

Université de Montréal

Partie 1 :
Design et synthèse d'un inhibiteur
de la sélectine E

Partie 2 :
Synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol[®],
un agent β -bloqueur

par

Caroline Labonté

Département de chimie

Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de
Maître ès sciences (M. Sc.)
en chimie

Août, 1999

©Caroline Labonté, 1999



2. 244. 244. 2

QD
3
U54
2000
V.001

Université de Montréal

Faculté de
Design et synthèse d'un objet
de la série E

Partie 2
Synthèse du régime de l'objet de la série E
en objet d'usage

1

1998

Caroline Lacombe

Département de Design

Révisé par les professeurs

Mémoire présenté à la fin de la série de travaux
en vue de l'obtention du grade de
Maîtrise en design (M. Des.)
en design

1998

Caroline Lacombe



Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Partie 1 : Design et synthèse d'un inhibiteur
de la sélectine E

Partie 2 : Synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol[®],
un agent β -bloqueur

présenté par :

Caroline Labonté

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Richard Giasson

président du jury

Denis Gravel

directeur de recherche

Jeffrey Keillor

membre du jury

Mémoire accepté le :

Je dédie cet ouvrage à mon père et à mon frère Robert.

Je m'en voudrais de ne pas le dédier aussi à ma mère car elle représente la personne sur la planète Terre qui m'est la plus chère.

Sommaire

L'adhésion cellulaire représente le mécanisme qui, par l'intermédiaire d'une quantité appréciable d'événements biochimiques, permet à un organisme infecté de se défendre contre les agents extérieurs potentiellement pathogènes.

Une des étapes de l'adhésion cellulaire fait intervenir le recrutement des leucocytes au site d'inflammation puisque ce sont ces derniers qui possèdent la capacité de combattre les agents infectieux.

Dans ce mémoire divisé en deux parties, nous traiterons dans un premier temps de la synthèse d'un inhibiteur cyclique à 7 membres de type oxamidique. Cet inhibiteur potentiel, pense-t-on, jouera le rôle d'antagoniste des sLe^X , ligands naturels des sélectines E, protéines responsables de la migration transendothéliale excessive des leucocytes vers le site infecté.

Nous tenterons de mimer une partie du pharmacophore du sLe^X en disposant des fonctions oxamide cyclique et ester dans l'espace, pour imiter les fonctions diol et acide carboxylique de ce dernier.

Pour réaliser la synthèse de la structure désirée, nous avons utilisé un aminoalcool commercial, le 1,3-diaminopropan-2-ol, en tant que substrat de départ. La synthèse de l'inhibiteur débute par la tribenzoylation du substrat de départ, suivie d'une réduction à l'hydrure de lithium et d'aluminium des fonctions amides précédemment obtenues, ceci nous permettant donc d'obtenir l' aminoalcool N,N'-dibenzylé correspondant.

Une alkylation de ce dernier, avec un bromoester obtenu par estérification préalable de l'acide commercial correspondant sera effectuée, ceci nous permettant d'obtenir le composé précurseur du cycle. En dernier lieu, les conditions développées par Jadhav nous permettront de cycliser le précurseur, ceci nous permettant d'isoler l'oxamide cyclique à 7 membres voulu.

Finalement, cette molécule sera soumise à des tests biologiques afin de déterminer son activité face aux sélectines E et P. Ces tests emploient le ligand naturel des sélectines humaines, le sLe^X en tant que molécule contrôle.

Pour ce qui est de la deuxième partie de ce mémoire, il sera aussi question de synthèse. En effet, cette fois, il s'agira de synthétiser le régioisomère *ortho* du sotalol[®], un agent β -bloqueur commercialement disponible.

Pour arriver à ce résultat, nous avons entrepris de modifier la 2-aminoacétophénone commercialement disponible. Sachant que la structure du sotalol[®] possède un groupement mésylate sur son amine, nous avons dans un premier temps, installé ce groupement sur la fonction amine du substrat de départ. Par la suite, nous avons protégé, sous la forme d'un benzyle, l'amine mésylée.

Ceci effectué, l'étape suivante a consisté à modifier la cétone située en α de l'amine diprotégée. Pour commencer, nous avons effectué une réaction de monobromation au niveau de la méthylcétone pour ensuite effectuer une substitution nucléophile de ce brome par un azoture. Cette azidocétone fut réduite en aminoalcool correspondant, qui lui, a ensuite subi une amination réductive où nous avons employé l'acétone en tant qu'agent alkylant. Une dernière étape de déprotection du benzyle sur l'amine mésylée fut alors effectuée, ceci nous permettant ainsi d'atteindre notre objectif, la synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol[®].

Table des matières

Sommaire.....	iv
Liste des figures.....	xii
Liste des schémas.....	xiii
Liste des tableaux.....	xiv
Liste des équations.....	xv
Liste des abréviations.....	xvi

Chapitre 1

L'adhésion cellulaire

1.1	Introduction.....	2
1.1.1	L'adhésion cellulaire ; définition et rôle.....	2
1.1.2	Réponse immunitaire et définition des sélectines dans le processus d'adhésion cellulaire.....	2
1.1.3	Structures et fonctions des sélectines.....	3
1.2	Pathologies liées à la libération excessive de leucocytes depuis les vaisseaux sanguins.....	7
1.2.1	Asthme, arthrite rhumatoïde et autres.....	7
1.3	Contrôle de la prolifération des métastases cancéreuses.....	8
1.3.1	Régulation de la migration transendothéliale des leucocytes.....	8
1.3.2	Traitement du cancer.....	8
1.4	Synthèse du ligand naturel des sélectines, le sLe ^x	9
1.4.1	Approches chimique, enzymatique et chémoenzymatique.....	9
1.5	Détermination du pharmacophore du sLe ^x	10
1.5.1	Relation structure-activité basée sur la modification du ligand naturel, le sLe ^x	10

1.5.2	Première modification ; la suppression de l'unité NeuAc du sLe ^X	12
1.5.3	Suppression de l'unité NeuAc et remplacement de l'unité GlcNAc...	13
1.5.4	Suppression des unités GlcNAc et Gal.....	15
1.5.5	Suppression des unités GlcNAc, NeuAc et Gal.....	16
1.5.6	La classe des glycopeptides.....	18
1.5.7	La classe des glycoaromatiques.....	20
1.5.8	Composés ayant une structure non apparentée au sLe ^X	21
1.6	Inhibiteurs dont le design n'est pas basé sur le ligand naturel, le sLe ^X	24
1.6.1	Monomères et polymères.....	24
1.6.2	Inhibiteurs polyanioniques et dérivés de la glycorrhizine.....	26
1.6.3	Inhibition de l'adhésion cellulaire au niveau de différents stades de la cascade des événements biochimiques impliqués dans le phénomène.....	28
1.7	Mise au point d'un gabarit à l'échelle moléculaire du site récepteur de la sélectine E.....	28
1.7.1	Design d'un inhibiteur basé sur la modélisation moléculaire.....	28
1.8	Design d'un modèle inhibiteur semi-rigide de la sélectine E pouvant se fixer au calcium <i>via</i> une fonctionnalité oxamidique.....	33
1.8.1	Oxamide cyclique à 7 membres.....	33
1.8.2	Conclusion.....	34

Chapitre 2

Formation d'un oxamide cyclique à partir du 1,3-diaminopropane N,N'-diphénylfluorénylé

2.1	Introduction.....	37
2.1.1	Exigences intrinsèques de la synthèse d'oxamides cycliques.....	37
2.1.2	Tentatives de benzilylation directe du composé 2.1	38
2.2	Rétrosynthèse impliquant le phénylfluorényle en tant que groupement protecteur du 1,3-diaminopropan-2-ol.....	40
2.2.1	Rétrosynthèse du composé 1.1	40
2.3	Synthèse de l'intermédiaire 2.3 , le 1,4-bis-(9-phényl-9H-fluorén-9-yl)-6-(9-phényl-9H-fluorén-9-yloxy)-[1,4]diazépane-2,3-dione.....	41
2.3.1	Triprotection de l'aminoalcool de départ 2.1	41
2.3.2	Cyclisation du composé 2.2 , le N,N-bis-(9-phényl-9H-fluorén-9-yl)-2-(9-phényl-9H-fluorén-9-yloxy)-propane-1,3-diamine.....	42
2.3.3	Tentatives de déprotection partielle ou totale de l'intermédiaire cyclique 2.3	45

Chapitre 3

Tentative de synthèse du 1,4-dibenzyl-6-(*tert*-butyldiméthylsilanyloxy)-[1,4]-diazépane-2,3-dione, premier précurseur de 1.1

3.1	Introduction.....	48
3.1.1	Tribenzoylation du composé de départ 2.1	49
3.1.2	Saponification du composé 3.1	49
3.1.3	Protection de l'alcool 3.2 sous forme d'éther silylé.....	50
3.1.4	Réduction du composé 3.3 avec LAH.....	50

Chapitre 4

Synthèse du 4-(1,4-dibenzyl-2,3-dioxo-[1,4]-diazépan-6-yloxyméthyl)-phénylacétate de méthyle 1.1

4.1	Introduction.....	53
4.1.1	Réduction de l'intermédiaire 3.1 en dérivé N,N'-dibenzylé 3.7	54
4.1.2	Alkylation de l'alcool 3.7	54
4.2	Atteinte de l'objectif de synthèse, la structure 1.1	56
4.2.1	Cyclisation du composé 4.1	56
4.2.2	Résultat du test biologique réalisé sur 1.1	57

Chapitre 5

Les agents β -bloqueurs

5.1	Introduction.....	59
5.1.1	La régulation des hormones du système nerveux, la clé de voûte de la régulation du rythme cardiaque et de la circulation sanguine.....	59
5.1.2	La nature des récepteurs bêta-adrénergiques.....	63
5.1.3	Les premières structures agonistes des récepteurs β pour contrer les pathologies d'origine cardiovasculaires.....	63
5.1.4	Intérêt thérapeutique des agonistes des récepteurs β	64
5.2	Relation structure-activité des premiers β -bloqueurs.....	67
5.2.1	Détermination du pharmacophore.....	67
5.3	Conclusion.....	70

Chapitre 6

Première approche pour la synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol®

6.1	Introduction.....	72
6.1.1	Rétrosynthèse du 4'-(2-isopropylamino-1-hydroxyéthyl)-méthane-sulfonanilide.....	73
6.2	Rétrosynthèse de la 2'-(2-isopropylamino-1-hydroxyéthyl)-méthanesulfonanilide basée sur l'acylation de Friedel-Crafts.....	75
6.2.1	Tentatives d'acylation de Friedel-Crafts.....	75
6.3	Tentatives de réarrangements de Fries sur la N-chloroacétyl-N-(4-iodophényl)-méthanesulfonamide 6.14	78
6.3.1	Réarrangements thermique et photochimique de Fries pour installer la chaîne éthanolamine en position <i>ortho</i> sur la structure 6.14	78

Chapitre 7

Synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol®

7.1	Rétrosynthèse permettant la synthèse du régioisomère <i>ortho</i> du sotalol®.....	82
7.1.1	Rétrosynthèse définitive menant au produit désiré.....	82
7.2	Synthèse des intermédiaires de la voie rétrosynthétique présentée.....	84
7.2.1	Réduction et protection de l'amine du substrat de départ, la 2-nitro-acétophénone.....	84
7.2.2	Monobromation de la méthylcétone 7.3	84
7.2.3	Protection de l'amine secondaire 7.9 sous forme de benzyle.....	86
7.3	Modification de la méthylcétone aromatique.....	87
7.3.1	Substitution de l'atome de brome de l'intermédiaire 7.5 par un azoture.....	87
7.3.2	Réduction de l'azidocétone.....	88
7.3.3	De l'azidocétone à l'aminoalcool avec NaBH ₄ comme agent réducteur.....	90
7.3.4	Amination réductive de l'aminoalcool 7.7	91
7.3.5	Hydrogénation du mélange brut provenant de l'amination réductive.....	91
7.4	Atteinte de l'objectif de synthèse.....	93
7.5	Conclusion.....	93

Chapitre 8

Section expérimentale : notes générales se rapportant aux chapitres 9 et 10

Instrumentation.....	96
i Spectroscopie RMN.....	96
ii Spectroscopie IR.....	96
iii Spectroscopie de masse.....	96
iv Analyse élémentaire.....	96
v Points de fusion.....	97
vi Localisation des spectres/rapports originaux.....	97
vii Nomenclature IUPAC.....	97
Purification des solvants et des réactifs.....	97
Purification des produits.....	98
i CCM.....	98
ii Révélateurs chimiques.....	98
iii Chromatographie sur colonne.....	98
Généralités.....	99

Chapitre 9

Section expérimentale : synthèse des inter- médiaires menant au composé 1.1

9.1	2-Benzylamino-1-(benzoylamino-méthyl)benzoate d'éthyle (3.1).....	101
9.2	1,3-Bis-benzylamino-propan-2-ol (3.7).....	102
9.3	N,N-Dibenzyl-2-(<i>tert</i> -butyldiméthylsilanoxy)propane-1,3-diamine (3.4).....	103
9.4	1,3-Dibenzoylaminopropan-2-ol (3.2).....	104
9.5	N,N-Dibenzoyl-2-(<i>tert</i> -butyldiméthylsilanoxy)propane-1,3-diamine (3.3).....	105
9.6	N,N-Bis-(9-phényl-9H-fluorén-9-yl)-2-(9-phényl-9H-fluorén-9-yloxy)propane-1,3-diamine (2.2).....	106
9.7	1,4-Bis-(9-phényl-9H-fluorén-9-yl)-6-(9-phényl-9H-fluorén-9-yloxy)-[1,4]-diazépane-2,3-dione (2.3).....	107
9.8	4-(bromométhylphényl)acétate de méthyle (2.7).....	108
9.9	(4-[2-benzylamino-1-(benzylamino-méthyl)-éthoxyméthyl]-phényl)acétate de méthyle (4.1).....	109
9.10	4-(1,4-dibenzyl-2,3-dioxo-[1,4]diazépan-6-yloxyméthyl)phénylacétate de méthyle (1.1).....	110

Chapitre 10

Section expérimentale : synthèse des intermédiaires menant au régioisomère *ortho* du sotalol® 6.13

10.1	4-Iodométhanesulfonanilide (6.9).....	112
10.2	N-Chloroacétyl-N-(4-iodo-phényl)-méthanesulfonanilide (6.14).....	113
10.3	2-Aminoacétophénone (7.2).....	114
10.4	N-(2-acétylphényl)-méthanesulfonamide (7.3).....	115
10.5	N-Benzyl-(2-acétylphényl)-N-méthanesulfonamide (7.4).....	116
10.6	N-Benzyl-(2-bromoacétylphényl)-N-méthanesulfonamide (7.5).....	117
10.7	N-Benzyl-(2-azidoacétyl-phényl)-N-méthanesulfonamide (7.6).....	118
10.8	N-Benzyl-[2-(2-amino-1-hydroxyéthyl)-phényl]-N-méthane-sulfona- mide (7.7).....	119
10.9	N-Benzyl-[2-(1-hydroxy-2-isopropylamino-éthyl)-phényl]-N-méthanesul- fonamide (7.8).....	121
10.10	N-(2-bromoacétylphényl)-N-méthanesulfonamide (7.9).....	122
10.11	N-[2-(1-hydroxy-2-isopropylamino-éthyl)-phényl]-N-méthanesulfona- mide (6.13).....	124
Références		125
Remerciements		129
Annexe 1		130
Annexe 2		133

Liste des figures

Figure 1.1	Localisation des éléments structuraux responsables de l'adhésion cellulaire.....	4
Figure 1.2	Démonstration de la cascade des divers événements impliqués dans le processus d'adhésion cellulaire.....	6
Figure 1.3	Structure du ligand naturel des sélectines, le sialyl Lewis X.....	10
Figure 1.4	Interactions clés du sLe ^X avec la sélectine E.....	11
Figure 1.5	Démonstration du degré de correspondance des domaines lectines de la sélectine E et de la MBP.....	29
Figure 1.6	Superposition des diverses conformations du sLe ^X	30
Figure 1.7	Coordination des hydroxyles appartenant au fucose du sLe ^X au calcium du site récepteur ; analogie structurale de la sélectine E et de la MBP.....	31
Figure 1.8	Oxamides cycliques proposés 1.1 et 1.2	34
Figure 2.1	Conformations possibles des oxamides	37
Figure 2.2	Rappel de la molécule cyclique à 7 membres 1.1 retenue pour la synthèse.....	38
Figure 2.3	Rétrosynthèse envisagée faisant l'emploi du groupe phénylfluorényle comme groupe protecteur des amines du composé 2.1	41
Figure 3.1	Deuxième rétrosynthèse de la molécule cible 1.1	48
Figure 4.1	Rétrosynthèse définitive par laquelle nous obtiendrons le composé 1.1	53
Figure 5.1	Structures chimiques des hormones impliquées dans la régulation des fonctions cardiaques.....	60
Figure 5.2	Organigramme illustrant les facteurs contribuant au contrôle des fonctions cardiaques.....	61
Figure 5.3	Structures des deux premiers agents bloqueurs des récepteurs β -adrénergiques, le dichloroisoprénaline [®] (DCI) et le pronétholol.....	64
Figure 5.4	Structures des principaux agonistes commerciaux des récepteurs β -adrénergiques.....	66
Figure 6.1	Voie succincte pour l'obtention du sotalol [®] selon Larsen.....	73
Figure 6.2	Deuxième voie développée par Larsen pour la synthèse du sotalol [®]	74
Figure 6.3	Rétrosynthèse du composé désiré incorporant la réaction de Friedel-Crafts en tant que réaction clé.....	76
Figure 7.1	Rétrosynthèse développée pour le régioisomère <i>ortho</i> du sotalol [®]	83

Liste des schémas

Schéma 3.1	Migration O vers N du groupement silylé lors de la réduction.....	51
Schéma 6.1	Monoprotection de l'amine primaire et tentative d'acylation de Friedel-Crafts.....	77
Schéma 6.2	Aperçu du mécanisme réactionnel général du réarrangement thermique ou photochimique de Fries.....	79
Schéma 7.1	Dernières étapes de la synthèse du régioisomère <i>ortho</i> du sotalol®	92

Liste des tableaux

Tableau 1.1	Présentation des caractéristiques propres à chaque sélectine humaine.....	5
Tableau 1.2	Antagonistes sans unité NeuAc mimant le sLe ^x	12
Tableau 1.3	Antagonistes ayant subi le retrait de la partie NeuAc et GlcNAc du sLe ^x	13
Tableau 1.4	Antagonistes sans unité Gal et ayant une unité GlcNAc dénudée ou encore totalement retirée.....	15
Tableau 1.5	Antagonistes comportant seulement une unité saccharidique...	17
Tableau 1.6	Antagonistes de type glycopeptidique.....	18
Tableau 1.7	Antagonistes de type glycoaromatique.....	21
Tableau 1.8	Antagonistes ayant des ramifications hydrophobiques.....	22
Tableau 1.9	Antagonistes de type polymérique.....	24
Tableau 1.10	Antagonistes dérivés de la glycorrherine.....	26
Tableau 1.11	Antagonistes divers.....	27
Tableau 1.12	Paramètres énergétiques découlant de la modélisation moléculaire.....	34
Tableau 2.1	Conditions employées pour cycliser le composé 2.2	44
Tableau 4.1	Conditions employées pour effectuer la cyclisation du composé 4.1	57
Tableau 4.2	Résultat du test biologique de la molécule 1.1	57
Tableau 5.1	Principaux récepteurs de l'adrénaline et de la noradrénaline.....	62
Tableau 5.2	Comparaison des valeurs d'activités β -antagonistes de molécules <i>o</i> , <i>m</i> et <i>p</i> -substituées dérivant d'une phénoxypropylamine.....	69

Liste des équations

Équation	2.1.....	39
Équation	2.2.....	42
Équation	2.3.....	42
Équation	2.4.....	45
Équation	2.5.....	46
Équation	3.1.....	49
Équation	3.2.....	49
Équation	3.3.....	50
Équation	3.4.....	50
Équation	4.1.....	54
Équation	4.2.....	55
Équation	4.3.....	55
Équation	7.1.....	84
Équation	7.2.....	84
Équation	7.3.....	85
Équation	7.4.....	85
Équation	7.5.....	85
Équation	7.6.....	86
Équation	7.7.....	86
Équation	7.8.....	87
Équation	7.9.....	88
Équation	7.10.....	89
Équation	7.11.....	90
Équation	7.12.....	91

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Ac	: acétate
ADN	: acide désoxyribonucléique
AE	: analyse élémentaire
AMPc	: adénosine monophosphate cyclique
Ar	: aryl
Atm	: atmosphère
ATP	: adénosine triphosphate
Bn	: benzyle
Bz	: benzoyle
°C	: degré Celcius
CAM	: cerium ammonium molybdate
CCM	: chromatographie sur couche mince
CI	: ionisation chimique
Conc	: concentration
d	: doublet
DCE	: dichloroéthylène
DCI	: ionisation chimique par désorption
dd	: doublet dédoublé
ddd	: doublet de doublets dédoublés
DMF	: N,N-diméthyleformamide
ED ₅₀	: dose pour une efficacité de 50%
Et	: éthyle
éq.	: équivalent
FAB	: bombardement atomique rapide
F _{pot}	: « forcing potential »
FTIR	: infrarouge à transformé de Fourier
FucT	: fucosyl transférase
g	: gramme
Hex	: hexanes
Hz	: Hertz
IC ₅₀	: concentration d'inhibition à 50%
IR	: infra-rouge
IUPAC	: <i>International Union for Pure and Applied Chemistry</i>
J	: constante de couplage
jr	: jour
kcal	: kilocalorie
L	: litre
LAH	: hydrure d'aluminium et de lithium
Litt.	: littérature
M	: molaire
m	: multiplet
m-	: meta
MBP	: protéine de liaison du mannose

Me	: méthyle
min	: minute
mmol	: millimole
m-xyl	: <i>m</i> -xylène
NOE	: nuclear overhauser effect
<i>o</i> -	: ortho
<i>p</i> -	: para
Pd/C	: palladium sur charbon
P _f	: point de fusion
Ph	: phényl
PhFIBr	: bromure de phénylfluorényle
PMA	: acide phosphomolibdique
ppm	: partie par million
PTC	: catalyseur de transfert de phase
py	: pyridine
q	: quadruplet
qt	: quintuplet
Rd	: rendement
Réf	: référence
R _f	: rapport frontal
RMN ¹³ C	: résonance magnétique nucléaire du carbone
RMN ¹ H	: résonance magnétique nucléaire du proton
s	: singulet
sLe ^A	: sialyl Lewis ^A
sLe ^X	: sialyl Lewis ^X
SMBR	: spectre de masse basse résolution
SMHR	: spectre de masse haute résolution
SNC	: système nerveux central
Solv	: solvant
t	: triplet
TBAI	: iodure de tétrabutylammonium
TBDMSCI	: chlorure de tétrabutyl diméthylsilyl
Temp	: température
THF	: tétrahydrofurane
Tol	: toluène
Tot	: total
TP	: température de la pièce
TFA	: acide trifluoroacétique
U.V.	: ultraviolet
UV-vis	: ultraviolet-visible
VdeW	: Van der Waals

Chapitre 1

L'adhésion cellulaire

1.1 Introduction

Il est bien connu et accepté au sein de la communauté scientifique que les cellules d'un organisme donné se reconnaissent, échangent divers signaux chimiques et adhèrent les unes aux autres.

1.1.1 L'adhésion cellulaire; définition et rôle

D'une façon simplifiée, nous pouvons illustrer le mécanisme précité, en imaginant à la surface des cellules des molécules « velcro » qui permettent aux cellules d'adhérer les unes aux autres. La majorité de ces molécules « adhérentes » sont de type protéinique et sont regroupées en superfamilles d'adhérines : cadhérines, sélectines, immunoglobulines et les intégrines.¹ Ce processus est donc défini comme étant celui qui assure à tout organe ou encore à tout organisme une cohésion au niveau de ses plus petits composants, les cellules.

Nous savons par ailleurs que tout organisme vivant ne peut survivre et évoluer sans être pourvu d'une membrane qui le protège des agents extérieurs auxquels il est susceptible d'être exposé. Tous les organes du corps humain ainsi que la peau doivent leur intégrité à une multitude de ces protéines et ce *via* le mécanisme d'adhésion cellulaire. Sans ce mécanisme, aucun organe ou organisme ne pourrait croître, cicatriser et encore mieux, éliminer les agents infectieux pouvant l'envahir. Les tissus ont besoin d'un apport de sang constant et cet apport est réalisé entre autre grâce aux cellules endothéliales.²

1.1.2 Réponse immunitaire et définition des sélectines dans le processus d'adhésion cellulaire

Lors d'une infection ou d'une blessure d'un tissu donné, le système immunitaire de l'organisme en question ordonnera aux globules blancs ou encore aux leucocytes et aux monocytes de se diriger vers le site de l'infection. Ils devront se rendre à ce site, en quittant au préalable les vaisseaux sanguins dans lesquels habituellement ils circulent librement, et ce, pour y éliminer les débris et les substances étrangères. Lors de cet appel de détresse, une cascade d'événements aura lieu.

Pour arriver à traverser la paroi des vaisseaux sanguins tapissés de cellules endothéliales, les leucocytes ou plus précisément les granulocytes de type neutrophile (les neutrophiles étant des leucocytes polymorphonucléaires spécialisés dans la résorption d'une invasion bactérienne)² devront interagir *via* une molécule de surface tétrasaccharidique, le sialyl Lewis X (sLe^x; α -2,3-sialylLewis^x, NeuNAc α -2,3-Gal β 1-4 (Fuc α 1,3) GlcNAc) avec une molécule de surface des cellules endothéliales. Suite à l'infection, une stimulation de l'endothélium par des lipopolysaccharides³

ou encore par des cytokines telles que l'interleukine 1 (IL-1), le facteur- α tumoral nécrosant (TNF- α) ou encore l'interféron- γ (IFN- γ)^{3,3b,3c} seront libérées par les cellules endothéliales activées de surface et ces dernières commanderont la synthèse de protéines qui à leur tour amèneront l'augmentation de la quantité d'immunoglobulines de type ICAM-1 (molécule d'adhésion intercellulaire de type 1) exprimées à la surface des cellules endothéliales environnant le site d'infection.

Ainsi, les cellules endothéliales ayant détectées une lésion ou un intrus au sein de l'organisme, auront le pouvoir d'attirer les globules blancs vers elles, et ce, de manière à ce que ces derniers puissent y adhérer et ainsi ultérieurement permettre leur migration transendothéliale.

De leur côté, les protéines sélectines E, P et L initialement caractérisées en 1989 sont très similaires entre elles. Ces trois derniers types de protéines sont présentes à la surface des cellules endothéliales, et ce, à des moments différents du processus de combat livré par le système immunitaire. La sélectine L se retrouve majoritairement à la surface des leucocytes (LAM-1). Les sélectines P, généralement exprimées à la surface des plaquettes et des cellules endothéliales activées (PAD-GEM) sont placées en réserve dans les cellules endothéliales et sont appelées à s'exprimer dès le début de l'infection grâce à des facteurs chimiques désignés comme étant soit l'histamine ou encore un stimulus thrombogénique. Pour leur part, les sélectines de type E sont exprimées essentiellement à la surface des cellules endothéliales (ELAM-1) et seront mobilisées qu'environ quatre heures après le début de l'infection. On dira donc que les sélectines P drainent les globules blancs dits d'avant-garde tandis que les sélectines E ne seront appelées qu'en cas de nécessité ceci donc entraînant la mobilisation des lymphocytes dits d'arrière-garde.²

1.1.3 Structures et fonctions des sélectines

À la page suivante, la figure 1.1 démontre les éléments structuraux qui constituent chacune des sélectines. Chaque sélectine est constituée de cinq domaines distincts.

Premièrement, une queue cytosolique jouant un rôle important au niveau de la transduction des signaux chimiques entre le milieu intra et extracellulaire, un domaine transmembranaire composé d'acides aminés, une série de modules complémentaires (*CR domain*), un domaine représentant le facteur épidermique de croissance (*EGF domain*), et finalement, un domaine de reconnaissance des sucres (*CRD domain*), ce dernier enfermant l'atome de calcium permettant la fixation du ligand à la protéine.

Un peu plus loin, le tableau 1.1 résume les principales caractéristiques de chacune des sélectines. On y retrouve leur site d'expression (leur localisation) ainsi

que les structures *via* lesquelles ces dernières sont exprimées. De plus, on y retrouve une brève énumération de leurs fonctions.

Figure 1.1 Localisation des éléments structuraux responsables de l'adhésion cellulaire^{2b}

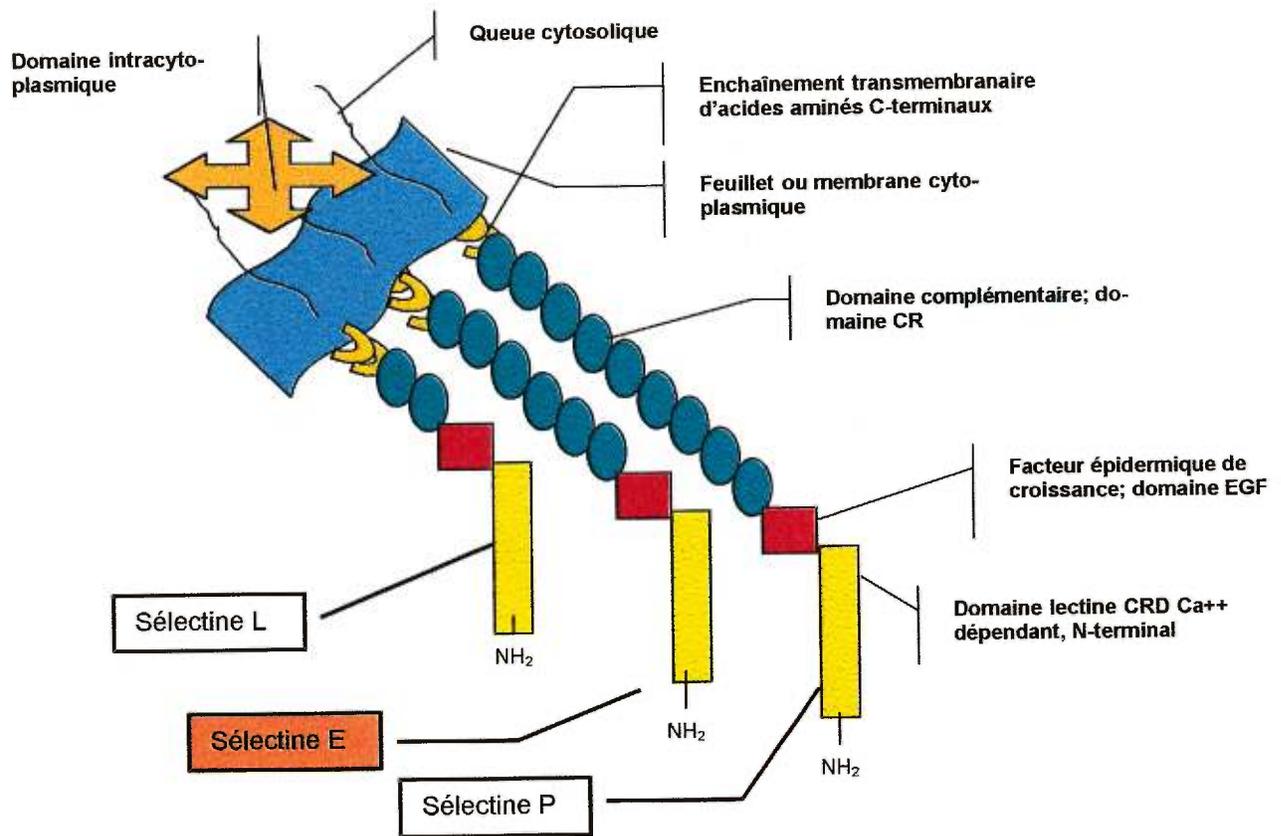


Tableau 1.1 *Présentation des caractéristiques propres à chaque sélectine humaine^{2c}*

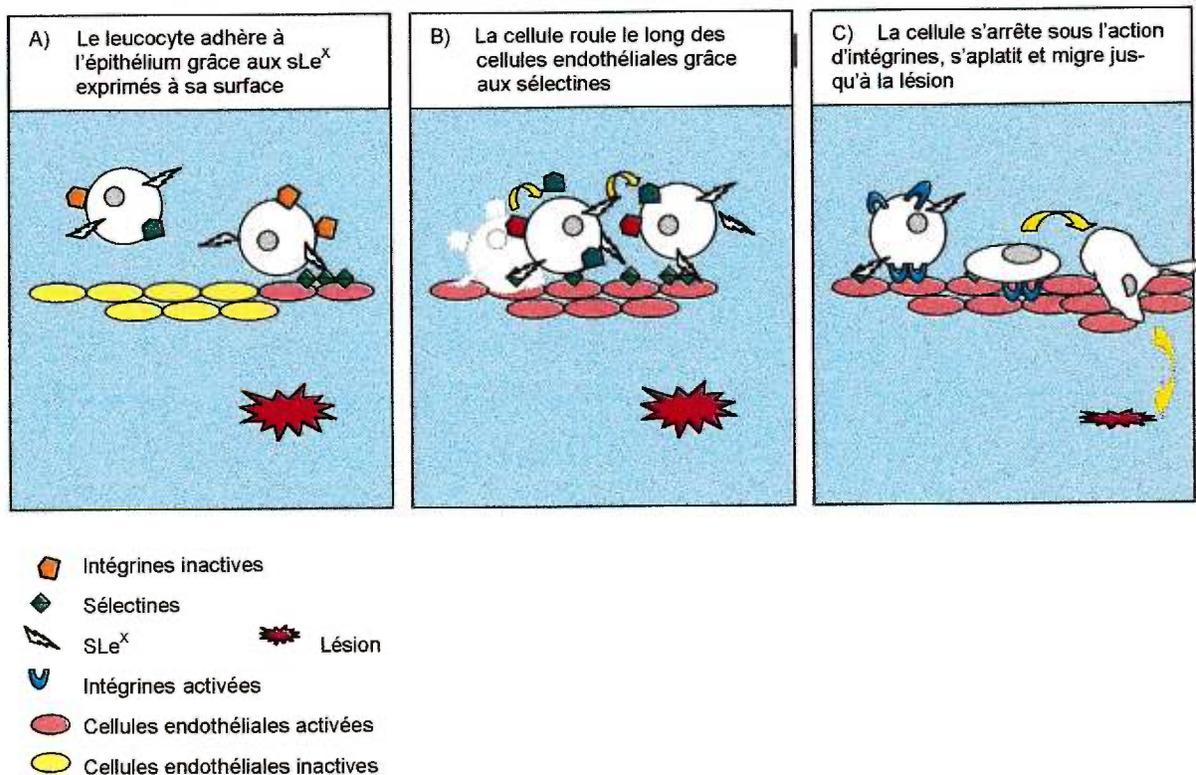
Nom	Localisée sur	Exprimée	Cellules adhérentes	Fonctions proposées
Sélectine L	Leucocytes	Toujours exprimée	Endothélium adjacent à l'inflammation (enroulement)	Recrutement et recirculation des leucocytes lors d'inflammation des lymphocytes
Sélectine E	Cellules endothéliales	Quelques heures après le début de l'infection	Monocytes et Neutrophiles (enroulement)	Recrutement des leucocytes lors d'inflammation
Sélectine P	Plaquettes et cellules endothéliales	En réponse à un signal chimique (thrombine), 30 min après l'infection	Monocytes et neutrophiles (enroulement)	Recrutement des leucocytes lors d'inflammation

En ce qui a trait maintenant à la figure 1.2, celle-ci tente de simplifier la cascade des événements responsables de la migration endothéliale des leucocytes. La fixation primaire des leucocytes aux cellules endothéliales, le roulement de ces cellules le long de la paroi de l'endothélium et pour terminer, l'extravasation suivi de la migration des leucocytes vers la lésion y est schématisé.

Le processus débute par la fixation des unités oligosaccharidiques (sLe^x) des neutrophiles aux domaines lectines des sélectines (E- ou P-) des cellules endothéliales. Ceci a pour conséquence directe le ralentissement des globules blancs ou des neutrophiles en les contraignant à rouler le long de la paroi endothéliale des vaisseaux sanguins. Ce roulement exclusivement initié par les sélectines constitue une interaction dite faible puisqu'elle présente une activité de l'ordre de 0.5-1.0 mM. Malgré cette faible valeur, cette dernière est essentielle quant au recrutement des leucocytes au site d'inflammation. Les cellules endothéliales ainsi activées commanderont le relâchement de chémoattractants, molécules permettant ultérieurement une adhésion ferme et irréversible des neutrophiles ayant roulés le long des cellules endothéliales de la paroi des vaisseau sanguins⁴. Une fois ces associations réalisées, le

roulement amènera l'expression des intégrines contenant de chaînes $\beta 1$ ou $\beta 2$, autres molécules clés impliquées dans le processus de l'adhésion cellulaire.² Les intégrines *via* un changement de conformation commanderont l'arrêt du roulement des neutrophiles, ceci étant suivi par un aplatissement de ces dernières et ultimement, le glissement de celles-ci entre les cellules endothéliales. Ainsi, une fois traversés, les neutrophiles ou les globules blancs toujours guidés par des substances chimiques pourront atteindre les tissus environnants endommagés.

Figure 1.2 Démonstration de la cascade des divers événements impliqués dans le processus d'adhésion cellulaire¹



1.2 Pathologies reliées à la libération excessive de leucocytes depuis les vaisseaux sanguins

1.2.1 Asthme, arthrite rhumatoïde et autres

Comme la plupart des mécanismes biochimiques régulant les fonctions vitales de l'organisme, il est possible qu'un déséquilibre biochimique provoque un déferlement excessif de leucocytes hors des vaisseaux sanguins. Dans un tel cas, ces derniers s'accumulent dans divers tissus cibles et ceci a pour effet d'endommager ces derniers de façon parfois irréversibles. En réponse à ce phénomène, l'organe touché gonfle et devient souvent douloureux.² Par exemple, une inflammation appelée polyarthrite rhumatoïde peut résulter d'un dysfonctionnement de la migration transendothéliale des leucocytes. Ces derniers ainsi stockés, commanderont par la suite la libération de certaines substances parfois toxiques ainsi que différentes enzymes spécialisées dans la destruction de protéines structurales essentielles à l'organisme.

Plusieurs autres pathologies découlant d'une migration transendothéliale excessive des leucocytes, sont jusqu'à maintenant répertoriées. Parmi les plus connues nous retrouvons les pathologies suivantes :

Psoriasis

Asthme³

Ischémie^{3c, 3d}

Choc traumatique

Rejet d'organes

Inflammation sévère de l'intestin

Etc.

Puisque nous savons maintenant qu'un recrutement excessif ou mal synchronisé de leucocytes vers une lésion amène divers problèmes de santé, nous pourrions être tentés d'enrayer totalement ce processus. Il apparaît donc ingénieux de s'attarder à l'élaboration d'une stratégie de blocage, et ce, soit d'une ou de plusieurs étapes du processus de translocation des leucocytes. Toutefois inhiber complètement ce processus laisserait l'organisme en question sans défense face à un agent pathogène. Il faut donc trouver un moyen de contrôler le déferlement des leucocytes, ceci sans l'empêcher.

À ce titre, l'importance du recrutement des leucocytes *via* les molécules adhésives telles que les sélectines et les intégrines a été clairement démontrée par d'importantes études portant sur des patients diagnostiqués comme ayant une « déficience d'adhérence des leucocytes »¹. Il a été démontré que ces derniers

avaient une propension aux infections de toutes sortes. Cette déficience est nommée par le corps médical le « syndrome LAD » i.e. « *Leucocyte adhesion deficiency* » (LAD I étant caractérisée par une baisse importante du taux d'intégrines $\beta 2$ et LAD II pour sa part est caractérisée par une baisse importante de sLe^X due à un mauvais métabolisme du fucose) et entraîne chez des sujets humains une variété de troubles importants dont une déformation faciale notable, un taux de nanisme élevé chez ces sujets ainsi qu'un retard mental pouvant être sévère.^{1,5}

1.3 Contrôle de la prolifération des métastases cancéreuses

1.3.1 Régulation de la migration transendothéliale des leucocytes

Plusieurs études dans le domaine de l'oncologie se rapportant spécifiquement au rôle joué par les molécules adhésives dans la prolifération des métastases cancéreuses ont été dernièrement réalisées. Nous savons que les molécules adhésives jouent un rôle de premier plan dans la dissémination des cellules dites métastatiques à partir d'une tumeur principale. En effet, le sucre que reconnaît la sélectine E est exprimé sur les cellules de plusieurs types de tumeurs malignes.¹ De la même façon que chez les leucocytes, les ligands naturels des sélectines, les sLe^X et sLe^A, sont présents à la surface des métastases et conséquemment, ils peuvent interagir avec la sélectine E ou encore avec la P des cellules endothéliales. Ceci étant réalisé, les métastases peuvent migrer de façon transendothéliale depuis les vaisseaux sanguins vers les tissus environnants.^{3e}

De plus, lors de l'activation des cellules endothéliales par les médiateurs ou encore les chémoattractants, au moment de la réponse de l'organisme face à une agression, l'interleukine-1 et le facteur tumoral nécrosant α (TNF $_{\alpha}$) ont pour effet d'augmenter de façon notable l'adhésion des tumeurs aux parois cellulaires, ceci donc favorisant leur translocation. À ce titre, dans le cas du cancer du colon, cette catégorie étant très répandue et difficilement traitable, le mécanisme cellulaire dysfonctionnel responsable de l'augmentation du processus d'adhésion cellulaire est l'activation intense des cellules endothéliales par des médiateurs de type chémoattractant, et plus spécifiquement l'interleukine-1 et le facteur tumoral nécrosant.^{3d}

1.3.2 Traitement du cancer

L'évocation de tels résultats a le pouvoir de nous sensibiliser davantage face à l'avancement pressant de la science tant au niveau de l'élucidation des structures des sucres situés à la surface des cellules qu'au niveau d'une connaissance plus approfondie des divers domaines lectines qui, en fonction de la structure des sucres, génère une spécificité face au type de sélectines impliquées, ceci amenant donc le design de structures inhibitrices plus adaptées à la pathologie visée.

Aussi, toujours concernant la dissémination des cellules cancéreuses, plusieurs études portent présentement sur une autre molécule de la famille des adhérentes, les intégrines. Un sous-type appelé intégrine $\alpha v \beta_3$ favoriserait l'angiogénèse donc la formation de vaisseaux sanguins ayant le pouvoir d'alimenter les tumeurs. En étant ainsi entretenues, les cellules métastatiques peuvent à loisir, traverser la paroi des vaisseaux sanguins pour aller vers d'autres organes.¹

De la même façon, il a été démontré que les intégrines $\alpha_4 \beta_1$ et $\alpha_4 \beta_2$ étaient aussi impliquées dans l'émergence des maladies inflammatoires chroniques telles que l'asthme et l'arthrite.¹

En conclusion, nous constatons, et ce sans aucune difficulté, que les adhérentes et plus particulièrement les sélectines et les intégrines sont incriminées dans une pléiade de maladies. Présentement, une quantité impressionnante de laboratoires de recherche tant académiques qu'industriels, travaillent à l'élaboration de drogues ayant des vertus spécifiques pour ces diverses pathologies brièvement décrites précédemment. L'idée principale consiste donc à créer un inhibiteur compétitif du sLe^X le ligand naturel des leucocytes, ceci dans l'ultime but d'amener les sélectines à devoir céder leur site récepteur à des molécules de synthèse envoyées en grande quantité dans l'organisme et ce vers les tissus environnants infectés. Il faut faire le design de structures empêchant les globules blancs de pénétrer en trop grand nombre dans les articulations par exemple, ceci sans toutefois empêcher le passage de ceux-ci dans d'autres parties du corps. Il faut donc en conséquence craindre d'accaparer totalement tous les récepteurs des leucocytes, sans quoi le syndrome de déficience d'adhérence des leucocytes (*syndrome LAD*) mentionné plus tôt risque de survenir.

1.4 Synthèse du ligand naturel des sélectines, le sLe^X

1.4.1 Approches chimique, enzymatique et chémoenzymatique^{7,7b,7c}

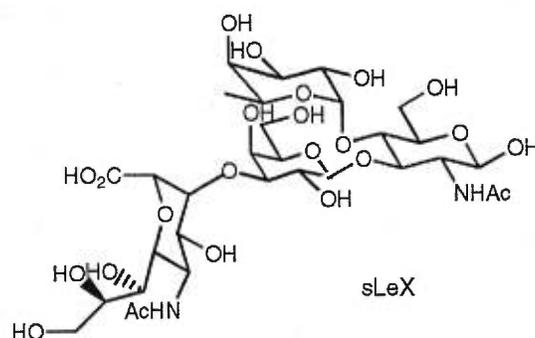
Comme nous l'avons précédemment mentionné à divers endroits, les leucocytes peuvent franchir l'épithélium grâce aux tétrasaccharides exprimés à leur surface, les molécules de sLe^X (figure 1.3).^{3c,6,7,7d,7e}

À ce titre, plusieurs équipes de chercheurs ont jusqu'à ce jour synthétisé le sLe^X. Cependant, cette structure est assez imposante autant par sa taille, ses nombreux atomes que par ses divers types de liens glycosidiques dont les liens liant le galactose et le fucose à la N-acétylglucosamine, ces derniers rendant la synthèse de celle-ci non-triviale et passablement complexe.

La première synthèse du sLe^X fut réalisée en 1991 par Hasegawa.⁸ Depuis, Nicolaou, Wong, Danishefsky et Kahne ont rapporté une synthèse de cette structure.^{8b,8c,8d} Comme il s'agit de 4 unités saccharides, cette dernière est facilement hydrolysée dans l'organisme par des glycosydases et plus spécifiquement compte tenu de sa structure, par des fucosidases ainsi que des sialidases. En conséquence, il est impératif de penser aux synthèses de mimiques du sLe^X en fonction de ces derniers éléments, ceci, de manière à éviter d'éventuels problèmes relevant de la pharmacocinétique et évidemment de penser à développer une voie synthétiques sans trop d'étapes capricieuses et/ou onéreuses.

C'est en partie pour répondre à la problématique du coût et de la difficulté d'exécution que certaines voies de synthèse du sLe^X par voie enzymatique^{7c} ou encore chémoenzymatique furent tentées. Mentionnons à ce titre les travaux de Chi-Huey Wong, ce dernier ayant développé une stratégie de synthèse enzymatique ainsi que chémoenzymatique permettant d'arriver à la structure désirée.^{7d,7e}

Figure 1.3 Structure du ligand naturel des sélectines, le sialyl Lewis X^{2b}



1.5 Détermination du pharmacophore du sLe^X

1.5.1 Relation structure-activité basée sur la modification du ligand naturel, le sLe^X

La modification un à un des groupements fonctionnels composant le ligand naturel suivi par une mesure de l'activité résultante par l'intermédiaire de tests biologiques spécialisés permet de déterminer le pharmacophore contenant les fonctions chimiques essentielles à l'activité biologique souhaitée.

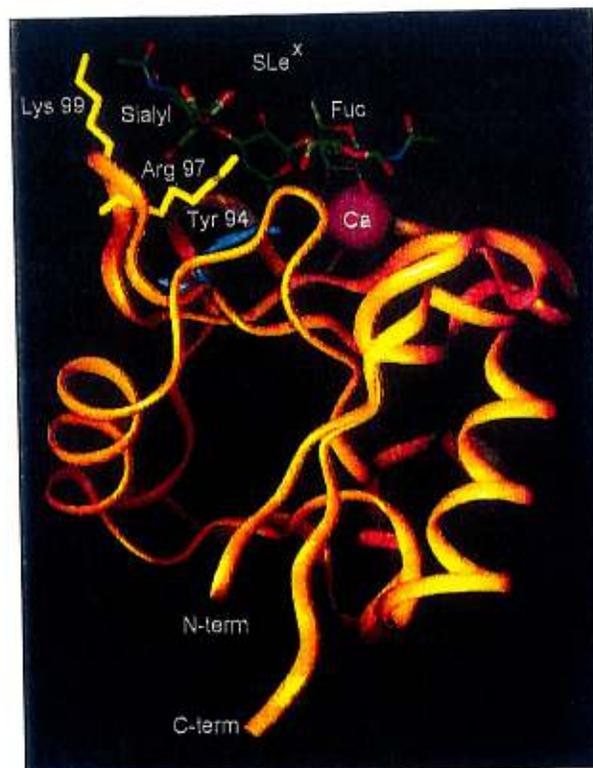
C'est donc d'après une quantité impressionnante de travaux portant sur la synthèse de différentes molécules visant la découverte du pharmacophore⁹ qu'il nous

est maintenant possible d'avancer sans trop se tromper que les fonctions chimiques clés sont :

- ❖ les groupements hydroxyles en position C-2 et C-3 de l'unité fucose sont essentiels puisque c'est par l'intermédiaire de ces derniers que la molécule se fixera à l'atome de calcium lors de l'adhésion au site récepteur
- ❖ le groupement hydroxyle en C-6 du galactose est aussi primordial puisqu'il permet une interaction pont hydrogène avec le site au niveau de la tyrosine 94
- ❖ il a aussi été démontré que seul le carboxyle de l'acide neuraminique est important pour la liaison au récepteur ; celui-ci donne un pont salin avec l'arginine 97 du récepteur

À l'aide de la figure 1.3, nous avons illustré le gabarit squelettique du sLe^X . Néanmoins, cette figure ne permet pas de voir sans équivoque que toutes ces fonctions sont situées sur une même face et qu'elles constituent donc un lieu de fixation facilement visualisable par modélisation moléculaire. La figure 1.4 qui suit a la prétention d'être plus complète puisqu'elle nous permet de voir la conformation et l'orientation du ligand lié à la sélectine.

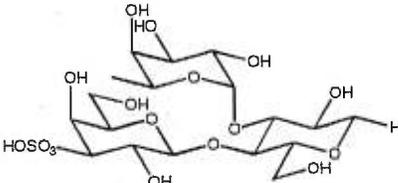
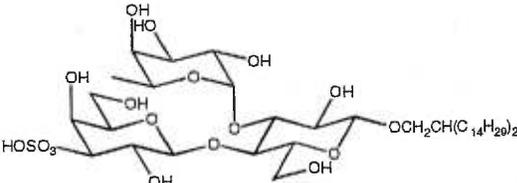
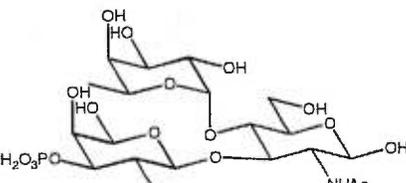
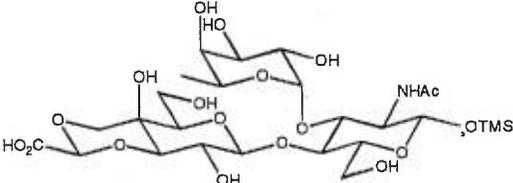
Figure 1.4 Interactions clés du sLe^X avec la sélectine E^8



1.5.2 Première modification ; la suppression de l'unité NeuAc du sLe^X

La suppression de l'unité NeuAc et son remplacement par un groupement ayant une charge négative à la position 3 du galactose furent réalisés. Ces modifications ont permis à Hasegawa de synthétiser et de tester les molécules représentées dans le tableau 1.2. Des fonctions telles que des sulfates, carboxylates et phosphates ont su conférer à la molécule suffisamment de similitudes avec l'unité NeuAc initiale pour que l'activité antagoniste face aux sélectines E, P et L soit comparable à celle générée par le sLe^X (rappelons essentiellement que l'activité du sLe^X pour la sélectine E est d'environ 1.0 mM).⁹

Tableau 1.2 Antagonistes sans unité NeuAc mimant le sLe^X⁹

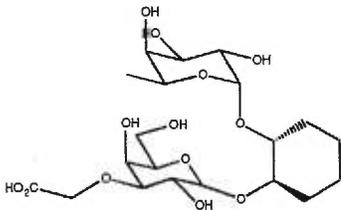
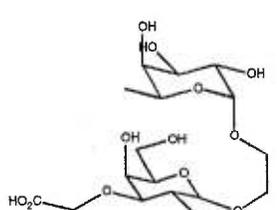
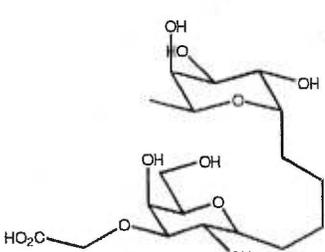
Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
1		0.28/0.10	11
2		0.33/0.25	11
3		0.1/--	12
4		>10/--	13

1.5.3 Suppression de l'unité NeuAc et remplacement de l'unité GlcNAc

La suppression de l'unité NeuAc et son remplacement par une fonction acide ayant été bénéfique, l'intérêt fut porté à l'autre extrémité de la structure donc au niveau de la partie GlcNAc du sLe^X . Puisque cette unité peut soit jouer le rôle d'espaceur (« spacer ») ou encore d'unité servant à augmenter l'affinité de la molécule de synthèse au substrat, la démarche entreprise fut de remplacer cette unité par un cyclohexane-1,2-diol trans, molécule dépourvue donc de fonction liante et qui de plus, peut adopter la conformation d'un pyranose. Le tableau 1.3 illustre la structure résultant de cette modification (entrée 5).

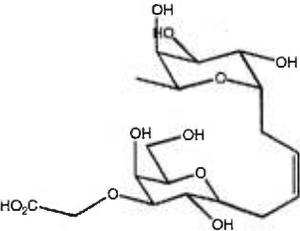
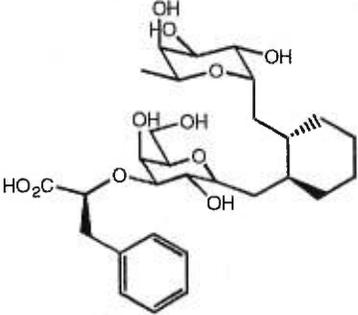
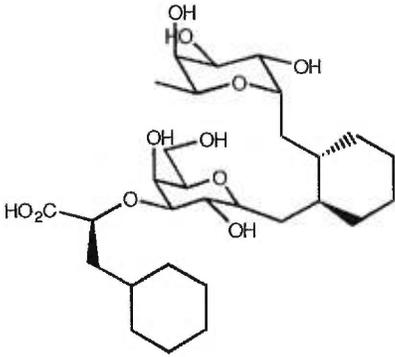
Il est à noter que la conformation dictée par un cycle à six chaînons à cet endroit ne semble pas critique puisque la molécule ayant un éthanediol à la place du cyclohexanediol, donne pratiquement la même activité (entrée 6). De ces observations, on déduit facilement le fait que l'unité GlcNAc ne fait pas de lien essentiel avec le site récepteur puisque le cyclohexyle ou encore l'éthane n'affecte en rien la valeur de l'activité antagoniste de la molécule.⁹

Tableau 1.3 Antagonistes ayant subi le retrait de la partie NeuAc et GlcNAc du sLe^X ⁹

Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
5		0.5/--	14
6		0.8/--	14
7		20/--	15

Cependant, notons que l'ajout d'une ramification en α de l'acide terminal orientée dans l'espace est d'une grande importance. Nous observons à l'entrée 9 et 10 que le fait d'ajouter un centre stéréogénique (benzyle ou cyclohexylméthyl de configuration S) à cette position permet de mieux orienter le carboxylate placé en α de celui-ci, ceci se traduisant par une augmentation appréciable de l'activité. L'orientation étant meilleure, l'affinité avec le récepteur s'en retrouve accrue puisqu'ainsi l'inhibiteur imite plus adéquatement la conformation bioactive du sLe^X.

Tableau 1.3 (suite) Antagonistes ayant subi le retrait de la partie NeuAc et GlcNAc du sLe^X⁹

Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
8		15/--	15
9		0.35/--	16
10		0.08/--	16

1.5.4 Suppression des unités GlcNAc et Gal

Dans un autre temps, la suppression de l'unité GlcNAc et de l'unité Gal vient appuyer l'hypothèse concernant le caractère essentiel des fonctions hydroxyles en position 2 et 3 du fucose. Les molécules du tableau 1.4 sont généralement moins actives que le sLe^X, ceci, sauf lorsqu'une ou plusieurs fonctions alcools se retrouvent à proximité de la position qu'occuperait le galactose. On observe alors une augmentation de l'activité ou une sélectivité (entrées 12 et 16). Ceci peut être expliqué par une interaction de type pont H entre l'hydroxyle et une tyrosine (tyrosine 94 dans le cas de la sélectine E) présente dans le site récepteur.

Tableau 1.4 Antagonistes sans unité Gal et ayant une unité GlcNAc dénudée ou encore totalement retirée⁹

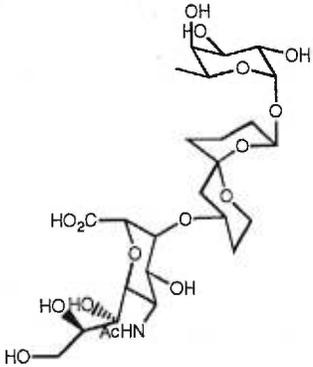
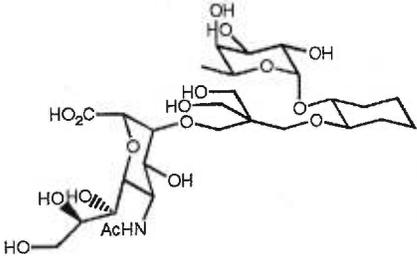
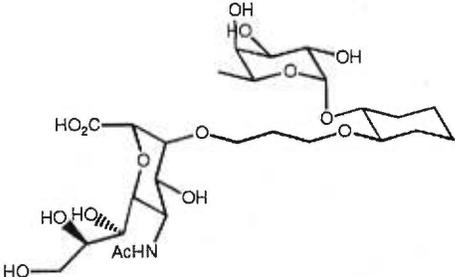
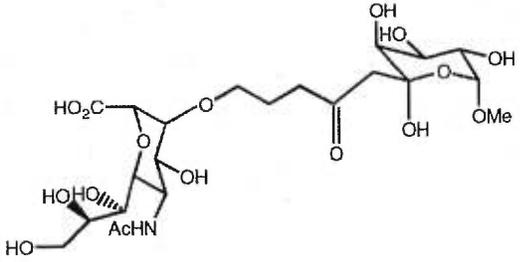
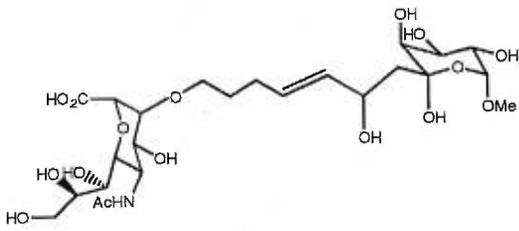
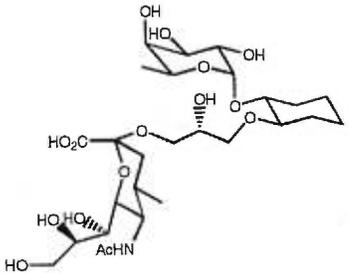
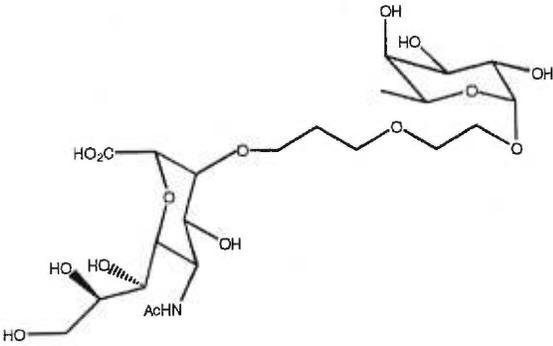
Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
11		35% à 10 mM (E)	17
12		α inactif (E) et 2.0 (P) β inactif (E) et 3.3 (P)	18
13		α, β (inactif) et β (1.6/1.0)	18

Tableau 1.4 (suite)

Antagonistes sans unité Gal et ayant une unité GlcNAc dénudée ou encore totalement retirée⁹

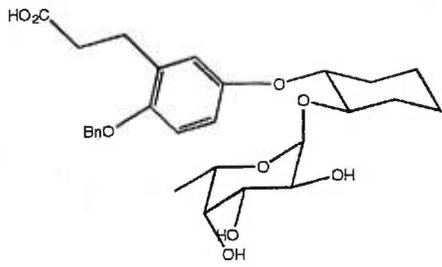
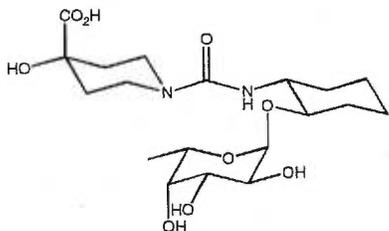
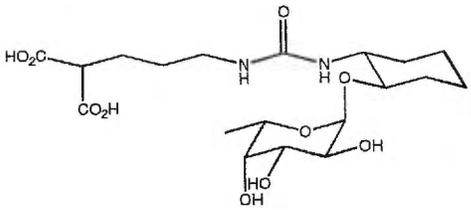
Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
14		20 fois moins actif que le sLe ^x (E)	19
15		Inactif (E)	19
16		α 3.1 (E,P) et β 2.4 (E,P)	18
17		Inactif (E)	20

1.5.5 Suppression des unités GlcNAc, NeuAc et Gal

Toujours dans le but de connaître le pharmacophore du sLe^x et aussi pour simplifier les structures des inhibiteurs à synthétiser, la suppression des unités NeuAc, GlcNAc et Gal fut réalisée. En fait, on passe d'un tétrasaccharide à un monosaccharide, le L-fucose. À partir de ce moment, une quantité impressionnante de

structures ayant la structure du fucose en tant qu'unité de base fut synthétisée. Toutes les structures du tableau 1.5 qui suit ont conservé soit cette unité (L-fucose) ou encore elles ont subi le remplacement de cette unité par une unité mannose ou galactose, ceci puisqu'à elles seules, chacune de ces unités possèdent trois des quatre groupements fonctionnels requis pour adhérer aux sélectines. Le tableau 1.5 illustre quelques unes de ces structures.⁹

Tableau 1.5 Antagonistes comportant seulement une unité saccharidique⁹

Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
18		3.3/--	21
19		1.6/7.5	22
20		n= 1-8 tous >5 (E)	23

Cependant, quoique plus aisément réalisables en laboratoire, nous savons tous que les sucres simples ou encore complexes constituent une classe de composés inaptes à servir de drogues car ils sont trop facilement dégradés par l'organisme, ont souvent peu d'affinité (interaction faible) avec leur récepteur, possèdent un faible taux de biodisponibilité à cause de leurs liens glycosidiques et finalement, dû à leur caractère hautement hydrophile, ils ont du mal à traverser la couche phospholipidique des membranes cellulaires.

1.5.6 La classe des glycopeptides

C'est donc en partie à cause de ces divers facteurs que divers groupes de recherche ont porté leur attention sur des structures mimant les sucres mais sans en être. A cette fin, Wong a mis au point une classe de glycopeptides.⁹ Certaines structures sont illustrées au tableau 1.6, tableau où l'on peut après l'étude attentive des éléments le composant, tirer certaines conclusions :

- ❖ l'acide glutarique ou encore un diacide apparenté peut servir de mimique du carboxylate de NeuAc (entrées 26-30),
- ❖ les structures 27 et 28 démontrent les activités les plus importantes. Il est cependant difficile avec les précédentes constatations d'expliquer sans équivoque pourquoi ces dernières démontrent autant d'activité. Nous pouvons seulement conclure que la chaîne hydrophobique ainsi que les deux hydroxyles y sont pour quelque chose.
- ❖ l'utilisation du D-mannose ou encore du L-galactose au lieu du fucose génère une série de composés ayant des activités similaires à celles obtenues avec le fucose.⁹

Tableau 1.6 Antagonistes de type glycopeptidique⁹

Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
21		0.045/--	24, 25
22		0.35-0.6/--	25b

Tableau 1.6 (suite) Antagonistes de type glycopeptidique⁹

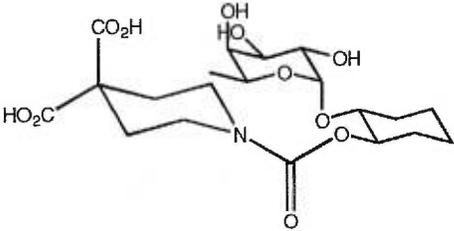
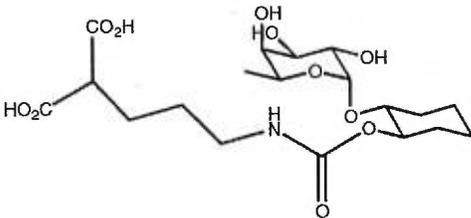
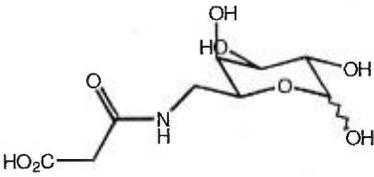
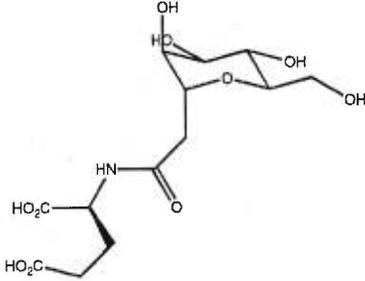
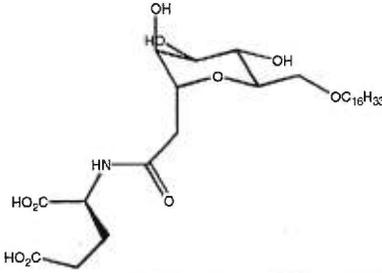
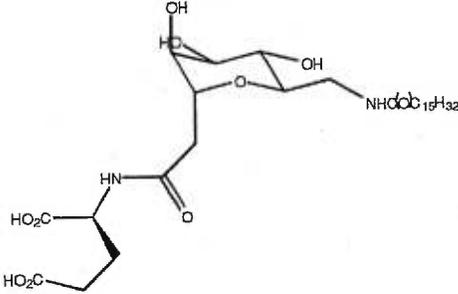
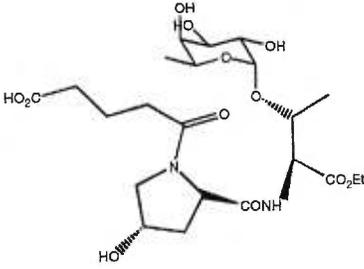
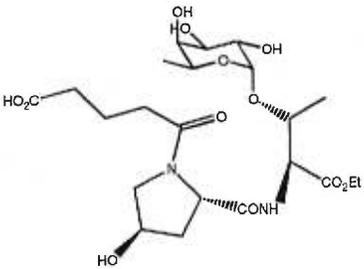
Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
23		1.6/7.5	25c
24		1.0/0.7	25d
25		0.2/--	26
26		0.11/--	24, 25
27		0.040/0.002	24, 25

Tableau 1.6 (suite)

Antagonistes de type glycopeptidique⁹

Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
28		0.023/0.003	24, 25
29		0.1/--	25e
30		0.05/--	25e

1.5.7 La classe des glycoaromatiques

D'autre part, Kogan a mis au point une série de structures glycoaromatiques.⁹ Ses molécules, contrairement à ce qui a déjà été reconnu concernant les inhibiteurs des sélectines humaines, ne contiennent pas de groupement qui mime l'hydroxyle en C-6 du galactose. La logique étant respectée, les activités de ses structures démontrent environ 20 fois moins d'activité que celles qui ont cette fonctionnalité. De plus, la plupart de ses structures démontrent le même niveau d'activité, et ce, que ce soit pour la sélectine E, la L ou encore la P. Ceci démontre qu'à un deuxième niveau, de légères modifications peuvent apporter de la sélectivité et de la spécificité aux struc-

sition 6 du mannose ont démontré une activité plus grande. Selon Hasegawa, cette activité accrue de 1000 fois dans le cas de l'ajout d'une ramification hydrophobe au niveau du C-6 (OH) du mannose serait attribuable à des interactions stabilisantes de type hydrophobique avec le site récepteur de la protéine. Jusqu'à maintenant, les interactions prises en compte n'étaient que de nature électrostatique. C'est donc à partir de ces résultats que l'explosion des classes de composés ayant de moins en moins de points en commun avec les sucres, donc avec le sLe^X, s'est produite.

Tableau 1.8 Antagonistes ayant des ramifications hydrophobiques⁹

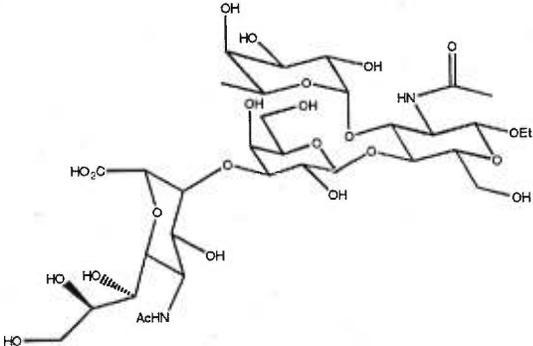
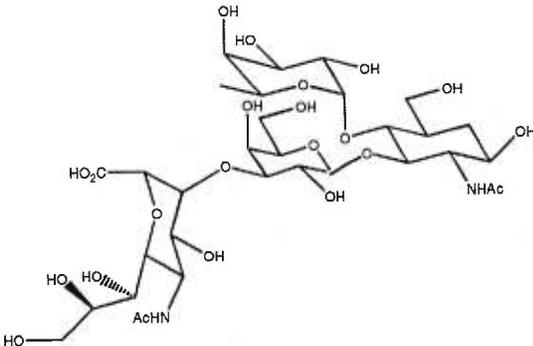
Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
34		1.5/--	28
35		0.22/--	28

Tableau 1.8 (suite)

Antagonistes ayant des ramifications hydrophobiques⁹

Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
36		0.021/--	28
37		0.14 (n=4)/-- et 0.39 (n=5)/--	29
38		0.59/0.60	29
39		0.65/0.90	29

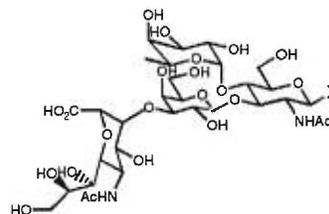
1.6 Inhibiteurs dont le design n'est pas basé sur le ligand naturel, le sLe^X

1.6.1 Monomères et polymères

La première catégorie présentée ici possède des unités sLe^X, toutefois les molécules possèdent un fort caractère hydrophobe tel que l'on peut constater en examinant les structures illustrées dans le tableau 1.9. Les trimères de Kretzschmar ont une activité de 3 à 5 fois supérieure à celles des structures monomériques en unité sLe^X.⁹

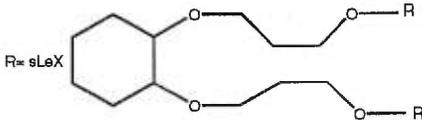
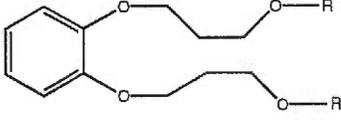
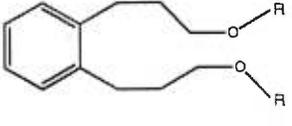
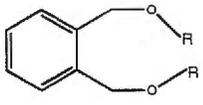
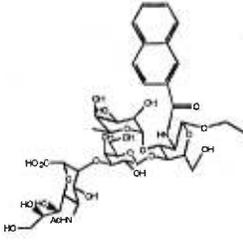
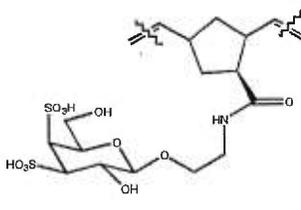
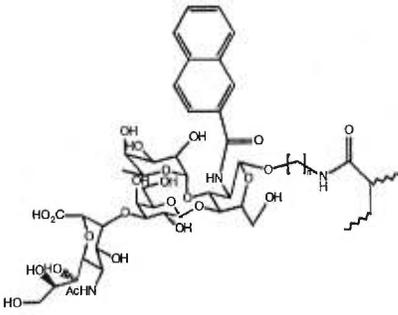
L'intérêt des recherches de Kretzschmar réside dans le fait qu'il tente grâce aux dimères et aux trimères de déterminer la distance optimale permettant de créer des composés pouvant être plus sélectifs face aux 3 sélectines d'intérêt. Il obtient des résultats quelques peu décevants puisque l'activité de ces molécules est supérieure à celle du sLe^X de seulement 3 à 5 fois et surtout parce que ses molécules quoiqu'assez différentes structurellement, possèdent une activité très similaire pour les sélectines E et P.

Tableau 1.9 Antagonistes de type polymérique⁹



Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E / Sélectine P		Réf.
		IC ₅₀ (mM)		
40	X= OH	1.0/2.0		30
41	 R= sLeX	0.38/>0.80		30
42	 R= sLeX	0.13/0.14		30

Tableau 1.9 (suite) Antagonistes de type monomérique et polymérique⁹

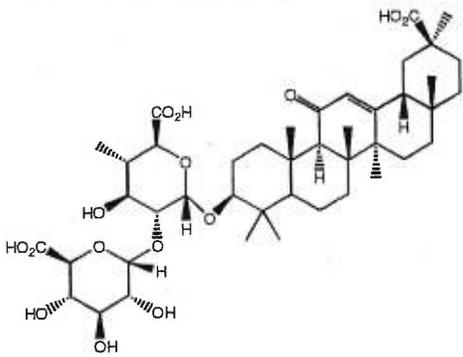
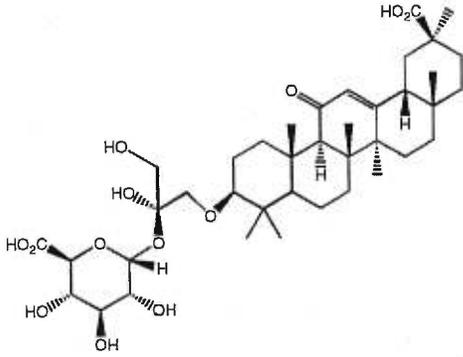
43		0.40/>1.0	30
44		0.037/--	31, 32
45		0.032	31, 32
46		0.03/--	31, 32
47		0.1/--	33
48		0.167/--	34
49		0.01/--	34

1.6.2 Inhibiteurs polyanioniques et dérivés de la glycyrrhizine

D'autre part, des structures dites polyanioniques telles qu'un polymère du fucose sulfaté, la fucidine polyanionique, ainsi que l'héparine, un polymère sulfaté d'une glucosaminoglycane et les cyclodextrines polysulfatés ont démontré beaucoup d'affinité pour la sélectine L.⁹

Brandley et ses collègues de la compagnie Glycomed ont identifié la glycyrrhizine, un triterpène glycosylé comme étant un antagoniste potentiel du sLe^X. Plusieurs autres structures dérivées de la glycyrrhizine ont été créés. Parmi toute la série de composés, la glycyrrhizine fucosylé dans le tableau 1.10 (entrée 51) démontre la plus grande activité.

Tableau 1.10 Antagonistes dérivés de la glycyrrhizine⁹

Entrée	Structures des antagonistes	Sélectine E Sélectine P IC ₅₀ (mM)	Réf.
50		>2/0.5	31, 32
51		<0.5/<0.5	31, 32

Finalement, quant aux structures 52 et 53 du tableau 1.11, nous remarquons que l'absence d'une chaîne acide sur l'unité biphenyle de droite (composé 53) sem-

1.6.3 Inhibition de l'adhésion cellulaire au niveau de différents stades de la cascade des événements biochimiques impliqués dans le phénomène

À cet effet, l'inhibition de la sulfatation des sucres de Lewis fut l'une des premières tentatives d'inhibition d'une étape essentielle à l'adhérence des molécules sucrées aux cellules endothéliales. De petites molécules pouvant inhiber les enzymes arylsulfotransférase et sulfotransférase furent réalisées.

Par la suite, l'inhibition du signal de transduction conduisant à la mise en circulation des sélectines après une infection et aussi lors de l'étape d'extravasation des cellules endothéliales lors de la migration furent les secondes cibles des chercheurs. Ils ont travaillé à synthétiser des antagonistes des leucotriènes et de l'interleukine-1, molécules responsables de ces signalisations. Présentement, concernant ces deux champs d'activité rien n'est probant et ne peut être tiré à partir des résultats obtenus jusqu'ici.

Par ailleurs, des molécules de faible poids moléculaire ont été synthétisé pour inhiber l'étape du roulement des leucocytes le long de la paroi de l'épithélium, des inhibiteurs de métalloprotéases en fait. Aussi, l'inhibition des fucosyltransférases ou encore des sialyltransférases fut tentée. Encore ici, les résultats semblent incertains sauf dans le cas spécifique se rapportant à la fucosyltransférase FucT VII ou encore la FucT V, ces dernières semblant jouer un rôle important lors de la biosynthèse des ligands des sélectines.^{10b}

1.7 Mise au point d'un gabarit à l'échelle moléculaire du site récepteur de la sélectine E

1.7.1 Design d'inhibiteurs basé sur la modélisation moléculaire

Pour notre part, l'approche préconisée pour le design d'inhibiteurs fait, dans un premier temps, appel à la modélisation moléculaire.

Lors du design d'un inhibiteur d'enzymes ou de ligands, la structure par diffraction de rayons X de la protéine co-cristallisée avec son ligand naturel reste l'idéal. Il est alors possible de chevaucher la structure du mimique à optimiser avec celle du ligand naturel sur le site récepteur, puis de retirer ce dernier pour ensuite effectuer la minimisation du nouveau ligand arrimé au site.

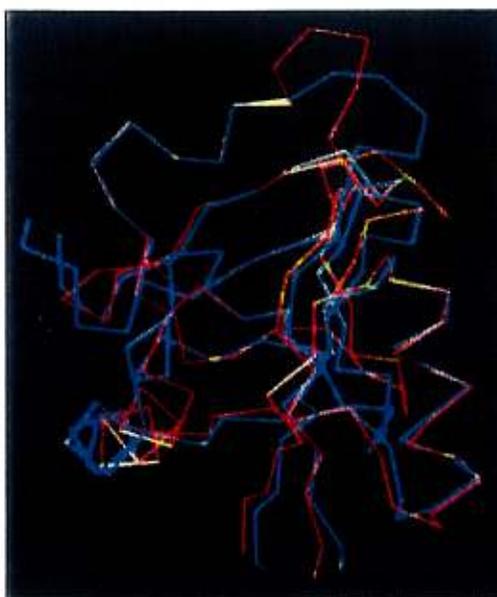
Malheureusement, il arrive qu'un tel scénario ne soit réalisable à cause du manque d'une structure rayon X du récepteur avec son ligand naturel ; en conséquence, l'alternative la plus rationnelle est de trouver dans une banque de données

de protéines, une protéine ayant un pourcentage d'homologie élevé face au récepteur d'intérêt et qui évidemment fut pour sa part co-cristallisée avec son ligand natif.

Dans notre cas, nous savons que sur les 5 domaines composant les sélectines, le domaine EGF (*epidermal growth factor*) et le CR (*carbohydrate recognition domain*) sont les domaines requis pour l'adhérence des leucocytes aux cellules endothéliales. Cependant, le site récepteur le plus important reste le domaine CR puisque selon certains chercheurs, la région EFG sert plutôt de support conformationnel pour le sLe^x.⁹

Sachant qu'aucune sélectine n'est encore co-cristallisée avec son ligand, et ce, dans sa forme dite bioactive, et que d'autre part, la structure cristalline du domaine CR de la sélectine E est disponible, il a été établi que 80% d'homologie existait entre la séquence primaire de ce domaine et une autre protéine totalement caractérisée et co-cristallisée avec son ligand. Il s'agit d'une protéine faisant partie de la classe des lectines C. Cette protéine retrouvée chez le rat fixe un oligomère du manose (rat mannose binding protein (MBP)).⁹ Le pourcentage d'homologie totale de leur domaine lectine n'est toutefois que de 30% ; nous serions porté à prime abord à rejeter cette association. Cependant, lorsque l'on superpose les coordonnées cristallographiques des domaines lectines, et ce, en alignant les acides aminés impliqués dans le site récepteur étudié, on est à même de constater à l'aide de la figure 1.5, le haut degré de similitude entre les deux repliements. Une excellente représentation de cette superposition fut tirée de l'article de Graves, publiée dans le *Nature* en 1994.^{10b} La structure bleue représente le domaine lectine appartenant à la sélectine E et en rouge, il s'agit du domaine de la MBP.

Figure 1.5 Démonstration du degré de correspondance des domaines lectines de la sélectine E et de la MBP^{10b}

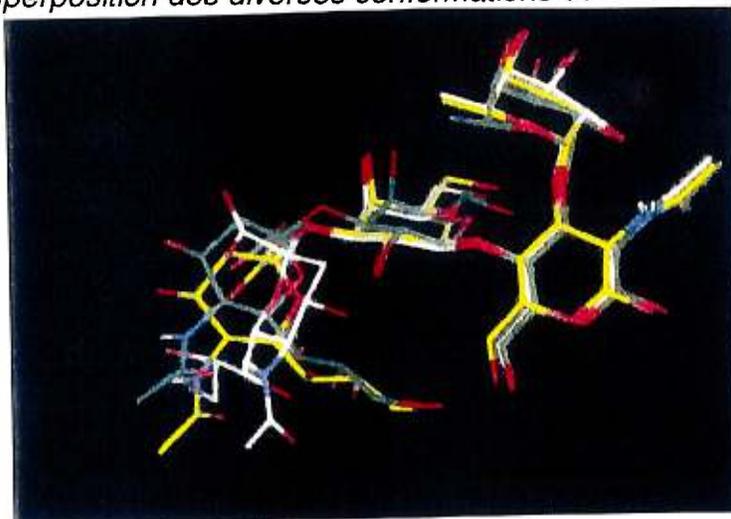


En bleu : Domaine lectine de la E-sélectine.

En rouge : Domaine lectine de la MBP.

Maintenant, comme nous devons connaître la conformation bioactive du sLe^X , ceci dans le but de définir la conformation optimale que nos inhibiteurs devront adopter pour se fixer convenablement au site récepteur. Cependant, certaines études RMN de transfert NOE (Nuclear Overhauser Effect) portant sur ces types de conformation se contredisent dans la littérature. En effet, certains chercheurs pensent que ces deux conformations sont en tous points identiques^{37,38} tandis que d'autres croient plutôt qu'il existe une légère différence au niveau d'un des transferts NOE.³⁹ En regardant une superposition des conformations du sLe^X en solution et sous sa forme bioactive⁴⁰, nous constatons de nous même qu'il existe une différence minime mais présente et décelable par modélisation moléculaire (figure 1.6).

Figure 1.6 Superposition des diverses conformations du sLe^X .⁴⁰



En blanc: Conformation de sLe^X en solution.

En jaune: Conformation bioactive de sLe^X .

En vert: Conformation de sLe^X en solution telle que calculée par ordinateur.

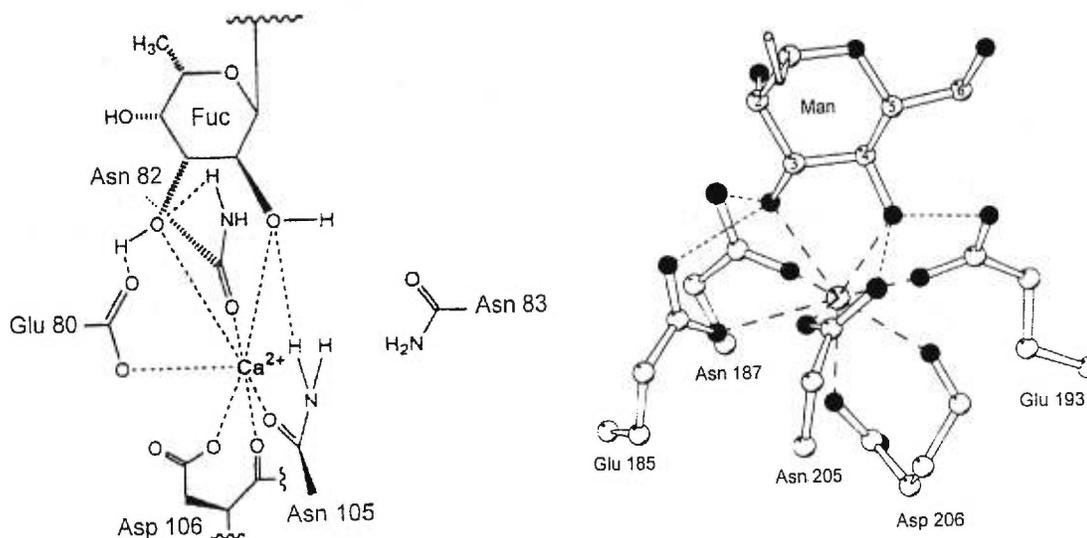
À ce point, puisque la conformation bioactive du sLe^X était connue et que par ailleurs, la ressemblance des repliements entre les domaines lectines de la sélectine E et de la MBP fut jugée satisfaisante, il ne restait plus qu'à réunir ces informations pour créer le modèle qui, à l'échelle moléculaire, par modélisation moléculaire permettra le design des structures inhibitrices souhaitées. Ce travail ingénieux fut utilisé par Kogan.⁴¹ On y apprendra d'une part que le sLe^X se lie au calcium *via* une unité diol vicinal du fucose et que plus loin dans la molécule, un pont salin s'établit entre le carboxylate de l'unité NeuAc du sLe^X et l'arginine 97 de la sélectine E.

La figure 1.7 permet de visualiser les interactions du sLe^X avec les résidus de la sélectine E fixant le calcium du site récepteur.⁴² Comme les résidus se coordonnant au calcium chez la sélectine E et la MBP s'avèrent être pratiquement les mêmes⁴³ (4 résidus identiques sur 5 fixant le calcium) Kogan a chevauché la sélectine E et la MBP complexé avec son ligand naturel, et ce, en prenant comme point de référence l'atome de calcium des deux protéines. Ensuite, il a minimisé les distances entre les autres résidus communs de ces deux protéines. C'est ainsi que ce dernier a obtenu une conformation estimée comme étant la conformation bioactive du sLe^X .

Ainsi donc dans la pratique, on superpose le diol du sLe^X au diol du mannose, et ce, en disposant le reste de la molécule dans la formation bioactive du sLe^X , cette dernière conformation découlant de résultats obtenus par RMN.

Ceci étant accompli, il ne reste plus qu'à soustraire du modèle, la structure de la MBP ainsi que de son ligand naturel, un oligomère du mannose, pour établir la maquette moléculaire permettant de déterminer la position et l'orientation des fonctions chimiques indispensables à l'inhibiteur.

Figure 1.7 Coordination des hydroxyles appartenant au fucose du sLe^X au calcium du site récepteur ; analogie structurale de la sélectine E et de la MBP⁴²



Ainsi donc, pour évaluer le potentiel de nos molécules à s'arrimer au site récepteur de la sélectine E, nous commençons par les disposer ou encore les « docker » sur le récepteur pour ensuite mesurer les interactions (Van der Waals, électrostatiques, pont hydrogène) entre la protéine et la molécule cible.

Il est à noter que notre modèle utilise le champs de force CFF91 et que ce dernier ne tient pas compte des molécules de solvant. En conséquence, nous pouvons dire que notre structure se retrouve dans le vide donc avec une valeur de permittivité de 1. Dans ces conditions, les charges exercent une grande attraction entre elles, et ce, sur des distances jugées normalement déraisonnables. Ainsi pour amé-

liorer cette situation, nous utilisons une constante diélectrique de $3r$ (trois fois la distance r) donc qui augmente avec la distance. De plus, nous modélisons tous nos substrats avec des fonctions carboxyliques protonées ainsi qu'avec des amines neutres. Dans le présent cas, notre premier inhibiteur de cette série possède une terminaison estérifiée et en conséquence, notre modèle ne tient pas compte de cette dernière remarque. Cependant, lorsque la deuxième structure de cette série sera réalisée, cette dernière comportera une terminaison saponifiée. Sachant alors qu'un pont salin est généralement considéré comme étant deux à trois fois plus fort qu'un pont H, nous nous attendons à ce que cette deuxième structure, celle sans le méthyle de la fonction ester présente sur **1.1**, démontre une activité supérieure à celle que nous obtiendrons avec **1.1**.

Donc, une fois notre molécule cible dessinée par ordinateur, on réalise une première minimisation conformationnelle pour qu'ainsi cette dernière se retrouve dans un minimum d'énergie, ceci dans le but de réduire les « mauvais contacts » qui peuvent résulter de la construction dudit modèle par ordinateur.

On effectue l'étape de « *template forcing* » i.e. qu'on force la bifonctionnalité se fixant au calcium ainsi que la fonction apparentée à l'acide carboxylique terminal, pour nous l'ester, réalisant une interaction avec l'asparagine 100, à adopter la même conformation ainsi que la même disposition dans l'espace que le sLe^X sur la sélectine E. On réitère cette étape à plusieurs reprises, et ce, en modifiant la force appliquée sur le modèle, ceci dans le but ultime de trouver la conformation qui sera la plus basse en énergie.

Une fois cette étape franchie, il reste à disposer ou à « docker » la structure sur la protéine, et ce, en superposant la bifonctionnalité se fixant au calcium au diol du fucose du sLe^X . On note alors que le carboxyle appartenant à l'ester se retrouve à peu près à la même position que celui de l'acide carboxylique du sLe^X , ceci étant dû à l'étape précédente, donc du « *template forcing* ».

On retire le modèle du sLe^X et on minimise une seconde fois le tout. Pendant cette nouvelle étape de minimisation, nous nous assurons de garder intact la distance et l'orientation de la bifonctionnalité mimant le diol sur sLe^X .

Suit finalement la mesure des interactions mentionnées plus haut, entre la protéine et la molécule.

Dans le tableau 1.12 situé un peu plus loin dans ce chapitre, nous retrouvons les principaux résultats de ces précédentes manipulations par ordinateur. Le « *forcing potential* », F_{pot} représente l'énergie qui a dû être appliquée pour respecter les contraintes au calcium.

Pour terminer, notons que puisque le champs de force est plus ou moins adéquat (*vide supra*) pour mesurer la force des interactions au calcium (ce dernier étant considéré comme une sphère 2^+), les valeurs d'énergies obtenues sont relatives, elles doivent donc surtout servir à comparer les molécules d'une même famille entre elles. Plus la modification apportée à une structure est importante, moins les valeurs obtenues sont fiables.

1.8 Design d'un modèle inhibiteur semi-rigide de la sélectine E pouvant se fixer au calcium via une fonctionnalité oxamidique

1.8.1 Oxamide cyclique à 7 membres

Dans notre cas, la présente étude portera exclusivement sur la synthèse de structures ayant potentiellement une activité inhibitrice accrue face au sLe^X . Pour ce faire, nous tenterons de voir si une modification au niveau des fonctions chimiques pouvant agir comme ligand au calcium amène un changement significatif quant à l'activité antagoniste face à la sélectine E.

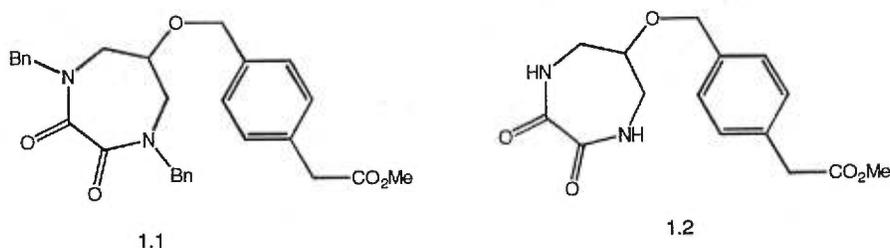
Nous travaillerons donc à synthétiser une molécule de faible poids moléculaire qui sera possiblement synthétisable en peu d'étapes. De plus, l'objectif quant à l'enrichissement des connaissances scientifiques concernant ce projet sera vérifié si le site récepteur de la sélectine E (ou P) est apte à s'accommoder de structures qui adhèrent au calcium via un fonctionnalité autre qu'un diol vicinal.

Dans un premier temps nous proposons de synthétiser un inhibiteur semi-rigide imitant le sLe^X au niveau de ses unités hydroxyles 2 et 3 du fucose ainsi qu'au niveau de son carboxylate de l'unité NeuAc. Nous tenterons la synthèse d'un oxamide cyclique de type diazépame, la structure de celui-ci étant illustré à la figure 1.8.

Le choix de cette structure tient principalement au fait que nous savons que le calcium du site récepteur possède deux ligands qui sont des résidus amides de la protéine (asn 82 et 105). De plus, les amides sont de meilleurs ligands que les alcools et la fonction oxamide dans un cycle à 7 membres devrait avoir les deux carbonyles à environ 60° l'un de l'autre, ceci tout comme dans un diol-1,2 trans d'un cyclohexyle.

Les deux structures donnant par modélisation moléculaire des résultats encourageants face à la possible activité antagoniste que ces derniers pourraient avoir sont illustrées ci-bas. Les différences ainsi que le choix de la structure **1.1** plutôt que **1.2** en tant que première molécule cible feront l'objet d'une discussion située au début du chapitre suivant.

Figure 1.8 Oxamides cycliques proposés 1.1 et 1.2



La modélisation moléculaire des structures **1.1.** et **1.2** fut effectuée et optimisée par le *docking* au site récepteur de la sélectine E, ceci, *via* le logiciel Insight II[®] de BIOSYM.⁴⁴

Il est à noter que comme il existe 30 % d'homologie au niveau de la structure protéinique totale ainsi qu'environ 60 % d'homologie au niveau du domaine lectine des sélectines E et P et sachant par ailleurs, qu'aucune structure cristalline de la sélectine P fut réalisée jusqu'à maintenant, il est important de mentionner à ce point qu'il est fort probable que le design d'un inhibiteur dirigé vers l'inhibition de la sélectine E s'avère aussi un antagoniste pour la sélectine P.⁴³

Tableau 1.12 Paramètres énergétiques découlant de la modélisation moléculaire

Structure	VdeW kcal	Elec. kcal	Tot. kcal	F _{pot} kcal	Pont H D (Å)
1.1	-9.95	-33.74	-43.69	0.738	2.43 (asp 100)
1.2	-12.62	-29.20	-41.92	-0.937	2.31 (asp 100)

1.8.2 Conclusion

En résumé, quelques règles se dégagent de toutes ces recherches et c'est à partir de ces dernières que nous avons basé le design de nos inhibiteurs.

- ❖ Lorsqu'on effectue des changements au niveau de la partie GlcNAc du sLe^X, on peut soit augmenter, laisser intacte ou encore diminuer l'affinité de ces inhibiteurs à la sélectine E ou P, ceci reflétant que cette entité structurale prise telle quelle n'est pas primordiale. De plus, certains auteurs ont tout simplement confirmé cette hypothèse puisqu'ils ont enlevé complètement cette unité de la structure de l'inhibiteur. Cette partie donc, ne sert que d'espaceur entre le fucose et le galactose.
- ❖ Au niveau du carboxylate faisant partie de l'unité NeuAc, certains inhibiteurs démontrent que seulement la charge négative revêt de l'importance, ceci laissant présager que le remplacement de cette fonction par une autre fonction ayant un caractère anionique aurait un certain potentiel à se fixer à la sélectine E et/ou à la P (pensons à cet effet aux groupements phosphate et sulfate). Puisque nos structures ne comportent pas d'unité sucrée, nous avons positionné, dans un premier temps, un ester pour jouer le rôle d'accepteur de pont H avec la sélectine. Ce dernier pourra faire l'objet d'une saponification ultérieure pour comparer si l'activité change lorsque l'on a un carboxylate.
- ❖ Pour obtenir un bon niveau d'activité, l'antagoniste idéal doit imiter la conformation bioactive du sLe^X (inhibiteur lié à la sélectine d'intérêt) et ultimement, il devra être suffisamment rigide pour pouvoir restreindre les degrés de liberté de la molécule au niveau du site récepteur sans toutefois forcer la molécule à adopter une conformation qui lui impose une distorsion angulaire au niveau de la fonction acide du NeuAc, car ainsi la mimique de l'acide sialique du sLe^X serait alors rendue presque impossible.⁶ Pour respecter ce point, tous les paramètres énergétiques des calculs provenant de la modélisation moléculaire indiquent que nos structures ont de bonnes chances de se lier à la sélectine E.

Chapitre 2

**Formation d'un oxamide cyclique
à partir du 1,3-diaminopropane
N,N'-diphénylfluorénylé**

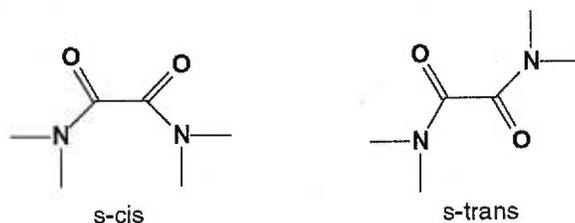
2.1 Introduction

2.1.1 Exigences intrinsèques de la synthèse d'oxamides cycliques

Nous croyions, au tout début de ce projet, et ce, avant même de commencer notre recherche qu'il serait possible de faire la cyclisation en traitant un diester ou un dichlorure d'oxalyle, par une diamine. Cependant, nous avons tôt pris connaissance du fait qu'il était impossible de former un cycle à 7 membres de type oxamide dans de telles conditions.⁴⁵

En effet, Isaksson *et coll.* stipulent qu'il faut impérativement dialkyler l'amine de départ. Ces auteurs précisent qu'un oxamide sous sa forme cristalline, particulièrement dans le cas d'un dithio-oxamide, adopte naturellement une conformation *s-trans* planaire (figure 2.1), ce qui n'est pas la conformation permettant d'effectuer la cyclisation.⁴⁶

Figure 2.1 Conformations possibles des oxamides⁴⁶

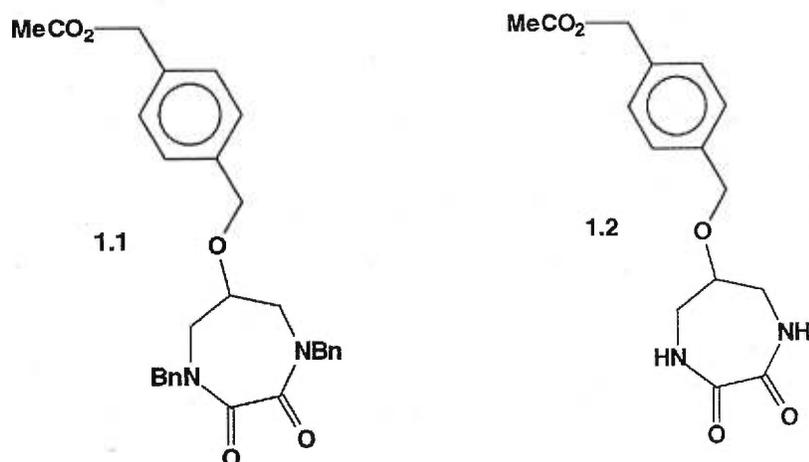


Cependant, dans le cas des amines substituées menant à des amides, il est possible de favoriser la conformation planaire *s-cis* en installant sur les azotes, des groupements alkyles. Ainsi, les interactions stériques découlant de la mise en place de ces derniers groupements auront pour effet d'induire une rotation autour du lien CO-CO, ceci favorisant la conformation *s-cis*, essentielle pour obtenir la cyclisation. Ceci explique en grande partie pourquoi nous devons préalablement protéger les amines avec un alkyle.

Aussi, à ce sujet, les auteurs spécifient que les dérivés N-alkylés simples ont tendance généralement à adopter une conformation *s-trans* mais qu'il demeure possible d'induire un taux encore plus élevé de rotation autour du lien CO-CO, et ce, en installant préférentiellement un alkyle plus volumineux. Nous devons donc considérer ce point, ajouter des groupes volumineux sur les amines pour favoriser la conformation qui permettra la cyclisation en oxamide.

Puisque nous venons de discuter de l'alkylation des amines qui, ultérieurement seront transformées en amide lors de la cyclisation, nous rappelons ici, à la figure 2.2, la structure oxamidique cyclique cible précédemment illustrée au chapitre un.

Figure 2.2 Rappel des molécules cycliques à 7 membres 1.1 et 1.2

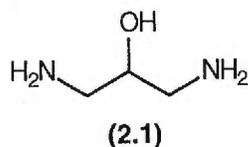


De plus, notons que cette alkylation devra être réalisée avec un groupement alkyle spécifique, celui-ci n'étant pas le même pour la formation d'un cycle à 4, 5, 6 ou 7 membres.⁴⁵ Par exemple, dans le cas des cycles à 7 membres, ces auteurs nous informent qu'il nous faudrait recourir à un groupement benzyle puisque c'est avec une diamine dibenzylée que le rendement de la cyclisation subséquente semble s'avérer optimal, i.e. de l'ordre de 50%.⁴⁷

2.1.2 Tentatives de benzylation directe du composé 2.1

Concernant l'atteinte de l'objectif fixé, nous avons pensé débiter la synthèse par la cyclisation pour ensuite greffer la chaîne portant l'aryle substitué en *para*.

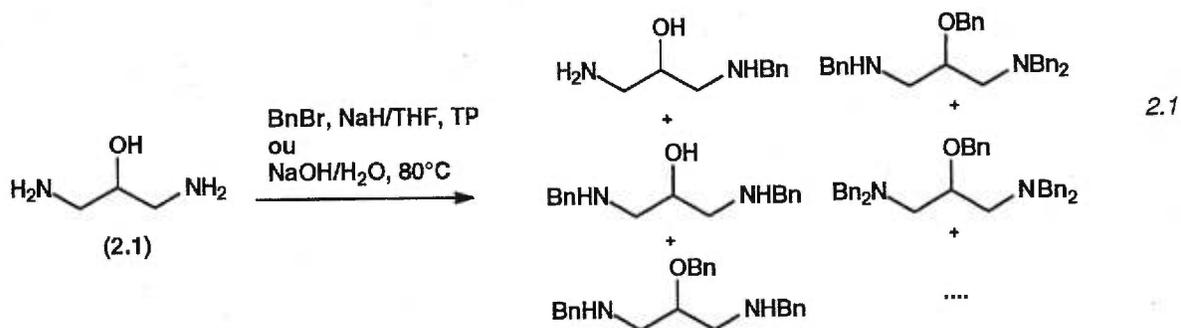
Au départ, nous devons déterminer quel groupe protecteur nous devrions utiliser pour protéger les amines du substrat de départ, le 1,3-diaminopropan-2-ol (**2.1**) commercialement disponible. Comme cette molécule possède trois fonctions, un alcool et deux amines primaires, il nous fallait un groupement protecteur qui soit, idéalement, sélectif face aux fonctions amines. De plus, nous savions que pour cycliser, les chances promettaient d'être optimales en utilisant le groupement benzyle (*vide supra*).



Dans un premier temps, nous nous sommes interrogé sur la possibilité d'installer un alkyle qui, en plus de nous permettre d'accéder à un oxamide cyclique puisque ce dernier augmentera le taux de rotation autour du lien CO-CO, pourrait

aussi nous permettre d'augmenter les possibilités d'arrimage de cette structure au site récepteur de la sélectine E. Ainsi donc, après avoir modélisé la structure **1.1**, nous avons constaté que la protection des amines sous forme de benzyle a pour effet de diminuer la valeur mesurée de l'énergie potentielle (F_{pot} ; *forcing potential*) de 0.2 kcal (tableau 1.12), ceci, par rapport à la structure analogue **1.2**, qui elle comporte des amides non protégés.

Malgré que nous anticipions une polybenzylation de ce substrat, nous avons tout de même, dans un premier temps, tenter la triprotection directe de celui-ci. Pour ce faire, nous avons donc mis en présence de la structure **2.1**, trois équivalents de base, l'hydrure de sodium ou encore l'hydroxyde de sodium, et trois équivalents de bromure de benzyle. Malheureusement, le résultat obtenu fut décevant. Effectivement, nous avons obtenu une pléiade de réactions secondaires, i.e. probablement un mélange de mono, di, tri, tétra et pentabenzylations. L'équation 2.1 illustre quelques unes des diverses possibilités de dérivés benzylés pouvant se former dans ces conditions.



Le produit tribenzylé étant probablement présent en infime quantité dans ce mélange, nous sommes passés à une autre alternative, celle de prendre en tant que groupement protecteur, un groupement suffisamment encombré pour empêcher une diprotection des amines primaires. Idéalement, nous voulions aussi cycliser avec un intermédiaire qui « forcerait » une des extrémités acylées à attaquer l'autre extrémité.

Nous pensons que ces conditions pourraient être respectées si nous prenons le groupement phénylfluorényle au lieu du groupement benzyle. De par son volume, nous pensons que ce dernier pourrait s'avérer un bon groupement pour induire une rotation du lien CO-CO en plus d'empêcher la diprotection au niveau des amines. Dans un tel cas, nous projetons de déprotéger les amides et d'installer ensuite les benzyles qui, comme nous l'avons précédemment mentionné, font diminuer la valeur de F_{pot} .

2.2 Rétrosynthèse impliquant le phénylfluorényle en tant que groupement protecteur du 1,3-diamino-2-propanol

2.2.1 Rétrosynthèse du composé 1.1

Dans un premier temps, la triprotection du composé commercialement disponible **2.1** avec le bromure de phénylfluorényle impliquait la synthèse de celui-ci.^{48,49} Une fois la synthèse de ce groupement protecteur effectuée, l'étape suivante consisterait à triprotéger **2.1** pour ainsi obtenir la structure triprotégée **2.2**. Nous avons donc pensé utiliser le groupement phénylfluorényle en tant que groupement protecteur des amines puisque ce dernier, à cause de sa grosseur, empêcherait la diprotection des amines de s'effectuer.

À ce point, nous serions fin prêt pour tenter la cyclisation, étape qui alors nous mènerait à l'intermédiaire cyclisé **2.3**. Nous pensions tenter la déprotection sélective de l'alcool, ceci dans le but d'obtenir le composé **2.4**, ce dernier étant maintenant apte à subir une o-alkylation avec l'ester **2.7**, ce dernier pouvant provenir de l'estérification de l'acide correspondant commercialement disponible. Le composé **2.5** en main, nous n'aurions qu'à déprotéger les amides et ensuite benzyler ces derniers pour ainsi achever la synthèse de la molécule **1.1**.

De plus, nous espérons que la molécule **2.1** ainsi triprotégée avec ce groupement adopterait une conformation telle que cette dernière verrait ses deux extrémités placées à proximité l'une de l'autre, ceci facilitant la réaction de cyclisation subséquente. Il est à noter qu'à notre connaissance, aucun article portant sur la formation-cyclisation d'un oxamide à 7 membres utilisant le groupe phénylfluorényle comme groupe protecteur de la diamine de départ, n'a été jusqu'à maintenant publié. La figure 2.3 résume donc la première approche rétrosynthétique retenue pour arriver à la synthèse de la molécule **1.1**.

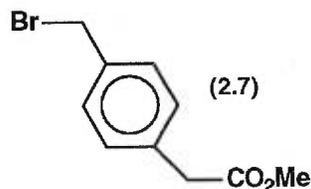
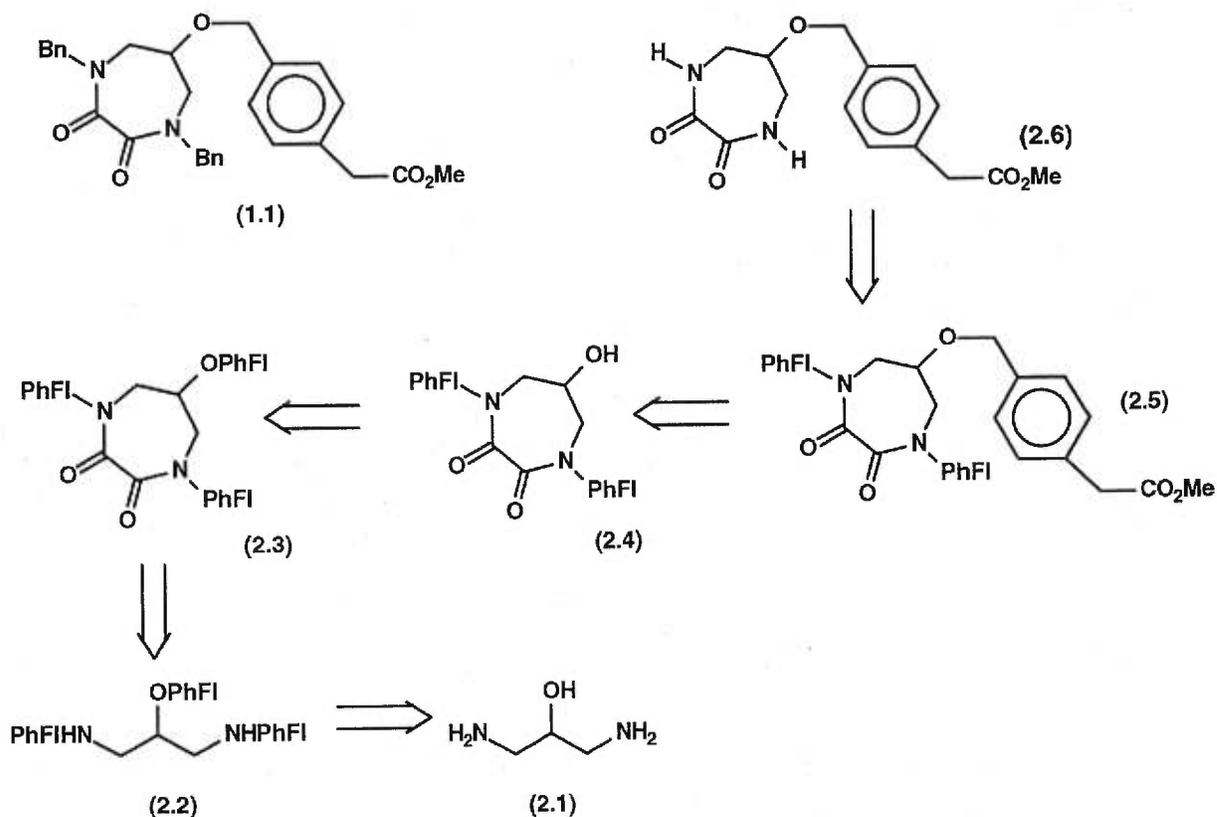


Figure 2.3 Rétrosynthèse envisagée faisant l'emploi du groupe phénylfluorényle comme groupe protecteur des amines du composé 2.1



2.3 Synthèse de l'intermédiaire cyclique 2.3

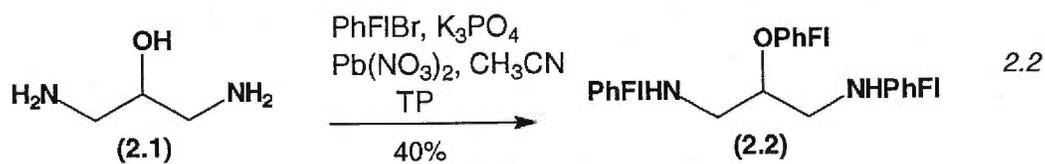
2.3.1 Triprotection de l'aminoalcool de départ 2.1

Nous avons débuté la synthèse en produisant une quantité appréciable de bromure de phénylfluorényle (PhFI₂Br) selon la méthode développée par Rappoport *et coll.* pour ainsi pouvoir réaliser la triprotection de 2.1.⁴⁹

Cette synthèse en deux étapes à partir du bromobenzène et de la fluorénone nous a permis d'accéder à la deuxième étape, la triprotection de 2.1. Cette s'est déroulée avec un rendement plutôt modeste de 40%. L'isolation du produit désiré fut passablement ardue puisque la réaction requiert une quantité appréciable de Pb(NO₃)₂ et de K₃PO₄, ces réactifs générant lors de la réaction une quantité considérable de sels correspondants.⁴⁹ Nous avons dû purifier le produit 2.2 en soumettant ce dernier à une série d'extractions répétitives par soxhlet, et ce, pour une durée de 72 heures.

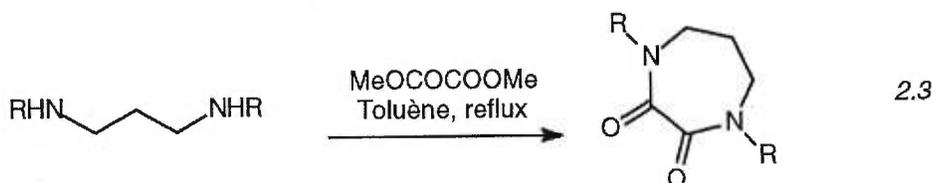
Par ailleurs, le composé symétrique **2.2** génère un spectre RMN-¹H assez facile à interpréter. Cependant, même si cette structure est symétrique, la multiplicité du C-H au centre de la structure (proton carbinolique) ainsi que ceux appartenant aux deux méthylènes, ne respectent pas la règle du 2n+1, i.e. les méthylènes possèdent des protons non équivalents, ceci étant probablement dû à l'effet d'encombrement stérique que génèrent les groupements protecteurs et qui nuit à la rotation libre autour des liens C-C.

L'équation 2.2 suivante décrit les conditions utilisées pour la triprotection du composé **2.1**.⁵¹



2.3.2 Cyclisation du composé **2.2**, le N,N-bis-(9-phényl-9H-fluorén-9-yl)-2-(9-phényl-9H-fluorén-9-yloxy)-propane-1,3-diamine

Nous avons tenté la réaction de cyclisation selon les conditions développées par Liljefords et Isaksson⁴⁷ au début des années quatre-vingt (équation 2.3).

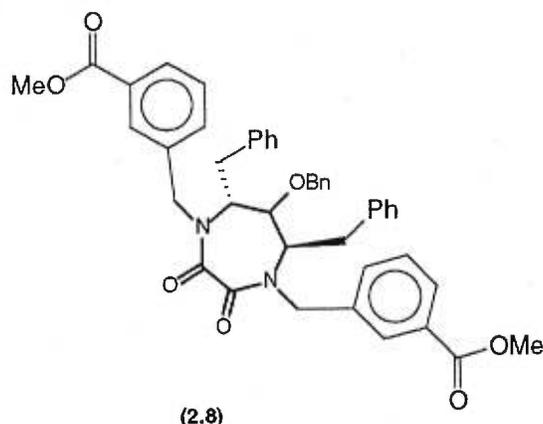


Comme le démontre le tableau 2.1 qui suit, nous avons tenté tout d'abord les conditions décrites plus haut, ces conditions faisant intervenir l'oxalate de diméthyle et le toluène en tant que solvant (entrée 1). Chacune des réactions fut réalisée à haute dilution pour ainsi minimiser les réactions secondaires de polymérisation.

L'entrée 2, quant à elle, fut réalisée dans le méta-xylène, un solvant moins populaire pour des réactions portées à reflux puisque ce dernier a tendance à subir une décomposition thermique, et l'agent acylant choisi fut l'oxalate de diméthyle. L'abandon de la réaction pour une période de plusieurs heures n'a malheureusement rien donné, le réactif de départ étant majoritairement récupéré tel quel.

Puisque nous n'obtenions pas les résultats souhaités avec ces premières conditions, nous nous sommes tourné vers les conditions plus récentes publiées par Jadhav de la compagnie Du Pont Merck.¹ Ce dernier arrive à synthétiser l'oxamide

cyclique **2.8**, cette structure s'apparentant quelque peu à la nôtre, puisque contrairement aux autres publications qui portaient sur le sujet, l'oxamide de Jadhav possède un carbone portant un oxygène faisant un lien éther tout comme c'est le cas pour nous.



Plus précisément, ces conditions emploient le chlorure d'oxalyle avec une base, la triéthylamine pour capturer les ions H^+ générés. La réaction se fait dans le chloroforme et l'addition du chlorure d'oxalyle doit être effectuée à $-40^{\circ}C$. Par la suite, on laisse la température du milieu réactionnel revenir à $23^{\circ}C$ et on abandonne la réaction pour une période de 18 heures. Ces derniers ont obtenu avec leur substrat un rendement optimal de 50%.

On doit cependant mentionner que même si, dans un premier temps, l'article de Jadhav nous avait rempli d'enthousiasme compte tenu du fait que ce dernier y relatait une réaction de cyclisation menant à un produit ressemblant quelque peu à celui que nous projetions de faire, nous avons dû constater que l'article était d'un secours limité. À ce sujet, nous déplorons le fait que ce dernier a seulement publié un compte rendu dans lequel il stipule avoir eu à faire de « considérables expérimentations » pour arriver à cycliser l'oxamide à 7 chaînons, le détail de ces expérimentations ne figurant nulle part dans la publication.

De plus, l'auteur déclare que la cyclisation est la réaction clé de la synthèse de son inhibiteur de la protéase du VIH, mais il ne donne aucun détail concernant la procédure à suivre pour arriver à un tel résultat. En conséquence, nous ne connaissons ni la concentration du milieu, ni le nombre d'équivalents requis des réactifs, ceci sans compter le fait que la durée sur laquelle l'addition se devait d'être réalisée et le moment où l'on se doit de retirer le bain à $-40^{\circ}C$ restent des données sujettes à interprétations.

Néanmoins, c'est avec ces conditions ainsi que de considérables expérimentations, ces dernières étant agrémentées d'une bonne dose d'optimisme,

que nous avons enfin réussi à cycliser le composé **2.2**, ceci cependant, avec un rendement médiocre de 9%(entrée 9).

Avant d'arriver à la cyclisation, nous avons donc tenté des conditions inspirées de nos recherches (entrées 3⁵¹ à 9). Le tableau 2.1 résume la plupart des conditions essayées pour cycliser.

Tableau 2.1 Conditions employées pour cycliser le composé 2.2

Entrée	Temp. addition (°C)	Et ₃ N (éq)	Agent Acylant A ou B	Solvant	Mol/L []	Durée de la réaction	Remarque/Rd (%)
1 ⁴⁷	tp-reflux	---	3.6/B	tol	0.003	6 jrs	RMN- ¹ H complexe/ 0%
2 ⁴⁷	tp-reflux	---	3.9/B	m-xyl	0.005	3 jrs	RMN- ¹ H complexe/ 0%
3	-78	41	7.2/A	CH ₂ Cl ₂	0.016	1 jr	RMN- ¹ H complexe/ 0%
4	-78	40	7.3/A	CH ₂ Cl ₂	0.019	3 jrs	RMN- ¹ H complexe/ 0%
5	-78	41	1.8/A	CH ₂ Cl ₂	0.016	1 jr	Aucune réaction
6	-60	5	1.1	CHCl ₃	0.088	2 jrs	RMN- ¹ H complexe/ 0%
7	-78-reflux	19	1.0	Tol	0.007	12 jrs	RMN- ¹ H complexe/ 0%
8	-78-reflux	1	18.9	Tol	0.007	4 jrs	RMN- ¹ H complexe/ 0%
9	-78	18	0.94/A	Tol	0.012	1 jr	9%

A= Chlorure d'oxalyle ; B= Oxalate de diméthyle

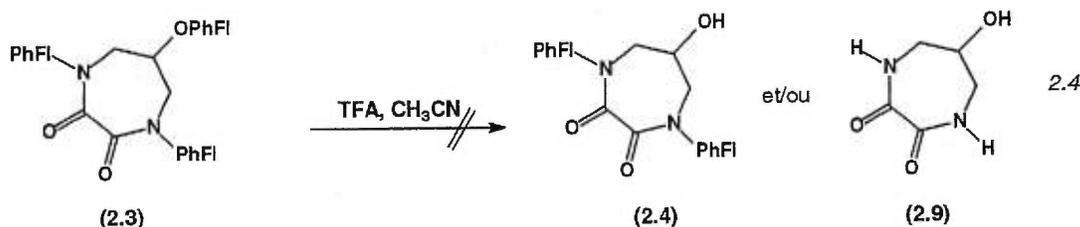
2.3.3 Tentatives de déprotection partielle ou totale de l'intermédiaire cyclique 2.3

C'est avec ce résultat positif quoiqu'entaché d'un rendement médiocre, qu'après mûre réflexion, nous avons dû admettre qu'il faudrait probablement tenter autre chose.

En effet, si l'on tient compte du fait qu'il nous faut tout d'abord synthétiser le groupement protecteur, ce dernier étant passablement onéreux à produire, ceci sans compter le fait que notre composé **2.2** requiert trois équivalents de ce dernier et qu'ultérieurement ceux-ci devront être clivés après l'étape de cyclisation, nous en sommes venus à nous demander s'il fallait se contenter d'un si faible rendement lors de la cyclisation ou bien, comme nous venons de l'entrevoir, changer de route pour arriver à notre objectif, la synthèse du composé **1.1**.

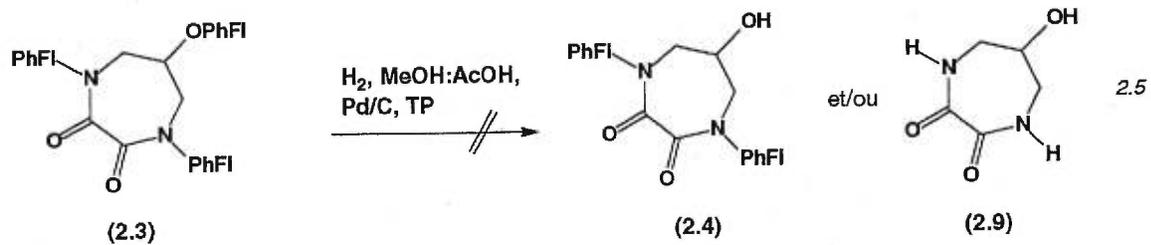
Puisque nous avons obtenu un faible rendement lors de la cyclisation, il nous apparaissait primordial d'effectuer une déprotection de l'alcool, ceci donc sans cliver les amides protégés. Si cela s'avérait possible, nous pourrions alors respecter la stratégie décrite à la figure 2.3 (*vide supra*) sans quoi, nous serions contraint à ajouter certaines étapes de protection et de déprotection supplémentaires à la rétrosynthèse, et ce, pour arriver à l'objectif visé. En effet, en ne déprotégeant que l'alcool, nous pourrions par la suite o-alkyler ce dernier et ultérieurement, n'avoir qu'à déprotéger les amides et poser les groupes benzyles sur les amides nouvellement libérés de leur groupe phénylfluorényle. Par contre, dans le cas où nous cliverions les trois groupes phénylfluorényles, nous nous retrouverions avec une molécule pouvant encore réagir avec un agent alkylant, et ce, au niveau de ses trois atomes électro-négatifs, soit les deux azotes et l'oxygène. Ce qui ne nous encourageait guère à ce point, c'était le fait non négligeable qui est que les conditions de déprotection rapportées par Rappoport concernent exclusivement des substrats amines et non des alcools ou encore des amides.

Nous avons malgré cela essayé les conditions de Rappoport. En premier lieu, nous avons essayé les conditions où le milieu réactionnel est fortement protonnant à l'aide de l'acide trifluoroacétique (équation 2.4).⁴⁹ Dans ces conditions, nous avons vu rapidement apparaître par ccm une multitude de points, ceci témoignant d'une importante décomposition des molécules.



Devant ce résultat décevant, nous avons alors essayé les conditions d'hydrogénolyse réalisée dans un mélange 1:1 méthanol; acide acétique et catalysée par le palladium sur charbon.⁵¹ Encore une fois, nous avons obtenu une ccm qui reflétait fidèlement la décomposition ultérieurement observée lors de la

première tentative décrite plus haut. Tout ceci et le fait que le rendement de la réaction de cyclisation n'était que de 9% a encouru à appuyer notre décision de prendre une autre voie pour la synthèse de **1.1**.



Chapitre 3

Tentative de synthèse du 1,4-dibenzyl-6-(*tert*-butyldiméthylsilanyloxy)-[1,4] diazépane-2,3-dione, premier précurseur de 1.1

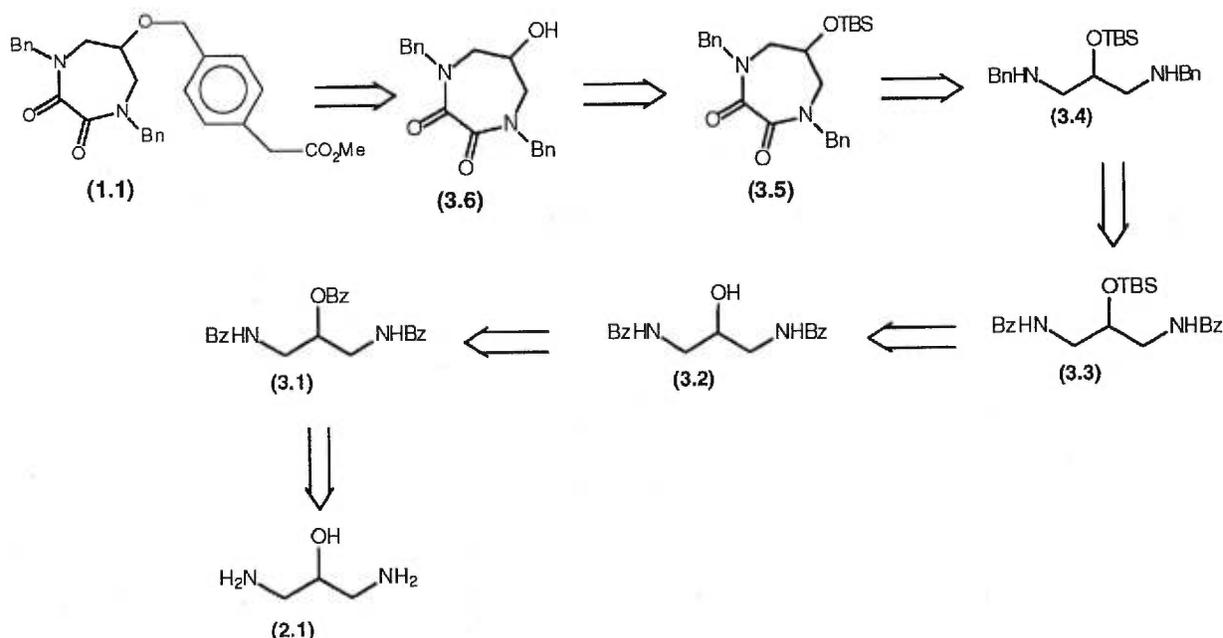
3.1 Introduction

Au début du chapitre deux, nous avons relaté les résultats d'une première tentative de tribenzylation directe de **2.1** employant les conditions usuelles i.e. un halogénure de benzyle avec une base pouvant déprotonner les amines et l'alcool du substrat. Nous avons constaté qu'il serait difficile d'accomplir la réaction spécifique de tribenzylation avec un rendement acceptable, ceci à cause de la polybenzylation des amines (*vide supra*).

Comme nous avons déjà essayé plusieurs résultats négatifs et obtenu un misérable rendement de 9% concernant la cyclisation du composé triprotégé avec le groupe phénylfluorényle, nous avons décidé à ce point de triprotéger le substrat **2.1** en employant une autre approche. En effet, nous avons plutôt décidé de revenir au composé ayant des amines benzylées pour effectuer ensuite la cyclisation, mais cependant, en passant par une méthode indirecte soit la tribenzoylation du substrat de départ **2.1**.

Le composé **3.1** en main, une saponification de ce dernier permettra l'obtention de la structure **3.2**. À ce point, une protection de l'hydroxyle de **3.2** avec un groupement silylé s'avère nécessaire (**3.3**) puisqu'ensuite, nous anticipons la réduction des fonctions amides de **3.3** en amines (**3.4**). L'intermédiaire **3.4** obtenu, ce dernier sera alors fin prêt pour subir les conditions de cyclisation de Jadhav⁵⁰, ceci nous permettant d'obtenir le composé cyclique **3.5**. À ce stade, il ne restera qu'à déprotéger l'alcool, ceci nous permettant d'isoler l'intermédiaire **3.6**. Pour terminer, une dernière réaction, l'alkylation de l'alcool **3.6**, pourra possiblement nous permettre d'obtenir la molécule cible **1.1**. La figure 3.1 illustre le résumé sous forme rétrosynthétique, des étapes qui viennent d'être introduites.

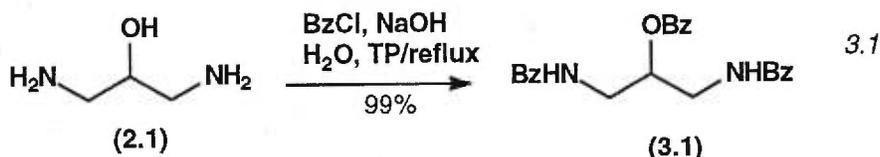
Figure 3.1 Deuxième rétrosynthèse de la molécule cible **1.1**



3.1.1 Tribenzoylation du composé de départ 2.1

Quelques expérimentations furent nécessaires pour arriver à effectuer cette réaction avec un rendement satisfaisant. Nous avons pu réaliser cette transformation avec un rendement quantitatif en employant les conditions de Schotten-Bauman décrites par Sandler et Karo (équation 3.1)⁵² On dissout le substrat de départ, le 1,3-diaminopropan-2-ol **2.1** dans l'eau distillée. On y ajoute une solution aqueuse de NaOH 15% et après une heure d'agitation, on additionne le chlorure de benzoyle puis on abandonne la réaction pour une période de 12 heures.

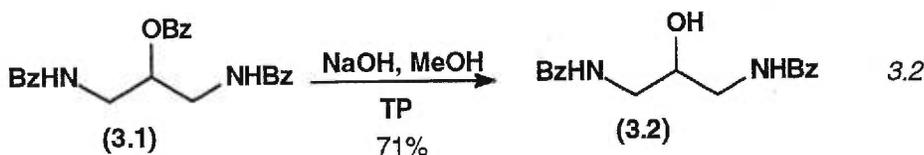
Le spectre RMN-¹H obtenu de **3.1** est alors facilement interprétable puisqu'on y retrouve seulement 3 signaux dans la zone aliphatique. Deux sont attribuables aux protons des méthylènes qui sont chimiquement non-équivalents (3.71-3.81 ppm et 3.99-4.01 ppm) et un autre correspondant au proton carbinolique estérifié, ce dernier étant plus déblindé que les quatre autres (5.26-5.32 ppm). Les protons des méthylènes sont différenciés à cause de la présence du centre tétraédrique en α . Les protons du méthylène ont une relation gauche avec deux des trois substituants, soit le proton, l'hydroxyle et l'autre méthylène. Bien qu'en moyenne (avec la rotation), les deux protons du méthylène semblent équivalents, ils n'ont jamais le même environnement, donc ils sont différenciés et couplent ensemble.



3.1.2 Saponification du composé 3.1

Puisque nous voulons cette fois-ci, tel que recommandé par Sandstrom et Liljefords, protéger les amines sous forme benzylique en vue de la cyclisation ultérieure, nous avons décidé de saponifier l'ester de **3.1** pour ensuite poser un groupement protecteur autre qu'un benzyle sur l'alcool résultant.

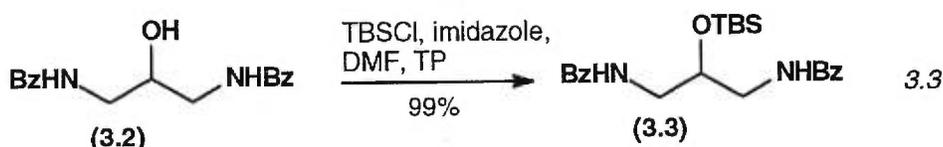
Ainsi, en employant les conditions basiques décrites par Mashimo nous avons réussi à saponifier le composé **3.1** pour ainsi obtenir l'intermédiaire **3.2**, et ce, avec un rendement de 71% (équation 3.2).⁵³ Le spectre RMN-¹H de **3.2** nous confirme en effet que l'ester est clivé puisque la zone aromatique ne possède plus de protons appartenant au phényle de cette fonction. De plus, le signal du proton carbinolique appartenant à l'alcool estérifié qui était situé à 5.26-5.32 ppm dans l'intermédiaire **3.1** a complètement disparu et est maintenant remplacé par le signal du proton carbinolique de l'alcool libre, ce dernier étant situé à 4.03 ppm.



3.1.3 Protection de l'alcool 3.2 sous forme d'éther silylé

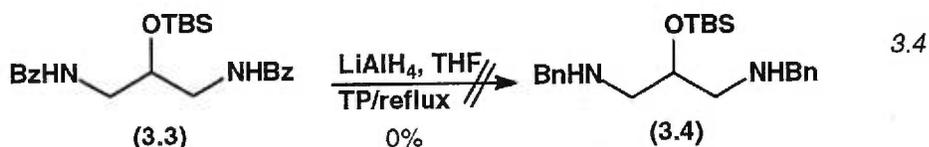
Le composé **3.2** fut par la suite protégé sous la forme d'un éther silylé avec le chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle selon les conditions décrites par Mawhinney, ceci nous permettant alors d'isoler le composé **3.3** avec un rendement de 99% (équation 3.3).⁵⁴

Le spectre RMN-¹H de ce dernier démontre sans équivoque la présence de ce groupement silylé puisque nous notons l'apparition d'un signal à 0.19 ppm intégrant pour six protons, ce dernier étant attribuable à la présence des deux méthyles du groupe protecteur. De plus, un signal intégrant pour neuf protons, ceux du *tert*-butyle, est observé à 0.95 ppm. Le proton carbinolique de l'alcool protégé sous forme d'éther voit alors son signal subir un blindage pour ainsi se retrouver à 2.99-3.06.



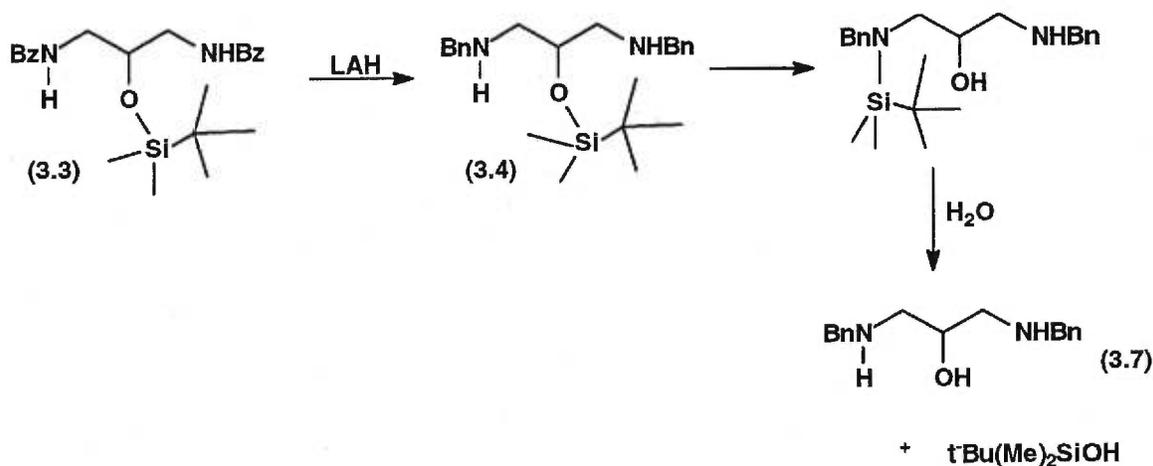
3.1.4 Réduction du composé 3.3 avec LAH

L'étape qui précède la cyclisation, la réduction du composé **3.3**, fut pour sa part, plus problématique que les réactions précédentes faisant parties de cette nouvelle stratégie. Effectivement, malgré que la réduction des amides en amines alkylées fonctionne généralement bien, nous avons pu vérifier que cependant, les benzamides font bande à part. Ainsi donc, nous n'avons pas observé la transformation souhaitée, i.e., la réduction des deux fonctions benzoyles en benzyles, et de plus, contre toute attente, le groupement protecteur silylé de l'alcool se clivait dans les conditions de la réaction (équation 3.4).⁵⁸



Puisque le LAH n'est pas connu comme étant un réactif pouvant cliver les éthers silylés, nous avons dû nous interroger face à ce résultat. L'hypothèse que nous émettons est que, puisqu'il s'agit d'une structure qui possède après la réduction de l'amide en amine, un azote placé en β de l'alcool, le groupement silylé peut migrer vers l'amine.⁵⁵ Ensuite, lors du « work up », puisque le milieu réactionnel vient en contact avec l'eau, le clivage du lien Si-N est alors accéléré.⁵⁶ Le schéma 3.1 suivant illustre l'hypothèse émise pour expliquer le clivage du groupement silylé de l'alcool.

Schéma 3.1 Migration O vers N du groupement silylé lors de la réduction



C'est donc confronté à ce résultat que nous devons envisager de reprotéger le composé **3.2** avec un autre groupement protecteur pour finalement arriver à l'étape de la cyclisation. Au lieu de cela, nous avons à ce point, décidé de réduire complètement le composé **3.1**, et ce, de façon à obtenir l'amine alcool **3.7**. Effectivement, si l'on saponifie dans un premier temps l'ester **3.1** et qu'ensuite on réduit ses amides sous forme d'amines benzylées, il devient alors inutile de faire ces transformations en deux étapes séparées puisque la réduction du composé **3.1** à elle seule nous mènera directement à l'amine alcool **3.7**.

À ce point, si l'on résume les dernières étapes de la première rétrosynthèse envisagée pour accéder au composé **1.1**, il devient pertinent de s'interroger sur la possibilité d'accéder encore plus rapidement au composé **1.1**, et ce, d'une part en choisissant de réduire totalement la structure **3.1** en amine alcool **3.7** et d'autre part, en préférant installer la chaîne comportant l'ester plutôt qu'un groupement protecteur quelconque. Nous épargnerions trois étapes, soit la saponification, et ultérieurement la protection et la déprotection du groupement protecteur, ces deux dernières étapes qui s'avèrent inévitables lorsque nous avons développé cette deuxième stratégie. À la page suivante, nous avons reporté cette rétrosynthèse.

Chapitre 4

Synthèse du 4-(1,4-dibenzyl-2,3-dioxo-[1,4]-diazépan-6-yloxyméthyl)phénylacétate de méthyle 1.1

4.1 Introduction

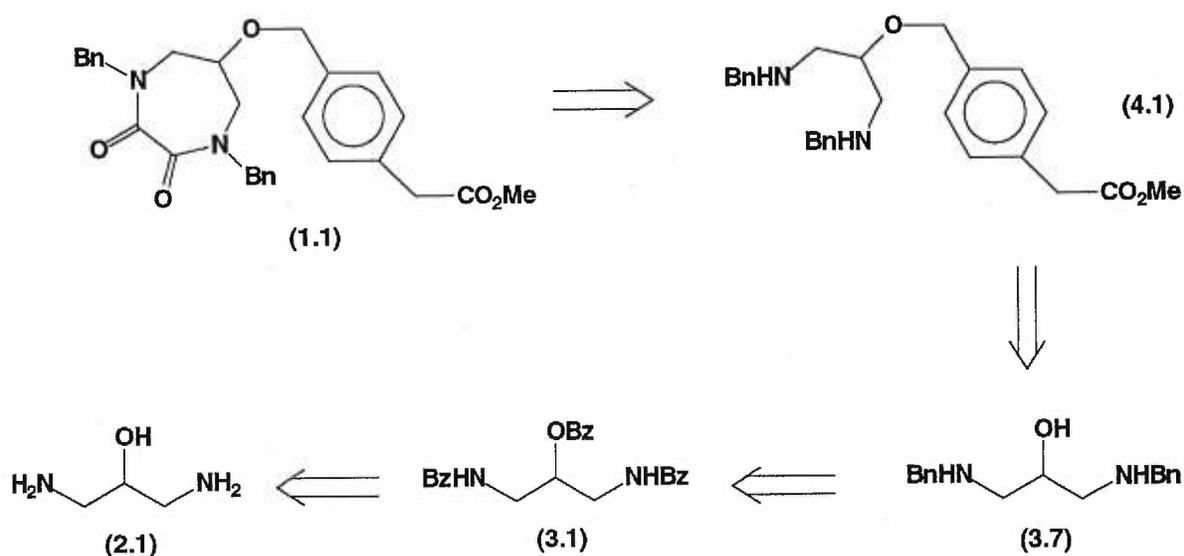
Tel que mentionné à la fin du chapitre 3, nous choisissons dans cette nouvelle approche de fonctionnaliser l'alcool à l'aide du bromure benzylique **2.7** au lieu de remettre un groupement TBS, ceci ayant l'avantage certain de nous épargner une étape de protection et de déprotection. De plus, *via* cette voie, nous ne craignons pas que les ions chlorures libérés lors de la cyclisation de l'amine benzylée par le chlorure d'oxalyle puissent cliver le lien Si-O qui, dans la structure **3.4**, était présent.

Cette nouvelle voie s'avéra éventuellement être fructueuse et elle nous permit de synthétiser et tester la molécule cible **1.1** par les tests biologiques développés par Marc Vaillancourt de l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal (IRCM).

Nous avons décidé de conserver le composé **2.1** en guise de produit de départ. Aussi, nous préférons conserver la réaction de tribenzoylation du substrat de départ, ceci nous permettant d'isoler la structure **3.1** avec assez d'aisance. À cette occasion, nous projetons de réduire le composé **3.1**, ceci nous permettant d'avoir en main l'aminoalcool N,N'-dibenzylé **3.7**. Il ne nous restera plus qu'à alkyler l'hydroxyle du composé **3.7** pour obtenir le précurseur **4.1** et finalement réaliser la cyclisation vers **1.1**.

Ainsi donc, si tout se déroulait tel que prévu, nous pensions obtenir le composé **1.1** tant convoité, et ce, en seulement 4 étapes. La figure 4.1 qui suit, témoigne des modifications apportées à la rétrosynthèse décrite à la figure 3.1.

Figure 4.1 Rétrosynthèse définitive par laquelle nous obtiendrons le composé 1.1

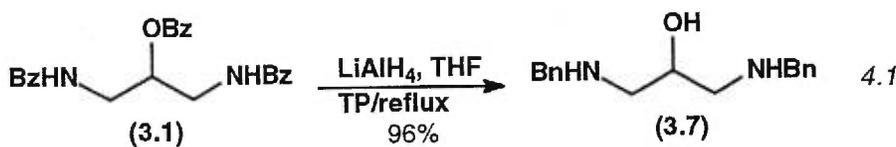


4.1.1 Réduction de l'intermédiaire 3.1 en dérivé N,N'-dibenzylé 3.7

L'étape de réduction de l'intermédiaire **3.1** a requis, elle aussi, de considérables expérimentations. Pour arriver à isoler le produit **3.7** avec un bon rendement, nous avons dû essayer à maintes reprises diverses conditions de « work-up ».

En effet, nous avons éprouvé de la difficulté à isoler le produit désiré des sels d'hydroxyde d'aluminium résultant de l'achèvement de la réaction⁵⁷ Lors de la destruction de l'excès de LAH avec de l'acétate d'éthyle et ensuite de l'eau, nous entraînions les sels de LAH mais aussi l'aminoalcool soluble dans la phase aqueuse résultante. Aussi, lors des extractions, nous nous retrouvions avec des émulsions épaisses, denses et pratiquement impossibles à briser. En conséquence, nous n'isolions qu'une petite quantité du composé **3.7**.

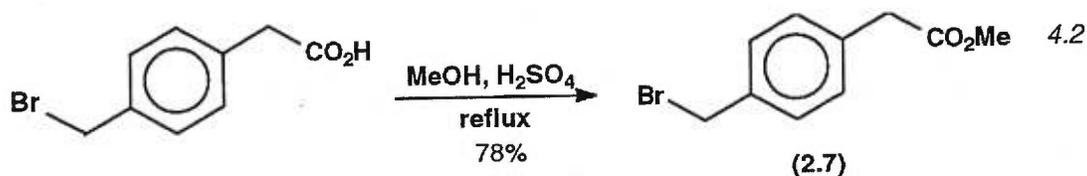
Après maints efforts, nous avons pu optimiser l'étape du « work up », ceci de façon à obtenir un rendement qui, dans le meilleur des cas, s'est chiffré à 96%. La méthode implique qu'à la température ambiante nous devons dissoudre le composé **3.1** dans le THF. On additionnait goutte-à-goutte cette dernière solution à une suspension étherée de LAH, et ce, sur une demi-heure à 0°C. On portait ce mélange à reflux pour une période de 24 heures. Une fois ce laps de temps écoulé, on détruisait l'excès de LAH en additionnant de l'acétate d'éthyle humide. Ensuite, on ajoutait une petite quantité d'eau et une fois que l'excès d'hydrure était, à toute fin pratique neutralisé, on ajoutait quelques millilitres de solution aqueuse de NaOH 10%. On mettait alors fin au « work up » en extrayant la phase aqueuse résultante à 5 reprises avec de l'acétate d'éthyle. L'équation 4.1 témoigne des dernières conditions réactionnelles énoncées.



4.1.2 Alkylation de l'alcool 3.7

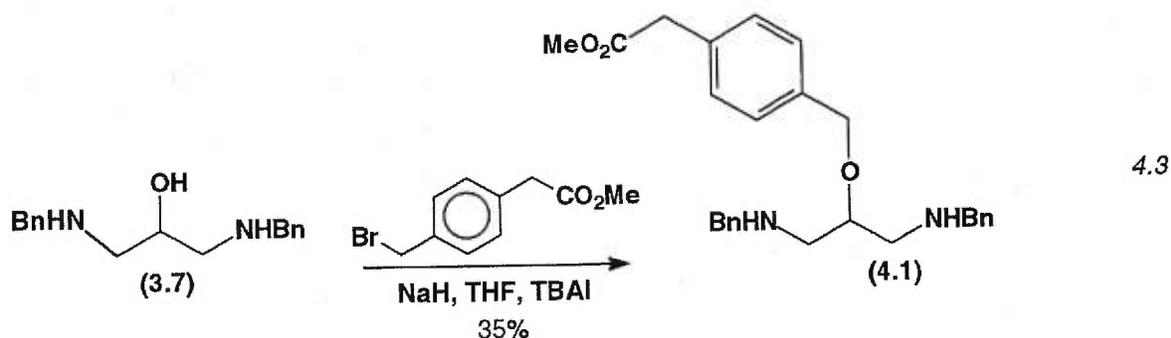
L'alkylation de l'hydroxyle de l'aminoalcool **3.7** a requis une estérification préalable de l'acide 4-(bromométhyl)phényl acétique commercialement disponible. Pour cette réaction, nous avons choisi une ancienne méthode toujours fiable qui utilise le méthanol en guise de solvant et de réactif et de l'acide sulfurique (équation 4.2). Nous avons donc dissout le bromoacide dans un excès de méthanol anhydre. On y ajoute 1 équivalent d'acide sulfurique et on porte ce mélange à reflux pour une période de 4 heures. L'isolation du produit s'effectue sans problème et le « work up » nous évite de purifier le produit attendu. On récupère l'ester **2.7** sous la forme d'une huile, et ce avec un rendement de 78%.⁵⁸ Le spectre RMN-¹H de l'ester obtenu s'avère être sensiblement différent de celui de l'acide de départ. En effet, on note dans un premier temps la présence d'un nouveau singulet à 3.39 ppm intégrant pour

la somme de trois protons, ceci signalant donc que le méthyle est bel et bien sur l'acide mais aussi que tous les autres signaux ont subi une variation notable de leur déplacement chimique. Les deux méthylènes ont de ce fait subi un blindage ainsi que les signaux appartenant au phényle.



Ainsi, avec l'ester **2.7** en main, nous avons procédé à l'alkylation de **3.7** en utilisant les conditions décrites par Czernecki.⁵⁹ Pour ce faire, on dilue l'aminoalcool **3.7** dans du THF et à 0°C, on y ajoute l'hydruire de sodium et ensuite l'iodure de tétrabutylammonium. On termine en ajoutant le bromoester **2.7** et on abandonne la réaction pour une durée de 12 heures pour ultérieurement recueillir le produit désiré qui devra être purifié par chromatographie flash.

Nous isolons le composé **4.1** sous la forme d'un solide, et ce, avec un faible rendement de 35%. Le spectre RMN-¹H de ce composé demandera une interprétation attentive de ses signaux. En effet, compte tenu du fait que la molécule **4.1** possède un nombre important de protons (33) ayant des déplacements chimiques semblables. L'équation 4.3 qui suit démontre les conditions utilisées pour obtenir la structure **4.1**.



4.2 Atteinte de l'objectif, la synthèse de la structure 1.1

4.2.1 Cyclisation du composé 4.1

Le tableau 4.1 présenté à la page suivante résume à son tour, les conditions par l'intermédiaire desquelles nous avons enfin atteint notre objectif, la synthèse du composé **1.1**. Les entrées 1 et 2 décrivent les conditions par lesquelles il nous a été possible de cycliser. Les conditions représentées à l'entrée 2 se sont avérées supérieures à celle de l'entrée précédente puisqu'elles nous ont permis d'obtenir le composé **1.1** avec un rendement de 30 % comparativement à 22 % pour les conditions de l'entrée 1.

À ce sujet, notons un fait intéressant, celui des nombreuses différences entre ces deux entrées. Ceci nous porte à croire qu'avec notre substrat (**4.1**) la cyclisation semble moins sensible aux conditions réactionnelles, ceci par rapport aux autres substrats que nous avons testé et aussi que ceux rencontrés dans la littérature. Effectivement, le solvant, la durée de la réaction, le nombre d'équivalents de chlorure d'oxalyle ainsi que la température d'addition peuvent varier sans influencer notablement le rendement. Toutefois, notons que la concentration du milieu ainsi que la quantité de base, sont restées les mêmes. Notons par ailleurs que la base n'est ajoutée qu'à titre de réactif secondaire. En effet, cette dernière est ajoutée pour trapper les protons libérés, pour augmenter le rendement

De plus, ces résultats nous indiquent que la réaction s'effectue dans le chloroforme ou encore dans le dichlorométhane mais semble impossible dans le toluène. Nous pouvons aussi dire que la réaction est dépendante de la quantité d'agent acylant puisque la réaction décrite à l'entrée 2 a requis environ 4 fois plus de chlorure d'oxalyle, ceci expliquant peut-être pourquoi le rendement est meilleur.

Aussi, nous croyions que la température d'addition n'est pas critique en ce sens que si elle est maintenue aux alentours de -40°C ou encore plus bas, ceci n'affecte pas de façon notable l'issue de la cyclisation.

Ce rendement s'apparente enfin à celui de Jadhav qui dans son cas était, rappelons-le, de 50% après optimisation.

Tableau 4.1 Conditions employées pour effectuer la cyclisation du composé 4.1

Entrée	Temp. Add. (°C)	Et ₃ N (éq.)	CICOCOCI (éq.)	Solv.	Conc. Mol/L	Durée de la réaction	Rd (%)
1	-47	2.01	1.2	CHCl ₃	0.003	3 jrs	22
2	-78	2.13	6.8	CH ₂ Cl ₂	0.003	20 hrs	30
3	-78	10.7	1.03	tol	0.670	3 jrs	RMN complexe
4	-50	4.6	1.4	tol	0.006	3 jrs	RMN complexe

4.2.2 Résultat du test biologique réalisé sur la structure 1.1

Les résultats des tests biologiques sur le composé 1.1 ne sont pas disponibles. Avec le test d'adhésion cellulaire développé par Marc Vaillancourt de l'Institut de Recherche Clinique de Montréal (IRCM) (*voir l'annexe 2*), nous n'avons pas pu, pour l'instant du moins, solubiliser le composé 1.1. En effet, le composé cyclique s'est avéré insoluble dans un mélange d'eau et de DMSO contenant 20% de ce dernier. La concentration de DMSO ne peut dépasser 20% pour ce type de test, car cela entraînerait la mort des cellules HL-60 utilisées, rendant le test non utilisable.

Chapitre 5

Les agents β -bloqueurs

5.1 Introduction

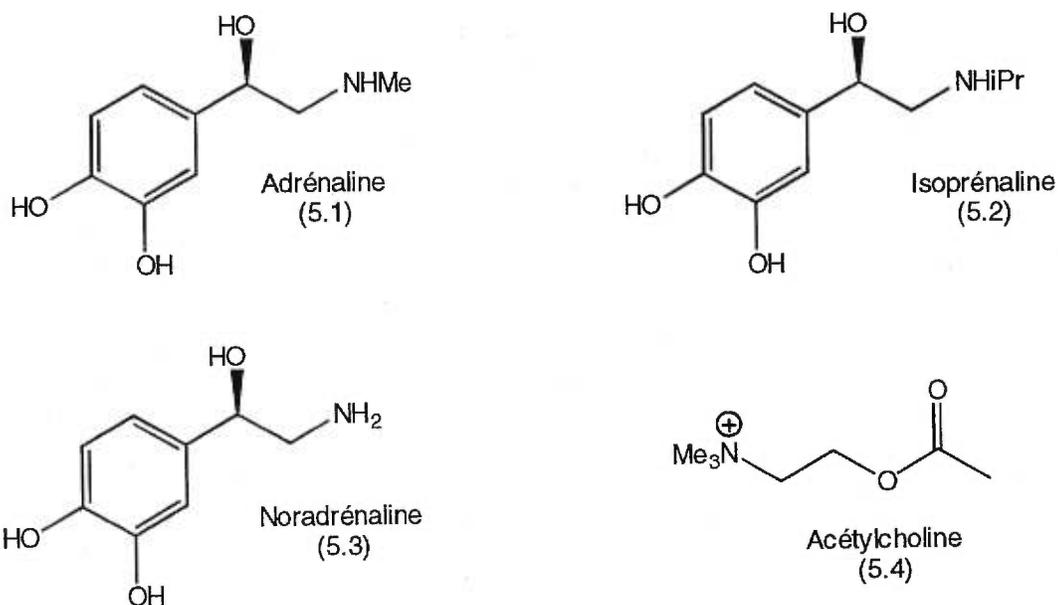
Pour bien comprendre l'impact des agents β -bloqueurs dans le contrôle des maladies cardiaques et respiratoires, nous commencerons en premier lieu par décrire brièvement la cascade d'événements biochimiques qui régularisent les fonctions cardiaques. Aussi, nous présenterons le rôle des hormones faisant partie de cette cascade puisque d'une part, les β -bloqueurs jouent un rôle d'antagoniste de celles-ci et aussi parce que ces hormones serviront de maquettes chimiques (*templates*) lors du design des structures agonistes des récepteurs d'intérêt, i.e., les récepteurs β lorsque l'on veut traiter une pathologie située au niveau du cœur.

Il est important de mentionner que dans cette section ainsi que dans les suivantes, on parlera des agents β -bloqueurs en terme d'activité β -antagoniste puisqu'avec cette classe de médicaments, on mesure non pas le IC_{50} mais bien le ED_{50} , qui est en fait la dose requise d'antagoniste (hormones) pour réduire de 50%, la réponse agoniste du médicament au niveau des récepteurs β . Lorsqu'une valeur d'activité est citée, il s'agit généralement d'une activité relative à un composé de la même classe et il s'agit généralement du composé **5.7**, le propranolol[®], structure illustrée à la figure 5.4.

5.1.1 La régulation des hormones du système nerveux, la clé de voûte de la régulation du rythme cardiaque et de la circulation sanguine

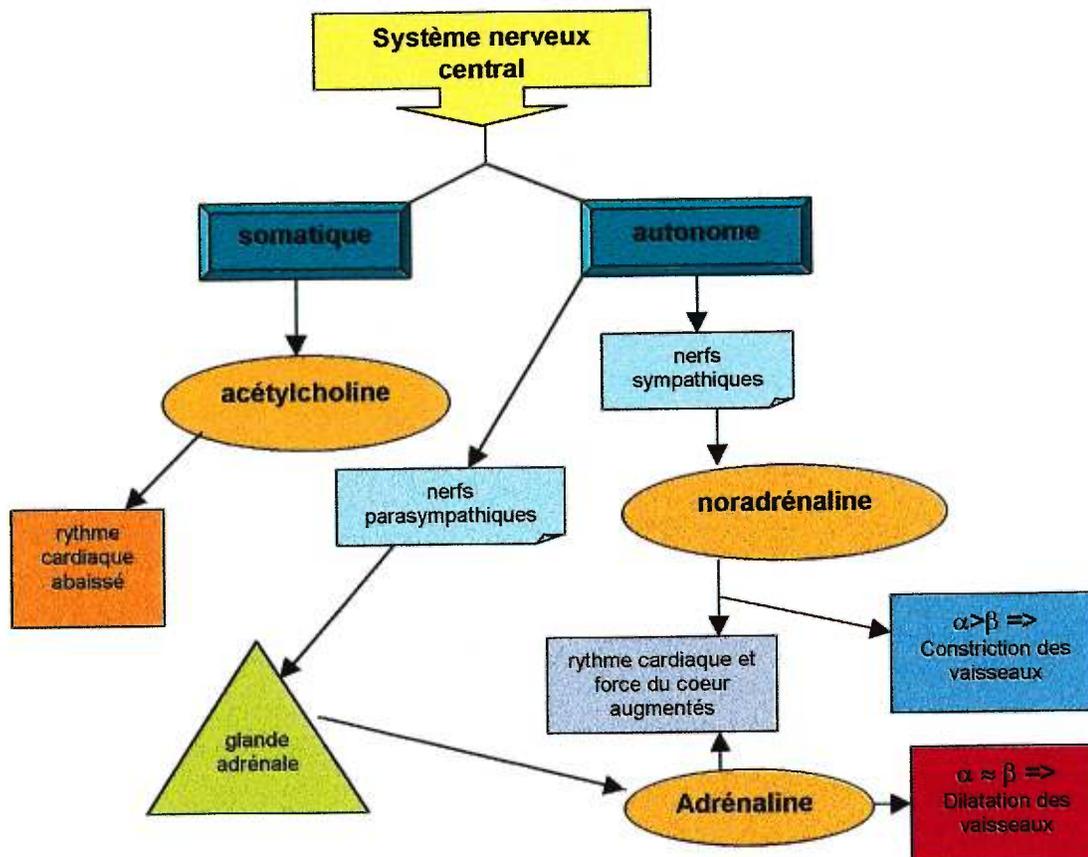
Tout d'abord, spécifions que le système nerveux central (SNC) contrôle le système somatique (volontaire) ainsi que le système autonome (involontaire). Dans le cas du second, ce dernier est à son tour le centre de contrôle des fonctions des nerfs sympathiques et parasympathiques. Il est connu que la stimulation des nerfs parasympathiques est directement reliée au relâchement du composé **5.4**, l'acétylcholine (lorsque l'acétylcholine est larguée, ceci amène subséquentement, une baisse du rythme cardiaque). La figure 5.1 présentée à la page suivante démontre les structures chimiques des principales hormones impliquées dans la régulation des fonctions cardiaques.

Figure 5.1 Structures chimiques des hormones impliquées dans la régulation des fonctions cardiaques



Du côté des nerfs sympathiques, leur stimulation est attribuable à la structure **5.3**, la noradrénaline, une catécholamine. Lorsque la noradrénaline est relâchée, cette dernière entraîne une augmentation du rythme cardiaque ainsi qu'une augmentation de la force cardiaque requise pour pomper le sang. Une constriction des vaisseaux sanguins en résulte ceci dans le but de permettre au flux sanguin d'être plus fort et plus soutenu dans les artères qui sortent du cœur. D'autre part, lorsque le système sympathique est activé, la glande adrénaie se met en marche, cette dernière étant responsable de la sécrétion de la substance **5.1**, l'adrénaline, qui elle amènera la dilatation des vaisseaux sanguins, phénomène directement relié à la fixation de la substance hormonale **5.1**, et ce, surtout au niveau des récepteurs β . La figure 5.2, illustrée à la page suivante, tente de résumer cette cascade d'événements biochimiques.

Figure 5.2 Organigramme illustrant les facteurs contribuant au contrôle des fonctions cardiaques⁶⁰



En ce qui a trait plus spécifiquement aux hormones clés faisant partie de cette cascade, l'adrénaline (5.1) et la noradrénaline (5.3), la structure 5.3 est surtout caractérisée par son activité stimulante α -adrénergique (stimulation des récepteurs α), ceci n'excluant pas le fait que cette dernière possède malgré tout, un caractère β -stimulant.

L'adrénaline pour sa part a le pouvoir de se fixer autant aux récepteurs de type α que β , et ce, avec plus ou moins la même affinité. Si l'on augmente la grosseur du substituant sur l'atome d'azote (en remplaçant le H sur l'azote de la noradrénaline par un groupement isopropyle), on se retrouve avec la structure de l'isoprénaline (5.4), substance ayant une activité stimulante α -adrénergique moins marquée dû à la grosseur de cette substitution, ceci renforçant donc son caractère de β -stimulant. À cet effet, on doit à Lands et à ses collaborateurs l'établissement du fait que les catécholamines ayant une ramification alkyle sur l'azote, qui soit suffisamment importante, semblent plus sélectives aux récepteurs β (cette classe de récepteurs étant divisée en sous

catégories. Les sous catégories les plus fréquemment commentées dans la littérature sont les β_1 et β_2).⁶⁰

Pour mieux se situer, on dira donc que les récepteurs du premier type (α) sont surtout sensibles à l'adrénaline, peu sensibles à la noradrénaline et insensibles à l'isoprénaline.

Dans le cas du second type de récepteurs (β), ces derniers sont sensibles à l'isoprénaline et beaucoup moins à la noradrénaline. Le tableau 5.1 représenté plus bas résume ces dernières affirmations.

Tableau 5.1 Principaux récepteurs de l'adrénaline et de la noradrénaline⁶⁰

Organe	Adrénorécepteur majoritaire	Effet physiologique
Vaisseaux sanguins périphériques	α	Contraction Tachicardie
Coeur	β_1	Augmentation de la force de contraction
Vaisseaux sanguins Muscles squelettiques	β_2	Relaxation (vasodilatation)
Bronchioles (poumons)	β_2	Relaxation (bronchodilatation)

Maintenant, pour mieux comprendre ces dernières affirmations, mentionnons à titre d'exemple, ce que cela implique dans le cas spécifique d'une angine de poitrine. Dans un tel cas, c'est la constriction des vaisseaux sanguins qui génère la douleur ressentie lors de l'angine. On choisira donc un vasodilatateur puisque cette classe de médicaments a la spécificité de se fixer exclusivement aux récepteurs β_2 , ces derniers étant associés à une réponse physiologique relaxante des muscles squelettiques des vaisseaux sanguins.

On doit spécifier que l'adrénaline fut d'abord administrée en tant que bronchodilatateur aux patients, donc à titre de drogue agissant sur les récepteurs β . Depuis, l'isoprénaline l'a largement supplanté puisque cette dernière démontre une meilleure sélectivité au niveau des récepteurs β (*vide supra*). Il faut cependant spécifier que ce composé possède aussi certains désavantages vu qu'il tend à augmenter la

force que le cœur doit déployer pour pomper le sang, ceci en plus d'occasionner des contractions cardiaques indésirables).

Par ailleurs, l'asthme survient lui aussi par l'intermédiaire d'un mécanisme similaire. De façon naturelle, les bronches se dilatent grâce à la fixation de l'adrénaline sur les récepteurs β . Ici aussi, on pourrait penser à se servir de l'adrénaline en tant qu'agent thérapeutique. Cependant, comme nous venons de le mentionner, le relâchement de cette hormone dans le flux sanguin, à cause de son action au niveau des récepteurs α et β_1 , amène une stimulation cardiaque ainsi qu'une augmentation de la pression artérielle, ces deux conséquences étant évidemment non souhaitées. Ainsi donc, une catégorie de β -bloqueurs ayant une affinité quasi exclusive aux récepteurs β_2 ont été développés pour les personnes atteintes de ce genre d'affliction.⁶⁰

5.1.2 La nature des récepteurs bêta-adrénergiques⁶⁰

Malgré la multitude d'études consacrées aux récepteurs β , la nature exacte de ces derniers est encore malheureusement inconnue.^{60,60b} On peut cependant avancer que ces récepteurs sont en fait des protéines se situant à la surface de la membrane des cellules cibles, cellules situées majoritairement aux niveaux des nerfs sympathiques et parasympathiques du système nerveux autonome. Par ailleurs, on dit que lorsqu'un agoniste se fixe à ces récepteurs, ceci active un enzyme nommé l'adényl cyclase, ce dernier étant localisé à l'intérieur de la membrane cellulaire, qui convertira à son tour l'adénosine triphosphate (ATP) en adénosine monophosphate cyclique (AMP_c). Ce second messager, l'AMP_c, peut alors initier une cascade d'événements biochimiques complexes lesquels amèneront ultérieurement une ou plusieurs réponses physiologiques spécifiques.⁶⁰

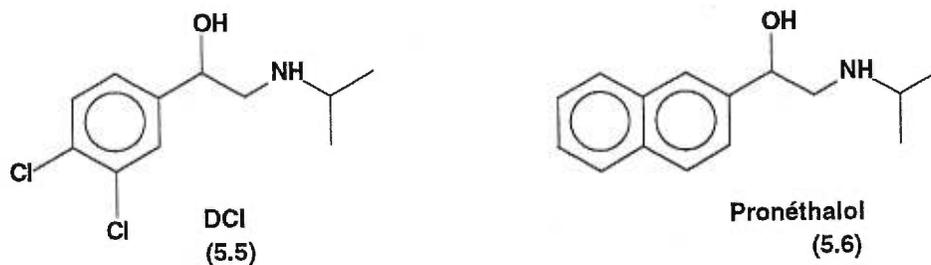
5.1.3 Les premières structures agonistes des récepteurs β pour contrer les pathologies d'origine cardiovasculaires

Il a fallu attendre un bon moment avant de voir l'apparition d'une structure ayant la capacité de se fixer spécifiquement aux récepteurs β , cette structure mimant l'adrénaline ou encore l'isoprénaline. En 1958, Mills de la compagnie Eli Lilly a préparé un analogue dichloré de l'isoprénaline (**5.2**) ayant pour nom le DCI[®] (dichloro-isoprénaline) (structure **5.5** ; figure 5.3). Ce composé démontrait une activité inhibitrice de la relaxation des muscles mous des bronches, donc son action était de type antagonistique face aux récepteurs β . Son action origine du fait que ce dernier occupe la cavité du récepteur empêchant ainsi l'hormone d'y pénétrer, ceci tout en ne stimulant pas la cascade biochimique précédemment commentée (*vide supra*).

De plus, sachant que cette dernière structure démontre une action directe au niveau du cœur,⁶¹ le DCI est alors identifié comme le premier agent bloquant les récepteurs β -adrénergiques des cellules du tissu cible.⁶⁰ Cependant, comme il a été discuté plus haut, les β -bloqueurs sont utilisés pour provoquer une vasodilatation et/ou une bronchodilatation. Donc, en plus d'une bonne activité antagoniste par rapport à l'activité des hormones lorsque, de manière naturelle, ces dernières se fixent aux récepteurs, ils doivent présenter une bonne activité agoniste pour stimuler l'activité biologique.

Ainsi, il est à mentionner que le premier médicament à être fin prêt pour les essais cliniques fut le composé **5.6**, le pronéthalo[®], structure illustrée à la figure 5.3 et qui fut synthétisée en 1958 par Black et Stephenson. Ce composé fut estimé spécialement efficace contre l'angine de poitrine (les symptômes de cette pathologie requérant à l'organisme stressé le déploiement d'une quantité d'énergie plus élevée qu'à l'accoutumée, ceci se traduisant conséquemment par une demande plus élevée en oxygène ; une telle demande, plus grande que la normale, amène un manque d'O₂ au niveau du cœur, d'où l'intense douleur ressentie par le sujet atteint) et aussi face à certains malaises cardiaques tels que l'arythmie cardiaque et la pression artérielle élevée.⁶⁰

Figure 5.3 Structures des deux premiers agents bloqueurs des récepteurs β -adrénergiques, le dichloroisoprénaline[®] (DCI) et le pronéthalo^{®i}



Malheureusement, dès 1963, le pronéthalo[®] (**5.6**) fut retiré des tests cliniques puisqu'il fut démontré que ce dernier induisait des tumeurs thymiques chez diverses espèces animales. Pendant les cinq années entre la découverte de Black et Stephenson et les résultats négatifs concernant le pronéthalo[®], des études parallèles furent menées pour connaître l'impact d'un changement au niveau du lien qui joint le cycle benzénique et la chaîne éthanolamine de la dite structure. Il fut alors établi que le meilleur type de lien entre ces deux groupements fut le lien oxyméthylène (OCH₂).⁶⁰ Ainsi donc, le propranolol[®] (**5.7**) (α -naphthyloxypropanolamine), illustré dans la figure 5.4, fut le premier composé à inclure ce type de lien. Son activité antagoniste fut évaluée de 10 à 20 fois supérieur à celle du pronéthalo[®], donc mieux adapté à la topologie du récepteur.

5.1.4 Intérêt thérapeutique des agonistes des récepteurs bêta

Certaines structures dérivées des premiers β -bloqueurs peuvent avoir un effet salvateur contre d'autres maladies que celles précédemment nommées et étant d'origine cardiaque. Ainsi, certains β -bloqueurs sont employés contre des maladies telles que la migraine et le glaucome. Pour les céphalés, le propranolol[®] est régulièrement utilisé dans la prophylaxie de la migraine mais à ce point, il est impossible de discuter du mode d'action puisqu'il est mal connu et qu'aussi, le type exact de récepteur impliqué dans ce processus n'est pas encore connu.

Pour sa part, le glaucome, maladie oculaire caractérisée par une forte pression intraoculaire, cette dernière causant à son tour de violents maux de tête et une vision trouble, est habituellement traité avec le composé **5.11**, le timolol[®], structure qui elle aussi est illustrée à la figure 5.4. Ce dernier semble être le meilleur β -bloqueur contre ce mal et ici encore, le mécanisme exact qui permet de contrôler la maladie est encore inconnu.

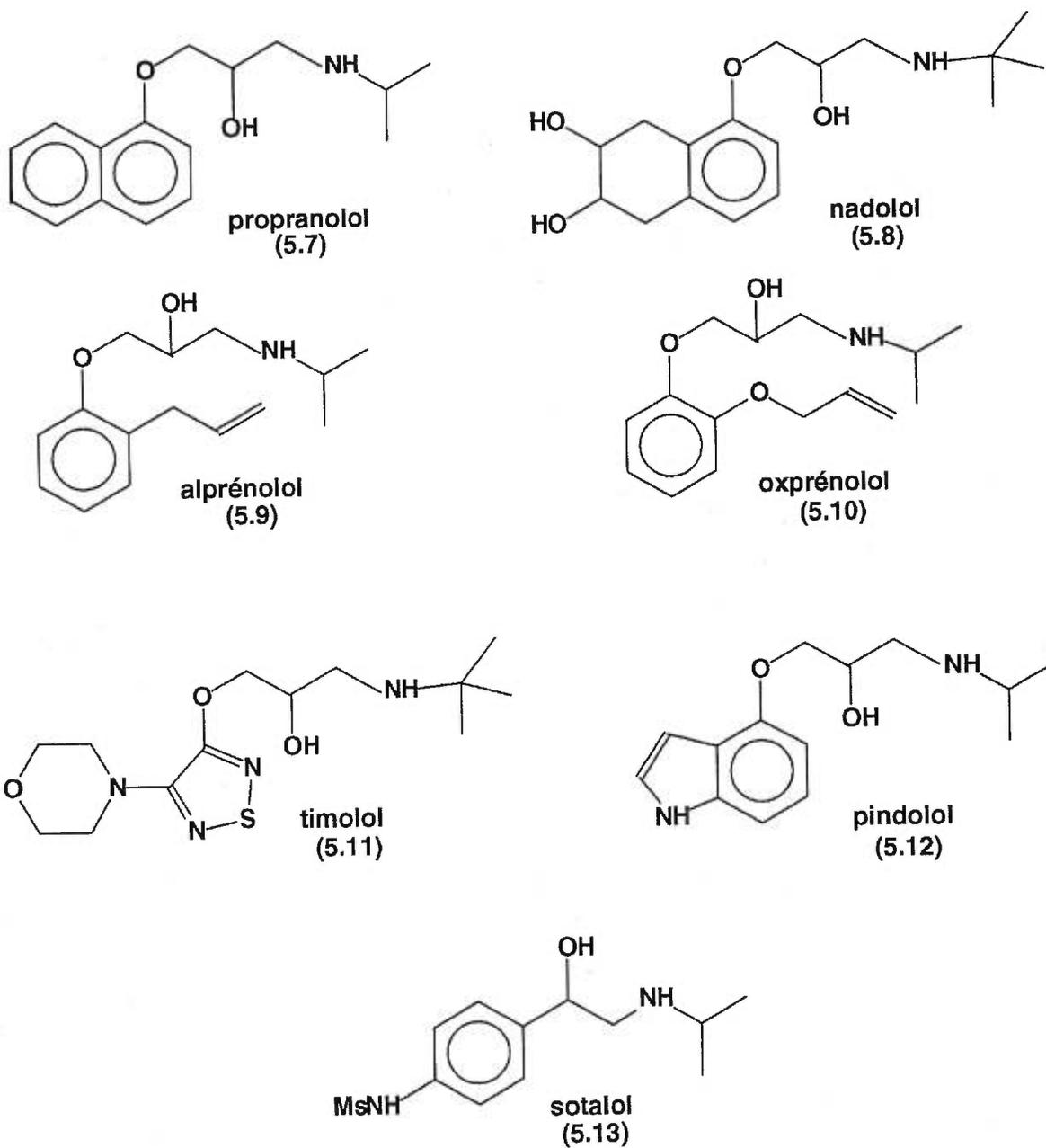
De plus, l'hyperthyroïdie et la phaeochromocytomie (maladie engendrée par une tumeur de la glande adrénale et se traduisant dans les faits par une intense surproduction d'adrénaline) sont aussi potentiellement contrôlées avec la prise de certains β -bloqueurs.^{60, 60b, 62}

Il appert que compte tenu des effets bénéfiques notables pour une large gamme de maladies, la mise au point de structures spécifiques pour chaque maladie s'avère être un objectif ayant des retombées très lucratives pour plusieurs compagnies. En effet, plusieurs grandes firmes pharmaceutiques travaillent à parfaire leurs connaissances quant au pharmacophore qui pourrait être plus adapté à la topologie des récepteurs qui, lorsque stimulés, amènent l'apparition d'une maladie spécifique. L'administration dudit médicament aurait beaucoup plus de chance d'être efficace puisqu'alors plus spécifique.

Ainsi, depuis plus de trente ans et encore en ce moment, cet engouement se traduit par une pléiade de médicaments disponibles commercialement et souvent très similaires du point de vue de la structure chimique. Les plus populaires de cette classe de médicaments voient leur structure illustrée à la figure 5.4. Le propranolol[®] (**5.7**) fut produit par ICI, l'oxprénolol[®] (**5.10**) par Ciba-Geigy, le timolol[®] (**5.11**) par Merck-Frosst, le nadolol[®] (**5.8**) par Squibb, le pindolol[®] (**5.12**) par Sandoz et le sotalol[®] (**5.13**) par Mead Johnson.⁶⁰

La majorité de ces substances sont caractérisées par une bifonctionnalité du type aminoalcool et elles sont pratiquement toutes composées d'un cycle aromatique.

Figure 5.4 Structures des principaux agonistes commerciaux des récepteurs β -adrénergiques⁶⁰



5.2 Relation structure-activité des premiers β -bloqueurs

5.2.1 Détermination du pharmacophore

Comme tous les β -bloqueurs ont deux propriétés en commun, la première étant d'être des compétiteurs antagonistes des substances (hormones) induisant une relaxation des muscles cibles et la deuxième d'être spécifiques à certains récepteurs seulement, il devient important, dans un premier temps de définir certains paramètres qui définissent leur « profil » chimique respectif.

En considérant la structure aryléthanolamine **5.13** ainsi que les divers aryloxypropanolamines illustrées à la figure 5.4 à l'exception du timolol[®], on constate que le cycle benzénique et la chaîne β -aminoéthanol constituent le pharmacophore des agents β -bloqueurs. Les expériences concernant l'activité β -antagoniste (par exemple dans la cas d'un bronchodilatateur, il s'agirait de sa capacité à inhiber la relaxation des muscles mous des bronches) de ces agents démontrent que l'activité est optimale lorsque l'amine est substituée par un alkyle de type isopropylique ou encore *tert*-butylique.

De plus, il est souvent question avec cette classe de composés d'activité agoniste partielle (*isa*) (*intrinsic sympathomimetic activity*). Elle reflète l'habileté d'un composé de synthèse à stimuler un récepteur bêta de manière directe. La majorité des β -bloqueurs ont leur *isa* et cette valeur usuelle est obtenue en quantifiant de manière absolue, l'augmentation du rythme cardiaque d'un rat lorsque ce dernier reçoit par intraveineuse une dose fixe de 2.5 mg/kg d'un composé à tester. Préalablement, les auteurs de ces manipulations spécifient que le rat en question doit être traité de façon à réduire considérablement sa réserve naturelle de catécholamine et ceci est réalisé par l'intermédiaire d'une injection d'un dérivé de la réserpine, la syrosingopine.⁶⁰

Aussi, il a été démontré que l'insertion de groupements additionnels entre l'amine et le groupement carbinolique, la soustraction de l'alkyle sur l'amine ou encore l'acylation de cette dernière, menaient directement à une baisse considérable de l'activité de l'agent β -bloqueur. À l'exception du lien oxyméthylène, tous les autres types de liens unissant le cycle benzénique à la chaîne aminoalcool (-CH=CH-, -SCH₂-, -CH₂CH₂-) furent rejetés.

Conséquemment, il a donc été établi que la nature, la position ainsi que la stéréochimie absolue des substituants sur le cycle aromatique ont tous un effet crucial face à l'activité de la molécule.⁶⁰

À titre d'exemple, il fut établi que l'énantiomère *R* de la chaîne éthanolamine et le *S* de la chaîne aryloxypropanolamine désignent les configurations absolues responsables de l'activité β -antagoniste. Malgré cela, on doit mentionner que la plupart des β -bloqueurs sont vendus en tant que mélanges racémiques.

L'examen des résultats obtenus concernant l'activité des régioisomères d'une phénoxypropanolamine substituée (tableau 5.2), constitue un bon exemple illustrant la relation structure-activité. On note sans difficulté que l'activité β -antagoniste est plus satisfaisante avec l'isomère *ortho* qu'avec le *méta* ou le *para*.

Tableau 5.2 Comparaison des valeurs d'activités β -antagonistes de molécules *o*, *m* et *para*-substituées dérivant d'une phénoxypropylamine⁶⁰

R	ortho	méta	para
Cl	5	2	0.085
NO ₂	2	0.39	0.028
CH ₃	1.71	0.66	0.09
OCH ₃	1.71	0.91	0.54
OC ₆ H ₅	2	0.3	0.001

*Activité β -antagoniste relative au propranolol (propranolol=1)

On note que l'isomère *ortho* semble bien s'accomoder d'un substituant à cette position et qu'aussi comme on aurait pu s'y attendre, la présence d'un groupement en *ortho* s'avère meilleur lorsque ce dernier est petit (Cl versus OPh). Enfin, dans le cas de l'isomère *para*, ce dernier s'accomode mieux des petits substituants, ceci malgré que l'on aurait pu penser à première vue que la taille d'un substituant à cette position n'aurait pas eu un effet aussi appréciable.

C'est donc grâce à ces observations ainsi qu'à plusieurs autres que les chercheurs ont stipulé que la taille des groupements en position *ortho* avait beaucoup d'importance dans la valeur de l'*isa* d'un agent β -bloqueur de synthèse. On comprend ainsi que plus le groupement est important stériquement parlant, plus son *isa* est faible.

5.3 Conclusion

En somme, un bon β -bloqueur doit être pensé et ultérieurement optimisé en fonction de trois principaux aspects :

- 1) **son activité antagoniste** aux hormones naturelles sécrétées par l'organisme,
- 2) **son activité agoniste** des récepteurs β -adrénergiques (pour l'induction de la vasodilatation et de la bronchodilatation),
- 3) **sa sélectivité face aux récepteurs β_1 ou β_2** (ceci tout dépendamment de l'action physiologique que l'on tient à amplifier ou au contraire, à inhiber).

Plus distinctement, nous avons vu que les interactions entre les β -bloqueurs et les récepteurs adrénérgiques sont hautement spécifiques. Nous sommes conscients maintenant qu'une simple modification (*e.g.* l'ajout d'un méthyle sur une amine) peut occasionner une différence au niveau de la spécificité de l'agent thérapeutique face aux divers types de récepteurs jouant un rôle dans la régulation des fonctions cardiaques (α , β_1 , β_2).

Aussi, rappelons-nous à cet effet, la dilatation des vaisseaux sanguins découlant de la fixation de l'adrénaline au niveau des récepteurs α ou encore β , ainsi que la réaction physiologique inverse, i.e. la constriction des vaisseaux sanguins, qui elle est occasionnée par la fixation cette fois, de la noradrénaline sur les récepteurs α plutôt que β (*e.g.* figure 5.2).

De plus, nous avons porté notre attention face à des pathologies autres que les troubles cardiaques et respiratoires. En effet, nous avons vu que certains troubles (le glaucome, la migraine ainsi que plusieurs autres maladies) qui sont, eux aussi, reliés à l'activité des récepteurs β -adrénergiques.

Chapitre 6

Première approche pour la synthèse
du régioisomère *ortho* du sotalol[®]

6.1 Introduction

La synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol® (**5.13**), le 2'-(2-isopropylamino-1-hydroxyéthyl)-méthanesulfonanilide **6.13** fut réalisée dans le cadre d'un projet conjoint avec la compagnie pharmaceutique PharmaScience. L'entreprise ayant besoin de cette molécule non pas en tant qu'agoniste des récepteurs β -adrénergiques, puisqu'il a été établi en 1966 que le régioisomère *ortho* ne démontrait pas d'activité sympathomimétique des structures adrénergiques, mais plutôt pour un usage gardé confidentiel.

Pour nous, le défi résidait principalement au niveau du développement et de la réalisation de la voie synthétique puisque jusqu'à maintenant, on ne retrouve dans la littérature que des voies synthétiques pour arriver au sotalol® donc au régioisomère *para*. Récemment quelques équipes ont cherché à simplifier la route synthétique originale, et ce, en plus de la rendre énantiosélective.

Ainsi donc, puisqu'aucun article jusqu'à présent ne décrit la synthèse totale de l'isomère *ortho*, il nous a fallu dans un premier temps développer la voie synthétique pour ensuite la réaliser. Tout ce qui se rapporte à la molécule d'intérêt, i.e. le régioisomère *ortho*, est mentionné dans un article datant de 1966 écrit par Larsen et ses collaborateurs et publié dans le *J. Med. Chem.*, fut le premier article de la synthèse totale du sotalol®.⁶² La publication en question ne donne que quelques caractéristiques chimiques de cette molécule. De plus, dans cet article, on ne discute que très brièvement des activités agonistes de 2 des 3 régioisomères de la sulfonamidophenéthanolamine, les *méta* et *para*. Cependant, pratiquement rien concernant l'*ortho* hormis la phrase suivante : « *Les o-sulfonamidophenéthanolamines démontrent considérablement moins d'activité sympathomimétique que leurs analogues méta et para.* » ne fut rapporté dans cet article.

Comme il le fut brièvement abordé dans le chapitre précédent, certaines structures substituées en *ortho* peuvent démontrer plus d'activité face à certaines pathologies. En conséquence, il s'avère intéressant de travailler à l'élaboration d'une voie synthétique, qui dans le meilleur des cas, pourra servir de point de départ pour la synthèse de structures analogues, ces dernières pouvant à leur tour servir de drogues contre des maladies requérant une structure sulfonamidophenéthanolamine substituée en *ortho*.

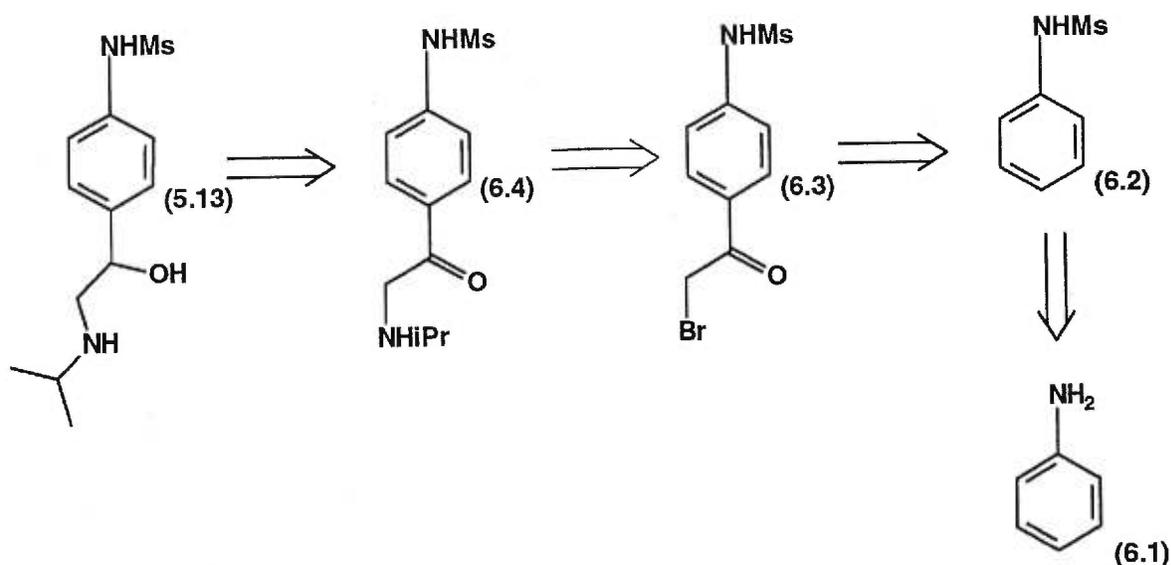
Comme on pourra le constater, la synthèse de l'isomère *ortho* ne s'est pas avérée triviale. Nous avons d'abord pensé à reprendre la voie synthétique développée par Larsen pour le sotalol®, mais les tentatives abondant dans ce sens se sont toutes avérées vaines. Les prochaines sections montreront les principales difficultés qu'il a fallu contourner pour arriver à l'objectif proposé.

6.1.1 Rétrosynthèse du 4'-(2-isopropylamino-1-hydroxyéthyl)-méthanesulfonamide

Pour arriver à la structure du régioisomère *ortho* du sotalol[®], nous avons dans un premier temps pensé à modifier les deux voies de synthèse développées par Larsen pour l'isomère *para*.⁶²

À cet effet, Larsen donne deux avenues possibles pour arriver à l'objectif. La première est concise et de ce fait, se déroule en seulement 4 étapes (figure 6.1). Ainsi, en prenant l'aniline (6.1) commercialement disponible, une monoprotection sous forme de mésylate de ce composé donne accès à la structure 6.2. Celui-ci, subira ensuite une réaction de Friedel-Crafts, ceci permettant à Larsen d'isoler le précurseur du sotalol[®], le composé 6.3, qui lui possède en *para* la bromocétone. Cette chaîne deviendra la chaîne éthanola mine de la molécule cible de Larsen, à l'étape finale. Donc, pour y arriver, la conversion de la bromocétone 6.3 en aminocétone 6.4 constituera pour les collaborateurs de Larsen, la dernière réaction à effectuer pour terminer la synthèse.

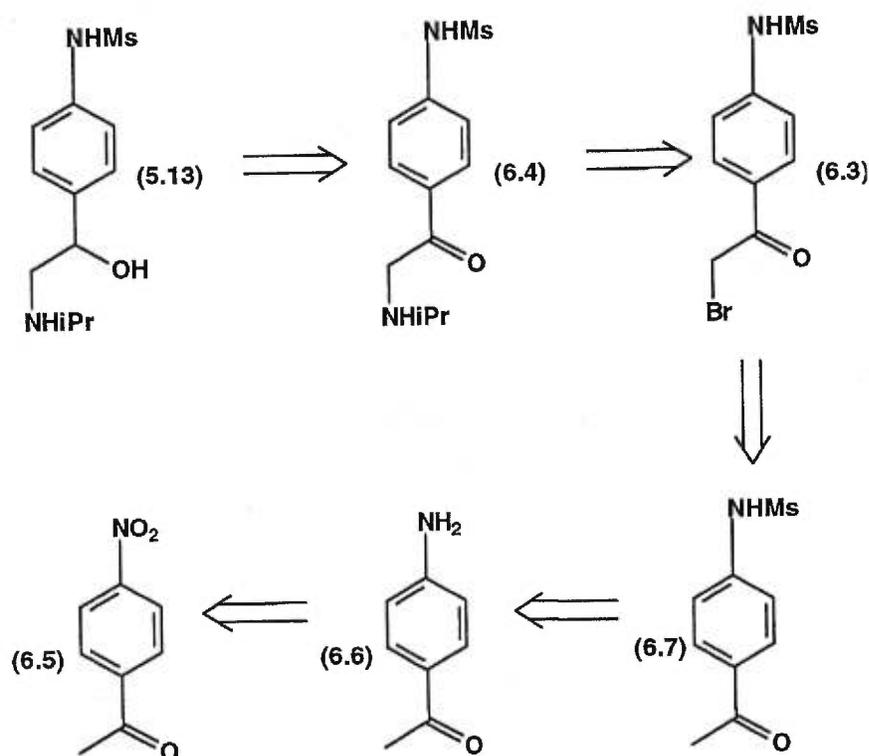
Figure 6.1 Voie succincte pour l'obtention du sotalol[®] selon Larsen⁶²



Pour sa part, la deuxième voie illustrée à la figure 6.2 s'avère plus élaborée et ne fait pas intervenir la réaction de Friedel-Crafts. Pour ce faire, il utilise la 4'-nitroacétophénone (6.5) en guise de réactif de départ. Après avoir réduit la fonction nitro en amine (6.6), la monoprotection sous forme de mésylate est effectuée pour ainsi obtenir le composé 6.7. Ce dernier en main, une monobromation au niveau du méthyle

de l'acétophénone **6.7** est réalisée, ceci permettant à Larsen d'obtenir la bromocétone **6.3**. Le déplacement nucléophile du bromure par une amine secondaire de type isopropylique en milieu acide lui permet d'isoler le composé **6.4**, composé qui devra en dernier lieu subir une dernière réduction, et ce, au niveau de sa fonction cétonique pour ainsi aboutir au composé désiré, la structure **5.13**.

Figure 6.2 Deuxième voie développée par Larsen pour la synthèse du sotalol®



D'après ces deux derniers schémas rétrosynthétiques, on constate assez aisément que les modifications que nous devons apporter à ces voies pour arriver à synthétiser l'isomère *ortho*, portent dans un premier temps sur la façon par laquelle nous réussirons à installer la chaîne éthanolamine en position *ortho*.

La première stratégie envisagée fut donc de suivre la première voie de Larsen i.e. d'employer la réaction de Friedel-Crafts en tant que réaction clé pour installer le chaîne éthanolamine en *ortho*.

De plus, dès le départ, pour ainsi éviter d'obtenir de façon majoritaire l'isomère *para*, nous avons décidé d'utiliser un composé ayant déjà un substituant à cette position et qui, ultérieurement, serait clivable.

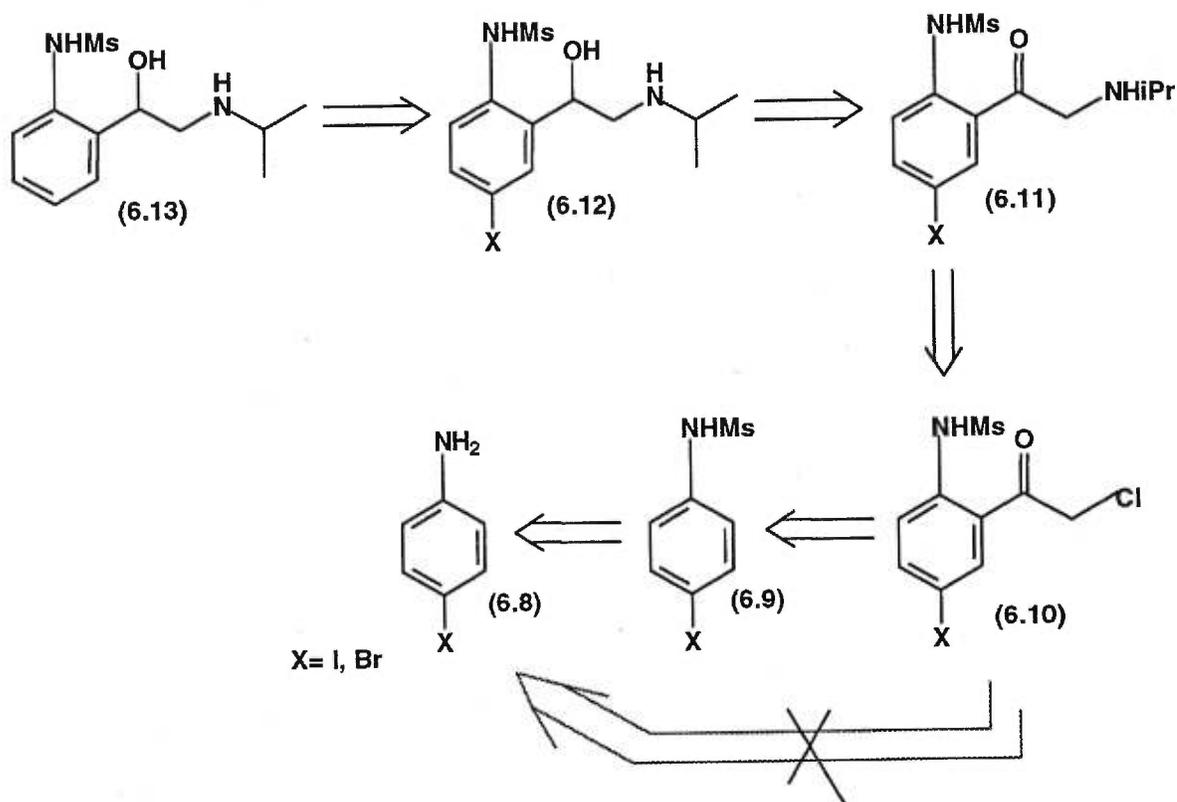
6.2 Rétrosynthèse de la 2'-(2-isopropylamino-1-hydroxyéthyl)-méthanesulfonanilide basée sur l'acylation de Friedel-Crafts

6.2.1 Tentatives d'acylation de Friedel-Crafts

Nous avons convenu que la réaction de Friedel-Crafts dirigée vers la position *ortho* se devait d'être réalisée avec un rendement acceptable compte tenu du fait qu'il s'agissait d'une étape située tôt dans la séquence.

Dans un premier temps, nous avons planifié de débiter la synthèse avec la monoprotection de l'amine primaire sous forme de mésylate, ceci nous permettant d'isoler le composé **6.9** (figure 6.3).⁶² Ensuite, une réaction de Friedel-Crafts avec le chlorure d'acide α -chloro acétique nous permettra d'obtenir l' α -chlorocétone **6.10**. Une fois cette réaction effectuée, nous pensons réaliser une substitution nucléophile du chlore par un azoture, cette étape étant suivie par une amination réductive *in situ* de cet azidocétone, pour ainsi obtenir l'intermédiaire **6.11**. Une dernière réduction de la cétone devrait nous permettre d'avoir en main le produit **6.12** prêt à subir le clivage de l'atome d'halogénure toujours présent à la position *para* du cycle.

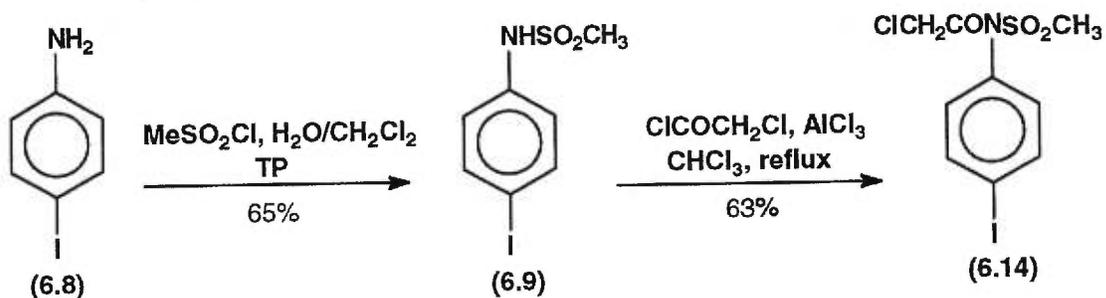
Figure 6.3 Rétrosynthèse du composé désiré incorporant la réaction de Friedel-Crafts en tant que réaction clé



Dans un premier temps, nous avons tenté l'acylation de Friedel-Crafts sur la 4'-iodoaniline (**6.8** ; $X=I$) puisque comme nous l'avons précédemment mentionné, nous anticipions d'obtenir de façon majoritaire l'isomère *para*, et ce, à cause du pouvoir *o/p*-directeur de la fonction amine. L'utilisation d'un substrat de départ ayant un iode à cette position devrait possiblement permettre d'augmenter le taux d'acylation en *ortho*.

A notre grande surprise, les réactions d'acylation de Friedel-Crafts⁶³ tentées sur le substrat **6.8**, n'ont dans aucun cas, mené à l'obtention de la 2'-amino-4'-iodo- α -chloroacétophénone désirée (**6.10**). Compte tenu de ces résultats, nous avons tenté la même réaction mais cette fois avec la 4-iodosulfonanilide **6.9**, cette dernière provenant de la 4-iodoaniline ayant préalablement subi une réaction de monoprotection de l'amine avec le chlorure de mésylate, et ce, avec un rendement de 65%. Le schéma 6.1 fait état des conditions utilisées pour synthétiser la structure **6.9**. De plus on y retrouve les conditions de Friedel-Crafts via lesquelles on a plutôt acylé l'amine, ceci nous donnant la structure **6.14**.

Schéma 6.1 Monoprotection de l'amine primaire et tentative d'acylation de Friedel-Crafts⁶³



Conscient de la direction suivie par la réaction de Friedel-Crafts, nous avons été contraint à abandonner cette voie pour installer la chaîne éthanolamine en position *ortho*.

Pendant, nous avons tenté de tirer profit du résultat découlant de cette réaction dirigée au niveau de l'amine, et ce, en soumettant la molécule résultante **6.14**, au réarrangement de Fries.

6.3 Tentatives de réarrangements de Fries sur la N-chloroacétyl-N-(4-iodo-phényl)-méthanesulfonamide 6.14⁶³

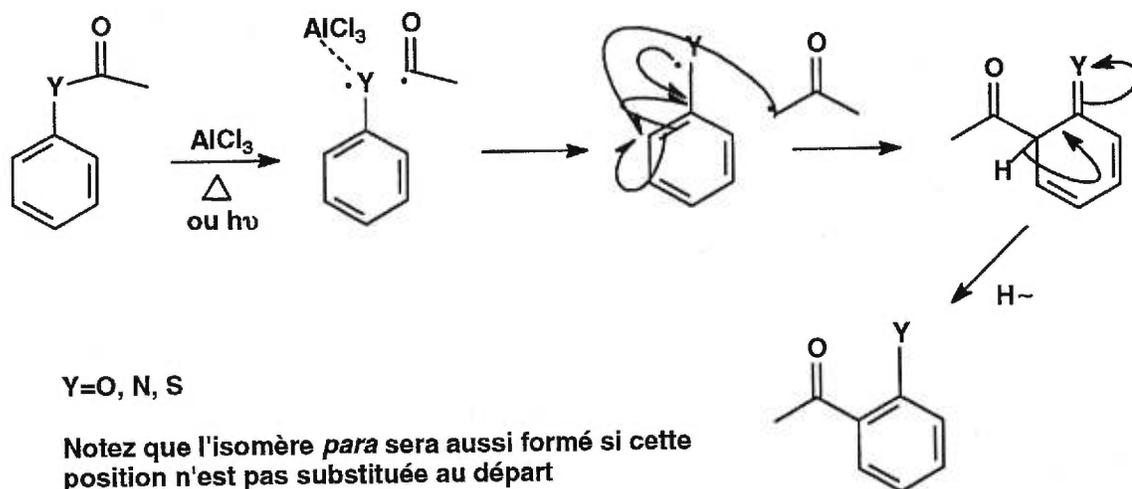
6.3.1 Réarrangements thermique et photochimique de Fries pour installer la chaîne éthanolamine en position *ortho* sur la structure 6.14

À ce point, nous avons tenté sur ce substrat le déplacement de la chaîne chloroacyle de l'azote vers la position *ortho* du cycle benzénique, et ce, via les réarrangements thermique ou photochimique de Fries.^{63, 63b}

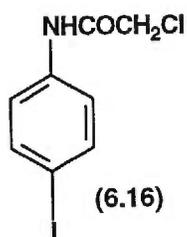
Il est à noter qu'à notre connaissance, aucune publication décrivant ce type de réarrangement sur un tel substrat ayant à la fois un groupement acétyle et mésyle ne fut réalisé antérieurement. Il nous apparaissait alors intéressant d'investiguer ce réarrangement, ceci sans toutefois perdre de vue notre objectif de synthèse, le régioisomère *ortho* du sotalol[®].

Tout comme les réactions d'acylation de Friedel-Crafts, nous savions que ce type de réarrangement lorsqu'il s'agit de molécules encombrées préfère s'effectuer à la position *para* plutôt qu'*ortho*. Aussi, puisque nous avons un halogène à cette position, nous avons jugé plus prudent d'essayer le réarrangement thermique en premier puisque nous craignons que les photons émis lors du réarrangement photochimique induisent le clivage des deux liens C-X (C-Cl et C-I) présents sur la molécule. Le schéma 6.2 démontre un aperçu du mécanisme réactionnel du réarrangement thermique de Fries.⁶³ La réaction catalysée par un acide de Lewis permet d'affaiblir le lien C-Y, Y représentant un atome électronégatif tel que O, N ou S. Ces réarrangements pour la plupart se passent sans solvant. Ainsi donc, on met en présence deux solides qui, dans un récipient permettant le chauffage de celui-ci jusqu'à 300°C, réagissent ensemble de façon à cliver le lien C-O, C-N ou C-S, ceci permettant par la suite la migration du radical acylium vers la position *ortho* ou *para* du cycle aromatique.⁶³

Schéma 6.2 Aperçu du mécanisme réactionnel général du réarrangement thermique ou photochimique de Fries^{63, 64}



Bien que nous ayons pu trouver un article décrivant ce type de réarrangement thermique, et ce, sur un substrat ressemblant étonnamment au nôtre, un halogénure d'aryle (6.16) ayant une chaîne chloroacétylé, nous n'avons obtenu que des résultats négatifs puisque nous n'obtenions que des mélanges complexes.⁶³ Tel que signalé plus haut, ces réactions se faisaient sans solvant, en mélangeant deux solides, le catalyseur de Lewis et le substrat. On devait chauffer à haute température (>160°C) ce mélange, et ce, généralement sur une courte période.⁶⁴



Toutes nos tentatives pour réarranger le précurseur du régioisomère *ortho* du sotalol® se sont soldées par un échec. Nous avons fait varier la majorité des paramètres expérimentaux un à un, mais en vain. À ce point, constatant qu'il faudrait mettre au point un nouveau protocole expérimental, et ce, sans trop d'espoir de succès, nous sommes alors passés aux réactions de Fries photo-induites en espérant que le clivage des halogénures serait évité ou au pire, minimal. Comme dans les précédentes conditions de réarrangement thermique, les tentatives de réarrangement photochimique se sont toutes avérées vaines.

En dernier lieu, mentionnons que dans le cas des réactions thermiques décrites plus haut, nous observons des changements drastiques de couleur du milieu réactionnel. Chacune de ces réactions une fois réalisées, démontraient par ccm une traînée de taches, et ce, sans la formation d'une tache prédominante.

Finalement, dans le cas des réactions photochimiques, nous avons observé qu'elles se sont déroulées de manière à former des agrégats de molécules en suspension dans le solvant. Il s'est donc avéré très difficile voire impossible de bien suivre la réaction par ccm.

À ce point, après avoir passé un temps considérable sur ces essais infructueux, nous avons abordé la synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol® mais cette fois, en s'inspirant de la deuxième voie développée par Larsen lors de sa synthèse du sotalol®(figure 6.2).

Chapitre 7

Synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol[®]

7.1 Rétrosynthèse permettant la synthèse du régioisomère *ortho* du sotalol®

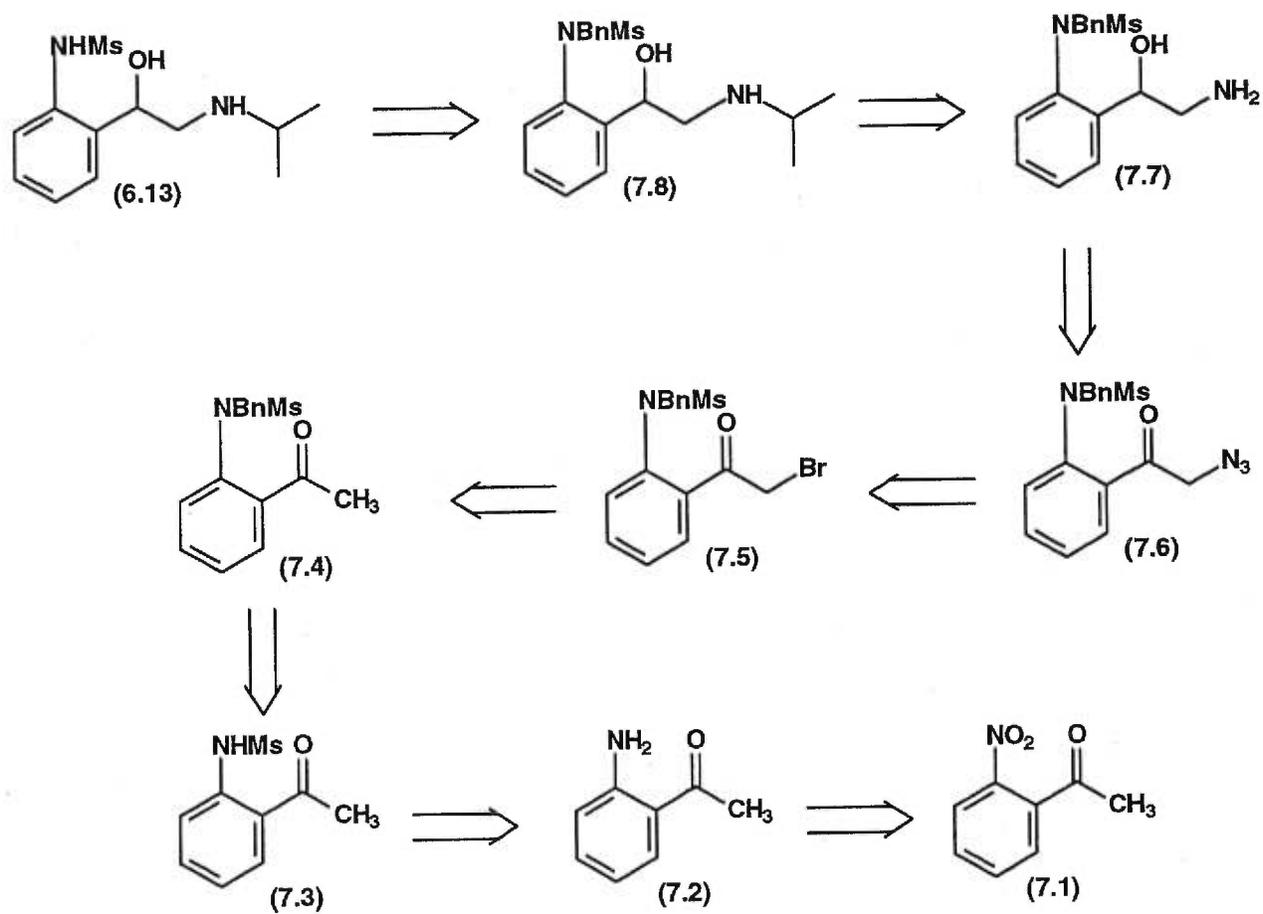
Étant donné les difficultés éprouvées dans les approches précédentes, nous avons alors pensé à employer un substrat ayant déjà une ramification en *ortho* pouvant être modifié de façon à synthétiser le régioisomère voulu du sotalol®.

7.1.1 Rétrosynthèse définitive menant au produit désiré

Inspiré des précédents travaux de Larsen, nous avons apporté les modifications essentielles à cette voie, pour ainsi synthétiser l'isomère *ortho*.

Nous avons choisi de débiter la synthèse en prenant comme substrat de départ, le produit commercial **7.1**, la 2-nitroacétophénone. La réduction de ce composé, suivi de la métylation de l'amine primaire résultante (**7.2**) nous permettra d'isoler le composé **7.3**. Une benzylolation de cette amine nouvellement métylée devra nous permettre d'éviter certains problèmes de cyclisation intramoléculaire (*vide infra*). Le composé **7.4** en main, ce dernier devrait subir sans trop de peine une monobromation de sa méthylcétone, ceci nous menant à la structure **7.5**. Ainsi, cette dernière structure devrait nous permettre par la suite d'introduire la fonction azoture, et ce, par une substitution nucléophile du brome par l'azoture de sodium (**7.6**). Par ailleurs, sachant que les azotures subissent relativement bien les réductions, cette étape devrait nous permettre d'obtenir le composé **7.7**, ce dernier ayant subit, à cette étape, une double réduction. Rendu à ce point, il ne restera plus qu'à alkyler l'amine primaire nouvellement formée (**7.7**) avec l'acétone et le borohydrure de sodium. La dernière étape sera la déprotection de l'amine benzylée **7.8**, ceci nous permettant d'obtenir la molécule désirée **6.13**. La figure 7.1 qui suit résume l'ensemble de ces étapes.

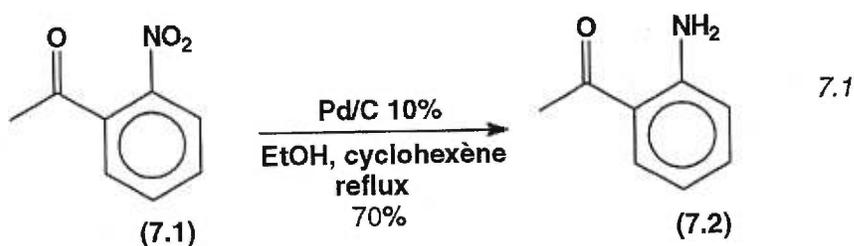
Figure 7.1 Rétrosynthèse développée pour le régioisomère ortho du sotalol®



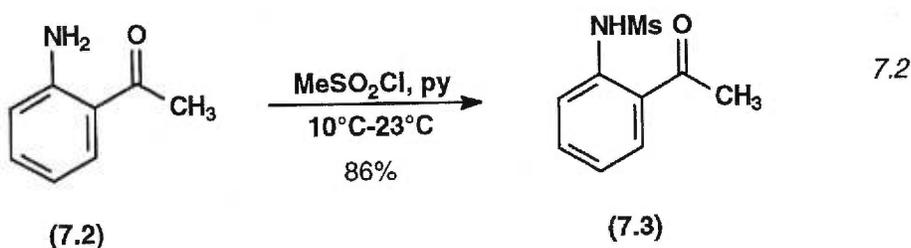
7.2 Synthèse des intermédiaires de la voie rétrosynthétique présentée

7.2.1 Réduction et protection de l'amine du substrat de départ, la 2-nitroacétophénone

Tout d'abord, nous avons débuté la synthèse en réduisant la fonction nitro, et ce, en employant le cyclohexène en tant que source d'hydrogène.⁷⁴ Le composé **7.2** est isolé avec un rendement somme toute acceptable de 70%, et ce, sous forme d'une huile jaune verdâtre dégageant une forte odeur. Cet dernier fut aisément identifiable par RMN-¹H puisque dans le chloroforme deutéré, nous notons sans difficulté l'apparition d'un singulet élargie intégrant pour les deux protons de l'amine à 6.28 ppm.

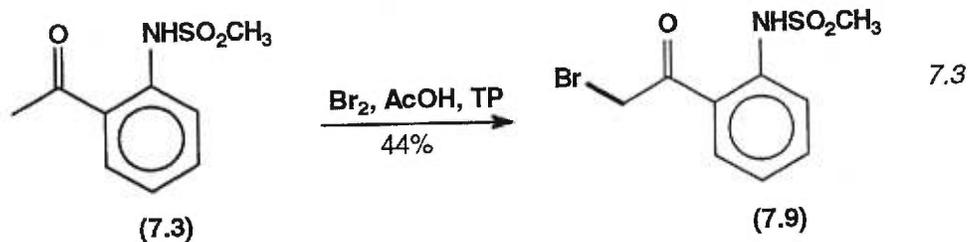


Par la suite, la monoprotection de la fonction amine de **7.2** avec le chlorure de mésyle fut réalisé avec un rendement de 86%, et ce, en utilisant les conditions mentionnées à l'équation 7.2 qui suit.⁶²

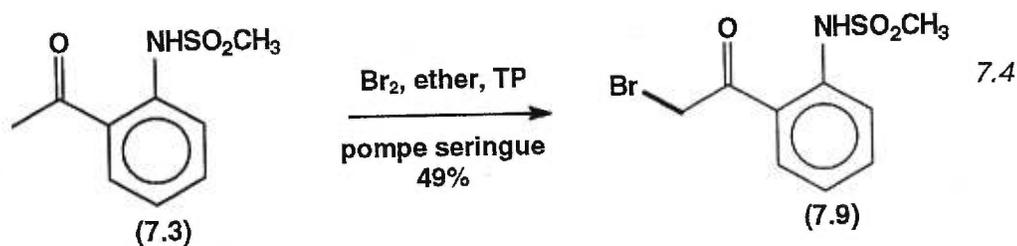


7.2.2 Monobromation de la méthylcétone 7.3

Par la suite, nous avons entrepris de modifier la méthylcétone en effectuant une réaction de substitution nucléophile sur cette dernière. Nous avons tenté de monobromer la cétone, et ce, en utilisant les conditions décrites par Blanco *et coll.*⁶⁵ Dans ces conditions, la cétone dissoute dans l'acide acétique glacial, subit à 0°C, l'addition du brome. Ainsi, nous avons obtenu le produit désiré **7.9**, ceci cependant avec un rendement inintéressant de 44% (équation 7.3).



Croyant pouvoir obtenir un rendement satisfaisant, nous avons alors refait la même réaction mais cette fois, avec les conditions publiées par Pirkle *et coll.* (équation 7.4).⁶⁶ Ces dernières nous ont permis d'isoler le produit 7.9 avec un rendement de 49%, guère meilleur. Le spectre RMN-¹H est alors dépourvu de singulet à 2.69 ppm, signal caractéristique du méthyle de l'acétophénone. Aussi, nous observons un nouveau signal à 4.48 ppm, celui-ci intégrant pour le méthylène positionné entre le carbonyle et le brome.

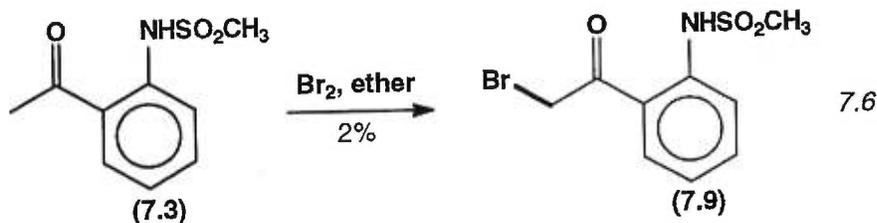


Toujours insatisfait du dernier rendement obtenu par la réaction de monobromation, nous avons essayé les conditions décrite à l'équation 7.5 qui suit. Avec ces conditions, nous avons isolé une quantité non-négligeable du dérivé indoxyle 7.10. La présence de ce composé s'est clairement révélée lors de l'analyse minutieuse du spectre RMN-¹H de celui-ci. En effet, lorsque l'on regarde rapidement le spectre de ce dernier, il est en tout point identique au spectre de la bromocétone, avec la seule différence, le déplacement chimique du méthylène dans le cycle (4.18 ppm) et celui précédemment énoncé pour le méthylène de 7.9 à 4.48 ppm. Cette réaction secondaire était selon nous, attribuable à la présence de l'acide de Lewis.



À ce point, devant toutes ces tentatives de monobromation, nous avons décidé en dernier lieu d'essayer les conditions décrites par Larsen pour

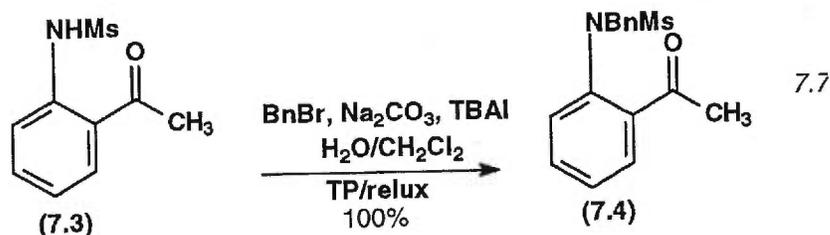
monobromer diverses aminoacétophénonnes, ces conditions étant similaires à celles employées par Pirkle mais sans l'emploi du catalyseur acide, le chlorure d'aluminium. Les premières tentatives de cette réaction nous ont démontré qu'il nous faudrait optimiser ces conditions puisque dans un premier temps, nous avons obtenu le produit **7.9** dans un maigre rendement de 2% (équation 7.6).



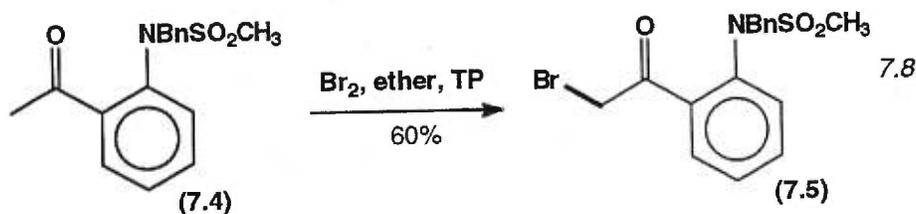
Ainsi donc, à la suite de tous ces essais, nous nous sommes aperçus que l'addition du brome se devait d'être réalisée à 0°C, et ce, avec une pompe seringue, puisque lorsque l'addition était réalisée dans de telles conditions, on croyait augmenter le rendement. De plus, lors de l'addition du brome ce dernier se devait d'être préalablement dilué dans l'éther pour s'assurer d'avoir un milieu qui permettait un contact plus doux avec le réactif.

7.2.3 Protection de l'amine secondaire **7.9** sous forme de benzyle

Malgré toutes ces précautions, nous ne nous trouvions qu'avec un rendement de 49% encore peu satisfaisant. Nous avons alors décidé de protéger l'intermédiaire **7.3** avec le bromure de benzyle. L'azote ainsi diprotégé ne pourrait, à l'étape suivante, cycliser pour former un dérivé indoxyle. Cette étape fut donc réalisée avec un rendement quantitatif (équation 7.7), et ce, *via* l'emploi des conditions publiées par Kibayashi *et coll.*⁶⁷ Le spectre RMN-¹H du produit benzylé **7.4** apparaît alors avec un singulet supplémentaire intégrant pour 2 protons à 4.80 ppm.



Le benzyle en place, il ne nous restait plus qu'à effectuer la réaction de monobromation en utilisant les conditions de Larsen, ceci en tenant compte des précautions expérimentales mentionnées plus tôt. Dans le meilleur des cas, la monobromation du composé **7.4** s'est chiffrée à 60% de rendement (équation 7.8).



7.3 Modification de la méthylcétone aromatique

7.3.1 Substitution du l'atome de brome de l'intermédiaire 7.5 par un azoture

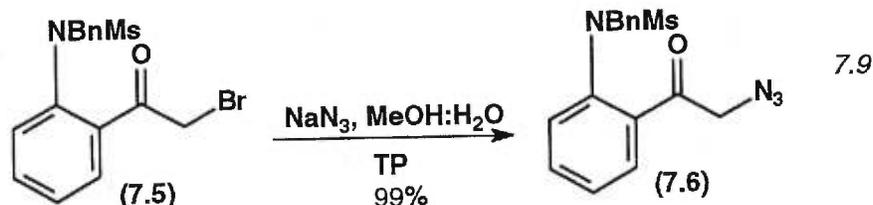
L'étape de bromation de la cétone franchie, nous avons à substituer le brome par un azoture, ce dernier étant le précurseur de l'amine primaire. Encore ici, cette étape nous a valu certaines difficultés. Nous avons tout d'abord essayé les conditions de substitution-réduction *in situ* de Rolla *et coll.*⁶⁸ ceci dans le but d'obtenir directement l'aminoalcool **7.7** désiré. En une étape, ces conditions nous permettraient ainsi d'effectuer la substitution nucléophile du brome par l'azoture, la réduction de l'azoture résultant et finalement la réduction de la cétone en α de l'azoture. Nous réussissons bien à isoler l'aminoalcool **7.7** voulu, cependant avec un rendement 25% dans le meilleur des cas. Il nous apparaît alors plus rationnel d'effectuer en premier lieu la substitution nucléophile pour ensuite réduire simultanément le carbonyle et l'azoture résultant, ceci en prenant soin de choisir le borohydrure de sodium plutôt que le l'hydrure de lithium et d'aluminium, puisque ce dernier a le pouvoir de cliver le mésylate situé sur l'amine du cycle aromatique.

Les récentes conditions de substitution d'un halogène par un azoture incluent habituellement un catalyseur de transfert de phase tel que l'Aliquat 336[®] ou encore le bromure d'hexadécyltributylphosphonium puisque ces deux réactifs préviennent les « work up » fastidieux, les faibles rendements ainsi que des durées de réaction très longues.^{68, 69}

Nous avons donc utilisé les conditions de Rolla⁶⁸ sur notre bromocétone (**7.5**), ceci, en prenant soin d'isoler l'azoture une fois la formation de celui-ci terminée. Malheureusement, l'isolation du produit pur, i.e. exempt de catalyseur fut ardue. En effet, le catalyseur s'avère très difficile à éliminer lors du « work up » et même lors d'une chromatographie flash. Le rendement obtenu de l'azoture **7.6** dans de telles conditions s'est pitoyablement chiffré à 40%.

Nous devons mentionner à ce point que toutes les méthodologies prescrivent généralement l'emploi d'un ou de deux équivalents de sel d'azoture. Nous avons décidé d'ignorer ces recommandations courantes pour déplacer l'équilibre de la

réaction vers le produit désiré. Nous avons donc solubilisé notre substrat dans un mélange 1 :1 de méthanol et d'eau, pour ensuite additionner un large excès d'azoture de sodium (entre 15 et 20 éq.), le tout à la température ambiante. Nous abandonnons la réaction pour une période minimale de 24 heures et isolons l'azoture **7.6** avec un rendement de 99% (équation 7.9).⁶⁹



7.3.2 Réduction de l'azidocétone

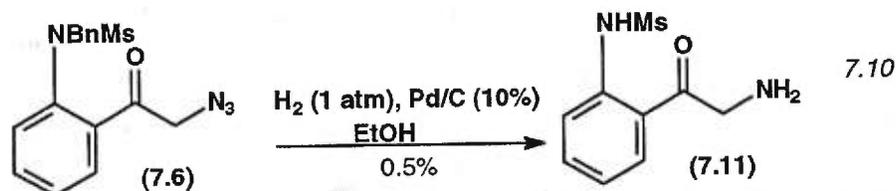
À ce point, il nous restait à réduire l'azoture et le carbonyle. Tout d'abord, nous avons tenté de réduire l'azoture sans toucher à la cétone, puisqu'ainsi l'aminocétone résultante serait moins polaire que l'aminoalcool correspondant et donc probablement plus facilement isolable. En conséquence, nous laissons de côté la réduction via l'emploi du NaBH₄ qui avait ultérieurement fonctionné mais avec un rendement peu satisfaisant (*vide supra*).

La réduction avec la triphénylphosphine dans un mélange d'eau et de THF fut premièrement essayée.⁷⁰ Dans ces conditions, nous notons par ccm l'apparition d'une pléiade de produits, et ce, après seulement 2 heures. Un deuxième essai fut réalisé, ce dernier se révélant inutile puisqu'après une chromatographie flash, des fractions purifiées identiques par ccm se révélèrent être un mélange aussi complexe qu'avant la purification.

Dès lors, nous avons entrepris de réduire notre azoture en employant l'hydrure de tributylétain dans le benzène à reflux.⁷¹ Tout comme ce fut le cas avec la triphénylphosphine, notre produit a subi une décomposition et/ou une polymérisation, ceci nous donnant donc un mélange complexe. Une chromatographie flash du mélange en question fut effectuée mais en vain. Le mélange s'avéra véritablement inséparable.

C'est alors que nous avons tenté d'hydrogéner l'azoture en dissolvant notre substrat dans l'éthanol et en y ajoutant du palladium 10% adsorbé sur du charbon.⁷² Nous anticipions ainsi le clivage du benzyle posé un peu plus tôt, ceci en réalité ne représentant pas un problème mais plutôt un avantage puisqu'à ce point nous avons ultérieurement à effectuer cette étape pour synthétiser la structure désirée.

Le premier essai fut effectué sur une quantité de l'ordre de 50 mg. Cette dernière réaction ayant fonctionné, nous isolons l'intermédiaire **7.11** déprotégé de son benzyle et ayant subi la réduction de sa fonction azoture. L'aminocétone résultante **7.11** fut cependant obtenue avec un très maigre rendement de 0.5% (équation 7.10).



À ce point, un tel rendement ne nous enchantait guère mais nous avons tout de même refait la réaction mais cette seconde fois, avec une plus grande quantité, environ 0.350 g de l'intermédiaire **7.6**, ceci dans le but de s'assurer que ce faible rendement n'était pas attribuable en partie à une ou à des erreurs de masse pesée, ceci ayant alors pour effet de diminuer de manière considérable le rendement obtenu.

Il est à noter qu'un rendement de l'ordre de 40% pour cette réaction d'hydrogénation de **7.6** nous aurait paru acceptable. Nous aurions alors poursuivi notre voie sans en déroger, quitte à travailler pour optimiser quelque peu cette dernière, ceci de façon à élever le rendement.

Cependant, une très mauvaise surprise nous attendait dans le détour puisque lors de ladite réaction, au moment de l'addition de l'azoture au palladium déjà dispersé dans l'éthanol, une importante réaction exothermique s'est produite. Une importante flamme se manifesta et le milieu réactionnel qui en résulta s'avéra totalement décomposé.

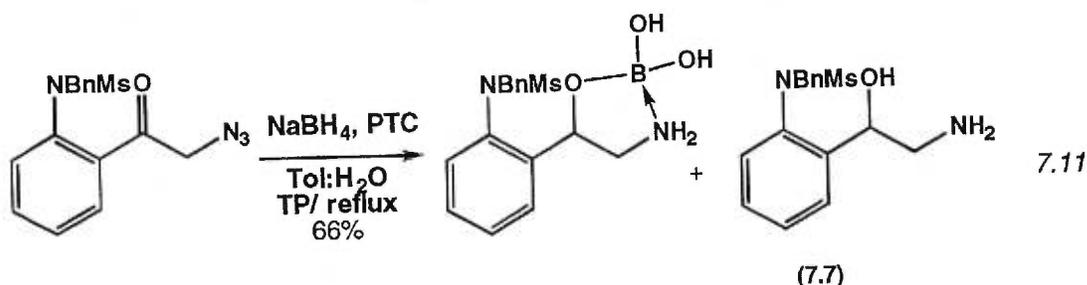
Nous avons alors inversé l'ordre d'addition du substrat et du palladium, ceci de façon à réduire les risques d'inflammation. Malgré cette précaution, celle-ci s'est avérée vaine puisque d'une part, le contact entre ces deux substances était toujours détonant, et d'autre part, la réaction tendait à former une quantité impressionnante de sous-produits. De plus, ne sachant trop quoi penser quant à la raison exacte de cette explosion, un collègue du laboratoire a tenté à son tour d'effectuer la même réaction mais malheureusement, le même scénario se répéta. La réaction est probablement dû à l'ignition des vapeurs de méthanol suite à un dégagement de chaleur provenant de la réaction rapide entre le palladium et l'azoture.

Compte tenu du degré de danger auquel nous nous exposons ainsi que de la finalité face à laquelle nous nous retrouvons, nous avons préféré revenir au point de départ, i.e. réduire l'azoture *via* l'hydrure de bore. Ainsi, nous aurions alors à isoler l'aminoolcool résultant de la phase aqueuse, ceci étant difficile mais néanmoins sans grand risque.

7.3.3 De l'azidocétone à l'aminoalcool avec NaBH_4 comme agent réducteur

En empruntant les conditions usuelles de réduction avec le borohydrure de sodium, ladite réaction s'effectua sans trop de problème.⁶⁶ À cette étape, le plus difficile resta comme nous l'avons spécifié plus tôt, l'isolation de l'aminoalcool, ce dernier étant plus soluble dans la phase aqueuse que dans la phase organique.

Nous avons dû expérimenter plusieurs manières de faire pour arriver à isoler ce dernier. Entre autres, nous avons essayé d'extraire le produit de la phase aqueuse avec du dichlorométhane et par la suite avec de l'acétate d'éthyle. Dans le cas du premier solvant, le produit y était peu soluble et dans le deuxième cas le produit ainsi que les sels de bore s'y solubilisèrent. Nous avons donc essayé de purifier le composé **7.7** des sels de bore en chromatographiant celui-ci. Dès lors, nous avons pu isoler **7.7**, et ce, avec un rendement de 66% (équation 7.11).⁶⁶

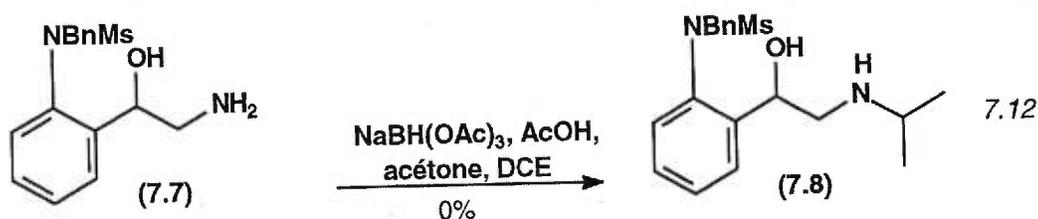


Il est intéressant de noter que le spectre RMN-¹H du composé **7.7** est passablement complexe puisqu'on y voit deux catégories de signaux, ceci démontrant, à première vue, la présence de deux produits différents. Cependant, comme nous devons répéter régulièrement la réaction, nous avons noté que le ratio de ces deux produits variait en fonction de la quantité d'agent réducteur que nous additionnions au mélange réactionnel. En effet, plus la quantité de NaBH_4 était importante, plus nous semblions favoriser un composé au détriment de l'autre. La seule hypothèse logique qui nous soit venue à l'esprit concernant cette observation fut qu'une partie du mélange était en fait, du borate chélaté. Lorsqu'on augmentait le nombre d'équivalent de ces sels, le composé chélaté était alors présent en plus grande quantité, ceci se reflétant dans la valeur du ratio des deux substances, ratio obtenu par l'analyse du spectre RMN-¹H. Cette supposition nous sembla d'autant plus plausible puisque les substances démontraient pratiquement le même patron de couplage et qu'en plus, la différence de ppm des signaux apparentés des deux substances étaient très importants, de l'ordre de 1 ppm. Ainsi, comme un des composés serait chélaté, ce dernier posséderait ainsi des signaux plus déblindés que ceux de l'aminoalcool non chélaté.

7.3.4 Amination réductive de l' aminoalcool 7.7

L' aminoalcool **7.7** en main, nous devons achever la synthèse en effectuant l' amination réductive de l' amine primaire et la débenzylation du composé résultant.

L' étape de l' amination réductive nous a aussi posé plusieurs problèmes. Nous avons dû tenter plusieurs essais pour y arriver. À débiter par le premier essai avec le triacétoxyborohydrure de sodium ($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$) en guise d' agent réducteur (équation 7.12).⁷³ Les conditions décrites par Abdel-Magid⁷³ ne nous ont pas permis d' isoler le produit réduit, puisqu' après avoir reproduit la méthodologie décrite par ce dernier, nous avons seulement recueilli le produit de départ.

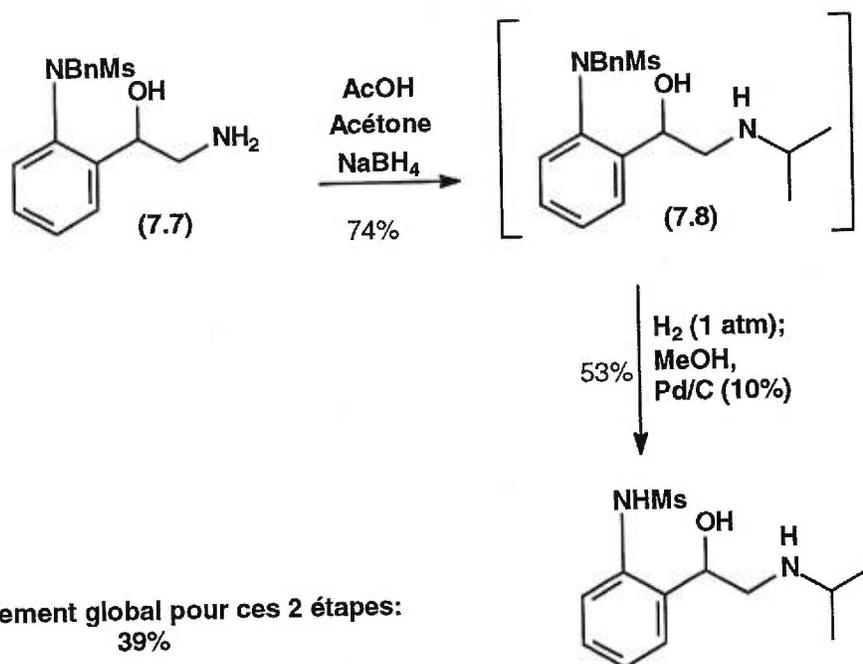


L' agent réducteur s' avérant probablement trop doux, nous sommes retournés au réactif qui s' est avéré jusqu' ici être notre amulette, le NaBH_4 . La réaction décrite au schéma 7.1 situé à la page suivante étant réalisable sans trop de problèmes, nous avons isolé l' aminoalcool correspondant, cependant, non sans trop d' efforts. Pour que la réaction se produise avec un rendement de l' ordre de 50 %, nous devons ajouter entre 7 et 12 équivalents de NaBH_4 . En conséquence, le « work up » de la réaction fut encore une fois passablement difficile, les sels de bore résiduels y étant pour beaucoup. Nous avons dès lors évaporé le solvant de la réaction pour ensuite passer directement à l' étape suivante, l' hydrogénation du mélange brut de **7.8**.

7.3.5 Hydrogénation du mélange brut provenant de l' amination réductive

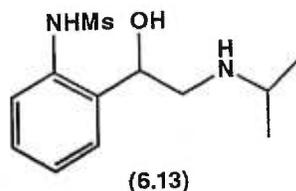
Le produit brut provenant de l' étape précédente fut dissout dans le méthanol pour ensuite être mis en contact avec du palladium adsorbé sur charbon (10%)⁷⁴. Un atmosphère d' hydrogène fut placé sur le mélange et après une période de 48 heures, nous évaporons le milieu réactionnel résultant (schéma 7.1).⁷⁶ Après plusieurs manipulations pour extraire le produit final des sels de bore provenant de l' étape précédente, nous en sommes venu à la conclusion qu' il nous faudrait extraire au soxhlet le mélange avec du chloroforme. Cette étape réalisée, nous obtenons le produit désiré, i.e. le 2'-(2-isopropylamino-1-hydroxyéthyl)méthane-sulfonamide **6.13** sous forme d' un solide légèrement collant, et ce, avec un rendement global pour les deux dernières étapes de 39%.

Schéma 7.1 Dernières étapes de la synthèse du régioisomère ortho du sotalol®



7.4 Atteinte de l'objectif de synthèse

Malgré l'impressionnante quantité de problèmes rencontrés lors de cette synthèse totale, nous avons pu isoler et caractériser le composé **6.13** désiré.



En effet, le spectre RMN-¹H de **6.13** annexé à la fin du mémoire démontre clairement la disparition des 5 protons benzyliques, ces derniers étant situés vers 7.3 et 7.5 ppm. De plus, nous notons la disparition du méthylène appartenant au benzyle vers 5.2 ppm.

7.5 Conclusion

Il nous a été possible d'accomplir l'objectif défini au départ. Effectivement, nous avons conçu, non sans peine, le régioisomère *ortho* du sotalol[®]. Pour ce faire, nous avons dû élaborer une stratégie de synthèse, celle-ci étant inspirée des travaux de Larsen datant de 1966.

Comme certaines étapes de la stratégie de Larsen ne pouvaient être fidèlement reproduites puisque la régiochimie désirée amenait certaines réactions secondaires rendues possibles seulement avec le composé substitué en *ortho*, citons à cet effet la cyclisation du composé bromé, cette dernière menant à l'indoxyle, nous avons été contraint à protéger l'azote sous forme de benzyle pour ainsi pouvoir réaliser la synthèse.

Le composé **7.5** en main, il nous fut possible de substituer le brome par un azoture, ceci nous donnant l'intermédiaire **7.6** prêt à être réduit pour ainsi obtenir l'aminoalcool **7.7**. À ce point, il ne nous restait plus qu'à effectuer l'amination réductive pour isoler le composé **7.8** brut, ce dernier étant difficile à purifier des sels de bore.

La dernière étape soit l'hydrogénation de **7.8** nous a enfin permis d'isoler le composé **6.13**. Le rendement total depuis la 2-aminoacétophénone est de 18%.

Chapitre 8

**Notes générales se rapportant
aux chapitres 9 et 10**

INSTRUMENTATION

i) Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (^1H) et du carbone (^{13}C) furent enregistrés sur un des appareils suivants : Brücker AMX-300 (^1H , 300 MHz; ^{13}C , 75.4 MHz) et le Brücker ARX-400 (^1H , 400 MHz; ^{13}C , 100.4 MHz). Les expériences RMN ont été réalisées dans le chloroforme deutéré (CDCl_3) et ce à moins d'avis contraire. Les déplacements chimiques symbolisés par δ , sont exprimés par rapport à la référence interne du solvant utilisé pour enregistrer le spectre, et ce, en partie par million (ppm) : CDCl_3 (7.27), CD_3OD (3.30), D_2O (4.80). Les constantes de couplage (J) sont exprimées en hertz (Hz).

ii) Spectroscopie infrarouge (IR)

Pour leur part, les spectres infrarouges (IR) des liquides autant que des solides ont été enregistrés sur deux différents appareils FTIR. Le premier, un spectrophotomètre de la compagnie Bomem (MB-series) appartient au département de chimie de l'Université de Montréal et le second un Perkin Elmer modèle FTIR 1600 appartenant au Collège Montmorency de Laval. Les spectres des substances liquides furent pris avec des pastilles de NaCl . Pour les substances solides, des pastilles de KBr furent à l'occasion réalisées sans quoi, lorsque cela s'avérait possible, la dissolution du solide dans un solvant volatil tel que le chloroforme fut effectuée.

iii) Spectroscopie de masse (SMBR, SMHR)

Les spectres de masse furent enregistrés sur le spectromètre VG-Micromass 1212, le AEI-MS 902 ou encore le KRATOS MS-50 TCTA. Les échantillons furent soumis à différents modes de fragmentation, et ce, selon la nature de l'échantillon à analyser. À certaines occasions, l'ionisation chimique (CI) ou l'ionisation chimique par désorption (DCI) furent utilisées. Le bombardement atomique rapide (FAB) demeure cependant le mode de fragmentation le plus employé.

iv) Analyse élémentaire (AE) et cristallographique

Les analyses élémentaires ont toutes été effectuées par S. Gariépy au Laboratoire d'analyse élémentaire de l'Université de Montréal. Les mesures de diffraction des rayons-X ont été effectuées sur un diffractomètre Nonius CAD-4 avec une radiation de type monochromatique provenant d'une source de cuivre ($\text{CuK}\alpha$).

v) Points de fusion (P_f)

Pour terminer, les points de fusion ont été mesurés sur deux appareils, soit un « Büchi » appartenant à l'Université de Montréal ou encore grâce à un appareil Mettler appartenant au département de chimie du Collège Montmorency. Toutes les valeurs de points de fusion n'ont pas été corrigées.

v) Localisation des spectres et des rapports originaux

L'ensemble des spectres RMN, IR, SMBR et SMHR ainsi que les rapports d'analyses élémentaires et de cristallographie sont disponibles auprès du professeur Denis Gravel au département de chimie de l'Université de Montréal.

vi) Nomenclature IUPAC

La détermination des noms systématiques selon les règles de l'IUPAC des composés fut rendue possible grâce au logiciel Autonom[®].

Purification des solvants et des réactifs

Concernant les solvants d'usage usuel commerciaux non anhydres, ceux-ci furent distillés avant usage. Dans cette catégorie, on y retrouve les solvants suivants : l'acétate d'éthyle (EtOAc), l'hexane, le chloroforme (CHCl_3) et le dichlorométhane (CH_2Cl_2). Les autres solvants de qualité spectroscopique sont achetés et utilisés sans autres purifications.

Dans le cas des réactions exigeant des conditions anhydres, les réactifs sont préalablement débarrassés de leur humidité selon les méthodes usuelles décrites dans la littérature.⁷⁷

CH_2Cl_2 , DMF, Et_2O et toluène : distillés sur CaH_2

Tétrahydrofurane (THF) : prédistillé sur LAH, ensuite distillé à partir de sodium sur benzophénone

Diisopropylamine, pyridine et Et_3N : distillées sur CaH_2

Méthanol (MeOH) : distillé sur Mg/I_2

Ethanol (EtOH) : distillé sur Mg /tamis moléculaire 3A (pré-asséché dans un four à 350°C pendant 24 heures).

Purification des produits

i) Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les chromatographies sur couches minces (ccm) furent effectuées sur des plaques Merck enduites de gel de silice Kieselgel 60 F₂₅₄ de 0.2 mm d'épaisseur et imprégné d'un indicateur fluorescent, le tout étant supporté par une plaque d'aluminium. La révélation des substances ayant un chromophore fut effectuée grâce à une lampe U.V. de 254 nm.

ii) Révélateurs chimiques pour chromatographie sur couche mince

Pour les substances sans chromophore important dans la région UV-Vis, une des méthodes de révélation suivantes fut employée.

Chambre d'iode : Les composés comportant des fonctions amines et/ou azotures furent enfermés dans un contenant de verre renfermant des cristaux d'iode. Après quelques secondes d'exposition ces substances apparaissent sous forme de taches jaunâtres.

Acide phosphomolybdique : Une préparation d'acide phosphomolibdique (PMA) est préparée en dissolvant 12 g de l'acide correspondant dans 250 ml d'éthanol 95%. Après immersion de la plaque ccm dans la solution, on chauffe cette dernière à environ 250-300°C sur une plaque chauffante, et ce, jusqu'à révélation.

Acide sulfomolybdique : Une préparation d'acide sulfomolibdique (CAM) est obtenue en dissolvant 12.5 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et 5 g de $\text{NH}_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ dans 50 ml de H_2SO_4 concentré et 450 ml d'eau. Après immersion de la plaque ccm dans la solution, on chauffe cette dernière à environ 250-300°C sur une plaque chauffante, et ce, jusqu'à révélation.

Vanilline : Une préparation de vanilline est réalisée en dissolvant 6 g de vanilline dans 250 ml d'éthanol 100%, auxquels on ajoute, en dernier lieu, 2.5 ml d'acide sulfurique concentré. Après immersion de la plaque ccm dans la solution, on chauffe cette dernière à environ 250-300°C sur une plaque chauffante, et ce, jusqu'à révélation.

Ninhydrine : Une préparation de ninhydrine est obtenue en mettant en présence les solutions suivantes : 0.3% (m/v) de ninhydrine dans le butanol et 3% d'acide acétique glacial. Après immersion de la plaque ccm dans la solution, on chauffe cette dernière à environ 250-300°C sur une plaque chauffante, et ce, jusqu'à révélation.

iii) Chromatographie sur colonne

Les chromatographies sur colonne décrites sous le nom de « chromatographies flash » furent réalisées selon la méthode mise au point par Still et ce en utilisant de la silice Merck 9385 de 40 à 63 mm (maille de 230-400 mesh).⁷⁸

Généralités

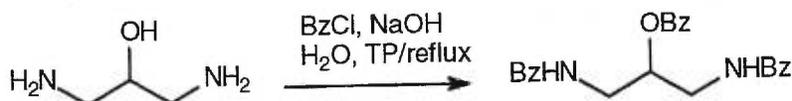
Lorsque des conditions anhydres furent requises, l'atmosphère inerte fut obtenue en maintenant une pression d'azote extra-sec sur le mélange réactionnel. Les seringues et les aiguilles furent préalablement séchées dans une étuve à 150°C pendant un minimum de 8 heures. Quant à elle, la verrerie fut séchée à la flamme et ramenée à la température ambiante sous azote extra-sec. Les tamis moléculaires quant à eux furent asséchés dans un four à 350°C pendant 24 heures avant utilisation.

Partout où l'on spécifiera l'énoncé « traitement habituel », ceci sous-entendra que la phase organique a été séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), filtrée par gravité sur un poreux et que le filtrat, fut pour sa part, évaporé sur un évaporateur rotatif branché sur une trompe à eau. Le mélange réactionnel ainsi obtenu est placé sous vide grâce à une pompe mécanique pour une période pouvant aller de quelques heures à une nuit entière.

Chapitre 9

Synthèse des intermédiaires menant au composé 1.1

9.1 2-Benzylamino-1-(benzoylamino-méthyl)benzoate d'éthyle (3.1)



On dissout 25.0 g (277.4 mmol) de 1,3-diaminopropan-2-ol dans 500 mL d'eau distillée. On y ajoute 800 mL de solution aqueuse de NaOH 15%. Après une heure d'agitation, on ajoute tranquillement 135.0 mL (1163 mmol) de chlorure de benzoyle (BzCl). On place un agitateur mécanique et on abandonne la réaction pour une période de 12 heures. Une fois ce laps de temps écoulé, on prend la moitié du mélange qu'on lave avec 1 L d'eau pour solubiliser la majorité du sel formé. Une filtration est alors effectuée et un solide blanc est recueilli. On répète les dernières étapes pour l'autre moitié du mélange réactionnel. On obtient ainsi 119.5 g de l' amino alcool tribenzoylé **3.1** pour un rendement de 100%.

R_f (5 :95, MeOH/CHCl₃) 0.70
Révélateur chimique CAM

SMBR (FAB) (MH⁺) 403; C₂₄H₂₃N₂O₄
SMHR calculée 403.16577
SMHR obtenue 403.16660;

IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1274/1544/1580/1602, 1717, 2942, 3065, 3242, 3388;

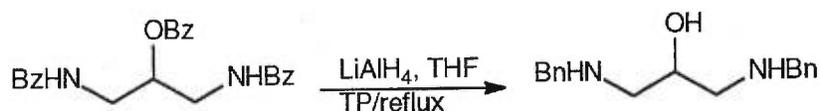
RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 3.71-3.81 (2H, m, -CH(OH)CH₂-), 3.89-4.01 (2H, m, -CH(OH)CH₂-), 5.26-5.32 (1H, m, -CH(OH)CH₂-), 7.38-7.58 (11H, m, Ar), 7.91 (4H, d, 8 Hz, Ar(NCOPh)), 8.06 (2H, d, 8 Hz, Ar (OCOPh));

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 39.5, 72.0, 127.1, 128.4, 128.6, 129.7, 129.5, 131.7, 133.3, 133.8, 166.1, 168.4;

Analyse élémentaire C₂₄H₂₂N₂O₄
Calculée → C (71.63), H (5.51), N (6.96)
Trouvée → C (71.43), H (5.63), N (7.01);

Point de fusion 155.2°C.

9.2 1,3-Bis-benzylamino-propan-2-ol (3.7)



À la température ambiante, on dissout 10.05 g (24.97 mmol) du benzoate de départ (**3.1**) dans 120 mL de THF. Dans un second ballon, on place 4.54 g (119.57 mmol) de LAH. On place ce dernier dans un bain de glace et on y ajoute 60 mL de THF. Une fois cette solution d'hydruure formée, on additionne goutte-à-goutte la solution de substrat sur une période de 30 minutes. L'addition terminée, on enlève le bain de glace et on installe un reflux pour une période de 24 heures. Après avoir abandonnée la réaction pendant 24 heures, on refroidi la solution et on détruit l'excès de LAH avec beaucoup de précautions. Pour ce faire, on ajoute lentement de 50 mL d'acétate d'éthyle mouillé goutte-à-goutte. Une fois que la majorité du LAH excédentaire a réagi avec le premier solvant, on répète la même procédure avec 50 à 100 mL d'eau. Une fois que l'excès d'hydruure est à toute fin pratique neutralisée, on ajoute quelques 35 mL de solution aqueuse de NaOH 10%. On extrait à 5 reprises cette phase aqueuse avec à chaque fois 75 mL d'EtOAc. On applique le traitement habituel aux phases organiques résultantes. Ceci nous permet d'obtenir 3.73 g (55%) du diaminoalcool *N,N'*-diprotégé **3.7** sous forme d'une huile translucide légèrement verdâtre.

R_f (60 :40, EtOAc/Hex) 0.25
Révélateur chimique vanilline

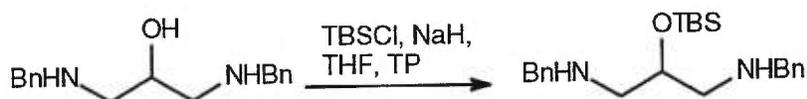
SMBR (FAB) (MH⁺) 271; C₁₇H₂₃N₂O
 SMHR calculée 271.18103
 SMHR obtenue 271.18180;

IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1453 et 1495, 2834 et 2927, 3028 et 3063, 3311;

RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.45 (2-3H, se, **OH** et/ou 2 **NH**), 2.51 (2H, dd, *J*₁= 12.0 Hz, *J*₂= 8.0 Hz, -CH(OH)CH₂NH), 2.74 (2H, dd, *J*₁=12.0 Hz, *J*₂= 4.0 Hz -CH(OH)CH₂NH), 3.81 (5H, *d*_{superposé}, *J*_{doublet}= 4.0 Hz, -CH(OH)CH₂NHCH₂Ph), 7.27-7.38 (10H, m, Ar);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 52.9, 53.7, 68.4, 127.0, 128.1, 128.4, 139.8.

9.3 N,N-Dibenzyl-2-(tert-butyldiméthylsilanoxy)propane-1,3-diamine (3.4)



À la température ambiante, on dissout 0.17 g (4.25 mmol) du NaH 60% en suspension dans l'huile dans 8.0 mL de THF anhydre. On additionne simultanément 1.0 g (3.69 mmol) du diaminoalcool *N,N'*-diprotégé **3.7** et on laisse sous agitation pour une période de 45 minutes. Lorsqu'une bonne quantité de sels blancs est formée dans le milieu, on ajoute 0.56 g (3.71 mmol) de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle dans la solution. On abandonne la réaction pour la nuit et l'arrêt de la réaction s'effectue via l'ajout de 35 à 50 mL d'une solution basique aqueuse de bicarbonate de sodium 10%. Après la séparation des phases, on fera suivre un lavage de la phase organique résultante avec la même quantité de saumure. Le traitement habituel réalisé, on obtient 1.35 g du silyle ether sous forme d'huile de couleur verte teintée de jaune. À l'examen du spectre ^1H -RMN du brut, on observe que ce dernier contient un tiers de TBDMSOH et qu'en conséquence, on obtient plutôt une masse de 0.891 g du silyle ether **3.4** ceci se traduisant par un rendement de 63%.

R_f (100% CH_2Cl_2) 0.30

Révélateur chimique vanilline

SMBR (FAB) (MH⁺) 385; $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{OSi}$

SMHR calculée 385.26752

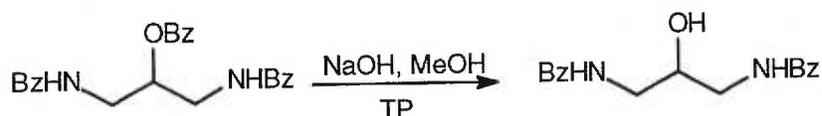
SMHR obtenue 385.26630;

IR_(NaCl)(cm^{-1}) 1099, 1254, 1454/1495/1604/1651, 2855/2928, 3028/3063, 3312;

RMN- ^1H (300 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 0.14 (6H, s, Me_2Si), 0.99 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$), 2.60-2.75 (3H, m, $-\text{O}(\text{CH})\text{CH}_2\text{NHBn}$ et BnNCH_2), 2.81 (2H, d, 4.5 Hz, BnNCH_2), 3.80-3.90 (4H, m, PhCH_2N), 7.35-7.40 (10H, m, Ar);

RMN- ^{13}C (75.4 MHz; CDCl_3); δ (ppm) -4.6, -3.5, 25.8, 53.0, 53.8, 68.5, 127.0, 128.1, 128.4, 139.9.

9.4 1,3-Dibenzoylamino-propan-2-ol (3.2)



On dissout 3.5 g (87.5 mmol) de NaOH sous forme de pastille dans 500 mL de MeOH non anhydre. On y ajoute ensuite 5.08 g (12.64 mmol) de l'aminoalcool tribenzoylé **3.1**. On abandonne ainsi la réaction pour 4 heures à la température ambiante. Après ce temps de réaction, on évapore le méthanol et on lave le précipité blanc obtenu avec 500 mL d'eau pour solubiliser les sels formés et ensuite on extrait à trois reprises cette phase aqueuse avec trois portions de 200 mL d'EtOAc pour se débarrasser d'un maximum d'impuretés. Après le traitement habituel réservé aux phases organiques, on obtient 2.69 g (71%) de l'alcool **3.2** sous forme d'un solide blanc crémeux. Aucune purification supplémentaire ne s'avère nécessaire.

R_f (5 :95, MeOH/CHCl₃) 0.23
Révélateur chimique vanilline

SMBR (FAB) (MH⁺) 299; C₁₇H₁₉N₂O₃
SMHR calculée 299.13956
SMHR obtenue 299.13930;

IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1216, 1542, 1623, 1649, 3019, 3285;

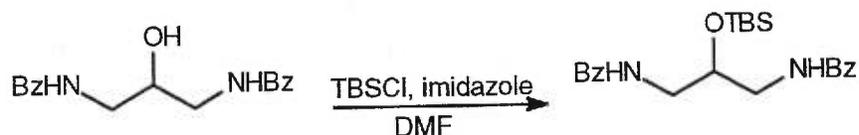
RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 3.65 (4H, t, 6 Hz, CH(OH)CH₂), 4.03 (1H, quint., 5 Hz, -CH₂CH(OH)CH₂-), 7.43-7.57 (6H, m, Ar), 7.86 (4H, d, 8.0 Hz, Ar);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 50.0, 69.4, 127.1, 128.5, 131.7, 133.6, 169.6;

Analyse élémentaire C₁₇H₁₉N₂O₃
 Calculée → **C** (68.20), **H** (6.40), **N** (9.36)
 Trouvée → **C** (68.42), **H** (6.04), **N** (9.35);

Point de fusion 161.3 °C.

9.5 N,N-Dibenzoyl-2-(*tert*-butyldiméthylsilanoxy)propane-1,3-diamine(3.3)



On dissout 0.16 g (0.536 mmol) de l'acool **3.2** de départ dans 9.0 mL de DMF anhydre. On ajoute simultanément 0.32 g (4.70 mmol) d'imidazole. Après 20 minutes d'agitation sous N₂, on ajoute 0.32 g (2.12 mmol) du groupement protecteur TBSCl. On abandonne la réaction pour 48 heures. Après ce temps, on arrête la réaction en ajoutant 35-50 mL d'eau distillée au mélange réactionnel. Le pH étant déjà à 7, il ne reste qu'à extraire de la phase aqueuse notre produit. À trois reprises, on utilisera 40 mL d'Et₂O et les phases organiques réunies subiront le traitement habituel. On obtient alors 0.22 g (99%) du silyl ether **3.3** sous forme d'un solide blanc très crémeux mais sec. Aucune purification supplémentaire ne sera requise.

R_f (5 :95, MeOH/CHCl₃) 0.58
Révélateur chimique CAM

SMBR (FAB) (MH⁺) 413; C₂₃H₃₃N₂O₃Si
SMHR calculée 413.22604
SMHR obtenue 413.22750;

IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1548, 1637, 2856, 2927, 3019, 3069, 3304;

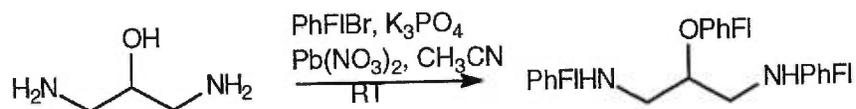
RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 0.19 (6H, s, CH₃-Si), 0.95 (9H, s, *tert*-butyl), 2.99-3.06 (1H, m, -(CH₂)CH(OH)(CH₂-), 4.05-4.12 (4H, m, -(CH₂)CH(OTBS)(CH₂-), 7.15 (2H, se, NH), 7.47-7.56 (5H, m Ar), 7.91 (5H, td, J₁= 6 Hz, J₂= 1.5 Hz, Ar);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm); -4.8, 18.1, 25.8, 41.7, 69.4, 127.0, 128.6, 131.6, 134.0, 167.5;

Analyse élémentaire C₂₃H₃₂N₂O₃Si
 Calculée → **C** (66.95), **H** (7.82), **N** (6.79)
 Trouvée → **C** (66.71), **H** (8.10), **N** (6.33);

Point de fusion 187.7°C.

9.6 **N,N-Bis-(9-phényl-9H-fluorén-9-yl)-2-(9-phényl-9H-fluorén-9-yloxy)propane-1,3 diamine (2.2)**



On dissout 0.191 g (2.12 mmol) d'aminoalcool de départ dans 9.0 mL d'acétonitrile fraîchement distillé sur du P₂O₅ (5% p/v). On ajoute 1.0 g (3.11 mmol) du groupement protecteur PhFIBr synthétisé. À la solution jaune ainsi obtenue, on ajoute 0.775 g (3.65 mmol) de K₃PO₄ qui fut préalablement asséché à l'étuve (135 °C) pendant 12 heures, suivi de 1.107 g (3.34 mmol) de Pb(NO₃)₂. On obtient à ce point, une solution blanche opaque et légèrement teintée jaune. On protège le ballon de la lumière et on abandonne la réaction pour une période de 31 heures à la température ambiante. On filtre sur poreux le mélange réactionnel et ce dernier est lavé avec de 55-75 mL d'acétonitrile spectrograde. On cristallise le solide résultant dans l'éthanol, ceci nous permettant d'obtenir 2.357 g d'un solide contenant encore des sels de plomb et de potassium. On extrait à répétition ce solide avec la technique employant le soxhlet et ce avec du chloroforme, ceci sur une période de 36 heures. On y retire 0.621 g (40%) d'un solide blanc teinté de beige, ce dernier étant le diaminoalcool triprotégé attendu **2.2**.

R_f (90 :10, Hex/EtOAc) 0.30
Révélateur chimique CAM

SMBR (FAB) (MH⁺) 811; C₆₀H₄₇N₂O
SMHR calculée 811.36884
SMHR obtenue 811.37160;

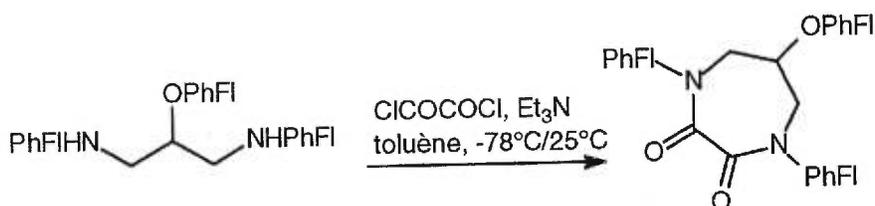
IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1384, 1450, 1637, 2929, 3061, 3452;

RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.05 (2H (2H_a), dd, *J*₁= 11.2 Hz, *J*₂= 2.8 Hz, PhFINH(CH_aH_b)CH-), 2.27 (2H (2H_b), dd, *J*₁= 11.2 Hz, *J*₂= 6.3 Hz, PhFINH(CH_aH_b)CH-), 2.91 (1H, m, (CH_aH_b)CH (OPhFI(CH_aH_b))), 6.78-7.45 (33H, m, Ar), 7.66-7.73 (4H, m, Ar);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 45.3, 72.6, 119.5, 119.7, 124.5, 124.6, 125.4, 125.5, 126.2, 126.8, 126.9, 127.6, 127.6, 127.8, 128.0, 128.7, 140.1, 140.4, 143.6, 144.3, 147.1, 149.4, 150.2;

Point de fusion 256.3°C.

9.7 1,4-Bis-(9-phényl-9H-fluorén-9-yl)-6-(9-phényl-9H-fluorén-9-yloxy)-[1,4]-diazépane-2,3-dione (2.3)



À la température de la pièce, on dissout 0.998 g (1.23 mmol) de diaminoalcool triprotégé **2.2** dans 100 mL de toluène anhydre. On ajoute 3 mL (21.5 mmol) de triéthylamine et on laisse sous agitation pour une heure. Après ce temps, on place le milieu réactionnel dans un bain à -40°C et on ajoute goutte-à-goutte 100 μL de chlorure d'oxalyle, et ce, sur une période de 10 minutes. On abandonne la réaction pour une période d'environ 26 heures la laissant donc par elle-même revenir à la température ambiante. Après ce temps, on ajoute au milieu, 25 mL d'éther diéthylique suivi par 10-12 mL d'une solution aqueuse 10% d'HCl. On extrait à 3 reprises la phase organique résultante avec 80 mL d'eau distillée et le traitement habituel est effectué. Après une purification par chromatographie flash (100% CHCl_3), on obtient 0.1 g du produit triprotégé cyclisé **2.3** pour un rendement de 9%.

R_f (100% CHCl_3) 0.82
Révéléateur chimique CAM

SMBR (FAB) (MH^+) 865; $\text{C}_{62}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_3$
 SMHR calculée 865.34302
 SMHR obtenue 865.34080;

IR_(NaCl)(cm^{-1}) 1413, 1451, 1475, 1490, 1688, 3057;

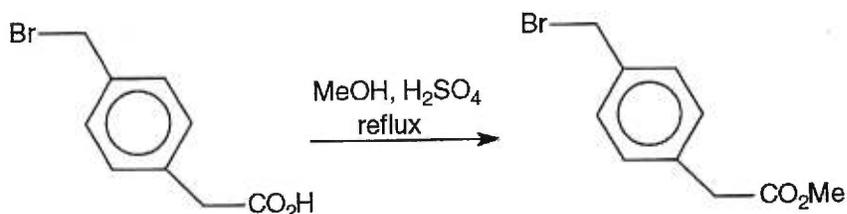
RMN-¹H (300 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 2.26-2.32 (1H, quint, 6 Hz, $\text{CH}(\text{OH})$), 3.31 (2H, d, 6 Hz, $\text{CH}_2\text{N-}$), 3.36 (2H, d, 6 Hz, $\text{CH}_2\text{N-}$), 6.36 (4H, dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 1$ Hz, Ar), 6.72 (4 H, td, $J_1 = 7.5$ Hz, $J_2 = 1$ Hz, Ar) 6.98-7.50 (31H, m, Ar);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 72.9, 88.2, 119.8, 120.6, 125.2, 126.7, 126.8, 127.7, 128.1, 128.3, 128.6, 128.8, 139.8, 142.0, 166.8;

Analyse élémentaire $\text{C}_{62}\text{H}_{44}\text{N}_2\text{O}_3$
 Calculée \rightarrow **C** (86.09), **H** (5.20), **N** (3.24)
 Trouvée \rightarrow **C** (85.84), **H** (5.59), **N** (3.35);

Point de fusion décompose à $259.0\text{-}260^{\circ}\text{C}$.

9.8 4-(bromométhylphényl)acétate de méthyle (2.7)



On dissout 5.0 g (21.82 mmol) de l'acide dans 50 mL de méthanol anhydre. Une fois l'acide totalement dissout, on ajoute 2 mL d' H_2SO_4 concentré. On instaure un reflux d'une durée de 2 heures. Une fois ce laps de temps écoulé, on ramène le mélange à la température de la pièce et on lave le milieu réactionnel avec une solution saturée de NaHCO_3 , pour ainsi atteindre un pH neutre. On extrait à trois reprises cette phase aqueuse avec trois portions de 20 mL d'EtOAc. Le traitement habituel effectué, on obtient l'ester bromé correspondant **2.7** sous forme d'une huile jaune pesant 4.572 g (78%).

R_f (5 :95 MeOH/ CHCl_3) 0.80
Révélateur chimique CAM

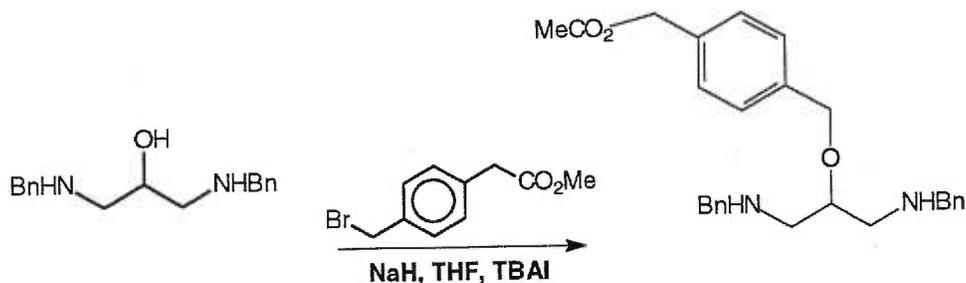
SMBR (FAB) (MH^+) 163; $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2^+$
SMHR calculée 163.07590
SMHR obtenue 163.07680;

IR_(NaCl)(cm^{-1}) 1436/1515/1616, 1739, 2929/2952;

RMN-¹H (300 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 3.18 (3H, s, CO_2Me), 3.43 (2H, s, CH_2Br), 4.26 (2H, s, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$), 7.15 (4H, m, Ar);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 40.4, 57.6, 73.9, 127.6, 129.1, 133.3, 137.1, 171.4.

9.9 (4-[2-benzylamino-1-(benzylamino-méthyl)-éthoxyméthyl]-phényl)acétate de méthyle(4.1)



On dilue 2.0 g (7.38 mmol) de l'aminoalcool *N,N'*diprotégé **3.7** dans 45 mL de THF anhydre. On place le milieu réactionnel dans un bain de glace à 0°C et ensuite on additionne par portions, 0.25 g (10.42 mmol) de NaH (60% dans l'huile minérale). On ajoute en dernier lieu 0.06 g (0.16 mmol) de catalyseur, le TBAI. La solution résultante est laissée sous agitation à la température ambiante pour une heure. Ce laps de temps écoulé, on additionne 2.0 g (8.23 mmol) de l'ester bromé **2.7** pour ensuite abandonner pour 6 heures, le mélange résultant. Après cette période, on arrête la réaction en ajoutant une solution saturée de NH₄Cl, et ce, jusqu'à l'obtention d'un pH de 7. On extrait à trois reprises la phase aqueuse résultante avec trois portions d'EtOAc. Une fois le traitement habituel effectué, on obtient une gomme qui devra être purifier par chromatographie flash (80:20 Hexanes/EtOAc). On obtiendra alors 1.13 g de l'éther **4.1** sous la forme d'un solide blanc crémeux (35 %).

R_f (10 :90 MeOH/CHCl₃) 0.50
Révélateur chimique ninhydrine

SMBR (FAB) (MH⁺) 433; C₂₇H₃₃N₂O₃
SMHR calculée 433.24911
SMHR obtenue 433.25000;

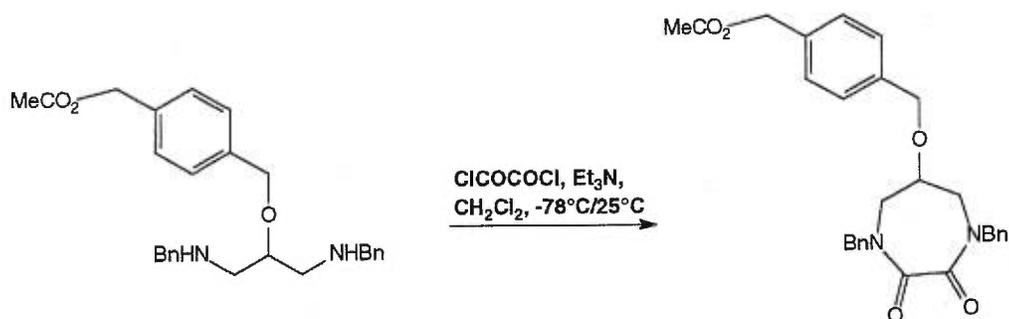
IR_(NaCl)(cm⁻¹) 751, 1098, 1196, 1451, 1631, 2926, 3357;

RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.52-2.62 (1H, dd, *J*₁=7.2 Hz, *J*₂=11.9 Hz, CH(OH)CH₂NH), 2.65-2.72 (1H, dd, *J*₁=4.2 Hz, *J*₂=12.0 Hz, CH(OH)CH₂NH), 3.35-3.45 (1H, m, CH(OH)CH₂NH), 3.39 (3H, s, CO₂Me), 3.49-3.58 (1H, dd, *J*₁=3.6 Hz, *J*₂=3.0 Hz, CH(OH)CH₂NH), 3.69-3.78 (4H, m, NHCH₂Ph), 3.85-3.98 (1H, m, CH(OCH₂PhCH₂CO₂Me), 4.42 (1H, s, CH₂CO₂Me), 4.63, (2H, s, OCH₂PhCH₂CO₂Me), 7.10 (2H, d, *J*₁=7.3 Hz, Ar), 7.14 (2H, d, *J*₁=8.0 Hz, Ar), 7.20-7.39 (10H, m, PhCH₂);

Analyse élémentaire C₂₇H₃₂N₂O₃
 Calculée → **C** (74.97), **H** (7.46), **N** (6.48)
 Trouvée → **C** (73.12), **H** (7.25), **N** (6.06);

Point de fusion 102-105°C.

9.10 4-(1,4-dibenzyl-2,3-dioxo-[1,4]diazépan-6-yloxyméthyl)phénylacétate de méthyle (1.1)



À la température de la pièce et sous atmosphère inerte, on dissout 0.51 g (1.18 mmol) de l'éther **4.1** dans 450 mL de dichlorométhane. On ajoute, à l'aide d'une microsiringue 0.35 mL (2.51 mmol) de triéthylamine fraîchement distillée. Une fois que la base est ajoutée, on place le milieu réactionnel dans un bain à -78°C . Sur une période de 45 min, on ajoute goutte-à-goutte 0.70 mL (6.8 mmol) de chlorure d'oxalyle. L'addition une fois terminée, on attend une heure avant de retirer le bain dont la température est alors de -50°C . Une fois que le bain est enlevé, on laisse la réaction sous agitation pour une période de 24 heures. On ajoute 50 mL d'une solution aqueuse de HCl 10% et on extrait à trois reprises la phase aqueuse résultante avec 100 mL de CH_2Cl_2 . On assèche avec le sulfate de sodium et on obtient après l'évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, une gomme ocre qui sera ultérieurement purifiée par chromatographie flash (100% CH_2Cl_2). Ainsi donc, on recueille 0.178 g du produit *N,N'*-dibenzylé cyclisé **1.1**, et ce, sous la forme d'une gomme jaune pâle (30%).

R_f (100% CH_2Cl_2) 0.35

Révélateur chimique ninhydrine

SMBR (FAB) (MH^+) 487; $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_5$

IR_(NaCl)(cm^{-1}); 732, 912, 1452, 1472, 1647, 1690, 1764, 2928, 3030, 3503;

RMN-¹H (300 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 3.37 (3H, s, CO_2Me), 3.36-3.45 (3H, m, $\text{CH}(\text{OCH}_2\text{PhCH}_2\text{CO}_2\text{Me})\text{CH}_2\text{NH}$), 3.66-3.72 (3H, m, $\text{CH}(\text{OCH}_2\text{PhCH}_2\text{CO}_2\text{Me})\text{CH}_2\text{NH}$), 4.43 (2H, s, $\text{CH}(\text{OCH}_2\text{PhCH}_2\text{CO}_2\text{Me})$), 4.57-4.71 (4H, m, NHCH_2Ph), 4.76-4.84 (1H, m, $\text{CH}(\text{OCH}_2\text{PhCH}_2\text{CO}_2\text{Me})$), 7.04 (2H, d, $J_7=8$ Hz, Ar), 7.12 (2H, d, $J_7=8.0$ Hz, Ar), 7.22-7.35 (10H, m, PhCH_2);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl_3); δ (ppm), 40.2, 46.8, 47.1, 50.7, 53.1, 58.1, 74.2, 75.8, 126.3, 127.9, 128.1, 128.3, 128.5, 128.8, 128.9, 129.0, 133.6, 134.5, 135.7, 137.1, 153.2, 156.3, 172.6;

Analyse élémentaire $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$

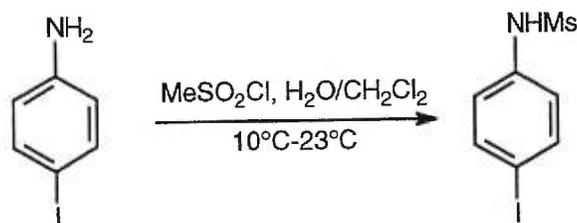
Calculée → **C** (71.59), **H** (6.21), **N** (5.76)

Trouvée → **C** (71.53), **H** (5.96), **N** (5.42);

Chapitre 10

Synthèse des intermédiaires menant au
régioisomère *ortho* du sotalol® 6.13

10.1 4-Iodométhanesulfonanilide (6.9)



On dissout 25.0 g (114.1 mmol) de 4-iodoaniline dans 20 mL de CH_2Cl_2 . Simultanément, on y ajoute 120 mL d'eau distillée. Pour terminer, on additionne 89.0 mL (1.13 mol) de chlorure de méthanesulfonyle. On applique au mélange réactionnel une forte agitation et abandonne la réaction pour une période de 24 heures à la température de la pièce. Une fois ce temps écoulé, on met fin à la réaction en ajoutant 200 à 300 mL de solution aqueuse basique saturée de NaHCO_3 à la réaction pour ainsi ajuster le pH du milieu à 7. Trois extractions avec 100 mL de dichlorométhane frais seront ensuite effectuées et une fois ces phases organiques réunies, le traitement habituel constituera les dernières étapes avant l'obtention du produit désiré. Ceci nous permet d'obtenir un précipité gommeux teinté de mauve. Ce dernier sera lavé avec environ 300 mL de MeOH froid et le précipité blanc résultant est filtré sur poreux. En évaporant la solution mère mauve obtenue lors des lavages précédents, on obtient un précipité de couleur rose pesant 2.71 g (pour un rendement de 6%) et correspondant au produit diprotégé. Le produit blanc quant à lui fut repurifié par chromatographie flash en mouillant la colonne de silice avec du chloroforme pur et en utilisant un mélange de solvants composé de 5% de méthanol et de 95% de CHCl_3 . On récupère ainsi 12.47 g de 4-iodométhanesulfoanilide **6.9** sous forme d'un solide blanc beige, et ce, pour un rendement de 41.9%.

R_f (60 :40, Hex/EtOAc) 0.59
 Révélateur chimique : ninhydrine

SMBR (FAB) (MH^+) 297; $\text{C}_7\text{H}_9\text{NISO}_2$
 SMHR calculée 297.93988
 SMHR obtenue 297.93920;

$\text{IR}_{(\text{NaCl})}(\text{cm}^{-1})$ 1149, 1320, 1446, 1487, 2933, 3014, 3300;

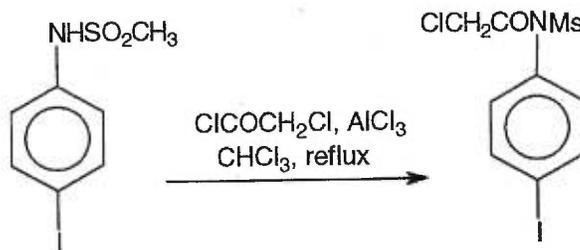
$\text{RMN-}^1\text{H}$ (300 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 3.04 (3H, s, MeSO_2), 6.84 (1H, se, NH), 7.00 (2H, d, 8.0 Hz, Ar), 7.67 (2H, d, 8.0 Hz, Ar);

$\text{RMN-}^{13}\text{C}$ (75.4 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 42.1, 43.1, 97.2, 131.4, 133.7, 139.6, 166.6;

Analyse élémentaire $\text{C}_7\text{H}_9\text{NIO}_2\text{S}$
 Calculée \rightarrow C (28.30), H (2.71), N (4.71) S (10.79)
 Trouvée \rightarrow C (28.45), H (2.63), N (4.71) S (10.98);

Point de fusion 129.2°C.

10.2 N-Chloroacétyl-N-(4-iodo-phényl)-méthanesulfonanilide (6.14)



On débute par la formation du complexe agent acylant-catalyseur à la température ambiante, en ajoutant 6.84 g (51.3 mmol) de chlorure d'aluminium à 4.05 mL (50.8 mmol) de chlorure de l'acide chloroacétique. On laisse sous azote en appliquant une forte agitation au milieu, et ce, pour 30 minutes. On ajoute ensuite 14.78 g (49.8 mmol) de 4-iodométhanesulfoanilide **6.9** et on laisse sous agitation pendant une heure à la température de la pièce. Une fois cette période de temps passée, on porte à reflux le mélange pour une période de 48 heures. Par la suite, une fois la solution résultante refroidie, on ajoute de la glace pour précipiter les sels d'hydroxydes d'aluminium ($\text{Al}(\text{OH})_3$). On poursuit en effectuant deux extractions en utilisant deux portions fraîches de 250 mL de dichlorométhane. Le traitement habituel étant effectué sur ces phases organiques réunies, on purifie le solide jaune obtenu par chromatographie flash (gradient de concentration de 90/10 \rightarrow 60/40 hex :EtOAc). On récupère ainsi 11.74 g de N-Chloroacétyl-N-(4-iodo-phényl)-méthanesulfonanilide **6.14** pour un rendement de 63%.

R_f (60 :40, Hex/EtOAc) 0.24

Révélateur chimique : ninhydrine

SMBR (FAB) (MH^+) 373; $\text{C}_9\text{H}_9\text{NISO}_3\text{Cl}$

SMHR calculée 373.91147

SMHR obtenue 373.91040;

$\text{IR}_{(\text{NaCl})}(\text{cm}^{-1})$ 1155, 1254, 1351, 1480, 1720, 2932, 3012;

RMN- ^1H (300 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 3.44 (3H, s, MeSO_2), 3.86 (2H, s, $\text{CO-CH}_2\text{Cl}$), 7.16 (2H, d, 9 Hz, Ar), 7.77 (2H, d, 9 Hz, Ar);

RMN- ^{13}C (75.4 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 42.1, 43.1, 97.2, 131.4, 133.7, 139.6, 166.6;

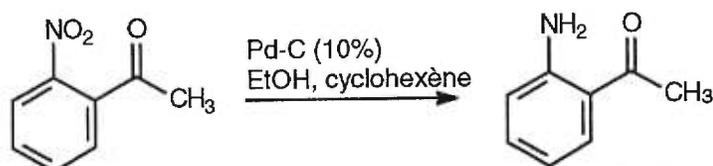
Analyse élémentaire $\text{C}_9\text{H}_9\text{NISO}_3\text{Cl}$

Calculée \rightarrow C (28.96), H (2.43), N (3.76) S (8.57)

Trouvée \rightarrow C (28.81), H (2.39), N (3.92) S (9.41);

Point de fusion 160.8°C.

10.3 2-Aminoacétophénone (7.2)



Selon la méthode de Entwistle, on dissout 1.051 g (6.36 mmol) d'*ortho*-nitroacétophénone dans 82 mL d'éthanol absolu. On y ajoute simultanément 5 mL de cyclohexène 99% et en dernier lieu 3.235 g (3,04 mmol) du catalyseur de palladium, Pd-C 10%. Le mélange réactionnel est placé sous agitation et un reflux est installé pour une période d'une heure. À la fin de cette heure, on laisse la solution revenir à la température ambiante et on filtre sur Célite. On lave trois fois avec de généreuses portions d'éthanol frais (3X150 mL) et on effectue le traitement habituel. On obtient alors la 2-Aminoacétophénone **7.2** (0,601 g, 70 %) sous la forme d'une huile jaune légèrement teintée en vert et ayant une forte odeur. La réaction étant complète, aucune purification ne sera nécessaire.

R_f (100% CHCl₃) 0.64
Révélateur chimique vanilline

SMBR (FAB) (MH⁺) 136; C₈H₉NO
 SMHR calculée 136.068414
 SMHR obtenue 136.068775;

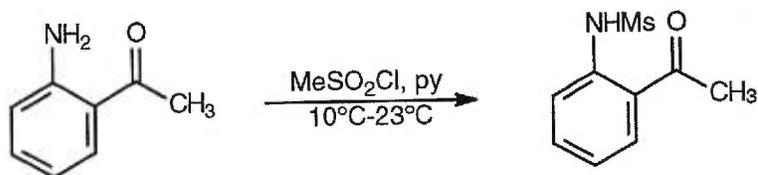
IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1615, 1644, 2968, 3000, 3052, 3344, 3463;

RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.59 (3H, s, MeCO), 6.28 (2H, se, NH₂), 6.66 (2H, m, Ar), 7.28 (1H, m, Ar), 7.73 (1H, d, 7 Hz, Ar);

RMN-¹³C (100.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 27.6, 115.4, 117.1, 117.8, 132.2, 134.3, 150.5, 200.7;

Analyse élémentaire C₈H₉ON
 Calculée → C (71.09), H (6.71), N (10.36)
 Trouvée → C (71.09), H (7.07), N (10.46).

10.4 N-(2-acétylphényl)-méthanesulfonamide (7.3)



Dans 12 mL de pyridine anhydre, on ajoute à la température ambiante, 2.176 g (16.1 mmol) de 2-aminoacétophénone **7.2**. On place le milieu réactionnel à 10°C (bain eau/glace) et on maintient cette température pour la durée de l'addition de 1.2 mL (15.19 mmol) de chlorure de sulfonyl (qualité réactif, non distillé). Sous une agitation, on laisse le milieu réactionnel revenir à la température ambiante. La réaction sera abandonnée le temps d'une nuit. Après ce temps de réaction, on ajoute au mélange environ 300 mL de glace pour aider la formation du précipité qui pourra ainsi se dissocier de la pyridine. On filtre sur poreux et on lave avec EtOH jusqu'à ce que le précipité couleur peau ne sente presque plus la pyridine. On obtient ainsi 2.936 g de l'aminoacétophénone mésylée **7.3** qui n'a pas besoin d'être purifié. En conséquence, le rendement obtenu se chiffre à 86%.

R_f (80/20 Hex/EtOAc) 0.42
Révélateur chimique ninhydrine

SMBR (FAB) (MH⁺) 214; C₉H₁₂NSO₃
SMHR calculée 214.05379
SMHR obtenue 214.05320;

IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1216, 1654, 3020, 3460;

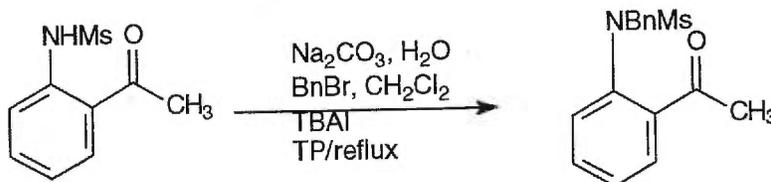
RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.69 (3H, s, CH₃CO), 3.08 (3H, s, CH₃SO₂), 7.17 (1H, t, 7.7 Hz, Ar), 7.76 (1H, t, 9 Hz, Ar), 7.94 (1H, d, 9 Hz, Ar) 11.37 (1H, se, NH);

RMN-¹³C (100.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 28.1, 40.1, 117.1, 121.5, 122.4, 132.3, 135.3, 140.3, 202.5;

Analyse élémentaire C₉H₁₁NSO₃
 Calculée → **C** (50.69), **H** (5.20), **N** (6.57)
 Trouvée → **C** (50.75), **H** (5.06), **N** (6.54);

Point de fusion 105.4°C.

10.5 N-benzyl-(2-acétylphényl)-N-méthanesulfonamide (7.4)



On prépare une solution aqueuse de carbonate de sodium en mettant dans 18 mL d'eau distillée, 2.33 g (21.98 mmol) de Na_2CO_3 . À la température de la pièce, on ajoute cette dernière solution 2.53 g (11.86 mmol) de l'aminoacétophénone mésylée **7.3** dissout dans 21 mL de chlorure de méthylène (CH_2Cl_2). À ce mélange, on ajoute 1.352 g (3.66 mmol) de catalyseur de transfert de phase, l'iodure de tétrabutylammonium (TBAI). On applique au milieu réactionnel une forte agitation pendant une période minimale d'une heure. Après une heure à la température ambiante, on additionne 1.5 mL (12.61 mmol) de bromure de benzyle (BnBr) via seringue et on place le tout à reflux pendant 12 heures. Une fois le mélange refroidi, on extrait deux fois ce dernier avec 2 X 150 mL de CH_2Cl_2 . On réunit les phases organiques et on les lave avec 2 X 100 mL de saumure. Après le traitement habituel, on chromatographie ce solide (100% CH_2Cl_2) en le dissolvant dans quelques mL de CH_2Cl_2 , ceci dans le but de se débarrasser du catalyseur qui ne se solubilise pas totalement dans les phases aqueuses des diverses extractions précédemment effectuées. On obtient ainsi 3.632 g de l'aminoacétophénone diprotégée **7.4** sous forme d'un solide collant orange brûlé, ceci se traduisant par un rendement de 100%.

R_f (100% CH_2Cl_2) 0.26

Révélateur chimique vanilline

SMBR (FAB) (MH^+) 304; ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NSO}_3$)

SMHR calculée 304.10074

SMHR obtenue 304.10150;

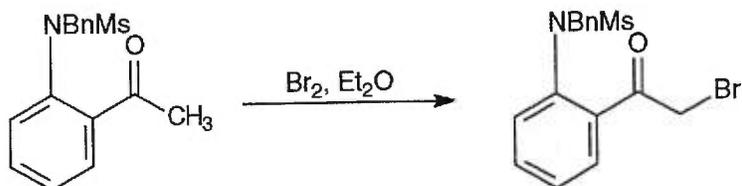
$\text{IR}_{(\text{NaCl})}(\text{cm}^{-1})$ 1150, 1336, 1446, 1484, 1596, 1691, 3029;

$\text{RMN-}^1\text{H}$ (300 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 2.50 (3H, s, CH_3CO), 2.97 (3H, s, CH_3SO_2), 4.80 (2H, se, CH_2Ph), 7.15 (1H, m, Ar), 7.28 (5H, m, PhCH_2), 7.40 (2H, m, Ar), 7.65 (1H, m, Ar);

$\text{RMN-}^{13}\text{C}$ (75.4 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 29.7, 39.7, 55.6, 128.1, 128.4, 128.5, 129.5, 129.7, 131.5, 131.9, 135.7, 136.4, 139.4, 200.2;

Analyse élémentaire $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NSO}_3$
 Calculée \rightarrow C (63.35), H (5.65), N (4.62)
 Trouvée \rightarrow C (63.07), H (5.96), N (4.59).

10.6 N-benzyl-(2-bromoacétylphényl)-N-méthanesulfonamide (7.5)



On dissout 6.23 g (20.56mmol) de N-benzyl-(2-acétylphényl)-N-méthanesulfonamide **7.4** dans 35 mL d'éther diéthylique anhydre. Après avoir placé le milieu à 0°C, on additionne goutte-à-goutte une solution diluée de brome dans l'éther (0.9 mL, 17.57 mmol de Br₂ dans 25 mL d'Et₂O), et ce, sur une période de 30 minutes. Toujours sous une agitation constante, on laisse le milieu revenir à la température ambiante et on l'abandonne pour une période de 20 heures. Une fois que le mélange est rendu biphasique, on évapore le solvant pour ainsi obtenir un solide orange collant. Ce dernier est alors lavé avec 150 mL d'éthanol froid. Pour se débarrasser du restant de brome, on cristallise ce dernier dans un minimum d'éthanol. On obtient alors 4.7 g (60%) de la bromocétone **7.5** sous la forme d'un solide jaune pâle. Il est à noter qu'une quantité de produit ayant subi une dibromation est observée et isolée. Les assignations ¹H-RMN sont fournies plus bas.

R_f (60 :40 Hexanes/EtOAc) 0.48
Révélateur chimique CAM

SMBR (FAB) (MH⁺) 382; C₁₆H₁₇NSO₃Br
SMHR calculée 382.01126
SMHR obtenue 382.01260;

IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1340 et 1152, 1446/1485/1574/1596, 1698, 2934, 3027;

RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.97 (3H, s, MeSO₂), 4.35 (2H, s, COCH₂Br), 4.84 (2H, se, CH₂Ph), 7.26-7.33 (7H, m, Ar), 7.41-7.53 (2H, m, Ar), 7.70 (1H, d, 9.0 Hz, Ar);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 34.8, 39.2, 55.6, 128.4, 128.6, 128.7, 129.6, 130.0, 130.7, 132.8, 135.2, 136.9, 137.1, 193.0;

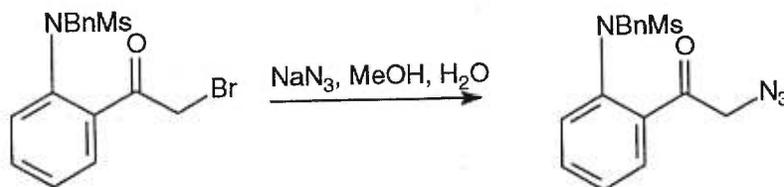
Analyse élémentaire C₁₆H₁₆NSO₃Br
 Calculée → **C** (50.27), **H** (4.22), **N** (3.66) **S** (8.39)
 Trouvée → **C** (47.51), **H** (3.81), **N** (3.45) **S** (8.15);

Point de fusion 89.2°C;

Le spectre RMN-¹H du produit ayant subi une dibromation fut analysé. En voici le résultat :

RMN-¹H_{dibromé} (400 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.97 (3H, s, MeSO₂), 4.85 (2H, s, CH₂Ph), 6.57 (1H, s, COCHBr₂), 7.27-7.36 (5H, m, Ar), 7.37-7.48 (2H, m, Ar), 7.56 (1H, t, J₇= 8.0 Hz, Ar), 7.80 (1H, d, J₇= 8.0 Hz, Ar).

10.7 N-benzyl-(2-azidoacétyl-phényl)-N-méthanesulfonamide (7.6)



On dissout 9.5 g (24.87 mmol) de la bromocétone **7.5** dans 200 mL de méthanol. À cette solution, on ajoute successivement 200 mL d'eau et 25.35 g (389.9 mmol) d'azoture de sodium (NaN₃). La réaction est ainsi abandonnée pour une période de 18 heures. Après ce temps réactionnel, on dissout le précipité jaune formé avec 200 mL de CH₂Cl₂, on sépare les deux phases et finalement, on extrait la phase organique résultante avec 200 mL de saumure. Un fois le traitement habituel effectué, on obtient 8.44 g de l'azidocétone **7.6** celui-ci se présentant sous la forme d'un solide jaune assez foncé, ceci se traduisant par un rendement de 99%. Puisque la réaction est quantitative et que les extractions sont adéquates, aucune autre technique de purification est effectuée.

R_f (5 :95 MeOH/CHCl₃) 0.60
Révélateur chimique vanilline

SMBR (FAB) (MH⁺) 345; C₁₆H₁₇N₄O₃S
 SMHR calculée 345.10214
 SMHR obtenue 345.10320;

IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1150/1337, 1456/1488/1594, 1693, 2100/2180, 2483/2530, 2933, 3035, 3369;

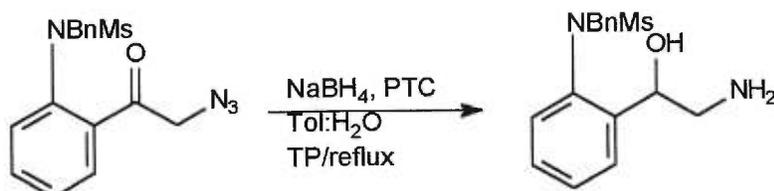
RMN-¹H (400 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.97 (3H, s, MeSO₂), 4.18 (2H, s, COCH₂N₃), 4.84 (2H, s, CH₂Ph), 7.20-7.32 (6H, m, Ar), 7.45 (1H, t, 7.1 Hz, Ar), 7.50-7.58 (2H, m, Ar);

RMN-¹³C(100.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 39.2, 56.4, 57.2, 128.4, 128.5, 128.6, 129.0, 129.5, 130.2, 132.8, 135.2, 137.0, 137.9, 196.0;

Analyse élémentaire C₁₆H₁₆N₄O₃S
 Calculée → **C** (55.80), **H** (4.69), **N** (16.28) **S** (9.29)
 Trouvée → **C** (55.66), **H** (4.66), **N** (15.50) **S** (9.43);

Point de fusion 87.6°C.

10.8 N-benzyl-[2-(2-amino-1-hydroxyéthyl)-phény]-N-méthanesulfonamide (7.7) ⁶⁶



On dissout 0.49 g (1.42 mmol) de l'azidocétone **7.6** dans 4.25 mL de toluène. On prépare ensuite une solution aqueuse de borohydrure de sodium en ajoutant 11.5 mL d'eau distillée à 0.68 g (17.98 mmol) de NaBH₄. Sur une période d'environ 5 minutes, on additionne cette dernière solution à la solution du substrat de départ, et ce, en prenant soin au préalable de placer celle-ci dans un bain de glace lors de l'addition de la solution d'hydrure. Une fois l'addition complétée, on installe le réfrigérant sur le ballon et on y fait circuler de l'eau bien froide. C'est seulement à partir de ce moment que l'on ajoute tranquillement la portion de 0.10 g (0,20 mmol) du catalyseur de transfert de phase (PTC), le bromure d'hexadécyltributylphosphonium. On note un important dégagement de chaleur et de gaz et c'est seulement après avoir attendu 10 minutes à la température ambiante que l'on peut amorcer le reflux pour une période de 18 à 24 heures. Une fois ce laps de temps écoulé, on laisse le mélange refroidir et dans un premier temps on sépare les phases organique et aqueuse. On traite la phase organique en la lavant avec une solution saturée de chlorure d'ammonium (NH₄Cl), ceci jusqu'à l'obtention d'un pH de 6. On extrait à trois reprises la phase aqueuse résultante de cette acidification avec trois portions fraîches de 75 mL d'acétate d'éthyle. Pour sa part, la phase aqueuse sera elle aussi, ramenée à pH 6 avec la solution de NH₄Cl saturée, et ensuite trois autres extractions de 75 mL avec EtOAc seront effectuées. On rassemble la totalité des phases organiques résultantes de ces extractions et on leur fait subir le traitement habituel. Une fois ce traitement terminé, on obtient 0.5 g d'une huile jaune orange brûlée ayant une forte odeur. Une chromatographie flash (5 à 10 % de méthanol dans le chloroforme) sera réalisée pour obtenir dès la première dizaine de fractions, 0.3 g (66%) de l'aminoalcool **7.7** sous forme d'une gomme collante dorée. Il est à noter que nous avons pris le mélange tel quel pour effectuer la prochaine étape, soit l'amination réductive de l'aminoalcool **7.7**.

R_f (5 :95 MeOH/CHCl₃) 0.55

Révélateur chimique : vanilline

SMBR (FAB) (MH⁺) 321; C₁₆H₂₁N₂SO₃

SMHR calculée 321.12729

SMHR obtenue 321.12830;

IR_(NaCl)(cm⁻¹) 1060, 1331/1450, 1453/1490, 2931, 3030, 3506;

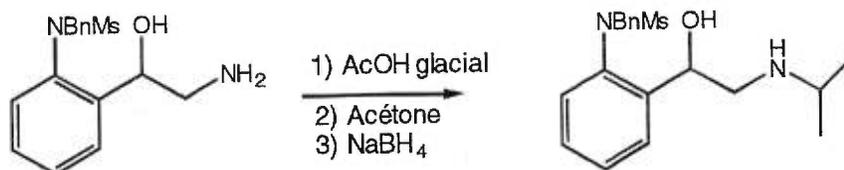
N.B. : Puisqu'il s'agit d'un mélange 3 :1 de deux molécules, une sous la forme d'un borate (avec chélation au niveau de l'amine) et l'autre de l'aminoalcool libre, par souci de compréhension, l'annotation $\frac{3}{4}$ sera appelée A et $\frac{1}{4}$, B.

RMN-¹H (400 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 2.07 (1H_A, dd, $J_1 = 12.7$ Hz, $J_2 = 3.5$ Hz, CH₂NH₂), 3.03 (3H_A, s, MeSO₂), 3.07 (3H_B, s, MeSO₂), 3.18 (1H_A, dd, $J_1 = 12.6$ Hz, $J_2 = 9.2$ Hz, CH₂NH₂), 3.31 (1H_B, dd, $J_1 = 12.5$ Hz, $J_2 = 8.7$ Hz, CH₂NH₂), 3.46 (1H_B, dd, $J_1 = 12.8$ Hz, $J_2 = 2.8$ Hz, CH₂NH₂), 4.33 (1H_B, d, 13.2 Hz, CH₂Ph), 4.41 (1H_A, d, 13.4 Hz, CH₂Ph), 4.79 (1H_B, dd, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 2.6$ Hz, CH(OH)CH₂NH₂), 4.98 (1H_B, dd, $J_1 = 9.1$ Hz, $J_2 = 3.4$ Hz, CH(OH)CH₂NH₂), 5.15 (1H_B, d, 13.0 Hz, CH₂Ph), 5.16 (1H_A, d, 13.4 Hz, CH₂Ph), 7.14-7.20 (2H, m, Ar), 7.29-7.46 (7H, m, Ar);

RMN-¹³C (100.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 37.4, 38.9, 56.0, 56.5, 127.2, 128.2, 128.4, 128.5, 128.6, 128.7, 129.5, 129.6, 135.2, 136.4;

Analyse élémentaire C₁₆H₂₀N₂SO₃
Calculée → **C** (59.98), **H** (6.29), **N** (8.74) **S** (10.01)
Trouvée → **C** (59.99), **H** (6.38), **N** (8.39) **S** (9.43).

10.9 N-benzyl-[2-(1-hydroxy-2-isopropylamino-éthyl)-phény]-N-méthanesulfonamide (7.8)

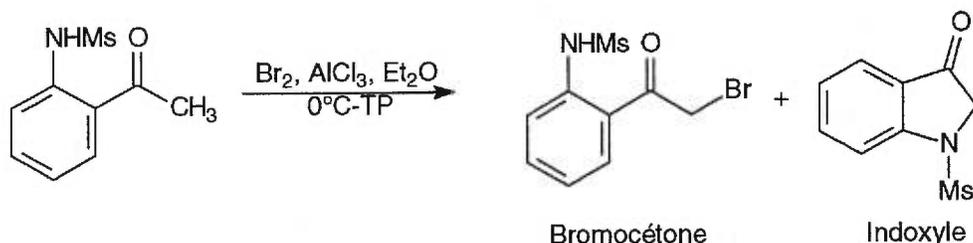


À la température ambiante on dissout 0.42 g (1.31 mmol) de l'aminoalcool **7.7** dans 4 mL d'acide acétique glacial. On y ajoute simultanément 7 mL (68.88 mmol) d'acétone spectro-grade. On place le mélange résultant sous atmosphère inerte et on le soumet à une forte agitation pour une heure et demi. Ce laps de temps écoulé, on place le ballon réactionnel dans un bain de glace on y ajoute par petites portions, 0.59 g (15.6 mmol) de NaBH_4 . À ce point, on observe une importante effervescence accompagnée d'un dégagement de chaleur notable. On ramène la solution à la température de la pièce et on l'abandonne pour une période de 2 heures. L'arrêt de la réaction débutera par le transfert de la solution du ballon à un béccher de 100 mL. On y ajoute 100 mL d'eau distillée et on neutralise la solution légèrement acide avec 15 mL de solution aqueuse NaOH 15%. Un fois que l'on atteint un pH de 6, on extrait trois fois la phase aqueuse résultante avec trois portions de 50 mL d'EtOAc. On réalise sur les nombreuses phases organiques réunies le traitement habituel. Ceci nous permet d'obtenir 0.410 g de gomme collante brute qu'il faudra purifier par chromatographie flash pour se débarrasser de la majorité des sels de bore. Cependant, le produit fut utilisé tel quel pour la réaction suivante, car même après avoir chromatographié le brut à deux reprises, le RMN- ^1H du composé N-isopropyle **7.8** démontrait toujours des impuretés difficiles à enlever *via* cette technique de purification.

R_f (10 :90 MeOH/ CHCl_3) 0.30

Révéléateur chimique : vanilline

10.10 N-(2-bromoacétylphényl)-N-méthanesulfonamide (7.9)



On dissout 1.601 g (7.55 mmol) de l'acétophénone mésylé de départ **7.3** dans 30 mL d'éther diéthylique anhydre. On amène la température du milieu réactionnel vers 0°C grâce à l'ajout d'un bain de glace pour ensuite ajouter 0.027 g (0.20 mmol) de catalyseur, le chlorure d'aluminium anhydre (AlCl₃). On place le mélange réactionnel sous une forte agitation pour une heure, ceci, toujours en maintenant la température du bain à 0°C. Finalement, on ajoute 0.36 mL (7.03 mmol) de brome à l'aide d'une seringue, et ce, sur une période d'environ 10 minutes. Une fois l'addition du brome terminé, on laisse la température revenir à 23°C et on abandonnera la solution pour une période d'environ pour 36 heures. Une fois la réaction terminée, on filtre sur poreux et on lave le précipité à trois reprises avec 100 mL d'éthanol froid. On obtient 1.44 g d'un solide blanc crémeux, ce dernier étant principalement composé de bromocétone **7.9** mais aussi du produit cyclisé de la réaction, l'indoxyle **7.10**. On purifiera ce dernier par chromatographie flash pour ainsi obtenir 1,01 g de la bromocétone **7.9**, ceci représentant un rendement après purification de 49 %. On obtient donc dans ces conditions 0.30 g pour un rendement en indoxyle de 20 %.

Caractérisation de la bromocétone 7.9

R_f (100% CH₂Cl₂) 0.39

Révélateur chimique ninhydrine

SMBR (FAB) (MH⁺) 293; C₉H₁₁NO₃SBr

RMN-¹H de **7.3** (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 3.11 (3H, s, MeSO₂), 4.48 (COCH₂Br), 7.20 (1H, t, 7.5 Hz, Ar), 7.63 (1H, t, 7.5 Hz, Ar), 7.81 (1H,d, 9.0 Hz, Ar), 7.81 (1H,d, 6.0 Hz, Ar), 10.90 (1H, se, NH);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 34.3, 39.4, 55.5, 128.3, 128.6, 128.7(2C), 129.6(2C), 129.9, 131.0, 131.0, 132.7, 135.2, 137.0, 173.1;

Analyse élémentaire C₉H₁₀NSO₃Br

Calculée → C (37.12), H (3.46), N (4.81) S (10.99)

Trouvée → C (37.20), H (3.40), N (4.66) S (11.12).

Pour le composé indoxyle 7.10 :

R_f (100% CH₂Cl₂) 0.16

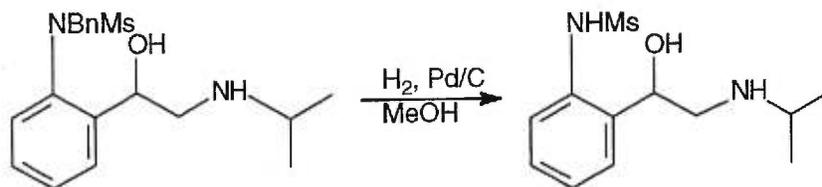
IR_(NaCl) (cm⁻¹) 1153, 1349, 1462, 1609, 1702, 2941, 3002/3019;

RMN-¹H (300 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 3.03 (3H, s, MeSO₂), 4.26 (2H, s, COCH₂N-SO₂Me), 7.23-7.28 (1H, m, Ar) 7.69 (1H, t, 7.5 Hz, Ar), 7.80 (1H, t, 7.5Hz, Ar);

RMN-¹³C (75.4 MHz; CDCl₃); δ (ppm) 36.8, 56.3, 114.9, 124.1, 124.7, 124.8, 137.5, 153.0, 194.5;

Point de fusion 142.0°C.

10.11 N-[2-(1-hydroxy-2-isopropylamino-éthyl)-phény]-N-méthanesulfonamide (6.13)



On dissout 0.1 g (0.276 mmol) de l'aminoalcool *N*-benzylé **7.8** dans 3 mL de méthanol. On additionne 0.08 g de palladium sur charbon (10%) au mélange mis sous atmosphère inerte. Une fois le ballon réactionnel rempli d'azote, on installe un atmosphère d'hydrogène à l'aide d'un ballon muni d'un embout spécifique prévu à cet effet. On abandonne ainsi la réaction pour 48 heures. Ce laps de temps écoulé, on filtre sur Célite® le milieu réactionnel et on le lave à plusieurs reprises avec du méthanol. Le traitement habituel effectué, nous isolons l'aminoalcool débenzylé **6.13** sous la forme d'un solide blanc crémeux pesant 40 mg (53%).

R_f (80 :20 $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$) 0.20
 Révélateur chimique : vanilline

SMBR (FAB) (MH^+) 273; $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{SO}_3$
 SMHR calculée 273.12729
 SMHR obtenue 273.12650

$\text{IR}_{(\text{NaCl})}(\text{cm}^{-1})$ 737, 1153, 1265, 1329, 1393, 2934, 2982, 3055, 3335;

$\text{RMN-}^1\text{H}$ (400 MHz; D_2O); δ (ppm) 1.32 (6H, d, 7.1 Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 3.17 (3H, s, MeSO_2), 3.22-3.34 (2H, m, CH_2NH) 3.50 (1H, m, 6.4 Hz, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$) 5.52 (1H, dd, $J_1=8.6$ Hz, $J_2=3.4$ Hz, $\text{CH}(\text{OH})$), 7.38 (1H, m, Ar), 7.50 (2H, m, Ar), 7.62 (1H, m, Ar);

$\text{RMN-}^{13}\text{C}$ (75.4 MHz; CDCl_3); δ (ppm) 18.5, 18.9, 39.6, 49.8, 51.4, 65.6, 127.7, 128.0, 128.8, 130.4, 134.3, 138.3;

Analyse élémentaire $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{SO}_3$
 Calculée \rightarrow C (52.92), H (7.41), N (10.29) S (11.75)
 Trouvée \rightarrow C (53.12), H (6.86), N (10.10) S (11.33).

Références

- ¹ HORWITZ, ALAN *Pour la science*, édition française de Sc. American, Dossier Hors-série, avril **1998**, 54, 72.
- ² ALBERTS, BRAY, LEWIS, RAFF, ROBERTS, WATSON *Molecular Biology of the Cells*, 3^e éd., Garland Pub., N.Y., **1994**, 503, 504, 1150, 1164. ^{2b} BEVILACQUA, M.P., NELSON, R.M. *J. Clin. Invest.*, février **1991**, 379. ^{2c} LASKY, L.A. *Science*, 258, novembre **1992**, 964.
- ³ BOSCHELLI, D.H. *Drugs of the Future*, 20(8), **1995**, 805-816. ^{3b} DASGUPTA, F. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 3, **1994**, 709. ^{3c} SEEKAMP, P.A. WARD *Amer. J. Patho.*, 44, **1993**, 592. ^{3d} PAULSON, J. *Amer. J. Physio.*, (Heart Circ. Physiol.), **1994**, 267, H-2124. ^{3e} FISCHER, A., VEBER, F. *Lancet*, 2, **1986**, 1058. ^{3f} LAURI, D., MARTIN-PADURA, I. *J. of the Natl Cancer Inst.*, 83(18), **1991**, 1321.
- ⁴ COLLINS, T. *Scientific American, Science and Medicine*, nov-déc **1995**, 28.
- ⁵ BORMAN. S. *Chem. Eng. News*, **1992**, 25.
- ⁶ CHARRON, S., mémoire de maîtrise, U de M, juin **1998**, 21, 23, 25, 27, 28.
- ⁷ MULLIGAN, M.S. *J. Exp. Med.*, 327, **1992**, 1789-1792. ^{7b} LEFER, A.M., BUERKE, M. *J. Clin. Invest.*, 93, **1993**, 1140-1148. ^{7c} Pour la préparation d'une grande quantité de sLeX : WONG, C.H., PAULSON, J.C. *J. Am. Chem. Soc.*, 114, **1992**, 9283. ^{7d} WONG, C.H., LOOK, G.C. *Tetrahedron Lett.*, 33, **1992**, 4253. ^{7e} KIMURA, T., TAKAYAMA, S., WONG, C.H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 35, **1996**, 2348.
- ⁸ KAMEYAMA, A., ISHIDA, H., KISO, M., HASEGAWA, A. *Carbohydr. Res.*, 209, **1991**, c1. ^{8b} WONG, C-H *J. Am. Chem. Soc.*, 114, **1992**, 9283. ^{8c} NICOLAOU, K.C., HUMMEL, C.W., BOCKOVICH, N. J., WONG, C.H. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1991**, 870-872. ^{8d} DANISHEFSKY, S.J., GERVAY, J., PETERSON, J.M., McDONALD, F.E., KOSEKI, K., GRIFFITH, D.A., ORIYAMA, T., MARSDEN, S.P. *J. Am. Chem. Soc.*, 117, **1995**, 1940. YAN, L., KAHNE, D. *J. Am. Chem. Soc.*, 114, **1996**, 9239.
- ⁹ SIMANEK, E.E., MCGARVEY, G.J., JABLONOWSKI, J.A., WONG, C.H. *Chem. Rev.*, 98, **1998**, 833.
- ¹⁰ BERTOZZI, CAROLYN R. *Chemistry and Biology*, 2, **1995**, 703-708. ^{10b} GRAVES, B.J., BURNS, D.K. *Nature*, 367, **1994**, 532.
- ¹¹ OHMOTO, H., NAKAMURA, K., INOUE, T., KONDO, N., INOUE, Y., YOSHINO, K., KONDO, H., ISHIDA, H., KISO, HASEGAWA, A. *J. Med. Chem.*, 39, **1996**, 1339.
- ¹² MANNING, D.D., BERTOZZI, C.R., ROSEN, S.D., KIESSLING, L.L. *Tetrahedron Lett.*, 37, **1996**, 1953.
- ¹³ THOMA, G., SCHWARZENBACH, F., DUTHALE, R.O. *J. Org. Chem.*, 61, **1996**, 514.
- ¹⁴ BAMFORD, M.J., BIRD, M., GORE, P.M., HOLMES, D.S., PRIEST, R., PRODGER, J.C., SAEZ, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 6, **1996**, 239.
- ¹⁵ UCHIYAMA, T., VASSILEV, V.P., KAJIMOTO, T., WONG, W., HUANG, H., LIN, C.C., WONG, C.H. *J. Am. Chem. Soc.*, 117, **1995**, 5395.
- ¹⁶ HUANG, H., WONG, C.H. *J. Org. Chem.*, 60, **1995**, 3100
- ¹⁷ BIRKBECK, A.A., LEY, S.V., PRODGER, J.C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 5, **1995**, 2637.
- ¹⁸ TOEPFER, A.G., KRETSCHMAR, G., BARTNIK, E. *Tetrahedron Lett.*, 36, **1995**, 2637.

- ¹⁹ALLANSON, N.M., DAVIDSON, A.H., FLOYD, C.D., MARTIN, F.M. *Tetrahedron ; Assymetry*, 5, **1994**, 2061.
- ²⁰DAKANY, G., WRIGHT, K., WARD, P., TOTH, I. *J. Carbohydr. Chem.*, 15, **1996**, 383.
- ²¹LIU, A., DILLON, K., CAMPBELL, R.M., COX, D.C., HURYRN, D.M. *Tetrahedron Lett.*, 37, **1996**, 3785.
- ²²TOEPFER, A.G., KRETSCHMAR, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 36, **1995**, 9161.
- ²³KRETSCHMAR, G., TOEPFER, A.G., HULS, C., KRAUSE, M. *Tetrahedron*, 53, **1997**, 2485.
- ²⁴WU, S.H., SHIMAZAKI, M., LIN, C.C., QIAO, L., MOREE, W.J., WEITZ-SCHMIDT, G., WONG, C.H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 35, **1996**, 88.
- ²⁵MARRON, T.G., WOLTERING, T.J., WEITZ-SCHMIDT, G., WONG, C.H. *Tetrahedron Lett.* 37, **1996**, 9037. ^{25b}SPRENGARD, U., KUNZ, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 35, **1996**, 321. ^{25c}TOEPFER, A.G., KRETSCHMAR, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 7, **1997**, 1311. ^{25d}TOEPFER, A.G., KRETSCHMAR, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 7 **1997**, 1317. ^{25e}LIN, C.C., WONG, C.H. *J. Am. Chem. Soc.*, 118, **1996**, 6826.
- ²⁶CAPPI, M.W., MOREE, W.J., MARRON, T.G., LIN, C.C., WONG, C.H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 35, **1996**, 2346.
- ²⁷DUPRE, B., BUI, H., SCOTT, I.L., MARKET, R.V., KELLER, K.M., BECK, P.J., KOGAN, T.P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 6, **1996**, 569.
- ²⁸HAYASHI, M., TANAKA, M., ITOH, MIYAUCHI, H. *J. Org. Chem.*, 61, **1996**, 2938.
- ²⁹SPENGARD, U., KUNZ, H., HULS, C., SCHMIDT, W., SIEFFGE, D., KRETSCHMAR, G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 6, **1996**, 509.
- ³⁰KRETSCHMAR, G., SPRENGARD, U., KUNZ, H., BARTNIK, E., SCHMIDT, W., TOEPFER, A., HORSCH, B., KRAUSE, M., SEIFFGE, D. *Tetrahedron*, 51, **1995**, 13015.
- ³¹LIN, C.H., SHIMAZAKI, M., WONG, C.H., KOKETSU, M., JUNEJA, L.R., KIM, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 3, **1995**, 1625.
- ³²IKEDA, T., KAJIMOTO, T., KONDO, H., WONG, C.H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 4, **1997**, 22485.
- ³³ROY, R., PARK, W.K.C., SRIVASTAVA, O.P., FOXALL, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 6, **1996**, 1399.
- ³⁴MANNING, D.D., HUI, C., BECK, P., KIESSLING, L.L. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, **1997**, 3161.
- ³⁵SMITH, AMOS, B., SPRENGELER, P.A. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, **1997**, 10247.
- ³⁶DIXON, R.A.F., DUPRE, B, KOGAN, T.P. *J. Med. Chem.*, 41, **1998**, 1099.
- ³⁷WEIR, M. P., COOKE, R. M. *Biochemistry*, 33, **1994**, 10591.
- ³⁸HENSLEY, P., JOHANSON, K. *J. Biol. Chem.*, 269, **1994**, 23949.
- ³⁹SHAH, B. H., POPPE, L. *J. Am. Chem. Soc.*, 119, **1997**, 1727.
- ⁴⁰WONG, C-H, UCHIYAMA, T. *Bioorg. & Med. Chem.*, 4, **1996**, 1149.
- ⁴¹.KOGAN, T., SCOTT, D. *J. Med. Chem.*, 38, **1995**, 4976.

- ⁴²KOGAN, T., BECK, P.J. *J. Biol. Chem.*, 270, **1995**, 14047.
- ⁴³HENRICKSON, W. A., WEIS, W. I. *Nature*, 360, **1992**, 127.
- ⁴⁴Le travail effectué sur le modèle sélectine E-sLe^X fut réalisée par Nathalie Goudreau (Bio Méga). Les structures d'inhibiteur 1.1 et 1.2 quant à elles, furent modélisées par Marc de Vleeschauwer de notre laboratoire.
- ⁴⁵ISAKSSON, R., LILJEFORDS, T., SANDSTROM, J. *J. Chem. Research (S)*, **1981**, 43.
- ⁴⁶WHEATLEY, P.J. *Acta Crystallogr.*, **1964**, 396.
- ⁴⁷ISAKSSON, R., LILJEFORDS, T., SANDSTROM, J. *J. Chem. Research (M)*, **1980**, 664.
- ⁴⁸RAPOPORT, H., GMEINER, P., FELDMAN, P.L., CHU-MOYER, M.Y. *J. Org. Chem.*, 55, **1990**, 3068.
- ⁴⁹RAPOPORT, HENRY, CHRISTIE, B.D. *J. Org. Chem.*, 50, **1985**, 1239.
- ⁵⁰JADHAV, P., MAN, H.-W. *Tetrahedron Lett.*, 37, **1996**, 1153.
- ⁵¹RAPOPORT, HENRY, KOSKINEN, ARI, M.P. *J. Org. Chem.*, 54 **1989**, 1859.
- ⁵²SANDLER, KARO *Organic Chemistry*. A series of monographs, Aca. Press, N.Y., 112, 327.
- ⁵³MASHIMO, K., SATO, Y. *Tetrahedron*, 26, **1970**, 803.
- ⁵⁴MAWHINNEY, T.P., MADSON, M.A. *J. Org. Chem.*, 77, **1982**, 3336.
- ⁵⁵HARWOOD, M.L. *Tetrahedron Lett.*, 37, **1996**, 4217.
- ⁵⁶SMITH III, A.B., VISNICK, M., HASELTINE, J.N. *Tetrahedron*, 42, **1986**, 2957.
- ⁵⁷GOKEL, G.W., MORGAN, C.R., VINCENT, J.G., KRISTIN, A.A., VISCARIELLO, A.M., MILLER, S.R. *J. Org. Chem.*, 51, **1986**, 5373.
- ⁵⁸VOGEL, A.I. *J. Chem. Soc.* **1948**, 624, 644, 654.
- ⁵⁹CZERNECKI, S. *Tetrahedron Lett.*, 39, **1976**, 3535.
- ⁶⁰MAIN, B.G., TUCKER, H. « Medicinal Chemistry ; The Role of Organic Chemistry in Drug Research », Chap. 5 on β -blockers, Academic Press, N.Y., N.Y., Ed. by Roberts and Price, **1985**, 69. ^{60b} LEVITZKI, A. « Topics in Molecular Pharmacology », Elsevier, Amsterdam, Ed. by Roberts and Burgen, 1, **1981**, 23. ^{60c} SILVERMAN, RICHARD B. « The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action », Academic Press, N.Y., **1992**, 79-82, 160, 300, 304.
- ⁶¹PERKINS, M.E., MORAN, N.C. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 124, **1958**, 223. ^{61b} Revues expliquant en détail les différences entre les énantiomères des β -bloqueurs quant à leur activité biologique propre. WALLE, *Biochem. Pharmacol.*, 37, **1988**, 115. LINDNER, WOLFGANG, EGGINGER, GABRIELE, MASSARD, LUC, VANDENBOSCH, *Biomed. Chromatogr.*, 7, **1993**, 277-295.
- ⁶²ULOTH, R.H., KIRK, J.R. , GOULD, W.A., LARSEN, A.A. *J. Med. Chem.*, 9, **1966**, 88.
- ⁶³SHINE, HENRY J., « Aromatics Rearrangements », Elsevier, N.Y., **1967**, 73, 364. ^{63b} STENBERG, VIRGIL, I. « Organic Photochemistry », 1, **1967**, 127.

- ⁶⁴ BASHA, ANWER, AHMED, S.S., FAROQUI, A.T. *Tetrahedron Lett.*, 36, **1976**, 3217.
- ⁶⁵ BLANCO, L., AMICE, P. *Synthesis*, **1976**, 194.
- ⁶⁶ PIRKLE, W.H., SIMMONS, K.A. *J. Org. Chem.*, 48, **1983**, 2520.
- ⁶⁷ KIBAYASHI, C., YAMAZAKI, N. *J. Am. Chem. Soc.*, 111, **1989**, 1396.
- ⁶⁸ ROLLA, F. *J. Org. Chem.*, 47, **1982**, 4327.
- ⁶⁹ REEVES, P.W., BARH, M.L. *Synthesis*, **1976**, 823.
- ⁷⁰ KNOUZI, N. *Tetrahedron Lett.*, 24, **1983**, 763.
- ⁷¹ WASSERMAN, H., BRUNNER, R.K., BUYNAK, J.D., CARTER, C.G., OKU, T., ROBINSON, R.P. *J. Am. Chem. Soc.*, 107, **1985**, 519.
- ⁷² IIDA, H., YAMAZAKI, N., KIBAYASHI, C. *J. Org. Chem.*, 51, **1986**, 1069.
- ⁷³ ABDEL-MAGID, A.F. MARYANOFF, C.A. *Synlett*, **1990**, 537.
- ⁷⁴ AUGUSTINE, R. L. *Catalytic Hydrogenation* Marcel Dekker, New York, **1965**, chap. 5.
- ⁷⁵ ENTWISTLE, I., D. *JCS PERKIN 1*, **1975**, 1300.
- ⁷⁶ GRIBBLE, G.W., LORD, P. D., SKOTNICKI, J., DIETZ, S.E., EATON, J.T., JOHNSON, J.L. *J. Am. Chem. Soc.*, 96, **1974**, 7812.
- ⁷⁷ LEONARD, J., LYGO, B., PROCTER, G. « Advanced Practical Organic Chemistry », second edition, Blackie A&P, **1995**, 55.
- ⁷⁸ STILL, W., C., KAHN, A.M. *J. Org. Chem.*, 43, **1978**, 2923.

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche le professeur Denis Gravel qui a su me prodiguer, tel un vrai père de famille, une écoute attentive et empathique, en plus de me donner d'innombrables conseils tant professionnels que personnels. Pour tout cela et pour bien plus encore, je le remercie et j'en profite pour mentionner que j'estime toujours avoir fait le bon choix en voulant travailler sous sa supervision.

Je tiens aussi à remercier Serge Rodrigue, mon premier mentor, et ce, tant au niveau de sa patience qu'au niveau de sa compréhension, tous deux que je qualifierai de sans borne. Ce grade, je l'ai réussi en grande partie grâce à toi, Serge.

Je voudrais aussi remercier Marc De Vleeschauwer, un ami comme jamais je n'en ai eu et comme jamais je n'en aurai d'autre. Sa disponibilité d'esprit et son temps m'ont tous deux été offert sans condition, et ce, que ce soit lors de la modélisation moléculaire de mes molécules ou encore lorsque j'avais besoin d'un support moral ou encore physique (ah! ces sacrées bonbonnes de gaz...). Marc, sans toi, je doute fort que mon projet de maîtrise ait abouti. Tu as su me relever, et ce, dans tous les sens du terme. Je t'adresse ma gratitude la plus profonde et je te souhaite une belle carrière, une carrière digne de ton génie.

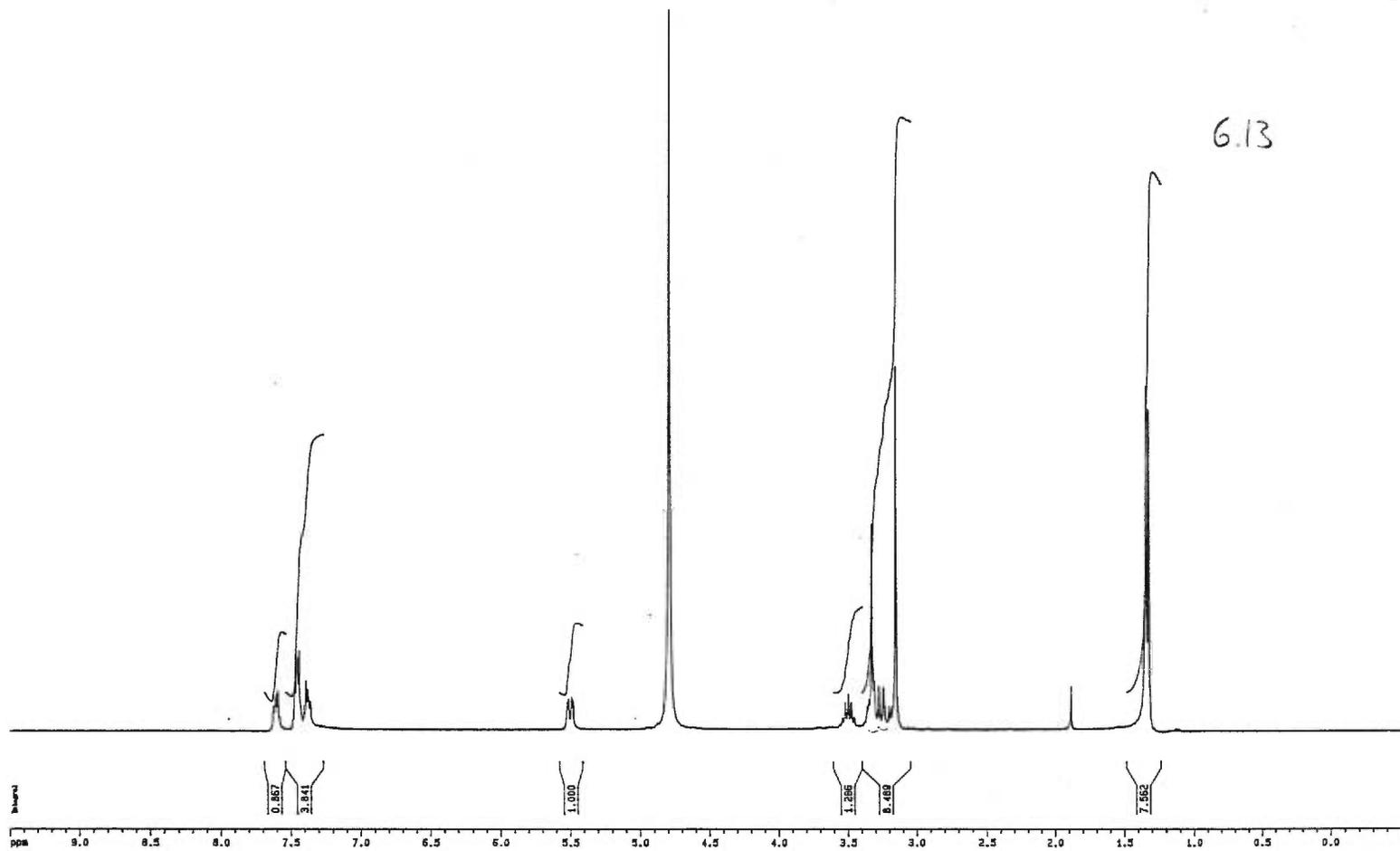
Je veux également remercier certains collègues de travail, et j'ai nommé Ali Amoozadeh, pour les nombreuses discussions reliées à la chimie organique et aussi pour toutes ces discussions enrichissantes concernant les valeurs humaines. Aussi, j'adresse un merci tout spécial à Irina pour l'aide ultra précieuse qu'elle a su m'accorder, et ce, en fin de synthèse de l'oxamide cyclique. Je remercie aussi Abdelkrim Habi pour son support technique ainsi que son expertise en chimie organique.

Je ne voudrais pas oublier les membres du personnel du département de chimie, spécialement Mme Lyne Laurin ainsi que M. D'Amboise pour leur soutien tant académique que moral. Aussi, faisant partie de ce département, je remercie les techniciens qui ont bien voulu s'occuper de toutes mes requêtes au long de ces deux dernières années. De plus, je remercie Marc Vaillancourt de l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal pour avoir mis au point les tests biologiques et testé mon inhibiteur cyclique.

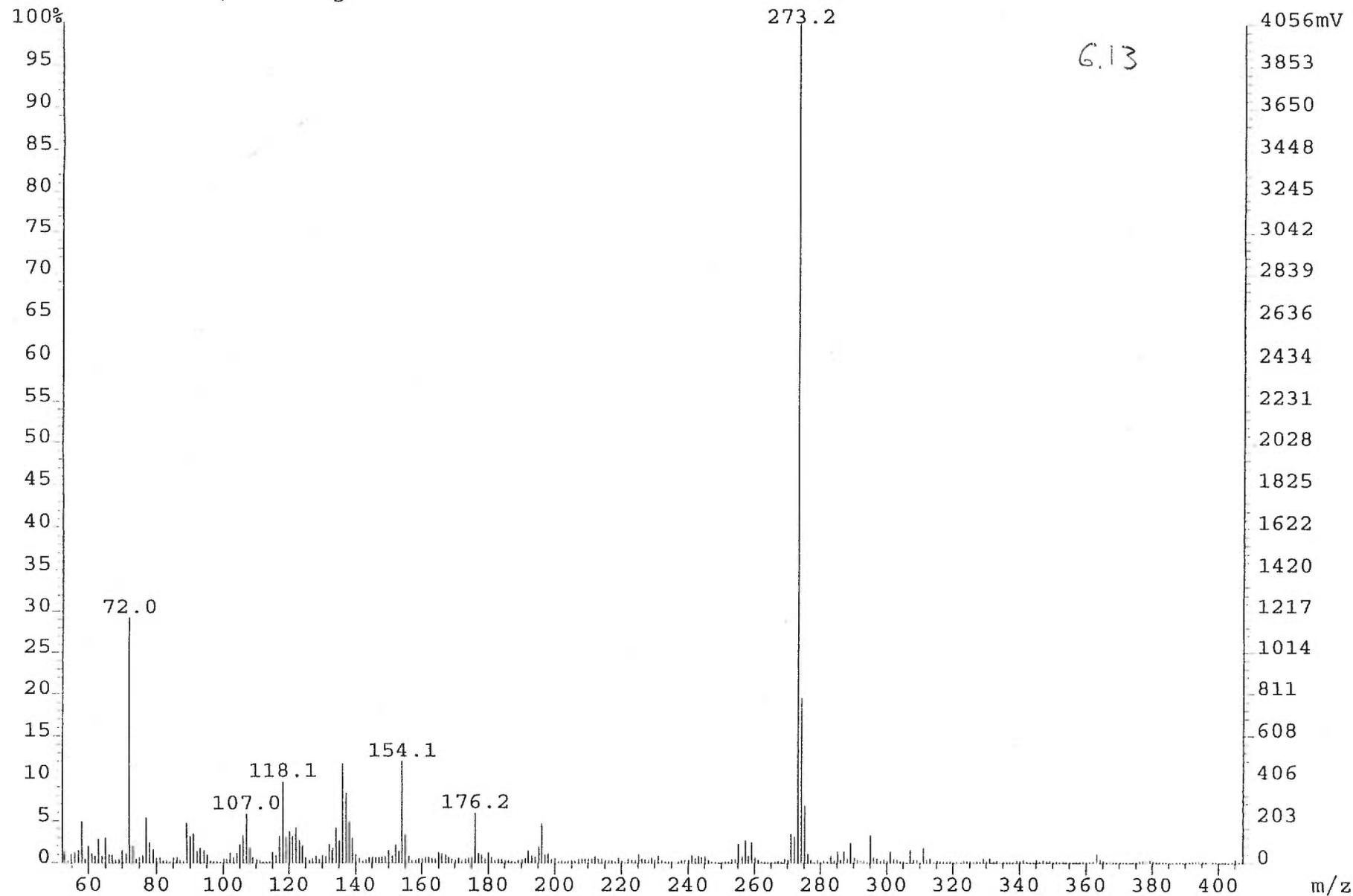
Pour terminer, je tiens à remercier le professeur Hanessian ainsi que le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie du Canada pour m'avoir octroyé, chacun, une bourse de recherche.

Annexe 1

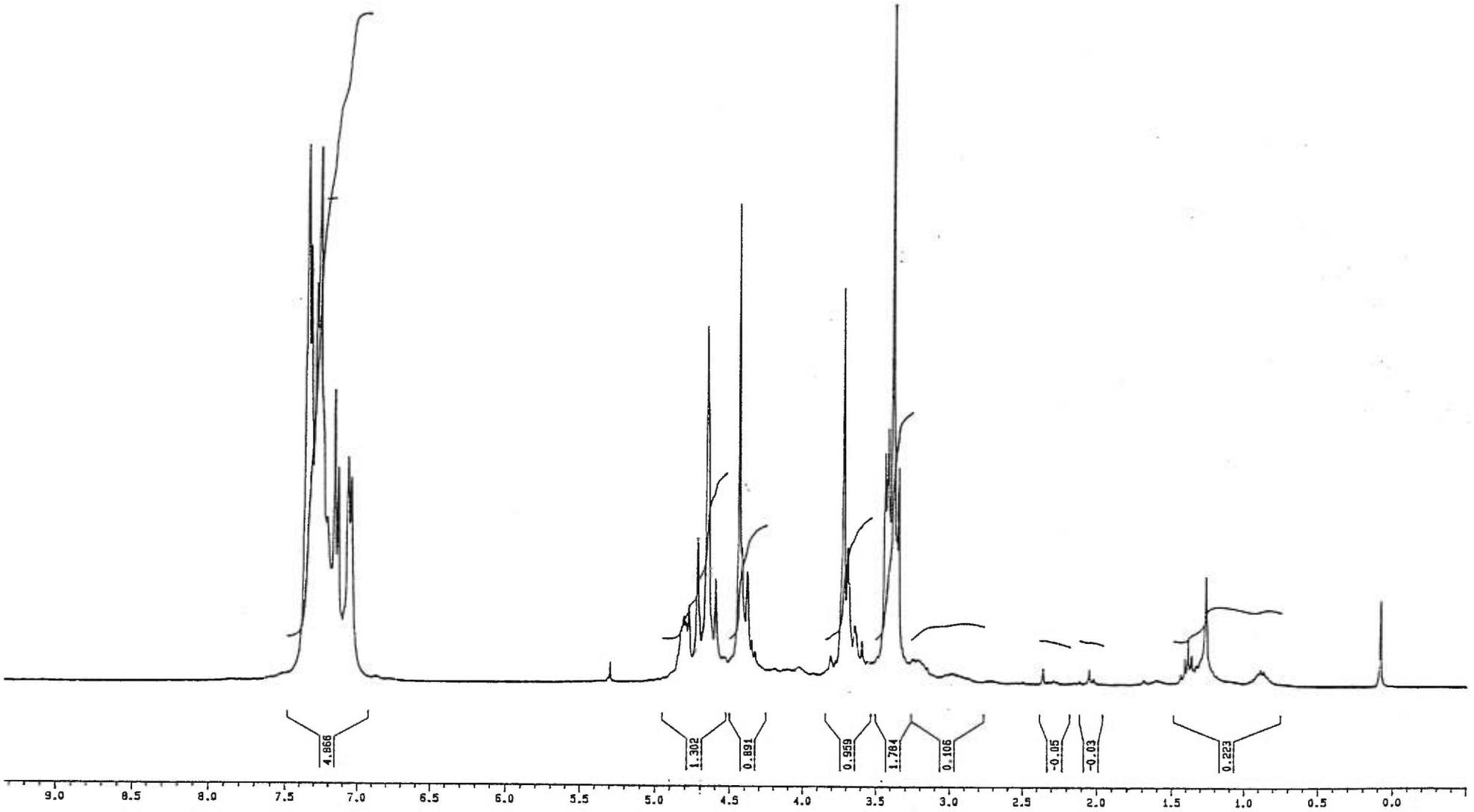
**Spectres RMN des composés
1.1 et 6.13**



File:V99F2910FAZ07 Ident:4 Acq:29-JUN-1999 15:13:23 +0:38 Cal:GO_1
AutoSpecQ FAB+ Magnet BpI:8245990 TIC:41827628 Flags:HALL
File Text:CL-22/36-V-regio-NBA

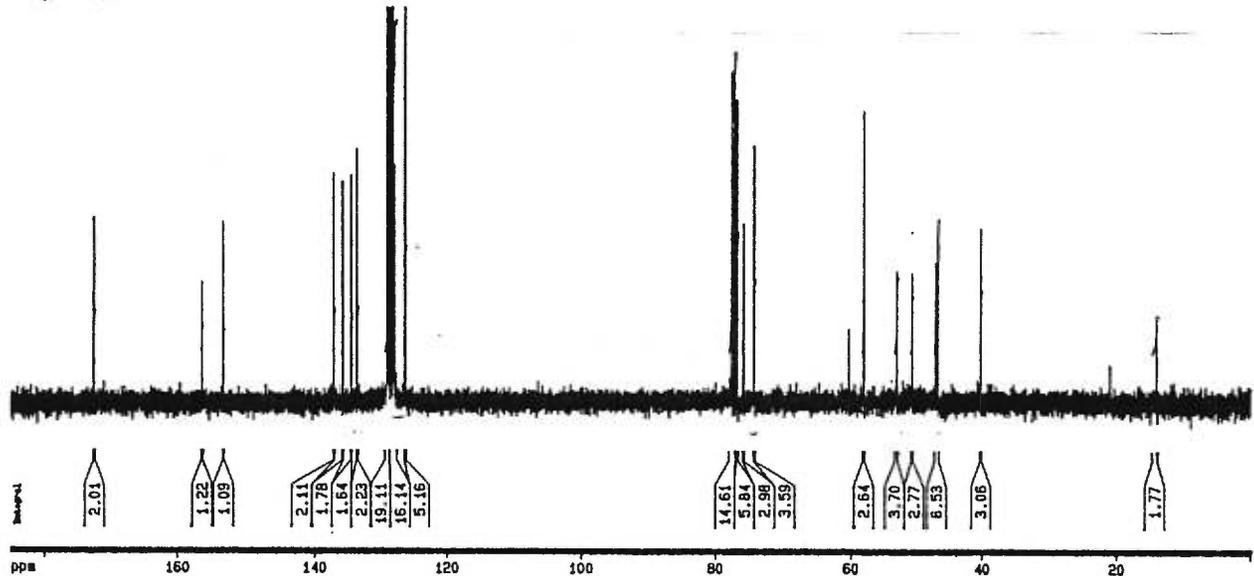


11



Date: 05/22/2014 Time: 14:00:00.00000000
 F1: 120.00000000 Hz F2: 120.00000000 Hz F3: 120.00000000 Hz F4: 120.00000000 Hz
 P1: 1.00000000 sec P2: 1.00000000 sec P3: 1.00000000 sec P4: 1.00000000 sec
 S: 16384.00000000 Hz Resolution: 0.39062500 Hz

F2	F1	F3	F4	INTENSITY
7016.5	10025.091	172.6293		30.55
9270.4	11800.622	150.3073		15.75
9705.3	11503.792	153.2205		17.04
11940.1	10345.936	137.0993		31.37
12130.7	10244.200	133.7401		33.09
12239.9	10149.845	134.4909		15.26
12424.1	10082.107	133.5942		30.00
13033.1	9726.512	129.6274		70.13
13062.9	9734.043	129.4914		67.05
13069.3	9719.372	128.7870		74.01
13130.0	9094.242	128.4340		82.30
13150.9	9086.090	128.3460		33.35
13187.0	9083.908	128.0793		68.30
13213.9	9051.766	127.8911		34.40
13434.1	955.759	126.3010		72.58
13165.7	5552.439	77.5420		48.47
13244.5	5520.337	77.1233		48.48
13133.3	5718.542	76.8967		46.00
13042.5	5717.794	75.7059		15.01
13052.7	5557.833	74.1743		18.45
12573.9	4550.999	60.3032		6.89
12883.7	4382.124	58.0057		39.32
13575.5	4005.241	55.0716		18.30
13893.4	3829.107	50.7335		19.99
14357.4	3557.239	47.1352		20.95
14447.9	3529.702	46.7705		13.38
15360.1	3032.591	40.1833		25.10
16071.4	1000.775	14.1330		12.87

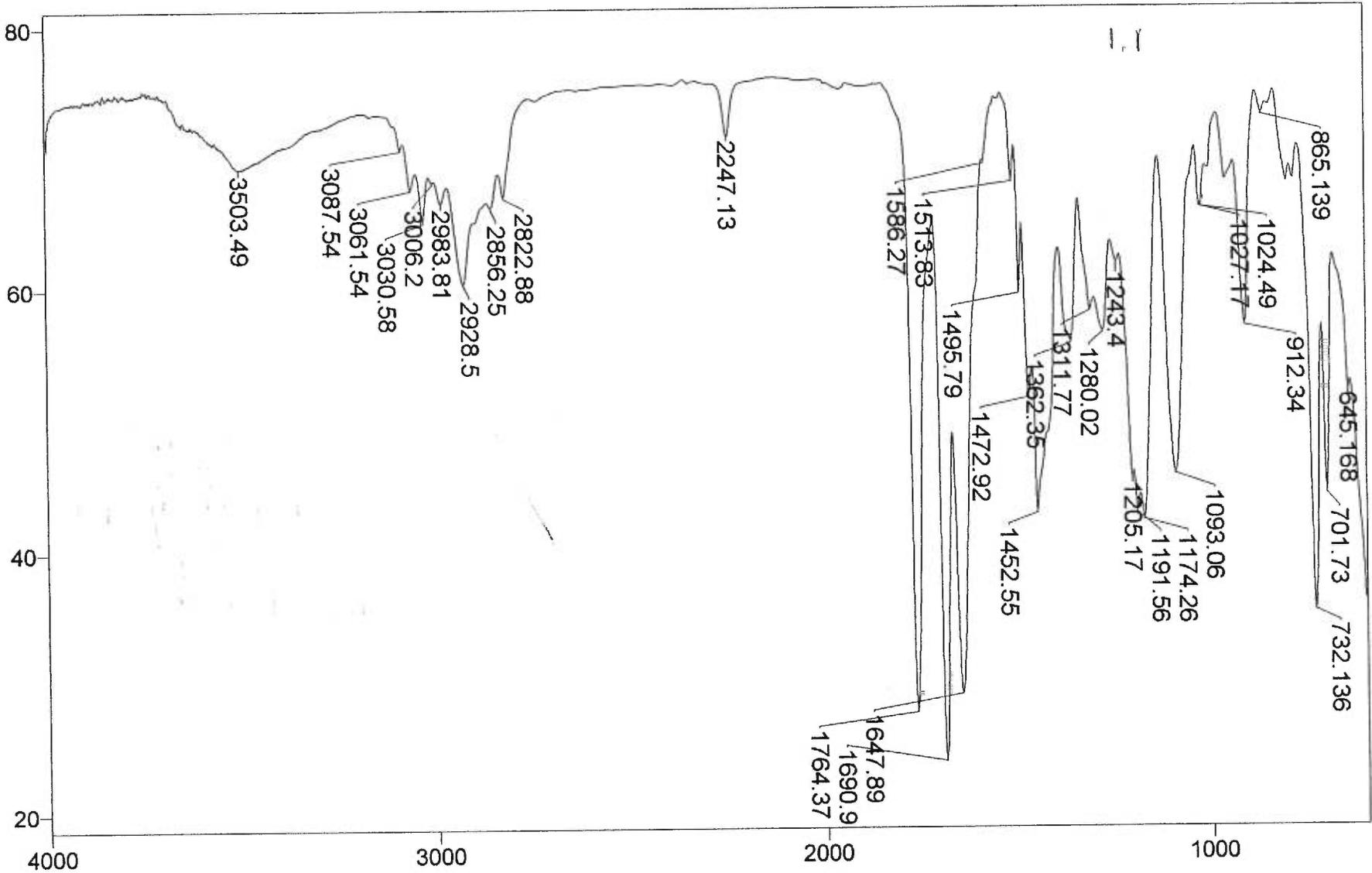


Sample Description: cdcl3

Scans = 20

Res = 4 cm-1 21 scans/min

Apod = Cosine



Transmittance / Wavenumber (cm-1)

Annexe 2

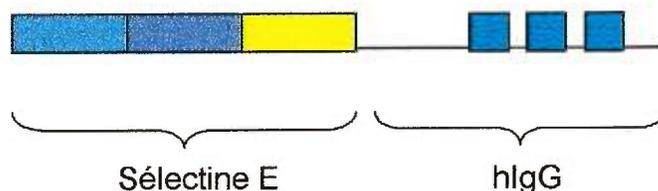
Test d'adhésion cellulaire

Cette annexe décrira sommairement la méthode mise au point et employée par Marc Vaillancourt de l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal, pour mesurer l'affinité relative des antagonistes à la sélectine E et P.

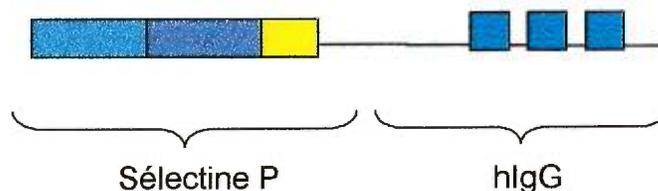
L'étape préliminaire au test consiste à produire une quantité suffisante de la protéine d'intérêt, i.e., pour nous, la sélectine E et la P. Pour ce faire, on emploie habituellement la mutagenèse dirigée dans le but de modifier des plasmides, ceci de façon à y intégrer une séquence spécifique d'ADN responsable de l'expression des sélectines E et P.

Figure A.1 Modification de plasmides

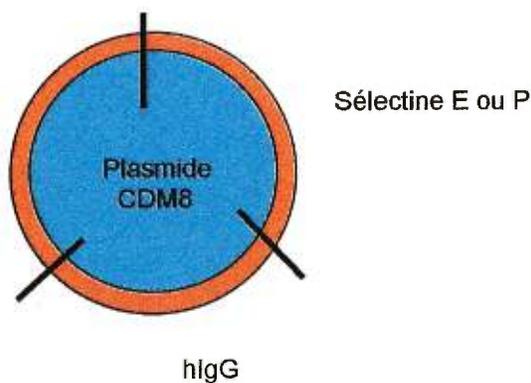
Sélectine E/IgG :



Sélectine P/IgG :



Plasmide :



En deuxième lieu, on intégrera une séquence exprimant l'immunoglobuline G humaine (hIgG), ceci dans le but de faciliter la fixation de la sélectine E et P sur les plaques à microtitration (plaques de polystyrène dans lesquelles on effectue les tests).

Par la suite, on insère ces vecteurs d'expression de la protéine dans les cellules appropriées, les cellules COS (cellules provenant des reins de singes verts africains), et ce, en traitant ces dernières avec une solution de diéthylaminoéthyl-dextran/chloroquine sulfate pour ainsi rendre les membranes des plasmides perméables.

La réplication des cellules alors s'effectuera puisque maintenant les mécanismes cellulaires sont aptes à effectuer la synthèse de la sélectine voulue. Une fois les structures moléculaires protéiniques terminées, elles sont excrétées dans le milieu extracellulaire et leur récupération, à partir du surnageant, est alors réalisable.

En ce qui concerne le test lui-même, on doit tout d'abord fixer les anticorps de chèvres anti IgG humain sur une plaque de microtitration mentionnée plus haut. Ensuite, avec de l'albumine provenant de sérums bovins, on bloque les sites résiduels libres de ces plaques. On fixe les sélectines-hIgG, et ce, grâce aux interactions rendues possibles entre ce dernier complexe et les anticorps de chèvre anti IgG humain précédemment cités. À ce point, il ne reste qu'à ajouter les cellules HL-60 (*Human Leucocytes*) marquées au tritium (^3H), ces dernières étant naturellement aptes à exprimer les récepteurs PSGL-1 et ESL-1, ces derniers étant à leur tour, aptes à exprimer à leur surface les molécules de $s\text{Le}^x$.

Pour terminer, on ajoute les antagonistes à tester. Si ces molécules ont plus d'affinité que les cellules HL-60 pour les récepteurs précédemment cités, les antagonistes déplaceront les HL-60.

C'est donc ainsi que la mesure de l'activité s'effectue. On mesure en fait le nombre de cellules HL-60 qui sont retournées en solution.

Figure A.2 Illustration des types d'interactions possibles lors des tests d'adhésion

