128.6, 127.9, 126.3, 84.1, 78.6, 56.7.

LC / MS : $t_r = 3.896$; (M+H) 363.0.

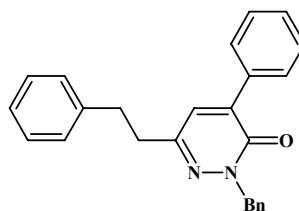
- 2-benzyl-4-phényl-6-(2-phényléthyl)pyridazin-3-one **77**

Formule brute :

$C_{25}H_{22}N_2O$

Masse molaire :

$366.46 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 57 %.

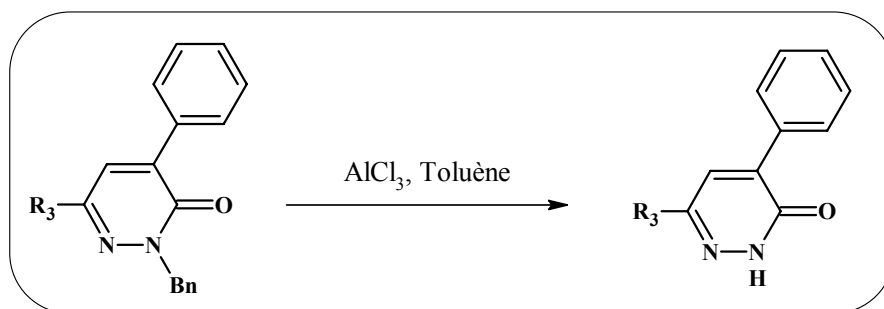
Rf : 0.71 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

A une solution de **41** (350 mg, 0.97 mmol) dans CH_3OH (5 mL), ajouter AcOH (1 mL) et Pd/C (35 mg, 0.10 mmol). Placer sous atmosphère de H_2 pendant la nuit (60 psi). Filtrer le mélange sur célite et évaporer à sec. Reprendre dans l'AcOEt et laver à l'eau puis NaCl sat. Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 25 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (200 mg, 0.55 mmol)

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.83-7.77 (m, 2H), 7.56 (d, 2H, $J = 7.5 \text{ Hz}$), 7.49-7.44 (m, 3H), 7.42-7.36 (m, 4H), 7.34-7.24 (m, 4H), 7.11 (s, 1H), 5.46 (s, 2H), 3.14-3.00 (q, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.5, 143.1, 141.3, 141.0, 136.8, 136.5, 134.3, 134.1, 131.8, 129.7, 129.1, 129.0, 128.5, 128.2, 128.1, 126.0, 56.7, 40.5, 31.7.

Procédure générale de déprotection de pyridazinone :



A une solution sous argon de pyridazinone N-benzylée dans le toluène (5 mL), ajouter $AlCl_3$ (2 éq.). Irradier au MO 5 min à $140^\circ C$. Diluer dans AcOEt. Laver à l'eau puis NaCl sat. Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer.

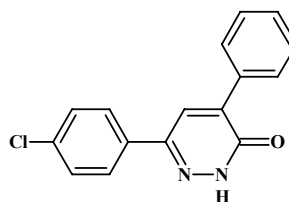
- 6-(4-chlorophényl)-4-phénylpyridazin-3(2H)-one **80**

Formule brute :

$C_{16}H_{11}ClN_2O$

Masse molaire :

$282.73 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$



Rendement : 99 %.

Rf : 0.43 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (149 mg, 0.53 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO) : 13.40 (bs, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.05-7.95 (m, 4H), 7.59-7.43 (m, 5H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) : 160.1, 143.9, 139.0, 134.3, 134.1, 129.8, 129.2, 128.5, 128.1, 127.5.

LC / MS : $t_r = 0.275$; (M+H) 283.0.

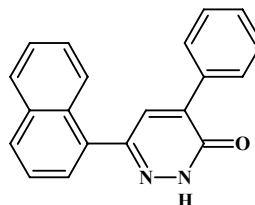
- 6-(1-naphthyl)-4-phénylpyridazin-3(2H)-one **81**

Formule brute :

$C_{20}H_{14}N_2O$

Masse molaire :

$298.34 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$



Rendement : 93 %.

Rf : 0.43 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 80 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (57 mg, 0.19 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, DMSO) : 13.17 (bs, 1H), 8.12-7.89 (m, 4H), 7.63 (s, 1H), 7.64-7.57 (m, 3H), 7.55-7.41 (m, 5H).

RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) : 159.3, 146.7, 140.1, 136.9, 134.2, 131.6, 130.7, 129.9, 129.0, 128.2, 127.3, 126.2, 125.2, 124.3.

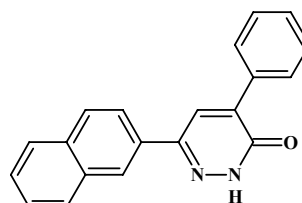
- 6-(2-naphthyl)-4-phénylpyridazin-3(2H)-one **82**

Formule brute :

C₂₀H₁₄N₂O

Masse molaire :

298.34 g.mol⁻¹



Rendement : 98 %.

Rf : 0.50 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 1 à 5 % dans CH₂Cl₂) pour donner un solide blanc (60 mg, 0.20 mmol).

RMN ¹H (200 MHz, DMSO) : 13.22 (bs, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.12-7.94 (m, 4H), 7.80-7.71 (m, 2H), 7.68-7.59 (m, 3H), 7.49-7.37 (m, 3H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO) : 159.5, 144.5, 141.2, 136.7, 134.2, 133.0, 131.4, 130.1, 129.2, 129.0, 128.5, 127.8, 125.3, 123.9.

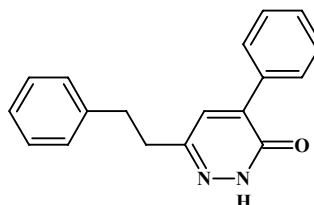
- 4-phényl-6-(2-phényléthyl)pyridazin-3(2H)-one **83**

Formule brute :

C₁₈H₁₆N₂O

Masse molaire :

276.34 g.mol⁻¹



Rendement : 73 %.

Rf : 0.39 (MeOH 5 % dans CH₂Cl₂).

A une suspension sous argon d'AlCl₃ (364 mg, 2.73 mmol) dans le toluène, ajouter **777** (200 mg, 0.55 mmol). Chauffer à 110°C pendant une nuit. Evaporer à sec. Reprendre dans l'AcOEt, laver à l'eau distillée et NaCl sat. Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer. Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 1 à 5 % dans CH₂Cl₂) pour donner un solide blanc (110 mg, 0.40 mmol).

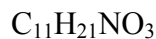
RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) : 11.33 (bs, 1H), 7.84-7.70 (m, 2H), 7.52-7.42 (m, 3H), 7.36-7.20 (m, 5H), 7.13 (s, 1H), 3.11-2.94 (m, 4H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) : 160.1, 143.4, 140.9, 140.2, 136.4, 134.7, 131.3, 129.6, 128.9, 128.4, 126.3, 40.4, 31.5.

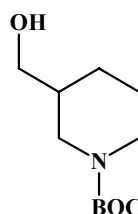
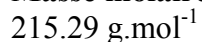
LC / MS : t_r = 0.269 ; (M+H) 277.0.

- 3-(hydroxyméthyl)pipéridine-1-carboxylate de *tert*-butyle **43**

Formule brute :



Masse molaire :



Rendement : 64 %.

Rf : 0.37 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

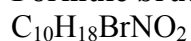
A une solution de 3-(hydroxyméthyl)pipéridine (2.0 g, 19.4 mmol) dans un mélange AcOEt (20 ml) et THF (10 ml), ajouter à t.a. le di-*tert*-butyl dicarbonate (4.23 g, 19.4 mmol). Agiter le mélange pendant une nuit. Evaporer à sec. Reprendre dans l'AcOEt, laver avec une solution aqueuse de NH_4Cl sat. et $NaCl$ sat. Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 80 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (4.17 g, 11.05 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 3.80-3.72 (m, 1H), 3.48 (d, 2H, $J = 6.6$ Hz), 3.10-2.78 (m, 2H), 2.47 (bs, 1H), 1.84-1.55 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.40-1.12 (m, 2H).

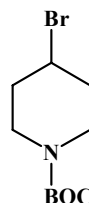
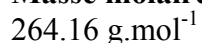
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 155.1, 85.3, 79.6, 64.7, 38.6, 28.7, 27.6, 27.3, 24.5.

- 4-bromopipéridine-1-carboxylate de *tert*-butyle **164**

Formule brute :



Masse molaire :



Rendement : 95 %.

Rf : 0.45 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

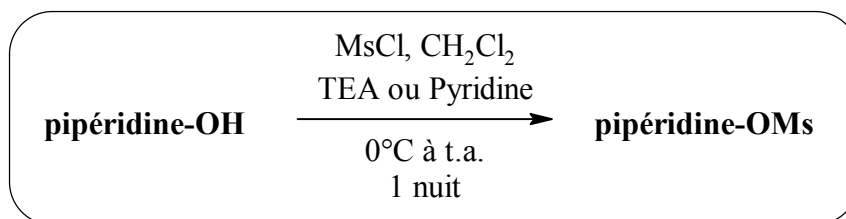
A une solution sous argon de bromhydrate de 4-bromopipéridine (500 mg, 2.04 mmol) dans le THF (4 mL), ajouter la triéthylamine (988 μL , 7.14 mmol), puis le di-*tert*-butyl dicarbonate (490 μL , 2.24 mmol). Agiter à t.a. pendant 6 h. Evaporer à sec et reprendre dans Et_2O . Laver à l'eau puis HCl (1N) et $NaCl$ sat. Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer pour donner une huile incolore (510 mg, 1.93 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 4.27-4.10 (m, 1H), 3.57-3.43 (m, 2H), 3.19-3.07 (m, 2H), 1.95-1.84 (m, 2H), 1.79-1.67 (m, 2H), 1.28 (s, 9H).

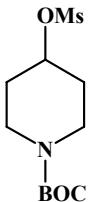
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 154.6, 79.8, 49.7, 42.4, 35.9, 28.6.

LC / MS : $t_r = 0.305$; (M-BOC) 165.9.

Procédure générale de mésylation des hydroxypipéridines :



A une solution sous Ar d'hydroxypipéridine dans CH_2Cl_2 (10 mL), ajouter la pyridine (4.8 éq.). Refroidir à 0°C puis ajouter le chlorure de méthanesulfonyle (1.6 éq.). Laisser revenir lentement à t.a. pendant une nuit. Diluer dans AcOEt (20 mL) et laver avec une solution aqueuse de CuSO_4 10 % puis NaCl sat. Extraire la phase aqueuse au AcOEt (3 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer pour donner une poudre blanche.

<ul style="list-style-type: none">4-[(méthylsulfonyl)oxy]pipéridine-1-carboxylate de <i>tert</i>-butyle 44	
Formule brute : $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$	
Masse molaire : $279.36 \text{ g.mol}^{-1}$	

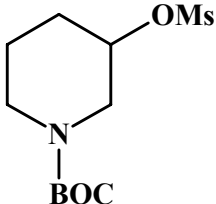
Rendement : 97 %.

Rf : 0.44 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Sécher sous vide pour donner un solide jaune pâle (1.34 g, 4.80 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 4.95-4.84 (m, 1H), 3.77-3.67 (m, 2H), 3.37-3.26 (m, 2H), 3.05 (s, 3H), 2.03-1.93 (m, 2H), 1.89-1.79 (m, 2H), 1.47 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 154.2, 84.3, 79.7, 42.3, 36.1, 28.5.

<ul style="list-style-type: none">3-[(méthylsulfonyl)oxy]pipéridine-1-carboxylate de <i>tert</i>-butyle 45	
Formule brute : $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{NO}_5\text{S}$	
Masse molaire : $279.36 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 99 %.

Rf : 0.82 (AcOEt).

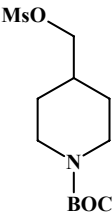
Sécher sous vide pour donner un solide blanc (685 mg, 2.45 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 4.72-4.58 (m, 1H), 3.56 (d, 2H, $J = 8.4 \text{ Hz}$), 3.37-3.19 (m, 2H), 2.99 (s, 3H), 1.92-1.72 (m, 4H), 1.40 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 154.1, 79.9, 75.2, 43.6, 38.3, 28.4.

Procédure générale de méthylation des hydroxyméthylpipéridines :

A une solution sous Ar d'hydroxyméthylpipéridine (500 mg, 2.32 mmol) dans CH₂Cl₂ (10 mL), ajouter la triéthylamine (353 µL, 2.55 mmol). Refroidir à 0°C puis ajouter le chlorure de méthanesulfonyle (216 µL, 2.79 mmol.). Agiter en laissant revenir lentement à t.a. pendant une nuit. Diluer dans CHCl₃ (20 mL) et laver à l'eau distillée. Extraire la phase aqueuse au CHCl₃ (3 x 10 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer pour donner une huile incolore.

• 4-[[méthylsulfonyl]oxy]méthyl]pipéridine-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyle 46	
Formule brute : C ₁₂ H ₂₃ NO ₅ S	
Masse molaire : 293.38 g.mol ⁻¹	

Rendement : 94 %.

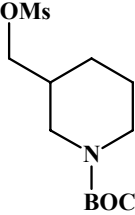
Rf : 0.37 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Placer au réfrigérateur pour récupérer un solide jaune pâle (640 mg, 2.18 mmol)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 3.87-.79 (m, 1H), 3.56-3.54 (m, 2H), 3.46 (d, 2H, *J* = 6.7 Hz), 3.35-3.20 (m, 2H), 3.03 (s, 3H), 2.07-1.90 (m, 2H), 1.91-1.80 (m, 2H), 1.45 (s, 9H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 154.4, 73.9, 55.5, 52.7, 37.4, 34.9, 28.1, 26.9, 24.1.

LC / MS : *t_r* = 0.245 ; (M-BOC) 194.0.

• 3-[[méthylsulfonyl]oxy]méthyl]pipéridine-1-carboxylate de <i>tert</i> -butyle 47	
Formule brute : C ₁₂ H ₂₃ NO ₅ S	
Masse molaire : 293.38 g.mol ⁻¹	

Rendement : 95 %.

Rf : 0.43 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

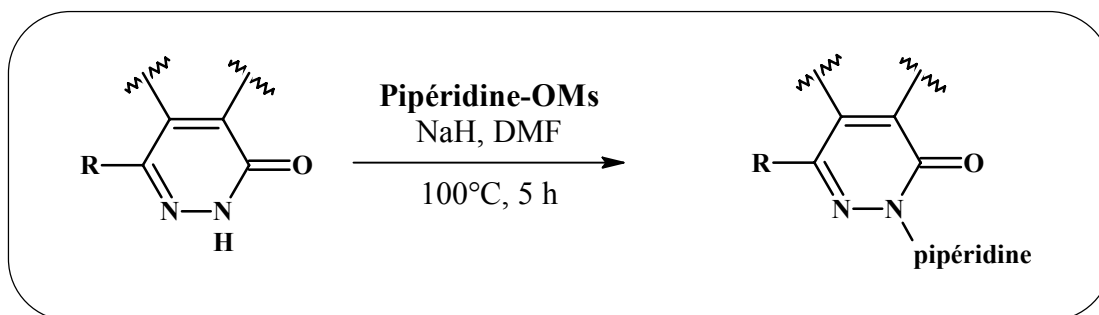
Placer au réfrigérateur pour récupérer un solide jaune pâle (650 mg, 2.22 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 3.85-3.73 (m, 1H), 3.49 (d, 2H, *J* = 6.8 Hz), 3.03 (s, 3H), 2.95-2.82 (m, 2H), 1.91-1.58 (m, 4H), 1.43 (s, 9H), 1.36-1.14 (m, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 154.6, 73.6, 55.3, 52.5, 37.6, 35.0, 28.1, 26.7, 24.0.

LC / MS : *t_r* = 0.257 ; (M-BOC) 194.0.

Procédure générale d'alkylation des amides hétérocycliques :



A une solution sous Ar à 0°C d'amide dans le DMF (5 mL), ajouter l'hydrure de sodium (1.2 éq.). Agiter 5 min puis ajouter la pipéridine (1.2 éq.). Laisser revenir la solution à t.a. puis chauffer à 100°C pendant 5 h. Après retour à t.a., évaporer à sec puis reprendre dans AcOEt (20 mL). Laver à l'eau distillée (10 mL) et NaCl sat. (10 mL). Extraire la phase aqueuse à AcOEt (2 x 20mL). Sécher les phases organiques sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer.

<ul style="list-style-type: none">4-[4-benzyl-1-oxophthalazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 48a	
Formule brute : C ₂₅ H ₂₉ N ₃ O ₃	
Masse molaire : 419.52 g.mol ⁻¹	

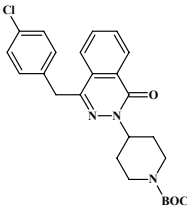
Rendement : 99 %.

Rf : 0.53 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 50 % dans l'heptane) pour donner une mousse beige (350 mg, 0.83 mmol).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) : 8.45-8.36 (m, 1H), 7.71-7.58 (m, 3H), 7.20-7.10 (m, 5H), 5.22-5.01 (m, 1H), 4.20 (s, 2H), 2.87-2.73 (m, 2H), 2.07-1.87 (m, 4H), 1.72-1.59 (m, 2H), 1.41 (s, 9H).

RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) : 157.4, 154.3, 142.2, 135.5, 131.6, 131.3, 130.7, 128.3, 127.4, 127.2, 127.1, 126.1, 126.1, 124.9, 123.3, 79.8, 53.4, 50.1, 37.5, 29.1, 28.3.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[4-(4-chlorobenzyl)-1-oxophthalazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 48b 	
Formule brute : $C_{25}H_{28}ClN_3O_3$ Masse molaire : $453.97 \text{ g.mol}^{-1}$	

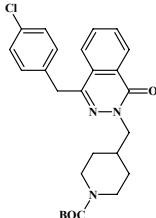
Rendement : 98 %.

Rf : 0.51 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 50 % dans l'heptane) pour donner une mousse beige (330 mg, 0.73 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 8.54-8.46 (m, 1H), 7.82-7.71 (m, 3H), 7.35-7.24 (m, 4H), 5.33-5.13 (m, 1H), 4.30 (s, 2H), 3.00-2.84 (m, 2H), 1.95-1.83 (m, 4H), 1.72-1.63 (m, 2H), 1.47 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) : 158.1, 154.8, 142.2, 135.3, 132.2, 131.7, 131.5, 130.3, 128.6, 127.7, 127.4, 127.2, 126.6, 124.9, 123.6, 79.7, 53.6, 50.1, 37.6, 28.9, 28.3.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[4-(4-chlorobenzyl)-1-oxophthalazin-2-yl]-4-méthylpipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 48c 	
Formule brute : $C_{26}H_{30}ClN_3O_3$ Masse molaire : $468.00 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 52 %.

Rf : 0.46 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 35 % dans l'heptane) pour donner une mousse beige (45 mg, 0.10 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.49-8.38 (m, 1H), 7.85-7.70 (m, 3H), 7.34-7.19 (m, 4H), 5.61-5.42 (m, 1H), 3.91-3.75 (m, 4H), 3.52-3.40 (m, 2H), 3.00-2.92 (m, 2H), 2.03-1.88 (m, 4H), 1.43 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 157.9, 154.6, 154.1, 142.3, 135.9, 132.5, 131.8, 131.5, 130.7, 128.5, 128.1, 127.5, 126.3, 124.3, 123.1, 79.8, 55.1, 52.7, 37.3, 34.6, 28.5, 28.1, 26.9.

<ul style="list-style-type: none"> 3-[4-(4-chlorobenzyl)-1-oxophthalazin-2-yl]-3-méthylpipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 48d 	
Formule brute : $C_{26}H_{30}ClN_3O_3$ Masse molaire : $468.00 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 53 %.

Rf : 0.46 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 35 % dans l'heptane) pour donner une mousse beige (46 mg, 0.11 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.49-8.41 (m, 1H), 8.30-8.21 (m, 1H), 7.99-7.94 (m, 2H), 7.88-7.81 (m, 2H), 7.61-7.53 (m, 2H), 4.37-4.25 (m, 2H), 4.17-4.06 (m, 2H), 3.72-3.63 (m, 3H), 2.85-2.79 (m, 2H), 1.99-1.91 (m, 4H), 1.44 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 157.7, 154.5, 154.2, 142.7, 135.6, 132.0, 131.4, 131.3, 130.9, 128.2, 127.8, 127.3, 126.6, 124.7, 123.3, 79.8, 55.8, 53.2, 37.4, 34.5, 28.8, 28.2, 26.5.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[4-phényl-1-oxophthalazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 48e 	
Formule brute : $C_{24}H_{27}N_3O_3$ Masse molaire : $405.49 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 98 %.

Rf : 0.51 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (180 mg, 0.44 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.52 (ddd, 1H, $J = 1.9, 4.4, 7.9 \text{ Hz}$), 7.81-7.70 (m, 3H), 7.61-7.49 (m, 5H), 5.32-5.17 (m, 1H), 4.39-4.14 (m, 2H), 2.99-2.87 (m, 2H), 2.19-2.07 (m, 2H), 1.94-1.82 (m, 2H), 1.45 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.2, 154.2, 146.6, 135.9, 133.3, 131.0, 129.7, 129.5, 128.6, 128.3, 127.9, 126.5, 79.5, 54.5, 46.1, 31.3, 28.6, 28.2.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[4-(4-chlorophénoxy)-1-oxophtalazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 48f 	
Formule brute : $C_{24}H_{26}ClN_3O_4$ Masse molaire : $455.94 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 83 %.

Rf : 0.40 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner une mousse blanche (139 mg, 0.30 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.49-8.38 (m, 1H), 8.12-8.02 (m, 1H), 7.86-7.77 (m, 2H), 7.33 (d, 2H, $J = 8.7 \text{ Hz}$), 7.12 (d, 2H, $J = 8.7 \text{ Hz}$), 5.14-4.94 (m, 1H), 4.26-3.95 (m, 2H), 2.94-2.67 (m, 2H), 1.79-1.57 (m, 4H), 1.42 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 158.6, 155.1, 152.2, 149.6, 133.5, 132.7, 130.6, 129.8, 129.7, 127.9, 124.4, 123.7, 122.7, 80.0, 54.2, 30.3, 30.1, 28.8, 28.1.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[4-(4-chlorothiophényl)-1-oxophtalazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 48g 	
Formule brute : $C_{24}H_{26}ClN_3O_3S$ Masse molaire : $472.01 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 98 %.

Rf : 0.55 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner une mousse blanche (160 mg, 0.34 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.45-8.36 (m, 1H), 7.99-7.85 (m, 2H), 7.84-7.67 (m, 3H), 7.35 (d, 1H, $J = 8.5 \text{ Hz}$), 7.26 (d, 1H, $J = 8.5 \text{ Hz}$), 5.15-4.98 (m, 1H), 4.37-4.05 (m, 2H), 2.98-2.71 (m, 2H), 2.11-1.90 (m, 2H), 1.73-1.60 (m, 2H), 1.44 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 158.8, 154.9, 143.2, 137.9, 134.9, 134.1, 133.7, 132.9, 132.3, 129.6, 127.9, 125.9, 125.2, 80.0, 55.0, 30.6, 30.0, 28.8, 28.3.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[6-(4-chlorobenzyl)-3-oxo-4-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 84a 	
Formule brute : $C_{27}H_{30}ClN_3O_3$ Masse molaire : $480.01 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 65 %.

Rf : 0.51 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 50 % dans l'heptane) pour donner une mousse jaune pâle (210 mg, 0.44 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 7.77-7.68 (m, 2H), 7.48-7.39 (m, 3H), 7.32-7.28 (m, 2H), 7.24-7.17 (m, 2H), 7.11 (s, 1H), 5.26-5.05 (m, 1H), 3.96 (s, 2H), 3.38-3.23 (m, 2H), 2.95-2.79 (m, 2H), 2.00-1.85 (m, 4H), 1.41 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 160.3, 154.6, 147.7, 138.2, 137.5, 134.4, 131.9, 131.3, 131.0, 129.0, 128.9, 128.3, 78.6, 55.3, 46.2, 43.1, 28.7, 28.2.

<ul style="list-style-type: none"> 3-[6-(4-chlorobenzyl)-3-oxo-4-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 84b 	
Formule brute : $C_{27}H_{30}ClN_3O_3$ Masse molaire : $480.01 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 31 %.

Rf : 0.51 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 25 % dans l'heptane) pour donner une mousse jaune pâle (40 mg, 0.08 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.70-7.62 (m, 2H), 7.46-7.36 (m, 3H), 7.30 (d, 2H, $J = 8.2 \text{ Hz}$), 7.23 (d, 2H, $J = 8.2 \text{ Hz}$), 7.09 (s, 1H), 5.12-5.00 (m, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.13-3.00 (m, 2H), 2.85-2.66 (m, 2H), 2.11-2.03 (m, 2H), 1.91-1.82 (m, 2H), 1.44 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 160.2, 154.1, 147.2, 138.9, 137.6, 134.5, 131.2, 131.0, 130.7, 129.9, 128.6, 128.5, 79.5, 43.1, 42.2, 36.0, 28.9, 28.4.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[6-(4-chlorobenzyl)-3-oxo-5-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 84c 	
Formule brute : $C_{27}H_{30}ClN_3O_3$ Masse molaire : $480.01 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 54 %.

Rf : 0.50 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 50 % dans l'heptane) pour donner une mousse jaune pâle (87 mg, 0.18 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 7.56-7.48 (m, 2H), 7.45-7.35 (m, 3H), 7.30-7.21 (m, 3H), 7.15-7.02 (m, 2H), 5.11-4.98 (m, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.42-3.31 (m, 2H), 2.99-2.84 (m, 2H), 2.10-1.98 (m, 4H), 1.45 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 161.4, 154.2, 148.4, 138.1, 137.2, 135.2, 133.5, 131.4, 131.2, 129.3, 128.5, 128.1, 78.2, 55.1, 46.5, 43.1, 28.6, 28.2.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[6-(4-chlorobenzyl)-3,4-diméthoxyphényl-3-oxo-pyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 84d 	
Formule brute : $C_{29}H_{34}ClN_3O_5$ Masse molaire : $540.06 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 62 %.

Rf : 0.59 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 25 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune (110 mg, 0.20 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 7.81-7.75 (m, 2H), 7.35 (s, 1H), 7.38-7.31 (m, 2H), 7.22-7.15 (m, 2H), 7.13 (s, 1H), 5.23-5.09 (m, 1H), 4.14 (s, 3H), 4.12 (s, 3H), 3.99 (s, 2H), 3.34-3.23 (m, 2H), 2.97-2.85 (m, 2H), 2.00-1.89 (m, 4H), 1.43 (s, 9H).

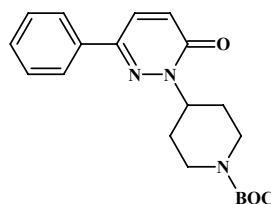
- 4-[3-oxo-6-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle **84e**

Formule brute :

$C_{20}H_{25}N_3O_3$

Masse molaire :

$355.44 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 97 %.

Rf : 0.51 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (200 mg, 0.56 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.74-7.66 (m, 2H), 7.58 (d, 1H, $J = 9.7 \text{ Hz}$), 7.38-7.31 (m, 3H), 6.92 (d, 1H, $J = 9.7 \text{ Hz}$), 5.17-4.95 (m, 1H), 4.30-4.07 (m, 2H), 2.88-2.71 (m, 2H), 2.04-1.84 (m, 4H), 1.40 (s, 9H).

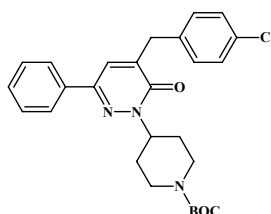
- 4-[4-(4-chlorobenzyl)-3-oxo-6-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle **84f**

Formule brute :

$C_{27}H_{30}ClN_3O_3$

Masse molaire :

$480.01 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 49 %.

Rf : 0.49 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner une mousse jaune pâle (80 mg, 0.17 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.73-7.66 (m, 2H), 7.46-7.39 (m, 4H), 7.34-7.28 (m, 2H), 7.27-7.20 (m, 2H), 5.24-5.09 (m, 1H), 4.39-4.19 (m, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.01-2.83 (m, 2H), 2.14-1.99 (m, 2H), 1.95-1.85 (m, 2H), 1.49 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.8, 154.3, 148.1, 138.0, 137.2, 135.4, 131.1, 130.7, 130.5, 129.3, 128.9, 128.6, 80.1, 51.2, 43.3, 42.6, 36.2, 28.6, 28.1.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[6-(4-chlorophényl)-3-oxo-4-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 84g 	
Formule brute : $C_{26}H_{28}ClN_3O_3$ Masse molaire : $465.98 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	

Rendement : 73 %.

Rf : 0.23 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner une mousse blanche (120 mg, 0.26 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.84-7.79 (m, 2H), 7.76 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.70 (s, 1H), 7.48-7.38 (m, 5H), 5.28-5.16 (m, 1H), 4.39-4.20 (m, 2H), 3.02-2.83 (m, 2H), 2.13-1.91 (m, 4H), 1.47 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.3, 155.1, 143.5, 140.0, 135.8, 134.6, 134.1, 130.0, 129.5, 129.2, 128.8, 127.5, 126.0, 80.1, 56.3, 43.5, 30.9, 28.9, 28.3.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[6-(2-naphtyl)-3-oxo-4-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 84h 	
Formule brute : $C_{30}H_{31}N_3O_3$ Masse molaire : $481.60 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	

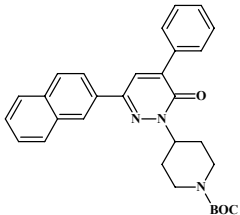
Rendement : 76 %.

Rf : 0.38 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (70 mg, 0.15 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.12-8.07 (m, 1H), 7.99-7.94 (m, 2H), 7.92-7.86 (m, 2H), 7.65 (s, 1H), 7.62-7.55 (m, 4H), 7.50-7.43 (m, 3H), 5.40-5.27 (m, 1H), 4.45-4.23 (m, 2H), 3.09-2.88 (m, 2H), 2.17-2.01 (m, 4H), 1.47 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.6, 154.6, 146.6, 140.0, 137.3, 135.3, 131.1, 130.0, 129.3, 129.0, 128.9, 127.5, 126.1, 125.7, 124.1, 79.8, 54.3, 46.8, 28.8, 28.2.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[6-(3-naphtyl)-3-oxo-4-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 84i 	
Formule brute : $C_{30}H_{31}N_3O_3$ Masse molaire : $481.60 \text{ g.mol}^{-1}$	

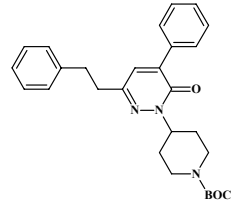
Rendement : 61 %.

Rf : 0.39 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc (20 mg, 0.04 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 8.21-8.14 (m, 2H), 7.94 (s, 1H), 7.89-7.81 (m, 2H), 7.68-7.59 (m, 5H), 7.54-7.43 (m, 3H), 5.34-5.21 (m, 1H), 4.41-4.29 (m, 2H), 3.11-2.95 (m, 2H), 2.19-2.10 (m, 4H), 1.45 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) : 159.7, 154.5, 144.2, 141.9, 136.5, 134.2, 133.4, 131.7, 130.0, 129.5, 129.1, 128.3, 127.4, 125.2, 123.9, 80.1, 54.2, 46.5, 28.5, 28.1.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[3-oxo-6-phénéthyl-4-phénylpyridazin-2-yl]pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle 84j 	
Formule brute : $C_{28}H_{33}N_3O_3$ Masse molaire : $459.59 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 48 %.

Rf : 0.68 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner une mousse jaune pâle (80 mg, 0.17 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 7.90-7.78 (m, 2H), 7.54-7.48 (m, 3H), 7.42-7.27 (m, 5H), 7.13 (s, 1H), 5.23-5.11 (m, 1H), 4.64-4.42 (m, 2H), 3.35-3.19 (m, 2H), 3.06-2.92 (m, 4H), 2.09-1.97 (m, 4H), 1.42 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) : 159.6, 154.1, 143.2, 141.4, 140.7, 135.2, 134.3, 131.7, 129.6, 128.8, 128.5, 126.4, 79.8, 54.4, 46.2, 40.1, 31.1, 28.2, 28.0.

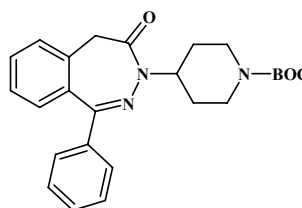
- 4-(4-oxo-1-phényl-2,3-benzodiazépin-3-yl)pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle **168**

Formule brute :

$C_{25}H_{29}N_3O_3$

Masse molaire :

$419.52 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 51 %.

Rf : 0.36 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner une poudre blanche (45 mg, 0.11 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.64-7.58 (m, 2H), 7.52 (ddd, 1H, $J = 1.2, 7.5, 7.5 \text{ Hz}$), 7.46-7.38 (m, 4H), 7.31 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.8 \text{ Hz}$), 7.23 (d, 1H, $J = 7.8 \text{ Hz}$), 4.73-4.58 (m, 1H), 4.27-4.13 (m, 2H), 3.95 3.72 (AB, 2H, $J = 2.2, 86.4 \text{ Hz}$), 3.71-3.64 (m, 2H), 2.14-1.96 (m, 4H), 1.45 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 168.0, 163.3, 154.1, 138.7, 137.5, 132.3, 130.5, 130.1, 129.6, 128.6, 128.5, 127.4, 79.7, 54.6, 52.9, 43.1, 30.9, 28.6, 28.1.

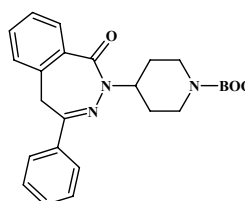
- 4-(1-oxo-4-phényl-2,3-benzodiazépin-2-yl)pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle **165**

Formule brute :

$C_{25}H_{29}N_3O_3$

Masse molaire :

$419.52 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 56 %.

Rf : 0.40 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 40 % dans l'heptane) pour donner une solide blanc (50 mg, 0.12 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.99-7.92 (m, 3H), 7.49-7.46 (m, 1H), 7.42-7.36 (m, 4H), 7.33 (d, 1H, $J = 7.5 \text{ Hz}$), 5.07-4.97 (m, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.40-3.28 (m, 2H), 2.51-2.42 (m, 4H), 2.08-1.92 (m, 2H), 1.42 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 165.7, 160.0, 154.2, 137.3, 135.5, 133.9, 132.0, 131.5, 130.9, 129.3, 128.1, 127.5, 126.9, 80.1, 54.3, 52.4, 43.1, 34.5, 31.3, 28.5, 28.2.

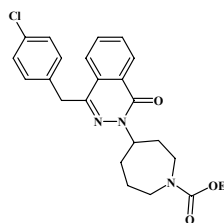
- 4[(4-chlorobenzyl)-1-oxophthalazin-2-yl]azépane-1-carboxylate d'éthyle **41**

Formule brute :

$C_{24}H_{26}ClN_3O_3$

Masse molaire :

$439.94 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 62 %.

Rf : 0.78 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de chlorhydrate d'azélastine (20 mg, 0.05 mmol) dans le toluène (3 mL), ajouter K_2CO_3 (13 mg, 0.10 mmol) et chauffer à 50 °C. Ajouter le chloroformiate d'éthyle (24 μ L, 0.25 mmol) et chauffer à 120°C pendant 24 h. Après retour à t.a., évaporer à sec et reprendre dans AcOEt. Laver avec HCl (1N) et NaCl sat. Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Sécher sous vide pour donner un solide blanc (13 mg, 0.03 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.50-8.45 (m, 1H), 7.81-7.66 (m, 3H), 7.30-7.17 (m, 4H), 5.39-5.12 (m, 1H), 4.33 (s, 2H), 4.30 (q, 2H, $J = 7.5 \text{ Hz}$), 3.83-3.57 (m, 2H), 3.52-3.31 (m, 2H), 2.19-2.06 (m, 6H), 1.33 (t, 3H, $J = 7.5 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) : 158.4, 154.3, 142.5, 135.1, 132.0, 131.9, 131.7, 130.3, 128.1, 127.7, 127.1, 126.4, 125.4, 123.5, 73.2, 53.1, 50.2, 44.3, 37.0, 28.6, 13.3.

MS (ES+) m/z 440.17 [M+H] $^+$.

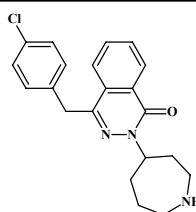
- 2-azépan-4-yl-4-(4-chlorobenzyl)phthalazin-1-one **42**

Formule brute :

$C_{21}H_{22}ClN_3O$

Masse molaire :

$367.88 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 92 %.

Rf : 0.40 (MeOH 10 % dans l'AcOEt + 1 % de TEA).

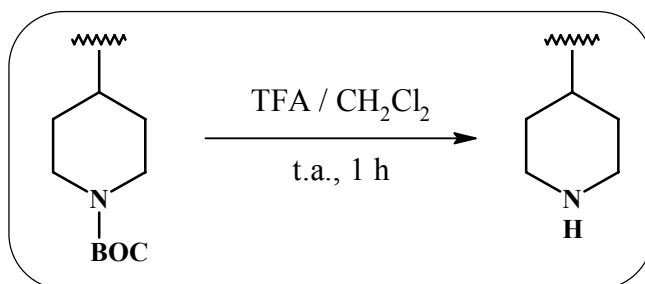
Irradier aux micro-ondes 5 minutes à 150°C une solution de **20** (13 mg, 0.03mmol), une pastille de KOH dans CH_3OH (2 mL). Evaporer à sec et reprendre dans AcOEt (10 mL). Laver avec HCl 1N (2 x 5 mL) puis amener à pH 11 la solution aqueuse par addition de NaOH 4N. Extraire à l'AcOEt (3 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Sécher sous vide pour donner un solide blanc (10 mg, 0.027 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.46-8.43 (m, 1H), 7.82-7.68 (m, 3H), 7.29 (d, 2H, $J = 8.6 \text{ Hz}$), 7.20 (d, 2H, $J = 8.6 \text{ Hz}$), 5.42-5.29 (m, 1H), 4.28 (s, 2H), 3.75-3.52 (m, 2H), 3.45-3.26 (m, 2H), 2.66 (bs, 1H), 2.32-2.04 (m, 6H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 158.9, 142.7, 135.2, 132.4, 131.9, 131.3, 130.6, 128.2, 127.3, 127.1, 126.3, 125.1, 123.6, 53.2, 50.3, 44.2, 37.5, 29.0.

LC / MS : $t_r = 2.22$; (M+H) 368.0

Procédure générale de clivage du BOC :



A une solution de N-BOC Pipéridine dans CH_2Cl_2 (5 mL), ajouter l'acide trifluoroacétique (5 mL). Agiter 1 h à t.a. puis évaporer à sec. Reprendre dans AcOEt (10mL) puis laver avec une solution d'HCl 1N (2x10mL). Basifier avec une solution de NaOH 1N puis extraire à AcOEt (2x20mL). Joindre les phases organiques, sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer.

• 4-benzyl-2-piperidin-4-ylphthalazin-1-one 49a	
Formule brute : $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}$	
Masse molaire : $319.41 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 65 %.

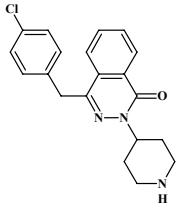
Rf : 0.16 (MeOH 10 % dans l'AcOEt + 3 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide beige (172 mg, 0.54 mmol).

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) : 8.49-8.39 (m, 1H), 7.72-7.62 (m, 3H), 7.30-7.22 (m, 5H), 5.22-5.03 (m, 1H), 4.30 (s, 2H), 3.28-3.16 (m, 2H), 2.31-2.17 (m, 4H), 1.97-1.86 (m, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) : 157.7, 142.1, 135.6, 131.9, 131.3, 130.3, 128.5, 127.9, 127.7, 127.1, 126.7, 126.2, 124.5, 123.4, 53.8, 50.1, 37.4, 29.1.

LC / MS : $t_r = 1.868$; (M+H) 320.2.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorobenzyl)-2-piperidin-4-ylphthalazin-1-one 49b 	
Formule brute : $C_{20}H_{20}ClN_3O$ Masse molaire : $353.85 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 74 %.

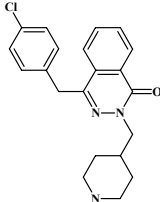
Rf : 0.14 (MeOH 10 % dans l'AcOEt + 3 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide beige (190 mg, 0.54 mmol).

RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$) : 8.51-8.41 (m, 1H), 7.79-7.61 (m, 3H), 7.27-7.18 (m, 4H), 5.17-4.96 (m, 1H), 4.27 (s, 2H), 3.29-3.16 (m, 2H), 2.34-2.15 (m, 4H), 1.93-1.82 (m, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) : 157.9, 142.2, 135.4, 132.5, 131.7, 131.5, 130.0, 128.7, 127.8, 127.5, 127.2, 126.5, 124.5, 123.6, 53.6, 50.2, 37.6, 29.2.

LC / MS : $t_r = 2.221$; (M+H) 354.1.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorobenzyl)-2-(pipéridin-4-ylméthyl)phthalazin-1-one 49c 	
Formule brute : $C_{21}H_{22}ClN_3O$ Masse molaire : $367.88 \text{ g.mol}^{-1}$	

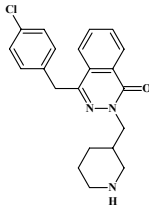
Rendement : 85 %.

Rf : 0.10 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (20 mg, 0.05 mol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.50-8.36 (m, 1H), 7.83-7.63 (m, 3H), 7.30-7.14 (m, 4H), 5.59-5.37 (m, 1H), 4.32-4.17 (m, 4H), 3.54-3.45 (m, 2H), 3.02-2.85 (m, 2H), 2.35 (bs, 1H), 2.00-1.76 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 157.7, 154.3, 142.0, 135.4, 132.7, 131.8, 131.4, 130.6, 128.5, 127.9, 127.3, 126.3, 124.8, 123.1, 55.2, 52.5, 37.3, 34.7, 28.4, 26.7.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorobenzyl)-2-(pipéridin-3-ylméthyl)phthalazin-1-one 49d 	
Formule brute : $C_{21}H_{22}ClN_3O$ Masse molaire : $367.88 \text{ g.mol}^{-1}$	

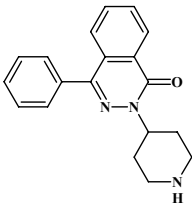
Rendement : 85 %.

Rf : 0.10 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (20 mg, 0.05 mol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.47-8.41 (m, 1H), 8.23-8.17 (m, 1H), 7.96-7.92 (m, 2H), 7.87-7.81 (m, 2H), 7.55-7.50 (m, 2H), 4.38-4.23 (m, 2H), 4.19-4.05 (m, 2H), 3.71-3.59 (m, 3H), 2.90-2.76 (m, 2H), 2.61 (bs, 1H), 1.97-1.86 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 157.5, 154.2, 142.9, 135.2, 132.5, 131.7, 131.3, 130.9, 128.2, 127.1, 127.0, 126.6, 124.7, 123.3, 55.8, 53.1, 37.4, 34.4, 28.4, 26.2.

<ul style="list-style-type: none"> 4-phényl-2-pipéridin-4-ylphthalazin-1-one 49e 	
Formule brute : $C_{19}H_{19}N_3O$ Masse molaire : $305.38 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 95 %.

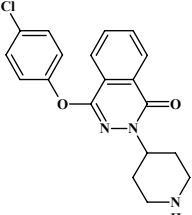
Rf : 0.13 (MeOH 10 % dans l'AcOEt + 3 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (130 mg, 0.43 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.56 (ddd, 1H, $J = 1.9, 3.0, 7.2$ Hz), 7.83-7.75 (m, 3H), 7.65-7.60 (m, 2H), 7.56-7.50 (m, 3H), 5.25 (tdd, 1H, $J = 4.1, 7.5, 11.7, 15.8$ Hz), 3.34-3.23 (m, 2H), 2.88 (td, 2H, $J = 2.6, 10.2$ Hz), 2.41 (bs, 1H), 2.14 (qd, 2H, $J = 4.1, 12.4$ Hz), 2.00-1.92 (m, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) : 159.0, 146.8, 135.8, 133.1, 131.5, 129.9, 129.4, 128.9, 128.6, 127.8, 126.8, 54.6, 46.0, 31.5.

LC / MS : $t_r = 1.774$; (M+H) 306.1.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorophénoxy)-2-pipéridin-4-ylphthalazin-1-one 49f 	
Formule brute : $C_{19}H_{18}ClN_3O_2$ Masse molaire : $355.82\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

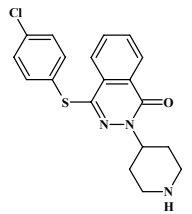
Rendement : 98 %.

Rf : 0.22 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (106 mg, 0.30 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.49-8.42 (m, 1H), 8.19-8.08 (m, 1H), 7.90-7.79 (m, 2H), 7.35 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.17 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 5.05-4.90 (m, 1H), 4.30-4.13 (m, 2H), 2.99-2.72 (m, 2H), 2.67 (bs, 1H), 1.85-1.63 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 158.1, 152.5, 149.6, 133.1, 132.6, 130.9, 129.3, 129.0, 127.8, 124.6, 123.5, 122.4, 54.1, 30.9, 30.6, 28.4.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[(4-chlorophényl)thio]-2-pipéridin-4-ylphthalazin-1-one 49g 	
Formule brute : $C_{19}H_{18}ClN_3OS$ Masse molaire : $371.89\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 95 %.

Rf : 0.24 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (120 mg, 0.32 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.44-8.38 (m, 1H), 8.01-7.89 (m, 2H), 7.82-7.70 (m, 3H), 7.38 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 7.22 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 5.05-4.94 (m, 1H), 4.32-4.09 (m, 2H), 3.00-2.87 (m, 2H), 2.78 (bs, 1H), 2.03-1.92 (m, 2H), 1.71-1.65 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 158.6, 143.5, 138.2, 134.6, 134.3, 133.5, 132.6, 132.0, 130.3, 127.6, 125.4, 125.0, 55.6, 30.9, 30.3, 28.5.

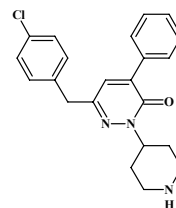
- 6-(4-chlorobenzyl)-4-phényl-2-pipéridin-4-ylpyridazin-3-one **85a**

Formule brute :

$C_{22}H_{22}ClN_3O$

Masse molaire :

$379.89 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 94 %.

Rf : 0.22 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (82 mg, 0.22 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.84-7.64 (m, 3H), 7.54-7.31 (m, 7H), 5.18-4.94 (m, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.29-3.12 (m, 2H), 2.92-2.73 (m, 2H), 2.17 (bs, 1H), 1.95-1.76 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 157.5, 141.6, 140.2, 134.8, 132.3, 129.2, 129.0, 128.8, 128.7, 128.3, 127.8, 127.5, 125.9, 117.6, 56.1, 53.0, 42.3, 28.7.

LC / MS : $t_r = 1.884$; (M+H) 380.0.

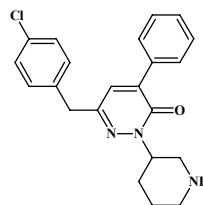
- 6-(4-chlorobenzyl)-4-phényl-2-pipéridin-3-ylpyridazin-3-one **85b**

Formule brute :

$C_{22}H_{22}ClN_3O$

Masse molaire :

$379.89 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 92 %.

Rf : 0.24 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide jaune pâle (29 mg, 0.08 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.72-7.66 (m, 2H), 7.45-7.38 (m, 3H), 7.31 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz), 7.19 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz), 7.09 (s, 1H), 5.15-5.04 (m, 1H), 4.37 (bs, 1H), 3.95 (s, 2H), 3.17-3.04 (m, 2H), 2.80-2.68 (m, 2H), 2.12-2.03 (m, 2H), 1.94-1.79 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 160.1, 147.3, 138.7, 137.5, 134.7, 131.3, 131.1, 130.9, 129.8, 128.5, 128.3, 43.2, 42.5, 36.5, 28.1.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(4-chlorobenzyl)-5-phényl-2-pipéridin-4-ylpyridazin-3-one 85c 	
Formule brute : $C_{22}H_{22}ClN_3O$ Masse molaire : $379.89 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 94 %.

Rf : 0.20 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide jaune pâle (65 mg, 0.17 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.52-7.36 (m, 4H), 7.19-7.00 (m, 4H), 6.82-6.73 (m, 2H), 5.10-4.98 (m, 1H), 3.98 (s, 2H), 3.21-3.12 (m, 2H), 2.93-2.80 (m, 2H), 2.32 (bs, 1H), 2.05-1.92 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 160.6, 146.9, 138.3, 137.1, 135.0, 132.4, 131.7, 131.2, 129.2, 128.5, 55.1, 46.4, 43.1, 28.4.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(4-chlorobenzyl)-4-(3,4-diméthoxyphényl)-2-pipéridin-4-ylpyridazin-3-one 85d 	
Formule brute : $C_{24}H_{26}ClN_3O_3$ Masse molaire : $439.94 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 86 %.

Rf : 0.43 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide jaune (35 mg, 0.08 mmol).

RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$) : 7.84-7.79 (m, 2H), 7.52 (s, 1H), 7.41-7.34 (m, 2H), 7.25-7.15 (m, 2H), 7.10 (s, 1H), 5.12-5.00 (m, 1H), 4.15 (s, 3H), 4.14 (s, 3H), 4.01 (s, 2H), 3.35-3.27 (m, 2H), 2.99-2.88 (m, 2H), 2.02-1.93 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 160.2, 152.1, 151.9, 147.5, 138.0, 137.3, 134.7, 131.8, 131.4, 129.0, 128.2, 55.6, 55.2, 53.1, 46.1, 43.2, 28.1.

<ul style="list-style-type: none"> 6-phényl-2-pipéridin-4-ylpyridazin-3-one 85e 	
Formule brute : $C_{15}H_{17}N_3O$	
Masse molaire : $255.32 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 93 %.

Rf : 0.21 (MeOH 10 % dans l'AcOEt + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (D/M 2 à 20 %) pour donner un solide blanc (133 mg, 0.52 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.91-7.82 (m, 2H), 7.70 (d, 1H, $J = 9.8 \text{ Hz}$), 7.53-7.43 (m, 3H), 7.05 (d, 1H, $J = 9.8 \text{ Hz}$), 5.23-4.98 (m, 1H), 3.37-3.21 (m, 2H), 2.90 (td, 2H, $J = 2.4, 12.5 \text{ Hz}$), 2.68 (bs, 1H), 2.30-2.22 (m, 2H), 2.02-1.90 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 160.0, 144.3, 135.3, 130.1, 129.8, 129.6, 129.3, 126.2, 55.5, 46.0, 31.8, 28.5.

LC / MS : $t_r = 0.896$; (M+H) 256.2

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorobenzyl)-6-phényl-2-pipéridin-4-ylpyridazin-3-one 85f 	
Formule brute : $C_{22}H_{22}ClN_3O_2$	
Masse molaire : $379.89 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 95 %.

Rf : 0.16 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (D/M 2 à 10 %) pour donner un solide blanc (60 mg, 0.19 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.79-7.70 (m, 2H), 7.48-7.41 (m, 3H), 7.39-7.29 (m, 2H), 7.24-7.12 (m, 2H), 7.02 (s, 1H), 5.20-5.11 (m, 1H), 4.34-4.22 (m, 2H), 3.93 (s, 2H), 3.00-2.85 (m, 2H), 2.74 (bs, 1H), 2.12-2.03 (m, 2H), 1.98-1.87 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.6, 48.3, 138.2, 137.8, 135.1, 131.4, 130.3, 130.9, 129.5, 128.7, 128.5, 51.1, 43.0, 42.7, 36.3, 28.3.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(4-chlorophényl)-4-phényl-2-pipéridin-4-ylpyridazin-3-one 85g 	
Formule brute : $C_{21}H_{20}ClN_3O$	
Masse molaire : $365.86 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 96 %.

Rf : 0.14 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie (CH_3OH 2 à 20 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (90 mg, 0.25 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.86-7.77 (m, 2H), 7.74 (d, 2H, $J = 8.7 \text{ Hz}$), 7.71 (s, 1H), 7.52-7.41 (m, 5H), 5.30-5.16 (m, 1H), 4.40-4.22 (m, 2H), 3.00-2.88 (m, 2H), 2.63 (bs, 1H), 2.10-1.98 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.1, 143.8, 140.3, 135.6, 134.3, 134.1, 130.7, 129.5, 129.3, 128.7, 127.9, 126.4, 56.2, 43.6, 31.3, 28.5.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(1-naphtyl)-4-phényl-2-pipéridin-4-ylpyridazin-3-one 85h 	
Formule brute : $C_{25}H_{23}N_3O$	
Masse molaire : $381.48 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 97 %.

Rf : 0.21 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (D/M 2 à 20 %) pour donner un solide blanc (54 mg, 0.14 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.26-8.18 (m, 1H), 8.11-8.03 (m, 1H), 8.00-7.89 (m, 3H), 7.88-7.79 (m, 3H), 7.56-7.45 (m, 5H), 5.37-5.30 (m, 1H), 3.67-3.50 (m, 2H), 3.17-2.96 (m, 2H), 2.65 (bs, 1H), 2.53-2.33 (m, 2H), 2.21-2.10 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.3, 146.7, 140.4, 137.2, 135.1, 131.0, 130.4, 129.8, 129.1, 128.8, 127.6, 126.4, 125.6, 124.1, 54.2, 46.9, 28.3.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(2-naphtyl)-4-phényl-2-pipéridin-4-ylpyridazin-3-one 85i 	
Formule brute : $C_{25}H_{23}N_3O$ Masse molaire : $381.48 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 95 %.

Rf : 0.19 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (D/M 2 à 20 %) pour donner un solide blanc (15 mg, 0.04 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.20-8.12 (m, 2H), 7.99 (s, 1H), 7.91-7.81 (m, 2H), 7.65-7.52 (m, 5H), 7.49-7.40 (m, 3H), 5.32-5.22 (m, 1H), 4.45-4.32 (m, 2H), 3.14-2.99 (m, 2H), 2.54 (bs, 1H), 2.23-2.15 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.5, 144.1, 141.7, 136.6, 134.2, 133.6, 131.4, 130.1, 129.7, 129.3, 128.8, 127.6, 125.2, 123.7, 54.1, 46.3, 28.4.

<ul style="list-style-type: none"> 4-phényl-6-(phényléthyl)-2-(pipéridin-4-yl)pyridazin-3-one 85j 	
Formule brute : $C_{23}H_{25}N_3O$ Masse molaire : $359.47 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 80 %.

Rf : 0.30 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (D/M 2 à 10 %) pour donner un solide beige (50 mg, 0.14 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.95-7.86 (m, 2H), 7.61-7.53 (m, 3H), 7.44-7.30 (m, 5H), 7.15 (s, 1H), 5.21-5.07 (m, 1H), 4.60-4.45 (m, 2H), 3.37-3.21 (m, 2H), 3.04-2.91 (m, 4H), 2.64 (bs, 1H), 2.11-1.96 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.4, 143.7, 141.3, 140.5, 135.4, 134.9, 131.8, 129.6, 128.7, 128.3, 126.2, 54.1, 46.4, 40.0, 31.4, 28.1.

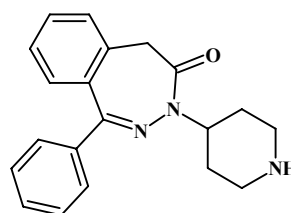
- 1-phényl-3-(pipéridin-4-yl)-2,3-benzodiazépin-4-one **169**

Formule brute :

$C_{20}H_{21}N_3O$

Masse molaire :

$319.41 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 88 %.

Rf : 0.26 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (D/M 2 à 20 %) pour donner un solide blanc (30 mg, 0.09 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.73-7.61 (m, 2H), 7.57 (ddd, 1H, $J = 1.1, 7.5, 7.5$ Hz), 7.53-7.42 (m, 4H), 7.39 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.8$ Hz), 7.26 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 4.78-4.63 (m, 1H), 3.95 (bs, 1H), 3.71 (AB, 2H, $J = 2.2, 69.4$ Hz), 3.69-3.64 (m, 2H), 2.21-1.99 (m, 6H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 168.3, 163.2, 138.4, 137.4, 132.1, 130.5, 130.3, 129.2, 128.5, 128.0, 127.1, 54.6, 53.0, 43.2, 33.2, 28.2.

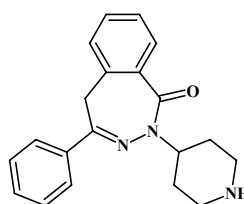
- 4-phényl-2-(pipéridin-4-yl)-2,3-benzodiazépin-1-one **166**

Formule brute :

$C_{20}H_{21}N_3O$

Masse molaire :

$319.41 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 88 %.

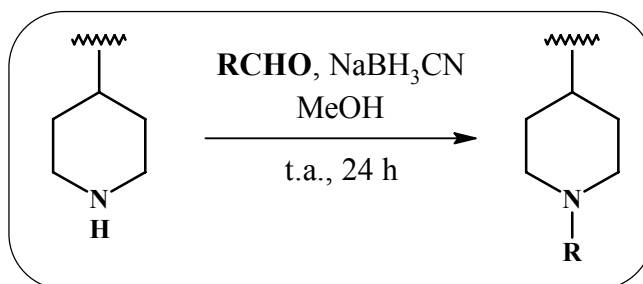
Rf : 0.24 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (D/M 2 à 20 %) pour donner un solide blanc (20 mg, 0.06 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.01-7.92 (m, 3H), 7.47 (dd, 1H, $J = 6.9, 7.5$ Hz), 7.44-7.38 (m, 4H), 7.35 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 5.02-4.94 (m, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.82 (bs, 1H), 3.36-3.29 (m, 2H), 2.49-2.41 (m, 4H), 2.06-1.95 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 165.3, 160.1, 137.7, 135.8, 134.0, 132.2, 131.1, 130.8, 129.6, 128.2, 127.0, 126.7, 54.2, 52.6, 43.2, 34.6, 31.3, 28.3.

Procédure d'amination réductrice des dérivés pipéridinyles :



A une solution de dérivé pipéridinyle dans le méthanol (5mL), ajouter le cyanoborohydride de sodium (2 éq.), puis l'aldéhyde (1.2 éq.). Agiter 24 heures à t.a. Après évaporation à sec, reprendre dans l'AcOEt (10 mL) et laver à l'eau distillée et NaCl sat. Extraire à l'AcOEt (2 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer, et évaporer.

<ul style="list-style-type: none">4-benzyl-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-4-ylphthalazin-1-one 50a	
Formule brute : $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}$	
Masse molaire : $347.46 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 74 %.

Rf : 0.31 (MeOH 10 à dans l'AcOEt + 3 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (NEt_3 1 % dans AcOEt) pour donner un solide blanc (40 mg, 0.12 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.46-8.42 (m, 1H), 7.74-7.63 (m, 3H), 7.30-7.24 (m, 5H), 5.15-5.00 (m, 1H), 4.26 (s, 2H), 3.46 (q, 2H, $J = 7.0 \text{ Hz}$), 2.58-2.45 (m, 2H), 2.32-2.17 (m, 4H), 1.95-1.86 (m, 2H), 1.18 (t, 3H, $J = 7.0 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.2, 146.3, 137.9, 134.5, 133.7, 132.0, 129.2, 128.2, 127.9, 127.7, 127.1, 57.5, 51.5, 39.2, 27.8, 9.7.

LC / MS : $t_r = 1.926$; (M+H) 348.1.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorobenzyl)-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)phthalazin-1-one 50b 	
Formule brute : $C_{22}H_{24}ClN_3O$	
Masse molaire : $381.91 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 83 %.

Rf : 0.31 (MeOH 10 % dans l'AcOEt + 3 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (NEt₃ 1 % dans AcOEt) pour donner un solide blanc (45 mg, 0.12 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.50-8.32 (m, 1H), 7.73-7.62 (m, 3H), 7.26-7.16 (m, 4H), 5.10-4.99 (m, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.18-3.06 (m, 2H), 2.49 (q, 2H, *J* = 7.0 Hz), 2.28-2.14 (m, 4H), 1.92-1.84 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 159.3, 145.9, 136.4, 134.5, 133.3, 132.1, 130.5, 129.3, 129.1, 128.2, 127.9, 126.3, 125.3, 57.6, 51.9, 38.5, 27.6, 9.8.

LC / MS : *t_r* = 2.235 ; (M+H) 383.0.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorobenzyl)-2-(1-éthylpipéridin-4-ylméthyl)phthalazin-1-one 50c 	
Formule brute : $C_{23}H_{26}ClN_3O$	
Masse molaire : $395.93 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 87 %.

Rf : 0.41 (MeOH 5 % dans CH₂Cl₂).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 2 à 10% dans CH₂Cl₂) pour donner un solide blanc (19 mg, 0.05 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.55-8.36 (s, 1H), 7.83-7.63 (m, 3H), 7.38-7.11 (m, 4H), 4.23 (s, 2H), 4.20 (d, 2H, *J* = 12.1 Hz), 3.50-3.41 (m, 1H), 3.31-3.11 (m, 2H), 2.71 (q, 2H, *J* = 7.0 Hz), 2.45-2.10 (m, 2H), 1.93-1.66 (m, 4H), 1.29-1.17 (m, 2H), 1.12 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 159.8, 145.1, 136.6, 133.4, 133.0, 131.8, 130.2, 129.4, 129.2, 128.5, 127.7, 125.3, 56.0, 52.7, 52.4, 38.6, 34.5, 30.1, 28.5, 11.1.

LC / MS : *t_r* = 2.275 ; (M+H) 396.0.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorobenzyl)-2-(1-éthylpipéridin-3-ylmethyl)phthalazin-1-one 50d 	
Formule brute : $C_{23}H_{26}ClN_3O$ Masse molaire : $395.93 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 78 %.

Rf : 0.43 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 10% dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (19 mg, 0.04 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.50 (dd, 1H, $J = 2.2, 8.7$ Hz), 8.26 (dd, 1H, $J = 2.2, 8.4$ Hz), 7.95 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.89-7.79 (m, 2H), 7.50 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 4.18 (s, 2H), 4.16 (d, 2H, $J = 12.2$ Hz), 3.50-3.46 (m, 1H), 2.99-2.85 (m, 2H), 2.46 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 2.07-1.89 (m, 2H), 1.80-1.69 (m, 2H), 1.29-1.24 (m, 2H), 1.07 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.7, 140.5, 134.1, 132.4, 129.1, 128.2, 127.6, 126.4, 57.6, 55.1, 53.6, 53.1, 36.3, 30.1, 28.6, 24.8, 11.9.

LC / MS : $t_r = 2.314$; (M+H) 396.0.

<ul style="list-style-type: none"> 2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-4-phénylphthalazin-1-one 50e 	
Formule brute : $C_{21}H_{23}N_3O$ Masse molaire : $333.43 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 71 %.

Rf : 0.38 (MeOH 10 % dans l'AcOEt + 3 % de TEA)

Purifier par chromatographie sur gel de silice (TEA 1 % dans AcOEt) pour donner un solide blanc (39 mg, 0.12 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.56-8.47 (m, 1H), 7.80-7.71 (m, 3H), 7.60-7.53 (m, 2H), 7.51-7.44 (m, 3H), 5.22-5.09 (m, 1H), 3.28-3.16 (m, 2H), 2.64 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 2.45-2.31 (m, 4H), 2.03-1.90 (m, 2H), 1.18 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.3, 147.7, 133.6, 131.8, 129.9, 129.6, 129.3, 129.1, 127.6, 127.3, 52.9, 51.8, 48.3, 27.9, 9.8.

LC / MS : $t_r = 1.892$; (M+H) 334.0.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorophénoxy)-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)phthalazin-1-one 50f 	
Formule brute : $C_{21}H_{22}ClN_3O_2$ Masse molaire : $383.88 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 90 %.

Rf : 0.58 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 10 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (78 mg, 0.20 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.40 (dd, 1H, $J = 2.1, 8.7$ Hz), 8.07 (dd, 1H, $J = 2.1, 8.4$ Hz), 7.86-7.77 (m, 2H), 7.37 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.16 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 5.00-4.89 (m, 1H), 3.10-2.99 (m, 2H), 2.54 (q, 2H, $J = 7.2$), 2.39-2.29 (m, 2H), 2.03-1.82 (m, 4H), 1.12 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 158.7, 152.3, 149.7, 133.6, 132.8, 130.7, 130.1, 129.6, 127.8, 124.5, 123.8, 122.8, 53.4, 52.5, 52.0, 29.3, 11.7.

LC / MS : $t_r = 2.195$; (M+H) 384.0.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[(4-chlorophényl)thio]-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)phthalazin-1-one 50g 	
Formule brute : $C_{21}H_{22}ClN_3S$ Masse molaire : $399.94 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 84 %.

Rf : 0.50 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 10 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (45 mg, 0.11 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.40 (dd, 1H, $J = 2.2, 8.7$ Hz), 8.07 (dd, 1H, $J = 2.2, 8.4$ Hz), 7.81-7.71 (m, 2H), 7.39 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.31 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 5.00-4.89 (m, 1H), 3.08-2.99 (m, 2H), 2.48 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.27-2.15 (m, 2H), 2.07-1.91 (m, 2H), 1.88-1.77 (m, 2H), 1.12 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.0, 152.3, 143.0, 134.9, 134.4, 133.7, 132.2, 130.2, 129.8, 128.1, 127.9, 125.5, 55.3, 52.5, 52.2, 29.9, 12.4.

LC / MS : $t_r = 2.368$; (M+H) 400.0.

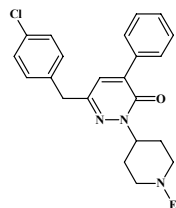
- 6-(4-chlorobenzyl)-4-phényl-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-4-ylpyridazin-3-one **46a**

Formule brute :

$C_{24}H_{26}ClN_3O$

Masse molaire :

$407.94 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 78 %.

Rf : 0.49 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (TEA 1 % dans AcOEt) pour donner un solide blanc (25 mg, 0.06 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.84-7.64 (m, 3H), 7.54-7.31 (m, 7H), 5.18-4.94 (m, 1H), 3.87 (s, 2H), 3.29-3.12 (m, 2H), 2.92-2.73 (m, 2H), 2.51 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 2.17 (bs, 1H), 1.95-1.76 (m, 4H), 1.15 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 157.5, 141.6, 140.2, 134.8, 132.3, 129.2, 129.0, 128.8, 128.7, 128.3, 127.8, 127.5, 125.9, 117.6, 56.1, 53.0, 52.2, 42.3, 28.7, 9.6.

LC / MS : $t_r = 2.329$; (M+H) 408.4.

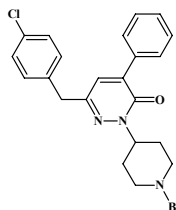
- 6-(4-chlorobenzyl)-4-phényl-2-(1-benzylpipéridin-4-yl)-4-ylpyridazin-3-one **46b**

Formule brute :

$C_{29}H_{28}ClN_3O$

Masse molaire :

$470.01 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 46 %.

Rf : 0.56 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (17 mg, 0.04 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.75-7.68 (m, 2H), 7.44-7.37 (m, 6H), 7.36-7.29 (m, 4H), 7.23-7.16 (m, 2H), 7.08 (s, 1H), 5.11-5.00 (m, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.60 (s, 2H), 3.14-3.03 (m, 2H), 2.31-2.18 (m, 4H), 1.97-1.87 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.4, 146.3, 140.0, 138.8, 136.8, 134.6, 133.2, 130.5, 129.8, 129.6, 129.4, 129.1, 128.5, 127.5, 63.4, 55.9, 53.3, 41.2, 30.9.

LC / MS : $t_r = 2.746$; (M+H) 471.0.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(4-chlorobenzyl)-4-phényl-2-(1-phénéthylpipéridin-4-yl)-4-ylpyridazin-3-one 46c 	
Formule brute : $C_{30}H_{30}ClN_3O$ Masse molaire : $484.04 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	

Rendement : 77 %.

Rf : 0.55 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (39 mg, 0.08 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.75-7.69 (m, 2H), 7.44-7.40 (m, 3H), 7.33-7.29 (m, 4H), 7.26-7.21 (m, 5H), 7.10 (s, 1H), 5.12-5.03 (m, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.22-3.17 (m, 2H), 2.78 (AB, 2H, $J = 11.5, 63.1$ Hz), 2.79 (AB, 2H, $J = 9.6, 51.8$ Hz), 2.35-2.23 (m, 4H), 1.99-1.93 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.4, 146.4, 140.7, 140.0, 136.8, 134.6, 133.3, 130.6, 129.8, 129.4, 129.2, 128.9, 128.7, 128.6, 126.5, 60.9, 55.7, 53.3, 41.2, 34.3, 30.8.

LC / MS : $t_r = 2.808$; (M+H) 485.0.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(4-chlorobenzyl)-4-phényl-2-(1-éthylpipéridin-3-yl)-pyridazin-3-one 86d 	
Formule brute : $C_{24}H_{26}ClN_3O$ Masse molaire : $407.94 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$	

Rendement : 74 %.

Rf : 0.52 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (21 mg, 0.06 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.74-7.64 (m, 2H), 7.43-7.35 (m, 3H), 7.31 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 7.18 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz), 7.05 (s, 1H), 5.30-5.09 (m, 1H), 3.93 (s, 2H), 3.19-2.91 (m, 2H), 2.51 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 2.39-2.22 (m, 2H), 2.05-1.95 (m, 2H), 1.86-1.79 (m, 2H), 1.11 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 160.2, 147.3, 138.4, 137.6, 134.6, 131.5, 131.0, 130.5, 129.7

<ul style="list-style-type: none"> 6-(4-chlorobenzyl)-5-phényl-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-4-ylpyridazin-3-one 86e 	
Formule brute : $C_{24}H_{26}ClN_3O$ Masse molaire : $407.94 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 88 %.

Rf : 0.48 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 10 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (57 mg, 0.14 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.51-7.32 (m, 4H), 7.14-7.02 (m, 4H), 6.76-7.70 (m, 2H), 5.06-4.94 (m, 1H), 3.85 (s, 2H), 3.20-3.07 (m, 2H), 2.50 (q, 2H, $J = 7.2 \text{ Hz}$), 2.29-2.13 (m, 4H), 1.98-1.90 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, $J = 7.2 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 160.2, 146.5, 136.5, 135.9, 132.7, 130.3, 129.3, 129.0, 128.8, 128.4, 55.1, 52.7, 38.8, 30.6, 12.5.

LC / MS : $t_r = 2.415$; (M+H) 408.0.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(4-chlorobenzyl)-4-(3,4-diméthoxyphényl)-2-(1-éthylpipéridin)-4-ylpyridazin-3-one 86f 	
Formule brute : $C_{26}H_{30}ClN_3O_3$ Masse molaire : $467.99 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 63 %.

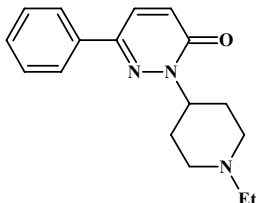
Rf : 0.70 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 2 à 10 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide jaune (20 mg, 0.04 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.81-7.67 (m, 3H), 7.55-7.33 (m, 5H), 5.15-4.97 (m, 1H), 4.14 (s, 3H), 4.12 (s, 3H), 3.85 (s, 2H), 3.26-3.14 (m, 2H), 2.91-2.78 (m, 2H), 2.50 (q, 2H, $J = 7.0 \text{ Hz}$), 1.93-1.79 (m, 4H), 1.14 (t, 3H, $J = 7.0 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 157.2, 141.7, 140.4, 134.9, 132.1, 129.4, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 127.6, 127.3, 126.0, 117.4, 56.1, 55.5, 55.3, 53.2, 52.4, 42.2, 28.5, 9.5.

LC / MS : $t_r = 2.329$; (M+H) 468.6.

<ul style="list-style-type: none"> 2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-6-phénylpyridazin-3-one 86g 	
Formule brute : $C_{17}H_{21}N_3O$ Masse molaire : $283.37\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 58 %.

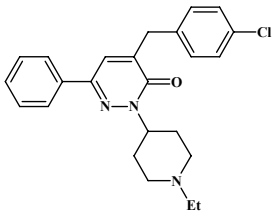
Rf : 0.29 (MeOH 10 à dans l'AcOEt + 3 % de TEA)

Purifier par chromatographie sur gel de silice (TEA 1 % dans AcOEt) pour donner un solide blanc (32 mg, 0.11 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.88-7.80 (m, 2H), 7.70 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 7.50-7.40 (m, 3H), 7.00 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz), 5.24-5.11 (m, 1H), 3.35-3.24 (m, 2H), 3.05-2.94 (m, 2H), 2.53 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 2.36-2.27 (m, 2H), 2.05-1.98 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.9, 145.2, 134.4, 131.0, 130.5, 130.0, 129.7, 129.5, 126.4, 54.5, 51.8, 44.4, 27.8, 9.8.

LC / MS : $t_r = 1.033$; (M+H) 284.0.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorobenzyl)-6-phényl-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)pyridazin-3-one 86h 	
Formule brute : $C_{24}H_{26}ClN_3O$ Masse molaire : $407.94\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 71 %.

Rf : 0.35 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (46 mg, 0.11 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.77-7.71 (m, 2H), 7.44-7.37 (m, 4H), 7.31 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz), 7.24 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz), 5.11-5.01 (m, 1H), 3.94 (s, 2H), 3.17-3.09 (m, 2H), 2.49 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.29-2.11 (m, 4H), 1.97-1.89 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.7, 148.1, 138.5, 137.9, 135.0, 131.2, 130.1, 130.7, 129.6, 128.5, 128.2, 53.3, 51.0, 43.3, 42.1, 36.0, 28.2, 9.9.

LC / MS : $t_r = 2.570$; (M+H) 408.0.

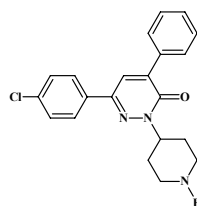
- 6-(4-chlorophényl)-4-phényl-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-pyridazin-3-one **86i**

Formule brute :

$C_{23}H_{24}ClN_3O$

Masse molaire :

$393.92 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 88 %.

Rf : 0.43 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (85 mg, 0.22 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.85-7.78 (m, 4H), 7.70 (s, 1H), 7.50-7.36 (m, 5H), 5.17-5.06 (m, 1H), 3.17-3.10 (m, 2H), 2.49 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.29-2.11 (m, 4H), 2.01-1.94 (m, 2H), 1.14 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.3, 143.6, 140.5, 135.3, 134.1, 134.0, 130.5, 129.3, 129.2, 128.6, 127.8, 126.2, 56.1, 52.4, 43.7, 31.1, 28.2, 9.7.

LC / MS : $t_r = 2.407$; (M+H) 394.0.

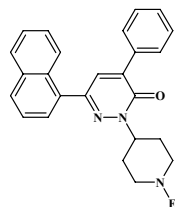
- 6-(1-naphtyl)-4-phényl-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-pyridazin-3-one **86j**

Formule brute :

$C_{27}H_{27}N_3O$

Masse molaire :

$409.53 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 78 %.

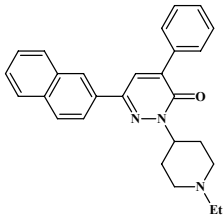
Rf : 0.28 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (42 mg, 0.10 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.23-8.19 (m, 1H), 8.10-8.03 (m, 1H), 8.01-7.91 (m, 3H), 7.89-7.77 (m, 3H), 7.55-7.47 (m, 5H), 5.38-5.31 (m, 1H), 3.65-3.52 (m, 2H), 3.18-2.99 (m, 2H), 2.52-2.37 (m, 2H), 2.50 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.22-2.11 (m, 2H), 1.11 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.4, 146.8, 140.5, 137.1, 135.1, 131.0, 130.5, 129.6, 129.3, 128.7, 127.5, 126.3, 125.5, 124.0, 54.1, 53.3, 46.7, 28.4, 9.7.

LC / MS : $t_r = 2.550$; (M+H) 410.0.

<ul style="list-style-type: none"> 6-(2-naphtyl)-4-phényl-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-pyridazin-3-one 86k 	
Formule brute : $C_{27}H_{27}N_3O$ Masse molaire : $409.53 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 81 %.

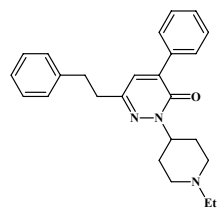
Rf : 0.25 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (13 mg, 0.03 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.21-8.15 (m, 2H), 8.01 (s, 1H), 7.93-7.80 (m, 2H), 7.66-7.53 (m, 5H), 7.51-7.43 (m, 3H), 5.31-5.23 (m, 1H), 4.46-4.37 (m, 2H), 3.13-3.01 (m, 2H), 2.49 (q, 2H, $J = 7.2 \text{ Hz}$), 2.21-2.13 (m, 4H), 1.14 (t, 3H, $J = 7.2 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.5, 144.0, 141.6, 136.8, 134.0, 133.4, 131.3, 130.3, 129.9, 129.5, 128.5, 127.7, 125.1, 123.7, 54.3, 53.2, 46.4, 28.3, 9.8.

LC / MS : $t_r = 2.637$; (M+H) 410.0.

<ul style="list-style-type: none"> 4-phényl-6-(phényléthyl)-2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-pyridazin-3-one 86l 	
Formule brute : $C_{25}H_{29}N_3O$ Masse molaire : $387.53 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 91 %.

Rf : 0.33 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH_3OH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (49 mg, 0.13 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.73-7.69 (m, 2H), 7.44-7.39 (m, 3H), 7.32-7.27 (m, 2H), 7.24-7.18 (m, 3H), 7.04 (s, 1H), 5.05-5.00 (m, 1H), 3.18-3.08 (m, 2H), 3.05-2.91 (m, 4H), 2.51 (q, 2H, $J = 7.0 \text{ Hz}$), 2.27-2.12 (m, 4H), 1.96-1.85 (m, 2H), 1.16 (t, 3H, $J = 7.0 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.6, 147.0, 141.1, 139.1, 134.8, 129.6, 129.2, 129.03, 128.6, 128.9, 126.6, 55.6, 52.9, 52.7, 37.0, 35.0, 30.6, 12.6.

LC / MS : $t_r = 2.346$; (M+H) 388.0.

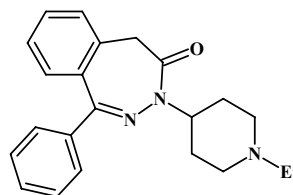
- 3-(1-éthylpipéridin-4-yl)-1-phényl-2,3-benzodiazépin-4-one **170**

Formule brute :

C₂₂H₂₅N₃O

Masse molaire :

347.46 g.mol⁻¹



Rendement : 63 %.

Rf : 0.27 (MeOH 5 % dans CH₂Cl₂).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 2 à 10 % dans CH₂Cl₂) pour donner un solide blanc (24 mg, 0.06).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.73-7.67 (m, 2H), 7.53 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 7.5, 7.5 Hz), 7.47-7.39 (m, 4H), 7.33 (dd, 1H, *J* = 7.5, 7.8 Hz), 7.26 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 4.67-4.52 (m, 1H), 3.53 (AB, 2H, *J* = 2.1, 69.9 Hz), 3.28-3.11 (m, 2H), 2.61 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz), 2.36-1.90 (m, 6H), 1.20 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 168.1, 163.6, 138.2, 137.4, 132.3, 130.7, 130.0, 129.6, 128.9, 128.0, 127.2, 54.7, 52.9, 52.7, 43.0, 30.1, 11.8.

LC / MS : t_r = 1.930 ; (M+H) 348.1.

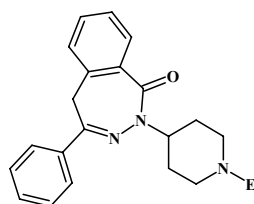
- 2-(1-éthylpipéridin-4-yl)-4-phényl-2,3-benzodiazépin-1-one **167**

Formule brute :

C₂₂H₂₅N₃O

Masse molaire :

347.46 g.mol⁻¹



Rendement : 51 %.

Rf : 0.23 (MeOH 5 % dans CH₂Cl₂).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 2 à 10 % dans CH₂Cl₂) pour donner un solide blanc (13 mg, 0.03 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.99-7.89 (m, 3H), 7.48 (dd, 1H, *J* = 6.8, 7.5 Hz), 7.46-7.40 (m, 4H), 7.37 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 5.03-4.94 (m, 1H), 3.97 (s, 2H), 3.34-3.28 (m, 2H), 3.08 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz), 2.47-2.40 (m, 4H), 2.04-1.97 (m, 2H), 1.37 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 165.2, 160.4, 137.2, 135.9, 133.8, 132.0, 131.2, 130.9, 129.3, 128.5, 127.1, 126.9, 54.3, 52.6, 52.5, 43.1, 34.4, 30.4, 12.0.

LC / MS : t_r = 1.947 ; (M+H) 348.1.

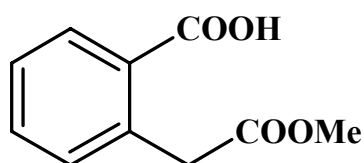
- Acide 2-[(méthoxycarbonyl)méthyl]benzoïque **105**

Formule brute :

$C_{10}H_{10}O_4$

Masse molaire :

$194.19 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 84%.

Rf : 0.73 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2).

A une solution d'acide homophthalique (10 g, 56 mmol) dans CH_3OH (25 mL), ajouter H_2SO_4 conc. (1.22 mL, 0.22 mol). Chauffer le mélange à reflux pendant 30 min, puis ajouter une solution saturée de $NaHCO_3$ (20 mL). Evaporer les solvants organiques et extraire avec $AcOEt$ (3 x 30 mL). Acidifier à pH 3 la phase aqueuse par ajout d' H_2SO_4 conc. puis extraire avec $AcOEt$ (3 x 30 mL). Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Sécher sous vide pour donner un solide blanc (9.1 g, 47 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.18 (dd, H, $J = 1.5, 7.8$ Hz), 7.58 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.3, 7.6$ Hz), 7.44 (ddd, 1H, $J = 1.0, 7.3, 7.8$ Hz), 7.32 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 4.11 (s, 2H), 3.75 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 173.0, 172.5, 137.2, 133.7, 132.9, 132.3, 129.0, 128.0, 52.4, 41.0.

MS (ES+) m/z 217 $[M + Na]^+$.

LC / MS : $t_r = 0.244$; (M+H) 193.0.

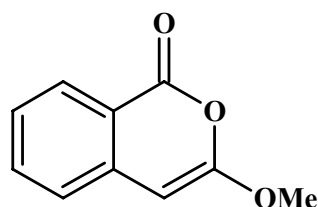
- 3-Méthoxy-isocoumarine **106**

Formule brute :

$C_{10}H_8O_3$

Masse molaire :

$176.17 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 96 %.

Rf : 0.46 ($AcOEt$ 40 % dans l'heptane).

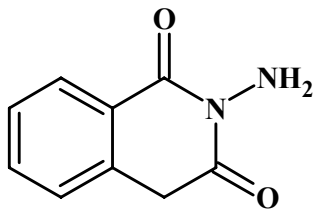
A une solution de **105** (200 mg, 1.03 mmol) dans CH_2Cl_2 (5 mL) à $0^\circ C$, ajouter goutte à goutte une solution d'anhydride trifluoroacétique (175 μL , 1.24 mmol) dans CH_2Cl_2 (1 mL). Agiter une heure à $0^\circ C$ puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans $AcOEt$ (20 mL) et laver à l'eau distillée (3 x 20 mL). $NaHCO_3$ sat. (20 mL) et $NaCl$ sat. (2 x 20 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer. Sécher sous vide pour donner un solide blanc (175 mg, 0.99 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.16 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.59 (ddd, 1H, $J = 1.0, 7.3, 7.8$ Hz), 7.31-7.25 (m, 2H), 5.54 (s, 1H), 3.90 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 161.5, 160.1, 140.2, 135.4, 130.0, 125.8, 125.0, 117.7, 79.2, 56.4.

MS (ES+) m/z 177 $[M + H]^+$.

LC / MS : $t_r = 0.250$; (M+H) 177.1.

<ul style="list-style-type: none"> 2-aminoisoquinoline-1,3(2<i>H</i>,4<i>H</i>)-dione 103 	
Formule brute : $C_9H_8N_2O_2$ Masse molaire : $176.17 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 71 %.

Rf : 0.45 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2).

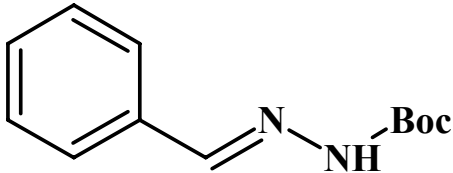
A une solution d'hydrazine hydrate (149 μ L, 1.08 mmol) dans EtOH (5 mL), ajouter l'anhydride homophthalique (500 mg, 1.08 mmol) and chauffer à reflux pendant 6 heures. Filtrer le précipité puis rincer à l'EtOH froid. Recristalliser dans EtOH chaud puis sécher sous vide pour donner un solide blanc (385 mg, 0.77 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.04 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 7.66 (dd, 1H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 7.48 (dd, 1H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 7.39 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 5.53 (s, 2H), 4.21 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 167.4, 162.5, 135.5, 134.1, 128.5, 128.4, 128.1, 125.4, 36.7.

MS (ES+) m/z 177 $[M + H]^+$.

LC / MS : $t_r = 0.230$; (M+H) 177.1.

<ul style="list-style-type: none"> 2-benzylidènehydrazinecarboxylate de <i>tert</i>-butyle 113 	
Formule brute : $C_{12}H_{16}N_2O_2$ Masse molaire : $220.27 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 78 %.

Rf : 0.64 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de *tert*-butyl carbazate (5 g, 38 mmol) dans THF (30 mL), ajouter goutte à goutte le benzaldéhyde (5.79 mL, 57 mmol). Après agitation 1 heure à t.a., filtrer le précipité et rincer au THF. Sécher sous vide pour donner un solide blanc (6.5 g, 30 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 10.88 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.62-7.56 (m, 2H), 7.43-7.35 (m, 3H), 1.46 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 162.2, 153.2, 143.9, 135.5, 130.2, 129.6, 127.3, 80.3, 28.9.

MS (ES+) m/z 221 $[M + H]^+$.

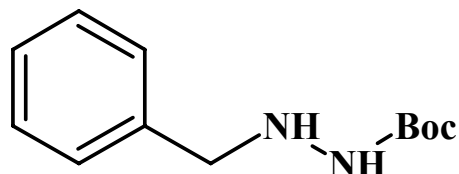
- 2-benzylhydrazinecarboxylate de *tert*-butyle **114a**

Formule brute :

$C_{12}H_{18}N_2O_2$

Masse molaire :

$222.29 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 87 %.

Rf : 0.56 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de **51** (5 g, 23 mmol) dans CH_3OH (80 mL), ajouter Pd / C (500 mg). Agiter le mélange sous pression de H_2 (60 psi) pendant 2 heures. Filtrer le mélange puis concentrer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 50 % dans l'heptane) pour donner une huile incolore (4.4 g, 20 mmol).

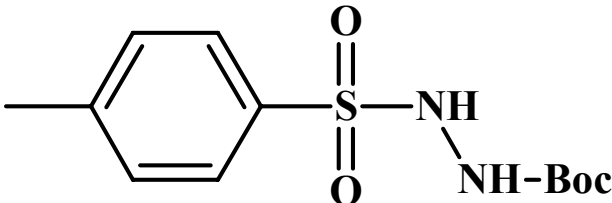
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.24 (s, 1H), 7.35-7.29 (m, 5H), 4.75 (s, 1H), 3.89 (s, 2H), 1.40 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 157.3, 139.6, 129.3, 128.9, 127.6, 79.1, 55.4, 29.0.

MS (ES+) m/z 245 $[M + Na]^+$.

Procédure générale de synthèse des hydrazines 114b-c.

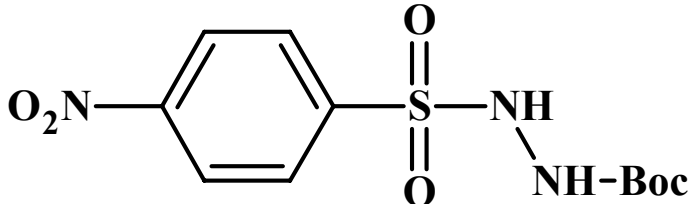
A une solution de *tert*-butyl carbazate (3.9 g, 30 mmol) dans DMF (20 mL), ajouter successivement K₂CO₃ (4.5 g, 32 mmol) puis le chlorure de 4-nitrobenzenesulfonyl (6 g, 27 mmol). Agiter le mélange 1 heure à t.a. puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt (40 mL) et laver avec HCl 1N (3 x 20 mL) puis NaHCO₃ sat. (2 x 20 mL) et NaCl sat. (2 x 20 mL). Sécher sur Na₂SO₄, évaporer sous pression réduite. Sécher sous vide pour donner un solide jaune (6.9 g, 24 mmol).

• 2-[(4-méthylphenyl)sulfonyl]hydrazinecarboxylate de <i>tert</i> -butyle 114b	
Formule brute : C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₅ S	
Masse molaire : 286.35 g.mol ⁻¹	

Rendement : 80 %.

Rf : 0.50 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7.85 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 7.35 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 6.61 (bs, 2H), 2.46 (s, 3H), 1.28 (s, 9H).

• 2-[(4-nitrophenyl)sulfonyl]hydrazinecarboxylate de <i>tert</i> -butyle 114c	
Formule brute : C ₁₁ H ₁₅ N ₃ O ₅ S	
Masse molaire : 317.32 g.mol ⁻¹	

Rendement : 80 %.

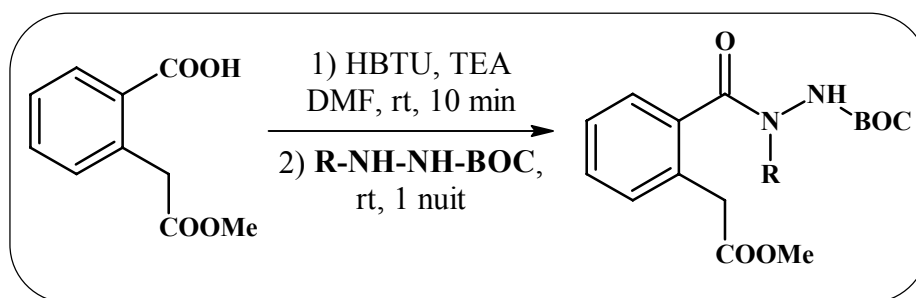
Rf : 0.40 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.33 (d, 2H, J = 9.1 Hz), 8.11 (d, 2H, J = 9.1 Hz), 6.73 (1H, s), 6.65 (s, 1H), 1.22 (s, 9H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 154.7, 151.0, 143.2, 130.4, 83.5, 28.2.

ESI-HRMS calculée pour C₁₁H₁₄N₃O₆S [M - H]⁻ 316.0608, trouvée : 316.0610.

Procédure générale de préparation des amides 115a-c.



A une solution de **105** (1 g, 5.15 mmol) dans le DMF (20 mL), ajouter HBTU (2.15 g, 5.67 mmol) et la triéthylamine (1.4 mL, 10.31 mmol). Agiter le mélange 10 minutes à t.a. puis ajouter **114a-c** (5.67 mmol). Agiter le mélange une nuit à t.a. et évaporer sous pression réduite. Reprendre ans AcOEt (40 mL) puis laver avec HCl 1N (3 x 20 mL), NaHCO₃ sat. (2 x 20 mL) et NaCl sat. (2 x 20 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer.

<ul style="list-style-type: none">(2-(N-benzyl-N'-Boc-hydrazino)phényl)acétate de méthyle 115a	
Formule brute : C ₂₂ H ₂₆ N ₂ O ₅	
Masse molaire : 398.46 g.mol ⁻¹	

Rendement : 63 %.

Rf : 0.51 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 40 % dans l'heptane) pour donner une huile incolore (1.29 g, 3.24 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.76 (s, 1H), 7.39-7.25 (m, 9H), 4.71 (s, 2H), 3.71 (s, 2H), 3.62 (s, 3H), 1.27 (s, 9H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 173.0, 172.9, 154.1, 136.8, 136.2, 130.7, 130.4, 129.5, 128.6, 127.8, 127.2, 125.7, 81.3, 52.4, 51.1, 37.9, 28.3.

ESI-HRMS calculée pour C₂₂H₂₆NaN₂O₅ [M + Na]⁺ 421.1739, trouvée : 421.1730.

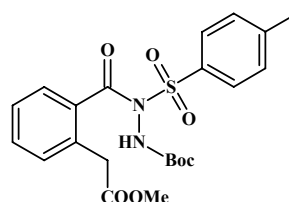
- (2-(N-Boc-N'-tosyl-hydrazino)phényl)acétate de méthyle **115b**

Formule brute :

C₂₂H₂₆N₂O₇S

Masse molaire :

462.52 g.mol⁻¹



Rendement : 63 %.

Rf : 0.50 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 40 % dans l'heptane) pour donner une huile incolore (1.29 g, 3.24 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.15-8.09 (m, 2H), 7.83-7.78 (m, 2H), 7.40-7.25 (m, 4H), 3.92 (s, 2H), 3.67 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 1.41 (s, 9H).

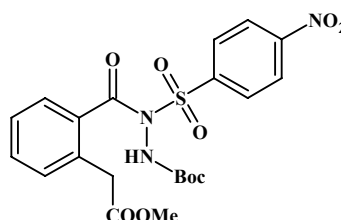
- (2-(N-Boc-N'-nosyl-hydrazino)phényl)acétate de méthyle **115c**

Formule brute :

C₂₁H₂₃N₃O₉S

Masse molaire :

493.49 g.mol⁻¹



Rendement : 85 %.

Rf : 0.50 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

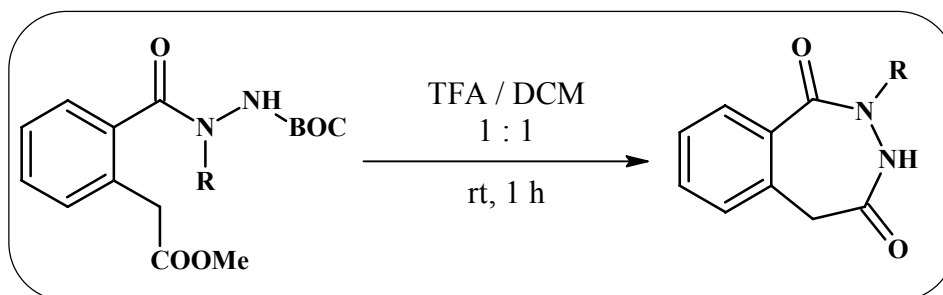
Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 40 % dans l'heptane) pour donner une huile incolore (1.29 g, 3.24 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.49 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz), 8.40 (d, 2H, *J* = 9.1 Hz), 7.75 (s, 1H), 7.42-7.30 (m, 3H), 7.22 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 3.92 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 1.42 (s, 9H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 172.5, 170.7, 153.4, 150.6, 143.2, 133.5, 130.9, 130.7, 130.5, 126.7, 125.4, 123.4, 82.6, 52.3, 37.4, 27.7.

ESI-HRMS calculée pour C₂₁H₂₃NaN₃O₉S [M + Na]⁺ 516.1053, trouvée : 516.1077.

Procédure générale de la déprotection du BOC et de la cyclisation.



A une solution de **115a-c** (3.26 mmol) dans le CH₂Cl₂ (10 mL), ajouter l'acide trifluoroacétique (10 mL). Agiter une heure à t.a. puis évaporer sous pression réduite. Dissoudre dans Et₂O et soniquer quelques secondes la solution pour donner un solide blanc.

<ul style="list-style-type: none">• 2-benzyl-2,3-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazépine-1,4(5<i>H</i>)-dione 117a	
Formule brute : C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	
Masse molaire : 266.30 g.mol ⁻¹	

Rendement : 88 %.

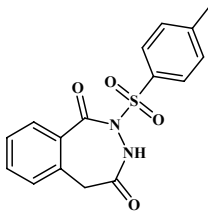
Rf : 0.30 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Filterer et sécher sous vide pour donner un solide blanc (764 mg, 2.87 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.17 (bs, 1H), 7.92 (dd, 1H, *J* = 1.5, 6.8 Hz), 7.48-7.42 (m, 2H), 7.38-7.26 (m, 5H), 7.20 (dd, 1H, *J* = 1.5, 6.8 Hz), 4.96 (AB, 2H, *J* = 14, 127 Hz), 3.48 (AB, 2H, *J* = 13, 169 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 175.8, 169.0, 136.3, 135.4, 132.9, 130.8, 129.4, 128.9, 128.7, 128.6, 52.7, 41.0.

ESI-HRMS calculée pour C₁₆H₁₄NaN₂O₂ [M + Na]⁺ 289.0953, trouvée : 289.0939.

<ul style="list-style-type: none"> 2-[(4-méthylphényl)sulfonyl]-2,3-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazépine-1,4(5<i>H</i>)-dione 117b 	
Formule brute : $C_{16}H_{14}N_2O_4S$ Masse molaire : $330.36 \text{ g.mol}^{-1}$	

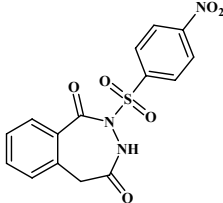
Rendement : 97 %.

Rf : 0.43 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

RMN 1H (200 MHz, $CDCl_3$) : 8.40 (bs, 1H), 8.09 (ddd, 2H, $J = 1.7, 1.7, 8.6$ Hz), 7.88 (dd, 1H, $J = 1.5, 7.6$ Hz), 7.54 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.6, 7.6$ Hz), 7.48-7.39 (m, 3H), 7.32-7.28 (bs, 1H), 3.82 (AB, 2H, $J = 13.7, 15.1$ Hz), 2.50 (s, 3H).

RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) : 176.2, 166.9, 146.6, 136.0, 135.0, 134.2, 131.6, 130.8, 130.4, 129.7, 129.4, 128.9, 40.8, 22.2.

LC / MS : $t_r = 2.434$; (M+H) 330.9.

<ul style="list-style-type: none"> 2-[(4-nitrophényl)sulfonyl]-2,3-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazépine-1,4(5<i>H</i>)-dione 117c 	
Formule brute : $C_{15}H_{11}N_3O_6S$ Masse molaire : $361.33 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 92 %.

Rf : 0.31 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Filtrer et sécher sous vide pour donner un solide blanc (1.08 g, 3.00 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 10.87 (1H, s), 8.53 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.44 (2H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.81 (1H, dd, $J = 1.5, 7.5$ Hz), 7.66 (1H, ddd, $J = 1.5, 7.5, 7.5$ Hz), 7.50 (2H, m), 3.87 (2H, AB, $J = 13, 22.5$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 175.7, 167.5, 151.8, 143.8, 137.4, 135.3, 131.7, 131.2, 130.6, 130.2, 129.4, 125.5, 41.0.

ESI-HRMS calculée pour $C_{15}H_{10}N_3O_6S$ [M-H]⁻ 360.0290, trouvée : 360.0294.

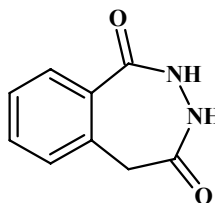
- 2,3-dihydro-1*H*-2,3-benzodiazépine-1,4(5*H*)-dione **117**

Formule brute :

C₈H₉N₂O₂

Masse molaire :

176.17 g.mol⁻¹



Rendement : 76 %.

Rf : 0.29 (MeOH 5 % dans CH₂Cl₂ + 1 % d'AcOH).

A une solution de **117c** (1 g, 2.77 mmol) dans le DMF (10 mL), ajouter Cs₂CO₃ (2.7 g, 8.31 mmol) et le thiophénol (311 μL, 3.05 mmol). Agiter le mélange 3 heures à t.a., puis évaporer sous pression réduite. Solubiliser le brut dans une solution de 5% CH₃OH dans CH₂Cl₂ (v/v), filtrer et purifier par chromatographie sur gel de silice (CH₃OH 5% dans CH₂Cl₂ + 1 % AcOH) pour donner un solide blanc (370 mg, 2.11 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) : 10.19 (s, 1H), 9.78 (s, 1H), 7.72 (dd, 1H, *J* = 1.6, 7.5 Hz), 7.53 (ddd, 1H, *J* = 1.6, 7.5, 7.5 Hz), 7.43 (ddd, 1H, *J* = 1.3, 7.5, 7.5 Hz), 7.37 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 3.66 (AB, 2H, *J* = 13, 242 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) : 173.5, 169.1, 136.6, 132.1, 131.8, 129.4, 128.4, 127.6, 40.8.

ESI-HRMS calculée pour C₉H₈NaN₂O₂S [M+Na]⁺ 199.0483, trouvée : 199.0490.

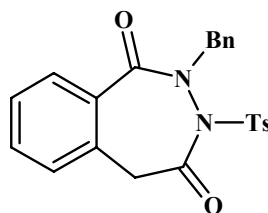
- 2-Benzyl-3-tosyl-5*H*-2,3-dihydro-2,3-benzodiazepine-1,4-dione **131**

Formule brute :

C₂₃H₂₀N₂O₄S

Masse molaire :

420.49 g.mol⁻¹



Rendement : 67 %.

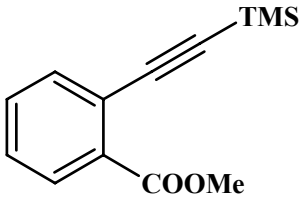
Rf : 0.52 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution à 0°C de **57a** (400 mg, 1.5 mmol) dans le THF (20 mL), ajouter NaH (78 mg, 1.95 mmol) et agiter 30 minutes. Ajouter lentement le chlorure de tosylo (342 mg, 1.80 mmol) et agiter le mélange 1 heure à t.a. Evaporer sous pression réduite puis reprendre dans AcOEt (20 mL). Laver à l'eau distillée (-20 mL) et NaCl sat. (2 x 20mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner une huile incolore. Diluer dans Et₂O et soniquer pour donner un solide blanc (420 mg, 1.0 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.79 (dd, 1H, *J* = 1.5, 7.3 Hz), 7.43-7.28 (m, 9H), 7.00 (d, 2H, *J* = 8.3 Hz), 6.84 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz), 5.16 (AB, 2H, *J* = 14.0, 305 Hz), 3.20 (AB, 2H, *J* = 13.0, 122 Hz), 2.30 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 171.4, 169.1, 146.2, 135.3, 133.2, 132.9, 132.5, 131.3, 130.7, 130.5, 130.2, 130.1, 129.8, 129.6, 129.5, 129.2, 129.1, 128.9, 54.1, 42.3, 22.0.

ESI-HRMS calculée pour C₉H₈NaN₂O₂S [M + Na]⁺ 443.1041, trouvée: 443.1039.

<ul style="list-style-type: none"> 2-[(triméthylsilanyl)éthynyl]-benzoate de méthyle 139 	
Formule brute : $C_{13}H_{16}O_2Si$ Masse molaire : $232.35 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 98 %.

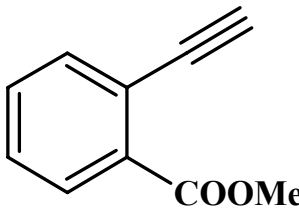
Rf : 0.48 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de 2-iodobenzoate de méthyle (3 mL, 20 mmol) dans la triéthylamine (20 mL), ajouter successivement le 2-triméthylsilylacétylène (3.5 mL, 25 mmol), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (287 mg, 0.41 mmol) et CuI (156 mg, 0.82 mmol). Chauffer 2 heures à 55°C. Revenir à t.a., filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 5 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (4.65 g, 19.6 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.88 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.56 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.40 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.5, 7.7$ Hz), 7.32 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.5, 7.5$ Hz), 3.89 (s, 3H), 0.26 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 167.1, 134.8, 132.9, 131.8, 130.6, 128.5, 123.6, 103.7, 100.0, 52.3, 0.3.

MS (ES+) m/z 233 $[M + H]^+$.

<ul style="list-style-type: none"> 2-éthynylbenzoate de méthyle 140 	
Formule brute : $C_{10}H_8O_2$ Masse molaire : $160.17 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 69 %.

Rf : 0.33 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

A une solution de **139** (230 mg, 1 mmol) dans THF (5 mL), ajouter le fluorure de tétrabutylammonium (1.2 mL, 1.2 mmol). Agiter 1 heure à t.a., puis évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (110 mg, 0.69 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.91 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.60 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.44 (d, 1H, $J = 7.5, 7.7$ Hz), 7.36 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.5$ Hz), 3.90 (s, 3H), 3.40 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 166.8, 135.3, 132.9, 132.1, 130.6, 128.8, 123.0, 82.7, 82.4, 52.5.

MS (ES+) m/z 161 $[M + H]^+$.

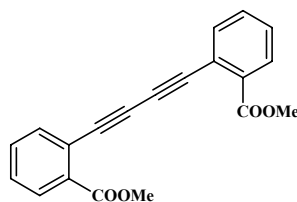
- 2,2'-buta-1,3-diyne-1,4-diyl-dibenzoate de diméthyle **142**

Formule brute :

$C_{20}H_{14}O_4$

Masse molaire :

$318.33 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 90 %.

Rf : 0.23 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

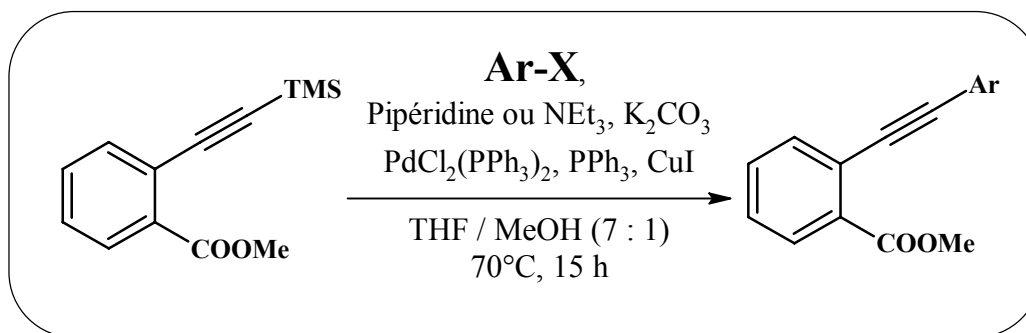
A une solution de bromobenzène (33 μL , 0.31 mmol) dans la triéthylamine (2 mL), ajouter **140** successivement (50 mg, 0.31 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (4 mg, 0.006 mmol) et CuI (2 mg, 0.012 mmol). Chauffer à 55°C pendant 2 heures, filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 5 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (45 mg, 0.28 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.99 (d, 2H, $J = 7.7$ Hz), 7.67 (d, 2H, $J = 7.5$ Hz), 7.50 (ddd, 2H, $J = 1.3, 7.5, 7.5$ Hz), 7.42 (ddd, 2H, $J = 1.3, 7.5, 7.7$ Hz), 3.97 (s, 6H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 166.5, 135.6, 133.1, 132.2, 131.0, 129.1, 122.9, 81.9, 79.3, 52.7.

MS (ES+) m/z 319 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Procédure générale de couplage de Sonogashira donnant les composés 143a-e.



A une solution sous argonde **139** (2.15 mmol) dans THF (14 mL), ajouter successivement le bromoaryl (4.15 mmol), PPh₃ (0.60 mmol), CuI (.60 mmol), et la piperidine (43.04 mmol), puis purger à l'argon 15 minutes. Ajouter K₂CO₃ (4.73 mmol) et Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0.30 mmol), puis chauffer à 80°C en ajoutant goutte à goutte le CH₃OH (2 mL). Après 15 heures, refroidir à t.a. et diluer avec CH₃OH (10 mL). Filtrer sur célite puis évaporer sous pression réduite.

• 2-(phényléthynyl)benzoate de méthyle 143a	
Formule brute : C ₁₆ H ₁₂ O ₂	
Masse molaire : 236.27 g.mol ⁻¹	

Rendement : 92 %.

Rf : 0.48 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 % dans l'heptane) pour donner une huile brune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.99 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 7.66 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.64-7.56 (m, 2H), 7.51 (dd, 1H, *J* = 7.5, 7.8 Hz), 7.38 (m, 4H), 3.98 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 167.1, 134.4, 132.1, 130.9, 128.9, 128.8, 124.2, 124.1, 123.7, 94.7, 86.6, 52.6.

IR (neat, cm⁻¹) : 3060, 2949, 2360, 2341, 2217, 1727, 1598, 1493, 1291, 1249, 1126, 1077, 753, 689, 518.

MS (ES⁺) m/z 237 [M + H]⁺.

<ul style="list-style-type: none"> 2-[(4-méthoxyphényl)éthynyl]benzoate de méthyle 143b 	
Formule brute : $C_{17}H_{14}O_3$ Masse molaire : $266.30 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 84 %.

Rf : 0.20 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 25 % dans l'heptane) pour donner une huile brune.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.97 (dd, 1H, $J = 1.1, 7.8 \text{ Hz}$), 7.63 (dd, 1H, $J = 0.8, 7.7 \text{ Hz}$), 7.54 (d, 2H, $J = 8.9 \text{ Hz}$), 7.48 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.7, 7.8 \text{ Hz}$), 7.35 (ddd, 1H, $J = 1.1, 7.8, 7.8$), 6.90 (d, 2H, $J = 8.9 \text{ Hz}$), 3.97 (s, 3H), 3.83 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 167.2, 160.3, 134.2, 133.7, 132.1, 130.8, 127.9, 124.5, 115.8, 114.4, 95.0, 87.5, 55.8, 52.6.

IR (neat, cm^{-1}) : 2926, 2838, 2214, 2119, 1727, 1605, 1509, 1267, 1245, 1076, 1027, 831, 755, 699, 529.

MS (ES+) m/z 267 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

<ul style="list-style-type: none"> 2-[(3,4-diméthoxyphényl)éthynyl]benzoate de méthyle 143c 	
Formule brute : $C_{18}H_{16}O_4$ Masse molaire : $296.32 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 85 %.

Rf : 0.24 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 25 % dans l'heptane) pour donner une huile brune.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.97 (d, 1H, $J = 7.8 \text{ Hz}$), 7.63 (d, 1H, $J = 7.8 \text{ Hz}$), 7.48 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.5 \text{ Hz}$), 7.35 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.5 \text{ Hz}$), 7.19 (d, 1H, $J = 8.1 \text{ Hz}$), 7.08 (s, 1H), 6.85 (d, 1H, $J = 8.1 \text{ Hz}$), 3.96 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.90 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 165.8, 149.3, 148.2, 133.2, 131.2, 131.0, 129.9, 127.0, 124.7, 123.5, 114.9, 113.8, 110.6, 94.3, 86.6, 55.21, 55.17, 51.4.

IR (neat, cm^{-1}) : 2924, 2852, 2360, 2341, 2206, 1727, 1593, 1513, 1248, 1133, 1078, 1024, 759, 699, 527.

ESI-HRMS calculée pour $C_{18}H_{17}O_4$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 297.1121, trouvé 297.1121.

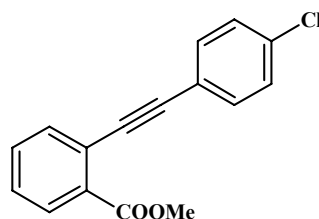
- 2-[(4-chlorophényl)éthynyl]benzoate de méthyle **143d**

Formule brute :

$C_{16}H_{11}ClO_2$

Masse molaire :

$270.72 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$



Rendement : 70 %.

Rf : 0.66 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 25 % dans l'heptane) pour donner une huile brune.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.98 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.67-7.55 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.53-7.42 (m, 3H), 7.39-7.31 (m, 3H), 3.94 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 166.8, 134.9, 134.4, 133.4, 132.2, 130.9, 129.1, 128.5, 123.8, 122.3, 96.6, 89.7, 52.6.

IR (neat, cm^{-1}) : 3099, 2924, 2382, 2349, 2190, 1730, 1493, 1290, 1258, 1092, 1015, 799, 664, 557.

ESI-HRMS calculée pour $C_{16}H_{12}O_2Cl$ $[M + H]^+$ 271.0526, trouvé 271.0532.

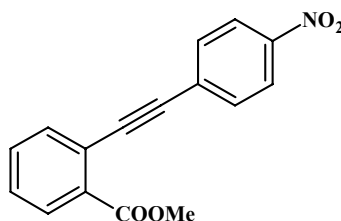
- 2-[(4-nitrophényl)éthynyl]benzoate de méthyle **143e**

Formule brute :

$C_{16}H_{11}NO_4$

Masse molaire :

$281.27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$



Rendement : 74 %.

Rf : 0.44 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt à % dans l'heptane) pour donner une huile brune.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.33 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz), 8.19 (t, 1H, $J = 7.2$ Hz), 8.01 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.79-7.62 (m, 3H), 7.57-7.39 (m, 2H), 3.96 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 166.5, 162.2, 148.4, 147.5, 145.3, 134.6, 132.8, 132.3, 131.1, 130.7, 128.7, 124.7, 123.0, 92.5, 52.7.

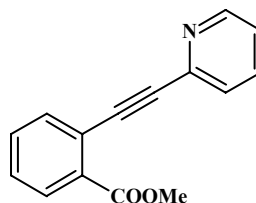
- 2-(pyridin-2-yléthynyl)benzoate méthyle **143f**

Formule brute :

$C_{15}H_{11}NO_2$

Masse molaire :

$237.26 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$



Rendement : 67 %.

Rf : 0.21 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

A une solution de **139** (500 mg, 2.15 mmol) dans le THF (14 mL), ajouter successivement la 2-bromopyridine (410 μL , 4.30 mmol), PPh_3 (158 mg, 0.60 mmol), CuI (115 mg, 0.60 mmol) et la triéthylamine (6.0 mL, 43.0 mmol). Dégazer 15 minutes à l'argon puis ajouter K_2CO_3 (654 mg, 4.73 mmol) et $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (211 mg, 0.30 mmol). Chauffer à 80°C en ajoutant lentement le MeOH (2 mL), puis agiter 1 nuit. Revenir à t.a., diluer le mélange dans l'AcOEt, filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner une huile jaune (340 mg, 1.43 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.57 (s, 1H), 7.95 (d, 1H, $J = 8.4 \text{ Hz}$), 7.67 (d, 1H, $J = 7.2 \text{ Hz}$), 7.60 (d, 1H, $J = 7.8 \text{ Hz}$), 7.53 (d, 1H, $J = 7.2 \text{ Hz}$), 7.45 (t, 1H, $J = 7.2 \text{ Hz}$), 7.35 (t, 1H, $J = 8.4 \text{ Hz}$), 7.17 (t, 1H, $J = 7.2 \text{ Hz}$), 3.90 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 166.6, 150.5, 143.9, 136.5, 134.8, 132.5, 132.2, 130.9, 129.0, 127.9, 123.3, 123.2, 93.7, 88.3, 52.6.

LC / MS : $t_r = 2.296$; (M+H) 237.9.

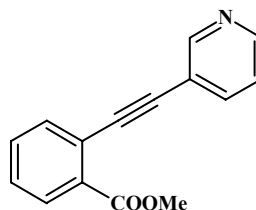
- 2-(pyridin-3-yléthynyl)benzoate de méthyle **143g**

Formule brute :

$C_{15}H_{11}NO_2$

Masse molaire :

$237.26 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 53 %.

Rf : 0.19 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

A une solution de **139** (500 mg, 2.15 mmol) dans le THF (14 mL), ajouter successivement la 3-bromopyridine (410 μL , 4.30 mmol), PPh_3 (158 mg, 0.60 mmol), CuI (115 mg, 0.60 mmol) et la pipéridine (4.3 mL, 43.0 mmol). Dégazer 15 minutes à l'argon puis ajouter K_2CO_3 (654 mg, 4.73 mmol) et $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (211 mg, 0.30 mmol). Chauffer à 80°C en ajoutant lentement le MeOH (2 mL), puis agiter 1 nuit. Revenir à t.a., diluer le mélange dans l'AcOEt, filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner une huile jaune (270 mg, 1.14 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.70 (bs, 1H), 8.42 (d, 1H, $J = 3.7 \text{ Hz}$), 7.85 (dd, 1H, $J = 1.0, 7.6 \text{ Hz}$), 7.72 (dd, 1H, $J = 1.5, 7.6 \text{ Hz}$), 7.50 (dd, 1H, $J = 1.0, 7.6 \text{ Hz}$), 7.34 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.6, 7.6 \text{ Hz}$), 7.24 (ddd, 1H, $J = 1.1, 7.6, 7.6 \text{ Hz}$), 7.12 (dd, 1H, $J = 2.7, 7.6 \text{ Hz}$), 3.80 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 166.5, 152.6, 149.0, 138.8, 134.3, 132.1, 130.9, 128.7, 123.4, 123.3, 120.8, 91.9, 91.1, 52.5.

LC / MS : $t_r = 2.342$; (M+H) 238.0.

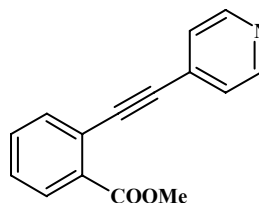
- 2-(pyridin-4-yléthynyl)benzoate de méthyle **143h**

Formule brute :

$C_{15}H_{11}NO_2$

Masse molaire :

$237.26 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 90 %.

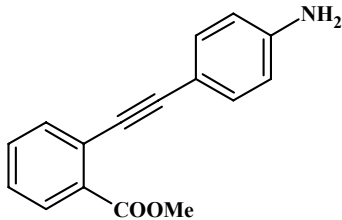
Rf : 0.26 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de **139** (200 mg, 0.86 mmol) dans le THF (14 mL), ajouter successivement l'hydrochlorure de 4-bromopyridine (335 mg, 1.72 mmol), PPh_3 (63 mg, 0.24 mmol), CuI (46 mg, 0.24 mmol) et la pipéridine (1.7 mL, 17.2 mmol). Dégazer 15 minutes à l'argon puis ajouter K_2CO_3 (262 mg, 1.89 mmol) et $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (85 mg, 0.12 mmol). Chauffer à $80^\circ C$ en ajoutant lentement le MeOH (2 mL), puis agiter 1 nuit. Revenir à t.a., diluer le mélange dans l'AcOEt, filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner une huile jaune (183 mg, 0.77 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.57-8.52 (m, 2H), 7.97-7.91 (m, 1H), 7.58 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.44 (t, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.38-7.32 (m, 3H), 3.88 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 166.5, 150.2, 134.6, 132.2, 131.0, 129.2, 125.9, 122.9, 93.0, 91.6, 52.6.

LC / MS : $t_r = 1.844$; (M+H) 238.0.

<ul style="list-style-type: none"> • 2-[(4-aminophényl)éthynyl]benzoate de méthyle 143i 	
Formule brute : $C_{16}H_{13}NO_2$ Masse molaire : $251.29 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 70 %.

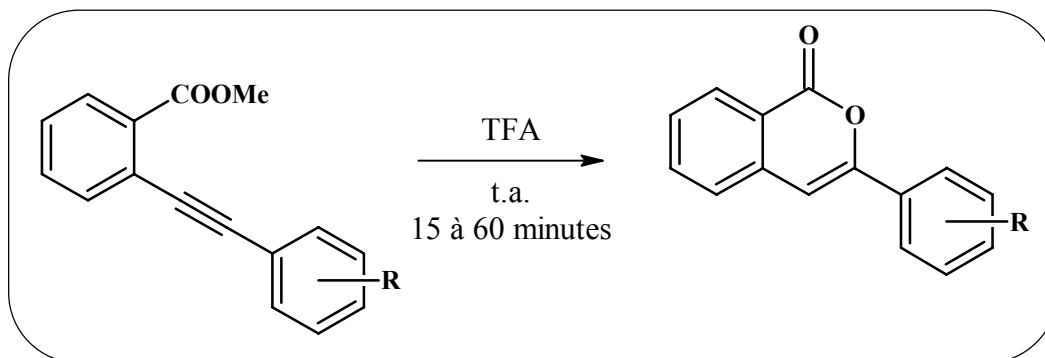
Rf : 0.50 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de **143e** (70 mg, 0,25 mmol) dans l'éthanol (4 mL) et l'eau distillée (1 mL), ajouter Fe en poudre (42 mg, 0,75 mmol) et NH_4Cl (8 mg, 0,15 mmol). Chauffer le mélange 1 heure à $90^\circ C$, puis revenir à t.a., filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt (20 mL) puis laver avec $NaHCO_3$ sat. (2 x 10 mL) et NaCl sat. (2 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 25 % dans l'heptane) pour donner une huile jaune (44 mg, 0.18 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.95 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.47 (ddd, 1H, $J = 1.2, 7.2, 8.4$ Hz), 7.38 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.33 (ddd, 1H, $J = 1.2, 7.2, 8.4$ Hz), 6.64 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 3.97 (s, 3H), 3.79 (bs, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 167.4, 147.4, 134.1, 133.6, 132.0, 131.8, 130.8, 127.6, 124.8, 124.5, 115.1, 112.9, 95.9, 86.9, 52.5.

Procédure générale de cyclisation intramoléculaire donnant les isocoumarines (149a-d).



Agiter une heure à t.a. une solution de **143a-d** (1.86 mmol) dans l'acide trifluoroacétique (2 mL), puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt (20 mL), puis laver à l'eau distillée (20 mL) et NaCl sat. (2 x 20 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite.

• 3-phényl-isocoumarine 149a	
Formule brute : C ₁₅ H ₁₀ O ₂	
Masse molaire : 222.24 g.mol ⁻¹	

Rendement : 83 %.

Rf : 0.43 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 20 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.33 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 7.92-7.86 (m, 2H), 7.73 (ddd, 1H, *J* = 0.9, 7.5, 7.5 Hz), 7.55-7.44 (m, 5H), 6.96 (s, 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.3, 154.0, 137.9, 135.3, 132.4, 130.4, 130.1, 129.2, 128.5, 126.4, 125.6, 121.0, 102.2.

IR (neat, cm⁻¹) : 2923, 2852, 2360, 1725, 1635, 1494, 1483, 1233, 1064, 1038, 1010, 764, 687, 526.

MS (ES⁺) *m/z* 223 [M + H]⁺.

m.p. = 88-90°C.

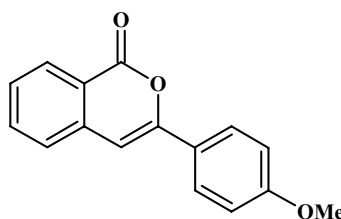
- 3-(4-méthoxyphényl)-isocoumarine **149b**

Formule brute :

C₁₆H₁₂O₃

Masse molaire :

252.27 g.mol⁻¹



Rendement : 96 %.

Rf : 0.31 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.26 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 7.79 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 7.67 (dd, 1H, *J* = 7.2, 7.8 Hz), 7.47-7.40 (m, 2H), 6.95 (d, 2H, *J* = 8.7 Hz), 6.79 (s, 1H), 3.84 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.8, 161.4, 154.0, 138.3, 135.2, 129.9, 128.0, 127.2, 126.1, 124.9, 120.5, 114.6, 100.6, 55.8.

IR (neat, cm⁻¹) : 2921, 2850, 2360, 2341, 1730, 1512, 1480, 1256, 1233, 1177, 1065, 1025, 820, 751, 687, 532.

MS (ES⁺) *m/z* 253 [M + H]⁺.

m.p. = 113-115°C.

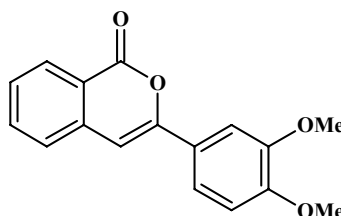
- 3-(3,4-diméthoxyphényl)-isocoumarine **149c**

Formule brute :

C₁₇H₁₄O₄

Masse molaire :

282.30 g.mol⁻¹



Rendement : 97 %.

Rf : 0.34 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.21 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 7.66 (ddd, 1H, *J* = 1.0, 7.8, 8.3 Hz), 7.40 (ddd, 3H, *J* = 2.0, 8.3, 8.6 Hz), 7.30 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz), 6.86 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz), 6.82 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.88 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 163.9, 153.9, 151.1, 149.53, 138.4, 135.6, 130.0, 128.3, 126.2, 124.9, 120.0, 118.9, 111.6, 108.5, 101.3, 56.4, 56.3.

IR (neat, cm⁻¹) : 2932, 2836, 2352, 1722, 1631, 1600, 1512, 1463, 1262, 1215, 1169, 1142, 1070, 808, 756, 537.

ESI-HRMS calculée pour C₁₇H₁₅O₄ [M + H]⁺ 283.0965, trouvée : 283.0969.

m.p. = 110-112°C.

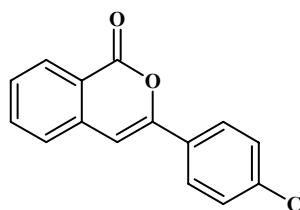
- 3-(4-chlorophényl)-isocoumarine **149d**

Formule brute :

$C_{15}H_9ClO_2$

Masse molaire :

$256.69 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 98 %.

Rf : 0.33 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 25 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.26 (d, 1H, $J = 7.9 \text{ Hz}$), 7.76 (d, 2H, $J = 8.3 \text{ Hz}$), 7.70 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.5 \text{ Hz}$), 7.51-7.45 (m, 2H), 7.38 (d, 2H, $J = 8.3 \text{ Hz}$), 6.88 (s, 1H).

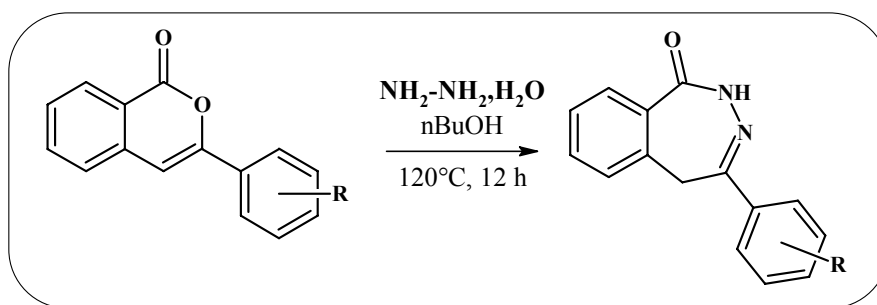
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 162.4, 152.8, 137.6, 136.3, 135.4, 130.7, 130.0, 129.5, 128.8, 126.8, 126.5, 120.8, 120.4.

IR (neat, cm^{-1}) : 2961, 2851, 2360, 2341, 1726, 1493, 1259, 1090, 1071, 1014, 824, 796, 683, 527.

MS (ES+) m/z 257 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

m.p. = 144-147°C.

Procédure générale de synthèse des 4-aryl-2,5-dihydro-1H-2,3-benzodiazépine-1-ones 150a-c.



A une solution de **149a-d** (1.17 mmol) dans nBuOH (5 mL), ajouter l'hydrazine hydrate (62 μL , 1.29 mmol). Chauffer 12 heures à 120°C , puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt (20 mL), puis laver à l'eau distillée (20 mL) et NaCl sat. (2 x 20mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite.

<ul style="list-style-type: none">4-phényl-2,5-dihydro-1H-2,3-benzodiazépine-1-one 150a	
Formule brute : $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$ Masse molaire : $236.27 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 83 %.

Rf : 0.37 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 1 à 5% dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 9.27 (bs, 1H), 8.06 (d, 1H, $J = 7.5 \text{ Hz}$), 7.91-7.83 (m, 2H), 7.55 (dd, 1H, $J = 6.9, 7.5 \text{ Hz}$), 7.49-7.40 (m, 4H), 7.33 (d, 1H, $J = 7.5 \text{ Hz}$), 4.07 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 168.2, 160.7, 137.6, 135.7, 133.9, 131.9, 131.3, 130.9, 129.1, 128.2, 127.5, 127.3, 36.1.

ESI-HRMS calculée pour $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{NaN}_2\text{O}$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 259.0847, trouvé : 259.0836.

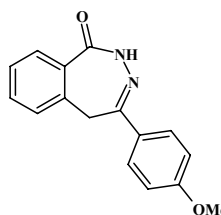
- 4-(4-méthoxyphényl)-2,5-dihydro-1*H*-2,3-benzodiazépin-1-one **150b**

Formule brute :

C₁₆H₁₄N₂O₂

Masse molaire :

266.30 g.mol⁻¹



Rendement : 91 %.

Rf : 0.26 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 1 à 5% dans CH₂Cl₂) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 9.13 (1H, s), 8.05 (1H, dd, *J* = 1.2, 7.6 Hz), 7.83 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 7.55 (1H, ddd, *J* = 1.5, 7.6, 7.6 Hz), 7.43 (1H, ddd, *J* = 1.2, 7.6, 7.6 Hz), 7.33 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 6.99 (2H, d, *J* = 8.8 Hz), 4.06 (2H, s), 3.87 (3H, s).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 168.3, 161.9, 160.6, 137.7, 133.8, 132.0, 131.2, 128.9, 128.1, 127.5, 114.5, 55.8, 35.9.

ESI-HRMS calculée pour C₁₆H₁₅N₂O₂ [M + H]⁺ 267.1134, trouvé : 267.1124.

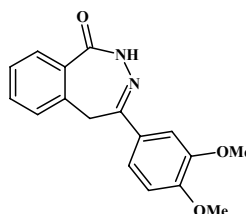
- 4-(3,4-diméthoxyphényl)-2,5-dihydro-1*H*-2,3-benzodiazépin-1-one **150c**

Formule brute :

C₁₇H₁₆N₂O₃

Masse molaire :

296.33 g.mol⁻¹



Rendement : 98 %.

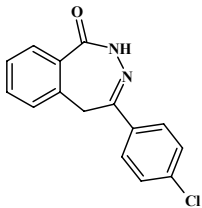
Rf : 0.28 (AcOEt 60 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 1 à 5 % dans CH₂Cl₂) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 9.03 (s, 1H), 8.05 (dd, 1H, *J* = 1.1, 7.5 Hz), 7.54 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 7.2, 7.5 Hz), 7.46 (d, 1H, *J* = 1.9 Hz), 7.44-7.39 (m, 2H), 7.31 (d, 1H, *J* = 7. (Hz), 6.91 (d, 1H, *J* = 8.8 Hz), 4.05 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.92 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 168.2, 162.0, 160.3, 137.3, 133.5, 132.4, 131.1, 129.2, 128.2, 127.7, 114.2, 56.4, 56.3, 36.0.

LC / MS : t_r = 1.680; (M+Na) 319.0.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-chlorophényl)-2,5-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazépin-1-one 150d 	
Formule brute : $C_{15}H_{11}ClN_2O$	
Masse molaire : $270.72 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 87 %.

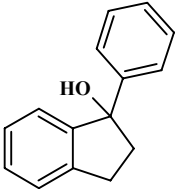
Rf : 0.45 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 9.24 (1H, s), 8.05 (1H, d, $J = 7.8$ Hz), 7.78 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.55 (1H, dd, $J = 7.5, 7.5$ Hz), 7.42 (1H, m), 7.39 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), 7.31 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 4.03 (2H, s).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 168.0, 159.5, 137.3, 137.0, 134.0, 131.8, 131.4, 129.8, 129.4, 128.6, 128.3, 127.9, 127.4, 35.9.

ESI-HRMS calculée pour $C_{15}H_{12}N_2OCl$ $[M + H]^+$ 271.0638, trouvé : 271.0629.

<ul style="list-style-type: none"> 1-phénylindan-1-ol 156 	
Formule brute : $C_{15}H_{14}O$	
Masse molaire : $210.28 \text{ g.mol}^{-1}$	

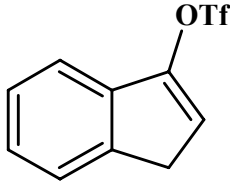
Rendement : 94 %.

Rf : 0.46 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

A un mélange sous Argon de Mg (1.38 g, 56.7 mmol) dans Et_2O (20 mL), ajouter 1 cristal de I_2 et Ph-Br (5.58 mL, 53.0 mmol) et agiter 1 heure à t.a. Ajouter goutte à goutte une solution de 1-indanone (5.0 g, 37.8 mmol) dans Et_2O (30 mL) et agiter pendant 4 heures à t.a. Ajouter une solution aqueuse de NH_4Cl 10 % (15 mL) et extraire. Extraire la phase aqueuse à Et_2O (2 x 20 mL). Sécher la phase organique sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 5 à 25 % dans l'heptane) pour donner une huile incolore (7.47 g, 35.5 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.46-7.19 (m, 8H), 7.15-7.07 (m, 1H), 3.08 (AB, 1H, $J = 15.8, 44.2$ Hz), 3.07 (AB, 1H, $J = 16.0, 29.7$ Hz), 2.50 (td, 2H, $J = 1.8, 5.1$ Hz), 2.20 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 146.4, 144.3, 141.1, 128.1, 127.4, 127.1, 126.2, 125.5, 121.8, 88.5, 50.05, 31.1.

<ul style="list-style-type: none"> trifluorométhanesulfonate de 3-indène 156 	
Formule brute : $C_{10}H_7F_3O_3S$	
Masse molaire : $264.22 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 86 %.

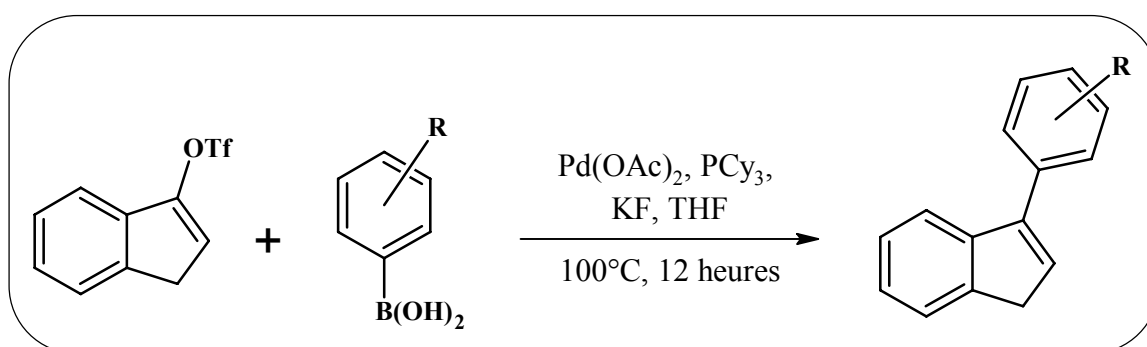
Rf : 0.48 (AcOEt 10 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de 1-indanone (200 mg, 1.52 mmol) dans le CH_2Cl_2 (5 mL), ajouter successivement l'anhydride triflique (300 μ L, 1.82 mmol), puis la 2,6-di-tertbutylpyridine (442 μ L, 1.97 mmol). Agiter le mélange 1 heure à température ambiante, puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans l'AcOEt (10 mL), laver à l'eau distillée (2 x 5 mL) et au NaCl sat. (2 x 5 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (Et_2O 0 à 1% dans l'heptane) pour donner une huile incolore (37.4 mg, 1.31 mmol).

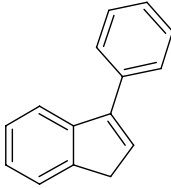
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.47 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz), 7.43-7.39 (m, 1H), 7.36 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz), 7.32 (ddd1H, $J = 1.6, 7.2, 7.2$ Hz), 6.37 (t, 1H, $J = 2.5$ Hz), 3.47 (d, 2H, $J = 2.5$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 148.4, 141.7, 137.0, 127.4, 127.3, 125.6, 124.9, 121.4, 118.8, 118.5, 117.1, 112.9, 35.2.

Procédure générale du couplage de Suzuki conduisant aux composés 157a-c.



A une solution sous argon de **156** (100 mg, 0.35 mmol) in THF, ajouter successivement KF (67 mg, 1.15 mmol), l'acide aryl-boronique (0.42 mmol), $P(Cy)_3$ (10 mg, 0.035 mmol) et $Pd_2(dba)_3$ (16 mg, 0.017 mmol). Chauffer le mélange une nuit à $100^\circ C$, puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans CH_2Cl_2 (20 mL), puis laver à l'eau distillée (20 mL) et au NaCl sat. (2 x 20mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite.

<ul style="list-style-type: none"> 3-phénylindène 157a 	
Formule brute : $C_{15}H_{12}$ Masse molaire : $192.26 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 92 %.

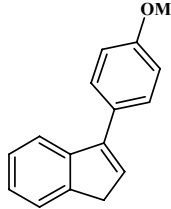
Rf : 0.67 (AcOEt 10 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (heptane) pour donner une huile incolore.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.79-7.76 (m, 3H), 7.69 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz), 7.63-7.58 (m, 2H), 7.54 (d, 1H, $J = 7.3$ Hz), 7.50-7.45 (m, 1H), 7.42 (m, 1H), 6.75-6.70 (t, 1H, $J = 2.0$ Hz), 3.65 (d, 2H, $J = 2.0$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 146.5, 146.1, 145.2, 137.5, 132.2, 130.1, 129.9, 129.0, 128.9, 128.5, 127.5, 126.2, 125.4, 121.6, 39.5.

GC-MS m/z 192.

<ul style="list-style-type: none"> 3-(4-méthoxyphényl)-1<i>H</i>-indène 157b 	
Formule brute : $C_{16}H_{14}N_2O$ Masse molaire : $222.29 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 79 %.

Rf : 0.41 (AcOEt 10 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (Et_2O 0 à 10% dans l'heptane) pour donner une huile incolore.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.79-7.62 (m, 4H), 7.55-7.40 (m, 2H), 7.10 (d, 2H, 8.1 Hz), 6.62 (s, 1H), 3.95 (s, 3H), 3.59 (bs, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.7, 145.4, 145.2, 144.6, 130.4, 129.3, 126.6, 125.3, 124.6, 120.8, 114.5, 55.8, 38.6.

GC-MS m/z 222.

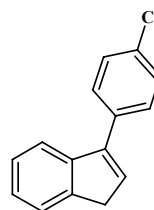
- 3-(4-chlorophényl)-1*H*-indène **157c**

Formule brute :

$C_{15}H_{11}Cl$

Masse molaire :

$226.71 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 74 %.

Rf : 0.59 (AcOEt 10 % dans l'heptane).

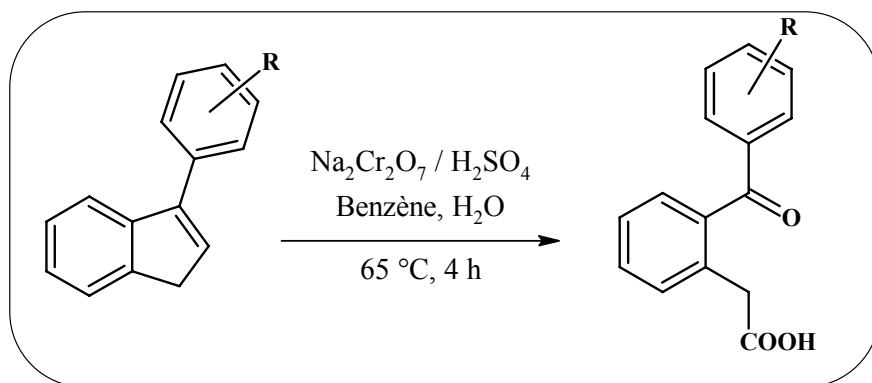
Purifier par chromatographie sur gel de silice (Et_2O 0 à 10 % dans l'heptane) pour donner une huile incolore.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.65-7.13 (m, 8H), 6.67 (bs, 1H), 3.60 (bs, 2H).

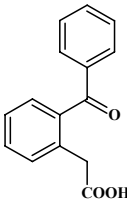
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 145.2, 144.6, 144.0, 138.1, 133.8, 131.9, 129.5, 129.3, 126.8, 125.6, 124.7, 120.6, 38.7.

GC-MS m/z 226.

Procédure générale de clivage oxydatif conduisant aux composés 158a-c.



A une solution de $Na_2Cr_2O_7$ (18.6 g, 62 mmol) dans l'eau distillée (30 mL), ajouter goutte à goutte H_2SO_4 conc. (10 mL), puis une solution de **157a-c** (0.31 mol) dans le benzène (20 mL). Chauffer pendant 2 heures à $65^\circ C$, puis évaporer sous pression réduite. Basifier la solution aqueuse par addition de $NaOH$ 1N (25 mL) et laver avec CH_2Cl_2 (2 x 50 mL). Acidifier avec HCl conc. jusqu'à pH 1~2 puis extraire avec CH_2Cl_2 (2 x 30 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite pour donner un solide blanc.

<ul style="list-style-type: none"> Acide (2-benzoylphényl)acétique 158a 	
Formule brute : $C_{15}H_{12}O_3$ Masse molaire : $240.26 \text{ g.mol}^{-1}$	

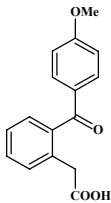
Rendement : 80 %.

Rf : 0.27 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.83-7.79 (m, 2H), 7.61 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.5$ Hz), 7.54-7.42 (m, 5H), 7.36 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.5, 7.5$ Hz), 3.84 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 199.4, 175.4, 138.0, 137.7, 134.2, 133.9, 132.4, 132.1, 131.1, 128.8, 127.2, 40.0.

MS (ES+) m/z 264 $[M + Na]^+$.

<ul style="list-style-type: none"> Acide [2-(4-methoxybenzoyl)phényl]acétique 158b 	
Formule brute : $C_{16}H_{14}O_4$ Masse molaire : $270.28 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 66 %.

Rf : 0.29 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 12.24 (bs, 1H), 7.68 (d, 2H, $J = 7.2$ Hz), 7.49 (dd, 1H, $J = 7.2, 7.5$ Hz), 7.40-7.34 (m, 2H), 7.30 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.05 (d, 2H, $J = 7.5$ Hz), 3.84 (s, 3H), 3.69 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 198.3, 174.3, 164.7, 138.2, 134.1, 133.9, 132.2, 131.9, 130.8, 130.0, 127.1, 114.2, 56.0, 40.6.

ESI-HRMS calculée pour $C_{16}H_{14}NaO_4 [M + Na]^+$ 293.0790, trouvée : 293.0793.

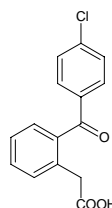
- Acide [2-(4-chlorobenzoyl)phényl]acétique **158c**

Formule brute :

$C_{15}H_{13}ClO_3$

Masse molaire :

$274.70 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$



Rendement : 76 %.

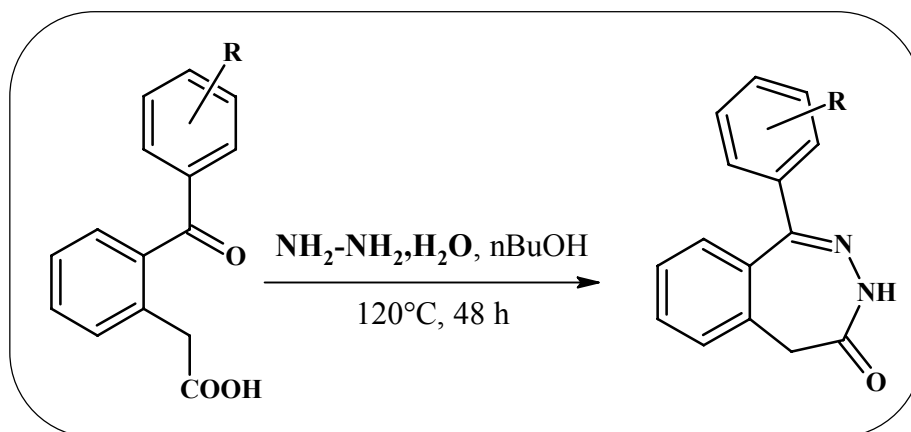
Rf : 0.27 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.69 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 7.46 (ddd, 1H, $J = 1.9, 7.8, 7.8$ Hz), 7.43-7.36 (m, 3H), 7.33-7.30 (m, 1H), 7.29 (ddd, 1H, $J = 1.9, 7.8, 7.8$ Hz), 3.77 (s, 2H).

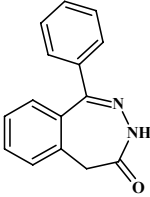
RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 198.1, 174.9, 140.5, 137.5, 136.0, 134.3, 132.5, 132.3, 130.9, 129.2, 127.3, 39.9.

ESI-HRMS calculée pour $C_{15}H_{11}NaO_3Cl [M + Na]^+$ 297.0294, trouvée : 297.0309.

Procédure générale pour la synthèse des 1-aryl-3,5-dihydro-4H-2,3-benzodiazepine-4-ones 159a-c.



A une solution de **158a-c** (2.08 mmol) dans nBuOH (10 mL), ajouter l'hydrazine hydrate (111 μL , 2.29 mmol). Chauffer 48 heures à 48 heures at 120°C , puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt (20 mL), puis laver à l'eau distillée (20 mL) et au NaCl sat. (2 x 20 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite.

<ul style="list-style-type: none"> 1-phényl-3,5-dihydro-4<i>H</i>-2,3-benzodiazépin-4-one 159a 	
Formule brute : $C_{15}H_{12}N_2O$ Masse molaire : $236.27 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 59 %.

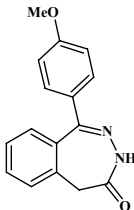
Rf : 0.65 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (Et_2O 25 à 40% dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.99 (s, 1H), 7.62 (m, 2H), 7.63-7.52 (ddd, 1H, $J = 1.3, 7.5, 7.5$ Hz), 7.47-7.37 (m, 4H), 7.34 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.8$ Hz), 7.24 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 3.61 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 171.5, 162.5, 138.3, 136.5, 132.3, 131.7, 130.5, 130.0, 129.7, 128.8, 128.5, 127.2, 42.5.

ESI-HRMS calculée pour $C_{15}H_{12}NaN_2O$ $[M + Na]^+$ 259.0847, trouvée : 259.0844.

<ul style="list-style-type: none"> 1-(4-méthoxyphényl)-3,5-dihydro-4<i>H</i>-2,3-benzodiazépin-4-one 159b 	
Formule brute : $C_{16}H_{14}N_2O_2$ Masse molaire : $266.30 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 47 %.

Rf : 0.65 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (Et_2O 33 à 40 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.87 (s, 1H), 7.57 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz), 7.58-7.51 (m, 1H), 7.40 (1d, H, $J = 7.8$ Hz), 7.34 (dd, 1H, $J = 7.2, 7.8$ Hz), 7.26 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz), 6.94 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz), 3.86 (s, 3H), 3.58 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 171.7, 161.6, 136.7, 133.7, 132.2, 131.7, 131.2, 130.7, 130.1, 128.4, 127.3, 127.2, 114.2, 55.8, 42.5.

ESI-HRMS calculée pour $C_{16}H_{15}N_2O_2$ $[M + H]^+$ 267.1134, trouvée : 267.1138.

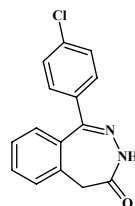
- 1-(4-chlorophényl)-3,5-dihydro-4*H*-2,3-benzodiazépin-4-one **159c**

Formule brute :

$C_{15}H_{11}ClN_2O$

Masse molaire :

$270.72 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$



Rendement : 48 %.

Rf : 0.48 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (Et₂O 33 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

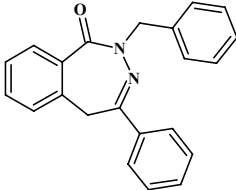
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.74 (s, 1H), 7.58-7.54 (m, 3H), 7.42-7.33 (m, 4H), 7.22 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 3.60 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 171.1, 136.5, 136.3, 132.3, 131.1, 130.9, 130.7, 129.6, 129.5, 129.1, 128.9, 128.4, 127.2, 42.3.

ESI-HRMS calculée pour $C_{15}H_{12}N_2OCl$ $[M + H]^+$ 271.0638, trouvée : 271.0635.

Procédure générale de la réaction d'alkylation donnant les composés 160 et 161.

A une solution à 0°C de **150a** ou **159a** (0.21 mmol) dans le THF (3 mL), ajouter NaH (9 mg, 0.22 mmol). Agiter le mélange 10 minutes à 0°C et ajouter goutte à goutte le bromure de benzyle (26 µL, 0.22 mmol). Agiter 4 heures à t.a. puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt (20 mL), puis laver à l'eau distillée (20 mL) et NaCl sat. (2 x 20 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite.

<ul style="list-style-type: none">2-benzyl-4-phényl-2,5-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazépin-1-one 160	
Formule brute : C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O	
Masse molaire : 326.40 g.mol ⁻¹	

Rendement : 88 %.

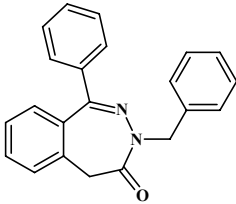
Rf : 0.53 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 25 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.93-7.86 (m, 2H), 7.83 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.61-7.50 (m, 2H), 7.48-7.37 (m, 6H), 7.36-7.30 (m, 2H), 7.27 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz), 5.21 (s, 2H), 4.07 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 165.2, 162.4, 138.3, 138.2, 134.7, 133.1, 132.3, 131.1, 130.5, 129.1, 128.7, 128.3, 127.8, 127.4, 127.3, 54.1, 34.5.

ESI-HRMS calculée pour C₂₂H₁₈NaN₂O [M + Na]⁺ 349.1317, trouvé : 349.1304.

<ul style="list-style-type: none">3-benzyl-1-phényl-3,5-dihydro-4<i>H</i>-2,3-benzodiazépin-4-one 161	
Formule brute : C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O	
Masse molaire : 326.40 g.mol ⁻¹	

Rendement : 98 %.

Rf : 0.40 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 25 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

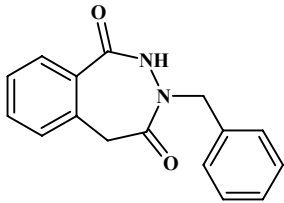
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.66-7.53 (m, 1H), 7.48-7.39 (m, 7H), 7.25-7.14 (m, 6H), 5.00 (s, 2H), 3.63 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 167.7, 162.3, 138.0, 137.8, 137.2, 132.5, 130.8, 130.5, 129.5, 129.2, 128.7, 128.6, 128.1, 127.9, 127.4, 127.3, 53.1, 41.9.

ESI-HRMS calculée pour C₂₂H₁₈NaN₂O [M + Na]⁺ 349.1317, trouvé : 349.1312.

Alkylation de la 2,3-dihydro-5H-2,3-benzodiazepine-1,4-dione (94).

A une solution à 0°C de **94** (20 mg, 0.11 mmol) dans le DMF (1 mL), ajouter NaH (3 mg, 0.08 mmol). Agiter le mélange 10 minutes à 0°C et ajouter goutte à goutte le bromure de benzyle (14 µL, 0.08 mmol). Agiter 1 heure à t.a. puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt (20 mL), puis laver à l'eau distillée (20 mL) et NaCl sat. (2 x 20mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 25 à 50 % dans l'heptane) pour donner 3 solides blancs.

<ul style="list-style-type: none">3-benzyl-2,3-dihydro-5H-2,3-benzodiazépine-1,4-dione 162	
Formule brute : C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₂ Masse molaire : 266.30 g.mol ⁻¹	

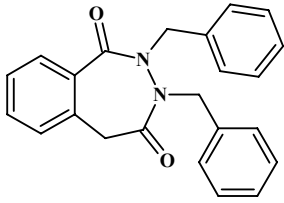
Rendement : 22 %.

Rf : 0.33 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.70 (s, 1H), 7.65 (dd, 1H, *J* = 1.3, 7.8 Hz), 7.53 (ddd, 1H, *J* = 1.3, 7.5, 7.8 Hz), 7.38 (dd, 1H, *J* = 7.5, 7.5 Hz), 7.33 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.29-7.23 (m, 3H), 7.10 (dd, 2H, *J* = 1.6, 7.5 Hz), 4.72 (AB, 2H, *J* = 14, 37 Hz), 3.90 (AB, 2H, *J* = 13.1, 209 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 175.0, 173.4, 139.2, 137.2, 136.6, 133.7, 133.2, 132.4, 132.2, 131.9, 131.5, 55.6, 45.3.

ESI-HRMS calculée pour C₁₆H₁₄NaN₂O₂ [M + Na]⁺ 289.0953, trouvé : 289.0945.

<ul style="list-style-type: none">2,3-dibenzyl-2,3-dihydro-5H-2,3-benzodiazépine-1,4-dione 163	
Formule brute : C ₂₃ H ₂₀ N ₂ O ₂ Masse molaire : 356.42g.mol ⁻¹	

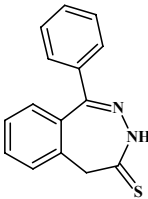
Rendement : 56 %.

Rf : 0.58 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.37-7.25 (m, 6H), 7.20-7.18 (m, 3H), 7.05-6.97 (m, 3H), 6.71 (d, 2H, *J* = 7.2 Hz), 4.87 (AB, 2H, *J* = 14, 392 Hz), 4.65 (AB, 2H, *J* = 14, 374 Hz), 3.30 (AB, 2H, *J* = 13, 156 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 173.4, 170.0, 136.0, 134.9, 134.2, 132.5, 131.7, 129.9, 129.7, 129.5, 129.4, 128.9, 128.6, 128.4, 128.2, 128.1, 49.4, 48.8, 41.3.

ESI-HRMS calculée pour C₂₃H₂₀NaN₂O₂ [M + Na]⁺ 379.1422, trouvé : 379.1408.

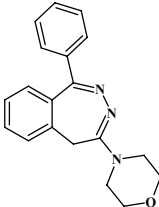
<ul style="list-style-type: none"> 1-phényl-3,5-dihydro-4<i>H</i>-2,3-benzodiazépine-4-thione 171 	
Formule brute : $C_{15}H_{12}N_2S$ Masse molaire : $252.34 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 77 %.

Rf : 0.58 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de **159a** (50 mg, 0.21 mmol) dans le toluène, ajouter le réactif de Lawesson (43 mg, 0.11 mmol) puis irradier le mélange aux micro-ondes 15 minutes à 150°C. Evaporer sous pression réduite et purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune (41 mg, 0.16 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 10.28 (bs, 1H), 7.70-7.55 (m, 3H), 7.53-7.42 (m, 5H), 7.38-7.21 (m, 2H), 4.04 (s, 2H).

<ul style="list-style-type: none"> 4-(morpholin-1-yl)-1-phényl-5<i>H</i>-2,3-benzodiazépine 172 	
Formule brute : $C_{19}H_{19}N_3O$ Masse molaire : $305.38 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 62 %.

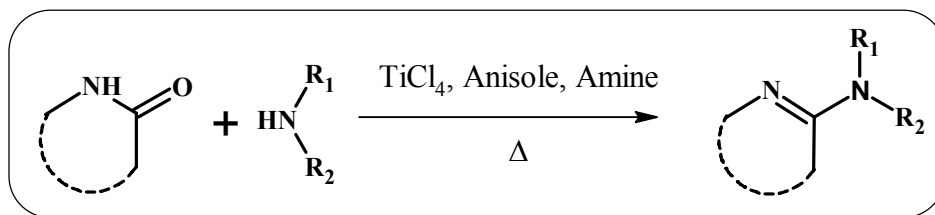
Rf : 0.44 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Irradier aux micro-ondes à 150°C pendant 10 minutes une solution de **171** (40 mg, 0.16 mmol) dans l'iPrOH (500 μL) et la morpholine (500 μL). Evaporer sous pression réduite, reprendre dans l'AcOEt (10 mL), puis laver à HCl (1N, 2 x 5 mL). Basifier la solution aqueuse par addition de NaHCO_3 sat. Extraire à l'AcOEt (3 x 10 mL) et laver au NaCl sat. (2 x 5 mL). Purifier par chromatographie sur gel de silice pour (MeOH 2 à 3 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (30 mg, 0.10 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.68 (dd, 2H, $J = 2.2, 7.5 \text{ Hz}$), 7.54-7.46 (m, 1H), 7.43-7.34 (m, 5H), 7.25 (d, 1H, $J = 7.5 \text{ Hz}$), 3.41 (AB, 2H, $J = 9.4, 200 \text{ Hz}$), 3.74-3.68 (m, 4H), 3.55-3.33 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 160.0, 152.7, 139.8, 139.2, 131.4, 131.3, 130.7, 129.7, 128.5, 127.3, 126.5, 66.8, 47.0, 32.9.

Procédure générale d'amination par TiCl₄ :



A une solution sous argon de tétrachlorure de titane 1M (260 μL, 0.25 mmol) dans CH₂Cl₂, ajouter l'anisole (700 μL), puis agiter 15 min. Ajouter l'amine (6.35 mmol) et la benzodiazépinone (0.21 mmol), puis irradier aux micro-ondes à 100°C pendant 30 minutes. Reprendre dans AcOEt (20 mL), puis laver avec NaHCO₃ (3 x 20 mL) et NaCl sat. (2 x 20 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite.

<ul style="list-style-type: none">2-[(2-pipéridin-1-yl)-éthyl]amino-5-phényl-3H-1,4-benzodiazépine 176a	
Formule brute : C ₂₂ H ₂₆ N ₄	
Masse molaire : 346.48 g.mol ⁻¹	

Rendement : 95 %.

Rf : 0.11 (MeOH 5 % dans CH₂Cl₂).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 à % dans CH₂Cl₂ + 1 % de TEA) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7.55 (m, 2 H), 7.40 (m, 4 H), 7.24 (m, 2H), 6.92 (ddd, 1 H, *J* = 1.2, 7.9, 7.9 Hz), 4.58 (m, 2H), 3.50 (m, 2H), 2.63 (m, 2H), 2.50 (m, 4H), 1.61 (m, 4H), 1.46 (m, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 158.5, 148.6, 139.9, 131.6, 130.6, 130.3, 128.5, 126.2, 121.9, 56.7, 54.1, 53.4, 46.2, 37.2, 23.2, 22.2.

ESI-HRMS calculée pour C₂₂H₂₇N₄ [M + H]⁺ 347.2230, trouvé : 347.2240.

<ul style="list-style-type: none"> 2-(4-méthylpipérazin-1-yl)-5-phényl-3<i>H</i>-1,4-benzodiazépine 176b 	
Formule brute : $C_{20}H_{22}N_4$	
Masse molaire : $318.42 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 92 %.

Rf : 0.20 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.55 (dd, 2 H, $J = 1.7, 7.9$ Hz), 7.24 (m, 2H), 7.40 (m, 4 H), 2.34 (s, 3 H), 6.94 (ddd, 1 H, $J = 1.2, 7.9, 7.9$ Hz), 4.14 (AB, 2 H, $J = 9.9, 558$ Hz), 3.81 (t, 4 H, $J = 4.9$ Hz), 2.55 (t, 4 H, $J = 4.9$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 156.7, 151.4, 140.3, 131.5, 131.2, 130.5, 130.2, 128.5, 126.8, 120.7, 54.7, 49.2, 45.9, 45.3.

ESI-HRMS calculée pour $C_{20}H_{23}N_4 [M + H]^+$ 319.1917, trouvé : 319.1926.

<ul style="list-style-type: none"> 2-[4-(1-pyrimidyl)-pipérazin-1-yl]-5-phényl-5<i>H</i>-2,3-benzodiazépine 176c 	
Formule brute : $C_{23}H_{22}N_6$	
Masse molaire : $382.47 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 67 %.

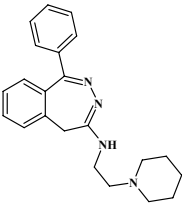
Rf : 0.48 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.34 (d, 2H, $J = 4.5$ Hz), 7.62-7.56 (m, 2H), 7.48-7.37 (m, 4H), 7.28 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz), 6.96 (t, 1H, $J = 7.9$ Hz), 6.53 (t, 1H, $J = 4.5$ Hz), 4.18 (AB, 2H, $J = 9.8, 535$ Hz), 3.97-3.83 (m, 8H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 172.7, 162.0, 158.2, 157.0, 151.3, 140.5, 131.5, 131.2, 130.5, 130.1, 128.5, 127.6, 126.8, 120.8, 110.7, 49.6, 43.8.

LC / MS : $t_r = 1.736$; (M+H) 383.0.

<ul style="list-style-type: none"> <i>N</i>-[(2-pipéridin-1-yl)éthyl]amino-1-phényl-5<i>H</i>-2,3-benzodiazépine 177a 	
Formule brute : $C_{22}H_{26}N_4$ Masse molaire : $346.48 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 95 %.

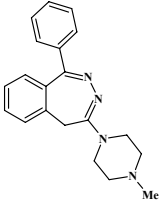
Rf : 0.52 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2 + 1 % TEA) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.64 (dd, 2H, $J = 1.8, 7.7$ Hz), 7.49 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.8, 7.8$ Hz), 7.33 (m, 6H), 3.54 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 2.68 (m, 2H), 2.55 (m, 4H), 1.65 (m, 4H), 1.50 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 160.9, 152.7, 139.9, 139.1, 131.6, 131.0, 130.4, 129.7, 128.5, 127.3, 57.3, 54.5, 38.7, 37.6, 25.4, 23.9.

ESI-HRMS calculée pour $C_{22}H_{27}N_4 [M + H]^+$ 347.2230, trouvé : 347.2242.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-méthylpipérazin-1-yl)-1-phényl-5<i>H</i>-2,3-benzodiazépine 177b 	
Formule brute : $C_{20}H_{22}N_4$ Masse molaire : $318.42 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 89 %.

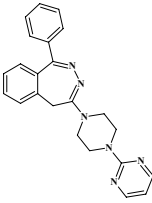
Rf : 0.21 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.66 (dd, 2H, $J = 2.1, 7.6$ Hz), 7.43-7.32 (m, 5H), 7.24 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 2.28 (s, 3H), 3.54-3.42 (m, 4H), 3.37 (AB, 2H, $J = 13.1, 205$ Hz), 2.44 (t, 4H, $J = 2.0, 10.1$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 159.8, 152.4, 139.9, 139.3, 131.3, 130.6, 129.7, 129.6, 128.5, 127.2, 126.5, 57.4, 54.8, 46.3, 33.1.

ESI-HRMS calculée pour $C_{20}H_{23}N_4 [M + H]^+$ 319.1917, trouvé : 319.1931.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[4-(1-pyrimidyl)-pipérazin-1-yl]-1-phényl-5H-2,3-benzodiazépine 177c 	
Formule brute : $C_{23}H_{22}N_6$ Masse molaire : $382.47 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 74 %.

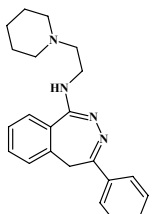
Rf : 0.24 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 4.31 (d, 2H, $J = 4.7$ Hz), 7.69 (dd, 2H, $J = 2.2, 7.5$ Hz), 7.53-7.47 (m, 1H), 7.43-7.34 (m, 5H), 7.29 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 6.51 (t, 1H, $J = 4.7$ Hz), 3.90-3.84 (m, 4H), 3.47 (AB, 2H, $J = 13.1, 206$ Hz), 3.66-3.48 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 162.0, 160.0, 158.1, 152.5, 139.8, 139.3, 131.4, 130.7, 129.7, 128.5, 127.3, 126.5, 110.6, 46.5, 43.6, 33.3.

LC / MS : $t_r = 1.993$; (M+H) 383.0.

<ul style="list-style-type: none"> <i>N</i>-[(2-pipéridin-1-yl)éthyl]amino-4-phényl-5H-2,3-benzodiazépine 178a 	
Formule brute : $C_{22}H_{26}N_4$ Masse molaire : $346.48 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 74 %.

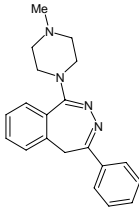
Rf : 0.10 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2 + 1 % TEA) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.87 (dd, 2H, $J = 2.0, 7.6$ Hz), 7.60 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.45 (td, 1H, $J = 1.3, 7.4$), 7.39-7.31 (m, 5H), 3.68 (AB, 2H, AB, $J = 12.7, 205$ Hz), 3.70-3.62 (m, 2H), 2.77-2.71 (m, 2H), 2.58-2.51 (m, 4H), 1.62 (q, 4H, $J = 5.7, 11.3$), 1.48-1.43 (m, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 156.8, 153.7, 139.8, 137.2, 133.2, 131.1, 130.7, 129.9, 128.2, 127.8, 126.1, 57.7, 54.6, 38.2, 34.7, 25.2, 23.5.

ESI-HRMS calculée pour $C_{22}H_{27}N_4$ [M + H] $^+$ 347.2230, trouvé : 347.2235.

<ul style="list-style-type: none"> 1-(4-méthylpipérazin-1-yl)-4-phényl-5H-2,3-benzodiazépine 178b 	
Formule brute : $C_{20}H_{22}N_4$ Masse molaire : $318.42 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 31 %.

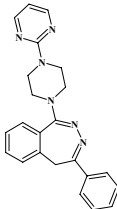
Rf : 0.46 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.91 (dd, 2H, $J = 1.7, 7.9$ Hz), 7.55 (d, 1H, $J = 7.7$ Hz), 7.46 (dd, 1H, $J = 1.2, 7.2$ Hz), 7.41-7.34 (m, 5H), 3.74 (AB, 2H, $J = 12.8, 202$ Hz), 3.55-3.48 (m, 4H), 2.55 (t, 4H, $J = 5.0, 10.1$ Hz), 2.37 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 156.8, 156.5, 140.3, 136.9, 133.1, 130.9, 130.5, 128.4, 127.8, 126.2, 57.2, 55.4, 46.7, 34.8.

ESI-HRMS calculée pour $C_{20}H_{23}N_4 [M + H]^+$ 319.1917, trouvé : 319.1922.

<ul style="list-style-type: none"> 1-[4-(1-pyrimidyl)-pipérazin-1-yl]-4-phényl-5H-2,3-benzodiazépine 178c 	
Formule brute : $C_{23}H_{22}N_6$ Masse molaire : $382.47 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 62 %.

Rf : 0.27 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.30 (d, 2H, $J = 4.7$ Hz), 7.69 (dd, 2H, $J = 1.6, 7.5$ Hz), 7.53-7.47 (m, 1H), 7.41-7.34 (m, 5H), 7.29 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 6.50 (t, 1H, $J = 4.7$ Hz), 3.88-3.83 (m, 4H), 3.46 (AB, 2H, $J = 13.1, 207$ Hz), 3.65-3.46 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 162.2, 159.8, 158.0, 152.1, 139.3, 139.2, 131.4, 130.3, 129.2, 128.1, 127.3, 126.8, 110.1, 46.2, 43.5, 34.3.

LC / MS : $t_r = 2.249$; (M+H) 383.0.

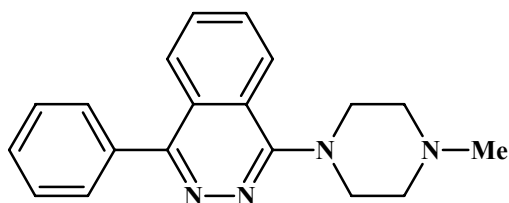
- 1-(4-méthylpipérazin-1-yl)-4-phénylphthalazine **179a**

Formule brute :

$C_{19}H_{20}N_4$

Masse molaire :

304.4 g.mol^{-1}



Rendement : 45 %.

Rf : 0.22 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, DMSO) : 8.12 (dd, 1H, $J = 1.1, 7.3 \text{ Hz}$), 8.01 (dd, 1H, $J = 1.1, 7.3 \text{ Hz}$), 7.82 (ddd, 1H, $J = 1.2, 7.3, 7.3 \text{ Hz}$), 7.79-7.72 (m, 3H), 7.57-7.49 (m, 3H), 3.65 (t, 4H, $J = 4.6, 9.6 \text{ Hz}$), 2.74 (t, 4H, $J = 4.7, 9.6 \text{ Hz}$), 2.43 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) : 159.51, 158.96, 137.98, 135.78, 133.46, 131.08, 130.54, 130.12, 128.96, 126.99, 126.59, 124.41, 52.89, 48.07, 44.05.

ESI-HRMS calculée pour $C_{19}H_{21}N_4$ $[M + H]^+$ 305.1761, trouvé 305.1757.

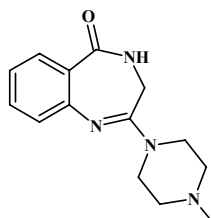
- 2-(4-méthylpipérazin-1-yl)-3,4-dihydro-5H-1,4-benzodiazépin-5-one **181**

Formule brute :

$C_{14}H_{18}N_4O$

Masse molaire :

$258.32 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 91 %.

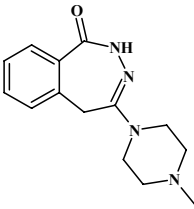
Rf : 0.21 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 10% dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 2.32 (s, 3H), 2.50 (t, 4 H, $J = 5.0 \text{ Hz}$), 3.69 (t, 4 H, $J = 4.9 \text{ Hz}$), 3.80 (d, 2 H, $J = 6.0 \text{ Hz}$), 7.09 (m, 2 H), 7.44 (ddd, 1 H, $J = 1.7, 8.1, 8.1 \text{ Hz}$), 7.88 (dd, 1 H, $J = 1.8, 8.0 \text{ Hz}$), 8.66 (t, 1 H, $J = 5.9 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 172.3, 158.8, 148.7, 132.5, 130.5, 127.1, 125.5, 122.8, 55.1, 46.1, 45.4, 37.2.

ESI-HRMS calculée pour $C_{14}H_{19}N_4O$ $[M + H]^+$ 259.1553, trouvé 259.1549.

<ul style="list-style-type: none"> 4-(4-méthylpipérazin-1-yl)-2,5-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazépin-1-one 183a 	
Formule brute : $C_{14}H_{18}N_4O$ Masse molaire : $258.32 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 53 %.

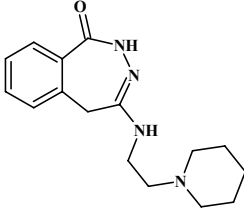
Rf : 0.38 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 1 à 10 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.39 (s, 1H), 8.00 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.6, 7.6$ Hz), 7.45 (m, 2H), 7.17 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 3.73 (s, 2H), 3.38 (t, 4H, $J = 4.9$ Hz), 2.41 (t, 4H, $J = 4.9$ Hz), 2.28 (3H, s).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 169.3, 162.9, 136.9, 132.9, 132.5, 131.1, 128.1, 127.0, 54.8, 46.5, 46.4, 33.7.

ESI-HRMS calculée pour $C_{14}H_{19}N_4O$ $[M + H]^+$ 259.1559, trouvé 259.1548.

<ul style="list-style-type: none"> 4-[(2-pipéridin-1-yl)éthyl]amino-2,5-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazépin-1-one 183b 	
Formule brute : $C_{16}H_{22}N_4O$ Masse molaire : $236.38 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 53 %.

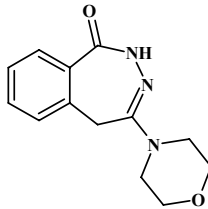
Rf : 0.23 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 5 à 10 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA) pour donner un solide blanc.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 9.92 (s, 1H), 7.72 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.50 (dd, 1H, $J = 7.5, 7.5$ Hz), 7.37 (dd, 1H, $J = 7.5$ Hz), 7.23 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 6.93 (bs, 1H), 3.55 (s, 2H), 3.21 (m, 2H), 2.67 (m, 5H), 1.43 (m, 8H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 169.3, 161.2, 137.4, 132.9, 132.2, 130.6, 128.0, 127.9, 56.5, 54.4, 38.0, 37.5, 24.5, 23.5.

ESI-HRMS calculée pour $C_{16}H_{23}N_4O$ $[M + H]^+$ 287.1872, trouvé 287.1885.

<ul style="list-style-type: none"> 4-morpholin-4-yl-2,5-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazepin-1-one 183c 	
Formule brute : $C_{13}H_{13}N_3O_2$ Masse molaire : $245.28 \text{ g.mol}^{-1}$	

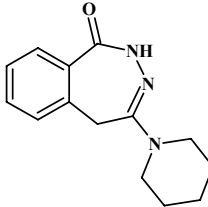
Rendement : 50 %.

Rf : 0.38 (MeOH 10 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 1 à 10 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide jaune pâle.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.52 (bs, 1H), 8.01 (dd, 1H, $J = 1.6, 7.6$ Hz), 7.50 (ddd, 1H, $J = 1.6, 7.5, 7.5$ Hz), 7.41 (ddd, 1H, $J = 1.2, 1.2, 7.8$ Hz), 7.16 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 3.72 (s, 2H), 3.71 (t, 4H, $J = 4.7$ Hz), 3.33 (t, 4H, $J = 4.7$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 167.7, 161.5, 135.3, 131.5, 129.7, 126.7, 125.5, 65.6, 45.6, 32.1.

<ul style="list-style-type: none"> 4-piperidin-1-yl-2,5-dihydro-1<i>H</i>-2,3-benzodiazepin-1-one 183d 	
Formule brute : $C_{14}H_{17}N_3O$ Masse molaire : $241.31 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 49 %.

Rf : 0.21 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide jaune pâle.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.30 (bs, 1H), 8.07 (dd, 1H, $J = 1.2, 7.6$ Hz), 7.53 (ddd, 1H, $J = 1.7, 7.3, 7.3$ Hz), 7.42 (ddd, 1H, $J = 1.2, 7.3, 7.3$ Hz), 7.22 (d, 1H, $J = 7.6$ Hz), 4.38-4.14 (m, 2H), 3.68 (s, 2H), 2.53-2.39 (m, 4H), 1.82-1.63 (m, 4H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 168.1, 163.2, 140.5, 133.3, 131.6, 129.0, 128.4, 58.6, 55.2, 48.6, 30.1, 26.1.

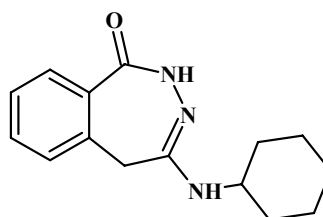
- 4-(cyclohexylamino)-2,5-dihydro-1*H*-2,3-benzodiazepin-1-one **183e**

Formule brute :

C₁₅H₁₉N₃O

Masse molaire :

257.34 g.mol⁻¹



Rendement : 51 %.

Rf : 0.38 (MeOH 10 % dans CH₂Cl₂).

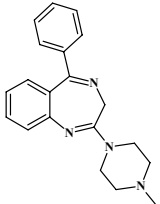
Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 2 à 15 % dans CH₂Cl₂) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.32 (bs, 1H), 8.01 (dd, 1H, *J* = 1.7, 7.3 Hz), 7.52 (ddd, 1H, *J* = 1.5, 7.6, 7.6 Hz), 7.42 (ddd, 1H, *J* = 1.2, 1.2, 7.3 Hz), 7.17(d, 1H, *J* = 7.6 Hz), 4.39-4.30 (m, 1H), 3.55 (s, 2H), 3.50-3.40 (m, 1H), 2.04-1.90 (m, 2H), 1.77-1.56 (m, 4H), 1.37-1.21 (m, 2H), 1.20-1.04 (m, 2H).

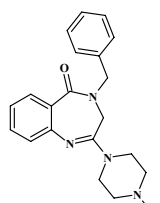
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 169.4, 160.1, 137.3, 132.8, 132.3, 130.9, 128.2, 127.4, 50.7, 39.0, 33.2, 26.1, 25.2.

Réaction de couplage de Suzuki de **181** avec l'acide phényl-boronique.

A une solution sous argon de **181** (0.10 mmol, 1 equiv.) dans l'acétonitrile (2mL), ajouter K_2CO_3 (0.12 mmol, 1.2 equiv.) et le chlorure de tosylo (0.12 mmol, 1.2 equiv.). Chauffer à reflux le mélange pendant une nuit, puis revenir à t.a. Ajouter une solution de K_2CO_3 (0.20 mmol, 2 equiv.) et d'acide phénylboronique (0.12 mmol, 1.2 equiv.), suivi du palladium tetrakis (0.005 mmol, 0.05 equiv.). Irradier aux micro-ondes à 100°C pendant 15 min. Evaporer sous pression réduite, reprendre dans l'AcOEt (10 mL), puis laver au $NaHCO_3$ sat. (2 x 5 mL) et $NaCl$ sat. (2 x 5 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 10% in CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

• 2-(4-méthylpipérazin-1-yl)-5-phényl-3 <i>H</i> -1,4-benzodiazépine 176b	
Formule brute : $C_{20}H_{22}N_4$	
Masse molaire : $318.42 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 87 %.

• 4-benzyl-2-(4-méthylpipérazin-1-yl)-3,4-dihydro-5 <i>H</i> -1,4-benzodiazépin-5-one 182	
Formule brute : $C_{21}H_{24}N_4O$	
Masse molaire : $348.45 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 59 %.

Rf : 0.39 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2 + 1 % de TEA).

A une solution sous argon de **98** (0.10 mmol, 1 equiv.) dans le THF (2 mL), ajouter NaH (0.12 mmol, 1.2 equiv.) à 0°C. Agiter 15 minutes et ajouter le bromure de benzyle (0.11 mmol, 1.1 equiv.). Agiter 3 heures à t.a., puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt, et laver au $NaHCO_3$ (2 x 5 mL) et $NaCl$ sat. (2 x 5 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 15% in CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc.

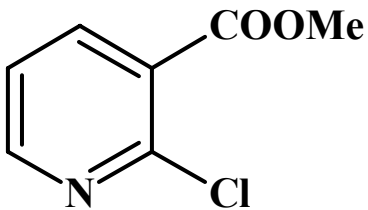
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 2.32 (s, 3H), 2.33 (m, 4H), 3.49 (bs, 4 H), 3.85 (bs, 2 H), 4.88 (s, 2 H), 7.14 (m, 2 H), 7.35 (m, 6 H), 8.02 (d, 1 H, $J = 7.9$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 169.4, 157.9, 148.3, 137.1, 132.2, 131.2, 129.3, 128.3, 128.1, 126.9, 126.5, 123.0, 55.0, 51.5, 46.3, 45.4, 41.8.

ESI-HRMS calcd for $C_{21}H_{25}N_4O$ $[M + H]^+$ 349.2023, found 349.2034.

Procédure générale d'estérification de l'acide 2-chloronicotinique :

A une solution sous argon d'acide 2-chloronicotinique (1g, 6.35 mmol) dans CH₂Cl₂ (10 mL) contenant du DMF (2 gouttes), ajouter goutte à goutte le chlorure d'oxalyle (554 µL, 6.35 mmol) à température ambiante. Agiter 2 heures puis refroidir à 0°C. Ajouter goutte à goutte la triéthylamine (2.63 mL, 19.04 mmol) suivi du MeOH ou EtOH (2,5 mL). Après agitation 30 minutes à 0°C, évaporer sous pression réduite. Reprendre dans Et₂O (5 x 10 mL) puis laver avec Na₂CO₃ sat. (2 x 10 mL) Sécher la phase organique sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite.

• 2-chloronicotinate de méthyle 195a	
Formule brute : C ₇ H ₆ ClN ₂ O ₂	
Masse molaire : 171.58 g.mol ⁻¹	

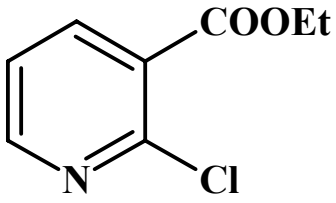
Rendement : 96 %.

Rf : 0.73 (Et₂O).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (Et₂O) pour donner une huile jaune pâle (1.05 g, 6.12 mmol)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.06 (dd, 1H, *J* = 2.0, 2.7 Hz), 7.71 (dd, 1H, *J* = 2.0, 5.9 Hz), 6.95 (dd, 1H, *J* = 2.9, 4.7 Hz), 3.49 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 164.5, 151.9, 149.5, 140.4, 126.6, 122.4, 52.7.

• 2-chloronicotinate d'éthyle 195b	
Formule brute : C ₈ H ₈ ClNO ₂	
Masse molaire : 185.61 g.mol ⁻¹	

Rendement : 99 %.

Rf : 0.74 (Et₂O).

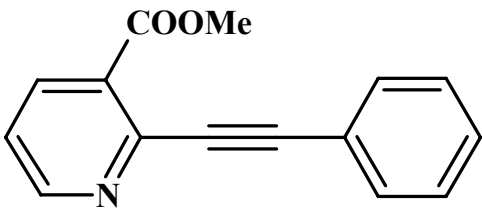
Purifier par chromatographie sur gel de silice (Et₂O) pour donner une huile jaune pâle (2.33 g, 12.55 mmol)

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.46 (dd, 1H, *J* = 2.0, 4.9 Hz), 8.12 (dd, 1H, *J* = 2.0, 7.6 Hz), 7.30 (dd, 1H, *J* = 4.9, 7.6 Hz), 4.38 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz), 1.73 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 164.8, 152.1, 149.7, 140.5, 126.9, 122.5, 62.4, 14.5.

Procédure générale de préparation de 196a-b.

A une solution de phénylacétylène (864 μL , 7.87 mmol) et **195a-b** (900, 5.25 mmol) dans MeCN (5 mL), ajouter $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (184 mg, 0.26 mmol). Dégazer 5 minutes à l'argon puis ajouter successivement CuI (40, 0.21 mmol) et la triéthylamine (2.54 mL, 18.36 mmol). Irradier aux micro-ondes 30 min à 120°C. Filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite.

<ul style="list-style-type: none">2-(phényléthynyl)nicotinate de méthyle 196a	
Formule brute : $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}_2$	
Masse molaire : $237.26 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 89 %.

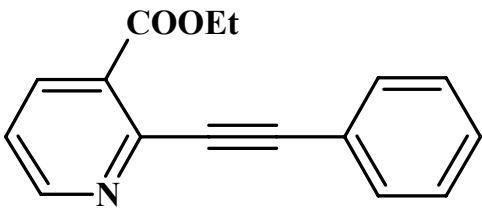
Rf : 0.42 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 50 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (1,11 g, 4.68 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.66 (d, 1H, $J = 3.1$ Hz), 8.16 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.64-7.57 (m, 2H), 7.33-7.28 (m, 3H), 7.22 (dd, 1H, $J = 3.1, 7.8$ Hz), 3.90 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 165.7, 162.4, 152.9, 143.1, 138.5, 132.6, 129.6, 128.8, 122.6, 94.5, 88.3, 52.9.

LC / MS : $t_r = 2.553$; (M+H) 238.0.

<ul style="list-style-type: none">2-(phényléthynyl)nicotinate d'éthyle 196b	
Formule brute : $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_2$	
Masse molaire : $251.29 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$	

Rendement : 85 %.

Rf : 0.26 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (1,15 g, 4.58 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.76 (bs, 1H), 8.27 (dd, 1H, $J = 1.9, 8.3$ Hz), 7.67 (dd, 2H, $J = 2.3, 7.5$ Hz), 7.39 (m, 3H), 7.33 (dd, 1H, $J = 4.9, 8.3$ Hz), 4.47 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 1.43 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 165.6, 152.8, 143.1, 138.5, 132.6, 129.6, 128.8, 122.8, 94.4, 88.4, 62.1, 14.7.

IR (cm^{-1}) : 3054, 2980, 2926, 2853, 2223, 1728, 1578, 1491, 1428, 1268, 1158, 1078, 777, 757, 691, 522.

ESI-HRMS calculée pour $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{NO}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 252.1019, trouvée 252.1012.

<ul style="list-style-type: none"> 2-[(triméthylsilanyl)éthynyl]nicotinate d'éthyle 203 	
Formule brute : $C_{13}H_{17}NO_2Si$ Masse molaire : $247.37 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 71 %.

Rf : 0.57 (AcOEt 40 % dans l'heptane).

A une solution sous argonde **195b** (1 g, 5.39 mmol) dans la triéthylamine (10 mL), ajouter successivement le 2-triméthylsilylacétylène (920 μL , 6.46 mmol) et $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (189 mg, 0.27 mmol). Dégazer 5 minutes à l'argon puis ajouter CuI (41 mg, 0.22 mmol). Chauffer 2 heures à 55°C , puis diluer avec MeOH (10 mL), filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 50 % dans l'heptane) pour donner une huile jaune pâle (940 mg, 3.80 mmol).

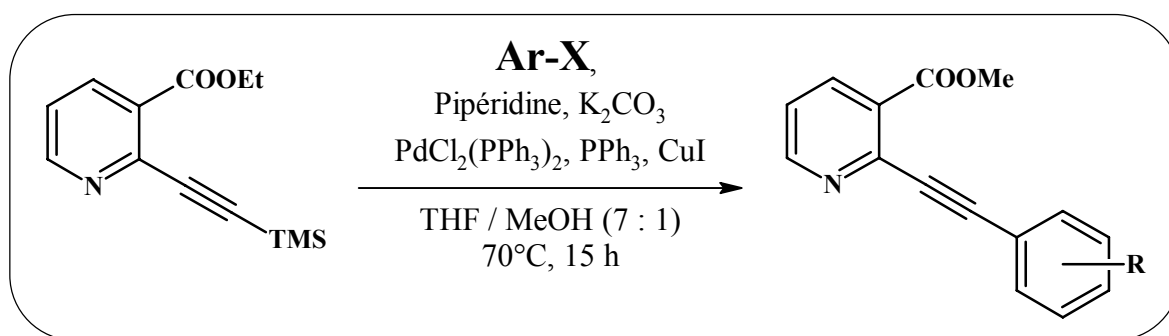
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.70 (dd, 1H, $J = 1.6, 4.7$ Hz), 8.20 (dd, 1H, $J = 1.6, 8.1$ Hz), 7.31 (dd, 1H, $J = 4.7, 8.1$ Hz), 4.43 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 1.43 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz), 0.3 (s, 9H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 165.5, 152.8, 140.7, 138.4, 129.7, 123.3, 103.0, 100.3, 62.1, 14.8, 0.2.

IR (cm^{-1}) : 2924, 2852, 2359, 2341, 1736, 1560, 1423, 1304, 1251, 1137, 845, 669.

ESI-HRMS calculée pour $C_{13}H_{18}NO_2Si$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 248.1101, trouvée 248.1093.

Procédure générale de réaction de couplage de Sila-Sonogashira donnant **204a-b**.



A une solution de **203** (200 mg, 0.81 mmol) dans le THF (14 mL), ajouter successivement le bromoaryl (1.72 mmol), PPh_3 (59 mg, 0.23 mmol), CuI (43 mg, 0.23 mmol), et la pipéridine (1.6 mL, 17.22 mmol). Dégazer 15 minutes à l'argon, puis ajouter K_2CO_3 (246 mg, 1.89 mmol) et $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (79 mg, 0.12 mmol). Chauffer à 80°C en ajoutant lentement MeOH (2 mL). Après 15 h, revenir à t.a., diluer avec AcOEt (10 mL) et filtrer sur célite.

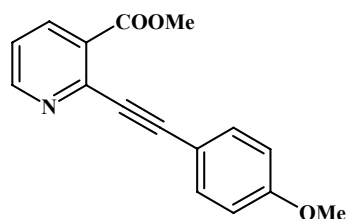
- 2-[(4-méthoxyphényl)éthynyl]nicotinate de méthyle **204a**

Formule brute :

$C_{16}H_{13}NO_3$

Masse molaire :

$267.28 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 74 %.

Rf : 0.39 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 60 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (160 mg, 0.60 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.68 (d, 1H, $J = 4.5 \text{ Hz}$), 8.20 (d, 1H, $J = 8.1 \text{ Hz}$), 7.58 (d, 2H, $J = 8.6 \text{ Hz}$), 7.25 (dd, 1H, $J = 4.5, 8.1 \text{ Hz}$), 6.87 (d, 2H, $J = 8.6 \text{ Hz}$), 3.95 (s, 3H), 3.78 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 165.9, 160.8, 152.9, 143.4, 138.6, 134.3, 128.3, 122.2, 114.5, 95.1, 87.5, 55.7, 52.9.

IR (cm^{-1}) : 2923, 2852, 2221, 1731, 1604, 1558, 1509, 1428, 1292, 1271, 1250, 1156, 1079, 1028, 833, 777, 532.

ESI-HRMS calculée pour $C_{16}H_{14}NO_3$ $[M + H]^+$ 268.0968, trouvée 268.0961.

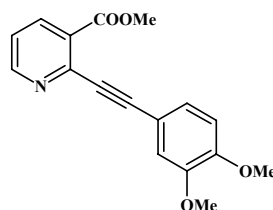
- 2-[(3,4-diméthoxyphényl)éthynyl]nicotinate de méthyle **204b**

Formule brute :

$C_{17}H_{15}NO_4$

Masse molaire :

$297.31 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 78 %.

Rf : 0.19 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 70 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (188 mg, 0.63 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.67 (d, 1H, $J = 4.7 \text{ Hz}$), 8.19 (d, 1H, $J = 8.1 \text{ Hz}$), 7.26-7.20 (m, 2H), 7.12 (s, 1H), 6.81 (d, 1H, $J = 8.1 \text{ Hz}$), 3.93 (s, 3H), 3.84 (s, 6H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 165.7, 152.9, 150.7, 149.0, 143.2, 138.5, 128.2, 126.3, 122.2, 115.0, 114.6, 111.3, 95.0, 87.3, 56.2, 52.8.

IR (cm^{-1}) : 3000, 2952, 2838, 2207, 1716, 1576, 1558, 1510, 1441, 1407, 1251, 1237, 1132, 1052, 1022, 852, 810, 562.

ESI-HRMS calculée pour $C_{17}H_{16}NO_4$ $[M + H]^+$ 298.1074, trouvée 298.1069.

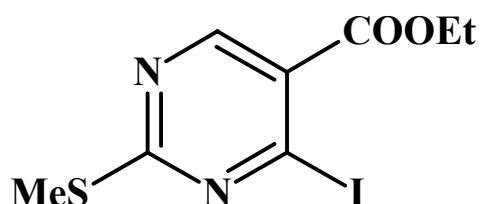
- 4-iodo-2-(méthylthio)pyrimidine-5-carboxylate d'éthyle **205**

Formule brute :

$C_8H_9IN_2O_2S$

Masse molaire :

$324.14 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 79 %.

Rf : 0.45 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

A une solution de HI 57% dans H_2O (20 mL), ajouter le 4-chloro-(2-méthylthio) pyrimidine (1 g, 4.3 mmol). Agiter pendant 6 heures à t.a. Ajouter lentement une solution de $NaHCO_3$ sat. jusqu'à pH basique. Extraire au CH_2Cl_2 (3 x 30 mL), puis laver avec $NaHSO_3$ 10% et $NaCl$ sat. Sécher sur Na_2SO_4 , filtration et évaporer sous pression réduite pour donner un solide blanc (1.1 g, 3.39 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.71 (s, 1H), 4.42 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 2.59 (s, 3H), 1.43 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 176.1, 160.4, 157.6, 130.2, 125.1, 62.5, 14.9, 14.6.

LC / MS : $t_r = 0.288$; (M+H) 325.0.

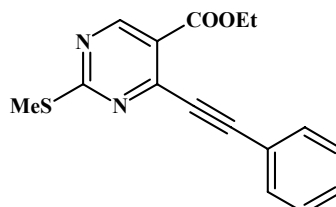
- 2-(méthylthio)-4-(phényléthynyl)pyrimidine-5-carboxylate d'éthyle **206**

Formule brute :

$C_{16}H_{14}N_2O_2S$

Masse molaire :

$298.36 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 73 %.

Rf : 0.38 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de **106** (1 g, 3.08 mmol) dans le THF (40 mL), ajouter successivement la triéthylamine (555 μL , 4.01 mmol), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (108 mg, 0.15 mmol) et CuI (24 mg, 0.12 mmol) Dégazer 10 min à l'argon. Ajouter lentement le phénylacétylène (407 μL , 3.70 mmol) et agiter 6 heures à t.a. Diluer avec $MeOH$ (10 mL), filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 25 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune pâle (675 mg, 2.26 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 9.03 (s, 1H), 7.72-7.62 (m, 2H), 7.44-7.36 (m, 3H), 4.42 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 2.61 (s, 3H), 1.39 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 176.6, 163.9, 159.5, 150.3, 133.0, 130.5, 128.9, 121.8, 120.4, 99.2, 87.2, 62.0, 14.7, 14.8.

IR (cm^{-1}) : 2980, 2928, 2219, 1728, 1711, 1552, 1513, 1394, 1300, 1288, 1272, 1200, 1164, 1073, 800, 758, 690, 533.

ESI-HRMS calculée pour $C_{16}H_{15}N_2O_2S$ [M + H]⁺ 299.0849, trouvée 299.0835.

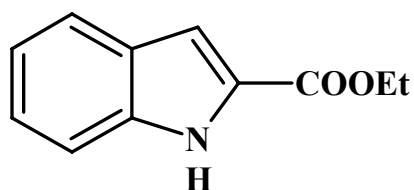
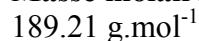
m.p. = 100-102°C.

- 1*H*-indole-2-carboxylate d'éthyle **207**

Formule brute :



Masse molaire :



Rendement : 87 %.

Rf : 0.38 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution d'acide indole-2-carboxylique (2.0 g, 12.41 mmol) dans EtOH (10 mL), ajouter H₂SO₄ conc. (1 mL), puis chauffer à 90°C pendant 1 heure. Revenir à t.a. et évaporer le mélange sous pression réduite. Reprendre dans AcOEt (40 mL), puis laver au NaHCO₃ conc. (2 x 10 mL) et NaCl sat. (2 x 10 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite pour donner un solide jaune pâle (2.0 g, 10.85 mmol).

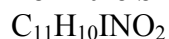
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 9.47 (s, 1H), 7.74 (d, 1H, *J* = 7.9 Hz), 7.48 (dd, 1H, *J* = 0.8, 8.3 Hz), 7.37 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 8.3, 8.3 Hz), 7.30 (s, 1H), 7.20 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 7.9, 7.9 Hz), 4.49 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz), 1.47 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.8, 137.5, 127.9, 125.7, 123.0, 121.2, 112.4, 109.1, 61.6, 14.8.

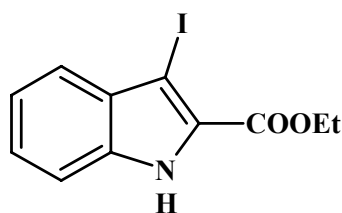
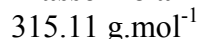
LC / MS : t_r = 2.605 ; (M+H) 190.0.

- 3-iodo-1*H*-indole-2-carboxylate d'éthyle **208**

Formule brute :



Masse molaire :



Rendement : 90 %.

Rf : 0.31 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution de **207** (1 g, 5.29 mmol) dans l'acétone (30 mL), ajouter une solution de N-iodosuccinimide (1.31 g, 5.81 mmol) dans l'acétone (5 mL). Agiter le mélange 2 heures à t.a., puis évaporer sous pression réduite. Laver le solide obtenu à l'eau distillée (3 x 20 mL), filtrer et sécher sous pression réduite pour donner un solide blanc (1.5 g, 4.76 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 9.47 (s, 1H), 7.59 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz), 7.44-7.36 (m, 2H), 7.29-7.23 (m, 1H), 4.50 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz), 1.50 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 161.5, 136.7, 131.9, 127.6, 127.0, 123.9, 122.1, 112.5, 66.5, 62.0, 14.8.

LC / MS : t_r = 3.069 ; (M+H) 316.0.

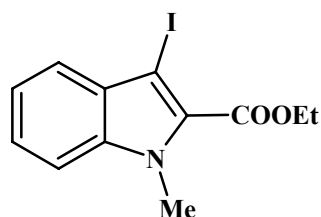
- 3-iodo-1-méthyl-indole-2-carboxylate d'éthyle **210**

Formule brute :

$C_{12}H_{12}INO_2$

Masse molaire :

$329.14 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 82 %.

Rf : 0.58 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de **208** (400 mg, 1.59 mmol) dans le DMF (5 mL), ajouter à t.a. NaH (70 mg, 1.74 mmol). Agiter 30 min puis ajouter MeI (109 μL , 1.74 mmol). Agiter une heure à t.a. puis évaporer sous pression réduite. Reprendre dans l'AcOEt (20 mL), puis laver au NaHCO_3 sat. (2 x 10 mL) et NaCl sat. (2 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer, évaporer pour donner un solide jaune pâle (430 mg, 1.31 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.55 (dd, 1H, $J = 1.0, 6.9$ Hz), 7.33 (ddd, 1H, $J = 1.0, 6.9, 8.1$ Hz), 7.20 (ddd, 2H, $J = 1.0, 6.9, 8.1$ Hz), 4.45 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 3.92 (s, 3H), 1.50 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 161.6, 139.2, 130.6, 128.8, 126.4, 124.2, 121.8, 110.8, 61.6, 33.4, 14.9.

LC / MS : $t_r = 3.468$; (M+H) 330.3.

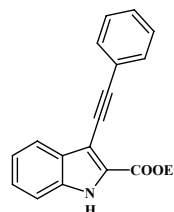
- 3-(phényléthynyl)indole-2-carboxylate d'éthyle **209**

Formule brute :

$C_{15}H_{19}NO_2$

Masse molaire :

$289.33 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 76 %.

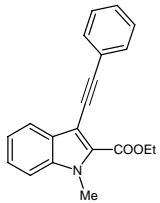
Rf : 0.32 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de phénylacétylène (157 μL , 1.43 mmol), de **208** (300 mg, 0.95 mmol) dans MeCN (10 mL), ajouter successivement $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (33 mg, 0.05 mmol), CuI (7 mg, 0.04 mmol) et la triéthylamine (461 μL , 3.33 mmol). Irradier aux micro-ondes 30 min à 120°C . Filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 20 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune (210 mg, 0.73 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO) : 12.29 (s, 1H), 7.81 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.66-7.53 (m, 3H), 7.51-7.34 (m, 5H), 7.30-7.20 (m, 2H), 4.42 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz), 1.42 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) : 160.8, 136.4, 129.1, 128.7, 128.6, 126.1, 123.6, 121.6, 121.0, 113.4, 102.1, 95.2, 83.4, 61.2, 14.7.

LC / MS : $t_r = 3.528$; (M+H) 290.0.

<ul style="list-style-type: none"> 1-méthyl-3-(phényléthynyl)indole-2-carboxylate d'éthyle 211 	
Formule brute : $C_{20}H_{17}NO_2$ Masse molaire : $303.36 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 90 %.

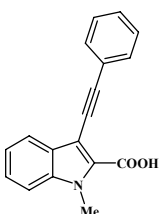
Rf : 0.33 (AcOEt 15 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de phénylacétylène (250 μL , 2.28 mmol), de **210** (500 mg, 1.52 mmol) dans la triéthylamine (5 mL), ajouter successivement $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (53 mg, 0.08 mmol), CuI (12 mg, 0.06 mmol). Chauffer 2 heures à 55°C. Revenir à t.a., filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 15 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune (413 mg, 1.36 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.94 (d, 1H, $J = 8.1 \text{ Hz}$), 7.68-7.62 (m, 2H), 7.45-7.37 (m, 5H), 7.33-7.28 (m, 1H), 4.50 (q, 2H, $J = 7.2 \text{ Hz}$), 4.10 (s, 3H), 1.53 (t, 3H, $J = 7.2 \text{ Hz}$).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 162.1, 138.8, 131.9, 128.8, 128.4, 126.3, 122.1, 121.9, 110.8, 95.8, 83.5, 61.4, 32.6, 14.9.

LC / MS : $t_r = 3.864$; (M+H) 304.0.

<ul style="list-style-type: none"> Acide 1-méthyl-3-(phényléthynyl)indole-2-carboxylique 223 	
Formule brute : $C_{18}H_{13}NO_2$ Masse molaire : $275.31 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 84 %.

Rf : 0.16 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de **211** (250 mg, 0.82 mmol) dans le THF (2 mL) et l'eau distillée (1 mL), ajouter $\text{LiOH.H}_2\text{O}$ (42 mg, 0.99 mmol). Agiter la solution une nuit à t.a. Diluer dans CH_2Cl_2 (10 mL) puis laver avec une solution saturée de NaHCO_3 (2 x 10 mL). Acidifier la solution basique avec HCl (1 N) et extraire au CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer pour donner une poudre blanche (190 mg, 0.69 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO) : 13.49 (bs, 1H), 7.8 (d, 1H, $J = 7.9 \text{ Hz}$), 7.67 (d, 1H, $J = 8.7 \text{ Hz}$), 7.59-7.54 (m, 2H), 7.48-7.39 (m, 4H), 7.27 (ddd, 1H, $J = 1.0, 7.9, 7.9 \text{ Hz}$), 4.06 (s, 3H).

LC / MS : $t_r = 0.369$; (M+H) 276.0.

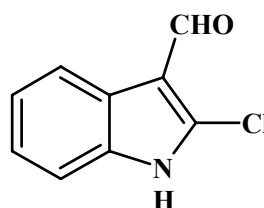
- 2-chloroindole-3-carboxaldehyde **212**

Formule brute :

C₉H₆ClNO

Masse molaire :

179.61 g.mol⁻¹



Rendement : 72 %.

Rf : 0.50 (MeOH 10 % dans CH₂Cl₂).

A une solution sous argon de CH₂Cl₂ (7,5 mL) et de DMF (1,75 mL) à 0°C, ajouter goutte à goutte POCl₃ (1,75 mL, 18.78 mmol). Agiter la solution 2 heures à t.a. Refroidir à 0°C et ajouter lentement (15 minutes) l'oxindole (1 g, 7.51 mmol). Agiter le mélange 2 heures à t.a., puis ajouter lentement H₂O (10 mL). Après extraction, laver la phase organique avec H₂O (3 x 10 mL). Joindre toutes les solutions aqueuses, puis placer les au réfrigérateur pendant 1 heure. Filtrer le précipité formé et sécher le sous pression réduite. Recommencer 3 fois cette opération pour récupérer finalement un solide blanc (970 mg, 5.40 mmol).

RMN ¹H (200 MHz, DMSO) : 13.10 (bs, 1H), 10.01 (s, 1H), 8.07 (dd, 1H, *J* = 2.7, 6.0 Hz), 7.44 (dd, 1H, *J* = 2.7, 6.0 Hz), 7.34-7.23 (m, 2H).

RMN ¹³C (50 MHz, DMSO) : 184.2, 135.5, 125.2, 124.7, 120.8, 112.8, 112.6.

LC / MS : t_r = 1.701 ; (M+H) 179.9.

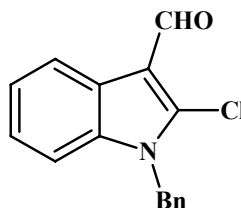
- 1-benzyl-2-chloroindole-3-carbaldehyde **213**

Formule brute :

C₁₆H₁₂ClNO

Masse molaire :

269.73 g.mol⁻¹



Rendement : 93 %.

Rf : 0.38 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de **212** (500 mg; 2,80 mmol) dans l'acétone (15 mL), ajouter K₂CO₃ (770 mg, 5.6 mmol) et agiter 10 minutes. Ajouter le bromure benzyle (370 µL, 3.1 mmol), puis agiter 16 heures à t.a. Filtrer et laver le précipité à l'acétone (2 x 20 mL). Evaporer sous pression réduite le filtrat, reprendre dans AcOEt et laver au NaCl sat. Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaunâtre (700 mg, 2.60 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 10.19 (s, 1H), 8.34 (dd, 1H, *J* = 1.9, 5.5 Hz), 7.39-7.27 (m, 6H), 7.16 (dd, 2H, *J* = 1.9, 5.5 Hz), 5.46 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 184.5, 136.1, 135.4, 129.5, 128.6, 126.9, 126.7, 124.7, 124.1, 121.8, 110.5, 47.7.

LC / MS : t_r = 3.089 ; (M+H) 270.0.

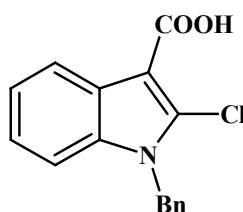
- Acide 1-benzyl-2-chloroindole-3-carboxylique **214**

Formule brute :

$C_{16}H_{12}ClNO_2$

Masse molaire :

$285.73 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 99 %.

Rf : 0.45 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de **213** (750 mg ; 2.78 mmol) et de 2-méthyl-2-butène (2.83 mL ; 55.6 mmol) dans le 1,4-dioxane (10 mL), ajouter une solution de NaClO (1.1 g ; 15.3 mmol) et de $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ (1.38 g ; 10 mmol) dans l'eau distillé (4 mL). Agiter le mélange 5 heures à t.a. Ajouter NaClO (517 mg, 6.95 mmol) et $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ (576 mg, 4.17 mmol) et agiter une nuit. Diluer dans AcOEt (20 mL). Séparer les phases et extraire la phase aqueuse avec AcOEt (2 x 30 mL). Laver la phase organique avec NaOH (1N, 2 x 20 mL). Acidifier par addition de HCl (6N) jusqu'à pH 2 puis extraire à l'AcOEt (3 x 20 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer pour donner un solide blanc (790 mg, 2.76 mmol).

RMN 1H (300 MHz, DMSO) : 12.60 (s, 1H), 8.10-8.04 (m, 1H), 7.63-7.56 (m, 1H), 7.35-7.22 (m, 5H), 7.14-7.09 (m, 2H), 5.58 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, DMSO) : 165.2, 137.3, 135.8, 132.1, 129.6, 128.5, 127.4, 126.4, 124.0, 123.1, 121.8, 111.7, 104.7, 47.3.

LC /MS : $t_r = 2.832$; (M+H) 286.0.

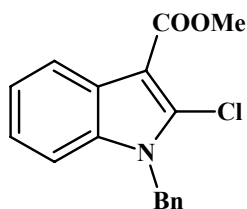
- 1-benzyl-2-chloroindole-3-carboxylate de méthyle **215**

Formule brute :

$C_{17}H_{14}ClNO_2$

Masse molaire :

$299.76 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 94 %.

Rf : 0.43 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution de **214** (700 mg, 2.45 mmol) dans le THF (6 mL) et le MeOH (1 mL), ajouter successivement la 4-(diméthylamino)-pyridine (33 mg, 0.27 mmol) et le chlorhydrate de 1-[3-(diméthylamino)propyl]-3-éthylcarbodiimide (513 mg, 2.70 mmol), puis agiter une nuit à t.a. Evaporer sous pression réduite et reprendre dans AcOEt (20 mL). Laver à l'eau distillée (10 mL), NaHCO_3 sat. et NaCl sat. Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 25 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune pâle (680 mg, 2.29 mmol)

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.22 (d, 1H, $J = 7.8\text{Hz}$), 7.34-7.21 (m, 7H), 7.12-7.07 (m, 2H), 5.37 (s, 2H), 3.98 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 164.7, 136.1, 135.6, 132.7, 129.3, 128.3, 126.9, 126.2, 123.8, 123.0, 122.0, 110.5, 104.5, 51.6, 47.5.

LC / MS : $t_r = 3.377$; (M+H) 301.0.

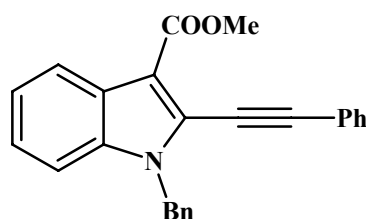
- 1-benzyl-2-(phényléthynyl)indole-3-carboxylate de méthyle **216**

Formule brute :

$C_{25}H_{19}NO_2$

Masse molaire :

$365.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$



Rendement : 58 %.

Rf : 0.36 (AcOEt 20 % dans l'heptane).

A un mélange sous argon de $PdCl_2(MeCN)_2$ (9 mg, 0.03 mmol), de BINAP (62 mg, 0.10 mmol) et de Cs_2CO_3 (978 mg, 3.00 mmol) dans MeCN (4 mL), ajouter **215** (200 mg, 0.67 mmol). Agiter 25 minutes à t.a., puis ajouter lentement (1 heure) une solution de phénylacétylène (110 μ L, 1.00 mmol) dans MeCN (2 mL). Agiter le mélange 24 h à 80°C. Ajouter de l'eau distillée (5 mL), et extraire à l'AcOEt (4 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 5% à 10 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune pâle (142 mg, 0.39 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.33-8.24 (m, 1H), 7.67-7.55 (m, 2H), 7.47-7.39 (m, 3H), 7.36-7.26 (m, 8H), 5.61 (s, 2H), 4.06 (s, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 165.4, 136.9, 132.3, 129.7, 129.3, 128.9, 128.2, 127.3, 126.7, 126.1, 124.7, 123.0, 122.6, 122.5, 110.8, 101.1, 80.6, 51.7, 48.8.

IR (cm^{-1}) : 3361, 3055, 2922, 2852, 2359, 2341, 2282, 1695, 1485, 1440, 1408, 1260, 1186, 1113, 1018, 786, 751, 734, 689, 526.

ESI-HRMS calcd $C_{25}H_{20}NO_2$ $[M + H]^+$ 366.1489, trouvée 366.1490.

m.p. = 135-136°C.

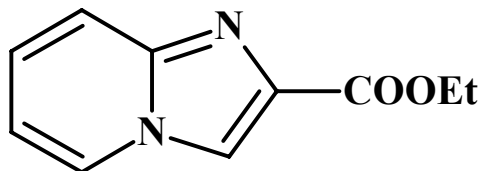
- imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **218**

Formule brute :

C₁₀H₁₀N₂O₂

Masse molaire :

190.20 g.mol⁻¹



Rendement : 82 %.

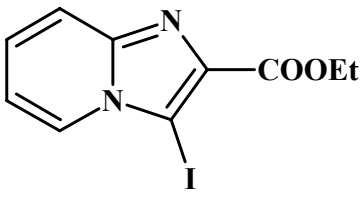
Rf : 0.31 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de 2-aminopyridine (1.7 g, 18.5 mmol) dans le THF (60 mL), ajouter goutte à goutte le bromopyruvate d'éthyle (1.9 mL, 15.4 mmol), puis chauffer à 80°C pendant 16 h. Récupérer et rincer le précipité au THF. Reprendre le solide dans l'EtOH (15 mL) et chauffer à 90°C pendant 1 heure. Evaporer sous pression réduite et sécher sous pression réduite pour donner un solide blanc (2.4 g, 12.6 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.09 (s, 1H), 8.06 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz), 7.53 (d, 1H, *J* = 9.0 Hz), 7.11 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 6.8, 6.8 Hz), 6.74 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 6.8, 6.8 Hz), 4.33 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz), 1.31 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 163.6, 145.5, 137.1, 126.6, 126.5, 119.2, 117.3, 114.1, 61.4, 14.7.

LC / MS : *t_r* = 0.522 ; (M+H) 191.1.

<ul style="list-style-type: none"> 3-iodoimidazo[1,2-<i>a</i>]pyridine-2-carboxylate d'éthyle 219a 	
Formule brute : $C_{10}H_9IN_2O_2$ Masse molaire : $316.10 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 41 %.

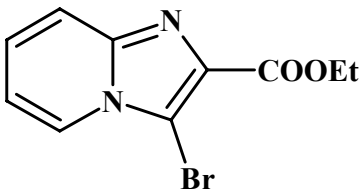
Rf : 0.29 (AcOEt 66 % dans l'heptane).

A une solution de **218** (500 mg, 2.63 mmol) dans la pyridine (10 mL), ajouter I_2 (1.0 g, 3.94 mmol). Chauffer le mélange pendant 5 heures à 50°C. Evaporer sous pression réduite et reprendre au CH_2Cl_2 (20 mL). Laver au $CuSO_4$ 10 % (3 x 10 mL), au $Na_2S_2O_3$ 10 % (3 x 10 mL) puis au NaCl sat. (2 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 70 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune (340 mg, 1.08 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.19 (d, 1H, $J = 7.0$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J = 9.1$ Hz), 7.26 (ddd, 1H, $J = 1.1, 9.1, 9.1$ Hz), 6.93 (t, 1H, $J = 6.9$ Hz), 4.44 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 1.42 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 163.0, 148.1, 138.5, 127.4, 119.5, 115.0, 68.5, 61.8, 14.8.

LC / MS : $t_r = 1.764$; (M+H) 316.9.

<ul style="list-style-type: none"> 3-bromoimidazo[1,2-<i>a</i>]pyridine-2-carboxylate d'éthyle 219b 	
Formule brute : $C_{10}H_9BrN_2O_2$ Masse molaire : $269.10 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 84 %.

Rf : 0.50 (AcOEt 75 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de **218** (380 mg, 2.0 mmol) dans MeCN (10 mL), ajouter Br_2 (134 μ L, 2.6 mmol). Agiter une nuit à t.a. Evaporer sous pression réduite, puis reprendre dans CH_2Cl_2 (20 mL). Laver au $NaHCO_3$ sat, $Na_2S_2O_3$ (10 %) et NaCl sat. Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (MeOH 1 à 5 % dans CH_2Cl_2) pour donner un solide blanc (450 mg, 1.70 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.09 (d, 1H, $J = 6.8$ Hz), 7.58 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 7.23 (ddd, 1H, $J = 1.0, 9.1, 9.1$ Hz), 6.91 (t, 1H, $J = 6.8$ Hz), 4.41 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz), 1.38 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 161.8, 149.4, 142.1, 127.7, 120.3, 116.4, 92.8, 61.3, 14.5.

LC / MS : $t_r = 1.777$; (M+H) 270.9.

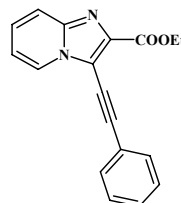
- 3-(phényléthynyl)imidazo[1,2-*a*]pyridine-2-carboxylate d'éthyle **220**

Formule brute :

C₁₈H₁₄N₂O₂

Masse molaire :

290.32 g.mol⁻¹



Rendement : 90 %.

Rf : 0.24 (AcOEt 66 % dans l'heptane).

A une solution de **219b** (400 mg, 1.49 mmol) dans CH₃CN (5 mL), ajouter successivement la triéthylamine (411 μL, 2.97 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (52 mg, 0.07 mmol). Dégazer 10 min à l'argon, puis ajouter le phénylacétylène (245 μL, 2.23 mmol) et CuI (11 mg, 0.06 mmol). Irradier aux micro-ondes 20 min à 120°C. Revenir à t.a., diluer dans le MeOH (5 mL), filtrer sur célite et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur pression réduite (CH₃OH 1 % to 5 % in CH₂Cl₂) pour donner un solide jaune pâle (390 mg, 1.34 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.38 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz), 7.74 (d, 1H, *J* = 9.1 Hz), 7.68-7.61 (m, 2H), 7.44-7.38 (m, 3H), 7.35 (d, 1H, *J* = 9.1 Hz), 7.02 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz), 4.51 (q, 2H, *J* = 7.2 Hz), 1.48 (t, 3H, *J* = 7.2 Hz).

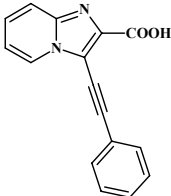
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.8, 145.0, 138.7, 131.9, 129.5, 128.9, 127.8, 125.9, 122.5, 119.4, 114.7, 102.3, 76.4, 61.7, 14.8.

IR (neat, cm⁻¹) : 2925, 2853, 2360, 2341, 1720, 1506, 1349, 1291, 1269, 1244, 1201, 1090, 1024, 755, 690, 669, 542.

ESI-HRMS calculée pour C₁₈H₁₅N₂O₂ [M + H]⁺ 291.1128, trouvée 291.1117.

m.p. = 91-93°C.

LC / MS : t_r = 2.841 ; (M+H) 291.0.

<ul style="list-style-type: none"> Acide 3-(phényléthynyl)imidazo[1,2-a]pyridine-2-carboxylique 224 	
Formule brute : $C_{10}H_{16}N_2O_2$ Masse molaire : $262.27 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 83 %.

Rf : 0.16 (MeOH 5 % dans CH_2Cl_2).

A une solution de **220** (200 mg, 0.69 mmol) dans de THF (2 mL), ajouter l'eau distillée (1 mL) puis LiOH.H₂O (35 mg, 0.83 mmol). Agiter une nuit à t.a., puis diluer dans CH_2Cl_2 (10 mL) et laver avec NaHCO₃ sat. (3 x 10 mL). Acidifier la solution basique par addition HCl (1 N) et extraire au CH_2Cl_2 (3 x 20 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer pour donner une solide jaune pâle (150 mg, 0.57 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO) : 8.63 (bs, 1H), 7.71-7.64 (m, 2H), 7.55-7.41 (m, 5H), 7.23-7.13 (m, 1H), 5.75 (s, 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO) : 164.2, 144.0, 131.6, 129.5, 129.1, 128.3, 126.6, 122.3, 115.2, 100.6, 77.6.

IR (neat, cm⁻¹) : 3078, 2924, 2853, 2361, 2340, 1695, 1555, 1503, 1350, 1295, 1243, 1212, 1152, 1098, 754, 740, 690, 562.

ESI-HRMS calculée pour C₁₆H₁₁N₂O₂ [M + H]⁺ 263.0815, trouvée 263.0805.

LC / MS : t_r = 1.781 ; (M+H) 263.0.

m.p. = 294-295°C.

<ul style="list-style-type: none"> 1-benzyl-5-[[trifluorométhyl)sulfonyl]oxy]-1,2,3,6-tétrahydropyridine-4-carboxylate d'éthyle 221 	
Formule brute : $C_{16}H_{18}F_3NO_5S$ Masse molaire : $393.38 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 98 %.

Rf : 0.40 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution sous argon de 1-benzyl-3-oxo-4-pipéridinecarboxylate d'éthyle (1.0 g, 3.36 mmol) dans le CH_2Cl_2 (10 mL), ajouter lentement à $0^\circ C$ NaH (161 mg, 4.03 mmol). Agiter à $0^\circ C$ le mélange pendant 30 minutes. Refroidir à $-78^\circ C$, agiter le mélange 15 minutes puis ajouter goutte à goutte l'anhydride triflique (680 μL , 4.03 mmol). Agiter le mélange 30 minutes à $-78^\circ C$, puis 18 heures à $0^\circ C$. Revenir à t.a., diluer la réaction dans Et_2O (50 mL) et laver au NaCl sat. (3 x 15 mL), sécher sur Na_2SO_4 et évaporer sous pression réduite pour donner une mousse jaunâtre (1.3 g, 3.30 mmol).

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7.57-7.35 (m, 5H), 4.75 (s, 2H), 4.25 (q, 2H, $J = 7.2$ Hz), 4.11 (s, 2H), 3.59 (m, 2H), 2.30-2.06 (m, 2H), 1.30 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) : 161.8, 144.9, 140.5, 133.6, 130.5, 130.0, 129.5, 122.2, 118.7, 63.1, 62.6, 60.7, 48.1, 30.1, 14.1.

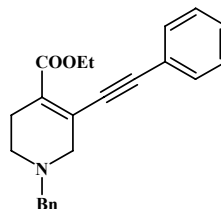
- 1-benzyl-5-(phényléthynyl)-1,2,3,6-tétrahydropyridine-4-carboxylate d'éthyle **222**

Formule brute :

$C_{23}H_{23}NO_2$

Masse molaire :

$345.44 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 80 %.

Rf : 0.36 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

A une solution de **221** (300 mg, 0.76 mmol) dans le DMF (5 mL), ajouter la triéthylamine (211 μL , 1.53 mmol). Dégazer à l'argon 10 minutes, puis ajouter simultanément $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (27 mg, 0.04 mmol) et CuI (6 mg, 0.03 mmol). Ajouter lentement le phénylacétylène (126 μL , 1.14 mmol) et agiter la réaction à t.a. pendant 1 nuit. Evaporer les solvants sous pression réduite, reprendre dans l'AcOEt (20 mL), puis laver à l'eau distillée (2 x 10 mL) et NaCl sat. (2 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 10 à 40 % dans l'heptane) pour donner une huile brune (210 mg, 0.61 mmol).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7.52-7.47 (m, 2H), 7.42-7.30 (m, 8H), 4.31 (q, 2H, $J = 7.2 \text{ Hz}$), 3.66 (s, 2H), 3.33 (s, 2H), 2.70-2.64 (m, 2H), 2.63-2.56 (m, 2H), 1.34 (t, 3H, $J = 7.2 \text{ Hz}$).

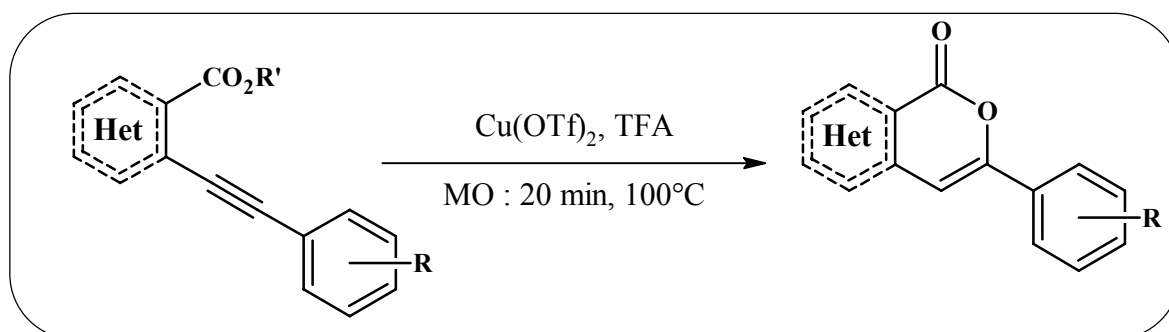
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 166.6, 138.3, 132.6, 132.1, 129.4, 129.1, 128.8, 128.7, 127.9, 127.7, 123.5, 97.8, 87.9, 62.0, 61.0, 57.9, 49.2, 27.0, 14.8.

IR (neat, cm^{-1}) : 3061, 2925, 2852, 2355, 2026, 1727, 1697, 1672, 1599, 1492, 1443, 1367, 1245, 1147, 1095, 1026, 757, 698, 527.

ESI-HRMS calculée pour $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{NO}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 346.1802, trouvée 346.1810.

LC / MS : $t_r = 2.413$; (M+H) 346.0.

Procédure générale de cycloisomérisation catalysée au cuivre :



A une solution d'alkyne (1 eq.) dans l'acide trifluoroacétique (1 mL), ajouter Cu(OTf)_2 (5% mol.). Irradier aux micro-ondes 20 minutes à 100°C. Evaporer sous pression réduite, reprendre dans le CH_2Cl_2 (10 mL), puis laver à l'eau distillée (10 mL) et au NaCl sat. (2 x 10 mL). Sécher sur Na_2SO_4 , filtrer et évaporer.

<ul style="list-style-type: none">7-phényl-5H-pyrano[4,3-b]pyridin-5-one 194	
Formule brute : $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NO}_2$ Masse molaire : $223.23 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 92 %.

Rf : 0.25 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.91 (dd, 1H, $J = 1.3, 4.7$ Hz), 8.52 (dd, 1H, $J = 1.3, 8.1$ Hz), 7.93-7.86 (m, 2H), 7.50-7.45 (m, 3H), 7.40 (dd, 1H, $J = 4.7, 8.1$ Hz), 7.20 (s, 1H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 162.2, 157.4, 156.6, 153.3, 137.8, 131.6, 131.1, 129.3, 125.9, 123.2, 117.2, 104.0.

IR (neat, cm^{-1}) : 3067, 2923, 2853, 2330, 1734, 1633, 1561, 1439, 1280, 1215, 1110, 1079, 774, 752, 688, 530.

ESI-HRMS calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{NO}_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 224.0706, trouvée 224.0694.

m.p. = 136-137°C.

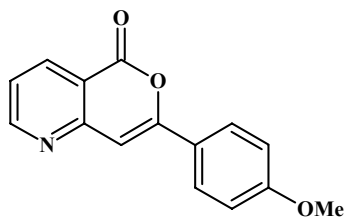
- 7-(4-méthoxyphényl)-5*H*-pyrano[4,3-*b*]pyridin-5-one **225a**

Formule brute :

C₁₅H₁₁NO₃

Masse molaire :

253.26 g.mol⁻¹



Rendement : 98 %.

Rf : 0.16 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.91 (dd, 1H, *J* = 1.3, 4.7 Hz), 8.52 (dd, 1H, *J* = 1.3, 8.1 Hz), 7.88 (ddd, 2H, *J* = 2.9, 4.8, 9.1 Hz), 7.39 (dd, 1H, *J* = 4.7, 8.1 Hz), 7.11 (s, 1H), 7.01 (ddd, 2H, *J* = 2.9, 4.8, 9.1 Hz), 3.89 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.2, 157.8, 156.8, 155.8, 138.0, 127.7, 124.2, 122.8, 116.9, 114.8, 102.5, 55.9.

IR (neat, cm⁻¹) : 3075, 2919, 2845, 2359, 2341, 1731, 1629, 1591, 1513, 1444, 1260, 1238, 1176, 1032, 823, 530.

ESI-HRMS calculée pour C₁₅H₁₂NO₃ [M + H]⁺ 254.0812, trouvée 254.0812.

m.p. = 177-178°C.

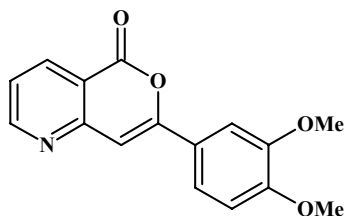
- 7-(3,4-diméthoxyphényl)-5*H*-pyrano[4,3-*b*]pyridin-5-one **225b**

Formule brute :

C₁₆H₁₃NO₃

Masse molaire :

283.28 g.mol⁻¹



Rendement : 94 %.

Rf : 0.21 (AcOEt 66 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 50 à 80 % dans l'heptane) pour donner un solide blanc.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.90 (dd, 1H, *J* = 1.7, 4.7 Hz), 8.51 (dd, 1H, *J* = 1.7, 7.8 Hz), 7.51 (dd, 1H, *J* = 2.0, 8.3 Hz), 7.37 (dd, 2H, *J* = 4.7, 7.8 Hz), 7.11 (s, 1H), 6.95 (d, 1H, *J* = 8.3 Hz), 3.97 (s, 3H), 3.94 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.5, 156.8, 149.6, 137.9, 124.4, 122.8, 119.5, 116.9, 111.6, 108.6, 102.7, 56.5, 56.4.

IR (neat, cm⁻¹) : 3086, 2930, 2838, 1734, 1627, 1587, 1564, 1516, 1441, 1265, 1217, 1145, 1022, 809, 770, 588.

ESI-HRMS calculée pour C₁₆H₁₄NO₄ [M + H]⁺ 284.0890, trouvée 284.0904.

m.p. = 179-180°C.

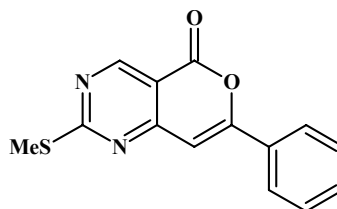
- 2-(méthylthio)-7-phényl-5*H*-pyrano[4,3-*d*]pyrimidin-5-one **226**

Formule brute :

C₁₄H₁₀N₂O₂S

Masse molaire :

270.31 g.mol⁻¹



Rendement : 91 %.

Rf : 0.27 (AcOEt 25 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 9.19 (s, 1H), 7.95-7.87 (m, 2H), 7.55-7.46 (m, 3H), 7.00 (s, 1H), 2.66 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 180.0, 162.9, 160.9, 159.5, 131.3, 131.1, 129.5, 126.6, 109.8, 102.1, 14.9.

IR (neat, cm⁻¹) : 2925, 2853, 1745, 1715, 1623, 1578, 1561, 1538, 1415, 1374, 1335, 1213, 1158, 1048, 797, 769, 688, 527.

ESI-HRMS calculée pour C₁₄H₁₁N₂O₂S [M + H]⁺ 271.0536, trouvée 271.0525.

m.p. = 133-135°C.

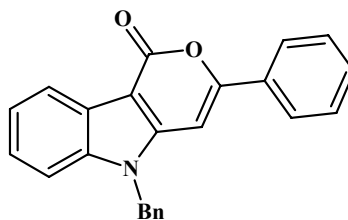
- 5-benzyl-3-phénylpyrano[4,3-*b*]indol-1-one **227**

Formule brute :

$C_{24}H_{17}NO_2$

Masse molaire :

$351.41 \text{ g.mol}^{-1}$



Rendement : 83 %.

Rf : 0.38 (AcOEt 33 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8.34-8.26 (m, 1H), 7.95-7.86 (m, 2H), 7.50-7.43 (m, 3H), 7.39-7.30 (m, 6H), 7.17-7.11 (m, 2H), 6.96 (s, 1H), 5.52 (s, 2H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) : 159.6, 159.1, 146.7, 139.2, 135.9, 132.6, 130.8, 129.6, 129.3, 128.6, 126.6, 126.1, 125.3, 124.8, 123.3, 121.9, 110.3, 100.9, 91.4, 47.7.

IR (neat, cm^{-1}) : 3365, 2960, 2922, 2851, 2360, 2342, 2080, 1716, 1456, 1442, 1259, 1094, 1018, 793, 747, 693, 669, 528.

ESI-HRMS calculée pour $C_{24}H_{18}NO_2$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 352.1332, trouvée 352.1318.

m.p. = 217-218°C.

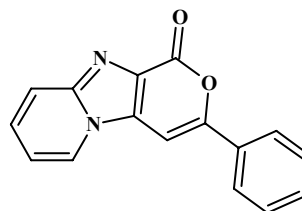
- 3-phényl-pyrano[3',4':4,5]imidazo[1,2-*a*]pyridin-1-one **230**

Formule brute :

C₁₆H₁₀N₂O₂

Masse molaire :

262.27 g.mol⁻¹



Rendement : 90 %.

Rf : 0.37 (MeOH 5 % dans CH₂Cl₂).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.91 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz), 8.29 (s, 1H), 7.93 (d, 2H, *J* = 7.5 Hz), 7.76 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz), 7.56 (m, 3H), 7.48 (d, 1H, *J* = 7.2 Hz), 7.20 (dd, 1H, *J* = 6.9, 6.9 Hz).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 158.1, 153.4, 133.6, 132.2, 130.2, 129.8, 129.5, 127.1, 125.1, 118.8, 114.3, 92.6.

IR (neat, cm⁻¹) : 3108, 2922, 2851, 2360, 2341, 1716, 1653, 1558, 1507, 1457, 1448, 1269, 1049, 752, 733, 681, 669, 545.

ESI-HRMS calculée pour C₁₆H₁₁N₂O₂ [M + H]⁺ 263.0815, trouvée 263.0803.

m.p. = 311-313°C.

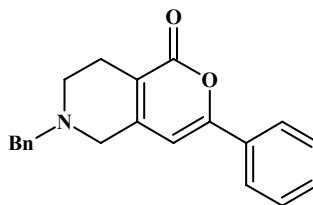
- 6-benzyl-3-phényl-5,6,7,8-tétrahydro-1*H*-pyrano[4,3-*c*]pyridin-1-one **231**

Formule brute :

C₂₁H₁₉NO₂

Masse molaire :

317.39 g.mol⁻¹



Rendement : 89 %.

Rf : 0.50 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

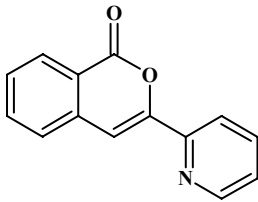
Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 30 à 50 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7.84-7.75 (m, 2H), 7.47-7.39 (m, 6H) 7.38-7.28 (m, 2H), 6.35 (s, 1H), 3.71 (s, 2H), 3.39 (s, 2H), 2.80-2.75 (m, 2H), 2.70-2.62 (m, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 162.9, 157.5, 149.5, 137.9, 131.9, 130.7, 129.5, 129.2, 128.9, 127.9, 125.6, 119.3, 101.8, 62.7, 54.9, 49.9, 24.4.

IR (neat, cm⁻¹) : 3060, 2923, 2852, 1709, 1644, 1567, 1495, 1452, 1364, 1216, 1097, 1029, 764, 699, 537.

ESI-HRMS calculée pour C₂₁H₂₀NO₂ [M + H]⁺ 318.1489, trouvée 318.1494.

<ul style="list-style-type: none"> 3-pyridin-2-yl-1<i>H</i>-isochromèn-1-one 232a 	
Formule brute : $C_{14}H_9NO_2$ Masse molaire : $223.23 \text{ g.mol}^{-1}$	

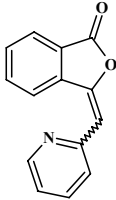
Rendement : 74 %.

Rf : 0.53 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 50 à 100 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.69 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz), 8.36 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 8.06 (d, 1H, $J = 8.3$ Hz), 7.85 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.5, 7.9$ Hz), 7.77 (ddd, 1H, $J = 1.5, 7.2, 7.9$ Hz), 7.71 (s, 1H), 7.63-7.55 (m, 2H), 7.34 (ddd, 1H, $J = 1.5, 4.9, 7.5$ Hz).

LC / MS : $t_r = 0.393$; (M+H) 224.1.

<ul style="list-style-type: none"> 3-(pyridin-2-ylméthylène)-2-benzofuran-1(3<i>H</i>)-one 233a 	
Formule brute : $C_{14}H_9NO_2$ Masse molaire : $223.23 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 22 %.

Isomère Z / E (80 / 20)

Rf : 0.25 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Isomère Z :

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 9.54 (d, 1H, $J = 4.5$ Hz), 9.20 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 8.87 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 8.75-8.64 (m, 3H), 8.51 (ddd, 1H, $J = 1.1, 6.8, 7.9$ Hz), 8.11 (ddd, 1H, $J = 1.1, 4.9, 6.8$ Hz), 7.61 (s, 1H).

Isomère E :

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 9.46 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz), 9.10 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 8.83 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 8.39 (ddd, 1H, $J = 1.5, 6.4, 7.5$ Hz), 8.35-8.29 (m, 2H), 8.19 (s, 1H), 7.92 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz), 7.86 (ddd, 1H, $J = 1.1, 6.4, 7.5$ Hz).

LC / MS : $t_r = 0.394$; (M+H) 224.1.

<ul style="list-style-type: none"> • 3-pyridin-3-yl-1<i>H</i>-isochromèn-1-one 232b • 3-(pyridin-3-ylméthylène)-2-benzofuran-1(3<i>H</i>)-one 233b 	
<p>Formule brute : C₁₄H₉NO₂</p> <p>Masse molaire : 223.23 g.mol⁻¹</p>	

Rendement : 57 %.
6-endo / 5-exo (70 / 30)

Rf : 0.18 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 50 à 100 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune.

6-endo :

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 9.12 (bs, 1H), 8.67 (bs, 1H), 8.33 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.19 (ddd, 1H, J = 1.5, 6.4, 8.3 Hz), 7.97 (ddd, 1H, J = 1.1, 6.0, 7.5 Hz), 7.77 (ddd, 1H, J = 1.1, 7.5, 7.5 Hz), 7.59-7.53 (m, 2H), 7.04 (s, 1H).

5-exo :

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8.84 (bs, 1H), 8.54 (bs, 1H), 8.40 (d, 1H, J = 8.3 Hz), 7.71-7.63 (m, 2H), 7.45-7.39 (m, 3H), 6.42 (s, 1H).

LC / MS : t_r = 0.389 ; (M+H) 224.1.

<ul style="list-style-type: none"> • 3-pyridin-4-yl-1<i>H</i>-isochromèn-1-one 232c • 3-(pyridin-4-ylméthylène)-2-benzofuran-1(3<i>H</i>)-one 233c 	
Formule brute : $C_{14}H_9NO_2$ Masse molaire : $223.23 \text{ g.mol}^{-1}$	

Rendement : 71 %.

6-endo / 5-exo (35 / 65)

Rf : 0.13 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 50 à 100 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune.

5-exo :

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.81-8.58 (m, 2H), 7.97 (d, 1H, $J = 7.5 \text{ Hz}$), 7.83-7.56 (m, 5H), 6.35 (s, 1H).

6-endo :

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8.81-8.58 (m, 2H), 8.34 (d, 1H, $J = 7.9 \text{ Hz}$), 7.83-7.56 (m, 5H), 7.15 (s, 1H).

LC / MS : $t_r = 0.394$; (M+H) 224.1.

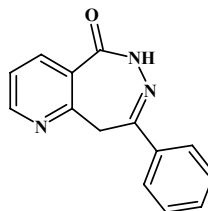
- 8-phényl-6,9-dihydro-5H-pyrido[3,2-d][1,2]diazépin-5-one **234**

Formule brute :

C₁₄H₁₁N₃O

Masse molaire :

237.26 g.mol⁻¹



Rendement : 94 %.

Rf : 0.21 (AcOEt 66 % dans l'heptane).

A une solution de **194** (1 g, 4.48 mmol) dans le nBuOH (10 mL), ajouter l'hydrazine hydrate (278 µL, 8.96 mmol), puis chauffer 1 heure à 120°C. Evaporer sous pression réduite, reprendre dans l'AcOEt (40 mL), puis laver à l'eau distillée (2 x 20 mL) et au NaCl sat. (2 x 20 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 50 à 70 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune pâle (1.25 g, 4.23 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 9.91 (s, 1H), 8.72 (d, 1H, J = 3.4 Hz), 8.34 (d, 1H, J = 7.5 Hz), 8.02-7.90 (m, 2H), 7.50-7.32 (m, 4H), 4.34 (s, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 167.1, 159.9, 155.3, 154.0, 139.4, 135.6, 131.0, 129.2, 123.6, 127.7, 39.4.

LC / MS : t_r = 1.315 ; (M+H) 238.0.

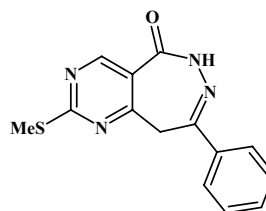
- 2-(méthylthio)-8-phényl-6,9-dihydro-5H-pyrimido[5,4-d][1,2]diazépin-5-one **235**

Formule brute :

C₁₄H₁₂N₄OS

Masse molaire :

284.34 g.mol⁻¹



Rendement : 84 %.

Rf : 0.36 (AcOEt 50 % dans l'heptane).

A une solution de **226** (200 g, 0.74 mmol) dans le nBuOH (3 mL), ajouter l'hydrazine hydrate (72 µL, 1.48 mmol), puis chauffer 1 heure à 120°C. Evaporer sous pression réduite, reprendre dans l'AcOEt (20 mL), puis laver à l'eau distillée (2 x 10 mL) et au NaCl sat. (2 x 10 mL). Sécher sur Na₂SO₄, filtrer et évaporer sous pression réduite. Purifier par chromatographie sur gel de silice (AcOEt 50 à 80 % dans l'heptane) pour donner un solide jaune pâle (177 mg, 0.62 mmol).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) : 9.59 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 7.98-7.78 (m, 2H), 7.54-7.41 (m, 3H), 4.21 (s, 2H), 2.64 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) : 178.4, 165.3, 162.6, 159.8, 158.3, 135.31, 131.3, 129.5, 129.4, 129.3, 128.8, 127.6, 120.2, 39.2, 14.8.

LC / MS : t_r = 2.371 ; (M+H) 285.0.

Matériels et méthodes

Les tests biologiques ont été réalisés au sein de l'Institut Fédératif de Recherche 85 (IFR 85), sous la direction du Dr. Pascal Villa.

1. Principe du test

1.1. Matériels

Les cellules ont été cultivées dans un incubateur humidifié en atmosphère air 95 % - CO₂ 5 % (IG-150, Jouan, St-Herblain, France). Les centrifugations ont été effectuées sur une centrifugeuse programmable à température variable (Sigma 4K-15, Fischer Bioblock Scientific, Illkirch, France). L'eau ultrapure a été obtenue à l'aide d'un appareillage Direct-Q Tap-Fed Water Systems (Millipore, Molsheim, France). Les dosages spectrophotométriques ont été réalisés à l'aide d'un lecteur de plaques 96 puits Vitor³ (Perkin Elmer) ou un équivalent.

1.2. Méthodes (figure 43)

1.2.1. Cultures cellulaires

a) Donneurs et prélèvement sanguin

Tous les prélèvements de sang veineux périphérique de volontaires sains ont été effectués en conditions stériles sur gel d'héparine de lithium à l'Etablissement Français du Sang (EFS) de Strasbourg (convention du 03 mars 2006) selon la législation en vigueur.

b) Isolement et incubation de cellules mononucléées humaines

Les cellules mononucléées sont isolées à partir de sang veineux périphérique humain selon la technique décrite par Bøyum (figure 43). Le sang est préalablement dilué au demi dans de la solution saline équilibrée de Hank's dépourvue en Ca²⁺ et en Mg²⁺ additionnée de 100 UI/ml de pénicilline et de 100 µg/ml de streptomycine (PEN-STREP 1 % (v/v)). Après centrifugation sur coussin de sucrose, les cellules mononucléées sont collectées, puis lavées à deux reprises dans du HBSS-CMF additionné de PENSTREP 1% (v/v). Le culot de cellules obtenu est finalement resuspendu dans du RPMI 1640 additionné de 10 % (v/v) de sérum de veau foetal inactivé à la chaleur (56° C, 30 min), et de PEN-STREP 1% (v/v).

Après comptage à l'aide d'un hématocymètre (cellule de Malassez), les cellules mononucléées sont ramenées à 10^6 cellules/ml,ensemencées dans des plaques de culture de 24 puits à raison de 500 μ L/puits, dans les puits préparés comme décrit dans le chapitre 2.2.2 et incubées selon les conditions expérimentales requises.

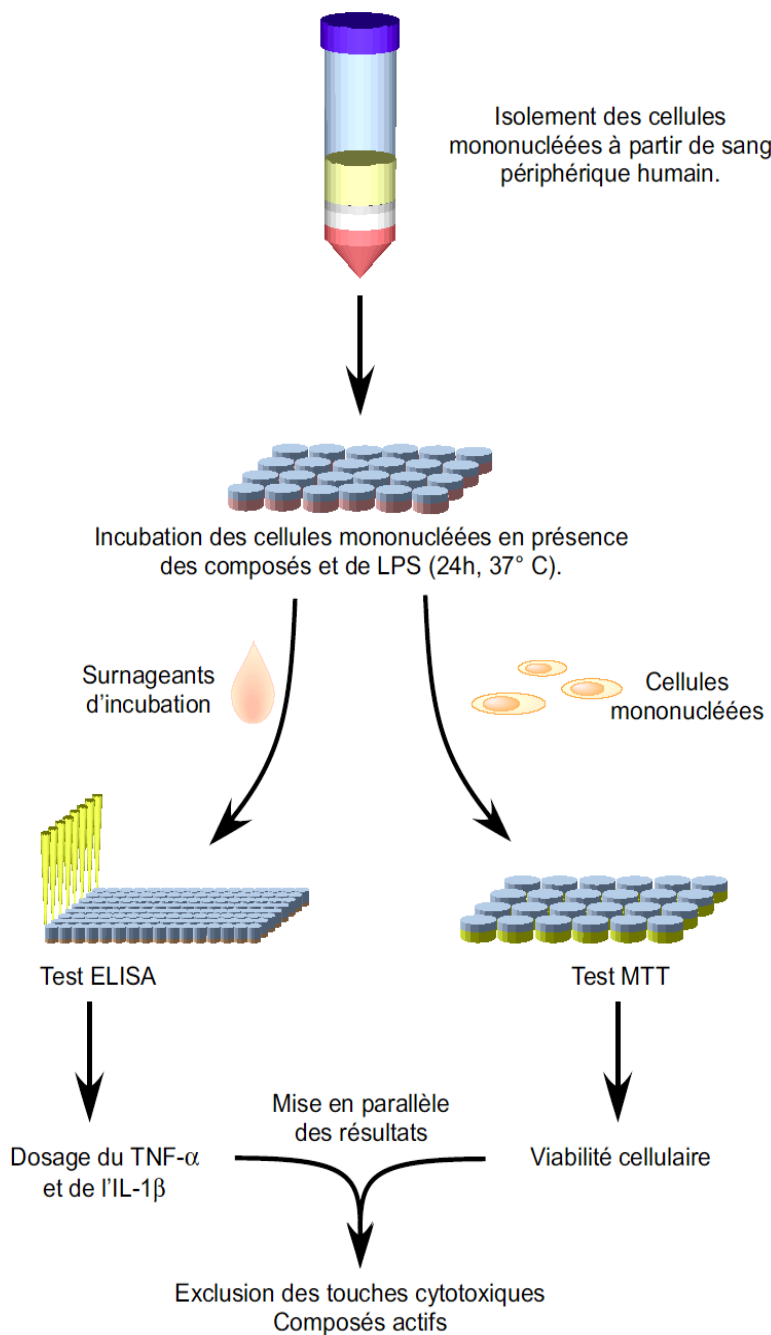


Figure 43. Principe du test

1.2.2. Composés d'intérêt

Les composés étudiés au cours des protocoles expérimentaux de ce travail ont été solubilisés dans du DMSO. Les échantillons ont été livrés à une concentration de 10 mM dans une plaque à 96 puits Greiner ref 650201.

1.2.3. Activation cellulaire et traitement avec les composés

Avant le dépôt des cellules, les plaques de culture sont préparées par dépôt de 500 μ L de milieu. La stimulation cellulaire est réalisée en ajoutant 5 μ g/mL de Lipopolysaccharide (LPS), une endotoxine extraite de la paroi d'une bactérie gram négative, *Salmonella abortus equi* dans le milieu de culture (figure 44). Le LPS a pour conséquence de mimer l'inflammation au niveau cellulaire et provoque la libération des cytokines par les cellules mononucléées. Dans chaque plaque la présence de contrôles non stimulés par le LPS permet de vérifier le taux basal de libération des cytokines.

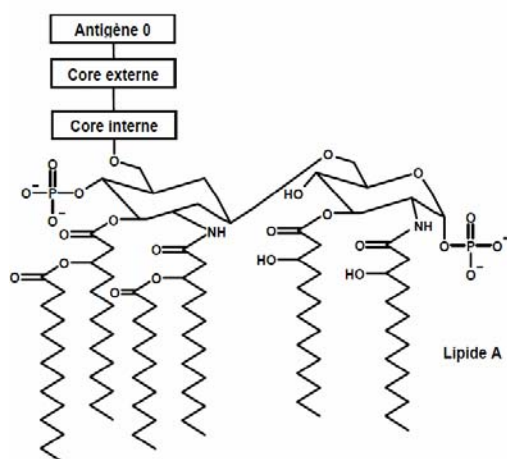


Figure 44. LipoPolySaccharide = paroi bactéries Gram⁻

- **lipide A** : glycérophospholipide = endotoxine proprement dite
- "**Core**" interne et externe = oligosaccharide
- **antigène-O** : tri-, tétra- et pentasaccharides.

Conformément au protocole retenu pour ces tests, chacun des produits est testé à 2 concentrations (10 μ M et 1 μ M) avec deux mesures par concentration.

Lors des expériences les contrôles de chaque plaque sont mis en présence de la même concentration de solvant que les puits traités avec les échantillons (DMSO).

L'ensemble des dépôts et traitements est effectué de façon automatisée sur une plate-forme robotique dans des conditions de stérilité (classe 100 préconisée pour la culture cellulaire) suivant les protocoles et procédures en vigueur au sein du service criblage de la PCBIS.

1.2.4. Viabilité cellulaire : évaluation par réduction du méthylthiazol-tétrazolium

La cytotoxicité est mesurée par la méthode colorimétrique quantitative du MTT décrite par Mosmann. Ce test permet d'évaluer la viabilité cellulaire à travers l'activité métabolique de la cellule. Il est basé sur le clivage par la succinate déshydrogénase mitochondriale (NADH⁺ dépendante) d'un sel de tétrazolium de couleur jaune en cristaux de formazan de couleur bleue.

Après 24 h d'incubation, les surnageants cellulaires sont prélevés et transférés dans des microtubes de 1,5 mL puis congelés à -20°C en attendant le test ELISA. 500 µL de RPMI 1640 additionné d'un sel de tétrazolium (Bromure de 3-[4,5-diméthylthiazol-2-yl]-2,5-diphényl tétrazolium ou MTT) à une concentration de 0,5 mg/mL sont ajoutés aux cellules. Après une incubation de 30 min à 2h la réaction est quantifiée par mesure de l'absorbance des cristaux solubilisés dans du DMSO au spectrophotomètre à 560 nm. Le nombre de cellules vivantes est proportionnel à la valeur de DO obtenue. La mort cellulaire est quantifiée par rapport aux contrôles (cellules non traitées avec les échantillons) correspondant à une absence de toxicité.

1.2.5. Dosage des cytokines inflammatoires

a) Prélèvement des surnageants d'incubation en vue du dosage ELISA

Suite à l'incubation des cellules et après une étape de centrifugation des plaques de culture, les surnageants sont transférés dans des tubes en polypropylène de 1,7 ml puis congelés à -20° C jusqu'au test ELISA. Cette opération est réalisée de façon automatique sur la plate-forme robotisée.

b) Dosage des cytokines par test immunoenzymatique ELISA

Les concentrations de TNF- α et d'IL-1 β humains sécrétés dans le surnageant de culture ont été déterminées à l'aide de tests ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) spécifiques mis au point au sein de la plate-forme de criblage de l'IFR 85.

En résumé les plaques sont traitées avec un 1^{er} anticorps reconnaissant la cytokine d'intérêt. Puis le surnageant de culture cellulaire est déposé dans les puits de la plaque ELISA 96 puits. Après lavages un 2^{ème} anticorps (couplé à la biotine) reconnaissant la cytokine d'intérêt est mis à incuber. Après lavages, on ajoute une enzyme (peroxydase du raifort) couplée à la streptavidine. A la fin de l'expérience, le substrat de l'enzyme est ajouté et une mesure de densité optique est effectuée à 450 nm sur un lecteur de microplaques.

Calculs :

- 1) La moyenne des valeurs des contrôles non activés (taux basal de cytokines) est effectuée :

$$M_{NA}$$

- 2) On soustrait la moyenne des contrôles non activés à chaque valeur brute individuelle (V_i) :

$$V_i - M_{NA}$$

- 3) On mesure la différence (D) entre les moyennes des contrôles activés (M_A) et la moyenne des contrôles non activés (M_{NA}) :

$$D = M_A - M_{NA}$$

- 4) Calcul du pourcentage d'inhibition :

$$100 - (V_i \times 100)/D$$

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-
- ¹ Russo-Marie F., Peltier A., Polla B. L'Inflammation (1998) *John Libbey Eurotext, Paris*.
- ² Koshino T, Arai Y, Miyamoto Y, Sano Y, Itami M., et al. Airway basophil and mast cell density in patients with bronchial asthma: relationship to bronchial hyperresponsiveness. *J. Asthma* (1996) 33, 89-95.
- ³ Aggarwal B.B., Eessalu T.E., Hass P.E. Characterization of receptors for human tumour necrosis factor and their regulation by gamma-interferon. *Nature* (1985) 318, 665-667.
- ⁴ Black R., Rauch C.T., Kozlosky C.J., Peschon J.J., Slack J.L., et al. A metalloproteinase disintegrin that releases tumor-necrosis factor-alpha from cells. *Nature* (1997) 385, 729-33.
- ⁵ Pennica D., Hayflick J.S., Bringman T.S., Palladino M.A., Goeddel D.V. Cloning and expression in *Escherichia coli* of the cDNA for murine tumor necrosis factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* (1985) 82, 6060-6064.
- ⁶ Bodmer J.L., Schneider P., Tschopp J. The molecular architecture of the TNF superfamily. *Trends Biochem Sci* (2002) 27, 19-26.
- ⁷ Bazzoni F., Beutler B. The tumor necrosis factor ligand and receptor families. *N. Engl. J. Med.* (1996) 334, 1717-1725.
- ⁸ Schall T.J., Lewis M., Koller K.J., Lee A., Rice G.C., et al. Molecular cloning and expression of a receptor for human tumor necrosis factor. *Cell* (1990) 61, 361-370.
- ⁹ Tartaglia L.A., Ayres T.M., Wong G.H., Goeddel D.V. A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death. *Cell* (1993) 74, 845-853.
- ¹⁰ Seckinger P., Zhang J.H., Hauptmann B., Dayer J.M. Characterization of a tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) inhibitor : evidence of immunological cross-reactivity with the TNF receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* (1990) 87, 5188-5192.
- ¹¹ Van Zee K.J.; Kohno T., Fischer E., Rock C.S., Moldawer L.L., et al. Tumor necrosis factor soluble receptors circulate during experimental and clinical inflammation and can protect against excessive tumor necrosis factor alpha in vitro and in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* (1992) 89, 4845-4849.
- ¹² Chen G., Goeddel D.V. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway. *Science* (2002) 296, 1634-1635.
- ¹³ Baud V., Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell. Biol.* (2001) 11, 372-377.
- ¹⁴ Krueger J.M., Fang J., Taishi P., Chen Z., Kushikata T., et al. Sleep. A physiologic role for IL-1 beta and TNF-alpha. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (1998) 856, 148-159.
- ¹⁵ Reimund J.M., Wittersheim C., Dumont S., Muller C.D., Kenney J.S. Increased production of tumour necrosis factor-alpha interleukin-1 beta, and interleukin-6 by morphologically normal intestinal biopsies from patients with Crohn's disease. *Gut* (1996) 39, 684-9.

-
- ¹⁶ Saxne T., Palladino M. A., Heinegard D., Talal, N. Wollheim, F. A. Detection of tumor necrosis factor alpha but not tumor necrosis factor beta in rheumatoid arthritis synovial fluid and serum. *Arthritis Rheum* (1988) 31, 1041-5.
- ¹⁷ Targan S.R., Hanauer S.B., Van Deventer S.J., Mayer L., Present D.H., *et al.* A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. *N. Engl. J. Med.* (1997) 337, 1029-35.
- ¹⁸ Elliott M.J., Maini R.N., Feldmann M., Kalden J.R., Antoni C., *et al.* Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet* (1994) 344, 1105-10.
- ¹⁹ Dinarello C.A. Interleukin-1 beta, interleukin-18, and the interleukin-1 beta converting enzyme. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* (1998) 856, 1-11.
- ²⁰ Nouri A.M., Panayi G.S., Goodman S.M. Cytokines and the chronic inflammation of rheumatic disease. I. The presence of interleukin-1 in synovial fluids. *Clin. Exp. Immunol.* (1984) 55, 295-302.
- ²¹ Fontana A., Hengartner H., Weber E., Fehr K., Grob P.J. , *et al.* Interleukin 1 activity in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.* (1982) 2, 49-53.
- ²² Mahida Y.R., Wu K., Jewell D.P. Enhanced production of interleukin 1-beta by mononuclear cells isolated from mucosa with active ulcerative colitis of Crohn's disease. *Gut* (1989) 30, 835-8.
- ²³ Reimund J.M., Wittersheim C., Dumont S., Muller C.D., Baumann R., *et al.* Mucosal inflammatory cytokine production by intestinal biopsies in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *J. Clin. Immunol.* (1996) 16, 144-50.
- ²⁴ Hirano T. Interleukin 6 and its receptor: ten years later. *Int. Rev. Immunol.* (1998) 16(3-4), 249-84.
- ²⁵ Romano M., Sironi M., Toniatti C., Polentarutti N., Fruscella P., *et al.* Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity* (1997) 6, 315-25.
- ²⁶ Ito H., Hirotsu T., Yamamoto M., Ogawa H., Kishimoto, T. Anti-IL-6 receptor monoclonal antibody inhibits leukocyte recruitment and promotes T-cell apoptosis in a murine model of Crohn's disease. *J. Gastroenterol.* (2002) 37 (14), 56-61.
- ²⁷ Kishimoto T. Interleukin-6 : discovery of a pleiotropic cytokine. *Arthritis Res. Ther.* (2006) 8 Suppl 2:S2.
- ²⁸ Ohshima S., Saeki Y., Mima T., Sasai M., Nishioka K., *et al.* Interleukin 6 plays a key role in the development of antigen-induced arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1998) 95, 8222-6.

-
- ²⁹ Takagi N., Mihara M., Moriya Y., Nishimoto N., Yoshizaki K., *et al.* Blockage of interleukin-6 receptor ameliorates joint disease in murine collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* (1998) 41, 2117-21.
- ³⁰ Mitsuyama K., Sasaki E., Toyonaga A., Ikeda H., Tsuruta O., *et al.* Colonic mucosal interleukin-6 in inflammatory bowel disease. *Digestion* (1991) 50, 104-11.
- ³¹ Hirano T., Matsuda T., Turner M., Miyasaka N., Buchan G., *et al.* Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.* (1988) 18, 1797-801.
- ³² Stelmasiak Z., Koziol-Montewka M., Dobosz B., Rejdak K., Bartosik-Psujek H., *et al.* Interleukin-6 concentration in serum and cerebrospinal fluid in multiple sclerosis patients. *Med. Sci. Monit.* (2000) 6, 1104-8.
- ³³ Mukaida N., Harada A., Matsushima K. Interleukin-8 (IL-8) and monocyte chemoattractant and activating factor (MCAF/MCP-1), chemokines essentially involved in inflammatory and immune reactions. *Cytokine Growth Factor Rev.* (1998) 9(1):9-23.
- ³⁴ Mukaida N. Pathophysiological roles of interleukin-8/CXCL8 in pulmonary diseases. *Am. J. Physiol.* (2003), 284(4), 566-577.
- ³⁵ McCormack G., Moriarty D., O'Donoghue D.P., McCormick P.A., Sheahan K., *et al.* Tissue cytokine and chemokine expression in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Res.* (2001) 50, 491-5.
- ³⁶ Sher, M. E., D'Angelo A.J.; Stein T.A.; Bailey B.; Burns G.; Wise L. Cytokines in Crohn's colitis. *Am J Surg* (1995) 169, 133-6.
- ³⁷ Endo H., Akahoshi T., Takagishi K., Kashiwazaki S., Matsushima K. Elevation of interleukin-8 (IL-8) levels in joint fluids of patients with rheumatoid arthritis and the induction by IL-8 of leukocyte infiltration and synovitis in rabbit joints. *Lymphokine Cytokine Res.* (1991) 10, 245-52.
- ³⁸ Furuzawa-Carballeda J., Alcocer-Varela J. Interleukin-8, interleukin-10, intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 expression levels are higher in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis than in osteoarthritis. *Scand. J. Immunol.* (1999) 50, 215-22.
- ³⁹ Guedes C., Dumont-Fischer D., Leichter-Nakache S., Boissier M.C. Mortality in rheumatoid arthritis. *Rev. Rhum. Engl. Ed.* (1999) 66, 492-498.
- ⁴⁰ Firestein G.S. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* (2003) 423, 356-61.
- ⁴¹ Smolen J.S., Steiner G. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Drug. Discov.* (2003) 2, 473-88.
- ⁴² Cosnes J., Beaugerie L., Carbonnel F., Gendre, J.P. Smoking cessation and the course of Crohn's disease: an intervention study. *Gastroenterology* (2001) 120, 1093-9.

-
- ⁴³ Shanahan F. Crohn's disease. *Lancet* (2002) 359, 62-9.
- ⁴⁴ Feldmann M., Brennan F.M., Paleolog E., Cope A., Taylor P., *et al.* Anti-TNF-alpha therapy of rheumatoid arthritis: what can we learn about chronic disease? *Novartis Found Symp.* (2004) 256, 53-69.
- ⁴⁵ Hanauer S.B. Efficacy and safety of TNF antagonists in Crohn's disease : overview of randomized clinical studies. *Reviews in gastroenterological disorders* (2004) 4(3), 518-524.
- ⁴⁶ Van Den Berg W.B. Anti-cytokine therapy in chronic destructive arthritis. *Arthritis Res.* (2001) 3, 18-26.
- ⁴⁷ Rampton, D.S., Phil D. New treatments for inflammatory bowel disease. *World J. Gastroenterol.* (1998) 4, 369-376.
- ⁴⁸ Palladino M.A., Bahjat F.R., Theodorakis, E.A., Moldawer, L.L. Anti-TNF-alpha therapies : the next generation. *Nat. Rev. Drug. Discov.* (2003) 2, 736-746.
- ⁴⁹ Laan R.F., Jansen, T.L., Van Riel, P.L. Glucocorticosteroids in the management of rheumatoid arthritis. *Rheumatology* (1999) 38, 6-12.
- ⁵⁰ Rehman Q., Lane N.E. Effect of glucocorticoids on bone density. *Med. Pediatr. Oncol.* (2003) 41, 212-216.
- ⁵¹ Seymour H.E., Worsley A., Smith J.M., Thomas S.H. Anti-TNF agents for rheumatoid arthritis. *Br. J. Clin. Pharmacol.* (2001) 51, 201-8.
- ⁵² Stack W.A., Mann S.D., Roy A.J.; Heath P., Sopwith M., *et al.* Randomised controlled trial of CDP571 antibody to tumour necrosis factor-alpha in Crohn's disease. *Lancet* (1997) 349, 521-5244.
- ⁵³ Evans R.C., Shim Wong V., Morris A.I., Rhodes J.M. Treatment of ulcerative colitis with an engineered human anti- TNFalpha antibody CDP571. *Aliment Pharmacol. Ther.* (1997) 11, 1031-1035.
- ⁵⁴ Baert F., Noman M., Vermeire S., Van Assche G. D' Haens G., *et al.* Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N. Engl. J. Med.* (2003) 348, 601-608.
- ⁵⁵ Day R. Adverse reactions to TNF-alpha inhibitors in rheumatoid arthritis. *Lancet* (2002) 359, 540-541.
- ⁵⁶ MacDermott R.P. Progress in understanding the mechanisms of action of 5-aminosalicylic acid. *Am. J. Gastroenterol.* (2000) 95, 3343-3345.
- ⁵⁷ Ding C. Do NSAIDs affect the progression of osteoarthritis? *Inflammation* (2002) 26, 139-142.

-
- ⁵⁸ Bjarnason I., Zanelli G., Smith T., Prouse P., Williams P., *et al.* Nonsteroidal antiinflammatory drug-induced intestinal inflammation in humans. *Gastroenterology* (1987) 93, 480-489.
- ⁵⁹ Wang D., Wang M., Cheng Y., Fitzgerald G.A. Cardiovascular hazard and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Curr. Opin. Pharmacol.* (2005), 5(2), 204-210.
- ⁶⁰ Schroder O., Stein J. Low dose methotrexate in inflammatory bowel disease: current status and future directions. *Am. J. Gastroenterol* (2003) 98, 530-537.
- ⁶¹ Prajapati D.N., Knox J.F., Emmons J., Saeian K.; Csuka M.E.; *et al.* Leflunomide treatment of Crohn's disease patients intolerant to standard immunomodulator therapy. *J. Clin. Gastroenterol.* (2003) 37, 125-8.
- ⁶² Aringer M., Graninger, W.B. Treating rheumatoid arthritis with new disease modifying drugs. *Acta Med. Austriaca* (2002) 29, 33-35.
- ⁶³ Elkayam O., Yaron I., Shirazi I., Judovitch R., Caspi D., *et al.* Active leflunomide metabolite inhibits interleukin 1beta, tumour necrosis factor alpha, nitric oxide, and metalloproteinase-3 production in activated human synovial tissue cultures. *Ann. Rheum. Dis.* (2003) 62, 440-443.
- ⁶⁴ Lorenz H.M., Kalden J.R. Perspectives for TNF- α targeting therapies. *Arthritis Res.* (2002) 4(2), 17-24.
- ⁶⁵ Tarner I.H., Nakajima A., Seroogy C.M., Ermann J., Levicnik A., *et al.* Retroviral gene therapy of collagen-induced arthritis by local delivery of IL-4. *Clin. Immunol.* (2002) 105, 304-314.
- ⁶⁶ Van Deventer S.J., Elson C.O., Fedorak R.N. Multiple doses of intravenous interleukin 10 in steroid-refractory Crohn's disease. Crohn's Disease Study Group. *Gastroenterology* (1997) 113, 383-9.
- ⁶⁷ Sands B.E., Winston B.D., Salzberg B., Safdi M., Barish C., *et al.* Randomized, controlled trial of recombinant human interleukin-11 in patients with active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol. Ther.* (2002) 16, 399-406.
- ⁶⁸ Woods J.M., Amin M.A., Katschke KJ., Volin, M.V., Ruth, J.H., *et al.* Interleukin-13 gene therapy reduces inflammation, vascularization, and bony destruction in rat adjuvant-induced arthritis. *Hum. Gene Ther.* (2002) 13, 381-393.
- ⁶⁹ Sandborn W.J. New concepts in Anti-Tumor Necrosis Factor for inflammatory Bowel Disease. *Reviews in Gastroenterological disorders* (2005) 5(1), 10-18.
- ⁷⁰ Dinarello C.A. Anti-cytokine therapeutics and infections. *Vaccine* (2001) 21(2), 24-34.
- ⁷¹ Bresnihan B. The safety and efficacy of interleukin-1 receptor antagonist in the treatment of rheumatoid arthritis. *Semin. Arthritis Rheum.* (2001) 30, 17-20.

-
- ⁷² Choy E.H., Isenberg D.A., Garrood T., Farrow S., Ioannou Y., *et al.* Therapeutic benefit of blocking interleukin-6 activity with an antiinterleukin-6 receptor monoclonal antibody in rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Arthritis Rheum.* (2002) 46, 3143-3150.
- ⁷³ Butler D. M., Malfait, A. M., Maini, R. N., Brennan, F. M., Feldmann, M. Anti-IL-12 and anti-TNF antibodies synergistically suppress the progression of murine collagen-induced arthritis. *Eur. J. Immunol.* (1999) 29, 2205-2212.
- ⁷⁴ Schmidt C., Marth T., Wittig B.M., Hombach A., Abken H., *et al.* Interleukin-12 antagonists as new therapeutic agents in inflammatory bowel disease. *Pathobiology* (2002) 70, 177-183.
- ⁷⁵ McInnes I.B., Al-Mughales J.L., Field M., Leung B.P., Huang F.P., *et al.* The role of interleukin-15 in T-cell migration and activation in rheumatoid arthritis. *Nat. Med.* (1996) 2, 175-182.
- ⁷⁶ McInnes I.B., Leung B.P., Sturrock R.D., Field M., Liew F.Y. Interleukin-15 mediates T cell-dependent regulation of tumor necrosis factor- α production in rheumatoid arthritis. *Nat. Med.* (1997) 3, 189-195.
- ⁷⁷ Ruchatz H., Leung B.P., Wei X.Q., McInnes I.B., Liew F.Y. Soluble IL-15 receptor alpha-chain administration prevents murine collagen-induced arthritis: a role for IL-15 in development of antigen-induced immunopathology. *J. Immunol.* (1998) 160, 5654-5660.
- ⁷⁸ Plater-Zyberk C., Joosten L.A., Helsen M.M., Sattouet-Roche P., Siegfried C., Therapeutic effect of neutralizing endogenous IL-18 activity in the collagen-induced model of arthritis. *J. Clin. Invest.* (2001) 108, 1825-1832.
- ⁷⁹ Ziolkowska M., Koc A., Luszczkiewicz G., Ksiezopolska-Pietrzak K., Klimczak E., *et al.* High levels of IL-17 in rheumatoid arthritis patients: IL-15 triggers in vitro IL-17 production via cyclosporin A-sensitive mechanism. *J. Immunol.* (2000) 164, 2832-2838.
- ⁸⁰ Souness J.E., Aldous D., Sargent C. Immunosuppressive and anti-inflammatory effects of cyclic AMP phosphodiesterase (PDE) type 4 inhibitors. *Immunopharmacology* (2000) 47, 127-162.
- ⁸¹ Martel A.M., Graul A., Rabasseda X., Castaner, R. Sildenafil. Treatment of erectile dysfunction phosphodiesterase V inhibitor. *Drug Future* (1997) 22, 138-143.
- ⁸² Schudt C., Winder S., Muller B., Ukena D. Zardaverine as a selective inhibitor of phosphodiesterase isozymes. *Biochem. Pharmacol.* (1991) 42, 153-162.
- ⁸³ Brunnee T., Engelstatter R., Steinijs V.W., Kunkel G. Bronchodilatory effect of inhaled zardaverine, a phosphodiesterase III and IV inhibitor, in patients with asthma. *The European respiratory journal* (1992) 5, 982-985.
- ⁸⁴ Robichaud A., Savolie C., Stamatiou P.B., Lachance N., Jolicoeur P., *et al.* Assessing the emetic potential of PDE4 inhibitors in rats. *Brit. J. Pharmacol.* (2002) 135, 113-118.

-
- ⁸⁵ Zhang H.T., Huang Y., Jin S.L., Frith S.A., Suvarna N., *et al.* Inhibition of cyclic AMP phosphodiesterase (PDE4) reverses memory deficits associated with NMDA receptor antagonism. *Neuropsychopharmacology* (2002) 27, 587-595.
- ⁸⁶ Raboisson P., Lugnier C., Muller C.D., Reimund J.M., Schultz, D., *et al.* Design, synthesis and structure-activity relationships of a series of 9-substituted adenine derivatives as selective phosphodiesterase type-4 inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* (2003), 38(2), 199-214.
- ⁸⁷ Boichot E., Wallace J.L., Germain N., Corbel M., Lugnier C., *et al.* Anti-inflammatory activities of a new series of selective phosphodiesterase 4 inhibitors derived from 9-benzyladenine. *J. Pharmacol Exper. Therap.* (2000) 292(2), 647-653.
- ⁸⁸ Reimund J.M., Raboisson P., Pinna G., Lugnier C., Bourguignon J.J., *et al.* Anti-TNF- α Properties of New 9-Benzyladenine Derivatives with Selective Phosphodiesterase-4-Inhibiting Properties. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* (2001) 288(2), 427-434.
- ⁸⁹ Krier M., De Araujo-Junior J.X., Schmitt M., Duranton J., Justiano-Basaran H., *et al.* Design of Small-Sized Libraries by Combinatorial Assembly of Linkers and Functional Groups to a Given Scaffold: Application to the Structure-Based Optimization of a Phosphodiesterase 4 Inhibitor. *J. Med. Chem.* (2005) 48(11), 3816-3822.
- ⁹⁰ Bourguignon J.J., Lagouge Y., Lugnier C., Klotz E., Macher J.P., *et al.* Preparation of benzodiazepinones as cyclic nucleotide phosphodiesterase (particularly PDE4) inhibitors useful as anti-inflammatories. *PCT Int. Appl.* (2002) WO2002098865.
- ⁹¹ Peifer C., Wagner G., Laufer S. New approaches to the treatment of inflammatory disorders small molecule inhibitors of p38 MAP kinase. *Curr. Top. Med. Chem.* (2006) 6(2), 113-49.
- ⁹² Lee, J.C., Laydon, J.T., McDonnell, P.C., Gallagher, T.F., Kumar, S., *et al.* A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis. *Nature* (1994) 372, 739-746.
- ⁹³ Kumar S., Boehm J., Lee, J.C. p38 MAP kinases: key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat. Rev. Drug. Discov.* (2003) 2, 717-26.
- ⁹⁴ Hidalgo M., Eckhardt, S.G. Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. *J. Natl. Cancer Inst.* (2001) 93, 178-193.
- ⁹⁵ Schett G., Hayer S., Tohidast-Akrad M., Schmid B.J., Lang S., *et al.* Adenovirus-based overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 reduces tissue damage in the joints of tumor necrosis factor alpha transgenic mice. *Arthritis Rheum.* (2001) 44, 2888-2898.
- ⁹⁶ Beck G., Bottomley G., Bradshaw D., Brewster M., Broadhurst M., *et al.* Ro 32-7315, a selective and orally active inhibitor of tumor necrosis factor- α convertase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (2002) 302, 390-396.
- ⁹⁷ Elford P.R., Heng R., Revesz L., MacKenzie A.R. Reduction of inflammation and pyrexia in the rat by oral administration of SDZ 224-015, an inhibitor of the interleukin-1 beta converting enzyme. *Br. J. Pharmacol.* (1995) 115, 601-606.

-
- ⁹⁸ Conway J.G., Andrews R.C., Beudet B., Bickett D.M., Boncek V., *et al.* Inhibition of tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) production and arthritis in the rat by GW3333, a dual inhibitor of TNF-alpha-converting enzyme and matrix metalloproteinases. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (2001) 298, 900-908.
- ⁹⁹ Rudolphi K., Gerwin N., Verzijl N., Van der Kraan P., Van den Berg W. Pralnacasan, an inhibitor of interleukin-1beta converting enzyme, reduces joint damage in two murine models of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* (2003) 11, 738-746.
- ¹⁰⁰ Bayes M., Rabasseda, X., Prous, J.R. Gateways to clinical trials. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* (2003) 25, 53-76.
- ¹⁰¹ Baeuerle P.A., Baichwal V.R. NF-kappa B as a frequent target for immunosuppressive and anti-inflammatory molecules. *Adv. Immunol.* (1997) 65, 111-137.
- ¹⁰² Hayashi S., Hashimoto S. "Anti-inflammatory actions of new antihistamines." *Clin. Exp. Allergy* (1999) 29(12), 1593-1596.
- ¹⁰³ Walsh G.M. Anti-inflammatory properties of antihistamines : an update. *Clinical & Experimental Allergy Reviews* (2005) 5(1), 21-25.
- ¹⁰⁴ Matsubara M., Tamura T., Ohmori K., Hasegawa K. Histamine H1 receptor antagonist blocks histamine-induced proinflammatory cytokine production through inhibition of Ca²⁺-dependent protein kinase C, Raf/MEK/ERK and IKK/I kappa B/NF-kappa B signal cascades. *Biochem. Pharmacol.* (2005) 69(3), 433-449.
- ¹⁰⁵ Morisset S., Rouleau A., Lineau X., Gbahou F., Tardivel-Lacombe J., *et al.* High constitutive activity of native H3 receptors regulates histamine neurons in brain. *Nature* (2000) 408(6814), 860-864.
- ¹⁰⁶ Varga C., Horvath K., Berko A., Thurmond R.L., Dunford P.J., *et al.* "Inhibitory effects of histamine H4 receptor antagonists on experimental colitis in the rat.". *Eur. J. Pharmacol.* (2005) 522, 130-138.
- ¹⁰⁷ Rimmer S.J., Church M.K. The pharmacology and mechanisms of action of histamine H1-antagonists. *Clin. Exp. Allergy* (1990) 20 Suppl 2, 3-17.
- ¹⁰⁸ Simons F.E., Simons K. J. The pharmacology and use of H1-receptor-antagonist drugs. *N. Engl. J. Med.* (1994) 330(23), 1663-1670.
- ¹⁰⁹ Kempuraj D., Huang M., Kandere-Grzybowska K., Basu S., Boucher W., *et al.* "Azelastine inhibits secretion of IL-6, TNF-alpha and IL-8 as well as NF-kappaB activation and intracellular calcium ion levels in normal human mast cells". *Int. Arch. Allergy Immunol.* (2003) 132(3), 231-239.
- ¹¹⁰ Hide I., Toriu N., Nuibe T., Inoue A., Hide M., *et al.* Suppression of TNF-alpha secretion by azelastine in a rat mast (RBL-2H3) cell line: evidence for differential regulation of TNF-alpha release, transcription, and degranulation. *J. Immunol.* (1997) 159(6), 2932-2940.

-
- ¹¹¹ Lippert U., Moller A., Welker P., Artuc M., Henz B.M. Inhibition of cytokine secretion from human leukemic mast cells and basophils by H1- and H2-receptor antagonists." *Exp. Dermatol.* (2000) 9(2), 118-124.
- ¹¹² Yoneda K., Yamamoto T., Ueta E., Osaki T. "Suppression by azelastine hydrochloride of NF-kB activation involved in generation of cytokines and nitric oxide". *Jpn J. Pharmacol.* (2001) 72, 145-153.
- ¹¹³ Lieberman P. Preclinical evidence of Azelastine hydrochloride activity. *Current Therapeutic Research* (2002) 63(9), 556-571.
- ¹¹⁴ ASTA WERKE AG CHEM FAB. Procédé de préparation de nouveaux dérivés de substitutions basiques de benzylphthalazone et de leur sels. BE778269 (1972), US3813384 (1974).
- ¹¹⁵ Lewis R.T., Blackaby W.P., Blackburn T., Jennings A.S.R., Pike, A., *et al.* A Pyridazine Series of $\alpha/2/\alpha 3$ Subtype Selective GABAA Agonists for the Treatment of Anxiety. *J. Med. Chem.* (2006) 49(8), 2600-2610.
- ¹¹⁶ Tamayo N., Liao L., Goldberg M., Powers D., Tudor Y.Y., *et al.* Design and synthesis of potent pyridazine inhibitors of p38 MAP kinase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2005) 15(9), 2409-2413.
- ¹¹⁷ Hu W., Ranaivo H.R., Roy S.M., Behanna H.A., Wing L.K., *et al.* Development of a novel therapeutic suppressor of brain proinflammatory cytokine up-regulation that attenuates synaptic dysfunction and behavioral deficits. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2007), 17(2), 414-418.
- ¹¹⁸ Mirzoeva S., Sawkar A., Zasadzki M., Guo L., Velentza A.V., *et al.* Discovery of a 3-Amino-6-phenyl-pyridazine Derivative as a New Synthetic Anti-neuroinflammatory Compound. *J. Med. Chem.* (2002) 45(3), 563-566.
- ¹¹⁹ Bourotte M., Pellegrini N., Schmitt M., Bourguignon J.J. Expeditive synthesis of 4-substituted 3-aminopyridazines. *Synlett* (2003) 10, 1482-1484.
- ¹²⁰ Contreras J.M., Rival Y.M., Chayer S., Bourguignon J.J., Wermuth C.G., Aminopyridazines as acetylcholinesterase inhibitors. *J. Med. Chem.* (1999) 42(4), 730-741.
- ¹²¹ Lenke D., Scheffler G., Brock N., Vogelsang D., Vogelsang U. Basically substituted benzyl phthalazone derivatives, acid salts thereof and process for the production thereof., *US Patent* (1974) US3813384.
- ¹²² Del Olmo E., Barboza B., Ybarra M.I., Lopez-Perez J.L., Carron R., *et al.* Vasorelaxant activity of phthalazinones and related compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2006) 16(10), 2786-90.
- ¹²³ Bedoya L.M., Del Olmo E., Sancho R., Barboza B., Beltran M., *et al.* Anti-HIV activity of stilbene-related heterocyclic compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2006) 16 4075-4079

-
- ¹²⁴ Negishi E., Liu F. Palladium-catalyzed cross-coupling between allyl, benzyl, or propargyl groups and unsaturated groups. *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis* (2002) 1, 551-589.
- ¹²⁵ Shinokubo H., Oshima K. Transition metal-catalyzed carbon-carbon bond formation with grignard reagents - novel reactions with a classic reagent. *Eur. J. Org. Chem.* (2004) 10, 2081-2091.
- ¹²⁶ Tucker C.E.; De Vries J.G. Homogeneous catalysis for the production of fine chemicals. Palladium- and nickel-catalyzed aromatic carbon-carbon bond formation. *Topics in Catalysis* (2002) 19(1), 111-118.
- ¹²⁷ Ahn J.H., Cho S.Y., Ha J.D., Chu S.Y., Jung S.H., *et al.* Synthesis and PTP1B inhibition of 1,2-naphthoquinone derivatives as potent anti-diabetic agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, (2002). 12(15): p. 1941-6.
- ¹²⁸ Busacca C.A., Eriksson M.C., Fiaschisi R. Cross coupling of vinyl triflates and alkyl Grignard reagents catalyzed by nickel(0)-complexes. *Tet. Lett.* (1999) 40(16), 3101-3104.
- ¹²⁹ Samaritani S., Signore G., Malanga C.O., Menicagli R. Organometallic alkylation of 2-chloro-4,6-dimethoxy-1,3,5-triazine : a study. *Tetrahedron* (2005) 61(18), 4475-4483.
- ¹³⁰ Knochel P., Singer R.D. Preparation and reactions of polyfunctional organozinc reagents in organic synthesis *Chem. Rev.* (1993) 93(6), 2117-2188.
- ¹³¹ Gundersen L.L. Langli, G.; Rise, F. Regioselective Pd-mediated coupling between 2,6-dichloropurines and organometallic reagents. *Tet. Lett.* (1995) 36(11), 1945-1948.
- ¹³² Wu J., Y Liao Y., Yang Z. Synthesis of 4-substituted coumarins via the palladium-catalyzed cross-couplings of 4-tosylcoumarins with terminal acetylenes and organozinc reagents. *J. Org. Chem.* (2001) 66(10), 3642-3645.
- ¹³³ Piber M., Jensen P.M., Rottlander M., Knochel P., New Efficient Nickel- and Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions Mediated by Tetrabutylammonium Iodide. *Org. Lett.* (1999) 1(9), 1323-1326.
- ¹³⁴ Molander Gary A.; Ellis, Noel. Organotrifluoroborates: Protected Boronic Acids That Expand the Versatility of the Suzuki Coupling Reaction. *Accounts of Chemical Research* (2007), 40(4), 275-286
- ¹³⁵ Molander G. A., Ito T. Cross-Coupling Reactions of Potassium Alkyltrifluoroborates with Aryl and 1-Alkenyl Trifluoromethanesulfonates. *Org. Lett.* (2001) 3(3), 393-396.
- ¹³⁶ Ottesen L.K., Ek F., Olsson R. Iron-Catalyzed Cross-Coupling of Imidoyl Chlorides with Grignard Reagents. *Org. Lett.* (2006) 8(9), 1771-1773.
- ¹³⁷ Carling R.W., Moore K.W., Street L.J., Wild D., Isted C., *et al.* 3-Phenyl-6-(2-pyridyl)methoxy-1,2,4-triazolo[3,4-*a*]phthalazines and Analogues : High-Affinity γ -Aminobutyric Acid-A Benzodiazepine Receptor Ligands with α 2, α 3, and α 5-Subtype Binding Selectivity over α 1. *J. Med. Chem.* (2004) 47(7), 1807-1822.

-
- ¹³⁸ Chintakunta V.K., Akella V., Vedula M.S., Mamnoon P.K., Mishra P., et al. 3-O-substituted benzyl pyridazinone derivatives as COX inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* (2002) 37(4), 339-347.
- ¹³⁹ Hamdouchi C., Sanchez-Martinez C., Gruber J., Del Prado M., Lopez J., et al. Imidazo[1,2-b]pyridazines, novel nucleus with potent and broad spectrum activity against human picornaviruses: design, synthesis, and biological evaluation. *J. Med. Chem.* (2003) 46(20), 4333-4341.
- ¹⁴⁰ Hickey D.M.B., Leeson P.D., Carter S.D., Goodyear M.D., Jones S.J., et al. Synthesis of thyroid hormone analogues. Part 2. Oxidative coupling approach to SK&F L-94901. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1988) 3097.
- ¹⁴¹ Maizlish V.E., Shaposhnikov G.P., Bykova V.V., Usol'tseva N.V. Synthesis and Properties of Copper Tetra-4-lauryloxyphthalocyanine. *Russian J. Gener. Chem.* (2001) 71(10), 1636-1639.
- ¹⁴² Pal M., Batchu V.R., Khanna S., Yeleswarapu K.R. Regioselective aluminium chloride induced heteroarylation of pyrrolo[1,2-b]pyridazines: its scope and application. *Tetrahedron* (2002) 58(50), 9933-9940.
- ¹⁴³ Campbell A.L., Pilipauskas D.R., Khanna I.K., Rhodes R.A. The mild and selective N-debenzylation of tertiary alkylamines using β -trimethylsilylethyl chloroformate. *Tet. Lett.* (1987) 28(21), 2331-2334.
- ¹⁴⁴ V.K. Gumaste and A.R.A.S. Deshmukh. One-pot preparation of dialkylcarbamoyl azides from tertiary amines using triphosgene and sodium azide. *Tetrahedron Letters*, (2004) 45(35), 6571-6573.
- ¹⁴⁵ Iyobe A., Uchida M., Kamata K., Hotei Y., Kusama H., et al.. Studies on new platelet aggregation inhibitors 1. Synthesis of 7-nitro-3,4-dihydroquinoline-2(1H)-one derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* (2001) 49(7), 822-829.
- ¹⁴⁶ Castelhana A.L., Mc Kibben B. Pyrrolopyrimidine A2b selective antagonist compounds, their synthesis and use. *PCT Int. Appl.* (2003) WO03053361.
- ¹⁴⁷ Sata N.U., Kuwahara R., Murata Y. Synthesis of all isomers of pulcherrimine, a bitter principle in the sea urchin ovary. *Tet. Lett.* (2002) 43(1), 115-118.
- ¹⁴⁸ Zhang D., Kohlman D., Krushinski J., Liang S., Ying, B.P., et al. Design, synthesis and evaluation of bicyclic benzamides as novel 5-HT1F receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2004) 14(24), 6011-6016.
- ¹⁴⁹ Van der Mey M., Hatzelmann A., Van Klink G.P.M., Van der Laan I.J., Sterk G.J., et al. Novel selective PDE4 inhibitors. 2. Synthesis and structure-activity relationships of 4-aryl-substituted cis-tetra- and cis-hexahydrophthalazinones. *J. Med. Chem.* (2001) 44(16), 2523-35.
- ¹⁵⁰ Orjales A., Mosquera R., Toledo A., Pumar M.C., Garcia N., et al. Syntheses and Binding Studies of New [(Aryl)(aryloxy)methyl]piperidine Derivatives and Related Compounds as

Potential Antidepressant Drugs with High Affinity for Serotonin (5-HT) and Norepinephrine (NE) Transporters. *J. Med. Chem.* (2003) 46(25), 2523-2535.

¹⁵¹ Sasikumar T.K., Qiang L., Wu W.L., Burnett D. A., Greenlee W.J. *et al.* Tetrahydroisoquinolines as MCH-R1 antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2006) 16(18), 4917-4921.

¹⁵² Uchiyama M., Ozawa H., Takuma K., Matsumoto Y., Yonehara M., *et al.* Regiocontrolled Intramolecular Cyclizations of Carboxylic Acids to Carbon-Carbon Triple Bonds Promoted by Acid or Base Catalyst. *Org. Lett.* (2006) 8(24), 5517-5520.

¹⁵³ Carling R.W., Madin A., Guiblin A., Russell M.G.N., Moore K.W., *et al.* 7-(1,1-Dimethylethyl)-6-(2-ethyl-2H-1,2,4-triazol-3-ylmethoxy)-3-(2-fluorophenyl)-1,2,4-triazolo[4,3-b]pyridazine: A Functionally Selective α -Aminobutyric Acid (GABAA) α 2/ α 3-Subtype Selective Agonist That Exhibits Potent Anxiolytic Activity but Is Not Sedating in Animal Models. *J. Med. Chem.* (2005) 48(23), 7089-7092.

¹⁵⁴ Monneret C., Dauzonne D., Hickman J., Pierre A., Kraus, B.L., *et al.* Process for the preparation of new 9-aminopodophyllotoxin derivatives and antitumor pharmaceutical compositions containing them. *Fr. Demande* (2005) FR2859208.

¹⁵⁵ Schmitt M., de Araujo-Junior J. X., Oumouch S., Bourguignon J. J. Use of 4-bromo pyridazine 3,6-dione for building 3-amino pyridazine libraries. *Molecular Diversity* (2006) 10(3), 429-434.

¹⁵⁶ de Araujo-Junior J.X., Schmitt M., Antheaume C., Bourguignon J.J. Synthesis of Regiospecifically Polysubstituted Pyridazinones. *Tet. Lett.*, **soumis**.

¹⁵⁷ Nakagome T., Kobayashi A., Misaki A. Synthesis of pyridazine derivatives. XII. Reaction of amino-3(2H)-pyridazinone derivatives with tosyl chloride. *Chem. Pharm. Bull.* (1966) 14(10), 1074-81.

¹⁵⁸ (a) Wu J., Wang L., Fathi R., Yang Z. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of 4-tosylcoumarin and arylboronic acids : synthesis of 4-arylcoumarin compounds. *Tet. Lett.* (2002) 43(24), 4395-4397. (b) Wu J., Zhu Q., Wang, L., Fathi R., Yang Z. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of 4-Tosyl-2(5H)-furanone with Boronic Acids: A Facile and Efficient Route to Generate 4-Substituted 2(5H)-Furanones. *J. Org. Chem.* (2003) 68(2), 670-673.

¹⁵⁹ Li X., Zhang D., Pang, H., Shen, F., Fu, H., *et al.* Synthesis of a Diverse Series of Phosphacoumarins with Biological Activity. *Org. Lett.* (2005) 7(22), 4919-4922.

¹⁶⁰ Schweizer E.E., Lee K.J. Reactions of phosphorus compounds. 40. Alkylation and acylation reactions of triphenylphosphonium 2-[(2-oxo-1,2-diphenylethylidene) hydrazono] propylide. Examination of the anomalous pyridazine and pyrazole products from the benzoylation reaction. *J. Org. Chem.* (1982) 47(14), 2768-73.

¹⁶¹ Wermuth C.G., Schlewer G., Bourguignon J.J., Maghioros G. , Bouchet M.J., *et al.* 3-Aminopyridazine derivatives with atypical antidepressant, serotonergic and dopaminergic activities. *J. Med. Chem.* (1989) 32(3), 528-537.

-
- ¹⁶² Pour la débenzylation de 2-benzylpyridazin-3(2H)-ones avec AlCl₃ : (a) Kaji K., Nagashima H., Oda H. *Chem. Pharm. Bull.* (1984) 32, 1423-1432. (b) Haider N., Heinisch G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1986) 169-172. (c) Haider N., Heinisch G. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* (1988) 401-405. (d) Haider N., Heinisch G., Volf I. *Heterocycles* (1989) 29, 1309-1316. (e) Zara-Kaczian E., Matyus P. *Heterocycles* (1993) 36, 519-528.
- ¹⁶³ Tapolcsányi P., Maes B.U.W., Monsieurs K., Lemièrre G.L.F., Riedl Z., et al. Synthesis of the dibenzo[f,h]phthalazine and dibenzo[f,h]cinnoline skeleton via a 'Suzuki-Pd-catalyzed intramolecular arylation' and a 'Suzuki-Pschorr' approach. *Tetrahedron* (2003) 59(31), 5919-5926.
- ¹⁶⁴ Collaborations : Pr. J. Wouters, Université de Namur (Belgique).
- ¹⁶⁵ Gatta F., Piazza D., Del Giudice M. R., Massotti M. Derivatives of 2,3-benzodiazepine. *Farmaco, Edizione Scientifica* (1985), 40(12), 942-955.
- ¹⁶⁶ De Sarro A., De Sarro G., Gitto R., Grasso S., Micale N., et al. Synthesis and anticonvulsant activity of new 2,3-benzodiazepines as AMPA receptor antagonists. *Farmaco* (1999) 54(3), 178-187.
- ¹⁶⁷ Bevacqua F., Basso A., Gitto R., Bradley M., Chimirri A. Solid-phase Friedel-Crafts acylation on polystyrene resins - Synthesis of antiepileptic 1-aryl-3,5-dihydro-4H-2,3-benzodiazepin-4-ones. *Tet. Lett.* (2001) 42(43), 7683-7685.
- ¹⁶⁸ Elger B., Huth A., Neuhaus R., Ottow E., Schneider H., et al. Novel α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole Propionate (AMPA) Receptor Antagonists of 2,3-Benzodiazepine Type: Chemical Synthesis, in Vitro Characterization, and in Vivo Prevention of Acute Neurodegeneration. *J. Med. Chem.* (2005) 48(14), 4618-4627.
- ¹⁶⁹ Whitmore W.F., Cooney R.C. Preparation of homophthalyl cyclic hydrazide and 4-aminohomophthalyl cyclic hydrazide. *J. Am. Chem. Soc.* (1944) 66(8), 1237-1240.
- ¹⁷⁰ Rosen G., Popp F.D. Diazepines. V. Reaction of homophthalic anhydride with hydrazines. *J. Het. Chem.* (1969) 6(1), 9-12.
- ¹⁷¹ Flammang M. Thèse Université Louis Pasteur (1974).
- ¹⁷² Hutchings M.G., Chippendale A.M., Ferguson I. The regio- and stereochemistry of the alkoxide-induced ring-opening of methoxymethylidene-substituted homophthalic anhydride. *Tetrahedron* (1988) 44(12), 3727-3734.
- ¹⁷³ Spangler R.J., Kim J.H., Cava M.P. Pyrolytic and photochemical Wolff rearrangement of diazoindanones. Synthesis of 2-carboalkoxybenzocyclobutenones *J. Org. Chem.* (1977) 42(10), 1697-1703.
- ¹⁷⁴ Loeser R., Schilling K., Dimmig E., Guetschow M. Interaction of Papain-like Cysteine Proteases with Dipeptide-Derived Nitriles. *J. Med. Chem.* (2005) 48(24), 7688-7707.

-
- ¹⁷⁵ Borza I., Kolok S., Gere A., Nagy J., Fodor L. et al. Benzimidazole-2-carboxamides as novel NR2B selective NMDA receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2006) 16(17), 4638-4640.
- ¹⁷⁶ Hibino S., Sugino E., Kuwada T., Ogura N., Shintani Y., et al. Synthesis of mutagenic amino-a-carbolines AaC and MeAaC by the thermal electrocyclic reaction of 2-azahexa-1,3,5-triene intermediates. *Chem. Pharm. Bull.* (1991) 39(1), 79-80.
- ¹⁷⁷ Zhang H., Padwa A. An Efficient Synthesis of (±)-Lycoricidine Featuring a Stille-IMDAF Cycloaddition Cascade. *Org. Lett.* (2006) 8(2), 247-250.
- ¹⁷⁸ Knowles H.S., Parsons A.F., Pettifer R.M., Rickling S. Desulfonylation of Amides using Tributyltin Hydride, Samarium Diiodide or Zinc/Titanium Tetrachloride. A Comparison of Methods. *Tetrahedron* (2000) 56 (7), 979-98.
- ¹⁷⁹ Gowravaram S., Sunny A., Subba Reddy B.V.; Yadav J.S. Microwave Assisted Selective Cleavage of Sulfonates and Sulfonamides in Dry Media. *Synlett* (1999) 11, 1745-1746.
- ¹⁸⁰ Nyasse B., Grehn L., Ragnarsson U. Mild, efficient cleavage of arenesulfonamides by magnesium reduction. *Chem. Comm.* (1997) 1017-1018.
- ¹⁸¹ Alonso E., Ramón D.J., Yus M. Reductive deprotection of allyl, benzyl and sulfonyl substituted alcohols, amines and amides using a naphthalene-catalysed lithiation *Tetrahedron* (1997) 53(42), 14355-14368.
- ¹⁸² Tohru F., Mui C., Chung-Kuang J., Yuko H. Toshiyuki K. 2,4-Dinitrobenzenesulfonamides : A simple and practical method for the preparation of a variety of secondary amines and diamines. *Tet. Lett.* (1997) 38(33) 5831-5834.
- ¹⁸³ Raboisson P., Baurand A., Cazenave J.P., Gachet C., Schultz D., et al. A General Approach toward the Synthesis of C-Nucleoside Pyrazolo[1,5-a]-1,3,5-triazines and Their 3',5'-Bisphosphate C-Nucleotide Analogues as the First Reported in Vivo Stable P2Y₁-Receptor Antagonists. *J. Org. Chem.* (2002) 67(23), 8063-8071.
- ¹⁸⁴ Nadin A., Lopez J.M.S., Owens A.P., Howells D. M., Talbot A.C., et al. New Synthesis of 1,3-Dihydro-1,4-benzodiazepin-2(2H)-ones and 3-Amino-1,3-dihydro-1,4-benzodiazepin-2(2H)-ones: Pd-Catalyzed Cross-Coupling of Imidoyl Chlorides with Organoboronic Acids. *J. Org. Chem.* (2003) 68, 2844-2852.
- ¹⁸⁵ Dake G.R., Fenster M.D.B., Hurley P.B., Patrick B.O. Synthesis of Functionalized 1-Azaspirocyclic Cyclopentanones Using Bronsted Acid or N-Bromosuccinimide Promoted Ring Expansions. *J. Org. Chem.* (2004) 69(17), 5668-5675.
- ¹⁸⁶ de Filippis A., Gomez Pardo D., Cossy J. Palladium-catalyzed α -arylation of N-protected 2-piperidinones. *Tetrahedron* (2004) 60(43) 9757-9767.
- ¹⁸⁷ Flammang M., Wermuth C.G. Systèmes benzodiazépiniques-2,3. III. Oxo-1 dihydro-2,5 (1H) benzodiazépines-2,3 : synthèse et étude pharmacologique. *Eur. J. Med. Chem.* (1977) 12(2), 121-124.

-
- ¹⁸⁸ Cary J.M. Moore J.S. Hydrogen Bond-Stabilized Helix Formation of a *m*-Phenylene Ethynylene Oligomer. *Org. Lett.* (2002) 4(26), 4663-4666.
- ¹⁸⁹ Chaignon F., Falkenstroem M., Karlsson S., Blart E., Odobel F., *et al.* Very large acceleration of the photoinduced electron transfer in a Ru(bpy)₃-naphthalene bisimide dyad bridged on the naphthyl core. *Chem. Comm.* (2007) 1, 64-66.
- ¹⁹⁰ Spivey A.C., McKendrick J., Srikanan R., Helm B. A. Solid-Phase Synthesis of an A-B Loop Mimetic of the Cε3 Domain of Human IgE: Macrocyclization by Sonogashira Coupling *J. Org. Chem.* (2003) 68(5), 1843-1851.
- ¹⁹¹ Yao T., Larock R.C. Synthesis of Isocoumarins and α-Pyrones via Electrophilic Cyclization. *J. Org. Chem.* (2003) 68(15), 5936-5942.
- ¹⁹² Yue D., Della Ca N., Larock R.C. Syntheses of Isochromenes and Naphthalenes by Electrophilic Cyclization of Acetylenic Arenecarboxaldehydes. *J. Org. Chem.* (2006) 71(9), 3381-3388.
- ¹⁹³ Zheng L., Xiang J., Dang Q., Guo S., Bai X. Design and Synthesis of a Tetracyclic Pyrimidine-Fused Benzodiazepine Library. *J. Comb. Chem.* (2006) 8(3), 381-387.
- ¹⁹⁴ De Paulis T.; Betts, C. .; Smith, H. E. Synthesis of clozapine analogs and their affinity for clozapine and spiroperidol binding sites in rat brain. *J. Med. Chem.* (1981) 24(9), 1021-1026.
- ¹⁹⁵ Rossi, R.; Bellina, F.; Ciucci, D.; Carpita, A.; Fanelli, C. A new synthesis of fungicidal methyl (E)-3-methoxypropenoates. *Tetrahedron* (1998), 54, 7595-7614.
- ¹⁹⁶ Littke, A.F.; Dai, C.Y.; Fu, G.C. Versatile catalysts for the Suzuki cross-coupling of arylboronic acids with aryl and vinyl halides and triflates under mild conditions. *J. Am. Chem. Soc.* (2000) 122(17), 4020-4028.
- ¹⁹⁷ Rupard J.H., De Paulis T., Janowsky A., Smith H.E. Sterically hindered 5,11-dicarbo analogs of clozapine as potential chiral antipsychotic agents *J. Med. Chem.* (1989) 32(10), 2261-2268.
- ¹⁹⁸ Guery S., Parrot I., Rival Y., Wermuth, C.G. Synthesis of 4-aryl-1-(4-methylpiperazin-1-yl)phthalazines by Suzuki-type cross-coupling reaction. *Synthesis* (2001) 5, 699-701.
- ¹⁹⁹ Parrot I., Ritter G., Wermuth C.G., Hibert, M. Efficient palladium-catalyzed amination and alkylation of 3-iodo-6-arylpyridazines. *Synlett* (2002) 7, 1123-1127.
- ²⁰⁰ Chayer S., Essassi E.M., Bourguignon J.J. (3-Pyridazinamin-3-yl) α-amino acids: a facilitated method of preparation of phenylalanine and proline representatives. *Tet. Lett.* (1998) 39(8), 841-844.
- ²⁰¹ McCluskey A., Keller P.A., Morgan J., Garner J., Synthesis, molecular modeling and biological activity of methyl and thiomethyl substituted pyrimidines as corticotropin releasing hormone type 1 antagonists. *Org. & Biomolec. Chem.* (2003) 1(19), 3353-3361.

-
- ²⁰² Charette A.B., Grenon M. "Mild method for the synthesis of amidines by the electrophilic activation of amides." *Tet. Lett.* (2002) 41(11), 1677-1680.
- ²⁰³ Schmidt A., Shilabin A.G, Namyslo J.C, Nieger M., Hemmen S.. Pyrimidine-Annulated Pyrrolobenzodiazepines. A New Ring System Related to *Aspergillus* Alkaloids. *Eur. J. Org. Chem.* (2005) 9, 1781-1789.
- ²⁰⁴ Csuzdi E., Migléczi K., Hazai I., Berzsényi P., Pallagi I., *et al.* Potential metabolites of a condensed 2,3-benzodiazepine derivative. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* (2005) 15(21), 4662-4665.
- ²⁰⁵ Fryer R.I., Earley J.V., Field G.F., Zally W., Sternbach L.H. Synthesis of amidines from cyclic amides. *J. Org. Chem.* (1969) 34(4), 1143-1145.
- ²⁰⁶ Chakrabarti J.K., Horsman L., Hotten T.M., Pullar I.A., Tupper D.E., *et al.* Heteroarenebenzodiazepines. 3. 4-Piperazinyl-10H-thieno[2,3-b][1,5]benzodiazepines as potential neuroleptics. *J. Med. Chem.* (1980) 23(8), 878-884.
- ²⁰⁷ Liégeois J.F.F., Bruhwylér J., Damas J., Nguyen T.P., Chleide E.M.G., *et al.* New pyridobenzodiazepine derivatives as potential antipsychotics : synthesis and neurochemical study. *J. Med. Chem.* (1993) 36(15), 2107-2114.
- ²⁰⁸ Hussener T., Hübner H., Gmeiner P., Troschütz R. Clozapine derived 2,3-dihydro-1H-1,4- and 1,5-benzodiazepines with D4 receptor selectivity: synthesis and biological testing. *Bioorg. Med. Chem.* (2004) 12, 2625-2637.
- ²⁰⁹ Kissouko D.A., Guzei I.A., Gellman S.H., Stahl, S.S. Titanium(IV)-Mediated Conversion of Carboxamides to Amidines and Implications for Catalytic Transamidation *Organometallics.* (2005) 24(22), 5208-5210.
- ²¹⁰ Nagatoshi N., Mitsuo K., Yoshiki O. Facile Synthesis of 1,6-Naphthyridin-5(6H)-ones. *Synthesis* (1991) 1, 41-42.
- ²¹¹ Sakamoto T., An-Naka M., Kondo Y., Araki T., Yamanaka H. Condensed heteroaromatic rings systems XV. Synthesis of pyranopyridinones from halopyridinecarbonitriles. *Chem. Pharm. Bull.* (1988) 36(5), 1890-1894.
- ²¹² Epszajn J., Plotka M.W., Scianowski J. Application of Organolithium and Related Reagents in Synthesis. Part 11¹. Metallation of 2-Methyl- and 4-Methylnicotinic Acids. A Useful Method for Preparation of AZA-Isocoumarins. *Synthetic Communications* (1992) 22(9), 1239-247.
- ²¹³ Bailey S.; Barber C. G.; Glossop P. A.; Middleton D.S. Nicotinamide derivative useful as PDE4 inhibitors. *PCT Int. Appl.* (2005) WO2005009966.
- ²¹⁴ Woon E.C.Y., Dhami A., Mahon M.F., Threadgill M.D. 5-Nitroisocoumarins from tandem Castro–Stephens coupling 6-endo-dig cyclisation of 2-iodo-3-nitrobenzoic acid and aryethynes and ring-closure of methyl 2-alkynyl-3-nitrobenzoates with electrophiles. *Tetrahedron* (2006) 62(20), 4829-4837.

-
- ²¹⁵ Le Bras G., Provot O., Peyrat J.F., Alami M., Brion J.D. Rapid microwave assisted hydration of internal arylalkynes in the presence of PTSA: an efficient regioselective access to carbonyl compounds. *Tet. Lett.* (2006) 47(31), 5497-5501.
- ²¹⁶ Tovar J.D., Swager T.M. Pyrylium Salts via Electrophilic Cyclization: Applications for Novel 3-Arylisoquinoline Syntheses. *J. Org. Chem.* (1999) 64(17), 6499-6504.
- ²¹⁷ Hashmi A.S.K., Hutchings G.J. Gold Catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* (2006) 45(47), 7896-7936.
- ²¹⁸ Fürstner A., Davies P.W.. Catalytic Carbophilic Activation: Catalysis by Platinum and Gold π Acids. *Angew. Chem. Int. Ed.* (2007) 46(19), 3410-3449.
- ²¹⁹ Hashmi A.S.K. Gold-Catalyzed Organic Reactions. *Chem. Rev.* (2007), 107(7), 3180-3211.
- ²²⁰ Porcel S., Echavarren A.M.. Intramolecular Carbostannylation of Alkynes Catalyzed by Silver(I) Species. *Angew. Chem. Inter. Ed.* (2007), 46(15), 2672-2676.
- ²²¹ Nandi B., Kundu N.G. Heteroannulation through Copper Catalysis: A Novel Cyclization Leading to a Highly Regio- and Stereoselective Synthesis of 2-Substituted Benzothiazolines. *Org. Lett.* (2000) 2(3), 235-238.
- ²²² Yanagisawa A. Lewis Acids in Organic Synthesis. Yamamoto, H. Ed.; *Wiley-VCH : Weinheim, Germany*, (2000) 2, 575.
- ²²³ Genin E., Toullec P.Y., Antoniotti S., Brancour C., Genet J.P. Michelet V. Room Temperature Au(I)-Catalyzed *exo*-Selective Cycloisomerization of Acetylenic Acids: An Entry to Functionalized γ -Lactones. *J. Am. Chem. Soc.* (2006) 128(10), 3112-3113.
- ²²⁴ Godet T., Vaxelaire C., Michel C., Milet A., Belmont P. Silver versus Gold Catalysis in Tandem Reactions of Carbonyl Functions onto Alkynes: A Versatile Access to Furoquinoline and Pyranoquinoline Core. *Chem. Eur. J.* (2007) 13(19), 5632-5641.
- ²²⁵ Zhu J., Germain A.R., Porco J.A. Synthesis of Azaphilones and Related Molecules by Employing Cycloisomerization of *o*-Alkynylbenzaldehydes. *Angew. Chem. Int. Ed.* (2004) 43(10), 1239-1243.
- ²²⁶ Sibi M.P., Cook G.R. Lewis Acids in Organic Synthesis. Yamamoto, H. Ed.; *Wiley-VCH : Weinheim, Germany*, (2000) 2, 543.
- ²²⁷ Johns B.A., Gudmundsson K.S., Turner E.M., Allen S.H., Samano V.A., *et al.* Pyrazolopyridine antiherpetics: SAR of C2' and C7 amine substituents. *Bioorg. Med. Chem.* (2005) 13(7), 2397-2411.
- ²²⁸ Liebeskind L.S., Srogl J. Heteroaromatic Thioether-Boronic Acid Cross-Coupling under Neutral Reaction Conditions *Org. Lett.* (2002) 4(6), 979-981.
- ²²⁹ Egi, M., Liebeskind L.S. Heteroaromatic Thioether-Organostannane Cross-Coupling *Org. Lett.* (2003) 5(6) 801-802.

-
- ²³⁰ Susvilo I., Palskyte R., Tumkevicius S., Brukstus A. Novel method for synthesis of pyrido[4,3-*d*]pyrimidines. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* (2005) 41(2) 268-269.
- ²³¹ Harrison, J.; Moody, C.; The Horner–Wadsworth–Emmons reaction in the synthesis of macrocyclic peptides: the Trp-His-Gly-Arg derived macrocycle of moroidin. *Tetrahedron Lett.*, 2003, 44(28), 5189-5191.
- ²³² Showalter H.D.H., Sercel A.D., Leja B.M., Wolfangel C.D., Ambroso L.A. Tyrosine Kinase Inhibitors. 6. Structure-Activity Relationships among *N*- and 3-Substituted 2,2'-Diselenobis(1*H*-indoles) for Inhibition of Protein Tyrosine Kinases and Comparative *in Vitro* and *in Vivo* Studies against Selected Sulfur Congeners. *J. Med. Chem.*, (1997) 40(4), 413-426.
- ²³³ Kraus G., Taschner, M. Model studies for the synthesis of quassinoids. 1. Construction of the BCE ring system. *J. Org. Chem.* (1980) 45(6), 1175-1176.
- ²³⁴ Castanet A.S., Colobert F., Schlama T. Suzuki-Miyaura Coupling of Alkynylboronic Esters Generated in Situ from Acetylenic Derivatives. *Org. Lett.* (2000) 2(23), 3559-3561.
- ²³⁵ Colobert F., Castanet A.S., Abillard O. Palladium-Catalyzed Suzuki Coupling with Terminal Alkynes - Application to the Synthesis of 2,3-Disubstituted Benzo[*b*]furans. *Eur. J. Org. Chem.* (2005) 15, 3334–3341.
- ²³⁶ Gelman D., Buchwald S.L. Efficient Palladium-Catalyzed Coupling of Aryl Chlorides and Tosylates with Terminal Alkynes: Use of a Copper Cocatalyst Inhibits the Reaction. *Angew. Chem. Int. Ed.* (2003) 42(48) 5993-5996.
- ²³⁷ Yang C., Nolan S.P. Efficient Sonogashira Reactions of Aryl Bromides with Alkynylsilanes Catalyzed by a Palladium/Imidazolium Salt System. *Organometallics* (2002) 21(6), 1020-1022.
- ²³⁸ Kaizerman, J.A., Gross M.I., Ge Y., White S., Hu W., *et al.* DNA Binding Ligands Targeting Drug-Resistant Bacteria : Structure, Activity, and Pharmacology. *J. Med. Chem.* (2003) 46(18), 3914-3929.
- ²³⁹ Enguehard C., Renou J.L., Collot V., Hervet M., Rault S. *et al.* Reactivity of 3-Iodoimidazo[1,2-*a*]pyridines Using a Suzuki-Type Cross-Coupling Reaction *J. Org. Chem.* (2000) 65(20), 6572-6575.
- ²⁴⁰ Chavignon O., Teulade J.C., Madesclaire M., Gueiffier A., Blache Y., *et al.* Pyrrolization Processes of Vinyl Substituted Imidazol[1,2-*a*]pyridine, Pyrimidine and 1,8-Naphthyridine. *J. Het. Chem.* (1992), 29(4), 691-697.
- ²⁴¹ Li S., Dieter R.K. Coupling Reactions of α -(*N*-Carbamoyl)alkylcuprates with Enol Triflates Derived from Cyclic β -Keto Esters: A Facile Approach to γ -Carbamoyl- α,β -enoates. *J. Org. Chem.* (2003) 68(3), 969-973.
- ²⁴² Li H., Petersen J.L., Wang K.K. Cascade Cyclizations via *N*,4-Didehydro-2-(phenylamino)pyridine Biradicals/Zwitterions Generated from Enyne-Carbodiimides. *J. Org. Chem.* (2003) 68(14), 5512-5518.

