Thèse

PRÉSENTÉE À L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

> PAR JOEL BOEGLIN

DIVERSIFICATION DU CHÂSSIS 1,3,5-TRIAZÉPANE-2,6-DIONE PAR SYNTHÈSE COMBINATOIRE_APPLICATION À LA

RECHERCHE D'INHIBITEURS DE PHOSPHOLIPASES A2 SÉCRÉTÉES

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 10 JUIN 2010 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN :

DIRECTEUR DE THÈSE : DR. GILLES GUICHARD INSTITUT EUROPÉEN DE CHIMIE ET BIOLOGIE, BORDEAUX, FRANCE

RAPPORTEUR : DR. JEAN-ALAIN FEHRENTZ INSTITUT DES BIOMOLÉCULES MAX MOUSSERON, MONTPELLIER, FRANCE

RAPPORTEUR : PROF. PHILIPPE KAROYAN LABORATOIRE DES BIOMOLÉCULES, PARIS, FRANCE

EXAMINATEUR : DR. ANDRÉ MANN LABORATOIRE D'INNOVATION THÉRAPEUTIQUE, ILLKIRCH, FRANCE

MEMBRE INVITÉ : DR. CLAUDE DIDIERJEAN LABORATOIRE DE CRISTALLOGRAPHIE, RÉSONANCE MAGNÉTIQUE ET MODELISATION, VANDOEUVRE LES NANCY, FRANCE

Thèse

PRÉSENTÉE À L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

> PAR JOEL BOEGLIN

DIVERSIFICATION DU CHÂSSIS 1,3,5-TRIAZÉPANE-2,6-DIONE PAR SYNTHÈSE COMBINATOIRE_APPLICATION À LA

RECHERCHE D'INHIBITEURS DE PHOSPHOLIPASES A2 SÉCRÉTÉES

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 10 JUIN 2010 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN :

DIRECTEUR DE THÈSE : DR. GILLES GUICHARD INSTITUT EUROPÉEN DE CHIMIE ET BIOLOGIE, BORDEAUX, FRANCE

RAPPORTEUR : DR. JEAN-ALAIN FEHRENTZ INSTITUT DES BIOMOLÉCULES MAX MOUSSERON, MONTPELLIER, FRANCE

RAPPORTEUR : PROF. PHILIPPE KAROYAN LABORATOIRE DES BIOMOLÉCULES, PARIS, FRANCE

EXAMINATEUR : DR. ANDRÉ MANN LABORATOIRE D'INNOVATION THÉRAPEUTIQUE, ILLKIRCH, FRANCE

MEMBRE INVITÉ : DR. CLAUDE DIDIERJEAN LABORATOIRE DE CRISTALLOGRAPHIE, RÉSONANCE MAGNÉTIQUE ET MODELISATION, VANDOEUVRE LES NANCY, FRANCE

Remerciements

Je remercie le Dr. Sylviane Müller pour son accueil dans l'unité d'immunologie et chimie thérapeutique.

Je remercie le Dr. Gilles Guichard qui a été mon directeur de thèse durant ces 4 années, je le remercie d'une part pour son encadrement et pour son soutien quotidien à surpasser les difficultés de la recherche, et d'autre part, pour la liberté scientifique qu'il m'a laissée, que j'ai beaucoup appréciée et qui était formatrice et nécessaire à mon épanouissement.

Le Dr. Jean-Alain Fehrentz, le Prof. Philippe Karoyan, le Dr. André Mann, et le Dr Claude Didierjean ont accepté d'évaluer ma thèse de doctorat. Je suis sincèrement reconnaissant du temps qu'ils y ont consacré et de leur patience.

J'adresse également de sincères remerciements au Dr. Robert Zimmer, directeur de la société Immupharma, pour le soutien apporté à mon projet de thèse et pour le co-financement ANRT qui m'a été attribué pendant 4 ans.

Ces travaux de recherche ont pu être réalisés grâce à l'implication de collaborateurs extérieurs : le Dr. Didier Rognan (UMR 7081, Illkirch) a permis d'identifier la sPLA2 comme cible des triazépanesdiones et a proposé des structures potentiellement actives, le Dr. Claude Didierjean (UMR 7036, Vandoeuvre) a analysé des triazépanediones cristallisées par diffraction des RX et le Dr. Gérard Lambeau (UMR 6097, Valbonne) a testé l'activité des molécules de notre chimiothèque sur la sPLA2, le Dr. Yves Bourne (UMR 6098, Marseille) a co-cristalisé la sPLA2 et un des inhibiteurs puis résolu la structure. Je les remercie très chaleureusement pour leurs précieuses contributions et pour les connaissances que leurs travaux m'ont permis d'acquérir.

Je tiens à remercier tout particulièrement le Dr. Alberto Bianco, le Dr. Piero Geotti-bianchini, le Dr. Cristian Samori, Marie-Charlotte Lechner, le Dr. Nagendar Pandem, le Dr. Olivier Chaloin et le Dr. Lucile Fischer qui ont largement contribué à la progression de ce travail, en m'offrant leur aide par le partage de leurs connaissances et quelques réflexions communes, ce qui m'a permis de venir à bout de certains problèmes.

Je tiens à remercier l'ensemble des collègues que j'ai côtoyés chaque jour, en particulier Aude, Giorgia, Karen, Cédric, Nathalie, Gersande, Wei qui étaient déjà au laboratoire à mon arrivée. Ils ont été très sympathiques et ont facilité mon intégration dans l'équipe.

Je remercie Paul qui est arrivé, et a quitté le laboratoire les mêmes années que moi : c'était un plaisir de faire ta connaissance et de travailler ensemble pour Immupharma.

I would also like to thank Shouping for all the laughs and friendly discussions.

Je remercie Cecilia pour sa sympathie et la bonne organisation du laboratoire.

C'était un réel plaisir de travailler avec Christophe, « le martiniquais de la Guadeloupe » : j'ai bien aimé nos discussions et les matchs de football après le travail.

Je voudrais souhaiter bonne chance à Emmanuelle Thinon qui effectue actuellement sa thèse dans un laboratoire de l'Imperial College of London et avec qui j'ai partagé ma hotte pendant le master qu'elle a effectué au laboratoire. I want to thank Prabhpreet: It was a pleasure to meet you and to work with you. I'll remember our discussions during the week-ends in the lab and our football games.

C'était pour moi un honneur d'avoir travaillé avec Lucille, d'une part elle m'a souvent aidé et elle a largement contribué au bon fonctionnement du laboratoire. Mais surtout, on parle du capitaine historique de l'ICTeam, alors respect !

Je remercie Susanna, Vanessa et Akkiz : vous êtes très sympathiques, avec vous, j'ai bien rigolé pendant ces quelques années.

Grazie Enrica per le nostre chiachierate, è stato proprio un piacere conoscerti. In bocca al lupo per la fine del dottorato. Sei bravissima.

Je remercie Marie-Charlotte et Claire, la DJ du labo discothèque, avec qui j'ai bien rigolé et qui ont largement contribué à dédramatiser certaines journées plus difficiles que d'autres, nous nous sommes bien entraidés pendant ces quelques années, une vraie équipe de choc, encore merci les amies.

Je remercie Emmanuelle Boeglin pour tout son trav....non, je la remercie juste parce que c'est ma sœur.

Vorrei ringraziare Piero per tutte le chiachierate, le risate : E stato un piacere andare con tè al congresso dei peptidi, tante avventure là !!!! Sai, me la ricorderò sempre quando giocando al calcio nella stessa squadra, hai provato di prendermi il pallone. Non mi è mai più successo una cosa del genere...che risate... Ma mi ricordo soppratutto le tue conoscenze in chimica con cui mi hai aiutato tanto. Complimenti sei un grande !!! Pecato che non ho potuto venire allo spettacolo che hai offerto durante la difesa della tua tesi !!!!»

Je remercie Pierre, pour nos discussions sympathiques, ton humour et ton incroyable décontraction.

Ringrazio Cristian ancora una volta : sei molto bravo sia come chimico che come persona. Grazie per i tuoi consigli con cui hai portato un contributo importante al mio lavoro. Mi è piaciuto anche quando rifacevamo il mondo del calcio e della politica. Grazie

Thanks Nagendar: It was so nice to work with you. You're so sympathetic and it was funny to joke with you. Thank you for our discussions; thanks to you I could improve my knowledge of English.

I would like to thank Prof. Bartoli for teaching me the laboratory work during the training period I did in 2004 in his laboratory in Bologna. It also enabled me to get my first publication and I am grateful.

Je remercie tous mes amis : Pascal (je me souviendrais toujours des nuits blanches passées à étudier ensemble et comme nous réussissions à nous motiver mutuellement, avec David), Malou, Olivier (un ami que j'aime bien charrier, un ami réunionnais qui propose du Porto au lieu de proposer du Rhum), Stéphanie, Zelda et Samuel (Samuel.... Samuel...., je crois qu'on pourrait écrire un livre avec tout ce qu'on a fait, toutes les rigolades! Merci pour toutes les soirées durant lesquelles j'ai pu me changer un peu les idées, surtout les derniers mois. Je remercie également toute ta famille, pour les soirées que nous passons ensemble et qui m'ont également permis de me décontracter).

Un grand merci à toute la famille Granieri/Briola : Merci pour votre soutien.

Je remercie mon père et ma mère qui m'ont fait confiance en me permettant d'étudier à Strasbourg : merci pour votre soutien.

Merci à toute ma famille, mes grands-parents paternels qui m'ont aidé et soutenu, la nonna dont le caractère fort est un modèle pour moi ; mes oncles, tantes, cousins, cousines, mes filleuls Matthias et Marina.

Je remercie mes amis Luna, Bella, Romeo et e Zaff'.

Merci Lucia, tu m'as aidé, soutenu et motivé pour accéder à ce niveau d'étude. Je te dois beaucoup. Merci.

"Heterocyclic chemistry is a key to the understanding of life processes and to our efforts to improve the quality of life for humankind"

Prof. Alan R. Katritzky

"Un allenatore(formatore) consegna uno spartito ai giocatori che devono poi interpretarlo nel miglior modo possibile. La consegna dello spartito non significa tuttavia ammazzare la creatività del gruppo, ma anzi il bravo allenatore (formatore) dovrà esaltare le qualità dei singoli e spingerli ad esprimersi con libertà, pur rispettando le regole generali del gioco"

Arrigo Sacchi

Dedicato al Prof.Giuseppe Bartoli

SOMMAIRE

Abréviations	v
Résumé	XIII
INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE : STRUCTURES CYCLIQUES DE PETITE ET MOYENNE TAILLE DÉRIVÉES DE DIPEPTIDES	
Chapitre I. Préambule	1
I.A. Les peptides à visée thérapeutique	1
I.B. Avantages de la cyclisation des peptides	1
I.C. La chimie hétérocyclique dans l'industrie pharmaceutique	1
Chapitre II. Exploration de la diversité moléculaire à partir	
d'hétérocycles dérivés de dipeptides mimes de coude β interne	3
II.A. Les coudes β	3
II.B. Les mimes de coude β	3
II.B.1 Les structures cycliques de taille moyenne	5
II.B.1.a Mimes de coude β proposés par Ellman.	5
II.B.1.a.i. Synthèse	6
II.B.1.a.ii. Évaluation biologique	7
II.B.1.b. Mimes de coude β proposés par Ellman 2éme génération	8
II.B.1.b.i. Synthèse	8
II.B.1.b.ii évaluation biologique	9
II.B.1.c. Les ($\alpha_2\beta$)-tripeptides proposés par Liskamp	11
II.B.1.c.i. Synthèse	11
II.B.1.d. Dipeptidosulfonamides cycliques proposés par Liskamp	14
II.B.1.d.i. Synthèse	14
II.B.1.d.ii. Evaluation de l'activité biologique	16
II.B.1.e. Mimes de coude β proposés par Kihlberg	16
II.B.1.e.i. Synthèse	17
II.B.1.e.ii. Evaluation biologique	20
II.B.1.f. Mimes de coude β développés par Meldal	21
II.B.1.f.i. Synthèse	21
II.B.1.f.ii. Evaluation biologique	23
II.B.2. Les structures bicycliques	24
II.B.2.a. Tetrahydro-2 <i>H</i> -pyrazino{1,2-a}pyrimidine-4,7-diones	
comme mimes de coude β proposés par Kahn	24
II.B.2.a.i. Synthèse	24
II.B.2.a.ii. Applications biologiques	27
II.B.2.b. Les hexahydro-pyrazino[2,1-c][1,2,4]triazine-4,7-diones	
comme mimes de coude β proposés par Kahn	28
II.B.2.b.i. Synthèse	28
II.B.2.b.ii. Activités biologiques	29
Ι	

	II.B.2.c. Tetrahydro-imidazo[1,2-a]pyrazine-3,6-diones	
	proposés par Kahn	30
	II.B.2.c.i. Synthèse	30
	II.B.2.c.ii. Evaluation biologique	31
	II.B.2.d. Dicétopipérazines bicycliques proposées par Golebiowski	31
	II.B.2.d.i. Synthèse de la première génération	32
	II.B.2.d.ii. Synthèse de la deuxième génération	32
	II.B.2.e. Dicétopipérazine proposée par Kahn et Kim	34
Chapitre III.	Exploration de la diversité moléculaire à partir	
d'hétérocycl	es de petite taille (≤7 membres) dérivés de dipeptides	36
III.A.	Les 2,5-dicétopipérazines	37
III.B.	Les benzodiazépines	37
	III.B.1. Les 1,4-benzodiazépin-2,5-diones	38
	III.B.1.a. Synthèse	38
	III.B.2. Les Pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazépine-5,11-diones	44
	III.B.3. Les 1,4-benzodiazépine-5-ones	46
III.C.	Les 1,4-diazépan-2,5-diones	47
	III.C.1. Synthèse	47
	III.C.2. Applications biologiques	53
III.D.	Hétérocycles dérivés de dipeptides réduits en polyamines	54
	III.D.1. Guanidines bicycliques	54
	III.D.1.a. Synthèse du châssis bicyclique	55
	III.D.1.b. Synthèse des guanidines bicycliques avec	
	diversification post-cyclisation en R ²	56
	III.D.1.c. Application biologique	57
	III.D.2. 4,5,8,9-tetrahydro-3 <i>H</i> -imidazo[1,2-a][1,3,5]triazepin-2(7 <i>H</i>)-thiones	
	3,4,7-trisubstituées et N-alkyl-4,5,7,8-tetrahydro-3 <i>H-</i> imidazo[1,2-a]	
	[1,3,5]triazepin-2-amines	60
	III.D.2.a. Synthèse des 4,5,8,9-tetrahydro-3 <i>H</i> -imidazo[1,2-a]	
	[1,3,5]triazepin-2(7H)-thiones 3,4,7-trisubstituées	60
	III.D.2.b. Synthèse de N-alkyl-4,5,7,8-tetrahydro-3 <i>H-</i> imidazo	
	[1,2-a][1,3,5]triazepin-2-amines	61
III.E.	Le châssis [3,5,7]-1 <i>H</i> -imidazo[1,5- <i>a</i>]imidazol-2(3 <i>H</i>)-ones	62
	III.E.1. Synthèse	62
III.F.	Systèmes polycycliques contenant le squelette oxopipérazine.	63
	III.F. 1. Le squelette 1-acyl-3-oxopipérazine	63
	III.F.1.a. Synthèse	64
	III.F.2. Le châssis 1,4-diaza-7-oxabicyclo[4.3.0]-2,8-nonanediones.	67
	III.F.2.a. Synthèse	67
Chapitre IV.	Conclusion	69
Bibliographie	2	70

RÉSULTATS

Chapitre I. Le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione	78
I.A. Caractéristiques du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione	78
I.B. Synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones	79
Chapitre II. Extension de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones	
par diversification en R ³ et par la synthèse de deux isomères de chaîne	
en R ² du composé IB6d	82
II.A. Extension de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones	
par diversification en R ³	82
II.A.1. Méthodes de synthèse de glycines N-alkylées	
appliquées à la construction des peptoïdes	82
II.A.2. Elaboration d'une collection de <i>N</i> (R ³)glycinates de benzyle	83
II.A.3. Synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones diversifiées en R ³	84
II.B. Enrichissement de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones	
avec des isomères de chaîne en R ²	86
II.C. Diversité de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones	87
Chapitre III. Diversifications Post-cyclisation	88
III.A. Alkylation des azotes du résidu urée	88
III.B. Acylation	90
III.B.1. Mise au point des conditions d'acylation	92
III.B.2. Evaluation de l'efficacité des conditions d'acylation	
à travers 4 exemples	93
III.C. Thionation	95
III.C.1. Thionation du carbonyle de la fonction amide	95
III.C.2. Thionation du carbonyle de la fonction urée	97
III.C.3 Thionation du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione	98
Chapitre IV. Méthodes de chimie supportée appliquées à la synthèse parallèle	
d'1,3,5-triazépane-2,6-diones : Construction de chimiothèques orientées vers	
la création de diversité	101
IV.A. Inconvénients de la synthèse du dipeptide de départ	
sur la résine 2-chlorotrityle	103
IV.B. Méthode A : <i>Réarrangement de Curtius</i> d'un N(alkyl)- aminoacide	
N-protégé suivi de l'accrochage à une résine puis formation de la liaison amide	103
IV.C. Méthode A : Application à la construction d'une chimiothèque	
combinatoire d'1,3,5-triazépane-2,6-diones	108
IV.D. Méthode B : Formation du dipeptide carboxamide/réarrangement	
d'Hofmann/accrochage sur la résine suivi du cycloclivage	109
IV.D.1. Synthèse de composés amide/urée via un réarrangement d'Hofmann	109
IV.D.2. Le réarrangement d'Hofmann oxydatif versus le réarrangement	
de Curtius pour générer l'isocyanate IVD2	109
IV.D.3. Méthode B : Description de la synthèse	110
IV.C.4. Méthode B : Evaluation de l'efficacité de la synthèse	

par un exemple	112
IV.D.5. Variantes de la Méthode B	113
IV.E. Construction d'une chimiothèque par fonctionnalisation post-cyclisation	
d'1,3,5-triazépane-2,6-diones portant une fonction acide	116
IV.E.1. Application des méthodes de synthèse assistée par un réactif	440
supporte (SSR) en chimie combinatoire	116
(SSR) d'1 3 5-triazénane-2 6-diones fonctionalisées par un reactif supporte	117
IV.E.3. Synthèse d'une chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones	
fonctionalisées par un amide	119
Chapitre V. Etude structurale des châssis hétérocycliques 1.3.5-triazépane-2.6-dione	126
V.A. Etude conformationnelle des hétérocycles 1.3.5-triazépane-2.6-dione	126
V.B. Propriétés d'autoassemblage des hétérocycles 1.3.5-triazépane-2.6-dione	129
V.B.1. Organisation en ruban moléculaire bidimensionnel	129
V.B.2. Organisation en structure tridimensionnelle tubulaire	130
U U U U U U U U U U U U U U U U U U U	
Chapitre VI. Application des 1,3,5-triazépane-2,6-diones comme inhibiteurs des	400
phospholipases A2 secretees	132
VI.A. Les 1,3,5-triazepane-z,6-diones : des composes « druginke »	132
vi.B. Identification des prospholipases A2 comme cibles des trazepariediones	100
par cribiage virtuer inverse.	122
VI.C. Les phospholipases A2 sécrétées des groupes V et X	135
VI.E. Inhibiteurs de sPLA2	127
VI.E. Les triazénanediones comme Inhibiteurs de hGV-sPI A2 et hGX-sPI A2	130
VI.G. Vers une ontimisation de l'activité inhibitrice des triazénanediones sur	135
les hGV- et hGX-sPLA2	1/10
VIG1 Triazénanediones testées sur les hGV- et hGX-sPLA2	1/0
VI.G.1 a Synthèse des composés VIGA et VIG5	1/1
VIG1 h Synthèse des composés VIG1 et VIG2	1/12
VIG 2 Criblage de la chimiothèque d'1 3 5-triazénane-2 6-diones sur	142
les hGV- et hGX-sPLA2	143
VIG2 a Résultats du criblage de la première série sur les	145
hGV- et hGX-sPLA2	143
VIG2 b Résultats du criblage de la deuxième série sur les	115
hGV- et hGX-sPI A2	146
VI.G.3. Etude cristallographique du complexe hGX-sPLA2/ VIF2	147
	450
Bibliographie	150
CONCLUSION	
Conclusion	155
Bibliographie	159
	160
	100
± 1	

Abréviations

Α

AA	acide arachidonique
AA ₂	aminoacide
Ac	acétyle
ACE	enzyme de conversion de l'angiotensine
Act.	activité
ADR	adriamycine
Aib	acide α -aminoisobutyrique
Ala	alanine
All	allyle
Alloc	allyloxycarbonyle
aq	aqueux
Arg	arginine
Asn	asparagine
Asp	acide aspartique

В

Bn	benzyle
Вос	tertiobutyloxycarbonyle
BOP	hexafluorophosphate de Benzotriazol-1-yloxy-tris(diméthylamino)-phosphonium
bp	point d'ébullition
4-Br-Ph	4-bromo-phényle
Bt	2-benzothiazolyle
Bu	butyle
Bz	benzoyle
Bzl	benzyle

С

°C	degré Celsius
Carb.	Carbamate
Carb. Succin.	Carbamate de succinimidyle
cat.	quantité catalytique
Cbz	benzyloxycarbonyle
Cha	cyclohexylalanine
cm	centimètre
CMPI	2-Chloro-1-methylpyridinium iodide
Conv.	conversion
COSY	Spectroscopie de corrélation
CS	calpastatine
Cys	cystéine

D

3D	trois dimensions
DBU	1,8-Diazabicyclo-(5,4,0)-undec-7-ene
DCC	dicyclohexylcarbodiimide
DCE	dichloroéthane
DCM	dichlorométhane
Dde	1-(4,4-diméthyl-2,6-dioxocyclohex-1-ylidène) éthyl
DEAD	azodicarboxylate de diéthyle
DIAD	azodicarboxylate de diisopropyle
DIC	N,N'-diisopropylcarbodiimide
DIEA	N, N-diisopropyléthylamine
DIPEA	N, N-diisopropyléthylamine
DKP	2,5-dicétopipérazine
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	diméthylformamide
DMS	diméthylsulfure
DMSO	diméthylsulfoxyde
DMTMM	chlorure de 4-(4,6-Diméthoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-méthylmorpholinium
DPPA	azoture de diphénylphosphoryle

Ε

EDC	1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
éq.	équivalent
Et	Ethyle

F

fMLF	N-Formyl-Met-Leu-Phe
Fmoc	fluorenylméthyloxycarbonyle
4-Fphe	p-fluorophénylalanine

G

g	gramme
GIB	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IB
GIIA	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIA
GIIC	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIC
GIID	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IID
GIIE	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIE
GIIF	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIF
GIII	Phospholipase A2 sécrétée du groupe III
GV	Phospholipase A2 sécrétée du groupe V
GX	Phospholipase A2 sécrétée du groupe X

GIB-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IB
GIIA-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIA
GIIC-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIC
GIID-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IID
GIIE-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIE
GIIF-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIF
GIII-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe III
GV-sPLA ₂	Phospholipase A2 sécrétée du groupe V
GX-sPLA ₂	Phospholipase A2 sécrétée du groupe X
GABA	acide γ-aminobutyrique
GC-MS	chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectre de masse
GI ₅₀	concentration inhibant 50% de la croissance cellulaire
Gln	glutamine
Glu	acide glutamique
Gly	Glycine

Η

h	heure
HATU	hexafluorophosphate d'O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tétraméthyluronium
HBTU	hexafluorophosphate d'O-Benzotriazol-1-yl-N,N,N',N'-tetramethyluronium
HCT116	cellule humaine tumorale du colon 116
Hdm2	double minute humaine
HF	acide fluorhydrique
HFIP	Hexafluoroisopropanol
hGIB	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IB humaine
hGIIA	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIA humaine
hGIIC	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIC humaine
hGIID	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IID humaine
hGIIE	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIE humaine
hGIIF	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIF humaine
hGIII	Phospholipase A2 sécrétée du groupe III humaine
hGV	Phospholipase A2 sécrétée du groupe V humaine
hGX	Phospholipase A2 sécrétée du groupe X humaine
hGIB-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IB humaine
hGIIA-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIA humaine
hGIIC-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIC humaine
hGIID-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IID humaine
hGIIE-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIE humaine
hGIIF-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIF humaine
hGIII-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe III humaine
hGV-sPLA ₂	Phospholipase A2 sécrétée du groupe V humaine
$hGX-sPLA_2$	Phospholipase A2 sécrétée du groupe X humaine
His	Histidine

HIV	Virus de l'immunodéficience humaine
hMC	mélanocortine humain
HMPA	hexaméthylphosphoramide
HMPV	acide 4-hydroxyméthyl-3-méthoxy-phénoxy-valérique
HOAt	1-Hydroxy-7-Azabenzotriazole
HOBt	<i>N</i> -hydroxybenzotriazole
HOSu	<i>N</i> -hydroxysuccinimide
HPLC	chromatographie liquide à haute performance
HPLC-MS	chromatographie liquide à haute performance couplée à un spectromètre de masse
HR-ESMS	spectrométrie de masse haute résolution par électronébulisation
Hsst	somatostatine humaine
HTS	criblage à haut débit

I

<i>i</i> AmONO	nitrite d'isoamyle
<i>i</i> Bu	isobutyle
IC ₅₀	concentration inhibitrice à 50%
IgE	immunoglobuline
lle	isoleucine
Im	imidazoyle
IND	dérivé d'indole
inh.	inhibition
<i>i</i> Pr	isopropyle
11 1	isopiopyie

J

J

jour

Κ

Kg	kilogramme
KHMDS	Hexaméthyldisilazoture de potassium
Ki	constante d'inhibition

L

LC/MS	Chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse
LDL	lipoprotéine de basse densité
Leu	Leucine
LFA-1	antigène associé à la fonction du lymphocyte 1
LHRH	hormone de libération de l'hormone lutéinisante
Lihmds	Hexaméthyldisilazoture de lithium
LR	réactif de Lawesson
Lys	Lysine

Μ

M	molaire
mAU	milliunité d'absorbance
MBHA	4-methylbenzhydrylamine
МС	mélanocortine
MCL3G1	anticorps monoclonal 3G1
MCR	réaction multi-composés
Me	méthyle
Met	méthionine
μg	microgramme
mg	milligramme
mGIB	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IB murine
mGIIA	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIA murine
mGIIC	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIC murine
mGIID	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IID murine
mGIIE	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIE murine
mGIIF	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIF murine
mGIII	Phospholipase A2 sécrétée du groupe III murine
mGV	Phospholipase A2 sécrétée du groupe V murine
mGX	Phospholipase A2 sécrétée du groupe X murine
mGIB-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IB murine
mGIIA-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIA murine
mGIIC-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIC murine
mGIID-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IID murine
mGIIE-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIE murine
mGIIF-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe IIF murine
mGIII-sPLA2	Phospholipase A2 sécrétée du groupe III murine
mGV-sPLA ₂	Phospholipase A2 sécrétée du groupe V murine
mGX-sPLA ₂	Phospholipase A2 sécrétée du groupe X murine
MIC	concentration minimale d'inhibition
min	minute
mL	millilitre
μM	micromolaire
mМ	millimolaire
mMC	mélanocortine murine
4-MoBzl	4-méthoxybenzyle
MRSA	Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline
MS	spectrométrie de masse
Ms	mésyle
MW	poids moléculaire

Ν

nb	nombre
NEM	N-éthylmorpholine
Nle	Norleucine
nM	nanomolaire
NMM	N-méthylmorpholine
NMO	N-méthylmorpholine-N-oxyde
NMP	N-méthyl-2-pyrrolidone
Np	<i>p</i> -nitrophényle
Ns	2-nitrobenzènesulfonyle
Nu	Nucléophile

0

oNBS-Cl	chlorure d'o-nitrobenzènesulfonyle
Orn	ornithine

Ρ

p53	protéine 53
PAI-1	inhibiteur-1 de l'activateur plasmogène
PASP	synthèse en solution assistée par un polymère
PBD	Pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazépine-5,11-dione
pBrPh	<i>p</i> -bromo-phényle
PC	prohormone convertase
PDB	banque de données des protéines
PEG	polyéthylène glycol
PEGA	polyéthylène glycol polyacrylamide
Pfp	pentafluorophényle
Ph	phényle
Phe	phénylalanine
Phe ^s	<i>N</i> -Fmoc-2-Benzylamino-éthanesulfonyle (analogue aminosulfonyle de phénylalanine)
Рір	acide pipécolique
PIFA	Bis-(trifluoroacétoxy)-iodobenzène
PL	phospholipide
PLA2	phospholipase A2
<i>p</i> -MeBzl	<i>p</i> -méthylbenzyle
PPh₃	triphénylphosphine
Ppm	partie par million
Pr	propyle
Pro	proline
PS	polystyrène
PS-DCC	dicyclohexylcarbodiimide supportée par du polystyrène

PS-DIPAM	diisopropylaminométhyle supportée par du polystyrène
PS-IBX	acide o-iodobenzoïque supporté par du polystyrène
PS-IIDQ	N-isobutoxycarbonyl-2-isobutoxy-1,2-dihydroquinoléine supportée par du polystyrène
PS-SuOH	N-hydroxysuccinimide supporté par du polystryrène
PTSA	<i>p</i> -toluènesulfonate
РуВОР	hexafluorophosphate de benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium

Q

uantité
uantitatif

R

Rdt	rendement
RGD	arginine- glycine-acide aspartique
RMN	Résonnance magnétique nucléaire
RP-HPLC	chromatographie en phase liquide à haute performance en phase inverse
RSA	relation structure-activité
RX	rayons X

S

Sar	sarcosine
Ser	sérine
SIDA	syndrome d'immunodéficience acquise
SN ₂	substitution nucléophile d'ordre 2
sPLA2	phospholipase A2 sécrétée
SPOS	synthèse organique sur phase solide
SPPS	synthèse peptidique sur phase solide
SSR	synthèse assistée par un réactif supporté

Т

ТА	température ambiante
TBDPS	tertiobutyldiphénylsilyle
TBTU	tétrafluoroborate o-Benzotriazol-1-yl-N,N,N',N'-tétraméthyluronium
<i>t</i> Bu	tertiobutyle
ТСЕР	tris-(2-carboxyéthyl)phosphine
TCF4	facteur de transcription 4
TEA	triéthylamine
Tf	triflyle (trifluorométhanesulfonyle)
TFA	acide trifluoroacétique
TFE	2,2,2-trifluoroéthanol
TFFH	hexafluorophosphate fluoro-N,N,N',N'-tétraméthylformamidinium

Тһ	lymphocyte auxiliaire 2
	tétrabudrofurano
	thréoning
Tio	cifica 1 2 2 4 tétrabudraisaguinaláina 2 carboyuligua
	triisenrendeidde
	chromatographie sur couche mince
TIE	
	carbonate de tetrametnylammonium
	tetrametnyletnylenedlamine
TMG	1,1,3,3-tetramethylguanidine
TMS	trimethylsilyle
ТРР	triphénylphosphine
Tris	trishydroxyméthylaminométhane
Trp	tryptophane
Trt	trityle (triphénylméthyle)
Tyr	tyrosine
U	
UV	ultra-violet
V	
v	volume
Val	valine
VDW	Van Der Waals
W	
W	watt
Wt	masse
, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	masse
Х	
Хаа	aminoacide
Z	
Z	benzyloxycarbonyle

Résumé

I) Introduction: Développement d'hétérocycles dérivés de peptides comme plateforme support de la diversité moléculaire.

Les peptides sont une source importante de diversité moléculaire du fait de la diversité structurale et fonctionnelle des aminoacides. De nombreuses méthodes permettant de former des châssis hétérocycliques en utilisant comme précurseur des peptides ont été développées, permettant d'une part d'exploiter la diversité de ces peptides et d'autre part d'avoir une structure contrainte conformationnellement qui distribue des groupements pharmacophores dans les trois dimensions de l'espace (*fig.1*). De telles structures peptidomimétiques ont bien souvent une plus grande stabilité et une meilleure sélectivité pour des récepteurs biologiques que leurs homologues linéaires du fait des contraintes géométriques du cycle¹⁻³.



Pour cette raison ces séries de composés hétérocycliques sont très étudiées pour leurs applications dans la recherche de composés biologiquement actifs ou dans la compréhension de mécanismes de reconnaissance (bio)moléculaire.

Dans cette optique, notre laboratoire a développé un châssis hétérocyclique à 7 membres dérivé de dipeptide : les 1,3,5-triazépane-2,6-diones¹¹.

Ce cycle peut présenter jusqu'à 5 points de diversité et par conséquent 5 pharmacophores (*fig.* 2). Dans ce travail de thèse nous avons cherché à :

- i) élargir la diversité accessible soit en augmentant la diversité des séquences peptidiques soit par différentes réactions post-cyclisation
- ii) mettre au point une méthodologie de synthèse utilisant la chimie supportée

- iii) étudier plus en détail les propriétés conformationnelles de cette famille de composés
- iv) et entreprendre une étude de relation structure-fonction pour améliorer les propriétés d'inhibition des phospholipases A2 sécrétées (sPLA2) mises en évidence précédemment au laboratoire dans le cadre d'une collaboration avec Les Dr.Didier Rognan (Pharmacochimie de la communication cellulaire, Illkirch) et Gérard Lambeau (IPMC, Valbonne).



II) Synthèse des 1,3,5-triazepane-2,6-diones

La synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones est réalisée en 4 étapes (*fig. 3*). Le précurseur de cet hétérocycle est un dipeptide acide *N*-Boc protégé. Celui-ci est transformé en azoture d'acyle puis en isocyanate après *réarrangement de Curtius*. Le carbamate de *N*-hydroxysuccinimide correspondant est obtenu par addition nucléophile du *N*-hydroxysuccinimide sur l'isocyanate. Le carbamate dérivé de dipeptide est traité à l'acide trifluoroacétique (TFA) puis cyclisé en milieu basique.



La formation de l'hétérocycle nécessite un groupement \mathbb{R}^3 différent de H pour assurer la préorganisation de l'intermédiaire de cyclisation (*fig. 4*) qui doit adopter une conformation cisoïde (*cis*) au niveau de l'amide. En effet, la synthèse effectuée avec un précurseur dont le groupement \mathbb{R}^3 est un hydrogène, conduit à la formation de macrocycles de type **B**. Par conséquent, le dipeptide de départ doit être synthétisé à partir d'un aminoacide *N*-alkylé. Cependant, peu d' α -aminoacides *N*-alkylés sont disponibles commercialement. Pour répondre à ce qui constituerait une limite dans le développement de la diversité des hétérocycles, nous

avons synthétisé des glycines N-alkylées en appliquant la méthode décrite par Bartlett¹² pour la synthèse des peptoïdes (*fig.* 5).



Un certain nombre de glycinates de benzyle *N*-alkylés ont été préparés par mono-alkylation d'amines primaires par du bromoacétate de benzyle. Ces dérivés de glycine sont ensuite couplés avec un α -aminoacide *N*-Boc protégé. Le groupement benzyle est éliminé par hydrogénation catalytique et le précurseur dipeptidique est obtenu (*fig. 5*).



Cette méthode de synthèse en solution nous a permis de synthétiser 12 nouveaux châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione.

III) Diversifications post-cyclisation

Du fait de sa bonne stabilité en milieu basique, acide, et nucléophile, le châssis 1,3,5triazépane-2,6-dione se prête bien à des opérations de diversification post-cyclisation telles que l'alkylation ou l'acylation des azotes du résidu urée de l'hétérocycle ou la thionation des carbonyles sur le squelette hétérocyclique.

1) Monoalkylation versus dialkylation

En effet, le cycle peut être dialkylé ou monoalkylé par des bromures d'alkyle suivant différentes conditions (*fig.6*). En présence de 10 équivalents de KF/Al₂O₃, 1.5 équivalents d'agent alkylant, l'alkylation se fait exclusivement sur l'azote de la *gem*-diamino urée (N3). Dans les conditions utilisant comme base 4 équivalents de NaH et 4 équivalents de bromure d'alkyle le résidu urée est dialkylé.



Ce mode de diversification a été mis au point avant mon arrivée au laboratoire et a été mis en application pour diversifier les nouveaux châssis hétérocycliques dérivés de glycines *N*-alkylées.

2) Acylation

Les méthodes d'acylation que nous avons développées au cours de ce travail nous ont permis encore une fois d'illustrer la remarquable différence de réactivité des deux azotes de l'urée en effet, si la mono-alkylation se fait exclusivement sur l'azote N(3), l'acylation se fait sur l'azote N(1). Les conditions mises au point nous ont permis d'isoler les cycles acylés avec des rendements allant de 71 à 85 % selon les agents acylants¹¹.



La combinaison de ces différentes méthodes de diversification post-cyclisation nous ont permis de constituer une chimiothèque de 150 composés ainsi que d'introduire des groupements fonctionnels réactifs disponibles pour subir d'autres modifications. (voir cidessous section 4.1)

3) Thionation

Dans la perspective d'utiliser le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione en chimie médicinale, il nous a semblé intéressant de mettre au point une méthode pour rendre l'hétérocycle plus lipophile. Pour ce faire nous avons testé la thionation des carbonyles sur le cycle (fig. 8). Dans le toluène à 80°C, le réactif de Lawesson (LR) permet la thionation des 2 carbonyles de l'hétérocycle. La réaction a également été testée dans le THF à température ambiante. Cette variation des conditions a conduit à la thionation sélective du carbonyle de la fonction amide.



Cette sélectivité est très intéressante pour élargir la diversité. Ces résultats pourraient permettre par la suite d'exploiter la chimie des thiourées pour mettre au point d'autres réactions post-cyclisation.

IV) Méthodes de synthèse supportée applicables en synthèse parallèle pour augmenter l'accessibilité à une plus grande diversité.

L'utilisation de méthodes de chimie supportée applicables à la synthèse parallèle permet de synthétiser simultanément plusieurs composés et de ce fait, d'augmenter la diversité et la cadence de synthèse en vue de la constitution de chimiothèques. Nous avons mis en application cette technique, d'une part, en construisant une chimiothèque d'amides en solution (Solution Phase Synthesis) avec des réactifs supportés et d'autre part, en mettant au point deux méthodes de synthèse du châssis hétérocyclique sur phase solide (Solid Phase Synthesis).

1) Construction d'une chimiothèque d'amides

La chimiothèque de 41 amides a été constituée à partir de 41 amines secondaires ou primaires différentes et d'un hétérocycle 1,3,5-triazépane-2,6-dione contenant une fonction acide (*fig. 9*).



Pour que les couplages soient applicables en synthèse parallèle, nous avons utilisé un réactif de couplage et une base supportés. Le criblage d'un certain nombre de réactifs a permis d'identifier les conditions optimales suivantes : 2 équivalents de résine PS-IIDQ (2-isobutoxy-1-isobutoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline) et 1,5 équivalents de la résine PS-DIPAM (Diisopropylamine). La résine PS-IIDQ est un réactif de couplage qui conduit à la formation d'amide avec un haut taux de conversion en faisant réagir un faible excès d'amine (Dans notre cas 1,2 équivalent d'amine). Il s'agit donc d'un réactif de choix pour la synthèse parallèle. Ces manipulations nous ont permis de préparer 41 amides différents avec globalement de bons rendements et de bonnes puretés.

2) Méthode A : Synthèse des hétérocycles sur résine oxime

Le principe de la méthode de synthèse effectuée sur la résine oxime consiste en la construction du carbamate dérivé de dipeptide directement sur la phase solide (*fig. 10*). Un N(alkyl)-aminoacide N-protégé est traité par une quantité équimolaire de DPPA (azoture de diphénylphosphoryle) et de TEA (triéthylamine). La solution d'azoture d'acyle obtenue est ensuite chauffée à 70°C. Le *réarrangement de Curtius* conduit à la formation de l'isocyanate correspondant qui est piégé sous forme de carbamate d'oxime par ajout de 0,2 équivalent de résine oxime.



Le groupement protecteur du résidu amine est ensuite clivé et l'amine résiduelle est couplée à un Boc-aminoacide. Après clivage du Boc, la résine est lavée par une solution de DIEA (5 équivalents) dans le DCM pour éliminer les sels de TFA. Enfin, le chauffage à 80°C dans le toluène en présence de DIEA (5 équivalents) conduit à la formation du châssis hétérocyclique par cycloclivage.

3) Méthode B : Formation d'un dipeptide carboxamide/*réarrangement d'Hofmann*/accrochage sur une résine HOSu suivi du cycloclivage

Cette méthode consiste en la construction sur phase solide d'une chimiothèque de dipeptides carboxamide *N*-protégés par un Boc, suivie de la combinaison de la stratégie « catch and release » et du cycloclivage qui permet de générer une chimiothèque d'hétérocycles (*fig. 11*). D'abord, le dipeptide carboxamide est synthétisé sur la résine de Sieber. Après clivage de la résine, le *réarrangement d'Hofmann* oxydatif est effectué par traitement avec 4 équivalents de PIFA (bis(trifluoroacetoxy)iodo)benzene). L'isocyanate correspondant est ensuite piégé par une résine *N*-hydroxysuccinimide. Enfin, le clivage du groupement Boc, suivi du traitement par une solution de DIEA dans le THF, conduit à la formation du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione.



Ces deux méthodes de synthèse ont permis d'obtenir les châssis hétérocycliques avec une très bonne pureté HPLC et RMN.

V) Etude conformationnelle des hétérocycles 1,3,5-triazépane-2,6-dione

Dans l'optique d'exploiter ces systèmes hétérocycliques pour des applications en biologie, la connaissance de leurs propriétés conformationnelles représente un aspect important. Nous avons pu caractériser les structures de 12 composés dans l'état cristallin. L'étude des cristaux par diffraction des rayons X a été réalisée en collaboration avec le Dr. Claude Didierjean (Université Henri Poincaré, Vandoeuvre). Cette étude nous a permis de mettre en évidence l'existence de trois conformations (dans l'état solide) qui semblent dépendre de la présence et de la nature des groupements décorant le cycle (*fig. 12*). Une étude théorique a été menée en collaboration avec Claude Didierjean pour analyser les barrières énergétiques entre les différentes conformations.



Ces trois états conformationnels représentent également un facteur de diversité qui comme nous l'avons montré, peut être contrôlé en fonction des groupements introduits sur le cycle et qu'il sera intéressant de prendre en compte dans les études de reconnaissance moléculaire avec des cibles biologiques. Des propriétés d'autoassemblage particulièrement intéressantes (formation de pores) ont pu être mises en évidence dans l'état cristallin pour certains membres de la famille. Ces propriétés ainsi que le diamètre du pore résultant peuvent être contrôlées dans une certaine mesure par la nature des chaînes décorant le cycle.

VI) Identification d'inhibiteur de sPLA2-X

Un bon nombre de systèmes peptidomimétiques conformationnellement contraints par la présence d'hétérocycles sont connus pour leurs activités biologiques¹³. En collaboration avec le Dr Didier Rognan, nous avions cherché à identifier des cibles biologiques des 1,3,5-triazépane-2-6-diones par un criblage virtuel des sites actifs d'enzymes répertoriés dans la Protein Data Bank (PDB). A l'issue de ce criblage, plusieurs cibles potentielles avaient été identifiées. Parmi ces enzymes, la famille des Phospholipases A2 sécrétées (sPLA2) s'est révélée la plus intéressante ¹⁴.

Les sPLA2s sont des estérases qui hydrolysent l'ester sn-2 des glycérophospholipides. Elles constituent une des plus grandes familles d'enzymes capables d'hydrolyser les lipides. Le génome mammifère contient 10 sPLA2s (classée en groupes) dont l'activité enzymatique est avérée. Elles jouent de nombreux rôles dans l'organisme. Certaines fonctions comme la défense contre les bactéries sont bien connues. Plus récemment, il a été montré que certaines sPLA2s étaient impliquées dans la production d'acide arachidonique (biosynthèse des eicosanoïdes) à partir des phospholipides cellulaires, particulièrement au cours de l'inflammation. Par exemple, les métabolites des sPLA2 du groupe X (sPLA2-X) sont responsables du recrutement des cellules du système immunitaire dans les poumons ce qui confère à la sPLA2-X un rôle important dans le développement de l'inflammation des voies respiratoires dans l'asthme¹⁵. De ce fait, la sPLA2-X pourrait être une cible thérapeutique intéressante. Précédemment, un criblage de l'ensemble des composés de la chimiothèque du laboratoire avait été effectué sur les phospholipases A2 secrétées par l'équipe de Gérard Lambeau. Ce criblage avait confirmé les résultats du criblage virtuel avec l'identification de quelques molécules à activité inhibitrice. Au cours de ce travail de thèse nous avons cherché à affiner la relation structure-fonction et la nature des groupes pharmacophores en modulant de manière plus systématique la nature des chaînes en position R^1 , R^2 , R^3 et R^5 . Plusieurs molécules avec des combinaisons particulières de pharmacophores présentent un IC50 dans le bas µM pour les sPLA2s des groupes V et X. Une inhibition moindre est observée pour la sPLA2 du groupe III. Les molécules sont inactives sur les sPLA2s du groupe IIA ce qui démontre une certaine spécificité dans le mode d'action. Une co-cristallisation d'un inhibiteur et la sPLA2 de groupe X a également été effectuée (collaboration avec Y. Bourne, Marseille) et la structure comparée à celle d'un co-cristal d'un pan-inhibiteur connu de cette famille d'enzyme. Les données préliminaires obtenues confirment l'action de l'inhibiteur au niveau du centre actif et suggèrent plusieurs pistes intéressantes pour améliorer l'activité de nos composés.

VII) Conclusion.

Nous avons poursuivi l'exploration de la diversité chimique et structurale d'une famille de composés hétérocycliques originaux obtenus en 4 étapes à partir de simples dipeptides *N*-Boc protégés. Ceci a été réalisé notamment par l'exploration d'une plus grande diversité de séquences peptidiques, par la mise au point de nouvelles réactions de décoration post-cyclisation et la mise en œuvre de stratégies de synthèse parallèle faisant appel à la méthodologie de synthèse supportée. Des études structurales détaillées par diffraction des rayons X suggèrent l'existence de trois états conformationnels distincts accessibles aux molécules de la famille des 1,3,5-triazépane-2,6-diones.

Le criblage de la chimiothèque a permis de mettre en évidence plusieurs combinaisons de pharmacophores (positions R^2 , R^3 , R^5) conduisant à des inhibiteurs μM des sPLA2s de groupe X, V (et III). Des études cristallographiques préliminaires donnent des informations essentielles sur le mode d'inhibition de ces molécules.

Dans la perspective d'augmenter encore la diversité fonctionnelle de notre chimiothèque, il sera intéressant de mettre au point d'autres moyens de diversification applicable en synthèse parallèle en faisant réagir d'autres fonctions présentes sur le cycle. Ces méthodes orientées vers la diversité combinées à une étude relation structure-fonction basée sur l'observation de la structure des inhibiteurs dans le centre actif de l'enzyme nous permettront certainement d'augmenter de manière significative le potentiel de cette série de composés.
Bibliographie

- K. MartÍnez-Mayorga, J.L. Medina-Franco, M.A. Giulianotti, C. Pinilla, C. T. Dooley, J. R. Appel, R. A. Houghten, Conformation-opioid activity relationships of bicyclic guanidines from 3D similarity analysis, *Bioorg. Med. Chem.* 2008, *16*, 5932-5938
- 2. C.E. Hoesl, J.M. Ostresh, R.A. Houghten, A. Nefzi, Solid Phase Synthesis of 3,4,7-Trisubstituted 4,5,8,9-Tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2-*a*][1,3,5]triazepin-2(7*H*)-thiones and *N*-Alkyl-4,5,7,8-tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2-*a*][1,3,5]triazepin-2-amines, *J. Comb. Chem.* **2006**, 8, 127-131
- 3. S.T. Le Quement, T.E. Nielsen, M. Meldal, Solid-Phase Synthesis of Aryl-Substituted Thienoindolizines: Sequential Pictet-Spengler, Bromination and Suzuki Cross-Coupling Reactions of Thiophenes, J. Comb. Chem. 2008, 10, 447-455
- 4. H. Kim, H. Nakanishi, M.S. Lee, M. Kahn, Design and Synthesis of Novel Conformationally Restricted Peptide Secondary Structure Mimetics, *Org. Lett.* **2000**, *2*, (3), 301-302
- 5. C.W. Zapf, J.R. Del Valle, M. Goodman, Utilizing the intramolecular Fukuyama–Mitsunobu reaction for a flexible synthesis of novel heterocyclic scaffolds for peptidomimetic drug design, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4033-4036
- I.M. Gomez-Monterrey, P. Campiglia, A. Bertamino, C. Aquino, O. Mazzoni, M.V. Diurno, R. Iacovino, M. Saviano, M. Sala, E. Novellino, P. Grieco, Synthesis of Novel Indole-Based Ring Systems by Acid-Catalysed Condensation from α-Amino Aldehydes and L-Trp-OMe, *Eur. J. Org. Chem.* 2008, 1983-1992
- L.R. Lampariello, D. Piras, M. Rodriquez, M. Taddei, Solid-Phase Synthesis of Conformationally Constrained Peptidomimetics Based on a 3,6-Disubstituted-1,4-diazepan-2,5-dione Core, *J. Org. Chem.* 2003, 68, (20), 7893-7895
- 8. J. Bondebjerg, Z. Xiang, R.M. Bauzo, C. Haskell-Luevano, M. Meldal, A Solid-Phase Approach to Mouse Melanocortin Receptor Agonists Derived from a Novel Thioether Cyclized Peptidomimetic Scaffold J. Am. Chem. Soc. 2002, 124, (37), 11046-11055
- S. Hanessian, G. McNaughton-Smith, H.-G. Lombart, W.D. Lubell, Design and Synthesis of Conformationally Constrained Amino Acids as Versatile Scaffolds and Peptide Mimetics, *Tetrahedron*, 1997, 53, (38) 12789-12854
- 10. J.B. Ball, P.F. Alewood, Conformational constraints: Nonpeptide β-turn mimic, J. Mol. Recognit.. **1990**, 3, (2), 55-64
- G. Lena, E. Lallemand, A.C. Gruner, J. Boeglin, S. Roussel, A.-P. Schaffner, A. Aubry, J.-F. Franetich, D. Mazier, I. Landau, J.-P. Briand, C. Didierjean, L. Rénia, G. Guichard, 1,3,5-Triazepan-2,6-diones as Structurally Diverse and Conformationally Constrained Dipeptide Mimetics: Identification of Malaria Liver Stage Inhibitors from a Small Pilot Library, *Chem. Eur. J.* 2006, *12*, 8498 – 8512
- R.J. Simon, R.S. Kania, R.N. Zuckermann, V.D. Huebner, D.A. Jewell, S. Banville, S. Ng, L. Wang, S. Rosenberg, C.K. Marlowe, Peptoids: a modular approach to drug discovery, *Proc. Nad. Acad. Sci.* 1992, 89, 9367-9371
- 13. S. Bräse, C. Gil, K. Knepper, The recent impact of solid-phase synthesis on medicinally relevant benzoannalated nitrogen heterocycles, *Bioorg Med. Chem.* **2002**, *10*, 2415–2437
- P. Muller, G. Lena, E. Boilard, S. Bezzine, G. Lambeau, G. Guichard, D. Rognan, *In Silico*-Guided Target Identification of a Scaffold-Focused Library: 1,3,5-Triazepan-2,6-diones as Novel Phospholipase A2 Inhibitors, *J. Med. Chem.*, 2006, 49, (23), 6768-6778
- 15. W.R. Henderson Jr., E.Y. Chi, J.G. Bollinger, Y.-T. Tien, X. Ye, L. Castelli, Y.P. Rubtsov, A.G. Singer, G.K.S. Chiang, T. Nevalainen, A.Y. Rudensky, M.H. Gelb, Importance of group X-secreted phospholipase A2 in allergen-induced airway inflammation and remodeling in a mouse asthma model, *JEM*, **2007**, *204*, 865-877

INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE : STRUCTURES CYCLIQUES DE PETITE ET MOYENNE TAILLE DÉRIVÉES DE DIPEPTIDES

Chapitre I. Préambule

Chapitre I. Préambule

I.A. Les peptides à visée thérapeutique

Depuis quelques années, les peptides ont pris une place importante dans le domaine de la recherche de molécules à visée thérapeutique. En effet, en 2004, plus de 20% des médicaments appartenant au top 200 des ventes étaient à base de protéines ou de peptides¹. Actuellement, l'intérêt pour ce type de molécule ne cesse de croître. En effet, à ce jour, plus de 200 peptides médicaments et composés homologues (protéines ou des anticorps) contenant les liaisons peptidiques sont commercialisés et des centaines de peptides de synthèses sont en développement clinique². Ces molécules présentent des avantages certains: un niveau d'efficacité et de sélectivité difficile à atteindre avec de petites molécules³, une toxicité systémique relativement faible due essentiellement à cette sélectivité, et une très faible accumulation dans les tissus⁴. Cependant, l'utilisation des peptides en chimie thérapeutique est confrontée à certaines limites. En effet, la plupart des peptides traversent difficilement les membranes cellulaires, de plus, ils sont biodégradables par les peptidases. Leur durée de demi-vie est par conséquent très faible de l'ordre de quelques minutes voire quelques heures⁵. Pour pallier ces problèmes, différentes méthodes sont utilisées et certaines sont encore étudiées et en court de développement : - Pour améliorer la biodisponibilité, des stratégies faisant usage de prodrugs sont étudiées⁵. - Pour augmenter la durée de demi-vie dans l'organisme, une des voies les plus utilisées est celle qui consiste en la modification des parties C et N-terminales par exemple par N-acétylation, C-amidation. L'utilisation d'aminoacides D ou non-naturels, la PEGylation⁶⁻⁸ sont d'autres voies exploitées par les peptidistes. Une méthode très employée pour contrecarrer l'action de ces protéases, consiste en la cyclisation des peptides soit par des ponts disulfures soit par la formation d'anneaux lactames ou des liaisons N-terminal - C-terminal⁹.

I.B. Avantages de la cyclisation des peptides

La cyclisation des peptides conduit en effet à une plus grande stabilité des peptides face aux peptidases, mais dans quelques cas, la cyclisation peut également permettre de contraindre le peptide à adopter une conformation proche de celle que prend le ligand naturel lié au récepteur, ce qui permet au peptide cyclisé d'augmenter son activité et sa sélectivité à une cible ^{10, 11}. Dans cette optique, de nombreux travaux consistent à contraindre des peptides à adopter une structure tridimensionnelle mimant des structures secondaires des protéines. L'un des exemples intéressants qui fait l'objet de nombreuses études dans le domaine des peptidomimétiques, consiste à cycliser des petits peptides pour les contraindre à adopter une conformation mimant un coude β . Des exemples de tels systèmes seront présentés au chapitre II. Nous verrons que bien souvent, ces composés sont des hétérocycles de taille moyenne (8 à 10 membres) ou des structures bicycliques (6+5, 6+6, 6+7, 6+8, 5+7, 5+8) dérivés de dipeptides.

I.C. La chimie hétérocyclique dans l'industrie pharmaceutique

Outre leur utilisation comme produit de départ et comme source de diversité moléculaire lors de la synthèse de mimes de coude β , les dipeptides et leurs dérivés peuvent également être cyclisés pour

générer de nouveaux châssis hétérocycliques et créer de la diversité. Au chapitre III, nous rapporterons quelques exemples de ce type d'hétérocycle à travers une description de leur synthèse et de leurs applications en chimie médicinale. Les hétérocycles sont présents dans de nombreux produits naturels comme des antibiotiques tels que les pénicillines ou les céphalosporines, des alcaloïdes tels que la vinblastine, l'ellipticine, la morphine ou la réserpine et ils jouent un rôle important dans la majeure partie des processus biochimiques¹². Or beaucoup de produits pharmaceutiques sont des mîmes de produits naturels bioactifs. Par ailleurs, la chimie des hétérocycles est une source inépuisable de nouveaux composés, compte tenu du nombre quasiment illimité de combinaisons entre carbones, hydrogènes et hétéroatomes qui confèrent à ces structures des propriétés chimiques, physiques et biologiques diverses. De plus, un certain nombre de ces molécules possède les caractéristiques de composés « drug-like^{13, 14} », importantes pour leur application en chimie combinatoire et dans les méthodes de criblage à haut-débit¹². Pour conclure, l'ensemble de ces propriétés expliquent la place centrale qu'occupe la chimie hétérocyclique dans les projets de développement de composés bioactifs exploités par l'industrie pharmaceutique¹².

Chapitre II. Exploration de la diversité moléculaire à partir d'hétérocycles dérivés de dipeptides mimes de coude β interne

Chapitre II. Exploration de la diversité moléculaire à partir d'hétérocycles dérivés de dipeptides mimes de coude β interne

II.A. Les coudes β

Les coudes β sont des éléments de la structure secondaire des protéines. Ces motifs composés d'une séquence de 4 résidus sont caractérisés par les 5 angles de torsion spécifiques (Φ_{i+1} , Ψ_{i+1} , Φ_{i+2} , Ψ_{i+2} et ω_{i+1}) et une distance entre $C_{\alpha i}$ et $C_{\alpha i+3}$ inférieure à $7\text{Å}^{15, 16}$ qui conduisent à un changement de direction de la chaîne peptidique (**figure II.A.1**).



Ces motifs servent d'unité de jonction des éléments de structure secondaire. Mais étant le plus souvent à la surface des protéines, contenant des résidus polaires, chargés et comportant des fonctions réactives, ils participent à la formation des sites de liaison de ligands et des sites actifs des enzymes¹⁷. Plus précisément, ils sont reconnus pour jouer un rôle dans les interactions entre des peptides hormones et leurs récepteurs, des anticorps et leurs antigènes, des enzymes régulatrices et leurs substrats correspondants. Par conséquent, il est très intéressant de mettre au point des structures contraintes qui miment les coudes β afin de comprendre les bases moléculaires des interactions peptide/protéine permettant de développer des agents thérapeutiques puissants et sélectifs¹⁸.

II.B. Les mimes de coude β

Il existe de nombreux exemples de systèmes mimant les coudes β . Certains sont non-peptidiques comme par exemple les dérivés de monosaccharide (**IIB1**) développés par Smith III¹⁹ ou les lactames à 9 membres (**IIB2**) proposés par Olson²⁰ (**Figure II.B.1**), mais la majorité des mimes de coude β sont des hétérocycles dérivés de dipeptides ou de dipeptidomimétiques.



Ces mimes de coude ß se rangent dans 2 groupes distincts : les mimes internes et externes (**Figure II.B.2**). Dans les mimes externes, la partie hétérocyclique qui contraint la structure peptidique à



former un coude est à l'extérieur du pseudo-cycle à 10 membres que constitue le coude ß. Tandis que dans le cas du mime interne, la partie hétérocyclique se substitue au pseudocycle et le repliement de la chaîne peptidique est imposé par un linker ^{15, 21}.

Dans les mimes de coude β externes qui sont dans la plupart des cas des systèmes polycycliques, les groupes amine et acide carboxylique externes permettent d'introduire les fonctionnalités désirées aux positions i et i+3 (**Figure II.B.3**). Cependant, ces systèmes sont très limités en terme de diversité au niveau des positions i+1 et i+2, ce qui représente un handicap dans la recherche de mimes biologiquement actifs. Pour cette raison, nous avons choisi de porter notre intérêt exclusivement sur les mimes de coude β internes hétérocycliques dipeptidiques, dipeptidomimétiques ou ayant comme précurseur de synthèse un dipeptide, dont la synthèse permet de moduler aisément la nature des groupements en position i+1 et i+2.



Dans la plupart des cas, ces groupements sont présents sur la partie dipeptidique ou pseudopeptidique de l'hétérocycle (Figure II.B.4).



Ces mimes de coudes β appartiennent essentiellement à 2 catégories : 1) les cycles de taille moyenne (de 9 et 10 membres), 2) les bicycles (6+6 ou 6+5 membres).

Les travaux sur la chimie de ce type de mime de coude β se sont multipliés ses dernières années, grâce au développement de la chimie sur phase solide qui permet par une approche combinatoire ou parallèle, d'avoir accès rapidement à une chimiothèque criblable.

II.B.1 Les structures cycliques de taille moyenne

II.B.1.a Mimes de coude β proposés par Ellman.

Les premiers mimes de coudes β dipeptidiques permettant d'introduire des chaînes latérales en position i+1 et i+2 ont été proposés en 1994 par Virgilio et Ellman^{22, 23} (**Figure II.B.5**).



Dans cette structure mimétique, la liaison hydrogène entre les résidus i et les résidus i+3 qui contraint le coude β à adopter sa conformation caractéristique, est remplacée par un lien thioéther.

II.B.1.a.i. Synthèse

D'un point de vue synthétique, l'hétérocycle est préparé sur une résine Rink amide sur laquelle a été couplé un premier aminoacide : la glycine, la phénylalanine ou la *p*-nitrophénylalanine (**Figure II.B.6**).

D'abord, l'acide α -bromoacétique est couplé à l'aminoacide supporté **IIB4** puis le brome est substitué par un aminoalkylthiol dont le résidu thiol est protégé sous forme de disulfure de *t*-butyle. Le dipeptide supporté **IIB5** obtenu, est couplé à un *N*-Fmoc- α -aminoacide pour conduire au composé **IIB6** après traitement avec une solution de 25% de pipéridine dans la DMF. L'amine déprotégée est traitée par l'anhydride symétrique d'un α -bromoacide pour obtenir l'intermédiaire **IIB7**. Le disulfure est réduit par de la tributylphosphine pour former le résidu thiol qui conduit à la cyclisation par substitution nucléophile en milieu basique puis au composé final **IIB8**, après clivage de la résine.

Après avoir testé l'efficacité de cette synthèse sur une chimiothèque de 11 composés avec des puretés déterminées par HPLC de 75 à 93%, 1152 mimes de coudes β ont été synthétisés en parallèle.



II.B.1.a.ii. Évaluation biologique

Le criblage de cette chimiothèque a permis d'identifier les 2 composés **IIB9** et **IIB10** ayant une affinité pour le récepteur fMLF (**Figure II.B.7**). Ce récepteur étant impliqué dans le développement de maladies infectieuses et du processus inflammatoire, un antagoniste puissant de ce récepteur fMLF pourrait être un agent thérapeutique potentiel dans le traitement de l'inflammation et de certaines pathologies infectieuses. Les affinités de ces composés pour le récepteur fMLF ne sont pas très importantes avec un $IC_{50} = 10 \mu m$ pour le composé **IIB9** et 13 μm pour le composé **IIB10**, cependant leur identification représente le premier succès de l'application d'une chimiothèque de petites molécules mimes de coude β sur une cible biologique.



II.B.1.b. Mimes de coude β proposés par Ellman de 2éme génération.

La 1^{ère} génération de mimes de coude β proposée par Virgilio et Ellmann était limitée au niveau du groupement Rⁱ⁺³. Une nouvelle génération (**IIB11**)²⁴ a été proposée dont la synthèse permet d'ajouter de la diversité en Rⁱ⁺³ (**Figure II.B.8**). Cette modification conduit à des hétérocycles plus solubles et dont les possibilités de liaison avec le récepteur sont plus importantes puisqu'ils présentent un point de contact supplémentaire.



II.B.1.b.i. Synthèse

La synthèse commence par la déacétylation du résidu thiol du linker de la résine **IIB12**. Puis la résine ester de mésyle **IIB13** est obtenue par échange de disulfure avec le résidu méthansulfonoxyalkyle thiol de l'hétérocycle (**Figure II.B.9**). Le déplacement du mésylate par l'amine primaire comportant le groupement i+3 conduit à la formation du composé supporté **IIB14**, qui par couplage avec un Fmocaminoacide, clivage du Fmoc, puis acylation par un α -bromoacide forme l'intermédiaire **IIB15**. Ce

précurseur linéaire est ensuite clivé de la résine par traitement avec une solution de tris-(2carboxyéthyl)phosphine (TCEP) puis il est cyclisé en milieu basique par l'emploi d'une base supportée, la résine tétraméthylguanidine qui sert également de scavenger pour éliminer le TCEP. L'efficacité de cette synthèse a été évaluée sur une petite collection de 8 molécules. Les puretés des composés obtenus sont très bonnes (84-94%). Les synthèses effectuées en parallèle ont permis de constituer une chimiothèque d'environ 6000 mimes de coude β **IIB16**.



a) NaOMe, 3 :1 THF/MeOH, b) BtSS-(CH_2)_n-OMs, THF, c) amine primaire, NMP, 50°C, d) Fmoc- α aminoacide, HATU, DIEA, DMF, e) 20% pipéridine, DMF, f) α -bromoacide, DIC, DMF, g) (HOCCH₂CH₂)₃P, 9 :1 dioxane/H₂O, PS-TMG

Figure II.B.9 : Synthèse de mimes de coude β proposés par Ellman (2^{ème} génération)

II.B.1.b.ii évaluation biologique

Un criblage de ces composés a été effectué afin d'identifier des composés biologiquement actifs et leurs cibles. Plusieurs cibles ont été identifiées : les récepteurs à somatostatine^{25, 26}, les récepteurs à mélanocortine-1²⁷, les récepteurs à $\alpha 4\beta 1$ intégrine²⁸.

Introduction bibliographique_chapitre II



Le criblage effectué sur les 5 sous-types de récepteur à somatostatine humain hsst1, hsst2, hsst3, hsst4, hsst5 a permis d'identifier 3 mimes intéressants les **IIB17**, **IIB18** et **IIB19**. En effet, les molécules **IIB17** et **IIB18** ont une activité antagoniste sélective d'un sous-type de récepteur à somatostatine (**Figure II.B.10**) avec des valeurs d'IC₅₀ respectivement de 158nM pour le sous-type hsst2 et 87nM pour le sous-type hsst5. Le composé **IIB19**, analogue à contrainte conformationnelle du composé **IIB18** a une activité inhibitrice plus importante avec un IC₅₀ de 41nM mais il est moins sélectif, en effet il a le même potentiel inhibiteur pour les sous-types hsst4 et hsst5. Avec des valeurs d'IC₅₀ de 5 et 8 μ M, les mimes **IIB20** et **IIB21** sont des antagonistes du récepteur à intégrine $\alpha_4\beta_1$. Les composés **IIB22** et **IIB23** sont de bons agonistes du récepteur à mélanocortine comme l'attestent les valeurs des EC₅₀ respectivement de 43 μ M et 63 μ M.

II.B.1.c. Les $(\alpha_2\beta)$ -tripeptides proposés par Liskamp

Dans les systèmes ($\alpha_2\beta$)-tripeptidiques **IIB24** proposés par Liskamp²⁹, le repliement en coude β est imposé par un « linker » de type β -aminoacide qui lie les résidus i et i+3 (**Figure II.B.11**).



II.B.1.c.i. Synthèse

Cette synthèse a été effectuée sur phase solide, dans le but de l'appliquer à une méthode de synthèse parallèle pour la création d'une chimiothèque. La synthèse proposée a été décrite à travers l'exemple précis du composé **IIB36** représentatif de cette classe de composé. Elle est évidement applicable à d'autres séquences dont les exemples sont présentés à la **figure II.B.12**. Cette synthèse débute par la formation du sulfonamide **IIB30**, l'amine de la phénylalanine supportée étant préalablement déprotégée et sulfonylée par du oNBS-Cl (**Figure II.B.13**). Le sulfonamide est *N*-allylé en réagissant avec un alcool allylique dans les conditions de Mitsunobu selon la méthode développée par Fukayama³⁰, puis il est traité par une solution de mercaptoéthanol pour libérer la *N*-Allyl-Phénylalanine **IIB31**.



L'acylation du résidu amine par du chlorure d'acryloyle conduit à la formation de l'amide α , β -insaturé **IIB32** qui permet l'addition de type Michael de la benzylamine pour former le composé supporté **IIB33**. Après le couplage de la Fmoc-tyrosine suivi du clivage du groupement Fmoc, le tripeptide **IIB35** est libéré de la résine par une solution de 1% de TFA dans le DCM. Le rendement de ce précurseur linéaire est de 68% (environ 96% par étape). Puis, il est cyclisé par amidation en présence de BOP et d'HOBt en milieu basique avec un rendement de 55% pour former le composé **IIB36**. Les structures ($\alpha_2\beta$)-tripeptides cycliques offrent la possibilité d'introduire des groupements différents dans les 4 positions caractéristiques des coudes β , i, i+1, i+2 et i+3. Ils présentent donc une intéressante source de diversité. Cependant, la cyclisation finale étant lente, une épimérisation partielle au niveau du C terminal est observée. Mais surtout, ce système n'est pas stable en milieu TFA, en effet, les systèmes cycliques tripeptidiques sont connus pour se décomposer via un cyclol³¹⁻³³, or le TFA est utilisé pour déprotéger les groupes protecteurs sur les chaînes latérales.



a) (i) 20% pipéridine/DMF, 30min ; (ii) oNBS-Cl, collidine 1h ; b) (i) alcool allylique, PPh₃, DIAD, DCE, 1h ; (ii) 0,5 M 8mercaptoéthanol, DBU, 30min ; c) chlorure d'acryloyle, TEA, 16h ; d) benzylamine, LiCl, DMSO, 3jours ; e) Fmoc-Tyr(tBu)-OH, HBTU, HOAt, collidine, 16h ; f) (i) 20% pipéridine, DMF, 30 min ; (ii) 1% TFA/DCM, 10 × 2min ; g) BOP, HOBt, DIEA, 16h ; h) TFA, 30min

Figure II.B.13 : Synthèse de $(\alpha_2\beta)$ -tripeptides, mimes de coude β proposés par Liskamp.

II.B.1.d. Dipeptidosulfonamides cycliques proposés par Liskamp

Pour palier ces problèmes d'instabilité au TFA, des analogues peptidosulfonamide cycliques **IIB37**³¹ ont été proposés (**Figure II.B.14**).



Dans ces structures, la liaison hydrogène structurante des coudes β est remplacée par un résidu β -aminosulfonyle.

II.B.1.d.i. Synthèse

Comme dans le cas précédent, cette synthèse a été effectuée sur phase solide, sur une résine très acidolabile, fonctionalisée par le linker acide 4-hydroxyméthyl-3-méthoxy-phénoxy-valérique (HMPV, **Figure II.B.15**). Ce linker permet un clivage avec une solution de 1% de TFA dans le DCM et donc de préserver les groupements protecteurs présents sur les chaînes latérales. L'exemple de la synthèse du composé **IIB45** a été décrit pour montrer la synthèse de ces mimes de coude β. D'abord, la résine **IIB38** sur laquelle est fixée une Fmoc-sarcosine, est traitée par une solution de 20% de pipéridine dans la DMF. Le résidu amine déprotégé est ensuite sulfonylé par du chlorure de *N*-Fmoc-2-Benzylamino-éthanesulfonyle en milieu basique. Puis, le peptidosulfonamyle **IIB42** est obtenu par couplage de la résine **IIB41** à la Fmoc-Lys(Boc)-OH. Le groupement protecteur Fmoc est ensuite clivé et le dipeptidosulfonamide linéaire **IIB43** est libéré de la résine sous forme de sel de TFA avec un rendement de 84%. Enfin, le dipeptidosulfonamide est cyclisé en solution par traitement avec HATU/HOAt avec un rendement de 17% (composé **IIB44**).



Figure II.B.15 : Synthèse des dipeptidosulfonamides cycliques

Des sous-produits issus de l'acylation par le TFA ont été observés lors de l'étape de cyclisation. Par conséquent, lors de l'élaboration de la chimiothèque, le TFA a été éliminé par traitement avec une résine scavenger. De plus, les réactifs d'activation EDC/HOAt ont été préférés aux réactifs HATU/HOAt plus difficiles à éliminer par lavage aqueux. Cette méthode a permis de synthétiser une chimiothèque de 12 composés avec des puretés de 10 à 70% (Figure II.B.16).



II.B.1.d.ii. Evaluation de l'activité biologique

L'objectif du développement de ce système hétérocyclique était de cibler les récepteurs MC4 (MC4-R) en partant de l'hypothèse que le ligand peptidique naturel implique le coude β tétrapeptidique His-Phe-Arg-Trp. Cependant, le criblage de la chimiothèque de 12 composés effectué sur l'activation des récepteurs hMC3, hMC4 et hMC5 n'a révélé aucune activité à des concentrations d'1mM.

II.B.1.e. Mimes de coude β proposés par Kihlberg

En se basant sur les valeurs (3,5 – 3,8 Å) des distances interatomiques de la liaison hydrogène structurant les coudes β , le groupe de Kilhberg a proposé de mimer cette liaison hydrogène en la remplaçant par un lien éthylène^{34, 35} (**Figure II.B.17**). Dans cette structure **IIB46**, l'amide liant les résidus i et i+1 est substitué par un isostère éther de méthylène.



II.B.1.e.i. Synthèse

Le produit de départ de la synthèse de ces mimes est l'oxazolidinone Anti IIB52. Celle-ci est obtenue à partir de la Cbz-Tyr(Bzl)-OH IIB47 transformée en amide de Weinreb (92%) IIB48 pour obtenir la cétone **IIB49** (94%) par réaction de Grignard avec le bromure d'allylmagnesium (Figure II.B.18). Puis, la cétone est réduite pour former les alcools IIB50 et IIB51 et l'oxazolidone Anti IIB52. L'hétérocycle est séparé par chromatographie et le mélange d'alcools est traité par une solution de KOH pour conduire à la formation de l'oxazolidone Syn et de l'oxazolidone Anti IIB52. Cette dernière est isolée puis additionnée à l'autre fraction d'oxazolidone Anti IIB52 (72%). Ensuite, le composé IIB52 est hydrolysé par une solution de KOH dans un mélange eau/éthanol, à reflux pendant 6h (Figure II.B.19). L'aminoalcool IIB53 est alors obtenu puis transformé en azidoalcool IIB54 par de l'azoture de triflyle en présence d'une quantité catalytique de CuSO₄. Le résidu alcool est alors alkylé par du bromoacétate de tert-butyle en utilisant la catalyse par transfert de phase. L'oléfine du composé IIB55 obtenu est oxydée par du tétraoxyde d'osmium pour constituer le diol IIB56. Celui-ci subit une coupure oxydante par du tétraacétate de plomb pour obtenir l'aldéhyde IIB57. Dans l'étape suivante, le composé IIB58 est obtenu par amination réductrice de l'aldéhyde IIB57 avec soit le dipeptide H-Phe-Leu-OMe (IIB58a), soit H-Orn(Alloc)-ProCH₂-OTBDPS (IIB58b). Puis, les amines secondaires IIB58a et IIB58b sont couplées respectivement à des dérivés Fmoc-Gly-OH et Fmoc-Leu-OH pour donner les tripeptides IIB59a et IIB59b. Le groupement tert-butyle du résidu ester de tert-butyle est clivé en présence d'acide formique pour former l'acide correspondant IIB60. Celui-ci est ensuite transformé en ester de pentafluorophénol IIB61.



Enfin, le groupement Fmoc est clivé par traitement avec de la DBU et l'amine obtenue déplace le pentafluorophénol en intramoléculaire ce qui conduit à la cyclisation du système et à l'obtention du mime de coude β **IIB62**. Cette méthode a permis de synthétiser 2 mimes de coudes différents (**Figure II .B.20**).



a) EtOH/KOH (1M), reflux 6h; b) TfN₃, DMAP, DCM, CuSO₄, DMAP, 2h TA; c) α-bromoacétate de tert-butyle, Bu₄NHSO₄, 50% NaOH (aq) benzène ; d) NMO, OsO₄, H₂O, acétone, THF; e) Na₂CO₃, Pb(AcO)₄, benzène; f) H-Phe-Leu-OMe ou H-Orn(Alloc)-Pro-CH₂-OTBDPS, NaBH(OAc)₃, NEt₃, DCE; g) Fmoc-Gly-OH ou Fmoc-Leu-OH, HATU, DIEA, DMF; h) acide formique; i) PfpOH, DCC, EtOAc, 0°C ; j) DBU, dioxane,reflux.

Figure II.B.19 : Mimes de coude β de Leu-enképhaline



II.B.1.e.ii. Evaluation biologique

L'objectif initial des travaux de Kihlberg et al. était de mimer les 4 premiers résidus de Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu, coude β (**IIB63**) de la Leu-enképhaline (une « morphine-like » endogène) puis de l'incorporer dans la suite de la séquence peptidique, afin de constituer un analogue de la Leu-enképhaline conformationellement contraint au niveau de ce coude suspecté d'avoir un rôle majeur dans l'activité de ce peptide³⁴.



L'évaluation de l'activité de cette structure cyclique à 10 membres et d'un analogue à 7 membres a été effectuée. Cette étude a montré une très faible activité du mime à 10 membres (**IIB63**) et une très bonne bioactivité du composé (**IIB65**) comme agoniste des récepteurs aux opioïdes δ (IC₅₀ = 1,3

nM) (**Figure II.B.21**). Ce phénomène s'explique par le fait que la conformation stable du mime à 10 membres (**IIB63**) ne correspond pas à la conformation active du peptide Leu-enképhaline³⁶.

Un travail similaire a été effectué sur la structure coude β Tyr-Gly-Leu-Arg du décapeptide hormone LHRH³⁵. Le mime de LHRH a été obtenu sur phase solide incorporant le composé précurseur **IIB64** (**Figure II.B.20**). L'objectif du développement d'un tel système était de rendre la structure plus stable aux enzymes protéolytiques. Aucun test biologique n'a encore été publié à ce jour.

II.B.1.f. Mimes de coude β développés par Meldal

Le mime de coude β **IIB66** développé par Meldal est un hétérocycle à 10 membres où la liaison hydrogène entre le carbonyle du résidu i et l'hydrogène du NH du résidu i+3, est remplacée par un pont thioéther³⁷ (**Figure II.B.22**).



II.B.1.f.i. Synthèse

Cette chimie a été développée sur phase solide sur une résine PEGA₈₀₀ sur laquelle est accroché le linker Rink amide. Cette synthèse supportée débute par l'introduction de la première chaîne latérale Rⁱ⁺¹ par couplage du premier aminoacide (Figure II.B.23). Ensuite, la chaîne Rⁱ⁺² est introduite par amination réductrice entre l'amine supportée **IIB67** et le Fmoc- α -amino-aldéhyde préalablement synthétisé à partir de l'aminoacide correspondant. Cette étape a conduit à l'obtention du composé **IIB68** dont le résidu amine primaire est déprotégé pour permettre le couplage de la Fmoc-Cys(t-Bu)-OH. A partir de l'obtention de cet intermédiaire linéaire IIB69, 2 méthodes ont été mises au point conduisant à la cyclisation « on – bead » pour former l'hétérocycle IIB72. D'une part, a été développée la méthode A dans laquelle l'amine secondaire de l'intermédiaire IIB69 est acylée par de l'anhydride chloroacétique. Puis, le tert-butylthio est clivé pour libérer le résidu thiol. La cyclisation par un mécanisme de type SN₂ nécessite un chauffage entre 55 et 60°C en présence de NMM, elle est suivie par le clivage du Fmoc par traitement avec une solution de 25% de pipéridine dans la DMF. D'autre part, la méthode B a été mise au point pour éviter le chauffage, rendant l'adaptation de cette chimie en synthèse parallèle plus facile à mettre en œuvre. Le fait de ne pas chauffer implique l'utilisation d'une base plus forte et donc, de remplacer le groupement protecteur Fmoc présent sur le composé IIB69 par un groupement plus résistant aux bases fortes. La première étape de cette méthode consiste en la déprotection de l'amine primaire du résidu cystéine, puis de la protection de celle-ci par un groupement Dde par traitement avec de la 2-acétyldimédone. L'amine secondaire est ensuite acylée et le résidu thiol est déprotégé comme dans la méthode A pour former le précurseur



NEM, DMF; d) (ClCH₂CO)₂O, NEM, DCM ou PhCHClCOCl, DIEA, DCM; e) $Bu_3P/H_2O/THF$; f) NEM, DMF, Δ ; g) 2-acétyldimédone, DMF; h) DBU, DMF; i) 3% hydrazine/DMF; j) $R^{i+3}CHO$, NaBH₃CN, AcOH, DMF ou $R^{i+3}CO_2H$, TBTU, NEM, DMF; k) TFA : TIPS 95 :5; i) Alloc-Cl, DIEA, DCM; ii) Fmoc-Cys(Mmt)-OH, HATU, NEM, DMF; iii) (Ph₃P)₄Pd, CHCl₃/NEM/AcOH; iv) DCM : TFA : TIPS 90 : 3 : 7

Figure II.B.23 : Synthèse de mimes de coude β proposée par Meldal

de cyclisation **IIB71**. La cyclisation est effectuée en présence de DBU à température ambiante, puis le Dde est clivé par traitement avec une solution de 3% d'hydrazine dans la DMF pour obtenir l'hétérocycle **IIB72**. Enfin, dans les deux méthodes, le groupement Rⁱ⁺³ est introduit au niveau de l'amine primaire soit par une amination réductrice où la chaîne i+3 est liée à un aldéhyde, soit par amidation où la chaîne i+3 est portée par un acide. La résine est ensuite traitée par une solution de TFA:TIPS 95:5 pour libérer le mime **IIB66**. Une collection de 16 composés a été constituée avec des puretés déterminées par HPLC de 51% à 88%, sachant que la pureté est évaluée pour les deux isomères combinés. En effet, lors de cette synthèse, la racémisation du carbone C α portant la chaîne i+2 a été observée. Ce phénomène s'explique par le fait que ce groupement i+2 est porté par un α -aminoaldéhyde connu pour racémiser même dans des conditions douces.

II.B.1.f.ii. Evaluation biologique

Cette chimiothèque a été réalisée dans le but d'identifier un agoniste de récepteurs à mélanocortine murine (mMC) en s'appuyant sur les travaux déjà réalisés dans ce domaine. En particulier, le tétrapeptide Ac-His-DPhe-Arg-Trp-NH₂ est un agoniste nM du récepteur à Mélanocortine de type mMC1-5R (EC₅₀ = 25,6 ± 4,7 nM pour mMC1R, EC₅₀ = 195 ± 44,6 nM pour mMC3R, EC₅₀ = 10,2 ± 1,44 nM pour mMC4R, EC₅₀ = 3,46 ± 0,33 nM pour mMC5R). Le choix de la distribution des chaînes latérales de ce tétrapeptide sur l'hétérocycle **IIB66** a été privilégié pour constituer la chimiothèque à cribler. Ces travaux ont conduit à l'identification du composé **IIB66a** (**Figure II.B.24**).



Ce mime de coude β s'est révélé actif comme ligand des récepteurs à mélanocortine de type mMC1R (EC₅₀ de 165 ± 22 nM) impliqué dans la pigmentation de la peau, mMC3R (EC₅₀ = 7600 ± 1890 nM) impliqué dans l'énergie d'homéostasie, mMC4R (EC₅₀ = 650 ± 126 nM) impliqué dans la régulation de l'appétit et du comportement alimentaire, mMC5R (EC₅₀ = 335 ± 106 nM) impliqué dans la régulation des glandes exocrines. Cet agoniste est moins puissant que le tétrapeptide de départ pour l'ensemble des récepteurs mMC1-SR, de plus la sélectivité observée est également différente. En

effet, le tétrapeptide est plus sélectif de mMC5R alors que **IIB66a** semble avoir une meilleure affinité pour mMC1R en comparaison des autres récepteurs de la famille. Cependant, ce composé peut être utilisé comme modèle pour synthétiser d'autres composés non peptidique afin d'optimiser l'affinité pour les récepteurs à mélanocortine.

II.B.2. Les structures bicycliques

II.B.2.a. Tetrahydro-2*H*-pyrazino{1,2-a}pyrimidine-4,7-diones comme mimes de coude β proposés par Kahn

Le groupe de Kahn a proposé une structure bicyclique comme mime de coude β : les tétrahydro-2*H*-pyrazino{1,2-a}pyrimidine-4,7-diones **IIB67**³⁸ (**Figure II.B.25**). La rigidité de ce squelette présente un grand intérêt dans la recherche de molécules bioactives et le développement de sa synthèse sur phase solide permet la construction rapide d'une chimiothèque.



II.B.2.a.i. Synthèse

Kahn a développé cette synthèse sur 2 résines différentes³⁸ (**Figure II.B.26**). L'une comporte le linker acétal A clivé par de l'acide formique et l'autre un linker B de type oléfine clivé par oxydation au tétroxyde d'osmium et au périodate de sodium. D'abord la chaîne latérale du mime de coude β est introduite par une réaction de type SN₂ entre l'amine primaire et la résine bromure **IIB68**. L'amine secondaire supportée **IIB69** obtenue est couplée à un Fmoc- α -aminoacide puis à un Fmoc- β aminoacide ou un N^2 -Fmoc- N^3 -Alloc- β -aminoacide pour former les dipeptides supportés **IIB71a** et **IIB71b**. L'amine terminale du dipeptide **IIB71a** est déprotégée, puis elle est traitée en milieu basique, soit par un chlorure d'alkyle ou d'aryle sulfonyle, soit par un carbonate de *p*-nitrophényle et d'alkyle pour former respectivement le sulfonamide ou le carbamate correspondant **IIB72**. Le dipeptide supporté **IIB71b** porte sur la chaîne latérale i+1, une amine protégée par un groupement Fmoc. Cette amine est déprotégée et de la diversité est ajoutée par couplage à un acide carboxylique. Le groupement Alloc de l'amine terminale du dipeptide **IIB71b** est clivé. Puis l'amine est convertie en carbamate ou en sulfonamide **IIB72**. Après clivage de la résine dans les conditions appropriées au linker utilisé, l'intermédiaire acylimminium est obtenu puis cyclisé en condition acide pour former les mimes de coude β **IIB73** ou **IIB74**.



a) amine primaire, DMSO ; b) N-Fmoc-α-aminoacide, DIC, HOAt, NMP ; c) 20% pipéridine DMF ; d) N-Fmoc-β-aminoacide ou acide N²-Fmoc-N³-Alloc-2,3-diaminopropionique, DIC, HOAt ; e) ROCO(O)Np or RSO₂Cl, DIEA ; f) RCO₂H, DIC, HOBt ; g) Cat. Pd(PPh₃)₄, PhSiH₃ ; h) HCO₂H ou cat. OsO₄/NaIO₄ puis cat. TFA, DCM

Figure II.B.26 : Synthèse de mimes de coude β proposés par Kahn

Des études d'RMN bidimensionnelle (¹H-¹H ROESY, -20°C, CDCl₃) ont révélé la formation d'un seul diastéréomère, ce qui a été confirmé par la résolution de la structure cristallographique du composé **IIB75** par diffraction des RX (**Figure II.B.26**). L'efficacité de cette synthèse a été testée sur 11 composés avec des rendements allant de 22 à 71% après purification par chromatographie.



Cette synthèse efficace est cependant limitée par la disponibilité des chlorures de sulfonyle et des carbonates d'alkyle et de *p*-nitrophényle commerciaux. Par conséquent, une synthèse plus générale a été mise au point remplaçant le sulfonamide et le carbamate par un résidu urée³⁹ (**Figure II.B.27**). Pour ce faire, l'amine terminale du dipeptide supporté **IIB76** est déprotégée puis acylée par du chloroformiate de *p*-nitrophényle pour former le carbamate activé **IIB77**. Enfin, le carbamate **IIB77** est traité dans la DMF avec différentes amines primaires portant le groupement Rⁱ, puis les urées correspondantes sont clivées de la résine et cyclisées en milieu acide pour former les mimes de coude β **IIB79**.



II.B.2.a.ii. Applications biologiques

Afin d'évaluer l'activité biologique des tétrahydro-2*H*-pyrazino{1,2-a}pyrimidine-4,7-diones⁴⁰, le groupe dirigé par Kahn a testé l'affinité d'une collection de composés comportant les fonctions carbamates ou sulfonamides en position i, pour les récepteurs aux opioïdes δ et μ . Ce criblage a permis d'identifier les composés **IIB80** et **IIB81** comme inhibiteurs de ces récepteurs (**Figure II.B.28**).



Figure II.B.28 : Composés analgésiques proposés par Kahn

En effet, à une concentration de 10 μ M, le mime de coude β **IIB80**, inhibe l'activité du récepteur aux opioïdes δ à 60% et μ à 61% soient des valeurs d'IC₅₀= 6.9 ± 1.2 μ M et IC₅₀ = 5.4 ± 0.70 μ M. A la même concentration de 10 μ M, le mime **IIB81** a une activité inhibitrice de 92% du récepteur aux opioïdes δ et de 98% de celui aux opioïdes μ . La méthode de synthèse présentée à la **figure II.B.27** a permis d'augmenter la diversité en Rⁱ et d'identifier d'autres inhibiteurs plus puissants pour les récepteurs aux opioïdes μ . Les mimes **IIB82** et **IIB83** ont montré de meilleures affinités pour le récepteur aux opioïdes μ . A une concentration de 0.1 μ M, le composé **IIB82** inhibe à 91% la liaison

spécifique avec le récepteur aux opioïdes μ , le composé **IIB83** l'inhibe à 101%. Les valeurs d'IC₅₀ déterminées sont de 27nM pour le mime **IIB82** et de 9nM pour le mime **IIB83**. Ces caractéristiques inhibitrices confèrent à ces molécules des propriétés analgésiques. En particulier, les propriétés analgésiques de l'inhibiteur **IIB83** sont semblables à celle de la morphine.

D'autres criblages réalisés sur ce type de composé ont été effectués sur d'autres cibles. Une activité inhibitrice de la croissance des cellules SW480^{42, 43} du composé **IIB84** a été identifiée avec un IC₅₀ de 8.07 μ M. Ce composé s'est avéré être un bon inhibiteur de la voie d'activation de la transcription TCF4/ β -caténine et de l'expression de la survivine connue pour être une des protéines anti-apoptotiques (**Figure II.B.29**).



II.B.2.b. Les hexahydro-pyrazino[2,1-c][1,2,4]triazine-4,7-diones comme mimes de coude β proposés par Kahn⁴⁴

II.B.2.b.i. Synthèse

Une synthèse dérivée de celle décrite dans la section II.B.2.a.i permet d'avoir accès aux hétérocycles hexahydro-pyrazino[2,1-c][1,2,4]triazine-4,7-dione (**Figure II.B.30**). Ces composés sont obtenus à partir du bromure **IIB85**. Le traitement de ce bromure par une amine primaire conduit à la formation de l'intermédiaire **IIB86** qui, couplé à un Fmoc- α -aminoacide, forme le composé **IIB87**. L'amine terminale de l'aminoacide supporté **IIB87** est déprotégée et couplée à une hydrazine acide analogue de θ -aminoacide. Si l'hydrazine est protégée par un méthoxycarbonyle (cas (1)), l'analogue de dipeptide **IIB88** est directement cyclisé par traitement à l'acide formique (composé **IIB89(1)**). Si elle est protégée par un groupement Fmoc, elle est déprotégée par 25% de pipéridine dans la DMF, puis, soit traitée avec un isocyanate (cas (2)) pour former l'urée correspondante **IIB89(2)**, soit traitée par un chloroformiate de *p*-nitrophényle en milieu basique (cas (3)) pour obtenir le carbamate attendu **IIB89(3)**. Dans les deux cas le précurseur formé est clivé de la résine et cyclisé à l'acide formique.


Figure II.B.30 : Synthèse d'hexahydro-pyrazino[2,1-c][1,2,4]triazine-4,7-diones, mimes de coude β



II.B.2.b.ii. Activités biologiques

Cette synthèse conduit à la formation de composés analogues de ceux dont le développement à été décrit en II.B.2.a ce qui permet d'ajouter de la diversité. Ces composés bicycliques ont pu être testés

sur les mêmes cibles. Par exemple, le composé **IIB90** a montré une activité inhibitrice de la croissance des cellules HCT116 et SW480 avec des valeurs d'inhibition de croissance $GI_{50} < 0.3 \ \mu M$ (**Figure II.B.31**). En comparaison avec le composé **IIB84** (section II.B.2.a.ii) également un inhibiteur de la croissance des SW480, le mime **IIB90** a une activité plus importante.

II.B.2.c. Tetrahydro-imidazo[1,2-a]pyrazine-3,6-diones proposés par Kahn⁴⁵



II.B.2.c.i. Synthèse

DMF; e) isocyanate, DCM ou chloroformiate, DIEA, DCM ou chlorure de sulfonyle, DIEA, DCM ; f) acide formique.

Figure II.B.32 : Synthèse de tétrahydro-imidazo[1,2-a]pyrazine-3,6-diones mimes de coude β

La méthode de synthèse de ces mimes de coude β est semblable à celle décrite en section II.B.2.b.i. Elle diffère uniquement au niveau de l'étape de formation du dipeptide **IIB94 (Figure II.B.32)**. En effet, l'aminoacide supporté **IIB93** est couplé à un α -aminoacide ce qui conduit à la formation d'un bicycle à 5 et 6 membres **IIB95a-c**.

II.B.2.c.ii. Evaluation biologique

Cette synthèse a permis la réalisation d'une chimiothèque. Un criblage de cette chimiothèque sur les intégrines $\alpha_4\beta_1$ a montré une activité d'inhibition de la liaison du peptide CS1 à l'intégrine $\alpha_4\beta_1$. Sur l'ensemble des composés criblés, le composé **IIB96** a été identifié comme un antagoniste avec un IC₅₀ inférieur à 10µM, il a une activité inhibitrice de l'adhésion cellulaire et il est actif comme agent anti-inflammatoire (**Figure II.B.33**).



II.B.2.d. Dicétopipérazines bicycliques proposées par Golebiowski

La 2,5-dicétopipérazine représente l'un des systèmes peptidiques les plus élémentaires. En effet, le dipeptide est cyclisé par formation d'un lien amide entre les extrémités *N*-terminale et *C*-terminale. Golebiowski a développé des dicétopipérazines bicycliques comme mimes de coude β . Deux générations de ce type de système ont été mises au point : une première, avec une voie de synthèse ayant comme étape clef la réaction de Petasis (**IIB97**)⁴⁶, et une seconde, permettant d'augmenter la diversité en position i+2, faisant appel à la réaction de Ugi (**IIB98**)^{47,48}(**Figure II.B.34**).



II.B.2.d.i. Synthèse de la première génération

D'abord, l'acide pipérazine-2-carboxylique **IIB99** est accroché à une résine hydroxyméthyle dans les conditions de Mitsunobu (**Figure II.B.35**). Après déprotection du groupement Boc, la réaction de Petasis est effectuée par traitement avec de l'acide glyoxylique et de l'acide boronique portant le groupement R¹. Le groupement R² est introduit par couplage d'une amine primaire sur le résidu acide du composé supporté **IIB101**. Ensuite, le groupe protecteur Fmoc est clivé puis l'amine résiduelle est couplée à un Boc- α -aminoacide. Après déprotection de l'amine, le mime de coude β **IIB97** est libéré de la résine par cycloclivage.



Figure II.B.35 : Synthèse de mimes de coude β décrite par Golebiowski (1^{ère}génération)

Cette synthèse a permis de réaliser une chimiothèque de mimes de bonnes puretés, de 70 à 88 %. Cette voie de synthèse permet de contrôler 3 des 4 centres chiraux. Cependant, il est difficile d'introduire de la diversité en position i+2 compte tenu de la faible disponibilité commerciale d'acides pipérazine-2-carboxyliques présentant des groupements en position 5 et 6.

II.B.2.d.ii. Synthèse de la deuxième génération

Une seconde génération de mimes de coude β a été développée permettant d'introduire de la diversité en position i+2 grâce à une nouvelle voie de synthèse dont l'étape clef est une réaction de Ugi (**Figure II.B.36**). Comme pour la première génération de mimes de coude β , la résine utilisée est la résine hydroxyméthyle polystyrène à laquelle est accroché l'acide N^2 -Boc- N^3 -Fmoc-(L ou D)-2,3-diaminopropionique dans les mêmes conditions de Mitsunobu qu'en section II.B.2.d.i, pour obtenir l'aminoacide supporté **IIB103**.



Figure II.B.36 : Synthèse de mimes de coude β décrite par Golebiowski (2^{ème} génération)

Le groupement protecteur Fmoc est clivé puis l'amine supportée obtenue réagit avec un aldéhyde, un isocyanure, et un acide 2-bromoalkyle dans une réaction de Ugi pour former le composé supporté **IIB104**. Après clivage du Boc, le composé cyclisé **IIB105** est obtenu par un mécanisme de type SN₂ en milieu basique. Après déprotection de son résidu amine, l'intermédiaire est couplé à un Bocaminoacide, puis traité au TFA, et enfin, il est cyclisé en milieu acide à 50°C. La stéréochimie du carbone au niveau de la jonction bicyclique des composés finaux (**IIB106a** et **IIB106b**) dépend de la stéréochimie de l'acide diaminopropionique utilisé en début de synthèse. Par conséquent, elle est maîtrisée et elle n'a pas d'influence notable sur les rendements de synthèse (24 à 55%) et sur la pureté des produits de cyclisation (52 à 88% déterminée par HPLC).

II.B.2.e. Dicétopipérazine proposée par Kahn et Kim

Une stratégie de synthèse de dicétopipérazines bicycliques comme mimes de coude β a été proposée par Kahn et Kim⁴⁹. Cette synthèse représente une alternative en solution des synthèses que propose Golebiowski (**Figure II.B.37**).



71% ; d) O_3 , CH_2Cl_2 , -78°C ; e) *N*-benzyl-Gly-OBn, 41% ; f) TFA, solution saturée de NaHCO₃, 77% ; g) H_2 , PtO₂, MeOH, 56%

Figure II.B.37 : Synthèse de mimes de coude β dicétopipérazine proposée par Kahn et Kim

D'abord le dipeptide **IIB108** est obtenu quantitativement par couplage du *N*-benzyl-glycinate d'éthyle et de la *N*-Boc-alanine. L'ester d'éthyle est saponifié, puis l'acide obtenu est couplé au cyanométhylène-triphénylphosphorane avec un rendement de 71%. L'intermédiaire **IIB109** obtenu, traité par ozonolyse, conduit à la formation d'un intermédiaire α -cétoacide qui, couplé au *N*-benzyl-

glycinate d'éthyle, permet d'obtenir le composé **IIB110** avec un rendement de 41%. Le clivage du boc par traitement au TFA permet d'obtenir le composé bicyclique **IIB111** avec un rendement de 77%. L'oléfine de cet intermédiaire est réduite avec du dihydrogène en présence de catalyseur oxyde de platine (56% de rendement). Cette synthèse permet d'avoir accès en 7 étapes à un système bicyclique **IIB112** semblable à celui développé par Golebiowski (**Figure II.B.38**). Elle présente l'intérêt de donner la possibilité d'introduire de la diversité en position i+2 sans la nécessité d'ajouter un carbonyle supplémentaire comme dans les systèmes **IIB97** et **IIB113**. Cependant, cette voie n'a pas été testée avec d'autres aminoacides, de plus elle ne permet pas de synthétiser un grand nombre de composés.



Chapitre III. Exploration de la diversité moléculaire à partir d'hétérocycles de petite taille (≤7 membres) dérivés de dipeptides

Chapitre III. Exploration de la diversité moléculaire à partir d'hétérocycles de petite taille (≤7 membres) dérivés de dipeptides

Nous avons présenté différents hétérocycles dérivés de dipeptides dont le but était de mimer des coudes β . De tels systèmes hétérocycliques sont également mis au point dans le but de profiter du large panel d'aminoacides disponibles et du nombre important de combinaisons entre ces aminoacides pour créer de la diversité moléculaire. En effet, depuis quelques années, la synthèse de chimiothèques combinatoires orientées vers la création de diversité, est devenue un enjeu important dans le domaine de la biologie chimique et la chimie médicinale⁵⁰⁻⁵⁴, notamment du fait de l'émergence de nouvelles méthodes de criblage à haut débit (HTS) qui ont accru la demande de nouvelles substances à tester⁵⁰. Dans ce domaine, la chimie hétérocyclique occupe une place centrale car bons nombres de composés hétérocycliques ont montré diverses activités biologiques et pharmacologiques, dues en partie à leur similarité avec des molécules naturelles dont l'activité biologique est connue^{53, 55}. De plus, les structures hétérocycliques substituées offrent un haut degré de diversité structurale permettant d'identifier des composés « lead » qui servent à la compréhension de la relation structure-activité (RSA), puis à l'optimisation de l'activité pour constituer de nouveaux agents thérapeutiques⁵⁰⁻⁵². C'est dans cette optique que nous nous sommes intéressés à cette classe de composés et en particulier aux châssis hétérocycliques dérivés de dipeptides qui exploitent la diversité des aminoacides, la diversité structurale dépendant de la flexibilité des châssis moléculaires obtenus. De plus, ces systèmes sont des cycles azotés qui présentent souvent l'avantage d'une bonne solubilité et la possibilité de former des sels : deux propriétés importantes pour l'absorption par voie orale et la biodisponibilité^{53, 56}.

Nous avons choisi de faire un rapport sur les systèmes hétérocycliques dérivés de dipeptides déjà développés dans la littérature. Nous nous limiterons à des structures cycliques ou polycycliques n'excédant pas 7 membres. Nous considérons comme cycle dérivé de dipeptide, un cycle dont l'un des intermédiaires est un dipeptide ou un pseudo-dipeptide, c'est-à-dire deux aminoacides couplés par une liaison amide (**Figure III.1**). Ces aminoacides peuvent être des α -aminoacides, des β -aminoacides ou encore des dérivés d'acide anthranilique.



III.A. Les 2,5-dicétopipérazines

Le châssis 2,5-dicétopipérazine (DKP) **IIIA1** est l'archétype de tels systèmes dipeptidiques cycliques. Il s'agit d'un cycle à 6 membres avec deux liaisons amide (**Figure III.A.1**).



Les premiers travaux sur cet hétérocycle ont été effectués au XIX^{ème} siècle, avec la formation de la dicétopipérazine symétrique cyclo-[Gly-Gly] obtenue par chauffage d'une solution de glycine traitée avec un flux de CO₂ ou d'HCl gazeux⁵⁷. Depuis, ces cycles ont été l'objet de nombreux travaux (sur scifinder, 3391 références impliquent des DKP, soit 25834 composés dont 3708 sont appliqués en biologie (26 juin 2010)). Plus récemment, la découverte de leurs propriétés biologiques et de leur présence dans de nombreux produits naturels ont accru leur intérêt⁵⁸. De plus, ces hétérocycles sont résistants à la protéolyse, ils offrent la possibilité de mimer les groupements pharmacophores peptidiques et de contrôler la stéréochimie des substituants. Ils sont conformationellement rigides et comportent des résidus donneurs et accepteurs de liaison hydrogène. De telles propriétés ont motivé la création de chimiothèques combinatoires de large dimension dans la perspective de création de diversité pour identifier de nouveaux composés « lead ». Pour ce faire, les méthodes de synthèse utilisées sont également diverses et variées, mettant en application la chimie en solution, la chimie sur phase solide, les réactions « multi-component » telles que les réactions de Ugi et de Petasis ou encore la chimie assistée par les microondes^{57, 59}. Le nombre d'applications de ces composés en chimie médicinale est déjà considérable. L'inhibition de l'inhibiteur-1 de l'activateur plasmogène (PAI-1); l'altération des fonctions cardiovasculaires et de coagulation du sang; des activités antitumorales, antivirales, antifongiques, antibactériennes et antihyperglycémiques; des affinités pour le canal au calcium et pour les récepteurs aux opioïdes, au GABA, à la sérotonine 5-HT_{1A} et à l'oxytocine en sont quelques exemples⁵⁹. Les propriétés remarquables des dicétopipérazines ont encouragé le développement d'autres châssis hétérocycliques dérivés de dipeptides que nous montrerons plus en détail.

III.B. Les benzodiazépines

Les benzodiazépines font partie d'un important groupe d'agents thérapeutiques. En particulier, les 1,4-benzodiazépines sont les plus répandues. Elles sont utilisées pour leurs activités anxiolytique, de sédatif/hypnotique, d'anticonvulsant, de relaxant musculaire et pour leur propriété tranquillisante. Actuellement, les benzodiazépines font partie des molécules les plus fréquemment prescrites^{51, 60-62}. Certaines benzodiazépines sont obtenues à partir de dipeptides, les 1,4-benzodiazépine-2,5-diones, les pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazépine-5,11-diones et certaines 1,4-benzodiazépine-5-ones.





Comme bon nombre de benzodiazépines, les 1,4-benzodiazépin-2,5-diones (**IIIB1**) constituent une classe de composés bioactifs (**Figure III.B.1**). Les activités de ces molécules sont diverses : mime de tripeptide RGD responsable de l'inhibition de l'agrégation des plaquettes, ce qui confère à ce type de composé des activités antithrombotique ⁶³⁻⁶⁵, d'agents anticonvulsants⁶⁶⁻⁶⁸, antagonistes de l'interaction protéine-protéine Hdm2-p53⁶⁹⁻⁷², antagonistes des récepteurs aux opioïdes^{73, 74}, antagonistes de l'intoxication à l'éthanol^{75, 76} et même d'herbicides⁷⁷. Cet hétérocycle a donc été déjà très étudié, et de nombreuses synthèses d'1,4-benzodiazépin-2,5-diones sont publiées, les plus intéressantes dans la perspective de création de diversité sont celles décrites sur phase solide facilitant la génération de chimiothèques.

III.B.1.a. Synthèse

Une des premières synthèses supportées a été proposée par Goff et Zuckermann⁷⁸ (**Figure III.B.2**). Cette méthode a été mise au point pour construire une chimiothèque de composés hybrides peptoïde-1,4-benzodiazépin-2,5-dione. Pour ce faire, le peptoïde **IIIB3** est assemblé sur une résine de type Rink amide **IIIB2**, en utilisant la méthode classiquement utilisée pour la synthèse de ce type de peptidomimétique, c'est-à-dire, l'acylation par de l'acide bromoacétique suivie du déplacement du brome par une amine primaire. Le résidu amine secondaire de ce peptoïde est acylé par un chlorure d'*o*-azidobenzoyle en milieu basique pour former le précurseur **IIIB4**. Le traitement de celui-ci par une solution de tributylphosphine à température ambiante conduit à la formation d'un intermédiaire iminophosphorane qui cyclise à 130°C. L'éthylimino éther obtenu lors de cette réaction d'aza-Wittig est clivé et transformé en 1,4-benzodiazépin-2,5-dione finale **IIIB5** par traitement avec un mélange TFA/H₂O. L'évaluation de l'efficacité de cette synthèse à été effectuée sur une petite chimiothèque de 21 composés. Les rendements obtenus sont modestes, mais les puretés sont excellentes. En effet, plus de la moitié de ces hétérocycles sont synthétisés avec un rendement inférieur à 60%, mais la moyenne des puretés est de 78%.



Mayer et al. ont proposé une méthode permettant d'obtenir l'hétérocycle attendu par cycloclivage de la résine⁷³ (**Figure III.B.3**). Le précurseur peptidique linéaire **IIIB9** est obtenu à partir d'une résine de Wang fonctionnalisée avec un aminoacide. Deux voies d'accès à ce composé ont été mises au point : soit l'acylation de l'aminoacide par un acide *o*-nitrobenzoïque suivie de la réduction du groupement nitro par du chlorure d'étain, soit l'acylation par un Fmoc-*o*-anthranilique puis le clivage du groupement Fmoc.



SnCl₂/DMF ; e) NaOtBu/THF, 60°c

Figure III.B.3 : Synthèse de 1,4-benzodiazépin-2,5-dione via un processus de cycloclivage

Enfin, l'hétérocycle final **IIIB10** est obtenu par traitement avec du tertiobutanolate de sodium à 60°C. Le cycloclivage est un procédé très efficace. En effet, 11 composés ont été synthétisés en utilisant cette voie, les puretés obtenues sont excellentes de 81 à 99%.

Plus récemment, le groupe de Martinez a développé une synthèse d'1,4-benzodiazépin-2,5-diones **IIIB11** comportant une chaîne acide et une chaîne amine protégée dans le but de l'incorporer comme building block dans un peptide⁷⁹ (**Figure III.B.4**).



Cette synthèse nécessite également une étape de réduction d'un groupement nitro pour laquelle 11 conditions différentes ont été testées afin de l'optimiser. Ces essais ont confirmé l'efficacité du traitement du précurseur **IIIB12** par une solution de chlorure d'étain à une concentration de 2M à 60°C (**Figure III.B.5**). Cette opération conduit à la cyclisation du dipeptide. L'hétérocycle obtenu **IIIB13** est ensuite clivé de la résine.



L'une des premières voies de synthèse de ce type de composés a été proposée par le groupe d'Ellman (1995). Cette synthèse a été effectuée sur une résine de type benzaldéhyde^{65, 68} (**Figure III.B.6**).



Figure III.B.6 : Synthèse de 1,4-benzodiazépin-2,5-diones proposée par Ellman

D'abord l' α -aminoester de méthyle est lié à la résine aldéhyde **IIIB15** par une amination réductrice. L'aminoester supporté **IIIB16** est ensuite couplé avec un acide anthranilique en présence d'EDC. Le dipeptide obtenu **IIIB17** est cyclisé en présence d'acétanilure de lithium et alkylé in situ par un halogénure d'alkyle. Enfin, l'hétérocycle 1,4-benzodiazépin-2,5-dione **IIIB19** est clivé de la résine par traitement avec une solution de TFA pour libérer le composé final **IIIB20**. Cette méthode diffère des précédentes car le goupement amino de l'acide anthranilique n'est pas protégé sous forme de nitro ou d'azoture. Cette stratégie a permis la création d'une chimiothèque de 2508 composés à partir de building block commerciaux. 23 membres de cette collection ont été choisis au hasard et leurs rendements de synthèse ont été déterminés. Les rendements obtenus sont bons dans l'ensemble, de 40 à 92%.

Ettmayer et al. ont mis en application cette méthode décrite par Ellman pour avoir accès à une chimiothèque de 7-acylamino-1,4-benzodiazépin-2,5-diones sur phase solide⁸⁰ (**Figure III.B.7**), sachant qu'un hétérocycle issu de cette famille est connu pour être un puissant inhibiteur de la synthèse d'IgE dans les cellules B-humaines. La synthèse commence par la formation de l'hétérocycle **IIIB21** dérivé d'acide 5-nitroanthranilique. Le groupement nitro est ensuite réduit. Enfin, l'acylation du groupement amino (**IIIB23**) obtenu suivie du clivage de la résine conduit à l'obtention du produit final **IIIB24**.



Les stratégies de synthèse faisant intervenir des réactions multi-composés (MCR) sont très intéressantes dans l'optique de création de diversité. En effet, très souvent, ces réactions n'ont besoin que d'une étape et les produits sont obtenus avec des rendements très élevés. Ces MCR et principalement la réaction de Ugi ont été utilisées pour générer des 1,4-benzodiazépin-2,5-diones sur phase solide. Hulme et al. a proposé une stratégie de synthèse partant d'une résine de Wang sur laquelle est accroché un *N*-Fmoc-aminoacide⁸¹ (Figure III.B.8). Le Fmoc est ensuite clivé et l'amine résultante IIIB25 est libre pour intervenir dans une réaction de Ugi en présence d'un excès d'aldéhyde, d'isonitrile et d'acide *N*-Boc-anthranilique. Le dipeptide supporté IIIB26 formé est clivé de la résine par traitement au TFA et cyclise spontanément pour obtenir la 1,4-benzodiazépin-2,5-dione IIIB27 En appliquant cette stratégie en synthèse parallèle, une chimiothèque de 9750 composés a été construite. La pureté de ces composés a été évaluée par analyse LC/MS révélant que 64% des hétérocycles ont une pureté de 76 à 100%.



a) R¹CHO (3éq), acide N-Boc-anthranilique (3éq), R³NC (3éq), MeOH/DCM (1 : 1) ; b) 10% TFA/DCM

Figure III.B.8 : Synthèse d'1,4-benzodiazépin-2,5-dione via une condensation de Ugi proposée par Hulme et al.

Kennedy et al. ont mis au point une synthèse de d'1,4-benzodiazépin-2,5-diones dont le précurseur peptidique supporté **IIIB29** est obtenu lors d'une réaction de Ugi à partir de la résine isonitrile **IIIB28**⁸² (**Figure III.B.9**). Ce dipeptide est clivé de la résine par traitement avec du tertiobutanolate de potassium pour générer la *N*-acyloxazolidinone **IIIB30**. L'addition de méthanolate de sodium conduit à la formation de l'ester **IIIB31** qui cyclise en milieu acide pour former l'hétérocycle attendu **IIIB32**. Avec cette méthode 80 bicycles 1,4-benzodiazépin-2,5-dione ont été synthétisés en parallèle. Après purification avec des scavengers à base de silice, la pureté de ces composés a été évaluée par HPLC/UV/MS. Les valeurs de pureté mesurées avoisinent les 80%.



a) R²CH₂NH₂ (10 éq), R¹CHO (10éq), N-R³-anthranilique acide (10éq), trifluoroéthanol, THF, TA, 3j ; b) KOtBu (2 éq), THF, TA, 16h ; c) NaOMe (1,2 eq), MeOH/THF, TA, 48h ; d) HFIP/TFA (70 : 30), TA, 48h ; e) Silicycle TMA-carbonate, THF, 6h ; f) Silicycle isocyanate-3, THF, 16h.

Figure III.B.9 : Synthèse d'1,4-benzodiazépin-2,5-dione via une condensation de Ugi proposée par Kennedy et al.

III.B.2. Les Pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazépine-5,11-diones

Les Pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazépine-5,11-diones (PBD) sont des benzodiazépindiones tricycliques dérivées de dipeptides. Cette classe de composés s'est révélée très intéressante en raison des activités biologiques observées. En effet, certaines de ces benzodiazépines ont montré des activités antibiotiques ou antitumorales⁸³. Elles sont utilisées comme intermédiaire dans la synthèse de la tomaymycine et de la Chicamycine⁸⁴⁻⁸⁷ et d'autres composés bioactifs tels que des sédatifs et des dépresseurs psychomoteurs⁸³.

Kamal et al. ont proposé une méthode de synthèse de ces hétérocycles sur une résine de Wang⁸⁸ (**Figure III.B.10**). Le nitrohydroxybenzoate de méthyle est d'abord fixé à cette résine dans les conditions de Mitsunobu. La forme acide du composé **IIIB34** est obtenue par saponification de la fonction ester de méthyle pour être couplée à un prolinate de méthyle. La fonction nitro du composé **IIIB35** est ensuite réduite par traitement avec du chlorure d'étain et le dipeptide obtenu peut cycliser à 40°C. Après l'alkylation du résidu amide secondaire du tricycle supporté **IIIB36**, la résine est traitée par une solution de TFA dans le DCM permettant la libération du pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazépine-5,11-dione **IIIB38** attendu.



Figure III.B.10 : Synthèse de Pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazépine-5,11-diones via une réduction par du chlorure d'étain

Cette méthode a permis l'élaboration d'une petite chimiothèque de 14 composés avec des rendements de 52 à 84% après purification.

L'emploi du chlorure d'étain comme réducteur des fonctions nitro et azoture s'est avéré efficace. Cependant, il présente tout de même le désavantage de rester lié à la résine malgré les rinçages. Et sa libération lors du processus de clivage conduit à la contamination du produit final. C'est pourquoi Kamal a mis au point une méthode utilisant l'indium comme réducteur de nitro ou d'azoture⁸³ (**Figure III.B.11**). En effet, le précurseur supporté **IIIB39** est traité par de l'indium chauffé à reflux de DMF ou d'éthanol. Le dipeptide obtenu cyclise puis il est clivé de la résine par une solution de TFA libérant l'hétérocycle **IIIB41**.







La majorité des benzodiazépines biologiquement actives est issue de la classe des 1,4benzodiazépine-5-ones. Le groupe de Bräse a mis au point une synthèse d'1,4-benzodiazépine-5ones dérivées de dipeptides conjuguant synthèse supportée de dipeptide et réaction d'aza-Wittig en solution avec une phosphine supportée^{89, 90} (**Figure III.B.12**). Cette stratégie débute par la diazotation de l'acide anthranilique **IIIB42** suivie du couplage à une résine benzylamine pour former le triazène **IIIB43**. Ensuite, le couplage de ce composé à un aminoester de méthyle permet la formation du dipeptide **IIIB44**. Le clivage de la résine en milieu acide conduit à la libération du sel de diazonium qui réagit immédiatement avec le TMS-N₃ par transfert d'azoture. Au final, le précurseur linéaire obtenu **IIIB45** est cyclisé par une réaction d'aza-wittig. L'utilisation de la phosphine supportée permet d'obtenir l'hétérocycle attendu **IIIB46** sans purification avec des puretés de 68 à 99%. Ce type d'1,4benzodiazépine-5-ones permet l'accès aux 1,4-benzodiazépin-2,5-diones par simple hydrolyse acide⁹⁰.

III.C. Les 1,4-diazépan-2,5-diones

Nous avons déjà montré, au chapitre I, que la cyclisation des peptides ou l'utilisation de β aminoacides conduit à des structures peptidiques plus stables vis-à-vis des enzymes protéolytiques. Le châssis 1,4-diazépan-2,5-dione **IIIC1** est une classe d'hétérocycles dérivés de dipeptides α , β combinant ces deux concepts de stabilisation⁹¹ (**Figure III.C.1**). Ces systèmes hétérocycliques sont des analogues à 7 membres des dicétopipérazines dont les applications en chimie médicinale sont multiples. Toutefois, II existe très peu d'exemples de travaux sur cette famille, probablement dû à la difficulté à cycliser le dipeptide α , β ⁹².



III.C.1. Synthèse

Une chimiothèque de 2720 membres de cette classe de composés a été proposée par Krchňák et Weichsel⁹³. Cette synthèse a été effectuée sur une résine 2-chlorotrityle sur laquelle est attachée une diamine secondaire ou un aminoalcool *N*-alkylé (**Figure III.C.2**). Ce produit de départ **IIIC2** est ensuite acylé par un FmocAsp(OAII)OH, puis le groupement Fmoc est clivé pour former le composé **IIIC3**. L'alkylation de l'amine par amination réductrice, suivie de l'acylation par de l'acide bromoacétique en présence de TFFH permet l'obtention de l'intermédiaire **IIIC4**. Le brome est ensuite déplacé par une amine primaire et le dipeptide **IIIC5** est formé. Par la suite, le groupement protecteur allyle est clivé et un traitement par du DPPA en milieu basique conduit à la formation de l'azoture d'acyle et à la cyclisation par substitution intramoléculaire de l'azoture par l'amine secondaire. L'hétérocycle supporté obtenu **IIIC6** est alors clivé de la résine pour libérer la 1,4-diazépan-2,5-dione **IIIC7** attendu. L'efficacité de cette stratégie a été démontrée par la détermination des puretés de chacun des châssis obtenus (76 à 96%).



Figure III.C.2 : Synthèse de perhydro-1,4-diazépine-2,5-diones passant par un intermédiaire azoture d'acyle

Le groupe de Houghten s'est également intéressé à ce châssis hétérocyclique⁹⁴. Le dipeptide de départ **IIIC8** supporté par une résine de type MBHA est obtenu par deux couplages d'aminoacides, avec l'acide aspartique comme premier aminoacide couplé, suivis de deux monoalkylations réductrices des résidus amino (**Figure III.C.3**). Le groupement protecteur tertiobutyle est clivé par traitement avec une solution de 60% de TFA dans le DCM. Puis, le couplage intramoléculaire thermodynamiquement favorable de l'acide résultant et du résidu amine secondaire est effectué en présence de HATU en milieu basique. L'hétérocycle formé **IIIC9** est alors clivé de la résine. 40 diazépines ont été synthétisées en parallèle avec des puretés variant de 15 à 87%. Les faibles valeurs de puretés sont principalement dues à la difficulté des couplages avec des amines secondaires ou à la dialkylation des résidus amine.



Le groupe de Martinez a également travaillé au développement de ce type d'hétérocycle. Avant de mettre au point une synthèse sur phase solide, une étude en solution a été réalisée⁹² (**Figure III.C.4**). Le θ -aminoacide **IIIC11** est couplé à un α -aminoester de tertiobutyle. Le dipeptide obtenu **IIIC12** est ensuite traité par une solution de 30% de TFA dans le DCM, puis cyclisé en présence de BOP et de DIEA à -30°C. La cyclisation conduit à un mélange racémique d'1,4-diazépine-2,5-diones avec les groupements méthoxycarbonyles en *trans*.





Cette stéréochimie a été confirmée par des études cristallographiques (Figure III.C.5).

La synthèse sur phase solide de ce type d'hétérocycle proposée par Martinez, a été décrite à partir de l'exemple de la 1,4-diazépine-2,5-dione dérivée de la séquence peptidique Phe- β Ala⁹⁵ (**Figure III.C.6**). Cette méthode est analogue à celle utilisée par Ellman pour avoir accès aux 1,4-benzodiazépin-2,5-diones^{65, 68}. Sur la résine benzaldéhyde **IIIC15**, la H- β -Ala-OBzl est accrochée par amination réductrice pour former l'amine secondaire **IIIC16**. L'acylation de celle-ci par la Fmocphénylalanine traitée par du DIC permet d'obtenir le dipeptide supporté **IIIC17**. Au final, le Fmoc est clivé et la cyclisation est effectuée en présence de DBU dans le DMSO à 60°C. Après le clivage acidolytique, la diazépine **IIIC19** est obtenue avec 97% de pureté. Cette méthode se voudrait générale et applicable en synthèse parallèle. Cependant, Müller-Hartwieg et al. ont montré qu'en utilisant une méthode similaire à celle de Martinez, peu de séquences conduisaient au produit attendu⁹¹.



L'équipe de Taddei a proposé une stratégie de synthèse du squelette 1,4-diazépine-2,5-dione dans le but de l'incorporer dans un peptide⁹⁶ (**Figure III.C.7**). En partant d'une résine 2-chlorotrityle fonctionalisée par une hydroxylamine **IIIC20**, le dipeptide **IIIC21** contenant une sérine a été construit en stratégie Fmoc. La cyclisation est ensuite effectuée par substitution intramoléculaire de la fonction hydroxyle de la sérine par le NH de la fonction hydroxamate, dans les conditions de Mitsunobu.

Ces conditions ont fait l'objet d'un travail d'optimisation qui a abouti à l'utilisation des microondes (60W à 210°C) en présence de DIAD. L'hétérocycle **IIIC23** dérivé de la séquence SerPhe, qui a servi d'exemple, a été synthétisé avec un rendement de 66%.



La possibilité d'insertion de cet hétérocycle dans un peptide a été illustrée par l'exemple de la synthèse du composé **IIIC25** obtenu par couplage d'une glycine et d'une proline au châssis 1,4-diazépine-2,5-dione **IIIC24** issu de la séquence SerGlu (**Figure III.C.8**).



III.C.2. Applications biologiques

Des activités biologiques intéressantes ont été mises en évidence, notamment par Wattanasin et al. qui ont identifié les 1,4-diazépine-2,5-diones **IIIC26** et **IIIC27** comme antagonistes de l'intégrine LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen-1)⁹⁷ (**Figure III.C.9**). Ces inhibiteurs ont des activités de l'ordre du nanomolaire avec respectivement 24nM et 69nM. La révélation de la structure du complexe composé **IIIC27**/LFA-1 par diffraction des RX a montré le mode de liaison de cette molécule avec le domaine I.



Takeda Chemical Co. a décrit l'isolation de 4 composés issus de *Flexibacter* sp. PK-74 et PK-176 dont deux comportent le squelette 1,4-diazépine-2,5-dione^{98, 99}. Ces composés dipeptidiques identifiés sous la forme de TAN-1057A-D ont montré une activité antibiotique puissante contre le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA). Les composés TAN-1057 C et D qui comportent l'hétérocycle diazépine inhibent cette bactérie avec des concentrations minimales d'inhibition (CMI) respectivement de 50 et 6,25 µg/mL (**Figure III.C.10**).



Figure III.C.10 : 1,4-diazépine-2,5-diones inhibiteurs de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (MRSA)

III.D. Hétérocycles dérivés de dipeptides réduits en polyamines

Les peptides peuvent être réduits en polyamines. Les polyamines présentent des propriétés pharmacologiques très intéressantes, elles constituent une des classes de composés capables d'interagir avec les trois biopolymères naturels : les protéines, les acides nucléiques et les oligosaccharides¹⁰⁰. Le groupe de Houghten a développé des méthodes de synthèse d'hétérocycles utilisant comme précurseur des polyamines chirales supportées issues de la réduction des fonctions amide de peptides supportés. Ces peptides sont constitués d'un nombre variable de résidus. Des exemples impliquant des dipeptides ont également été proposés et sont décrits ci-dessous.

III.D.1. Guanidines bicycliques

Bon nombre de composés naturels présentent un résidu guanidino, le caractère cationique de ce motif est souvent très important pour leur activité biologique^{101, 102}. Le groupe de Hougten a décrit une guanidine bicyclique **IIID1** comme châssis hétérocyclique pouvant supporter différents groupement afin de constituer une chimiothèque combinatoire et d'exploiter les propriétés du motif guanidino (**Figure III.D.1**).



III.D.1.a. Synthèse du châssis bicyclique

Cette synthèse permet d'obtenir l'hétérocycle attendu en 3 étapes^{100, 102} (**Figure III.D.2**). D'abord, le dipeptide est construit sur une résine polystyrène avec un linker de type méthylbenzhydrylamine (MBHA). La partie *N*-terminale du dipeptide est alors acylée. Le composé de départ **IIID2** formé est ensuite réduit par du borane à 65°C conduisant à la formation d'une polyamine supportée **IIID3**. Les résidus de bore sont ensuite éliminés par lavage avec une solution de pipéridine. La suite de la synthèse est une adaptation en phase solide d'une méthode en solution proposée par Corey¹⁰³. En effet, d'une manière similaire, l'addition du thiocarbonylimidazole conduit à la formation d'une thiourée cyclique qui réagit spontanément avec la 3^{ème} amine secondaire du système pour obtenir la guanidine bicyclique supportée **IIID4**. L'hétérocycle est ensuite clivé de la résine par traitement avec du HF.



Les tests concernant l'efficacité de la synthèse en termes de pureté, ont été effectués sur 200 hétérocycles. 60% de ces composés avait une pureté supérieure à 80%. Les échecs sont principalement dus à des effets stériques défavorables à la cyclisation et à des groupements fonctionnels présents sur les chaînes latérales des aminoacides trop sensibles à la réduction par les boranes.

III.D.1.b. Synthèse des guanidines bicycliques avec diversification postcyclisation en R²

Beaucoup de composés de synthèse biologiquement actifs contiennent des urées. Leurs applications sont vastes : modulation des sécrétions d'acide gastrique (démontré chez le rat) permettant peutêtre de soigner les ulcères gastriques chroniques, dérivés antioxydants, inhibiteurs de cholestérol Oacétyltransférases, et inhibiteurs de métalloprotéases¹⁰⁴. En considérant l'importance des urées et des groupements guanidino en chimie médicinale, le groupe de Houghten a proposé une variante de la synthèse de guanidine bicyclique permettant d'introduire un résidu urée en R² avec des substituants modulables afin de pouvoir créer de la diversité (**Figure III.D.3**).



a) BH₃-THF, 65°C ; b) Pipéridine, 65°C ; c) Trt-Cl, DIEA, DCM ; d) CSIm₂, DCM ; e) Hg(OAc)₂, DMF ; f) 20% pipéridine/DMF ; g) 5% TFA/DCM ; h) FmocXaaOH, DIC, HOBt ; i) R⁴NCO, DMF ; j) HF/Anisole

Figure III.D.3 : Synthèse de guanidines bicycliques supportant un résidu urée en R²

D'abord, le dipeptide dont le dernier résidu est une glutamine, est synthétisé sur une résine MBHA. Puis, il est acylé en position *N*-terminale et réduit en polyamine **IIID6**. L'amine primaire du composé obtenu est alors protégée sélectivement par un groupement protecteur trityle. Ensuite, les traitements avec du thiocarbonylimidazole, puis de l'acétate d'étain et une solution de pipéridine, permettent de former le bicycle qui conduit à la formation de la guanidine supportée **IIID8** par traitement avec une solution de 5% de TFA dans le DCM. Un Fmoc- α -aminoacide est alors couplé à l'amine primaire de ce composé supporté. Après clivage du groupement Fmoc, l'amine primaire obtenue est traitée par une solution d'isocyanate pour former l'urée **IIID9**. La résine est ensuite clivée en présence d'HF pour libérer l'hétérocycle **IIID10** attendu. Un échantillon de 11 composés différents a été caractérisé. Ces 11 hétérocycles ont été obtenus avec des rendements de 60 à 90% et des puretés de 79 à 85%.

En comparaison avec la méthode précédente, la formation du bicycle a été optimisée par un traitement avec de l'acétate de mercure permettant d'effectuer cette opération sur une palette de substrats encore plus étendue et notamment des substrats plus encombrés. L'efficacité de cette synthèse est telle qu'elle a permis de constituer une chimiothèque combinatoire de 47600 composés (35 R¹ × 40 R³ × 34 R²) disponibles pour une analyse positionnelle ^{105, 106} et dont les puretés sont supérieures à 80%.

III.D.1.c. Application biologique

Des criblages sur différentes cibles ont été effectués. En effet, une chimiothèque de 102 459 guanidines bicycliques a été criblée sur le récepteur aux κ -opioïdes par déconvolution de chimiothèque basée sur des mélanges¹⁰⁷. Deux composés intéressants ont pu être identifiés dont les valeurs d'IC₅₀ sont de l'ordre du nM : 37nM pour le composé **a** et 85nM pour le composé **b**. Il est intéressant d'observer la similarité de la conformation en « Y » active calculée pour chacune de ces molécules¹⁰⁸ (**Figure III.D.4**).



Figure III.D.4 : Guanidines bicycliques actives pour les récepteurs aux κ-opioïdes et représentation 3D de la conformation active de ces composés déterminée par calculs théoriques

De plus, ces deux composés hétérocycliques ont été testés de façon complémentaire sur les récepteurs aux opioïdes μ et δ . Les résultats démontrent une très bonne sélectivité de ces composés pour le récepteur aux opioïdes κ (**Figure III.D.5**).

		IC ₅₀	
	μ	к	δ
а	421	37	5458
b	20286	85	2066
Figure III.D.5 : Affinité des deux composés a et b pour les récepteurs aux opioïdes μ , κ et δ			

D'autres composés de cette chimiothèque ont également révélé d'intéressantes propriétés antifongiques de l'ordre du μ M contre *Candida albicans* et *Cryptococcus neofarmans*¹⁰⁹ (**Figure III.D.6**). Ces deux champignons sont responsables de pathologies infectieuses et notamment chez les patients touchés par le SIDA.



Une chimiothèque de guanidines bicycliques dont un point de diversité supplémentaire a été introduit post-cyclisation en R³ à la manière de la synthèse présentée en section III.D.1.b a également été criblée sur la prohormone convertase 2 (PC2), permettant d'isoler 3 inhibiteurs submicromolaires de cette enzyme¹¹⁰. (**Figure III.D.7**). Les K_i ont été mesurés, soient K_i = 3,3 ± 0.50 µM pour le composé **IIID15**, K_i = 3,60 ± 0.30 µM pour le **IIID16** et K_i = 10,0 ± 0.90 µM pour le **IIID17**.



III.D.2. 4,5,8,9-tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazepin-2(7*H*)-thiones 3,4,7-trisubstituées et *N*-alkyl-4,5,7,8-tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazepin-2-amines

Plus récemment, l'équipe de Houghten a proposé deux nouveaux châssis bicycliques : les 4,5,8,9tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazepin-2(7*H*)-thiones 3,4,7-trisubstituées **IIID18** et les *N*-alkyl-4,5,7,8-tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazepin-2-amines **IIID19** (**Figure III.D.8**), les premiers étant des précurseurs de synthèse des seconds¹¹¹. Comme les guanidines bicycliques dont quelques applications en chimie médicinale ont été discutées précédemment et dont la recherche de nouvelles cibles se poursuit, ces deux hétérocycles présentent le motif guanidine. Ce résidu guanidine est incorporé à un châssis 1,3,5-triazépine : une classe de composé dont les propriétés pharmacologiques sont encore peu explorées.



III.D.2.a. Synthèse des 4,5,8,9-tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2a][1,3,5]triazepin-2(7*H*)-thiones 3,4,7-trisubstituées

D'abord, la triamine supportée **IIID20** est obtenue par réduction au borane dans le THF, d'un dipeptide construit en stratégie Boc sur la résine MBHA (**Figure III.D.9**). L'amine primaire de ce composé est alors protégée sélectivement par du 2-acétyldimédone (Dde-OH) dans la DMF ou du chlorure de trityle dans le DCM. Ensuite, un traitement avec du bromure de cyanogène, suivi de la déprotection de l'amine primaire permet d'obtenir la guanidine **IIID23**. Par une réaction d'amination réductrice, le troisième point de diversité est introduit au niveau de l'amine primaire. Le composé obtenu **IIID24** comportant une amine secondaire et un résidu guanidine est alors traité par du 1,1'-thiocarbonyldiimidazole pour former le châssis 1,3,5-triazépine **IIID18**. Dans de telles conditions, la formation du bicycle n'est pas complète et après clivage de la résine, un traitement par une solution de 1% de TFA dans un mélange eau/acétonitrile (50/50, v/v) est nécessaire pour mener le processus de cyclisation a son terme et obtenir le châssis 4,5,8,9-tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazepin-2(7*H*)-thione 3,4,7-trisubstituée **IIID18** avec des puretés de 55 à 92%.



AcOH/DCM ; e) CSIm₂, DCM ; f) HF, anisole ; g) 1% TFA dans AcCN/H₂O (50/50)

Figure III.D.9 : Synthèse de 4,5,8,9-tétrahydro-3H-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazépin-2(7H)-thiones 3,4,7-trisubstituées

III.D.2.b. Synthèse de *N*-alkyl-4,5,7,8-tetrahydro-3*H*-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazépin-2-amines



Après addition du $CSIm_2$ sur la résine **IIID24** (section III.D.2.a) puis traitement de celle-ci par une solution acide (1% TFA dans eau/acétonitrile (50/50, v/v)), la 3,4,7-trisubstituée-4,5,8,9-tétrahydro-3*H*-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazépin-2(7*H*)-thiones supportée **IIID26** est obtenue (**Figure III.D.10**). Ce bicycle est traité par une solution de chlorure de mercure puis une amine est ajoutée. Le composé
IIID27 est alors formé. Pour finir, l'hétérocycle est clivé de la résine permettant d'obtenir le produit final **IIID19** avec des puretés de 40 à 82%.

III.E. Le châssis [3,5,7]-1H-imidazo[1,5-a]imidazol-2(3H)-ones

Les composés biologiquement actifs contenant un résidu imidazole sont nombreux et l'importance de cet hétérocycle pour l'activité de ces composés est connue. Par ailleurs, les imidazoles sont présents dans de nombreux produits naturels. Le châssis [3,5,7]-1*H*-imidazo[1,5-*a*]imidazol-2(3*H*)- one (**IIIE1**) proposé par le groupe de Houghten¹¹², contient ce motif imidazole. Il présente trois points de diversité modulables (**Figure III.E.1**).







Le dipeptide supporté de départ **IIIE2** est construit en stratégie Boc sur la résine MBHA (**Figure III.E.2**). L'amine primaire de ce dipeptide est alors acylée par un acide en présence de DIC et d'HOBt

dans la DMF. Le dipeptide obtenu **IIIE3** est ensuite cyclisé lors d'une réaction de Bischler-Napieralsky par traitement avec du trichlorure phosphorique (POCl₃) à 100°C dans le dioxane. Enfin, le clivage de la résine permet d'obtenir l'hétérocycle **IIIE5** avec des rendements de 35 à 63%.

III.F. Systèmes polycycliques contenant le squelette oxopipérazine.

Des systèmes hétérocycliques dérivés de dipeptides contenant le motif oxopipérazine ont été mis au point (**Figure III.F.1**). Ce motif hétérocyclique est présent dans des composés récemment identifiés comme biologiquement actifs¹¹³⁻¹¹⁹. Les groupes de Pátek et de Bartlett ont développé des châssis hétérocycliques dans lesquels ce squelette est intégré.



III.F. 1. Le squelette 1-acyl-3-oxopipérazine



Le groupe de Pátek a développé 4 châssis bi-, tri-, et tétracycliques différents **IIIF1-4** comprenant le motif 1-acyl-3-oxopipérazine¹²⁰ (**Figure III.F.2**). Ces hétérocycles permettent de distribuer 3 pharmacophores dans l'espace. Ils sont obtenus en 5 étapes avec la même voie de synthèse dont l'étape clef est une cyclisation tandem de l'ion N-acyliminium avec une addition nucléophile. C'est la nature du deuxième aminoacide introduit qui détermine le châssis obtenu.





La synthèse de ces hétérocycles dérivés de dipeptides débute par l'accrochage du 2-bromo-1,1diéthyloxyéthane à la résine TentaGel OH par transacétalisation (Figure III.F.3). Ensuite, la résine IIIF6 obtenue est traitée par une solution d'amine primaire portant le groupement R¹, premier élément de diversité. Il en résulte le déplacement du brome pour former l'amine secondaire IIIF7. L'étape suivante de ce processus de synthèse est le couplage de cette amine secondaire à un Fmocaminoacide (deuxième point de diversité), suivi de la déprotection du Fmoc. Elle conduit à la formation du composé IIIF8 dont l'amine libre est disponible pour être acylée par différents Fmocaminoacides ou par de l'acide 2-fluoro-5-nitrobenzoïque. Le composé IIIF9a, obtenu après acylation par l'acide 2-fluoro-5-nitrobenzoïque, est traité par une solution d'amine primaire pour déplacer le fluor permettant d'obtenir le dipeptide supporté IIIF10a (Figure III.F.4). L'étape suivante de clivage par traitement avec de l'acide formique permet de libérer la fonction aldéhyde du précurseur linéaire qui cyclise spontanément pour former le châssis IIIF1.



a) 2M R^3NH_2 , DMSO; b) HCOOH, 60°C; c) 20% pipéridine/DMF; d) MeOCOCI/DIEA (1 :1), ou PhNCO, ou BzCI/DIEA (1 :1), ou anhydride acétique /pyridine (1 :1), DMF; f) MeOCOCI/DIEA (1 :1), DMF; e) $H_2O/PBu_3/NMP$ (0.5/1/5, v/v/v)

Figure III.F.4 : Formation des 4 châssis hétérocycliques IIIF1-4 à partir des dipeptides linéaires.

Les dipeptides **IIIF9b-d** résultent de l'acylation de **IIIF8**, par des Fmoc-aminoacides. D'abord, le groupement Fmoc est clivé et les amines obtenues sont acylées. Dans le cas du dipeptide **IIIF9b**, une étape supplémentaire de déprotection de la fonction thiol de la cystéine est nécessaire. Il est à noter que pour les dipeptides **IIIF9b** et **IIIF9c**, cette d'acylation permet d'introduire le troisième point de diversité. Les précurseurs linéaires obtenus peuvent être clivés pour cycliser et former les châssis hétérocycliques correspondants.



Le mécanisme de formation de ces structures polycycliques permet d'expliquer leur diversité structurale (**Figure III.F.5**). Après clivage de la résine, la fonction aldéhyde (**IIIF12a**) est libérée et elle subit une attaque nucléophile intramoléculaire du NH issu du premier aminoacide pour former l'ion acyliminium cyclique **IIIF12b**. L'addition sur l'acyliminium d'un résidu nucléophile présent sur le 2^{ème} aminoacide introduit, conduit à l'obtention du châssis hétérocyclique **IIIF13** correspondant. Pour le châssis **IIIF1**, le nucléophile en question est le groupement 2-amino, pour le châssis **IIIF3**, le thiol, pour le **IIIF4**, le carbone C³ de l'indole et pour le **IIIF2**, le NH du carbamate terminal. L'efficacité de cette synthèse a été évaluée sur 8 composés. La pureté des bruts de clivage est bonne de 63 à 99% et les rendements après purification sont de l'ordre de 39 à 63%.

Ce type de réaction de cyclisation via un intermédiaire *N*-Acyliminium a fait l'objet de nombreuses études dans le domaine de la chimie hétérocyclique¹²¹⁻¹²⁴. En particulier, ces dernières années, le groupe de Meldal a développé des méthodes de synthèse de châssis hétérocycliques qui permettent d'appliquer ce type de réaction sur phase solide¹²⁵⁻¹³³.

III.F.2. Le châssis 1,4-diaza-7-oxabicyclo[4.3.0]-2,8-nonanedione.

Le châssis hétérocyclique 1,4-diaza-7-oxabicyclo[4.3.0]-2,8-nonanedione (**IIIF14**) est une lactone aminale bicyclique permettant de distribuer 4 groupements dans les 3 dimensions de l'espace¹³⁴ (**Figure III.F.6**). Cet hétérocycle contient également le motif oxopipérazine.



III.F.2.a. Synthèse



a) TFA/DCM (1 :1, v :v), b) Fmoc-AA₂-OH, HOBt, DIC, DMF; c) 20% pipéridine/DMF ; d) NsCl, 2,4,6-collidine, DCM ; e) $R^{3}OH$, TPP, DIAD, NMP ; f) PhSH, DBU, DMF ; g) XCH₂COR⁴, DIEA (X=Cl, Br) ; h) TMG,Toluène, 80°C

Figure III.F.7 : Synthèse des 1,4-diaza-7-oxabicyclo[4.3.0]-2,8-nonanediones

La mise au point de cette synthèse a été réalisée par différents tests en solution afin d'explorer les limites de la stratégie proposée. Les essais se sont portés principalement sur la nature du groupement R⁴ et la nature de la base nécessaire pour catalyser le processus de cyclisation. Ces travaux ont permis l'adaptation de cette voie de synthèse en phase solide (Figure III.F.7). Cette synthèse est effectuée sur une résine de Merrifield chargée avec un Boc-aminoacide IIIF15. Le groupement protecteur Boc est clivé puis, un Fmoc-aminoacide est couplé en présence de DIC et d'HOBt en milieu basique. Ensuite, après traitement avec une solution de pipéridine pour éliminer le groupement Fmoc, l'extrémité N-terminale du dipeptide IIIF16 est sulfonylée par du chlorure de 2nitrobenzènesulfonyle (NsCl). Le résidu NH du sulfonamide obtenu IIIF17 est alkylé par un alcool dans les conditions de Mitsunobu. Il s'en suit le clivage du groupement Ns par une solution de thiophénol en milieu basique. Cette méthode décrite par Fukuyama a permis l'obtention du dipeptide IIIF18 monoalkylé en position N-terminale. Enfin, l'amine secondaire obtenue est alkylée par une halométhyle cétone en milieu basique et le dipeptide obtenu IIIF19 est traité par une solution de TMG dans le toluène à 80°C, pour libérer le châssis hétérocyclique IIIF14 par cycloclivage. Cette méthode a abouti à l'élaboration d'une chimiothèque de 48 composés obtenus en synthèse parallèle. Parmi ces 48 hétérocycles, 12 représentatifs de la diversité ont été analysés avec plus de précision. Ces microanalyses ont montré l'efficacité du cycloclivage. En effet, 10 châssis ont été obtenus avec des puretés déterminées par RMN de 67 à 98%, quelque soit le rendement de la synthèse qui varie de 19 à 74%.

Chapitre IV. Conclusion

Chapitre IV. Conclusion

A travers ces exemples d'hétérocycliques dérivés de dipeptides décrits dans la littérature, soit comme mimes de coude β , soit comme châssis pour générer de la diversité moléculaire, nous avons pu mesurer l'importance de tels systèmes dans la recherche de composés biologiquement actifs. Certaines classes de composés, en particulier les dicétopipérazines et les 1,4-benzodiazépin-2,5-diones, ont révélé des activités biologiques diverses et nombreuses. Les 1,3,5-triazépane-2,6-diones que nous avons développés au laboratoire sont des analogues de ces deux classes de composés avec lesquelles elles présentent de nombreuses similitudes (cycle à 7 membres, 2 carbonyles, des NH donneurs de liaison hydrogène). Le succès de ces châssis hétérocycliques pour leurs applications en chimie médicinale ou en biologie chimique a encouragé notre équipe à poursuivre les travaux sur ces 1,3,5-triazépane-2,6-diones à travers des études structurales, la mise au point de protocoles de synthèse pouvant donner accès à des chimiothèques de grande dimension et la recherche d'inhibiteurs de phospholipase A2 sécrétée.

Bibliographie

1. McGee, P., First Successes Turn Tide for Peptide Therapeutics. *Drug Discovery & Development* 2005.

2. Vlieghe, P.; Lisowski, V.; Martinez, J.; Khrestchatisky, M., Synthetic therapeutic peptides: science and market. *Drug Discovery Today* **2010**, 15, (1-2), 40-56.

3. Hummel, G.; Reineke, U.; Reimer, U., Translating peptides into small molecules. *Molecular BioSystems* **2006**, 2, (10), 499-508.

4. Loffet, A., Peptides as drugs: is there a market? *Journal of Peptide Science* **2002**, 8, (1), 1-7.

5. Oliyai, R., Prodrugs of peptides and peptidomimetics for improved formulation

and delivery. Advanced Drug Delivery Reviews 1996, 19, 275-286.

6. Caliceti, P.; Veronese, F. M., P harmacokinetic and biodistribution properties of poly(ethylene glycol)–protein conjugates. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2003**, 55, 1261-1277.

7. Veronese, F. M.; Pasut, G., PEGylation, successful approach to drug delivery. *Drug Discovery Today* **2005**, 10, (21), 1451-8.

8. Harris, J. M.; Chess, R. B., Effect of pegylation on pharmaceuticals. *Nature Reviews Drug Discovery* **2003**, *2*, (3), 214-21.

9. Werle, M.; Bernkop-Schnurch, A., Strategies to improve plasma half life time of peptide and protein drugs. *Amino Acids* **2006**, 30, (4), 351-67.

10. KieberEmmons, T.; Murali, R.; Greene, M. I., Therapeutic peptides and peptidomimetics. *Current Opinion in Biotechnology* **1997**, *8*, (4), 435-441.

11. Ladner, R. C., Constrained Peptides as Binding Entities. *Trends in Biotechnology* **1995**, 13, (10), 426-430.

12. Balaban, A. T.; Oniciu, D. C.; Katritzky, A. R., Aromaticity as a cornerstone of heterocyclic chemistry. *Chemical Reviews* **2004**, 104, (5), 2777-2812.

13. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* **1997**, 23, (1-3), 3-25.

14. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, 46, (1-3), 3-26.

15. Hanessian, S.; McNaughtonSmith, G.; Lombart, H. G.; Lubell, W. D., Design and synthesis of conformationally constrained amino acids as versatile scaffolds and peptide mimetics. *Tetrahedron* **1997**, 53, (38), 12789-12854.

16. Lewis, P. N.; Momany, F. A.; Scheraga, H. A., Chain reversals in proteins. *Biochimica et Biophysica Acta* **1973**, 303, (2), 211-29.

17. Branden, C.; Tooze, J.; Lubochinsky, B., Introduction à la structure des protéines. *De Boeck Université, Bruxelles* **1996**, 18-19.

18. Souers, A. J.; Ellman, J. A., beta-turn mimetic library synthesis: scaffolds and applications. *Tetrahedron* **2001**, 57, (35), 7431-7448.

19. Hirschmann, R.; Hynes, J.; Cichy-Knight, M. A.; van Rijn, R. D.; Sprengeler, P. A.; Spoors, P. G.; Shakespeare, W. C.; Pietranico-Cole, S.; Barbosa, J.; Liu, J.; Yao, W. Q.; Rohrer, S.; Smith, A. B., Modulation of receptor and receptor subtype affinities using diastereomeric and enantiomeric monosaccharide scaffolds as a means to structural and biological diversity. A new route to ether synthesis. *Journal of Medicinal Chemistry* **1998**, *4*1, (9), 1382-1391.

20. Olson, G. L.; Voss, M. E.; Hill, D. E.; Kahn, M.; Madison, V. S.; Cook, C. M., Design and Synthesis of a Protein Beta-Turn Mimetic. *Journal of the American Chemical Society* **1990**, 112, (1), 323-333.

21. Ball, J. B.; Alewood, P. F., Conformational constraints: nonpeptide beta-turn mimics. *Journal of Molecular Recognition* **1990**, 3, (2), 55-64.

22. Virgilio, A. A.; Ellman, J. A., Simultaneous Solid-Phase Synthesis of Beta-Turn Mimetics Incorporating Side-Chain Functionality. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116, (25), 11580-11581.

23. Virgilio, A. A.; Bray, A. A.; Zhang, W.; Trinh, L.; Snyder, M.; Morrissey, M. M.; Ellman, J. A., Synthesis and evaluation of a library of peptidomimetics based upon the beta-turn. *Tetrahedron* **1997**, 53, (19), 6635-6644.

24. Virgilio, A. A.; Schurer, S. C.; Ellman, J. A., Expedient solid-phase synthesis of putative betaturn mimetics incorporating the i+1, i+2, and i+3 sidechains. *Tetrahedron Letters* **1996**, 37, (39), 6961-6964.

25. Souers, A. J.; Virgilio, A. A.; Rosenquist, A.; Fenuik, W.; Ellman, J. A., Identification of a potent heterocyclic ligand to somatostatin receptor subtype 5 by the synthesis and screening of beta-turn mimetic libraries. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121, (9), 1817-1825.

26. Souers, A. J.; Rosenquist, A.; Jarvie, E. M.; Ladlow, M.; Feniuk, W.; Ellman, J. A., Optimization of a somatostatin mimetic via constrained amino acid and backbone incorporation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2000**, 10, (24), 2731-2733.

27. Haskell-Luevano, C.; Rosenquist, A.; Souers, A.; Khong, K. C.; Ellman, J. A.; Cone, R. D., Compounds that activate the mouse melanocortin-1 receptor identified by screening a small molecule library based upon the beta-turn. *Journal of Medicinal Chemistry* **1999**, 42, (21), 4380-4387.

28. Souers, A. J.; Virgilio, A. A.; Schurer, S. S.; Ellman, J. A.; Kogan, T. P.; West, H. E.; Ankener, W.; Vanderslice, P., Novel inhibitors of alpha 4 beta 1 integrin receptor interactions through library synthesis and screening. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1998**, 8, (17), 2297-2302.

29. Wels, B.; Kruijtzer, J. A. W.; Liskamp, R. M. J., Synthesis of cyclic (alpha(2)beta)-tripeptides as potential peptide turn mimetics. *Organic Letters* **2002**, *4*, (13), 2173-2176.

30. Fukuyama, T.; Jow, C. K.; Cheung, M., 2-Nitrobenzenesulfonamides and 4-Nitrobenzenesulfonamides - Exceptionally Versatile Means for Preparation of Secondary-Amines and Protection of Amines. *Tetrahedron Letters* **1995**, 36, (36), 6373-6374.

31. Wels, B.; Kruijtzer, J. A. W.; Garner, K. M.; Adan, R. A. H.; Liskamp, R. M. J., Synthesis of cyclic peptidosulfonamides as scaffolds for MC4 pharmacophoric groups. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, 15, (2), 287-290.

32. Pinnen, F.; Zanotti, G.; Lucente, G., Cyclol Formation from Tripeptides Containing Beta-Alanine. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions* 1 **1982**, (6), 1311-1316.

33. Pinnen, F.; Zanotti, G.; Lucente, G., 10-Membered Cyclotripeptides - Influence of the Ring-Flexibility on Intramolecular Reactions. *Tetrahedron Letters* **1984**, 25, (45), 5201-5204.

34. Blomberg, D.; Hedenstrom, M.; Kreye, P.; Sethson, I.; Brickmann, K.; Kihlberg, J., Synthesis and conformational studies of beta-turn mimetic incorporated in leu-enkephalin. *Journal of Organic Chemistry* **2004**, 69, (10), 3500-3508.

35. Yuan, Z. Q.; Kihlberg, J., Synthesis of a beta-turn mimetic suitable for incorporation in the peptide hormone LHRH. *Tetrahedron* **2005**, 61, (21), 4901-4909.

36. Blomberg, D.; Kreye, P.; Fowler, C.; Brickmann, K.; Kihlberg, J., Synthesis and biological evaluation of leucine enkephalin turn mimetics. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2006**, 4, (3), 416-423.

37. Bondebjerg, J.; Xiang, Z. M.; Bauzo, R. M.; Haskell-Luevano, C.; Meldal, M., A solid-phase approach to mouse melanocortin receptor agonists derived from a novel thioether cyclized peptidomimetic scaffold. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124, (37), 11046-11055.

38. Eguchi, M.; Lee, M. S.; Nakanishi, H.; Stasiak, M.; Lovell, S.; Kahn, M., Solid-Phase Synthesis and Structural Analysis of Bicyclic â-Turn Mimetics Incorporating Functionality at the i to i + 3 Positions. *Journal of American Chemical Society* **1999**, 121, 12204-12205.

39. Eguchi, M.; Lee, M. S.; Stasiak, M.; Kahn, M., Solid-phase synthesis and solution structure of bicyclic beta-turn peptidomimetics: diversity at the i position. *Tetrahedron Letters* **2001**, 42, (7), 1237-1239.

40. Kahn, M.; Eguchi, M.; Kim, H.-O., Reverse-turn mimetics and methods relating thereto. *US Patent 6013458* **2000**.

41. Eguchi, M.; Shen, R. Y. W.; Shea, J. P.; Lee, M. S.; Kahn, M., Design, synthesis, and evaluation of opioid analogues with non-peptidic beta-turn scaffold: Enkephalin and endomorphin mimetics. *Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, 45, (7), 1395-1398.

42. Kahn, M.; Eguchi, M.; Moon, S. H.; Chung, J. U.; Jeong, K. W., Preparation of 6-(4-hydroxybenzyl)-4-oxohexahydropyrazino[1,2-a]pyrimidine-1-carboxamide compounds useful for traitment of cancer, compositions containing the same, and methods of their use. *U.S. Patent, US* 6762185 B1 20040713 **2004**.

43. McMillan, M.; Kahn, M., Investigating Wnt signaling: a chemogenomic safari. *Drug Discovery Today* **2005**, 10, (21-24), 1467-1474.

44. Kahn, M.; Eguchi, M.; Moon, S. H.; Chung, J. U.; Lee, S. C.; Jeong, K. W., Reverse-turn mimetics and method relating thereto. *PCT Int. Appl., WO 2003031448 A1 20030417* **2003**.

45. Stasiak, M.; Kahn, M., Reverse-turn mimetics and method relating thereto *PCT Int. Appl., WO* 2001016135 A1 20010308 **2001**.

46. Golebiowski, A.; Klopfenstein, S. R.; Chen, J. J.; Shao, X., Solid supported high-throughput organic synthesis of peptide beta-turn mimetics via Petasis reaction/diketopiperazine formation. *Tetrahedron Letters* **2000**, 41, (25), 4841-4844.

47. Golebiowski, A.; Klopfenstein, S. R.; Shao, X.; Chen, J. J.; Colson, A. O.; Grieb, A. L.; Russell, A. F., Solid-supported synthesis of a peptide beta-turn mimetic. *Organic Letters* **2000**, 2, (17), 2615-2617.

48. Golebiowski, A.; Jozwik, J.; Klopfenstein, S. R.; Colson, A. O.; Grieb, A. L.; Russell, A. F.; Rastogi, V. L.; Diven, C. F.; Portlock, D. E.; Chen, J. J., Solid-supported synthesis of putative peptide beta-turn mimetics via Ugi reaction for diketopiperazine formation. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2002**, 4, (6), 584-590.

49. Kim, H. O.; Nakanishi, H.; Lee, M. S.; Kahn, M., Design and synthesis of novel conformationally restricted peptide secondary structure mimetics. *Organic Letters* **2000**, *2*, (3), 301-302.

50. Brase, S.; Gil, C.; Knepper, K., The recent impact of solid-phase synthesis on medicinally relevant benzoannelated nitrogen heterocycles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2002**, 10, (8), 2415-2437.

51. Nefzi, A.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A., The current status of heterocyclic combinatorial libraries. *Chemical Reviews* **1997**, 97, (2), 449-472.

52. Thompson, L. A., Recent applications of polymer-supported reagents and scavengers in combinatorial, parallel, or multistep synthesis. *Current Opinion in Chemical Biology* **2000**, 4, (3), 324-37.

53. Gil, C.; Brase, S., Solid-Phase Synthesis of Biologically Active Benzoannelated Nitrogen Heterocycles: An Update. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2009**, 11, (2), 175-197.

54. Moos, W. H.; Hurt, C. R.; Morales, G. A., Combinatorial chemistry: oh what a decade or two can do. *Molecular Diversity* **2009**, 13, (2), 241-245.

55. DeSimone, R. W.; Currie, K. S.; Mitchell, S. A.; Darrow, J. W.; Pippin, D. A., Privileged structures: Applications in drug discovery. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* **2004**, *7*, (5), 473-493.

56. Leeson, P. D.; Springthorpe, B., The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *Nature Reviews Drug Discovery* **2007**, 6, (11), 881-890.

57. Fischer, P. M., Diketopiperazines in peptide and combinatorial chemistry. *Journal of Peptide Science* **2003**, 9, (1), 9-35.

58. McCleland, K.; Milne, P. J.; Lucieto, F. R.; Frost, C.; Brauns, S. C.; Van De Venter, M.; Du Plessis, J.; Dyason, K., An investigation into the biological activity of the selected histidine-containing

diketopiperazines cyclo(His-Phe) and cyclo(His-Tyr). *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2004**, 56, (9), 1143-53.

59. Martins, M. B.; Carvalho, I., Diketopiperazines : biological activity and synthesis. *Tetrahedron* **2007**, 63, 9923-9932.

60. Romer, D.; Buscher, H. H.; Hill, R. C.; Maurer, R.; Petcher, T. J.; Zeugner, H.; Benson, W.;
Finner, E.; Milkowski, W.; Thies, P. W., An Opioid Benzodiazepine. *Nature* 1982, 298, (5876), 759-760.
61. Sternbach, L. H., Benzodiazepine Story. *Journal of Medicinal Chemistry* 1979, 22, (1), 1-7.

62. Bock, M. G.; Dipardo, R. M.; Evans, B. E.; Rittle, K. E.; Whitter, W. L.; Veber, D. F.; Anderson, P. S.; Freidinger, R. M., Benzodiazepine Gastrin and Brain Cholecystokinin Receptor Ligands - L-365,260. *Journal of Medicinal Chemistry* **1989**, 32, (1), 13-16.

63. Webb, R. R.; Barker, P. L.; Baier, M.; Reynolds, M. E.; Robarge, K. D.; Blackburn, B. K.; Tischler, M. H.; Weese, K. J., Mono-N-Alkylation of Anthranilamides Via Quinazolinones - an Efficient Synthesis of G5598, a Benzodiazepine Dione Gpiibiiia Antagonist. *Tetrahedron Letters* **1994**, 35, (14), 2113-2116.

64. Mcdowell, R. S.; Blackburn, B. K.; Gadek, T. R.; Mcgee, L. R.; Rawson, T.; Reynolds, M. E.; Robarge, K. D.; Somers, T. C.; Thorsett, E. D.; Tischler, M.; Webb, R. R.; Venuti, M. C., From Peptide to Nonpeptide .2. The De-Novo Design of Potent, Non-Peptidal Inhibitors of Platelet-Aggregation Based on a Benzodiazepinedione Scaffold. *Journal of the American Chemical Society* **1994**, 116, (12), 5077-5083.

65. Boojamra, C. G.; Burow, K. M.; Thompson, L. A.; Ellman, J. A., Solid-phase synthesis of 1,4benzodiazepine-2,5-diones. Library preparation and demonstration of synthesis generality. *Journal of Organic Chemistry* **1997**, 62, (5), 1240-1256.

66. Parkanyi, C.; Yuan, H. L.; Cho, N. S.; Jaw, J. H. J.; Woodhouse, T. E.; Aung, T. L., 2-(2',3'-Dihydroxypropyl)-5-Amino-2h-1,2,4-Thiadiazol-3-One and 3-(2',3'-Dihydroxypropyl)-5-Amino-3h,1,3,4-Thiadiazol-2-One. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **1989**, 26, (5), 1331-1334.

67. Hulme, C.; Peng, J.; Tang, S. Y.; Burns, C. J.; Morize, I.; Labaudiniere, R., Improved procedure for the solution phase preparation of 1,4-benzodiazepine-2,5-dione libraries via Armstrong's convertible isonitrile and the Ugi reaction. *Journal of Organic Chemistry* **1998**, 63, (22), 8021-8023.

68. Boojamra, C. G.; Burow, K. M.; Ellman, J. A., An Expedient and High-Yielding Method for the Solid-Phase Synthesis of Diverse 1,4-Benzodiazepine-2,5-Diones. *Journal of Organic Chemistry* **1995**, 60, (18), 5742-5743.

69. Parks, D. J.; LaFrance, L. V.; Calvo, R. R.; Milkiewicz, K. L.; Marugan, J. J.; Raboisson, P.; Schubert, C.; Koblish, H. K.; Zhao, S.; Franks, C. F.; Lattanze, J.; Carver, T. E.; Cummings, M. D.; Maguire, D.; Grasberger, B. L.; Maroney, A. C.; Lu, T., Enhanced pharmacokinetic properties of 1,4-benzodiazepine-2,5-dione antagonists of the HDM2-p53 protein-protein interaction through structure-based drug design. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2006**, 16, (12), 3310-4.

70. Parks, D. J.; Lafrance, L. V.; Calvo, R. R.; Milkiewicz, K. L.; Gupta, V.; Lattanze, J.; Ramachandren, K.; Carver, T. E.; Petrella, E. C.; Cummings, M. D.; Maguire, D.; Grasberger, B. L.; Lu, T., 1,4-Benzodiazepine-2,5-diones as small molecule antagonists of the HDM2-p53 interaction: discovery and SAR. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, 15, (3), 765-70.

71. Leonard, K.; Marugan, J. J.; Raboisson, P.; Calvo, R.; Gushue, J. M.; Koblish, H. K.; Lattanze, J.; Zhao, S.; Cummings, M. D.; Player, M. R.; Maroney, A. C.; Lu, T., Novel 1,4-benzodiazepine-2,5-diones as Hdm2 antagonists with improved cellular activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2006**, 16, (13), 3463-8.

72. Cummings, M. D.; Schubert, C.; Parks, D. J.; Calvo, R. R.; LaFrance, L. V.; Lattanze, J.; Milkiewicz, K. L.; Lu, T., Substituted 1,4-benzodiazepine-2,5-diones as alpha-helix mimetic antagonists of the HDM2-p53 protein-protein interaction. *Chemical Biology & Drug Design* **2006**, 67, (3), 201-5.

73. Mayer, J. P.; Zhang, J. W.; Bjergarde, K.; Lenz, D. M.; Gaudino, J. J., Solid phase synthesis of 1,4-benzodiazepine-2,5-diones. *Tetrahedron Letters* **1996**, 37, (45), 8081-8084.

74. Carabateas, P. M.; Harris, L. S., Analgesic antagonists. I. 4-substituted 1-acyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1,4-benzodiazepines. *Journal of Medicinal Chemistry* **1966**, 9, (1), 6-10.

75. Suzdak, P. D.; Glowa, J. R.; Crawley, J. N.; Schwartz, R. D.; Skolnick, P.; Paul, S. M., A selective imidazobenzodiazepine antagonist of ethanol in the rat. *Science* **1986**, 234, (4781), 1243-7.

76. Malminiemi, O.; Korpi, E. R., Diazepam-insensitive [3H]Ro 15-4513 binding in intact cultured cerebellar granule cells. *European Journal of Pharmacology* **1989**, 169, (1), 53-60.

77. Karp, G. M.; Manfredi, M. C.; Guaciaro, M. A.; Ortlip, C. L.; Marc, P.; Szamosi, I. T., Synthesis and herbicidal activity of 1H-1,4-benzodiazepine-2,5-diones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1997**, 45, (2), 493-500.

78. Goff, D. A.; Zuckermann, R. N., Solid-Phase Synthesis of Defined 1,4-Benzodiazepine-2,5-Dione Mixtures. *Journal of Organic Chemistry* **1995**, 60, (18), 5744-5745.

79. Verdie, P.; Subra, G.; Averland-Petit, M. C.; Amblard, M.; Martinez, J., Solid-Phase Synthesis of 4-Methylcarboxy-1,4-benzodiazepine-2,5-diones. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2008**, 10, (6), 869-874.

80. Ettmayer, P.; Chloupek, S.; Weigand, K., Solid-phase synthesis of 7-acylamino-1,4-benzodiazepine-2,5-diones. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2003**, 5, (3), 253-259.

81. Hulme, C.; Ma, L.; Kumar, N. V.; Krolikowski, P. H.; Allen, A. C.; Labaudiniere, R., Novel applications of resin bound alpha-amino acids for the synthesis of benzodiazepines (via Wang resin) and ketopiperazines (via hydroxymethyl resin). *Tetrahedron Letters* **2000**, 41, (10), 1509-1514.

82. Kennedy, A. L.; Fryer, A. M.; Josey, J. A., A new resin-bound universal isonitrile for the ugi 4CC reaction: Preparation and applications to the synthesis of 2,5-diketopiperazines and 1,4-benzodiazepine-2,5-diones. *Organic Letters* **2002**, *4*, (7), 1167-1170.

83. Kamal, A.; Reddy, G. S. K.; Reddy, K. L., Efficient reduction of aromatic nitro/azido groups on solid support employing indium: synthesis of pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepine-5,11-diones. *Tetrahedron Letters* **2001**, 42, (39), 6969-6971.

84. Kaneko, T.; Wong, H.; Doyle, T. W., A Total Synthesis of Chicamycin-a - a New Pyrrolo[1,4]Benzodiazepine Antitumor Agent. *Journal of Antibiotics* **1984**, 37, (3), 300-302.

85. Kaneko, T.; Wong, H.; Doyle, T. W., A New and Mild Method for the Reduction of Secondary Amides to Carbinolamine Ethers and Imines - a Conversion of Oxotomaymycin to Tomaymycin. *Tetrahedron Letters* **1983**, 24, (47), 5165-5168.

86. Kamal, A.; Reddy, B. S. P.; Reddy, B. S. N., A new facile procedure for the preparation of pyrrolo[2,1-c] [1,4]benzodiazepines : Synthesis of the antibiotic DC-81 and its thio analogue. *Tetrahedron Letters* **1996**, 37, (13), 2281-2284.

87. Jones, G. B.; Davey, C. L.; Jenkins, T. C.; Kamal, A.; Kneale, G. G.; Neidle, S.; Webster, G. D.; Thurston, D. E., The Noncovalent Interaction of Pyrrolo[2,1-C] [1,4]Benzodiazepine-5,11-Diones with DNA. *Anti-Cancer Drug Design* **1990**, *5*, (3), 249-264.

88. Kamal, A.; Reddy, G. S. K.; Raghavan, S., Solid-phase synthesis of pyrrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepine-5,11-diones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, 11, (3), 387-389.

89. Gil, C.; Brase, S., Efficient solid-phase synthesis of highly functionalized 1,4-benzodiazepin-5one derivatives and related compounds by intramolecular aza-Wittig reactions. *Chemistry-a European Journal* **2005**, 11, (9), 2680-2688.

90. Sugimori, T.; Okawa, T.; Eguchi, S.; Kakehi, A.; Yashima, E.; Okamoto, Y., The first total synthesis of (-)-benzomalvin A and benzomalvin B via the intramolecular aza-Wittig reactions. *Tetrahedron* **1998**, 54, (28), 7997-8008.

91. Muller-Hartwieg, J. C. D.; Akyel, K. G.; Zimmermann, J., Synthesis and conformational investigation of cyclic dipeptides: 7-membered rings containing alpha- and beta-amino acids. *Journal of Peptide Science* **2003**, 9, (3), 187-199.

92. El Mahdi, O.; Lavergne, J. P.; Martinez, J.; Viallefont, P.; Essassi, E. N.; Riche, C., Synthesis of new seven-membered ring cyclic dipeptides from functionalized beta-amino acids. *European Journal of Organic Chemistry* **2000**, (2), 251-255.

93. Krchnak, V.; Weichsel, A. S., Polymer-supported synthesis of diverse perhydro-1,4-diazepine-2,5-diones. *Tetrahedron Letters* **1997**, 38, (42), 7299-7302.

94. Nefzi, A.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A., Solid phase synthesis of 1,3,4,7-tetrasubstituted perhydro-1,4-diazepine-2,5-diones. *Tetrahedron Letters* **1997**, 38, (28), 4943-4946.

95. Giovannoni, J.; Subra, G.; Amblard, M.; Martinez, J., Solid-phase synthesis of 3,7-disubstituted perhydro-1,4-diazepine-2,5-amino acids from amino acids and beta-amino acids. *Tetrahedron Letters* **2001**, 42, (32), 5389-5392.

96. Lampariello, L. R.; Piras, D.; Rodriquez, M.; Taddei, M., Solid-phase synthesis of conformationally constrained peptidomimetics based on a 3,6-disubstituted-1,4-diazepan-2,5-dione core. *Journal of Organic Chemistry* **2003**, 68, (20), 7893-7895.

97. Wattanasin, S.; Kallen, J.; Myers, S.; Guo, Q.; Sabio, M.; Ehrhardt, C.; Albert, R.; Hommel, U.; Weckbecker, G.; Welzenbach, K.; Weitz-Schmidt, G., 1,4-Diazepane-2,5-diones as novel inhibitors of LFA-1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, 15, (4), 1217-1220.

98. Yuan, C. G.; Williams, R. M., Total synthesis of the anti methicillin-resistant Staphylococcus aureus peptide antibiotics TAN-1057A-D. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, (49), 11777-11784.

99. Katayama, N.; Fukusumi, S.; Funabashi, Y.; Iwahi, T.; Ono, H., Tan-1057a, Tan-1057b, Tan-1057c, Tan-1057d, New Antibiotics with Potent Antibacterial Activity against Methicillin-Resistant Staphylococcus-Aureus - Taxonomy, Fermentation and Biological-Activity. *Journal of Antibiotics* **1993**, 46, (4), 606-613.

100. Nefzi, A.; Ostresh, J. M.; Yu, Y. P.; Houghten, R. A., Combinatorial chemistry: Libraries from libraries, the art of the diversity-oriented transformation of resin-bound peptides and chiral polyamides to low molecular weight acyclic and heterocyclic compounds. (vol 69,3603, 2004). *Journal of Organic Chemistry* **2004**, 69, (16), 5516-5516.

101. Cotton, F. A.; Day, V. W.; Hazen, E. E., Jr.; Larsen, S., Structure of methylguanidinium dihydrogenorthophosphate. A model compound for arginine-phosphate hydrogen bonding. *Journal of the American Chemical Society* **1973**, 95, (15), 4834-40.

102. Ostresh, J. M.; Schoner, C. C.; Hamashin, V. T.; Nefzi, A.; Meyer, J. P.; Houghten, R. A., Solidphase synthesis of trisubstituted bicyclic guanidines via cyclization of reduced N-acylated dipeptides. *Journal of Organic Chemistry* **1998**, 63, (24), 8622-8623.

103. Corey, E. J.; Ohtani, M., Enantiospecific Synthesis of a Rigid, C-2 Symmetric, Chiral Guanidine by a New and Direct Method. *Tetrahedron Letters* **1989**, 30, (39), 5227-5230.

104. Acharya, A. N.; Nefzi, A.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A., Tethered libraries: Solid-phase synthesis of substituted urea-linked bicyclic guanidines. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2001**, 3, (2), 189-195.

105. Pinilla, C.; Appel, J. R.; Blondelle, S. E.; Dooley, C. T.; Eichler, J.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A., Versatility of Positional Scanning Synthetic Combinatorial Libraries for the Identification of Individual Compounds. *Drug Development Research* **1994**, 33, (2), 133-145.

106. Pinilla, C.; Appel, J. R.; Blanc, P.; Houghten, R. A., Rapid Identification of High-Affinity Peptide Ligands Using Positional Scanning Synthetic Peptide Combinatorial Libraries. *Biotechniques* **1992**, 13, (6), 901-&.

107. Houghten, R. A.; Pinilla, C.; Appel, J. R.; Blondelle, S. E.; Dooley, C. T.; Eichler, J.; Nefzi, A.; Ostresh, J. M., Mixture-based synthetic combinatorial libraries. *Journal of Medicinal Chemistry* **1999**, 42, (19), 3743-3778.

108. Martinez-Mayorga, K.; Medina-Franco, J. L.; Giulianotti, M. A.; Pinilla, C.; Dooley, C. T.; Appel, J. R.; Houghten, R. A., Conformation-opioid activity relationships of bicyclic guanidines from 3D similarity analysis. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, 16, (11), 5932-5938.

109. Blondelle, S. E.; Crooks, E.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A., Mixture-based heterocyclic combinatorial positional scanning libraries: Discovery of bicyclic guanidines having potent antifungal activities against Candida albicans and Cryptococcus neoformans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **1999**, 43, (1), 106-114.

110. Kowalska, D.; Liu, J.; Appel, J. R.; Ozawa, A.; Nefzi, A.; Mackin, R. B.; Houghten, R. A.; Lindberg, I., Synthetic Small-Molecule Prohormone Convertase 2 Inhibitors. *Molecular Pharmacology* **2009**, 75, (3), 617-625.

111. Hoesl, C. E.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A.; Nefzi, A., Solid phase synthesis of 3,4,7-trisubstituted 4,5,8,9-tetrahydro-3H-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazepin-2(7H)-thiones and N-alkyl-4,5,7,8-tetrahydro-3H-imidazo[1,2-a][1,3,5]triazepin-2-amines. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2006**, 8, (1), 127-131.

112. Yu, Y. P.; El Abdellaoui, H. M.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A., Solid phase synthesis of [3,5,7]-1H-imidazo[1,5-a]imidazol-2(3H)-ones. *Tetrahedron Letters* **2001**, 42, (4), 623-625.

113. Cumming, J. N.; Le, T. X.; Babu, S.; Carroll, C.; Chen, X.; Favreau, L.; Gaspari, P.; Guo, T.; Hobbs, D. W.; Huang, Y.; Iserloh, U.; Kennedy, M. E.; Kuvelkar, R.; Li, G.; Lowrie, J.; McHugh, N. A.; Ozgur, L.; Pan, J.; Parker, E. M.; Saionz, K.; Stamford, A. W.; Strickland, C.; Tadesse, D.; Voigt, J.; Wang, L.; Wu, Y.; Zhang, L.; Zhang, Q., Rational design of novel, potent piperazinone and imidazolidinone BACE1 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, 18, (11), 3236-3241.

114. Holsworth, D. D.; Powell, N. A.; Downing, D. M.; Cai, C.; Cody, W. L.; Ryan, J. M.; Ostroski, R.; Jalaie, M.; Bryant, J. W.; Edmunds, J. J., Discovery of novel non-peptidic ketopiperazine-based renin inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, 13, (7), 2657-2664.

115. Shreder, K.; Zhang, L.; Gleeson, J. P.; Ericsson, J. A.; Yalamoori, V. V.; Goodman, M., Solid phase organic synthesis of piperazinone containing enkephalin mimetics: A readily derivatized, traceless scaffold. *Journal of Combinatorial Chemistry* **1999**, **1**, (5), 383-387.

116. Peng, H.; Carrico, D.; Van, T.; Blaskovich, M.; Bucher, C.; Pusateri, E. E.; Sebti, S. M.; Hamilton, A. D., Synthesis and evaluation of potent, highly-selective, 3-aryl-piperazinone inhibitors of protein geranylgeranyltransferase-I. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2006**, *4*, (9), 1768-1784.

117. Hosaka, Y.; Matsumoto, M.; Shinozaki, M.; Ohno, T.; Yatagai, Y.; Kamiya, M.; Kurokawa, M.; Nishida, H.; Matsusue, T.; Mizuguchi, K.; Ishii, H., Pharmacological characterization of the active synthetic factor Xa inhibitors M55551 and M55165. *European Journal of Pharmacology* **2006**, 529, (1-3), 164-71.

118. Saitoh, F.; Mukaihira, T.; Nishida, H.; Satoh, T.; Okano, A.; Yumiya, Y.; Ohkouchi, M.; Johka, R.; Matsusue, T.; Shiromizu, I.; Hosaka, Y.; Matsumoto, M.; Ohnishi, S., Synthesis and evaluation of 1-arylsulfonyl-3-piperazinone derivatives as factor Xa inhibitors V. A series of new derivatives containing a spiro[imidazo[1,2-a]pyrazine-2(3H),4'-piperidin]-5(1H)-one scaffold. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)* **2006**, 54, (11), 1535-44.

119. Dinsmore, C. J.; Zartman, C. B.; Bergman, J. M.; Abrams, M. T.; Buser, C. A.; Culberson, J. C.; Davide, J. P.; Ellis-Hutchings, M.; Fernandes, C.; Graham, S. L.; Hartman, G. D.; Huber, H. E.; Lobell, R. B.; Mosser, S. D.; Robinson, R. G.; Williams, T. M., Macrocyclic piperazinones as potent dual inhibitors of farnesyltransferase and geranylgeranyltransferase-I. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14, (3), 639-43.

120. Vojkovsky, T.; Weichsel, A.; Patek, M., Solid-phase synthesis of heterocycles containing an 1acyl-3-oxopiperazine skeleton. *Journal of Organic Chemistry* **1998**, 63, (10), 3162-3163.

121. Royer, J.; Bonin, M.; Micouin, L., Chiral heterocycles by iminium ion cyclization. *Chemical Reviews* **2004**, 104, (5), 2311-2352.

122. Speckamp, W. N.; Hiemstra, H., Intramolecular Reactions of N-Acyliminium Intermediates. *Tetrahedron* **1985**, 41, (20), 4367-4416.

123. Speckamp, W. N.; Moolenaar, M. J., New developments in the chemistry of N-acyliminium ions and related intermediates. *Tetrahedron* **2000**, 56, (24), 3817-3856.

124. Marson, C. M., Synthesis via N-acyliminium cyclisations of N-heterocyclic ring systems related to alkaloids. *Arkivoc* **2001**, 2, -.

125. Le Quement, S. T.; Petersen, R.; Meldal, M.; Nielsen, T. E., N-acyliminium intermediates in solid-phase synthesis. *Biopolymers* 94, (2), 242-56.

126. Nielsen, T. E.; Meldal, M., Solid-phase intramolecular N-acyliminium Pictet-Spengler reactions as crossroads to scaffold diversity. *Journal of Organic Chemistry* **2004**, 69, (11), 3765-3773.

127. Nielsen, T. E.; Meldal, M., Solid-phase synthesis of pyrroloisoquinolines via the intramolecular N-acyliminium Pictet-Spengler reaction. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2005**, 7, (4), 599-610.

128. Nielsen, T. E.; Meldal, M., Highly efficient solid-phase oxidative cleavage of olefins by OsO4-NaIO4 in the intramolecular N-acyliminium Pictet-Spengler reaction. *Organic Letters* **2005**, 7, (13), 2695-2698.

129. Nielsen, T. E.; Le Quement, S.; Meldal, M., Solid-phase synthesis of biarylalanines via Suzuki cross-coupling and intramolecular N-acyliminium Pictet-Spengler reactions. *Tetrahedron Letters* **2005**, 46, (46), 7959-7962.

130. Nielsen, T. E.; Le Quement, S.; Meldal, M., Solid-phase synthesis of bicyclic dipeptide mimetics by intramolecular cyclization of alcohols, thiols, amines, and amides with N-acyliminium intermediates. *Organic Letters* **2005**, *7*, (17), 3601-3604.

131. Diness, F.; Beyer, J.; Meldal, M., Solid-phase synthesis of tetrahydro-beta-carbolines and tetrahydroisoquinolines by stereoselective intramolecular n-carbamyliminium Pictet-Spengler reactions. *Chemistry-a European Journal* **2006**, 12, (31), 8056-8066.

132. Le Quement, S. T.; Nielsen, T. E.; Meldal, M., Scaffold diversity through intramolecular cascade reactions of solid-supported cyclic N-acyliminium intermediates. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2007**, 9, (6), 1060-1072.

133. Le Quement, S. T.; Nielsen, T. E.; Meldal, M., Solid-phase synthesis of aryl-substituted thienoindolizines: Sequential Pictet-Spengler, bromination and Suzuki cross-coupling reactions of thiophenes. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2008**, 10, (3), 447-455.

134. Lewis, J. G.; Bartlett, P. A., Amino acid-derived heterocycles as combinatorial library targets: Bicyclic aminal lactones. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2003**, *5*, (3), 278-284.

RÉSULTATS

Chapitre I. Le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione

Chapitre I. Le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione

I.A. Caractéristiques du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione

Une grande variété de composés hétérocycliques dérivés de dipeptides a été introduite précédemment, certains ont présenté une bioactivité intéressante. Par conséquent, encouragé par le succès de certains de ces composés en chimie médicinale, notre groupe a décidé d'exploiter la diversité des dipeptides en développant le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione. Ce châssis dérivé de dipeptide, structuré par un lien amide et un lien urée peut comporter jusqu'à 5 points de diversité distribués dans les 3D de l'espace. Il est l'un des 16 isomères de la famille des hétérocycles à 7 membres triazépanediones¹ (composés de 4 carbones dont 2 sont des carbonyles et 3 azotes) (**Figure I.A.1**).



Certains composés de cette famille (en bleus sur la **Figure I.A.1**) ont fait l'objet de travaux de synthèse et leurs études ont permis d'identifier des composés montrant des activités biologiques intéressantes¹, telles que l'inhibition des bactéries *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aereus*², l'inhibition de la résistance multidrogue dans les cellules leucémiques P388/ADR de souris³, l'inhibition de la phase hépatique de la malaria, l'activité en tant que ligand des récepteurs à la cholécystokinine et à la gastrine⁴. Des inhibiteurs des enzymes de conversion de l'angiotensine (ACE)⁵, de la transcriptase inverse du HIV⁶ et de la phospholipase A₂ sécrétée (sPLA₂) ont également été relevés. Les inhibiteurs de la phase hépatique de la malaria⁷ et les inhibiteurs de sPLA₂ sont des 1,3,5-triazépane-2,6-diones identifiés au sein de notre équipe⁸. En l'occurrence, la recherche de composés actifs vis-à-vis des sPLA₂ est l'un des objectifs de mon travail de thèse qui sera discuté dans le chapitre VI.

I.B. Synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones

La synthèse en solution des 1,3,5-triazépane-2,6-diones a été l'objet du travail de thèse de Gersande Léna^{1, 7}. Cette synthèse s'effectue en 6 étapes par la cyclisation « head-to-tail » d'un dipeptide activé (**Figure I.B.1**).



a) BocXaaOH (1,1 éq), BOP (1,1éq), DIEA(2,5 éq), DMF, TA, 4h; b) H_2 , Pd/C, EtOH, TA, 1h; c) EtOCOCI (1,2 éq), NMM (1,1 éq), THF, -20°C, 30 min, puis NaN₃ (2,5 éq), H_2O , TA, 5min; d) Toluène, 70°C, 45 min, puis HOSu(1éq), pyridine(0,5éq) 1h30min; e) TFA, TA, 30min; f) DIEA (2,5eq), MeCN, TA, 4h

Figure I.B.1 : Voie de synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones

D'abord le précurseur dipeptidique **IB2** est formé à partir d'un aminoester de benzyle *N*-alkylé couplé à un *N*-Boc-aminoacide (1,1 éq) en présence de BOP (1,1 éq) et de DIEA (2,5éq). Ensuite, le dipeptide acide **IB3** est obtenu par hydrogénation catalytique. Le traitement par du chloroformiate d'éthyle (1,2éq) en présence de NMM (1,1éq) à -20°C conduit à la formation de l'anhydride mixte correspondant. Ce dernier est transformé en azoture d'acyle **IB4** après ajout à température ambiante d'une solution d'azoture de sodium (2,5éq) dans l'eau. Le chauffage du composé **IB4,** 1h30min à 70° dans le toluène, permet de former l'isocyanate correspondant par *réarrangement de Curtius*. Celui-ci est piégé sous forme de carbamate de succinimidyle **IB5** après l'ajout d'*N*-hydroxysuccinimide (1éq) et de pyridine (0,5éq). Après déprotection du groupement protecteur Boc par traitement au TFA, le dérivé de dipeptide est cyclisé en milieu basique pour obtenir le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione **IB6** correspondant.

Cette méthode a permis de synthétiser 18 châssis différents à partir d'aminoacides commerciaux. Les rendements obtenus sont dépendants des séquences peptidiques et varient de 34 à 95% pour la préparation des sels de TFA **IB7a-r** et de 7 à 99% pour l'étape de cyclisation (**Figure I.B.2**). Ces résultats révèlent également l'importance de la nature du groupement R³ dans le processus de cyclisation. En effet, les précurseurs carbamates (**IB7q** et **IB7r**) avec R³= H (entrées q et r) conduisent à la formation des 1,3,5-triazépane-2,6-diones avec des rendements faibles de 11 et 7%



et à l'obtention, de manière majoritaire, des cyclodimères à 14 membres correspondants. Ceci s'explique par le fait que l'équilibre entre les isomères *cis/trans* autour de la liaison amide de l'intermédiaire **IB7** (observé par RMN du proton dans le CD₃CN à 25°C) est fortement déplacé vers la forme *trans* lorsque R³= H, alors que la présence d'un groupement R³ plus encombrant favorise la formation de l'isomère *cis* qui conduit à la cyclisation (**Figure I.B.3**).



A l'inverse, l'isomère *trans* ne favorise pas la formation du cycle 1,3,5-triazépane-2,6-dione et réagit avec un autre carbamate pour former le dimère **IB8** (**Figure I.B.4**) qui cyclise pour former le dimère hétérocyclique **IB9**.



Chapitre II. Extension de la chimiothèque d'1,3,5triazépane-2,6-diones par diversification en R³ et par la synthèse de deux isomères de chaîne en R² du composé IB6d

Chapitre II. Extension de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones par diversification en R³ et par la synthèse de deux isomères de chaîne en R² du composé IB6d

II.A. Extension de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones par diversification en R³

Ces résultats obtenus précédemment dans le groupe ont mis en lumière la versatilité de la méthode de synthèse pour accéder au squelette 1,3,5-triazépane-2,6-dione. Cependant, peu d'aminoacides *N*-alkylés sont disponibles commercialement par conséquent, parmi les 18 hétérocycles obtenus dans le cadre de la thèse de Gersande Léna, nous observons peu de variété au niveau du groupement R³ dont nous avons déjà discuté l'importance dans le processus de cyclisation (chapitre I, **Figure I.B.2**). L'un des objectifs de ma thèse a été d'étendre la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones en diversifiant la nature des groupements R³. Pour ce faire, nous avons choisi de synthétiser une collection de glycines *N*-alkylées en appliquant une des méthodes proposées pour la synthèse des peptoïdes⁹⁻¹¹.

II.A.1. Méthodes de synthèse de glycines *N*-alkylées appliquées à la construction des peptoïdes

Les premiers travaux sur les peptoïdes ont été décrits par le groupe de Bartlett⁹. Dans le cadre de ces travaux, trois méthodes pour générer des glycines *N*-alkylées ont été proposées (**Figure II.A.1**) : **A**. l'amination réductrice de l'amine portant la chaîne latérale avec l'acide glyoxylique ; **B**. la monoakylation de l'amine portant la chaîne latérale par de l'acide chloroacétique ; **C**. dans le cas de la *N*(Acétamide)glycine, l'addition de Michael de la glycine sur l'acrylamide.



Ces dérivés de glycine ont été protégés par un Fmoc afin de constituer des monomères disponibles pour construire les peptoïdes en utilisant les procédés classiques de synthèse peptidique sur phase solide.

Zuckermann et al. ont proposé une variante de la méthode **B** permettant de synthétiser les glycines *N*-alkylées directement sur phase solide¹⁰ (**Figure II.A.2**). Cette méthode permet l'assemblage du peptoïde par la répétition alternée de l'acylation du résidu précédent avec de l'acide bromoacétique suivi du déplacement du brome par une amine primaire. Lors de ces travaux, les acides chloro-, bromo- et lodoacétiques ont été testés. L'acide bromoacétique a conduit à de meilleurs résultats que l'acide chloroacétique utilisé pour les travaux de Bartlett.



Kruijtzer et Liskamp ont développé une synthèse de glycines *N*-alkylées et *N*-protégées par un groupement Fmoc¹¹. Comme pour les méthodes de Bartlett, le dérivé de glycine est obtenu en solution pour servir de Building Block lors de la synthèse du peptoïde (**Figure II.A.3**).



Le bromoacétate d'éthyle **IIA1** a été préféré à l'acide bromoacétique comme produit de départ, pour faciliter les processus de purification. Il est ensuite traité par une amine primaire en milieu basique pour former le *N*(alkyl)glycinate d'éthyle **IIA2**. Enfin, la saponification suivie de l'acylation par du FmocOSu en milieu basique conduit à la formation du monomère attendu **IIA4**.

II.A.2. Elaboration d'une collection de *N*(R³)glycinates de benzyle

En nous basant sur ces résultats, nous nous sommes proposés d'élaborer une collection de glycines *N*-alkylées en appliquant une stratégie analogue à celle de Kruijtzer et Liskamp. En effet, le principe est identique : l'amine portant le groupement R^3 déplace le brome d'un α -bromoester (**Figure II.A.4**). Cependant, nous avons préféré protéger l'acide sous forme d'ester de benzyle qui peut être clivé dans des conditions plus douces que l'ester d'éthyle. Cette méthode nous a permis de générer une petite collection de 8 *N*(alkyl)glycinates de benzyle (**IIA5-12**). Les groupements alkyles introduits comportent des cycles aromatiques (**IIA7, IIA8, IIA9**), des groupements aliphatiques (**IIA5, IIA6**), des éthers (**IIA9, IIA10**), un allyle (**IIA11**) et un cyclohexyle (**IIA12**). Ces dérivés de glycine ont été obtenus avec des rendements corrects de 56 à 84%. L'efficacité de cette réaction de monoalkylation est évidement très substrat-dépendante car elle dépend de la quantité de sous-produit issu de la dialkylation : moins l'amine primaire est encombrée, plus la dialkylation est importante. Ceci explique les rendements un peu moins bons des composés **IIA10** et **IIA11**. Le rendement de synthèse du composé **IIA5** est seulement de 65%. Ce résultat est probablement dû à l'évaporation de l'isopropylamine (bp : 33-34°C) qui conduit à la diminution de l'excès d'amine dans le milieu réactionnel, ce qui favorise le processus de dialkylation.



a) $R^3 NH_2$ (2éq), THF, 0°C, 4h, puis 16h à TA

R³ N(R³)GlyOBn rendements (%) IIA5 *i*Pr 65 *i*Bu 82 IIA6 IIA7 Bn 78 IIA8 70 IIA9 71 IIA10 56 C) IIA11 66 IIA12 84 Figure II.A.4 : Glycines N-alkylées IIA5-12, building blocks pour la synthèse d'1,3,5-triazépane-2,6-diones

Cette méthode de synthèse de glycines *N*-alkylées permet de mettre à profit la grande diversité des amines primaires commercialement disponibles. Celle-ci rend également possible l'introduction de groupements fonctionnels variés.

II.A.3. Synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones diversifiées en R³

Par la suite, ces glycines *N*-alkylées sont introduites dans la suite réactionnelle (présentée en section I.B) qui aboutit au châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione (**Figure I.B.1**). En effet, ces dérivés de glycine portant le groupement R³ sont couplés à des *N*-Boc-aminoacides. L'ensemble des Boc-aminoacides naturels et non-naturels représentait autant de possibilités de couplage. Pour des raisons relatives à



l'application de ces châssis dans notre projet de chimie médicinale (chapitre VI), nous avons privilégié le couplage à la *N*-Boc-Phénylalanine (**IIA13a-h**) ou à la *N*-Boc-Valine (**IIA13i-k**) (**Figure II.A.5**). Ces dipeptides issus du couplage amide puis du clivage du benzyle, sont obtenus avec de bons rendements (de 56% jusqu'à des rendements quantitatifs). La débenzylation étant quantitative, les rendements présentés traduisent l'efficacité du couplage peptidique en présence de BOP et de DIEA.

Ces résultats montrent que pour un même dérivé de glycine, le couplage est moins efficace avec la Boc-valine (**IIA13i-k**) qu'avec la Boc-phénylalanine (**IIA13b**, **IIA13f**, **IIA13h**), ce qui s'explique par l'encombrement plus important de la valine. Cependant, les rendements de couplage sont bons malgré la présence en R³ de groupements encombrés tels qu'un isopropyle (**IIA13b** (100%), **IIA13i** (70%)) ou un cyclohexyle (**IIA13h** (83%), **IIA13k** (65%)). La formation du composé **IIA13g** s'est avérée plus difficile (R=56%). Il est possible que la conformation adoptée par la chaîne alkyle rende plus difficile l'approche de l'aminoacide activé.

Après transformation des acides en carbamates de *N*-hydroxysuccinimidyle, le traitement au TFA permet d'obtenir les sels de TFA **IIA14a-k** purifiés par précipitation dans l'éther. Le déroulement de ces étapes est conditionné par l'activation de l'acide sous forme d'anhydride mixte qui permet l'obtention de l'azoture d'acyle et par la stabilité de l'isocyanate obtenu après le *réarrangement de Curtius*. Les rendements obtenus pour ces sels de TFA sont bons, de 55 (**IIA14b**) à 99% (**IIA14h**) avec une moyenne significative de 80%.

La cyclisation de ces sels de TFA conduit à la formation des châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione. Après purification de ces hétérocycles par précipitation (**IIA18**, **IIA20**, **IIA22**, **IIA24**), par colonne chromatographique (**IIA15**, **IIA17**, **IIA19**) ou par colonne chromatographique suivie d'une précipitation (**IIA16**, **IIA21**, **IIA23**, **IIA25**), les rendements de cyclisation déterminés sont bons (de 56 à 88%). Ils semblent globalement meilleurs que ceux obtenus avec un méthyle en R³ synthétisés par Gersande Léna, ce qui est probablement dû au déplacement vers la forme *cis* de l'équilibre *cis/trans* autour de la liaison amide.

II.B. Enrichissement de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones avec des isomères de chaîne en R²



Nous nous sommes également proposés d'enrichir la chimiothèque avec deux nouveaux châssis comportant en R² des isomères de chaîne du châssis **IB6d** synthétisé dans le cadre de la thèse de Gersande Léna (**Figure II.B.1**). Ces châssis ont été obtenus avec la méthode en solution classique (**Figure I.B.1**) à partir des dipeptides BocTle-SarOH(**IIB28a**) et BocNle-SarOH (**IIB28b**) (**Figure II.B.2**).

Ces dipeptides ont été obtenus par couplage du sarcosinate de benzyle avec la Boc-*tert*-leucine et la Boc-norleucine suivi de l'hydrogénation catalytique avec de très bons rendements, respectivement de 97 et 95%.

Les sels de TFA **IIB29a** et **b** ont été obtenus avec d'excellents rendements de 97 et 88%. La cyclisation de ces intermédiaires conduit à la formation des châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione avec de bons rendements de 67% (**IIB26**) et 72% (**IIB27**). Ces deux hétérocycles sont deux exemples de plus qui montrent l'efficacité de cette suite réactionnelle comme l'attestent les rendements globaux de 63% pour l'hétérocycle **IIB26** et 60% pour l'hétérocycle **IIB27**.



II.C. Diversité de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones

La méthode de synthèse des glycines *N*-alkylées a permis d'accroître efficacement la diversité des châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione en position R³. Les différents groupements introduits comportent des chaînes aliphatiques (IIA16, IIA17, IIA21, IIA25), des cycles aromatiques (IIA18, IIA19, IIA22, IIA23), des fonctions éthers (IIA15, IIA19, IIA23) et un cyclohexyle (IIA20, IIA24). Les isomères de chaîne du cycle IB6d ont permis de rajouter de la diversité en position R², en introduisant des groupements tertiobutyle (IIB26) et butyle (IIB27). Ces 13 cycles s'ajoutent aux 18 châssis qui composent la chimiothèque de notre laboratoire et sont disponibles pour être diversifiés par des opérations post-cyclisation. Pour certains d'entre eux, des monocristaux ont été obtenus et leurs analyses par diffraction des rayons X seront discutées dans le chapitre v.
Chapitre III. Diversifications Post-cyclisation

Chapitre III. Diversifications Post-cyclisation

Le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione est formé par une fonction amide tertiaire et une urée. Ces fonctions peuvent offrir jusqu'à 4 sites réactifs intéressants dans l'optique d'accroître la diversité (**Figure III.1**). En effet, il est possible d'exploiter d'une part, la nucléophilie des 2 azotes de la fonction urée et d'autre part, la réactivité des carbonyles de l'urée et de l'amide.



III.A. Alkylation des azotes du résidu urée

Dans le cadre de la thèse de Gersande Léna, des méthodes permettant la N,N'-dialkyaltion ou la N-monoalkylation du résidu urée ont été mises au point⁷ (Figure III.A.1).



La dialkylation d'urée a permis d'obtenir les hétérocycles correspondants avec des rendements corrects (50 à 82%) très variables en fonction de la nature de l'agent alkylant et de l'encombrement du substrat. Cette opération s'effectue avec 4 équivalents de bromure d'alkyle en présence de 4 équivalents de NaH (voie a, **Figure III.A.1**). La monoalkylation est régiosélective. En effet, elle s'effectue exclusivement sur l'azote *gem*-diamino de l'urée. L'emploi de 10 équivalents de KF/Al₂O₃ comme base et 1,5 équivalent d'agent alkylant (voie b, **Figure III.A.1**) conduit à la monoalkylation du

résidu urée avec de bons rendements de 65 à 94%. Et surtout, le ratio monoalkylation/dialkylation est optimal (>99/1). La monoalkylation de substrats plus encombrés nécessite tout de même l'emploi d'une base plus forte qu'est le NaH (2éq) et permet la formation des cycles correspondants avec des rendements plus faibles de 50 et 64% (voie c, **Figure III.A.1**).

$HN \xrightarrow[N]{NH} R^{2} \xrightarrow[R]{Base} O \xrightarrow[N]{NH} R^{2} \xrightarrow[R]{Base} R^{2} \xrightarrow[R]{NH} R^{2}$ IIA17-22, 25 et IIB26, 27 IIIA1-9							
Hétérocycle	R ²	R ³	R ^{dt} (%)	Hétérocycle	R ²	R ³	R ^{dt} (%)
IIIA1	<i>t</i> Bu	Me	53ª	IIIA6	Bn	Bn	85 ^e
IIIA2	<i>n</i> Bu	Me	64 ^b	IIIA7	Bn	\sim	79 ^c
IIIA3	Bn	Pr	75 [°]	IIIA8	Bn		47 ^f
IIIA4	Bn	<i>i</i> Pr	50 ^c	IIIA9	Bn		69 ^g
IIIA5	<i>i</i> Pr	<i>i</i> Pr	40 ^d				

a) KF/Al_2O_3 (15 éq), RBr (2 éq), TA, 12j b) KF/Al_2O_3 (20 éq), RBr (2,5 éq), TA, 4j c) KF/Al_2O_3 (15 éq), RBr (2,5 éq), 45°C, 4j d) KF/Al_2O_3 (25 éq), RBr (3 éq), 40°C, 15j e) KF/Al_2O_3 (10 éq), RBr (1,5 éq), TA, 54h f) KF/Al_2O_3 (15 éq), RBr (2 ,5 éq), 50°C, 7j ; puis NaH (2,2 éq), RBr (4 éq), TA, 5j g) KF/Al_2O_3 (10 éq), RBr (2 éq), 40°C, 5j ; puis NaH (1 éq), RBr (4 éq), TA, 5j

Figure III.A.2 : Monoalkylation des châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione de la nouvelle collection décrite en section II.A et II.B par du bromoacétate de tertiobutyle

Dans le cadre de mes travaux de thèse, j'ai mis en application la procédure de monoalkylation aux nouveaux châssis dont j'ai évoqué la synthèse en section II.A et II.B (**Figure III.A.2**). Les rendements de monoalkylation observés sont variables en fonction des substrats, par exemple, le composé **IIIA5** ($R^2=iPr$, $R^2=iPr$) est obtenu avec un rendement de 40% alors que le composé **IIIA6** a été isolé avec un rendement de 85%. Ces résultats révèlent la nécessité d'adapter les conditions d'alkylation au substrat lorsque celui-ci a un groupement plus encombrant en R^3 . En effet, l'ensemble des hétérocycles alkylés a été obtenu avec un temps de réaction plus long (54h à 15j) et seul, le composé **IIIA6** a été alkylé dans les conditions standards (KF/Al₂O₃ (10 éq), bromoacétate de tert-butyle (1,5

éq), RT). Les autres expériences ont nécessité une quantité plus importante de bromo-acétate de tertiobutyle (2 à 4éq, **IIIA1-5**, **IIIA7-9**). La synthèse des composés **IIIA8** et **IIIA9** comportant un groupement R³ très encombré, a été effectuée dans des conditions basiques plus dures en substituant le KF/Al₂O₃ par du NaH. Le KF/Al₂O₃ conduisant à des taux de conversion très faibles, nous l'avons éliminé par filtration avant d'ajouter le NaH. Cette manipulation a permis d'obtenir l'hétérocycle **IIIA9** (R2 = Bn, R3 = cyclohexyle) avec un rendement satisfaisant de 69%. Malgré l'évolution significative de l'avancement de la réaction lors de l'ajout de NaH, le composé **IIIA8** a été isolé avec un rendement modeste de 47%.

III.B. Acylation

La nucléophilie des NH composant la fonction urée permet également la *N*-acylation de celle-ci. De nombreux exemples d'acylation d'urée ont été décrits. Dans la plupart des cas, ces dérivés d'urée sont utilisés comme agents chélatants¹², comme building blocks lors de la synthèse d'hétérocycles¹³⁻¹⁵ ou ils sont issus, comme dans notre cas, de la dérivatisation d'un châssis moléculaire contenant une fonction urée¹⁶⁻²⁰. L'acylation d'une urée chirale peut également servir d'étape conduisant à un intermédiaire de synthèse où l'urée sert d'auxiliaire chiral^{21, 22}.

Nous avons relevé quelques exemples d'acylation dans la littérature (**Figure III.B.1**). En général, l'agent acylant utilisé est un halogénure d'acyle et les conditions dans lesquelles est effectuée la réaction sont basiques. Ces conditions sont plus ou moins dures en fonction des substrats. En effet, certaines procédures ont été proposées avec l'emploi de bases fortes telles que des lithiens(1), des amidures(2), de l'hydrure de sodium(3), ou du tertiobutanolate de potassium(4).

Des protocoles d'acylation d'urée sans présence de base ont également été mis au point mais ils nécessitent un chauffage à des températures assez élevées 80°C (7(reflux du benzène), 8, 9 (80°C)).

De tels dérivés acylés peuvent être obtenus dans des conditions plus douces, comme les exemples (5) et (6) qui font intervenir des amines tertiaires à des températures inférieures à 65°C, ou les exemples (10), (11) et (12) très intéressants car des bases pyridiniques (pyridines, DMAP, et lutidine) sont utilisées à des températures peu élevées. Par conséquent, ces conditions très douces peuvent être appliquées à des substrats comportant des fonctions sensibles. Par ailleurs, des méthodes permettant de désymétriser l'urée par monoacylation ont été étudiées (1) et (2). Comme dans ces deux exemples (1) et (2), la plupart des protocoles qui conduisent à la monoacylation s'effectue en 2 étapes : d'abord, la diacylation puis, la désymétrisation par clivage d'un des groupements acyles.





III.B.1. Mise au point des conditions d'acylation

La possibilité d'appliquer une méthode d'acylation à des substrats urée comportant des fonctions sensibles est une propriété très importante dans l'optique de générer de la diversité. Par conséquent, nous nous sommes focalisés sur la mise au point d'un protocole d'acylation nécessitant des conditions douces. Pour ce faire, nous avons testé l'efficacité de 4 bases différentes lors de l'acylation du cycle **IB6a** avec du chlorure de benzoyle. L'emploi de 2,4,6-collidine (entrée1) permet l'acylation de l'hétérocycle **IB6a** par 2 équivalents de chlorure de benzoyle avec un bon rendement de 71% (**Figure III.B.2**).



entrées	composés	R	Base	Qté de RCOCI (éq)	Rdt (%)
1	IIIB1	Ph	2,4,6-collidine	2	71
2	IIIB1	Ph	K ₂ CO ₃	4	59
3	IIIB1	Ph	DMAP	4	40
4	IIIB1	Ph	pyridine	4	52
5	IIIB2	cinnamyle	2,4,6-collidine	2	79
6	IIIB3	4-Br-Ph	2,4,6-collidine	3,5	85
7	IIIB4	<i>t</i> Bu	2,4,6-collidine	4	80

Figure III.B.2 : Mise au point de la monoacylation du résidu urée du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione.

Ces conditions sont les meilleures observées. Dans de telles conditions, l'hétérocycle est monoacylé. En effet, l'analyse du brut réactionnel par HPLC montre que le dérivé diacylé n'est pas formé (**Figure III.B.3 (a**)). Par ailleurs, l'analyse RMN COSY du proton dans le CDCl₃ a permis d'identifier l'azote acylé (**Figure III.B.3 (b**)). En effet, le couplage J^3 des protons portés par le carbone (C4) du résidu *gem*diamine avec le proton porté par l'azote N3 permet de déduire que l'azote acylé est l'azote N1, contrairement à la monoalkylation qui s'effectue sélectivement sur l'azote N3 (section III.A). Cette méthode de monoacylation ne nécessite donc pas d'étape supplémentaire de désymétrisation comme pour la plupart des protocoles de monoacylation d'urée. Les 2 autres bases pyridiniques testées ont conduit à des résultats moins intéressants. En effet, avec de la DMAP (2éq, entrée 3) ou de la pyridine (2 éq, entrée 4), les rendements de l'acylation sont respectivement de 40 et 52%, malgré la présence de 4 équivalents de chlorure de benzoyle. Le carbonate de potassium (entrée 2) a également été testé comme base conduisant à la formation du dérivé benzoylé **IIIB1** avec un rendement de 59%. Ce rendement est certes modeste mais le K₂CO₃ représente une alternative intéressante à la collidine car une simple filtration permet d'éliminer le carbonate insoluble dans le THF.

III.B.2. Evaluation de l'efficacité des conditions d'acylation à travers 4 exemples

Les tests sur les bases ont permis de révéler la condition optimale pour la monoacylation de l'azote du résidu urée du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione, c'est-à-dire 2 équivalents de 2,4,6-collidine et 2 à 4 équivalents de chlorure d'acyle dans le THF. A l'issue de ces manipulations, le cycle **IIIB1** a été synthétisé. Nous avons testé 3 autres chlorures d'acyle sur le cycle **IB6a**. Ces essais ont conduit à la formation des composés acylés correspondants avec des rendements de 79 à 85% (**Figure III.B.2**). En effet, le traitement de l'hétérocycle **IB6a** par 2 équivalents de chlorure de cinnamoyle a conduit à l'obtention du composé **IIIB2** avec un bon rendement de 79%. La triazépanedione **IIIB3** issue de l'acylation de **IB6a** par du 4-bromo benzoyle (3,5éq) a été obtenue avec un rendement de 85%. Et enfin, un rendement de 80% a été déterminé pour l'acylation avec 4 équivalents de chlorure de 2,2-diméthyl-propionyle (**IIIB4**). Ces acylations représentent une nouvelle méthode puissante de diversification du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione, compte tenu de la variété des chlorures d'acyle disponibles commercialement. Par ailleurs, l'introduction d'un autre carbonyle permet également d'accroître les possibilités de former des liaisons hydrogène, une propriété intéressante pour l'application de ces hétérocycles en chimie médicinale. Les analyses par diffraction des rayons X des composés **IIIB1**, **2** et **4** sont présentées dans le chapitre V.



III.C. Thionation

Le châssis hétérocyclique triazépanedione peut également être diversifié par la transformation des carbonyles de l'urée et de l'amide. La thionation des carbonyles est une possibilité intéressante de diversification. En effet, la thionation d'un composé accroît sa lipophilie et de ce fait, elle permet au composé de traverser plus facilement les membranes dans les milieux biologiques et accroît sa biodisponibilité²⁴⁻²⁷. En comparaison avec leurs homologues, urées et amides, les thiourées et les thioamides ont également des NH dont le proton est plus acide. Par conséquent, ce sont de meilleurs donneurs de liaisons hydrogène²⁸. Cette propriété est également un élément qui peut accroître l'activité biologique du composé. Le réactif de Lawesson (LR) (**IIIC2**) et le pentasulfure de phosphore (**IIIC1**) sont les deux réactifs les plus utilisés pour la transformation des carbonyles en thiocarbonyles (**Figure III.C.1**).



Pour de nombreux substrats, le réactif de Lawesson s'est révélé plus efficace que le pentasulfure de phosphore²⁹. D'une part, les protocoles de thionation impliquant le LR (**IIIC2**) nécessitent des quantités de réactif moins importantes (stœchiométriques dans bon nombre de cas) et des temps de réaction plus courts qu'avec le réactif **IIIC1**. Pour cette raison, le LR a largement remplacé le pentasulfure de phosphore dans la plupart des protocoles de thionation depuis les années 80. Par conséquent, nous avons également choisi le réactif de Lawesson pour la thionation du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione.

III.C.1. Thionation du carbonyle de la fonction amide

De nombreux travaux de thionation du groupement oxo d'un amide ont été décrits. Cette fonction est l'une des plus réactives vis-à-vis du réactif de lawesson (ROH > R(CO)NHR' > R(CO)R' > R(CO)OR')²⁹, et des procédés ont été mis au point pour transformer sélectivement un amide ou une lactame en dérivés thio correspondants en présence de groupements cétone, ester ou lactone. Nous avons sélectionné quelques exemples intéressants montrant la possibilité i) de développer des méthodes sélectives avec des substrats amide comportant d'autres carbonyles de fonction esters ((5) et (9)) ou de fonction carbamates ((1), (5),(7)) ; ii) d'effectuer la thionation sur des amides primaires ((1), (3)), secondaires (5), ou tertiaires ((2), (4), (6), (7), sur des lactames secondaires (10) ou tertiaires ((7), (8), (9)) (**Figure III.C.2**).



Dans la plupart des protocoles de thionation, le milieu réactionnel est chauffé à des températures élevées. Cependant, dans certains cas, l'importante réactivité des amides vis-à-vis du réactif de Lawesson permet la thionation de ces fonctions à température ambiante dans des solvants tels que le THF (1), (3), (5), (6), ou le DCM (4), (7), (10).

III.C.2. Thionation du carbonyle de la fonction urée

Très peu d'exemples de thionation de carbonyle d'urée avec le LR ont été décrits. Cette réaction a déjà été effectuée sur des urées tétrasubstituées, comme les exemples (1) et (2) ou plus rarement sur des urées trisubstituées comme (3) et (4) (**Figure III.C.3**).



Contrairement à la thionation de la fonction amide pour laquelle certains protocoles sont effectués à température ambiante, la transformation de l'urée moins réactive, en thiourée nécessite un chauffage à des températures plus ou moins élevées (80° exemple (4) et 145°C exemple (1)).

En ce qui concerne la thionation des urées bisubstituées, El-Barbary et Lawesson^{42, 43} ont montré qu'il était très difficile d'effectuer cette réaction sur de tels substrats avec le réactif de Lawesson. En effet, le traitement de différentes urées bisubstituées par le LR, soit dans le toluène à 110°C, soit dans le xylène à 140°C, conduit à la formation de sous-produits majoritaires. Dans la plupart des cas, la thiourée n'est pas observée dans le brut réactionnel. Dans des cas plus rares, une très faible quantité de thiourée est formée. L'identification par microanalyses des sous-produits a révélé qu'il s'agissait de dérivés du LR liés de manière covalente et stable à des fragments du substrat de départ.

III.C.3 Thionation du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione

Nous avons testé l'efficacité de la thionation des carbonyles du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione par le réactif de Lawesson, à travers l'exemple du traitement de l'hétérocycle **IB6a** par ce réactif (**Figure III.C.4**). Dans le THF à température ambiante, le réactif de Lawesson (LR) permet la thionation sélective du carbonyle de la fonction amide pour former le composé **IIIC3** avec un bon rendement de 79%, sans modifier le carbonyle de l'urée.



En effet, après la purification du produit par chromatographie sur couche mince préparative, l'analyse RMN du ¹³C dans le DMSO permet de confirmer la substitution de ce groupement oxo par le thio (**Figure III.C.5**). Le carbone du thiocarbonyle est plus déblindé que l'amide correspondant (δ = 170,04 ppm) son déplacement chimique est de 202,87 ppm ce qui correspond avec les valeurs des tables (d'après les tables⁴⁴ $\Delta(\delta_{\text{thioamide}} - \delta_{\text{amide}}) \approx 30$ ppm).

Résultats_Chapitre III



Dans le toluène à 80°C, le réactif de Lawesson (LR) permet la thionation des 2 carbonyles de l'hétérocycle pour former l'hétérocycle **IIIC4** avec un bon rendement de 80%, malgré la difficulté de la thionation des urées bisubstituées décrite dans la littérature. L'analyse RMN du ¹³C dans le CDCl₃ montre la présence des fonctions thiourée et thioamide (**figure III.C.6**). Le carbone de la fonction thiourée résonne avec un déplacement chimique de 181,12 ppm et le signal de celui de la thioamide est à 200,40 ppm. Le signal du carbone de la thiourée montre que celui-ci est plus déblindé que le carbone de son homologue urée (**figure III.C.5**) conformément aux données des tables (d'après les tables⁴⁴ $\Delta(\delta_{\text{thiourée}} - \delta_{\text{urée}}) \approx 30$ ppm).



A partir d'un hétérocycle 1,3,5-triazépane-2,6-dione, Il est donc possible de générer deux dérivés thios différents en fonction des conditions de thionation. Ces résultats sont très intéressants pour élargir la diversité. De plus, la chimie des thiourées est riche et pourrait être utilisée pour mettre au point de nouvelles modifications post-cyclisation.

Chapitre IV. Méthodes de chimie supportée appliquées à la synthèse parallèle d'1,3,5-triazépane-2,6-diones : Construction de chimiothèques orientées vers la création de diversité

Chapitre IV. Méthodes de chimie supportée appliquées à la synthèse parallèle d'1,3,5-triazépane-2,6-diones : Construction de chimiothèques orientées vers la création de diversité

Dans les chapitres d'introduction bibliographique, nous avons présenté la synthèse de plusieurs hétérocycles dont la plupart a été obtenue en appliquant les techniques de chimie supportée. Ces exemples nous montrent que ces techniques facilitent la synthèse parallèle et par voie de conséquence, la génération de chimiothèques de grande taille. Précédemment au laboratoire, Gersande Lena a mis au point une synthèse du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione en solution assistée par un polymère⁷ (Polymer-assisted solution phase synthesis (PASP)). L'approche proposée combine la stratégie « catch and release» et un procédé de cycloclivage⁴⁵ (Figure IV.1). D'un point de vue général, la stratégie « catch and release » implique la formation sélective d'une liaison entre le produit de la réaction et un support solide, suivie du lavage de celui-ci pour éliminer les impuretés. Par la suite, le produit attendu est décroché de la résine et il est obtenu avec une pureté optimale.



a) DPPA (1,1éq), Et₃N (1,1éq), DMF, 15min ; b) 70°C, 1h30min ; c) PS-SuOH (0,2 éq), 70°C, 2h ; d) TFA, 30min 5 min ; e) DIEA (5éq), DCM, 35°C, 2h.

Figure IV.1 : Synthèse du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione assistée par un polymère à partir d'un *N*-Boc-dipeptide acide

En ce qui concerne la synthèse du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione, elle s'effectue en 4 étapes avec comme produit de départ, le dipeptide acide **IB3**. Celui-ci est traité par du DPPA (1,1éq) en présence de triéthylamine (1,1éq) pour former l'azoture d'acyle **IB4**. Ensuite, le *réarrangement de Curtius* est effectué par chauffage à 70°C. Après 1h30, l'isocyanate obtenu **IV1** est piégé par une résine *N*-

hydroxysuccinimide (0,2éq) pour former le carbamate supporté **IV2**. Enfin, le clivage du groupement protecteur Boc est effectué par traitement au TFA. Après le lavage de la résine, le cycloclivage est réalisé par chauffage à 35°C dans une solution de DIEA (5éq) dans le DCM pour obtenir l'hétérocycle attendu **IB6** avec une très bonne pureté. A titre d'exemple, les composés **IB6a** et **IB6n** ont été synthétisés avec des puretés respectives de 90 et 84%.

Cette méthode est très attractive car elle permet de synthétiser simultanément plusieurs hétérocycles triazépanediones dont la diversité découle de la diversité des dipeptides de départ. Pour accroître cette diversité, la synthèse sur phase solide (SPPS) d'une chimiothèque de dipeptides apparaissait être une alternative de choix qui conduit à l'application du concept de « Libraries from libraries » introduit par Houghten⁴⁶: La chimiothèque combinatoire d'1,3,5-triazépane-2,6-diones découle de la transformation chimique de la chimiothèque de dipeptides.

Pour obtenir, après clivage, des peptides acides dont l'extrémité *N*-terminale est protégée par un Boc, les protocoles standards utilisés par les peptidistes nécessitent l'utilisation de la résine chlorure de 2-chlorotrityle **IV3** (**Figure IV.2**) développée par Barlos⁴⁷⁻⁵⁰.





Figure IV.2 : Synthèse de dipeptides acides *N*-protégés sur la résine chlorure de 2-chlorotrityle

D'abord, le premier aminoacide est accroché à la résine chlorure de 2-chlorotrityle **IV3** par déplacement du chlorure par le *N*-Fmoc-aminoacide déprotoné. Ensuite, l'amine terminale de l'aminoester **IV4** est déprotégée par traitement avec une solution de 20% de pipéridine dans la DMF, puis acylée par un *N*-Boc-aminoacide dans les conditions de couplage classiques DIC/HOBt pour former le dipeptide supporté **IV5**. Enfin, le dipeptide **IB3** est libéré de la résine par traitement avec une solution d'hexafluoroisopropanol (HFIP) dans le DCM.

IV.A. Inconvénients de la synthèse du dipeptide de départ sur la résine 2-chlorotrityle

L'accrochage du dérivé de dipeptide sur la résine *N*-hydroxysuccinimide est l'étape clé de la synthèse de l'hétérocycle 1,3,5-triazépane-2,6-dione. Cette étape fait intervenir des intermédiaires chimiquement peu stables comme l'azoture d'acyle et l'isocyanate. Ces intermédiaires sont notamment sensibles à l'hydrolyse basique. Par conséquent, le dipeptide acide, le DPPA et la triéthylamine doivent être mélangés dans des proportions rigoureusement stœchiométriques lors de la synthèse de l'azoture d'acyle. En effet, lors du *réarrangement de Curtius* effectué « one-pot » un excès de base conduit probablement à l'hydrolyse de l'isocyanate.

La quantité de dipeptide obtenue après clivage de la résine 2-chlorotrityle dépend essentiellement du rendement de la première étape d'accrochage du Fmoc-aminoacide à la résine. Cette étape est difficile à contrôler et il est probable que nous surévaluons la quantité de dipeptide obtenue qui, par voie de conséquence, se trouve en défaut par rapport au DPPA et à la triéthylamine lors de l'étape de synthèse de l'azoture d'acyle. Puis, lors du *réarrangement de Curtius*, l'isocyanate est en milieu basique et s'hydrolyse.

Un autre désavantage de l'emploi de la résine chlorure de 2-chlorotrityle est associé aux conditions de clivage choisies. En effet, l'HFIP est nucléophile et difficile à éliminer par évaporation, il conduit probablement à la formation de sous-produits par déplacement de l'azoture pour former l'ester ou par piégeage de l'isocyanate sous forme de carbamate. Des efforts ont été entrepris pour améliorer l'élimination de l'HFIP ou pour le remplacer mais sans succès réel.

Ces deux phénomènes sont probablement à l'origine du manque de reproductibilité et de robustesse de cette voie de synthèse qui nous ont poussé à envisager deux autres stratégies alternatives, appelées méthodes A et B.

IV.B. Méthode A : *Réarrangement de Curtius* d'un *N*(alkyl)- aminoacide *N*-protégé suivi de l'accrochage à une résine puis formation de la liaison amide

Cette alternative abandonne le concept de « library from library ». En effet, d'un point de vue pratique, le dérivé de dipeptide carbamate est directement construit sur phase solide : la chimiothèque d'hétérocycles n'est plus obtenue à partir d'une chimiothèque de dipeptides préalablement constituée (**Figure IV.B.1**).

Le dérivé de sarcosine *N*-Boc ou *N*-Alloc **IVB1** est traité par une quantité équimolaire d'azoture de diphénylphosphoryle et de TEA (**Figure IV.B.1**). Le *réarrangement de Curtius* est alors effectué par chauffage de la solution d'azoture d'acyle à 70°C dans la DMF. L'intermédiaire isocyanate **IVB3** formé est ensuite piégé par la résine oxime⁵¹⁻⁵³ sous la forme du carbamate **IVB4**. Ensuite, le groupe protecteur de l'amine est clivé avec 25% de TFA dans le DCM, pour le groupement Boc ou avec une quantité catalytique de Pd(Ph₃)₄ en présence de PhSiH₃ dans le DCM, pour le groupement Alloc. Un Boc-aminoacide est couplé au groupement amino libéré pour générer le carbamate supporté **IVB5**. Après clivage du Boc, le sel de TFA résultant est rincé avec une solution basique pour régénérer le groupement amino libre. Enfin, le chauffage à 80°C dans le toluène, en présence de DIEA (5éq), conduit à la formation du châssis hétérocyclique **IB6** par cycloclivage.



a) DPPA (1éq), TEA (1,1éq), DMF, TA, 30 min b) 70°C, 1h30min; c) PS-oxime (0.2 éq), 70°C, 2h ; d) 25% TFA/DCM, 30min ; e) Pd(PPH₃)₄ (0,04 éq), PhSiH₃ (4éq), DCM, 15 min ; f) BocXaaOH (1éq), DIC(1éq), HOBt (1éq), DMF, 1h ; g) DIEA (5éq), toluène, 80°C, 48h

Figure IV.B.1 : Synthèse d'1,3,5-triazépane-2,6-dione par formation du carbamate suivie du couplage amide

L'optimisation du protocole a été effectuée à travers l'exemple de l'hétérocycle dérivé de la séquence peptidique Phe-Sar. L'efficacité de chaque étape sur phase solide est contrôlée par spectrométrie IR (**Figure IV.B.2**). Nous avons observé l'apparition des bandes correspondant aux vibrations des carbonyles (1755 cm⁻¹ et 1694 cm⁻¹) du groupement Boc et du carbamate d'oxime de l'intermédiaire **IVB7**, puis, l'apparition des bandes à 1750, 1710 et 1655 cm⁻¹ caractéristiques des carbonyles du Boc, du carbamate d'oxime et de l'amide tertiaire de l'intermédiaire **IVB8**.



Bien que le rendement global soit modeste (23%), la caractérisation du brut de réaction par RP-HPLC C_{18} (a) et NMR (¹H et ¹³C dans le CDCl₃, b) a révélé une pureté très élevée (**Figure IV.B.3**). Cette méthode est également très intéressante du fait du nombre limité d'étapes. Cependant, elle est limitée en termes de diversité. Elle permet seulement des variations limitées en position R³ puisque peu d'aminoacides *N*-alkylés sont disponibles commercialement.



De plus, l'instabilité intrinsèque du composé *gem*-diamino pourrait limiter le choix du premier aminoacide : l'introduction d'une chaîne latérale alkyle (position R⁴) pourrait augmenter la sensibilité du dérivé *gem*-diamino à l'hydrolyse, dans les conditions acides nécessaires au clivage du

groupement Boc⁵⁴. Cette limite pourrait éventuellement être contournée grâce à l'utilisation d'aminoacides *N*-protégés par un groupement Alloc dont le clivage peut être réalisé dans des conditions douces.

La résine oxime a été choisie pour cette séquence réactionnelle parce qu'elle permet la formation d'un carbamate suffisamment stable pour résister aux conditions de couplage, mais suffisamment réactif pour permettre le cycloclivage. De plus, cette résine a déjà été utilisée par Hamuro et al.⁵⁵ pour synthétiser des composés amide/urée linéaires mimes de peptides via un carbamate d'oxime (**Figure IV.B.4**). Lors de cette synthèse, le bon déroulement de l'étape de couplage amide qui conduit à la formation du carbamate **IVB10** montre la stabilité du carbamate d'oxime dans les conditions de couplage. Par ailleurs, le clivage de la résine par aminolyse intermoléculaire à 80°C, pour former l'urée **IVB11**, est effectué dans des conditions semblables au clivage intramoléculaire de la synthèse des triazépanediones.





Nous avons testé une alternative par substitution de la résine oxime par la résine *N*-hydroxysuccinimide **IVB12** lors de la séquence réactionnelle de la méthode A de synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones (**figure IV.B.5**). Chaque étape est contrôlée par spectrométrie IR, l'accrochage du premier aminoacide a conduit à la formation du carbamate d'*N*-hydroxysuccinimide supporté



a) BocN(Me)CH₂NCO (5 éq), DMF, 70°C, 2h ; b) 25% TFA/DCM, 30min ; c) BocXaaOH (1éq), DIC(1éq), HOBt (1éq), DMF, 1h

Figure IV.B.5 : Substitution de la résine oxime par la résine *N*-hydroxysuccinimide lors de la séquence réactionnelle de la méthode A

IVB13. Cependant, comme nous pouvions nous s'y attendre, le clivage du groupement Boc suivi de l'ajout d'un Boc-aminoacide en présence de DIC et d'HOBt, n'a pas permis de former le carbamate **IVB14**. En effet, le carbamate de succinimidyle est probablement trop sensible à l'hydrolyse pour résister aux conditions de couplages.

IV.C. Méthode A : Application à la construction d'une chimiothèque combinatoire d'1,3,5triazépane-2,6-diones.

La méthode de synthèse A a été appliquée à la synthèse parallèle d'une petite chimiothèque de 35 châssis hétérocycliques (**Figure IV.C.1**). Ces hétérocycles ont été formés en faisant varier la nature du 2^{ème} aminoacide couplé au carbamate supporté dérivé de sarcosine.

	 Boc Xaa −N 、)		R ²
Entrée	Хаа	Pureté (%) ^a	Entrée	Xaa	Pureté (%)
1	Ala	99	19	D-Val	82
2	Asp(OBzl)	100	20	D-lle∙1/2 H₂O	100
3	Cys(p-MeBzl)	90	21	D-Leu• H2O	100
4	Glu(OBzl)	100	22	Tic	78
5	Pip	64	23	Arg(Cbz ₂)	36
6	lle∙1/2 H ₂ O	83	24	Asn	
7	Leu• H2O	100	25	Asp(OAll)	82
8	Lys(2-Cl-Cbz)	100	26	Cys(4-MoBzl)	82
9	Phe	100	27	Arg(NO ₂)	
10	Pro		28	Gln	
11	Ser(Bzl)	100	29	Gly	
12	Thr(Bzl)	93	30	Sar	100
13	Trp(Formyl)	50	31	Tyr(All)	94
14	Tyr(Bzl)	100	32	Nle	86
15	Val	80	33	Cha	93
16	Aib		34	Tle	
17	4-Fphe	100	35	Met(O)	
18	D-Phe	100			

(a) la pureté du produit est mesurée par HPLC (détection à 214 nm) et l'identité est confirmée par spectrométrie de masse haute résolution par électronébulisation (HR ESMS). (—) Les hétérocycles dont la valeur MS n'a pas été identifiée par spectrométrie de masse. 4-Fphe = p-fluorophenylalanine ; Tle = tert-Leucine

Figure IV.C.1 : Evaluation de la pureté de chacun des membres de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones préparées par synthèse assistée par un polymère suivant la méthode A.

Les résultats obtenus nous ont permis d'évaluer l'efficacité de cette voie de synthèse. Sur ces 35 composés, 8 n'ont pas été identifiés par spectrométrie de masse (entrées 10, 16, 24, 27 - 29, 34, 35). La pureté du produit brut mesurée par C₁₈ RP-HPLC est supérieure ou égale à 80% pour 23 hétérocycles de la chimiothèque (entrées 1-4, 6-9, 11, 12, 14, 15, 17-21, 25, 26, 30-33).

Les composés dérivés des séquences Aib-Sar (entrée 16) et Tle-Sar (entrée 34) n'ont pas été formés, ce qui peut s'expliquer soit par la difficulté des aminoacides encombrés BocAibOH et BocTleOH à se coupler à l'amine pour former le dipeptide, soit par la difficulté des dipeptides à cycliser. Par ailleurs, les fonctions amide primaire et sulfoxyde sont incompatibles avec cette séquence réactionnelle. En effet, l'application de la méthode avec les dérivés de dipeptides incorporant une asparagine (entrée 24), une glutamine (entrée 28) ou une méthionine (entrée 35) protégée sous forme de sulfoxyde n'a pas permis d'observer le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione correspondant. Il est probable que la présence de ces groupes fonctionnels nucléophiles en milieu basique provoque le cycloclivage ou catalyse l'hydrolyse du carbamate en formant un intermédiaire cyclique. A l'inverse, les fonctions ester, thioéther, carbamate, éther sont bien tolérées.

IV.D. Méthode B : Formation du dipeptide carboxamide/*réarrangement d'Hofmann*/accrochage sur la résine, suivi du cycloclivage

Précédemment, nous avons montré les difficultés rencontrées lors de l'application de la voie de synthèse développée par Lena et al.⁷ à la construction de chimiothèques. L'échec de cette voie était principalement dû à l'instabilité des fonctions azoture d'acyle et isocyanate dans les conditions basiques.

IV.D.1. Synthèse de composés amide/urée via un réarrangement d'Hofmann

Le groupe de Lipton a proposé une méthode qui conduit à la formation de composés amide/urée linéaires **IVD3** avec de bon rendements de 69 à 96%, via un intermédiaire isocyanate **IVD2** obtenu par *réarrangement d'Hofmann* oxydatif⁵⁶ (**Figure IV.D.1**). Ces structures qui comportent les trois fonctionnalités *gem*-diamino, urée et amide peuvent être considérées comme des analogues linéaires des 1,3,5-triazépane-2,6-diones. De plus, la synthèse assistée par un polymère proposée par Gersande Lena (**Figure IV.1**) conduit à la formation des triazépandiones via un intermédiaire semblable au composé **IVD2**. Dans la stratégie proposée par Lipton, l'isocyanate est obtenu par un *réarrangement d'Hofmann* oxydatif alors qu'il est généré par un *réarrangement de Curtius* dans la voie de Lena et al.

IV.D.2. Le *réarrangement d'Hofmann* oxydatif versus le *réarrangement de Curtius* pour générer l'isocyanate IVD2

Le *réarrangement de Curtius* nécessite d'abord l'activation de l'acide sous forme d'azoture d'acyle, puis un chauffage a des températures élevées (70°C dans le cas de la synthèse développée par Lena). A cette température et en présence de base, l'isocyanate peut être hydrolysé pour former l'amine correspondante.

Le *réarrangement d'Hofmann* oxydatif induit par le réactif oxydant bis(trifluoroacétoxy)-iodobenzène (PIFA) développé par Loudon⁵⁷⁻⁵⁹ ne nécessite pas d'étape d'activation et il peut être effectué à température ambiante. De plus, le *réarrangement d'Hofmann* en présence de PIFA nécessite la présence d'une quantité de pyridine stœchiométrique par rapport aux 2 protons du carboxamide. Dans de telles conditions (température ambiante et milieu neutre), l'isocyanate est stable à l'hydrolyse.



IV.D.3. Méthode B : Description de la synthèse

En s'inspirant de la synthèse d'analogues linéaires de triazépandiones proposée par Lipton et en considérant les avantages du *réarrangement d'Hofmann* par rapport au *réarrangement de Curtius*, nous avons proposé une autre voie de synthèse (méthode B) alternative à la stratégie proposée par Lena et al. (**Figure IV.1** et **IV.2**). Cette méthode basée sur le concept de « library from library » consiste en la construction sur phase solide d'une chimiothèque de dipeptides carboxamide *N*-protégés par un Boc **IVD7**, suivie de la combinaison de la stratégie « catch and release » et du cycloclivage qui permet d'obtenir la chimiothèque d'hétérocycles **IVD10 (Figure IV.D.2**).

Résultats_Chapitre IV



a) N-Fmoc-N-alkyl-aminoacide (5éq), DIC (5éq), HOBt (5éq), DMF, 2h, b) 20% Pipéridine/DMF, 20min, c) N-Bocaminoacide (5éq), DIC (5éq), HOBt (5éq), DMF, 2h, d) 2% TFA/DCM, 6x5min, e) bis(trifluoroacétoxy)iodo)benzène (PIFA) (4éq), pyridine (8éq), THF, 1h, f) PS-SuOH (1éq), THF, 2h, g) 25% TFA/DCM, 2x25min, h) DIEA (5éq), THF, 35°C, 2h.

Figure IV.D.2 : Synthèse d' 1,3,5-triazépane-2,6-diones en suivant la méthode B : formation du dipeptide carboxamide suivie du réarrangement d'Hofmann et de l'accrochage sur la résine pour finir par le cycloclivage

Le dipeptide **IVD7** avec la terminaison carboxamide est synthétisé sur phase solide en utilisant la résine amide de *Sieber* (**IVD4**). Cette résine est très sensible au traitement acide, elle permet de libérer le peptide amide dans des conditions douces sans cliver les groupes protecteurs des chaînes latérales et le groupement Boc qui protège l'extrémité *N*-terminale du peptide. La première étape consiste en l'acylation de la résine de *Sieber* par un *N*-Fmoc-*N*-alkyl-aminoacide (5éq) en présence de DIC (5éq) et d'HOBt (5éq) qui conduit à l'obtention du composé **IVD5**. Après la déprotection du groupement Fmoc, un *N*-Boc-aminoacide (5éq) est couplé pour former le dipeptide **IVD6**. Le dipeptide amide **IVD7** est ensuite libéré de la résine par traitement avec une solution de 2% de TFA dans le DCM. La solution contenant le composé **IVD7** est ensuite neutralisée par 2éq de pyridine par rapport au TFA avant d'être évaporée.

Ensuite, le traitement de ce dipeptide amide (5éq) par du bis(trifluoroacétoxy)iodo)benzène (PIFA) (4éq) en présence de pyridine (8éq) dans le THF conduit à la formation de l'isocyanate correspondant **IVD8** par le *réarrangement d'Hofmann* oxydatif. Après 1h, le PIFA en défaut est totalement consommé et l'addition de la résine PS-SuOH (1éq) permet de piéger l'isocyanate sous la forme du carbamate de succinimidyle supporté **IVD9**. La résine PS-SuOH **IVB12** n'est pas disponible commercialement. Elle est obtenue par traitement d'une résine mercaptométhyl-polystyrène **IVD11** avec de la *N*-hydroxymaléimide (2éq) en présence de DIEA (0,6éq) dans le THF⁶⁰ (**figure IV.D.3**). Enfin,

le clivage du Boc suivi du cycloclivage dans une solution de DIEA (5éq) dans le THF à 35°C permet de libérer l'hétérocycle attendu **IVD10**.



IV.D.4. Méthode B : Evaluation de l'efficacité de la synthèse par un exemple

Afin d'évaluer l'efficacité de cette synthèse, nous l'avons appliquée à l'exemple de la synthèse de l'hétérocycle **IB6a** dérivé de la séquence Phe-Sar. Le dipeptide Boc-Phe-Sar-NH₂ a d'abord été obtenu à partir de la résine de *Sieber* avec une très bonne pureté révélée d'une part, par l'analyse HPLC et d'autre part, par les données spectrales en RMN du proton dans le CDCl₃ (les sels de trifluoroacétate de pyridinium issus de la neutralisation de la solution de clivage par de la pyridine n'étant pas pris en compte dans la pureté). Ce dipeptide subit le *réarrangement d'Hofmann* puis le piégeage par la résine *N*-hydroxysuccinimide (PS-SuOH). Nous avons évalué cette étape en observant l'apparition en spectroscopie IR des bandes caractéristiques des carbonyles du carbamate de succinimidyle supporté **IVB14** (**Figure IV.D.4**) (γ =1785 cm⁻¹ CO du Boc, 1741 cm⁻¹ CO du carbamate de succinimidyle, 1714 cm⁻¹ CO du succinimide, 1651 cm⁻¹ CO de l'amide).

Ce réarrangement a été effectué en présence de 5 équivalents de dipeptide, 4 équivalents de PIFA et 8 équivalents de pyridine. Après 1h, l'ajout de la résine PS-SuOH (1 éq) nous a permis de constater un bon accrochage de l'isocyanate sur la résine (**Figure IV.D.4**). Le PIFA est un oxydant puissant, et pour être sûr qu'il ne cause pas de désagréments lors de cette étape d'accrochage, nous avons choisi d'effectuer le *réarrangement d'Hofmann* en défaut de PIFA par rapport au dipeptide afin qu'il soit totalement consommé (le carboxamide étant stable en milieu nucléophile). La cyclisation de ce carbamate a conduit à la formation du composé attendu **IB6a** et du sel de trifluoroacétate de diisopropyléthylamonium. Le traitement de ce brut de cyclisation par une résine bicarbonate a permis d'isoler l'hétérocycle attendu **IB6a** avec un rendement de 67% et une pureté optimale déterminée par HPLC et par RMN du proton et du ¹³C dans le CDCl₃.



IV.D.5. Variantes de la méthode B

Nous avons essayé quelques variantes de la méthode B mise en application ci-dessus. Dans la méthode B, nous effectuons le *réarrangement d'Hofmann* puis nous ajoutons la résine PS-SuOH après 1h. Compte tenu de la stabilité de la fonction carboxamide en milieu nucléophile, nous avons tenté d'effectuer le réarrangement directement en présence de la résine PS-SuOH. Cette variante paraissait élégante et pratique car mécanistiquement, cela impliquait que l'isocyanate, dès sa formation, pouvait être instantanément piégé par un résidu SuOH présent dans le milieu. Cependant, l'accrochage du dérivé de dipeptide sur la résine que nous avons visualisé sur le spectre IR, semble moins efficace que celui observé lors de l'application de la méthode B classique (comparaison de la



différence d'intensité des bandes des carbonyles du Boc, du carbamate de succinimidyle et de l'amide par rapport à la bande du carbonyle du succinimide, **Figure IV.D.5**).

Deux hypothèses peuvent être avancées pour justifier ce résultat : soit, le PIFA réagit avec la résine PS-SuOH, ce qui justifie l'emploi d'un défaut de PIFA dans la méthode B, soit l'acidité du résidu *N*-hydroxysuccinimide (pKa_{SuOH} \approx 6) nuit au bon déroulement de la réaction d'Hofmann.

Le carbamate d'oxime **IVB5** (section IV.B, **figure IV.B.1**) est plus stable en milieu nucléophile que le carbamate de succinimidyle **IVD9**. Par conséquent, après le clivage du Boc, un lavage basique de la résine carbamate d'oxime à température ambiante permet d'éliminer le trifluoroacétate sans induire de cycloclivage. Cette étape permet d'éviter l'étape de traitement du brut de cyclisation avec la résine bicarbonate nécessaire après l'application de la méthode B. Par conséquent, nous avons proposé une variante de la méthode B dans laquelle la résine PS-SuOH est substituée par la résine oxime.



Les essais de piégeage par la résine oxime, de l'isocyanate issu du *réarrangement d'Hofmann* ont été analysés par spectrométrie IR (**Figure IV.D.6**). Lorsque la résine oxime est ajoutée à température ambiante, très peu d'isocyanate s'additionne à la fonction oxime, celui-ci n'étant probablement pas assez nucléophile. Ce manque de réactivité peut être pallié par un chauffage du milieu réactionnel à 70°C au moment de l'addition de la résine oxime. En effet, l'analyse du spectre réalisé à la suite de cet essai révèle une addition significative du dérivé de dipeptide sur la résine avec l'apparition des bandes caractéristiques des carbonyles.

L'application de cette méthode B et ses deux variantes dont l'étape clef est le *réarrangement d'Hofmann* oxydatif a permis d'obtenir des résultats très prometteurs. Cependant, ces essais sont encore préliminaires, et pour être validée, cette voie de synthèse doit permettre de générer d'autres hétérocycles issus d'autres séquences peptidiques.

IV.E. Construction d'une chimiothèque par fonctionnalisation post-cyclisation d'1,3,5triazépane-2,6-diones portant une fonction acide

IV.E.1. Application des méthodes de synthèse assistée par un réactif supporté (SSR) en chimie combinatoire

Les méthodes de criblage à haut débit (HTS) permettent l'évaluation d'un nombre énorme de composés dans des tests biochimiques sur des macromolécules à intérêt thérapeutique. Le développement de ces techniques a entraîné une demande croissante de molécules à tester. L'apparition de ces méthodes de criblage est donc à l'origine de l'explosion de l'intérêt pour la synthèse organique sur phase solide (SPOS) qui permet de générer de la diversité moléculaire avec une approche combinatoire. Actuellement, cette technologie est la plus utilisée par l'industrie pharmaceutique pour générer des chimiothèques. Cependant, les synthèses de bons nombres de molécules «Drug-like» ont déjà été décrites en solution et leur adaptation en SPOS nécessite souvent de gros efforts d'optimisation. Pour un programme de recherche qui requiert une chimiothèque de seulement 100 ou 1000 composés, l'adaptation de la synthèse en SPOS peut s'avérer peu rentable en termes de temps. En conséquence, l'intérêt pour les méthodes de synthèse en solution assistée par un réactif supporté (SSR) s'est accru ces dernières années. Cette technique est une alternative à la SPOS qui présente les mêmes avantages que la SPOS (le produit final est obtenu avec une pureté élevée sans purification et le réactif éliminé par filtration peut être ajouté en large excès) sans la nécessité d'un travail important d'optimisation. De plus, pour les synthèses nécessitant peu d'étapes, cette technique permet d'éviter les étapes d'accrochage et de clivage de la résine. Contrairement aux voies de synthèse développées en SPOS, les synthèses en solution assistées par un SSR permettent de contrôler l'avancement de chaque étape avec les méthodes classiques d'analyse (HPLC, HPLC-MS, GC-MS, RMN)^{61, 62}. L'engouement pour ce type de synthèse est tel que de plus en plus de réactifs supportés sont disponibles commercialement.

IV.E.2. Mise au point d'une synthèse assistée par un réactif supporté (SSR) d'1,3,5triazépane-2,6-diones fonctionalisées par un amide

La fonction amide est une fonction très importante en chimie médicinale. En effet, le groupe carboxamide apparaît dans plus de 25% des molécules thérapeutiques, ce qui s'explique par sa grande stabilité, son caractère neutre et ses propriétés donneur et accepteur de liaison hydrogène^{27, 63}. Il existe de nombreuses méthodes pour former des résidus amide, dans la plupart des cas, celles-ci conduisent à la formation de liaisons amide avec des taux de conversions très élevés. Cette abondance de protocoles est en partie due au développement de la chimie des peptides.

Ces caractéristiques font de la fonction amide, une fonction très utilisée également dans le domaine de la chimie combinatoire pour introduire aisément un point de diversité sur un châssis moléculaire. Nous avons travaillé dans ce sens avec la mise au point d'un protocole de diversification du châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione par formation de liaison amide. Pour ce faire, nous avons profité de l'abondance des amines disponibles commercialement que nous avons condensées avec l'hétérocycle **IVE2 (figure IV.E.1)** comportant une fonction acide carboxylique en position R⁵. Pour appliquer ce protocole en synthèse parallèle, nous avons choisi une stratégie de synthèse assistée par un réactif de couplage supporté combiné à une base supportée (**figure IV.E.2**).



L'hétérocycle **IVE2** est obtenu à partir de la triazépanedione **IB6a** en appliquant la méthode de monalkylation développée au sein de notre laboratoire et décrite en section III.A. En effet, l'hétérocycle **IB6a** est alkylé par du bromoacétate de tertiobutyle. Un traitement par du TFA permet le clivage du groupement tertiobutyle et conduit à la formation de l'hétérocycle **IVE2**.

Dans un premier temps, nous avons fait une mise au point des conditions réactionnelles. Deux agents de couplages supportés ont été testés : la résine PS-IIDQ (résine polystyrène 1-Isobutoxycarbonyl-2-isobutoxy-1,2-dihydroquinoline) qui active la fonction acide sous forme d'anhydride mixte et la PS-DCC (résine polystyrène dicyclohexylcarbodiimide). Avec 3 équivalents de 2-amino-malonate de diméthyle et 2,5 équivalents d'agent de couplage PS-DCC, l'amide est obtenu en 4j avec un taux de conversion très modeste de 67% (entrée 1). De plus, la quantité importante d'amine (3éq) implique la nécessité d'une purification du brut de réaction. La PS-IIDQ est connue pour être un puissant agent de couplage permettant la formation d'amides avec des rendements élevés^{64, 65}. En effet, l'activation de l'acide par l'emploi de cet agent de couplage supporté a donné des résultats nettement plus satisfaisants. Avec un faible excès de malonate de diméthyle (1,2éq), une quantité inférieure de base supportée (2,5éq) et d'agent de couplage (2éq), avec une durée plus courte (2j), l'amide

correspondant est obtenu avec un taux de conversion de 82% (entrée 2). Des rendements élevés ont également été observés avec des amines plus encombrées en présence d'1,5 équivalent de PS-DIPAM : 88% avec 1,2 équivalent de tertiobutylamine (amine primaire encombrée, entrée 3) et 93% avec 1,2 équivalent de dibenzylamine (amine secondaire, entrée 4). Avec une quantité plus faible de PS-IIDQ (1,2éq, entrée 4) ou en absence de base supportée (entrée 5), les taux de conversion sont restés quasi quantitatifs.



entree	amine		-DCC			duree / %conv. / Rat
1	O O O O O O O O O O O O O O O O O O O	3éq	2,5éq		4éq	4j / 67% /
2	O O O O O O O O O O O O O O O O O O O	1,2éq		2éq	2,5éq	2j / 82% /
3	<i>t</i> -BuNH ₂	1,2éq		2éq	1,5éq	4j / 86% / 88%
4	(Bn)₂NH	1,2éq		2éq	1,5éq	4j /100%/ 93%
5	PTSA.H-L-PheOBn	1,2éq		1 <i>,</i> 2éq	3éq	4h /100%/ 76%
6	BnNH ₂	1,2éq		2éq		3h /100 <mark>%/ 97%</mark>

Figure IV.E.2 : Comparaison des conditions de réaction de la synthèse assistée par un SSR des triazépanediones fonctionnalisées par un amide.
IV.E.3. Synthèse d'une chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones fonctionalisées par un amide

A l'issue de ce criblage initial, nous avons déduit les conditions optimales suivantes : 1,2 équivalent d'amine ou de chlorure d'ammonium, 2 équivalents de PS-IIDQ, 1,5 ou 2,5 équivalents de PS-DIPAM. Les 2,5 équivalents de base tertiaire sont ajoutés dans le cas du couplage avec un sel d'ammonium. Après 48h d'agitation à RT, le brut réactionnel est récupéré par filtration, analysé par HPLC pour déterminer le taux de conversion, puis une résine PS-NCO est ajoutée pour piéger l'excès d'amine. Ces conditions ont été appliquées à la préparation d'une chimiothèque de 44 composés avec une sélection représentative d'amines de taille et de fonctionnalités différentes (**figure IV.E.3**).

L'application de ce protocole a permis d'obtenir les châssis hétérocycliques fonctionnalisés par des amides avec des taux de conversion très élevés, presque quantitatifs pour la plupart. Les composés ont également été obtenus avec des puretés très élevées, en effet, 31 échantillons sur les 44 membres de la chimiothèque sont purs à plus de 80%. Dans quelques cas, le composé attendu n'a pas été observé, soit pour des raisons d'encombrement stérique (entrées 9, 16) ou d'incompatibilité de certaines fonctions relative au mécanisme du couplage (entrée 26, 29, 32, 33). Les taux de conversion obtenus avec l'isopropylamine (59%, entrée 6) et la diéthylamine (61%, entrée 7) sont très modestes, alors que la tertiobutylamine (95%, entrée 19) et la dibenzylamine (98%, entrée 8) plus encombrées sont converties en amide presque quantitativement. Cette différence s'explique par la différence de température d'ébullition entre les différentes amines. En effet, II est probable qu'une partie de l'isopropylamine (bp = 33-34°C) et de la diéthylamine (bp = 55-56°C) s'évapore du milieu réactionnel avant de se coupler à l'acide.

Quelques amines secondaires ont été testées (entrée 2, 7, 8, 9, 16, 17, 35, 36). A l'exception de la diéthylamine volatile (entrée 7) et des amines secondaires très encombrées, comme la cyclohexylisopropyl-amine (entrée 16) ou la 1,1,1,3,3,3-héxaméthyl-disilazane (entrée 9), les couplages ont été effectués avec des taux de conversion (98%) et des puretés (96-100%) très élevés.

La diversité fonctionnelle que nous avons pu introduire sur le châssis hétérocyclique **IVE2** est importante. En effet, avec cette méthode, nous avons greffé une fonction acétale (entrée 15), des dérivés aminoxy- (entrée 27, 31, 34) et bromo- (entrée 23), des groupements méthoxy- (entrée 11 et 12), des esters (entrée 24, 28, 36, 38, 39, 40, 42, 43 et 44), une amine tertiaire (entrée 22) ou des carboxamides (entrée 35, 37, 41). En particulier, le composé obtenu par couplage avec le semicarbazide (entrée 30) est très intéressant dans la perspective d'une application en chimie médicinale pour les possibilités de former des liaisons hydrogène. Le couplage avec des dérivés d'aminoacides nous a également permis d'introduire un centre asymétrique supplémentaire (entrée 35-44). La chimiothèque d'amides comporte des insaturations telles que des allyles (entrée 21), des alcynes (entrée 18) ou des noyaux aromatiques (entrées 8, 10, 11, 13, 14, 17, 22, 31, 33, 34, 36, 38, 39, 43) et des chaînes aliphatiques plus ou moins longues avec différentes ramifications (entrées 4, 6, 7, 16, 19, 20).

La méthode que nous avons mise au point, nous a permis de générer une chimiothèque de triazépanediones fonctionnalisés par un amide à partir d'amines commerciales variées en termes de fonction et de structure, et du châssis **IVE2** dérivé de la séquence peptidique Phe-Sar. Les taux de conversion et les puretés sont élevés et laissent entrevoir la possibilité d'appliquer la méthode à des hétérocycles acides dérivés d'autres séquences peptidiques.

Entrée	R ^{2, N} , R ¹	Pureté ^a (%)	Conversion ^b (%)	Méthode	Entrée	H R ^{2 /} N [,] R ¹	Pureté ^a (%)	Conversion ^b (%)	Méthode
1		50		A	23	H ₂ N ^{Br} + HBr	66	100	۵
5	HN	96	86	A	24	0 0 0	75	82	æ
m	NH2	85	91	¥	25	NH ₂ + HCI	72	100	۵
4	NH ₂	74	96	¥	26	H ₂ N O NH			В
ы	NH2	100	93	¥	27	, H , N , O / + HCI	100	86	۵
Figure	IV.E.3 : Liste des amines u	tilisées pour k	a synthèse assistée	e par la PS-II	IDQ de la e	chimiothèque de 44 triazépane	ediones fonct	onnalisées par de	s amides.

Pureté et taux de conversion des hétérocycles obtenus

Entrée	R ^{2 / N} , R ¹	Pureté ^a (%)	Conversion ^b (%)	Méthode	Entrée	R ^{2~R1}	Pureté ^a (%)	Conversion ^b (%)	Méthode
و	NH2	58	59	A	28	H ₂ N + HCI 0	100	66	۵
7	<pre> XI </pre>	59	61	A	29	H₂N H2NH2			В
8	H N	26	98	A	30	H₂N	100	100	В
თ	N_SI			A	31	+HCI 0,NH2	100	100	ß
10	MH2	100	100	A	32	HOH HOO HOO HOO H OH H OH H OH H OH H O			В
Figure Pureté	IV.E.3 : Liste des amines u et taux de conversion des	tilisées pour la hétérocycles	a synthèse assisté obtenus	e par la PS-II	DQ de la	chimiothèque de 44 triazépane	ediones fonct	ionnalisées par de	s amides.

121

Entrée	R ^{2, N} , R ¹	Pureté ^a (%)	Conversion ^b (%)	Méthode	Entrée	H R ^{2,N} ,R ¹	Pureté ^a (%)	Conversion ^b (%)	Méthode
11	0- -0	92	66	A	33	NO2 NH2 NH2			æ
12	H2N 0	100	64	A	34	O ₂ N-O-NH ₂ +HCI	63	81	В
13	MH2	95	98	A	35	HProNH ₂ .HCl	100	98	B
14	MH ₂	100	86	A	36	HProOBn.HCl	100	86	۵
15	H ₂ N 0	100	100	A	37	HGlyNH2.HCl	73	95	B
Figure Pureté	IV.E.3 : Liste des amines u et taux de conversion des	itilisées pour la bétérocycles	a synthèse assisté obtenus	e par la PS-II	DQ de la	chimiothèque de 44 triazépane	ediones fonct	ionnalisées par de	s amides.

0]
Méthode	В	В	В	В	В	
Conversion ^b (%)	26	16	28	26	86	- - -
Pureté ^a (%)	100	100	100	26	100	
H R ^{2~N} `R ¹	HAsp(OBn)OBn	D-HAsp(OBn)OBn	HAlaOtBu.HCl	HAlaNH ₂	HGlyOtBu.HCl	
Entrée	38	68	40	14	42	-
Méthode	A	A	A	A	A	=
Conversion ^b (%)		86	100	95	86	
Pureté ^a (%)	29	100	100	100	100	
R^{2} N_{R1}		ZI	H ₂ N	NH ₂	MH ₂	
Entrée	16	17	18	19	20	Ĭ

Pureté et taux de conversion des hétérocycles obtenus

Entrée	R ^{2~N} .R ¹	Pureté ^a (%)	Conversion ^b (%)	Méthode	Entrée	R ^{2~N} ,R ¹	Pureté ^a (%)	Conversion ^b (%)	Méthode
21	MH ₂	83	96	A	43	HValOBn.HCl(gc)	100	86	۵
22	H ₂ N	84	92	A	44	HMetOMe.HCI(gc)	94	94	۵
Métho une ré: Figure Pureté	de A : 1,5 équivalent de Ρ ^e sine PS-NCO ; b) taux de α IV.E.3 : Liste des amines u et taux de conversion des	S-DIPAM ; Mét onversion dété itilisées pour la hétérocycles	thode B : 2,5 équiv erminé par HPLC d a synthèse assistéé obtenus	/alents de P? lu brut réact e par la PS-II	S-DIPAM ; :ionnel IDQ de la c	a) pureté déterminée par HPL chimiothèque de 44 triazépane	.C après purifi ediones fonct	cation par traitem ionnalisées par de	ent avec s amides.

Chapitre V. Etude structurale des châssis hétérocycliques 1,3,5-triazépane-2,6-dione



Chapitre V. Etude structurale des châssis hétérocycliques 1,3,5-triazépane-2,6-dione

Pour d'éventuelles applications du squelette 1,3,5-triazépane-2,6-dione en chimie médicinale, notamment dans le cadre d'approches basées sur la structure, il est important d'en connaitre les caractéristiques structurales (géométries préférentielles, barrières énergétiques entre d'éventuels conformères,...). Cette description précise des structures permet d'utiliser avec davantage de confiance les outils de la modélisation moléculaire et de développer des expériences de criblage virtuel. D'autre part, elle permet la comparaison avec la géométrie d'autres familles de composés actifs. Ces approches *in silico* pourraient permettre d'obtenir des données intéressantes dans la perspective d'une étude de relation structure-fonction.

V.A. Etude conformationnelle des hétérocycles 1,3,5-triazépane-2,6-dione

Dans le cadre de mes travaux de thèse, nous avons étudié les conformations préférentielles adoptées par les châssis hétérocycliques 1,3,5-triazépane-2,6-dione. Au cours de ces travaux, nous avons obtenu 11 structures cristallines d'hétérocycles 1,3,5-triazépane-2,6-dione (**Figure V.A.1**). La résolution des structures nous a permis d'observer 3 conformations préférentielles : la conformation **A**, la **B** et la **C** (**figure V.A.2**). Ces conformations peuvent être caractérisées par l'angle α entre les plans moyens de l'amide et de l'urée et par le positionnement pseudoaxial ou pseudoéquatorial de la chaîne latérale R².

Dans les conformations **A** et **C**, les molécules forment un «V», avec un angle alpha entre les plans moyens amide et urée compris entre 114° et 127°. Les angles de torsion T1, T2 et T5 inférieurs à 16° révèlent que dans les hétérocycles adoptant ces conformations, les fonctions urée et amide sont quasiment planes. Le groupement R² adopte une position pseudoéquatoriale dans la conformation **A**. Les hétérocycles qui adoptent cette conformation sont soit les triazépanediones avec R¹ = R⁵ = H (IIA17, IIA22, IIA25I, IIA23), soit les composés monoalkylés en N3 (VA1, IIIA5I, IIIA9, VA2).

La conformation **C** est caractérisée par la position pseudoaxiale du groupement R^2 . Cette conformation est adoptée par les triazépanediones comportant des isopropyles en R^2 et en R^3 (**IIA25II** et le dérivé monoalkylé **IIIA5II**). Par ailleurs, il est intéressant d'observer qu'à l'état cristallin, cette conformation coexiste avec la conformation **A**.

La présence d'un groupement acyle en R¹ (IIIB1I et II, IIIB2, IIIB4) conduit à la conformation B. Cette conformation semble être une conformation intermédiaire entre les conformations A et C. L'angle α entre les plans moyens de l'amide et de l'urée est plus ouvert avec des valeurs de 155° à 166°.

La mesure de l'angle T5 entre 3,77 et 17,06° montre que le résidu amide est quasiment plan. A l'inverse, les valeurs mesurées pour T1 (proche de -60°) et T2 (entre -30 et -19°) révèlent une distorsion importante du résidu urée. Cette conformation « twistée » avait déjà été observée sur des hétérocycles *N1,N3*-dialkylés dans le cadre des travaux de thèse de Gersande Lena⁷. Même si les exemples sont statistiquement trop peu nombreux, nous en déduisons que l'introduction d'un substituant (\neq H) en position R¹ entraîne la distorsion du résidu urée observée.



Composés	Groupe	T1	T2	Т3	T4	T5	Т6	T7	Conformation	α (°)
	d'espace									
IIIB2	P212121	-56,04	-30	81,78	-42,22	3,92	-24,07	77,39	В	166
IIIB4	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	-60,1	-26,46	79,65	-41,41	3,77	-25,89	81,23	В	164
IIIB1 I	P2 ₁	-60,03	-20,8	79,49	-54,44	17,06	-28,46	76,2	В	163
II	P2 ₁	-60,42	-19,06	81,03	-55,02	10,11	-17,23	69,31	В	155
IIA17	P61	-4,04	7,73	52,16	-72,76	5,23	65,1	-55,83	А	117
IIA22	C2	8,22	7,17	45,34	-69,63	3,97	71,22	-69,63	А	116
IIA25I	P2 ₁	5 <i>,</i> 98	4,35	49,01	-64,97	-3,4	73,77	-66,15	А	116
II	P2 ₁	-0,23	12,75	-67,72	70,4	-1,26	-54,66	41,59	С	125
IIA23	P212121	0,93	16,62	39,07	-69	5,1	70,43	-67,41	А	115
VA1	P2 ₁	8,73	-15,69	72,16	-75,83	1,22	63,53	-55,66	А	119
IIIA5I	P2 ₁	15,98	-3,83	58,27	-78,02	5,43	70,2	-70,03	А	119
II	P2 ₁	-9,38	14,75	-66,08	79,29	13,79	-46,77	47,71	С	127
IIIA9	P2 ₁	7 <i>,</i> 95	4,72	50,21	-76,96	8,93	66,93	-67,88	А	117
VA2	P2 ₁	-1,6	13,46	44,17	-67,97	-0,4	71,52	-62,63	А	114

T1-7 angles de torsion de la séquence d'atome C7-N1-C2-N3, N1-C2-N3-C4, C2-N3-C4-N5, N3-C4-N5-C6, C4-N5-C6-C7, N5-C6-C7-N1, C6-C7-N1-C2 respectivement. α angle entre les plans moyens de l'amide et de l'urée

Figure V.A.2 : Représentation des 3 conformations stables des 1,3,5-triazépane-2,6-diones illustrée par 3 exemples

Les longueurs des liaisons formant les résidus amide et urée, et les angles formés par deux liaisons au niveau du cycle ont été analysés pour chaque conformation (**figure V.A.3**, (a),(b),(c)). Cette étude a permis d'observer que les données structurales des composés adoptant la même conformation varient peu de l'un à l'autre.



Les longueurs des liaisons N3-C2 et C2-N1 sont quasiment équivalentes (à quelques centièmes d'Å près) pour les composés adoptant les conformations préférentielles **A** et **C**, alors qu'elles sont différentes de quelques dixièmes d'Å pour la conformation plus « twistée » **B**.

A partir de ces données structurales, nous avons déterminé les distances interatomiques entre les hydrogènes susceptibles d'interagir ensemble au vue de leur proximité (**figure V.A.3, (c), (d)**). Dans les composés adoptant la conformation **A (figure V.A.3, (c)**), les hydrogènes H4a et H7 sont distants d'environ 1,96 Å, ce qui représente une valeur inférieure à la somme des deux rayons de Van Der

Waals de l'hydrogène ($r_{VDW}(H)=1,2Å$), une telle proximité est énergétiquement défavorable. Dans la conformation **C**, la distance entre l'hydrogène H4a et l'hydrogène de l'isopropyle sont très proches (1,989Å pour le composé **IIA25II** et 2,09Å pour **IIIA5II**). Dans ce cas, la distance interatomique est également inférieure à la somme des rayons de Van Der Waals des hydrogènes. A l'inverse, dans la conformation intermédiaire **B**, ce phénomène n'est pas observé, en particulier, le proton H4a n'est impliqué dans aucune interaction de ce type.

V.B. Propriétés d'autoassemblage des hétérocycles 1,3,5-triazépane-2,6-dione

A l'état cristallin, les hétérocycles 1,3,5-triazépane-2,6-dione présentent des propriétés d'autoassemblage intéressantes. En particulier, 2 types d'organisation architecturale se sont distingués par l'originalité de leurs propriétés : un arrangement bidimensionnel et une organisation tridimensionnelle tubulaire résultant tous les deux de la formation de rubans moléculaires (chaque molécule est liée à deux autres par des pseudocycles à 8 atomes) (**figure V.B.1**).



V.B.1. Organisation en ruban moléculaire bidimensionnel

L'analyse des monocristaux obtenus avec le composé **IIA25** a révélé la coexistence des deux conformations **A** et **C** ce qui n'avait pas été observé dans les autres structures de triazépandiones résolues jusqu'à présent. Ces conformères s'assemblent de manière alternée pour former un ruban moléculaire plan dans lequel chaque molécule est associée à deux voisines par des pseudocycles à 8 atomes (**Figure V.B.2**). Cet assemblage n'avait pas été observé auparavant parmi les autres triazépandiones cristallisées par Gersande Léna et moi-même. Il est voisin d'assemblages décrit précédemment dans la littérature pour des composés urées cycliques et dicétopipérazines⁶⁶.



V.B.2. Organisation en structure tridimensionnelle tubulaire

L'analyse par diffraction des rayons X du cristal formé par l'hétérocycle **IB6a**, synthétisé au cours de la thèse de Gersande Lena, a révélé une structure tubulaire originale (**Figure V.B.3, a**). Ce composé triazépanedione comporte un groupement méthyle en position R³. Dans cette structure, chaque hétérocycle est lié à deux voisins par sa fonction urée pour former un ruban moléculaire caractérisé par un enchaînement de pseudocycles à 8 atomes. La particularité de ce ruban moléculaire est sa nature hélicoïdale (3 cycles étant nécessaires pour accomplir un tour d'hélice). Les colonnes de rubans s'assemblent pour générer une structure poreuse. Sur la molécule **IIA17**, nous avons introduit un groupement propyle à cette position R³, l'organisation observée au sein du cristal est en tout point semblable à celle obtenue pour **IB6a (figure V.B.3, b)**. Cependant, l'allongement de la chaîne alkyle en R³ a conduit à un rétrécissement de la taille des pores de la structure. Cette propriété est très intéressante parce qu'elle montre qu'il est possible de moduler la taille des pores en jouant sur la nature du groupement R³.



Chapitre VI. Application des 1,3,5-triazépane-2,6-diones comme inhibiteurs des phospholipases A2 sécrétées

Chapitre VI. Application des 1,3,5-triazépane-2,6-diones comme inhibiteurs des phospholipases A2 sécrétées

Dans les chapitres d'introduction, nous avons mis en lumière l'intérêt pour la recherche de nouveaux composés pharmaceutiques, de développer des méthodes de synthèse donnant accès à des chimiothèques de composés présentant un haut degré de diversité. Dans ce domaine, nous avons montré la place centrale qu'occupe la chimie hétérocyclique de type peptidique.

Dans les chapitres précédents, nous avons montré que le châssis hétérocyclique 1,3,5-triazépane-2,6dione pouvait servir de support pour générer de la diversité moléculaire en distribuant des pharmacophores dans différentes régions de l'espace. De plus, ce cycle présente des conformations rigides qui augmentent la probabilité d'interagir spécifiquement avec une cible potentielle.

VI.A. Les 1,3,5-triazépane-2,6-diones : des composés « druglike »

Les propriétés des triazépanediones sont donc très intéressantes dans la perspective de l'application de ce type de molécule en chimie médicinale. De plus, en collaboration avec le Dr. Didier Rognan (Laboratoire de bioinformatique du médicament, Faculté de pharmacie, Université louis Pasteur, Illkirch), notre groupe a montré que la plupart des membres de la famille des 1,3,5-triazépane-2,6-diones sont des composés « Druglike ».



En effet, une chimiothèque virtuelle de 159705 membres construite comme illustré sur la **figure VI.A.1**, à partir de châssis triazépandione et de leurs dérivés *N*-acylés, *N*-alkylés, et *N*-sulfonylés, a été examinée par traitements informatiques pour déterminer le pourcentage de composés « drug-like ». Cette expérience a montré que la plupart des membres de cette chimiothèque respectent les règles des 5 de Lipinski^{24, 26}. En effet, 90% des molécules ont un poids moléculaire <500 gmol⁻¹, 72% ont un LogP < 5. Tous les composés envisagés ont moins de 5 donneurs de liaisons H et moins de 10 accepteurs de liaison H. De plus 95% des composés de cette chimiothèque virtuelle ont une surface polaire <140Å² et moins de 10 liaisons pouvant effectuer des rotations. En définitif, 68,9% des membres de la chimiothèque ont été identifiés comme étant des composés « drug-like ». Sachant qu'en moyenne les chimiothèques commerciales employées couramment en « drug discovery » présentent 40% de composés « drug-like », les résultats obtenus pour les triazépandiones apparaissent comme très prometteurs.

VI.B. Identification des phospholipases A2 comme cibles des triazépanediones par criblage virtuel inverse.

Le groupe de Didier Rognan a mis au point une méthode de criblage virtuel inverse⁶⁷. Cette méthode permet d'identifier des cibles potentielles d'un composé donné par criblage (docking à haut-débit) d'une collection de 2 150 sites actifs de protéines issues de la Banque de données des protéines⁶⁸ (<u>P</u>rotein <u>D</u>ata <u>B</u>ank, PDB). Cette méthode a été appliquée à la recherche de cibles pour les triazépanediones⁸. Pour ce faire, la collection de 2 150 sites a été criblée pour 5 châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione. A l'issue de cette expérience, puis par traitements informatiques des données selon des critères de sélection, 5 cibles ont été privilégiées pour des évaluations expérimentales (thèses de Pascal Müller (ULP, 2006) et Gersande Lena (ULP 2006)). Parmi ces 5 familles de protéines, les Phospholipases A2 sécrétées (sPLA2) se sont révélées être de vraies cibles pour le panel d'1,3,5-triazépane-2,6-diones dont certaines ont montré des affinités µmolaires pour les sPLA2 humaines des groupes V et X.





Figure VI.C.1 : Libération de l'acide arachidonique et d'une phosphatidylcholine par hydrolyse de l'ester *sn-2* d'un phospholipide (le 1-palmitoyl-2-arachidonyl-phosphatidylcholine) catalysée par une PLA2

Les phospholipases A2 (PLA2) sont une classe d'enzymes qui hydrolysent les esters *sn*-2 des glycérophospholipides pour libérer un acide gras et un lysophospholipide (**Figure VI.C.1**). L'acide gras libéré, l'acide arachidonique (AA), est un précurseur de la biosynthèse d'eicosanoïdes tels que les prostaglandines et les leucotriènes : ces biomolécules sont de puissants médiateurs de la réponse immunitaire. Cette superfamille d'enzymes est composée de deux types : les PLA2 intracellulaires et les PLA2 sécrétées (sPLA2). Les sPLA2 humaines existent sous 10 formes (groupes IB, IIA, IIC, IID, IIE, IIF, III, V, X, XIIA) différentes dont 9 sont codées par le génome humain (sPLA2 du groupe IIC étant présente comme un pseudogène). Ces protéines sont classifiées sur la base du nombre de ponts disulfure qui les structurent et l'ordre de leur découverte⁶⁹⁻⁷¹ (**Figure VI.C.2**). Par ailleurs, leurs localisations au sein de l'organisme diffèrent également selon les groupes. D'un point de vue structural, ces enzymes dont le poids moléculaire est d'environ 16kDa sont riches en ponts disulfure et contiennent dans leur site catalytique un calcium très important en ce qui concerne leur activité.

groupe de sPLA2	nb de ponts disulfure	distribution dans les tissus	caractéristiques et fonctions
IB	7	sécrétion pancréatique, poumon, foie, rate, ovaire, rein, cerveau	Digestion des PLs alimentaires, antibactériens, formation d'eicosanoïdes, contraction, prolifération et migration cellulaire
IIA	7	muqueuse intestinale, cellules des glandes lacrymales, cellules épithéliales de la prostate	antibactérien, prolifération cellulaire, migration cellulaire, apoptose, cellules athérogènes
IIC	8	pseudogène, testicules	non déterminés
IID	7	pancréas, rate, thymus, peau, poumon, ovaire, éosinophiles	non déterminés
IIE	7	glandes thyroïdiennes, utérus, embryon	Antibactérien
IIF	7	placenta, testicules, thymus, foie, rein	Antibactérien
111	5	rein, cœur, foie, muscles, placenta, leucocytes	poids moléculaire élevé, antiviral
V	6	cœur, yeux, pancréas, macrophages, neutrophiles, mastocytes	antibactérien, antiviral, athérogène, libération d'AA, génération d'eicosanoïde, phagocytose
x	8	Intestins, poumons, testicules, estomac, neutrophiles, macrophages	sécrétée comme pro-enzyme, antibactérien, antiviral, athérogène, libération d'AA, génération d'eicosanoïdes
XIIA	7	cœur, muscles, rein, pancréas	Antibactérien

Figure VI.C.2 : Classification des sPLA2

Les sPLA2 peuvent exister en solution dans l'eau et l'enzyme doit s'adsorber à l'interface de la membrane-eau substrat pour que l'hydrolyse ait lieu. La surface de liaison à l'interface est distincte du site actif. Des études de structures RX à haute-résolution ont permis de proposer deux mécanismes catalytiques de l'hydrolyse *sn*-2 des esters des phospholipides (**Figure VI.C.3**) : l'un faisant intervenir une molécule d'eau⁷² (**A**) et l'autre 2 molécules d'eau⁷³ (**B**). Ces deux voies mettent en lumière l'action de la diade catalytique Asp-His et de l'ion calcium : l'histidine fonctionne comme une base pour déprotoner une molécule d'eau et l'ion calcium stabilise l'intermédiaire oxyanion dérivé de l'oxygène du carbonyle du substrat pour conduire à l'hydrolyse de l'ester. Compte tenu des données actuelles, il est difficile de privilégier l'un des deux mécanismes.



De nombreuses fonctions biologiques sont attribuées aux PLA2 sécrétées. Elles seraient impliquées dans la digestion des lipides et l'obésité, le développement des diabètes de type II, l'activation des cellules du système immunitaire, l'asthme, l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose, le syndrome de stress respiratoire sévère, la défense contre les bactéries, les virus et parasites. Ces enzymes joueraient également un rôle dans le développement de certains cancers. En l'occurrence, des expériences sur des modèles murins de cancer ont montré l'implication des sPLA2 dans le développement de polypes et de cancers colorectaux par la sPLA2 du groupe IIA. Cette enzyme jouerait également un rôle dans le cancer de la prostate et de l'estomac⁷⁰.

VI.D. Les phospholipases A2 sécrétées des groupes V et X

A la suite du criblage virtuel, les premiers tests d'inhibitions effectués en collaboration avec l'équipe du Dr. Gérard Lambeau (Institut de pharmacologie moléculaire et cellulaire, CNRS, université de Nice-Sophia-Antipolis, Valbonne) à l'issu du criblage virtuel, ont mis en évidence des triazépanediones inhibiteurs μ M des sPLA2 des groupes V et X.

La sPLA2 du groupe V (GV-sPLA2) est localisée dans les yeux, le cœur, le pancréas, les macrophages, les neutrophiles et les mastocytes (**Figure VI.C.2**). D'abord, le rôle de la sPLA2 de ce groupe dans la biosynthèse des eicosanoïdes a été démontré dans les neutrophiles humains et les macrophages de souris. Au niveau des macrophages, cette enzyme pourrait également jouer un rôle dans la phagocytose. En effet, des expériences effectuées avec des macrophages de souris déficients en GV-sPLA2, ont révélé une diminution de leur capacité de phagocytose. Des tests *in vitro* d'activités antibactériennes des sPLA2 humaines sur les bactéries Gram-positives ont montré que la GV-sPLA2 est l'une des plus efficaces (GIIA >G X > GV). Sa présence dans le phagosome des macrophages laisse suggérer qu'elle pourrait participer *in vivo* à la digestion des bactéries^{70, 71}.

La GX-sPLA2 est exprimée dans les intestins, les poumons, les testicules, l'estomac, les neutrophiles et les macrophages (**figure VI.C.2**). Cette phospholipase est suspectée de contribuer à la libération des neurotransmetteurs, à la neuritogénèse, et à l'apoptose neuronale. Sa participation aux processus biologiques conduisant au développement de l'ischémie, de multiples scléroses et de la maladie d'Alzheimer a également été l'objet d'études. Très récemment, des travaux effectués par l'équipe de Gérard Lambeau, ont permis de mettre en lumière l'implication de ces sPLA2 dans la prolifération des cellules cancéreuses du colon via son activité catalytique et la libération d'AA et de lysophospholipides^{70, 71, 74}.

De manière intéressante, les sPLA2 des groupes V et X ont des fonctions biologiques communes. En effet, des études récentes réalisées avec des souris déficientes en GV- et GX- sPLA2 ont révélé l'implication de ces deux enzymes dans les processus inflammatoires liés à l'asthme allergique.

Après sensibilisation avec un allergène respiratoire, comparées aux souris « wild-type », les souris déficientes en GX-sPLA2 ont montré une diminution des paramètres de l'inflammation des voies respiratoires, incluant la production des eicosanoïdes, la migration des cellules inflammatoires dans les voies respiratoires, l'hypersécrétion de mucus, et la production de cytokine médiatrice de la réponse Th2^{75, 76}.

L'inhibition de la hGV-sPLA2 par l'anticorps MCL3G1, bloqueur spécifique de cette enzyme, entraîne le blocage du déplacement des cellules inflammatoires dans les voies respiratoires et de la constriction des bronches due aux allergènes et à la métacholine⁷⁷. De plus, d'autres expériences ont montré que les souris déficientes en hGV-sPLA2 présentent une réaction pulmonaire allergique et bloquent l'hyper-réponse des voies respiratoires suite à la stimulation à la métacholine.

Ces deux sPLA2 jouent un rôle majeur dans le développement d'une autre pathologie : l'athérosclérose. Ces enzymes pourraient agir i) en participant à la biosynthèse de médiateurs lipidiques proinflammatoires tels que les prostaglandines, les thromboxanes, les leucotriènes et des lysophospholipides ii) en catalysant l'hydrolyse des particules de lipoprotéines de basse densité (LDL), conduisant à la conversion de celles-ci en particules plus proarthérogéniques, et iii) en promouvant l'inflammation des cellules de la paroi artérielle. Pour démontrer l'implication de ces sPLA2 dans le développement de l'athérosclérose, des souris malades ont été traitées par un puissant inhibiteur (dérivé d'indole) des sPLA2 des groupes IIA, V et X, entraînant une réduction de 50% des lésions athérosclérotiques. Dans cette pathologie, la sPLA2 du groupe IIA est également impliquée, cependant, les GV et GX hydrolysent les LDL 20 fois plus efficacement. Par conséquent, II est fort probable qu'elles jouent un rôle plus important. Récemment, l'un de ces dérivés d'indole a été proposé comme candidat médicament pour le traitement de l'artériosclérose. Cette molécule a passé avec succès les tests cliniques de phase II⁷⁸.

VI.E. Inhibiteurs de sPLA2

De nombreuses fonctions biologiques sont attribuées aux sPLA2, cependant, dans de nombreux cas, des preuves *in vivo* manquent pour confirmer avec certitude ces fonctions. Des outils incluant les souris sPLA2-déficientes et des inhibiteurs de sPLA2 de faible poids moléculaires ont été développés pour aider à comprendre les rôles physiologiques des sPLA2. Cependant, même s'il existe plus d'une quarantaine^{70, 79} de classes structurales d'inhibiteurs, la puissance (>mM) et la sélectivité de la plupart de ces molécules sont bien souvent trop faibles pour s'en servir d'agents thérapeutiques ou d'outils d'études fonctionnelles des sPLA2. Seuls quelques inhibiteurs sont connus pour avoir une efficacité contre une ou plusieurs sPLA2 de l'ordre du nM *in vitro* (**Figure VI.E.1**).

Bon nombre des inhibiteurs puissants de sPLA2 sont des dérivés d'indole ou d'indolizine (composé **VIE1-VIE4**)^{80, 81}. Parmi ces inhibiteurs, les premiers ont été développés par les chercheurs de la société Lilly labs and Shionogi & co.Ltd. Par exemple, le varespladib (**VIE1**) inhibe à des concentrations de l'ordre de la dizaine de nM, les sPLA2 des mGIIA (GIIA murines), hGIIA (GIIA humaine), mGIIE, hGIIE, mGX et hGX. Les autres groupes sont également inhibés, mais à des concentrations plus élevées.

Le Me-Indoxam (**VIE2**) est un inhibiteur nM des mGIIA, hGIIA, mGIIC, mGIIE, hGIIE, mGV et hGV. Les autres groupes sont également inhibés par cette molécule, cependant avec des concentrations beaucoup plus élevées jusqu'au mM.

Le composé **VIE5** a pour cible la sPLA2 du groupe IIA des rats. L'administration par voie orale de **VIE5** à des rats à des doses de 5 mg kg⁻¹j⁻¹ a conduit à l'inhibition d'œdèmes dans un modèle d'arthrite⁸².

Le pyrazole-1 (**VIE7**) proposé par Lilly labs and Shionogi & co.Ltd a été testé *in vitro*, sur l'ensemble des sPLA2 humaines et murines. Cette molécule s'est révélée être un inhibiteur des hGIIA-sPLA2 et des hGIID-sPLA2 avec des valeurs d'IC₅₀ respectivement de 80 et 40 nM. Vis-à-vis des autres enzymes, l'inhibition est moins importante avec des IC₅₀ supérieurs à 1 μ M^{83, 84}.

La société Yamanouchi Pharma a développé la molécule YM-26734 (**VIE6**). Testée sur une série de sPLA2 de mammifère, ce composé a montré une activité inhibitrice pour les GIIA-, GIID-, GIIE-, GV- et GX-sPLA2 avec des IC50 de 0,2 à 1 μ M⁸⁵.



Parmi ces inhibiteurs, très peu sont sélectifs or, pour étudier, *in vivo*, les fonctions biologiques d'un groupe de sPLA2, voir pour envisager une application thérapeutique d'un inhibiteur, il est important que celui-ci ne soit pas ou peu actif vis-à-vis d'autres cibles. Pour cette raison, Il est important de développer de nouveaux inhibiteurs de sPLA2 toujours plus sélectifs pour élargir le panel d'outils disponibles pour l'étude de ces enzymes.

VI.F. Les triazépanediones comme Inhibiteurs de hGV-sPLA2 et hGX-sPLA2

Les tests sur une petite chimiothèque de 26 hétérocycles 1,3,5-triazépane-2,6-dione synthétisés dans le cadre de la thèse de Gersande Léna ont conduit à l'identification d'inhibiteurs des hGV-sPLA2 et hGX-sPLA2 dont les valeurs d'IC₅₀ sont de l'ordre de 10 μ M⁸ (**Figure VI.F.1**).



Ces premiers résultats ont permis d'identifier des pharmacophores intéressants en position R^2 et R^3 tels que les groupements hydrophobes isopropyles (VIF1) et benzyles (VIF2) en position R^2 et en position R^3 , le groupement acétate de tertiobutyle (VIF1) et la chaîne acide insaturée (VIF2).

Une étude comparative des résultats d'inhibition des hGV- et hGX- sPLA2 par certains composés de cette chimiothèque à une concentration de 30 μ M, a permis de souligner l'importance des ces groupements pharmacophores (Figure VI.F.2). En effet, en comparant les composés ayant un groupement benzyle en position R^2 et un méthyle en R^3 , nous avons observé que le composé **IB6a** (21% d'inhibition pour hGV et <1% pour hGX) avec un proton en position R^5 était un inhibiteur moins puissant que ses analogues alkylés IVE1 (79% pour hGV et 38% pour hGX) et VIF2 (92% pour hGV et 93% pour hGX). Cette tendance s'observe également pour les composés comportant un isopropyle en position R^2 . En effet, le composé **IB6c** (R^5 = H, 46% pour hGV et 36% pour hGX) est un inhibiteur moins puissant que le composé VIF1 (R^5 = CH₂CO₂tBu, 95% pour hGV et 98% pour hGX). De plus, le composé VIF2 comportant la chaîne acide insaturée en position R⁵, est plus actif que le composé IVE1 avec le groupement acétate de tertiobutyle. La nature du groupement R² a également été discutée. Les comparaisons entre les résultats d'inhibition des composés IB6a et IB6c, et entre ceux des composés IVE1 et VIF1 permet de montrer que la présence du groupement isopropyle en position R² augmente l'activité inhibitrice. Pour résumer, les pharmacophores les plus efficaces seraient la chaîne acide insaturée en position R⁵, comme pour le composé VIF2 et le groupement isopropyle en R^2 . Compte tenu du manque de diversité en position R^3 dans la chimiothèque de Gersande Lena, notre équipe n'avait pas pu mettre en évidence un pharmacophore en R³.



VI.G. Vers une optimisation de l'activité inhibitrice des triazépanediones sur les hGV- et hGX-sPLA2

VI.G.1. Triazépanediones testées sur les hGV- et hGX-sPLA2

L'exploration de l'impact du groupement R^3 sur l'activité inhibitrice de ces composés 1,3,5triazépane-2,6-dione nous a semblé intéressante pour compléter l'étude de relation structure/fonction en vue d'optimiser les inhibiteurs existants dans la série des triazépanediones. C'est dans ce but que nous avons synthétisé une petite chimiothèque de composés diversifiés en R^3 , avec en position R^2 , soit un benzyle soit un isopropyle.

De plus, le groupement aliphatique ramifié isopropyle est un pharmacophore intéressant en position R². Au regard de ce résultat, nous nous sommes proposés de tester 2 autres groupements analogues à cette même position : i) le groupement tertiobutyle avec une ramification supplémentaire (chapitre II, **Figure II.B.1**, composé **IB26**; chapitre III, **Figure III.A.2**, composé **IIIA1**), ii) le groupement linéaire *n*-butyle (chapitre II, **Figure II.B.1**, composé **IIB27**; chapitre III, **Figure III.A.2**, composé **IIIA2**).

Par ailleurs, des composés acylés (chapitre III, composés **IIIB1**, **IIIB2**, **IIIB3** et **IIIB4**) dont la présence d'un carbonyle supplémentaire représente un groupement accepteur de liaison hydrogène supplémentaire, n'avaient pas encore été testés.

Deux autres composés (**VIG1** et **VIG4**) associant de manière synergique les deux pharmacophores observés sur les inhibiteurs les plus puissants, (l'isopropyles et la chaîne acide insaturée) ainsi que leurs intermédiaires de synthèse isolables (**VIG2**, **VIG3**, **VIG5**, **VIG6** et **VIG7**) ont également été testés (**Figure VI.G.1**).



Figure VI.G.1 : Composés triazépanedione **VIG1** et **VIG4** comportant la chaîne acide insaturée et un ou deux groupements isopropyle, ainsi que leurs intermédiaires isolés.

VI.G.1.a. Synthèse des composés VIG4 et VIG5

Le composé 1,3,5-triazépane-2,6-dione **VIG4** est obtenu en 4 étapes à partir de l'acide **VIG7** issu de la chimiothèque construite par Gersande Léna (**Figure VI.G.2**).

D'abord, cet acide **VIG7** est mis en réaction avec la *N*,*O*-diméthyl-hydroxylamine (1,2éq) en présence de DIC (1,1 éq) dans l'acétonitrile, pour former l'hydroxamate **VIG6** avec un rendement de 94%. La réduction de l'hydroxamate avec du LiAlH₄ (1,5 éq) à -30°C conduit à la formation de l'aldéhyde **VIG8**. Ensuite, une réaction de Wittig est effectuée par ajout de (*tert*-butyloxycarbonylméthylène)triphényl-phosphorane, permettant d'obtenir l'ester de *t*-butyle **VIG5** avec 16% de rendement après TLC préparative. Enfin, le composé **VIG4** est obtenu quantitativement par traitement de **VIG5** avec du TFA.



a) DIC (1,1 éq), MeONMe.HCI (1,2 éq), DIEA (1,2 éq), MeCN, TA, 24h, 94%; b) LiAlH₄ (1,5 éq), THF, -30°C, 1h; c) Ph_3PCHCO_2t -Bu (2,5 éq), DCM, 40h, 16% (correspondant aux étapes de **VIG7** à **VIG5**); d) TFA, 30min, quant.

Figure VI.G.2 : Synthèse des composés VIG5 et VIG4

VI.G.1.b. Synthèse des composés VIG1 et VIG2

L'hétérocycle **VIG1** est synthétisé en 4 étapes. Le composé acide de départ **VIG9** est issu de la chimiothèque que nous avons construite avec de la diversité en R³ dont la synthèse est discutée aux chapitres II et III.

L'alcool **VIG3** est obtenu par l'activation du résidu acide **VIG9** sous forme d'anhydride mixte par traitement avec du chloroformiate d'isobutyle (1,4 éq) en milieu basique à -20°C, suivi de la réduction par ajout du NaBH₄ (3 éq) dans un minimum d'eau (**Figure VI.G.3**). Après purification, l'alcool est isolé avec un rendement de 79%. Puis, l'aldéhyde **VIG10** est obtenu par oxydation de l'alcool par traitement avec une résine PS-IBXamide (5éq) (résine polystyrène 2-iodoxybenzoyle amide) dans le DCM. Après filtration, l'aldéhyde est engagé dans une réaction de Wittig pour former l'oléfine **VIG2** avec un rendement de 21% après purification. Pour finir, l'acide correspondant **VIG1** est généré quantitativement par dissolution de **VIG2** dans le TFA puis agitation pendant 30 min.



a) i-BuO(CO)Cl (1,4 éq), NMM (1,2 éq), THF, -20°C, 30min, puis NaBH₄ (3 éq), H₂O, 15min, 79% ; b) PS-IBXamide (5éq), DCM, 32h ; c) Ph₃PCHCO₂t-Bu (1,5 éq), DCM, 21% (correspondant aux étapes de **VIG9** à **VIG2**) ; d) TFA, 30min, quant.

Figure VI.G.3 : Synthèse des composés VIG2 et VIG1

VI.G.2. Criblage de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones sur les hGV- et hGX-sPLA2

Au cours de mon travail de thèse, l'équipe du Dr. Gérard Lambeau a testé deux séries d'une vingtaine d'hétérocycles que nous avons synthétisés au laboratoire.

VI.G.2.a. Résultats du criblage de la première série sur les hGV- et hGXsPLA2

Les premiers criblages ont été effectués avec une concentration constante de 10µM d'hétérocycle. Nous avons mesuré l'activité des hGIB-, hGIIA-, hGV- et hGX-sPLA2 en présence de cette dose de triazépanedione. Aucune des molécules testées n'a montré une activité significative pour les enzymes des groupes IB et IIA. A l'inverse, à 10µM certains composés se sont révélés être des inhibiteurs modestes mais sélectifs des groupes V et X (**Figure VI.G.4**). Ce criblage a permis d'identifier de nouveaux pharmacophores potentiels et de confirmer, à travers de nouveaux exemples, l'impact du groupement isopropyle sur l'activité inhibitrice des sPLA2 des groupe V et X.

Les mesures d'inhibitions obtenues avec les composés *N*-acylés **IIIB1-4** (chapitre III, **figure III.B.2**) ont permis d'identifier 2 nouveaux pharmacophores : le *p*-bromobenzoyle (**IIIB3**) et le 2,2-diméthyl-propionyle (**IIIB4**).



A une concentration de 10μ M, les composés comportant ces groupements en position R¹ ont réduit significativement l'activité des hGV-sPLA2 et hGX-sPLA2. Pour quantifier, l'hétérocycle **IIIB3**, le plus puissant des deux, a réduit l'activité de la hGV-sPLA2 à 16% et de la hGX-sPLA2 à 19%. Le composé **IIIB4** réduit à 35% et 31%, l'activité de ces mêmes enzymes.



Figure VI.G.5 : Résultats du criblage de la 2^{ème} série de composés issus de la chimiothèque des 1,3,5-triazépane-2,6-diones

Parmi les molécules diversifiées en R³, la molécule **IIA21** est la seule a présenter une activité inhibitrice des hGV- et hGX-sPLA2. Cette activité est certes modeste (35% d'activité des hGV et 53% d'activité des hGX à 10µM de **IIA21**), mais elle est tout de même significative par rapport aux autres composés testés pour pouvoir mettre en évidence l'importance du groupement isopropyle en position R³. Malgré ces avancées, à l'issue du criblage de cette première série, nous n'avons pas identifié des inhibiteurs plus puissants que les composés **VIF1** et **VIF2** mis en évidence précédemment par Gersande Léna⁸.

VI.G.2.b. Résultats du criblage de la deuxième série sur les hGV- et hGX-sPLA2

Le 2^{ème} criblage a été effectué avec des triazépanediones diversifiées en R³ et *N*-monoalkylées par du bromoacétate de *tert*-butyle dont les synthèses sont présentées aux chapitres II et III, et les hétérocycles **VIG5**, **VIG4**, **VIG2** et **VIG1**, dont les synthèses sont décrites en détail en sections VI.G.1.a et VI.G.1.b.

Les résultats les plus intéressants sont présentés **figure VI.G.5** où est mentionnée l'activité des hGVsPLA2 et hGX-sPLA2 en présence de chacune des triazépanediones à une concentration de 10 μ M. D'abord, le composé **IIIA5** (105% d'activité de hGV et 91% d'activité de hGX à 10 μ M) semble être inactif vis-à-vis de ces enzymes ce qui est très surprenant compte tenu des résultats des criblages précédents. En effet, l'inhibiteur **VIF1** (26% d'act. de hGV et 8% d'act. de hGX) comporte le groupement isopropyle en position R². Le composé **IIA21** (35% d'act. de hGV et 53% d'act. hGX), avec l'isopropyle en position R³ est un inhibiteur certes modeste, mais il est tout de même actif (**Figure VI.G.6**). Alors que l'hétérocycle **IIIA5** sur lequel sont distribués des isopropyles aux deux positions R²



Le groupement tertiobutyle en position R² (IIIA1, 121% d'act. de hGV et 103% d'act. de hGX) que nous avions proposé comme alternative à l'isopropyle du composé VIF1, ne s'est pas montré plus efficace (Figure VI.G.7). A l'inverse, les hétérocycles comportant le tertiobutyle se sont révélés inactifs comme le composé IIIA1, par exemple. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une différence de conformation discutée au chapitre V.

A l'issue de ce criblage, nous avons identifié 2 autres pharmacophores intéressants en position R^3 : les groupements cyclohexyle et le 3,4-diméthoxy-benzyle. En effet, le composé **IIIA8** (44% d'act. de hGV et 61% d'act. de hGX) comportant le groupement 3,4-diméthoxy-benzyle a une activité inhibitrice modeste mais significative des 2 groupes de phospholipases humaines. Le composé **IIIA9** (48% d'act. de hGV et 95% d'act. hGX) sur lequel figure le cyclohexyle, en revanche, semble davantage sélectif du hGV.



Ces dernières évaluations biologiques ont également permis de confirmer l'importance de la présence de la chaîne acide insaturée en position R⁵ (Figure VI.G.5). L'activité inhibitrice de l'hétérocycle triazépanedione VIG1 (21% d'act. hGV et 16% d'act. hGX) qui associe les deux groupements pharmacophores sur le même châssis, c'est-à-dire l'isopropyle en R² et R³, et la chaîne acide insaturée en position R⁵, est proche de celles des composés VIF1 et VIF2, les inhibiteurs les plus puissants de notre chimiothèque. L'hétérocycle VIG2, analogue ester de tertiobutyle du composé VIG1 est également un composé intéressant car même s'il perd en activité par rapport à VIG1, il permet de gagner en sélectivité du groupe V humain. Cependant, la molécule VIG4 s'est révélée inactive contrairement à nos attentes. En effet, VIG4 qui correspond au composé actif VIF1 sur lequel nous avons substitué l'acétate de tertiobutyle par la chaîne acide insaturée n'a pas d'activité inhibitrice significative des hGV- et hGX- sPLA2. Encore dans ce cas, nous pouvons avancer l'argument conformationnel pour expliquer cette absence d'activité.

VI.G.3. Etude cristallographique du complexe hGX-sPLA2/VIF2

Dans le paragraphe précédent, nous avons vu que les études de relations structure-activité permettent d'obtenir des pistes pour optimiser l'activité inhibitrice de sPLA2 des triazépanediones. Toutefois, la diversité structurale due à l'existence de plusieurs conformations discutée au chapitre V complique les analyses. Pour faire face à ce type de problème, notre équipe s'est fixé comme objectif de comprendre le mode de liaison et le positionnement de l'inhibiteur dans le site catalytique des sPLA2. Pour ce faire, nous avons entrepris de co-cristalliser la molécule **VIF2** avec la hGX-sPLA2 afin de l'analyser par diffraction des rayons X. Ces expérimentations ont été effectuées dans le cadre d'une collaboration avec le Dr. Gérard Lambeau et le Dr. Yves Bourne (Glycobiology and Structural Neurobiology, CNRS, Marseille). Des cristaux ont été obtenus et des collectes ont été réalisées au synchrotron à Grenoble. Actuellement, les données obtenues sont très préliminaires (densité électronique faible dans le site actif, caractéristique d'une occupation partielle du site par l'inhibiteur), mais elles permettent tout de même de commencer à rationaliser le mode de liaison. Une comparaison avec la structure cristallographique connue^{86, 87} de cette enzyme avec un inhibiteur dérivé d'indole est présentée **figure VI.G.8**.



En premier lieu et c'est important, cette analyse par diffraction des Rayons X nous confirme le positionnement de l'inhibiteur dans le site actif de l'enzyme. Une particularité de la structure réside également dans la conformation de l'hétérocycle dans le site de l'enzyme qui n'est pas la conformation **A** (figure V.A.3, chapitre V) à laquelle nous aurions pu nous attendre. Alors que le dérivé d'indole dont l'activité inhibitrice est importante, se lie au calcium catalytique et interagit avec l'histidine catalytique H1046, l'inhibiteur VIF2 ne semble établir de contact ni avec le calcium ni avec

cette histidine. Cette analyse ouvre donc la voie à une possible optimisation des inhibiteurs basée sur la structure. Ainsi, la monoacylation de l'azote N1 qui permet d'introduire un carbonyle supplémentaire, pourrait offrir une possibilité de liaison au calcium ou de liaison hydrogène avec l'histidine catalytique et ainsi augmenter l'activité de la molécule. De cette étude structurale et de l'étude de relation structure-activité, nous pouvons proposer un modèle de pharmacophore qu'il conviendra d'affiner par des étapes de modélisation moléculaire (**figure VI.G.9**).



Dans ce modèle, nous réutilisons le concept de la *N*-acylation qui semble compatible avec la découverte de molécules actives (composé **IIIB3** et **IIIB4**) mais en ajustant le groupement acyle de manière à pouvoir espérer faire des contacts avec le calcium et ou l'histidine catalytique (ex= R^1 =CH₂-CH₂-CONH₂).

Bibliographie

1. Lena, G.; Guichard, G., Synthetic methods for the preparation of triazepandiones and review of their applications. *Current Organic Chemistry* **2008**, 12, (10), 813-835.

2. Garciaquintana, H. G.; Barrera, D.; Polette, M.; Martinez, R., Study of Benzotriazepins and Quinazolins Obtained by Synthesis on Bacterial-Populations. *Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health* **1987**, 34, (5), 341-346.

3. Sawanishi, H.; Wakusawa, S.; Murakami, R.; Muramatsu, H.; Suzuki, H.; Takashima, A.; Aizawa, T.; Miyamoto, K., Novel inhibitors for multidrug resistance: 1,3,5-triazacycloheptanes. *Journal of Medicinal Chemistry* **1995**, 38, (26), 5066-70.

4. Spencer, J.; McDonalds, I. M.; Duncan, I., *WO 2004098610* **2004**.

5. Hassal, C. H.; Lawon, G.; Radshaw, S., *EP* 172552 **1986**.

6. Hosmane, R.; Burns, B., US 5843912 **1998**.

7. Lena, G.; Lallemand, E.; Gruner, A. C.; Boeglin, J.; Roussel, S.; Schaffner, A. P.; Aubry, A.; Franetich, J. F.; Mazier, D.; Landau, I.; Briand, J. P.; Didierjean, C.; Renia, L.; Guichard, G., 1,3,5-triazepan-2,6-diones as structurally diverse and conformationally constrained dipeptide mimetics: Identification of malaria liver stage inhibitors from a small pilot library. *Chemistry-a European Journal* **2006**, 12, (33), 8498-8512.

8. Muller, P.; Lena, G.; Boilard, E.; Bezzine, S.; Lambeau, G.; Guichard, G.; Rognan, D., In silicoguided target identification of a scaffold-focused library: 1,3,5-triazepan-2,6-diones as novel phospholipase A2 inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49, (23), 6768-6778.

9. Simon, R. J.; Kania, R. S.; Zuckermann, R. N.; Huebner, V. D.; Jewell, D. A.; Banville, S.; Ng, S.; Wang, L.; Rosenberg, S.; Marlowe, C. K.; Spellmeyer, D. C.; Tan, R. Y.; Frankel, A. D.; Santi, D. V.; Cohen, F. E.; Bartlett, P. A., Peptoids - a Modular Approach to Drug Discovery. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1992**, 89, (20), 9367-9371.

10. Zuckermann, R. N.; Kerr, J. M.; Kent, S. B. H.; Moos, W. H., Efficient Method for the Preparation of Peptoids [Oligo(N-Substituted Glycines)] by Submonomer Solid-Phase Synthesis. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, 114, (26), 10646-10647.

11. Kruijtzer, J. A. W.; Liskamp, R. M. J., Synthesis in Solution of Peptoids Using Fmoc-Protected N-Substituted Glycines. *Tetrahedron Letters* **1995**, 36, (38), 6969-6972.

12. Doyle, M. P.; Colyer, J. T., Synthesis of dirhodium(II) tetrakis[methyl 1-(3-phenylpropanoyl)-2-oxaimidazolidine-4(S)-carboxylate], Rh-2(4S-MPPIM)(4). *Tetrahedron-Asymmetry* **2003**, 14, (22), 3601-3604.

13. MacNevin, C. J.; Moore, R. L.; Liotta, D. C., Stereoselective synthesis of quaternary center bearing azetines and their beta-amino acid derivatives. *Journal of Organic Chemistry* **2008**, 73, (4), 1264-1269.

14. Lou, S.; Dai, P.; Schaus, S. E., Asymmetric Mannich reaction of dicarbonyl compounds with alpha-amido sulfones catalyzed by cinchona alkaloids and synthesis of chiral dihydropyrimidones. *Journal of Organic Chemistry* **2007**, 72, (26), 9998-10008.

15. Marcotte, F. A.; Rombouts, F. J.; Lubell, W. D., Diversity-oriented synthesis of functionalized pyrrolo[3,2-d]pyrimidines with variation of the pyrimidine ring nitrogen substituents. *Journal of Organic Chemistry* **2003**, 68, (18), 6984-7.

16. Park, C. H.; Siomboing, X.; Yous, S.; Gressier, B.; Luyckx, M.; Chavatte, P., Investigations of new lead structures for the design of novel cyclooxygenase-2 inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2002**, 37, (6), 461-8.

17. Hayashi, K.; Nunami, K.; Kato, J.; Yoneda, N.; Kubo, M.; Ochiai, T.; Ishida, R., Studies on angiotensin converting enzyme inhibitors. 4. Synthesis and angiotensin converting enzyme inhibitory activities of 3-acyl-1-alkyl-2-oxoimidazolidine-4-carboxylic acid derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry* **1989**, 32, (2), 289-97.

18. Cesarini, S.; Spallarossa, A.; Ranise, A.; Schenone, S.; Rosano, C.; La Colla, P.; Sanna, G.; Busonera, B.; Loddo, R., N-acylated and N,N'-diacylated imidazolidine-2-thione derivatives and N,N'-diacylated tetrahydropyrimidine-2(1H)-thione analogues: synthesis and antiproliferative activity. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**, 44, (3), 1106-18.

19. Guillena, G.; Najera, C., 1,5-Dimethyl-4-phenylimidazolidin-2-one-derived iminic glycinimides: useful new reagents for practical asymmetric synthesis of alpha-amino acids. *Journal of Organic Chemistry* **2000**, 65, (22), 7310-22.

20. Caddick, S.; Parr, N. J.; Pritchard, M. C., Preparation of alpha-amino-carboxylic acid derivatives via diastereoselective reactions of glycine enolate equivalents. *Tetrahedron* **2001**, 57, (30), 6615-6626.

21. Bew, S. P.; Bull, S. D.; Davies, S. G.; Eames, J.; Baxter, A. D.; Mykytiuk, J., A simple desymmetrisation approach to unsymmetric N,N '-disubstituted cyclic ureas. *Tetrahedron Letters* **1999**, 40, (39), 7143-7146.

22. Davies, S. G.; Mortlock, A. A., Bifunctional Chiral Auxiliaries .5. The Synthesis of 1,3-Diacylimidazolidine-2-Thiones and 1,3-Diacylimidazolidin-2-Ones from 1,2-Diamines. *Tetrahedron* **1993**, 49, (20), 4419-4438.

23. Richter, R.; Tucker, B.; Ulrich, H., Synthesis and Reactions of Some N-Acylated and N-Sulfonylated N,N'-Dialkylureas. *Journal of Organic Chemistry* **1978**, 43, (21), 4150-4154.

24. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* **1997**, 23, (1-3), 3-25.

25. Moriguchi, I.; Hirono, S.; Liu, Q.; Nakagome, I.; Matsushita, Y., Simple Method of Calculating Octanol Water Partition-Coefficient. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **1992**, 40, (1), 127-130.

26. Lipinski, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, 46, (1-3), 3-26.

27. Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. N.; Wendoloski, J. J., A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. *Journal of Combinatorial Chemistry* **1999**, 1, (1), 55-68.

28. Sifferlen, T.; Rueping, M.; Gademann, K.; Jaun, B.; Seebach, D., beta-Thiopeptides: Synthesis, NMR solution structure, CD spectra, and photochemistry. *Helvetica Chimica Acta* **1999**, 82, (12), 2067-2093.

29. Ozturk, T.; Ertas, E.; Mert, O., Use of Lawesson's reagent in organic syntheses. *Chemical Reviews* **2007**, 107, (11), 5210-5278.

30. Josse, O.; Labar, D.; Marchand-Brynaert, J., A convenient synthesis of ethyl 3aminopropanedithioate (beta-alanine ethyl dithioester). *Synthesis-Stuttgart* **1999**, (3), 404-406.

31. Nonoyama, M.; Nakajima, K.; Mizuno, H.; Hayashi, S., Cyclometalation of N,N-Dimethylbenzo[B]Furan-2-Carbothio (and Seleno) Amides with Palladium(Ii), Ruthenium(Li) and Rhodium(Iii). *Inorganica Chimica Acta* **1994**, 215, (1-2), 91-101.

32. Katritzky, A. R.; Chen, J.; Yang, Z. J., 1-(Cyanomethyl)Benzotriazole as a Convenient Precursor for the Synthesis of 2-Substituted Thiazoles. *Journal of Organic Chemistry* **1995**, 60, (17), 5638-5642.

33. Curphey, T. J., Thionation with the reagent combination of phosphorus pentasulfide and hexamethyldisiloxane. *Journal of Organic Chemistry* **2002**, 67, (18), 6461-6473.

34. Ach, D.; Reboul, V.; Metzner, P., Atroposelectivity of reactions of benzylic metalated thiobenzamides and thionaphthamides. *European Journal of Organic Chemistry* **2003**, (17), 3398-3406.

35. Grisenti, P.; Magni, A.; Manzocchi, A.; Ferraboschi, P., A practical route for the synthesis of 17 substituted steroidal 3-thioxamides. *Steroids* **1997**, 62, (6), 504-506.

36. Huszthy, P.; Oue, M.; Bradshaw, J. S.; Zhu, C. Y.; Wang, T. M.; Dalley, N. K.; Curtis, J. C.; Izatt, R. M., New Symmetrical Chiral Dibenzyl-Substituted and Diphenyl-Substituted Diamido-18-Crown-6, Dithionoamido-18-Crown-6, Diaza-18-Crown-6, and Azapyridino-18-Crown-6 Ligands. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, 57, (20), 5383-5394.
37. Chen, X.; Du, D. M.; Hua, W. T., A convenient method for synthesis of trans-4-cyclohexyl-L-proline. *Tetrahedron-Asymmetry* **2002**, 13, (1), 43-46.

38. Ryoda, A.; Yajima, N.; Haga, T.; Kumamoto, T.; Nakanishi, W.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Ishikawa, T., Optical resolution of (+/-)-1,2-bis(2-methylphenyl)ethylene-1,2-diamine as a chiral framework for 2-iminoimidazolidine with 2-methylphenyl pendant and the guanidine-catalyzed asymmetric Michael reaction of tert-butyl diphenyliminoacetate and ethyl acrylate. *Journal of Organic Chemistry* **2008**, 73, (1), 133-141.

39. Jones, R. C. F.; Iley, J. N.; Lory, P. M. J., Synthesis of some new 2-heterosubstituted 4,5dihydroimidazoles. *Arkivoc* **2002**, 152-163.

40. Janssen, C. G. M.; Thijssen, J. B. A.; Verluyten, W. L. M., A short synthesis of [C-14]-labelled levamisole and its major metabolite. *Journal of Labelled Compounds & Radiopharmaceuticals* **2002**, 45, (7), 591-600.

41. Kai, H.; Morioka, Y.; Murashi, T.; Morita, K.; Shinonome, S.; Nakazato, H.; Kawamoto, K.; Hanasaki, K.; Takahashi, F.; Mihara, S. I.; Arai, T.; Abe, K.; Okabe, H.; Baba, T.; Yoshikawa, T.; Takenaka, H., 2-arylimino-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazines as a new class of cannabinoid receptor agonists. Part 1: Discovery of CB2 receptor selective compounds. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, 17, (14), 4030-4034.

42. Elbarbary, A. A.; Lawesson, S. O., Reaction of 2,4-Bis(4-Methoxyphenyl)-1,3,2,4-Dithiadiphosphetane 2,4-Disulfide with Urea Derivatives, Carbamates and Thiocarbamates. *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* **1984**, 23, (7), 655-657.

43. Cow, C. N.; Harrison, P. H. M., A facile preparation of thioglycolurils from glycolurils, and regioselectivity in thioglycoluril template-directed crossed-Claisen condensations. *Journal of Organic Chemistry* **1997**, 62, (25), 8834-8840.

44. Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Affolter, C., Structure determination of organic compounds : Tables of spectral data. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2000* **2000**, 132.

45. Tzschucke, C. C.; Markert, C.; Bannwarth, W.; Roller, S.; Hebel, A.; Haag, R., Modern separation techniques for the efficient workup in organic synthesis. *Angewandte Chemie-International Edition* **2002**, 41, (21), 3964-4000.

46. Ostresh, J. M.; Husar, G. M.; Blondelle, S. E.; Dorner, B.; Weber, P. A.; Houghten, R. A., Libraries from Libraries - Chemical Transformation of Combinatorial Libraries to Extend the Range and Repertoire of Chemical Diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1994**, 91, (23), 11138-11142.

47. Barlos, K.; Chatzi, O.; Gatos, D.; Stavropoulos, G., 2-Chlorotrityl Chloride Resin - Studies on Anchoring of Fmoc-Amino Acids and Peptide Cleavage. *International Journal of Peptide and Protein Research* **1991**, 37, (6), 513-520.

48. Barlos, K.; Gatos, D.; Kapolos, S.; Poulos, C.; Schafer, W.; Yao, W. Q., Application of 2-Chlorotrityl Resin in Solid-Phase Synthesis of (Leu(15))-Gastrin-I and Unsulfated Cholecystokinin Octapeptide - Selective O-Deprotection of Tyrosine. *International Journal of Peptide and Protein Research* **1991**, 38, (6), 555-561.

49. Barlos, K.; Gatos, D.; Kutsogianni, S.; Papaphotiou, G.; Poulos, C.; Tsegenidis, T., Solid-Phase Synthesis of Partially Protected and Free Peptides Containing Disulfide Bonds by Simultaneous Cysteine Oxidation-Release from 2-Chlorotrityl Resin. *International Journal of Peptide and Protein Research* **1991**, 38, (6), 562-568.

50. Barlos, K.; Gatos, D.; Schafer, W., Synthesis of Prothymosin Alpha (Pro T-Alpha) - a Protein Consisting of 109 Amino-Acid-Residues. *Angewandte Chemie-International Edition in English* **1991**, 30, (5), 590-593.

51. Degrado, W. F.; Kaiser, E. T., Polymer-Bound Oxime Esters as Supports for Solid-Phase Peptide-Synthesis - Preparation of Protected Peptide-Fragments. *Journal of Organic Chemistry* **1980**, 45, (7), 1295-1300.

52. Degrado, W. F.; Kaiser, E. T., Solid-Phase Synthesis of Protected Peptides on a Polymer-Bound Oxime - Preparation of Segments Comprising the Sequence of a Cyto-Toxic 26-Peptide Analog. *Journal of Organic Chemistry* **1982**, 47, (17), 3258-3261.

53. Findeis, M. A.; Kaiser, E. T., Nitrobenzophenone Oxime Based Resins for the Solid-Phase Synthesis of Protected Peptide Segments. *Journal of Organic Chemistry* **1989**, 54, (14), 3478-3482.

54. Loudon, G. M.; Almond, M. R.; Jacob, J. N., Mechanism of Hydrolysis of N-(1-Aminoalkyl) Amides. *Journal of the American Chemical Society* **1981**, 103, (15), 4508-4515.

55. Hamuro, Y.; Marshall, W. J.; Scialdone, M. A., Solid-phase synthesis of acyclic and cyclic amino acid derived urea peptidomimetics using phoxime resin. *Journal of Combinatorial Chemistry* **1999**, 1, (2), 163-172.

56. Myers, A. C.; Kowalski, J. A.; Lipton, M. A., Facile incorporation of urea pseudopeptides into protease substrate analogue inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14, (20), 5219-5222.

57. Radhakrishna, A. S.; Parham, M. E.; Riggs, R. M.; Loudon, G. M., New Method for Direct Conversion of Amides to Amines. *Journal of Organic Chemistry* **1979**, 44, (10), 1746-1747.

58. Loudon, G. M.; Radhakrishna, A. S.; Almond, M. R.; Blodgett, J. K.; Boutin, R. H., Conversion of Aliphatic Amides into Amines with [I,I-Bis(Trifluoroacetoxy)Iodo]Benzene .1. Scope of the Reaction. *Journal of Organic Chemistry* **1984**, 49, (22), 4272-4276.

59. Boutin, R. H.; Loudon, G. M., Conversion of Aliphatic Amides into Amines with [I,I-Bis(Trifluoroacetoxy)Iodo]Benzene .2. Kinetics and Mechanism. *Journal of Organic Chemistry* **1984**, 49, (22), 4277-4284.

60. Sumiyoshi, H.; Shimizu, T.; Katoh, M.; Baba, Y.; Sodeoka, M., Solution-phase parallel synthesis of carbamates using polymer-bound N-hydroxysuccinimide. *Organic Letters* **2002**, *4*, (22), 3923-3926.

61. Solinas, A.; Taddei, M., Solid-supported reagents and catch-and-release techniques in organic synthesis. *Synthesis-Stuttgart* **2007**, (16), 2409-2453.

62. Booth, R. J.; Hodges, J. C., Solid-supported reagent strategies for rapid purification of combinatorial synthesis products. *Accounts of Chemical Research* **1999**, 32, (1), 18-26.

63. Montalbetti, C. A. G. N.; Falque, V., Amide bond formation and peptide coupling. *Tetrahedron* **2005**, 61, (46), 10827-10852.

64. Valeur, E.; Bradley, M., PS-IIDQ: an efficient polymer-supported amide coupling reagent. *Chemical Communications* **2005**, (9), 1164-1166.

65. Valeur, E.; Bradley, M., PS-IIDQ: a supported coupling reagent for efficient and general amide bond formation. *Tetrahedron* **2007**, 63, (36), 8855-8871.

66. Macdonald, J. C.; Whitesides, G. M., Solid-State Structures of Hydrogen-Bonded Tapes Based on Cyclic Secondary Diamides. *Chemical Reviews* **1994**, 94, (8), 2383-2420.

67. Paul, N.; Kellenberger, E.; Bret, G.; Muller, P.; Rognan, D., Recovering the true targets of specific ligands by virtual screening of the protein data bank. *Proteins* **2004**, 54, (4), 671-80.

68. Berman, H. M.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. N.; Weissig, H.; Shindyalov, I. N.; Bourne, P. E., The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research* **2000**, 28, (1), 235-42.

69. Schaloske, R. H.; Dennis, E. A., The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system. *Biochimica et Biophysica Acta* **2006**, 1761, (11), 1246-59.

70. Lambeau, G.; Gelb, M. H., Biochemistry and physiology of mammalian secreted phospholipases A2. *Annual Review of Biochemistry* **2008**, 77, 495-520.

71. Boyanovsky, B. B.; Webb, N. R., Biology of secretory phospholipase A2. *Cardiovascular Drugs and Therapy* **2009**, 23, (1), 61-72.

72. Kuipers, O. P.; van den Bergh, C. J.; Verheij, H. M.; de Haas, G. H., Probing the mechanism of pancreatic phospholipase A2 with the aid of recombinant DNA techniques. *Advances in Experimental Medicine and Biology* **1990**, 279, 65-84.

73. Jain, M. K.; Berg, O. G., Coupling of the i-face and the active site of phospholipase A2 for interfacial activation. *Current Opinion in Chemical Biology* **2006**, 10, (5), 473-9.

74. Surrel, F.; Jemel, I.; Boilard, E.; Bollinger, J. G.; Payre, C.; Mounier, C. M.; Talvinen, K. A.; Laine, V. J.; Nevalainen, T. J.; Gelb, M. H.; Lambeau, G., Group X phospholipase A2 stimulates the

proliferation of colon cancer cells by producing various lipid mediators. *Molecular Pharmacology* **2009,** 76, (4), 778-90.

75. Henderson, W. R., Jr.; Chi, E. Y.; Bollinger, J. G.; Tien, Y. T.; Ye, X.; Castelli, L.; Rubtsov, Y. P.; Singer, A. G.; Chiang, G. K.; Nevalainen, T.; Rudensky, A. Y.; Gelb, M. H., Importance of group X-secreted phospholipase A2 in allergen-induced airway inflammation and remodeling in a mouse asthma model. *Journal of Experimental Medicine* **2007**, 204, (4), 865-77.

76. Hallstrand, T. S.; Chi, E. Y.; Singer, A. G.; Gelb, M. H.; Henderson, W. R., Jr., Secreted phospholipase A2 group X overexpression in asthma and bronchial hyperresponsiveness. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* **2007**, 176, (11), 1072-8.

77. Munoz, N. M.; Meliton, A. Y.; Arm, J. P.; Bonventre, J. V.; Cho, W.; Leff, A. R., Deletion of secretory group V phospholipase A2 attenuates cell migration and airway hyperresponsiveness in immunosensitized mice. *Journal of Immunology* **2007**, 179, (7), 4800-7.

78. Rosenson, R. S.; Hislop, C.; McConnell, D.; Elliott, M.; Stasiv, Y.; Wang, N.; Waters, D. D., Effects of 1-H-indole-3-glyoxamide (A-002) on concentration of secretory phospholipase A2 (PLASMA study): a phase II double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* **2009**, 373, (9664), 649-58.

79. Reid, R. C., Inhibitors of secretory phospholipase A2 group IIA. *Current Medicinal Chemistry* **2005**, 12, (25), 3011-26.

80. Smart, B. P.; Oslund, R. C.; Walsh, L. A.; Gelb, M. H., The first potent inhibitor of mammalian group X secreted phospholipase A2: elucidation of sites for enhanced binding. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49, (10), 2858-60.

81. Oslund, R. C.; Cermak, N.; Gelb, M. H., Highly specific and broadly potent inhibitors of mammalian secreted phospholipases A2. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, 51, (15), 4708-14.

82. Hansford, K. A.; Reid, R. C.; Clark, C. I.; Tyndall, J. D.; Whitehouse, M. W.; Guthrie, T.; McGeary, R. P.; Schafer, K.; Martin, J. L.; Fairlie, D. P., D-Tyrosine as a chiral precusor to potent inhibitors of human nonpancreatic secretory phospholipase A2 (IIa) with antiinflammatory activity. *Chembiochem* **2003**, *4*, (2-3), 181-5.

83. Bezzine, S.; Koduri, R. S.; Valentin, E.; Murakami, M.; Kudo, I.; Ghomashchi, F.; Sadilek, M.; Lambeau, G.; Gelb, M. H., Exogenously added human group X secreted phospholipase A(2) but not the group IB, IIA, and V enzymes efficiently release arachidonic acid from adherent mammalian cells. *Journal of Biological Chemistry* **2000**, 275, (5), 3179-91.

84. Singer, A. G.; Ghomashchi, F.; Le Calvez, C.; Bollinger, J.; Bezzine, S.; Rouault, M.; Sadilek, M.; Nguyen, E.; Lazdunski, M.; Lambeau, G.; Gelb, M. H., Interfacial kinetic and binding properties of the complete set of human and mouse groups I, II, V, X, and XII secreted phospholipases A2. *Journal of Biological Chemistry* **2002**, 277, (50), 48535-49.

85. Hamaguchi, K.; Kuwata, H.; Yoshihara, K.; Masuda, S.; Shimbara, S.; Oh-ishi, S.; Murakami, M.; Kudo, I., Induction of distinct sets of secretory phospholipase A(2) in rodents during inflammation. *Biochimica et Biophysica Acta* **2003**, 1635, (1), 37-47.

86. Smart, B. P.; Pan, Y. H.; Weeks, A. K.; Bollinger, J. G.; Bahnson, B. J.; Gelb, M. H., Inhibition of the complete set of mammalian secreted phospholipases A(2) by indole analogues: a structure-guided study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2004**, 12, (7), 1737-49.

87. Pan, Y. H.; Yu, B. Z.; Singer, A. G.; Ghomashchi, F.; Lambeau, G.; Gelb, M. H.; Jain, M. K.; Bahnson, B. J., Crystal structure of human group X secreted phospholipase A2. Electrostatically neutral interfacial surface targets zwitterionic membranes. *Journal of Biological Chemistry* **2002**, 277, (32), 29086-93.

CONCLUSION

Conclusion

A travers quelques exemples tirés de la littérature, nous avons montré l'intérêt de développer des hétérocycles dérivés de dipeptides, soit pour mimer les coudes β dont l'importance dans l'activité de certains peptides et protéines a été démontrée¹, soit pour créer de la diversité moléculaire en profitant de la grande variété des aminoacides d'une part, et de la réactivité des fonctions qui peuvent être présentes dans de tels systèmes d'autre part. Par ailleurs, la mise au point de méthodes permettant de créer rapidement de la diversité moléculaire sont à l'origine de nombreuses avancées dans les domaines de la chimie médicinale et de la biologie chimique²⁻⁴.



Le châssis 1,3,5-triazépane-2,6-dione a été développé dans cette optique de création de diversité. La méthode de synthèse de ce châssis est efficace et versatile : en seulement 4 étapes, l'hétérocycle est obtenu par cyclisation d'un dipeptide activé (**Figure C.1**). Le large panel d'aminoacides disponibles commercialement a permis d'établir au laboratoire, une chimiothèque d'hétérocycles d'une grande diversité que nous avons encore élargie en diversifiant la nature du groupement R³. La stratégie proposée était de synthétiser des glycinates de benzyle *N*-alkylés par monoalkylation d'amines primaires portant le groupement R³ avec du bromoacétate de benzyle puis, de coupler ces dérivés de glycine avec un autre aminoacide pour générer les dipeptides de départ diversifiés en R³. Cette stratégie permet de mettre à profit la très grande diversité des amines primaires commerciales. Cependant, elle ne permet pas de faire varier simultanément les groupements R² et R³. Cette lacune pourrait être comblée par l'application de la même méthode de monoalkylation avec d'autres composés bromo- commerciaux tels que le (R)-2-bromo-3-phényl-propionate de benzyle **C1** [CAS : 56348-66-4], du 2-bromo-4-métyl-butyrate d'éthyle **C2** [CAS : 609-12-1] ou de synthèse comme le 2-bromo-4-méthyl-pentanoate de benzyle **C3**⁵ par exemple (**Figure C.2**).



Une autre stratégie de monoalkylation permettant d'obtenir des aminoacides *N*-alkylés, basée sur l'application de la méthode de Fukuyama pourrait également être une alternative envisageable^{6, 7} (**Figure C.3**).



L'aminoacide *O*-protégé **C4** est transformé en sulfonamide **C5** puis, il est *N*-alkylé par un alcool dans les conditions de Mitsunobu. Le groupement sulfonyle (**C6**) est ensuite clivé pour former l'aminoacide *N*-alkylé et *O*-protégé **C7**. Cette méthode permettrait de faire varier aisément les groupements R^3 et R^4 en profitant de la diversité des aminoacides *O*-protégés et des alcools disponibles commercialement.

Au cours de notre travail, nous avons également pu montrer la possibilité de diversifier le châssis hétérocyclique par des opérations post-cyclisation telles que la *N*-monoalkylation, la *N*,*N'*-dialkylation et la *N*-acylation du résidu urée ainsi que la thionation des carbonyles par le réactif de Lawesson. Concernant cette dernière transformation, nous avons montré qu'il est possible de substituer les oxygènes des deux carbonyles (amide et urée) du châssis ou de substituer sélectivement l'oxygène du résidu amide -sans générer la thiourée- en fonction des conditions réactionnelles (solvant, température). De tels composés 1,3,5-triazépane-2,6-dithione et 6-thioxo-1,3,5-triazépane-2-one sont très intéressants, d'une part dans la perspective d'études structurales comparatives avec celles des 1,3,5-triazépane-2,6-diones et notamment l'étude des propriétés d'autoassemblage, sachant qu'il a été montré que les thiourées sont de meilleurs donneurs de liaisons hydrogène⁸. D'autre part, ces châssis sont plus lipophiles or la lipophilie d'un composé lui permet de traverser les membranes cellulaires et d'augmenter ainsi sa biodisponibilité. Par conséquent, la thionation d'un composé 1,3,5-triazépane-2,6-dione serait une voie envisageable pour l'optimisation de son activité biologique.

Par ailleurs, la réactivité des thiocarbonyles pourrait être exploitée pour modifier le châssis, par exemple, par des réactions de *S*-alkylation puis par la synthèse de guanidines⁹⁻¹¹ (**Figure C.4**).



La *N*-acylation des hétérocycles s'effectue sélectivement sur l'azote N1 avec des taux de conversion élevés. Cette réaction conduit à l'addition d'un carbonyle accepteur de liaisons hydrogène supplémentaire et permettrait également l'introduction de pharmacophores ou de fonctions

réactives pour d'autres modifications postérieures. Les conditions de *N*-alkylation mises au point au cours de la thèse de Gersande Lena, permettent la monoalkylation sélective du N3 du résidu urée. Cette méthode a été appliquée à l'ensemble des nouveaux châssis diversifiés en R³ que nous avons développés durant ces travaux de thèse. Comme l'acylation, la monoalkylation permet l'introduction de fonctions réactives comme, par exemple, la fonction acide carboxylique. Cette fonction peut permettre une diversification additionnelle par synthèse d'amides. Un exemple de cette stratégie de diversification a été proposé : le couplage de 44 amines sur l'hétérocycle **IVE2** (chapitre IV, section IV.E, **figure IV.E.1**) a été réalisé en synthèse parallèle avec l'emploi d'un réactif de couplage et d'une base supportés, la PS-IIDQ et la PS-DIPAM. Nous avons obtenu 41 amides avec des taux de conversions élevés et des niveaux de puretés supérieurs à 80% pour 31 composés. Ces conditions pourront être appliquées à des châssis dérivés d'autres séquences peptidiques.

Au cours de ces travaux de thèse, nous avons également appliqué cette approche combinatoire à la mise au point de méthodes de synthèse parallèle du châssis hétérocyclique. D'abord, nous avons proposé une synthèse de châssis dérivés des séquences XaaSar dont les intermédiaires carbamates sont supportés par la résine PS-oxime (méthode A). 35 Séquences ont été testées et 27 ont conduit à la formation du cycle attendu avec des taux de pureté très élevés. L'efficacité de cette voie devrait être évaluée avec d'autres séquences où la sarcosine serait remplacée par un autre aminoacide *N*-alkylé tel que la *N*-méthyl-phénylalanine [CAS : 2566-30-5], la *N*-méthyl-valine [CAS : 2480-23-1] ou la *N*-méthyl-leucine [CAS : 3060-46-6].



Nous avons également proposé une synthèse alternative plus générale qui débute par la construction, sur la résine de Sieber, d'un dipeptide *N*-Boc protégé avec une extrémité carboxamide, puis l'obtention de l'intermédiaire isocyanate par *réarrangement d'Hofmann*. L'isocyanate dérivé de dipeptide est ensuite piégé par une résine portant un groupement hydroxyle nucléophile pour former le carbamate correspondant. Deux résines ont été testées avec succès : la résine commerciale PS-oxime et la résine de synthèse PS-SuOH (résine *N*-hydroxysuccinimide). Cette synthèse a été effectuée avec la séquence Phe-Sar et a conduit à la formation de l'hétérocycle correspondant avec un rendement de 67% et une pureté optimale sans purification. Elle devra être testée avec d'autres substrats pour évaluer sa versatilité, sachant que le réactif PIFA, utilisé pour générer l'isocyanate est

très réactif et certaines fonctions (oxime, carboxamide, phénol...) présentes dans la séquence pourraient réagir avec celui-ci. Cette séquence réactionnelle laisse entrevoir la possibilité d'appliquer la méthode de diversification en R³ en synthèse sur phase solide (**figure C4**). Une méthode similaire de synthèse sur phase solide d'aminoacides *N*-alkylés a été proposée par Zuckermann et al.¹².

Les études structurales effectuées ont révélé l'existence de 3 conformations stables du châssis 1,3,5triazépane-2,6-dione. Les analyses par diffraction des rayons X ont montré que différentes conformations peuvent coexister dans un même cristal. De plus, nous avons montré que l'acylation et la monoalkylation du résidu urée du châssis pouvaient influer sur la stabilité des différentes conformations. Cette propriété est très intéressante car elle pourrait permettre d'imposer une conformation à un hétérocycle. Ces études ont montré que ces composés pouvaient s'autoassembler en formant des rubans moléculaires. Ces rubans se sont structurés de manière bidimensionnelle ou en structures tubulaires. L'étude comparative de deux structures tubulaires a révélé l'influence de la nature du groupement R³ sur le diamètre des pores de la structure. En effet, le groupement méthyle en R³ du composé **IB6a** conduit à une structure dont les pores sont plus gros que ceux observés dans la structure formé par le composé **IIA17** avec un propyle en cette position (chapitre V, figure V.B.3) Il sera intéressant de synthétiser puis de cristalliser un hétérocycle analogue comportant en R³ un groupement de taille intermédiaire tel que l'éthyle, afin d'observer si les pores de la structure résultante ont également des dimensions intermédiaires.

Les évaluations biologiques effectuées au cours des travaux de thèse de Gersande Lena avaient conduit à l'identification d'inhibiteurs µM des phospholipases A2 sécrétées des groupes V et X. Cette enzyme hydrolyse l'ester sn-2 des glycérophospholipides pour libérer un lysophospholipide et l'acide arachidonique, précurseur de la biosynthèse des eicosanoïdes qui sont de puissants médiateurs de la réponse immunitaire. Des études récentes ont montré l'implication des deux groupes V et X dans le développement de l'asthme allergique ou de l'athérosclérose. L'un des objectifs de cette thèse était d'identifier des inhibiteurs de cette enzyme plus puissants et plus sélectifs. Pour ce faire, nous avons criblé l'ensemble des composés synthétisés et leurs intermédiaires stables. Ces criblages nous ont permis d'identifier des pharmacophores et notamment le groupement isopropyle en position R^2 ou R³. Les composés VIG1 et VIG4 ont révélé des activités inhibitrices comparables à leur analogue, l'inhibiteur VIF2 identifié par Gersande Lena (le plus puissant de notre chimiothèque). Cependant, même si cette activité n'est pas optimisée, ces composés sont disponibles pour des expériences de cocristallisation avec les phospholipases A2. De plus, les méthodes de synthèse sur phase solide permettront l'accès à des chimiothèques plus larges dont le criblage permettra l'identification d'autres pharmacophores. L'affinage de la structure cristallographique préliminaire obtenue par cocristallisation de la hGX-sPLA2 avec l'inhibiteur VIF2, devrait permettre une étude de relation structure-activité plus précise et conduire à l'optimisation de l'inhibiteur de sPLA2.

Bibliographie

1. Branden, C.; Tooze, J.; Lubochinsky, B., Introduction à la structure des protéines. *De Boeck Université, Bruxelles* **1996**, 18-19.

2. Brase, S.; Gil, C.; Knepper, K., The recent impact of solid-phase synthesis on medicinally relevant benzoannelated nitrogen heterocycles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2002**, 10, (8), 2415-2437.

3. Nefzi, A.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A., The current status of heterocyclic combinatorial libraries. *Chemical Reviews* **1997**, 97, (2), 449-472.

4. Thompson, L. A., Recent applications of polymer-supported reagents and scavengers in combinatorial, parallel, or multistep synthesis. *Current Opinion in Chemical Biology* **2000**, 4, (3), 324-37.

5. Stotter, L. P.; Hill, K. A., α -Halocarbonyl compounds, I. An efficient preparation of α -bromoesters and α -bromoacids *tetrahedron Letters* **1972**, 13, (40), 4067-4070.

6. Fukuyama, T.; Jow, C. K.; Cheung, M., 2-Nitrobenzenesulfonamides and 4-Nitrobenzenesulfonamides - Exceptionally Versatile Means for Preparation of Secondary-Amines and Protection of Amines. *Tetrahedron Letters* **1995**, 36, (36), 6373-6374.

7. Wels, B.; Kruijtzer, J. A. W.; Liskamp, R. M. J., Synthesis of cyclic (alpha(2)beta)-tripeptides as potential peptide turn mimetics. *Organic Letters* **2002**, *4*, (13), 2173-2176.

8. Ishikawa, T., Superbases for organic synthesis: guanidines, amidines and phosphazenes and related organocatalysts. **2009**, 277-280.

9. Ryoda, A.; Yajima, N.; Haga, T.; Kumamoto, T.; Nakanishi, W.; Kawahata, M.; Yamaguchi, K.; Ishikawa, T., Optical resolution of (+/-)-1,2-bis(2-methylphenyl)ethylene-1,2-diamine as a chiral framework for 2-iminoimidazolidine with 2-methylphenyl pendant and the guanidine-catalyzed asymmetric Michael reaction of tert-butyl diphenyliminoacetate and ethyl acrylate. *Journal of Organic Chemistry* **2008**, 73, (1), 133-141.

10. Hupp, C. D.; Tepe, J. J., Total synthesis of a marine alkaloid from the tunicate Dendrodoa grossularia. *Organic Letters* **2008**, 10, (17), 3737-3739.

11. Jones, R. C. F.; Iley, J. N.; Lory, P. M. J., Synthesis of some new 2-heterosubstituted 4,5dihydroimidazoles. *Arkivoc* **2002**, 152-163.

12. Zuckermann, R. N.; Kerr, J. M.; Kent, S. B. H.; Moos, W. H., Efficient Method for the Preparation of Peptoids [Oligo(N-Substituted Glycines)] by Submonomer Solid-Phase Synthesis. *Journal of the American Chemical Society* **1992**, 114, (26), 10646-10647.

SECTION EXPERIMENTALE

Le THF a été distillé sur Na/benzophénone. Le DCM a été distillé sur CaH₂. Les réactions effectuées en solution ont été suivies par chromatographies sur couche mince (CCM) sur gel de silice 60 F254 (Merck) avec détection par lumière UV (révélateur : 1% wt/wt ninhydrine dans l'éthanol suivi d'un chauffage). Les chromatographies flash ont été effectuées sur gel de silice (0,063-0,200 mm). Les analyses HPLC ont été effectuées sur colonne C₁₈ Nucleosil (5 μm, 3,9 x 150 nm) par utilisation d'un gradient linéaire de A (0,1% TFA dans H₂O) et de B (0,08% TFA dans MeCN) à un flux de 1,2 mL/min avec détection à 214nm. Les valeurs de pouvoir rotatoire ont été mesurées avec un polarimètre Perkin-Elmer. Les spectres IR ont été obtenus à partir d'un Perkin Elmer Spectrum One en 4 scans avec un accessoire ATR (Attenuated Total Reflection). Les spectres ¹H NMR and ¹³C NMR ont été obtenus à l'aide des Bruker Advance DPX-300, DPX-400 et DPX-500 (service commun de RMN de la faculté de chimie de Strasbourg). Les abréviations suivantes ont été utilisées pour exprimer la multiplicité des signaux : s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quadruplet, m=multiplet, dd=doublet dédoublé, td=triplet dédoublé, br=pic large, d br= doublet large. Les spectres de masse ont été obtenus à l'aide d'un ESI-TOF (Bruker micoTOF) (service commun de masse de la faculté de chimie de Strasbourg). Les résines commerciales PS-sieber (Polymer lab, 1% DVB, 75-150µm, 0.67 mmol.g⁻¹), PS-oxime (Polymer lab, 1% DVB, 75-150µm, 1.3 mmol.g⁻¹) ¹), PS-SH (Polymer lab, 1% DVB, 75-150µm, 1.87 mmol.g⁻¹), PS-isocyanante (Novabiochem, styrène-2%, DVB, 200-400 mesh, 1.9 mmol.g⁻¹), PS-IIDQ (Polymer lab, 1% DVB, 150-300µm, 2.01 mmol.g⁻¹), PS-IBX (Polymer lab, 1% DVB, 150-300µm, 1.09 mmol.g⁻¹), PS-DIPAM (Polymer lab, 1% DVB, 50-100µm, 2.0 mmol.g⁻¹) ont été utilisées pour certaines manipulations.

Synthèse des composés présentés au Chapitre II (Extension de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones par diversification en R³ et par la synthèse de deux isomères de chaîne en R² du composé IB6d)

Procédure Générale de synthèse de $N(\mathbb{R}^3)$ -glycinate de benzyle à travers l'exemple de l'isopropylamino-acétate de benzyle présenté en section II.A.2. (Elaboration d'une collection de $N(\mathbb{R}^3)$ glycinates de benzyle) :

Isopropylamino-acétate de benzyle (IIA5) :



Le bromoacetate de benzyle (76.9 mmol, 12 mL) dans le THF (40 mL) est additionné au goutte à goutte à une solution d'isopropylamine (169.2 mmol, 14 mL) dans le THF (40 mL) à 0°C (bain de glace). Après 3h30min d'agitation à temperature ambiante,

le milieu reactionnel est concentré sous vide pour éliminer le THF. Il est ensuite resuspendu dans l'ether. Par la suite, les sels de bromures d'isopropylamonium sont éliminés par filtration et lavés à l'éther, puis le filtrat est concentré sous vide. La chromatographie sur colonne (silice, éluant: ether) conduit au composé **IIA5** (4.21 g, 20.32 mmol, 65%) sous forme d'huile. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R} = 9,27$ min.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ =1.04 (d, J^3 = 6.2 Hz, 6H, C(CH₃)₂), 1.73 (br, 1H, NH), 2.79 (m, 1H, CCHC), 3.44 (s, 2H, NCH₂CO), 5.15 (s, 2H, CH₂Ph), 7.25 - 7.35 ppm (m, 5H, H-Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =22.07 (CH₃), 48.29 (Cq)), 48.71, 66.54 (CH₂), 126.36, 128.59 (CH-Ar), 135.63 (Cq-Ar), 172.59 ppm (CO).

Isobutylamino-acétate de benzyle (IIA6) :



composé **IIA6** (9.10 g, 41.12 mmol, 82%) sous forme d'huile. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 11,46 min. 1H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ =0.91 (d, J^3 =6.6Hz, 6H, (CH₃)₂), 1.65 – 1.75 (m, 2H, CH, NH) 2.41 (d, J^3 = 6.9Hz, 2H, CHCH₂N),

3.44 (s, 2H, NCH₂CO), 5.17 (s, 2H, ArCH₂O), 7.24 - 7.39 ppm (m, 5H, H-Ar); 13 C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =20.59 (CH₃), 28.54 (CH), 51.22, 57.65, 66.51 (CH₂), 126.97, 128.38, 128.55, 128.61 (CH-Ar), 135.68 (Cq-Ar). 172.56 ppm (CO).

Benzylamino-acétate de benzyle (IIA7) :



composé **IIA7** (10.00 g, 39.16 mmol, 78%) sous forme d'huile. C_{18} -RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : t_{R} = 12,50 min. ¹H NMP (200 MHz, CDCL) : S=2.47 (c. 214 ArCH N) -2.81 (c.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ =3.47 (s, 2H, ArCH₂N), 3.81 (s, 2H, NCH₂CO), 5.18 (s, 2H, ArCH₂O), 7.25 - 7.39 ppm (m, 10H, H-Ar) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =49.72, 52.91, 66.22 (CH₂), 126.84, 127.94, 128.03, 128.11, 128.26 (CH-Ar), 135.23, 139.04 (Cq-Ar), 171.96 ppm (CO).

Phenethylamino-acétate de benzyle (IIA8) :



composé **IIA8** (9.36 g, 34.75 mmol, 70%) sous forme d'huile.

C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R} = 13,15$ min.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ =2.80 – 2.94. (m, 4H, CCH₂N, ArCH₂C), 3.48 (s, 2H, NCH₂CO), 5.17 (s, 2H, ArCH₂O), 7.12 - 7.35 ppm (m, 10H, H-Ar) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =36.37, 50.63, 50.84, 66.47 (CH₂), 126.18, 128.30, 128.42, 128.54, 128.62 (CH-Ar), 135.54, 139.55 (Cq-Ar). 172.15 ppm (CO).

(3,4-Dimethoxy-benzylamino)-acétate de benzyle (IIA9) :



composé **IIA9** (14.64 g, 46.33 mmol, 71%) sous forme d'huile.

C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R} = 10,78$ min.

¹ \checkmark ¹ H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ =3.46 (s, 2H, NCH₂Ar), 3.75 (s, 2H, NCH₂CO), 3.86 (s, 6H, CH₃O), 5.17 (s, 2H, ArCH₂O), 6.78 - 6.88 (m, 3H, H-Ar), 7.27 - 7.38 ppm (m, 5H, H-Ar) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =50.31, 53.39 (CH₂), 56.10, 56.18 (CH₃), 66.88 (CH₂), 111.29, 111.71, 120.77, 128.68, 128.73, 128.93 (CH-Ar), 132.35, 135.91, 148.50, 149.33 (Cq-Ar), 172.69 ppm (CO).

(3-Methoxy-propylamino)-acétate de benzyle (IIA10) :



composé **IIA10** (8.68 g, 36.58 mmol, 56%) sous forme d'huile. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R} = 9,85$ min.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ =1.72 – 1.80 (m, 3H, CCH₂C, NH), 2.69 (t, 2H, NCH₂C), 3.31 (s, 6H, CH₃O), 3.41 – 3.45 (m, 2H, OCH₂C, NCH₂CO), 5.16 (s, 2H, OCH₂Ar), 7.34 – 7.37 ppm (m, 5H, H-Ar) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =30.12, 47.06, 51.14 (CH₂), 58.75 (CH₃), 66.63, 71.17 (CH₂), 128.46, 128.62, 128.71 (CH-Ar), 135.73 (Cq-Ar), 172.51 ppm (CO).

Allylamino-acetic acid benzyl ester (IIA11) :



composé **IIA11** (6.82 g, 46.42 mmol, 66%) sous forme d'huile. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 9,95 min. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ =1.72 (br, 1H, NH), 3.23 – 3.27

(m, 2H, CHCH₂N), 3.44 (s, 2H, NCH₂CO), 5.06 – 5.22 (m, 2H, CH₂CH), 5.16 (s, 2H, ArCH₂O), 5.77 - 5.91 (m, 1H, CH), 7.22 - 7.40 ppm (m, 5H, H-Ar) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =49.86, 51.69, 66.39, 116.48 (CH₂), 128.22, 128.47 (CH-Ar), 135.51 (Cq-Ar), 135.95 (CH), 172.21 ppm (CO).

Cyclohexylamino-acétate de benzyle (IIA12) :



composé **IIA12** (13,69 g, 55,35 mmol, 84%) sous forme d'huile. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R} = 11,38$ min. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ =1.00-1.88 (m, 10H, CH₂), 2.34-

2.47 (m, 1H, CHN), 3.44 (s, 2H, NCH₂CO), 5.16 (s, 2H, ArCH₂O), 7.31 - 7.38 ppm (m, 6H, H-Ar, NH) ; 13 C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =24.79, 25.98, 33.24, 48.20 (CH₂), 56.33 (CH), 66.50 (CH₂), 128.32, 128.55 (CH-Ar), 135.62 (Cq-Ar), 172.73 ppm (CO).

Procédure générale de synthèse des dipeptides acides à travers l'exemple de la séquence Boc-Phe-N(Bn)Gly-OH (IIA13d) présenté au section II.A.3 (Synthèse des 1,3,5triazépane-2,6-diones diversifiées en R^3) et II.B (Enrichissement de la chimiothèque d'1,3,5triazépane-2,6-diones avec des isomères de chaîne en R^2):

Boc-Phe-*N*(**Bn**)**Gly-OH** (**IIA13d**) :



La HN(Bn)Gly-OBn (5,00 g, 19,60 mmol, 1,1 éq), le BOP (7,87 g, 17,80 mmol, 1 éq) et la DIEA (4,70 mL, 26,70 mmol, 1,5 éq) sont ajouté au Boc-Phe-OH (4,72 g, 17,80 mmol, 1,0 éq) dissout dans la DMF (75 mL). Le mélange est agité à température ambiante pendant 4h. Puis, une solution saturée de bicarbonate de sodium est ajoutée et le milieu réactionnel est extrait 2 fois avec de l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée successivement avec une

solution saturée de NaCl, une solution de KHSO₄ (1N) et une solution saturée de NaCl. Après séchage de la phase organique sur Na₂SO₄, la phase organique est concentrée sous vide puis l'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne (silice, éluant : cHex/AE, 90 : 10). Le Boc-Phe-N(Bn)Gly-OBn (8,71 g, 17,33 mmol) purifié est ensuite dissout dans EtOH (110 mL), par la suite, le Pd/C 10% wt (1,11 g) est ajouté et le mélange est placé sous atmosphère d'hydrogène pour être agité à température ambiante pendant 3h. Enfin, la solution est filtrée (filtre millipore) et le filtrat est concentré pour obtenir le solide (**IIA13d**) (7,13 g, 17,30 mmol, 97%)

C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_R = 15,38$ min.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ =1.25, 1.31 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 2.76 - 2.92 (m, 2H, ArCH₂C*H*), 3.59 – 4.89 (m, 7H, ArCH₂N, NCH₂CO, NCHCO), 7.03 - 7.43 ppm (m, 10H, H-Ar) 12.88 (Br, 1H, OH) ; ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) : δ =27.99, 27.46 (CH₃, Cis/Trans), 36.57, 37.18, 47.47, 48.67, 49.55, 51.17 (CH₂, Cis/Trans), 51.75, 51.91 (CH, Cis/Trans), 77.98, 78.24 (Cq, Cis/Trans), 126.12, 126.90, 126.97, 127.27, 127.89, 127.95, 128,17, 128.47, 129.20 (CH-Ar), 136.98, 137.10, 137.70, 138.15 (Cq-Ar, Cis/Trans), 155.04, 155.53, 170.06, 170.93, 172.29, 172.72 ppm (CO, Cis/Trans).

Boc-Phe-N(Pr)Gly-OH (IIA13a) :



Composé **IIA13a** (7,38 g, 20,37 mmol, 92 %) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 14,36 min. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) : δ =0.88 (t, J^3 =7.5 Hz, 3H, CH₃),

1.28, 1.22 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 1.47 - 1.66 (m, 2H, $CH_2CH_2CH_3$), 2.81 - 2.96 (m, 2H, ArCH₂CH), 3.26 - 3.47 (m, 2H, m, 2H, NCH, CO, NCHCO), 7.07 - 7.49 (m, 10H, H, Ar), 11.43 ppm

NCH₂CH₂), 3.98 - 4.94 (m, 3H, NCH₂CO, NCHCO), 7.07 - 7.49 (m, 10H, H-Ar), 11.43 ppm (Br, 1H, OH) ; ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) : δ =13.14 (CH₃), 24.03 (CH₂) 28.26, 28,43 (CH₃, Cis/Trans), 37.25, 39.79, 45.24, 48.32 (CH₂, Cis/Trans), 51.75, 51.91 (CH, Cis/Trans), 53.50, 54.19 (CH₂, Cis/Trans), 75.90, 77.35 (Cq, Cis/Trans), 127.01, 127.46, 128.15, 128.77, 129.20 (CH-Ar), 137.23, 137.45 (Cq-Ar, Cis/Trans), 151.12, 153.21, 169.65, 170.00, 171.99, 172.36 ppm (CO, Cis/Trans).

Boc-Phe-*N*(*i***Pr**)**Gly-OH** (**IIA13b**) :



Composé **IIA13b** (7,97 g, 21,89 mmol, %quant.) sous forme solide.

C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_R = 14,25$ min.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) : δ =0.95-1.34 (m, 6H, CH₃), 1.27, 1.29 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 2.69-2.93 (m, 2H, ArCH₂CH),

3.72, 3.84, 3.91, 4.40 (d, J^2 =17.1 Hz et J^2 =19.2 Hz, 2H, NCH₂CO, Cis/Trans), 4.06 – 4.29 (m, 1H, NCH(CH₃)₂), 4.47 - 4.71 (m, 1H, NCHCO), 7.02 - 7.35 (m, 6H, H-Ar, NH), 12.52 ppm (Br, 1H, OH) ; ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) : δ =18.93, 19.37, 19.96, 20.67 (CH₃, Cis/Trans), 27.97, 28,04 (CH₃, Cis/Trans), 36.97, 37.65, 42.15, 43.35, (CH₂, Cis/Trans), 44.48, 47.31, 51.48, 52.47 (CH, Cis/Trans), 77.90, 78.08 (Cq, Cis/Trans), 126.06, 126.14, 127.90, 127.95, 128.02, 128.99, 129.17, 129.23 (CH-Ar, Cis/Trans), 137.71, 138.31 (Cq-Ar, Cis/Trans), 154.91, 155.37, 169.65, 170.69, 170.83, 172.05, 172.13 ppm (CO, Cis/Trans).

Boc-Val-N(iPr)Gly-OH (IIA13i) :



Composé **IIA13i** (3,74 g, 11,82 mmol, 70%) sous forme solide.

C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_R = 12,82$ min.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ =0.91, 0.97 (d, *J*³=6.6 Hz, 6H, CH₃, Cis/Trans), 1.08 - 1.24 (m, 6H, CH₃), 1.40, 1.42 (s, 9H, CH₃),

Cis/Trans), 1.81 - 2.10 (m, 1H, (CH₃)₂CHCH), 3.75, 4.12 (d, J^2 =17.1 Hz, 2H, NCH₂CO) 4.26 - 4.43 (m, 1H, (CH₃)₂CHN), 4.47 - 4.85 (m, 1H, NCHCO), 5.41, 5.55 (d, J^3 =9.3 Hz, 1H, NH, Cis/Trans), 7.05 ppm (Br, 1H, OH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =17.29, 19.49, 20.54, 21.30, 28.29 (CH₃), 31.61 (CH), 42.57, (CH₂), 48.62, 55.05 (CH), 77.59 (Cq), 155.84, 172.75, 172.98 ppm (CO).

Boc-Phe-*N*(*i***Bu**)**Gly-OH** (**IIA13c**) :



Composé **IIA13c** (6,07 g, 16,06 mmol, 77%) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 14,36 min. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ =0.80, 0.88 (m, 6H, CH₃), 1.34, 1.36 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 1.67 - 1.91 (m, 1H, (CH₃)₂CHCH₂),

0 2.78 – 3.37 (m, 4H, PhCH₂C*H*, NCH₂*i*Pr), 3.82 – 4.22 (m, 2H, NCH₂CO), 4.56 – 4.95 (m, 1H, NCHCO), 5.51, 5.64 (d, J^3 =8.7 Hz, J^3 =9.0 Hz, 1H, NH, Cis/Trans), 7.13 – 7.31 (m, 5H, H-Ar), 8.32 ppm (Br, 1H, OH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ=19.92, 20.06, 27.77, 28.22 (CH₃, Cis/Trans), 39.50, 48.80 (CH₂), 42.57, 51.57 (CH), 56.34 (CH), 79.72, 80.26 (Cq), 126.77, 128.38, 129.53 (CH-Ar), 136.31 (Cq), 155.02, 155.65, 172.01, 172.24, 173.04, 173.64 ppm (CO, Cis/Trans).

Boc-Phe-N(3,4-(MeO)₂Bn)Gly-OH (IIA13f) :



Composé **IIA13f** (5,34 g, 11,30 mmol, 98%) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 13,94 min. ¹H NMR (300 MHz, CD₃CN) : δ =1.30, 1.32 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 2.80 – 3.19 (m, 2H, PhCH₂CH), 3.75, 3.77, 3.78, 3.78 (s, 6H, CH₃O, Cis/Trans), 3.89 – 4.29 (m, 2H, NCH₂CO), 4.37 – 4.91 (m, 3H, NCH₂Ar, NCHCO), 5.58 - 5.73 (m, 1H, NH), 6.66 – 7.05 (m, 3H, H-Ar), 7.08 – 7.31 (m, 5H, H-Ar), 7.93 ppm

(s, 1H, OH); 13 C NMR (75 MHz, CD₃CN): δ =28.10 (CH₃), 38.64, 47.85, 52.15 (CH₂), 53.49, (CH), 56.00 (CH₃), 79.60 (Cq), 112.18, 120.34, 127.19, 128.87, 130.10 (CH-Ar), 137.92, 149.41, 149.79 (Cq), 150.13, 172.37, 173.73 ppm (CO, Cis/Trans).

Boc-Phe-N(3,4-(MeO)₂Bn)Gly-OH (IIA13j) :



δ=17.75, 19.59, 19.78, 28.45 (CH₃, Cis/Trans), 32.00 (CH), 47.50, 52.45 (CH₂), 56.25 (CH₃), 79.72 (Cq), 112.10, 112.40, 120.92, (CH-Ar), 129.75 (Cq), 150.36, 170.63, 173.82 ppm (CO).

Boc-Phe-N(3-(MeO)Pr)Gly-OH (IIA13g) :



Composé **IIA13g** (5,15 g, 13,06 mmol, 56%) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 13,24 min ¹H NMR (300 MHz, CD₃CN) : δ =1.39 (s, 9H, CH₃), 1.65 – 1.97 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂), 2.81 – 3.12 (m, 2H, PhCH₂CH), 3.26 (s, 3H, OCH₃), 3.17 – 3.57 (m, 4H, OCH₂, NCH₂), 3.97 – 4.28 (m, 2H, NCH₂CO), 4.54 – 4.65, 4,80 – 4.92 (m, 1H, NCHCO, Cis/Trans), 5.58 - 5.73 (d, J^3 =9.0 Hz, 1H, NH), 7.12 – 7.31 ppm (m, 5H, H-Ar) ; ¹³C NMR (75 MHz, CD₃CN) : δ =28.26 (CH₃), 29.58, 39.71, 45.90, 48.20 (CH₂), 51.37 (CH₃), 58.60 (CH), 53.49, (CH), 68.78 (CH₂), 79.53 (Cq), 128.30, 128.58, 128.63, 129.54 (CH-Ar), 136.43 (Cq), 154.89, 170.37, 172.52 ppm (CO).

Boc-Phe-*N*(*c***Hex**)**Gly-OH** (**IIA13h**) :



Composé **IIA13h** (6,10 g, 15,08 mmol, 98%) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 15,26 min. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) : δ =0.93 - 1.79 (m, 10H, CH₂(*c*Hex)), 1.27, 1.29 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 2.70 – 2.93 (m, 2H, PhCH₂CH), 3.60 – 4.66 (m, 4H, NCH₂CO, NCH*c*Hex, NCHCO),

7.07 – 7.32 (m, 6H, H-Ar, NH), 12.58 ppm (Br, 1H, OH) ; ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) : δ =24.56, 24.79, 25.22, 25.34 (CH₂, Cis/Trans), 27.97, 28.05 (CH₃, Cis/Trans), 29.14, 29.22, 30.18, 30.66, 37.00, 37.62, 43.13, 44.25 (CH₂, Cis/Trans), 51.68, 55.48 (CH, Cis/Trans), 77.86, 78.06 (Cq, Cis/Trans), 126.12, 127.88, 127.99, 129.20 (CH-Ar), 137.80, 138.35 (Cq, Cis/Trans), 154.90, 155.34, 170.72, 170.87, 172.07, 172.13 ppm (CO, Cis/Trans).

Boc-Val-*N*(*c***Hex**)**Gly-OH** (**IIA13**k) :



Composé **IIA13k** (4,17 g, 11,70 mmol, 65%) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 14,67 min. ¹H NMR (300 MHz, CD₃CN) : δ =0.88, 0.95 (d, J^3 =6.6 Hz, 6H, CH₃, Cis/Trans), 1.40 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 1.00 – 1.85 (m, 10H, CH₂(*c*Hex)), 1.86 – 2.07 (m, 1H, (CH₃)₂CHCH), 3.78, 3.99

(d, J^2 =17.1 Hz, 2H, NCH₂CO), 4.05 – 4.31 (m, 1H, NCH*c*Hex), 4.37 – 4.51 (m, 1H, NCHCO), 5.58 ppm (d, J^3 =9.0 Hz, 1H, NH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CD₃CN) : δ =17.73, 19.68 (CH₃), 25.77, 26.17, 26.26, 26.44, 26.49 (CH₂), 28.47 (CH₃), 31.58 (CH₂), 31.95 (CH), 32.14 (CH₂), 44 ;16 (CH₂), 56.11, 57.34 (CH), 79.59 (Cq), 156.59, 171.68, 173.08 ppm (CO).

Boc-Phe-*N*(CH₂CH₂Ph)Gly-OH (IIA13e) :



Composé **IIA13e** (5,18 g, 12,15 mmol, 93%) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{R} = 15.43$ min.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ =1.30, 1.32 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 2.87 (t, J^3 =7.2 Hz, 2H, PhCH₂CH₂), 2.96-3.12 (m, 2H, ArCH₂CH), 3.59 – 4.89 (m, 5H, CH₂CH₂N, NCH₂CO, NCHCO), 7.01 - 7.36 (m, 10H, H-Ar) 10.16 ppm (Br, 1H, OH) ; ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) : δ =28.15, 28.43 (CH₃, Cis/Trans), 35.13,

35.42, 36.23, 36.98, 47.37, 48.00, 49.87, 51.34 (CH₂, Cis/Trans), 53.54, 53.99 (CH, Cis/Trans), 78.08, 78.74 (Cq, Cis/Trans), 126.09, 127.03, 127.56, 128.00, 128,48, 128.98, 129.20 (CH-Ar), 137.07, 137.15, 137.74, 138.87 (Cq-Ar, Cis/Trans), 156.12, 156.59, 171.06, 171.93, 172.34, 172.92 ppm (CO, Cis/Trans).

Boc-Tle-Sar-OH (IIB28a) :



Composé **IIB28a** (3,81 g, 12,60 mmol, 97%) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 12,50 min. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) : δ =0.92, 0.97(s, 9H, (CH₃)₃CCH, Cis/Trans), 1.39, 1.40 (s, 9H, (CH₃)₃CO, Cis/Trans), 2.87, 3.15 (s,

3H, CH₃N, Cis/Trans), 3.87, 4.10, 4.20, 4.40 (d, J^{3} =17.1 Hz, J^{3} =18.6 Hz, NCH₂CO, Cis/Trans), 4.52, 4.31 (d, J^{3} =9.6 Hz, 1H, NCHCO, Cis/Trans), 5.51 ppm (d, J^{3} =8.4 Hz, 1H, NH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CD₃CN) : δ =26.31, 28.25 (CH₃), 35.86 (Cq), 37.82 (CH₃), 49.91 (CH₂), 56.46 (CH), 79.70 (Cq), 156.40, 170.68, 173.11 ppm (CO).

Boc-Nle-Sar-OH (IIB28b) :



Composé **IIB28b** (4,97 g, 16,45 mmol, 95%) sous forme solide. C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 12,46 min. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) : δ =0.79 – 0.95 (m, 3H, CH₃CH₂), 1.41, 1.43 (s, 9H, CH₃, Cis/Trans), 1.16 – 1.79 (m, 6H,

O CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂), 2.98, 3.13 (s, 3H, NCH₃, Cis/Trans), 3.86, 4.05, 4.44, 4.47 (d, J^2 =17.4 Hz et J^2 =18.6 Hz, 2H, NCH₂CO, Cis/Trans), 4.58 - 4.72 (m, 1H, NCHCO), 5.24 - 5.35 ppm (m, 1H, NH) ; ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆) : δ=13.92 (CH₃) 22.44, 27.24 (CH₂), 28.32 (CH₃), 32.82 (CH₂), 36.39 (CH₃), 49.68 (CH₂), 50.10 (CH), 79.51 (Cq), 155.51, 168.75, 173.26 ppm (CO).

Procédure Générale de synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones à partir des dipeptides acides à travers l'exemple du *Cyclo*(Phe-gN(Bn)Gly-CO) (IIA22) : présenté au section II.A.3 (Synthèse des 1,3,5-triazépane-2,6-diones diversifiées en \mathbb{R}^3) et II.B (Enrichissement de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones avec des isomères de chaîne en \mathbb{R}^2) :

TFA·H-Phe-*gN*(Bn)GlyCOOSu :

Le Boc-Phe-N(Bn)GlyOH (6,00 g, 14,56 mmol) est dissout dans le THF (60 mL) et placé sous atmosphère d'argon, puis la N-méthyl-morpholine (1,92 mL, 17,47 mmol, 1,2 éq) y est ajoutée. Le milieu réactionnel est refroidi à -20°C à l'aide d'un bain de carboglace dans l'éthanol. Ensuite, le chloroformiate d'éthyle (1,67 mL, 17,47 mmol, 1,2 ég) y est ajouté. Après 30 minutes d'agitation à -20°C, le bain est retiré et une solution saturée de NaN₃ (1.42 g, 21,83 mmol, 1,5 éq) dans l'eau est ajoutée. Après 15 min d'agitation, une solution de NaCl saturée est ajoutée et extraite par de l'acétate d'éthyle (3 x 240 mL). La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ avant d'être concentrée. L'huile obtenue est diluée dans du toluène anhydre, placée sous atmosphère d'argon puis chauffée à 70°C. Le réarrangement de curtius est suivi visuellement par l'évolution du bullage de N₂. Quand le bullage cesse, du Nhydroxysuccinimide (1,68 g, 14,56 mmol, 1,0 éq) et de la pyridine (823 µL, 10,20 mmol, 0,7 éq) sont ajoutés. La réaction est agitée à 70°C pendant 1h30min puis ramené à température ambiante. Le solvant est ensuite évaporé, et le carbamate de succinimidyle est dilué dans du TFA (20 mL). Le milieu réactionnel est agité 30 min à température ambiante, puis le TFA est évaporé sous vide et du diéthyl éther froid est ajouté lentement sous agitation pour précipiter le sel de TFA. Le milieu est agité par sonication avant d'être filtré. Le précipité est lavé 3 fois au diéthyl éther avant d'être séché une nuit sous vide. Le sel de TFA (6,11 g, 11,35 mmol, 78%) est obtenu sous la forme d'un solide légèrement jaune.

Cyclo(Phe-gN(Bn)Gly-CO) (IIA22):



Le sel de TFA (6,11 g, 11,35 mmol) est dissout dans de l'acétonitrile (100 mL). Puis, la DIEA (4,83mL, 228,39 mmol, 5 éq) est ajoutée et la solution est agitée pendant 4h à température ambiante. L'acétonitrile est évaporé puis le composé attendu est repris dans le DCM. Il est ensuite précipité par ajout de DIPE. Après filtration, Cyclo(Phe-gN(Bn)-CO) est séché sous vide, le filtrat est concentré et le procédé de précipitation est répété fois. L'hétérocycle 9,54mmol, plusieurs (2,95g, 84%) correspondant IIA22 est obtenu sous forme d'un solide légèrement jaune.

C₁₈H₁₉N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): $t_R = 12.46 \text{ min}$; $[\alpha]_D^{20} = -51.2 \text{ (c}=0.68 \text{ dans MeOH})$; IR (solide) : v_{max} $(cm^{-1}) = 3248$ (NH), 1647, 1606 (C=O) 1239, 1158 (C-N); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298) K): $\delta = 2.82$ (dd, $J^2 = 14.4$, $J^3 = 8.7$ Hz, 1H, CHCH₂Ph), 3.41 (dd, $J^2 = 14.4$, $J^3 = 4.8$ Hz, 1H; CHCH₂Ph), 4.02 (dd, J^2 =15.6, J^3 =6.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.50 (d, J^2 =15 Hz, 1H, NCH₂Ph), 4.63 - 4.76 (m, 1H, NCHCO), 4.89 (d, $J^2 = 14.7$ Hz, 1H, NCH₂Ph), 4.95 (s, 1H, NH), 5.04 (dd, J^{2} =15.3, J^{3} =4.2 Hz, 1H, NCH₂N), 6.60 (s, 1H, NH), 7.19 – 7.41 ppm (m, 5H, HAr); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ=37.3, 49.4, 53.5 (CH₂), 54.5 (CH), 127.2, 127.9, 128.2, 128.8, 129.0, 129.2 (CH-Ar), 136.2, 136.3 (Cq), 157.8, 170.1 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{18}H_{19}N_3NaO_2$: 332.1369, expérimentale : 332.1373.

Cyclo(Phe-gSar-CO) (IB6a) :



Composé **IB6a** (71%) sous forme d'un solide blanc.

C₁₂H₁₅N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0-100% B, 1.2 mL/min, 20 min): $t_{\rm R} = 10.38$ min ; $[\alpha]^{20}_{\rm D} = -41.3$ (c=0.01 dans MeOH); IR(solid): v_{max} (cm⁻¹) = 3182 (NH), 3049 (Csp²), 2928 (Csp³), 1651 (CO); ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 298 K): δ=2.81 $(dd, J^{3}=8.9 Hz, J^{2}=14.4 Hz, CH_{2}Ph, 1H), 3.08 (s, NCH_{3}, 3H), 3.35 (dd, J^{3}=8.9 Hz, J^{2}=14.4 Hz, CH_{2}Ph, 1H), 3.08 (s, NCH_{3}, 3H), 3.35 (dd, J^{3}=8.9 Hz, J^{2}=14.4 Hz, CH_{2}Ph, 1H), 3.08 (s, NCH_{3}, 3H), 3.35 (dd, J^{3}=8.9 Hz, J^{2}=14.4 Hz, CH_{2}Ph, 1H), 3.08 (s, NCH_{3}, 3H), 3.35 (dd, J^{3}=8.9 Hz, J^{2}=14.4 Hz, CH_{2}Ph, 1H), 3.08 (s, NCH_{3}, 3H), 3.35 (dd, J^{3}=14.4 Hz, CH_{3}Ph, 1H), 3.35 (dd, J^{3}=14.4 Hz, 1Hz$

 J^{3} =5.2 Hz, J^{2} =14.4 Hz, CH₂Ph, 1H), 4.00 (dd, J^{3} =7.0 Hz, J^{2} =15.6 Hz, NCH₂N, 1H), 4.62-4.65 (m, NCHCO, 1H), 4.87 (br., NH), 5.20 (dd, J³=5.1 Hz, J²=15.5 Hz, NCH₂N, 1H), 6.97 (br., NH), 7.24-7.27 (m, H-Ar, 3H), 7.31-7.34 (m, H-Ar, 2H); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K): δ=33.83 (CH₃), 37.33 (CH₂), 54.51 (CH), 56.03 (CH₂), 127.23, 128.95, 129.26 (CH-Ar), 136.21 (Cq-Ar), 157.81, 169.94 ppm (CO); HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₁₂H₁₆N₃O₂ : 234.1242, expérimentale : 234.1281.

Cyclo(Phe-gN(iPr)Gly-CO) (IIA21):



Composé IIA21 (302mg, 1,16mmol, 40%) sous forme d'un solide blanc. C₁₄H₁₉N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R=10.30 min ; $[\alpha]_{D}^{20}$ =-33.9 (c=0.75 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3228 (NH), 1652 (C=O), 1208, 1158 (C-N); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : $\delta = 1.12$ (d, $J^3 = 6.6$ Hz, 3H, CH(CH₃)₂), 1.19 (d, $J^3 = 6.6$ Hz, 3H, $CH(CH_3)_2$), 2.80 (dd, $J^2 = 14.4$ Hz, $J^3 = 9.0$ Hz, 1H, CH_2Ph), 3.36 (dd, J

²=14.7 Hz, J^{3} =4.8 Hz, 1H, CH₂Ph), 4.16 (dd, J^{2} =15.9 Hz, J^{3} =7.2 Hz, 1H, NCH₂N), 4.56 – 4.69 (m, 1H, CH(CH₃)) 4.71 – 4.88 (m, 2H, NCHCO, NH), 4.98 (dd, J^2 =15.9 Hz, J^3 =4.8 Hz, 1H, NCH₂N), 6.86 (s, 1H; NH), 7.16 – 7.39 ppm (m, 5H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ=20.3, 20.8 (CH₃), 37.2 (CH₂), 44.7 (CH), 48.5 (CH₂), 54.7 (CH), 127.2, 128.9, 129.2 (CH-Ar), 130.2 (Cq), 136.4, 169.4 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₄H₁₉LiN₃O₂: 268.1632, expérimentale : 268.1605.

Cyclo(Phe-gN(Phenethyl)Gly-CO) (IIA18) :



Composé **IIA18** (2,45g, 7,58mmol, 76%) sous forme d'un solide blanc. $C_{19}H_{21}N_{3}O_{2}$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_{R} =12.96 min ; $[\alpha]^{20}_{D}$ =-76.9 (c=0.61 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3217 (NH), 1652 (C=O), 1237, 1148 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =2.75 – 2.90 (m, 3H, CH₂CH₂N, CH₂Ph), 3.35 (dd, J^{2} =14.7 Hz, J^{3} =5.1 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.62 – 3.88 (m, 3H, CH₂CH₂Ph, NCH₂N), 4.56 – 4.59 (m, 1H, NCHCO), 4.92 – 4.99 (m, 2H, NCH₂N, NH), 6.72 (s, 1H, NH), 7.12 – 7.37 ppm (m, 10H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =34.8, 37.2, 49.4 (CH₂), 54.6 (CH), 55.3 (CH₂), 126.7, 127.2, 128.7,

128.8, 128.9, 129.3 (CH-Ar), 136.3, 138.5 (Cq), 158.0, 169.6 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₉H₂₁LiN₃O₂: 330.1789, expérimentale : 330.1770.

Cyclo(Phe-gN(Pr)Gly-CO) (IIA17) :



Composé **IIA17** (2,036g, 7,79mmol, 68%) sous forme d'un solide blanc. $C_{14}H_{19}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R =10.77 min ; $[\alpha]^{20}{}_D$ =-54.5 (c=0.64 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3194 (NH), 1658 (C=O), 1260, 1165 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =0.90 (t, J³=7.5 Hz, 3H, CH₂CH₃), 1.51 – 1.62 (m, 2H, CH₂CH₃), 2.80 (dd, J²=14.7 Hz, J³=9.0 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.31 – 3.51 (m, 3H, NCH₂CH₂, CHPh), 4.04 (dd, J²=15.6 Hz, J³=7.2 Hz, 1H, NCH₂N), 4.60

-4.67 (m, 1H, NCHCO), 4.90 (s, 1H, NH), 5.14 (dd, J^2 =15.6 Hz, J^3 =7.2 Hz, 1H, NCH₂N) 7.21 − 7.35 ppm (m, 5H, HAr); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ=11.2 (CH₃) 25.0, 37.2, 48.3 (CH₂), 54.3 (CH), 60.0 (CH₂), 127.2, 128.9, 129.2 (CH-Ar), 136.3 (Cq), 165.0, 175.6 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₄H₁₉N₃NaO₂: 284.137, expérimentale : 284.133.

Cyclo(Phe-gN(3-(MeO)Pr)Gly-CO) (IIA15):



Composé **IIA15** (1,83 g, 6,28 mmol, 72%) sous forme solide légèrement jaune.

C₁₅H₂₁N₃O₃, C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 10,24 min ; IR (solide) : $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3280 (NH), 1651 (C=O), 1202, 1156 (C-N), 1113 (C-O-C) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =1.79 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 2.77 (dd, J^2 = 14.4 Hz, J^3 =8.1 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.22 - 3.40 (m, 3H, CH₂Ph, NCH₂), 3.26 (s, 3H,

CH₃N), 3.52 (t, J^3 =6.9 Hz, 2H, OCH₃), 4.09 (dd, J^2 = 15.3 Hz, J^3 =7.7 Hz, 1H, NCH₂N), 4.56 - 4.66 (m, 1H, NCHCO), 5.08 (dd, J^3 =4.8 Hz, J^2 =15.6 Hz, NCH₂N), 5.28 (s, 1H, NH), 7.02 (Br, 1H, NH), 7.12 - 7.34 ppm (m, 5H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ = 28.4, 37.0, 44.6 (CH₂), 54.5 (CH₃), 54.8 (CH₂), 58.5 (CH), 69.9 (CH₂), 127.0, 128.8, 129.3 (CH-Ar), 136.4 (Cq) 158.3, 169.7 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₅H₂₁LiN₃O₃ : 298.1738, expérimentale : 298.1703.

Cyclo(Phe-gN(iBu)Gly-CO) (IIA16) :



Composé **IIA16** (2,45 g, 8,90 mmol, 82%) sous forme solide blanc. $C_{15}H_{21}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_R = 11,91$ min ; $[\alpha]^{20}_D$ =-71.0 (c=0.55 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3269 (NH), 1681, 1660 (C=O) 1203, 1158 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =0.88 (d, J^3 =6.6 Hz, 3H, (CH₃)₂CH), 0.89 (d, J^3 =6.6 Hz, 3H, (CH₃)₂CH), 1.78 – 1.96 (m, 1H, (CH₃)₂CH), 2.79 (dd, J^2 = 14.4 Hz, J^3 =8.7 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.28 (s, 3H, CH₂N), 3.34 (dd, J^2 =14.7

Hz, J^3 =5.1 Hz, 1H, CH₂Ph), 4.01 (dd, J^2 = 15.3 Hz, J^3 =6.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.61 - 4.66 (m, 1H, NCHCO), 5.07 (s, 1H, NH), 5.14 (dd, J^3 =4.8 Hz, J^2 =15.6 Hz, NCH₂N), 7.14 - 7.35 (m, 5H, HAr), 7.47 ppm (Br, 1H, NH); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =19.9, 20,1 (CH₃), 27.8 (CH), 37.1, 54.5 (CH₂), 54.4 (CH), 54.9 (CH₂), 127.1, 128.8, 129.2 (CH-Ar), 136.4 (Cq) 158.3, 170.1 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₅H₂₁N₃NaO₂ : 298.1526, expérimentale : 298.1525.

Cyclo(Phe-gN(3,4-(MeO)₂Bn)Gly-CO) (IIA19) :



Composé **IIA19** (3,18 g, 8,61 mmol, 88%) sous forme solide blanc.

C₂₀H₂₃N₃O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 11,96 min ; [α]²⁰_D =-23.7 (c=0.61 dans MeOH) ; IR (solide) : $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3238 (NH), 1660, 1651 (C=O), 1233, 1151 (C-N), 1138 (C-O-C) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =2.77 – 2.92 (m, 1H, CH₂Ph), 3.34 – 3.48 (m, 1H, CH₂Ph),

3.80, 3.83, 3.85, 3.86 (s, 6H, CH₃O, conformères), 4.02 (dd, $J^2 = 15.6$ Hz, $J^3 = 7.2$ Hz, 1H, NCH₂N), 4.43 (d, 1H, $J^2 = 14.7$ Hz, CH₂N), 4.64 - 4.73 (m, 1H, NCHCO), 4.79 (d, $J^2 = 14.7$ Hz, 1H, CH₂N), 5.02 (dd, $J^3 = 4.8$ Hz, $J^2 = 15.3$ Hz, 1H, NCH₂N), 5.28 (s, 1H, NH), 6.64 - 6.73 (m, 1H, NH), 6.73 - 6.83 (m, 3H, HAr(MeO)₂), 7.07 - 7.37 ppm (m, 5H, HAr); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : $\delta = 37.1$, 40.5, 48.1, 49.2, 49.4 (CH₂, conformères), 54.5 (CH), 55.8, 55.9 (CH₃), 56.4 (CH₂), 111.0, 111.2, 111.9, 120.6, 121.3, 127.1, 127.3, 128.5, 128.7, 128.8, 129.2, 130.3 (CH-Ar), 136.4, 148.7, 149.3 (Cq) 157.8, 170.0 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₂₀H₂₃LiN₃O₄: 376.1844, expérimentale : 376.1821.

$Cyclo(Val-gN(3,4-(MeO)_2Bn)Gly-CO)$ (IIA23):



Composé **IIA23** (1,76 g, 5,48 mmol, 64%) sous forme solide blanc.

C₁₆H₂₃N₃O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 10,04 min ; [α]²⁰_D =-10.1 (c=0.61 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3228 (NH), 1659 (C=O), 1232, 1152 (C-N), 1138 (C-O-C) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=1.01 – 1.15 (m, 6H, (CH₃)₂CH), 2.12 – 2.32 (m, 1H, (CH₃)₂CH), 3.84 (s, 3H, CH₃O)

3.85 (s, 3H, CH₃O), 3.99 (dd, J^3 =7.5 Hz, J^3 =4.5 Hz, 1H, NCHCO), 4.23 (dd, J^3 =6.6 Hz, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 4.55 (d, J^2 =14.7 Hz, 1H, CH₂N), 4.67 (d, J^2 =14.7 Hz, 1H, CH₂N), 4.84 (dd, J^3 =5.4 Hz, J^2 =15.6 Hz, NCH₂N), 5.09 (s, 1H, NH), 6.33 (Br, 1H, NH), 6.79 ppm (s, 3H, HAr(MeO)₂) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =18.3, 20.0 (CH₃), 30.0 (CH), 49.1, 53.4 (CH₂), 55.8, 55.9 (CH₃), 60.3 (CH), 111.0, 111.2, 120.5, (CH-Ar), 129.0, 148.7, 149.3

(Cq) 158.2, 170.1 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₆H₂₃LiN₃O₄ : 328.184, expérimentale : 328.181.

Cyclo(Phe-gN(cHex)Gly-CO) (IIA20):



Composé **IIA20** (2,43 g, 8,06 mmol, 68%) sous forme solide blanc. $C_{17}H_{23}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_R = 12,69$ min ; $[\alpha]^{20}_D =$ -49.3 (c=0.75 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3215 (NH), 1651 (C=O), 1161, 1142 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =0.99 – 1.89 (m, 10H, CH₂(*c*Hex)), 2.81 (dd, J^2 =14.4 Hz, J^3 =8.7 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.36 (dd, J^2 =14.4 Hz, J^3 =5.1 Hz, 1H, CH₂Ph), 4.10 – 4.48 (m, 2H, NCH₂N, NCH), 4.57 – 4.70 (m, 1H, NCHCO), 4.85 – 5.06 (m, 2H,

NCH₂N, NH), 6.80 – 7.06 (m, 1H, NH), 7.13 - 7.38 ppm (m, 5H, HAr); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =25.3, 25.5, 25.7, 30.8, 31.4, 37.3, 49.2 (CH₂), 53.0, 54.7 (CH), 55.8, 55.9 (CH₃), 127.1, 128.9, 129.3 (CH-Ar), 136.5 (Cq) 157.9, 169.4 ppm (CO). HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₁₇H₂₃LiN₃O₂ : 308.1945, expérimentale : 308.1931.

Cyclo(Val-gN(cHex)Gly-CO) (IIA24) :





 $C_{13}H_{23}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_R = 11,18$ min ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3227 (NH), 1693, 1660 (C=O), 1199, 1185 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K): d = 1.04, 1.07 (d, J^3 =6.6 Hz, 6H, (CH₃)₂CH), 1.18 – 1.90 (m, 10H, CH₂(*c*Hex)), 2.10 – 2.27 (m, 1H, (CH₃)₂CH), 3.95 (dd, J^3 =7.5 Hz, J^3 =4.5 Hz, 1H, NCHCO), 4.26 – 4.47 (m, 1H, NCH), 4.32 (dd, J^2 =15.6 Hz, J^3 =6.6 Hz, 1H, NCH₂N), 4.85 (dd, J^2 =15.6 Hz, J^3 =5.4 Hz, 1H, NCH₂N),

4.87 – 4.95 (m, 1H, NH), 6.54 ppm (s, 1H, NH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): d = 18.3, 20.0 (CH₃), 25.3, 25.6, 25.7 (CH₂), 29.8 (CH), 30.9, 31.4, 49.3 (CH₂), 52.6, 60.2 (CH), 158.3, 169.5 ppm (CO) ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₃H₂₃NaN₃O₂ : 276.339, expérimentale : 276.144.

Cyclo(Val-gN(*i*Pr)Gly-CO) (IIA25) :



Composé **IIA25** (1,01 g, 4,74 mmol, 56%) sous forme solide solide blanc. $C_{10}H_{19}N_{3}O_{2}$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{R} = 8,49$ min ; $[\alpha]^{20}{}_{D} = -74.3$ (c=0.57 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3233 (NH), 1680, 1661 (C=O), 1210, 1196 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =1.02, 1.05, 1.12, 1.14 (d, J^{3} =6.6 Hz, 12H, (CH₃)₂CH), 2.04 – 2.23 (m, 1H, NCH),

3.88 – 3.92 (m, 1H, (CH₃)₂ CHN), 4.68 – 4.87 (m, 2H, NCH₂N, NCHCO), 5.24 – 5.35 (m, 1H, NH), 7.19 – 7.34 ppm (m, 1H, NH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) : δ =18.3, 20,0, 20.4, 20.9 (CH₃), 29.8, 44.4 (CH), 48.6 (CH₂), 60.2 (CH), 158.3, 169.4 ppm (CO) ; HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₁₀H₁₉LiN₃O₂ : 220.1632, expérimentale : 220.1605.

Cyclo(Tle-gSar-CO) (IIB26) :



Composé **IIB26** (1,50 g, 7,52 mmol, 67%) sous forme solide blanc. C₉H₁₇N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 8,16 min ; IR (solide) : $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3298 (NH), 1668, 1642 (C=O), 1260, 1148 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =1.12 (s, 1H, (CH₃)₃C), 3.04 (s, 3H, NCH₃), 4.04 (dd, J^2 =15.3 Hz, J^3 =6.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.08 (d, J^3 =3.9 Hz, 1H, NCHCO), 4.85 (s, 1H, NH), 5.21 (dd, J^2 =15.3 Hz, J^3 =4.5 Hz, 1H, NCH₂N), 7.22 ppm (br, 1H, NH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =26.2 (CH₃), 33.4 (Cq), 33.7 (CH₃), 56.6 (CH₂), 59.8 (CH), 158.5, 169.7 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₉H₁₇LiN₃O₂ : 206.148, expérimentale : 206.150.

Cyclo(Nle-gSar-CO) (IIB27) :



Composé **IIB27** (2,46 g, 12,35 mmol, 72%) sous forme d'une huile incolore.

C₉H₁₇N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0,1% TFA dans H₂O, B: 0,08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1,2 mL/min, 20min) : $t_{\rm R}$ = 9,05 min ; IR (solide) : $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3241 (NH), 1645 (C=O), 1241, 1159 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=0.82 - 0.94 (m, 3H, CH₃CH₂),

1.27 – 1.42 (m, 4H, CH₃CH₂CH₂), 1.45 – 1.59 (m, 1H, CHCH₂), 1.82 – 2.00 (m, 1H, CHCH₂), 3.05 (s, 3H, NCH₃), 4.09 (dd, J^2 =15.6 Hz, J^3 =6.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.29 (td, J^3 =6.6 Hz, J^3 =3.3 Hz, 1H, NCHCO), 5.18 (dd, J^2 =15.3 Hz, J^3 =4.5 Hz, 1H, NCH₂N), 5.46 (s, 1H, NH), 7.31 ppm (br, 1H, NH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=13.8 (CH₃), 22.4, 28.0, 30.8 (CH₂), 33.6 (CH₃), 56.0 (CH₂), 53.1 (CH), 158.8, 170.5 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₉H₂₁LiN₃O₃ : 405.2724, expérimentale : 405.2756.

• Synthèse des composés présentés au Chapitre III (*Extension de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones par diversifications post-cyclisation*).

Procédure générale de N(3)-monoalkylation des 1,3,5-triazépane-2,6-diones à travers l'exemple de la synthèse du (6-Benzyl-4,7-dioxo-1-propyl-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA3) présenté en section III.A (*Alkylation des azotes du résidu urée*) :

(6-Benzyl-4,7-dioxo-1-propyl-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA3) :



Le composé **IIA17** (500 mg, 1,91 mmol) est dissout dans du DCM distillé (20 mL). Puis, du KF/Al₂O₃ (2,78 g, 19,13 mmol, 10 éq) et du bromoacétate de tertiobutyle (424 μ L, 2,87 mmol, 1,5éq) sont ajoutés. Le mélange est agité 24h à température ambiante sous atmosphère d'azote. Ensuite, KF/Al₂O₃ est éliminé par filtration. Le milieu réactionnel est dilué dans le DCM et lavé avec de l'eau. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ puis évaporée. La chromatographie sur

colonne (silice, éluant : AcOEt / cyclohexane, 40:60, v/v) conduit au composé **IIIA3** (535 mg, 1.42 mmol, 75%) sous forme d'un solide blanc.

 $C_{20}H_{29}N_{3}O_{4}$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_{R} =13.93 min ; $[\alpha]^{20}_{D}$ =-47.8 (c=0.59 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3322 (NH), 1738, 1680, 1650 (C=O), 1234, 1148 (C-N), 1126 (C-O) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K): δ =0.92 (t, J^{3} =7.2 Hz, 3H, CH₃), 1.45 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1.40 – 1.70 (m, 2H, CH₂CH₃), 2.80 (dd, J^{2} =14.7 Hz, J^{3} =9.6 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.35 (dd, J^{2} =14.4 Hz, J^{3} =4.2 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.46 (t, J^{3} =7.2 Hz, 2H, NCH₂CH₂), 3.70 (d, J^{2} = 17.7 Hz, 1H, NCH₂COO), 4.18 (d, J^{2} =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 4.39 (d, J^{2} =17.7 Hz, 1H, NCH₂COO), 4.55 – 4.70 (m,

2H, NCHCO, NH), 5.39 (d, J^2 = 15.6 Hz, 1H, NCH₂N) 7.21 – 7.40 ppm (m, 5H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ =11.3 (CH₃), 21.8 (CH₂), 28.0 (CH₃), 38.3, 49.1, 51.2 (CH₂) 56.0 (CH), 61.2 (CH₂), 82.3 (Cq), 127.2, 129.0, 129.3 (CH-Ar), 136.2 (Cq), 157.3, 169.0, 169.6 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₂₀H₂₉N₃NaO₄ : 398.205, expérimentale : 398.199.

(6-Benzyl-1-isopropyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA4) :



Composé **IIIA4** (108 mg, 0,29 mmol, 50%) sous forme solide blanc.

 $\begin{array}{l} C_{20}H_{29}N_{3}O_{4},\ C_{18}\text{-RP-HPLC}\ (A:\ 0.1\%\ TFA\ in\ H_{2}O,\ B:\ 0.08\%\\ TFA\ in\ MeCN,\ 0-100\%\ B,\ 1.2\ mLmin_1,\ 20\ min):\ t_{R}{=}13.86\\ min\ ;\ [\alpha]^{20}{}_{D}\ {=}{-}39.9\ (c{=}0.70\ dans\ MeOH)\ ;\ IR\ (solide)\ :\ \nu_{max}\\ (cm^{-1})\ {=}\ 3327\ (NH),\ 1740,\ 1673,\ 1647\ (C{=}O),\ 1234,\ 1148\\ (C-N,\ C{-}O)\ ;\ {}^{1}H\ NMR\ (300\ MHz,\ CDCl_{3},\ 298\ K):\ \delta{=}1.16\ (t,\ t) \end{array}$

 J^{2} =6.9 Hz, 6H, CH(CH₃)₂), 1.45 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.81 (dd, J^{2} =14.1 Hz, J^{3} =9.0 Hz, 1H, CHPh), 3.36 (dd, J^{2} =14.1 Hz, J^{3} =4.2 Hz, 1H, CHPh), 3.53 (d, J^{2} =17.7 Hz, 1H, NCH₂COO) 4.18 (d, J^{2} =15.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.49 (d, J^{2} =17.7 Hz, 1H, NCH₂COO) 4.55 – 4.69 (m, 2H, MeCHMe, NH), 4.73 – 4.90 (m, 1H, NCHCON), 5.26 (d, J^{2} =15.9 Hz 1H, NCH₂N), 7.22 – 7.36 ppm (m, 5H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CD₃CN, 298 K) : δ =20.4, 21.0, 28.2 (CH₃), 38.0 (CH₂), 45.4 (CH), 51.6 (CH₂), 56.2 (CH), 56.4 (CH₂), 82.0 (Cq), 127.7, 129.4, 130.4 (CH-Ar), 138.5 (Cq), 157.9, 170.2, 170.8 ppm (CO) ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₂₀H₂₉LiN₃O₄ : 382.2313, expérimentale : 382.2368.

(1,6-Dibenzyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA6) :



Composé **IIIA6** (581mg, 1,37mmol, 85%) sous forme solide blanc.

C₂₄H₂₉N₃O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R= 14.90 min ; $[\alpha]^{20}_{\ D}$ =-49.7 (c=0.65 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3340 (NH), 1739, 1675, 1646 (C=O), 1224, 1146 (C-N, C-O) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K): δ=1.41 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.88 (dd, J ²=14.4 Hz, J ³=9.3 Hz, 1H,

CHCH₂Ph), 3.16 (d, $J^2 = 17.7$ Hz, 1H, NCH₂COO), 3.42 (dd, $J^2 = 14.4$ Hz, $J^3 = 4.5$ Hz, 1H, CHCH₂Ph), 3.90 (d, $J^2 = 17.7$ Hz, 1H, NCH₂COO), 4.13 (d, $J^2 = 15.9$ Hz, 1H, NCH₂N), 4.61 (d, $J^3 = 1.5$ Hz, 1H, NH) 4.64 – 4.82 (m, 3H, NCHCO, NCH₂Ph), 5.29 (d, $J^2 = 15.6$ Hz, 1H, NCH₂N), 7.24 – 7.39 ppm (m, 10H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : $\delta = 28.0$ (CH₃), 38.3, 49.6, 50.4 (CH₂), 56.0 (CH), 59.7 (CH₂), 82.1 (Cq), 127.3, 128.1, 128.4, 129.0, 129.0, 129.3 (CH-Ar), 136.1, 136.4 (Cq), 157.2, 169.1, 170.0 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₂₄H₂₉LiN₃O₄ : 430.231, expérimentale : 430.235.

(6-Benzyl-1-phenéthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA7) :



Composé **IIIA7** (537mg, 1,23 mmol, 79%) sous forme solide blanc.

 $\begin{array}{l} C_{25}H_{31}N_{3}O_{4},\ C_{18}\text{-RP-HPLC}\ (A:\ 0.1\%\ TFA\ in\ H_{2}O,\ B:\ 0.08\%\\ TFA\ in\ MeCN,\ 0-100\%\ B,\ 1.2\ mLmin_1,\ 20\ min):\ t_{R}{=}15.11\\ min\ ;\ [\alpha]^{20}{}_{D}={-}84.2\ (c{=}0.63\ dans\ MeOH)\ ;\ IR\ (solide):\ \nu_{max}\\ (cm^{-1})=\ 3204\ (NH),\ 1736,\ 1660\ (C{=}O),\ 1226,\ 1148\ (C{-}N,\ C{-}O)\ ;\ {}^{1}H\ NMR\ (300\ MHz,\ CDCl_{3},\ 298\ K)\ :\ \delta{=}1.43\ (s,\ 1H,\ NH),\ \delta_{1}(s)$

C(CH₃)₃) 2.73 – 2.94 (m, 3H, CH₂CH₂N, CH₂Ph), 3.36 (dd, $J^2 = 14.1$ Hz, $J^3 = 4.2$ Hz, 1H, CH₂Ph), 3.50 (d, $J^2 = 17.7$ Hz, 1H, NCH₂COO) 3.65 – 3.87 (m, 2H, CH₂CH₂Ph), 3.94 (d, $J^2 = 15.9$ Hz, 1H, NCH₂N), 4.13 (d, $J^2 = 17.7$ Hz, 1H, NCH₂COO), 4.49 – 4.60 (m, 2H, NCHCO, NH), 5.19 (d, $J^2 = 15.6$ Hz, 1H, NCH₂N), 7.15 – 7.38 ppm (m, 10H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CD₃CN, 298 K) : $\delta = 28.2$ (CH₃), 35.2, 37.9, 49.6, 52.0 (CH₂), 56.0 (CH), 62.2 (CH₂), 82.1 (Cq), 127.2, 127.6, 129.4, 129.4, 129.7, 130.3 (CH-Ar), 138.4, 140.1 (Cq), 157.7, 170.3, 171.1 ppm (CO) ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₂₁H₂₃LiN₃O₄ : 388.1844, expérimentale : 388.1807.

([6-Benzyl-1-(3,4-diméthoxy-benzyl)-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tertbutyle (IIIA8) :



Composé **IIIA8** (365mg, 0,75mmol, 47%) sous forme solide blanc.

C₂₆H₃₃N₃O₆, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R= 14.70 min ; $[\alpha]^{20}_{D}$ =-53.3 (c=0.56 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3210 (NH), 1738, 1673, 1652 (C=O), 1233, 1150, 1140 (C-N, C-O) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=1.42 (s, 9H, C(CH₃)₃) 2.87 (dd, J^2 =14.4 Hz, J^3 =9.3

Hz, 1H, CHCH₂Ph), 3.16 (d, $J^2=17.7$ Hz, 1H, NCH₂CO), 3.43 (dd, $J^2=14.4$ Hz, $J^3=4.5$ Hz, 1H, CHCH₂Ph), 3.85 (s, 3H, CH₃O), 3.88 (s, 3H, CH₃O), 3.96 (d, $J^3=17.7$ Hz, 1H, NCH₂CO), 4.13 (d, $J^2=15.9$ Hz, 1H, NCH₂N), 4.54 (d br, $J^3=1.5$ Hz, 1H, NH), 4.63 (d, $J^2=14.7$ Hz, 1H, ArCH₂N), 4.63 – 4.74 (m, 1H, NCHCO), 5.30 (d, $J^2=14.7$ Hz, 1H, ArCH₂N), 6.74 – 6.90 (m, 3H, HAr(MeO)₂), 7.23 – 7.42 ppm (m, 5H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : $\delta=28.0$ (CH₃), 38.2, 49.4, 50.4 (CH₂), 55.9 (CH₃), 56.4 (CH₂), 82.0 (Cq), 111.1, 111.3, 120.8, 127.2, 128.7, 128.9, 129.3 (CH-Ar), 136.1, 148.9, 149.5 (Cq), 157.0, 169.1, 170.0 ppm (CO). HRMS(ESI) : m/z : calculée pour C₂₆H₃₃N₃NaO₆ : 506.226, expérimentale : 506.227.

(6-Butyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA2) :



Composé **IIIA2** (640mg, 2,04mmol, 64%) sous forme solide blanc.

 $C_{15}H_{27}N_3O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R=12.61 min ; $[\alpha]^{20}_{D}$ =-32.7 (c=0.67 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3233 (NH), 1735, 1645 (C=O), 1241, 1159, 1134 (C-

N, C-O) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =0.90 (t, J^{3} =7.2 Hz, 3H, CH₂CH₃), 1.24 – 1.61 (m, 5H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.45 (s, 9H, C(CH₃)₃) 1.87 – 2.05 (m, 1H, CH₂CH), 3.08 (s, 3H, NCH₃), 3.85 (d, J^{2} =17.7 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.14 (d, J^{2} =15.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.22 – 4.30 (m, 1H, NCHCO), 4.30 (d, J^{2} =17.7 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.81 (d, J^{2} =2.1 Hz, 1H, NH), 5.47 ppm (d, J^{2} =15.6 Hz, 1H, NCH₂N) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ = 13.8 (CH₃), 22.4, 27.9 (CH₂), 28.0 (CH₃), 31.7 (CH₂), 34.4 (CH₃), 51.5 (CH₂), 54.4 (CH), 62.8 (CH₂), 82.1 (Cq), 157.1, 169.0, 170.5 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₅H₂₇LiN₃O₄ : 320.2156, expérimentale : 320.2128.

(6-Benzyl-1-cyclohexyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA9) :



Composé **IIIA9** (520mg, 1,25mmol, 69%) sous forme solide blanc.

 $C_{23}H_{33}N_3O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R =15.42 min ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3322 (NH), 1740, 1670, 1645 (C=O), 1233, 1149, 1144 (C-N, C-O) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =1.31 (m, 10H, CH₂(*c*Hex)), 1.45 (s, 1H, C(CH₃)₃), 2.80 (dd, J^2 =14.1 Hz, J^3 =8.7 Hz, 1H, CH₂Ph),

3.35 (dd, J^2 = 14.4 Hz, J^3 =4.5 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.53 (d, J^2 =17.7 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.19 (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.32 – 4.48 (m, 1H, NCH), 4.54 (d, J^2 =17.7 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.56 – 4.66 (m, 2H, NCHCO, NH), 5.27 (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂N), 7.16 – 7.38 ppm (m, 10H, HAr); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ = 25.4, 25.5, 25.7 (CH₂), 28.0 (CH₃), 31.0, 31.9, 38.3, 50.4 (CH₂), 52.7 (CH), 55.9 (CH₂), 56.0 (CH), 82.2 (Cq), 127.2, 128.9, 129.4 (CH-Ar), 136.2 (Cq), 157.3, 169.2, 169. 5 ppm (CO). HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₂₃H₃₃LiN₃O₄ : 422.2626, expérimentale : 422.2580.

(1,6-Diisopropyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA5) :



Composé **IIIA5** (356mg, 1,09mmol, 40%) sous forme solide blanc.

C₁₆H₂₉N₃O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R=12.87 min ; $[\alpha]^{20}_{D}$ =-71.6 (c=0.55 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3216 (NH), 1734, 1665, 1651 (C=O), 1230, 1173, 1154 (C-N, C-O), ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ = 1.02, 1.05 (d, J^3 =

6.6 Hz, 6H, (CH₃)₂CHCH), 1.13 (d, J^3 = 6.6 Hz, 6H, (CH₃)₂CHN), 1.46 (s, 1H, C(CH₃)₃), 2.14 – 2.32 (m, 1H, (CH₃)₂CHCH), 3.77 (d, J^2 =17.7 Hz 1H, NCH₂CO), 3.93 – 3.97 (m, 1H, NCH), 4.29 (d, J^2 =17.7 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.46 (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.70 – 4.88 (m, 2H, NCHCO, NH), 4.94 ppm (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂N) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=18.0, 19.8, 20.6, 21.0, 28.0 (CH₃), 30.8, 44.1 (CH), 50.4, 55.2 (CH₂), 61.6 (CH), 82.2 (Cq), 158.1, 169.2, 169.4 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₆H₂₉LiN₃O₄ : 334.231, expérimentale : 334.235.

(6-tert-Butyl-1-méthyl--4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétate de tert-butyle (IIIA1) :



Composé **IIIA1** (550mg, 1,76mmol, 49%) sous forme solide blanc.

 $C_{15}H_{27}N_3O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R =12.21 min ; $[\alpha]^{20}_{D}$ =-44.2 (c=0.61 dans MeOH) ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3246 (NH), 1740, 1658, 1645 (C=O), 1224, 1165, 1153 (C-N,

C-O); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =1.13 (s, 9H, CHC(CH₃)₃), 1.47 (s, 9H, OC(CH₃)₃), 3.09 (s, 3H, NCH₃), 3.89 (d, J^2 =17.7 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.06 (d, J^3 =4.2 Hz, 1H, NCHCO), 4.27 (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 4.30 (d, J^2 =17.7 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.63 (br d, J^3 = 3.6 Hz, 1H, NH), 5.37 ppm (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =26.4, 28.1 (CH₃), 34.0 (Cq), 34.7 (CH₃), 51.4 (CH₂), 61.7 (CH), 63.2 (CH₂), 82.2 (Cq), 157.5, 169.0, 169.5 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₅H₂₇LiN₃O₄ : 320.2156, expérimentale : 320.2143.

Procédure générale de clivage du groupement tertiobutyle des 1,3,5-triazépane-2,6diones N(3)-monoalkylés par du bromoacétate de tertiobutyle à travers l'exemple de la synthèse de l'acide (6-Benzyl-1-propyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétatique (VIG16) :

(6-Benzyl-1-propyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétatique (VIG16) :



Le composé **IIIA3** (50mg, 0,13mmol) est dissout dans du TFA (3mL) pour être agité pendant 30min. Ensuite, le TFA est évaporé sous vide et l'hétérocycle triazépanedione est précipité à l'éther. Le composé **VIG16** est séché sous vide pour obtenir un solide blanc (41mg, 0,13mmol, %quant.).

 $C_{16}H_{21}N_3O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R =10.69 min ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3280 (NH), 1693, 1599 (C=O),

1275 (C-OH), 1257, 1163 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, 298 K) : δ =0.80 (t, J^3 =7.2 Hz, 3H, CH₃), 1.35 – 1.55 (m, 2H, CH₂CH₃), 2.77 (dd, J^2 =14.4 Hz, J^3 =7.5 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.06 (dd, J^2 =14.1 Hz, J^3 =6.0 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.27 – 3.43 (m, 2H, NCH₂CH₂), 3.89, 4.16 (d, J^2 = 17.7 Hz, 1H, NCH₂COO), 4.39 (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 4.69 – 4.84 (m, 2H, NCHCO), 5.49 (d, J^2 = 15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 6.21 (d, J^3 =3.3 Hz, 1H, NH), 7.13 – 7.45 ppm (m, 5H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆, 298 K) : δ =11.0 (CH₃), 21.2, 36.2, 47.5, 50.0 (CH₂) 54.1 (CH), 60.2 (CH₂), 126.2, 128.0, 129.4 (CH-Ar), 138.0 (Cq), 156.3, 170.4, 171.6 ppm (CO) ; HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₁₆H₂₁N₃NaO₄ : 342.1424, expérimentale : 342.1457.

Acide (6-Benzyl-1-isopropyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétatique (VIG14) :



Composé **VIG14** (24mg, 0,08mmol, %quant.) sous forme solide blanc.

 $\begin{array}{l} C_{16}H_{21}N_{3}O_{4},\ C_{18}\text{-RP-HPLC}\ (A:\ 0.1\%\ TFA\ in\ H_{2}O,\ B:\ 0.08\%\\ TFA\ in\ MeCN,\ 0-100\%\ B,\ 1.2\ mLmin_1,\ 20\ min):\ t_{R}{=}10.38\ min\ ;\\ IR\ (solide)\ :\ \nu_{max}\ (cm^{-1})\ =\ 3281\ (NH),\ 1714,\ 1665,\ 1649,\ 1620\\ (C{=}O),\ 1229\ (C{-}OH),\ 1185,\ 1171\ (C{-}N)\ ;\ HRMS(ESI):\ m/z\ :\ calculée\ pour\ C_{16}H_{21}LiN_{3}O_{4}:\ 326.169,\ expérimentale\ :\ 326.169. \end{array}$

Acide (1,6-Dibenzyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétique (VIG15) :



Composé **VIG15** (43mg, 0,12mmol, %quant.) sous forme solide blanc.

 $C_{20}H_{21}N_3O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R = 12.15 min ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3243 (NH), 1698, 1675 (C=O), 1275 (C-OH), 1267, 1170 (C-N) ; HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour $C_{20}H_{21}LiN_3O_4$: 374.169, expérimentale : 374.171.

Acide (6-Benzyl-1-phenéthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétatique (VIG13) :



Composé VIG13 (40mg, 0,10mmol, 95%) sous forme solide blanc.

C₂₁H₂₃N₃O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R=12.78 min ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3264 (NH), 1700, 1666, 1616 (C=O), 1276 (C-OH), 1251, 1146 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆, 298 K) : δ =2.66 – 2.84 (m, 3H, CH₂CH₂N, CH₂Ph), 3.06 (dd, J^2 = 14.1 Hz, J^3 =6.3 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.47 – 3.73 (m, 2H, CH₂CH₂Ph), 3.89, 4.11 (d, J^2 =17.7 Hz, 1H, NCH₂COO), 4.46 (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 4.70 – 4.82 (m, 2H, NCHCO,

NH), 5.48 (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 6.25 (d, J^2 =3.6 Hz, 1H, NH), 7.14 – 7.38 (m, 10H, HAr), 12.54 ppm (br, 1H, OH) ; ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-d₆, 298 K) : δ =33.9, 36.1, 47.9, 49.9 (CH₂), 53.9 (CH), 60.1 (CH₂), 126.1, 126.1, 128.0, 128.2, 128.6, 129.3 (CH-Ar), 138.0, 138.8 (Cq), 156.3, 170.3, 171.6 ppm (CO) ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₂₁H₂₃LiN₃O₄ : 388.184, expérimentale : 388.186.

Acide ([6-Benzyl-1-(3,4-diméthoxy-benzyl)-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétatique (VIG17) :



Composé **VIG17** (12mg, 0,03mmol, 90%) sous forme solide blanc.

C₂₂H₂₅N₃O₆, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R= 11.79 min ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =2.89 (dd, *J*²=14.4 Hz, *J*³=7.8 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.20 (d, *J*³=18.0 Hz, 1H, NCH₂CO), 3.42 (dd, *J*²=14.1 Hz, *J*³=5.7 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.97 (d, *J*²=17.7 Hz,

1H, NCH₂CO), 4.13 (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.54 (d, J^2 =14.4 Hz, 1H, NCH₂Ar), 4.64 – 4.73 (m, 1H, NCHCO), 4.73 (d, J^2 =14.4 Hz, 1H, NCH₂Ar), 5.29 (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂N), 5.80 (d, J^3 =1.5 Hz, 1H, NH), 6.15 (m, 1H, OH), 6.70 – 6.84 (m, 3H, Ar(OMe)₂), 7.20 – 7.35 ppm (m, 5H, HAr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ = 37.7, 49.5, 50.0 (CH₂), 56.0 (CH₃), 59.7 (CH₂), 111.1, 111.3, 121.0, 127.2, 128.4, 128.8, 129.4 (CH-Ar), 136.1, 149.1, 149.6 (Cq), 158.2, 169.7, 172.7 ppm (CO). HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₂₂H₂₅N₃NaO₆: 450.1636, expérimentale : 450.1611.

Acide (6-Butyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétatique (VIG18) :



Composé **VIG18** (23mg, 0,09mmol, 90%) sous forme solide blanc.

C₁₁H₁₉N₃O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R=8.89 min ; ¹H NMR (300 MHz, Pyridine – d₅, 298 K) : δ =0.85 (t, J^3 =7.2 Hz, 3H, CH₂CH₃), 1.24 – 1.40 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃), 1.45 – 1.60

(m, 2H, CH₂C*H*₂C*H*₃), 1.81 – 1.95 (m, 1H, CH₂C*H*), 2.16 – 2.32 (m, 1H, CH₂C*H*), 3.29 (s, 3H, NCH₃), 4.59 – 4.71 (m, 3H, NCHCO, NCH₂CO, NCH₂N), 4.82 (d, J^2 =17.7 Hz, 1H, NCH₂CO), 5.88 (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 7.47 ppm (d, J^2 =3.0 Hz, 1H, NH); ¹³C NMR (75 MHz, Pyridine – d₅, 298 K) : δ =14.5 (CH₃), 23.3, 29.0, 32.4 (CH₂), 34.4 (CH₃), 51.9 (CH₂), 54.9 (CH), 63.3 (CH₂), 158.3, 172.0, 173.8 ppm (CO). HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₁₁H₁₉N₃NaO₄ : 280.1268, expérimentale : 280.1247.

Acide (1,6-Diisopropyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétatique (VIG9) :



Composé VIG9 (234mg, 0,86mmol, 96%) sous forme solide blanc. C₁₂H₂₁N₃O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin 1, 20 min): $t_R=8.65$ min ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=1.08 – 1.25 (m, 12H, (CH₃)₂CH), 2.35 - 2.50 (m, 1H, (CH₃)₂CHCH), 4.31 - 4.36 (m, 1H, NCH), 4.56 (d, J 2 =17.4 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.89 (d, J^{2} = 17.4 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.92 -5.06 (m, 1H, NCHCO), 5.04 (d, $J^2=15.6$ Hz, 1H, NCH₂N), 5.48

ppm (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂N); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ =19.6, 20.1, 20.8, 21.1 (CH₃), 32.1, 45.1 (CH), 51.2, 56.4 (CH₂), 62.9 (CH), 82.2 (Cq), 159.0, 171.0, 173.8 ppm (CO). HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₂H₂₁LiN₃O₄ : 278.1687, expérimentale : 278.1674.

Acide (6-tert-Butyl-1-méthyl--4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétatique (VIG19) :



Composé VIG19 (11mg, 0,04mmol, 89%) sous forme solide blanc. C11H19N3O4, C18-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H2O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R=9.21 min; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{11}H_{19}N_3NaO_4$: 405.2724, expérimentale : 405.2756.

Procédure générale de N(1)-acylation du résidu urée des 1,3,5-triazépane-2,6-diones à travers l'exemple de la synthèse de l'1-benzoyl-7-benzyl-5-méthyl-[1,3,5]triazépane-2,6dione (IIIB1) présenté en section III.B (Acylation) :

1-benzoyl-7-benzyl-5-méthyl-[1,3,5]triazépane-2,6-dione (IIIB1):



Cyclo(Phe-gSar-CO) IB6a (100 mg, 0,43 mmol) est dissout dans du THF distillé (10 mL). Puis. la 2.4.6-collidine (113 uL, 0.86 mmol, 2.0 éq) est ajoutée suivie de l'addition au goutte à goutte du BzCl (100 μ L, 0,86 mmol, 2,0 éq). Le milieu réactionnel est agité à temprérature ambiante, sous atmosphère d'argon, pendant 7h. Ensuite, le solvant est évaporé et le brut réactionnel est purifié par colonne chromatographique flash (EtOAc/cyclohexane 3:2 v/v) pour obtenir le composé (IIIB1) (103 mg, 0,31 mmol, 71%) sous forme d'un solide blanc.

C₁₉H₁₉N₃O₃, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0–100% B, 1.2mLmin_1, 20 min) : $t_R=12.01$ min; $[a]_D^{20}=121.8$ (c=0.63 dans MeOH) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=3.02 (s, 3H, NCH₃), 2.95–3.07 (m, 1H, CHCH₂Ph), 3.45 (dd, J 2 =14.1 Hz, J^{3} =3.9 Hz, 1H, CHCH₂Ph), 4.10 (dd, J^{2} =14.1 Hz, J^{3} =7.5 Hz, 1H, NCHN), 5.15 (dd, $J^2=14.1$ Hz, $J^3=5.4$ Hz, 1H, NCHN) 5.69 (dd, $J^3=9.6$ Hz, $J^3=3.9$ Hz, 1H, NCH₂Ph), 6.68–6.75 (m, 1H, NH), 7.18–7.50 ppm (m, 10H, H-Ar); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K): δ=35.5 (CH₃), 40.0 (CH₂), 57.0 (CH₂), 60.7 (CH), 126.9, 127.0, 128.1, 128.3, 130.0, 131.3 (CH-Ar), 135.0, 136.5 (Cq-Ar), 158.4, 168.8, 170.0 ppm (CO) ; IR (solid): v=3261 (NH), 2927 (Csp²), 2851 (Csp³), 1728, 1674, 1634 cm⁻¹ (CO) ; HRMS (ESI) : m/z: calculée pour C₁₉H₂₀N₃O₃ : 338.1499 ; expérimentale : 338.1497.

7-Benzyl-5-méthyl-1-(3-phényl-acryloyl)-[1,3,5]triazépane-2,6-dione (IIIB2):



Composé **IIIB2** (123 mg, 0,34 mmol, 79%) sous forme solide blanc.

 $C_{21}H_{21}N_3O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A : 0.1% TFA dans H₂O, B : 0.08% TFA dans MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R =13.52 min ; $[a]^{20}$ _D= 180.4 (c=0.68 dans MeOH) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =3.06 (s, 3H, NCH₃), 2.97–3.10 (m, 1H, CHCH₂Ph), 3.51 (dd, J^2 =14.3 Hz, J^3 =3.04 Hz, 1H, CHCH₂Ph),

4.13 (dd, $J^2=14.1$ Hz, $J^3=6.9$ Hz, 1H, NCH₂N), 5.08 (dd, $J^2=14.1$ Hz, $J^3=5.1$ Hz, 1H, NCHCO), 6.66 – 6.75 (m, 1H, NH), 6.77 (d, $J^3=15.3$ Hz, 1H, CHCHPh), 7.15 – 7.49 (m, 10H, H-Ar), 7.62 ppm (d, $J^3=15.3$ Hz, 1H, CHCHPh) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : $\delta=35.8$ (CH₃), 40.4, 57.4 (CH₂), 59.8 (CH), 117.7 (CH), 127.2, 128.5, 128.5, 128.6, 129.1, 129.1, 130.0, 130.0, 130.7 (CH-Ar), 134.7, 136.8 (Cq-Ar), 158.7, 165.7, 169.3 ppm (CO) ; IR (solid) : v = 3121 (NH), 2926 (Csp²), 2851 (Csp³), 1719, 1679, 1620 cm⁻¹ (CO) ; HRMS (ESI) : m/z: calculée pour C₂₁H₂₂N₃O₃ : 364.1656 ; expérimentale : 364.1632.

7-benzyl-1-(2,2-diméthyl-propionyl)-5-méthyl-[1,3,5]triazépane-2,6-dione (IIIB4):



Dans ce cas, le chlorure de triméthylacétyle (100 μ L, 1,72 mmol, 4,0 éq) est utilisé et le milieu réactionnel est agité pendant 30 h à 50°C. Le composé **IIIB4** (109 mg, 0,34 mmol, 80%) sous forme solide blanc. C₁₇H₂₃N₃O₃, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B : 0.08% TFA dans MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R=12.67 min ; [a]²⁰_D = 156.2 (c=0.73 dans MeOH) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) :

 δ =1.16 (s, 9H, (CH₃)₃CCO), 2.91 (dd, J^2 =14.4 Hz, J^3 =10.2 Hz, 1H, CHCH₂Ph), 3.04 (s, 3H, NCH₃), 3.43 (dd, J^2 =14.1 Hz, J^3 =3,9 Hz, 1H, CHCH₂Ph), 4.11 (dd, J^2 =13.8 Hz, J^3 =6.9 Hz, 1H, NCH₂N), 5.07 (dd, J^2 =14.1 Hz, J^3 =5.7 Hz, 1H, NCH₂N), 5.72 (dd, J^3 =10.2 Hz, J^3 =3,8 Hz, 1H, CHCH₂Ph), 6.67 (br t, J^3 =6.3 Hz, 1H, NH), 1.17–7.35 ppm (m, 5H, H-Ar) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =27.8, 35.4 (CH₃), 39.6 (CH₂), 42.0 (Cq), 56.9 (CH₂), 60.1 (CH), 126.6, 127.9, 129.8 (CH-Ar), 136.7 (Cq-Ar), 158.3, 169.2, 178.8 ppm (CO) ; IR(solid) : v =3157 (NH), 2927 (Csp²), 2866 (Csp³), 1735, 1675, 1615 cm⁻¹ (CO) ; HRMS(ESI) : m/z: calculée pour C₁₇H₂₄N₃O₃ : 318.1812 ; expérimentale : 318.1801.

7-benzyl-1-(4-bromo-benzoyl)-5-méthyl-[1,3,5]triazépane-2,6-dione (IIIB3) :



Dans ce cas, le chlorure de 4-bromo-benzoyle (330 mg, 1,51 mmol, 3,5 éq) est utilisé et le milieu réactionnel est agité pendant 30 h à 40°C. Le composé **IIIB3** (152 mg, 0,37 mmol, 85%) sous forme solide blanc.

 $\begin{array}{l} C_{19}H_{18}BrN_{3}O_{3},\ C_{18}\text{-RP-HPLC}\ (A:\ 0.1\%\ TFA\ dans\ H_{2}O,\ B:\ 0.08\%\\ TFA\ dans\ MeCN,\ 0-100\%\ B,\ 1.2\ mLmin_1,\ 20\ min)\ :\ t_{R}{=}13.60\\ min\ ;\ \left[a\right]^{20}\ _{D}\ {=}64.7\ c{=}0.83\ dans\ MeOH)\ ;\ ^{1}H\ NMR\ (300\ MHz, \\ \end{array}$

CDCl₃, 298 K) : δ =3.07 (s, 3H, NCH₃), 2.99–3.08 (m, 1H, C*H*CH₂Ph), 3.48 (dd, J^2 =14.4 Hz, J^3 =3.9 Hz, 1H, C*H*CH₂Ph), 4.17 (dd, J^2 =14.1 Hz, J^3 =7.2 Hz, 1H, NCH₂N), 5.16 (dd, J^2 =14.4 Hz, J^3 =5.4 Hz, 1H, NCH₂N), 5.70 (dd, J^2 =9.6 Hz, J^3 =3.9 Hz, 1H, NCH₂Ph), 6.63 – 6.74 (m, 1H, NH), 7.08 – 7.37 (m, 7H, H-Ar, H-ArBr), 7.46 ppm (d, J^3 =8.4 Hz, 2H, H-ArBr) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =35.8 (CH₃), 40.3, 57.3 (CH₂), 61.2 (CH), 126.3 (CH-Ar), 127.4 (C-Br), 128.5, 128.9, 130.4, 132.0, (CH-Ar), 134.2, 136.6 (Cq-Ar), 158.5, 168.9, 169.5 ppm (CO); IR (solid): v =3266 (NH), 2925 (Csp²), 2852 (Csp³), 1726, 1674, 1633 cm⁻¹

(CO) ; HRMS(ESI) : m/z : calculée pour $C_{19}H_{19}BrN_3O_3$: 416.0604 ; expérimentale : 416.0592.

Procédure de thionation du carbonyle du résidu amide de la triazépanedione dérivée de la séquence Phe-Sar conduisant à la formation de l'hétérocycle 7-Benzyl-5-methyl-6-thioxo-[1,3,5]triazépane-2-one (IIIC3) présenté en section III.C.3 (*Thionation du châssis* 1,3,5-triazépane-2,6-dione) :



L'hétérocycle 1,3,5-triazépane-2,6-dione (50 mg, 0,21 mmol) dérivé de la séquence Phe-Sar (7-Benzyl-5-méthyl-[1,3,5]triazépane-2,6-dione) est dissout dans le THF distillé sous atmosphère d'azote. Le réactif de Lawesson (85 mg, 0,21 mmol, 1éq) est ajouté et la solution est agité à température ambiante pendant 48h. Ensuite, le THF est évaporé sous vide et la purification par chromatographie sur couche mince préparative (silice, éluant: AcOEt/ cyclohexane, 60:40, v/v) conduit au

composé **IIIC3** (41g, 0,17 mmol, 79%) sous forme d'un solide jaune. C₁₂H₁₅N₃S₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0-100% B, 1.2 mL/min, 20 min): $t_{\rm R} = 11.74$ min ; IR(solid) : $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3217 (NH), 1677 (C=O), 1235, 1175 (C-N), 1135 (C=S) ; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =2.90 (dd, J^2 =14.4 Hz, J^3 =8.4 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.24 (dd, J^2 =14.1 Hz, J^3 =4.8 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.44 (s, NCH₃, 3H), 4.31 (dd, J^3 =4.8 Hz, J^2 =15.6 Hz, NCH₂N), 5.02 - 5.13 (m, 1H, NCHCS), 5.56 (dd, J^3 =5.4 Hz, J^2 =15.0 Hz, NCH₂N), 6.34 - 6.43 (m, 1H, NH), 7.14 - 7.43 ppm (m, 6H, H-Ar, NH) ; ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =39.5 (CH₂), 41.8 (CH₃), 57.2 (CH), 58.0 (CH₂), 126.1, 127.9, 129.5 (CH-Ar), 138.2 (Cq-Ar), 156.3 (CO), 202.9 ppm (CS) ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₂H₁₅N₃NaOS : 272.083, expérimentale : 272.080.

Procédure de thionation des carbonyles de la triazépanedione dérivée de la séquence Phe-Sar conduisant à la formation de l'hétérocycle 7-Benzyl-5-methyl-[1,3,5]triazepane-2,6-dithione (IIIC4) présenté en section III.C.3 (*Thionation du châssis 1,3,5-triazépane-2,6dione*) :



L'hétérocycle 1,3,5-triazépane-2,6-dione (50 mg, 0,21 mmol) dérivé de la séquence Phe-Sar (7-Benzyl-5-méthyl-[1,3,5]triazépane-2,6-dione) est dissout dans le toluène distillé sous atmosphère d'azote. Le réactif de Lawesson (85 mg, 0,21 mmol, 1éq) est ajouté et la solution est agitée à 80°C pendant 48h. Ensuite, le THF est évaporé sous vide et la purification par chromatographie sur couche mince préparative (silice,

éluant: AcOEt/ cyclohexane, 60:40, v/v) conduit au composé **IIIC4** (46 mg, 0,17 mmol, 82%) sous forme d'un solide jaune.

C₁₂H₁₅N₃S₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1.2 mL/min, 20 min): $t_{\rm R} = 12.82$ min ; IR(solid) : $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3174 (NH), 1209 (C-N), 1178 1138 (C=S) ; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =3.02 (dd, J^2 =14.7 Hz, J^3 =9.3 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.51 (s, 3H, NCH₃), 3.56 (dd, J^2 =14.7 Hz, J^3 =4.5 Hz, 1H, CH₂Ph), 4.32 (dd, J^3 =6.9 Hz, J^2 =15.0 Hz, NCH₂N), 5.13 - 5.23 (m, 1H, NCHCS), 5.50 (dd, J^3 =4.8 Hz, J^2 =15.0 Hz, NCH₂N), 6.36 (br, 1H, NH), 7.23 - 7.39 (m, 5H, H-Ar), 8.26 ppm (br, 1H, NH) ; ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =41.2 (CH₂), 43.2 (CH₃), 59.3 (CH₂), 61.4 (CH), 127.4, 129.1

(CH-Ar), 135.9 (Cq-Ar), 181.1, 200.4 ppm (CS) ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{12}H_{15}LiN_3S_2$: 272.086, expérimentale : 272.084.

 Synthèse des composés présentés au Chapitre IV (Méthodes de chimie supportée appliquées à la synthèse parallèle d'1,3,5-triazépane-2,6diones : Construction de chimiothèques orientées vers la création de diversité) :

Synthèse des composés présentés en section IV.B (Méthode A : réarrangement de Curtius d'un N(alkyl)- aminoacide N-protégé suivi de l'accrochage à une résine puis formation de la liaison amide)

Synthèse de la résine PS-Oxime fonctionnalisée avec du BocgSarCO (IVB7, PS-OCOgSarBoc) :



Le BocSarOH (4,30g, 22,75mmol) est dissout dans la DMF anhydre (20ml) sous argon. La triéthylamine distillée (3,47mL, 25,03mmol, 1,1éq) puis le DPPA (4,93mL, 22,75mmol, 1,0éq) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité 30min à température ambiante. La solution est ensuite chauffée à 70°C pendant 1h30min. Puis, le chauffage est arrêté et la résine oxime (PS-oxime, 3,50g, 4,55mmol, 0,2éq) est ajoutée. Après 1h d'agitation à température ambiante, la résine polystyrène oxime est

filtrée puis lavée succéssivement avec de la DMF et du DCM. La résine PS-OCOgSarBoc **IVB7** est ensuite séchée sous vide.

 $IR(solide) : v_{max} (cm^{-1}) = 3511 (NH), 1755, 1694 (CO), 1203, 1150 (NCOO).$

Synthèse de AllocSarOH (IVB1)



La HSarOH (10,0g, 112,2mmol) est dissoute dans une solution de Na_2CO_3 (2%, 24g) dans l'eau (600mL) et dans le dioxane (600mL). La solution est ensuite refroidie à 4°C puis l'Alloc-Cl (18mL, 168,3mmol, 1,5éq) en solution dans le dioxane est ajouté lentement.

Le mélange est agité pendant 1h à 4°C, puis 4h à température ambiante. Le dioxane est ensuite évaporé et la solution aqueuse est lavée au diéthyléther (3x100mL) puis acidifiée avec une solution HCl 1N. Le produit est extrait à l'AcOEt (6x200mL) et la phase organique est séchée sur Na₂SO₄. L'évaporation du solvant conduit à l'obtention de l'AllocSarOH **IVB1** (19,04g, 0,98mmol, 98%) sous la forme d'une huile incolore.

 $C_7H_{11}NO_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min) : t_R =6.01 min ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =2.98, 2.99 (s, 3H, NCH₃, Cis/Trans), 4.02, 4.06 (d, 2H, NCH₂CO), 4.55 – 4.63 (m, 2H, OCH₂), 5.11 – 5.36 (m, 2H, CH₂CH), 5.78 – 6.01 (m, 1H, CH₂CH), 9.56 ppm (br, 1H, OH) ;

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=35.4, 36.0 (CH₂), 50.1, 50.4 (CH₃, Cis/Trans), 66.5, 66.6, 117.5, 117.5 (CH, Cis/Trans), 132.5 (CH₂, Cis/Trans), 156.0, 156.8, 174.3 ppm (CO).

Synthèse de la résine PS-Oxime fonctionnalisée avec du AllocgSarCO (IVB4, PS-OCOgSarBoc) :



Le procédé de synthèse est identique à celui mis au point pour PS-OCOgSarBoc. Dans ce cas, BocSarOH est remplacé par AllocSarOH (124mg, 0,13mmol). IR(solid): v_{max} (cm⁻¹) = 3420 (NH), 1753, 1704 (CO), 1179, 1157 (NCOO).

Déprotection du Boc :

Dans un réacteur miniblock, la résine PS-OCOgSarBoc **IVB7** (124mg, 0,13mmol) est gonflée dans le DCM. Puis une solution de TFA (25%) dans le DCM (2,5 mL) est ajoutée et le milieu est vortexé pendant 30min à température ambiante. La résine est ensuite lavée au DCM (6x2,5mL) puis au DMF (6x2,5mL).

IR(solid): v_{max} (cm⁻¹) = 3413 (NH), 1746 (CO), 1214 (NCOO).

Déprotection de l'Alloc :

Dans un réacteur miniblock, la résine PS-OCOgSarAlloc **IVB4** (122mg, 0,13.mmol) est gonflée dans le DCM. Puis une solution de $Pd(PPh_3)_4$ (15mg, 0,013mmol, 0,1éq) et de PhSiH₃ (160µL, 1,3mmol, 10éq) dans le DCM (2,5 mL) est ajoutée et le milieu est vortexé pendant 15min (2x) à température ambiante. La résine est ensuite lavée au DCM (6x2,5mL) puis au DMF (6x2,5mL).

IR(solid): v_{max} (cm⁻¹) = 3413 (NH), 1746 (CO), 1214 (NCOO).

Synthèse des composés présentés en section IV.B (*Méthode A : Application à la construction d'une chimiothèque combinatoire d'1,3,5-triazépane-2,6-diones*) :

<u>Synthèse des hétérocycles *cyclo*(XaagSar)CO (figure IV.C.1) à partir de résine PS-OCOgSarGP à travers l'exemple de l'hétérocycle *cyclo*(PhegSar)CO (IB6a) :</u>



Dans un réacteur miniblock, la résine PS-OCOgSarGP (0,13 mmol) est gonflée dans le DCM. Le groupe protecteur est clivé dans les conditions décrites ci-dessus. La résine est ensuite gonflée dans la DMF, puis la solution de BocPheOH (172mg, 0,65mmol, 5éq) dans la DMF (1mL) l'HOBt (88mg, 0,65mmol, 5éq) dans la DMF (1mL) et la DIC (100 μ L, 0,65mmol, 5éq) sont ajoutées. Le mélange réactionnel est vortexé 1h à

température ambiante, puis la résine est lavée DMF (6x2mL). L'étape de couplage est répétée dans les mêmes conditions puis la résine est lavée par du DMF (6x2mL), du DCM (6x2mL), et de l'Et₂O (6x2mL) successivement.

IR(solid): v_{max} (cm⁻¹) = 3420, 3329 (NH), 1751, 1710, 1655 (CO), 1205, 1163 (NCOO). Ensuite, la résine est gonflée dans du DCM et elle est vortexée en présence d'une solution de TFA (25%) dans le DCM pendant 25min à température ambiante avant d'être lavée au DCM (6x2mL) puis avec une solution de DIEA (111µL, 0,65mmol, 5éq) dans le DCM. Le toluène (2,5mL), puis la DIEA (111µL, 0,65mmol, 5éq) sont ensuite ajoutés et le milieu est chauffé à
80°C pendant 48h. La résine est éliminée par filtration et l'évaporation du filtrat, suivie du séchage sous vide permettent d'obtenir l'hétérocycle *cyclo*(PhegSar)CO (**IB6a**, 7mg, 0,03mmol, 23%) sous la forme d'un solide blanc.

C₁₂H₁₅N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1.2 mL/min, 20 min): $t_{\rm R} = 10.38$ min; $[\alpha_{\rm D}^{20^{\circ}\rm C}] = -41.3$ (c = 0.01 dans MeOH) ; IR (solide): $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3182 (NH), 3049 (Csp²), 2928 (Csp³) 1651 (CO) ; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=2.81 (dd, J^{3} =8.9 Hz, J^{2} =14.4 Hz, CH₂Ph, 1H), 3.08 (s, NCH₃, 3H), 3.35 (dd, J^{3} =5.2 Hz, J^{2} =14.4 Hz, CH₂Ph, 1H), 4.00 (dd, J^{3} =7.0 Hz, J^{2} =15.6 Hz, NCH₂N, 1H), 4.62-4.65 (m, NCHCO, 1H), 4.87 (br., NH), 5.20 (dd, J^{3} =5.1 Hz, J^{2} =15.5 Hz, NCH₂N, 1H), 6.97 (br., NH), 7.24-7.27 (m, H-Ar, 3H), 7.31-7.34 (m, H-Ar, 2H) ; ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=33.83 (CH₃), 37.33 (CH₂), 54.51 (CH), 56.03 (CH₂), 127.23, 128.95, 129.26 (CH-Ar), 136.21 (Cq-Ar), 157.81, 169.94 ppm (CO); HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₁₂H₁₆N₃O₂ : 234.1242, expérimentale : 234.1281.

Synthèse parallèle des hétérocycles :

Les hétérocycles suivant ont été synthétisés en parallèle en utilisant le multisynthétiseur MiniBlock en suivant la procédure ci-dessus décrite pour **IB6a**. La résine fonctionnalisée avec le premier aminoacide PS-OCOgSarBoc **IVB7** a été distribuée dans les réacteurs à l'aide d'un disperseur de résine calibré. Un tel procédé permet de gagner du temps en évitant de peser la quantité de résine pour chaque réacteur, cependant il conduit à une répartition approximative de la résine. Par conséquent la pesée du produit final ne permet pas de déterminer un rendement significatif. Toutefois, l'étape la plus limitante étant l'accrochage du premier aminoacide, il est fort probable que le rendement de synthèse des hétérocycles dont la pureté du brut est optimale, soit voisine de celle obtenu pour **IB6a** (23%, comme ci-dessus).

Cyclo(Ala-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 1) :

 $C_6H_{11}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 1–31% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =1.97 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_6H_{11}LiN_3O_2$: 164.101, expérimentale : 164.100.





Cyclo(Asp(OBzl)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 2) :

 $\begin{array}{l} C_{14}H_{17}N_{3}O_{4},\,C_{18}\text{-RP-HPLC}\;(A:\,0.1\%\;\text{TFA in}\;H_{2}O,\,B:\,0.08\%\\ \text{TFA in}\;MeCN,\,0\text{--}100\%\;B,\,1.2\;\text{mLmin}_1,\,10\;\text{min})\text{: }t_{R}\text{=-}6.72\\ \text{min}\;\text{;} \end{array}$

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₄H₁₇LiN₃O₄: 298.137, expérimentale : 298.137.

Cyclo(Cys(p-MeBzl)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 3) :

 $C_{14}H_{19}N_3O_2S$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H_2O , B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.40 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₄H₁₉LiN₃O₂S: 300.135, expérimentale : 300.136.













Cyclo(Glu(OBzl)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 4) :

 $C_{15}H_{19}N_3O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.00 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₅H₁₉N₃NaO₄: 328.127, expérimentale : 328.127.

Cyclo(Pip-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 5) :

C₉H₁₅N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=4.77 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₉H₁₅N₃NaO₂: 220.106, expérimentale : 220.104.

Cyclo(Ile-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 6) :

C₉H₁₇N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=5.61 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₉H₁₇LiN₃O₂: 206.148, expérimentale : 206.147.

Cyclo(Leu-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 7, IB6d) :

 $C_9H_{17}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =5.84 min ;

HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₉H₁₇N₃NaO₂: 222.121, expérimentale : 222.122.

Cyclo(Lys(2-Cl-Cbz)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 8) :

 $C_{17}H_{23}CIN_4O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=7.47 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₇H₂₃ClLiN₄O₄: 389.156, expérimentale : 389.154.

Cyclo(Ser(Bzl)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 11) :

 $C_{13}H_{17}N_3O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =6.54 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{13}H_{17}N_3NaO_3$: 286.116,

expérimentale : 286.115.













Cyclo(Thr(Bzl)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 12) :

 $C_{14}H_{19}N_3O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=6.90 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₄H₁₉LiN₃O₃: 284.144, expérimentale : 284.151.

Cyclo(Trp(Formyl)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 13) :

 $C_{15}H_{16}N_4O_3, C_{18}\mbox{-RP-HPLC}$ (A: 0.1% TFA in H2O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): $t_R\mbox{=}6.50$ min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₅H₁₆N₄NaO₃: 323.111, expérimentale : 323.113.

Cyclo(Tyr(Bzl)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 14) :

 $C_{19}H_{21}N_3O_3,\,C_{18}\mbox{-RP-HPLC}$ (A: 0.1% TFA in H2O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=8.09 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₉H₂₁LiN₃O₃: 346.174, expérimentale : 346.174.

Cyclo(Val-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 15, IB6c) :

 $C_8H_{15}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =4.57 min ;

HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₈H₁₅LiN₃O₂: 192.132, expérimentale : 192.134.

Cyclo(4-Fphe-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 17) :

 $C_{12}H_{14}FN_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =6.50 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₂H₁₄ FLiN₃O₂: 258.122, expérimentale : 258.121.

Cyclo(D-Phe-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 18, IB6b) :

 $\begin{array}{l} C_{12}H_{15}N_{3}O_{2}, \ C_{18}\text{-RP-HPLC} \ (A: \ 0.1\% \ TFA \ in \ H_{2}O, \ B: \ 0.08\% \\ TFA \ in \ MeCN, \ 0-100\% \ B, \ 1.2 \ mLmin_1, \ 10 \ min): \ t_{R}{=}6.21 \\ min \ ; \end{array}$

HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₂H₁₅N₃NaO₂: 256.106, expérimentale : 256.105.

Cyclo(D-Val-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 19) :













 $C_8H_{15}N_3O_2,\,C_{18}\mbox{-RP-HPLC}$ (A: 0.1% TFA in H2O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min) : $t_R\mbox{=}4.71$ min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₈H₁₅LiN₃O₂: 192.132, expérimentale : 192.130.

Cyclo(D-Ile-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 20) :

 $C_9H_{17}N_3O_2,\,C_{18}\mbox{-RP-HPLC}$ (A: 0.1% TFA in H2O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): $t_R\mbox{=}5.57$ min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₉H₁₇LiN₃O₂: 206.1475, expérimentale : 206.1455.

Cyclo(D-Leu-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 21) :

C₉H₁₇N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=5.69 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₉H₁₇N₃NaO₂: 222.121, expérimentale : 222.121.

Cyclo(Tic-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 4, IB6h) :

 $C_{13}H_{15}N_3O_2,\,C_{18}\mbox{-RP-HPLC}$ (A: 0.1% TFA in H2O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): $t_R\mbox{=}6.83$ min ;

HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₃H₁₅N₃NaO₂: 268.1056, expérimentale : 268.1064.

Cyclo(Arg(Cbz₂)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 23) :

 $C_{25}H_{30}N_6O_6$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=8.06 min ;

HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₂₅H₃₀N₆NaO₆: 533.212, expérimentale : 533.209.

Cyclo(Asp(OAll)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 25) :

 $C_{10}H_{15}N_3O_4,\,C_{18}\mbox{-RP-HPLC}$ (A: 0.1% TFA in H2O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): $t_R\mbox{=}5.45$ min ;

HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₀H₁₅LiN₃O₄: 248.122, expérimentale : 248.122.

Cyclo(Cys(4-MOBzl)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 26) :

 $C_{14}H_{19}N_3O_3S$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.09 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₄H₁₉LiN₃O₃S: 316.130, expérimentale : 316.129.

Cyclo(Sar-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 30) :

 $C_6H_{11}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 1–31% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=1.26 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_6H_{11}LiN_3O_2$: 164.101, expérimentale : 164.098.

Cyclo(Tyr(All)-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 31) :

 $C_{15}H_{19}N_3O_3,\,C_{18}\mbox{-RP-HPLC}$ (A: 0.1% TFA in H2O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=7.23 min ;

HRMS(ESI): m/z: calculée pour C₁₅H₁₉LiN₃O₃: 296.1581, expérimentale : 296.1590.

Cyclo(Nle-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 32, IIB27) :

C₉H₁₇N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =5.96 min ;

HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₉H₁₇N₃NaO₂ : 222.121, expérimentale : 222.120.

Cyclo(Cha-gSar-CO) (figure IV.C.1, entrée 33) :

 $C_{12}H_{21}N_3O_2$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.23 min ;

HRMS(ESI): m/z : calculée pour C₁₂H₂₁N₃NaO₂ : 262.153, expérimentale : 262.154.

Synthèse des composés présentés en section IV.C (*Méthode B : Formation du dipeptide carboxamide/réarrangement d'Hofmann/accrochage sur la résine suivi du cycloclivage*)

Synthèse de BocPheSarNH2 (IVD7) sur la résine de Sieber :



Dans un réacteur miniblock, la résine de Sieber est gonflée dans de la DMF (L=0,67mmol.g⁻¹, 672mg, 0,45mmol), puis elle est vortexée en présence d'une solution de pipéridine (20%) dans la DMF (2,5mL) pendant 30min à température ambiante (2x). La résine est ensuite lavée avec de la DMF (6x2,5mL) avant l'introduction de solutions de FmocSarOH (700mg, 2,25mmol,









5éq) dans la DMF (1,5mL) et d'HOBt (304mg, 2,25mmol, 5éq) dans la DMF (1mL), puis l'introduction de DIC (348µL, 2,25mmol, 5éq). Le milieu réactionnel est vortexé pendant 1h à température ambiante puis la résine est lavée avec de la DMF(3x2,5mL). L'étape de couplage est répétée dans les mêmes conditions pendant 4h à température ambiante puis la résine est lavée successivement avec de la DMF (3x2,5mL), du MeOH (6x2,5mL) et de la DMF (6x2,5mL). La résine est ensuite traitée avec la solution de pipéridine (20%) dans la DMF (2,5mL), le mélange est vortexé pendant 30min à température ambiante (2x). La résine est ensuite lavée avec de la DMF (6x2,5mL) avant l'introduction de BocPheOH (597mg, 2,25mmol, 5éq) dans la DMF (1,5mL), de HOBt (304mg, 2,25mmol, 5éq) dans la DMF (1mL), puis de DIC (348µL, 2,25mmol, 5éq). Le milieu réactionnel est vortexé pendant 1h à température ambiante puis la résine est lavée avec de la DMF (3x2,5mL). L'étape de couplage est répétée dans les mêmes conditions pendant 1h à température ambiante puis la résine est lavée successivement avec de la DMF (3x2,5mL), du MeOH (6x2,5mL), de la DMF (6x2,5mL), du DCM (6x2,5mL) et de l'Et₂O (6x2,5mL). Le clivage du dipeptide carboxamide est ensuite effectué par traitement de la résine avec une solution de TFA (2%) dans le DCM (6x2,5mL) pendant 10min. Les 6 fractions filtrées sont réunies, de la pyridine (657µL, 7,82mmol, 2éq) est ajoutée et le solvant est évaporé. Le dipeptide est repris dans un mélange eau/MeCN (1:5, v:v) pour être lyophilisé.

C₁₂H₁₅N₃O₂, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1.2 mL/min, 10 min): $t_{\rm R} = 7.78$ min ; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =1.41 (s, 9H, CH₃C), 2.78 − 3.03 (m, 2H, ArCH₂CH), 2.83 (s, 3H, NCH₃), 3.57 (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.35 (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.53 − 4.79 (m, 1H, NCHCO), 5.33 (br d, J^3 =8.1 Hz, 2H, NH₂), 6.39 (br, 1H, NH), 7.15 − 7.35 ppm (m, 5H, H-Ar).

Synthèse de la résine PS-SuOH :

Résine polystyrène N-hydroxysuccinimide (IVB12, PS-SuOH) :



La résine polystyrène méthyl-thiol (PS-SH, 3.00g, 5.61mmol) est gonflée dans le THF distillé, puis de l'*N*-hydroxymaléimide (1,27g, 11,22mmol, 2,0éq) en solution dans le THF (30mL) et de la DIEA (381 μ L, 2,24mmol, 0,4éq) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est agité 4h sous atmosphère d'argon, à température ambiante. La résine est ensuite filtrée et lavée avec

du THF (6x30mL) et du DCM (6x30mL) de la DMF (6x30mL). Le filtrat est ensuite évaporé, séché sous vide et le *N*-hydroxymaléimide en excès est pesé (630mg, 5,57 mmol). La résine est encore lavée au DMF (6x30mL), à l'eau (6x30mL), au MeOH (6x30mL), au DCM (6x30mL) et à l'Et₂O (6x30mL) succéssivement, puis elle est séchée sous vide (3,63g, 5.58mmol, 1,54mmol.g⁻¹).

IR(solid): v_{max} (cm⁻¹) = 1790, 1715 (CO), 1215 (NCO).

Synthèse des hétérocycles de cyclo(PhegSar)CO (IB6a) à partir de BocPheSarNH2:



Le BocPheSarNH₂ (0,45mmol) est dissout dans du THF (2,5mL). La solution est placée dans un réacteur miniblock, de la pyridine (58 μ L, 0,72mmol, 1,6éq) puis du PIFA (155mg, 0,36mmol, 0,8éq) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est vortexé 1h à température ambiante et la résine *N*-hydroxysuccinimide (**IVB12**, 58mg, 0,09mmol, 0,2éq) est ensuite ajoutée. Le mélange est vortexé pendant 3h à température ambiante, puis

la résine est filtrée et lavée avec du THF (6x2,5mL), du DMF (6x2,5mL), du DCM (6x2,5mL) puis de l'Et₂O (6x2,5mL). La résine est séchée sous vide et analysée par spectrométrie IR.

IR(solid): v_{max} (cm⁻¹) = 3289 (NH), 1785, 1741, 1715, 1651 (CO), 1210 (NCO), 1165 (NCOO).

La résine est gonflée dans le DCM, puis une solution de TFA (25%) dans le DCM (2,5mL) est ajoutée et le mélange est vortexé 30min à température ambiante. La résine est ensuite filtrée puis lavée au DCM (6x2,5mL). Le traitement par la solution de TFA et l'étape de lavage sont répétés. La résine est gonflée dans le THF et une solution de DIEA (100µL, 0,45mmol, 5éq) dans le THF distillé (2,5mL) est ajoutée. Le mélange est vortexé pendant 4h à 35°C. Le milieu réactionnel est filtré et le solvant est évaporé puis l'échantillon est séché sous vide. Le brut réactionnel est ensuite solubilisé dans le DCM et l'hétérocycle est purifié par l'ajout d'une résine bicarbonate de triméthylammonium (L=3,0mmol.g-1, 750mg, 2,25mmol, 5éq). Le mélange est vortexé pendant 3h, puis le milieu réactionnel est filtré. Le filtrat est évaporé et après séchage sous vide, l'hétérocycle (14mg, 0,06mmol, 67%) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

<u>Synthèse des hétérocycles de la résine PS-OCOgSarPheBoc (IVB8) à partir de BocPheSarNH₂ et de la résine PS-oxime :</u>



Le BocPheSarNH₂ (0,45mmol) est dissout dans du THF (2,5mL). La solution est placée dans un réacteur miniblock, de la pyridine (58 μ L, 0,72mmol, 1,6éq) puis du PIFA (155mg, 0,36mmol, 0,8éq) sont ajoutés. Le milieu réactionnel est vortexé 1h à température ambiante et la résine oxime (1,3mmol.g⁻¹, 170mg, 0,09mmol, 0,2éq) est ensuite ajoutée. Le mélange est vortexé pendant 3h à 70°C, puis

la résine est filtrée et lavée avec du THF (6x2,5mL), du DMF (6x2,5mL), du DCM (6x2,5mL) puis de l'Et₂O (6x2,5mL). La résine est séchée sous vide et analysée par spectrométrie IR. IR(solid) : v_{max} (cm⁻¹) = 3321 (NH), 1750, 1714, 1657 (CO), 1601 (CN), 1161 (NCOO).

Synthèse des composés présentés en section IV.D.2 (*Mise au point d'une synthèse assistée par un réactif supporté (SSR) d'1,3,5-triazépane-2,6-diones fonctionnalisées par un amide*)

Synthèse d'amide :

2-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-3-phényl-propionate de benzyle (figure IV.E.2, entrée 5) :



Le composé **IVE2** (acide (6-Benzyl-1-méthyl-4,7dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétique, 50mg, 0,17mmol) et PTSA.HPheOBn (90mg, 0,21mmol, 1,2éq) sont dissouts dans du DCM (3mL). PS-DIPAM (255mg, 0,51mmol, 3,0éq) et PS-IIDQ (104mg, 0,21mmol, 1,2éq) sont ajoutés et le milieu est agité pendant 3j. Après filtration, une résine isocyanate (PS-NCO, 100mg,

0,17mmol, 1éq) est ajoutée. Après 2h d'agitation, le mélange est filtré et le solvant est évaporé. Après séchage sous vide, le composé attendu (69mg, 0,13mmol, 76%) est obtenu sous la forme d'un solide blanc.

C₃₀H₃₂N₄O₅, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1.2 mL/min, 20 min): $t_{\rm R}$ = 14.87 min ; IR (solide) : $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3400, 3309 (NH), 1736, 1675, 1667, 1644 (C=O) 1555 (NH), 1260, 1188 (NHCO), 1173 (C-O), 1156 (NHCO) ; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =2.80 (dd, J^{3} =9.3 Hz, J^{2} =14.4 Hz, 1H, CH₂Ph), 2.94 – 3.19 (m, 2H, CH₂Ph), 3.01 (s, 3H, NCH₃), 3.35 (dd, J^{3} =4.5 Hz, J^{2} =14.4 Hz, 1H, CH₂Ph), 3.79 (d, J^{2} =15.9 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.11 (d, J^{2} =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 4.14 (d, J^{2} =15.9 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.45 – 4.54 (m, 1H, NCHCO), 4.72 (br d, 1H, NH), 4.77 – 4.86 (m, 1H, NCHCO), 5.03 (m, 3H, NCH₂N, OCH₂), 6.86 (d, J^{3} =7.8 Hz, 1H, NH), 6.97 – 7.41 ppm (m, 15H, H-Ar) ; ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =34.5 (CH₃), 37.6, 38.0, 52.9 (CH₂), 53.2, 55.8 (CH), 62.3, 67.3 (CH₂), 127.1, 127.3, 128.5, 128.6, 128.6, 129.0, 129.2, 129.3 (CH-Ar), 135.0, 135.5, 136.1 (Cq-Ar), 157.4, 169.0, 169.5, 171.0 ppm (CO) ; HRMS(ESI) : m/z : calculée pour C₃₀H₃₂LiN₄O₅ : 535.2528, expérimentale : 535.2465.

N-Benzyl-2-(6-benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétamide (figure IV.E.2, entrée 6) :



Dans ce cas, la benzylamine $(17,3\mu L, 0,16 \text{ mmol}, 1,2\text{éq})$ est utilisée et le milieu réactionnel est agité sans la présence de base pendant 3j. Le composé attendu (35,4mg, 0,13mmol, 97%) est obtenu sous forme solide blanc.

 $\begin{array}{c} & C_{21}H_{24}N_4O_3, \ C_{18}\text{-RP-HPLC} \ (A:\ 0.1\% \ \text{TFA} \ dans \ H_2O, \ B: \\ 0.08\% \ \text{TFA} \ dans \ \text{MeCN}, \ 0-100\% \ B, \ 1.2 \ \text{mL/min}, \ 20 \ \text{min}): \ t_{\text{R}} = 12.14 \ \text{min} \ ; \ \text{IR} \ (\text{solide}): \ \nu_{\text{max}} \\ (\text{cm}^{-1}) = \ 3395, \ 3204 \ (\text{NH}), \ 1689, \ 1660 \ (\text{C=O}), \ 1275, \ 1261 \ (\text{NHCO}) \ ; \ ^{13}\text{C-NMR} \ (300 \ \text{MHz}, \\ \text{CDCl}_3, \ 298 \ \text{K}): \ \delta = 34.5 \ (\text{CH}_3), \ 37.9, \ 43.3, \ 53.1 \ (\text{CH}_2), \ 55.7 \ (\text{CH}), \ 62.6, \ 67.3 \ (\text{CH}_2), \ 127.3, \\ 127.4, \ 127.6, \ 128.6, \ 129.0, \ 129.2 \ (\text{CH-Ar}), \ 136.0, \ 137.8 \ (\text{Cq-Ar}), \ 157.4, \ 169.2, \ 169.7 \\ \text{ppm} \ (\text{CO}) \ ; \ \text{HRMS(ESI)}: \ m/z \ : \ \text{calculée} \ \text{pour} \ C_{21}H_{24}\text{LiN}_4O_3: \ 387.2003, \ \text{expérimentale}: \\ 387.1981. \end{array}$

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N-tert*-butyl-acétamide (figure IV.E.2, entrée 3) :



Dans ce cas, la *tert*-butylamine $(21\mu L, 0, 20 \text{ mmol}, 1, 2\acute{eq})$, la PS-DIPAM (128mg, 0,25mmol, 1,5 \acute{eq}) et la PS-IIDQ (169mg, 0,34mmol, 2,0 \acute{eq}) sont utilisées et le milieu réactionnel est agité pendant 4j. Le composé attendu (52mg, 0,15mmol, 88%) est obtenu sous forme solide blanc.

 $^{/}$ C₁₈H₂₆N₄O₃, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1.2 mL/min, 20 min): $t_{\rm R} = 11.60$ min ; IR (solide): $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3301 (NH), 1640 (C=O), 1548 (NH), 1274, 1260 (NHCO) ; ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=28.6, 34.5 (CH₃), 38.0 (CH₂), 51.3 (Cq), 54.0 (CH₂), 55.8 (CH), 62.7 (CH₂), 127.3, 129.0, 129.3 (CH-Ar), 136.0 (Cq-Ar), 157.5, 168.5, 169.7 ppm (CO) ; HRMS(ESI) : m/z : calculée pour C₁₈H₂₆LiN₄O₃ : 353.216, expérimentale : 353.215.

N,N-Dibenzyl-2-(6-benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétamide (figure IV.E.2, entrée 4) :



Dans ce cas, la dibenzylamine $(17,3\mu L, 0,16 \text{ mmol}, 1,2\text{éq})$, la PS-DIPAM (128mg, 0,25mmol, 1,5éq) et la PS-IIDQ (169mg, 0,34mmol, 2,0éq) sont utilisées et le milieu réactionnel est agité pendant 4j. Le composé attendu (75mg, 0,16mmol, 93%) est obtenu sous forme solide blanc.

C₂₈H₃₀N₄O₃, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0-100% B, 1.2 mL/min, 20 min):

 $t_{\rm R} = 14.91 \text{ min}$; IR (solide): $v_{\rm max}$ (cm⁻¹) = 3209 (NH), 1681, 1653 (C=O), 1212, 1199 (NHCO); ¹³C-NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =34.5 (CH₃), 38.0, 48.9, 49.5, 50.7 (CH₂), 55.7 (CH), 62.9 (CH₂), 126.4, 127.2, 127.6, 127.8, 128.2, 128.5, 128.7, 129.0, 129.3 (CH-Ar), 135.8, 136.1, 136.5 (Cq-Ar), 157.4, 169.4, 170.0 ppm (CO); HRMS(ESI) : m/z : calculée pour C₂₈H₃₀LiN₄O₃ : 477.2473, expérimentale : 477.2433.

Synthèse des composés présentés en section IV.D.3 (Synthèse d'une chimiothèque d'1,3,5triazépane-2,6-diones fonctionalisées par un amide)

Construction de la chimiothèque d'amides par synthèse parallèle à travers l'exemple du 7-Benzyl-5-méthyl-3-(2-oxo-2-pipéridin-1-yl-éthyl)-[1,3,5]triazépane-2,6-dione (figure IV.E.3, entrée 2) :



Le composé **IVE2** (acide (6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétique, 25mg, 0,09mmol) est dissout dans un mélange DCM/MeCN (2 : 1, v : v, 3mL) puis placé dans un réacteur miniblock. La pipéridine (10,17 μ L, 0,10mmol, 1,2éq), PS-DIPAM (64mg, 0,12mmol, 1,5éq) et PS-IIDQ (85mg, 0,17mmol, 2,0éq) sont ajoutés et le milieu

est vortexé pendant 3j puis il est filtré et une résine isocyanate (PS-NCO, 45mg, 0,09mmol, 1éq) est ajoutée. Après 8h d'agitation, le mélange est filtré et le solvant est évaporé. Après séchage sous vide, le composé amide (69mg, 0,13mmol, 76%) est obtenu. $C_{19}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.23 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{19}H_{26}N_4NaO_3$: 381.190, expérimentale : 353.185.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-N-cyclopropyl-acétamide (IV.E.3, entrée 1) :



 $C_{17}H_{22}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =6.66 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{17}H_{22}N_4NaO_3$: 353.158, expérimentale : 353.156.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-N-cyclohexyl-acétamide (IV.E.3, entrée 3) :



 $C_{20}H_{28}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.81 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{20}H_{28}N_4NaO_3$: 395.205, expérimentale : 395.202.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N-sec*-butyl-acétamide (IV.E.3, entrée 4) :



 $C_{18}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.24 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{18}H_{26}LiN_4O_3$: 353.216, expérimentale : 353.213.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-cyclopentyl-acétamide (IV.E.3, entrée 5) :



 $C_{19}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.38 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{19}H_{26}N_4NaO_3$: 381.190, expérimentale : 381.186.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-isopropyl-acétamide (IV.E.3, entrée 6) :



 $C_{17}H_{24}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =6.79 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{17}H_{24}N_4NaO_3$: 355.174, expérimentale : 355.172.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*,*N*-diéthyl-acétamide (IV.E.3, entrée 7) :



 $C_{18}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.08 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{17}H_{22}N_4NaO_3$: 369.190, expérimentale : 369.185.

N,*N*-Dibenzyl-2-(6-benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétamide (IV.E.3, entrée 8) :



 $C_{28}H_{30}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =9.36 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{18}H_{30}N_4NaO_3$: 493.221, expérimentale : 493.217.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-naphthalèn-1-yl-méthyl-acétamide (IV.E.3, entrée 10) :



 $C_{25}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R=13.83 min ; HRMS(ESI): *m*/*z* : calculée pour $C_{25}H_{26}N_4NaO_3$: 453.171, expérimentale : 453.169.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-(3,4-diméthoxy-benzyl)-acétamide (IV.E.3, entrée 11) :



 $C_{23}H_{28}N_4O_5$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.37 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{23}H_{28}N_4NaO_5$: 463.195, expérimentale : 463.189.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-(3-méthoxy-propyl)-acétamide (IV.E.3, entrée 12) :



 $C_{18}H_{26}N_4O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =6.50 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{18}H_{26}N_4NaO_4$: 385.185, expérimentale : 385.189.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-phenéthyl-acétamide (IV.E.3, entrée 13) :



 $C_{22}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.92 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{22}H_{26}LiN_4O_3$: 401.216, expérimentale : 401.214.

N-Benzyl-2-(6-benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétamide (IV.E.3, entrée 14) :



 $C_{21}H_{24}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=7.65 min ; HRMS(ESI): *m*/*z* : calculée pour $C_{21}H_{24}N_4NaO_3$: 403.174, expérimentale : 403.169.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-(2,2-diméthyl-[1,3]dioxolan-4-ylméthyl)-acétamide (IV.E.3, entrée 15) :



 $\begin{array}{l} C_{20}H_{28}N_4O_5, \ C_{18}\text{-RP-HPLC} \ (A:\ 0.1\% \ TFA \ in \ H_2O, \ B: \\ 0.08\% \ TFA \ in \ MeCN, \ 0-100\% \ B, \ 1.2 \ mLmin_1, \ 10 \\ min): \ t_R = 6.82 \ min \ ; \ HRMS(ESI): \ \textit{m/z}: \ calculée \ pour \\ C_{20}H_{28}N_4NaO_5: \ 427.195, \ expérimentale: \ 427.197. \end{array}$

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-cyclohexyl-*N*-isopropyl-acétamide (IV.E.3, entrée 16) :



 $C_{23}H_{34}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =9.21 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{23}H_{34}N_4NaO_3$: 437.252, expérimentale : 437.248.

N-Benzyl-2-(6-benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-méthyl-acétamide (IV.E.3, entrée 17) :



 $C_{22}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=8.01 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{22}H_{26}LiN_4O_3$: 401.216, expérimentale : 401.212.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-prop-2-ynyl-acétamide (IV.E.3, entrée 18) :



 $C_{17}H_{20}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =6.47 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{17}H_{20}N_4NaO_3$: 351.143, expérimentale : 351.139.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N-tert*-butyl-acétamide (IV.E.3, entrée 19) :



 $C_{18}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=7.33 min ; HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour $C_{18}H_{26}N_4NaO_3$: 369.190, expérimentale : 369.185.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-isobutyl-acétamide (IV.E.3, entrée 20) :



 $C_{18}H_{26}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =7.25 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{18}H_{26}LiN_4O_3$: 353.216, expérimentale : 353.211.

N-Allyl-2-(6-benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétamide (IV.E.3, entrée 21) :



 $C_{17}H_{22}N_4O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =6.65 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{17}H_{22}LiN_4O_3$: 337.185, expérimentale : 337.181.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-(1-benzyl-pipéridin-4-yl)-acétamide (IV.E.3, entrée 22) :



C₂₆H₃₃N₅O₃, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R =11.00 min ; HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour C₂₆H₃₄N₅O₃ : 464.266, expérimentale : 464.266.

2-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-malonate de diméthyle (IV.E.3, entrée 24) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{19}H_{24}N_4O_7, C_{19}H_{24}N_4O_7, C_{18}$ -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2

mLmin_1, 10 min): $t_R=6.88 \text{ min}$; HRMS(ESI): m/z: calculée pour $C_{19}H_{24}N_4NaO_7$: 443.154, expérimentale : 443.150.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-cyanométhyl-acétamide (IV.E.3, entrée 25) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté.

 $C_{16}H_{19}N_5O_3$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=6.26 min ; HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour $C_{16}H_{19}N_5O_3$: 329.150, expérimentale : 330.155.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-méthoxy-*N*-méthyl-acétamide (IV.E.3, entrée 27) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{16}H_{22}N_4O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=6.63 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{16}H_{22}LiN_4O_4$: 341.180, expérimentale : 341.176.

4-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-butyrate de méthyle (IV.E.3, entrée 28) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté.

 $C_{19}H_{26}N_4O_5$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=6.76 min ; HRMS(ESI): *m/z* : calculée pour $C_{19}H_{26}N_4NaO_5$: 413.180, expérimentale : 413.177.

2-[(6S)-6-benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-1,3,5-triazépane-3-yl]-*N*-(carbamothioylamino)-acétamide (IV.E.3, entrée 29) :



Dans ce cas, les produits sont solubilisés dans un mélange DCM/MeCN/pyridine (20 : 10 : 5, v : v : v, 3mL) et léq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté.

 $C_{15}H_{20}N_6O_3S$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =8.21 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{16}H_{23}LiN_6O_2S$: 370.176, expérimentale : 370.173.

2-[(6S)-6-benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-1,3,5-triazépane-3-yl]-*N*-(carbamoylamino)-acétamide (IV.E.3, entrée 30) :



Dans ce cas, les produits sont solubilisés dans un mélange DCM/MeCN/pyridine (20 : 10 : 5, v : v : v, 3mL) et 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté.

 $C_{15}H_{20}N_6O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =8.26 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{16}H_{23}LiN_6O_3$: 354.199, expérimentale : 354.198.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-benzyloxy-acétamide (IV.E.3, entrée 31) :



Dans ce cas, léq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{21}H_{24}N_4O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=7.62 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{21}H_{24}LiN_4O_4$: 403.195, expérimentale : 403.194.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-(4-nitro-benzyloxy)-acétamide (IV.E.3, entrée 34) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{21}H_{23}N_5O_6$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R=12.40 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{21}H_{23}LiN_5O_6$: 448.180, expérimentale : 448.180.

1-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétyl]-pyrrolidine-2carboxamide (IV.E.3, entrée 35) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{19}H_{25}N_5O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=6.20 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{19}H_{25}N_5NaO_4$: 410.180, expérimentale : 410.174.

1-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétyl]-pyrrolidine-2carboxylate de benzyle (IV.E.3, entrée 36) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{26}H_{30}N_4O_5$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=8.54 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{26}H_{30}LiN_4O_5$: 485.237, expérimentale : 485.231.

2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-*N*-carbamoylméthyl-acétamide (IV.E.3, entrée 37) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté.

 $C_{16}H_{21}N_5O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R=13.36 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{18}H_{25}LiN_3O_4$: 354.200, expérimentale : 354.199.

2-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-succinate de dibenzyle (IV.E.3, entrée 38) :



 $C_{32}H_{34}N_4O_7$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =9.48 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{32}H_{28}NNaO_{10}$: 609.161, expérimentale : 609.228.

2-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-succinate de dibenzyle (IV.E.3, entrée 39) :



 $C_{32}H_{34}N_4O_7$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R =9.44 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{32}H_{34}$ LiN₄O₇ : 593.258, expérimentale : 593.259

2-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-propionate de *tert*-butyle (IV.E.3, entrée 40) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{21}H_{30}N_4O_5$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=7.93 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{21}H_{30}LiN_4O_5$: 425.237, expérimentale : 425.233.

2-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-propionamide (IV.E.3, entrée 41) :



Dans ce cas, les produits sont solubilisés dans un mélange DCM/MeCN/pyridine (20 : 10 : 5, v : v : v, 3mL) et 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté.

 $C_{17}H_{23}N_5O_4$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min): t_R =8.95 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{17}H_{23}N_5NaO_4$: 384.181, expérimentale : 384.201.

[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-acétate de *tert*butyle (IV.E.3, entrée 42) :



Dans ce cas, léq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{20}H_{28}N_4O_5$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=7.49 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{20}H_{28}N_4NaO_5$: 428.211, expérimentale : 428.228

2-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-3-méthylbutyrate de benzyle (IV.E.3, entrée 43) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{26}H_{32}N_4O_5$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=8.92 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{26}H_{32}LiN_4O_5$: 487.253, expérimentale : 487.246.

2-[2-(6-Benzyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétylamino]-4-méthanesulfinyl-butyrate de méthyle (IV.E.3, entrée 44) :



Dans ce cas, 1éq de PS-DIPAM (107mg, 0,21mmol, 2,5éq) supplémentaire est ajouté. $C_{20}H_{28}N_4O_6S$, C_{18} -RP-HPLC (A: 0.1% TFA in H₂O, B: 0.08% TFA in MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 10 min): t_R=7.46 min ; HRMS(ESI): m/z : calculée pour $C_{20}H_{28}LiN_4O_5S$: 443.194, expérimentale : 443.190.

• Synthèse des composés et leur évaluation comme inhibiteurs de sPLA2 présentés au chapitre VI (*Application des 1,3,5-triazépane-2,6-diones comme inhibiteurs des phospholipases A2 sécrétées*)

Synthèse des composés présentés en section VI.G.1 (*triazépanediones testées sur les hGV-et hGX-sPLA2*)

2-(6-isopropyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-N-méthoxy-N-méthyl-acétamide (VIG6) :



L'acide (6-isopropyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]-triazépane-3-yl)acétique (**VIG7**, 414mg, 1,70mmol) est dissout dans l'acétonitrile (10mL). Ensuite, du chlorure de *O*,*N*-diméthyl-hydroxylamonium (200mg, 2,04mmol, 1,2éq), de la DIEA (348 μ L, 2,04mmol, 1,2éq), puis du DIC (290 μ L, 1,87mmol, 1,1éq) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est agité 4h à température ambiante, puis

l'acétonitrile est évaporé. Le brut réactionnel est purifié par colonne chromatographique flash

(EtOAc/MeOH, 100:2, v/v) pour obtenir le composé **VIG6** (462 mg, 1,61 mmol, 94%) sous forme d'un solide blanc.

C₁₂H₂₂N₄O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R= 8.35 min ; IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3214 (NH), 1665, 1652, 1635 (C=O), 1260, 1182 (NHCO) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =1.01, 1.04 (d, *J* ³=6.6 Hz, 6H, C*H*(CH₃)₂), 2.07 – 2.62 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.07 (s, 3H, ONCH₃), 3.17 (s, 3H, NCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.94 (dd, *J* ³=3.9 Hz, *J* ³=7.2 Hz, 1H, NCHCO), 4.21 (d, *J* ²=17.4 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.49 (d, *J* ²=17.4 Hz, 1H, NCH₂CO), 4.51 (d, *J* ²=15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 5.04 (br d, *J* ³=3.6 Hz, 1H, NH), 5.13 ppm (d, *J* ²=15.6 Hz, 1H, NCH₂N) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =18.1, 19.7, 30.6 (CH₃), 32.2 (CH), 34.6 (CH₃), 50.0 (CH₂), 61.4 (CH), 61.4 (CH₃), 62.9 (CH₂), 158.3, 169.8, 170.1 ppm (CO). HRMS(ESI) : *m*/*z* : calculée pour C₁₂H₂₂LiN₄O₄ : 293.180, expérimentale : 293.178.

4-(6-isopropyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-but-2-ènoate de *tert*-butyle (VIG5) :



Le 2-(6-isopropyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3yl)-*N*-méthoxy-*N*-méthyl-acétamide (**VIG6**, 462mg, 1,61mmol) est dissout dans le THF distillé (15mL). La solution est refroidie à -30°C, puis LiAlH₄ (92mg, 2,42mmol, 1,5éq) est ajouté. Le milieu réactionnel est agité 1h, puis de l'eau suivie d'une solution d'HCl (5%) dans l'eau sont

ajoutées. Le brut réactionnel est ensuite lyophilisé. Le résidu solide obtenu est repris dans le DCM distillé et *tert*-butoxycarbonylméthylène triphénylphosphorane (Ph₃PCHCOO*t*Bu, 1,51mg, 2,42mmol, 2,5éq) est ajouté. Après 40h d'agitation à température ambiante, de l'eau (150mL) est ajoutée au milieu réactionnel et le produit est extrait au DCM (3x50mL). La phase organique est ensuite séchée sur Na₂SO₄ avant d'être filtrée puis concentrée sous vide. Le brut réactionnel est ensuite purifié par chromatographie sur couche mince préparative (silice, éluant: AcOEt/cyclohexane, 70:30, v/v) pour obtenir le composé **VIG5** (77,6mg, 0,25mmol, 16%) sous forme d'un solide blanc.

C₁₆H₂₇N₃O₄, IR (solide) : v_{max} (cm⁻¹) = 3340 (NH), 1702, 1657, 1644 (C=O), 1258 (NHCO), 1145 (NHCO, C-O) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=1.00, 1.03 (d, J^3 =6.9 Hz, 6H, C*H*(CH₃)₂), 1.43 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.07 – 2.28 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 3.01 (s, 3H, NCH₃), 3.89 (dd, J^3 =4.2 Hz, J^3 =6.9 Hz, 1H, NCHCO), 4.21 (dd, J^4 =1.8 Hz, J^3 =5.7 Hz, 1H, NCH₂C*H*), 4.40 (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 4.91 (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 5.08 (br d, J^3 =3.9 Hz, 1H, NH), 5.81 (td, J^3 =15.9 Hz, J^3 =1.5 Hz, 1H, CHCH₂N), 6.71 ppm (td, J^3 =15.6 Hz, J^4 =5.4 Hz, 1H, COCHC*H*) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=18.0, 19.6, 28.0 (CH₃), 30.8 (CH), 34.5 (CH₃), 49.2, 61,3 (CH₂), 61.7 (CH), 80.7 (Cq), 124.9, 141.7 (CH), 157.8, 164.8, 169.9 ppm (CO). HRMS(ESI) : *m*/*z* : calculée pour C₁₆H₂₇LiN₃O₄ : 332.2156, expérimentale : 332.2144.

Acide 4-(6-isopropyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-but-2-ènoïque (VIG4) :



Le 4-(6-isopropyl-1-méthyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)but-2-ènoate de *tert*-butyle (**VIG5**, 27,6mg, 0,085mmol) est dissout dans du TFA (100µL). La solution est agitée 30min à température ambiante, puis le composé **VIG4** est précipité dans le diéthyl-éther et séché sous vide pour obtenir un solide blanc (21.3mg, 0,08mmol, 93%). C₁₂H₁₉N₃O₄, HRMS(ESI) : m/z :

calculée pour $C_{19}H_{25}LiN_3O_4$: 366.2000, expérimentale : 366.1952.

3-(2-Hydroxy-éthyl)-5,7-diisopropyl-[1,3,5]triazépane-2,6-dione (VIG3) :



L'acide (1,6-diisopropyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-acétique (composé **VIG9** 200mg, 0,74mmol) est dissout dans du THF (20mL) sous atmosphère d'argon. De la NMM (98 μ L, 0,89mmol, 1,2éq) est ajoutée et le milieu réactionnel est refroidi à -20°C. Du chloroformiate d'isobutyle (134 μ L, 1,03mmol, 1,4éq) est ajouté à la solution, puis le milieu est agité pendant 30min avant l'addition d'une solution saturée de NaBH₄ dans l'eau. Après 15min d'agitation,

une solution saturée de NaCl dans l'eau (150 mL) est ajoutée et le produit est extrait au DCM (6x50mL). La phase organique est ensuite séchée sur Na₂SO₄ avant d'être filtrée puis concentrée sous vide. Le brut réactionnel est purifié par colonne chromatographique flash (DCM/MeOH, 100:3, v/v) pour obtenir le composé **VIG3** (151mg, 0,59 mmol, 79%) sous forme d'un solide blanc.

C₁₂H₂₃N₃O₃, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R= 8.62 min ; IR (solide): v_{max} (cm⁻¹) = 3280 (NH), 1651 (C=O), 1156, (C-N), 1113 (C-O), 1180 (C-N) ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=1.04, 1.05 (d, J^3 =6.6 Hz, 6H, *CHCH*(CH₃)₂), 1.17 (d, J^3 =6.9 Hz, 6H, NC*H*(CH₃)₂), 2.14 – 2.30 (m, 1H, *CHC*H(*CH*₃)₂), 2.76 (br, 1H, OH), 3.34 – 3.50 (m, 1H, NCHCO), 3.61 – 3.87 (m, 3H, CH₂CH₂N), 3.85 – 3.99 (m, 1H, OCH₂), 4.53 (d, J^2 =15.9 Hz, 1H, NCH₂N), 4.66 – 4.82 (m, 1H, NCH(*CH*₃)₂), 4.85 (br, 1H, NH), 4.93 (d, J^2 =15.6 Hz, 1H, NCH₂N), 5.81 (td, J^3 =15.9 Hz, J^3 =1.5 Hz, 1H, CHCH₂N), 6.71 ppm (td, J^3 =15.6 Hz, J^4 =5.4 Hz, 1H, COCHC*H*) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ=18.0, 19.8, 20.7, 21.0 (CH₃), 30.9, 44.5 (CH), 51.4, 55.9 (CH₂), 61.7 (CH), 62.5 (CH₂), 150.3, 169.4 ppm (CO). HRMS(ESI) : *m*/*z* : calculée pour C₁₂H₂₃LiN₃O₃ : 264.189, expérimentale : 264.189.

4-(1,6-diisopropyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-but-2-ènoate de tert-butyle (VIG2) :



Le 3-(2-Hydroxy-éthyl)-5,7-diisopropyl-[1,3,5]triazépane-2,6-dione (**VIG3**, 110mg, 0,43mmol) est dissout dans le DCM distillé (15mL), puis la résine PL-IBX amide (3,14g, 3,42mmol, 8éq) est ajoutée. Le milieu réactionnel est agité 32h, la résine est ensuite éliminée par filtration et le DCM est évaporé. Le résidu solide obtenu est repris dans le DCM distillé sous argon et le *tert*-butoxycarbonylméthylène

triphénylphosphorane (Ph₃PCHCOOtBu, 245mg, 0,65mmol, 1,5éq) est ajouté. Après 4h d'agitation à température ambiante, de l'eau (150mL) est ajoutée au milieu réactionnel et le produit est extrait au DCM (3x50mL). La phase organique est ensuite séchée sur Na₂SO₄ avant d'être filtrée puis concentrée sous vide. Le brut réactionnel est ensuite purifié par chromatographie sur couche mince préparative (silice, éluant: AcOEt/ cyclohexane, 70:30, v/v) pour obtenir le composé **VIG2** (32mg, 0,09mmol, 21%) sous forme d'un solide blanc. C₁₈H₃₁N₃O₄, C₁₈-RP-HPLC (A: 0.1% TFA dans H₂O, B: 0.08% TFA dans MeCN, 0–100% B, 1.2 mLmin_1, 20 min) : t_R= 8.62 min ; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =1.04, 1.05 (d, J^3 =6.6 Hz, 6H, *CHCH*(CH₃)₂), 1.14 (d, J^3 =6.9 Hz, 6H, NC*H*(CH₃)₂), 1.47 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2.16 – 2.32 (m, 1H, *CHCH*(CH₃)₂), 3.91 (dd, J^3 =3.9 Hz, J^3 =6.3 Hz, 1H, NCHCO), 4.00 (ddd, J^4 =1.5 Hz, J^3 =5.4 Hz, J^2 =17.1 Hz, 1H, NCH₂CH), 4.32 (ddd, J^4 =1.5 Hz, J^3 =5.4 Hz, J^2 =17.1 Hz, 1H, NCH₂N), 4.68 – 4.85 (m, 2H, NCH(CH₃)₂), NH), 4.79 (d, J^2 =15.3 Hz, 1H, NCH₂N), 5.83 (td, J^3 =15.6 Hz, J^3 =1.5 Hz, 1H, CHCH₂N), 6.77 ppm (td, J^3 =15.6 Hz, J^4 =5.4 Hz, 1H, COCHCH) ; ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃, 298 K) : δ =17.9, 19.8, 20.6, 21.1, 28.0 (CH₃), 30.8, 44.5 (CH), 48.4, 54.2 (CH₂), 61.6 (CH), 80.8 (Cq), 124.7,

142.0 (CH), 158.0, 165.0, 169.5 ppm (CO). HRMS(ESI) : m/z : calculée pour C₁₈H₃₁N₃NaO₄ : 376.2207, expérimentale : 376.2226.

Acide 4-(1,6-diisopropyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-but-2-ènoïque (VIG1) :



Le 4-(1,6-diisopropyl-4,7-dioxo-[1,3,5]triazépane-3-yl)-but-2ènoate de *tert*-butyle (**VIG2**, 15mg, 0,042mmol) est dissout dans du TFA (100 μ L). La solution est agitée 30min à température ambiante, puis le composé **VIG1** est précipité dans le diéthyléther et séché sous vide pour obtenir un solide blanc (12mg, 0,041mmol, %quant.). C₁₄H₂₃N₃O₄, HRMS(ESI) : *m*/*z* : calculée pour C₁₉H₂₅LiN₃O₄ : 366.2000, expérimentale : 366.1952.

Méthode de criblage dont les résultats sont présentés en section VI.G.2 (*Criblage de la chimiothèque d'1,3,5-triazépane-2,6-diones sur les hGV- et hGX-sPLA2*)

Préparation des sPLA2 humaines recombinantes.

Les sPLA2 recombinantes hGV et hGX ont été produites dans *E. coli* comme décrit par Singer et al.¹

Composés testés comme inhibiteurs de sPLA2

Les composés testés sont les hétérocycles différenciés en \mathbb{R}^3 **IIA15-25** et les isomères de chaîne en \mathbb{R}^2 **IIB26** et **IIB27** présentés au chapitre II, les composés présentés au chapitre III *N*-acylés **IIIB1-4** et *N*-alkylés **IIIA1-9** ainsi que leurs homologues acides obtenus par clivage du groupement tertiobutyle. Les composés **VIG1-6**, analogues de l'inhibiteur **VIF2**² dont la synthèse est détaillée au chapitre VI ont également été testés

Tests d'inhibition des sPLA2

Les tests d'inhibition sur les sPLA2 sont effectués en utilisant comme substrat des membranes marquées de *E. coli* comme décrits dans les protocoles de Singer et al.¹ et Ancian et al.³. Les tests sont effectués dans un volume final de 300μ L. Le tampon de liaison est composé de Tris(trishydroxyméthylaminométhane) à 100mM, pH 8,0, de CaCl₂ à 10 mM et de 0,1% d'albumine de sérum bovin. Dans un premier temps, les inhibiteurs sont pré-incubés avec les sPLA2s pendant 10 min dans 100 μ L de tampon de liaison. Ensuite, 200 μ L de substrat *E. coli* (contenant 100000 dpm de phospholipides marqués au ³H-oléolate) dilué dans le tampon de liaison sont ajoutés et la réaction est effectuée pendant 15 min à température ambiante. L'activité de l'enzyme est stoppéee par addition de 300 μ L d'une solution contenant 0,1 M d'EDTA, pH 8,0 et 1% d'acide gras issu d'albumine de sérum bovin. Après la centrifugation à 14000 g pendant 3 min, les phospholipides contenus dans le surnageant sont collectés et comptés. La concentration des sPLA2s humaines a été ajustée pour assurer des taux d'hydrolyse compris dans la phase linéaire des tests enzymatiques. Les résultats sont exprimés en ratio de l'activité des sPLA2s à une concentration donnée de l'inhibiteur.

0

1. Singer, A. G.; Ghomashchi, F.; Le Calvez, C.; Bollinger, J.; Bezzine, S.; Rouault, M.; Sadilek, M.; Nguyen, E.; Lazdunski, M.; Lambeau, G.; Gelb, M. H., Interfacial kinetic and binding properties of the complete set of human and mouse groups I, II, V, X, and XII secreted phospholipases A2. *Journal of Biological Chemistry* **2002**, 277, (50), 48535-49.

2. Muller, P.; Lena, G.; Boilard, E.; Bezzine, S.; Lambeau, G.; Guichard, G.; Rognan, D., In silico-guided target identification of a scaffold-focused library: 1,3,5-triazepan-2,6-diones as novel phospholipase A2 inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**, 49, (23), 6768-6778.

3. Ancian, P.; Lambeau, G.; Lazdunski, M., Multifunctional activity of the extracellular domain of the M-type (180 kDa) membrane receptor for secretory phospholipases A2. *Biochemistry* **1995**, 34, (40), 13146-51.

 Données cristallographiques des 1,3,5-triazépane-2,6-diones cristallisées dont les caractéristiques ont été présentées au chapitre V. (*Etude* structurale des châssis hétérocycliques 1,3,5-triazépane-2,6-dione)

Données cristallographiques du composé Cyclo(Val-gN(iPr)Gly-CO) IIA25

Molecular formula :	$C_{10}H_{19}N_3O_2$	
Formula weight :	213.28	
Crystal system :	monoclinic	
Space Groupe :	<i>P</i> 2 ₁	
Unit cell dimensions :	$a = 12.4309(9)$ Å, $\beta = 93.756(3)^{\circ}$	
	b = 7.2953(5) Å,	
	c = 12.9390(9) Å	
Volume :	1170.88(14)Å ³	
Z:	4	
Density (calculated) :	$1.2099(1) \text{ g.cm}^{-3}$	
Temperature :	low	
Radiation :	ΜοΚα	
Diffractometer :	Bruker Kappa CCD system	
Reflections measured :	11281 ($R_{int} = 0.054$)	
Completeness to $\theta_{\text{max}} = 26.3^{\circ}$:	0.986	
Goodness-of-fit on F^2 :	1.18	
Refinement method :	full-matrix least-squares procedures on F	2
Number of data measured :	2540	
Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$:	2275	
$R_1 [I > 2\sigma(I)]$:	0.054	
wR_2 (all data) :	0.102 for 279 parameters	
Residual density (max./min.) :	0.243/-0.251 e.A ⁻³	
Mean σ (C-C) :	0.0056 Å	

Données cristallographiques du composé Cyclo(Phe-gN(Bn)Gly-CO) IIA22

Mala selar farmerla	с и NO 0
Molecular formula :	$C_{18}H_{19}N_3O_2$
Formula weight :	309.36 HN
Crystal system :	monoclinic
Space Groupe :	C_2
Unit cell dimensions :	$a = 31.512(5) \text{ Å}$ $\beta = 115.697(5)^{\circ}$
	b = 6.433(5) Å
	c = 18.012(5) Å
Volume :	$3290(3) Å^3$
Z :	8
Density (calculated) :	$1.2492(11) \text{ g.cm}^{-3}$
Temperature :	low
Radiation :	ΜοΚα
Diffractometer :	Oxford Diffraction Excalibur system
Reflections measured :	$34581 \ (R_{int} = 0.066)$
Completeness to $\theta_{\text{max}} = 25.4^{\circ}$:	0.997
Goodness-of-fit on F^2 :	0.89
Refinement method :	full-matrix least-squares procedures on F^2 .
Number of data measured :	3314
Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$:	2457
$R_{I} [I > 2\sigma(I)]$:	0.036
wR_2 (all data) :	0.074 for 415 parameters
Residual density (max./min.) :	0.212 /- 0.176 e.A^{-3}
Mean σ (C-C) :	0.0050 Å

Données cristallographiques du composé Cyclo(Phe-gN(Pr)Gly-CO) IIA17

Molecular formula :	C.H.N.O.
Formula weight :	261 32
Crystal system :	bayagonal
Crystal System .	nexagonal N
Space Groupe :	Po_1 / O
Unit cell dimensions :	a = 15.778(1) A
	c = 10.3902(7) Å
Volume :	2240.0(3) $Å^3$
Z :	6
Density (calculated) :	$1.1623(2) \text{ g.cm}^{-3}$.
Temperature :	low
Radiation :	ΜοΚα
Diffractometer :	Oxford Diffraction Excalibur system
Reflections measured :	$6922 \ (R_{int} = 0.064)$
Completeness to $\theta_{\text{max}} = 19.9^{\circ}$:	0.993
Goodness-of-fit on F^2 :	1.02
Refinement method :	full-matrix least-squares procedures on F^2
Number of data measured :	742
Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$:	641
$R_{I}[I > 2\sigma(I)]:$	0.051
wR_2 (all data) :	0.137 for 173 parameters
Residual density (max./min.) :	0.543/-0.204 e.A ⁻³

Mean σ (C-C): 0.0	012 A	ł
--------------------------	-------	---

Molecular formula :

Données cristallographiques du composé Cyclo(Val-gN(3,4-(MeO)₂Bn)Gly-CO) IIA23

 $C_{16}H_{23}N_{3}O_{4}, C_{2}H_{3}N$

Formula weight : 362.43 orthorhombic Crystal system : Space Groupe : $P2_{1}2_{1}2_{1}$ Unit cell dimensions : 7.0091(2) Å 10.5041(3) Å 25.5622(9) Å $1882.0(1) \text{ Å}^3$ Volume : Z:4 1.2791(1) g.cm⁻³ Density (calculated) : Temperature : low Radiation : ΜοΚα Diffractometer : Oxford Diffraction Excalibur system 18984 ($R_{int} = 0.037$) **Reflections measured :** Completeness to $\theta_{\text{max}} = 32.6^{\circ}$: 0.925, Goodness-of-fit on F^2 : 1.01 full-matrix least-squares procedures on F^2 Refinement method : 3592 Number of data measured : Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$: 2766 $R_{I}[I > 2\sigma(I)]$: 0.044 0.101 for 247 parameters wR_2 (all data) : 0.434/-0.270 e.A⁻³ Residual density (max./min.) : 0.0023 Å Mean σ (C-C):



Données cristallographiques du composé IIIA5

Molecular formula :	$C_{16}H_{29}N_{3}O_{4}$
Formula weight :	327.42
Crystal system :	monoclinic
Space Groupe :	$P2_1$
Unit cell dimensions :	$a = 9.309(5)$ Å, $\beta = 90.824(5)^{\circ}$,
	b = 20.529(5) Å
	c = 9.485(5) Å
Volume :	$1812.4(14) \text{ Å}^3$
Z :	4
Density (calculated) :	$1.2000(9) \text{ g.cm}^{-3}$
Temperature :	low
Radiation :	ΜοΚα
Diffractometer :	Oxford Diffraction Excalibur system
Reflections measured :	21495 ($R_{int} = 0.032$)
Completeness to $\theta_{\text{max}} = 27.0^{\circ}$:	0.994
Goodness-of-fit on F^2 :	1.08
Refinement method :	full-matrix least-squares procedures on F^2
Number of data measured :	4035



Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$: $R_1 [I > 2\sigma(I)]$: wR_2 (all data) : Residual density (max./min.) : Mean σ (C-C) :

3280 0.044 0.114 for 491 parameters 0.544/-0.395 e.A⁻³ 0.0051 Å

Données cristallographiques du composé IIIA9

Molecular formula : Formula weight : Crystal system : Space Groupe : Unit cell dimensions :

Volume : Z: Density (calculated) : Temperature : Radiation : Diffractometer : Reflections measured : Completeness to $\theta_{\text{max}} = 27.5^{\circ}$: Goodness-of-fit on F^2 : Refinement method : Number of data measured : Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$: $R_1 [I > 2\sigma(I)]$: wR_2 (all data) : Residual density (max./min.) : Mean σ (C-C):

 $C_{23}H_{33}N_{3}O_{4}$ 415.52 monoclinic $P2_1$ $\beta = 108.142(4)^{\circ}$ a = 13.6521(5) Å, b = 6.1704(2) Å, c = 14.0832(5) Å 1127.38(7) Å³ 2 1.2241(1) g.cm⁻³ low ΜοΚα Oxford Diffraction Excalibur system. 19083 ($R_{int} = 0.036$) 0.988 1.08 full-matrix least-squares procedures on F^2 . 2788 2577 0.093 0.228 for 271 parameters 0.571/-0.528 e.A⁻³ 0.011 Å



Molecular formula :	$C_{10}H_{17}N_3O_4$
Formula weight :	243.27
Crystal system :	monoclinic
Space Groupe :	P2.
Unit cell dimensions :	$a = 5.0242(5)$ Å, $\beta = 93.012(7)^{\circ}$, b = 9.6391(6) Å, c = 12.4479(8) Å
Volume : Z :	$602.00(8) \text{ Å}^3$
Density (calculated) :	1.3420(2) g.cm ⁻³
Temperature :	low
Radiation :	MoK α
Diffractometer :	Oxford Diffraction Excalibur system.
Reflections measured :	15511 ($R_{int} = 0.077$)



Completeness to θ_{max} = 27.5°: Goodness-of-fit on F²: 0.999 1.12 full-matrix least-squares procedures on F^2 Refinement method : Number of data measured : 1466 Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$: 1164 0.046 $R_1 [I > 2\sigma(I)]$: 0.084 for 161 parameters wR_2 (all data) : 0.254/-0.244 e.A⁻³ Residual density (max./min.) : 0.0044 Å Mean σ (C-C):

Données cristallographiques du composé IIIB1

Molecular formula :	$C_{19}H_{19}N_3O_3$
Formula weight :	337.37 Н
Crystal system :	monoclinic
Space Groupe :	<i>P</i> 2 ₁
Unit cell dimensions :	$a = 14.0718(7) \text{ Å}$ $\beta = 93.056(3)^{\circ}$
	b = 8.4765(5) Å
	c = 14.6808(6) Å
Volume :	1748.63(15) Å ³
Z:	4
Density (calculated) :	1.282 g.cm^{-3}
Temperature :	low
Radiation :	ΜοΚα
Diffractometer :	Bruker Kappa CCD system
Reflections measured :	$50009 (R_{int} = 0.051)$
Completeness to $\theta_{\text{max}} = 26.4^{\circ}$:	0.998
Goodness-of-fit on F^2 :	1.04
Refinement method :	full-matrix least-squares procedures on F^2
Number of data measured :	3829
Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$:	3223
$R_{I} [I > 2\sigma(I)]$:	0.036
wR_2 (all data) :	0.093 for 453 parameters
Residual density (max./min.) :	0.133/-0.157 e.A ⁻³
Mean σ (C-C):	0.0041 Å

Données cristallographiques du composé IIIB2

Molecular formula : $C_{21}H_{21}N_3O_3$ Formula weight : 363.41 Crystal system : orthorhombic Space Groupe : $P2_{1}2_{1}2_{1}$ Unit cell dimensions : a = 6.5382(1) Å $\beta = 93.756(3)^{\circ}$ *b* = 14.4239(4) Å c = 23.5022(6) Å 2216.41(9) Å³ Volume : Z: 4 $1.0891(1) \text{ g.cm}^{-3}$ Density (calculated) :

Temperature :	low
Radiation :	ΜοΚα
Diffractometer :	Bruker Kappa CCD system
Reflections measured :	28034 ($R_{int} = 0.054$)
Completeness to $\theta_{\text{max}} = 23.3^{\circ}$:	0.993
Goodness-of-fit on F^2 :	1.06
Refinement method :	full-matrix least-squares procedures on F^2
Number of data measured :	1860
Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$:	1548
$R_1 [I > 2\sigma(I)]$:	0.048
wR_2 (all data) :	0.148 for 245 parameters
Residual density (max./min.) :	$0.140/-0.210 \text{ e.A}^{-3}$
Mean σ (C-C) :	0.0061 Å

Données cristallographiques du composé IIIB4

Molecular formula : Formula weight : Crystal system : Space Groupe : Unit cell dimensions :

Volume : 4 Z: Density (calculated) : Temperature : Radiation : Diffractometer : Reflections measured : Completeness to θ_{max} = 22.99°: Goodness-of-fit on F²: Refinement method : Number of data measured : Number of data with $[I > 2\sigma(I)]$: $R_1 [I > 2\sigma(I)]$: wR_2 (all data) : Residual density (max./min.) : Mean σ (C-C):

 $C_{17}H_{23}N_3O_3$ 317.38 orthorhombic $P2_{1}2_{1}2_{1}$ a = 6.5459(8) Å $\beta = 93.756(3)^{\circ}$ b = 15.513(4) Å, c = 16.586(3) Å $1684.2(6) \text{ Å}^3$ 1.2517(4) g.cm⁻³ low ΜοΚα Bruker Kappa CCD system 7564 ($R_{int} = 0.043$) 0.996 1.04 full-matrix least-squares procedures on F^2 1378 1092 0.039 0.109 for 209 parameters 0.118/-0.144 e.A⁻³ 0.0058 Å



L'émergence des nouvelles méthodes de criblage à haut débit (HTS) exploitées par l'industrie pharmaceutique a accru la demande de nouvelles substances à tester, entraînant un essor des méthodes de synthèse de chimiothèques combinatoires orientées vers la création de diversité. Dans bon nombres d'exemples, les peptides constituent un squelette privilégié pour la construction de telles chimiothèques. En particulier, les hétérocycles dérivés de dipeptides sont intéressants car ils permettent de mettre à profit l'importante diversité des acides aminés naturels ou non, tout en prenant avantage de la rigidité conformationnelle des systèmes hétérocycles pour distribuer des pharmacophores de manière controlée dans différentes régions de l'espace. Les dicétopipérazines et les 1,4-benzodiazépin-2,5-diones constituent à ce titre deux classes de composés particulièrement remarquables en termes d'activités biologiques. Les 1,3,5-triazépane-2,6-diones développés au laboratoire sont des hétérocycles obtenus en 4 étapes par cyclisation d'un précurseur carbamate activé, dérivé de dipeptide. Ces cycles à 7 membres comportent une fonction amide et une fonction urée qui peuvent être modifiées post-cyclisation, soit par l'alkylation ou l'acylation des azotes de l'urée soit par la thionation des carbonyles autour du cycle. Ces méthodes ont permis d'introduire des chaînes latérales supplémentaires comportant des fonctions réactives qui ont été transformées d'une part pour préparer des produits biologiquement actifs et d'autre part pour créer de la diversité en utilisant des méthodes de synthèse parallèle assistée par un réactif supporté. Afin d'augmenter la diversité de la chimiothèque de triazépanediones, nous avons mis au point 2 méthodes de synthèse des châssis sur phase solide applicable en synthèse parallèle. Parmi les membres de cette chimiothèque, certains ont été caractérisés précisément par diffraction des rayons X. Des tests in vitro sur les hGV- et hGX-sPLA2 ont permis d'identifier de nouveaux inhibiteurs µM avec lesquels des essais de cocristallisation en presence de hGX pourront être tentés. Des résultats préliminaires de cocristallisation obtenus avec un inhibiteur suggèrent qu'il doit être possible d'optimiser ces inhibiteurs en utilisant une approche basée sur la structure.

The emergence of new high throughput screening (HTS) methods operated by the pharmaceutical industry has increased the demand for new substances to be tested, resulting in a rise of synthetic methods aimed at generating diversity-oriented combinatorial libraries. In this context, dipeptidederived heterocycles are of particular interest because they take advantage of both the large chemical diversity of amino acids and the conformational rigidity of heterocyclic scaffolds to distribute pharmacophores in the 3D space. 2,5-Diketopiperazines and 1,4-benzodiazepine-2, 5diones constitute two remarkable classes of such compounds in terms of biological activities. The 1,3,5-triazepane-2,6-diones developed in the laboratory are heterocycles obtained in 4 steps by cyclization of an activated dipeptide derivative carbamate precursor. These 7-membered cycles with an amide and a urea function that can be readily modified post-cyclization, either by alkylation or acylation of urea moiety nitrogen or by thionation of carbonyl groups around the ring. These methods have allowed the introduction of additional side chains bearing reactive functions that have been subsequently transformed to prepare biologically active compounds, as well as to create diversity using supported reagent-assisted parallel synthesis. To increase the diversity of the chemical library of triazepanediones, we developed 2 methods of scaffold synthesis on solid phase applicable in parallel synthesis. Among the members of this library, some have been characterized precisely by X-ray diffraction. In vitro tests on HGV- and HGX-sPLA2s have allowed the identification of new inhibitors in the μ M range. co-crystallization trials with the HGX and these inhibitors are underway. Very preliminary results with one inhibitor suggest for the first time that it may be possible to use a structure-based design approach to further optimize these first hits.