

50376
1997
247

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES
DE LILLE-FLANDRES ARTOIS

Année 1997

N° d'ordre

THESE DE DOCTORAT D'UNIVERSITE



présentée à l'Université de Lille I
pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN CHIMIE ORGANIQUE ET MACROMOLECULAIRE

par

Bertrand LE BOURDONNEC

EXEMPLAIRE PROVISOIRE

**CONCEPTION ET SYNTHÈSE DE NOUVEAUX LIGANDS
NON PEPTIDIQUES DES RECEPTEURS AT1 DE
L'ANGIOTENSINE II**

présentée et soutenue publiquement le 4 septembre 1997

JURY

Président :	Dr. Axel COUTURE
Rapporteurs :	Pr. François DURANT Dr. Michel NEUWELS
Examineurs :	Dr. Solo GOLDSTEIN Pr. Jean-Pierre HENICHART Dr. Raymond HOUSSIN Pr. Daniel LESIEUR

SOMMAIRE

INTRODUCTION

CHAPITRE I : L'ANGIOTENSINE II

I. GENERALITES SUR LE SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE.....	5
I.1. INTRODUCTION.....	5
I.2. LES COMPOSANTS DU SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE.....	7
I.2.1. La rénine.....	7
I.2.1.1. Biosynthèse	7
I.2.1.2. Contrôle de la sécrétion de rénine.....	7
I.2.1.2.1. Rôle de la <i>macula densa</i>	7
I.2.1.2.2. Rôle du barorécepteur vasculaire intrarénal	8
I.2.1.2.3. Rôle du système nerveux sympathique.....	9
I.2.1.2.4. Rôle de l'angiotensine II	9
I.2.2. L'angiotensinogène	9
I.2.3. L'enzyme de conversion de l'angiotensine.....	9
I.2.4. Les angiotensines	10
I.3. AUTRES VOIES DE SYNTHÈSE DE L'ANGIOTENSINE II.....	11
I.4. SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE LOCAL (TISSULAIRE)	12
II. LES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II	12
II.1. HÉTÉROGÉNÉITÉ DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II.....	12
II.2. DISTRIBUTION ET AFFINITÉ	14
II.3. CLONAGE ET SYSTÈMES DE TRANSDUCTION DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II.....	16
II.3.1. Les récepteurs AT1.....	16
II.3.1.1. Clonage	16
II.3.1.2. Systèmes de transduction	18
II.3.2. Les récepteurs AT2.....	20
II.3.2.1. Clonage	20
II.3.2.2. Systèmes de transduction	21
II.3.3. Autres récepteurs	22
III. PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DE L'ANGIOTENSINE II	22
III.1. INTRODUCTION.....	22

III.2. EFFETS DE L'ANGIOTENSINE II SUR LA RESISTANCE PERIPHERIQUE TOTALE ET LA PRESSION ARTERIELLE	23
III.2.1. Vasoconstriction directe	23
III.2.2. Action sur le système neurovégétatif périphérique	23
III.2.3. Effets sur le système nerveux central	23
III.3. EFFETS DE L'ANGIOTENSINE II SUR LA FONCTION RENALE	25
III.3.1. Effets directs sur la réabsorption de Na ⁺	25
III.3.2. Libération d'aldostérone à partir de la corticosurrénale	25
III.3.3. Altération de l'hémodynamique rénale.....	25
III.4. EFFETS DE L'ANGIOTENSINE II SUR LA FONCTION CARDIAQUE	26
III.5. EFFETS DE L'ANGIOTENSINE II SUR LA STRUCTURE CARDIO-VASCULAIRE	26
III.5.1. Effets cellulaires directs de l'angiotensine II sur la structure cardio-vasculaire.....	27
III.5.2. Effets hémodynamiques de l'angiotensine II sur la structure cardio-vasculaire.....	27
III.6. AUTRES ACTIONS DE L'ANGIOTENSINE II	28
IV. LES BLOQUEURS DU SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE	29
IV.1. LES INHIBITEURS DE LA RENINE	29
IV.2. LES INHIBITEURS DE L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE.....	30
IV.3. LES ANTAGONISTES DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II.....	30
V. PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES POUR LES ANTAGONISTES DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II	32
V.1. HYPERTENSION ARTERIELLE	32
V.2. COMPLICATIONS DE L'HYPERTENSION ARTERIELLE.....	34
V.2.1. Insuffisance cardiaque	35
V.2.2. Hypertrophie cardiaque et vasculaire	36
V.2.3. Resténose	37
V.2.4. Athérosclérose	38
V.2.5. Autres applications cardiaques.....	39
V.2.5.1. Ischémie du myocarde.....	39
V.2.5.2. Infarctus du myocarde.....	39
V.2.5.3. Prévention du rejet de greffe après transplantation cardiaque	39
V.2.6. Affections rénales	40
V.2.7. Effets sur le système nerveux central	40
V.3. CONCLUSION.....	41

VI. ANALYSES STRUCTURALES DES ANTAGONISTES NON PEPTIDIQUES DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II	42
VI.1. ANTAGONISTES AT1.....	42
VI.2. ANTAGONISTES AT2.....	44
VI.3. ANTAGONISTES MIXTES AT1 / AT2.....	45

CHAPITRE II : CONCEPTION DE NOUVEAUX LIGANDS NON PEPTIDIQUES DES RECEPTEURS AT1 DE L'ANGIOTENSINE II

I. INTRODUCTION	50
II. ANALYSE STRUCTURALE DU SR 47436	50
III. RECHERCHE DE NOUVEAUX ANTAGONISTES DES RECEPTEURS AT1 DE L'ANGIOTENSINE II	52
III.1. INFLUENCE DE LA NATURE DU SUBSTITUANT R ₄ DU GROUPEMENT BIPHENYLE (MODULATION 1).....	53
III.2. REMPLACEMENT DE LA STRUCTURE BIPHENYLE (MODULATION 2)..	58
III.3. INFLUENCE DE LA NATURE DU SUBSTITUANT R ₁ DE L'HETEROCYCLE TENSEUR (MODULATION 3).....	62
III.4. INFLUENCE DE LA NATURE DES SUBSTITUANTS R ₂ ET R ₃ DE L'HETEROCYCLE TENSEUR (MODULATION 4).....	63
IV. COMPARAISON DES AFFINITES DU COMPOSE 9 ET DU SR 47436	65
V. ETUDE COMPARATIVE DES PROPRIETES STRUCTURALES ET ELECTRONIQUES DU COMPOSE 9 ET DU SR 47436	66
V.1. ANALYSES PAR DIFFRACTION DE RAYONS X.....	66
V.1.1. Conformation cristalline.....	67
V.1.2. Cohésion cristalline	67
V.2. ANALYSE ELECTRONIQUE	69
V.2.1. Potentiel électrostatique moléculaire (PEM).....	69
V.2.1.1. Représentation tridimensionnelle.....	69
V.2.1.2. Représentation bidimensionnelle	70
V.2.2. Potentiel de lipophilie moléculaire.....	72
V.2.3. Conclusions.....	72
V.3. SUPERPOSITION DU COMPOSE 9 AVEC LE SR 47436.....	72
V.3.1. Sélection des conformères.....	72

V.3.2. Superposition des conformères.....	76
VI. MISE EN EVIDENCE DES ACIDES AMINES DU RECEPTEUR AT1 SUSCEPTIBLES D'INTERAGIR AVEC LES COMPOSES 9 ET SR 47436	79
VI.1. INTRODUCTION.....	79
VI.2. ETUDES DE MUTAGENESE DIRIGEE DES RECEPTEURS AT1	79
VI.2.1. Introduction.....	79
VI.2.2. Modèles hypothétiques des sites de liaison des ligands des récepteurs de l'angiotensine II.....	81
VI.2.2.1. Introduction.....	81
VI.2.2.2. Sites de liaison de l'angiotensine II	81
VI.2.2.3. Sites de liaison des antagonistes non peptidiques	83
VI. 3. PROPOSITIONS D'INTERACTION DES COMPOSES 9 ET SR 47436 AVEC LES DIVERS ACIDES AMINES DU RECEPTEUR AT1	86
VII. MODIFICATION DE LA STRUCTURE DE L'HETEROCYCLE CENTRAL DU COMPOSE 9	88
VII.1. ETUDE THEORIQUE	88
VII.1.1. Introduction.....	88
VII.1.2. Superposition des deux régioisomères 30a et 30b avec le SR 47436....	89
VII.1.2.1. Génération des espaces conformationnels	89
VII.1.2.2. Modèles de superposition.....	91
VII.1.2.2.1. Superposition du composé 30a avec le SR 47436.....	92
VII.1.2.2.2. Superposition du composé 30b avec le SR 47436	94
VII.1.3. Conclusion des études théoriques de modélisation.....	96
VII.2. RESULTATS EXPERIMENTAUX	96

CHAPITRE III : STRATEGIE DE SYNTHESE

I. PYRAZOLIDINE-3,5-DIONES N,N'-DISUBSTITUEES	100
I.1. OBTENTION DES PYRAZOLIDINE -3,5-DIONES N-SUBSTITUEES (SYNTHONS A).....	100
I.1.1. Dérivés substitués par des groupements aromatiques ou arylaliphatiques..	100
I.1.1.1. Cyclisation à partir des diesters maloniques (voie 1).....	101
I.1.1.1.1. Conditions réactionnelles utilisées	101
I.1.1.1.2. Préparation des esters maloniques	102
I.1.1.2. Cyclisation à partir du chlorure de malonyle.....	103
I.1.2. Pyrazolidine-3,5-diones substituées par des groupements aliphatiques ...	104

I.2. OBTENTION DES SYNTHONS B	109
I.2.1. Préparation des 4'-bromométhyl-2-yl biphényles	110
I.2.1.1. Synthèse des dérivés substitués par des groupements nitrile, ester ou tétrazole tritylé	110
I.2.1.2. Préparation du N-(tertiobutyl)-4'-bromométhylbiphényl-2-sulfonamide (65)	114
I.2.2. Obtention de la bromométhylbenzophénone 66	116
I.3. OBTENTION DES SYNTHONS C	117
I.4. PRODUITS DE TRANSFORMATION DES SYNTHONS C	121
I.4.1. Composés comportant la structure biphényle	121
I.4.1.1. Dérivés substitués par un groupe carboxybiphénylméthyle	121
I.4.1.2. Dérivés substitués par un groupe méthylènebiphényltétrazole	123
I.4.1.3. Dérivés substitués par un groupe méthylènebiphénylsulfonamide	125
I.4.1.3.1. Obtention des acylsulfonamides : composés 11 , 14 , 25-27 et 29	127
I.4.1.3.2. Obtention du sulfonylcarbamate 104 et de la sulfonylurée 15	127
I.4.2. Dérivés ne possédant pas la structure biphényle	128
I.4.2.1. Dérivés comportant un groupement 4-(2-carboxyphenylaminocarbonyl)benzyle	129
I.4.2.2. Dérivé substitué par un groupe 4-(2-carboxybenzamido)benzyle	130
I.4.2.3. Dérivé substitué par un groupe 4-(2-carboxybenzoyl)benzyle	131
II. PYRIDAZINE-3,6-DIONE N,N'-DISUBSTITUEES	131
II.1. OBTENTION DES PYRIDAZINE-3,6-DIONES N-SUBSTITUEES (SYNTHONS A')	132
II.1.1. Obtention des pyridazine-3,6-diones N-benzylées 112a et 112b	132
II.1.2. Obtention de la 1-butylpyridazine-3,6-dione 123a	135
II.2. OBTENTION DES PYRIDAZINE-3,6-DIONES N,N'-DISUBSTITUEES	137
III. SYNTHESE DU SR 47436	139

CONCLUSION

PARTIE EXPERIMENTALE

I. APPAREILLAGES ET TECHNIQUES ANALYTIQUES	146
II. PROTOCOLES CHIMIQUES	147
II.1. PYRAZOLIDINE-3,5-DIONES N,N'-DISUBSTITUEES	147

II.1.1. Obtention des pyrazolidine-3,5-diones N-substituées (synthons A)	147
II.1.1.1. Dérivés substitués par des groupements aromatiques ou arylaliphatiques.....	147
II.1.1.1.1. Préparation des esters maloniques	147
2,2-Diméthylmalonate de méthyle (38).....	147
2-Butyl-2-méthylmalonate d'éthyle (40)	148
2,2-Tétraméthylènemalonate d'éthyle (37).....	149
Acide 2,2-tétraméthylène malonique (43).....	150
II.1.1.1.2. Cyclisation	151
2-Benzyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (31).....	152
2-Phényl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (32).....	153
2-(p-Tolyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (33)	154
1-Benzyl-4-butylpyrazolidin-3,5-dione (34)	154
1-Benzyl-4-butyl-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (35).....	155
1-Benzyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (36).....	156
II.1.1.2. Pyrazolidine-3,5-diones substituées par des groupements aliphatiques	156
2-Propyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (45)	158
2-Benzyl-4-propyloxy-2,3-diazaspiro[4.4]non-3-én-1-one (53b)	159
2-Butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (46).....	159
2-Benzyl-4-butyloxy-2,3-diazaspiro[4.4]non-3-én-1-one (54b) .	161
2-Pentyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (47).....	161
2-Benzyl-4-pentyloxy-2,3-diazaspiro[4.4]non-3-én-1-one (55b)	162
1,4-Dibutyl-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (48)	163
1-Benzyl-4-butyl-3-butyloxy-4-méthylpyrazolin-5-one (56b) ...	164
1-Butyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (49)	165
1-Benzyl-2-Butyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (57a)	165
2-Benzyl-5-butyloxy-4,4-diméthylpyrazolin-3-one (57b).....	165
II.1.2. Obtention des synthons B	166
II.1.2.1. Préparation du N-(tertiobutyl)-4'-bromométhylbiphényl-2- sulfonamide (65).....	166
N-tertiobutylbenzenesulfonamide (80).....	166
Acide [2-(N-tertiobutylsulfamoyl)phényl]boronique (78)	167
Chlorure de 2-bromobenzènesulfonyle (81).....	168
2-Bromobenzène(tert-butyl)sulfonamide (79).....	169
N-(tertiobutyl)-4'-méthyl-(1,1'-biphényl)-2-sulfonamide (77) ...	170
N-(tertiobutyl)-4'-bromométhyl-(1,1'-biphényl)-2-sulfonamide (65)	172
II.1.2.2. Obtention de la bromométhylbenzophénone (66).....	173

Acide 2-(4-méthylbenzoyl)benzoïque (82).....	173
2-(4-méthylbenzoyl)benzoate de méthyle (83)	174
2-(4-Bromométhylbenzoyl)benzoate de méthyle (66)	175
II.1.3. Obtention des synthons C	176
2-Butyl-3-(4-carbométhoxybenzyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (84a)	176
3-Butyl-1-[4-(carbométhoxybenzyl)oxy]-2,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one (84b)	177
2-Butyl-3-(4-nitrobenzyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (85a).....	178
3-Butyl-1-(4-nitrobenzyl)-2,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one (85b)	178
3-[[1,1'-Biphényl]-4-yl]méthyl]-2-butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (6).....	179
2-Butyl-3-[[2'-cyano-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (7)	180
3-[[2'-Cyano-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-(p-tolyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (86).....	181
4'-[[2-Butyl-1,4-dioxo-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-3-yl]méthyl]-(1,1'-biphényl)-2-carboxylate de tertibutyle (87).....	182
4'-[[1,4-Dioxo-2-phényl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-3-yl]méthyl]-(1,1'-biphényl)-2-carboxylate de méthyle (88).....	183
2-Butyl-3-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (89).....	184
2-Phényl-3-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (90).....	185
2-(p-Tolyl)-3-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (91).....	185
2-Benzyl-3-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (92).....	186
1-Benzyl-4-butyl-4-méthyl-2-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]pyrazolidin-3,5-dione (93)....	187
2-Butyl-3-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (13)	187
1,4-Dibutyl-2-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (94).....	188
1-Butyl-2-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (95)	189

3-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-propyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (96).....	190
3-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-pentyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (97)	191
2-Butyl-3-[4-(2-carbométhoxybenzoyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (98).....	191
II.1.4. Produits de transformation des synthons C	193
II.1.4.1. Composés comportant la structure biphényle.....	193
II.1.4.1.1. Dérivés substitués par un groupe carboxybiphénylméthyle	193
Acide 4'-[[1,4-dioxo-2-phényl-1,4-diazaspiro[4.4]nonan-3-yl]méthyl]-1,1'-biphényl-2-carboxylique (101)	193
Acide 4'-[[2-butyl-1,4-dioxo-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-3-yl]méthyl]-1,1'-biphényl-2-carboxylique (8).....	195
II.1.4.1.2. Préparation des produits ouverts	196
Mono 1-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-(p-tolyl)-hydrazide de l'acide cyclopentane-1,1-dicarboxylique (102)	197
Mono 2-butyl-1-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-hydrazide de l'acide cyclopentane-1,1-dicarboxylique (103)	198
II.1.4.1.3. Dérivés substitués par un groupe méthylènebiphényltétrazole	199
2-Butyl-3-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (9)	200
2-Phényl-3-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (22).....	201
3-[[2'-(1H-Tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-tolyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (23).....	202
2-Benzyl-3-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (24).....	203
1-Benzyl-4-butyl-4-méthyl-2-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]pyrazolidin-3,5-dione (28).....	204
II.1.4.1.4. Dérivés substitués par un groupe méthylènebiphénylsulfonamide	205
II.1.4.1.4.1. Déprotection de la fonction sulfonamide	205
3-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (12).....	205
3-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-propyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (105).....	206

3-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-pentyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (106).....	207
2-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-1,4-dibutyl-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (107).....	208
2-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-1-butyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (108).....	208
<i>II.1.4.1.4.2. Obtention des acylsulfonamides.....</i>	<i>209</i>
3-[[2'-(Benzoylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (11).....	210
3-[[2'-(Benzoylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-propyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (25).....	211
3-[[2'-(Benzoylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-pentyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (26).....	212
3-[[2'-(Benzoylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-1,4-dibutyl-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (27).....	213
3-[[2'-(Benzoylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-1-butyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (29).....	214
2-Butyl-3-[[2'-(valérylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (14).....	215
<i>II.1.4.1.4.3. Obtention du sulfonylecarbamate 104 et de la sulfonyleurée 15.....</i>	<i>217</i>
2-Butyl-3-[2'-(cyclohexylaminosulfonylcarbonylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (15).....	217
2-Butyl-3-[[2'-(éthoxycarbonylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (104).....	218
<i>II.1.4.2. Dérivés ne possédant pas la structure biphényle.....</i>	<i>219</i>
<i>II.1.4.2.1. Dérivés comportant un groupement 4-(2-carboxyphénylaminocarbonyl)benzyle.....</i>	<i>219</i>
2-Butyl-3-(4-carboxybenzyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (21).....	219
2-Butyl-3-[4-(3-carboéthoxyphénylaminocarbonyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (110).....	221
2-Butyl-3-[4-(2-carboéthoxyphénylaminocarbonyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (109).....	223
2-Butyl-3-[4-(2-carboxyphénylaminocarbonyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (17).....	224
2-Butyl-3-[4-(3-carboxyphénylaminocarbonyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (19).....	225

II.1.4.2.2. Dérivé substitué par un groupe 4-(2-carboxybenzamido)benzyle.....	227
3-[(4-Aminobenzyl)-2-butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (111).....	227
2-Butyl-3-[4-(2-carboxybenzamido)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (16).....	228
II.1.4.2.3. Dérivé substitué par un groupe 4-(2-carboxybenzoyl)benzyle.....	229
2-Butyl-3-[4-(2-carboxybenzoyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (18).....	229
II.2. PYRIDAZINE-3,6-DIONE N, N'-DISUBSTITUEES.....	230
II.2.1. Obtention des pyridazine -3,6-diones N-substituées (synthons A').....	230
II.2.1.1. Obtention des pyridazine -3,6-diones N-benzylées 112a et 112b	230
II.2.1.1.1. Préparation du diester succinique 118	230
Cyclopentylidèncyanoacétate d'éthyle (114).....	230
2-(1-Cyanocyclopentyl)cyanoacétate d'éthyle (115).....	231
Acide 2,2-tétraméthylènesuccinique (117).....	232
2,2-Tétraméthylènesuccinate de méthyle (118).....	233
II.2.1.1.2. Etape de cyclisation.....	234
8-Benzyl-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (112a).....	234
7-Benzyl-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (112b).....	235
II.2.1.2. Obtention de la 1-butylpyridazine-3,6-dione 123a	236
7-Butyl-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (123a).....	236
8-Benzyl-6-butyloxy-7,8-diazaspiro[4.5]déc-8-én-9-one (124b).....	238
II.2.2. Obtention des pyridazine-3,6-diones N,N'-disubstituées.....	238
8-Benzyl-7-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (127).....	239
7-Butyl-8-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (128).....	240
7-Butyl-8-[[2'-cyano-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (129a).....	241
7-Butyl-9-[[2'-cyano-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyloxy]-7,8-diazaspiro[4.5]déc-8-én-6-one (129b).....	242
8-Benzyl-7-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (126).....	243
7-Butyl-8-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (30a).....	244
Butylacétimide d'éthyle (130).....	246
Chlorhydrate du 1-aminocyclopentanecarboxylate d'éthyle (132).....	247

Chlorhydrate de 2-butyl-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one (134)	248
2-Butyl-3-[(2'-cyanobiphényl-4-yl)méthyl]-1,3-diazaspiro[4.4]non- 1-én-4-one (135).....	249
2-Butyl-3-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)biphényl-4-yl]-1,3- diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one (SR 47436).....	250

III. PROTOCOLES PHARMACOLOGIQUES	252
III.1. RECEPTEURS AT1	252
III.2. RECEPTEURS AT2	253

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES

AcOEt	acétate d'éthyle
AcOH	acide acétique
AcONH ₄	acétate d'ammonium
BP	biphényle
DMF	diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
EtOH	éthanol
EtONa	éthanolate de sodium
F	point de fusion
HPLC	high pressure liquid chromatography
IR	infra-rouge
MeOH	méthanol
NBS	N-bromosuccinimide
nBuli	n-butyllithium
NEt ₃	triéthylamine
Ph	phényle
Rf	retention factor
RMN	résonance magnétique nucléaire
	s singulet
	d doublet
	t triplet
	q quadruplet
	quint quintuplet
	sext sextuplet
	m multiplet
SM	spectrométrie de masse
THF	tétrahydrofurane
Tr	triphénylméthyle
tr	temps de rétention

PREFACE

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein du Département Pharmacochimie de l'Institut de Chimie Pharmaceutique de l'Université de Lille 2. Ils ont été menés en collaboration avec la firme UCB S.A. Pharmaceutical Sector à laquelle nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements.

Ils appartiennent au domaine de la chimie thérapeutique et avaient pour objectifs la conception et la synthèse de molécules originales à potentialité thérapeutique.

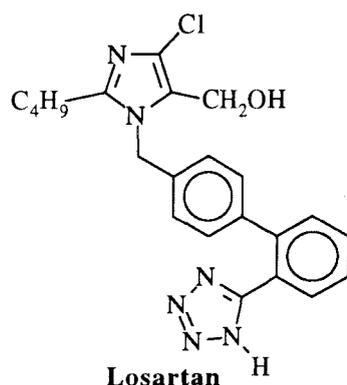
INTRODUCTION

Chacun connaît aujourd'hui l'incidence et les risques de l'hypertension artérielle non traitée. L'hypertension artérielle touche environ 10% de la population française. Elle est responsable d'une nette augmentation de la mortalité cardio-vasculaire : multiplication par 7 de l'incidence des accidents vasculaires cérébraux, par 4 de l'insuffisance cardiaque, par 2 de l'artérite. Pour toute augmentation de 10 mm de mercure de la tension artérielle, la probabilité de survenue d'un accident vasculaire s'accroît de 30%, la pression systolique semblant être le critère déterminant après 60 ans. Le bénéfice du traitement de l'hypertension artérielle est unanimement reconnu : la mortalité cardio-vasculaire qui représente en France 35% de la mortalité globale s'en trouve diminuée.

Au cours de l'hypertension artérielle surviennent des altérations structurales particulières qui touchent en premier lieu les vaisseaux puis le coeur : ces modifications concernent essentiellement les parois de ces différents éléments : les cellules myocytaires s'y trouvent augmentées en volume et en nombre, alors que la matrice protéique extracellulaire voit sa composition biochimique remaniée.

C'est pourquoi, au delà de la baisse des chiffres tensionnels, un traitement antihypertenseur doit désormais s'attacher à améliorer d'autres paramètres de l'hypertension artérielle (en particulier vasculaires) qui s'inscrivent dans l'optique d'un véritable remodelage cardio-vasculaire. C'est par l'amélioration des modifications structurales des différents éléments anatomiques concernés que l'on peut espérer améliorer leurs fonctions. Cette nouvelle conception doit permettre une meilleure prise en charge thérapeutique de l'hypertension artérielle et de ses conséquences.

De par leur importance considérable au niveau thérapeutique, de nombreux agents antihypertenseurs sont apparus sur le marché depuis 50 ans. Les avantages cliniques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion ont en particulier établi l'importance clé du système rénine-angiotensine dans le contrôle de la pression artérielle et de la balance hydrosodée. L'angiotensine II, hormone clé de ce système est un acteur de la physiopathologie de l'hypertension artérielle et un facteur quasi constant de la genèse des lésions vasculaires et cardiaques. Antagoniser l'angiotensine II directement au niveau de son site d'action constitue le moyen le plus sélectif et le plus complet pour s'opposer à toutes les actions de cette hormone, quelles que soient ses voies de synthèse. Depuis la découverte en 1991 du Losartan, premier antagoniste sélectif des récepteurs AT1 de l'angiotensine II, de nombreux programmes de recherche ont été engagés dans l'industrie pharmaceutique pour élaborer de nouveaux antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II actifs par voie orale.



Le but de notre travail réalisé en collaboration avec UCB Pharmaceutical Sector était de concevoir, synthétiser et effectuer l'étude pharmacologique de structures originales, ligands potentiels des récepteurs AT1 de l'angiotensine II.

Dans ce mémoire, après une présentation de l'angiotensine II et des potentialités thérapeutiques des antagonistes des récepteurs de cette hormone, nous détaillerons la stratégie mise en place pour concevoir de nouveaux ligands des récepteurs AT1. Les résultats pharmacologiques obtenus pour les produits élaborés seront confrontés aux hypothèses de travail. Des études de modélisation moléculaire et de radiocristallographie réalisées à partir des molécules synthétisées nous serviront également à interpréter les résultats des données pharmacologiques. Par ailleurs, nous tenterons de proposer un modèle d'interaction putatif entre nos molécules et le récepteur AT1 en nous basant sur les résultats de mutagenèse dirigée décrits dans la littérature.

Dans une troisième partie, nous développerons la stratégie de synthèse adoptée pour la préparation des différents composés.

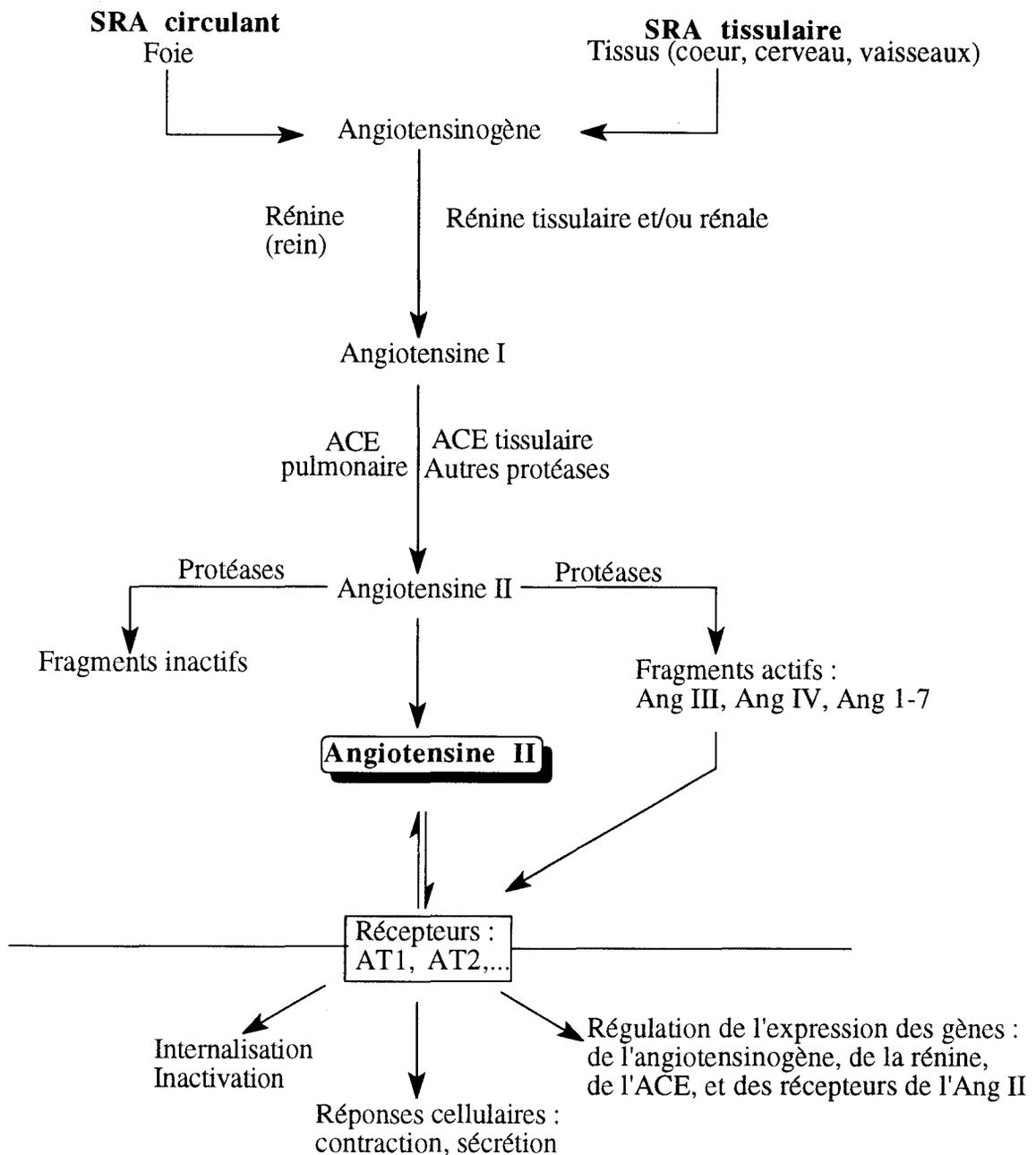
CHAPITRE I :
L'ANGIOTENSINE II

I. GENERALITES SUR LE SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE

I.1. Introduction

Le système rénine angiotensine (figure 1) est un composant important de la régulation à court terme et à long terme de la pression artérielle. Toute baisse du volume sanguin effectif (provoquée par exemple par un régime hyposodé, l'utilisation de diurétiques, une perte de sang, une insuffisance cardiaque chronique) ou une réduction des résistances périphériques totales (liée par exemple à l'emploi de diurétiques) se traduit par une baisse de la pression artérielle. Ces divers facteurs provoquent l'activation de la libération de rénine à partir des reins.

La rénine est une enzyme qui agit sur son substrat, l'angiotensinogène, pour catalyser la formation d'un décapeptide : l'angiotensine I. Ce dernier est alors clivé par l'enzyme de conversion de l'angiotensine en un octapeptide : l'angiotensine II. L'angiotensine II agit via divers mécanismes qui concourent à rétablir la pression artérielle à la normale. Ce peptide agit par plusieurs voies pour augmenter la résistance périphérique totale et contribuer dans un premier temps à la régulation à court terme de la pression sanguine. Une autre fonction, peut-être plus importante, est la capacité qu'a l'angiotensine II d'inhiber l'excrétion de sodium et d'eau au niveau des reins ; les changements induits par l'angiotensine II sur la fonction rénale jouent alors un rôle important dans la stabilisation à long terme de la pression artérielle.



Angiotensinogène : H₂N-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-His-Ser-R

Angiotensine I : H₂N-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-COOH

Angiotensine II : H₂N-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-COOH

Angiotensine III : H₂N-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-COOH

Angiotensine IV : H₂N-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-COOH

Angiotensine 1-7 : H₂N-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-COOH

Figure 1 : le système rénine angiotensine (Timmermans et al., 1993)

I.2. LES COMPOSANTS DU SYSTÈME RÉNINE ANGIOTENSINE

I.2.1. La rénine

I.2.1.1. Biosynthèse

Le déterminant majeur du taux d'angiotensine II produit est la quantité de rénine libérée par le rein. La rénine est synthétisée, stockée et sécrétée dans la circulation artérielle rénale par les cellules juxtaglomérulaires (différenciation en cellules endocrines des cellules myoépithéliales de l'artériole afférente des glomérules). C'est une aspartylprotéase qui agit sur un nombre restreint de substrats. Le principal substrat est une α_2 globuline circulante : l'angiotensinogène. La rénine clive la liaison entre les résidus 10 et 11 de la partie N-terminale de l'angiotensinogène et génère ainsi l'angiotensine I. La forme active de la rénine est une glycoprotéine de 340 acides aminés. Elle est synthétisée sous forme d'une préproenzyme qui conduit, par coupure protéolytique, à la prorénine, forme mature mais inactive de la protéine.

I.2.1.2. Contrôle de la sécrétion de rénine (Hardman et al., 1995)

Plusieurs facteurs modulent la synthèse de la rénine (à partir de son précurseur : la prorénine) et sa libération à partir des "cellules à rénine" de l'appareil juxtaglomérulaire.

I.2.1.2.1. Rôle de la macula densa

La *macula densa*, située sur les cellules juxtaglomérulaires, est composée de cellules épithéliales spécialisées situées sur la paroi de la portion corticale qui passe entre les artérioles afférentes et efférentes du glomérule (figures 2 et 3). Une variation de la réabsorption de chlorure de sodium détectée au niveau de la *macula densa* résulte de la transmission aux cellules juxtaglomérulaires de signaux chimiques qui modifient la libération de rénine. Ainsi une augmentation du flux de chlorure de sodium inhibe la libération de rénine et une diminution du flux de chlorure de sodium stimule cette libération.

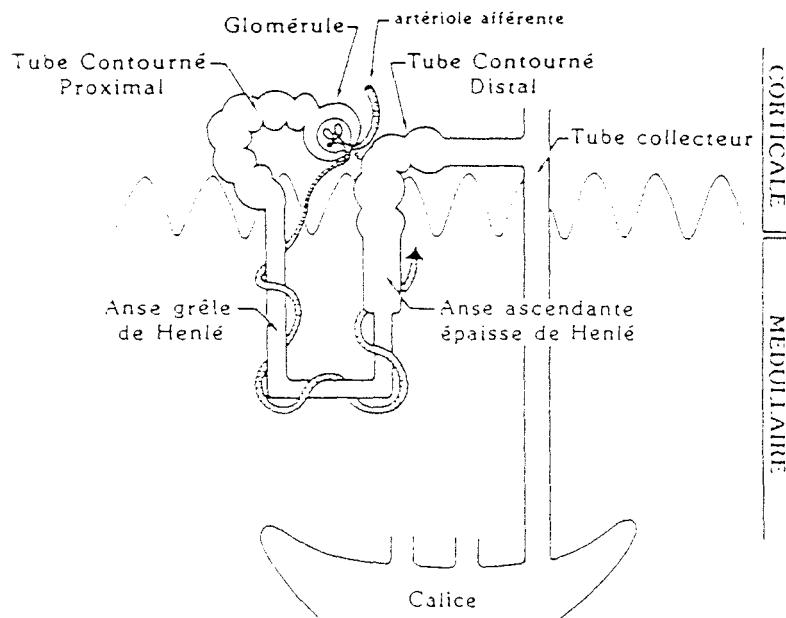


Figure 2 : disposition générale du néphron (Libersa et Caron, 1992)

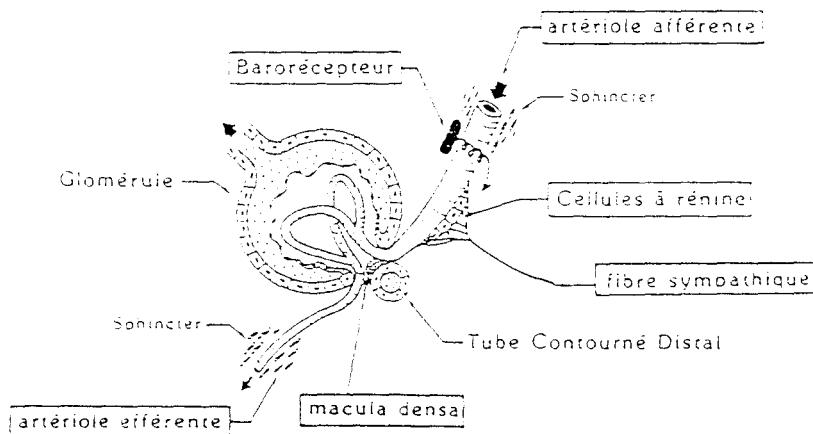


Figure 3 : dispositifs de régulation de la filtration glomérulaire (Libersa et Caron, 1992)

I.2.1.2.2. Rôle du barorécepteur vasculaire intrarénal

Ce barorécepteur situé sur la paroi des artérioles afférentes du rein est mis en jeu par toute diminution de pression. Cette mise en jeu peut être liée soit à une diminution générale de la pression artérielle (hypovolémie par hémorragie ou déshydratation), soit à une diminution locale de la pression (striction de l'artère rénale). Cette diminution de pression dans les artérioles afférentes, entraînant une diminution de la tension pariétale au niveau de la zone baroréceptrice, provoque la sécrétion de rénine.

I.2.1.2.3. Rôle du système nerveux sympathique

L'activation du système sympathique provoque la sécrétion de rénine et sa libération. Cet effet est médié par l'intermédiaire de récepteurs β -adrénergiques (probablement β_1) présents sur les cellules juxtaglomérulaires.

I.2.1.2.4. Rôle de l'angiotensine II

Toute augmentation de la sécrétion de rénine stimule la synthèse d'angiotensine II. L'hormone produite agit alors sur les cellules juxtaglomérulaires rénales pour inhiber la libération de rénine. Ce système de régulation porte le nom de rétrocontrôle négatif.

I.2.2. L'angiotensinogène

Le substrat de la rénine est l'angiotensinogène, une α_2 globuline abondante qui circule dans le plasma. L'angiotensinogène est synthétisée en continu et sécrétée par le foie ; sa synthèse est stimulée par un certain nombre d'hormones comme les glucocorticoïdes, l'hormone thyroïdienne et l'angiotensine II elle-même (Ben-Ari et Garrison, 1988). Le taux d'angiotensinogène augmente en particulier pendant la grossesse et sous oestrogénothérapie (mécanisme proposé pour expliquer l'hypertension artérielle lors d'une contraception orale).

I.2.3. L'enzyme de conversion de l'angiotensine

Cette glycoprotéine est une carboxypeptidase contenant 1278 acides aminés et possédant deux domaines homologues, chacun avec un site catalytique et une région de liaison du zinc. Elle agit sur la partie C-terminale de l'angiotensine I pour l'amputer de ses deux acides aminés terminaux produisant ainsi l'angiotensine II. C'est une enzyme circulante retrouvée en grande quantité dans les parois de l'endothélium vasculaire principalement celles du lit capillaire du poumon, lieu privilégié de la transformation de l'angiotensine I en angiotensine II. Cette enzyme est assez peu spécifique et clive des ensembles dipeptidiques à partir de substrats contenant diverses séquences en acides aminés. La bradykinine qui est un des substrats naturels de l'enzyme de conversion provoque en particulier la libération de divers agents vasorelaxants comme le monoxyde d'azote (NO), l'EDHF (Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor) et la prostacycline (PGI_2) (figure 4).

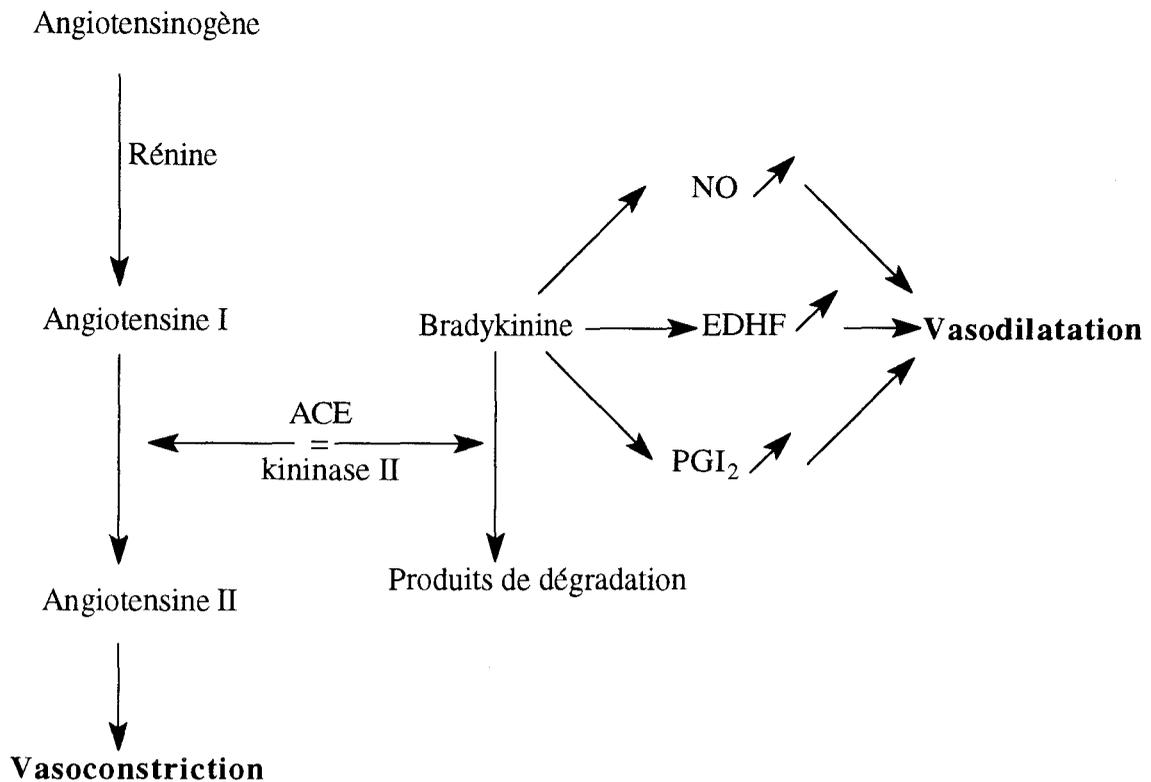


Figure 4 : non spécificité de l'enzyme de conversion

L'enzyme de conversion est donc "deux fois vasoconstrictrice":

- d'une part, en libérant un puissant agent vasoconstricteur : l'angiotensine II,
- d'autre part, en stimulant la dégradation d'un puissant agent vasodilatateur : la bradykinine qui, elle-même, est capable de favoriser la formation de prostaglandines vasodilatatrices.

I.2.4. Les angiotensines

L'angiotensine II, principal effecteur du système rénine angiotensine, a une demi-vie brève (inférieure à une minute) car elle est rapidement dégradée en fragments inactifs par des angiotensinases : enzymes protéolytiques (aminopeptidases, endopeptidases, carboxypeptidases) (Mentlein et Roos, 1996). Ainsi l'aminopeptidase A agit sur la partie N-terminale de l'angiotensine II pour former un heptapeptide, l'angiotensine III ([des Asp¹]AngII ; Ang (2-8)). Celui-ci peut être obtenu également par action de l'enzyme de conversion sur la [des Asp¹]AngI. L'angiotensine III possède une activité analogue à celle de l'angiotensine II sur la sécrétion d'aldostérone, mais seulement 20 à 30% de l'action vasoconstrictrice de l'angiotensine II.

L'angiotensine I inactive (et dans une plus faible mesure l'angiotensine II) peut aussi être métabolisée en angiotensine(1-7) par des métalloendopeptidases (muscle lisse vasculaire), des endopeptidases (circulation périphérique) et des polyendopeptidases (cerveau, endothélium vasculaire). Le profil pharmacologique de l'angiotensine(1-7) est distinct de celui de l'angiotensine II. Contrairement à l'angiotensine II, l'angiotensine(1-7) ne provoque

pas de vasoconstriction et ne stimule pas la libération d'aldostérone. En revanche elle stimule, tout comme l'angiotensine II, la libération de vasopressine ainsi que la biosynthèse des prostaglandines. De plus, elle exerce une action natriurétique et réduit la résistance vasculaire rénale (Dellipizzi et al., 1994).

L'angiotensine IV (Ang (3-8)) a également été mise en évidence. Elle peut provenir de l'hydrolyse de l'Ang III par les aminopeptidases B ou M qui sont localisées à la surface des cellules endothéliales ou des cellules musculaires lisses vasculaires. L'angiotensine IV peut également provenir de l'hydrolyse de l'angiotensine II par l'enzyme dipeptidyl aminopeptidase III qui retranche le dipeptide Asp-Arg (Bernier et al., 1996). L'angiotensine IV serait impliquée dans le contrôle de l'irrigation cérébrale et rénale (Wright et al., 1995) (cf. section II.3.3)

I.3. AUTRES VOIES DE SYNTHÈSE DE L'ANGIOTENSINE II

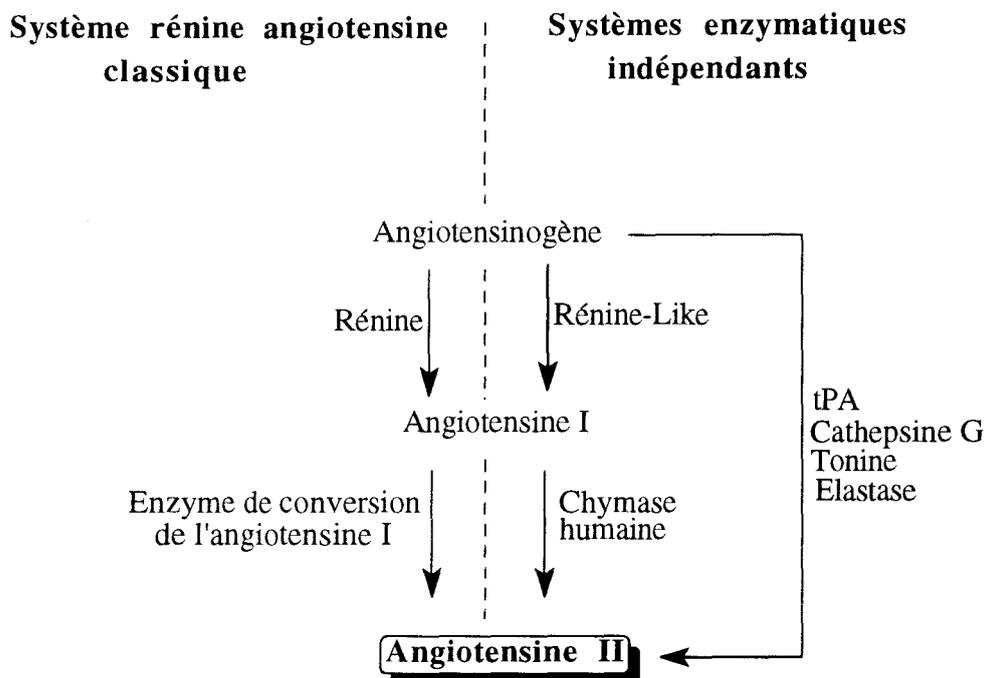


Figure 5 : voies multiples de synthèse de l'angiotensine II

Des voies enzymatiques indépendantes de la rénine et de l'enzyme de conversion peuvent contribuer à la synthèse d'angiotensine II dans de nombreux tissus (figure 5). Ainsi, une partie de la synthèse d'angiotensine II peut être maintenue malgré l'inhibition totale de l'enzyme de conversion. Des enzymes tissulaires dotées d'une action "rénine like" sont capables de transformer l'angiotensinogène en angiotensine I. D'autres enzymes tissulaires (le tPA, la cathepsine G, la tonine, l'élastase) ont démontré *in vitro* la capacité de transformer directement l'angiotensinogène en angiotensine II (Dzau et al., 1993).

Des enzymes tissulaires capables de transformer l'angiotensine I en angiotensine II ont également été identifiées dans le tissu aortique chez le singe, le chien et l'homme. Il s'agit de la CAGE (Chymostatin-sensitive Angiotensin II Generating Enzyme) et de la chymase. Cette dernière est présente dans de nombreux tissus et en particulier le coeur et les vaisseaux (Husain, 1993).

I.4. Système rénine angiotensine local (tissulaire)

La rénine circulante d'origine rénale agit sur l'angiotensinogène circulante d'origine hépatique pour produire l'angiotensine I dans le plasma ; l'angiotensine I circulante est convertie en angiotensine II par l'enzyme de conversion plasmatique et l'enzyme de conversion endothéliale pulmonaire. L'angiotensine II est ainsi distribuée *via* le courant sanguin vers ses organes cibles où elle induit une réponse pharmacologique. De nombreux arguments expérimentaux et cliniques ont permis de montrer qu'au système endocrine (système rénine angiotensine circulant) s'ajoutent plusieurs systèmes autocrines permettant une action de l'angiotensine II dans le tissu qui la fabrique (Vinson et al., 1995 ; Sernerer et al., 1996). Ces systèmes rénine angiotensine tissulaires peuvent régler des fonctions locales très variées : vasculaire, rénal, cardiaque, surrénalien et même cérébral. Au niveau vasculaire, par exemple, ce système rénine angiotensine tissulaire serait responsable d'un tonus vasculaire permanent et permettrait d'expliquer le fait que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion soient efficaces dans le traitement de l'hypertension artérielle alors même que l'activité rénine plasmatique est normale.

II. LES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II

II.1. HÉTÉROGÉNÉITÉ DES RÉCEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II

L'existence de différents récepteurs de l'angiotensine II a été postulée depuis de nombreuses années (Carey et al., 1978 ; Garcia-Sainz, 1987). Cette hétérogénéité a été mise en évidence à partir des différences de relations structure-activité et structure-affinité de l'angiotensine II ou de ses analogues peptidiques suivant les tissus. Des études de liaison réalisées à partir de radioligands ont permis de conforter cette hypothèse. De plus, des études biochimiques ont montré des différences dans les mécanismes effecteurs liés aux récepteurs de l'angiotensine II. L'identification de ligands peptidiques et non peptidiques sélectifs et très affins ont permis de caractériser au moins deux sous-types distincts de récepteurs de l'angiotensine II (Chiu et al., 1989 ; Whitebread et al., 1989).

La classification récente des récepteurs de l'angiotensine II (Bumpus et al., 1991 ; De Gasparo et al., 1995) en deux sous-populations distinctes, AT1 et AT2, est basée sur les caractéristiques de liaison de trois séries de ligands qui sont approximativement 1000 fois

plus sélectifs que les peptides endogènes pour chacun des deux sous-types (tableau 1). Ces trois séries chimiques sont les suivantes (figures 6 et 7) :

- dérivés de type biphenylimidazole (chef de file : Losartan) spécifiques du sous-types AT1
- dérivés de type tétrahydroimidazopyridine (chef de file : PD 123177) très sélectif du sous-type AT2
- CGP 42112 A, analogue peptidique dérivé de la structure de l'angiotensine II et très sélectif également du sous-type AT2

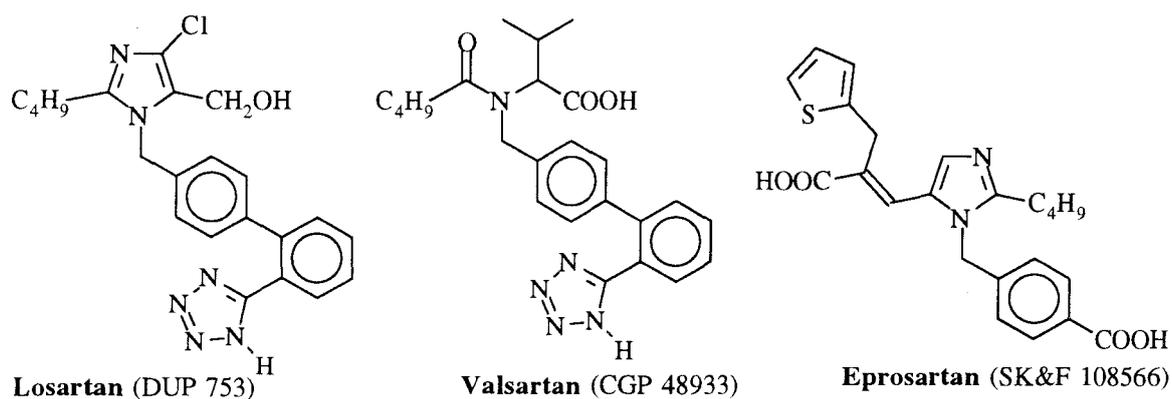


Figure 6 : structures de ligands spécifiques du sous-type AT1

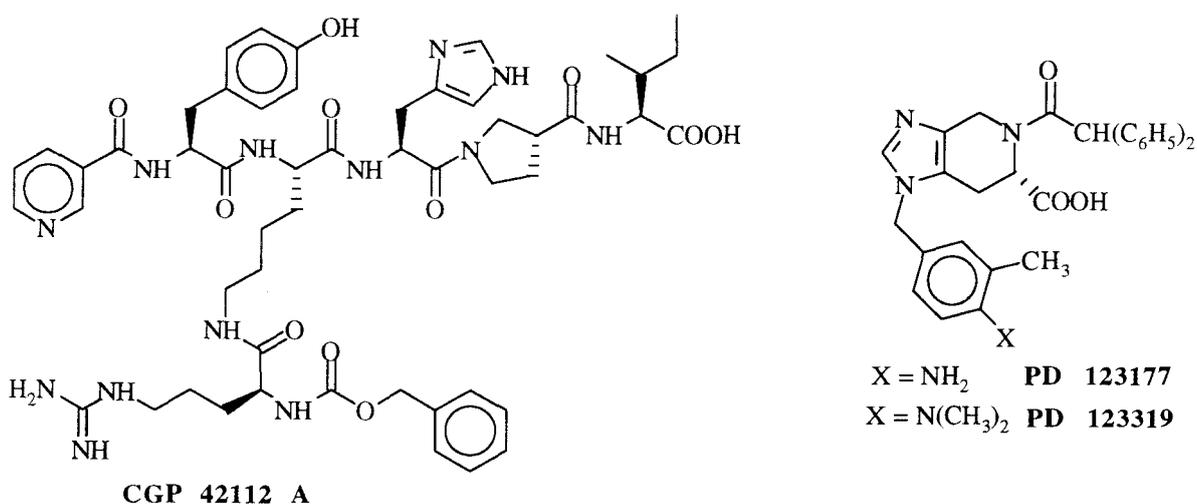


Figure 7 : structure de ligands spécifiques du sous-type AT2

Nomenclature	AT1	AT2
sous-types	rat, souris : AT1A, AT1B (récepteurs pharmacologiques)	?
localisation	AT1A : poumon, foie, cerveau, cellules musculaires lisses vasculaires AT1B : surrénales, hypophyse	tissus fœtaux, cerveau, tissus des organes reproducteurs, tissus lésés
affinité	Ang II > Ang III	Ang II = Ang III
sensibilité aux agents réducteurs	inactivation	insensibilité ou légère suractivation
agonistes sélectifs		CGP 42112
antagonistes sélectifs	Losartan (DUP 753) Valsartan (CGP 48933) Eprosartan (SK&F 108566)	
mécanismes de transduction	protéines G : Gi, Gq	protéine G ?
effecteurs principaux	PLC, PLA2, PLD, AC, canaux calciques	
gène	<i>at1</i>	<i>at2</i>
informations structurales	359 acides aminés 7 hélices transmembranaires	363 acides aminés 7 hélices transmembranaires

Tableau 1 : caractéristiques des récepteurs AT1 et AT2

II.2. DISTRIBUTION ET AFFINITÉ

Des méthodes conventionnelles de liaison et d'autoradiographie ont été utilisées pour mettre en évidence la distribution des récepteurs de l'angiotensine II dans plusieurs tissus d'espèces variées. Il a été rapidement établi que les sous-types AT1 et AT2 n'étaient pas distribués de façon uniforme dans ces différents tissus.

Plusieurs tissus ont une population presque homogène en récepteurs AT1 ou AT2 tandis que d'autres sont caractérisés par l'expression des deux sous-types (Bottari et al., 1993). Des tissus comme le foie, les poumons, le placenta, la vessie, le tractus gastro-intestinal et les cellules musculaires lisses vasculaires expriment uniquement le récepteur AT1. En revanche, d'autres tissus comme le pancréas, la médulosurrénale, la *granulosa* ovarienne et l'utérus

humain expriment principalement le sous-type AT2. D'autre part, les deux sous-types sont présents dans la corticosurrénale, le coeur, les artères rénales et l'utérus de rat (tableau 2).

Espèces	Tissus	%AT1	%AT2	
Rat	corticosurrénale	80	20	
	médulosurrénale	20	80	
	cellules PC12W	0	100	
	cortex rénal	>90	<10	
	utérus	60	40	
	cellules de la <i>granulosa</i> du follicule ovarien	0	100	
	coeur	>90	<10	
	aorte	60-70	30-36	
	muscle lisse vasculaire	100	0	
	foie	100	0	
	cerveau	40	56	
	Souris	cellules R3T3	0	100
	Lapin	corticosurrénale	>90	<10
cortex rénal		>90	<10	
utérus		40	60	
coeur		64	32	
aorte		>90	<10	
cerveau		>90	<10	
Singe	corticosurrénale	>90	<10	
	cortex rénal	45	58	
	coeur	71	28	
	aorte	61	37	
	cerveau	85	12	
Homme	utérus	0	100	
	muscle lisse vasculaire	100	0	
Bovin	cortex cérébelleux	0	100	

Tableau 2 : distribution relative des récepteurs AT1 et AT2 selon les espèces et les tissus

En général le sous-type AT1 est distribué dans les organes et les tissus impliqués dans la régulation de la pression sanguine et de la balance électrolytique. En revanche, la distribution du sous-type AT2 est plus difficile à corrélérer avec une fonction particulière. Les récepteurs AT2 sont en particulier surexprimés dans les tissus lésés, en particulier la néointima et la peau (Timmermans et al., 1993). Ils ont ainsi été impliqués dans l'action mitogène de l'angiotensine II (voir section III.5.1.). De plus, une forte densité de récepteurs

AT2 est détectée chez le fœtus et le nouveau-né dans la peau, les tissus conjonctifs, le diaphragme, le tractus gastro-intestinal et enfin le cerveau. Cette forte expression des récepteurs AT2 observée dans les premiers stades du développement régresse ensuite avec l'âge (Viswanathan et al., 1991 ; Ichiki et al., 1996 ; Lumbers E.R., 1995). L'IGF (Insulin like Growth Factor) serait en particulier impliqué dans ce mécanisme de régulation (Kambayashi et al., 1996 ; Delafontaine et al., 1996). C'est pour ces différentes raisons que l'on suggère une implication des récepteurs AT2 dans le contrôle de la croissance et de la prolifération cellulaire.

II.3. CLONAGE ET SYSTÈMES DE TRANSDUCTION DES RÉCEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II

II.3.1. Les récepteurs AT1

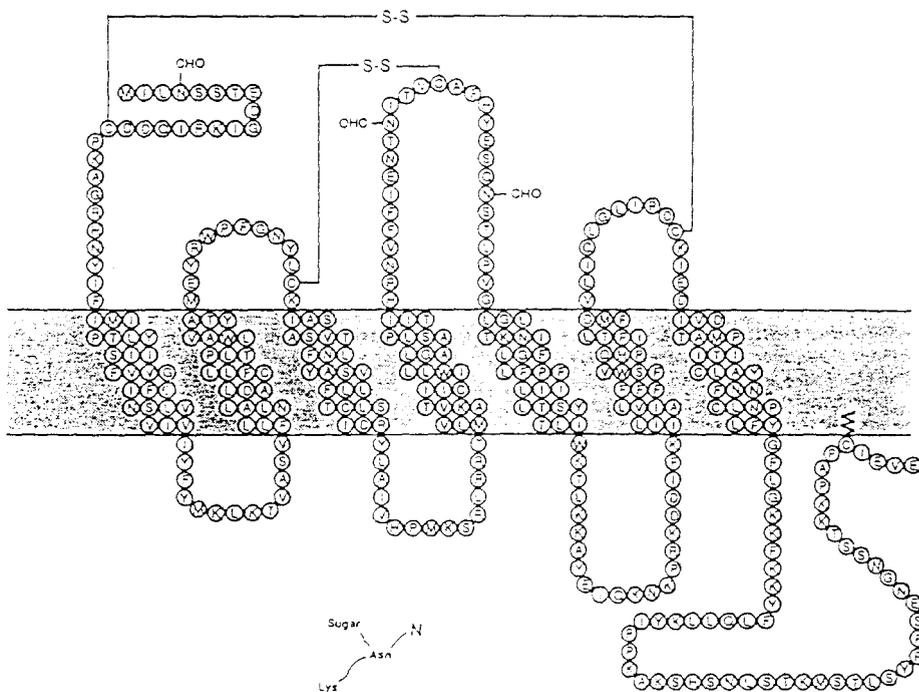
II.3.1.1. Clonage

Le récepteur AT1 a été le premier à être cloné (Sasaki et al., 1991 ; Murphy et al., 1991 ; Sandberg et al., 1992 ; Bergsma et al., 1992). Il contient 359 acides aminés et appartient à la super famille des récepteurs à sept segments transmembranaires couplés à une protéine G. La partie intracellulaire C terminale est riche en résidus sérine et thréonine qui constituent des sites de phosphorylation potentiels (figure 8). De plus, les résidus cystéine présents sur les boucles extracellulaires forment deux liaisons disulfure putatives dont la présence peut expliquer la sensibilité du récepteur AT1 aux agents réducteurs comme le dithiothréitol (DTT). Ces liaisons peuvent servir à relier les domaines transmembranaires dans une organisation tridimensionnelle qui permet la liaison du ligand. Trois sites de glycosylation sont présents (AsnXSer ou AsnXThr), un dans le domaine N-terminal et deux dans la deuxième boucle extracellulaire. Plusieurs sérines et thréonines sont également présentes dans la deuxième boucle extracellulaire et le domaine C-terminal cytoplasmique. Elles représentent des sites possibles de phosphorylation. Enfin la cystéine située dans le domaine C-terminal constitue un site probable de palmitoylation.

Les techniques de biologie moléculaire ont permis de confirmer l'existence d'isoformes du récepteur AT1. Ainsi, chez le rat et la souris, deux récepteurs distincts nommés AT1a et AT1b ont été identifiés (Martin et al., 1995) (remarque : la dénomination AT1a et AT1b correspond aux récepteurs recombinant définis par biologie moléculaire ; la dénomination AT1A et AT1B correspond aux récepteurs pharmacologiques). Ces deux isoformes possèdent 96% d'homologie dans la séquence en acides aminés. Le récepteur AT1a est exprimé principalement dans les cellules musculaires lisses vasculaires mais aussi dans le rein, l'hypothalamus, les poumons, le cœur, le foie et le placenta tandis que le récepteur AT1b est localisé dans la glande surrénale, l'organe subfornical et le cervelet.

Une autre isoforme appelée AT1c a également été identifiée dans les cellules musculaires lisses vasculaires et dans le mésangium de rat (Hahn et al., 1993). Contrairement à ce qui a été observé chez la souris et le rat, un seul gène codant pour le récepteur AT1 a été caractérisé dans le tissu humain et bovin.

a)



b)

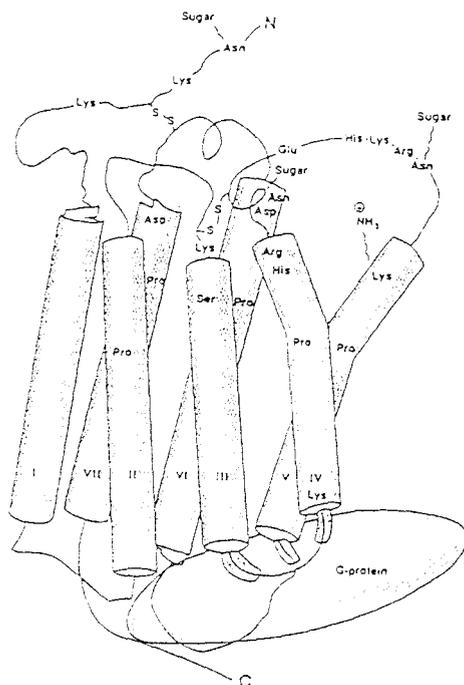


Figure 8 : a) séquence du récepteur AT1 de boeuf
b) organisation tridimensionnelle hypothétique du récepteur AT1 de rat (d'après Inagami et al., 1994)

II.3.1.2. Systèmes de transduction

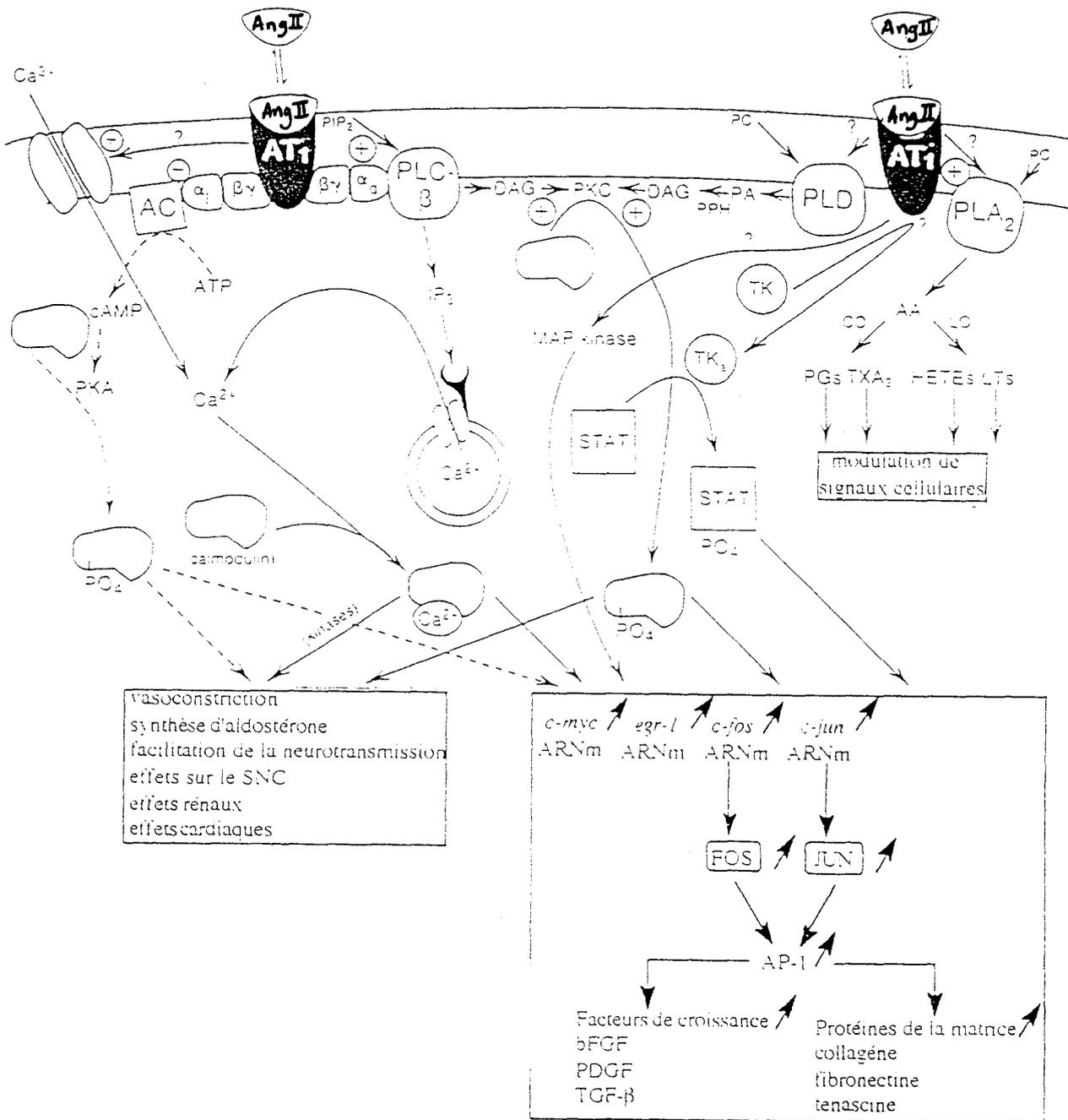


Figure 9 : mécanismes de couplage entre le récepteur AT1 et les différents systèmes effecteurs

"?" indique un mécanisme de couplage hypothétique ; AT1 : récepteur AT1 de l'angiotensine II ; Ang II : angiotensine II ; α₁, α_q, β, δ : sous-unités de la protéine G ; AC : adénylate cyclase ; PLCβ : phospholipase C-β ; PLD : phospholipase D ; PLA2 : phospholipase A₂ ; PIP₂ : phosphatidylinositol-4,5-diphosphate ; IP₃ : 1,4,5-inositoltriphosphate ; PC : phosphatidylcholine ; DAG : 1,2-diacylglycéril ; PA : acide phosphatidique ; PPH : phosphatidate phosphohydrolyse ; PKC : protéine kinase C ; PKA : protéine kinase A ; AA : acide arachidonique ; PG : prostaglandines ; HETEs : acides eicosatétraénoïques ; LTs : leucotriènes ; TXA₂ : thromboxane A₂ ; CO : cyclooxygénase ; LO : lipoxygénase ; AP-1 : facteur de transcription ; TK : tyrosine kinase ; Stat : activateurs de transcription ; bFGF : basis fibroblast growth factor ; PDGF : platelet-derived growth factor ; TGF-β : transforming growth factor-β ; *c-fos*, *c-jun*, *c-myc*, *egr-1* : proto-oncogènes ; FOS, JUN : produits de l'expression des gènes de *c-fos* et *c-jun* respectivement.

Les récepteurs AT1 sont couplés à différents systèmes effecteurs par l'intermédiaire de protéines G (Timmermans et al., 1993 ; Lee et Severson, 1994).

La stimulation des récepteurs AT1 mène à l'activation *via* la protéine Gq de la phospholipase C β ; cette phospholipase C β est une enzyme membranaire qui hydrolyse le phosphatidyl-4,5-diphosphate (PIP₂) en inositol-1,4,5-triphosphate (IP₃) et en diacylglycérol (DAG). La production d'IP₃ peut également provenir de l'activation d'une phospholipase C- γ 1: cette activation se fait par un mécanisme de phosphorylation de tyrosines médié par l'angiotensine II ; une kinase cytoplasmique soluble, la Src, serait impliquée dans ce processus de phosphorylation (Bernstein et Marrero, 1996). L'IP₃ se lie à des récepteurs du réticulum sarcoplasmique. Cet événement provoque la libération de Ca²⁺ intracellulaire. Du Ca²⁺ supplémentaire entre dans la cellule par ouverture des canaux calciques localisés dans la membrane cellulaire (canaux calciques voltage-dépendants). Le Ca²⁺ se lie à la calmoduline et le complexe Ca²⁺/calmoduline active un certain nombre d'enzymes intracellulaires telles que l'ATPase et les kinases qui contribuent à la réponse cellulaire ultime.

L'augmentation du taux de DAG intracellulaire dérive de l'hydrolyse du PIP₂, mais également de l'action d'une phospholipase D. Cette phospholipase D hydrolyse la phosphatidylcholine pour générer l'acide phosphatidique qui est alors transformé en DAG par la phosphatidate phosphohydrolase. L'activation de protéine kinases C (PKC) par le DAG mène à la phosphorylation de protéines clés, élément qui contribue également à la réponse biologique.

L'activation du récepteur AT1 provoque aussi la stimulation de la phospholipase A2 (peut être *via* augmentation du taux de calcium intracellulaire et de l'activité des PKC) qui métabolise la phosphatidylcholine en acide arachidonique. L'acide arachidonique est ensuite métabolisé en prostaglandines et en thromboxane A₂ par la cyclooxygénase et en acide hydroxyeicosatétraénoïque et leucotriènes par la lipoxygénase. Les métabolites de l'acide arachidonique modifient la réponse cellulaire en activant les récepteurs présents à la surface de leurs propres cellules. Dans quelques types cellulaires, l'activation du récepteur AT1 diminue le taux d'AMP cyclique intracellulaire par inhibition de l'adénylate cyclase (AC). Cet effet, qui est médié par une protéine G inhibitrice (Gi), réduit l'activité de la protéine kinase A (PKA) et empêche ainsi la phosphorylation de certains substrats.

L'activation des récepteurs AT1 stimule également la croissance cellulaire et spécialement la croissance des cellules musculaires lisses vasculaires et cardiaques (voir également section III.5.1.). Ces effets sont médiés en partie par l'activation d'une cascade complexe de protéine kinases (sérine kinases, thréonine kinases) incluant Raf-1 et les MAP (Mitogen Activated Protein) kinases. Ces MAP kinases transmettent des signaux mitogènes aux molécules effectrices telles que les proto-oncogènes, en particulier *c-fos* et *c-jun*. FOS et JUN, les produits codant pour les proto-oncogènes *c-fos* et *c-jun* forment un hétérodimère (appelé AP-1) qui régule la transcription d'un certain nombre de gènes impliqués dans la croissance cellulaire, à savoir les gènes codant pour les facteurs de croissance et les protéines

de la matrice extracellulaire. L'angiotensine II peut ainsi stimuler l'expression de facteurs prolifératifs (PDGF, bFGF) et anti-prolifératifs (TGF β) ; la balance entre ces facteurs est un déterminant de l'action hypertrophique de l'angiotensine II dans une population cellulaire déterminée (Riordan, 1995). L'angiotensine II active également, *via* divers mécanismes, le système de transduction associé à IGF-I (Insulin-like Growth Factor I), facteur de croissance impliqué dans la régulation de la croissance, du métabolisme et de la différenciation cellulaire. Cette activation est nécessaire aux effets promoteurs de croissance de l'angiotensine II sur les muscles lisses vasculaires (Delafontaine et al., 1996).

Des études récentes suggèrent également que l'activation des récepteurs AT1 par l'angiotensine II provoque la phosphorylation d'un certain nombre de protéines (phosphorylation des résidus tyrosine) selon un mécanisme similaire à celui rencontré avec les récepteurs des cytokines. Ce mécanisme implique l'activation de différentes kinases (comme celles de la famille Src ou encore les kinases JAK2 et TYK2). La phosphorylation médiée par l'angiotensine II de JAK2 et TYK2 provoque alors la phosphorylation de substrats protéiques nommés STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) (STAT₁, STAT₂, STAT91), facteurs de transcription impliqués à nouveau dans la surexpression de certains proto-oncogènes (Bhat et al., 1994 ; Bernstein et Marrero, 1996 ; Regitz-Zagrosek et al., 1996 ; Schieffer et al., 1996).

Remarque : les études de mutagénèse dirigée des récepteurs AT1 de l'angiotensine II seront abordées dans la section VI du chapitre II.

II.3.2. Les récepteurs AT2

II.3.2.1. Clonage

Le récepteur AT2 a été cloné dans un premier temps chez le fœtus de rat et dans une lignée cellulaire PC12W (Mukoyama et al., 1993 ; Kambayashi et al., 1993) puis chez l'homme et la souris (Nakajima et al., 1993 ; Martin et al., 1994). Il possède une structure à sept segments transmembranaires mais les résultats concernant son couplage ou non à une protéine G sont encore contradictoires : les premières études ont montré que la liaison du ligand n'était pas affectée en présence d'analogues non hydrolysables du GTP, suggérant une absence de couplage du récepteur AT2 à une protéine G (Bottari et al., 1992). En revanche, d'autres études ont démontré qu'une protéine G était impliquée dans la modulation de canaux potassiques par les récepteurs AT2 ou dans l'inhibition de l'activité d'une phosphotyrosine phosphatase (Takahasi et al., 1994).

Du point de vue structural, le récepteur AT2 est une protéine de 363 acides aminés qui possède 32 à 34% d'homologie avec le récepteur AT1. Elle contient quatorze cystéines et cinq sites de N-glycosylation potentiels localisés exclusivement dans le domaine hydrophile N-terminal (figure 10).

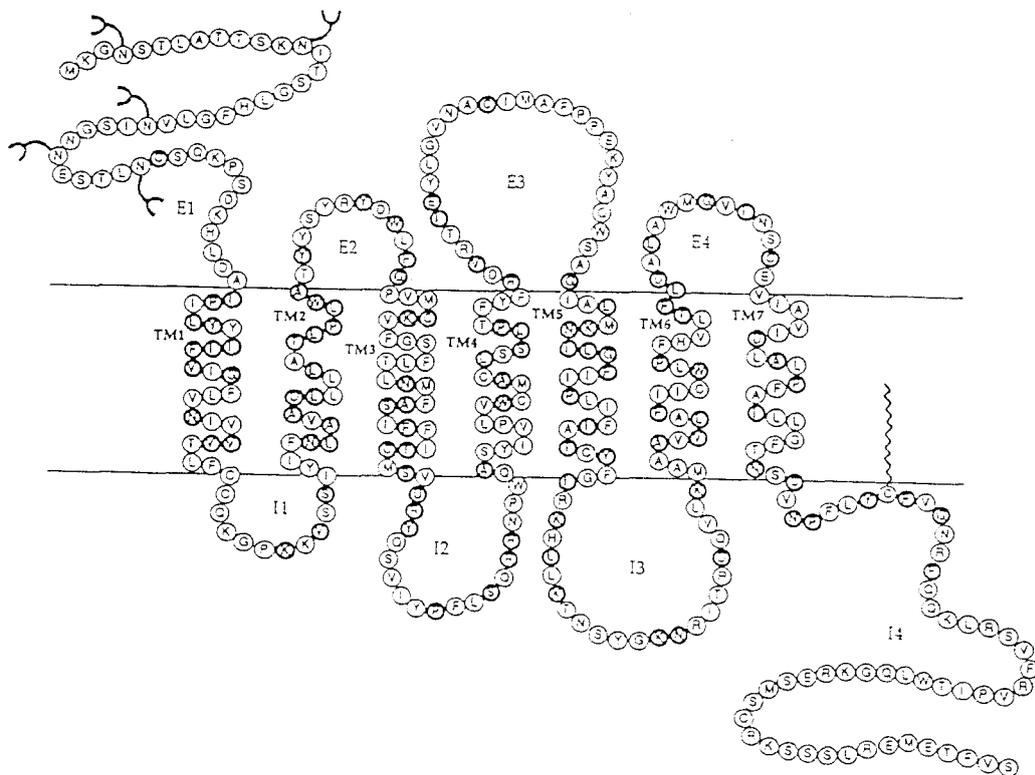


Figure 10 : séquence du récepteur AT2 humain (d'après Nahmias et Strosberg, 1995)

II.3.2.2. Systèmes de transduction

Les mécanismes de couplage entre le récepteur AT2 et divers systèmes effecteurs ne sont pas encore connus avec certitude et seules diverses hypothèses peuvent actuellement être avancées (Regitz-Zagrosek et al., 1996). Bottari et ses collaborateurs ont en particulier montré que, dans les cellules PC12W qui expriment uniquement le récepteur AT2, l'angiotensine II inhibe l'activité guanylate cyclase, ce qui se traduit par une diminution du taux de GMP cyclique (Bottari et al., 1992). Cet effet n'est altéré ni par un inhibiteur de phosphodiesterase non sélectif ni par un antagoniste AT1 (Losartan). En revanche, il peut être inhibé par un inhibiteur de phosphotyrosine phosphatase (PTPase). Ces observations suggèrent donc que le récepteur AT2 est lié à une PTPase. Ces résultats n'ont cependant pas été confirmés par des études similaires réalisées à partir de récepteurs AT2 recombinants (Mukoyama et al., 1993 ; Kambayashi et al., 1993). D'autres études réalisées à partir de cellules NG-108-15 (lignées

cellulaires de neuroblastomes) montrent en revanche que la stimulation du récepteur AT2 mène à une inhibition des courants calciques de type T, selon un mécanisme encore inconnu (Regitz-Zagrosek et al., 1996).

II.3.3. Autres récepteurs

D'autres types de récepteurs ont été identifiés à partir de diverses lignées cellulaires.

Le récepteur AT3 a été isolé de lignées cellulaires de neuroblastomes de souris (neuro-2a). Ce récepteur reconnaît l'angiotensine II mais n'a aucune affinité pour les ligands non peptidiques de type AT1 (Losartan) ou AT2 (PD123319). Des analogues du GTP n'affecte pas la liaison de l'angiotensine II ; de plus, le DTT inhibe seulement partiellement la liaison de l'angiotensine II ce qui suggère que les ponts disulfure ne jouent pas un rôle essentiel dans le maintien de la structure fonctionnelle du site de liaison.

Un récepteur AT atypique nommé AT4 a été isolé à partir de membranes surrénales de bovin. Il lie avec une faible affinité l'angiotensine II et l'angiotensine (1-7) et avec une haute affinité ($K_i < 1$ nM) l'angiotensine (3-8) encore appelée angiotensine IV. Le Losartan, le CGP 42112A et le PD 123177 n'ont aucune affinité pour ce récepteur. D'autres études ont montré que le récepteur AT4 est présent dans un grand nombre de tissus incluant le coeur, les surrénales, le muscle lisse vasculaire, l'endothélium, le rein, le côlon, la prostate et le cerveau de plusieurs espèces animales dont l'homme, le singe, le boeuf, le cobaye, le lapin et le rat. La structure moléculaire du récepteur AT4, son mécanisme de transduction et les seconds messagers intracellulaires engendrés lors de son activation sont actuellement inconnus (Bernier et Guillemette, 1996).

III. PROPRIETES PHYSIOLOGIQUES DE L'ANGIOTENSINE II

III.1. INTRODUCTION

Depuis longtemps, il est admis que le système rénine angiotensine joue un rôle majeur dans le contrôle de la pression artérielle à court et à long terme. L'angiotensine II joue un rôle prépondérant dans cette régulation. Cette hormone constitue en effet un élément important de la physiopathologie de l'hypertension artérielle et un facteur constant de la genèse des lésions vasculaires et cardiaques. La régulation de la pression artérielle dépend en permanence de l'équilibre entre deux classes de systèmes, les uns hypotenseurs, les autres hypertenseurs. Les divers effets de l'angiotensine II concourent à une élévation de la pression artérielle. L'angiotensine II exerce d'une part une réponse pressive rapide due à une augmentation des résistances périphériques totales. Cette réponse aide à maintenir à un taux constant la pression sanguine au cours d'événements hypotenseurs (perte de sang, vasodilatation). L'angiotensine II est également capable d'exercer une réponse pressive faible qui aide à stabiliser la pression

sanguine à long terme. D'autre part, l'angiotensine II peut altérer de manière significative la morphologie du système cardio-vasculaire. La figure 11 résume les effets majeurs de l'angiotensine II, à savoir ses effets sur la résistance périphérique totale, sur la fonction rénale et sur la structure cardio-vasculaire et les mécanismes qui les régulent.

III.2. EFFETS DE L' ANGIOTENSINE II SUR LA RÉSISTANCE PÉRIPHÉRIQUE TOTALE ET LA PRESSION ARTÉRIELLE

L'angiotensine II augmente la résistance périphérique totale et la pression artérielle par des effets directs et indirects sur les vaisseaux sanguins.

III.2.1. Vasoconstriction directe

L'angiotensine II est un très puissant agent vasoconstricteur approximativement 40 fois plus puissant que la noradrénaline à doses équimolaires. Cette vasoconstriction intéresse surtout les artérioles précapillaires. Ce mécanisme direct qui est prépondérant est médié par les récepteurs AT1 localisés sur les cellules musculaires lisses vasculaires.

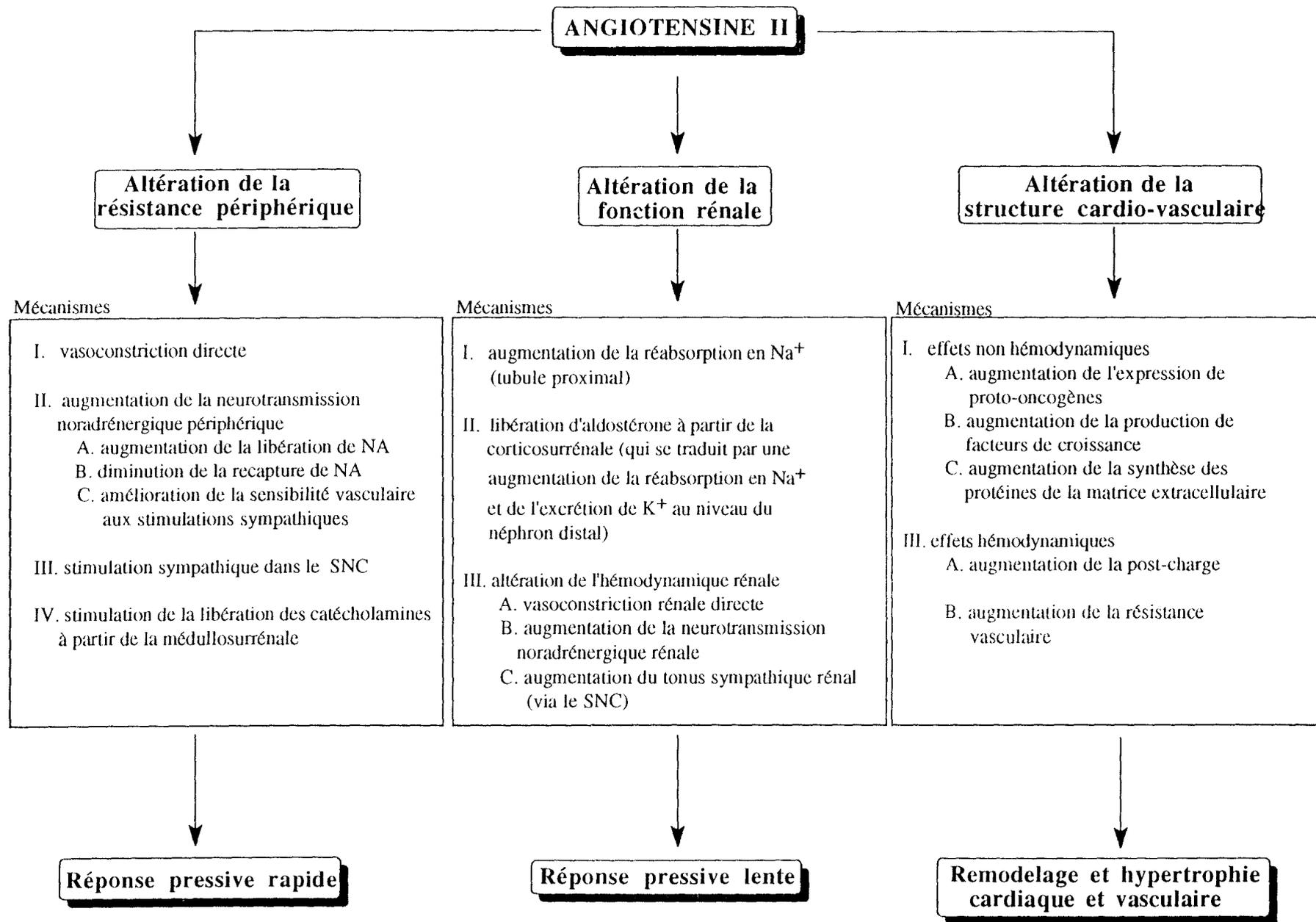
III.2.2. Action sur le système neurovégétatif périphérique

L'angiotensine II exerce une stimulation sympathique participant aux effets vasoconstricteurs et inotropes positifs. En effet, elle facilite la neurotransmission noradrénergique en augmentant la libération de noradrénaline à partir des terminaisons nerveuses sympathiques, en inhibant la recapture de noradrénaline dans les terminaisons nerveuses et en améliorant la réponse vasculaire à la noradrénaline (action facilitatrice de l'angiotensine II sur les transmissions ganglionnaires) (Minatoguchi et Majewski, 1994).

III.2.3. Effets sur le système nerveux central

Par action centrale, l'angiotensine II peut augmenter le tonus sympathique. Elle ne passe pas la barrière hémato-encéphalique et agit sur des zones non protégées par cette barrière : *area postrema* au niveau bulbaire et zones périventriculaires (Muratani et al., 1996). Le système nerveux central peut également être affecté directement par l'angiotensine II formée à l'intérieur du cerveau ; l'hormone joue alors le rôle de neurotransmetteur ou neuromodulateur (Bunnemann et al., 1993).

Figure 1 : principaux effets de l'angiotensine II (d'après Hardman et al., 1995)



III.3. EFFETS DE L'ANGIOTENSINE II SUR LA FONCTION RÉNALE

L'angiotensine II régule différentes fonctions qui vont conduire à une rétention hydrosodée et ainsi à une augmentation de la volémie.

III.3.1. Effets directs sur la réabsorption de Na⁺

De très faibles concentrations d'angiotensine II sont capables d'augmenter l'activité de l'échangeur Na⁺/H⁺ présent sur les cellules épithéliales du tube contourné proximal.

III.3.2. Libération d'aldostérone à partir de la corticosurrénale

L'angiotensine II stimule la synthèse et la sécrétion d'aldostérone à partir de la zone glomérulée de la corticosurrénale (Breidert et al., 1996). Une importante libération d'aldostérone est obtenue même avec des concentrations très faibles d'angiotensine II (concentrations ne permettant pas d'observer un quelconque effet hypertenseur). L'aldostérone agit alors sur les tubules collecteurs et distaux en provoquant la rétention de Na⁺ et l'excrétion de K⁺ et de H⁺. L'effet stimulant de l'angiotensine II sur la synthèse et la libération d'aldostérone est augmenté dans les conditions d'hyponatrémie ou d'hyperkaliémie. De telles variations de sensibilité sont expliquées par l'altération du nombre de récepteurs de l'angiotensine II des cellules de la zone glomérulée.

III.3.3. Altération de l'hémodynamique rénale

Injectée à faible dose dans l'artère rénale, l'angiotensine II provoque une diminution importante du flux sanguin rénal accompagnée d'une diminution moins importante et non proportionnelle de la filtration glomérulaire (maintien relatif de la filtration glomérulaire lié à une vasoconstriction prépondérante de l'artériole efférente). A faible dose, l'angiotensine II se comporte ainsi comme une substance anti-diurétique et anti-natriurétique. A forte dose, la stimulation de la sécrétion d'aldostérone majore la réabsorption de Na⁺ et l'excrétion de K⁺. L'angiotensine II peut exercer des effets opposés sur le taux de filtration glomérulaire :

1- constriction des artérioles afférentes qui réduit la pression intraglomérulaire et tend à réduire le taux de filtration glomérulaire.

2- constriction des artérioles efférentes qui augmente la pression intraglomérulaire et tend à augmenter le taux de filtration glomérulaire.

Le résultat de ces effets opposés sur le taux de filtration glomérulaire dépend de l'état physiologique. Dans des conditions normales, le taux de filtration glomérulaire est faiblement réduit par l'angiotensine II ; cependant, au cours d'une hypotension artérielle rénale, les effets

de l'angiotensine II sur l'artériole efférente prédominant, ce qui aboutit dans ces conditions particulières à une augmentation du taux de filtration glomérulaire.

III.4. EFFETS DE L'ANGIOTENSINE II SUR LA FONCTION CARDIAQUE (Dostal et Baker, 1993)

Ces effets sont complexes associant :

- des effets directs : effets inotropes positifs sur le muscle cardiaque qui sont médiés principalement par le récepteur AT1.

- des effets indirects représentés par :

- une augmentation de l'inotropisme liée à la stimulation sympathique. L'angiotensine II exerce en effet une action facilitatrice sur l'activité nerveuse sympathique cardiaque (augmentation de la libération de neurotransmetteurs à partir des terminaisons nerveuses sympathiques). Elle inhibe également le processus de recapture des neurotransmetteurs au niveau préjonctionnel et stimule la biosynthèse des catécholamines.

- une bradycardie réflexe due à la stimulation de l'arc baroréflexe en réponse à une augmentation de la pression artérielle. Cet effet responsable d'une diminution du débit cardiaque serait médié par des récepteurs AT1 de l'*area postrema*.

- une augmentation du travail cardiaque (malgré la bradycardie réflexe) liée à l'augmentation de la post-charge (augmentation des résistances artérielles périphériques et de la pression artérielle).

III.5. EFFETS DE L'ANGIOTENSINE II SUR LA STRUCTURE CARDIO-VASCULAIRE

Plusieurs maladies cardio-vasculaires sont accompagnées par des modifications de la morphologie du coeur et/ou des vaisseaux sanguins et ces changements structuraux posent un risque accru de morbidité et de mortalité. Ces altérations pathologiques dans les structures cardio-vasculaires peuvent impliquer l'hypertrophie (augmentation de la masse tissulaire) et/ou le remodelage (redistribution de la masse tissulaire à l'intérieur d'une structure) :

- augmentation du rapport paroi/lumen dans les vaisseaux sanguins : phénomène associé à l'hypertension

- hypertrophie concentrique cardiaque également associée à l'hypertension.

- hypertrophie excentrique cardiaque et fibrose cardiaque associées à l'insuffisance cardiaque chronique et à l'infarctus du myocarde.

- épaississement de la surface intimale de la paroi des vaisseaux sanguins (associé à l'athérosclérose et au processus d'angioplastie coronaire).

Ces variations dans la structure cardio-vasculaire sont dues à des processus de migration, de prolifération (hyperplasie) et d'hypertrophie cellulaire et également à une stimulation de la synthèse des composants de la matrice extracellulaire. Les cellules

impliquées dans ces phénomènes sont les cellules musculaires lisses vasculaires, les myocytes cardiaques et les fibroblastes.

III.5.1. Effets cellulaires directs de l'angiotensine II sur la structure cardio-vasculaire

Les effets trophiques tissulaires de l'angiotensine II ont été clairement mis en évidence (Pinto et al., 1995 ; Struijker-Boudier et al., 1995 ; Sadoshima et Izumo, 1993b) :

- l'angiotensine II stimule la migration (Dubey et al., 1995), la prolifération (Daemen et al., 1991) et l'hypertrophie (Itoh et al., 1993) des cellules musculaires lisses vasculaires.
- elle stimule la synthèse des composants de la matrice extracellulaire par les cellules musculaires lisses vasculaires (Scott-Burden et al., 1990).
- elle provoque l'hypertrophie des myocytes cardiaques (Baker et al., 1992).
- elle stimule la synthèse des composants de la matrice extracellulaire par les fibroblastes cardiaques (Crawford et al., 1994). Elle a ainsi été impliquée dans le processus de fibrose cardiaque, phénomène associé à l'hypertrophie des myocytes, à la nécrose ou aux processus d'inflammation (Brecher, 1996 ; Dostal et al., 1996 ; Brilla et al., 1995).

Mécanisme d'action (cf. section II.3.1.2.) :

L'angiotensine II exerce ses différents effets trophiques en induisant l'expression de proto-oncogènes. Les protéines codées par ces proto-oncogènes se combinent pour former un complexe qui altère l'expression de plusieurs gènes impliqués dans la stimulation de la croissance cellulaire et dans la synthèse de diverses protéines (en particulier les protéines de la matrice extracellulaire comme le collagène, la fibronectine et la ténascine) (Sadoshima et Izumo, 1993a). De nombreux travaux mettent aussi en évidence l'action de l'angiotensine II sur l'expression de divers facteurs de croissance : PDGF (Platelet Derived Growth Factor), bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) et TGF β (Transforming Growth Factor- β) (Itoh et al., 1993).

III.5.2. Effets hémodynamiques de l'angiotensine II sur la structure cardio-vasculaire

De par ses effets sur la pré-charge (augmentation de la volémie due à une rétention hydrosodée) et sur la post-charge (diminution de la compliance artérielle, augmentation de la pression artérielle et des résistances vasculaires périphériques), l'angiotensine II contribue aussi aux processus d'hypertrophie cardiaque et de remodelage.

Remarque : rôle des récepteurs AT2 dans la fonction cardiaque

Les actions de l'angiotensine II sur la fonction cardiaque sont principalement régulées par les récepteurs AT1. Des effets propres à la stimulation des récepteurs AT2 ont cependant été mis en évidence (Regitz-Zagrosek et al., 1996). Le récepteur AT2 peut contrecarrer l'effet

promoteur de croissance de l'angiotensine II médié par le récepteur AT1. En effet la surexpression du récepteur AT2 est associée à l'atténuation de la formation de la néointima dans l'artère coronaire de rat. De plus le récepteur AT2 serait impliqué dans l'inhibition de la prolifération des cellules endothéliales. Le récepteur AT2 participerait également au contrôle de la pression sanguine, probablement par un mécanisme central. Il a ainsi été associé à l'inhibition de la réponse pressive de l'angiotensine II médiée par le récepteur AT1. Des données récentes obtenues à partir de modèles d'animaux transgéniques confirment ces hypothèses (Regitz-Zagrosek et al., 1996).

III.6. AUTRES ACTIONS DE L'ANGIOTENSINE II (Timmermans et al., 1993)

Au niveau du système nerveux central, l'angiotensine II agit *via* le récepteur AT1 pour stimuler la soif. Cette effet dipsogène peut faire partie du tableau clinique de certaines hypertensions artérielles avec sténose de l'artère rénale ou avec tumeur à rénine.

L'angiotensine II provoque également la libération par l'hypothalamus de l'hormone antidiurétique (ADH) encore appelée arginine-vasopressine. L'ADH dans le tube contourné distal et le tube collecteur sur la réabsorption d'eau ; cette réabsorption est fonction des besoins de l'organisme. Ces effets de l'angiotensine II sur la stimulation de la soif et sur la libération de vasopressine sont médiés par les récepteurs AT1. Ils seraient en revanche inhibés suite à la fixation de l'angiotensine II sur les récepteurs AT2 centraux (Höhle et al., 1995).

L'angiotensine II peut aussi agir sur le cycle reproducteur en stimulant la libération de la prolactine et de l'hormone lutéinisante à partir du lobe inférieur de la glande pituitaire. Ces effets seraient médiés par les deux sous-types AT1 et AT2.

L'angiotensine est également soupçonnée intervenir dans les processus de la mémoire, de l'apprentissage ou du comportement en interagissant avec de nombreux neurotransmetteurs (acétylcholine, acide γ -aminobutyrique (GABA), dopamine, sérotonine). Cet effet serait médié par les récepteurs AT1B du cortex cérébral ou de l'hippocampe. Le récepteur AT2 serait lui impliqué dans des fonctions motrices et sensorielles médiées par l'angiotensine II (Jöhren et al., 1995).

L'angiotensine II serait également impliquée *via* le récepteur AT2 dans les processus de différenciation des cellules neuronales mais également dans les processus de régénération de ces cellules après une lésion expérimentale (Meffert et al., 1996).

Il a enfin été montré que l'angiotensine II agit sur le système nerveux périphérique en contractant les muscles lisses non vasculaires de l'utérus et du tractus gastrointestinal (Timmermans et al., 1993).

IV. LES BLOQUEURS DU SYSTEME RENINE ANGIOTENSINE

Au cours des trois dernières décennies, de considérables efforts ont été consentis dans la synthèse d'inhibiteurs du système rénine-angiotensine. Le blocage pharmacologique de ce système peut se faire de trois façons différentes (figure 12) :

1. inhibition de la rénine.
2. inhibition de l'enzyme de conversion de l'angiotensine.
3. blocage par des antagonistes de l'action de l'angiotensine II sur ses récepteurs.

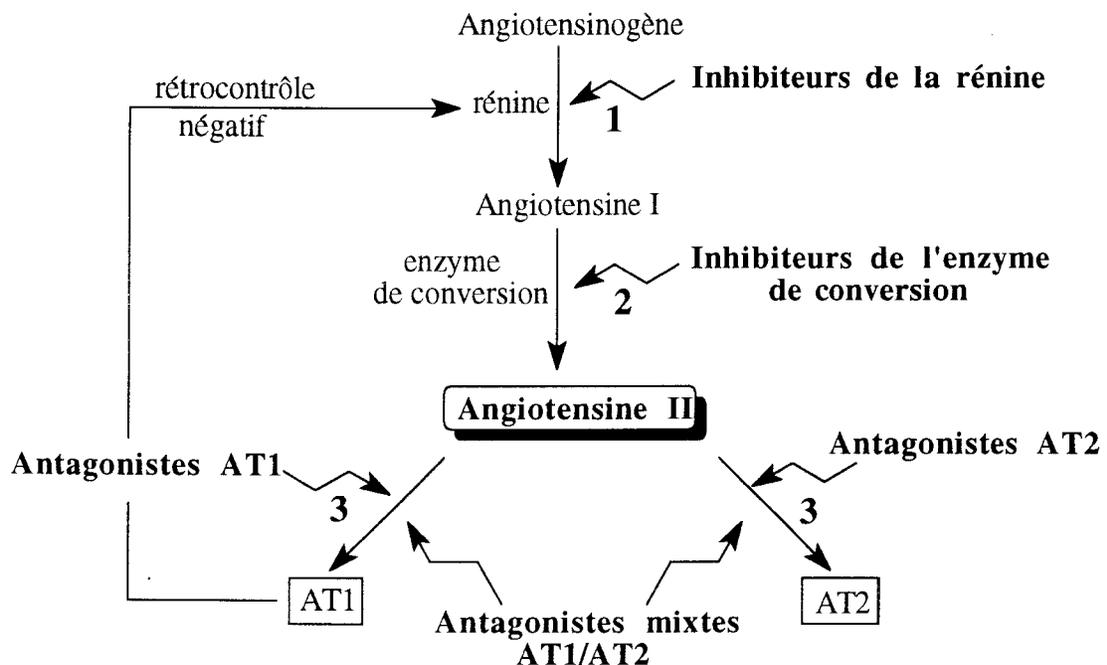


Figure 12 : cibles d'intervention pour bloquer le système rénine-angiotensine (d'après Wexler et al., 1996)

IV.1. LES INHIBITEURS DE LA RÉNINE

Au cours des années 80, de nombreux inhibiteurs de la rénine, dont le seul substrat est l'angiotensinogène, ont été synthétisés. Cependant, leur courte durée d'action et leur faible biodisponibilité ont conduit à un échec, peut-être transitoire, de cette tentative (Wood et Close, 1996). Les inhibiteurs de la rénine de structure peptidomimétique sont les plus prometteurs en raison en partie de leur stabilité face aux dégradations enzymatiques. Des études à partir de modèles animaux ont démontré que ces molécules étaient capables de réduire les pressions sanguines diastolique et systolique sans provoquer de tachycardie réflexe. Les effets cardio-vasculaires bénéfiques de ces composés ont été confirmés dans plusieurs études chez l'homme (Kleinert, 1995).

IV.2. LES INHIBITEURS DE L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion sont apparus à peu près au même moment (début des années 80) que les antagonistes du calcium en thérapeutique cardio-vasculaire (Ondetti et al., 1981), et se sont rapidement imposés comme des médicaments essentiels dans le traitement de l'hypertension artérielle et de l'insuffisance cardiaque. L'importance de cette classe médicamenteuse réside dans son action sur le système rénine-angiotensine mais aussi vraisemblablement dans ces actions au niveau d'autres systèmes régulateurs comme le système kalicréine-bradykinine. Parmi les produits commercialisés, on peut citer le Captopril (*Lopril*[®], *Captolane*[®]), l'Enalapril (*Rénitec*[®]) ou le Lisinopril (*Prinivil*[®], *Zestril*[®]) (figure 13).

En raison de la participation de l'enzyme de conversion dans la dégradation de la bradykinine et d'autres peptides actifs, certains effets secondaires de ces médicaments ont été observés dont le plus consistant par sa fréquence de survenue est la toux.

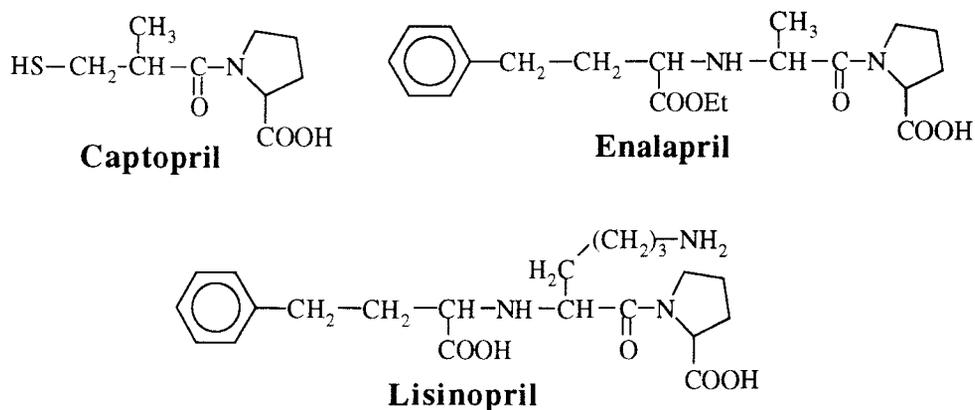


Figure 13 : structures chimiques d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion

IV.3. LES ANTAGONISTES DES RÉCEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II

Vers le milieu des années 80, l'inhibition de l'angiotensine II au niveau de ses récepteurs par des substances non peptidiques actives par voie orale est apparue comme la meilleure alternative. La découverte de la structure de l'angiotensine II a été suivie de la synthèse de plusieurs analogues peptidiques dont certains possédaient une activité antagoniste (Khosla et al., 1974). L'un d'entre eux, la Saralasin (figure 14), a été utilisé en clinique par voie intraveineuse pour faciliter le diagnostic de l'hypertension artérielle rénovasculaire. Toutefois, son utilisation dans le traitement de l'hypertension artérielle a été rendue impossible en raison de son absence de biodisponibilité par voie orale (liée à sa nature peptidique), de sa courte durée d'action et de son activité agoniste partielle qui a pu même être à l'origine de crises hypertensives.

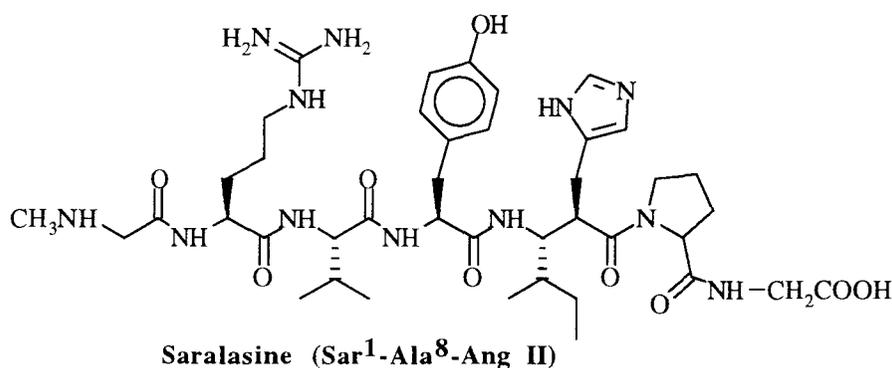


Figure 14 : la Saralaline ; antagoniste AT1, analogue peptidique de l'angiotensine II

En raison des découvertes concernant la multiplicité des effets de l'angiotensine II, et pour maintenir l'objectif de bloquer les récepteurs de cette hormone, la recherche s'est poursuivie vers des antagonistes de synthèse, actifs par voie orale. Cette recherche a abouti à la découverte du Losartan (*Cozaar*[®]), premier antagoniste sélectif des récepteurs de l'angiotensine II, actif par voie orale (Carini et al., 1991). Agissant en compétition avec l'angiotensine II, le Losartan est dénué d'activité agoniste partielle. Il subit une biotransformation avec la production d'un seul métabolite actif (EXP 3174) qui renforce son action (Nelson et al., 1995).

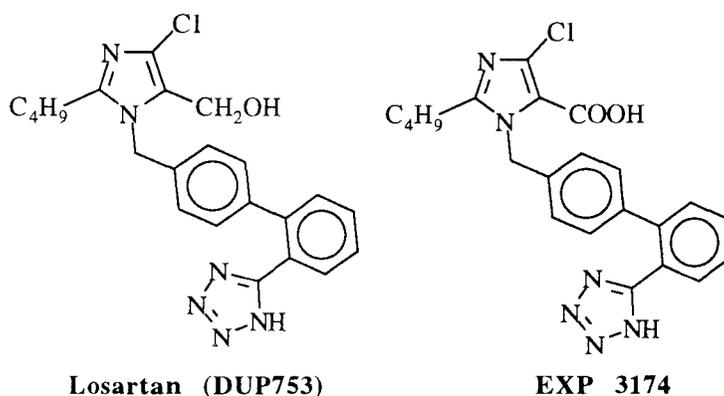


Figure 15 : structure chimique du Losartan et de son métabolite actif, le EXP 3174

Les études de pharmacologie animale ont montré que le Losartan et son métabolite actif inhibent toutes les actions importantes, physiologiquement induites par l'angiotensine II. Le Losartan a été commercialisé en France en 1995 pour le traitement de l'hypertension artérielle essentielle (Carr et Prisant, 1996).

V. PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES POUR LES ANTAGONISTES DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II

V.1. HYPERTENSION ARTÉRIELLE

On parle d'hypertension artérielle lorsque la mesure de la pression artérielle met en évidence une pression diastolique supérieure ou égale à 90 mmHg et/ou une pression systolique supérieure ou égale à 140 mmHg. La pression artérielle est la résultante directe du débit cardiaque et des résistances vasculaires périphériques. Le maintien de la pression artérielle dans des limites physiologiques est lié à des modifications au niveau du coeur, des vaisseaux de résistance (artères, artérioles), des vaisseaux de capacitance (veines, veinules) et de l'appareil juxtaglomérulaire rénal (à l'origine de la sécrétion de rénine). Le système sympathique régule le tout ; ainsi une augmentation du tonus sympathique provoque une augmentation du débit cardiaque avec augmentation des résistances artérielles périphériques, diminution de la compliance veineuse et stimulation du système rénine-angiotensine. Cette modulation sympathique est liée à deux mécanismes régulateurs :

- un mécanisme à court terme médié par l'arc baroréflexe qui va répondre au coup par coup aux modifications "instantanées" de la pression artérielle (figure 16).
- un mécanisme à moyen et long terme médié par le rein (implication du système rénine-angiotensine). Ce mécanisme a une inertie plus grande et va plutôt répondre aux variations de la volémie.

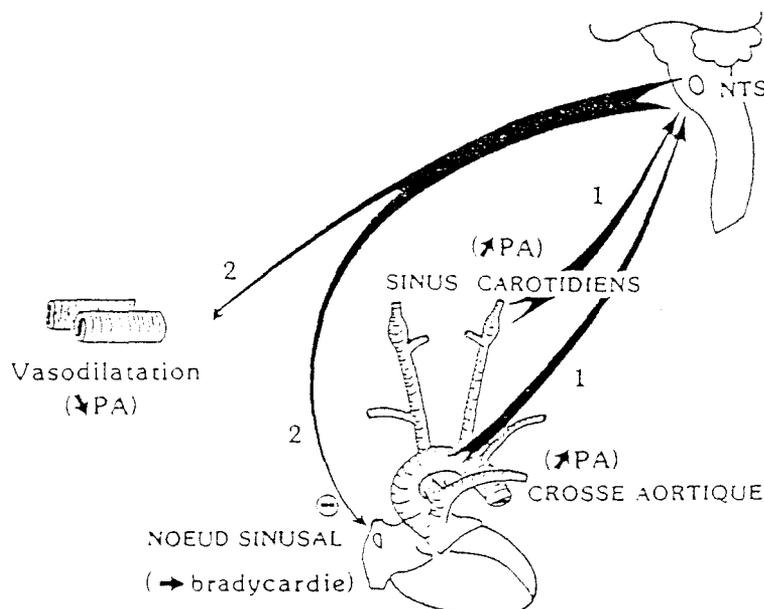


Figure 16 : rôle de l'arc baroréflexe dans la régulation de la pression artérielle (d'après Libersa et Caron, 1992) ; PA : pression artérielle ; NTS : noyau du tractus solitaire

Le traitement de l'hypertension artérielle a été transformé ces dernières années par l'apparition de nouvelles classes médicamenteuses qui ont incontestablement amplifié et diversifié l'arsenal thérapeutique. Aux diurétiques ont succédé les bêta-bloquants puis, depuis les années 1980, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion et les inhibiteurs des canaux calciques. De nombreux médicaments sont disponibles mais leur action n'est que partielle (tableau 3). Les inhibiteurs calciques s'opposent principalement à la composante vasoconstrictrice de l'hypertension artérielle, les diurétiques à la rétention hydrosodée, et les bêta-bloquants à la stimulation sympathique. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion en bloquant le système rénine-angiotensine agissent bien sur les trois composantes de l'élévation tensionnelle, mais ils ne réussissent à limiter qu'une partie de la production de l'angiotensine II, les voies de formation de cette hormone étant multiples (cf. section I.3.).

diurétiques	<ul style="list-style-type: none"> •diurétiques thiazidiques •diurétiques de l'anse •diurétiques épargneurs potassiques
médicaments diminuant le tonus sympathique	<ul style="list-style-type: none"> •bêta-bloquants •alpha-bloquants •antihypertenseurs centraux •ganglioplégiques
vasodilatateurs périphériques directs	<ul style="list-style-type: none"> •antagonistes du calcium •nitroprussiate de sodium •Dihydralazine •Diazoxide •Minoxidil
inhibiteurs de l'enzyme de conversion	<ul style="list-style-type: none"> •Captopril •Enalapril •Lisinopril
antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II	<ul style="list-style-type: none"> •Losartan

Tableau 3 : principaux agents antihypertenseurs

Les antagonistes de l'angiotensine II permettent de protéger plus sélectivement les effets tensionnels et cardio-vasculaires néfastes de l'angiotensine II. L'effet anti-hypertenseur du Losartan a été mis en évidence dans différents modèles expérimentaux (rat hypertendu rénal, rat spontanément hypertendu : SHR) (Timmermans et al., 1993); son efficacité est comparable à celle des inhibiteurs de l'enzyme de conversion (Mimran, 1995). La figure 17 illustre en particulier l'effet hypotenseur de la Saralazine et du Losartan chez des rats Sprague-Dawley après ligature de l'artère rénale gauche. La Saralazine entraîne un pic tensionnel, suivi d'une baisse de la pression artérielle. Ce pic initial traduit un effet agoniste

partiel qui n'est pas observé avec le Losartan. De plus, l'effet hypotenseur du Losartan est plus prolongé.

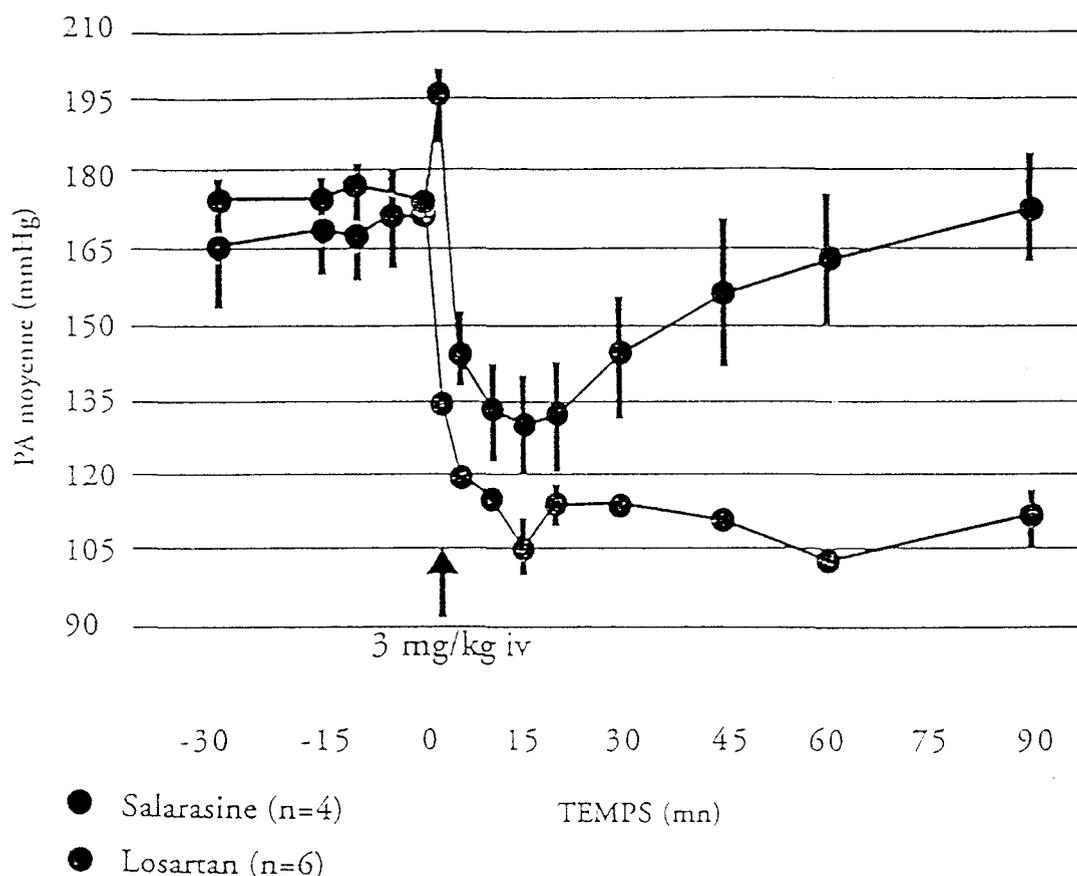


Figure 17 : effets hypotenseurs de la Saralazine et du Losartan chez des rats Sprague-Dawley après ligature de l'artère rénale gauche (d'après Mimran et al., 1995)

V.2. COMPLICATIONS DE L'HYPERTENSION ARTÉRIELLE

Dès l'installation d'une hypertension artérielle, les petites artères vont être le siège de profonds remaniements structuraux et fonctionnels. Ces remaniements artériolaires sont au début d'une cascade de mécanismes physiopathologiques qui vont toucher à terme l'ensemble du système cardio-vasculaire, pérenniser l'hypertension artérielle et favoriser l'installation de l'athérosclérose. Dans les petits vaisseaux, siège des résistances périphériques, les modifications s'exercent à la fois sur le diamètre de la lumière et sur l'épaisseur des parois vasculaires. Les modifications structurales et fonctionnelles artériolaires vont se répercuter à terme sur les gros troncs artériels. De la même façon, ces gros vaisseaux vont être le siège d'un profond remaniement tant sur le plan structural que fonctionnel.

Les conséquences vasculaires délétères de l'hypertension artérielle sont directes et indirectes. L'hypertension artérielle entraîne des lésions directes sur les organes cibles (cerveau, coeur, rein), responsables d'accidents vasculaires cérébraux hémorragiques, d'hypertrophie ventriculaire gauche, d'insuffisance cardiaque congestive ou de néphroangiosclérose. Les conséquences indirectes sont liées à l'athérosclérose : coronaropathies, accident vasculaire cérébral ischémique, artériopathie oblitérante des membres inférieurs.

L'étude de Framingham est la plus célèbre des enquêtes prospectives, qui ont toutes montré que l'hypertension artérielle est un facteur de risque cardio-vasculaire majeur (Mimran et al., 1995). Par rapport aux sujets normotendus, le risque de développer une pathologie cardio-vasculaire est significativement multiplié par 2,2 chez les hommes et 2,5 chez les femmes âgées de 35 à 64 ans dont la pression artérielle est supérieure ou égale à 160/90 mmHg. Ce risque est multiplié d'un facteur 1,8 chez les hommes et les femmes hypertendus âgés de 65 à 94 ans.

V.2.1. Insuffisance cardiaque

L'insuffisance cardiaque est généralement définie comme l'incapacité du coeur à fournir un débit cardiaque suffisant pour assurer les besoins énergétiques de l'organisme. Le déficit de la fonction pompe va entraîner une mauvaise irrigation périphérique (qui pourra elle-même avoir des conséquences pathologiques) et une congestion de la circulation en amont responsable des signes fonctionnels plus ou moins importants et des signes cliniques de l'insuffisance cardiaque congestive (oedème des membres inférieurs, hépatomégalie, oedème pulmonaire).

Dès l'apparition d'une altération de la fonction cardiaque, apparaissent des mécanismes d'adaptation qui, dans un premier temps seront bénéfiques, permettant au coeur de maintenir un débit cardiaque adapté aux besoins de l'organisme (au moins au repos) mais qui, dans un deuxième temps, auront des conséquences néfastes (Libersa et Caron, 1992).

On note ainsi une activation du tonus sympathique associée à une diminution de l'activité parasympathique. Chez tous les patients présentant un insuffisance cardiaque sévère, il y a augmentation des concentrations plasmatiques de rénine, d'angiotensine II, de vasopressine, de noradrénaline, d'adrénaline, de neuropeptide Y, d'endothéline-1, de dopamine et de TNF α (Tumor Necrosis Factor α). Ces différents médiateurs contribuent à l'augmentation de la vasoconstriction artérielle (Cohn, 1996).

Parmi les mécanismes d'adaptation neuro-hormonaux, il y a en particulier activation du système rénine-angiotensine. La diminution du débit cardiaque entraîne une diminution de la perfusion rénale responsable d'une sécrétion de rénine à l'origine de la formation d'angiotensine II, substance très vasoconstrictrice. Cette vasoconstriction d'abord bénéfique, permet initialement le maintien transitoire d'une pression de perfusion à peu près correcte au

niveau des organes nobles, mais devient vite néfaste en augmentant la post-charge, c'est-à-dire le travail cardiaque. Ces phénomènes contribuent ainsi à altérer davantage la fonction myocardique ce qui, en présence d'un tonus adrénergique élevé, va favoriser la survenue de troubles du rythme (aggravant encore le pronostic de l'insuffisance cardiaque) et créer un véritable cercle vicieux (figure 18).

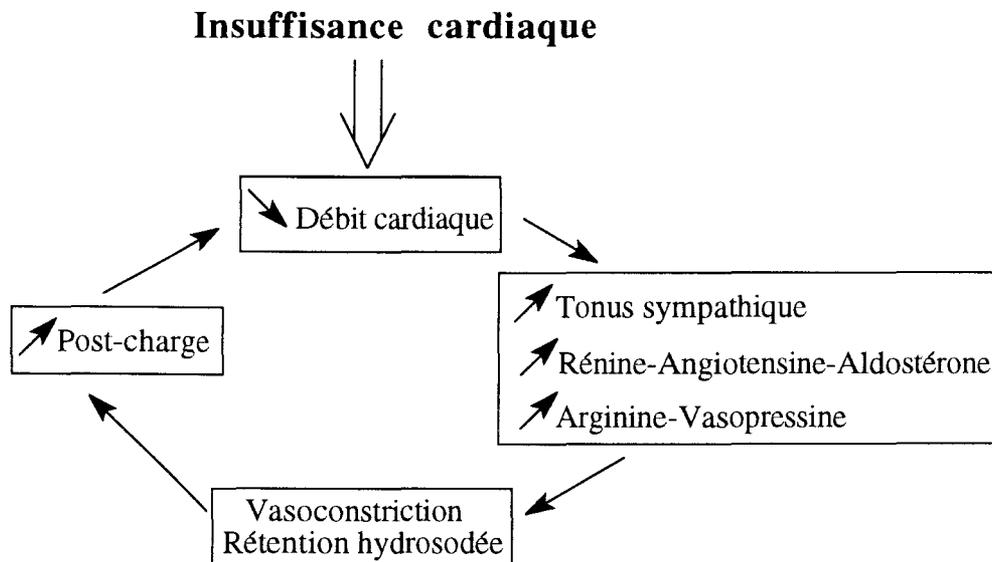


Figure 18 : mécanismes d'adaptation de l'insuffisance cardiaque

Plusieurs études cliniques ont déjà démontré l'efficacité des inhibiteurs de l'enzyme de conversion dans les cas d'insuffisance cardiaque congestive (Teerlink, 1996). Dans ces études, les IEC améliorent la qualité de vie et prolongent la durée de survie des patients en particulier dans le cas d'insuffisance cardiaque sévère. Les effets bénéfiques des antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II ont également été mis en évidence dans différents modèles animaux (Ishiyé et al., 1995). Des études comparatives réalisées à partir de 166 patients ont montré que le Losartan et le Captopril avaient des effets bénéfiques comparables dans le traitement à court terme d'insuffisance cardiaque modérée ou sévère (Dickstein et al., 1995). L'amélioration des paramètres hémodynamiques à court et moyen terme (12 semaines de traitement) par le Losartan administré par voie orale a également été confirmée par d'autres études cliniques (Crozier et al., 1995 ; Pitt et al., 1995).

V.2.2. Hypertrophie cardiaque et vasculaire

L'hypertrophie du myocarde (en particulier l'hypertrophie ventriculaire gauche) et des vaisseaux coronaires est à l'origine de diverses situations pathologiques telles que l'ischémie du myocarde et l'insuffisance cardiaque ventriculaire. Toutes les thérapies anti-hypertensives ne mènent pas à la régression de l'hypertrophie ventriculaire. Ainsi, contrairement aux

diurétiques, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion exercent des effets bénéfiques sur la prévention de l'hypertrophie induite par une hypertension.

L'implication de l'angiotensine II dans le développement de l'hypertrophie cardiaque a été clairement mise en évidence (Waeber et Brunner, 1996 ; Rosendorff, 1996) . On ne connaît pas à l'heure actuelle l'implication précise des récepteurs AT1 et AT2 dans cette action cardiaque de l'angiotensine II. Différents résultats contradictoires ont été publiés à ce sujet (Nozawa et al., 1996). Dans le cas des inhibiteurs de l'enzyme de conversion, il semble que la régression de l'hypertrophie soit expliquée au moins en partie par la réduction de la synthèse systémique et locale d'angiotensine II (Lawton et Paciorek, 1992).

Les antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II se montrent également efficaces dans la prévention et le traitement de l'hypertrophie ventriculaire (Ishiye et al., 1995). Sur le modèle de la surcharge mécanique du ventricule gauche consécutive à la ligature de l'aorte descendante chez le rat, le Losartan entraîne une régression de l'hypertrophie ventriculaire gauche égale ou supérieure à celle observée avec les inhibiteurs de l'enzyme de conversion quand ils lui sont comparés (Ruzicka et al., 1993). De plus la perfusion d'angiotensine II (7 et 14 jours) chez le rat Sprague-Dawley adulte est responsable d'une hypertrophie ventriculaire gauche prévenue par l'administration orale de Losartan , alors qu'un inhibiteur de l'enzyme de conversion (Enalapril) et un vasodilatateur (Hydralazine) capables de s'opposer à la réponse hypertensive sont sans effet sur le développement de l'hypertrophie cardiaque (Mimran, 1995).

Les effets de l'antagonisme de l'angiotensine II et de l'inhibition de l'enzyme de conversion sur l'hypertrophie ventriculaire gauche expérimentale chez l'animal paraissent différents. La persistance d'une synthèse intramyocardique d'angiotensine II malgré l'inhibition de l'enzyme de conversion pourrait expliquer cette différence.

V.2.3. Resténose

La resténose est une complication fréquente d'interventions chirurgicales telles que les angioplasties coronaires transluminales percutanées. Ces interventions sont effectuées fréquemment dans le cas d'angine de poitrine instable, d'altération de la fonction du ventricule gauche mais également dans le cas d'infarctus du myocarde. Sur 500 000 interventions de ce type réalisées chaque année aux Etats Unis, plus de 150 000 cas de resténose ont été enregistrés (Bauters et al., 1996).

Cette pathologie se traduit globalement par une prolifération intimale (formation de la néointima) qui provoque une occlusion partielle de l'artère traitée (Laurent et al., 1996 ; Meurice et al., 1996). La formation de la néointima se fait en trois étapes successives :

1. prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires dans la média (de 0 à 3 jours après l'intervention)

2. migration des cellules musculaires lisses vasculaires vers la néointima (3 à 5 jours après l'intervention)

3. prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires dans la néointima (5 à 14 jours après l'intervention)

De nombreux agents ont été utilisés pour prévenir ce phénomène multifactoriel. On peut citer les antagonistes des plaquettes, les anticoagulants, les hypolipémiants, les inhibiteurs de facteurs de croissance et également les inhibiteurs de l'enzyme de conversion. Cependant, les nombreuses études pharmacologiques cliniques n'ont pas montré une réduction significative de l'incidence de la resténose chez l'homme. Ces études cliniques n'ont donc pas confirmé les résultats encourageants obtenus à partir des modèles animaux (Bauters et al., 1996).

Le système rénine-angiotensine est impliqué dans ce phénomène de resténose (O'Brien et Schwartz, 1994). En effet l'angiotensine II active les processus de migration et de prolifération cellulaire et stimule également la synthèse des différents composants de la matrice extracellulaire. Dans les modèles expérimentaux de resténose chez l'animal, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion et les antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II inhibent de manière très significative la formation de la néointima après angioplastie (Prescott et Sawyer, 1993).

L'effet du Losartan sur la prolifération intimale après une lésion endothéliale expérimentale a été étudié en particulier sur l'artère carotide de rat. L'administration d'une perfusion continue de Losartan deux jours avant la création de la lésion endothéliale, puis pendant les deux semaines qui suivent, diminue de façon dose dépendante la prolifération intimale (Kauffman et al., 1991). L'avantage potentiel des antagonistes de l'angiotensine II tient également au fait qu'ils inhibent dans des modèles expérimentaux à la fois la migration et la prolifération cellulaires contrairement aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion qui agissent eux seulement sur la migration cellulaire (Prescott et al., 1991).

Le récepteur AT2 est impliqué dans le processus d'hyperplasie néointimale qui suit la lésion vasculaire. L'avantage des antagonistes AT2 ou des antagonistes mixtes AT1/AT2 dans la resténose n'a pas encore été mis en évidence (Hein et al., 1995).

V.2.4. Athérosclérose

L'hypertension est un facteur de risque majeur pour l'athérosclérose (Haller, 1996). En effet l'hypertension artérielle réalise un véritable vieillissement accéléré de la paroi : prolifération des fibres musculaires lisses, augmentation du contenu en collagène de la paroi. Ces modifications vasculaires vont à leur tour pérenniser la maladie hypertensive et favoriser l'installation de l'athérosclérose.

Le rôle du système rénine-angiotensine dans le processus d'athérosclérose n'est pas encore bien établi. Différents mécanismes ont été impliqués : la prolifération des cellules

musculaires lisses vasculaires stimulée par l'angiotensine II, l'activation de monocytes, la production de leucocytes chimioattractants ou l'inhibition de la libération de NO à partir de l'endothélium vasculaire. De plus, il a été montré que l'angiotensine II synthétisée dans les cellules endothéliales accélère le phénomène d'athérosclérose en favorisant l'adhésion des monocytes à l'endothélium vasculaire. Des antagonistes AT1 ou AT2 inhibent ce processus d'adhésion. D'autre part, les principales molécules d'adhésion connues (VCAM-1, Vascular Cell Adhesion Molecule-1 et ICAM-1, Intercellular Adhesion Molecule-1) ne sont pas impliquées dans ce phénomène. (Kim et al., 1996).

V.2.5. Autres applications cardiaques

V.2.5.1. Ischémie du myocarde

Cette pathologie résulte d'un déséquilibre, dans le myocarde, entre les besoins en oxygène et en substrats métabolisables et les apports. L'angiotensine II, par son puissant pouvoir vasoconstricteur des artères systémiques et coronaires et par sa capacité à stimuler le système nerveux sympathique, peut aggraver l'ischémie du myocarde en réduisant l'apport en oxygène, tout en augmentant les besoins *via* un accroissement des effets inotropes et de la post-charge. De multiples études réalisées à partir de modèles animaux et chez l'homme ont montré les effets bénéfiques des inhibiteurs de l'enzyme de conversion et des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II dans le traitement de l'ischémie du myocarde.

V.2.5.2. Infarctus du myocarde

Des études ont montré que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion et les antagonistes de l'angiotensine II réduisaient l'hypertrophie cardiaque dans des modèles animaux d'infarctus du myocarde (Kanda et al., 1995). La prescription d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion ou d'antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II dans la phase aiguë ou dans les jours suivant un infarctus du myocarde semble envisageable pour réduire les risques de récurrence et de mortalité. L'amélioration des paramètres hémodynamiques et l'action sur le remodelage cardio-vasculaire post-infarctus pourraient expliquer cette action bénéfique.

V.2.5.3. Prévention du rejet de greffe après transplantation cardiaque

Malgré les progrès obtenus avec les traitements immunosuppresseurs, l'incidence de la maladie coronaire après une transplantation cardiaque n'a pas diminué. Des études d'angiographie ont montré que l'incidence de la maladie coronaire était de 59% deux ans après la transplantation cardiaque et de 91% cinq ans après. Des études récentes ont montré

que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion réduisait l'incidence de cette maladie chez le rat ; des effets bénéfiques similaires d'un antagoniste AT1 (TCV 116) ont également été montrés lors d'une étude comparative avec le Captopril (Furukawa et al., 1996).

V.2.6. Affections rénales

L'hypertension est un facteur de risque majeur dans l'apparition de dysfonctionnements rénaux. Des études cliniques montrent qu'un antihypertenseur réduit l'altération des fonctions rénales. Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine sont d'autant plus concernés que ce système, en plus de son action sur l'hémodynamique rénale, intervient aussi sur les transports tubulaires et sur les fonctions glomérulaires. L'angiotensine II exerce en particulier des effets délétères par constriction de l'artériole efférente du rein. L'augmentation résultante de la pression hydraulique intraglomérulaire peut entraîner différentes lésions. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion et le Losartan ont déjà montré leurs effets bénéfiques par vasodilatation des artères rénales et par maintien du taux de filtration glomérulaire.

Enfin des effets protecteurs rénaux ont été montrés pour les IEC et les antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II chez des patients insuffisant rénaux. Ils diminuent notamment la protéinurie et l'apparition de scléroses glomérulaires dans le cas de néphropathies diabétiques et non diabétiques (Kohzuki et al., 1995).

V.2.7. Effets sur le système nerveux central

La circulation cérébrale est normalement autorégulée par différents mécanismes intrinsèques. Dans le cas d'une hypertension chronique, les limites inférieures et supérieures du flux sanguin cérébral sont déplacées vers des valeurs de pression sanguine plus fortes. Ceci est dû probablement aux processus de remodelage et d'hypertrophie de la structure cardio-vasculaire qui provoquent l'épaississement de la paroi des artères et des artérioles.

Des études montrent qu'un antagoniste AT1 (Candesartan ; cf. structure page 55) exerce un effet bénéfique en déplaçant vers de plus basses pressions sanguines les limites inférieures et supérieures du flux sanguin cérébral. Cet effet est comparable à celui rencontré avec des inhibiteurs de l'enzyme de conversion (Strandgaard et Paulson, 1996). L'effet du Losartan sur la prévention des accidents vasculaires cérébraux a été étudié chez le rat spontanément hypertendu prédisposé à ce type de pathologie.(Camargo et al., 1991). Par rapport aux animaux non traités, le Losartan a prévenu les accidents vasculaires cérébraux et a prolongé la survie même à une posologie n'entraînant pas de baisse de la pression artérielle (Fornes et al., 1993).

V.3. CONCLUSION

Antagoniser l'angiotensine II directement au niveau de son site d'action représente le moyen le plus sélectif et le plus complet de s'opposer à toutes les actions de cette hormone, indépendamment de ses voies de synthèse. Un antagoniste des récepteurs de l'angiotensine II permet donc d'abaisser la pression artérielle en s'opposant à la vasoconstriction, à la rétention hydrosodée et à la stimulation sympathique. Il bloque aussi l'action de l'angiotensine II sur la prolifération des cellules musculaires cardiaques, artérielles et glomérulaires. Par leurs mécanismes d'action plus complets, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II se différencient des inhibiteurs calciques qui agissent principalement sur la vasoconstriction, des bêta-bloquants qui agissent principalement sur la stimulation sympathique, et des diurétiques qui s'opposent à la rétention hydrosodée. Cette nouvelle approche du traitement de l'hypertension artérielle se différencie aussi des inhibiteurs de l'enzyme de conversion car elle s'oppose à toutes les actions de l'angiotensine II quelles que soient ses origines.

En effet, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II ont un mode d'action spécifique. Ils n'interfèrent directement avec aucune réaction enzymatique. De ce fait, ils n'entraînent pas par exemple d'accumulation de bradykinine, à l'origine comme on l'a vu précédemment, d'effets indésirables gênants ou graves (toux, oedèmes angioneurotiques) rencontrés avec les inhibiteurs de l'enzyme de conversion. Une étude clinique prospective a en effet montré que l'incidence de la toux était nettement plus faible avec le Losartan qu'avec le Lisinopril (Carr et Prisant, 1996).

De plus, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II ne se fixent ni sur les canaux calciques, ni sur aucuns autres récepteurs impliqués dans la régulation cardiovasculaire.

La prise en charge de l'hypertension artérielle par les traitements médicamenteux a incontestablement transformé le pronostic des patients hypertendus. Des données épidémiologiques portant sur de larges populations, montrent qu'en 20 ans la mortalité a été réduite d'environ 50% pour les coronaropathies et de 57 % pour les accidents vasculaires cérébraux, le traitement de l'hypertension artérielle étant l'un des éléments explicatifs de ces résultats. L'expérience clinique montre cependant que les événements indésirables dus aux différents médicaments antihypertenseurs, quoique rarement graves, sont fréquents et susceptibles d'aboutir à un arrêt du traitement dans 10 à 20% des cas. Ces effets secondaires varient d'une classe à l'autre. Mal acceptés par les patients dont l'hypertension artérielle est le plus souvent asymptomatique, ils ont un impact très négatif sur l'observance du traitement au long cours.

Les objectifs de la recherche sont donc doubles : s'orienter vers des médicaments antihypertenseurs renforçant la protection cardio-vasculaire et rénale, et améliorer la tolérance. Les études de pharmacovigilance du Losartan permettront peut-être de mettre en

évidence l'avantage des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II par rapport aux autres médicaments antihypertenseurs.

Les associations médicamenteuses sont également envisageables dans le but de contrecarrer plus efficacement les effets délétères de l'hypertension artérielle. Les effets bénéfiques de l'administration combinée de Captopril et de Losartan ont à ce sujet déjà été mis en évidence (Azizi et al., 1995). Le Losartan a d'ores et déjà été associé à un diurétique, l'Hydrochlorothiazide ; cette spécialité est commercialisée sous le nom d'*Hyzaar*^R.

VI. ANALYSES STRUCTURALES DES ANTAGONISTES NON PEPTIDIQUES DES RECEPTEURS DE L'ANGIOTENSINE II

VI.1. ANTAGONISTES AT1

Depuis la découverte du Losartan, de nombreux antagonistes des récepteurs AT1 inspirés de cette structure ont été élaborés (Dudley et Hamby, 1993 ; Wexler et al., 1996 ; Timmermans et al., 1994). Plutôt que d'énumérer tous ces antagonistes, nous nous limiterons ici à indiquer les molécules qui font (ou ont fait) l'objet d'un développement clinique (tableau 4 et figure 19).

Antagonistes AT1	Phase de développement	Industries pharmaceutiques
Losartan (DUP 753)	commercialisé	Dupont de Nemours / Merck
Eprosartan (SK&F 108566)	II-III	Smithkline Beecham
Candesartan (TCV 116)	III	Takeda / Astra
Irbesartan (SR 47436)	III	Sanofi / Bristol Myers Squibb
Zolarsartan (GR 117289c)	II (développement suspendu)	Glaxo
Telmisartan (BIBR 277SE)	II-III	Boehringer Ingelheim
Tasosartan (ANA 756)	III	Wyeth Ayerst
Valsartan (CGP 48933)	II-III	Ciba Geigy
ZD 8731	I (développement suspendu)	ICI
SC 52458	I	Searle

Tableau 4 : antagonistes des récepteurs AT1 de l'angiotensine II en développement clinique (d'après Wexler et al., 1996)

Sur le plan structural, ces antagonistes peuvent être séparés en deux classes (figure 19):

- les antagonistes qui conservent la structure biphenylacide reliée le plus souvent à un hétérocycle tenseur (exemple : l'Irbesartan).
- les antagonistes dans lesquels la structure biphenyle est modifiée (exemple : le Zolarsartan)

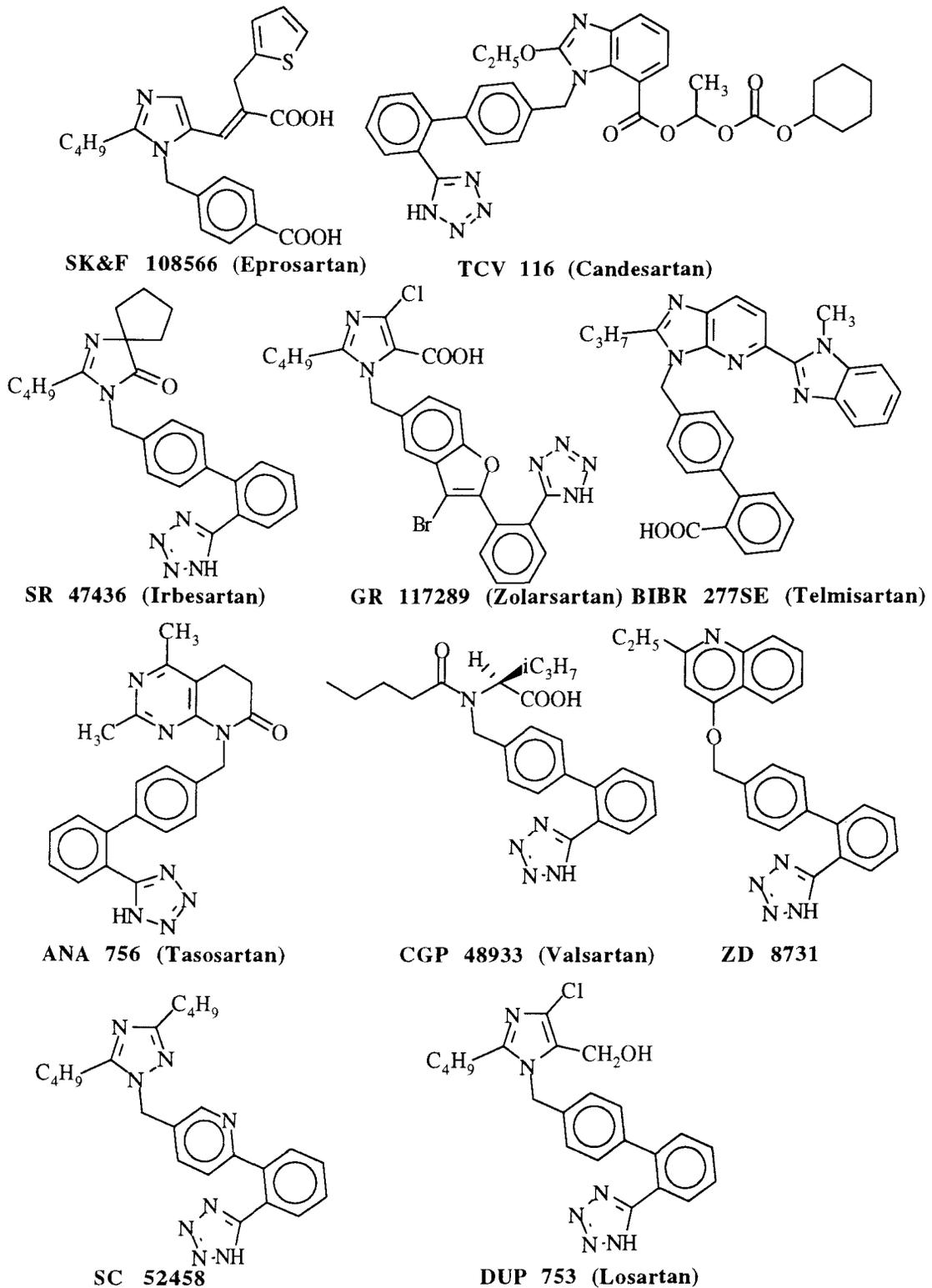


Figure 19 : structures d'antagonistes AT1 qui font ou on fait l'objet d'un développement clinique

L'analyse des relations structure-affinité de ces antagonistes permet de mettre en évidence les éléments importants impliqués dans l'interaction ligand-récepteur. Ces éléments sont les suivants (cf.figure 22 page 48) :

- une première fonction capable de former une liaison hydrogène (azote pyridinique du Telmisartan, groupement carbonyle de l'Irbesartan ou groupement hydroxyméthyle du Losartan) (élément **1** sur la figure 22). Cette fonction n'est pas primordiale pour la liaison au récepteur mais permet d'améliorer l'affinité. Dans le cas d'une fonction carboxylique (Zolarsartan ou Valsartan), l'établissement d'une liaison ionique avec le récepteur AT1 semble induire un changement de conformation qui stabilise le complexe ligand-récepteur.
- un substituant volumineux (chlore du Losartan, tétraméthylène de l'Irbesartan) susceptible d'occuper une poche hydrophobe large, profonde et assez distante du site de fixation de l'hétérocycle (élément **2** sur la figure 22). Cet élément n'est pas indispensable mais il améliore l'affinité et l'activité orale. La poche semble large et peut *a priori* accueillir une grande diversité de groupements.
- un atome (azote basique non protoné des hétérocycles : N3 de l'imidazole du Losartan, N1 du triazole du SC 52458) capable d'établir une liaison hydrogène avec un groupe donneur de protons du récepteur (élément **3** sur la figure 22).
- une chaîne alkyle souvent non ramifiée (chaîne butyle du Losartan, de l'Eprosartan ou de l'Irbesartan), de longueur variant de 2 à 5 atomes de carbone, indispensable pour la liaison au récepteur AT1 (élément **4** sur la figure 22). Elle occupe une poche hydrophobe assez étroite du récepteur ; cette poche est supposée accueillir la chaîne latérale de l'isoleucine de l'angiotensine II.
- un groupe acide (COOH, tétrazole) capable d'interagir avec un résidu basique du récepteur (élément **5** sur la figure 22). Il est supposé occuper la région du COOH terminal de l'angiotensine II.
- une structure biaromatique (biphényle ou structures analogues) capable de se glisser dans une troisième poche hydrophobe (élément **6** sur la figure 22).

VI.2. ANTAGONISTES AT2

Compte-tenu du peu de connaissances concernant la fonction biologique précise du récepteur AT2, peu de molécules sélectives de ce sous-type ont été décrites dans la littérature.

Les dérivés appartenant à la famille chimique des tétrahydroimidazopyridines (chef de file : PD 123319) (Blankley et al., 1991) ont été les premiers ligands non peptidiques spécifiques du sous type AT2. Deux nouvelles classes de ligands spécifiques ont ensuite été élaborées : des dérivés de structure tétrahydroisoquinoléinique (chef de file : PD 126055) (Klutchko et al., 1994) et des dérivés de structure pipérazinique (chef de file : L 159686) (Wu et al., 1993).

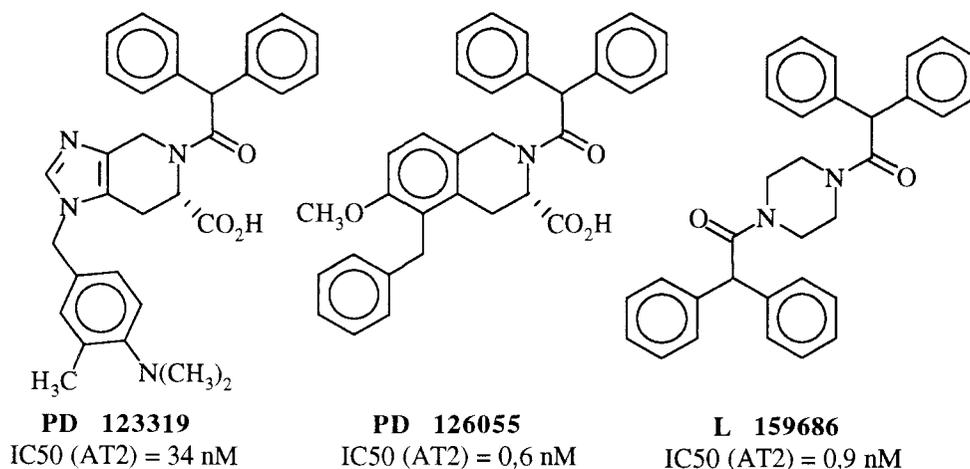


Figure 20 : ligands non peptidiques sélectifs des récepteurs AT₂

Une étude systématique des différents éléments structuraux communs à ces composés a permis de mettre en évidence certaines relations structure-affinité :

- importance de la configuration du carbone portant la fonction acide carboxylique (énantiomère S plus affin que le R).
- présence indispensable d'un ou de deux groupes acyle lipophiles (diphénylacétyle, diphénylamide)
- présence favorable d'un autre groupement aromatique ou arylaliphatique (substitué ou non).

VI.3. ANTAGONISTES MIXTES AT₁ / AT₂ (Chang et al., 1995 ; Wexler et al., 1996)

Il a été démontré que le blocage du récepteur AT₁ par le Losartan provoque une augmentation compensatoire du taux d'angiotensine II plasmatique (valeur 10 fois plus élevée que la normale). A ce jour, on ne connaît pas encore clairement les effets physiologiques générés par la surstimulation résultante des récepteurs AT₂. Du fait de ces incertitudes, de nombreuses industries pharmaceutiques ont intensifié leurs recherches dans la découverte d'antagonistes se liant avec de bonnes affinités (de l'ordre du nanomolaire) aux récepteurs AT₁ et AT₂ de l'angiotensine II.

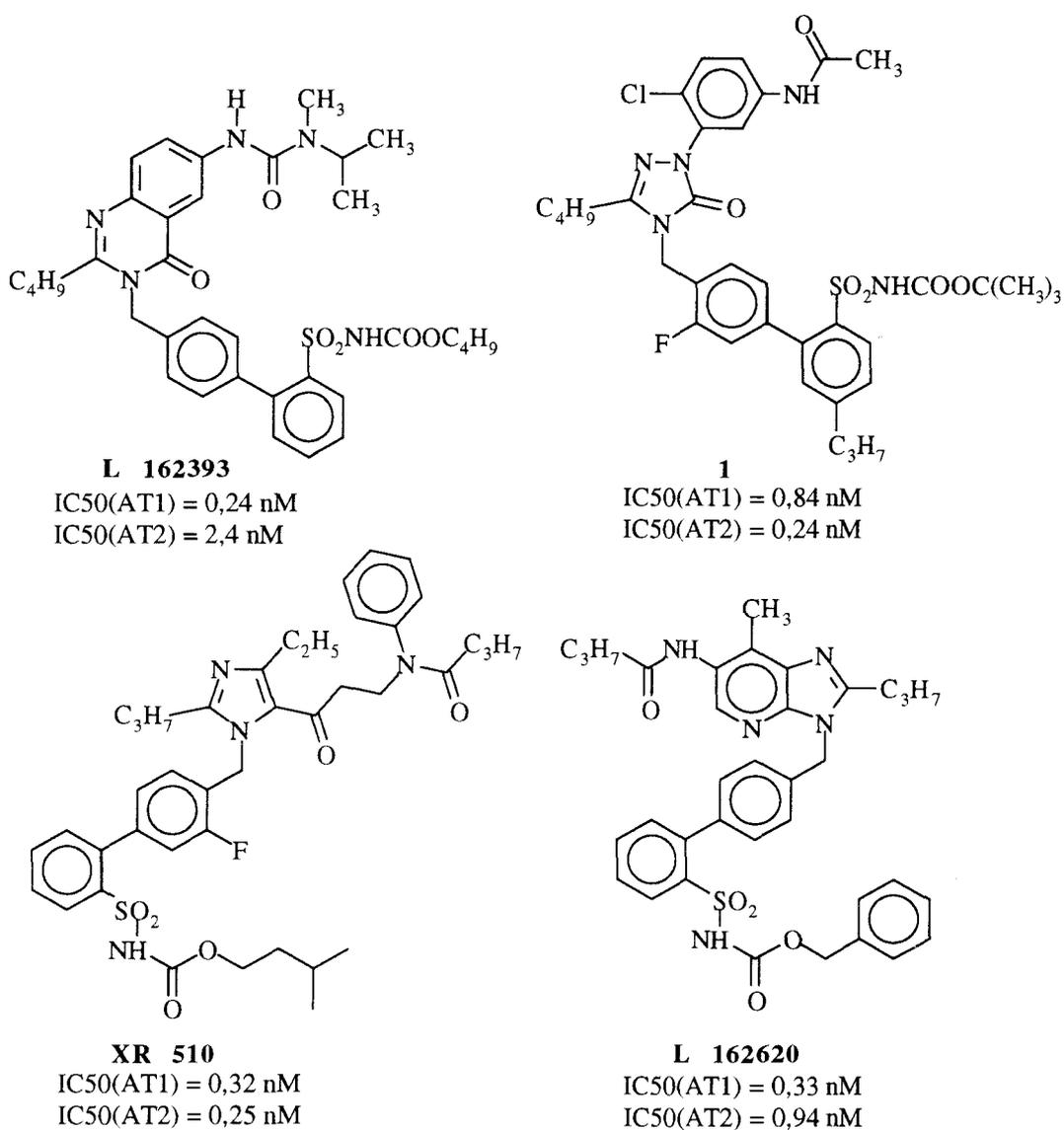


Figure 21 : structures de quelques antagonistes mixtes AT1 / AT2

La plupart de ces composés dérivent de la structure des antagonistes AT1 (figure 21). Différentes modulations ont été réalisées à partir des ligands AT1 dans le but d'augmenter l'affinité envers le récepteur AT2. Ces études ont permis d'identifier les éléments importants pour la reconnaissance des deux récepteurs (cf. figure 22) :

- la présence d'un groupe acide (tétrazole ou acylsulfonamide d'acidité voisine) est nécessaire pour la liaison aux deux récepteurs (élément 5 de la figure 22).
- le remplacement du tétrazole par un groupe acylsulfonamide permet d'augmenter considérablement l'affinité pour le récepteur AT2 sans que l'affinité pour le récepteur AT1 ne soit modifiée. Le groupe lipophile encombrant porté par la fonction acylsulfonamide est susceptible de se glisser dans une poche hydrophobe du récepteur AT2 (éléments 7 de la figure 22).

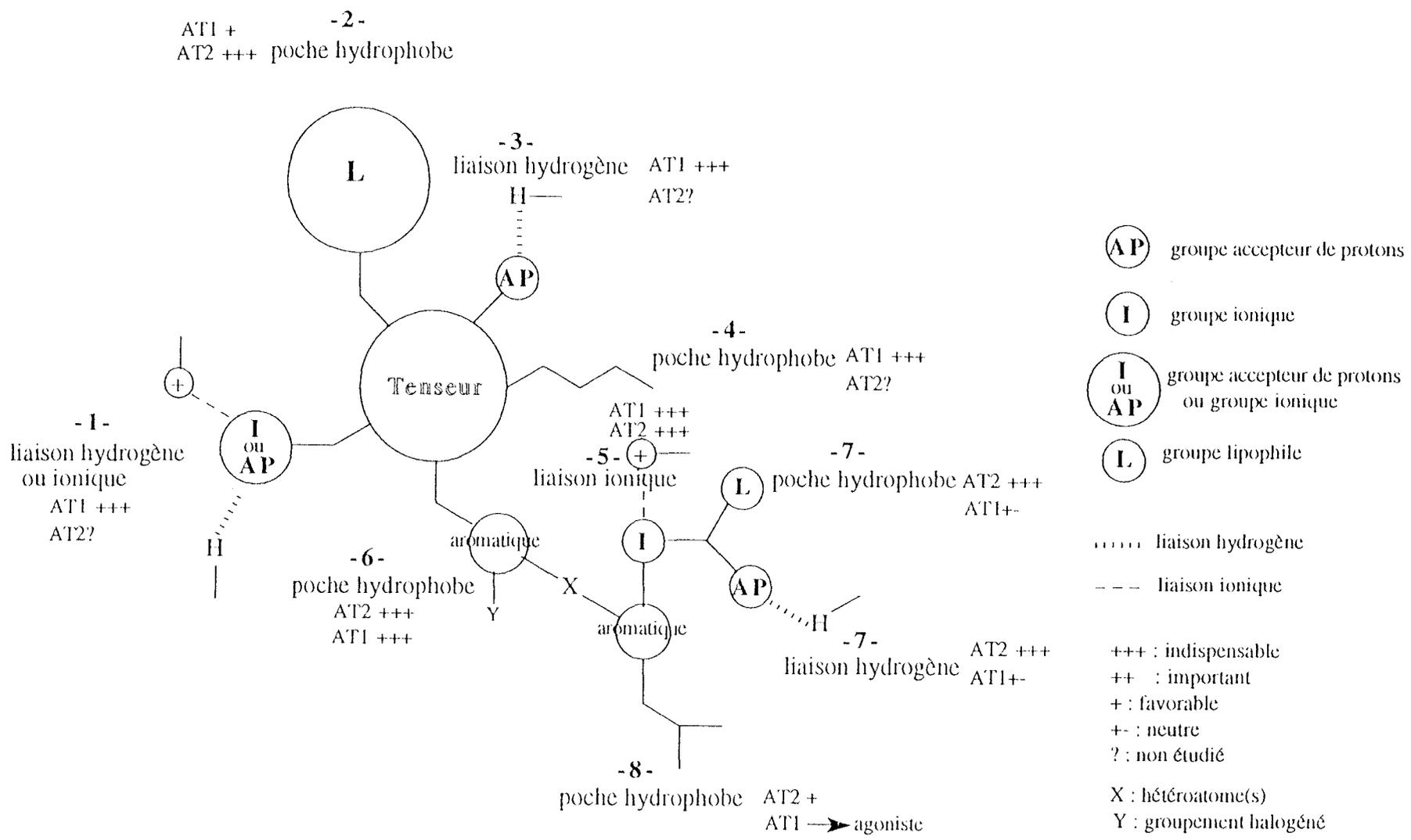
Remarque : on retrouve les deux principales relations structure-affinité décrites avec les ligands sélectifs AT2 (cf. section VI.2.).

Le groupement carbonyle des fonctions amides lipophiles est particulièrement important pour la liaison aux récepteurs AT2. Elle interagit probablement avec un résidu donneur de protons du récepteur.

Au niveau des récepteurs AT1, la région occupée par ce substituant admet un grand nombre de modulations, ce qui confirme la présence d'une zone de large tolérance déjà mise en évidence précédemment.

- le substituant en ortho du benzène (structure biphényle) (symbolisé par **Y** sur la figure 22) impose aux deux cycles aromatiques d'être non coplanaires. Cette géométrie importante pour la liaison aux récepteurs AT1 paraît également favorable pour l'interaction avec les récepteurs AT2 .
- l'addition d'une chaîne carbonée sur la structure biphényle semble profitable pour la liaison aux récepteurs AT2 (élément **8** de la figure 22).

Figure 22 : pharmacophore des ligands non peptidiques des récepteurs de l'Ang II



CHAPITRE II :

CONCEPTION DE NOUVEAUX LIGANDS NON PEPTIDIQUES DES RECEPTEURS AT1 DE L'ANGIOTENSINE II

I. INTRODUCTION

Les bases de données des compagnies pharmaceutiques contiennent des milliers de produits très souvent testés pour une activité bien spécifique. Ces mêmes produits peuvent posséder des caractéristiques structurales qui présentent un intérêt dans un nouveau projet (nouvelles têtes de série) ; la technique de "Data Base Mining" permet de les détecter. Par cette méthode, on recherche dans une base de données les structures "similaires" à une ou plusieurs molécules présentant une caractéristique pharmacologique donnée. Ces molécules peuvent présenter elles-mêmes cette caractéristique recherchée et/ou peuvent être à la base d'une réflexion menant à des squelettes originaux (Goldstein, 1993). Cette méthode a été utilisée par la groupe pharmaceutique UCB pour la recherche de nouveaux ligands, antagonistes potentiels des récepteurs de l'angiotensine II. L'étude a été réalisée à partir d'un produit de référence, le SR 47436 (Irbesartan) antagoniste sélectif des récepteurs AT1 de l'angiotensine II. Ce composé a été choisi comme modèle parce qu'il présente une activité dix fois plus forte que le Losartan au cours des essais cliniques phase II (Bernhart et al., 1993). Le SR 47436, développé conjointement entre Bristol Myers Squibb et Sanofi / Sterling est actuellement en essais cliniques phase III (Wexler et al., 1996).

II. ANALYSE STRUCTURALE DU SR 47436

Le SR 47436, chef de file des dérivés imidazolinoniques s'inscrit bien dans le modèle topographique d'interaction ligand-récepteur proposé à partir des études de relations structure-affinité des antagonistes AT1 (cf. chapitre I). La figure 23 rappelle les éléments structuraux importants pour la liaison des ligands au récepteur AT1 et établit la comparaison structurale entre le SR 47436 et le DUP 753. Ces éléments sont les suivants :

1. chaîne alkyle occupant une poche hydrophobe assez étroite du récepteur
2. structure aromatique (biphényle) capable de se glisser dans une deuxième poche hydrophobe du récepteur
3. groupe acide capable d'interagir avec un résidu basique du récepteur
4. atome capable d'établir une liaison hydrogène avec un groupe donneur de proton du récepteur
5. substituant volumineux susceptible d'occuper une troisième poche hydrophobe
6. seconde fonction capable de former une liaison hydrogène avec le récepteur.

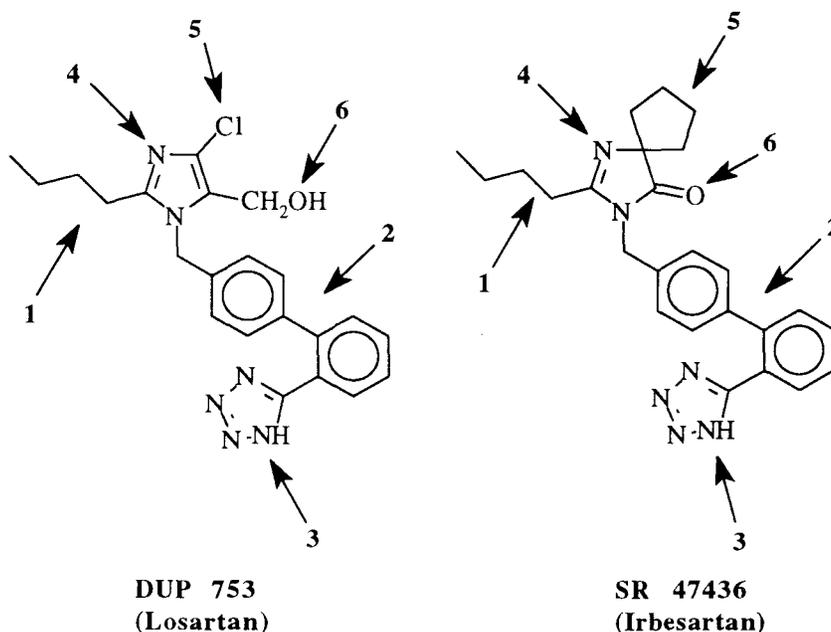


Figure 23 : éléments importants pour l'interaction ligand-récepteur ; comparaison de la structure du Losartan (DUP 753) et de l'Irbesartan (SR 47436)

Des études préalables ont en particulier mis en évidence la présence indispensable du groupe carbonyle dans la structure du SR 47436 ou structures analogues (Bernhart et al., 1993). En effet, l'absence de cette fonction (composé **3**) se traduit par une perte totale de l'affinité. Son remplacement par une fonction thiocarbonyle (composé **4**) s'accompagne également par une diminution sensible de l'affinité, l'atome de soufre étant un moins bon accepteur de protons que l'atome d'oxygène (figure 24).

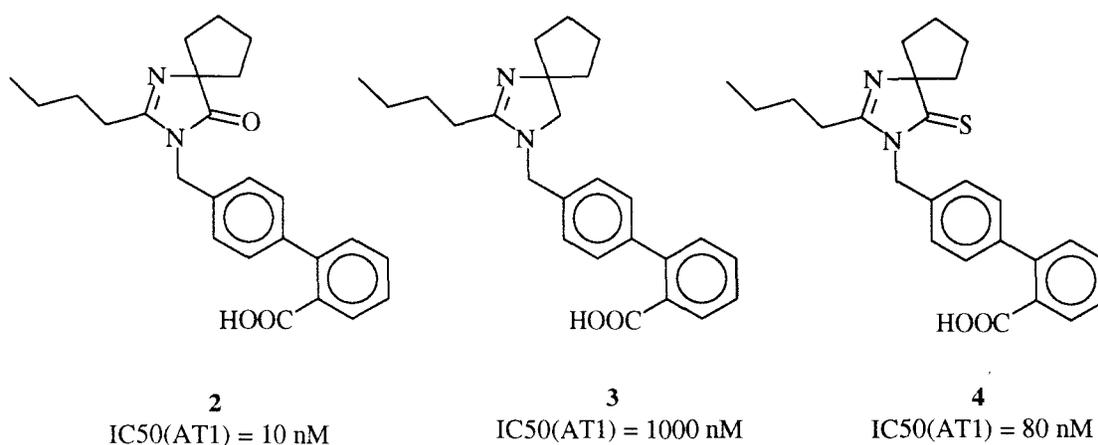


Figure 24 : importance de la fonction carbonyle du composé **2** (d'après Bernhart et al., 1993)

D'autre part la comparaison des affinités du composé **2** et d'un de ses régioisomères (composé **5**) montre que la disposition relative des substituants est d'une importance capitale pour l'affinité (figure 25).

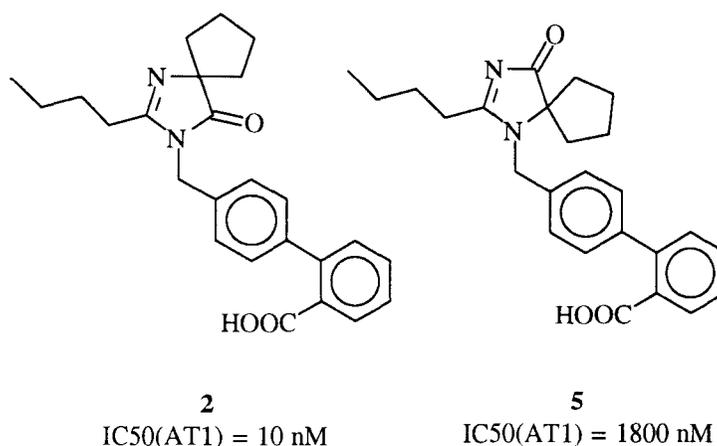


Figure 25 : importance de la disposition relative des différents substituants du SR 47436 (d'après Bernhart et al., 1993)

III. RECHERCHE DE NOUVEAUX ANTAGONISTES DES RECEPTEURS AT1 DE L'ANGIOTENSINE II

Le SR 47436 a servi de base à une recherche de similitudes tridimensionnelles dans la banque de structures internes à la firme UCB Pharmaceutical Sector. Cette recherche a montré que le noyau imidazolinone du SR 47436 peut être remplacé par un squelette pyrazolidine-3,5-dione (figure 26).

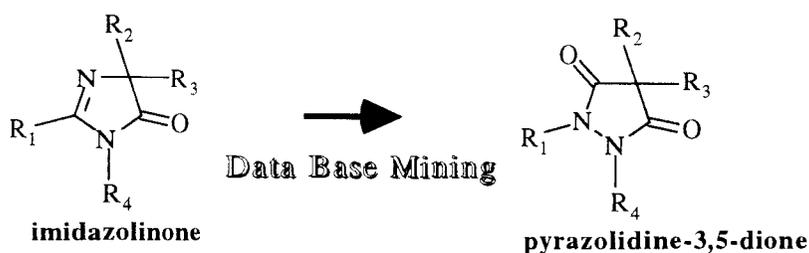


Figure 26 : résultat de la recherche de similitudes dans la banque de données UCB

Notre travail a consisté à concevoir de nouvelles molécules qui possèdent comme hétérocycle central un noyau pyrazolidine-3,5-dione. Ce squelette tenseur a été fonctionnalisé dans le but d'aboutir à des ligands des récepteurs AT1 de l'angiotensine II. La figure 27 résume les études de relations structure-activité réalisées.

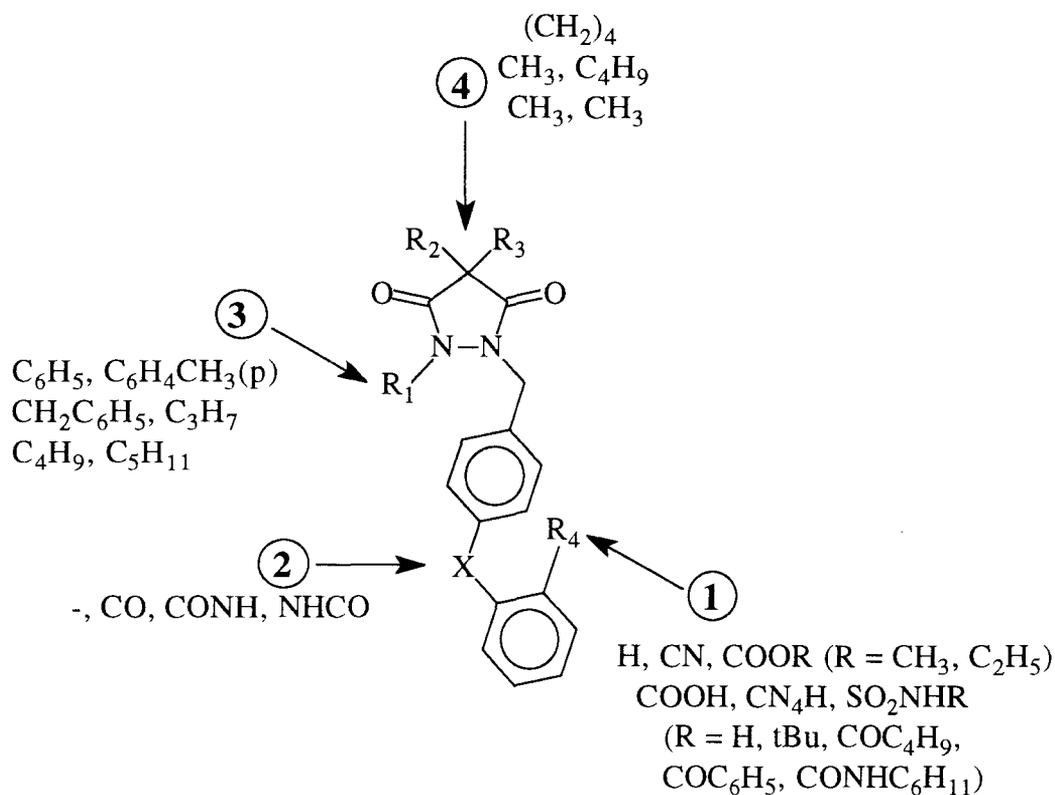
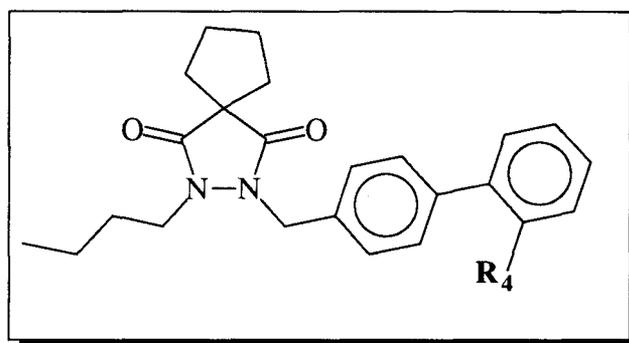


Figure 27 : résumé des études de relations structure-activité des pyrazolidine -3,5-diones

III.1. INFLUENCE DE LA NATURE DU SUBSTITUANT R₄ DU GROUPEMENT BIPHÉNYLE (MODULATION 1)

Le cycle pyrazolidine-3,5-dione a été dans un premier temps fonctionnalisé par une structure biphenyle commune à la plupart des antagonistes AT₁. Nous avons envisagé d'étudier l'influence de la nature du substituant R₄ sur l'affinité. Les résultats sont rassemblés dans la tableau 5.

remarque : toutes les molécules préparées pour cette étude possèdent comme élément constant un groupe tétraméthylène en position 3 et une chaîne butyle en position 1 de l'hétérocycle tenseur. Ces éléments ont été conservés par analogie avec la structure du SR 47436.



n°	R ₄	pKi (nH)
		% de déplacement à 10 ⁻⁵ M
6	H	21%
7	CN	40%
8	COOH	65% ; 5,5 (1,1)
9	CN ₄ H	7,6 (1,0)
11	SO ₂ NHCOC ₆ H ₅	8,0 (1,1)
12	SO ₂ NH ₂	52%
13	SO ₂ NHtBu	47%
14	SO ₂ NHCOC ₄ H ₉	7,9 (0,9)
15	SO ₂ NHCONHCOC ₆ H ₁₁	7,5 (1,0)

Tableau 5

Le composé **6** possédant une structure biphenyle non substituée et le dérivé **7** substitué par une fonction nitrile ne présentent pas ou peu d'affinité pour le récepteur AT1. Le passage du groupe biphenylnitrile (composé **7**) au groupe biphenylcarboxylique (composé **8**) ne se traduit pas par une nette amélioration de l'affinité. Les fonctions nitrile et carboxylique peuvent toutes les deux interagir avec le récepteur par liaison hydrogène. Le groupement carboxylique qui est ionisé au pH physiologique peut théoriquement établir également une liaison saline avec un résidu cationique du récepteur (vraisemblablement la chaîne latérale de **Lys¹⁹⁹** : cf. section VI) (figure 28). Dans le cas présent cette fonction n'est peut être pas placée dans une position optimale pour une interaction ionique entre cette partie de la molécule et le récepteur.

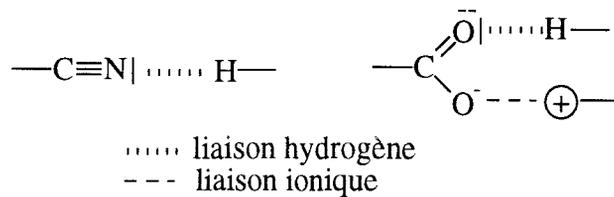


Figure 28 : mode d'interaction proposé entre le groupe nitrile ou carboxylique et le récepteur

Le remplacement de la fonction carboxylique du composé **8** par un groupe tétrazole a permis d'améliorer de manière considérable l'affinité. Cette différence d'affinité importante entre le composé **8** et le composé **9** indique que le groupe tétrazole n'agit pas comme simple bioisostère de la fonction carboxylique. Une telle variation d'affinité entre une molécule substituée par un groupe méthylènebiphénylcarboxylique et son homologue substituée par un groupe méthylènebiphényltétrazole n'a, à notre connaissance, jamais été observée dans la littérature. Ceci confirme que la nature et la force de l'interaction entre ce groupement R₄ et le récepteur dictent de manière primordiale l'affinité de nos composés pour le récepteur AT1. L'acidité du groupe tétrazole n'est donc pas le seul élément favorable à l'interaction de cette partie de la molécule avec le récepteur. La nature même de cet hétérocycle aromatique (encombrement stérique ; distribution électronique) doit également être un élément déterminant. La délocalisation possible de la charge négative et la présence de 3 atomes d'azotes sp² permettent au groupe tétrazole de multiplier les contacts par liaison saline ou par interaction hydrogène avec le récepteur.

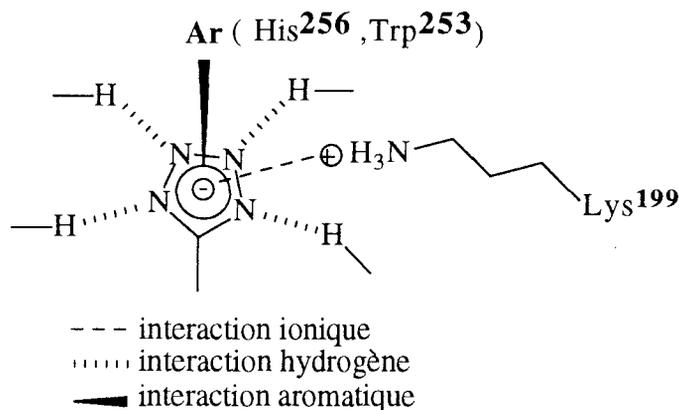


Figure 29 : modes d'interaction entre la fonction tétrazole et le récepteur ; Ar :structure aromatique (groupement indole de Trp²⁵³ ou groupement imidazole de His²⁵⁶) interagissant par "stacking" avec la fonction tétrazole.

De plus, du fait de sa plus grande taille, le tétrazole peut établir plusieurs contacts avec plusieurs acides aminés situés à proximité de Lys¹⁹⁹ (Noda et al., 1995). Il est ainsi possible d'envisager des interactions supplémentaires par "stacking" entre le tétrazole et des acides

aminés aromatiques situés à proximité de **Lys¹⁹⁹**, **Trp²⁵³** (TMVI) et **His²⁵⁶** (TMIV) semblent être de bons candidats (figure 29) (cf. également section).

Des études réalisées chez les primates ont montré que le cycle tétrazole subit une glucuronidation au niveau du foie. Des structures acides résistantes au métabolisme sont donc intéressantes. Les fonctions acylsulfonamides ont alors été envisagées (Chakravarty et al., 1994). Celles-ci présentent des acidités voisines de celle du tétrazole et offrent de nombreuses possibilités de pharmacomodulation. D'autre part, l'introduction de ces structures a donné naissance à une nouvelle et très importante famille d'antagonistes : les antagonistes non sélectifs AT1/AT2 (cf. chapitre I). En effet, suite à de nombreuses modulations autour de ces fonctions acides, des interactions avec des régions des récepteurs, non explorées jusqu'alors avec les antagonistes tétrazoliques, ont pu être établies et des affinités pour les récepteurs AT2 ont été développées (Wexler et al., 1996). Par exemple le remplacement du tétrazole par une fonction acylsulfonamide dans la série des triazolines s'accompagne d'une augmentation considérable de l'affinité pour les récepteurs AT2 sans que l'affinité pour les récepteurs AT1 ne soit modifiée (Ashton et al., 1994) (figure 30).

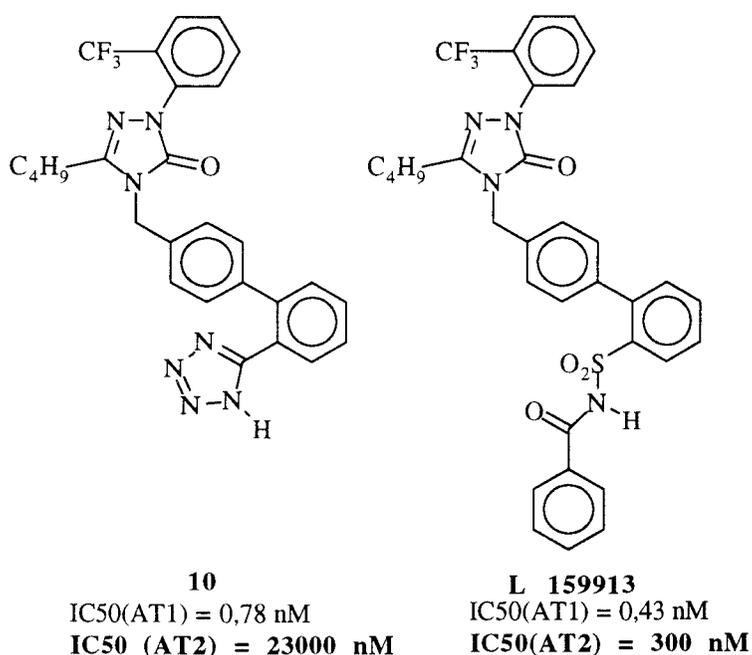


Figure 30 : exemple d'amélioration de l'affinité pour le récepteur AT2 lors du remplacement de la fonction tétrazole par une fonction acylsulfonamide

C'est dans le but d'améliorer également l'affinité de nos composés pour le récepteur AT2 que nous avons donc envisagé le remplacement de la fonction tétrazole par une fonction acylsulfonamide. Contrairement à nos prévisions, aucune amélioration de l'affinité pour le récepteur AT2 n'a cependant été constatée. Paradoxalement, cette modulation de la structure

du composé **9** a permis d'améliorer nettement l'affinité pour le récepteur AT1 (composé **11** : $pK_i = 8,0$).

Ce résultat surprenant confirme donc que les relations structure-affinité obtenues dans une série chimique ne sont pas systématiquement transposables à d'autres séries mêmes très voisines d'un point de vue structural.

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'amélioration de l'affinité pour le récepteur AT1 constatée lors du remplacement du tétrazole par une fonction benzoylsulfonamide. Le groupement sulfonamide interagit tout comme le tétrazole en établissant d'abord une liaison ionique avec le récepteur. Cette liaison saline doit à nouveau constituer le point d'ancrage principal des molécules au récepteur AT1. La présence de la fonction benzoyle est un élément capital qui renforce considérablement l'acidité du groupement NH et qui apporte également de par sa nature de nouvelles possibilités d'interaction avec le récepteur ; le groupement carbonyle peut en particulier interagir par liaison hydrogène avec le récepteur tandis que le groupe phényle peut, lui, occuper une poche hydrophobe supplémentaire (figure 31).

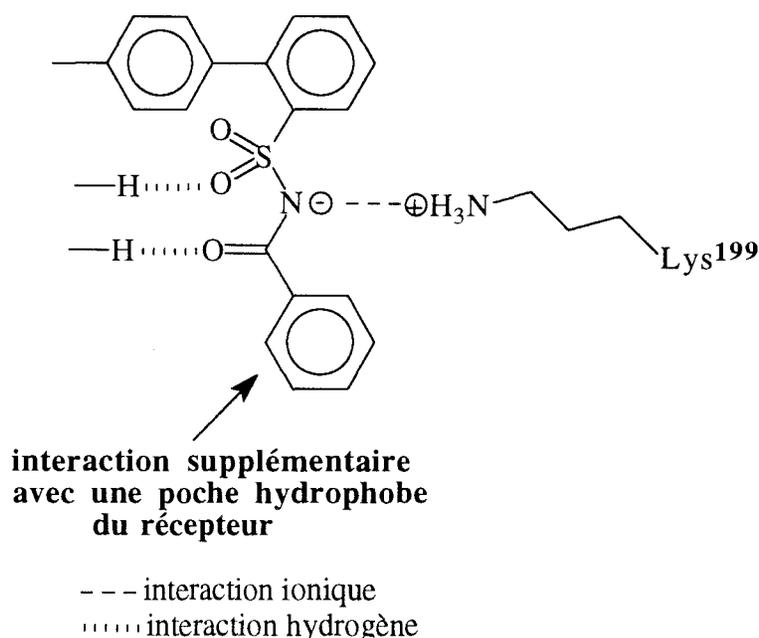


Figure 31 : mode d'interactions proposé entre la fonction acylsulfonamide du composé **11** et le récepteur AT1

Lorsque cette fonction est absente (composé **12**) ou lorsqu'elle est remplacée par un groupement aliphatique (composé **13**), la fonction sulfonamide perd son caractère acide ce qui se traduit par une chute considérable de l'affinité.

Il est apparu intéressant d'analyser la structure du composé **11** par diffraction de rayons X et de superposer ce composé avec les structures cristallographiques des composés **8** et **9**. Cette étude réalisée nous montrent que la conformation globale est similaire (figure 32).

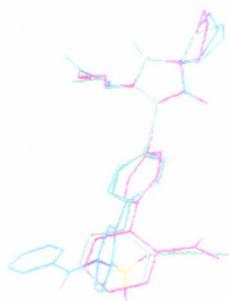


Figure 32: superposition des composés **8**, **9** et **11** après analyse par diffraction de rayons X ; [composé 8 (rouge) ; composé 9 (vert) ; composé 11 (rouge)].

Les différences se manifestent dans l'orientation spatiale du substituant R₄. Le groupement benzoyle du composé **11** occupe une région de l'espace supplémentaire par rapport aux deux composés **8** et **9**. Ce résultat confirme l'existence d'un site d'interaction supplémentaire avec le récepteur.

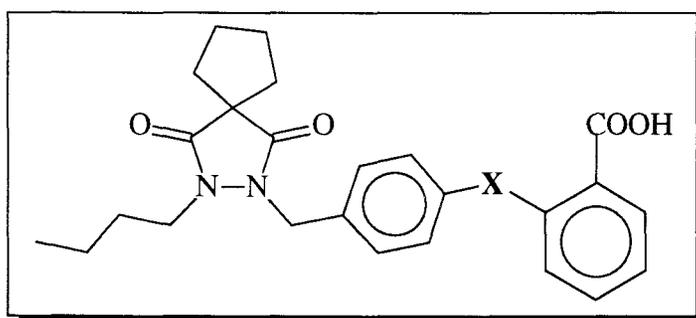
Nous avons ensuite exploré plus en détail la nature de la poche hydrophobe du récepteur dans laquelle vient se positionner le groupement benzoyle. Le remplacement du groupement phényle par une chaîne aliphatique linéaire n'a aucune conséquence sur l'affinité (composé **14**). D'autre part, l'introduction d'une fonction sulfonurée plus volumineuse se traduit par une légère diminution de l'affinité (composé **15**). Ces modulations montrent que cette poche hydrophobe a une taille bien définie et que l'occupation de cette zone du récepteur est un déterminant important de l'affinité de nos composés pour le récepteur AT1.

III.2. REMPLACEMENT DE LA STRUCTURE BIPHÉNYLE (MODULATION 2)

La fonction acide (acide carboxylique, tétrazole, sulfonamide) commune à la plupart des antagonistes de l'angiotensine II doit être positionnée dans l'espace d'une manière optimale pour interagir avec le récepteur. L'angle de torsion qui existe entre les cycles

phényle de la structure biphényle joue un rôle capital dans le positionnement spatial de cette fonction acide.

De nombreuses modifications de la structure biphényle ont été décrites dans la littérature (Wexler et al., 1996). Les deux cycles phényle du biphényle ont en particulier été espacés par un atome (-O-, -S-, -CO-), deux atomes (-NHCO-, -CONH-, -OCH₂-) et trois atomes (-NH-CO-NH-) (Poss et al., 1994). Ces modulations ont parfois conduit à des produits de très bonne affinité. Nous avons envisagé d'effectuer ces modulations sur nos composés afin de déterminer l'orientation spatiale optimale de la fonction acide. C'est pour des raisons d'accessibilité chimique que ces modifications ont été réalisées à partir de la structure du composé **8** comportant une fonction acide carboxylique. Les produits préparés sont rassemblés dans le tableau suivant :



n°	X	pKi (nH) % de déplacement à 10 ⁻⁵ M
8	/	5,5 (1,1)
16	CO	5,5
17	NHCO	6,4
18	CONH	

Tableau 6

L'analyse des résultats obtenus montre que la présence d'un groupement carbonyle entre les deux cycles aromatique du biphényle (composé **16**) n'a aucune influence sur l'affinité. Par contre, l'introduction d'une liaison amide -NH-CO- entre les deux cycles phényle du biphényle s'accompagne d'une nette amélioration de l'affinité pour le récepteur AT1 (composé **17**). Dans la structure du composé **17**, la fonction acide carboxylique serait donc positionnée d'une manière plus favorable que dans le cas du composé **8**. Cette modification permet peut être de repositionner la fonction carboxylique dans une orientation favorable pour une interaction par liaison saline avec le récepteur. Le groupement amide du composé **17** peut également représenter un élément supplémentaire d'interaction. Ce groupement peut en effet interagir par liaison(s) hydrogène(s).

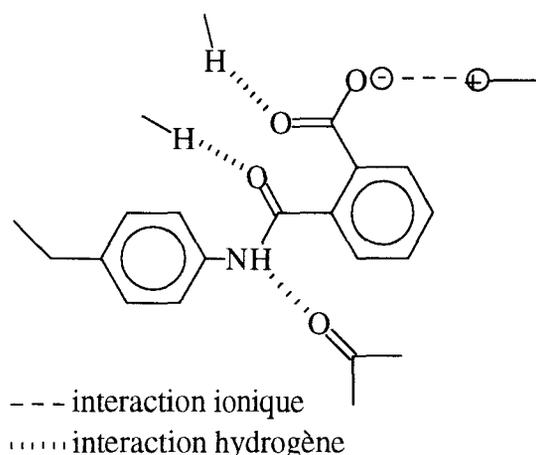
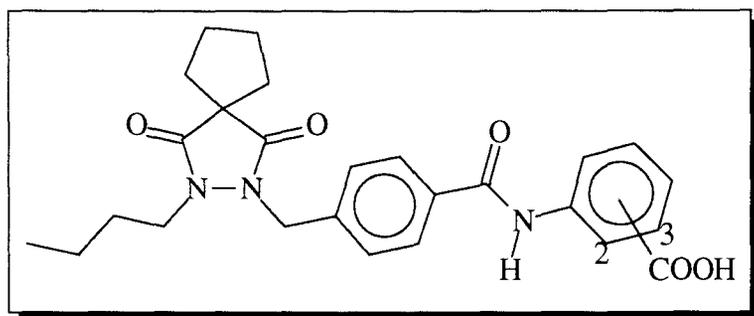


Figure 33 : interactions de la structure benzamidobenzoïque du composé **17** avec le récepteur

La comparaison des affinités des isomères de position **18** et **19** a également été envisagée pour confirmer l'importance de l'orientation de la fonction acide carboxylique (tableau 7).



n°	position de la fonction COOH	pKi (nH) % de déplacement à 10 ⁻⁵ M
18	2-COOH	
19	3-COOH	13%

Tableau 7

D'autres antagonistes très actifs n'incorporent pas de groupes type biphenylcarboxylique ou groupes analogues. Le SK&F 108566 (Eprosartan) en est le meilleur exemple (Weinstock et al., 1991). Il est également intéressant d'indiquer que des structures plus simples incorporant un groupe phénolique acide à la place du biphenyltétrazole mènent aussi à des antagonistes de haute affinité (Kim et al., 1994) (figure 34).

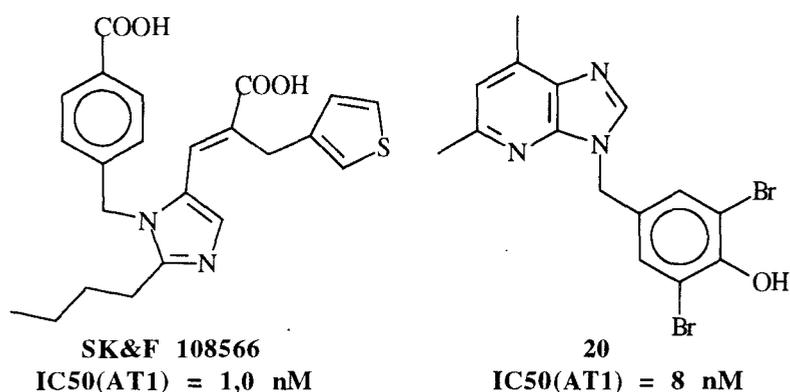
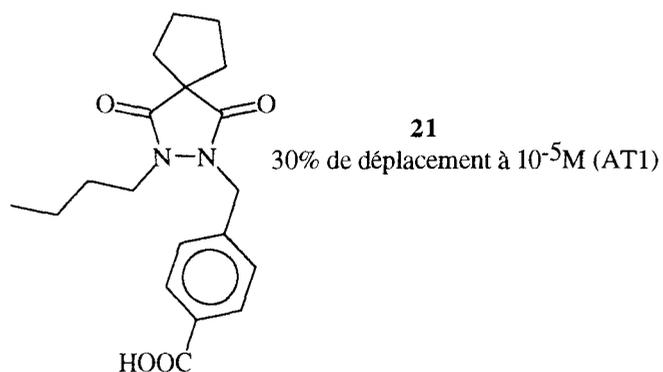


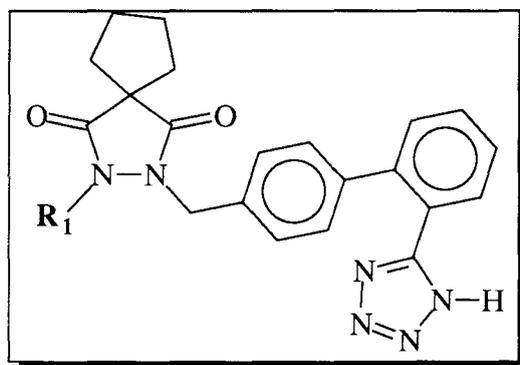
Figure 34 : antagonistes AT₁ n'incorporant pas de structure biphényltétrazole ou de structure analogue

La présence de la fonction acide carboxylique sur une structure benzylique a donc été envisagée. Cette modulation se traduit cependant par une chute importante de l'affinité comme en témoigne la valeur du pourcentage de déplacement à 10⁻⁵M obtenue pour le composé **21**.



III.3. INFLUENCE DE LA NATURE DU SUBSTITUANT R₁ DE L'HÉTÉROCYCLE TENSEUR (MODULATION 3)

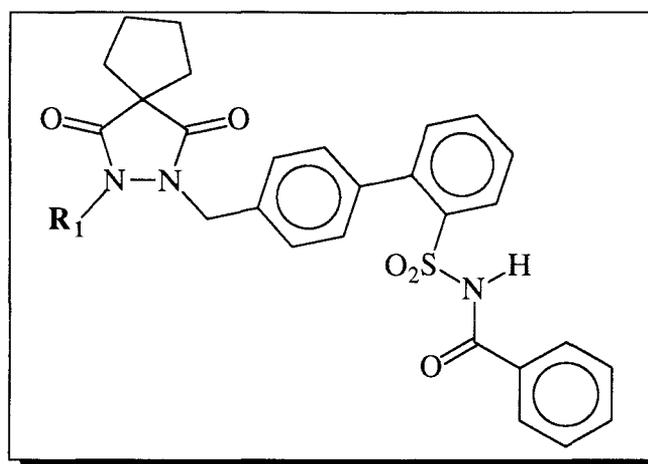
Les différentes modulations ont été envisagées dans le but de mieux connaître le site d'interaction de cette partie de la molécule avec la poche hydrophobe du récepteur. Les premières modifications ont été réalisées à partir du composé **9** comportant le groupement méthylènebiphényltétrazole. Elles sont résumées dans le tableau suivant :



n°	R ₁	pKi (nH)
9	C ₄ H ₉	7,6 (1,0)
22	C ₆ H ₅	6,8 (1,0)
23	C ₆ H ₄ CH ₃ (p)	6,4 (1,4)
24	CH ₂ C ₆ H ₅	6,4 (1,2)

Tableau 8

Le remplacement de la chaîne aliphatique butyle par un groupe phényle se traduit par une diminution de l'affinité (composé **22**). L'extension de cette structure aromatique a été envisagée pour améliorer l'occupation de la poche hydrophobe. Le groupe phényle a d'une part été fonctionnalisé en position para par un chaînon méthyle supplémentaire (composé **23**) et a d'autre part été remplacé par un groupe benzylique de plus grande liberté conformationnelle (composé **24**). Ces différentes modifications ne se sont pas révélées favorables. La poche lipophile présente à cette endroit du récepteur est donc relativement étroite. Pour juger de sa profondeur, nous avons successivement raccourci et rallongé d'un chaînon méthylénique la chaîne butyle. Ces modulations ont été réalisées à partir de la structure du composé **11** comportant le groupement méthylènebiphénylsulfonamide (tableau 9).



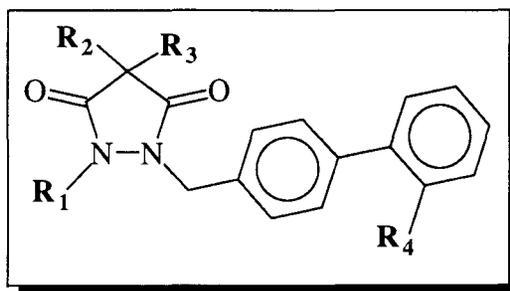
n°	R ₁	pKi (nH)
11	C ₄ H ₉	8,0 (1,1)
25	C ₃ H ₇	7,4 (0,9)
26	C ₅ H ₁₁	7,6 (0,9)

Tableau 9

Les variations d'affinité entre les composés **11**, **25** et **26** sont très faibles. Elles démontrent cependant que la poche hydrophobe dans laquelle vient s'insérer la chaîne aliphatique est d'une taille bien définie. L'occupation de cette poche est optimale avec un groupement butyle (composé **11**).

III.4. INFLUENCE DE LA NATURE DES SUBSTITUANTS R₂ ET R₃ DE L'HÉTÉROCYCLE TENSEUR (MODULATION 4)

Cette modulation a été envisagée pour déterminer la nature et l'importance de l'interaction entre les groupements R₂ et R₃ fixés en position 3 du cycle pyrazolidine-3,5-dione et le récepteur. Nous avons dans un premier temps remplacé le groupe tétraméthylène qui avait jusqu'alors été gardé constant, par une structure analogue ouverte (tableau 10). Cette modification a été réalisée parallèlement à partir des composés **11** et **24**. Dans le cas du composé **11** cette modification se traduit par une baisse sensible de l'affinité (composé **19** : pKi = 7,5). Ce résultat n'a cependant pas été confirmé dans le cas du composé **24**, ce qui rend toute interprétation hasardeuse.

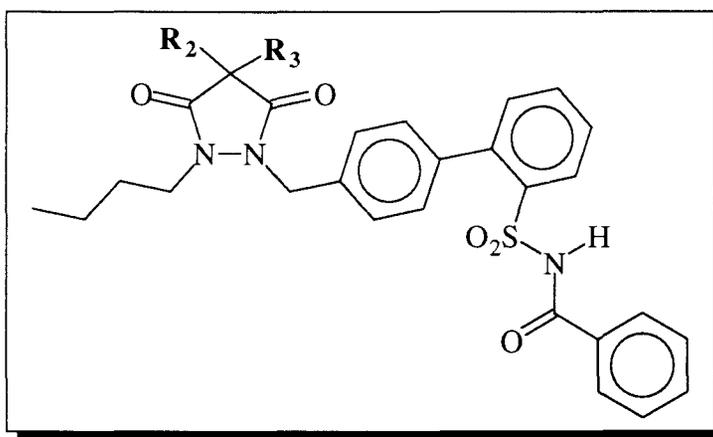


n°	R ₁	R ₄	R ₂	R ₃	pKi (nH)
11	C ₄ H ₉	SO ₂ NHCOC ₆ H ₅	(CH ₂) ₄		8,0 (1,1)
27	C ₄ H ₉	SO ₂ NHCOC ₆ H ₅	CH ₃	C ₄ H ₉	7,5 (0,8)

24	CH ₂ C ₆ H ₅	CN ₄ H	(CH ₂) ₄		6,4 (1,2)
28	CH ₂ C ₆ H ₅	CN ₄ H	CH ₃	C ₄ H ₉	6,5 (1,2)

Tableau 10

Le remplacement du groupe tétraméthylène par une structure diméthyle d'encombrement stérique très faible a ensuite été envisagé (composé **29**) pour savoir si l'interaction entre cette partie de la molécule et le récepteur avait une quelconque influence sur l'affinité (tableau 11).



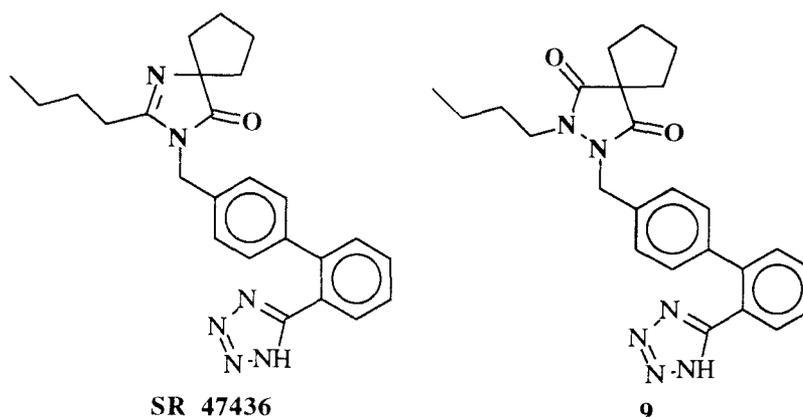
réf	R ₂	R ₃	pKi (nH)
11	(CH ₂) ₄		8,0 (1,1)
29	CH ₃	CH ₃	7,4 (1,1)

Tableau 11

La comparaison des affinités des composés **11** et **29** met en évidence l'importance de cette structure tétraméthylène en position 3 de l'hétérocycle pyrazolidine-3,5-dione. Pour préciser les relations structure-activité à ce niveau, il serait intéressant de remplacer cette structure cyclique à cinq chaînons par une structure à quatre chaînons (groupe triméthylène en position 3) ou une structure à six chaînons (groupe pentaméthylène en position 3) (voir ci-dessous). Ces modifications sont envisagées pour déterminer la taille optimale de la structure spirannique.

IV. COMPARAISON DES AFFINITES DU COMPOSE 9 ET DU SR 47436

Il est apparu intéressant de comparer l'affinité du SR 47436 qui nous servi de modèle avec celle du composé **9**. Ces deux produits ne diffèrent en effet que par la nature de l'hétérocycle tenseur.



Les résultats d'affinité obtenus pour une molécule donnée peuvent être très différents selon la nature des lignées cellulaires utilisées. Ceci est dû aux différences structurales qui peuvent exister entre les récepteurs de diverses espèces (par exemple, dans le cas des récepteurs AT1, la valeur d'IC₅₀ du Losartan est de 17 nM chez le rat, de 50 nM chez le singe et de 620 nM dans les cellules surrénales de bovin (Timmermans et al., 1994). Parmi les nombreux organes ou lignées cellulaires exprimant le récepteur AT1, le choix s'est porté sur la lignée cellulaire d'hépatomes humains PLC-PRF 5 (Wintersgill et al., 1992).

Pour comparer l'affinité de deux molécules, il est donc indispensable d'utiliser les mêmes préparations membranaires et d'appliquer le même protocole expérimental. La valeur de l'affinité du SR 47436 donnée dans la littérature (IC₅₀ = 1,3 nM ; membranes hépatiques de rat) (Bernhart et al., 1993) ne peut donc pas être comparée à celle obtenue pour le composé **9**.

Nous avons donc également synthétisé le produit de référence afin de mesurer son affinité sur des préparations membranaires d'hépatomes humains. Les résultats obtenus résumés dans le tableau 12 indiquent que le composé **9** présente une affinité plus faible vis-à-vis du récepteur AT1 que l'antagoniste de référence SR 47436.

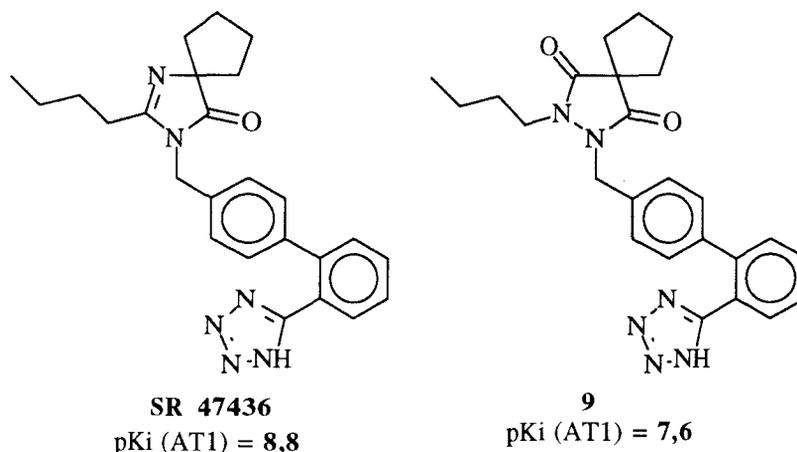


Tableau 12 : comparaison des affinités du composé **9** et du SR 47436

Il a dès lors été envisagé de rationaliser la différence d'affinité entre les deux composés par l'étude comparative de leurs propriétés structurales et électroniques en faisant appel à des méthodes expérimentales et théoriques. Ces travaux résumés dans la section V ont été réalisés par C. Cauvin de l'Université de Namur (Cauvin, 1997).

V. ETUDE COMPARATIVE DES PROPRIETES STRUCTURALES ET ELECTRONIQUES DU COMPOSE **9** ET DU SR 47436

V.1. ANALYSES PAR DIFFRACTION DE RAYONS X

La détermination de la géométrie tridimensionnelle des molécules est fondamentale pour la compréhension des mécanismes de reconnaissance moléculaire. Dans cette optique, la diffraction de rayons X (DRX) constitue une approche très intéressante en chimie thérapeutique puisqu'elle donne accès non seulement à une conformation des molécules (avec des paramètres géométriques tels que les longueurs de liaison, les angles de valence et les angles de torsion) mais également à certaines forces intermoléculaires (liaisons hydrogène, contact de Van der Waals) grâce à l'examen de l'empilement cristallin.

Remarque : l'analyse par diffraction de rayons X a été réalisée jusqu'à présent uniquement sur le composé **9**, les cristaux du produit de référence SR 47436 étant de taille insuffisante pour pouvoir être analysés.

V.1.1. Conformation cristalline

La diffraction de rayons X nous renseigne sur une conformation adoptée par le composé **9** à l'état solide (figure 35).

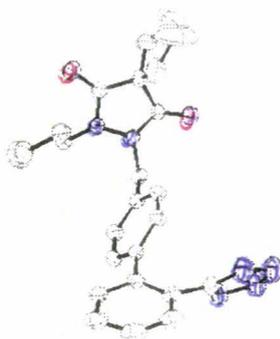


Figure 35 : conformation cristalline du composé **9**

Les informations principales apportées par cette structure sont les suivantes :

- le groupement phényle central s'oriente plus ou moins perpendiculairement par rapport à l'hétérocycle pyrazolidinedione
- le phényle central et le phényle terminal de la structure biphenyltétrazole ne sont pas coplanaires (angle entre les plans des cycles phényle : $49,3^\circ$)
- la chaîne latérale n-C₄H₉ peut occuper deux positions possibles (avec respectivement 57% et 43% d'occupation pour ces deux positions).
- les deux atomes d'azote du cycle pyrazolidine-3,5-dione adoptent une géométrie pyramidale en raison de l'encombrement induit par la chaîne butyle et la chaîne méthylène biphenyltétrazole.

V.1.2. Cohésion cristalline

L'examen de l'empilement permet d'étudier les forces intermoléculaires impliquées dans la cohésion à l'état solide et nous renseigne sur les groupements fonctionnels aptes à former des liaisons faibles et donc susceptibles de participer à l'interaction ligand-récepteur.

Dans le cas du composé **9**, le réseau cristallin est stabilisé par des interactions de Van der Waals (forces de Debye, Keesom et London) ainsi que par des liaisons hydrogène entre le groupe NH du tétrazole et un des groupements carbonyle de l'hétérocycle pyrazolidine-3,5-dione (éléments indiqués en gras sur la structure) (figures 36 et 37).

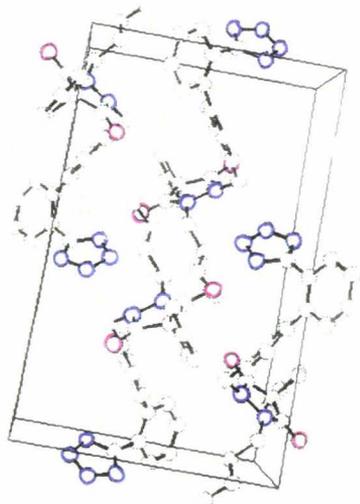


Figure 36 : maille cristalline du composé 9

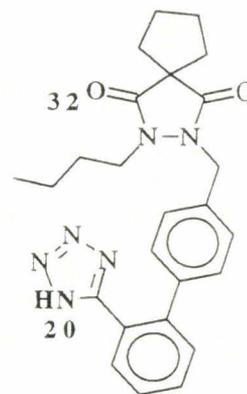
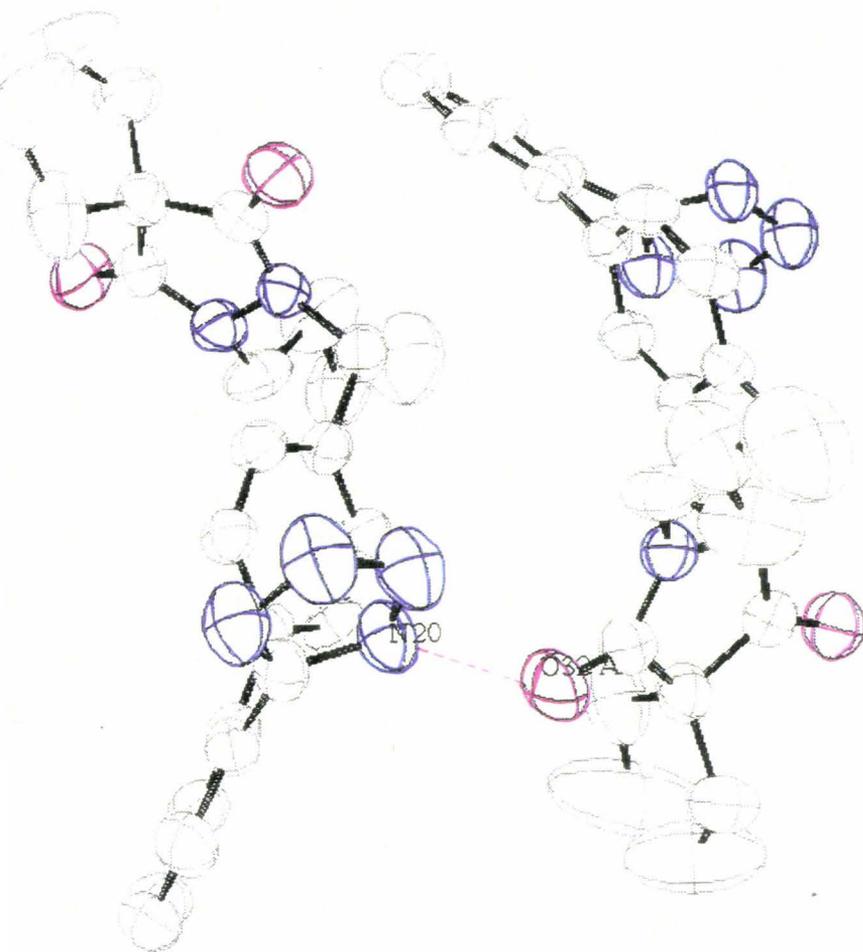


Figure 37 : vue de la cohésion cristalline montrant les ponts hydrogène intermoléculaires

V.2. ANALYSE ÉLECTRONIQUE

La détermination des requis structuraux nécessaires à la formation du complexe ligand-récepteur nécessite la connaissance des propriétés stériques et conformationnelles ainsi qu'une analyse détaillée des forces intermoléculaires mises en jeu. Le potentiel électrostatique moléculaire et la lipophilie jouent en particulier un rôle majeur au cours du processus de reconnaissance moléculaire. Ces propriétés peuvent être déterminées par différentes méthodes, le plus souvent théoriques.

La comparaison des propriétés électroniques des composés **9** et SR 47436 a été entreprise pour essayer de mettre en évidence les éléments qui pourraient expliquer la chute d'affinité. Les groupements méthylènebiphényltétrazole, tétraméthylène et n-butyle communs aux deux structures ont été enlevés et l'étude s'est focalisée sur la comparaison des cycles centraux pyrazolidinedione et imidazolinone.

V.2.1. Potentiel électrostatique moléculaire (PEM)

Le potentiel généré par la distribution de charges d'une molécule peut être représenté par l'interaction électrostatique entre cette distribution de charges non perturbée et une charge positive. L'allure des cartes de PEM permet de localiser les sites nucléophiles ou électrophiles et permet de caractériser la tendance qu'a ce composé à interagir avec certains sites du récepteur.

V.2.1.1. Représentation tridimensionnelle

La figure 38 présente les surfaces d'isocontour à -30 kcal/mole et à -10 kcal/mole. Ces deux fragments adoptent un profil électronique très semblable avec deux zones attractrices situées respectivement au niveau des deux carbonyle pour le squelette pyrazolidinedione et du carbonyle et de l'azote sp^2 pour le squelette imidazolinone.

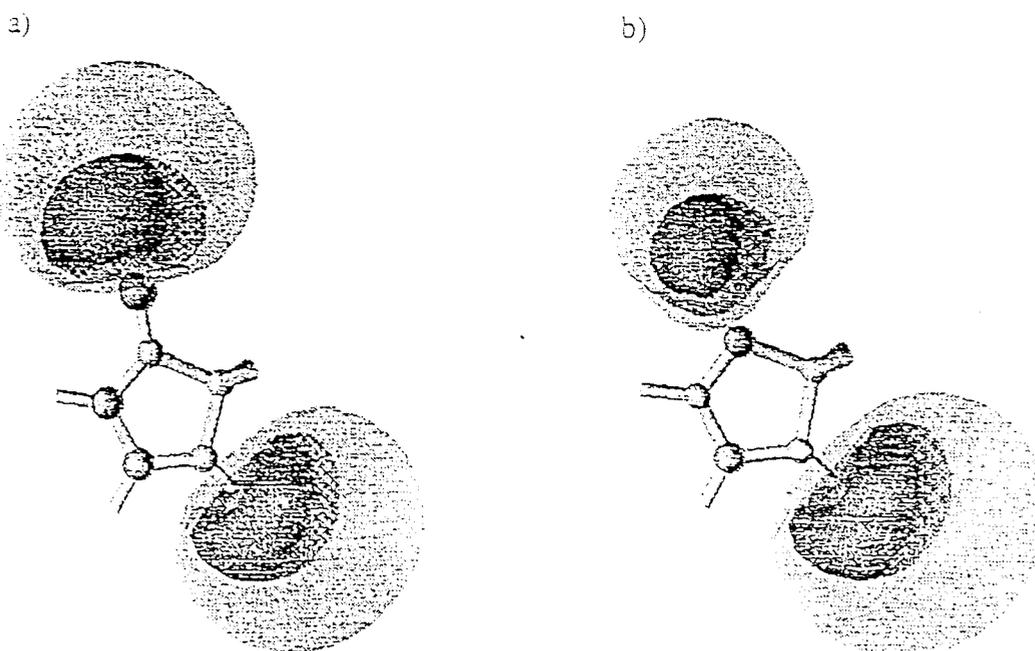


Figure 38 : surfaces d'isocontour de PEM à -30 kcal/mole (gris foncé) et -10 kcal/mole (gris clair) des fragments (a) pyrazolidinedione et (b) imidazolinone. Résultats *ab initio* 3-21G

V.2.1.2. Représentation bidimensionnelle

Le potentiel électrostatique moléculaire a été calculé dans deux plans : le plan de l'hétérocycle et le plan parallèle à la cote de 1,75 Å ; ce dernier plan correspond à la mi-distance entre le ligand et son récepteur. Les valeurs de potentiel sont déterminées dans une grille tous les 0,25 Å. Les pas entre les courbes d'énergie attractrice (traits discontinus) et les courbes d'énergie répulsive (traits continus) sont respectivement de 5 et 1 kcal/mole.

Dans le plan du cycle (figure 39), les deux fragments adoptent le même profil électrostatique avec deux zones de potentiel attracteur. La première est générée soit par la paire libre de l'azote sp^2 (-88 kcal/mole) soit par les deux paires libres de l'oxygène du carbonyle (-72 kcal/mole). La seconde est générée par les deux paires libres de l'autre carbonyle (-71 kcal/mole).

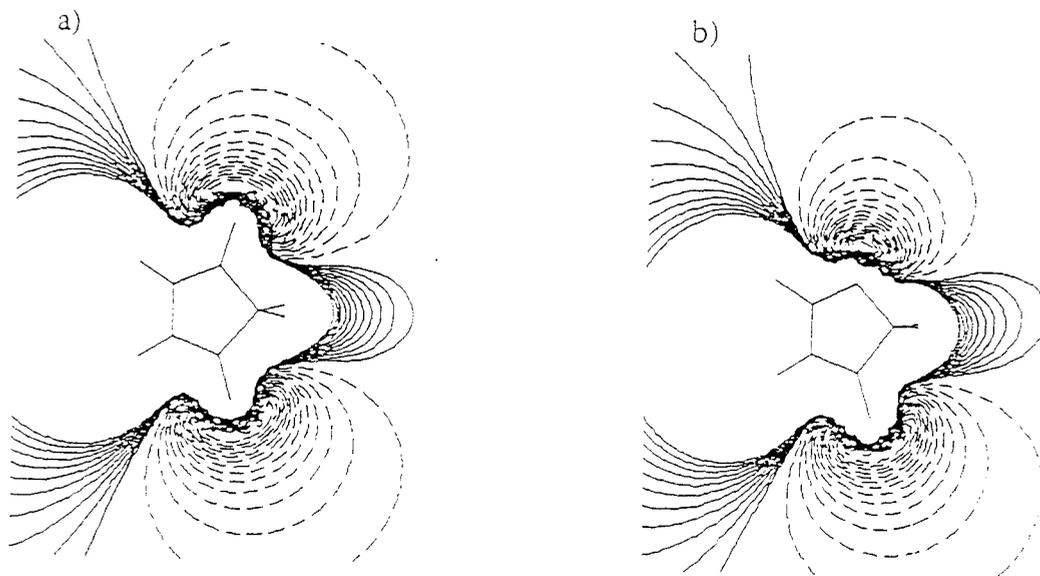


Figure 39 : cartes d'isoénergie potentielle électrostatique moléculaire (kcal/mole) calculées dans le plan du cycle (a) pyrazolidinedione et (b) imidazolinone. Résultats *ab initio* 3-21 G

A 1,75 Å de ce plan, le profil obtenu est comparable (figure 40) :

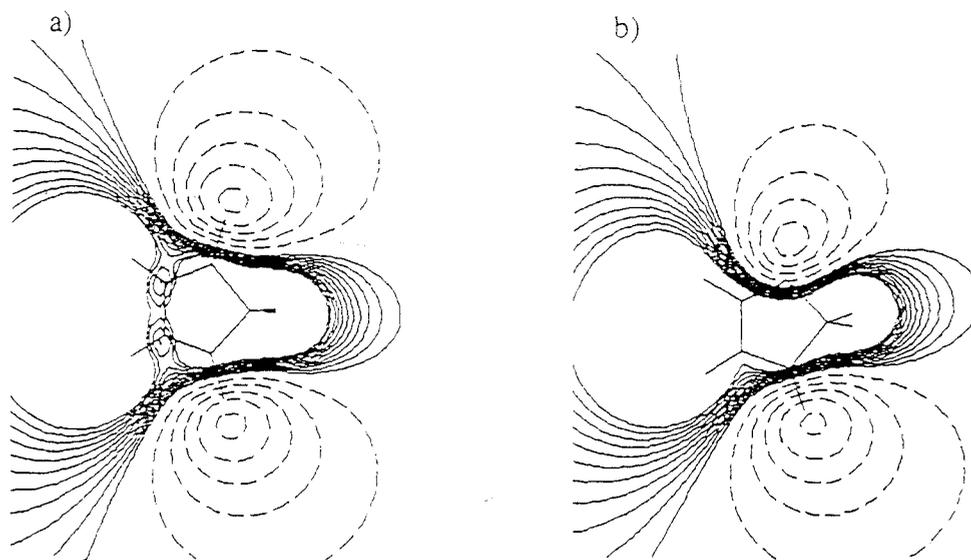


Figure 40 : cartes d'isoénergie potentielle électrostatique moléculaire (kcal/mole) calculées à 1,75 Å du plan du cycle (a) pyrazolidinedione et (b) imidazolinone. Résultats *ab initio* 3-21G

V.2.2. Potentiel de lipophilie moléculaire

Le potentiel de lipophilie moléculaire a été déterminé théoriquement à l'aide du programme CLIP (Gaillard et al., 1994) implémenté dans SYBYL et représenté sur la figure 12. La palette de couleurs s'étend du rouge vers le bleu en passant de zones moins lipophiles (ou plus hydrophiles) vers des zones plus lipophiles (ou moins hydrophiles). Les cycles pyrazolidinedione et imidazolinone adoptent un profil de lipophilie similaire avec deux zones fortement hydrophiles autour des groupements carbonyle et de l'azote sp^2 (figure 41 : représentations a et b).

Ce profil est sensible au type de substituant sur le cycle. L'ajout des groupements tétraméthylène et n-butyle diminue l'étendue de ces zones hydrophiles (figure 41 : représentations c et d).

V.2.3. Conclusions

Les profils de potentiel électrostatique moléculaire et de potentiel de lipophilie moléculaire des cycles centraux pyrazolidinedione et imidazolinone sont similaires. Ces deux cycles peuvent donc être considérés à ce point de vue comme isostères. L'analyse électronique ne permet donc pas de justifier la différence d'affinité entre le composé **9** et le SR 47436.

V.3. SUPERPOSITION DU COMPOSÉ **9** AVEC LE SR 47436

Ne pouvant pas justifier les différences d'affinité entre le composé **9** et le SR47436 d'un point de vue électronique, la comparaison structurale de ces deux ligands a été envisagée. Les outils utilisés pour cette analyse sont intégrés dans SYBYL. La démarche suivie comporte deux étapes : la sélection des conformères et leur superposition.

V.3.1. Sélection des conformères

La première étape consiste à construire, au moyen du module CONFEX (Goldstein et al., 1995), l'espace conformationnel de chacun des deux composés c'est-à-dire à sélectionner les conformères les plus stables (énergétiquement) et les plus dissemblables associés à ces composés.

22 conformères ($\Delta E = 6,3$ kcal/mole ; rms = 1,95 Å) pour le composé **9** et 29 conformères ($\Delta E = 3,8$ kcal/mole ; rms = 1,86 Å) pour le SR 47436 ont été obtenus. Quelques conformères de ces deux composés sont représentés dans les figures 42 et 43.

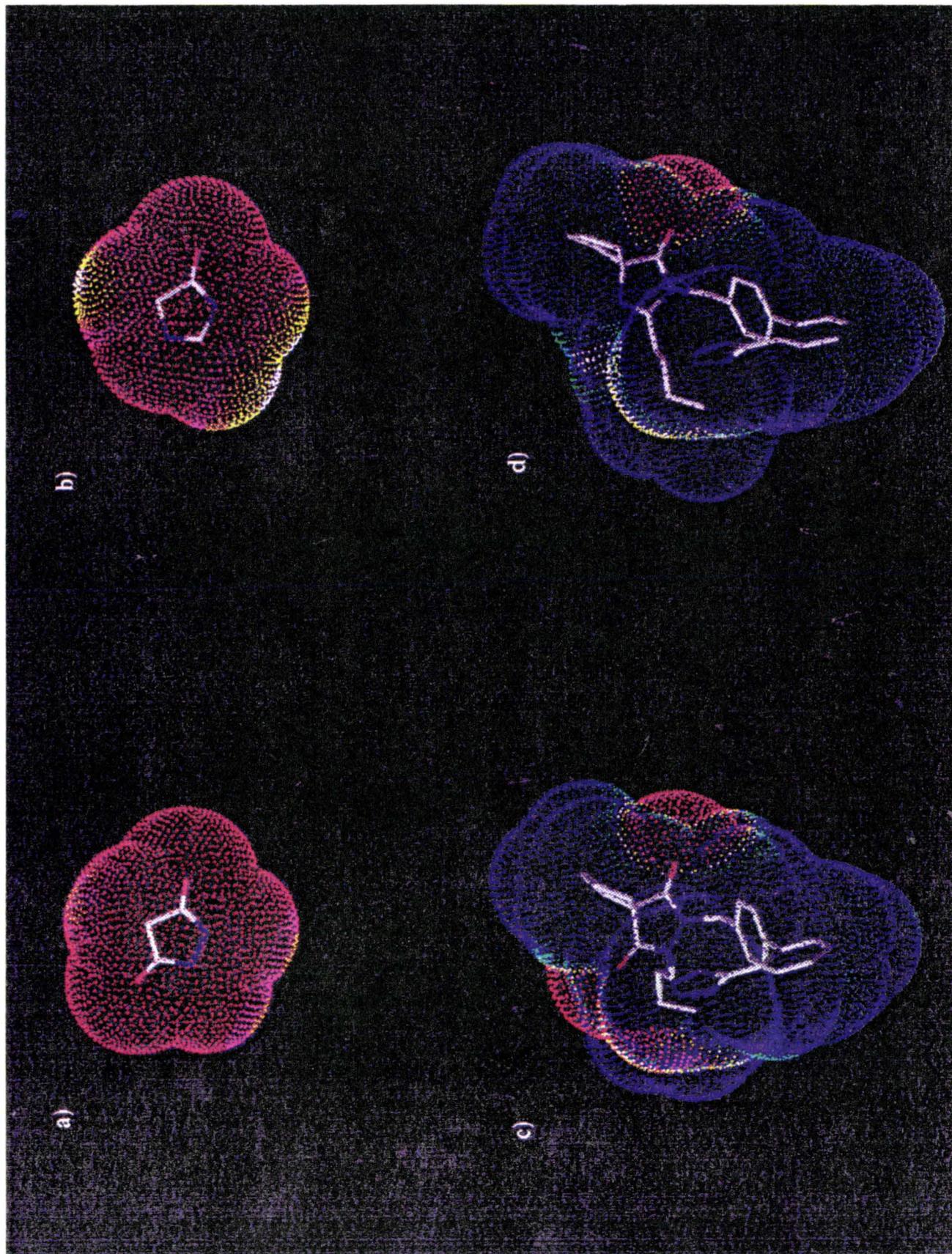


Figure 41 : profil de lipophilie moléculaire des cycles pyrazolidinedione (a) et imidazolinone (b) ainsi que des composés **9** (c) et SR 47436 (d)

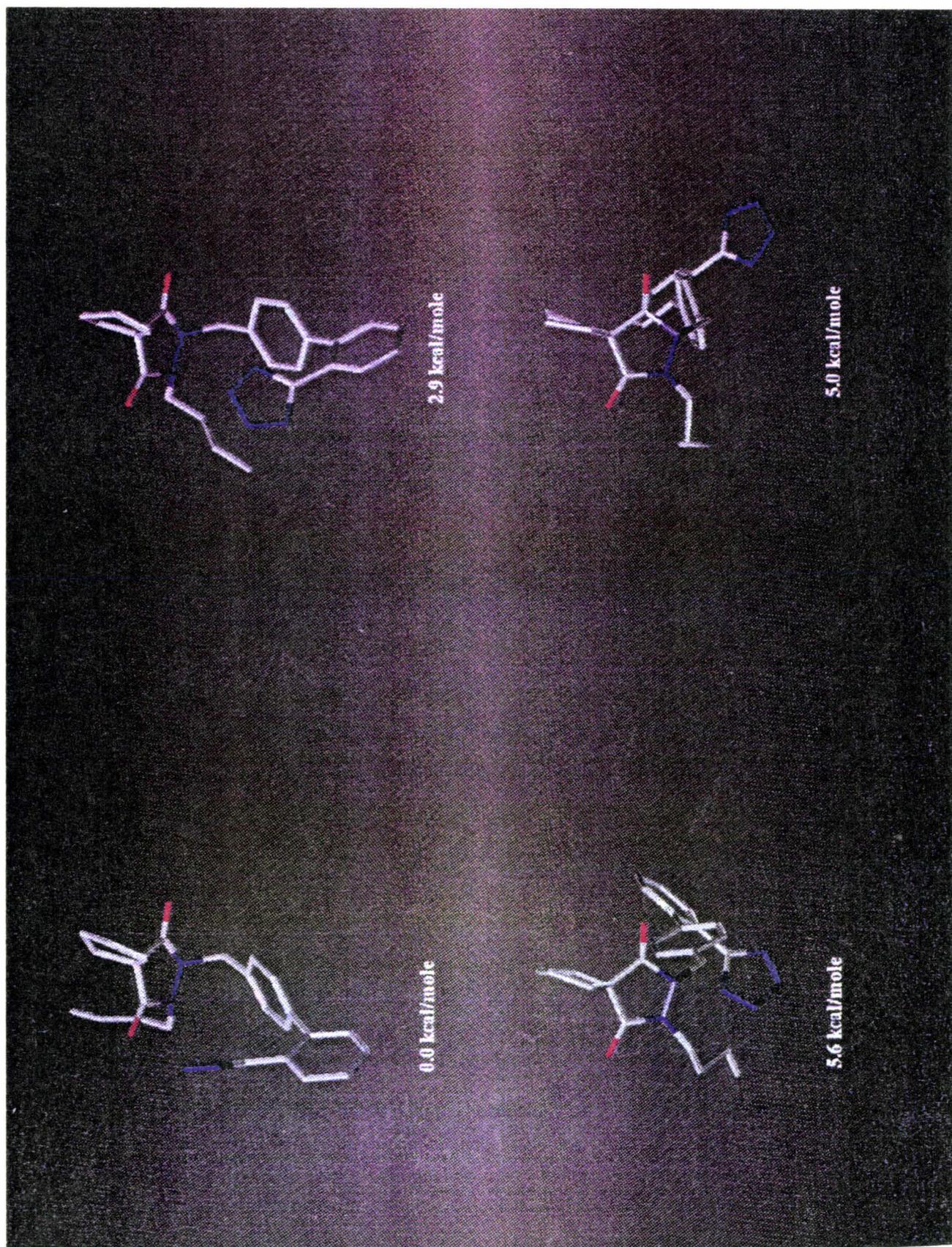


Figure 42 : conformères du composé 9 sélectionnés à partir du module CONFEX

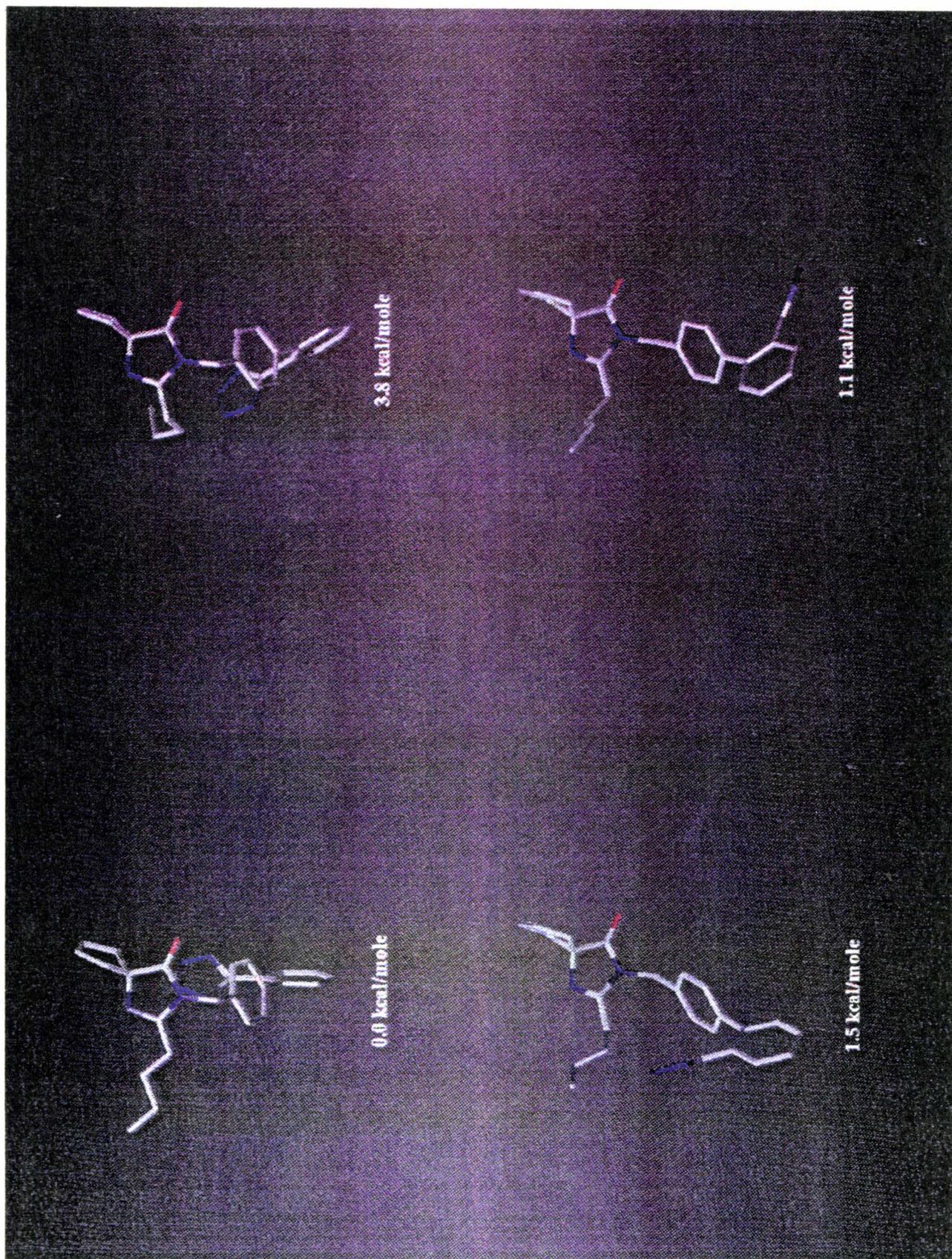


Figure 43 : conformères du SR 47436 sélectionnés à partir du module CONFEX

V.3.2. Superposition des conformères

La seconde étape consiste à superposer les conformères des différents ligands sélectionnés par CONFEX à l'aide du module DISCO (Martin et al., 1993). Dans un premier temps, le module DISCO définit les caractéristiques associées à chaque ligand en tenant compte des hétéroatomes et centres hydrophobes mais également des projections vers l'extérieur, ce qui permet de "simuler" l'interaction avec le récepteur. Après avoir défini ces caractéristiques pour les différents composés, le module DISCO procède ensuite à leur superposition. Les modèles de superposition générés peuvent être triés en fonction de divers critères : le nombre de points superposés, le niveau de tolérance accepté etc. Dans tous les cas, les données de structure-affinité doivent servir de guide pour retenir ou rejeter un modèle.

Les caractéristiques retenues par le module DISCO pour les composés **9** et SR 47436 sont présentées sur la figure 44. Elles assimilent :

- le groupement phényle central comme centre hydrophobe (CH n°1 défini comme centre de masse) ; ce centre permet de tenir compte de l'orientation de la chaîne méthylènebiphényltétrazole.
- les groupements carbonyle ou azote sp^2 comme accepteur de protons (AP) ; les extrémités des paires libres de ces hétéroatomes interagissent avec des sites donneurs de protons (DP) localisés sur le récepteur.
- le centre de masse du tétraméthylène de l'ensemble spirannique comme centre hydrophobe (CH n°2).
- le groupement n-butyle comme centre hydrophobe (CH n°3) qui peut être localisé au niveau du centre de masse ou au niveau du carbone terminal.

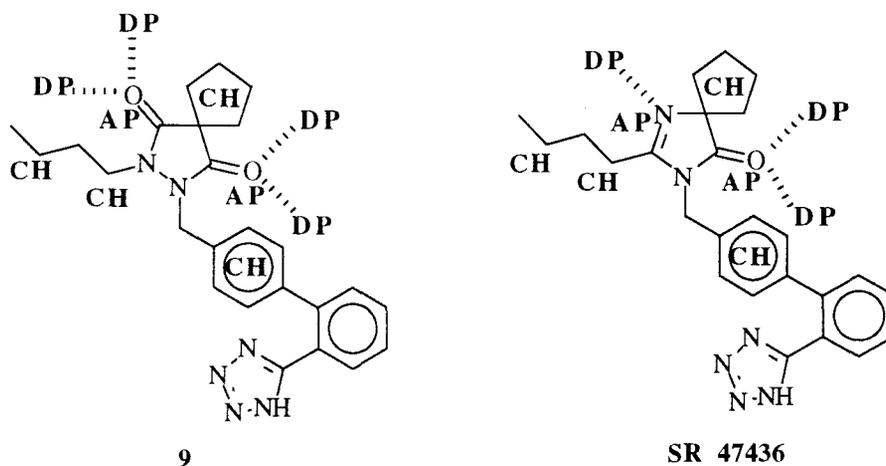


Figure 44 : caractéristiques des composés **9** et SR 47436 retenues par le module DISCO. CH : centre hydrophobe ; DP : site donneur de protons ; AP : site accepteur de protons.

Après avoir défini ces caractéristiques, le module DISCO a procédé à la superposition du composé **9** avec le SR 47436.

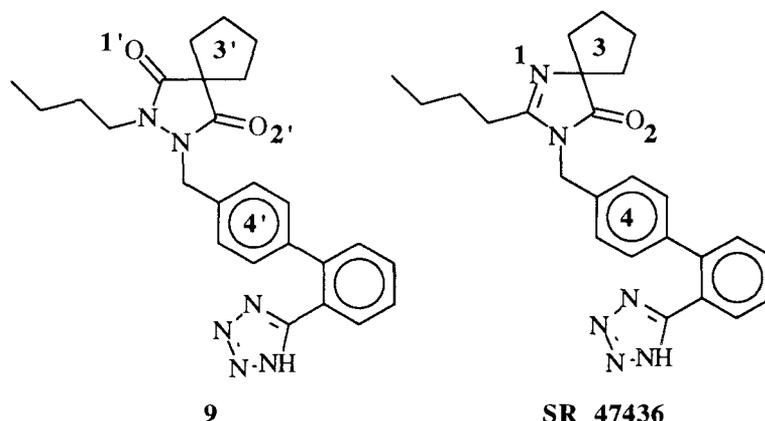


Figure 45 : caractéristiques DISCO du composé **9** et du SR 47436 reprises dans le modèle de superposition sélectionné. Les éléments capables d'interagir avec le récepteur sont numérotés de 1/1' à 4/4'.

Le modèle sélectionné superpose les éléments des deux molécules capables d'interagir avec le récepteur (figures 45 et 46). Ces éléments sont les suivants :

- l'extrémité des paires libres des hétéroatomes 1 et 1' (atome d'azote sp^2 du SR 47436 et atome d'oxygène d'une des fonctions carbonyle du composé : voir figure 45) ; ces paires libres peuvent interagir par liaisons hydrogène avec un site donneur de protons du récepteur.
- l'extrémité des paires libres des hétéroatomes 2 et 2' (atome d'oxygène de la fonction carbonyle du SR 47436 et atome d'oxygène de l'autre fonction carbonyle du composé **9** : voir figure 45) ; ces paires libres peuvent également interagir par liaisons hydrogène avec un site donneur de protons du récepteur.
- le centroïde de l'élément homocyclique du spiranne (symbolisé sur la figure 45 par le n°3 pour le SR 47436 et le n°3' pour le composé **9**) pouvant participer à une interaction hydrophobe avec le récepteur.
- le centroïde du phényle central (symbolisé sur la figure 45 par le n°4 pour le SR 47436 et n°4' pour le composé) pouvant également participer à une interaction hydrophobe avec le récepteur.

Le modèle de la figure 46 montre qu'il est difficile de faire correspondre les extrémités des paires libres de l'atome d'oxygène 1' d'un des groupement carbonyle du composé **9** et de l'atome d'azote sp^2 1 du SR 47436, tout en conservant la superposition des autres sites importants. La distance entre ces deux sites donneurs est en effet d'environ 0,9 Å.

*Contrairement à l'azote sp^2 du SR 47436, l'atome d'oxygène 1' du composé **9** est peut être incapable d'interagir avec un site donneur de protons du récepteur AT1. La perte de ce site d'interaction serait responsable de la diminution d'affinité observée.*

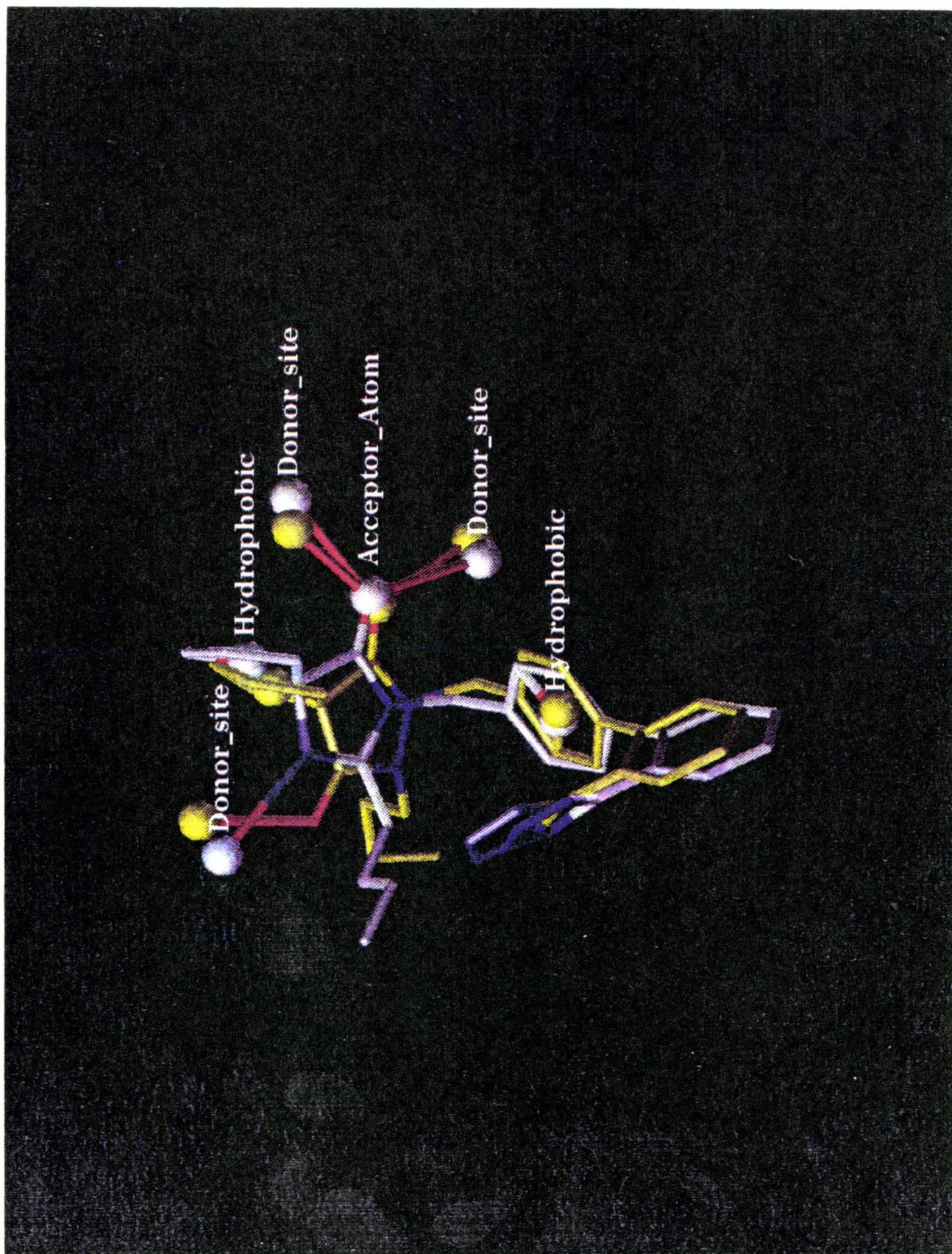


Figure 46 : résultat de la superposition du composé **9** (en jaune) avec le SR 47436 (en blanc)
(les orbitales correspondantes aux doublets libres des hétéroatomes sont représentées en rouge)

La figure 47 résume les hypothèses postulées concernant les sites d'interaction des fragments centraux du composé **9** et du SR 47436 avec le récepteur AT1.

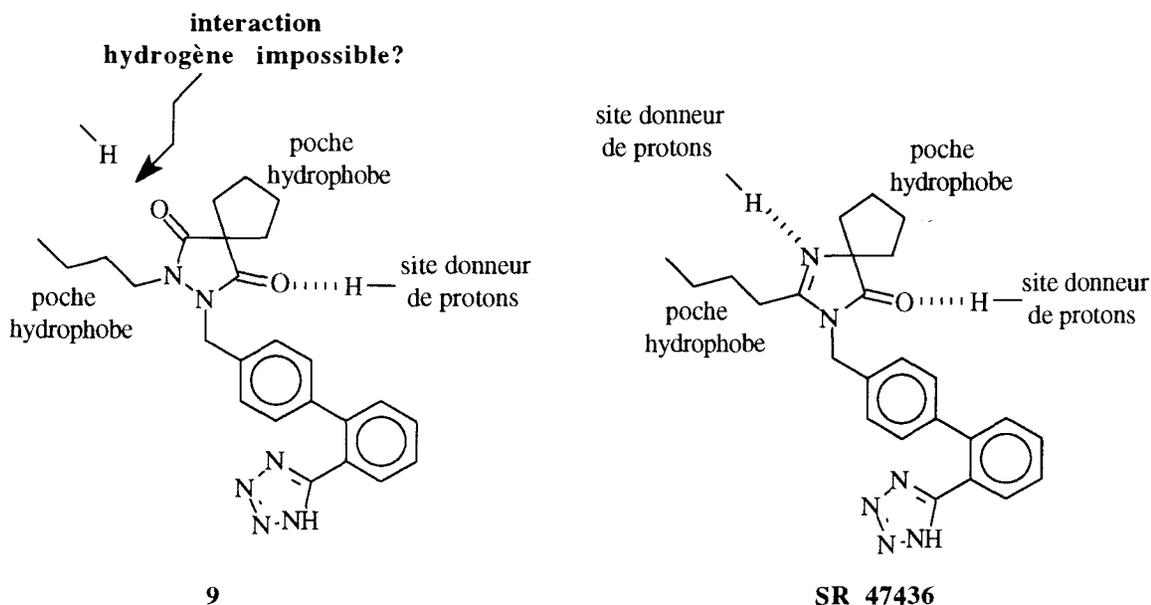


Figure 47 : sites d'interaction hypothétiques des fragments centraux des composés **9** et SR 47436 avec le récepteur AT1.

VI. MISE EN EVIDENCE DES ACIDES AMINES DU RECEPTEUR AT1 SUSCEPTIBLES D'INTERAGIR AVEC LES COMPOSES **9** ET SR 47436

VI.1. INTRODUCTION

Afin de compléter ce modèle hypothétique d'interaction (figure 47), nous avons tenté de mettre en évidence les acides aminés du récepteur AT1 qui pourraient être impliqués dans la reconnaissance des composés **9** et SR 47436. L'objectif de cette étude est à nouveau de rationaliser la différence d'affinité constatée entre ces deux composés. Pour construire ce modèle, nous nous sommes basés sur les différentes études de mutagenèse dirigée décrites dans la littérature ainsi que sur les hypothèses connues concernant les interactions des ligands peptidiques et non peptidiques avec le récepteur AT1.

VI.2. ETUDES DE MUTAGÉNÈSE DIRIGÉE DES RÉCEPTEURS AT1

VI.2.1. Introduction

L'identification de la structure primaire du récepteur AT1 humain (Bergsma et al., 1992) a mené au développement d'un modèle de récepteur en trois dimensions. Ce modèle

permet de rationaliser les relations structure-affinité des antagonistes et d'interpréter les résultats apportés par les études de mutagenèse dirigée.

La structure 3D du récepteur AT1 (figure 48) a été obtenue par homologie avec celle du récepteur $\beta 2$ adrénergique, en positionnant les hélices transmembranaires selon une disposition rencontrée dans la structure de la bactériorhodopsine (seule structure à sept hélices transmembranaires qui a été cristallisée) (Underwood et al., 1994).

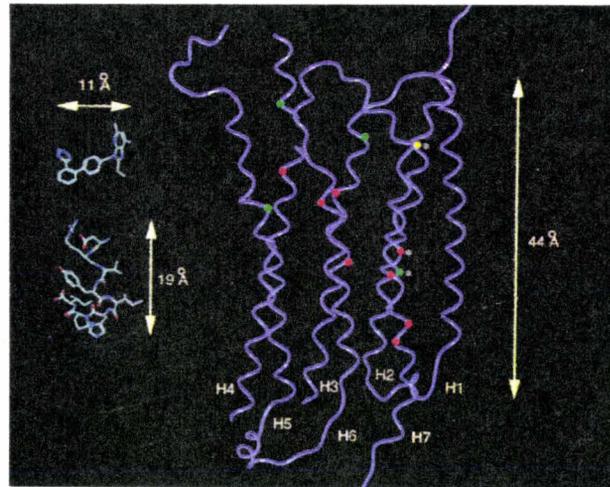


Figure 48 : modèle hypothétique en trois dimensions du récepteur AT1 humain. En rouge : résidus impliqués dans la liaison des antagonistes non peptidiques ; en jaune : résidus impliqués dans la liaison des ligands peptidiques ; en vert : résidus impliqués dans la liaison des ligands peptidiques et non peptidiques (d'après Wexler et al., 1996).

Pour déterminer les sites de fixation des ligands, les études de mutagenèse effectuées sur les résidus des boucles extracellulaires et des segments transmembranaires sont les plus intéressantes. Ces mutations concernent soit toute une partie du récepteur avec la construction de récepteurs chimères, soit un seul acide aminé.

D'une manière générale, ces études ont montré l'importance :

- de la partie N-terminale, de la première et de la troisième boucle extracellulaire pour la liaison de l'angiotensine II (Hjorth et al., 1994).
- des hélices transmembranaires III, IV, V, VI et VII pour la liaison des antagonistes non peptidiques (Schambye et al., 1994).

VI.2.2. Modèles hypothétiques des sites de liaison des ligands des récepteurs de l'angiotensine II

VI.2.2.1. Introduction

Ces études de mutagenèse ont mis en évidence l'existence de plusieurs sites de fixation de l'angiotensine II sur les récepteurs AT1. Il est apparu au départ que les sites de liaison des ligands peptidiques et non peptidiques étaient différents (Schambye et al., 1994). En fait, ces sites de liaison se recoupent mais ne sont pas entièrement superposables. En effet, pour plusieurs résidus, les mutations influencent la liaison de l'angiotensine II mais pas celle des antagonistes non peptidiques et *vice-versa* (voir figure 48). Ce phénomène se retrouve dans d'autres cas comme par exemple avec la Substance P. Il peut s'expliquer par le fait que les peptides, molécules d'assez grande taille, établissent plusieurs points d'interaction (épitopes) avec le récepteur. Il suffit donc en théorie pour une molécule de perturber l'un de ces sites d'interactions pour empêcher la fixation du peptide (Schwartz et al., 1995).

VI.2.2.2. Sites de liaison de l'angiotensine II

Les sites de liaison principaux de l'angiotensine II ont été identifiés sur la partie N-terminale du récepteur (**His²⁴**, **Tyr²⁶**, **Ile²⁷**) dans la première boucle extracellulaire près du sommet du second segment transmembranaire (**Tyr⁹²**) et dans la troisième boucle extracellulaire (**Asp²⁷⁸**, **Asp²⁸¹**) près du sommet du septième segment transmembranaire (Hjorth et al., 1994) (figure 49). Cela confirme que la liaison de l'angiotensine II s'effectue principalement en surface sur les boucles extracellulaires du récepteur.

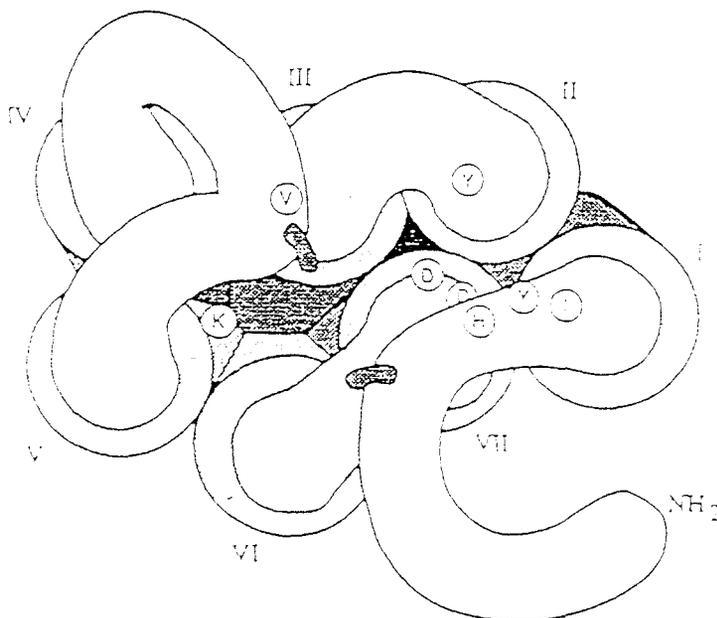


Figure 49 : acides aminés impliqués dans la liaison de l'angiotensine II au récepteur AT1 (d'après Schwartz et al., 1995).

D'après la structure hypothétique en trois dimensions du récepteur AT1, ces résidus positionnés au sommet des segments transmembranaires I, II et VII se trouvent très proches les uns des autres (Hjorth et al., 1994). En particulier, les résidus acides **Asp²⁷⁸** et **Asp²⁸¹** seraient susceptibles d'interagir avec la chaîne latérale de **Arg²** de l'angiotensine II (Feng et al., 1995). Lorsque **His¹⁸³** (deuxième boucle extracellulaire) est remplacée par **Glu**, l'affinité de l'angiotensine II diminue (Feng et al., 1995). Par contre, une mutation **His¹⁸³→Ala** n'exerce aucune influence sur cette affinité (Yamano et al., 1995). Ce résidu basique serait impliqué dans l'interaction de la fonction β-carboxylique de l'acide aspartique de l'angiotensine II.

Ces différents points d'interaction à la surface du récepteur doivent permettre de positionner l'angiotensine II dans une conformation adéquate pour interagir ensuite avec les résidus impliqués dans l'activation du récepteur. A ce titre, plusieurs études (Feng et al., 1995 ; Yamano et al., 1995 ; Yamano et al., 1992 ; Noda et al., 1995) ont mis en évidence l'importance capitale de **Lys¹⁹⁹** située à la frontière entre les domaines extracellulaire et transmembranaire dans une zone facilement accessible pour le peptide. La chaîne latérale de **Lys¹⁹⁹** interagirait par liaison ionique avec le groupement carboxylique terminal de l'angiotensine II.

D'autres auteurs ont aussi montré que la substitution de plusieurs résidus situés sur l'hélice VI affectait la liaison de l'angiotensine II au récepteur AT1. Ces auteurs postulent que le peptide pénètre dans le récepteur pour interagir avec le groupe ε aminé de **Lys¹⁹⁹** qui est lui même stabilisé par **Trp²⁵³** (sixième segment transmembranaire) placé au fond de la poche de liaison (Yamano et al., 1995) (figure 50).

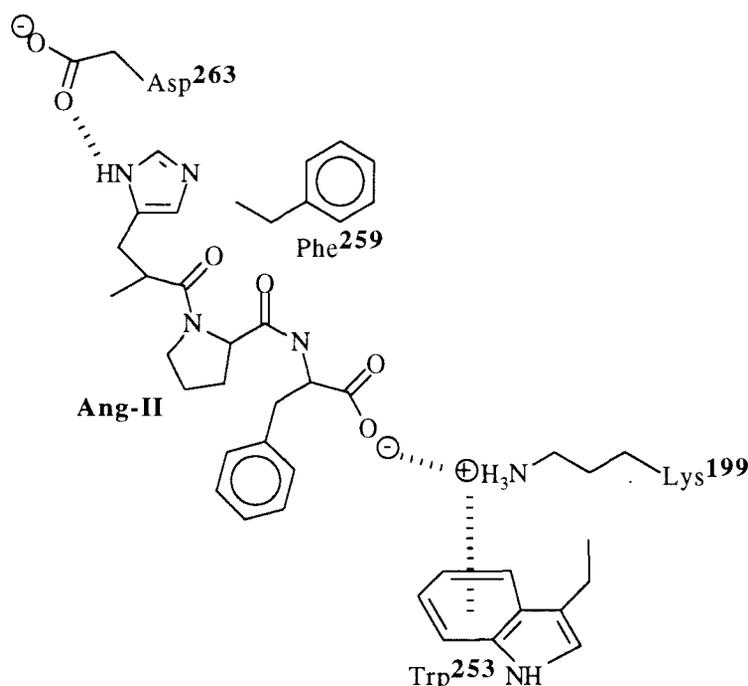


Figure 50 : représentation schématique de l'interaction de l'angiotensine II et de l'hélice transmembranaire VI du récepteur AT1a de rat (d'après Yamano et al., 1995).

La mutation **Arg¹⁶⁷→Gln** ou **Arg¹⁶⁷→Ala** sur le quatrième segment transmembranaire entraîne également la perte de toute affinité de l'angiotensine II pour son récepteur. Ce résidu basique est également susceptible d'établir un lien ionique avec la fonction carboxylique terminale de l'angiotensine II (Yamano et al., 1995).

Sur la base des études de mutagenèse dirigée, un modèle hypothétique d'interaction entre l'angiotensine II et le récepteur AT1 a été proposé (Feng et al., 1995) (figure 51).

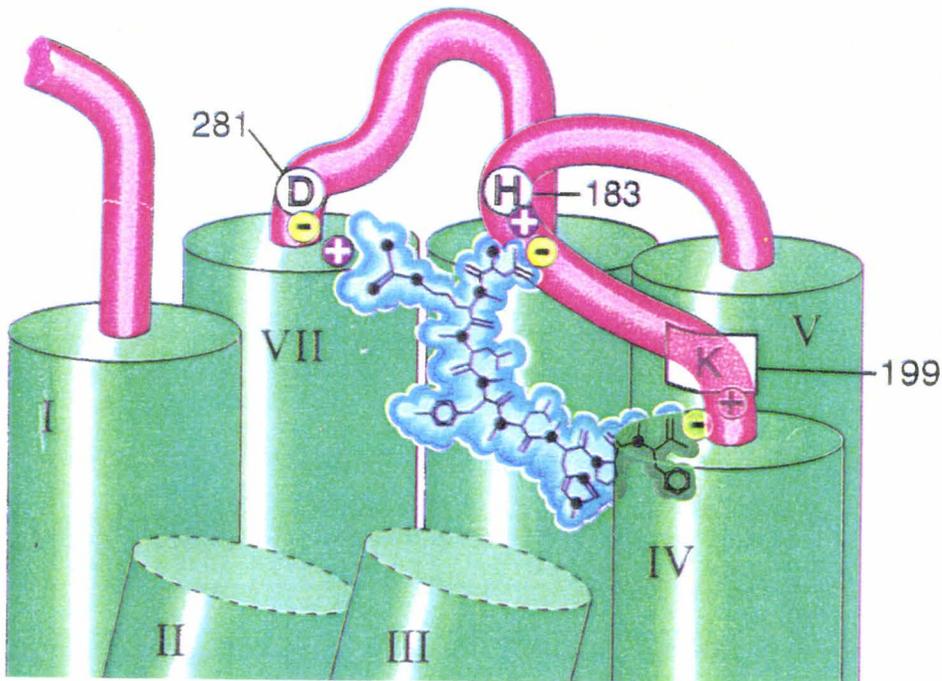


Figure 51 : modèle d'interaction entre l'angiotensine II et le récepteur AT1 (d'après Feng et al., 1995).

VI.2.2.3. Sites de liaison des antagonistes non peptidiques

Différentes études (Ji et al., 1994 ; Schambye et al., 1994) ont montré que le site de fixation des ligands non peptidiques était localisé assez profondément dans le récepteur AT1 et plus particulièrement entre les hélices transmembranaires II, V, VI et VII.

Lys¹⁹⁹ (septième segment transmembranaire) est supposée être au centre de la liaison de tous les ligands des récepteurs AT1. Ce résidu basique interagirait en particulier avec les groupes acides (tétrazole, carboxylique, acylsulfonamide) des antagonistes non peptidiques. Des études de mutagenèse ont également montré que **His²⁵⁶** agissait en synergie avec **Lys¹⁹⁹** dans la reconnaissance des antagonistes non peptidiques de type Losartan (Noda et al., 1995). Une étude du site de fixation du SK&F 108566, antagoniste non peptidique ne possédant pas de groupe méthylènebiphényltétrazole, montre que **His²⁵⁶** serait impliquée dans une interaction avec la fonction acide carboxylique fixée en para du benzyle (Schambye et al.,

1995). **His²⁵⁶** peut être remplacée par un résidu acide glutamique sans perte d'affinité comme dans le cas du Losartan. Cela suggère que l'interaction met en jeu l'azote ε de l'imidazole de la chaîne latérale de **His²⁵⁶** (figure 52).

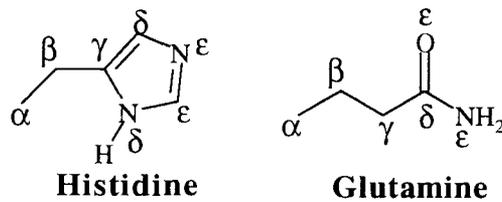


Figure 52 : implication de l'azote ε de l'histidine et de la glutamine dans la reconnaissance des antagonistes non peptidiques de type DUP 753 et SK&F 108566.

Le remplacement de **His²⁵⁶** par **Ala** diminue de manière plus importante l'affinité du SK&F 108566 que celle du DUP 753 (tableau 13). Le groupe tétrazole est plus volumineux que la fonction acide carboxylique ; il peut établir plusieurs liaisons hydrogène (présence de trois atomes d'azote basiques) et des interactions aromatiques ("stacking"). Il est donc susceptible de multiplier les points d'interaction avec le récepteur (Noda et al., 1995). Ainsi, par analogie avec les récepteurs adrénérgiques, Yamano suppose que la liaison ionique entre le groupe tétrazole du DUP 753 et la chaîne latérale de **Lys¹⁹⁹** est entourée de résidus aromatiques qui la stabiliseraient. Divers acides aminés aromatiques présents dans cette région pourraient jouer ce rôle (Yamano et al., 1995).

	F(mut)	
	DUP 753	SK&F 108566
H ²⁵⁶ A	2,0	15
H ²⁵⁶ Q	1,9	1

Tableau 13 : rôle de **His²⁵⁶** dans la liaison des antagonistes non peptidiques de l'angiotensine II : comparaison du DUP 753 et du SK&F 108566 ; F (mut) correspond au rapport de l'affinité du ligand pour le récepteur muté sur celle pour le récepteur naturel (d'après : (a) Noda et al., 1995 et (b) Schambye et al., 1995).

On peut donc imaginer que la rupture d'un seul point d'interaction n'influence pas trop la liaison du DUP 753. En revanche, pour le SK&F 108566, la fonction carboxylique du groupe benzyle interagit peut être exclusivement avec **His¹⁵⁶** et la rupture de cette liaison entraînerait une chute plus importante de l'affinité.

D'autres études de mutagenèse ont pu mettre en évidence le rôle plus ou moins important d'autres acides aminés dans la liaison des antagonistes non peptidiques :

- **Lys¹⁰²** (première boucle extracellulaire) :

Le remplacement de cet acide aminé situé à la frontière du domaine membranaire par **Ala** ou **Met** affecte la liaison des antagonistes non peptidiques (comme celle des antagonistes peptidiques) (Hjorth et al., 1994 ; Groblewski et al., 1995). **Lys¹⁰²** constitue un autre site basique capable d'établir une liaison ionique supplémentaire avec les groupes acides des différents ligands.

- **Val¹⁰⁸** (troisième segment transmembranaire) :

Son remplacement par une **Ile** entraîne une diminution de l'affinité de DUP 753 d'un facteur 40 (Ji et al., 1994).

- **Asn¹¹¹** (troisième segment transmembranaire) :

L'affinité des antagonistes non peptidiques comme le DUP 753 est fortement diminuée par le remplacement de **Asn¹¹¹** par **Ala** ($F(\text{mut}) > 100$) (Groblewski et al., 1995).

- **Arg¹⁶⁷** (quatrième segment transmembranaire) :

Son remplacement par **Gln** ou **Ala** entraîne la perte de toute affinité du récepteur pour tous les ligands et en particulier les antagonistes non peptidiques (Noda et al., 1995 ; Yamano et al., 1995). Yamano suppose que **Arg¹⁶⁷** est impliquée dans une liaison ionique avec la fonction tétrazole des antagonistes non peptidiques de type DUP 753 (Yamano et al., 1995).

- **Asn²⁹⁵** (septième segment transmembranaire) :

La liaison de nombreux antagonistes non peptidiques est influencée par la mutation de ce résidu (l'affinité des ligands peptidiques reste inchangée) (Perlman et al., 1995 ; Schambye et al., 1995).

A partir des résultats de mutagenèse dirigée, différents auteurs ont proposé des modèles d'interaction en trois dimensions entre les antagonistes non peptidiques et le récepteur AT1 (figures 53 et 54)

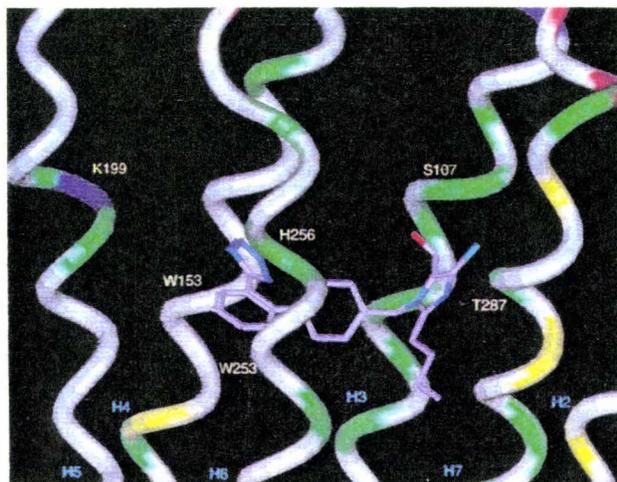
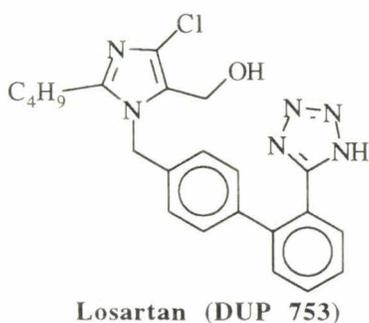


Figure 53 : modèle d'interaction en trois dimensions du DUP 753 avec le récepteur AT1 de l'angiotensine II (d'après Wexler et al., 1996).

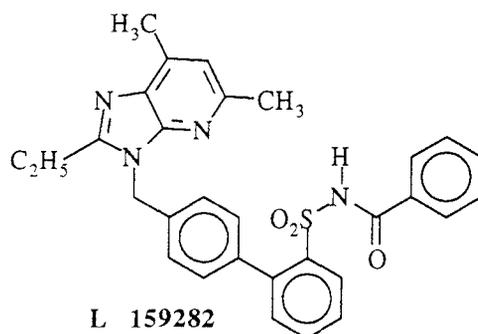
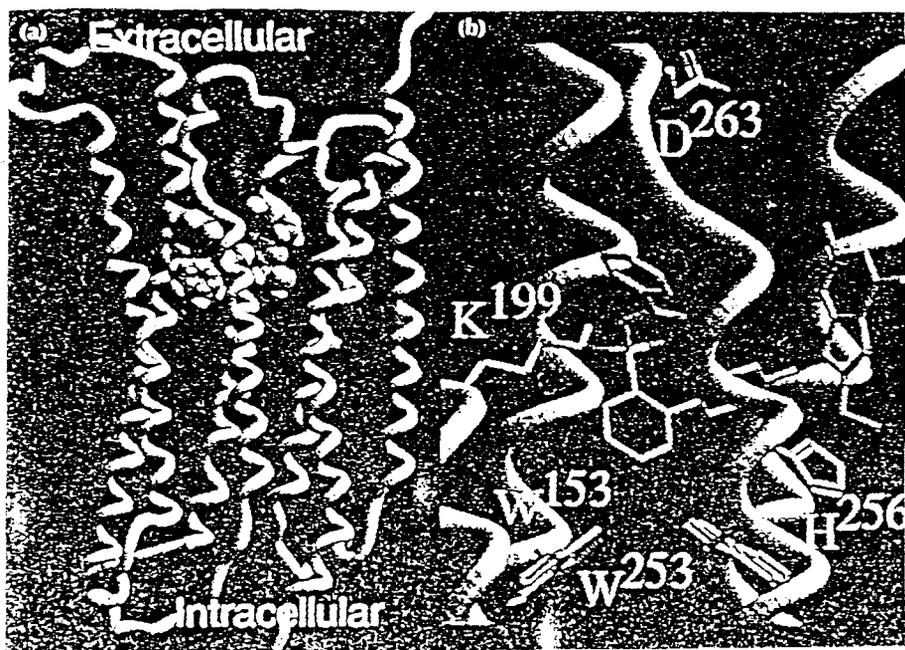
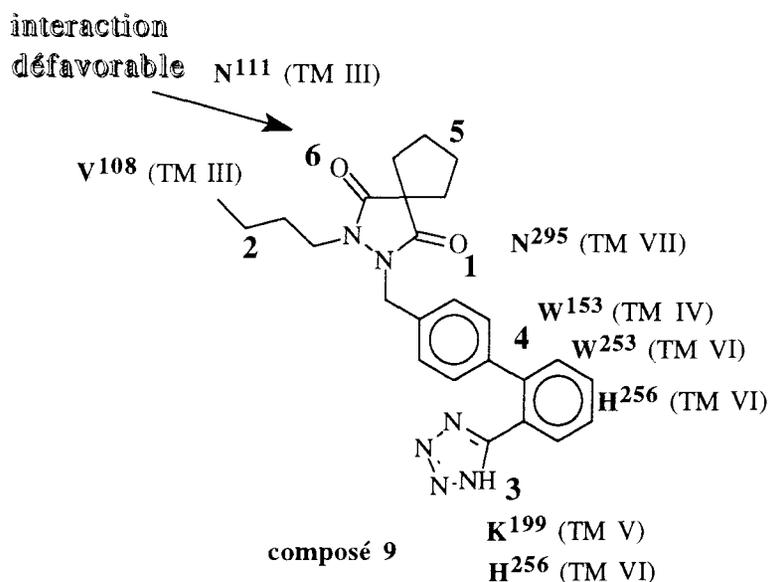
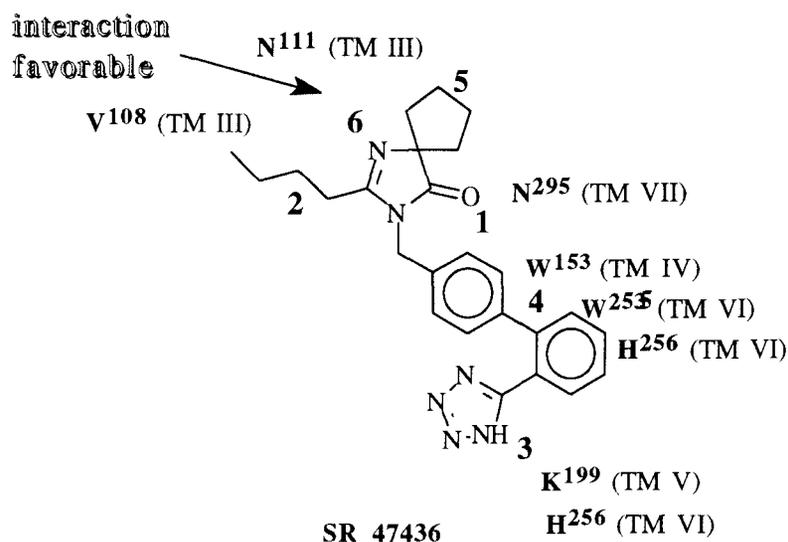


Figure 54 : modèle d'interaction en trois dimensions du L 159282 avec le récepteur AT1 de l'angiotensine II (d'après Underwood et al., 1994).

VI. 3. PROPOSITIONS D'INTERACTION DES COMPOSÉS 9 ET SR 47436 AVEC LES DIVERS ACIDES AMINÉS DU RÉCEPTEUR AT1

Sur la base de ces représentations en trois dimensions (voir figures 53 et 54) et des différents résultats de mutagenèse dirigée exposés précédemment, il est possible de mettre en évidence les acides aminés du récepteur AT1 qui seraient impliqués dans la reconnaissance du composé 9 d'une part et du SR 47436 d'autre part.

Les différents éléments impliqués dans la reconnaissance du récepteur AT1 seraient les suivants :



1. Une fonction carbonyle capable de former une liaison hydrogène avec un résidu du récepteur : nous proposons dans ce cas, une interaction avec la chaîne latérale basique de **Asn²⁹⁵** (septième segment transmembranaire).
2. Une chaîne alkyle qui occupe une poche hydrophobe assez étroite du récepteur. On peut supposer une interaction de type hydrophobe entre la chaîne butyle et la chaîne latérale **Val¹⁰⁸**.
3. Une fonction acide (tétrazole) capable d'interagir avec un résidu basique du récepteur. **Lys¹⁹⁹** semble être un bon candidat. On peut compléter cette hypothèse en ajoutant le rôle de **His²⁵⁶** comme point supplémentaire d'interaction.
4. Une structure biaromatique (biphényle) capable de se glisser dans une troisième poche hydrophobe. Les deux noyaux aromatiques interagissent avec les récepteurs par des forces de "stacking" et ils positionnent la fonction acide dans une région précise pour interagir avec un résidu basique du récepteur. Plusieurs acides aminés aromatiques semblent bien positionnés pour interagir avec cette structure biphényle. On peut proposer **Trp¹⁵³** (quatrième segment transmembranaire), **Trp²⁵³** (sixième segment transmembranaire) et **His²⁵⁶** (quatrième segment transmembranaire).
5. Un substituant volumineux (tétraméthylène) susceptible d'occuper une poche hydrophobe large et profonde.
6. Un atome capable d'établir une liaison hydrogène avec un groupe donneur de protons du récepteur. **Asn¹¹¹** dont un rôle dans la liaison du DUP 753 a été montré (Grobowski et al., 1995) peut être un candidat.

Figure 55 : acides aminés du récepteur AT1 qui seraient impliqués dans la reconnaissance des composés **9** et SR 47436.

Nous proposons donc que, contrairement à l'atome d'azote sp^2 du SR 47436, l'atome d'oxygène d'une des fonctions carbonyle de la pyrazolidinedione (voir figure 55) est incapable d'établir une interaction par liaison hydrogène avec la chaîne latérale de **Asn¹¹¹**. C'est la perte de ce site d'interaction qui serait responsable de la diminution d'affinité observée.

VII. MODIFICATION DE LA STRUCTURE DE L'HÉTÉROCYCLE CENTRAL DU COMPOSE 9

VII.1. ETUDE THÉORIQUE

VII.1.1. Introduction

Il a été postulé dans les chapitres V et VI que le composé **9**, présentant un cycle central pyrazolidinedione à cinq chaînons, perdait un site d'interaction par pont hydrogène avec le récepteur AT1. Sur la base de cette hypothèse, des modifications structurales sur ce cycle ont été envisagées afin de "récupérer" ce site d'interaction par pont hydrogène. L'extension du cycle pyrazolidinedione à cinq chaînons en un cycle pyridazinedione à six chaînons a été proposée (figure 56).

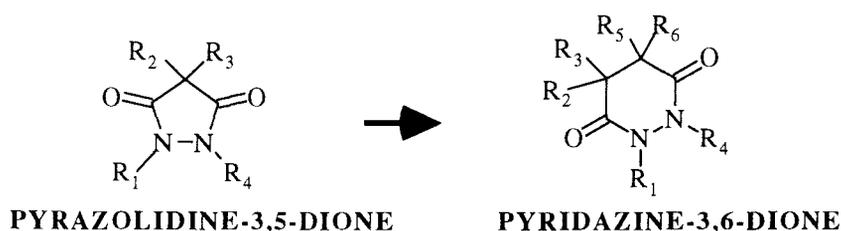


Figure 56 : modification de la nature de l'hétérocycle tenseur

Après le positionnement des chaînes n-butyle et méthylènebiphényltétrazole sur les deux atomes d'azote de l'hétérocycle pyridazinedione, le groupement tétraméthylène peut être placé à deux positions différentes. Il faut dès lors considérer les deux régioisomères **30a** et **30b** (figure 57).

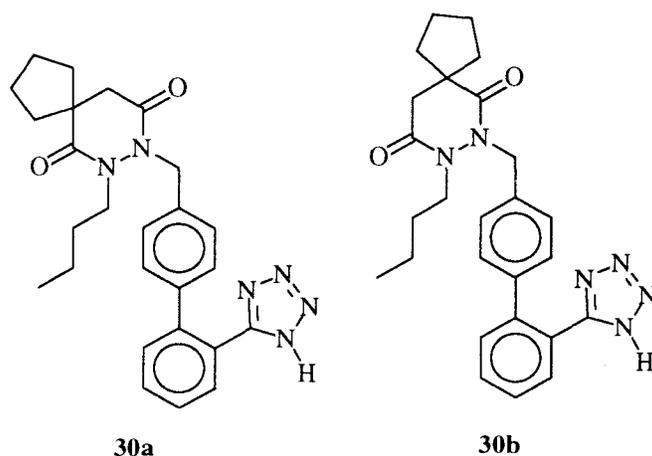


Figure 57 : structure des deux régioisomères proposés

VII.1.2. Superposition des deux régioisomères 30a et 30b avec le SR 47436

Ces deux régioisomères ont donc été superposés avec le SR 47436 afin de vérifier si l'introduction d'un cycle central à six chaînons pourrait conduire à une meilleure superposition que celle obtenue avec le cycle central à cinq chaînons. Cette étude théorique a été réalisée par C. Cauvin.

VII.1.2.1. Génération des espaces conformationnels

Les espaces conformationnels des régioisomères **30a** et **30b** ont été générés par le module CONFEX (voir section V.3.1.). L'étude réalisée a permis d'obtenir respectivement 20 ($\Delta E = 6,4$ kcal/mol ; rms = 1,92 Å) et 32 conformères ($\Delta E = 8,7$ kcal/mol ; rms = 1,92 Å). La figure 58 réunit quelques exemples de conformères de ces deux isomères.

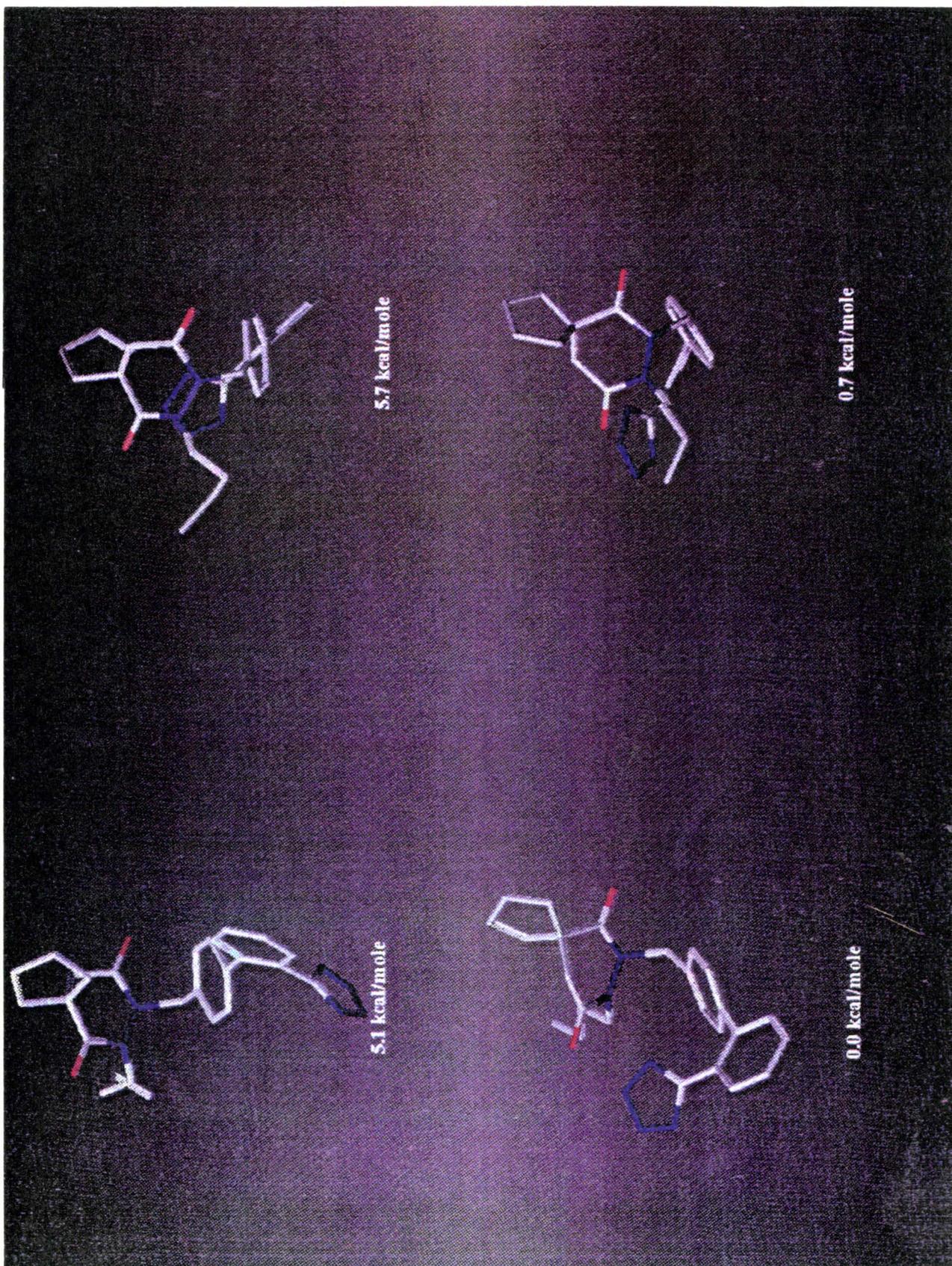


Figure 58 : exemples de conformères des régioisomères **30a** et **30b**

VII.1.2.2. Modèles de superposition

La superposition de chacun des composés **30a** et **30b** a été envisagée en reprenant les mêmes définitions des caractéristiques DISCO que pour le composé **9** (voir section V.3.2.). Les caractéristiques retenues par le module DISCO pour le composé **30a** sont présentées sur la figure 59 (ces caractéristiques sont transposables à l'autre isomère **30b**).

Elles assimilent :

- le centre de masse du phényle central comme centre hydrophobe (CH n°1).
- les groupements carbonyle ou azote sp^2 comme accepteur de protons (AP) ; les extrémités des paires libres de ces hétéroatomes interagissent avec des sites donneurs de protons (DP) localisés au niveau du récepteur.
- le centre de masse du tétraméthylène comme centre hydrophobe (CH n°2).
- le groupement n-butyle comme centre hydrophobe (CH n°3) qui peut être localisé au centre de masse ou sur le carbone terminal de la chaîne n-butyle.

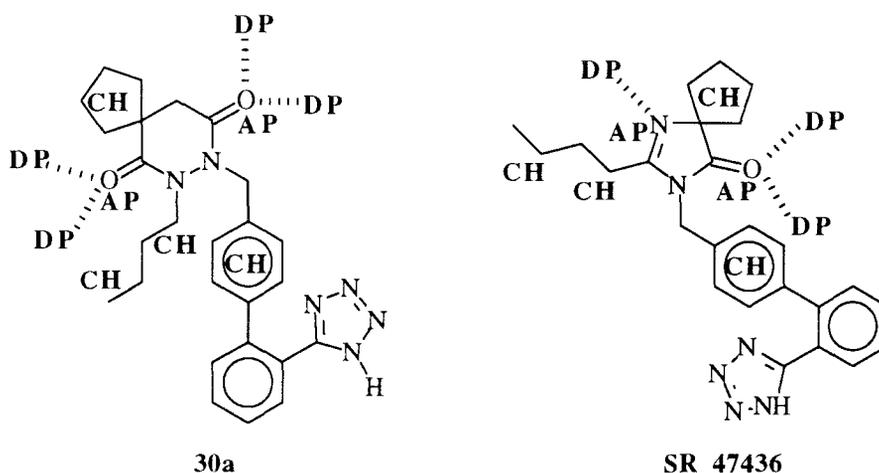


Figure 59 : caractéristiques des composés **30a** et SR 47436 retenues par le module DISCO.

CH : centre hydrophobe ; DP : site donneur de protons ; AP : site accepteur de protons.

VII.1.2.2.1. Superposition du composé **30a** avec le SR 47436

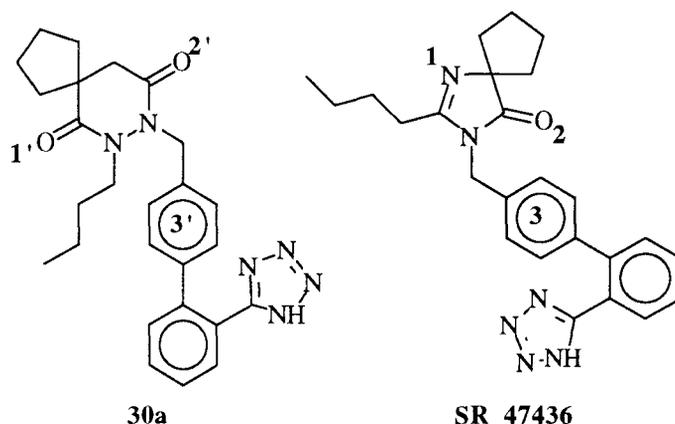


Figure 60 : caractéristiques DISCO du composé **30a** et du SR 47436 reprises dans le modèle de superposition sélectionné. Les éléments capables d'interagir avec le récepteur sont numérotés de 1/1' à 3/3'.

Les modèles obtenus superposent les différentes caractéristiques énoncées précédemment excepté le groupe tétraméthylène, c'est-à-dire (voir figure 60) :

- L'extrémité des paires libres des hétéroatomes 1 et 1' (atome d'azote sp^2 du SR 47436 et atome d'oxygène d'une des fonctions carbonyle du composé **30a**).
- L'extrémité des paires libres des hétéroatomes 2 et 2' (atome d'oxygène de la fonction carbonyle du SR 47436 et atome d'oxygène de l'autre fonction carbonyle du composé **30a**).
- Le centroïde du phényle central (symbolisé par le n°3 pour le SR 47436 et n°3' pour le composé **30a**).

La figure 61 reprend un de ces modèles. La superposition des sites accepteurs de protons à l'extrémité des paires libres de l'atome d'oxygène **1'** pour le composé **30a** et de l'atome d'azote **1** pour le SR 47436 est nettement meilleure que dans le cas du composé **9**. La distance entre l'extrémité des paires libres de l'oxygène du carbonyle et de l'azote sp^2 est de 0,5 Å. Cependant, les groupements tétraméthylène sont éloignés l'un de l'autre.

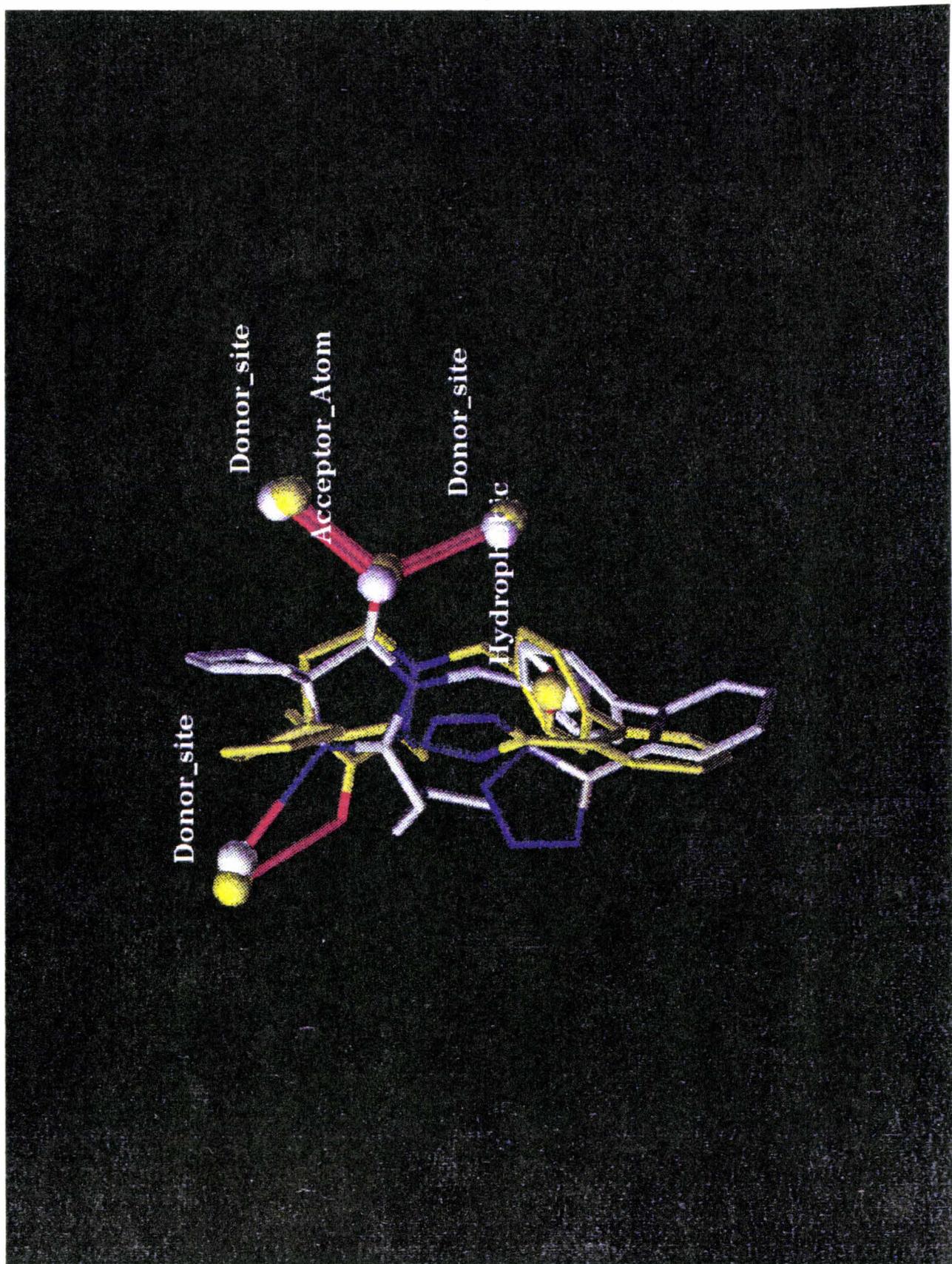


Figure 61 : résultat de la superposition du composé **30a** (en jaune) avec le SR 47436 (en blanc) (les orbitales correspondant aux doublets libres des hétéroatomes sont représentées en rouge)

VII.1.2.2.2. Superposition du composé **30b** avec le SR 47436

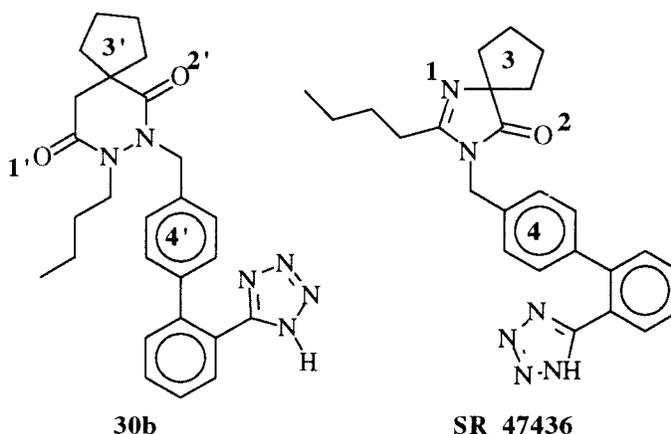


Figure 62 : caractéristiques DISCO du composé **30b** et du SR 47436 reprises dans le modèle de superposition sélectionné. Les éléments capables d'interagir avec le récepteur sont numérotés de 1/1' à 4/4'.

Les modèles retenus permettent de superposer tous les sites et atomes exposés précédemment, y compris le centroïde du tétraméthylène (voir figure 62), c'est-à-dire :

- L'extrémité des paires libres des hétéroatomes 1 et 1' (atome d'azote sp^2 du SR 47436 et atome d'oxygène d'une des fonctions carbonyle du composé **30b**).
- L'extrémité des paires libres des hétéroatomes 2 et 2' (atome d'oxygène de la fonction carbonyle du SR 47436 et atome d'oxygène de l'autre fonction carbonyle du composé **30b**).
- Le centroïde du tétraméthylène (symbolisé sur la figure 62 par le n°3 pour le SR 47436 et le n°3' pour le composé **30b**).
- Le centroïde du phényle central (symbolisé par le n°4 pour le SR 47436 et n°4' pour le composé **30b**).

La figure 63 présente un de ces modèles. La superposition des sites accepteurs de protons à l'extrémité des paires libres de l'atome d'oxygène 1' pour le composé **30b** et de l'atome d'azote 1 pour le SR 47436 est également meilleure que dans le cas du composé **9**. La distance entre l'extrémité des paires libres de l'oxygène du carbonyle et de l'azote sp^2 est de 0,7 Å. De plus, contrairement à ce qui était observé pour le composé **30a**, la superposition du tétraméthylène est possible.

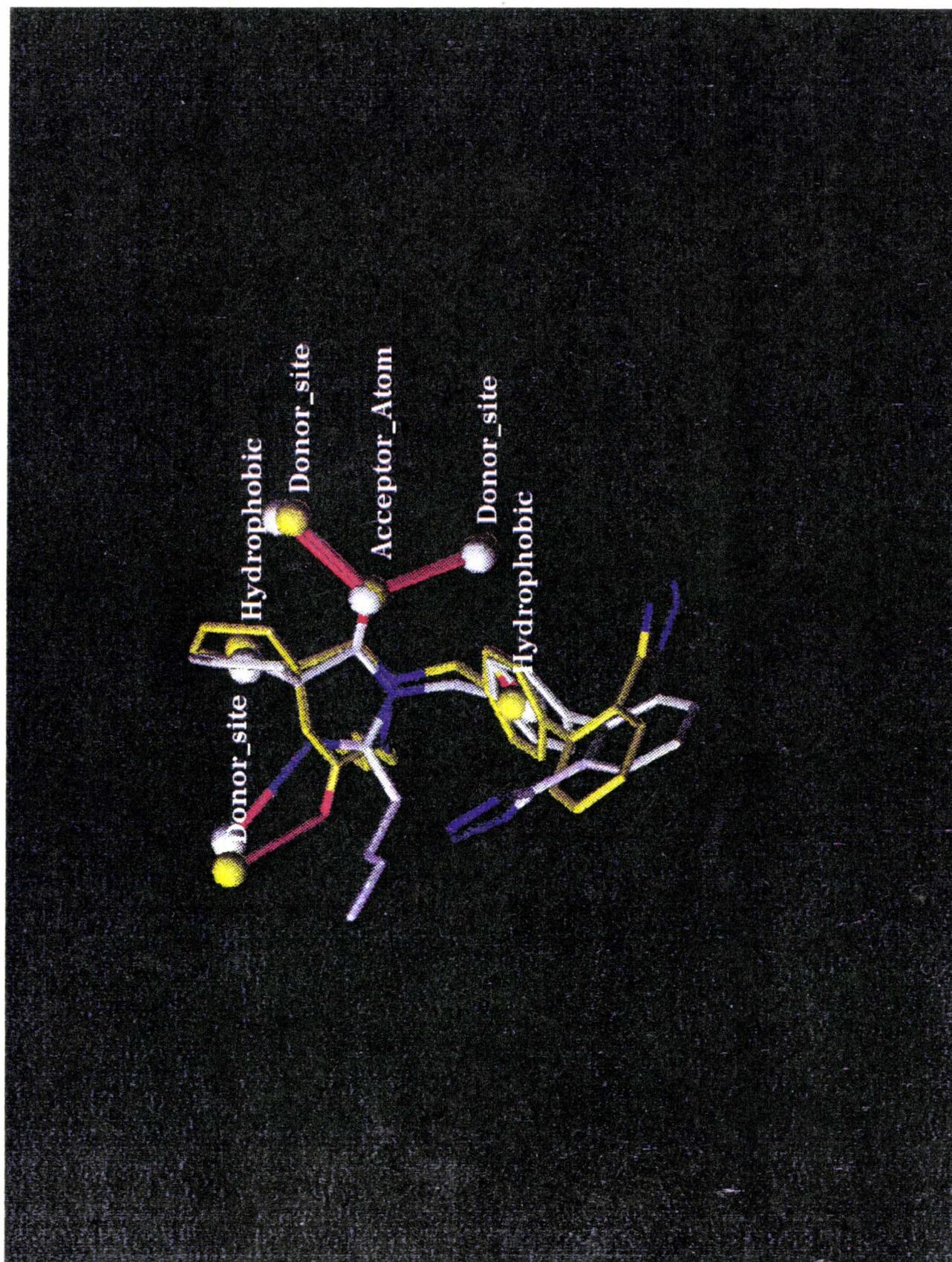


Figure 63 : résultat de la superposition du composé **30b** (en jaune) avec le SR 47436 (en blanc) (les orbitales correspondant aux doublets libres des hétéroatomes sont représentées en rouge)

VII.1.3. Conclusion des études théoriques de modélisation

Les composés **30a** et **30b** permettent, par comparaison au composé **9**, de mieux orienter l'oxygène 1' pour une interaction par pont hydrogène avec le récepteur. De plus, la distance entre l'extrémité d'une des paires libres de l'atome d'oxygène du carbonyle en question et la paire libre de l'atome d'azote sp^2 du SR 47436 est en effet inférieure pour chacun de ces isomères à la distance correspondante pour le composé **9**. Toutefois, d'après ces études théoriques, la superposition du composé **30b** avec le SR 47436 paraît plus étendue. En effet, les groupements tétraméthylène des composés **30a** et SR 47436 ne se situent pas dans la même région de l'espace.

VII.2. RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Nous avons réalisé la synthèse du composé **30a** afin de comparer son affinité pour le récepteur AT1 avec celle du composé **9**. Les résultats obtenus (figure 64) montrent que l'extension de l'hétérocycle tenseur n'est pas favorable, ce qui infirme en partie les prévisions des études théoriques.

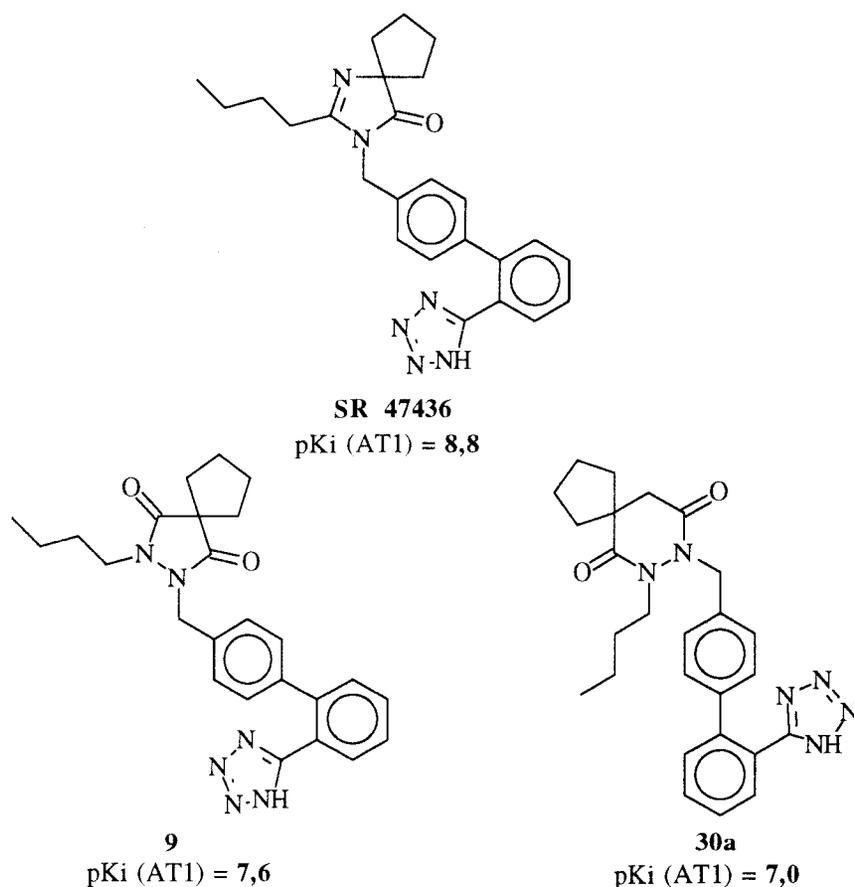


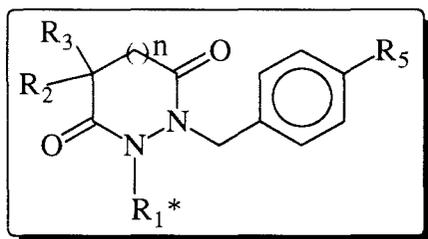
Figure 64 : comparaison des affinités des composés **9**, **30a**, SR 47436

La synthèse du régioisomère **30b** qui est, d'après les études théoriques, un meilleur candidat que **30a** n'a pour l'instant pas été réalisée. Nous devons en effet mettre au point un procédé de synthèse spécifique de ce composé (cf. chapitre III). La comparaison des affinités des deux régioisomères semble cependant capitale pour confirmer ou infirmer avec certitude les études théoriques. Cette comparaison permettra en particulier d'évaluer l'importance de la position du groupe tétraméthylène sur l'hétérocycle tenseur pyridazinedione et son influence sur l'orientation des paires libres de l'oxygène 1'.

CHAPITRE III :
STRATEGIE DE SYNTHESE

Comme nous l'avons indiqué dans le chapitre II, le but de nos recherches était de préparer des pyrazolidine-3,5-diones N,N'-disubstituées et des pyridazine-3,6-diones N,N'-disubstituées, ligands potentiels des récepteurs AT₁ de l'angiotensine II.

Les produits préparés sont résumés ci-dessous :



n=0 pyrazolidine-3,5-diones N,N'-disubstituées

n=1 pyridazine-3,6-diones N,N'-disubstituées

R₁* représente R₁ ou R₄ : **R₁** = C₆H₅, C₆H₄CH₃(p), CH₂C₆H₅ ; **R₄** = C₃H₇, C₄H₉, C₅H₁₁

R₂, R₃ = (CH₂)₄ ; **R₂** = **R₃** = CH₃ ; **R₂** = CH₃, **R₃** = C₄H₉

R₅ = COOR (R = CH₃, COOH) ; C₆H₅ ; C₆H₄R(o) (R = CN, COOCH₃, COOtBu, COOH, CN₄(CPh₃), CN₄H) ; C₆H₄SO₂NHR(o) (R = H, tBu, COC₆H₅, COC₄H₉, CONHC₆H₁₁, COOC₂H₅) ; COC₆H₄COOR(o) (R = CH₃, H) ; CONHC₆H₄COOR(o) (R = C₂H₅, H) ; NHCOC₆H₄COOR(o) (R=C₂H₅, H) ; NHCOC₆H₄COOR(m) (R=C₂H₅, H)

L'étape clé de l'obtention de ces produits consiste d'une manière générale en une alkylation des pyrazolidine-3,5-diones N-substituées (synthons A) ou des pyridazine-3,6-diones N-substituées (synthons A') par le dérivé halogéné approprié (synthons B) (schéma 1).

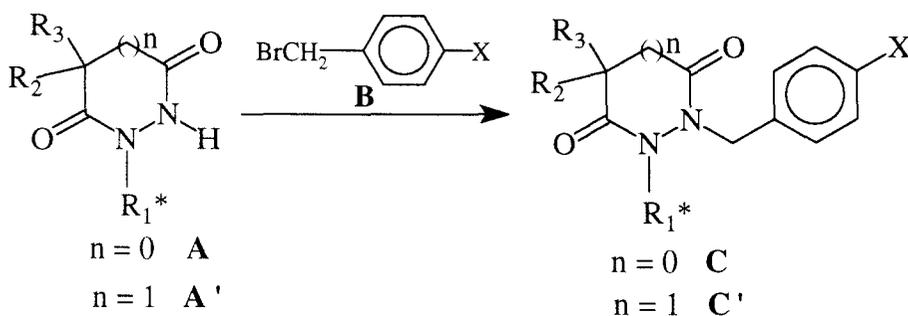


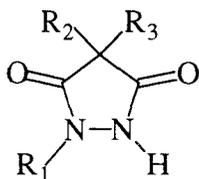
Schéma 1

I. PYRAZOLIDINE-3,5-DIONES N,N'-DISUBSTITUEES

I.1. OBTENTION DES PYRAZOLIDINE-3,5-DIONES N-SUBSTITUEES (SYNTHONS A)

I.1.1. Dérivés substitués par des groupements aromatiques ou arylaliphatiques

Les produits répertoriés dans le tableau 14 peuvent être obtenus selon deux voies de synthèse représentées sur le schéma 2.



n°	R ₁	R ₂	R ₃
31	CH ₂ C ₆ H ₅	(CH ₂) ₄	
32	C ₆ H ₅	(CH ₂) ₄	
33	C ₆ H ₄ CH ₃ (p)	(CH ₂) ₄	
34	CH ₂ C ₆ H ₅	H	C ₄ H ₉
35	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	C ₄ H ₉
36	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₃	CH ₃

Tableau 14: pyrazolidine-3,5-diones substituées par des groupements aromatiques ou arylaliphatiques

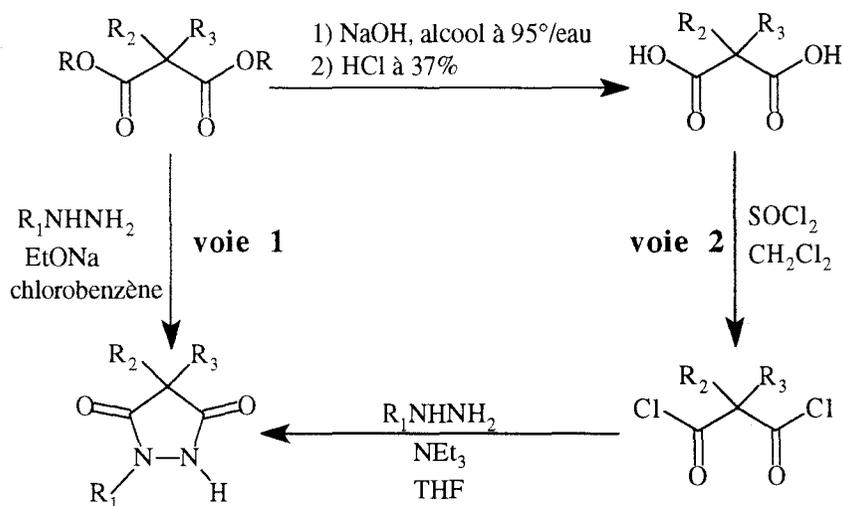
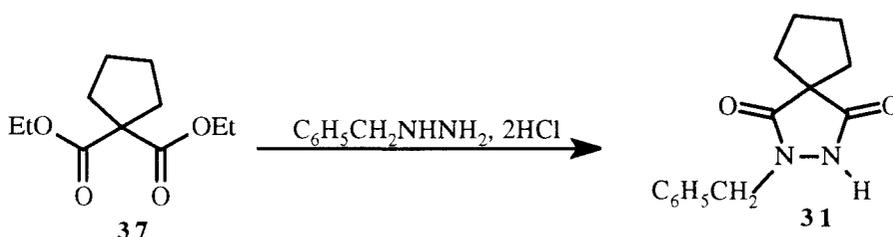


Schéma 2

I.1.1.1. Cyclisation à partir des diesters maloniques (voie 1)

I.1.1.1.1. Conditions réactionnelles utilisées

La première voie de synthèse consiste à condenser le diester malonique approprié (ester éthylique ou méthylique) avec diverses hydrazines monosubstituées de type arylaliphatique (benzylhydrazine) ou aromatique (phénylhydrazine, tolylhydrazine). La cyclisation a été réalisée à l'origine dans l'éthanol en présence de sodium (Conrad et Zart, 1906). Cette méthode a permis d'obtenir avec de bons rendements (60-70%) les pyrazolidine-3,5-diones substituées par un groupe aromatique (composés **32** et **33**). En revanche, dans le cas de la benzylhydrazine, les produits cyclisés attendus ne sont obtenus qu'avec de faibles rendements de l'ordre de 20%. Pour améliorer ces rendements, nous avons dû modifier les conditions opératoires de cyclisation. La mise au point a été réalisée à partir de la condensation du 2,2-tétraméthylènemalonate d'éthyle **37** avec la benzylhydrazine (tableau 15).



	solvant	température	base	rendement
méthode A	éthanol	reflux	EtONa	22%
méthode B	chlorobenzène	reflux	EtONa	62%
méthode C	sans solvant	150-200°C	EtONa	30%

Tableau 15: conditions opératoires de cyclisation de la benzylhydrazine avec le 2,2-tétraméthylènemalonate d'éthyle

Nous avons d'une part remplacé l'éthanol par un solvant de point d'ébullition plus élevé comme le chlorobenzène (Eb=132°C) (méthode B, tableau 15). Cette modification a été envisagée dans le but de favoriser la cyclisation de l'hydrazide **I** formé intermédiairement (schéma 3). Ces nouvelles conditions opératoires ont permis d'améliorer nettement le rendement de cyclisation (cf. tableau 15).

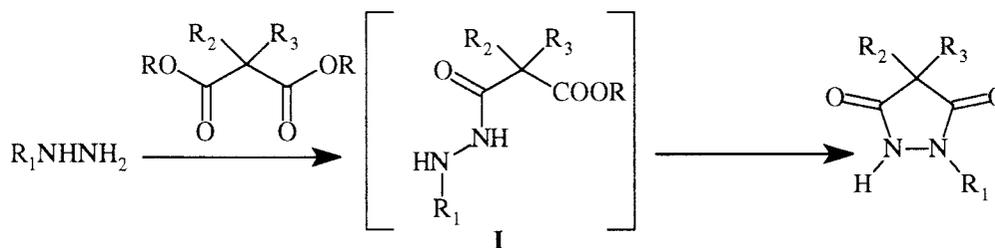


Schéma 3

Pour augmenter la température du milieu réactionnel, nous avons, d'autre part, réalisé cette cyclisation sans solvant (méthode C, tableau 15). Cette méthode consiste dans un premier temps à additionner le diester **37** à une solution de la benzylhydrazine dans l'éthanol en présence de sodium. L'éthanol est dans un deuxième temps éliminé par distillation puis le mélange est chauffé à haute température (150-200°C) pendant trois heures. Les mauvais rendements obtenus par cette méthode (cf. tableau 15) sont expliqués par le manque d'homogénéité du milieu réactionnel.

I.1.1.1.2. Préparation des esters maloniques

Les esters maloniques **37**, **38** et **40** n'étant pas commercialisés, nous les avons préparés de la manière suivante :

- le 2,2-diméthylmalonate de méthyle **38** est obtenu par estérification de l'acide correspondant **39** dans le méthanol en présence de chlorure de thionyle à température ambiante (le chauffage provoque en effet une décarboxylation).

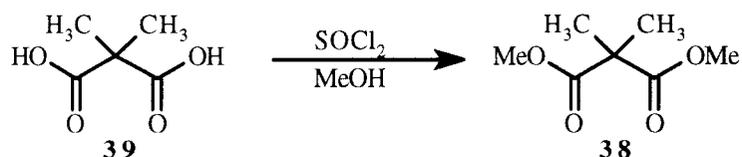


Schéma 4

- le 2-méthyl-2-butylmalonate d'éthyle **40** est obtenu par alkylation du 2-butylmalonate d'éthyle **41** dans le tétrahydrofurane en présence d'iodure de méthyle et d'éthylate de sodium.

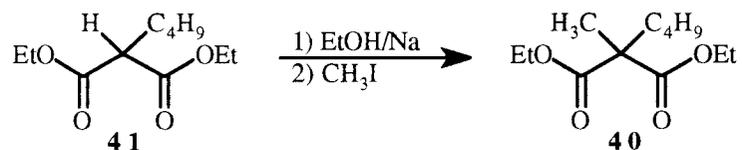
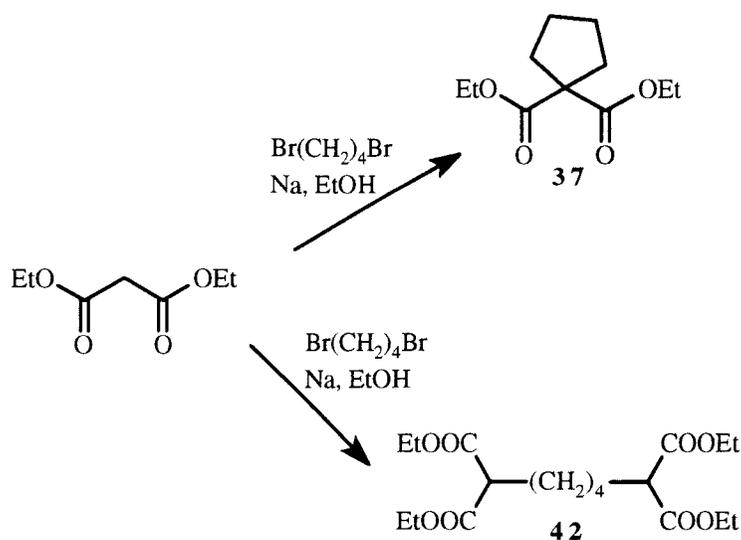


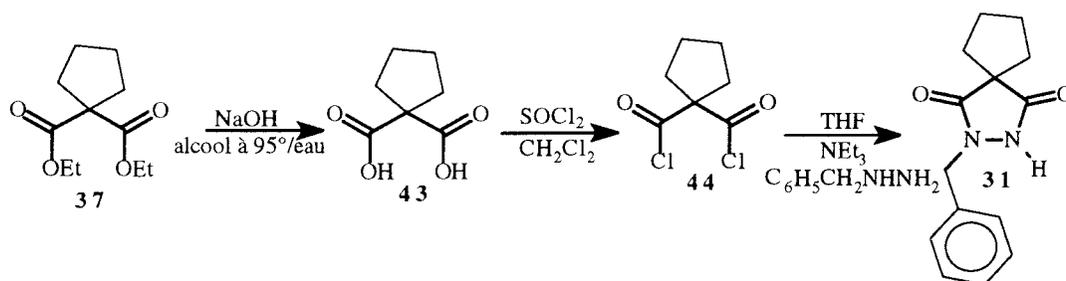
Schéma 5

- le 2,2-tétraméthylènemalonate d'éthyle **37** a été quant à lui obtenu avec un rendement de 42% par action du 1,4-dibromobutane sur le malonate d'éthyle en solution dans l'éthanol en présence de sodium (Heisig et Stodoler, 1943). Une distillation réalisée à partir du mélange réactionnel brut permet de séparer le produit attendu **37** des réactifs de départ, d'une part, et de l'hexane-1,1,6,6-tétracarboxylate d'éthyle **42**, d'autre part, produit secondaire formé par réaction entre deux équivalents de malonate d'éthyle et un équivalent de 1,4-dibromobutane.



1.1.1.2. Cyclisation à partir du chlorure de malonyle (cf. voie 2, schéma 2)

Le second procédé appliqué à la synthèse du composé **31** consiste dans un premier temps à saponifier le diester malonique **37** approprié en diacide correspondant **43** (schéma 4). Le passage au chlorure d'acide **44** est réalisé dans un deuxième temps dans le dichlorométhane anhydre en présence de chlorure de thionyle. Enfin la condensation de ce chlorure d'acide avec la benzylhydrazine a été effectuée en présence de triéthylamine dans le tétrahydrofurane (Michel et Matter, 1961 ; Dubau et Zinner, 1975).

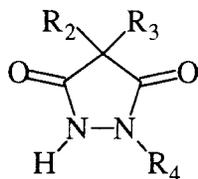


Cette deuxième voie de synthèse ne nous a pas permis d'améliorer les rendements de cyclisation.

Pour accéder aux différents produits cyclisés **31-36**, nous avons donc appliqué les conditions réactionnelles relatives à la voie 1 (méthode B).

I.1.2. Pyrazolidine-3,5-diones substituées par des groupements aliphatiques

Les produits préparés sont représentés dans le tableau suivant :



n°	R ₄	R ₂	R ₃
45	C ₃ H ₇	(CH ₂) ₄	
46	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄	
47	C ₅ H ₁₁	(CH ₂) ₄	
48	C ₄ H ₉	CH ₃	C ₄ H ₉
49	C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃

Tableau 16: pyrazolidine-3,5-diones substituées par des groupements aliphatiques

La première voie de synthèse envisagée pour accéder à ces composés consiste à condenser les hydrazines aliphatiques monosubstituées avec les esters maloniques appropriés (schéma 8).

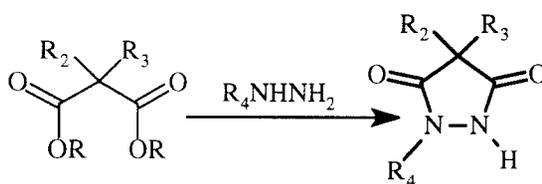


Schéma 8

Pour accéder en particulier au composé **46**, **48** et **49** par cette voie, il fallait synthétiser au préalable la butylhydrazine **50**. Pour cela, deux méthodes décrites dans la littérature ont été appliquées (schéma 9). La première (Stroh et Scharnow, 1965) qui consiste à condenser l'hydrate d'hydrazine avec le bromobutane ne nous a pas permis d'obtenir le produit attendu **50**. La seconde méthode (Baumgarten et al., 1976) consiste à condenser d'abord le carbamate de tert-butyle **51** avec le butyraldéhyde. Le composé formé **52** est ensuite réduit en présence de borane puis déprotégé avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique. Cette méthode s'est soldée également par un échec en raison de la difficulté de purification de la butylhydrazine **50**.

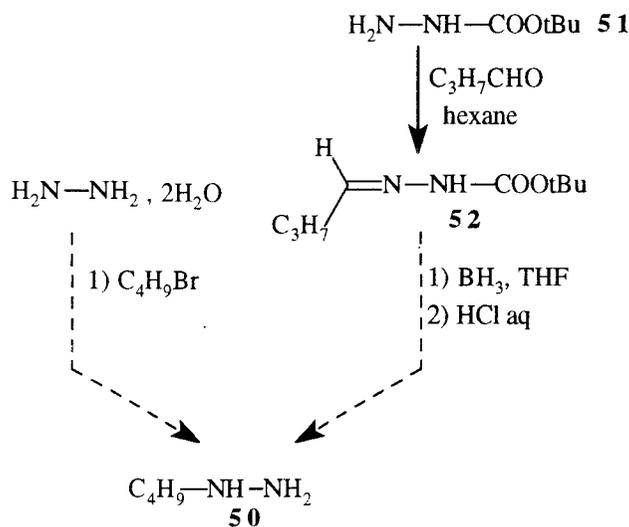


Schéma 9

Nous avons donc dû envisager une autre voie de synthèse pour préparer les composés **45-49**. Celle-ci, explicitée sur le schéma 10, utilise les pyrazolidine-3,5-diones N-benzylées (composés **31**, **35** et **36**) comme matières premières. La stratégie adoptée consiste d'abord à alkyler les composés **31**, **35** et **36** par le dérivé halogéné approprié puis de déprotéger les N-benzyl-N-alkylpyrazolidine-3,5-diones obtenues.

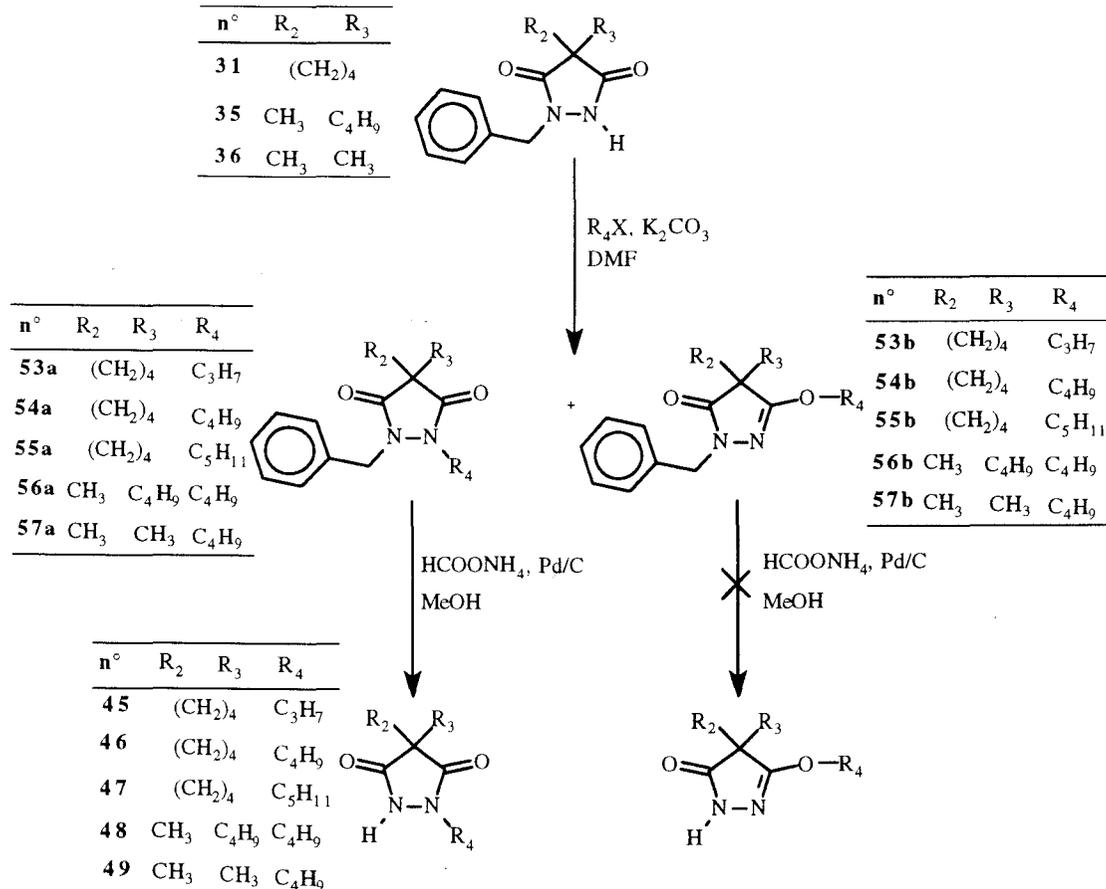
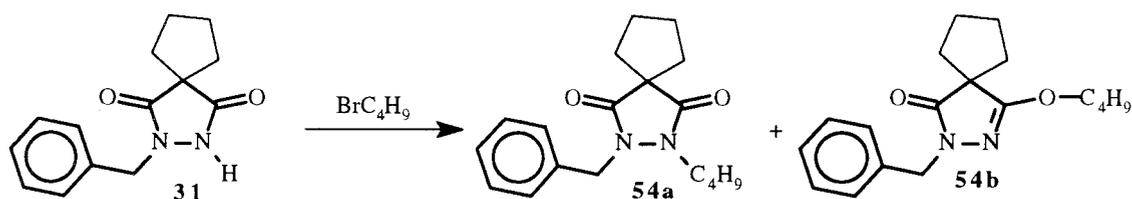


schéma 10

Contrairement à nos attentes, l'étape d'alkylation des composés **31**, **35** et **36** aboutit, dans chaque cas, à la formation de deux produits isomères correspondants aux dérivés N- et O-alkylés. Différentes conditions opératoires ont donc été nécessaires dans le but de favoriser la formation de l'isomère N-alkylé désiré. L'étude a été réalisée à partir de l'alkylation du composé **31** par le 1-bromobutane. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 17. Les proportions relatives des deux isomères ont été déterminées par RMN sur le mélange.



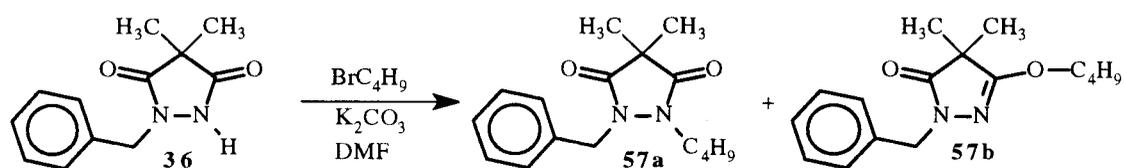
31	BrC₄H₉	Base	solvant	Température	54a/54b
1 éq	1,2 éq	K ₂ CO ₃	DMF	20°C	50/50
1 éq	1,2 éq	NaH	DMF	20°C	50/50
1 éq	1,2 éq	K ₂ CO ₃	Acétone	20°C	
1 éq	1,2 éq	K ₂ CO ₃	Acétone	reflux	

Tableau 17 : proportions des deux isomères d'alkylation **54a** et **54b** selon les conditions opératoires utilisées

La faible différence de R_f entre les deux produits d'alkylation (**53-57 a** et **b**) ne nous a pas encouragé à les séparer par chromatographie sur colonne.

Cas particulier:

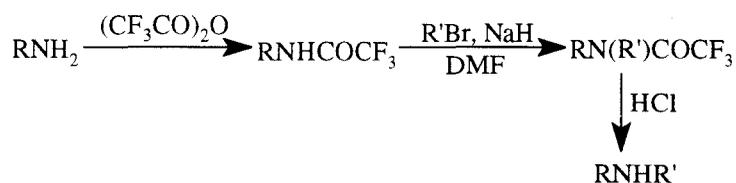
Les deux isomères issus de l'alkylation de la 1-benzyl-4,4-diméthylpyrazolidine-3,5-dione **36** par le bromobutane ont cependant pu être séparés grâce à leur différence de propriétés physico-chimiques (tableau 18). En effet le composé **57a** précipite dans l'éther de pétrole alors que son isomère **57b** reste soluble dans ce même solvant. Les deux produits ont été caractérisés séparément en infra rouge et en RMN (cf. tableau 18).



	isomère 57a	isomère 57b
Rf	0,46 (hexane/AcOEt : 6/4)	0,52 (hexane/AcOEt : 6/4)
IR	1730, 1680 : C=O	1700 : C=O 1600 : C=N
RMN	NCH ₂ CH ₂ : 3,51 ppm	OCH ₂ CH ₂ :
F	70,8 °C	huile

Tableau 18 : propriétés physico-chimiques des deux isomères **57a** et **57b**

Afin d'éviter la formation des dérivés O-alkylés, et d'améliorer ainsi les rendements en composés **45-49**, nous avons envisagé une voie de synthèse permettant d'obtenir d'une manière univoque les produits N-alkylés désirés. Le schéma réactionnel 11 a ainsi été proposé pour préparer le composé **54a**. Il consiste à préparer la 1-butyl-2-benzylhydrazine **58** puis de condenser cette dernière avec le diester **37**. Deux méthodes ont été envisagées pour préparer l'hydrazine N, N'-disubstituée à partir de la benzylhydrazine commerciale. La première (voie 1 ; schéma 11) consiste à former la benzylhydrazone du butyraldéhyde qui est réduite *in situ* en présence de borane (Blair et Gardner, 1970). Cette méthode n'a pas permis, malgré les nombreux essais réalisés, d'obtenir le produit désiré. La seconde méthode proposée (voie 2 ; schéma 11) comprend trois étapes correspondant respectivement à une protection des deux fonctions azotées de la benzylhydrazine suivie d'une étape d'alkylation puis de déprotection. Nous avons envisagé cette stratégie de synthèse par analogie avec une méthode d'obtention des amines secondaires en trois étapes à partir d'amines primaires :



Les différents essais d'alkylation du composé **59** n'ont cependant pas permis d'aboutir au composé attendu **60**.

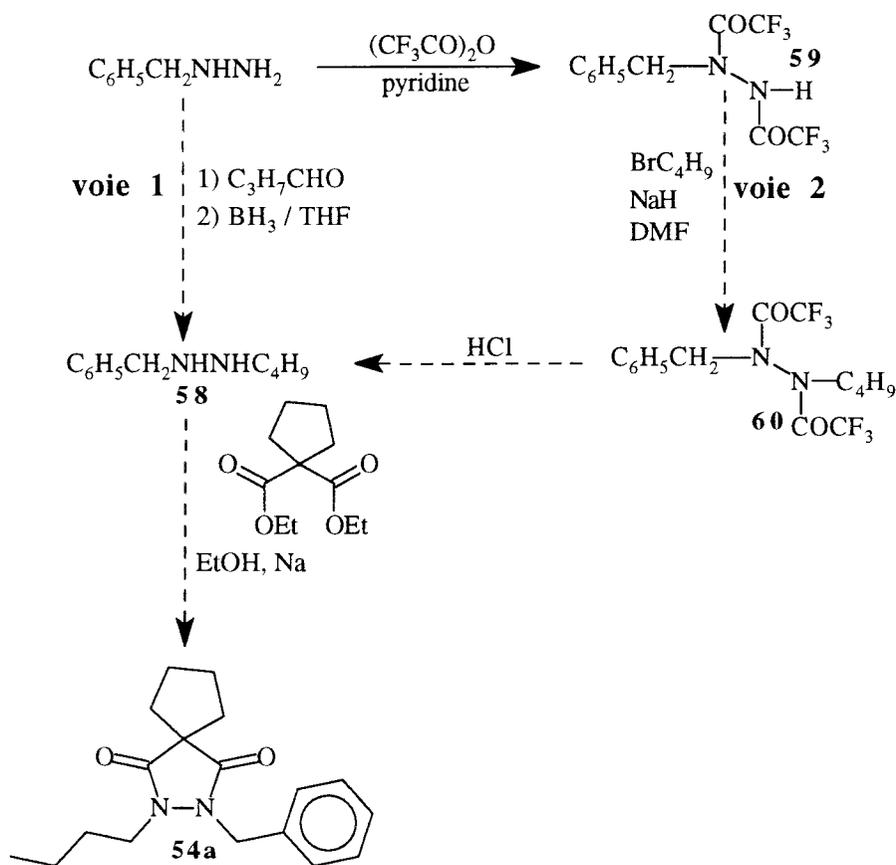


Schéma 11

Du fait des problèmes exposés précédemment liés à la séparation des deux isomères, nous avons réalisé directement l'étape de débenzylation à partir du mélange des dérivés N- et O-alkylés. Cette étape de déprotection se fait en présence de charbon palladié par le formiate d'ammonium (cf. schéma 10) (Ram et Ehrenkauffer, 1988). Contrairement à nos prévisions, seuls les isomères N-alkylés sont débenzylés dans ces conditions opératoires. Les produits désirés (pyrazolidine-3,5-diones substituées en position 1 par une chaîne aliphatique) sont extraits en milieu basique tandis que les composés O-alkylés non débenzylés restent dans la phase étherée.

Remarque

Nous avons appliqué le schéma 10 à la 1-benzyl-4-butylpyrazolidine-3,5-dione **34**.

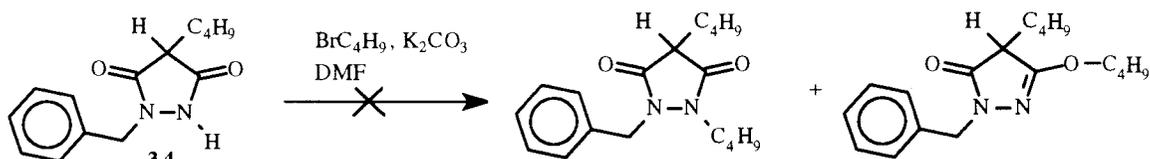


Schéma 12

Dans les conditions opératoires utilisées (carbonate de potassium, 1-bromobutane, diméthylformamide), l'alkylation n'est pas sélective et nous obtenons un mélange de produits que nous n'avons pas réussi à séparer. En effet le composé **34** peut exister en théorie sous trois formes tautomères (représentées sur le schéma 13) susceptibles de réagir au cours de l'étape d'alkylation (Zvilichovsky et David, 1988).

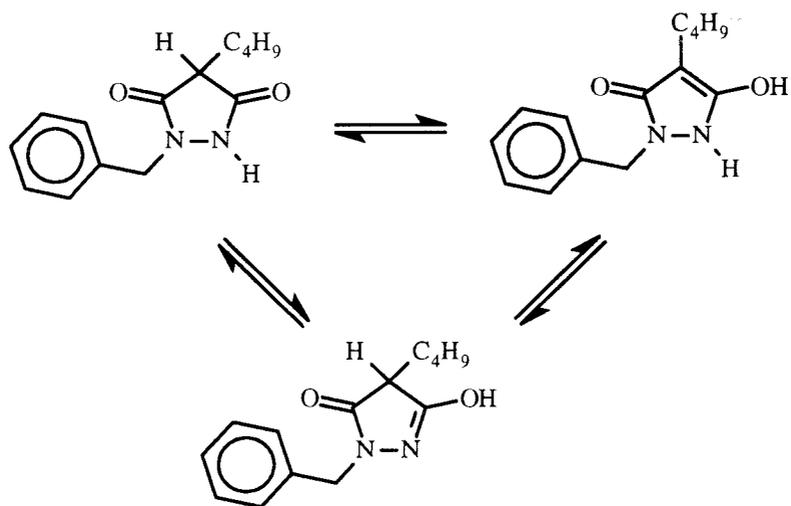
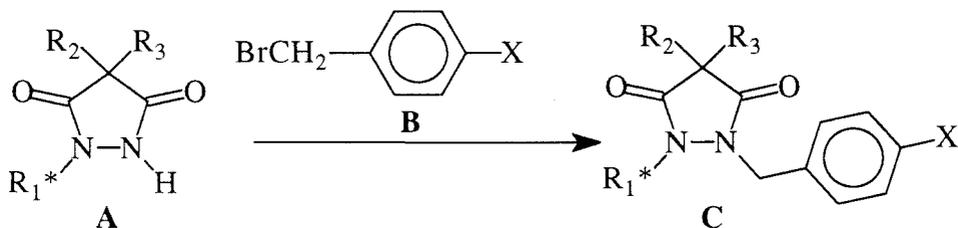


Schéma 13

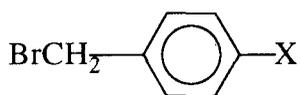
Pour éviter la C-alkylation liée à l'acidité du proton malonique (proton fixé sur le carbone en position 4 de l'hétérocycle), nous avons bloqué cette position par un groupement méthyle. L'étape d'alkylation a donc été effectuée à partir de la 1-benzyl-4-butyl-4-méthylpyrazolidine-3,5-dione **35**.

I.2.OBTENTION DES SYNTHONS B

Ces composés sont utilisés pour la préparation des synthons C :



Les différents dérivés bromés préparés sont répertoriés dans le tableau 19 :



n°	X
61	C ₆ H ₄ CN(o)
62	C ₆ H ₄ COOCH ₃ (o)
63	C ₆ H ₄ COOtBu(o)
64	C ₆ H ₄ CN ₄ (CPh ₃)(o)
65	C ₆ H ₄ SO ₂ NHtBu(o)
66	COC ₆ H ₄ COOCH ₃ (o)

Tableau 19 : dérivés bromés utilisés au cours de l'étape d'alkylation

I.2.1. Préparation des 4'-bromométhyl-2-yl biphényles

I.2.1.1. Synthèse des dérivés substitués par des groupements nitrile, ester ou tétrazole tritylé

Pour accéder à ces produits, nous avons utilisé comme matière première la 4,4-diméthyl-2-(4'-méthyl-2-yl-biphényl)oxazoline **67** qui a été préparée selon la voie de synthèse décrite par Carini (Carini et al., 1991) et rapportée sur le schéma 14.

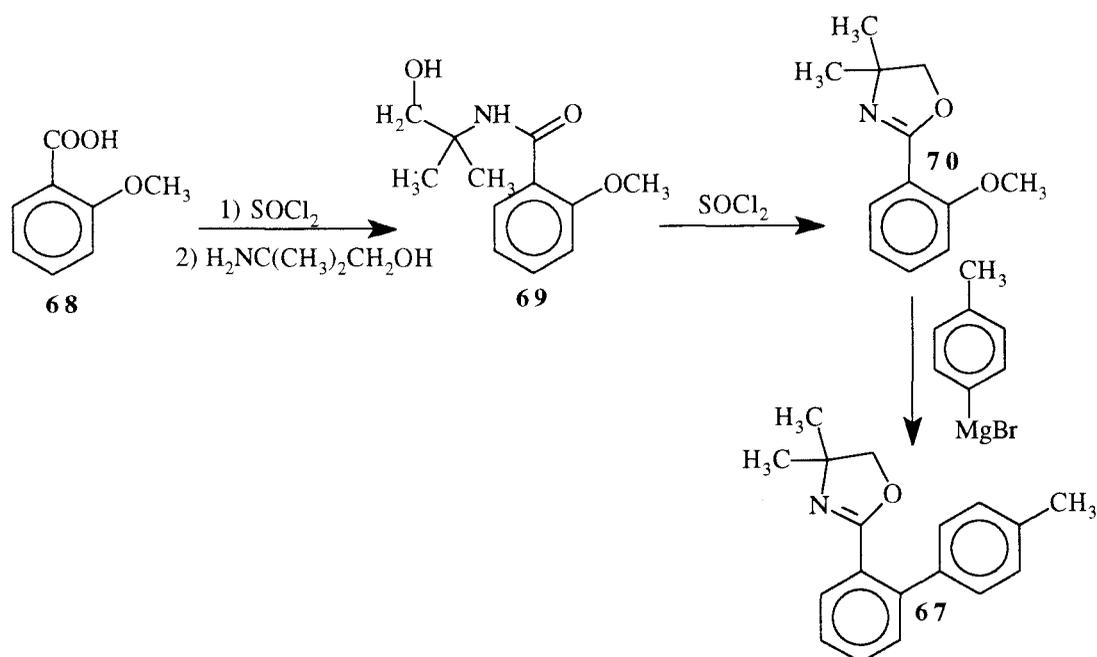


Schéma 14

Le chlorure de 2-méthoxybenzoyle obtenu par action du chlorure de thionyle sur l'acide 2-méthoxybenzoïque **68** réagit avec le 2-amino-2-méthylpropan-1-ol dans le dichlorométhane pour donner à température ambiante le N-(2,2-diméthyl-1-hydroxyéthyl)-2-méthoxybenzamide **69**. La cyclisation du composé **69** en 4,4-diméthyl-2-(2-méthoxyphényl)oxazoline **70** est réalisée en présence de chlorure de thionyle. La dernière étape consiste à condenser le composé **70** sur le bromure de 4-tolylmagnésium. L'organomagnésien est préparé *in situ* en mettant en présence le magnésium et le 4-bromotoluène en solution dans le tétrahydrofurane. La 4,4-diméthyl-2-(4'-méthyl-2-yl-biphényl)oxazoline **67** est ainsi obtenue avec un rendement global de 60% à partir de l'acide 2-méthoxybenzoïque **68** (ou acide ortho anisique).

Le composé **67** est utilisé comme produit de départ pour la synthèse des dérivés bromés **61-64** (Carini et al., 1991) (cf. schéma 16). L'hydrolyse du composé **67** dans l'acide chlorhydrique concentré à reflux conduit à l'acide 2-(4'-méthyl)biphénylcarboxylique **71** qui est ensuite estérifié soit en 4'-(méthyl)biphényl-2-carboxylate de tertiobutyle **72** soit en 4'-(méthyl)biphényl-2-carboxylate de méthyle **73**. La bromation du groupe méthyle aromatique des composés **72** et **73** permet d'aboutir aux dérivés **62** et **63**. Cette réaction radicalaire photochimique initiée par rupture homolytique du peroxyde de benzoyle est effectuée avec le N-bromosuccinimide en solution dans le tétrachlorure de carbone.

Le 2-cyano-4'-méthylbiphényle **74** est obtenu par addition d'oxychlorure de phosphore à une solution du composé **68** dans la pyridine. La bromation du composé **74** sur le méthyle aromatique est réalisée dans les mêmes conditions réactionnelles que celles exposées pour l'obtention des dérivés **62** et **63**.

La transformation du 2-cyano-4'-méthylbiphényle en 5-[4'-(méthyl)biphényl-2-yl]tétrazole **75** peut s'effectuer selon deux méthodes principales décrites dans la littérature: La première consiste à transformer le groupe nitrile en tétrazole en présence d'acide hydrazoïque (HN₃) formé *in situ* à partir de chlorure d'ammonium et d'azoture de sodium (schéma 15). Les rendements obtenus par cette méthode sont de 40%.

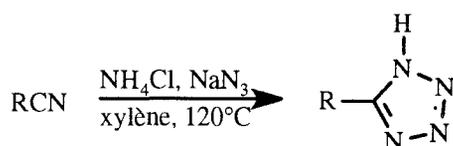


Schéma 15

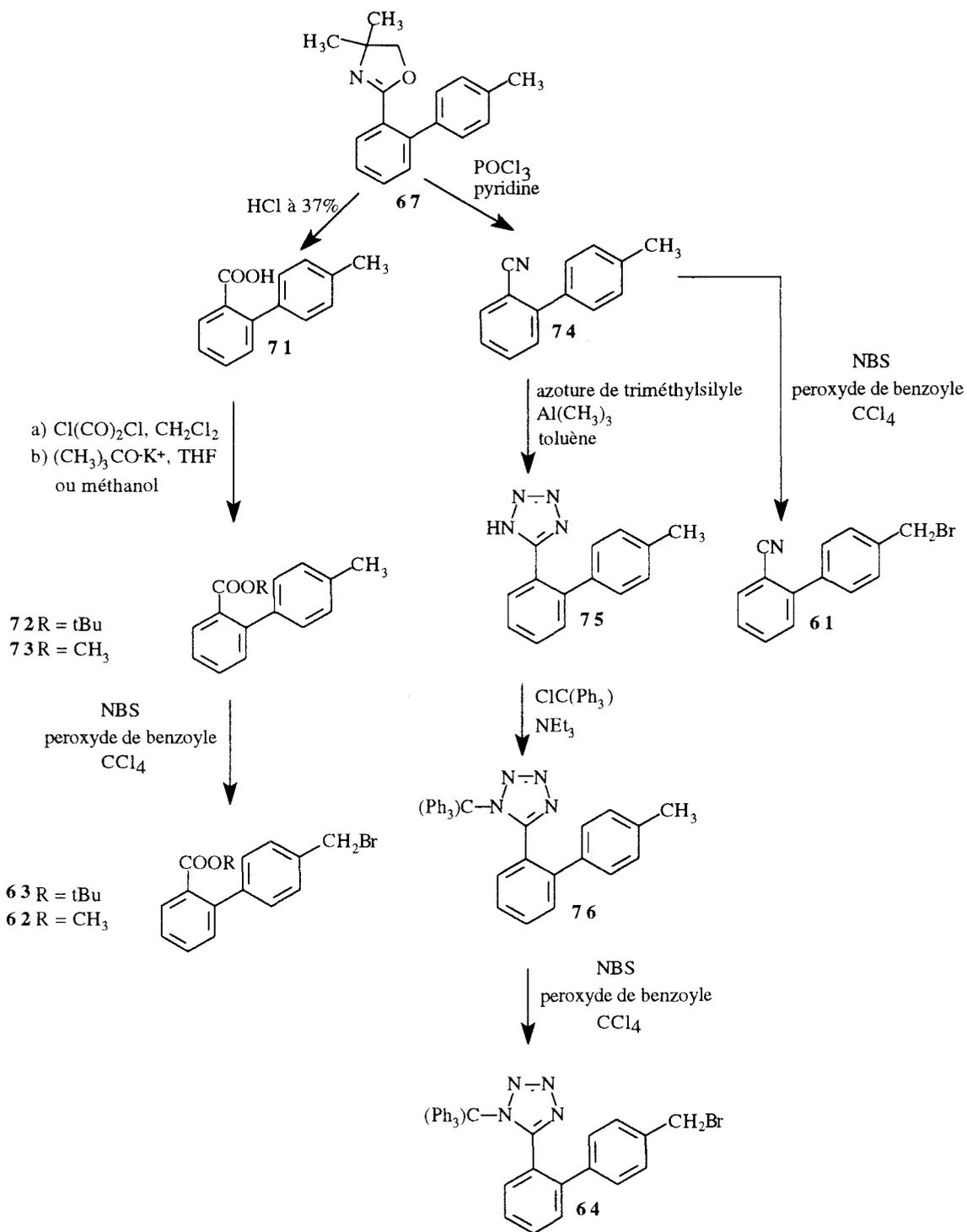


Schéma 16

La deuxième méthode consiste à effectuer cette transformation en présence d'azoture de tributylétain préparé à partir de l'azoture de sodium et du chlorure de tributylétain (Kricheldorf et Leppert, 1976) (schéma 17). Malgré les bons rendements décrits dans la littérature (Carini et al., 1991), la toxicité des dérivés stanniques limite cependant l'utilisation à grande échelle de cette méthode.

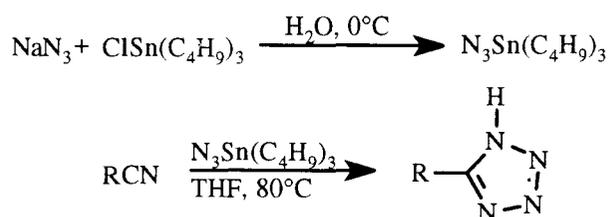


Schéma 17

Pour notre part, nous avons réalisé la transformation du nitrile en tétrazole en appliquant sur la structure biphenyle la méthode générale décrite par Huff (Huff et Staszak, 1993) (schéma 18). Cette méthode consiste à faire réagir le nitrile dans le toluène à 80°C en présence de triméthylaluminium et d'azoture de triméthylsilyle. Le 5-[4'-(méthyl)biphényl-2-yl]tétrazole **75** a ainsi été obtenu avec de très bons rendements (90%) à partir du dérivé **74**.

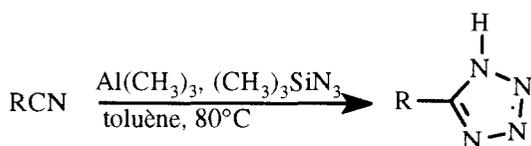


Schéma 18

La protection de l'azote tétrazolique est réalisée en faisant réagir le chlorure de triphénylméthane sur une solution du composé **75** dans le tétrahydrofurane en présence de triéthylamine. La bromation du composé **76** est enfin effectuée selon les conditions opératoires décrites pour l'obtention des composés **61-63**.

I.2.1.2. Préparation du *N*-(*tert*iobutyl)-4'-bromométhylbiphényl-2-sulfonamide (65)

Ce dérivé bromé a été synthétisé selon le schéma 19 :

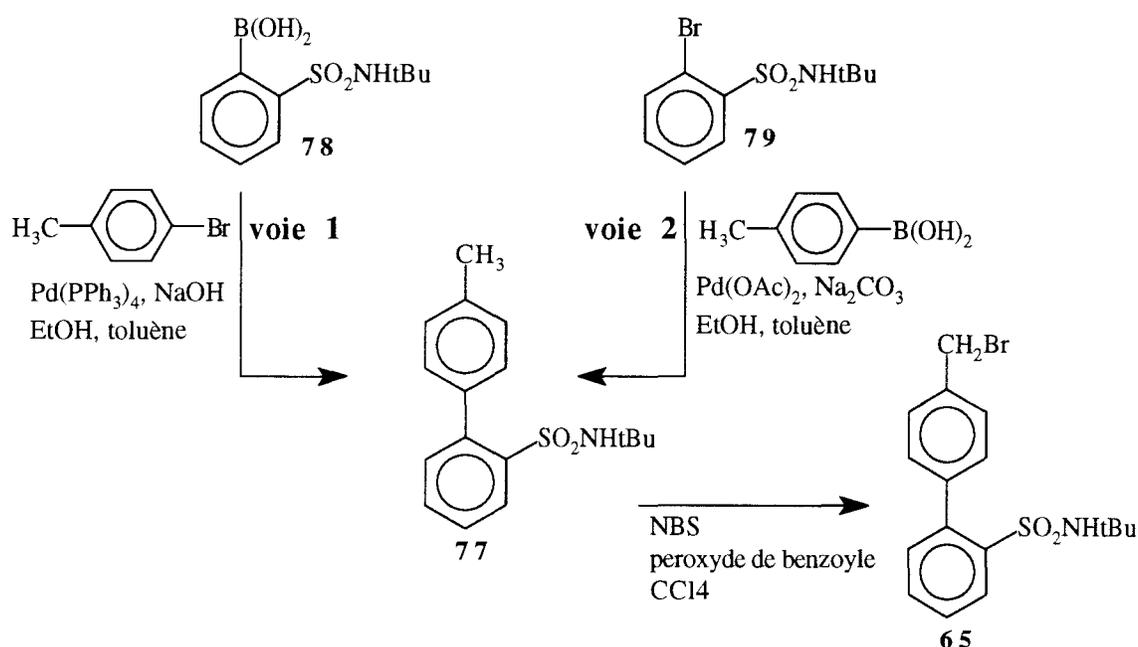


Schéma 19

Pour accéder au composé **77**, nous avons appliqué la méthode de couplage de Suzuki qui consiste, d'une manière générale, en une réaction de couplage, catalysée par un complexe de palladium en présence d'une base, entre un acide phénylboronique et un dérivé aromatique halogéné (Miyaura et al., 1981) (schéma 20)

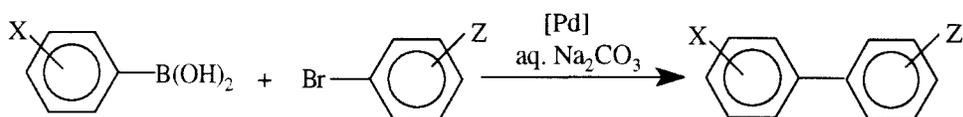


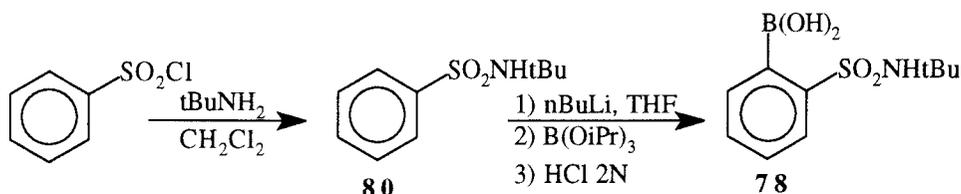
Schéma 20

La voie 1 (schéma 20) correspond ainsi au couplage entre l'acide [2-(*N*-*tert*iobutylsulfamoyl)phényl]boronique **78** et le bromotoluène dans un milieu biphasique toluène/éthanol en présence d'une solution aqueuse diluée de soude. Cette réaction est catalysée par le tétrakis(triphénylphosphine)Pd(0) (Chang et al., 1995). Le rendement de cette étape est de 32%. Le couplage relatif à la seconde voie de synthèse est effectué en revanche entre l'acide paratolylboronique commercial et le 2-bromotertibutylbenzenesulfonamide **79** toujours dans un milieu biphasique toluène/éthanol en présence d'une solution aqueuse diluée de carbonate de sodium. Cette réaction est catalysée cette fois par le diacétate de palladium en présence de triphénylphosphine (Jendralla et al., 1995). Le rendement de cette étape de couplage est nettement amélioré par rapport à la précédente puisque le produit attendu **77** est obtenu avec un

rendement de 75%. La bromation du composé est réalisée ensuite selon les conditions opératoires décrites pour l'obtention des composés **61-64**.

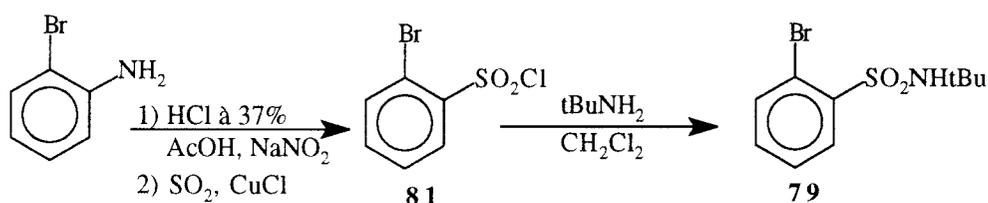
- synthèse des composés **78** et **79**.

Pour accéder à l'acide boronique **78**, utilisé comme intermédiaire de synthèse pour la voie 1, nous avons appliqué la voie de synthèse rapportée sur le schéma 21.



Le N-tert-butylsulfonamide **80** est obtenue par condensation de la tert-butylamine sur le chlorure de benzenesulfonyl commercial en solution dans le dichlorométhane. Le composé **80** réagit ensuite avec le butyllithium dans le tétrahydrofurane à -40°C . L'organolithien correspondant est couplé avec le borate d'isopropyle à température ambiante. Une hydrolyse du milieu réactionnel avec une solution aqueuse diluée d'acide chlorhydrique aboutit finalement à l'acide [2-(N-tert-butylsulfamoyl)phényl]boronique **78** (Chang et al., 1995).

Le composé **79**, utilisé comme intermédiaire de synthèse pour la voie 2 est quant à lui préparé de la façon suivante (schéma 22) :



La 2-bromoaniline est condensée avec le nitrite de sodium à froid en présence d'une solution aqueuse concentrée d'acide chlorhydrique. Le sel de diazonium formé réagit ensuite avec le dioxyde de soufre en présence de chlorure de cuivre pour conduire au chlorure de 2-bromobenzènesulfonyl **81** avec un rendement de 70%. Le 2-bromotert-butylbenzènesulfonamide **79** est alors obtenu par condensation de la tert-butylamine sur le composé **81** en solution dans le dichlorométhane.

I.2.2. Obtention de la bromométhylbenzophénone 66

Pour accéder à ce dérivé bromé, nous avons utilisé le schéma réactionnel suivant :

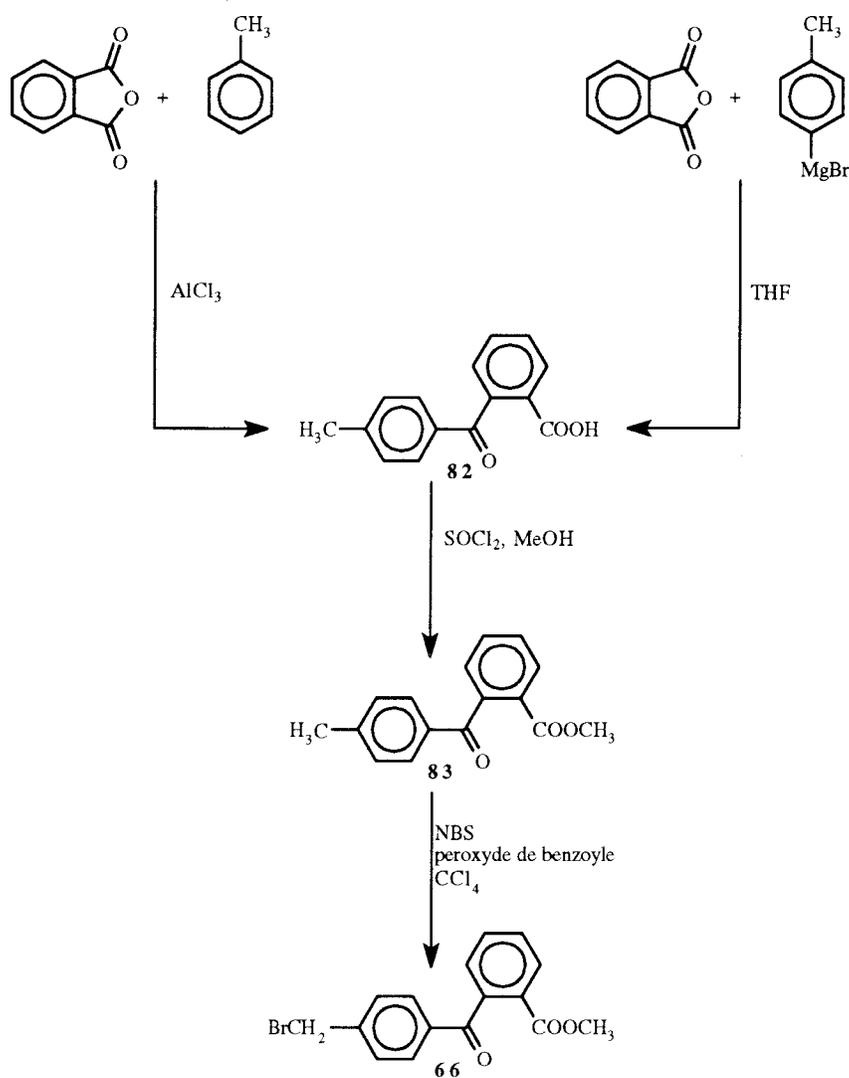


Schéma 23

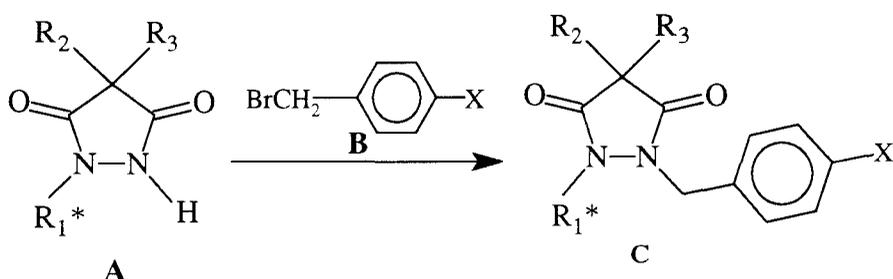
L'acide 2-(4-méthylbenzoyl)benzoïque peut être obtenu de deux façons différentes. La première est une méthode décrite pour acyler l'anisole en position para par l'anhydride phtalique en utilisant le p-bromoanisole (Van Atten et al., 1993). Dans notre cas, nous avons formé dans un premier temps le magnésien du 4-bromotoluène qui réagit ensuite avec l'anhydride phtalique dans le tétrahydrofurane. Cette méthode n'a pas été retenue car l'acide **82** n'a été obtenu qu'avec un rendement de 10%.

La deuxième méthode consiste à acyler le toluène par l'anhydride phtalique en présence de chlorure d'aluminium dans le diméthylformamide selon les conditions de Friedel et Crafts. Le toluène est utilisé à la fois comme solvant et comme substrat. L'acylation du toluène se fait majoritairement en para. Cette seconde méthode a permis d'isoler le composé **82** avec un rendement de 79%.

L'estérification du composé **82** est réalisée dans le méthanol en présence de chlorure de thionyle. Le chlorure d'acide formé *in situ* va réagir immédiatement avec le méthanol. Enfin la bromation du méthyle aromatique du composé **83** conduit au dérivé **66** avec un rendement de 56%.

I.3. OBTENTION DES SYNTHONS C

Ces produits résumés dans le tableau 20 ont été préparés par condensation des synthons A avec les synthons B



n°	R_1^*	R_2	R_3	X
84a	C_4H_9	$(CH_2)_4$		$COOCH_3$
85a	C_4H_9	$(CH_2)_4$		NO_2
6	C_4H_9	$(CH_2)_4$		C_6H_5
7	C_4H_9	$(CH_2)_4$		$C_6H_4CN(o)$
86	$C_6H_4CH_3(p)$	$(CH_2)_4$		$C_6H_4CN(o)$
87	C_4H_9	$(CH_2)_4$		$C_6H_4COOtBu(o)$
88	C_6H_5	$(CH_2)_4$		$C_6H_4COOCH_3(o)$
89	C_4H_9	$(CH_2)_4$		$C_6H_4CN_4Tr(o)$
90	C_6H_5	$(CH_2)_4$		$C_6H_4CN_4Tr(o)$
91	$C_6H_4CH_3(p)$	$(CH_2)_4$		$C_6H_4CN_4Tr(o)$
92	$CH_2C_6H_5$	$(CH_2)_4$		$C_6H_4CN_4Tr(o)$
93	$CH_2C_6H_5$	CH_3	C_4H_9	$C_6H_4CN_4Tr(o)$
13	C_4H_9	$(CH_2)_4$		$C_6H_4SO_2NHtBu(o)$
94	C_4H_9	CH_3	C_4H_9	$C_6H_4SO_2NHtBu(o)$
95	C_4H_9	CH_3	CH_3	$C_6H_4SO_2NHtBu(o)$
96	C_3H_7	$(CH_2)_4$		$C_6H_4SO_2NHtBu(o)$
97	C_5H_{11}	$(CH_2)_4$		$C_6H_4SO_2NHtBu(o)$
98	C_4H_9	$(CH_2)_4$		$COC_6H_4COOCH_3(o)$

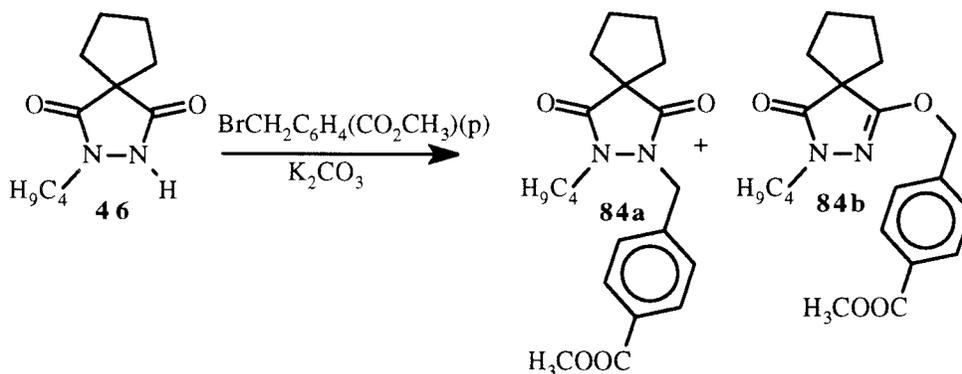
Tableau 20 : produits d'alkylation des synthons A avec les dérivés bromés B

Les condensations des pyrazolidine-3,5-diones N-substituées **A** avec les dérivés bromés appropriés **B** ont pour la plupart été réalisées dans le diméthylformamide à température ambiante en présence de carbonate de potassium. Au cours de cette réaction, les deux isomères O- et N-alkylés se forment. Les produits N-alkylés attendus ont été séparés par cristallisation fractionnée. Les rendements oscillent entre 30% et 45%. Dans deux cas particuliers (obtention des composés **84a** et **85a**) exposés ci-après, nous avons étudié l'influence de la température et du solvant sur les rendements en dérivés N-alkylés.

Cas particuliers

1. Obtention du composé **84a**

Pour préparer ce composé, nous avons condensé le dérivé **46** avec le 4-(bromométhyl) benzoate de méthyle en présence de carbonate de potassium dans le diméthylformamide. Au cours de cette étape d'alkylation, nous obtenons comme précédemment à la fois les produits N- et O-alkylés correspondants **84a** et **84b**. Suivant la nature du solvant utilisé et contrairement à ce qui avait été observé précédemment, nous obtenons des rendements différents en isomère N-alkylé attendu (tableau 21). En effet, lorsque cette alkylation est effectuée dans l'acétone à température ambiante, nous favorisons d'une manière très majoritaire la formation du dérivé N-alkylé. D'autre part, dans les deux conditions opératoires utilisées, l'alkylation est totale après une heure ce qui met en évidence la réactivité importante du dérivé bromé utilisé liée à la présence d'un groupement électroattracteur en position para.



solvant	température	rendement (isomère 84a)
DMF	20°C	40%
Acétone	20°C	70%

Tableau 21: influence du solvant sur les pourcentages relatifs des deux isomères **84a** et **84b**

Les composés **84a** et **84b** ont été séparés par chromatographie sur colonne. Les caractéristiques physicochimiques relatives à chacun des isomères sont rassemblés dans le tableau 22.

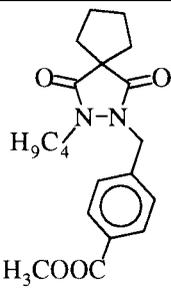
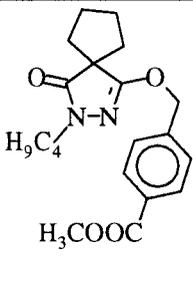
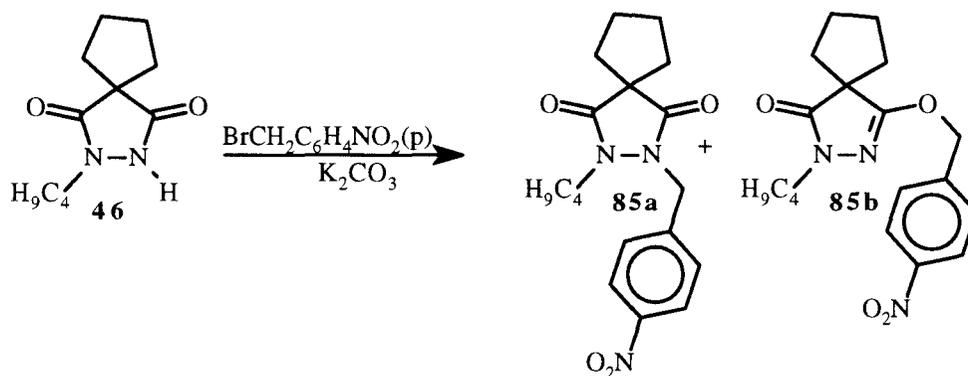
		
Rf(hexane /AcOEt : 6/4)	0,34	0,46
IR	1735, 1710, 1690 : C=O	1715, 1695 : C=O 1600 : C=N
RMN	NCH ₂ Ar : 4,90 ppm	OCH ₂ Ar : 5,28 ppm
F	108 °C	59 °C

Tableau 22: caractéristiques physico-chimiques des isomères **84a** et **84b**

2. Obtention du composé **85a**

Pour préparer ce composé, nous avons dans un premier temps condensé le dérivé **46** avec le bromure de 4-nitrobenzyle en présence de carbonate de potassium dans le diméthylformamide. La formation de nombreux produits de dégradation nous a incité à réaliser cette condensation dans un autre solvant. Lorsque l'alkylation est effectuée dans l'acétone à température ambiante seuls les deux isomères N- et O-alkylés attendus sont obtenus. Le rendement en dérivé N-alkylé **85a** est de 42% (tableau 23). De plus, lorsque l'addition du dérivé bromé est réalisée à froid dans l'acétone, l'alkylation se fait presque exclusivement au niveau de l'atome d'azote (75% de rendement en dérivé N-alkylé). D'autre part, la condensation est effective en trente minutes ce qui met en évidence la très grande réactivité du dérivé bromé utilisé, favorisée ici aussi par la présence d'un groupement attracteur en position para.



solvant	température	rendement (isomère 85a)
Acétone	20°C	42%
Acétone	0°C	75%

Tableau 23 : influence de la température sur les pourcentages relatifs des deux isomères **85a** et **85b**

Les composés **85a** et **85b** ont été séparés par chromatographie sur colonne. Les caractéristiques physicochimiques relatives à chacun de ces isomères sont rassemblés dans le tableau suivant.

Rf (hexane/ AcOEt : 7/3)	0,19	0,32
IR	1720, 1675 : C=O	1700 : C=O 1600 : C=N
RMN	NCH ₂ Ar : 4,87 ppm	OCH ₂ Ar 5,30 ppm
F	95°C	48°C

Tableau 24 : caractéristiques physico-chimiques des composés **85a** et **85b**

I.4. PRODUITS DE TRANSFORMATION DES SYNTHONS C

I.4.1. Composés comportant la structure biphenyle

I.4.1.1. Dérivés substitués par un groupe carboxybiphénylméthyle

La synthèse des composés **101** et **8** est explicitée sur le schéma réactionnel suivant :

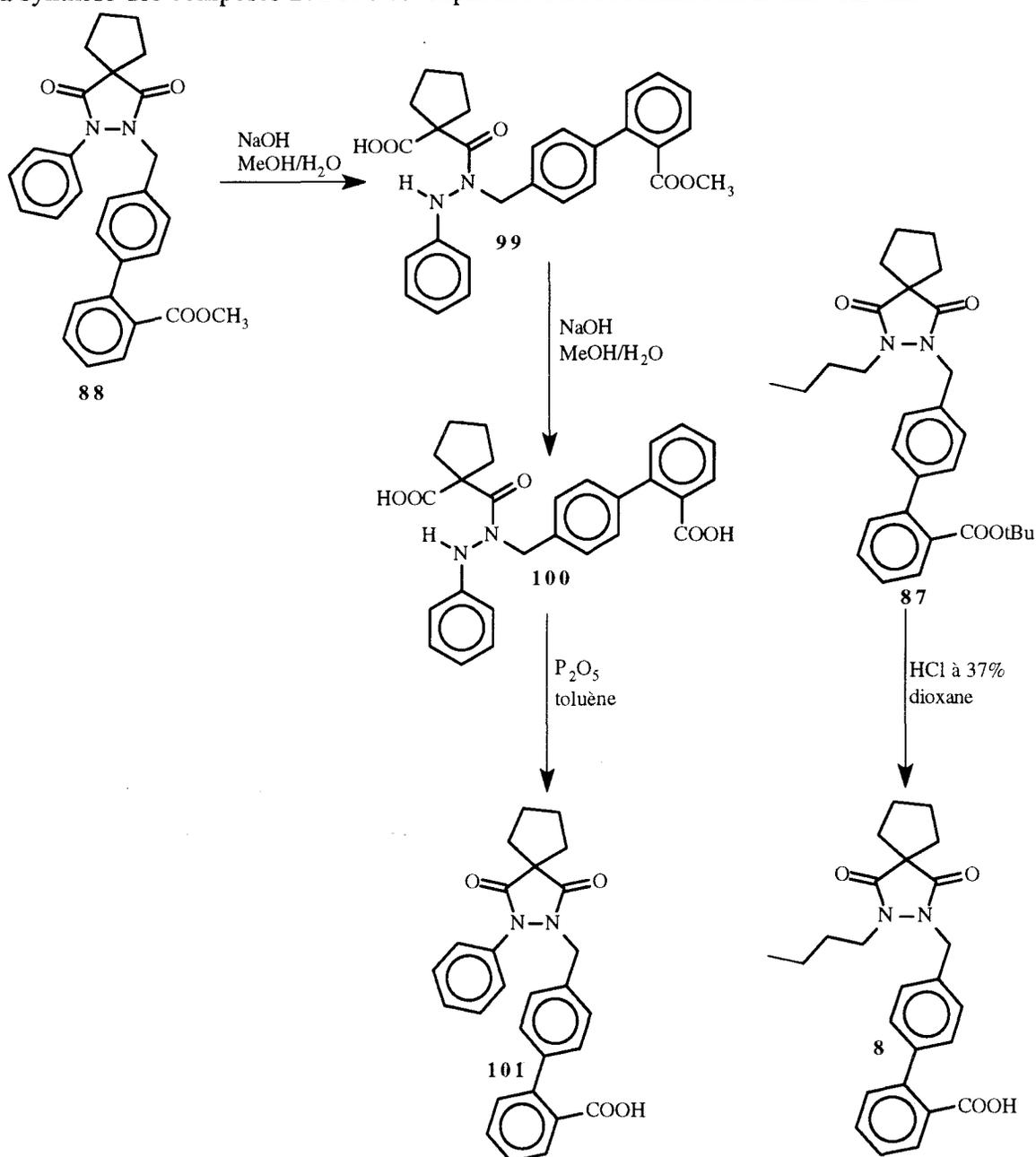


Schéma 24

Au cours de la saponification du composé **88**, nous avons pu mettre en évidence la fragilité de l'hétérocycle pyrazolidine-3,5-dione en milieu basique. En effet, dans les conditions réactionnelles utilisées (NaOH, MeOH/eau), nous obtenons non pas le produit saponifié mais le produit d'ouverture **99**. La fonction ester méthylique est ensuite hydrolysée par addition supplémentaire de trois équivalents de soude. Le produit **100** obtenu a été caractérisé par RMN

et par infra rouge (présence d'une bande ν_{NH} révélant la présence d'une liaison NH existant dans le produit d'ouverture). Le composé **101** a finalement été obtenu par déshydratation intramoléculaire du composé **100** dans le toluène à chaud en présence d'anhydride phosphorique.

Remarque :

Cette fragilité du cycle pyrazolidine-3,5-dione en milieu basique a également été confirmée à partir des composés **23** et **6** (schéma 25).

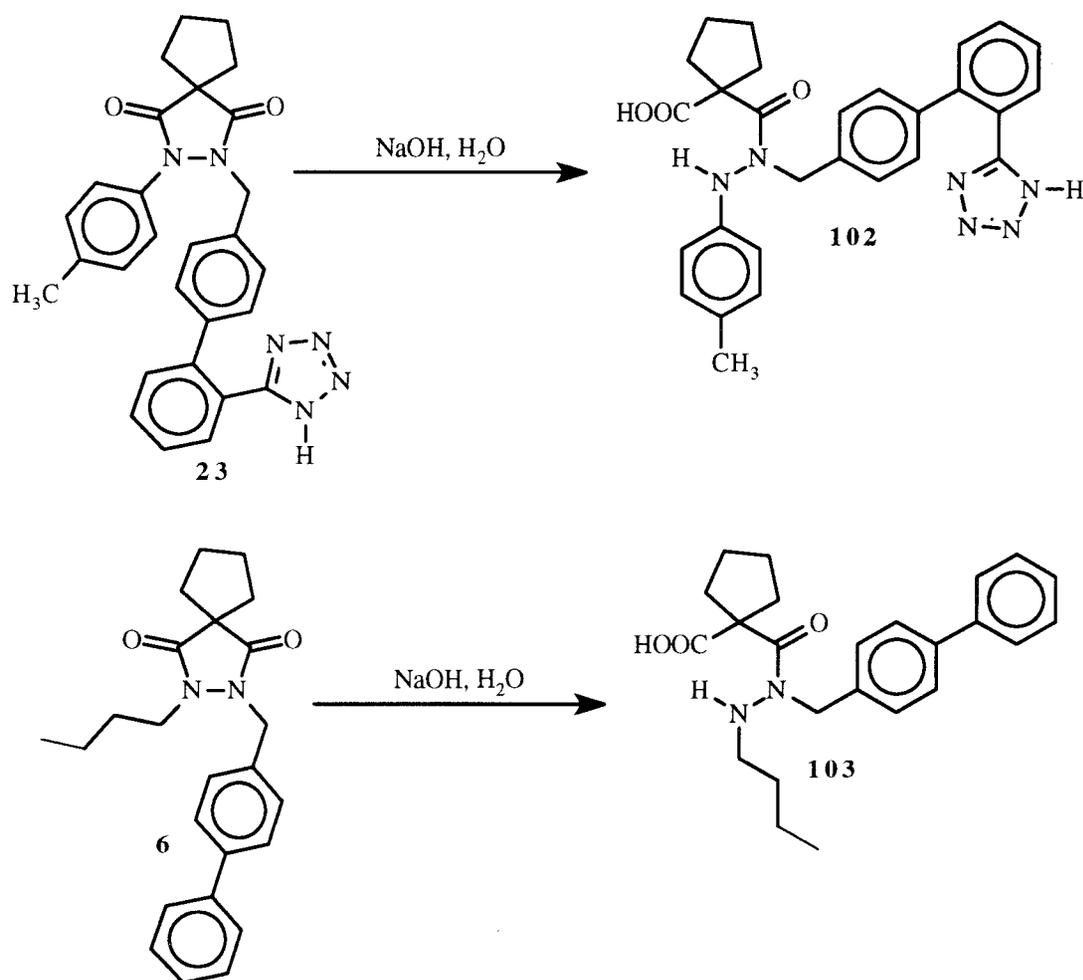


Schéma 25

Nous avons constaté que les composés **23** et **88** (substitués par des groupements aromatiques) sont beaucoup plus sensibles à l'hydrolyse alcaline que le dérivé **6** (substitué par une chaîne aliphatique).

Compte tenu de l'instabilité du cycle pyrazolidine-3,5-dione en milieu alcalin, nous avons alkylé cet hétérocycle par le 4'-(bromométhyl)biphényl-2-carboxylate de tertiobutyle **63**. En effet, l'ester tertiobutylique présente l'avantage d'être hydrolysable dans un solvant

organique en présence d'acide chlorhydrique concentré, conditions dans lesquelles le cycle pyrazolidine-3,5-dione est stable. Cette méthode a été appliquée pour préparer l'acide **8** à partir de l'ester tertiobutylique **87**.

1.4.1.2. Dérivés substitués par un groupe méthylènebiphényltétrazole

Les composés **22**, **23**, **24**, **9** et **28** ont été préparés selon le schéma réactionnel 26

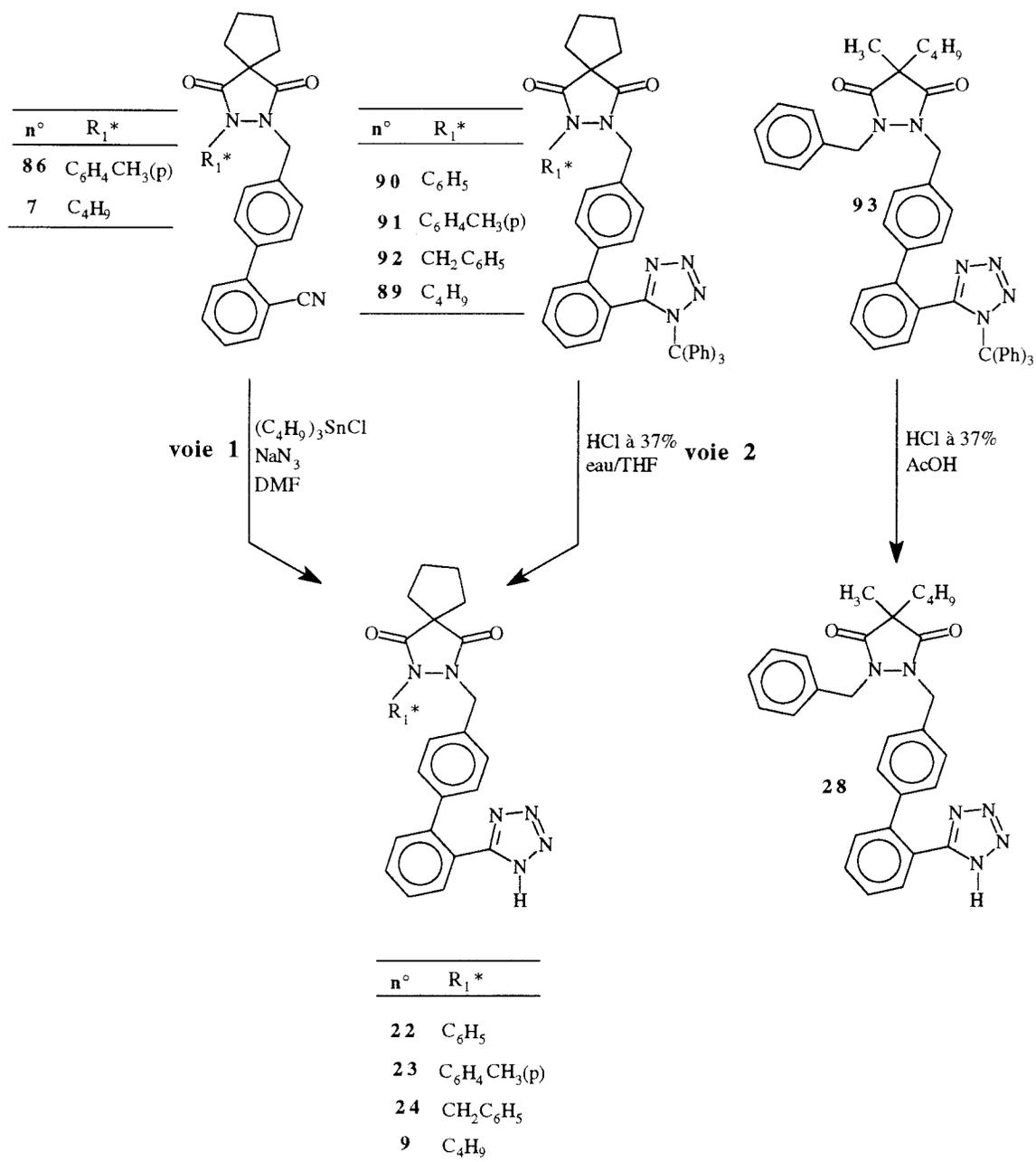


Schéma 26

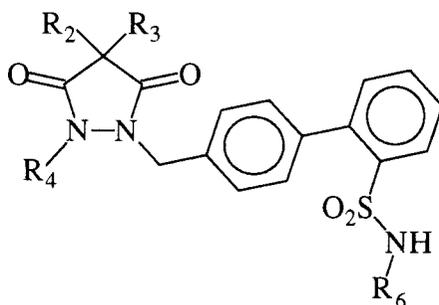
Pour accéder à ces dérivés, deux voies de synthèse ont été envisagées (schéma 26).

La première voie (voie 1) correspond à la transformation du groupement nitrile en tétrazole. Trois méthodes ont été appliquées pour réaliser cette réaction. La première consiste à utiliser l'azoture de sodium et le chlorure d'ammonium dans le xylène à reflux. Cette dernière nous a permis d'obtenir les produits attendus **23** et **9** avec des rendements très faibles de l'ordre de 5%. La deuxième méthode utilise l'azoture de triméthylsilyle et le triméthylaluminium dans le toluène à 100°C. Cette méthode pourtant appliquée avec succès lors de la transformation du 2-cyano-4'-méthylbiphényle **74** en 5-[4'-(méthyl)biphényl-2-yl]tétrazole **75** (cf. schéma 15), ne nous a en revanche pas permis d'obtenir les produits **23** et **9**. Enfin la troisième méthode consiste à effectuer cette transformation en présence de chlorure de tributylétain et d'azoture de sodium dans le diméthylformamide à 120°C. Dans ce cas, les produits attendus **23** et **9** ont été obtenus avec des rendements de l'ordre de 60%.

La deuxième voie de synthèse proposée (voie 2) pour accéder aux produits **9**, **22**, **23**, **24** et **28** correspond à la déprotection de la fonction tétrazole des dérivés **89-93**. Deux méthodes ont été utilisées pour réaliser cette étape de détritylation. La première méthode consiste à réaliser la déprotection à température ambiante dans un mélange eau/tétrahydrofurane en présence d'acide chlorhydrique concentré. La deuxième consiste à chauffer le dérivé tritylé à reflux d'acide acétique en présence d'acide chlorhydrique concentré. Ces deux méthodes permettent d'obtenir les produits attendus **9**, **22**, **23**, **24** et **28** avec de bons rendements de l'ordre de 70%.

1.4.1.3. Dérivés substitués par un groupe méthylènebiphénylsulfonamide

Les produits préparés sont répertoriés dans le tableau suivant :

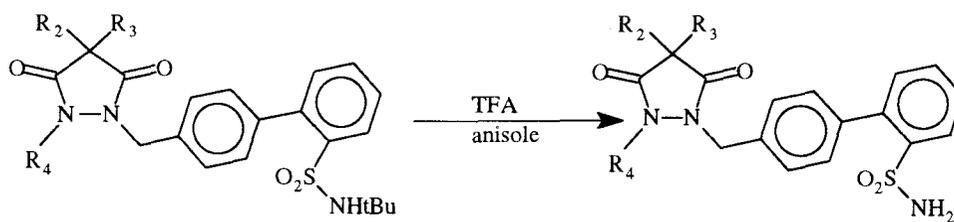


n°	R ₄	R ₂	R ₃	R ₆
11	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄		COC ₆ H ₅
25	C ₃ H ₇	(CH ₂) ₄		COC ₆ H ₅
26	C ₅ H ₁₁	(CH ₂) ₄		COC ₆ H ₅
27	C ₄ H ₉	CH ₃	C ₄ H ₉	COC ₆ H ₅
29	C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃	COC ₆ H ₅
14	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄		COC ₄ H ₉
104	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄		COOC ₂ H ₅
15	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄		CONHC ₆ H ₁₁

Tableau 25 : dérivés substitués par un groupe méthylènebiphénylsulfonamide

Ils ont été obtenus en deux étapes à partir des synthons **C**

La première étape consiste à déprotéger la fonction sulfonamide des composés **13** et **94-97** dans l'acide trifluoroacétique à température ambiante (Chang et al., 1995) (schéma 27). L'addition d'anisole en quantité catalytique permet d'augmenter la vitesse de réaction.

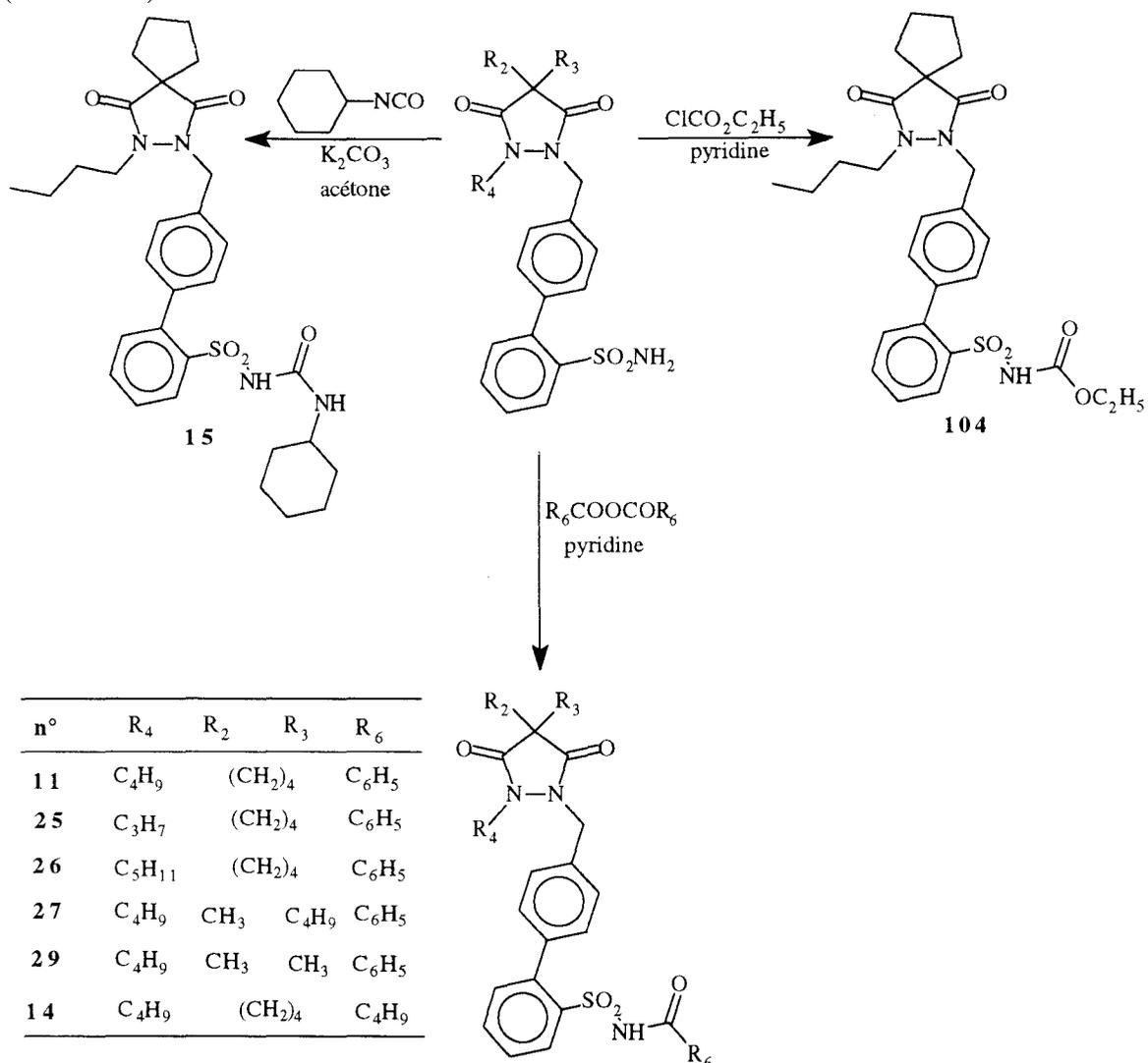


n°	R ₄	R ₂	R ₃
13	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄	
96	C ₃ H ₇	(CH ₂) ₄	
97	C ₅ H ₁₁	(CH ₂) ₄	
94	C ₄ H ₉	CH ₃	C ₄ H ₉
95	C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃

n°	R ₄	R ₂	R ₃
12	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄	
105	C ₃ H ₇	(CH ₂) ₄	
106	C ₅ H ₁₁	(CH ₂) ₄	
107	C ₄ H ₉	CH ₃	C ₄ H ₉
108	C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃

Schéma 27

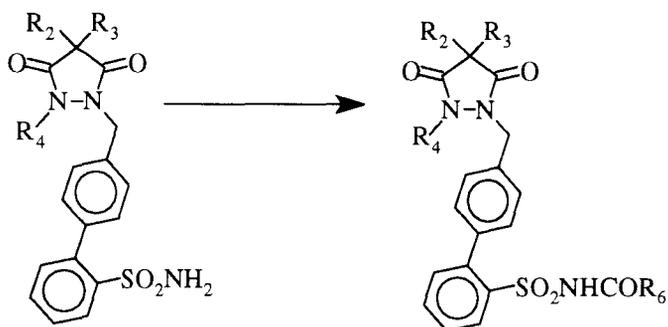
Les composés **12** et **105-108** sont ensuite utilisés comme matières premières pour l'obtention des acylsulfonamides **11**, **25-27**, **29**, de la sulfonylurée **15** et du sulfonylcarbamate **104** (schéma 28).



n°	R ₄	R ₂	R ₃	R ₆
11	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄		C ₆ H ₅
25	C ₃ H ₇	(CH ₂) ₄		C ₆ H ₅
26	C ₅ H ₁₁	(CH ₂) ₄		C ₆ H ₅
27	C ₄ H ₉	CH ₃	C ₄ H ₉	C ₆ H ₅
29	C ₄ H ₉	CH ₃	CH ₃	C ₆ H ₅
14	C ₄ H ₉	(CH ₂) ₄		C ₄ H ₉

Schéma 28

I.4.1.3.1. Obtention des acylsulfonamides : composés **11**, **14**, **25-27** et **29**



méthode A: $R_6\text{COCl}$, pyridine, reflux, 48h

méthode B: 1) RSO_2NH_2 , NaH, DMF, 60°C , 3h

2) $R_6\text{COCl}$, 120°C , 48h

méthode C: $(R_6\text{CO})_2\text{O}$, pyridine, reflux, 24h

Schéma 29

La première méthode utilisée consiste à acyler les composés **12** et **105-108** dans la pyridine à reflux en présence du chlorure d'acide approprié. Les rendements obtenus ne dépassent pas 20%. Afin d'augmenter la réactivité de la fonction sulfonamide, nous avons appliqué la méthode B qui consiste dans un premier temps à former l'anion correspondant dans le diméthylformamide en présence d'hydrure de sodium puis de le condenser avec le chlorure d'acide approprié. Cette modification n'a pas permis d'augmenter nettement les rendements d'acylation qui ne sont que de l'ordre de 30%. Ces faibles rendements sont probablement expliqués par la difficulté de former l'anion sulfonamide.

C'est en remplaçant les chlorures d'acide par les anhydrides correspondants que nous sommes parvenu à acyler la fonction sulfonamide de manière quantitative (méthode C).

I.4.1.3.2 Obtention du sulfonylecarbamate **104** et de la sulfonylurée **15**

Le composé **104** a été préparé en condensant le dérivé **12** avec le chloroformiate d'éthyle dans la pyridine. Le rendement est de 22%.

La sulfonylurée **15** a été obtenue avec un rendement de 72% par condensation du dérivé **12** avec l'isocyanate de cyclohexyle dans l'acétone à reflux en présence de carbonate de potassium. Il est à signaler que le composé **15** peut également être préparé en condensant le dérivé **104** avec la cyclohexylamine (schéma 30).

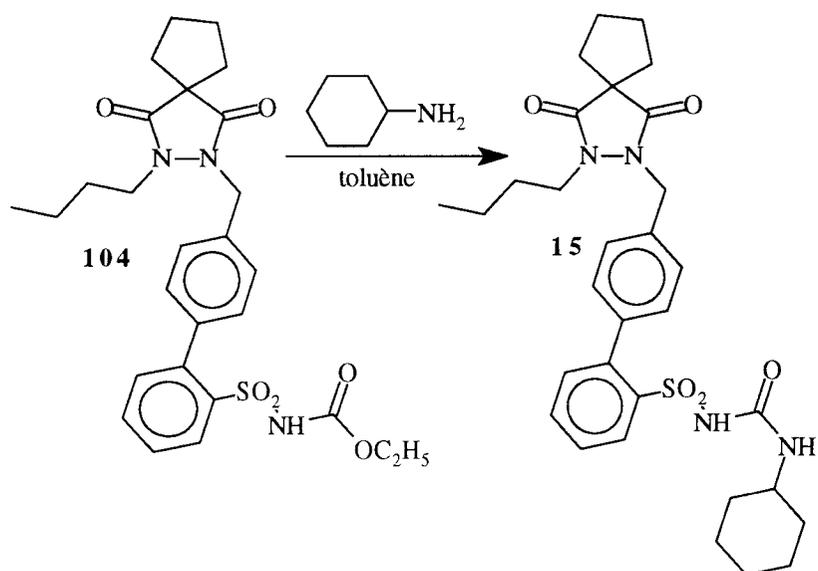
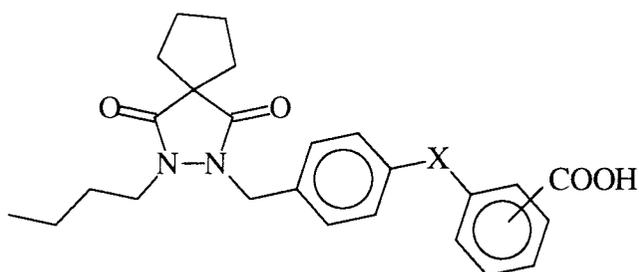


Schéma 30

I.4.2. Dérivés ne possédant pas la structure biphenyle

Les produits préparés sont indiqués dans le tableau 26 :



n°	X	position de la fonction COOH
17	CONH	2-COOH
19	CONH	3-COOH
16	NHCO	2-COOH
18	CO	2-COOH

Tableau 26 : remplacement de la structure biphenyle

I.4.2.1. Dérivés comportant un groupement 4-(2(3)-carboxyphenyl aminocarbonyl)benzyl

Les produits **17** et **19** ont été préparés à partir du composé **84a** selon le schéma réactionnel suivant :

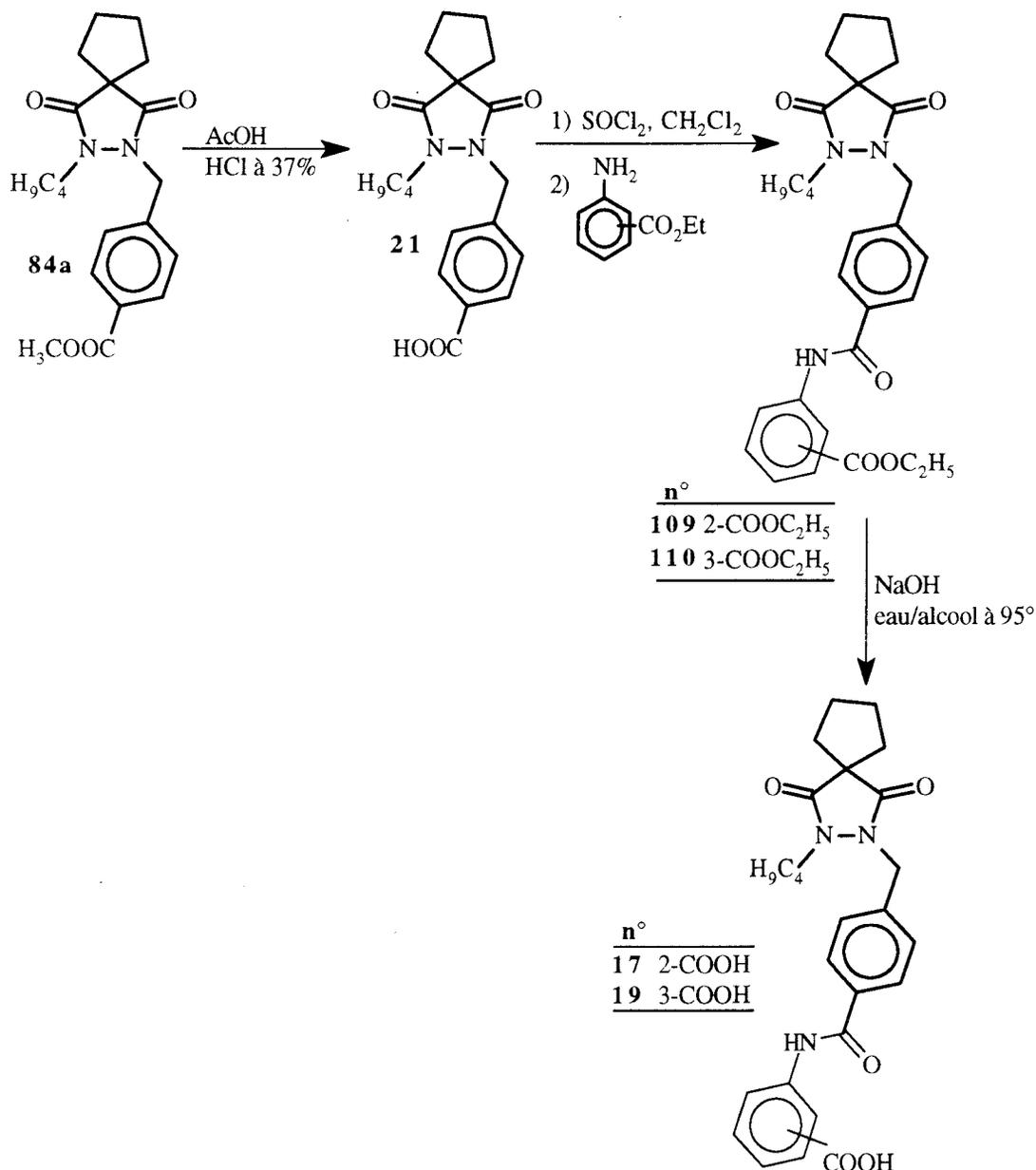


Schéma 31

L'hydrolyse de la fonction ester méthylique du composé **84a** a été réalisée en milieu acide pour éviter l'ouverture du cycle pyrazolidine-3,5-dione. L'étape suivante d'amidification, variante de la réaction de Schoetten-Baumann, a été réalisée en formant *in situ* dans un premier temps le chlorure d'acide en présence de chlorure de thionyle puis en condensant ce chlorure d'acide avec l'aminobenzoate d'éthyle choisi, dans le dichlorométhane en présence de triéthylamine (schéma 31). L'hydrolyse des esters **109** et **110** a été réalisée dans un milieu

eau/méthanol à 55°C en présence de 2 équivalents de soude. Les rendements obtenus sont de l'ordre de 30%.

1.4.2.2. Dérivé substitué par un groupe 4-(2-carboxybenzamido)benzyle

Le produit **16** a été préparé à partir du composé **85a** selon le schéma réactionnel suivant:

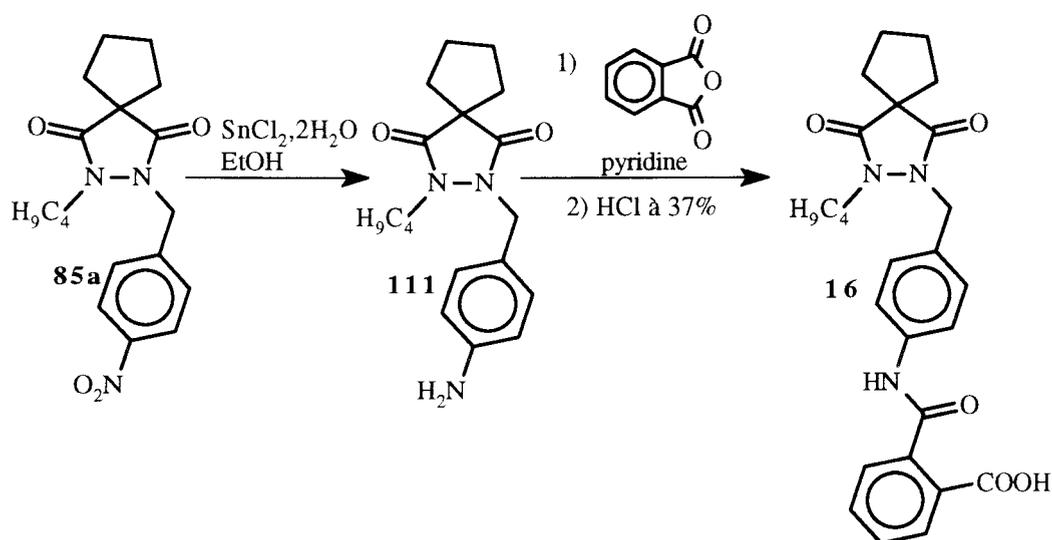


Schéma 32

Deux méthodes ont été utilisées pour réduire la fonction NO_2 du composé **85a**. La première consiste à chauffer le composé nitré dans le méthanol en présence de charbon palladié et de formiate d'ammonium. Dans ces conditions opératoires nous obtenons, non pas le produit réduit attendu, mais le produit débenzylé (schéma 33).

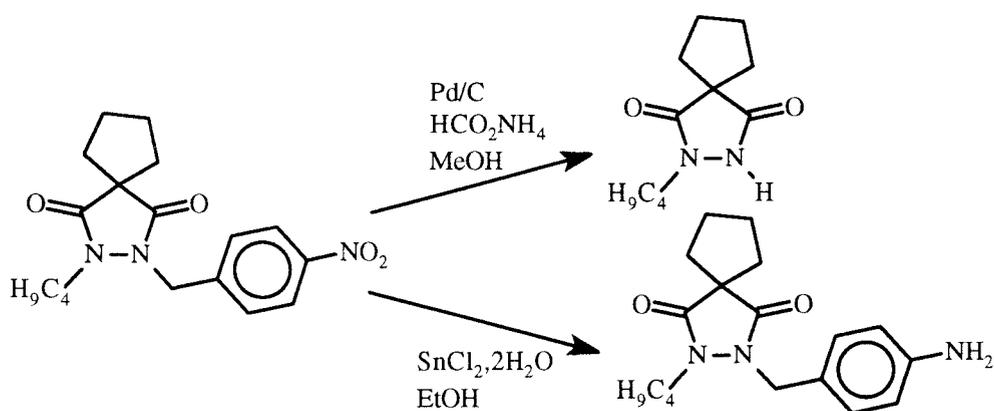


Schéma 33

Pour éviter cette débenzylation, nous avons réalisé la réduction dans l'alcool à reflux en présence de chlorure d'étain dihydraté (Shi et al., 1996). Le produit attendu **111** est obtenu dans ces conditions avec un rendement de 78%. La condensation du composé **111** avec l'anhydride phtalique à température ambiante dans la pyridine aboutit alors au composé **16**.

I.4.2.3. Dérivé substitué par un groupe 4-(2-carboxybenzoyl)benzyle

Le composé **18** a été obtenu avec un rendement de 75% par hydrolyse en milieu acide de l'ester **98** (schéma 34).

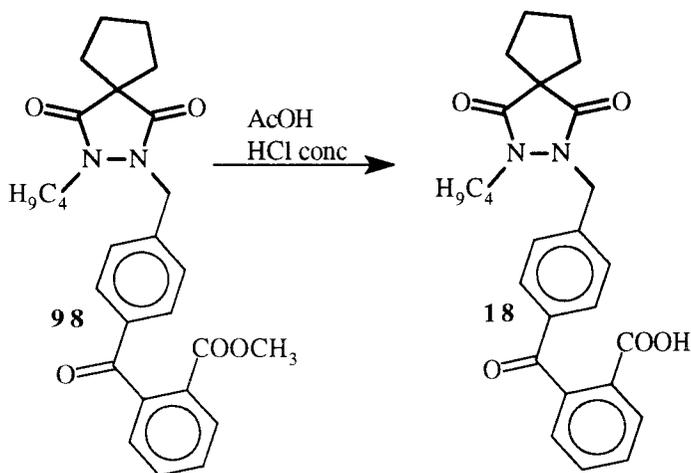


Schéma 34

II. PYRIDAZINE-3,6-DIONES N,N'-DISUBSTITUEES

Pour accéder à ces composés, nous avons appliqué d'une manière générale la stratégie de synthèse adoptée pour préparer les différentes pyrazolidine-3,5-diones N, N'-disubstituées. L'étape clé de l'obtention de ces produits consiste en une alkylation par le dérivé halogéné approprié des pyridazine-3,6-diones N-substituées (schéma 35).

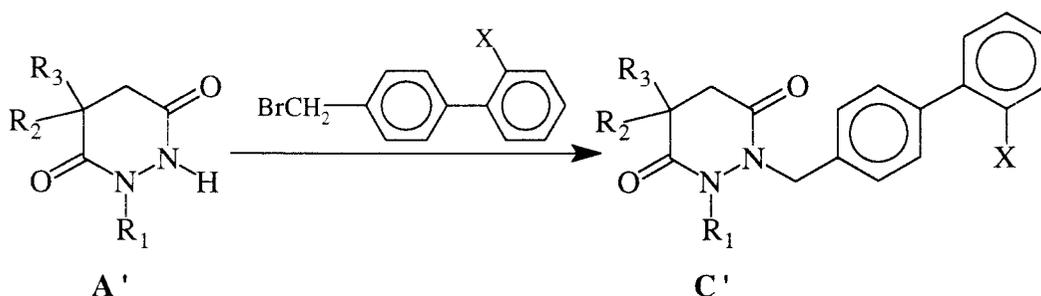
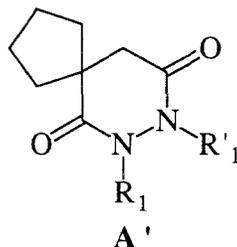


Schéma 35

II.1. OBTENTION DES PYRIDAZINE-3,6-DIONES N-SUBSTITUÉES (SYNTHONS A')

Les produits préparés sont représentés dans le tableau suivant



n°	R ₁	R' ₁
112a	H	CH ₂ C ₆ H ₅
112b	CH ₂ C ₆ H ₅	H
123a	C ₄ H ₉	H

Tableau 27 : pyridazine -3,6-diones N-substituées

II.1.1. Obtention des pyridazine-3,6-diones N-benzylées 112a et 112b

Pour accéder à ces produits, nous avons utilisé le schéma réactionnel suivant :

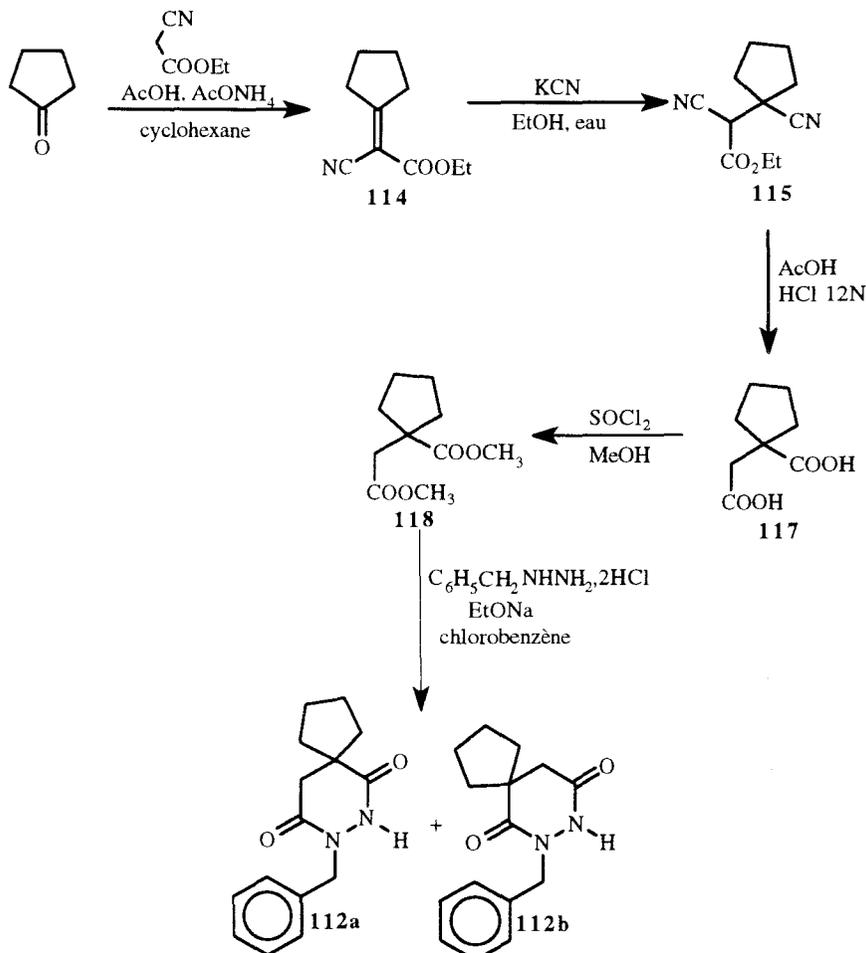
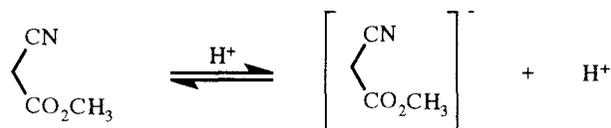


Schéma 36

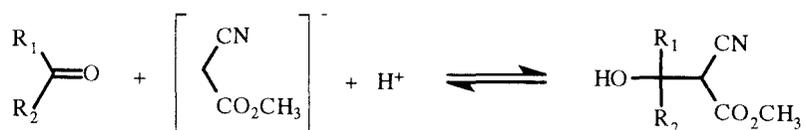
La première étape correspond à l'obtention de la cyclopentylidèncyanoacétate d'éthyle **114** à partir de la cyclopentanone et du cyanoacétate d'éthyle. Cette réaction peut être réalisée en présence d'une amine secondaire comme la pipéridine ou la diéthylamine qui joue le rôle de catalyseur (condensation de Knoevenagel). Les rendements sont maximaux lorsque la réaction est effectuée en présence d'acide acétique et d'un solvant inerte qui aide à éliminer l'eau par distillation.

Le mécanisme de cette réaction est le suivant (Cope, 1937)

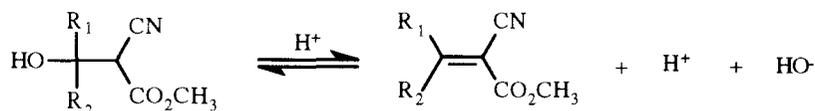
1-énolisation de l'ester cyanoacétique par dissociation d'un ion H^+



2-addition de l'énol au composé carbonylé



3-élimination de l'eau



Dans notre cas, nous avons réalisé cette condensation d'abord dans le toluène à reflux en présence d'acide acétique et d'acétate d'ammonium. Le produit attendu **114** est obtenu dans ce cas avec un rendement de 39%. En réalisant cette réaction dans le cyclohexane, nous obtenons moins de produits de dégradation ce qui permet d'améliorer nettement le rendement qui passe à 65%.

La transformation du cyclopentylidèncyanoacétate d'éthyle **114** en 2-(1-cyanocyclopentyl)cyanoacétate d'éthyle **115** est effectuée dans l'éthanol en présence d'une solution aqueuse diluée de cyanure de potassium. Au cours de cette réaction seul le produit attendu résultant d'une addition 1,4 de type Michaël se forme (Cragoe et al., 1950). Lorsque cette étape est réalisée à reflux d'éthanol, la réaction est rapide (30 minutes); on note cependant la formation d'un produit secondaire **116** correspondant à l'hydrolyse de l'ester en acide (schéma 37). A température ambiante, la réaction est plus lente mais l'hydrolyse de l'ester n'est pas constatée.

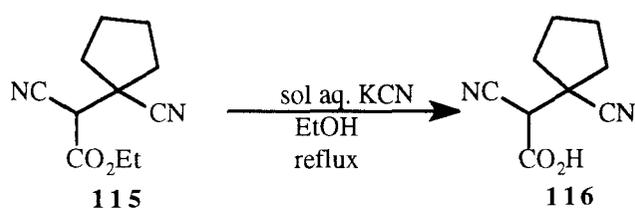


Schéma 37

L'acide 2,2-tétraméthylènesuccinique **117** est obtenu par chauffage à reflux du composé **115** dans l'acide acétique en présence d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique concentrée (Cragoe et al., 1950). Il est ensuite estérifié à température ambiante dans le méthanol en présence de chlorure de thionyle.

Le diester succinique **118** est condensé avec la benzylhydrazine dans le chlorobenzène à reflux en présence d'éthylate de sodium (conditions opératoires de cyclisation utilisées pour préparer les N-aryl ou N-arylkylpyrazolidine-3,5-diones).

Du fait de la structure dissymétrique du composé **118**, la cyclisation conduit aux deux régioisomères **112a** et **112b** obtenus avec des rendements respectifs de 31% et 2%. La détermination de la structure de ces composés n'a pas été possible par une simple étude de RMN. Des études plus approfondies ont été nécessaires pour attribuer sans ambiguïté la structure des composés **112a** et **112b**. L'analyse radiocristallographique de ces deux régioisomères a de plus confirmé les résultats des études spectroscopiques.

Afin d'accéder de manière univoque au composé **112b** d'une part, et à son régioisomère **112a** d'autre part, nous avons envisagé le schéma réactionnel suivant :

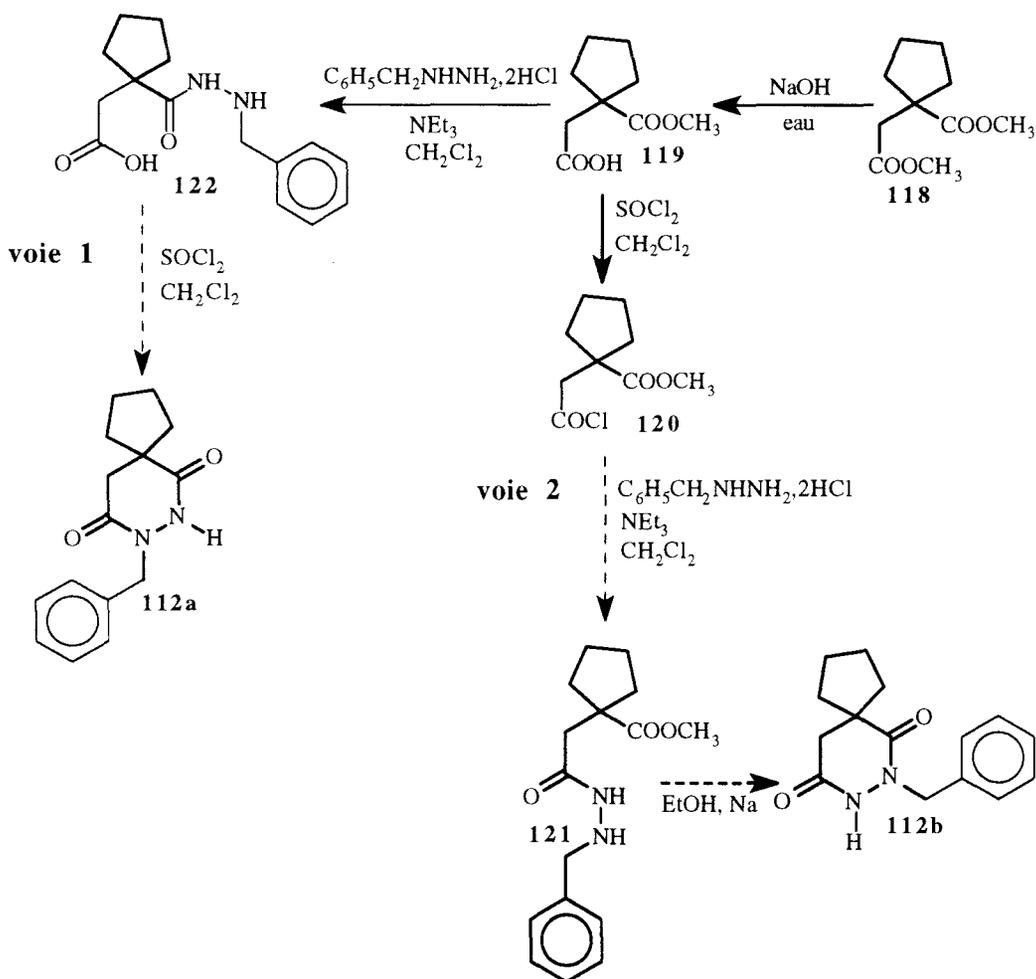


Schéma 38

L'hydrolyse du composé **118** est effectuée à température ambiante en présence d'un équivalent d'une solution diluée de soude. Ces conditions douces permettent d'hydrolyser régiosélectivement une seule des deux fonctions esters. Seule la fonction ester primaire est hydrolysée dans ces conditions. Le dérivé obtenu **119** a été identifié sans ambiguïté en RMN : on observe en effet un déblindage des protons méthyléniques situés à proximité des groupements carbonyle lors du passage de la fonction ester à la fonction acide carboxylique. Le composé **119** est utilisé comme matière première pour les deux voies de synthèse proposées (voies 1 et 2 : schéma 38). Le passage au composé **120** est effectué à température ambiante dans le dichlorométhane en présence de chlorure de thionyle. L'hydrazide **121**, par cyclisation intramolécule, est susceptible d'aboutir au composé **112b**.

Remarque : au cours de la condensation de la benzylhydrazine avec le chlorure d'acide **120**, l'hydrazide **121** devrait se former majoritairement. En effet la fonction amino terminale des hydrazines monosubstituées est la plus réactive vis-à-vis des chlorures d'acide ou des esters.

Le composé **112a** peut être obtenu selon une stratégie de synthèse similaire qui consiste à former dans un premier temps l'hydrazide **122** qui se cyclise ensuite en présence de chlorure de thionyle.

II.1.2. Obtention de la 1-butylpyridazine-3,6-dione **123a**

Pour accéder à la pyridazine-3,6-dione substituée sur l'un des atomes d'azote par une chaîne butyle (composé **123a**), nous avons adopté la stratégie de synthèse utilisée auparavant pour aboutir aux composés **45-49** (cf. page 105). Celle-ci est représentée sur le schéma suivant:

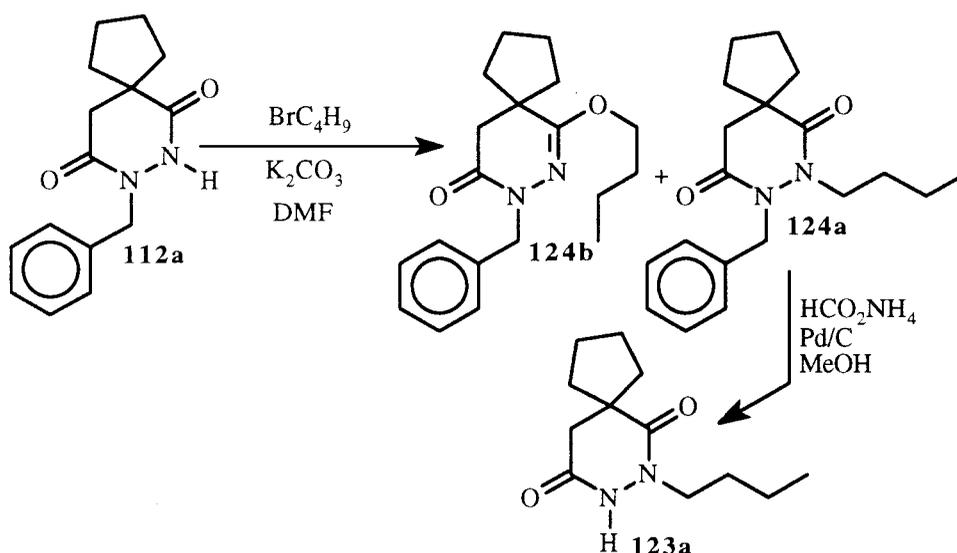


Schéma 39

La pyridazine -3,6-dione N-benzylée **112a** (isomère obtenu majoritairement au cours de l'étape de cyclisation) est alkylée dans le diméthylformamide par le 1-bromobutane en présence de carbonate de potassium. Dans ces conditions réactionnelles, les deux isomères N- et O-alkylés **124a** et **124b** sont obtenus en proportions identiques d'après la RMN du mélange. Il n'a pas été possible de les séparer, ni par méthode chimique (différence de solubilité dans un solvant approprié), ni par méthode chromatographique (ces deux isomères ont en effet exactement le même Rf dans les différents systèmes d'éluion utilisés). L'étape de débenzylation a donc été effectuée comme précédemment en présence de charbon palladié et de formiate d'ammonium à partir du mélange des deux isomères (Ram et Ehrenkauffer, 1988). Dans ces conditions opératoires, seul le dérivé N-alkylé **124a** est débenzylé. Le produit attendu **123a** est extrait en milieu basique (solution aqueuse d'hydroxyde de sodium) alors que l'isomère O-alkylé non débenzylé **124b** reste dans la phase étherée.

Remarque : un schéma de synthèse similaire pourrait être utilisé pour aboutir au composé isomère **123b** à partir du dérivé **112b** (schéma 40) :

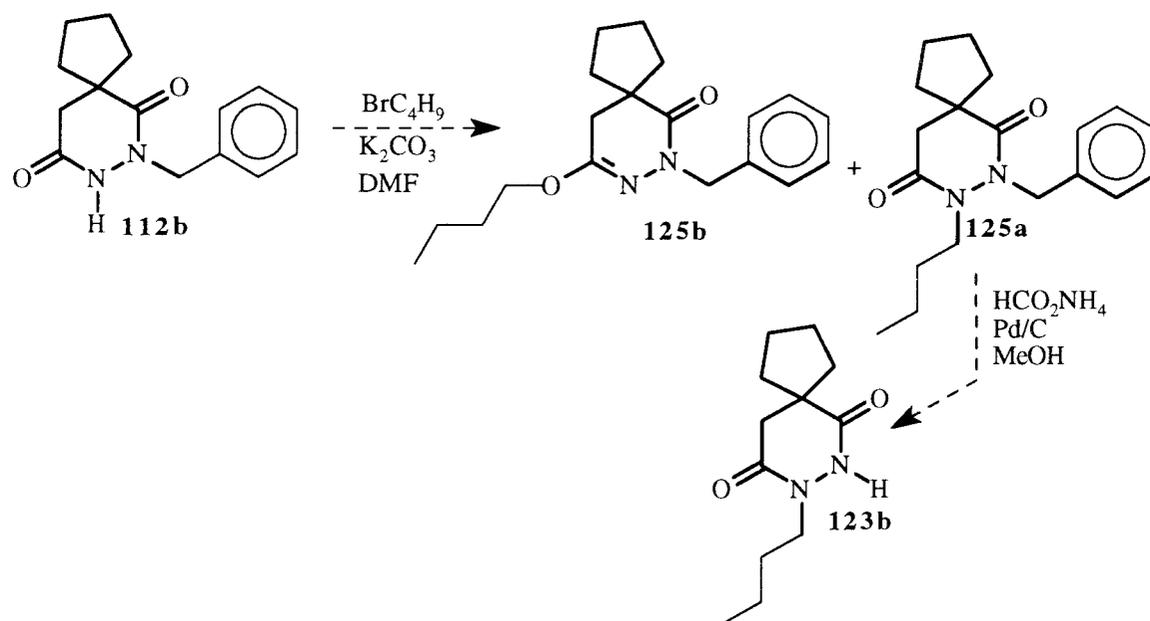


Schéma 40

II.2. OBTENTION DES PYRIDAZINE-3,6-DIONES N,N'-DISUBSTITUÉES

Pour accéder à ces composés, nous avons appliqué la stratégie de synthèse qui a permis d'obtenir les pyrazolidine-3,5-diones N,N'-disubstituées.

Les produits **30a** et **126** ont été préparés selon le schéma réactionnel suivant:

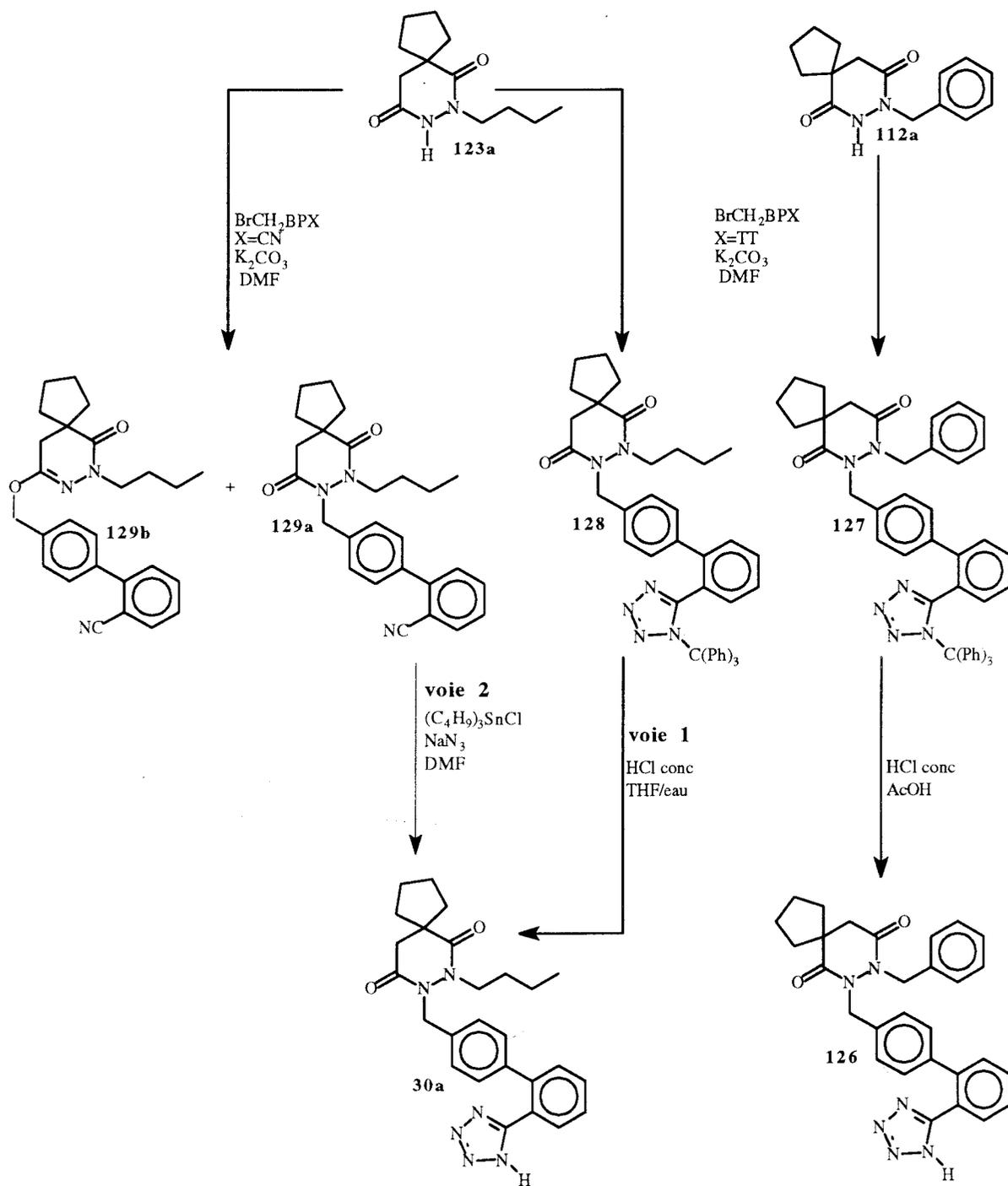


Schéma 41

Le composé **126** a été obtenu en deux étapes à partir du dérivé **112a**. L'alkylation par le 1-(triphénylméthyl)-5-[4'-(bromométhyl)biphényl-2-yl]tétrazole est réalisée dans le diméthylformamide à température ambiante en présence de carbonate de potassium. Comme précédemment, cette étape conduit à la formation de deux produits résultant de la N- et O-alkylation. L'isomère N-alkylé **127** est isolé par précipitation dans l'éther diéthylique puis purifié par recristallisation. Il est alors déprotégé dans l'acide acétique à reflux en présence d'acide chlorhydrique concentré.

Le composé **30a** a été obtenu selon deux voies de synthèse. La première (voie 1 : schéma 41) consiste à alkyler le dérivé **123a** par le 1-triphénylméthyl-5-[4'-(bromométhyl)biphényl-2yl]tétrazole **64** puis à déprotéger ensuite la fonction tétrazole. Nous ne sommes pas parvenu au niveau de l'étape d'alkylation à isoler par précipitation dans un solvant approprié l'isomère N-alkylé du mélange des deux produits d'alkylation. La séparation a été réalisée par chromatographie sur colonne. La très faible différence de R_f entre ces deux isomères a rendu cette séparation très délicate. L'isomère N-alkylé **128** a néanmoins été isolé avec un rendement très faible de 15%. Le composé **128** a été déprotégé avec un rendement de 75% dans un milieu eau/tétrahydrofurane en présence d'acide chlorhydrique concentré. Compte-tenu du faible rendement global obtenu par cette méthode, nous avons envisagé une autre voie de synthèse pour accéder au dérivé **30a**.

Cette seconde méthode (voie 2 : schéma 41) consiste à alkyler le composé **123a** par le 4'-bromométhyl-2-cyanobiphényle **61** puis à transformer la fonction nitrile en tétrazole. Au cours de l'étape d'alkylation, nous obtenons à nouveau les isomères N- et O-alkylés **129a** et **129b**. L'isomère N-alkylé n'a pas à nouveau pu être isolé du mélange brut par précipitation dans un solvant donné. Nous avons donc séparé ces produits par chromatographie sur colonne. La différence de R_f était dans ce cas précis suffisamment importante pour obtenir une assez bonne résolution. La transformation de la fonction nitrile en tétrazole a ensuite été réalisée sur le composé **129a** en utilisant le chlorure de tributylétain et l'azoture de sodium dans le diméthylformamide. Le rendement de cette dernière étape est de 60%.

Remarque : la quantité obtenue du composé **129b** étant trop faible, nous n'avons pas tenté de réaliser la transformation du nitrile en tétrazole sur cet isomère.

III. SYNTHÈSE DU SR 47436

Pour préparer ce composé de référence nous avons repris la méthode décrite par Bernhart et ses collaborateurs (Bernhart et al., 1993) en y apportant quelques modifications d'ordre pratique (cf. partie expérimentale). Cette synthèse est rapportée sur le schéma suivant :

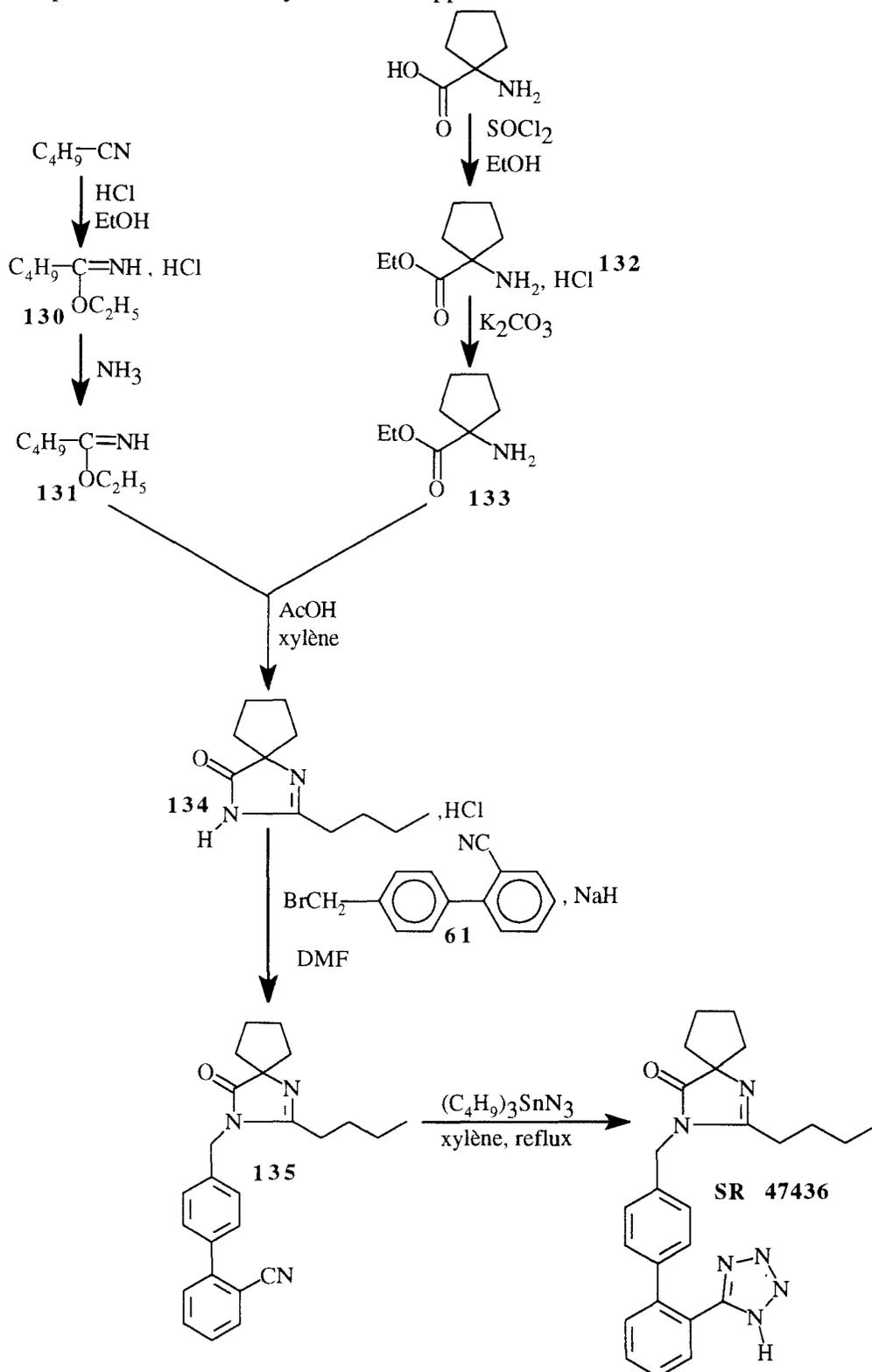


Schéma 42

Le chlorhydrate du butylacétimide d'éthyle **130** est obtenu en faisant barboter de l'acide chlorhydrique gazeux dans une solution éthanolique de valéronitrile (Reynaud et Moreau, 1964). Un courant d'ammoniac permet ensuite de passer à l'imide **131** qui est purifié par distillation sous vide.

Remarque : le déplacement du chlorhydrate doit s'effectuer à basse température (-20°C). En effet à température ambiante, la réaction favorise la formation de la butylamidine (schéma 43).

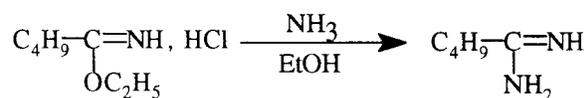


Schéma 43

La condensation du butylacétimide d'éthyle **131** avec l'aminoester **133** est effectuée dans le xylène à reflux en présence d'acide acétique qui joue le rôle de catalyseur. Le produit obtenu est isolé sous forme de chlorhydrate.

Le mécanisme proposé pour la formation du composé **134** pourrait être le suivant (Jacquier et al., 1971) :

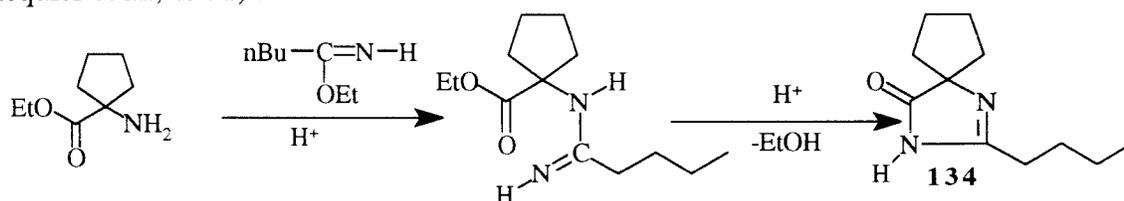


Schéma 44

Remarque : ce composé peut également exister sous une autre forme tautomère (Jacquier et al., 1971) (schéma 45)

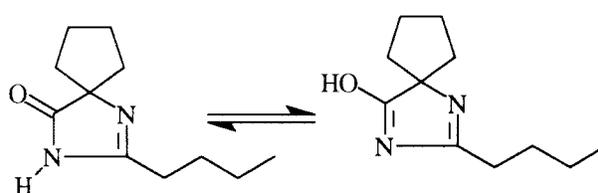


Schéma 38

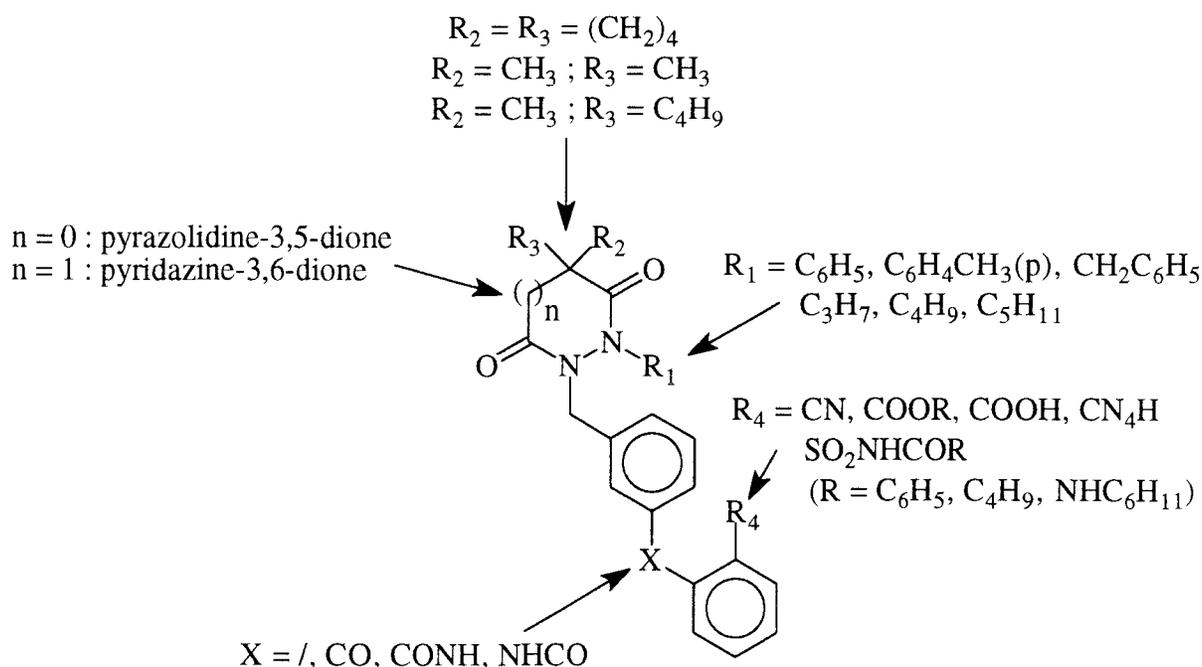
L'alkylation du composé **134** par le 4'-(bromométhyl)-2-cyanobiphényle **61** est réalisée dans le diméthylformamide à température ambiante en présence d'hydrure de sodium. Dans les conditions opératoires utilisées et contrairement à ce qui avait été observé dans le cas des pyrazolidinediones, seul le produit N-alkylé se forme.

La dernière étape correspond à la transformation de la fonction nitrile du composé **135** en tétrazole. Cette réaction est effectuée dans le xylène à reflux en présence d'azoture de tributylétain préparé au préalable par action de l'azoture de sodium sur le chlorure de tributylétain en milieu aqueux.

CONCLUSION

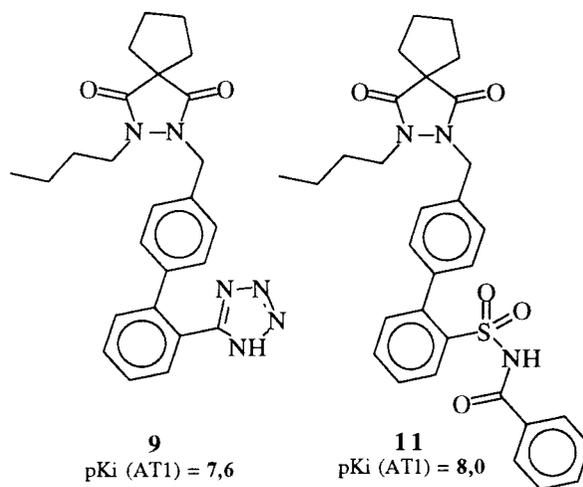
Compte-tenu du rôle clé de l'angiotensine II dans le contrôle de la pression sanguine et de la balance électrolytique, la découverte d'antagonistes puissants des récepteurs AT1 est apparue comme une opportunité pour, non seulement une meilleure connaissance des implications de cette hormone dans l'organisme, mais surtout pour la découverte de nouvelles classes d'agents antihypertenseurs.

Les travaux entrepris ont donc concerné la synthèse et l'étude pharmacologique de nouvelles molécules non peptidiques, ligands potentiels des récepteurs AT1 de l'angiotensine II. Les différentes modulations ont été réalisées à partir d'hétérocycles tenseurs de type pyrazolidine-3,5-dione et pyridazine-3,6-dione.



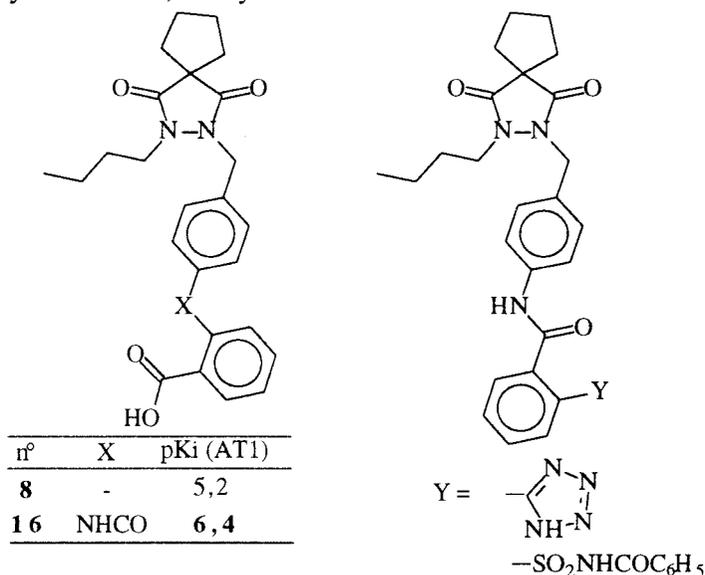
Elles nous ont permis, d'une part, de mettre en évidence les éléments structuraux nécessaires à la reconnaissance du récepteur AT1 et, d'autre part, d'aboutir à l'élaboration de plusieurs molécules possédant une bonne affinité ($pK_i > 7$) et une très bonne sélectivité pour le récepteur AT1.

Deux de ces molécules (composés **9** et **11**) ont en particulier été sélectionnées par UCB Pharmaceutical Sector pour des tests pharmacologiques complémentaires (pharmacologie *in vivo*). Ces résultats non communiqués dans ce mémoire ont clairement démontré l'activité antagoniste de ces ligands qui peuvent dès lors prétendre à un développement thérapeutique.

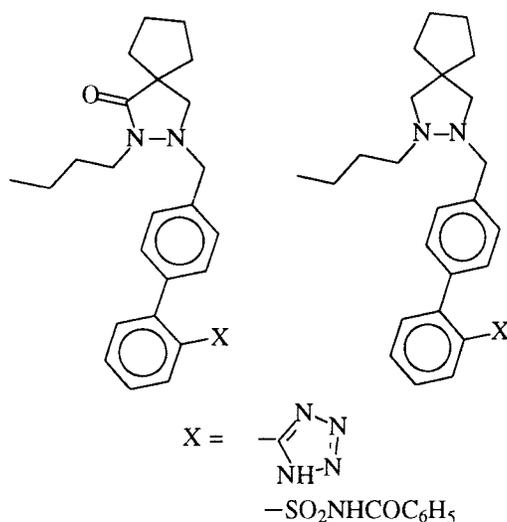


De nouvelles modifications de la structure de ces deux chefs de file peuvent être envisagées dans le but d'améliorer l'affinité pour le récepteur AT1.

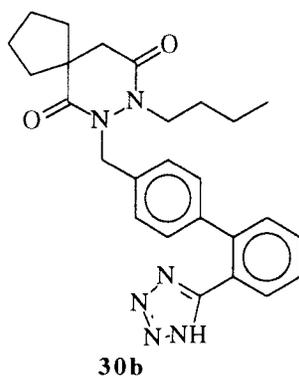
Le remplacement de la structure biphenyle du composé **8** par une structure 4-(-2-carboxybenzamido)benzyle s'accompagne d'une nette amélioration de l'affinité pour le récepteur AT1. De plus, dans la série biphenyle, le passage de la fonction acide carboxylique à un groupement acylsulfonamide permet d'améliorer considérablement cette affinité [composé **8** : pKi = 5,2 / composé **11** : pKi = 8,0]. Compte-tenu de ces résultats, il serait intéressant de remplacer le biphenyle présent dans la structure du chef de file **11** par un groupe 4-(-2-carboxybenzamido)benzyle.



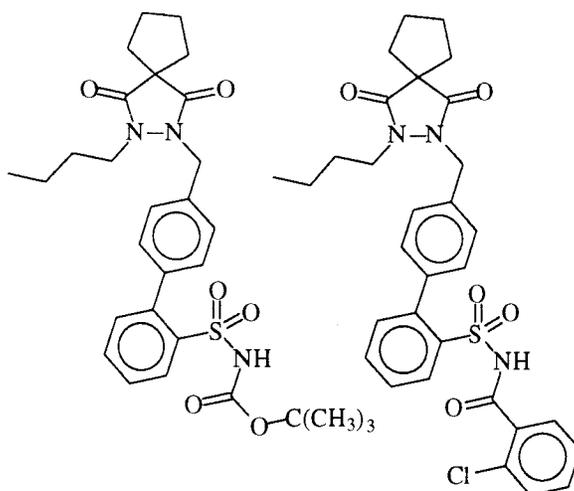
La réduction de l'une (ou des deux) fonctions carbonyle de l'hétérocycle pyrazolidine-3,5-dione est également envisageable afin de vérifier si ces éléments sont indispensables ou non à l'affinité.



Dans la série des pyridazine-3,6-diones, la synthèse du régioisomère **30b** devra être réalisée en particulier pour confirmer ou infirmer les hypothèses des études de modélisation moléculaire.



Enfin, pour améliorer l'affinité pour le sous-type AT2, il est envisagé de remplacer le groupe benzoylsulfonamide du composé **11** par des structures analogues comportant soit une chaîne aliphatique ramifiée soit un cycle benzénique substitué.



PARTIE EXPERIMENTALE

I. APPAREILLAGES ET TECHNIQUES ANALYTIQUES

□ Différentes caractéristiques physico-chimiques (F, IR, RMN, SM) complémentaires ont été reportées pour les composés finaux préparés. Pour les intermédiaires de synthèse, seules des données déterminantes sont reportées.

- Les points de fusion (F) ont été déterminés à l'aide d'un appareil Büchi SMP 20.
- Les spectres IR ont été réalisés sur un spectrographe Perkin-Elmer 297. Pour leur enregistrement, les produits solides ont été dispersés dans du bromure de potassium et les liquides déposés sous forme de film sur une pastille de KBr. Les signaux caractéristiques sont repérés par leur nombre d'onde (en cm^{-1}).
- Les spectres de RMN ^1H (80 MHz et 300 MHz) ont été enregistrés dans le laboratoire d'application de RMN, Service Commun de Physicochimie de l'Université de Lille 2, sur des appareils à transformées de Fourier Brücker WP80SY et Brücker AC300P. Les spectres sont enregistrés à température ambiante. Chaque signal est repéré par son déplacement chimique (δ en ppm), son intensité (nombre de H), sa multiplicité et éventuellement sa constante de couplage (J, exprimée en Hertz).
- Les spectres de masse ont été réalisées par le Service d'Analyses Structurales d'UCB Pharmaceutical Sector. Les spectres sont de type Impact Electronique ; ils ont été enregistrés sur un spectromètre quadripolaire Funnigan TSQ700 (couplé à un système de contrôle DEC). Les signaux principaux sont repérés par leur rapport m/e et les fragments auxquels ils correspondent sont identifiés.

□ La pureté des produits devant subir des tests pharmacologiques a été vérifiée par HPLC analytique, puis par les analyses élémentaires.

- Les analyses par HPLC ont été réalisées selon deux types de conditions :
 - appareil Waters Delta Prep 4000 équipé d'une colonne 'phase inverse' à compression radiale (Novapak C8 4 μm 100 \times 8 mm). Les produits sont détectés à l'aide d'un détecteur UV à trois longueurs d'ondes ($\lambda = 230 \text{ nm}$; $\lambda = 254 \text{ nm}$; $\lambda = 280 \text{ nm}$).
 - appareil Kontron 325 System équipé d'une colonne 'phase inverse' (Licrospher RP8 5 μm 250 \times 4,6 mm). Les produits sont détectés par balayage UV de 200 à 400 nm.

Dans tous les cas, les éluants sont spécifiés. Les solutions A et B utilisées correspondent aux mélanges suivants :

- solution A : H_2O / MeOH / PicB8 (5mM) 80 : 15 : 5
- solution B : H_2O / MeOH / PicB8 (5mM) 10 : 85 : 15

L'élution a été réalisée en mode isocratique

- Les analyses élémentaires ont été réalisées par le Service Central d'Analyse -Département Analyse Élémentaire- du CNRS (F-69390 Vernaison). Une marge d'erreur de $\pm 0,4\%$ est tolérée sur les pourcentages trouvés.

□ Les chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur des plaques de gel de silice 60 F₂₅₄ d'épaisseur 0,2 mm (référence 5735 Merck), révélées par UV (254 nm et 366 nm) et iode. Les chromatographies sur colonne de gel de silice ont été réalisées sous de faibles pressions (entre 1 et 3 bars) sur gel de silice 60 Merck de granulométrie 0,040-0,063 nm, référence 9385.5000 Merck.

II. PROTOCOLES CHIMIQUES

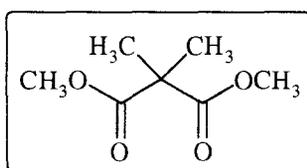
II.1. PYRAZOLIDINE-3,5-DIONES N, N'-DISUBSTITUÉES

II.1.1. Obtention des pyrazolidine-3,5-diones N-substituées (synthons A)

II.1.1.1. Dérivés substitués par des groupements aromatiques ou arylaliphatiques

II.1.1.1.1. Préparation des esters maloniques

2,2-Diméthylmalonate de méthyle (38)



$C_7H_{12}O_4$	160,16 g.mol ⁻¹
----------------	----------------------------

réactifs	quantités	mol	équivalent	caractéristiques
acide diméthylmalonique	25 g	0,189	1	132,12 g.mol ⁻¹
chlorure de thionyle	55,2 ml	0,757	4	118,97 g.mol ⁻¹ d = 1,631
méthanol	150 ml			

MODE OPÉRATOIRE

Le chlorure de thionyle est ajouté goutte à goutte à froid (0°C) à une solution de l'acide diméthylmalonique dans le méthanol. Le mélange est ensuite laissé sous agitation pendant 12 heures à température ambiante. Le solvant est évaporé sous vide et l'huile obtenue est reprise par 150 ml d'éther. La phase organique est lavée successivement à l'eau, avec une solution aqueuse à 10% d'hydrogénocarbonate de sodium puis elle est séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation de l'éther, on obtient une huile qui est utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

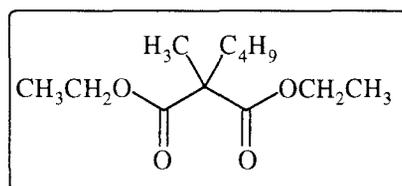
rendement : 79%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,86 (hexane/AcOEt : 9/1)

IR : 2980, 2940 : CH
1730 : C=O

2-Butyl-2-méthylmalonate d'éthyle (40)



C₁₂H₂₂O₄

230,30 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
2-butylmalonate d'éthyle	10,17 ml	46	1	216,28 g.mol ⁻¹
sodium	1,06 g	0,046 atg	1	22,98 g.mol ⁻¹
iodométhane	4,31 ml	69	1,5	141,94 g.mol ⁻¹ d = 2,28

MODE OPÉRATOIRE

Le sodium est préalablement dissous par portions dans 100 ml d'éthanol. Le 2-butylmalonate d'éthyle est alors additionné puis le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 1 heure à température ambiante. L'éthanol est ensuite éliminé sous vide. Le résidu obtenu est mis en suspension dans 100 ml de tétrahydrofurane. L'iodométhane est ajouté goutte à goutte puis le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 2 heures à température ambiante. Le solvant est alors éliminé sous vide. L'huile obtenue est mise en suspension dans l'eau puis extraite par 2 fois 100 ml d'éther. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur du

sulfate de magnésium. Après filtration du sel puis évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est ensuite distillée sur colonne.

rendement : 59%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,62 (hexane/AcOEt : 8/2)

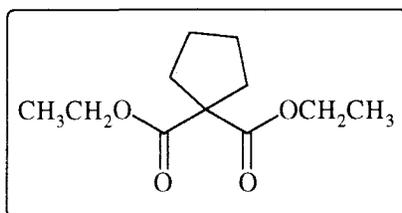
E : 66°C (0,42 mbar)

IR : 2900, 2820 : CH
1700 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,90 (t, 3H, ³J = 7,25 Hz, CH₃CH₂CH₂) ; **1,21** (t, 6H, ³J = 7,11 Hz, CH₃CH₂O) ; **1,20 - 1,30** (massif, 4H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,40** (s, 3H, CCH₃) ; **1,82** (m, 2H, CCH₂) ; **4,20** (q, 4H, ³J = 7,11 Hz, CH₃CH₂O).

2,2-Tétraméthylènemalonate d'éthyle (37)



C₁₁H₁₈O₄

214,26 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
1,4-dibromobutane	24,9 ml	208	1,05	216,28 g.mol ⁻¹
malonate d'éthyle	30,1 ml	198	2	22,98 g.mol ⁻¹
sodium	9,6 g	0,416 atg	2	141,94 g.mol ⁻¹ d = 2,28

MODE OPÉRATOIRE

Le sodium est préalablement dissous par portions dans 100 ml d'éthanol absolu. Le malonate d'éthyle est alors additionné puis le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 1 heure à 60 - 65°C. Le 1,4-dibromobutane est ensuite ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 3 heures à 60 - 65°C. Après refroidissement du milieu, le bromure de sodium est essoré et le filtrat évaporé sous vide. L'huile obtenue est dissoute dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel puis évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est ensuite distillée sur colonne.

rendement : 42%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,57 (hexane/AcOEt : 9/1)

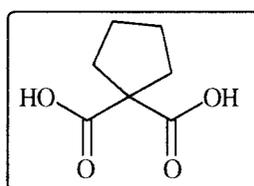
E : 110°C (3 mmHg)

IR : 3000, 2850 : CH
1715 : C=O

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

1,20 (t, 6H, ³J = 8,80 Hz, CH₃CH₂O) ; **1,65** (m, 4H, H_{tétraméthylène}) ; **2,15** (m, 4H, H_{tétraméthylène}) ; **4,15** (q, 4H, ³J = 8,80 Hz, CH₃CH₂O).

Acide 2,2-tétraméthylènemalonique (43)



C₇H₁₀O₄

158,15 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
37	2 g	9,34	1	214,26 g.mol ⁻¹
hydroxyde de sodium	2,2 g	56	6	39,99 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Le diester **37** est mis en suspension dans 20 ml d'eau. L'hydroxyde de sodium est ensuite ajouté par portions au milieu réactionnel qui est homogénéisé par addition de 15 ml de méthanol. Le mélange est agité à température ambiante pendant 6 heures. Le méthanol est évaporé sous vide et la phase aqueuse alcaline est lavée par deux fois 50 ml d'acétate d'éthyle, acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique puis extraite par deux fois 100 ml d'éther. La phase organique obtenue est lavée à l'eau puis séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel puis évaporation du solvant sous vide, on obtient une poudre blanche qui est utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

rendement : 47%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

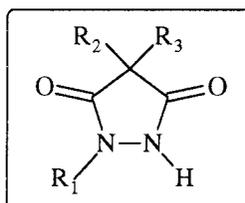
Rf : 0,32 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

IR : 3300 - 2500 : OH
1690 : C=O

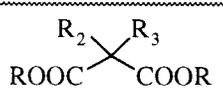
RMN (80 MHz, CDCl₃) :

1,50 (m, 4H, H_{tétraméthylène}) ; 2,00 (m, 4H, H_{tétraméthylène}) ; 12,50 (s, 2H, échangeables dans D₂O, OH).

II.1.1.1.2. Cyclisation



MÉTHODE A

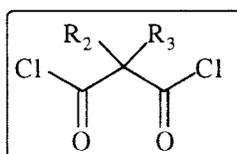
réactifs	équivalent
R ₁ NHNH ₂ , x HCl	1
	1,2
sodium	2,1 + x

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Le sodium est préalablement introduit par portions dans un ballon contenant de l'éthanol. L'hydrazine monosubstituée est ajoutée au milieu réactionnel qui est ensuite laissé sous agitation à température ambiante pendant 1 heure. L'éthanol est évaporé sous vide. Le solide obtenu est mis en suspension dans une solution aqueuse acide qui est extraite ensuite par l'éther. La phase organique est lavée à l'eau, le solvant est évaporé sous vide sans séchage préalable. L'huile obtenue est dissoute dans une solution aqueuse de carbonate de potassium. La phase aqueuse est lavée par l'éther puis acidifiée par une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 6N. Le solide obtenu est essoré puis lavé deux fois à l'éther. Il est recristallisé dans le solvant approprié.

MÉTHODE B

Etape 1 : formation du chlorure de malonyle approprié



réactifs	équivalent
diacide	1
chlorure de thionyle	4

MODE OPÉRATOIRE

Le chlorure de thionyle est ajouté goutte à goutte à une solution froide (0°C) du diacide dans le dichlorométhane. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 6 heures à reflux. Le dichlorométhane et l'excès de chlorure de thionyle sont ensuite évaporés sous vide. L'huile obtenue est utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

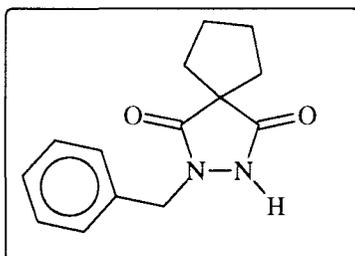
Etape 2 : cyclisation du chlorure d'acide avec l'hydrazine monosubstituée

réactifs	équivalent
R ₁ NHNH ₂ , x HCl	1
chlorure d'acide	1
triéthylamine	2,1 + x

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

La triéthylamine est ajoutée goutte à goutte à une suspension de l'hydrazine monosubstituée dans le dichlorométhane anhydre. Le mélange réactionnel est refroidi à 0°C puis le chlorure d'acide préalablement dissous dans le dichlorométhane y est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation 1 heure à température ambiante puis 15 heures à reflux. Le solvant est alors éliminé sous vide. Le mélange obtenu est dissous dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée par une solution aqueuse 0,5 N d'acide chlorhydrique puis extraite par une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium. La phase aqueuse alcaline est lavée par l'acétate d'éthyle, acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique, puis extraite par l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel puis évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est ensuite dispersée dans le solvant approprié. Le solide récolté est alors recristallisé.

2-Benzyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (31)



C₁₄H₁₆N₂O₂

244,29 g.mol⁻¹

rendement : 63%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

R_f : 0,54 (AcOEt)

F : 95 °C (cyclohexane)

IR : 3100 : NH
2940, 2910, 2820 : CH
1715, 1640 : C=O

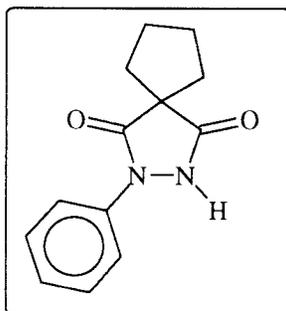
RMN (80 MHz, DMSO-d₆) :

1,70 - 2,10 (massif, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **4,70** (s, 2H, NCH₂) ; **7,10** (m, 5H, H_{aromatique}).

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	67,59	67,95
% H	6,68	6,63
% N	11,26	11,58

2-Phényl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (32)



C₁₃H₁₄N₂O₂

230,26 g.mol⁻¹

rendement : 52%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

R_f : 0,70 (AcOEt)

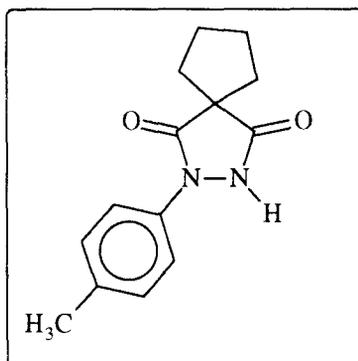
F : 178 - 180 °C (alcool à 95°)

IR : 3170 - 3060 : NH
2940, 2850 : CH
1740, 1620 : C=O

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

1,75 - 2,25 (massif, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **7,10 - 7,70** (m, 5H, H_{aromatique}).

2-(p-Tolyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (33)



$C_{14}H_{16}N_2O_2$

244,29 g.mol⁻¹

rendement : 48%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,71 (AcOEt)

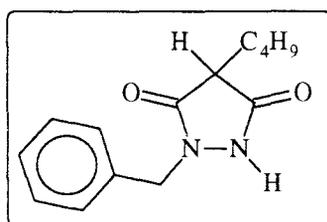
F : 152,4 °C (alcool à 95°)

IR : 3150 : NH
2950, 2840 : CH
1720, 1680 : C=O

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

1,75 - 2,15 (massif, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **2,30** (s, 3H, CH₃) ; **6,25** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH) ; **7,20** (d, 2H, J_o = 8,27 Hz, H₃, H₅) ; **7,50** (d, 2H, J_o = 8,27 Hz, H₂, H₆).

1-Benzyl-4-butylpyrazolidin-3,5-dione (34)



$C_{14}H_{18}N_2O_2$

246,30 g.mol⁻¹

rendement : 33%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,48 (AcOEt)

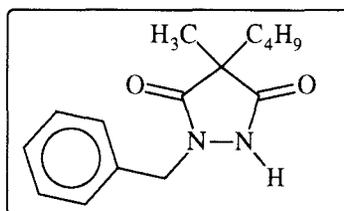
F : 104 °C (toluène)

IR : 3120 : NH
2940, 2900, 2840 : CH
1700, 1650 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,80 (t, 3H, CH₃) ; **1,20** (m, 4H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,80** (m, 2H, CCH₂) ; **2,90** (t, 1H, CH) ; **4,60** (dd, 2H, ²J = 15,18 Hz, NCH₂) ; **7,20** (m, 5H, H_{aromatique}) ; **9,20** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

1-Benzyl-4-butyl-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (35)



C₁₅H₂₀N₂O₂

260,33 g.mol⁻¹

rendement : 35%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,58 (AcOEt)

F : 134,6 - 136,8 °C (acétonitrile)

IR : 3100 : NH
2960, 2930 : CH
1740, 1600 : C=O

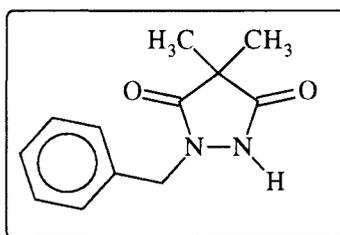
RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,85 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **1,05 - 1,18** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,20 - 1,30** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,30** (s, 3H, CCH₃) ; **1,62 - 1,70** (m, 2H, CCH₂) ; **4,70** (s, 2H, NCH₂) ; **7,30** (m, 5H, H_{aromatique}) .

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	69,20	69,31
% H	7,74	7,88
% N	10,76	10,78

1-Benzyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (36)



$C_{12}H_{14}N_2O_2$

218,25 g.mol⁻¹

rendement : 61%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,42 (AcOEt)

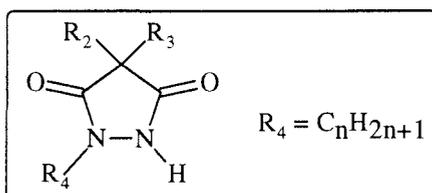
F : 153,9 °C (alcool à 95°)

IR : 3090 : NH
2990, 2950, 2870 : CH
1740, 1655 : C=O

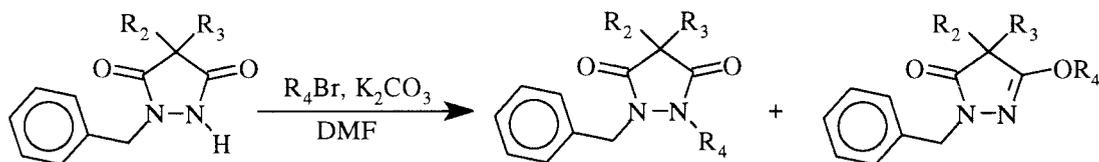
RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,28 (s, 6H, CH₃) ; 4,71 (s, 2H, CH₂) ; 7,30 (m, 5H, H_{aromatique}).

II.1.1.2. Pyrazolidine-3,5-diones substituées par des groupements aliphatiques



Etape 1 : alkylation des N-benzylpyrazolidine-3,5-diones

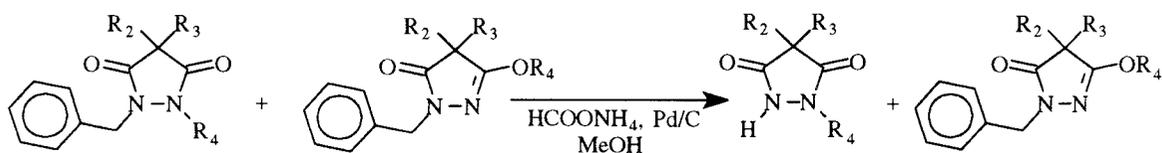


réactifs	équivalent
	1
R ₄ Br	1,2
carbonate de potassium	3

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Le carbonate de potassium est ajouté par portions à une solution de la N-benzylpyrazolidine-3,5-dione appropriée dans le diméthylformamide. Le mélange est laissé sous agitation pendant 1 heure à température ambiante ; le dérivé bromé choisi est alors ajouté goutte à goutte au milieu réactionnel. L'agitation est poursuivie pendant 20 heures à température ambiante puis le mélange est versé dans l'eau. La phase aqueuse alcaline est extraite par l'acétate d'éthyle. Après séchage de la phase organique sur du sulfate de magnésium, filtration du sel et évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

Etape 2 : débenzylation



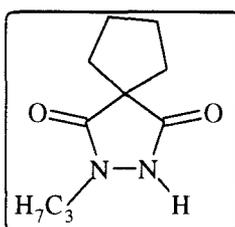
MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

réactifs	équivalent
 + formiate d'ammonium	1 5
charbon palladié	10

Le palladium sur charbon et le formiate d'ammonium sont ajoutés successivement à une solution du mélange des isomères O- et N-alkylés dans le méthanol. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à 60°C pendant 1 heure. Le charbon palladié est alors essoré puis lavé avec une solution chaude d'alcool à 95°. Le filtrat est évaporé sous vide. L'huile obtenue est solubilisée dans une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium. La phase aqueuse est lavée deux fois à l'éther, acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique puis extraite par l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est ensuite purifiée.

Remarque : l'isomère O-alkylé ne subit pas la débenzylation ; il est récupéré dans la phase étherée.

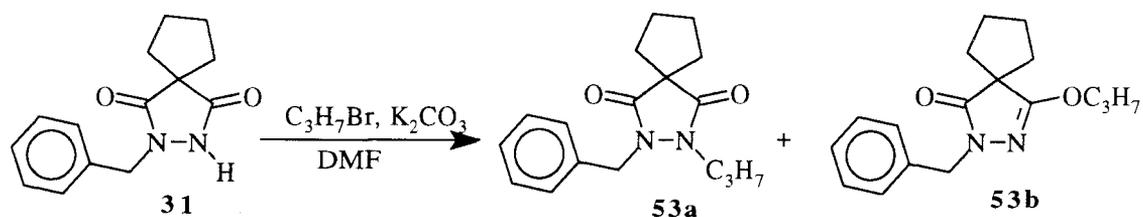
2-Propyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (45)



C₁₀H₁₆N₂O₂

196,24 g.mol⁻¹

Etape 1 :



CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 53a : 0,57 (hexane/AcOEt : 6/4)
53b : 0,75 (hexane/AcOEt : 6/4)

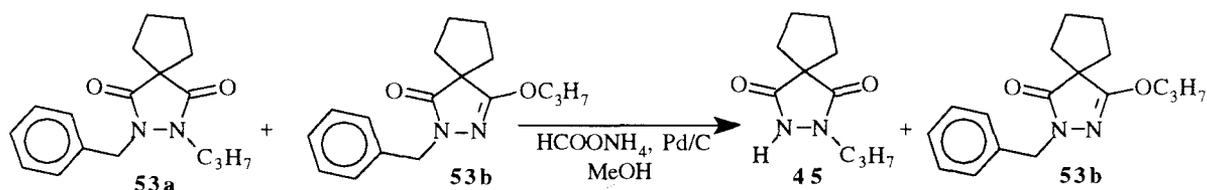
IR : 1730, 1680 : C=O
1600 : C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

remarque : signaux caractéristiques permettant de déterminer les pourcentages relatifs (50/50) des deux isomères

4,01 (t, 2H, OCH₂) ; 3,45 (t, 2H, NCH₂).

Etape 2 :



CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES (45)

Rf : 0,32 (AcOEt)

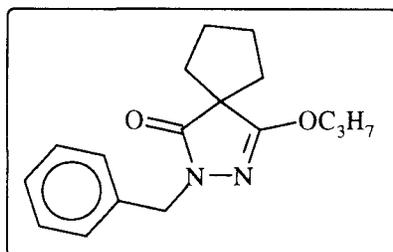
F : 86,7 °C

IR : 3100 : NH
2980, 2960, 2860 : CH
1740, 1660 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,93 (t, 3H, ³J = 7,53 Hz, CH₃) ; 1,67 (m, 2H, CH₃CH₂) ; 1,91 (m, 2H, H_ttétraméthylène) ; 2,03 (m, 6H, H_ttétraméthylène) ; 3,56 (t, 2H, ³J = 7,23 Hz, NCH₂).

2-Benzyl-4-propyloxy-2,3-diazaspiro[4.4]non-3-én-1-one (53b)



C₁₇H₂₂N₂O₂

286,37 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,75 (hexane/AcOEt : 6/4)

IR : 2960, 2870 : CH

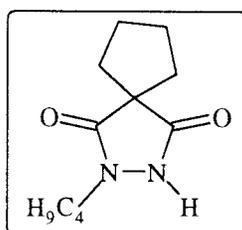
1700 : C=O

1600 : C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,02 (t, 3H, CH₃) ; 1,78 (m, 2H, CH₃CH₂) ; 1,91 (m, 8H, H_ttétraméthylène) ; 4,02 (t, 2H, NCH₂) ; 4,72 (s, 2H, OCH₂) ; 7,40 (m, 5H, H_{aromatique}).

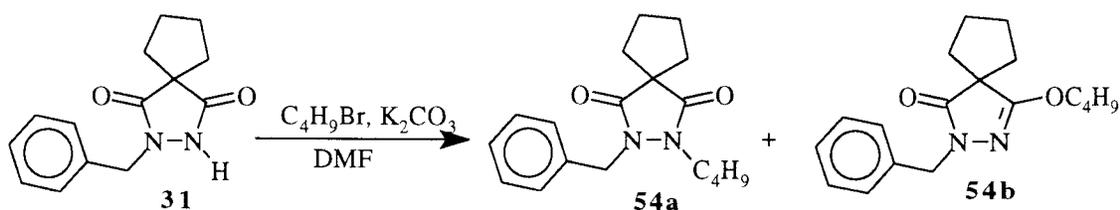
2-Butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (46)



C₁₁H₁₈N₂O₂

210,27 g.mol⁻¹

Etape 1 :



CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : **54a** : 0,61 (hexane/AcOEt : 6/4)
54b : 0,71 (hexane/AcOEt : 6/4)

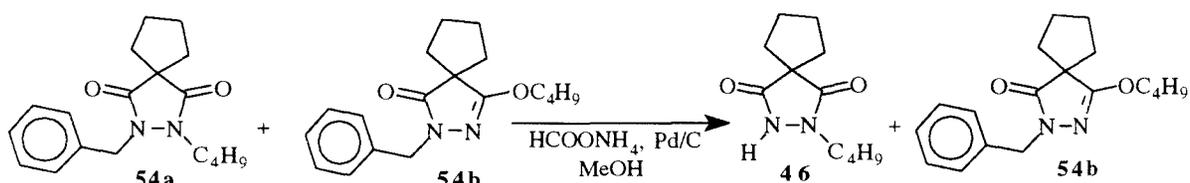
IR : 1710, 1670 : C=O
1580 : C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

remarque : signaux caractéristiques permettant de déterminer les pourcentages relatifs (50/50) des deux isomères.

4,10 (t, 2H, OCH₂) ; **3,50** (t, 2H, NCH₂).

Etape 2 :



CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES (46)

Rf : 0,51 (AcOEt)

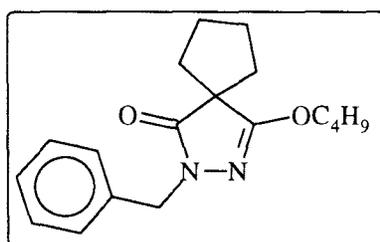
F : 90 °C

IR : 3100 : NH
2960, 2930, 2840 : CH
1720, 1650 : C=O

RMN (¹H, 80 MHz, CDCl₃) :

0,90 (t, 3H, CH₃) ; **1,00 - 1,80** (m, 4H, CH₃CH₂CH₂) ; **2,00** (m, 8H, H_{tétraméthylène}) ;
3,55 (t, 2H, NCH₂).

2-Benzyl-4-butyloxy-2,3-diazaspiro[4.4]non-3-én-1-one (54b)



$C_{18}H_{24}N_2O_2$

$300,39 \text{ g.mol}^{-1}$

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

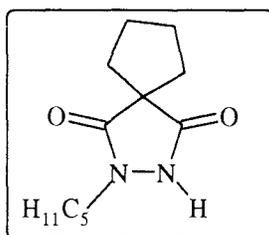
Rf : 0,71 (hexane/AcOEt : 6/4)

IR : 2950, 2860 : CH
1700 : C=O
1600 : C=N

RMN (80 MHz, $CDCl_3$) :

0,90 (t, 3H, CH_3) ; **1,20 - 1,70** (m, 4H, $CH_2CH_2CH_2$) ; **2,00** (m, 8H, $H_{\text{tétraméthylène}}$) ;
4,10 (t, 2H, NCH_2) ; **4,75** (s, 2H, OCH_2) ; **7,30** (m, 5H, $H_{\text{aromatique}}$).

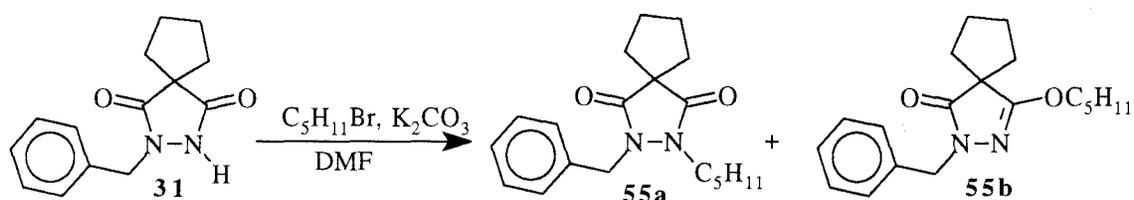
2-Pentyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (47)



$C_{12}H_{20}N_2O_2$

$224,30 \text{ g.mol}^{-1}$

Etape 1 :



CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : **55a** : 0,71 (hexane/AcOEt : 6/4)
55b : 0,79 (hexane/AcOEt : 6/4)

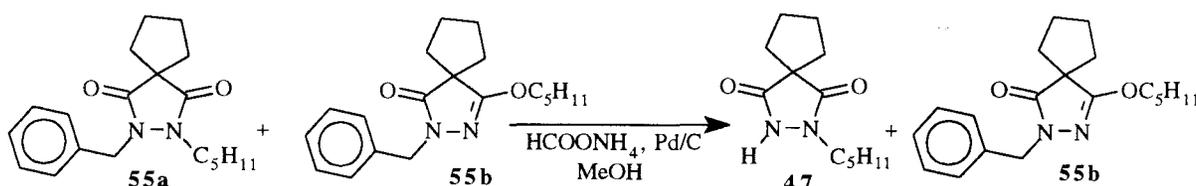
IR : 1720, 1685 : C=O
1600 : C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

remarque : signaux caractéristiques permettant de déterminer les pourcentages relatifs (50/50) des deux isomères

4,09 (t, 2H, OCH₂) ; **3,51** (t, 2H, NCH₂).

Etape 2 :



CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES (47)

Rf : 0,63 (AcOEt)

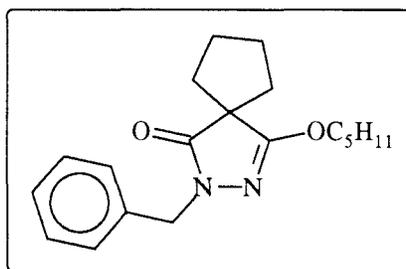
F : 76,1 °C

IR : 3100 : NH
2950, 2900, 2850 : CH
1735, 1660 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,93 (t, 3H, CH₃) ; **1,30** (m, 4H, CH₂CH₂) ; **1,62** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,88** (m, 2H, H_{tétraméthylène}) ; **1,97** (m, 6H, H_{tétraméthylène}) ; **3,58** (t, 2H, NCH₂) ; **10,13** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

2-Benzyl-4-pentyloxy-2,3-diazaspiro[4.4]non-3-én-1-one (55b)



C₁₉H₂₆N₂O₂

314,42 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

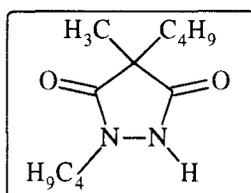
Rf : 0,79 (hexane/AcOEt : 6/4)

IR : 2945, 2860: CH
1700 : C=O
1600: C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,90 (t, 3H, CH₃) ; **1,30** (m, 4H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,65** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂) ; **1,95** (m, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **4,10** (t, 2H, NCH₂) ; **4,75** (s, 2H, OCH₂) ; **7,20** (m, 5H, H_{aromatique}).

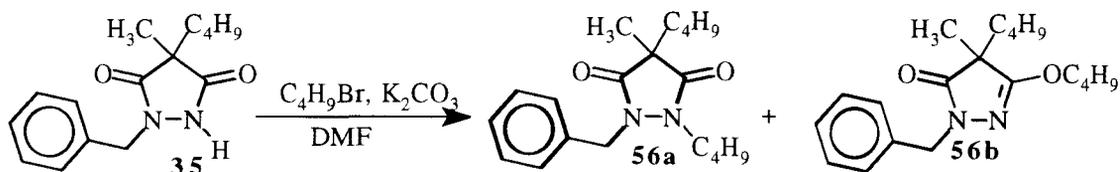
1,4-Dibutyl-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (48)



C₁₂H₂₂N₂O₂

226,31 g.mol⁻¹

Etape 1 :



CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : **56a** : 0,67 (hexane/AcOEt : 6/4)
56b : 0,78 (hexane/AcOEt : 6/4)

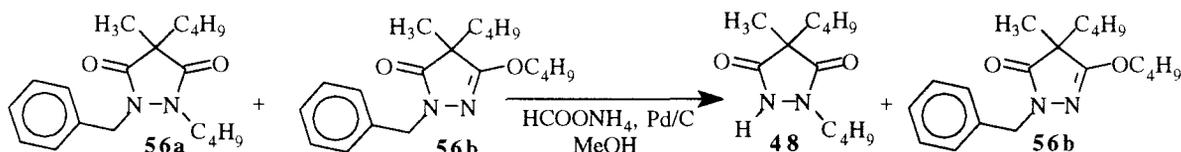
IR : 1730, 1700 : C=O
1600 : C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

remarque : signaux caractéristiques permettant de déterminer les pourcentages relatifs (50/50) des deux isomères

4,1 (t, 2H, OCH₂) ; **3,5** (t, 2H, NCH₂).

Etape 2 :



CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES (48)

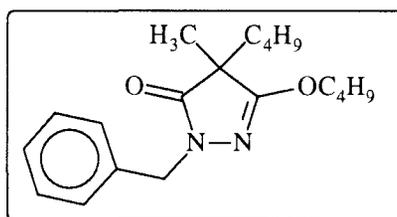
Rf : 0,26 (hexane/AcOEt : 6/4)

IR : 3100 : NH
2960, 2930 : CH
1740, 1670 : C=O

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

0,80 (t, 3H, ³J = 7,21 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂C) ; **0,80** (t, 3H, ³J = 7,36 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂N) ; **1,10 - 1,31** (m, 8H, CH₃CH₂CH₂CH₂C, CH₃CH₂CH₂CH₂N) ; **1,20** (m, 3H, CCH₃) ; **1,50 - 1,70** (m, 2H, CCH₂) ; **3,60** (t, 2H, ³J = 7,17 Hz, NCH₂).

1-Benzyl-4-butyl-3-butyl-3-butyl-4-méthylpyrazolin-5-one (56b)



C ₁₉ H ₂₈ N ₂ O ₂	316,44 g.mol ⁻¹
---	----------------------------

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

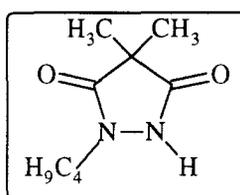
Rf : 0,78 (hexane/AcOEt : 6/4)

IR : 2960, 2940, 2880 : CH
1710 : C=O
1610 : C=N

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

0,79 (massif, 6H, CH₃(CH₂)₂CH₂C, CH₃(CH₂)₂CH₂N) ; **0,84 - 1,00** (massif 8H, CH₃CH₂CH₂CH₂C, CH₃CH₂CH₂CH₂O) ; **1,25** (s, 3H, CCH₃) ; **1,59** (m, 2H, CCH₂) ; **4,12** (t, 2H, NCH₂) ; **4,75** (s, 2H, OCH₂) ; **7,31** (m, 5H, H_{aromatique}).

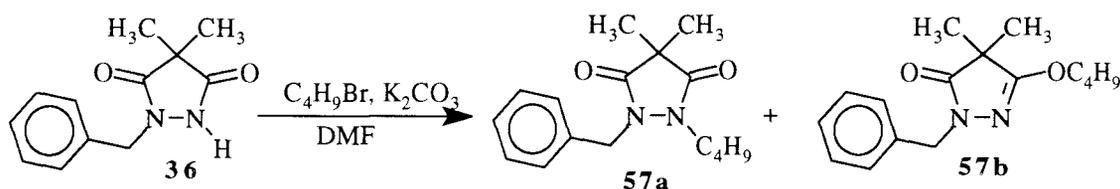
1-Butyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (49)



C₉H₁₆N₂O₂

184,23 g.mol⁻¹

Etape 1 :



1-Benzyl-2-butyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (57a)

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,46 (hexane/AcOet : 6/4)

F : 70,8 °C

IR : 2960, 2920, 2860 : CH
1730, 1680 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,90 (t, 3H, CH₃CH₂) ; 1,25 (m, 2H, CH₃CH₂) ; 1,32 (s, 6H, CH₂C) ; 1,47 (m, 2H, NCH₂CH₂) ; 3,51 (t, 2H, NCH₂CH₂) ; 4,80 (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; 7,21 (m, 3H, H_{aromatique}) ; 7,36 (m, 2H, H_{aromatique}).

2-Benzyl-5-butyloxy-4,4-diméthylpyrazolin-3-one (57b)

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

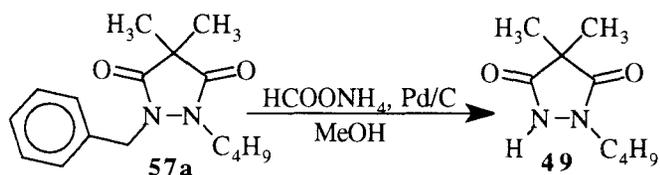
Rf : 0,52 (hexane/AcOEt : 6/4)

IR : 2960, 2920, 2860 : CH
1700 : C=O
1600 : C=N

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

0,90 (t, 3H, CH₃CH₂) ; 1,30 (m, 8H, C(CH₃)₂, CH₃CH₂) ; 1,67 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; 4,10 (t, 2H, NCH₂) ; 4,75 (s, 2H, OCH₂) ; 7,30 (m, 5H, H_{aromatique}).

Etape 2 :



rendement : 94%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES (49)

Rf : 0,36 (hexane/AcOEt : 6/4)

F : 62°C

IR : 3140 : NH
2960, 2920, 2860 : CH
1740, 1660 : C=O

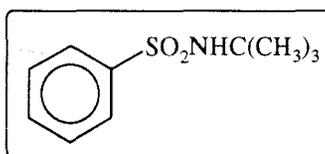
RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,97 (t, 3H, ³J = 7,29 Hz, CH₃CH₂) ; **1,36** (m, 8H, C(CH₃)₂, CH₃CH₂) ; **1,68** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **3,65** (t, 2H, ³J = 6,84 Hz, NCH₂).

II.1.2. Obtention des synthons B

II.1.2.1. Préparation du N-(tertiobutyl)-4'-bromométhylbiphényl-2-sulfonamide (65)

N-tertiobutylbenzenesulfonamide (80)



C₁₀H₁₄NO₂S

212,29 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
chlorure de 2-bromobenzène sulfonyle	6,38 ml	50	1	176,62 g.mol ⁻¹ d = 1,384
tertiobutylamine	12,0 ml	110	2,2	76,14 g.mol ⁻¹ d = 0,696

MODE OPÉRATOIRE

La tertibutylamine est ajoutée goutte à goutte à une solution froide (0°C) du chlorure de benzènesulfonyle dans 50 ml de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 5 heures à température ambiante. Le solvant est évaporé sous vide et l'huile obtenue est dissoute dans 200 ml d'éther. La phase organique est lavée successivement à l'eau, avec une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium, à l'eau et séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation du solvant, on obtient un solide blanc qui est utilisé tel quel pour l'étape suivante

rendement : 87%

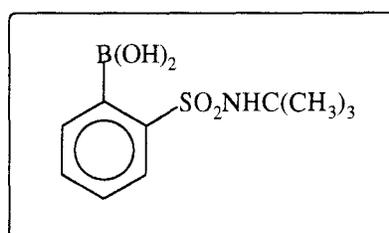
CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,43 (hexane/AcOEt : 8/2)

F : 76 - 77 °C

IR : 3240 : NH
1150, 1300 : SO₂

Acide[2-(N-tertiobutylsulfamoyl)phényl]boronique (78)



C ₁₀ H ₁₆ BNO ₄	257,11 g.mol ⁻¹
--	----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
80	6 g	27,36	1	219,29 g.mol ⁻¹
n-butyllithium	27,36 ml	68,40	2,5	solution hexanique à 2,5M
borate de triisopropyle	9,47 ml	41,04	1,5	188,07 g.mol ⁻¹ d = 0,815

MODE OPÉRATOIRE

Le composé **80** est dissous dans 50 ml de tétrahydrofurane puis la solution est refroidie jusqu'à -40°C. Le butyllithium est alors additionné goutte à goutte puis le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 2 heures à température ambiante. Le mélange est refroidi à 0°C et le borate de triisopropyle est ajouté goutte à goutte. L'agitation est poursuivie pendant 1 nuit à température ambiante puis 8 ml d'une solution aqueuse 2N d'acide chlorhydrique sont additionnés au milieu. Après 1 heure d'agitation à température ambiante, le solvant est éliminé

sous vide. Le résidu est repris par 200 ml d'eau alcalinisée avec une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium. La phase aqueuse est lavée à l'acétate d'éthyle, acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique puis extraite à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur sulfate de magnésium. Le sel est filtré et le solvant évaporé sous vide. Après agitation vigoureuse en présence d'un mélange éther/éther de pétrole 20/80, on obtient un précipité qui est essoré puis recristallisé.

rendement : 47%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,76 (hexane/AcOEt : 5/5)

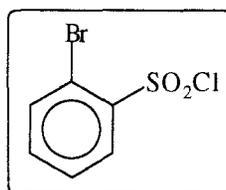
F : 135 °C(toluène)

IR : 3350 : OH
3240 : NH

RMN (¹H, 300 MHz, CDCl₃) :

1,20 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; **5,40** (s, 1H, NH) ; **6,48** (signal, 2H échangeables partiellement dans D₂O, OH) ; **7,50** (m, 2H, H₃, H₄) ; **7,80** (d, 1H, H₂/H₅) ; **7,98** (d, 1H, H₅/H₂) .

Chlorure de 2-bromobenzenesulfonyle (81)



C ₆ H ₄ BrClO ₂ S	255,49 g.mol ⁻¹
--	----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
2-bromoaniline	17,17 g	99,8	1	172,03 g.mol ⁻¹
nitrite de sodium	7,46 g	108,13	1,08	69 g.mol ⁻¹
dioxyde de soufre gaz				

MODE OPÉRATOIRE

1. préparation du sel de diazonium

La 2-bromoaniline est ajoutée à un mélange de 330 ml d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 12 N et de 11 ml d'acide acétique glacial. Le sel sous forme chlorhydrate précipite dans le milieu. Le mélange est placé dans un bain froid (glace et éthanol) et lorsque la température atteint -10°C, une solution de nitrite de sodium dans 10 ml d'eau est ajoutée goutte

à goutte à une vitesse telle que la température n'excède pas -5°C . Le mélange est ensuite mis sous agitation pendant 45 minutes la température étant maintenue entre -10°C et -5°C .

2. préparation de la solution saturée en dioxyde de soufre

Le dioxyde de soufre est introduit dans une solution de 100 ml d'acide acétique glacial. On ajoute le chlorure de cuivre puis l'introduction de dioxyde de soufre est poursuivie jusqu'à ce que la suspension jaune - vert prenne une coloration bleu - vert. Le mélange est alors placé dans un bain froid et refroidi sous agitation jusqu'à ce que la température atteigne 10°C .

3. formation du chlorure de 2-bromobenzènesulfonyle

Le mélange réactionnel contenant le sel de diazonium est ajouté par portions pendant une période de 50 minutes à la solution saturée en dioxyde de soufre. Au cours de l'addition, la température ne doit pas dépasser 20°C . Une fois que tout le sel de diazonium a été ajouté, le mélange est agité sans refroidissement pendant 1 heure. Il est ensuite versé dans de l'eau glacée. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau et séché. Il est utilisé tel quel pour l'étape suivante.

rendement : 70%

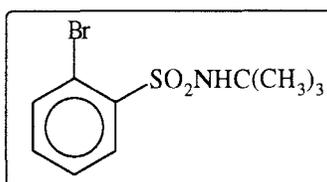
CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,52 (hexane/AcOEt : 9/1)

F : 51°C

IR : 1170, 1360 : SO_2

2-Bromobenzène(tert-butyl)sulfonamide (79)



$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{BrNO}_2\text{S}$

$292,19 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
81	2 g	7,82	1	$255,49 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
tertibutylamine	2,46 ml	23,5	3	$73,14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $d = 0,696$

MODE OPÉRATOIRE

La tertiobutylamine est ajoutée goutte à goutte à une solution froide (0°C) du composé **81** dans 100 ml de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 5 heures à température ambiante. Le solvant est évaporé sous vide et l'huile obtenue est dissoute dans 200 ml d'éther. La phase organique est lavée successivement à l'eau, avec une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium, à l'eau et séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation du solvant, on obtient un solide blanc utilisé tel quel pour l'étape suivante

rendement : 77%

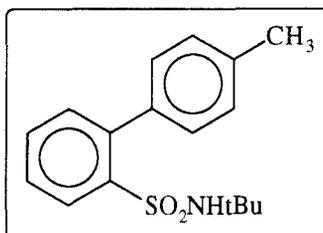
CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,45 (hexane/AcOet : 8/2)

F : 166,5 °C

IR : 3260 : NH
1140, 1305 : SO₂

N-(tertiobutyl)-4'-méthyl-(1,1'-biphényl)-2-sulfonamide (77)



C₁₇H₂₁NO₂S

303,42 g.mol⁻¹

METHODE A

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
78	1,38 g	5,39	1,66	257,11 g.mol ⁻¹
bromotoluène	0,55 g	3,24	1	171,04 g.mol ⁻¹
hydroxyde de sodium	0,41 g	10,39	3,2	40 g.mol ⁻¹
tétrakis(triphényl phosphine) palladium (0)	0,094 g	0,081	0,025	1155,58 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Dans une solution de bromotoluène dans 20 ml de toluène sont ajoutés successivement une solution du composé **78** dans 13 ml d'éthanol, 8 ml d'une solution aqueuse 1,25 N d'hydroxyde de sodium et le complexe de palladium. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 5 heures à 90 °C. Les insolubles sont éliminés par filtration. Le filtrat est évaporé sous vide puis repris par 150 ml d'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau, avec une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium, à l'eau puis elle est séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel, la solution est concentrée sous vide. Le précipité formé est essoré et lavé à l'acétate d'éthyle.

rendement : 32%

METHODE B

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
79	4,16 g	14,25	1	292,19 g.mol ⁻¹
acide 4-tolylboronique	2,5 g	18,38	1,3	135,96 g.mol ⁻¹
triphénylphosphine	0,106 g	0,404	0,028	262,29 g.mol ⁻¹
carbonate de sodium	3,32 g	31,33	2,2	105,99 g.mol ⁻¹
diacétate de palladium (II)	0,045g	0,199	0,014	224,49 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Dans une solution de 80 ml de toluène préalablement saturé en azote sont ajoutés successivement, le composé **79**, une solution aqueuse 2N de carbonate de sodium, la triphénylphosphine, le diacétate de palladium, l'acide 4-tolylboronique puis 40 ml d'alcool à 95°. Le mélange réactionnel est chauffé pendant 3 heures à 65°C. Les insolubles sont éliminés par filtration. Le filtrat est évaporé sous vide puis repris par 200 ml d'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau, avec une solution saturée en chlorure de sodium, à l'eau puis elle est séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du sel, le solvant est évaporé sous vide. Après agitation vigoureuse en présence d'éther, on obtient un précipité qui est essoré, lavé à l'éther puis recristallisé.

rendement : 76%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

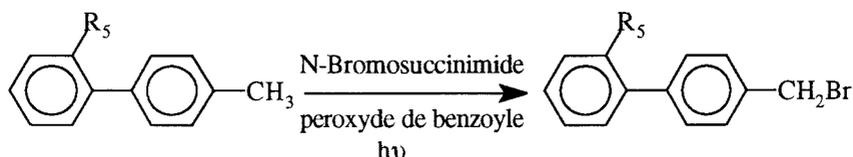
Rf : 0,59 (hexane/AcOEt : 8/2)

F : 165 °C (alcool à 95°)

IR : 3280 : NH
1140, 1300 : SO₂

RMN (¹H, 300 MHz, DMSO-d₆) :

1,00 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; **2,40** (s, 3H, CH₃) ; **6,50** (s, 1H, NH) ; **7,25** (m, 5H, H_{2'}, H_{3'}, H_{5'}, H_{6'}, H₆) ; **7,60** (m, 2H, H₄, H₅) ; **8,05** (d, 1H, H₃) .

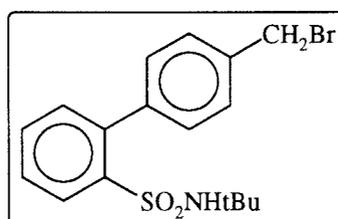


réactifs	équivalent
	1
N-bromosuccinimide	1,2
peroxyde de benzoyle	0,08

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Le N-bromosuccinimide, le peroxyde de benzoyle et le dérivé 4'-méthyl-2-yl-biphényle approprié sont mis en présence dans le tétrachlorure de carbone. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 3 heures en positionnant à proximité de la surface du ballon une lampe halogène (puissance : 500W). Après refroidissement, le succinimide formé est éliminé par filtration. Le solvant est évaporé sous vide. L'huile obtenu fournit est ensuite mis sous agitation dans un solvant donné. Le précipité formé est essoré et utilisé tel quel par la suite.

N-(tertiobutyl)-4'-bromométhyl-(1,1'-biphényl)-2-sulfonamide (65)



C ₁₇ H ₂₁ BrNO ₂ S	382,32 g.mol ⁻¹
---	----------------------------

rendement : 85%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,37 (hexane/AcOEt : 8/2)

F : 139,6 °C (toluène)

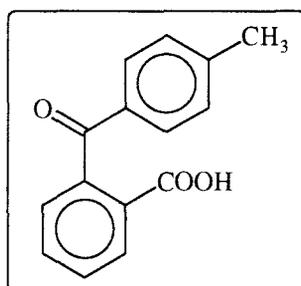
IR : 3220 : NH
1130, 1290 : SO₂

RMN (¹H, 300 MHz, CDCl₃) :

1,00 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; **4,51** (s, 2H, CH₂) ; **6,71** (s, 1H, NH) ; **7,55** (m, 6H, H₂, H₃, H₅, H₆, H₄, H₅) ; **7,35** (d, 1H, H₆) ; **8,20** (d, 1H, H₃) .

II.1.2.2. Obtention de la bromométhylbenzophénone (66)

Acide 2-(4-méthylbenzoyl)benzoïque (82)



C₁₅H₁₂O₃

240,25 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mol	équivalent	caractéristiques
anhydride phtalique	15 g	0,10	1	148,12 g.mol ⁻¹
toluène	55 ml	0,52	5	92,14 g.mol ⁻¹
AlCl ₃	40 g	0,30	3	133,34 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

L'anhydride phtalique réduit en poudre est ajouté à une suspension de chlorure d'aluminium dans le toluène. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation à 60°C pendant 30 minutes puis est versé sur de la glace. Il est acidifié par une solution aqueuse 12 N d'acide chlorhydrique. Le précipité formé est essoré puis solubilisé dans une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. La phase aqueuse est lavée à l'éther puis acidifiée avec une solution aqueuse 12N d'acide chlorhydrique. Le précipité formé est essoré puis recristallisé.

rendement : 79%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,33 (Acétone/Toluène/Cyclohexane : 5/3/2)

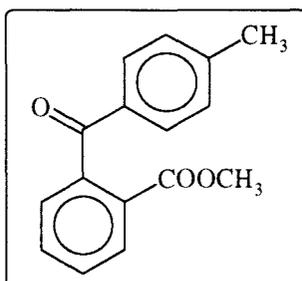
F : 136 - 138 °C (toluène)

IR : 2520 : OH
1680, 1640 : C=O

RMN (¹H, 300 MHz, DMSO-d₆) :

2,40 (s, 3H, CH₃) ; **7,30** (d, 2H, J_o = 7,98 Hz, H₂, H₆) ; **7,40** (d, 2H, J_o = 7,98 Hz, H₃, H₅) ; **7,55** (d, 1H, J_o = 6,80 Hz, H_{3'}) ; **7,70** (massif, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; **8,00** (d, 1H, J_o = 7,48 Hz, H_{4'}) ; **13,10** (s, 1H échangeable dans D₂O, COOH).

2-(4-méthylbenzoyl)benzoate de méthyle (83)



C₁₆H₁₄O₃

254,28 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mol	équivalent	caractéristiques
82	10 g	0,041	1	240,25 g.mol ⁻¹
chlorure de thionyle	15,18 ml	0,208	5	118,97 g.mol ⁻¹ d = 1,631

MODE OPÉRATOIRE

Le chlorure de thionyle est additionné goutte à goutte à une solution froide (0°C) du composé **82** dans 60 ml de méthanol. Le milieu réactionnel est ensuite laissé sous agitation 1 heure à température ambiante puis 1 heure à reflux. Le solvant est évaporé sous vide. L'huile obtenue est mise en suspension dans une solution aqueuse à 10% d'hydrogénocarbonate de sodium. La solution est extraite à l'éther. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant, on obtient une huile qui est ensuite solubilisée à chaud dans le cyclohexane. Le précipité formé est essoré puis lavé au cyclohexane.

rendement : 86%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,36 (hexane/AcOEt : 9/1)

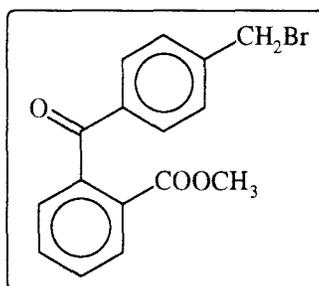
F : 60 - 61 °C (cyclohexane)

IR : 1705, 1650 : C=O

RMN (¹H, 300 MHz, DMSO-d₆) :

2,40 (s, 3H, CH₃) ; **3,60** (s, 3H, OCH₃) ; **7,35** (d, 2H, J_o = 8,00 Hz, H₂, H₆) ; **7,45** (dd, 1H, J_o = 7,54 Hz, J_m = 0,92 Hz, H_{6'}) ; **7,55** (d, 2H, J_o = 8,00 Hz, H₃, H₅) ; **7,75** (massif, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; **8,00** (dd, 1H, J_o = 7,34 Hz, J_m = 0,92 Hz, H_{3'}).

2-(4-Bromométhylbenzoyl)benzoate de méthyle (66)



$C_{16}H_{13}BrO_3$	$333,02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
---------------------	--

rendement : 56%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,39 (hexane/AcOEt : 8/2)

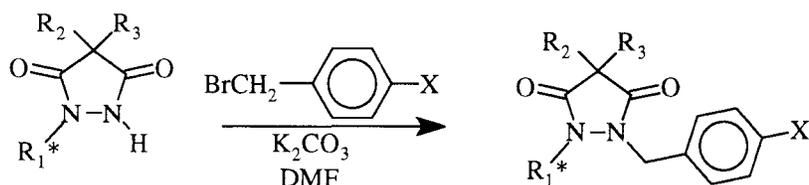
F : 87 - 89 °C (éthanol)

IR : 1700, 1650 : C=O

RMN (¹H, 300 MHz, DMSO-d₆) :

3,65 (s, 3H, OCH₃) ; **4,50** (s, 2H, CH₂) ; **7,40** (dd, 1H, J_o = 7,54 Hz, J_m = 1,28 Hz, H_{6'}) ; **7,55** (d, 2H, J_o = 8,30 Hz, H₂, H₆) ; **7,65** (massif, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; **7,75** (d, 2H, J_o = 8,00 Hz, H₃, H₅) ; **8,05** (dd, 1H, H_{3'}).

II.1.3. Obtention des synthons C

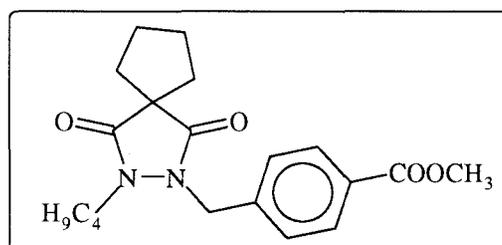


réactifs	équivalent
	1,5
BrCH ₂ C ₆ H ₄ X(p)	1
carbonate de potassium	3

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Le carbonate de potassium est ajouté par portions à une solution de la pyrazolidine-3,5-dione N-substituée appropriée dans le diméthylformamide. Le mélange est laissé sous agitation pendant 1 heure à température ambiante ; le dérivé bromé choisi est alors ajouté en 1 fois au milieu réactionnel. L'agitation est poursuivie pendant 20 heures à température ambiante puis le mélange est versé dans l'eau. La phase aqueuse alcaline est extraite par l'éther. Après séchage de la phase organique sur du sulfate de magnésium et filtration du sel, la solution est concentrée. Le précipité formé est essoré, lavé à l'éther puis recristallisé.

2-Butyl-3-(4-carbométhoxybenzyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (84a)



C ₂₀ H ₂₆ N ₂ O ₄	358,43 g.mol ⁻¹
---	----------------------------

rendement : 70%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,34 (hexane/AcOEt : 6/4)

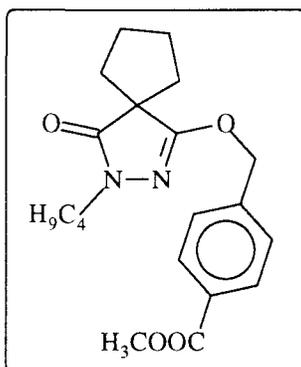
F : 108 °C (alcool à 95°)

IR : 2970, 2930, 2970 : CH
1735, 1710, 1690 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,80 (t, 3H, ³J = 7,26 Hz, CH₃CH₂) ; **1,12** (sext, 2H, ³J = 7,26 Hz, CH₃CH₂) ; **1,33** (quint, 2H, ³J = 7,26 Hz, CH₃CH₂CH₂) ; **1,75** (m, 8H, Htétraméthylène) ; **3,45** (t, 2H, ³J = 6,95 Hz, NCH₂CH₂) ; **3,82** (s, 3H, CH₃O) ; **4,90** (s, 2H, NCH₂) ; **7,40** (d, 2H, J_o = 7,98 Hz, H₂, H₆) ; **7,96** (d, 2H, J_o = 7,98 Hz, H₃, H₅).

3-Butyl-1-[4-(carbométhoxybenzyl)oxy]-2,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one (84b)



C₂₀H₂₆N₂O₄

358,43 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,46 (hexane/AcOEt : 6/4)

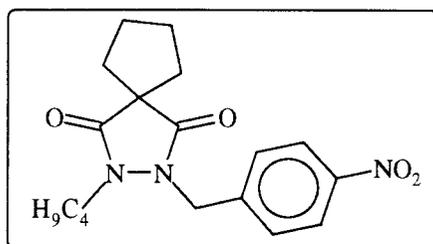
F : 59,1 - 62,7 °C (alcool à 95°)

IR : 2970, 2920, 2960 : CH
1600 : C=N
1715, 1695 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,86 (t, 3H, ³J = 7,35 Hz, CH₃CH₂) ; **1,19** (sext, 2H, ³J = 7,33 Hz, CH₃CH₂) ; **1,31** (quint, 2H, ³J = 7,26 Hz, CH₃CH₂CH₂) ; **1,75** (m, 8H, Htétraméthylène) ; **3,48** (t, 2H, ³J = 6,69 Hz, NCH₂CH₂) ; **3,85** (s, 3H, CH₃O) ; **5,28** (s, 2H, OCH₂) ; **7,55** (d, 2H, J_o = 8,13 Hz, H₂, H₆) ; **7,96** (d, 2H, J_o = 8,13 Hz, H₃, H₅).

2-Butyl-3-(4-nitrobenzyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (85a)



C₂₁H₂₃N₃O₄

345,41 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,19 (hexane/AcOEt : 7/3)

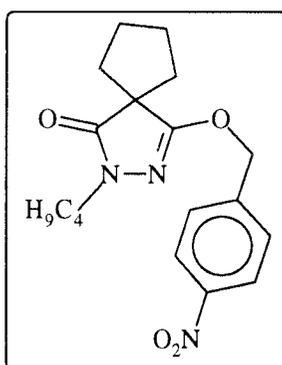
F : 95,2 °C (alcool à 95°)

IR : 2930, 2900, 2860 : CH
1500, 1330 : NO₂
1720, 1675 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,85 (t, 3H, ³J = 7,11 Hz, CH₃CH₂) ; **1,25** (sext, 2H, CH₃CH₂) ; **1,46** (quint, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,98** (m, 8H, Htétraméthylène) ; **3,51** (t, 2H, ³J = 7,44 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,87** (s, 2H, NCH₂C₆H₄NO₂(p)) ; **7,43** (d, 2H, J_o = 8,49 Hz, H₂, H₆) ; **8,22** (d, 2H, J_o = 8,49 Hz, H₃, H₅).

3-Butyl-1-(4-nitrobenzyl)-2,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one (85b)



C₂₁H₂₃N₃O₄

345,41 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,32 (hexane/AcOEt : 7/3)

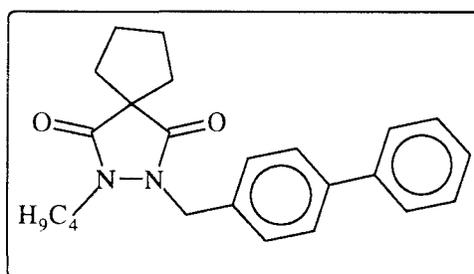
F : 48 °C (alcool à 95°)

IR : 2930, 2930, 2860 : CH
1515, 1345 : NO₂
1720 : C=O
1600 : C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,90 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **1,30** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,61** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; **2,00** (m, 8H, Htétraméthylène) ; **3,60** (t, 2H, ³J = 7,02 Hz, NCH₂CH₂) ; **5,30** (s, 2H, OCH₂C₆H₄NO₂(p)) ; **7,55** (d, 2H, J_o = 8,52 Hz, H₂, H₆) ; **8,25** (d, 2H, J_o = 8,49 Hz, H₃, H₅).

3-[[[(1,1'-Biphényl)-4-yl]méthyl]-2-butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione
(6)



C₂₄H₂₈N₂O₂

376,49 g.mol⁻¹

rendement : 60%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,62 (hexane/AcOEt : 6/4)

F : 104 - 107 °C (alcool à 95°)

IR : 2940, 2920, 2860 : CH
1730, 1680 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,90 (t, 3H, ³J = 7,17 Hz, CH₃) ; **1,15** (sext, 2H, ³J = 7,17 Hz, CH₃CH₂) ; **1,40** (quint, 2H, ³J = 7,15 Hz, NCH₂CH₂) ; **1,82** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, ³J = 7,15 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,80** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,30** (m, 3H, H_{aromatique}) ; **7,43** (m, 2H, H_{aromatique}) ; **7,67** (massif, 4H, H_{aromatique}).

HPLC :

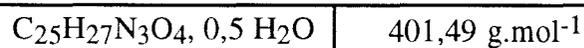
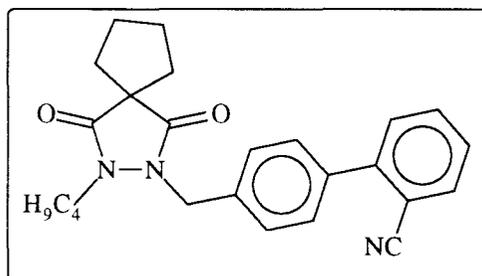
isocratique, colonne C8, 15% sol.A, 85% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	10,615	99,09%
254	10,613	99,82%
280	10,615	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	76,56	76,41
% H	7,49	7,66
% N	7,44	7,51

2-Butyl-3-[[2'-cyano-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (7)



rendement : 33%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,80 (AcOEt)

F : 120 °C (toluène/cyclohexane : 1/5)

IR : 2940, 2900 : CH
2210 : nitrile
1715, 1675 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,88 (t, 3H, ³J = 7,27 Hz, CH₃) ; **1,24** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,46** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,96 - 2,03** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,54** (t, 2H, ³J = 7,53 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,85** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,35** (s, 1H, H_{aromatique}) ; **7,38** (s, 1H, H_{aromatique}) ; **7,48** (m, 3H, H_{aromatique}) ; **7,51** (t, 1H, J₀ = 8,20 Hz, H_{5'}) ; **7,66** (t, 1H, J₀ = 8,20 Hz H_{4'}) ; **7,80** (d, 1H, J₀ = 8,20 Hz, H_{3'}) .

SM :

401 : M⁺
192 : M(+CH₂BPCN)
165 : M(+CH₂BPCN) - M(HCN)

HPLC :

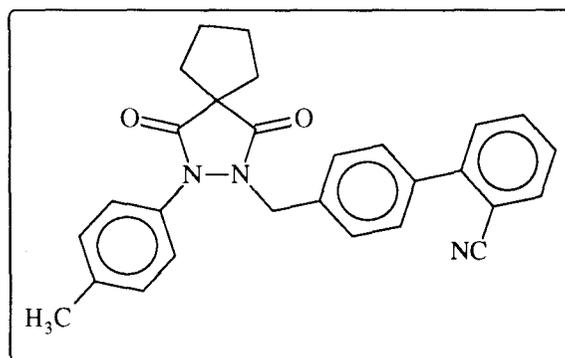
isocratique, colonne C8, 15% sol.A, 85% sol.B

λ (nm)	tr(min)	pureté
230	17,73	99,7%
254	18,19	100%
280	18,22	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	73,14	73,27
% H	6,87	6,93
% N	10,23	10,40

3-[[2'-Cyano-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-(p-tolyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (86)



$C_{28}H_{25}N_3O_4$

435,52 g.mol⁻¹

rendement : 35%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,83 (CH₂Cl₂)

F : 160 °C (MeOH)

IR : 2940, 2900, 2840 : CH
2200 : nitrile
1725, 1680 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,90 - 2,07 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; 2,40 (s, 3H, CH₃) ; 4,74 (s, 2H, CH₂) ; 7,11 (m, 4H, H_{aromatique}) ; 7,25 (m, 4H, H_{aromatique}) ; 7,47 (m, 2H, H_{5'}, H_{6'}) ; 7,65 (t, 1H, J_o = 8,10 Hz, H_{4'}) ; 7,76 (d, 1H, J_o = 8,10 Hz, H_{3'}) .

SM :

435 : M⁺
243 : M - M(+CH₂BPCN)
192 : M(+CH₂BPCN)

HPLC :

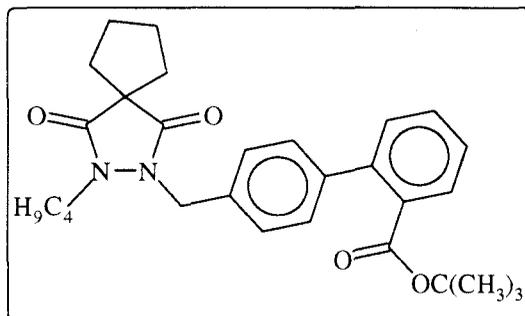
isocratique, colonne C8, 15% sol.A, 85% sol.B

λ (nm)	tr(min)	pureté
230	18,65	100%
254	18,65	100%
280	18,65	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	77,22	77,02
% H	5,78	5,81
% N	9,64	9,64

4'-[[2-Butyl-1,4-dioxo-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-3-yl]méthyl]-(1,1'-biphényl)-2-carboxylate de tertio-butyle (87)



C₂₉H₃₆N₂O₄

476,61 g.mol⁻¹

rendement : 35%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

R_f : 0,50 (hexane/AcOEt : 7/3)

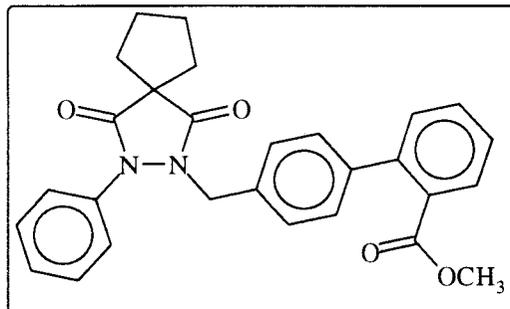
F : 96 - 97 °C (hexane)

IR : 2940, 2900 : CH
1710, 1670 : C=O

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

0,90 (t, 3H, CH₃) ; 1,10 - 1,15 (massif, 13H, CH₃CH₂CH₂, (CH₃)₃C) ; 2,00 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; 3,50 (t, 2H, NCH₂CH₂) ; 4,80 (s, 2H, NCH₂Ar) ; 7,32 (m, 5H, H_{aromatique}) ; 7,48 (m, 2H, H_{aromatique}) ; 7,75 (d, 1H, H_{3'}).

4'-[[1,4-Dioxo-2-phényl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-3-yl]méthyl]-(1,1'-biphényl)-2-carboxylate de méthyle (88)



$C_{28}H_{26}N_2O_4$

452,52 g.mol⁻¹

rendement : 38%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

R_f : 0,78 (CH₂Cl₂)

F : 130 - 133 °C (alcool à 95°)

IR : 2920, 2840 : CH
1725, 1690 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,82 - 1,96 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,55** (s, 3H, ³J = 7,15 Hz, CH₃) ; **4,70** (s, 2H, CH₂) ; **7,00** (d, 2H, H₃, H₅, J_o = 7,99 Hz) ; **7,20** (d, 2H, H₂, H₆, J_o = 7,99 Hz) ; **7,26** (d, 2H_{phényl}) ; **7,40** (d, 2H_{phényl}) ; **7,50** (m, 3H, H_{5'}, H_{6'}, H₄phényl) ; **7,60** (t, 1H, H_{4'}, J_o = 7,46 Hz) ; **7,72** (d, 1H, H_{3'}, J_o = 7,65 Hz).

SM :

454 : M⁺

225 : M(+CH₂BPCOOCH₃)

165 : M(+CH₂BPCOOCH₃) - M(CH₃COOH)

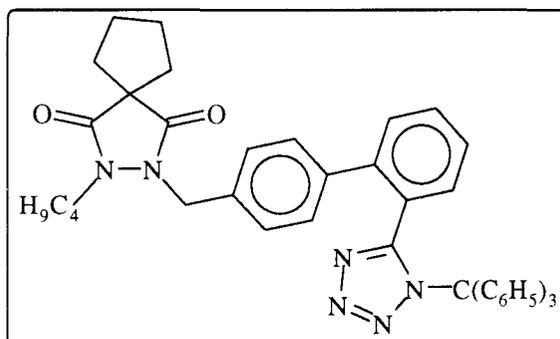
HPLC :

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	7,79	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	73,99	74,23
% H	5,76	5,68
% N	6,16	6,44

2-Butyl-3-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (89)



$C_{44}H_{42}N_6O_2$

$686,85 \text{ g.mol}^{-1}$

rendement : 25%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,45 (hexane/AcOEt : 7/3)

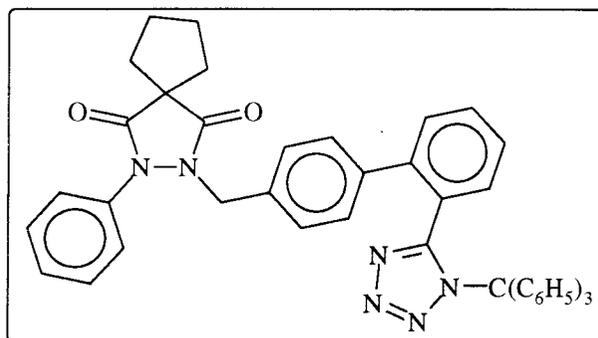
F : 133 - 135 °C (alcool à 95°)

IR : 2940, 2860 : CH
1710, 1670 : C=O

RMN (300 MHz, $CDCl_3$) :

0,78 (t, 3H, $^3J = 7,15 \text{ Hz}$, CH_3) ; **1,11** (m, 2H, CH_3CH_2) ; **1,35** (m, 2H, NCH_2CH_2) ; **1,82** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,44** (t, 2H, $^3J = 6,83 \text{ Hz}$, NCH_2CH_2) ; **4,76** (s, 2H, NCH_2Ar) ; **6,76** (s, 1H, H_{Tr}) ; **6,81** (m, 5H, H_{Tr}) ; **7,08** (d, 2H, $J_0 = 8,15 \text{ Hz}$, H_3, H_5) ; **7,23** (d, 2H, $J_0 = 8,15 \text{ Hz}$, H_2, H_6) ; **7,36** (m, 9H, H_{Tr}) ; **7,48** (d, 1H, $J_0 = 6,51 \text{ Hz}$, H_6') ; **7,55** (t, 1H, $J_0 = 6,51 \text{ Hz}$, H_5') ; **7,65** (t, 1H, $J_0 = 6,51 \text{ Hz}$, H_4') ; **7,80** (d, 1H, $J_0 = 6,51 \text{ Hz}$, H_3').

2-Phényl-3-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (90)



$C_{46}H_{38}N_6O_2$

706,84 g.mol⁻¹

rendement : 35%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,51 (hexane/AcOEt : 6/4)

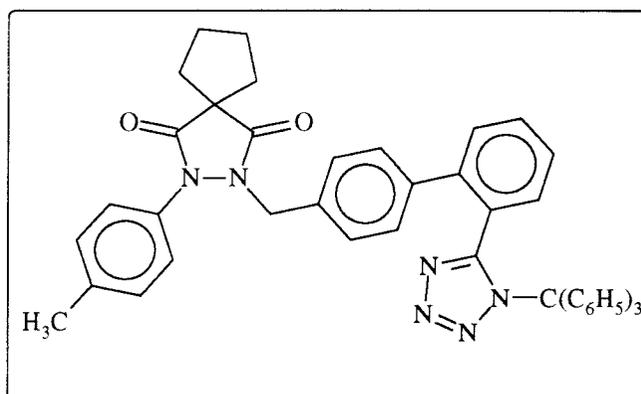
F : 152 °C (alcool à 95°)

IR : 2960, 2850 : CH
1740, 1650 : C=O

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

1,8 (massif, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **4,6** (s, 2H, CH₂) ; **6,6 - 7,9** (m, 28H, H_{aromatique}).

2-(p-Tolyl)-3-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (91)



$C_{47}H_{40}N_6O_2$

720,87 g.mol⁻¹

rendement : 30%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,83 (CH₂Cl₂)

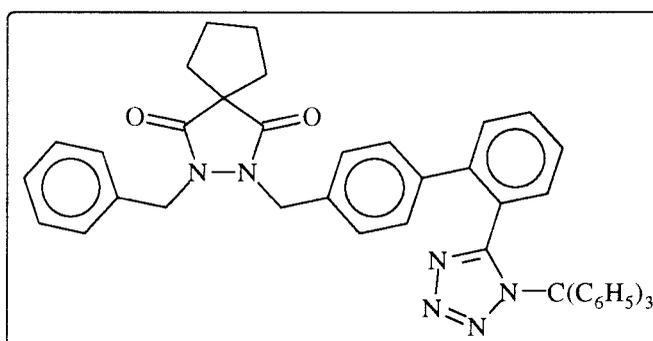
F : 165 °C (acétonitrile)

IR : 2900, 2840 : CH
1720, 1690 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,91 - 1,97 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; 2,40 (s, 3H, CH₃) ; 4,56 (s, 2H, CH₂) ; 6,75 (d, 2H, H_{aromatique}) ; 6,89 (m, 6H, H_{aromatique}) ; 7,00 (d, 2H, H_{aromatique}) ; 7,10 (d, 2H, H_{aromatique}) ; 7,21 (m, 12H, H_{aromatique}) ; 7,39 (t, 1H, J₀ = 7,67 Hz, H_{5'}) ; 7,5 (t, 1H, J₀ = 7,67 Hz, H_{4'}) ; 7,88 (d, 1H, J₀ = 7,67 Hz, H_{3'}) .

2-Benzyl-3-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (92)



C₄₇H₄₀N₆O₂

720,87 g.mol⁻¹

rendement : 42%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,59 (hexane/AcOEt : 6/4)

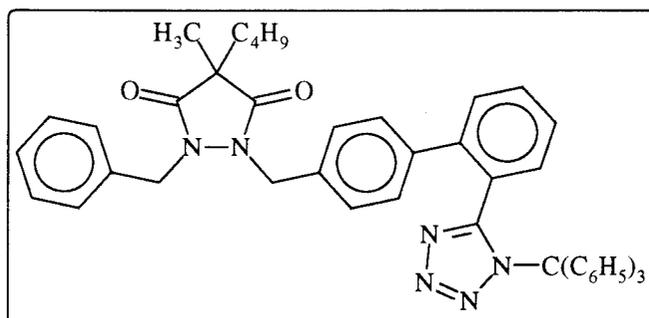
F : 198 °C (AcOEt)

IR : 2940, 2920, 2860 : CH
1725, 1690 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,80 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; 4,61 (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; 4,68 (s, 2H, NCH₂) ; 6,85 (s, 1H, H_{aromatique}) ; 6,90 (m, 5H, CH₂C₆H₅) ; 7,05 (d, 2H, J₀ = 8,11 Hz, H₃, H₅) ; 7,11 (d, 2H, J₀ = 8,11 Hz, H₂, H₆) ; 7,20 (d, 2H, H_{Tr}) ; 7,30 (m, 12H, H_{Tr}) ; 7,50 (d, 1H, J₀ = 7,89 Hz, H_{6'}) ; 7,55 (t, 1H, J₀ = 7,89 Hz, H_{5'}) ; 7,64 (t, 1H, J₀ = 7,89 Hz, H_{4'}) ; 7,8 (d, 1H, J₀ = 7,89 Hz, H_{3'}) .

1-Benzyl-4-butyl-4-méthyl-2-[[2'-[1-(triphenylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]pyrazolidin-3,5-dione (93)



C₄₈H₄₄N₆O₂

736,91 g.mol⁻¹

rendement : 43%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,64 (hexane/AcOEt : 6/4)

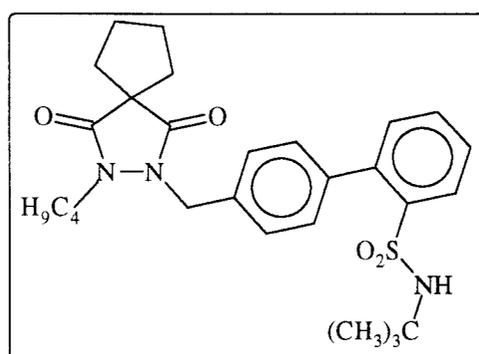
F : 150 °C (acétonitrile)

IR : 2940, 2920, 2840 : CH
1730, 1695 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,65 (t, 3H, ³J = 7,26 Hz, CH₃CH₂) ; **0,75** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,05** (m, 5H, CCH₃, CH₃CH₂CH₂) ; **1,51** (m, 2H, ³J = 8,03 Hz, CCH₂) ; **4,71** (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; **4,78** (2d, 2H, ²J = 16,17 Hz, NCH₂BP) ; **6,81 - 6,88** (m, 7H, CH₂C₆H₅, H_{Tr}) ; **7,05** (d, 2H, J_o = 8,03 Hz, H₃, H₅) ; **7,15** (d, 2H, J_o = 8,03 Hz, H₂, H₆) ; **7,39** (m, 13H, H_{Tr}) ; **7,46** (d, 1H, J_o = 7,33 Hz, H_{6'}) ; **7,55** (t, 1H, J_o = 7,33 Hz, H_{5'}) ; **7,63** (t, 1H, J_o = 7,33 Hz, H_{4'}) ; **7,80** (d, 1H, J_o = 7,33 Hz, H_{3'}).

2-Butyl-3-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (13)



C₂₈H₃₇N₃O₄S

511,68 g.mol⁻¹

rendement : 51%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,5 (hexane/AcOEt : 6/4)

F : 146 - 148 °C (alcool à 95°)

IR : 3280 : NH
2930, 2900, 2870 : CH
1715, 1675 : C=O
1295, 1140 : SO₂

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,80 (t, 3H, ³J = 7,26 Hz, CH₃CH₂) ; **0,95** (s, 9H, C(CH₃)₃) ; **1,17** (sext, 2H, ³J = 7,37 Hz, CH₃CH₂) ; **1,40** (quint, 2H, ³J = 7,38 Hz, NCH₂CH₂) ; **1,80** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, ³J = 6,75 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,84** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **6,50** (s, 1H, NH) ; **7,30** (m, 3H, H_{aromatique}) ; **7,38** (s, 1H, H_{aromatique}) ; **7,42** (d, 1H, H_{6'}) ; **7,50** (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; **8,20** (d, 1H, J_o = 7,37 Hz, H_{3'}).

SM :

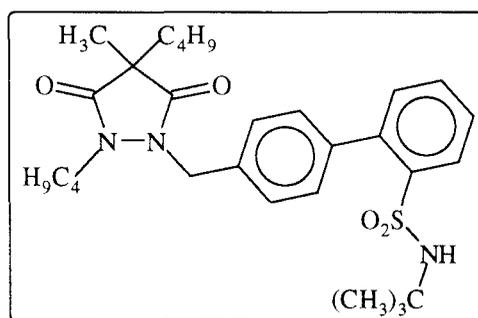
511 : M⁺
302 : M (+CH₂BPSO₂NHtBu)

HPLC :

isocratique, colonne C8, 10% sol.A, 90% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
220	7,818	100%

1,4-Dibutyl-2-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (94)



C₂₉H₄₁N₃O₄S

527,66 g.mol⁻¹

rendement : 35%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,61 (hexane/AcOEt : 6/4)

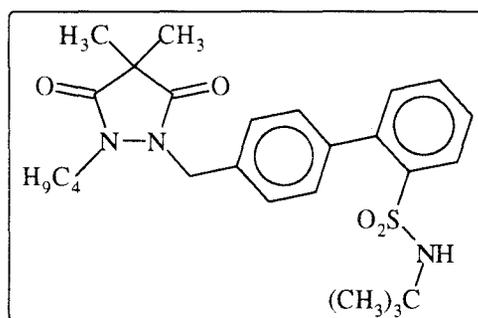
F : 148 °C (alcool à 95°)

IR : 3300 : NH
2950, 2920, 2860 : CH
1730, 1690 : C=O
1300, 1140 : SO₂

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,78 (t, 3H, ³J = 7,33 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂C) ; 0,82 (t, 3H, ³J = 7,17 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂N) ; 0,96 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,02 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂C) ; 1,15 (s, 3H, CCH₃) ; 1,20 (m, 4H, CH₃CH₂CH₂CH₂C) ; 1,39 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂N) ; 1,60 (m, 2H, NCH₂CH₂) ; 3,58 (m, 2H, NCH₂CH₂) ; 4,81 (d, 1H, ²J = 16,01 Hz, NCH₂BP) ; 4,96 (d, 1H, ²J = 16,01 Hz, NCH₂BP) ; 6,61 (s, 1H, NH) ; 7,28 (d, 1H, J_o = 7,15 Hz, H_{6'}) ; 7,35 (d, 2H, J_o = 8,15 Hz, H₃, H₅) ; 7,40 (d, 2H, J_o = 8,15 Hz, H₂, H₆) ; 7,6 (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; 8,03 (d, 1H, J_o = 7,78 Hz, H_{3'}).

1-Butyl-2-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-4,4-diméthylpyrazolidine-3,5-dione (95)



C₂₆H₃₅N₃O₄S

485,64 g.mol⁻¹

rendement : 50%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,38 (hexane/AcOEt : 6/4)

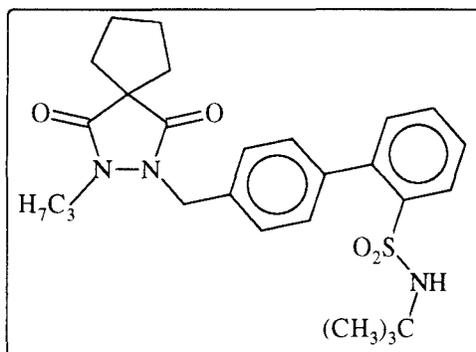
F : 133,5 °C (alcool à 95°)

IR : 3300 : NH
2960, 2920, 2860 : CH
1730, 1690 : C=O
1300, 1140 : SO₂

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,82 (t, 3H, $^3J = 7,02$ Hz, CH_3CH_2) ; **0,96** (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; **1,20** (m, 8H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$, CH_3CH_2) ; **1,50** (m, 2H, NCH_2CH_2) ; **3,53** (t, 2H, $^3J = 7,02$ Hz, NCH_2CH_2) ; **4,85** (s, 2H, NCH_2BP) ; **6,56** (s, 1H, NH) ; **7,31** (m, 3H, H_2 , H_6 , H_6') ; **7,40** (d, 2H, H_3 , H_5) ; **7,59** (m, 2H, H_4' , H_5') ; **8,05** (d, 1H, H_3').

3-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-propyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (96)



$\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$

$497,65 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

rendement : 42%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,47 (hexane/AcOEt : 6/4)

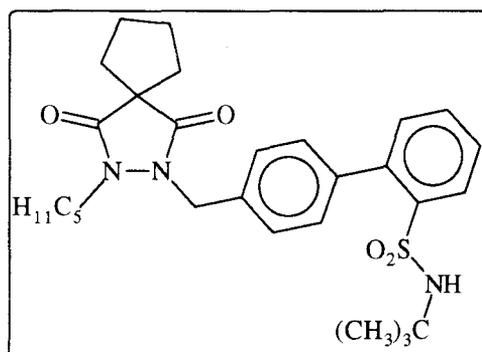
F : 150,7 °C (alcool à 95°)

IR : 3300 : NH
2960, 2915, 2860 : CH
1725, 1680 : C=O
1300, 1145 : SO₂

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,83 (t, 3H, CH_3CH_2) ; **0,97** (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; **1,61** (m, 2H, NCH_2CH_2) ; **2,00** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, NCH_2CH_2) ; **4,87** (s, 2H, NCH_2Ar) ; **7,34** (m, 4H, H_2 , H_3 , H_5 , H_6) ; **7,55** (m, 4H, NH, H_6' , H_4' , H_5') ; **8,16** (d, 1H, H_3').

3-[[2'-(N-tert-butylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-pentyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (97)



C₂₉H₃₉N₃O₄S

525,71 g.mol⁻¹

rendement : 47 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,32 (hexane/AcOEt : 7/3)

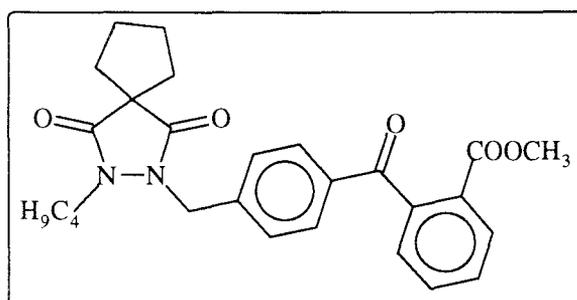
F : 143,4 °C (acétonitrile)

IR : 3300 : NH
2940, 2910, 2840 : CH
1720, 1680 : C=O
1300, 1150 : SO₂

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,80 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **0,95** (s, 9H, C(CH₃)₃) ; **1,20** (m, 4H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,42** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,83** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, ³J = 6,51 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,85** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **6,57** (s, 1H, NH) ; **7,30** (m, 5H, H₂, H₃, H₅, H₆, H_{6'}) ; **7,58** (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; **8,02** (d, 1H, H_{3'}).

2-Butyl-3-[4-(2-carbométhoxybenzoyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (98)



C₂₇H₃₀N₂O₅

462,54 g.mol⁻¹

rendement : 39%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,25 (hexane/AcOEt : 7/3)

F : 81,5 °C (cyclohexane)

IR : 2940, 2860 : CH
1710, 1670 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,87 (t, 3H, ³J = 7,47 Hz, CH₃CH₂) ; **1,22** (sext, 2H, CH₃CH₂) ; **1,42** (quint, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,95** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,47** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **3,62** (s, 3H, CH₃O) ; **4,80** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,28** (d, 2H, H₃, H₅) ; **7,37** (d, 1H, H_{6'}) ; **7,57** (t, 1H, H_{5'}) ; **7,63** (t, 1H, H_{4'}) ; **7,73** (d, 2H, H₆, H₂) ; **8,05** (d, 1H, J₀ = 8,54 Hz, H_{3'}).

HPLC :

isocratique, colonne C8, 30% sol.A, 70% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	8,554	100%
254	8,551	100%
280	8,551	100%

Analyse élémentaire :

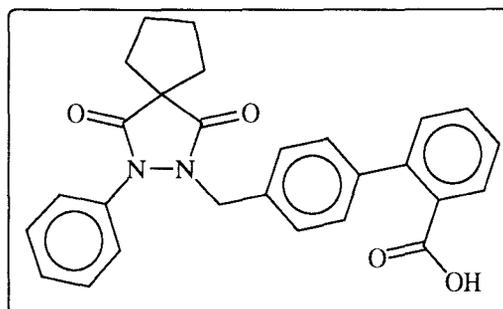
	théorique	expérimental
% C	70,11	69,80
% H	6,53	6,53
% N	6,05	6,13

II.1.4. Produits de transformation des synthons C

II.1.4.1. Composés comportant la structure biphenyle

II.1.4.1.1. Dérivés substitués par un groupe carboxybiphénylméthyle

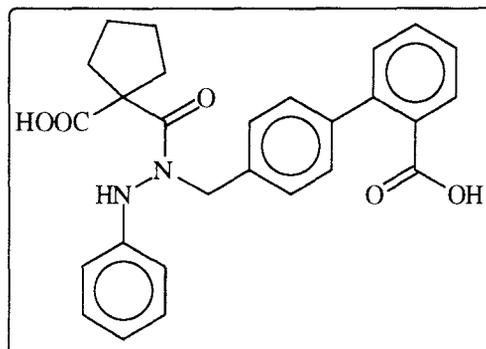
Acide 4'-[[1,4-dioxo-2-phényl-1,4-diazaspiro[4.4]nonan-3-yl]méthyl]-1,1'-biphényl-2-carboxylique (101)



$C_{27}H_{24}N_2O_4$

440,49 g.mol⁻¹

Etape 1 : préparation du produit ouvert (100)



réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
88	2 g	4,4	1	452,52 g.mol ⁻¹
hydroxyde de sodium	1,05 g	26	6	40 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

L'hydroxyde de sodium est ajouté à une suspension du composé **88** dans 20 ml d'eau. Le milieu réactionnel est homogénéisé par addition de 10 ml de méthanol. Le mélange est laissé sous agitation pendant 10 heures à température ambiante. Le méthanol est évaporé sous vide puis la phase aqueuse alcaline est lavée par l'acétate d'éthyle, acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique puis extraite à l'éther. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation du solvant, on obtient une poudre qui est utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

rendement : 79 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,32 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

IR : 3650 - 3500 : OH
3270 : NH
2900 : CH
1680, 1640 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

2,00 (m, 8H, H_ttétraméthylène) ; **4,10** (d, 1H, ²J = 15,62 Hz, NCH₂) ; **5,20** (d, 1H, ²J = 15,62 Hz, NCH₂) ; **6,80** (d, 2H, H_{aromatique}) ; **6,85** (t, 1H, H_{aromatique}) ; **7,25** (m, 6H, H_{aromatique}) ; **7,31** (d, 1H, H_{6'}) ; **7,41** (t, 1H, J_o = 7,45 Hz, H_{5'}) ; **7,55** (t, 1H, J_o = 7,45 Hz, H_{4'}) ; **7,70** (d, 1H, J_o = 7,45 Hz, H_{3'}) ; **7,80** (s, 1H, échangeable dans D₂O, NH) ; **12,50** (signal, 2H, échangeables dans D₂O).

Etape 2 : déshydratation intramoléculaire

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
100	1,6 g	3,5	1	458,51 g.mol ⁻¹
anhydride phosphorique	0,98 g	6,9	2	141,94 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

L'anhydride phosphorique est ajouté à une solution du composé **100** dans 20 ml de toluène. Le mélange réactionnel est chauffé à 60°C pendant 1 heure. Les insolubles sont filtrés et le solvant est évaporé sous vide. La poudre obtenue est recristallisée.

rendement : 40%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,77 (CH₂Cl₂/AcOEt : 9/1)

F : 173 - 175 °C (alcool à 95°)

IR : 3250 - 3000 : OH
2890, 2800 : CH
1710, 1650 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,83 - 1,95 (massif, 8H, H_ttétraméthylène) ; **4,66** (s, 2H, CH₂) ; **6,90** (d, 2H, H_{aromatique}) ; **7,08** (m, 3H, H_{aromatique}) ; **7,15** (m, 2H, H_{aromatique}) ; **7,22** (m, 2H, H_{aromatique}) ; **7,31** (m, 2H, H_{aromatique}) ; **7,50** (t, 1H, J_o = 7,46 Hz, H_{4'}) ; **7,90** (d, 1H, J_o = 7,46 Hz, H_{3'}) ; **12,00** (signal, 1H échangeable dans D₂O, OH).

SM :

440 : M⁺

211 : M(+CH₂BPCOOH)

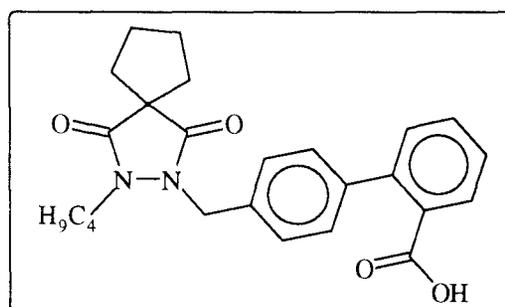
HPLC :

λ (nm)	tr(min)	pureté
210	7,07	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	73,62	73,77
% H	5,49	5,63
% N	6,36	6,51

Acide 4'-[[2-butyl-1,4-dioxo-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-3-yl]méthyl]-1,1'-biphényl-2-carboxylique (8)



C₂₅H₂₈N₂O₄

420,50 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
87	1g	1,7	1	476,61 g.mol ⁻¹
HCl g				

MODE OPÉRATOIRE

On fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux dans une solution du composé **87** dans 15 ml de dioxane. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 12 heures à température ambiante. La solution est alors versée dans 150 ml d'eau puis alcalinisée avec une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium. La solution aqueuse est lavée à l'éther et acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le précipité obtenu est essoré, lavé à l'eau, séché puis recristallisé.

rendement : 47%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,58 (hexane/AcOEt : 9/1)

F : 139°C (AcOEt)

IR : 3300-3000 : OH
 2915, 2900, 2840 : CH
 1700, 1650 : CO

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,80 (t, 3H, ³J = 7,15 Hz, CH₃) ; **1,20** (sext, 2H, ²J = 7,15 Hz, CH₃CH₂) ; **1,40** (quint, 2H, ²J = 7,15 Hz, NCH₂CH₂) ; **1,80** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, ²J = 7,15 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,80** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,30** (m, 4H, H_{2'}, H_{3'}, H_{5'}, H_{6'}) ; **7,40** (d, 1H, J_o = 7,61Hz, H₆) ; **7,45** (t, 1H, J_o = 7,61Hz, H₅) ; **7,65** (t, 1H, J_o = 7,61Hz, H₄) ; **7,75** (d, 1H, J_o = 7,61Hz, H₃) ; **12,80** (s, 1H, OH, échangeable dans D₂O)

SM :

420 : M⁺
 211 : M(+CH₂BPCOOH)

HPLC :

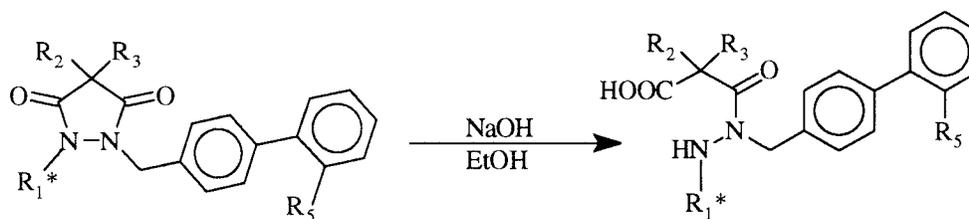
isocratique, Colonne C8, 35% sol.A, 75% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	15,94	99,7%
254	15,97	99,7%
280	16,1	99,8%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	71,40	71,53
% H	6,71	6,80
% N	6,66	6,74

II.1.4.1.2. Préparation des produits ouverts

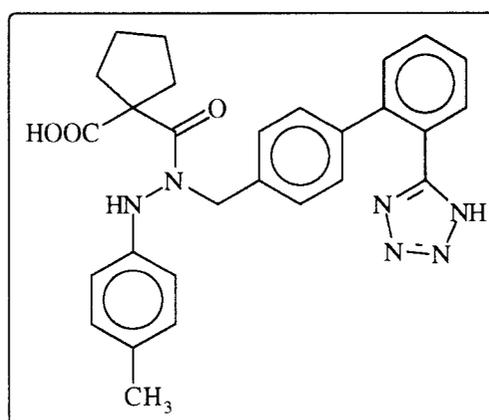


réactifs	équivalent
pyrazolidine-3,5-dione	1
hydroxyde de sodium	2

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Une solution aqueuse 1N d'hydroxyde de sodium est ajoutée à une solution de la pyrazolidine-3,5-dione appropriée dans un mélange alcool / eau 1/1. Le mélange est chauffé à 60°C pendant 4 heures. L'alcool est en partie éliminé sous vide. On ajoute de l'eau. La phase aqueuse est lavée à l'éther puis acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis recristallisé.

Mono 1-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-(p-tolyl)hydrazide de l'acide cyclopentane-1,1-dicarboxylique (102)



C₂₈H₂₈N₆O₃

496,56 g.mol⁻¹

rendement : 62%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,32 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

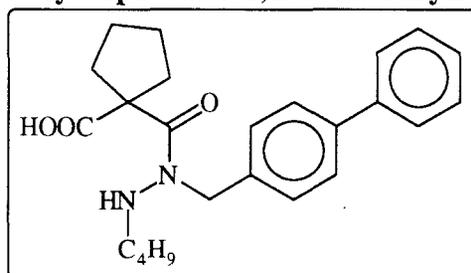
F : 209°C (acétonitrile)

IR : 3400 - 2300 : COOH
3270 : NH
2950 : CH
1730 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,50 (m, 4H, H_{tétraméthylène}) ; 2,05 (m, 4H, H_{tétraméthylène}) ; 2,20 (s, 3H, CH₃) ; 4,00 (d, 1H, ²J = 14,38 Hz, NCH₂) ; 5,15 (d, 1H, ²J = 14,38 Hz, NCH₂) ; 6,61 (d, 2H_{tolyl}, J_o = 7,71 Hz, H₃, H₅) ; 7,00 (m, 4H, H₂, H₃, H₅, H₆) ; 7,15 (d, 2H_{tolyl}, J_o = 7,71 Hz, H₂, H₆) ; 7,52 (m, 2H, H_{5'}, H_{6'}) ; 7,65 (m, 2H, H_{3'}, H_{4'}) ; 12,00 (s, 1H, échangeable dans D₂O, COOH).

Mono 2-butyl-1-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]hydrazide de l'acide cyclopentane-1,1-dicarboxylique (103)



$C_{24}H_{30}N_2O_3$

$394,51 \text{ g.mol}^{-1}$

rendement : 73%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,61 ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

F : 147 °C (acétonitrile)

IR : 3260 : NH
3160 - 2300 : COOH
2960, 2930, 2860 : CH
1690, 1630 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO- d_6) :

0,79 (t, 3H, CH_3) ; **1,23** (m, 2H, CH_3CH_2) ; **1,38** (m 2H, NCH_2CH_2) ; **2,03** (massif, 8H, $H_{\text{tétraméthylène}}$) ; **2,64** (t, 2H, NCH_2CH_2) ; **4,20** (signal, 1H, NH) ; **4,70** (s, 2H, NCH_2Ar) ; **7,38** (m, 3H, $H_{\text{aromatique}}$) ; **7,64** (m, 2H, $H_{\text{aromatique}}$) ; **7,70** (massif, 4H, $H_{\text{aromatique}}$) ; **11,91** (signal, 1H, échangeable dans D_2O , OH).

HPLC :

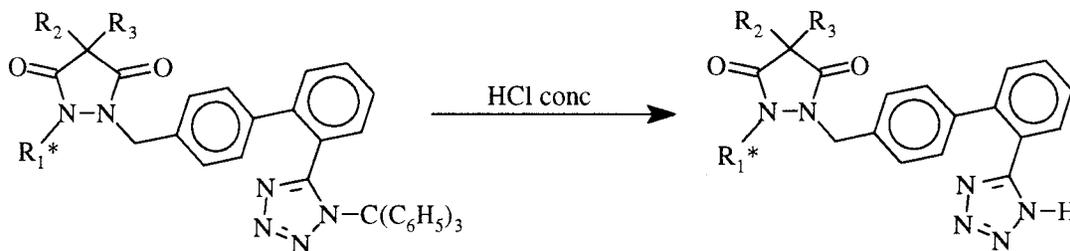
isocratique, colonne C8, 10% sol.A, 90% sol.B

λ (nm)	tr(min)	pureté
230	8,389	100%
254	8,387	100%
280	8,387	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	73,07	73,16
% H	7,66	7,76
% N	7,10	7,15

II.1.4.1.3. Dérivés substitués par un groupe méthylènebiphényltétrazole



réactifs	équivalent
composé tritylé	1
acide chlorhydrique 12N.	4 (méthode A) 20 (méthode B)

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

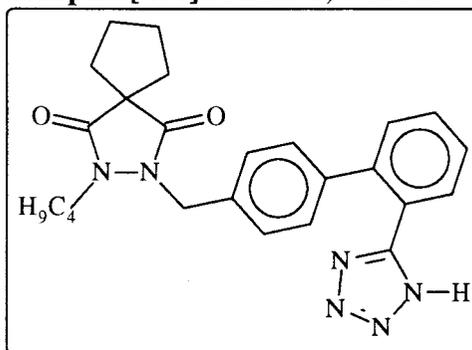
Méthode A :

Une solution d'acide chlorhydrique concentrée est ajoutée à une solution du composé tritylé dans un mélange eau / tétrahydrofurane 1/4. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 8 heures à température ambiante. Le tétrahydrofurane est évaporé sous vide. On ajoute de l'eau. La phase aqueuse est alcalinisée avec une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium, lavée à l'éther puis acidifiée goutte à goutte avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le précipité obtenu est essoré, lavé à l'eau puis à l'éther et recristallisé.

Méthode B :

Une solution d'acide chlorhydrique concentrée est ajoutée à une solution du composé tritylé dans l'acide acétique. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 20 heures. L'acide acétique est évaporé sous vide. On ajoute de l'eau. La phase aqueuse est alcalinisée par une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium, lavée à l'éther puis acidifiée goutte à goutte avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le précipité obtenu est essoré, lavé plusieurs fois à l'eau puis à l'éther et recristallisé.

2-Butyl-3-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (9)



C₂₅H₂₈N₆O₂

444,53 g.mol⁻¹

rendement : 47% (méthode A)

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,41 (AcOEt)

F : 169 °C (alcool à 95°)

IR : 3100 - 3040 : NH
2940, 2900, 2840 : CH
1710, 1650 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,80 (t, 3H, ³J = 7,08 Hz, CH₃) ; **1,13** (sext, 2H, ³J = 7,08 Hz, CH₃CH₂) ; **1,36** (quint, 2H, ³J = 7,08Hz, NCH₂CH₂) ; **1,81** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, ³J = 6,56 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,80** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,10** (d, 2H, J_o = 7,49 Hz, H₃, H₅) ; **7,21** (d, 2H, J_o = 7,49 Hz, H₂, H₆) ; **7,50 - 7,75** (m, 4H, H_{aromatique}).

SM :

444 : M⁺

235 : M (+CH₂BPT)

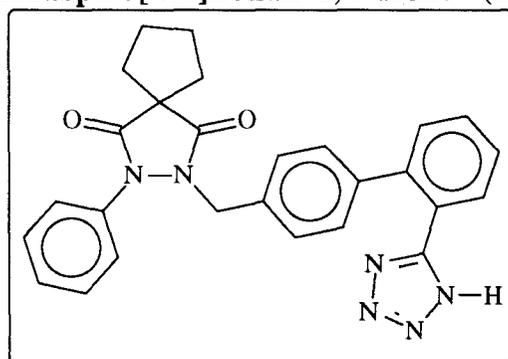
HPLC :

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	13,99	99,54%
254	13,77	99,76%
280	13,81	99,35%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	67,54	67,48
% H	6,34	6,30
% N	18,90	18,72

2-Phényl-3-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (22)



C₂₇H₂₄N₆O₂

464,52 g.mol⁻¹

rendement : 51% (méthode A)

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,45 (AcOEt)

F : 174 - 176 °C (alcool à 95°/eau : 1/1)

IR : 2940, 2900, 2840 : CH
1730, 1690 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,84 - 1,90 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **4,62** (s, 2H, CH₂) ; **6,80** (d, 2H_{phényl}, J_o = 8,07 Hz, H₃, H₅) ; **7,00** (d, 2H_{phényl}, J_o = 8,07 Hz, H₃, H₅) ; **7,18** (d, 2H, H_{aromatique}) ; **7,36 - 7,70** (m, 7H, H_{aromatique}).

SM :

465 : M⁺

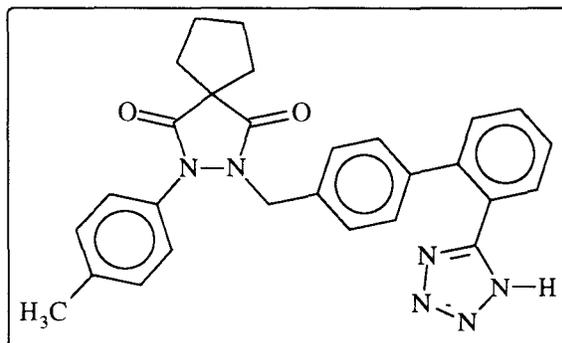
HPLC :

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	4,82	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	69,81	69,52
% H	5,21	5,32
% N	18,09	18,10

3-[[2'-(1H-Tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-(p-tolyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (23)



$C_{28}H_{26}N_6O_2$

478,55 g.mol⁻¹

rendement : 54% (méthode A)

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,56 (CH₂Cl₂/EtOH : 9/1)

F : 198 °C (alcool à 95°)

IR : 3015 : NH
2940 : CH
1720, 1655 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,81 - 1,90 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **2,33** (s, 3H, CH₃) ; **4,60** (s, 2H, CH₂) ; **6,85** (d, 2H_{tolyl}, J_o = 8,06 Hz, H₃, H₅) ; **7,00** (d, 2H_{tolyl}, J_o = 8,06 Hz, H₂, H₆) ; **7,10** (d, 2H, J_o = 8,19 Hz, H₃, H₅) ; **7,37** (d, 2H, J_o = 8,19 Hz, H₂, H₆) ; **7,50 - 7,72** (m, 4H, H_{aromatique}).

SM :

478 : M⁺
235 : M (+CH₂BPT)

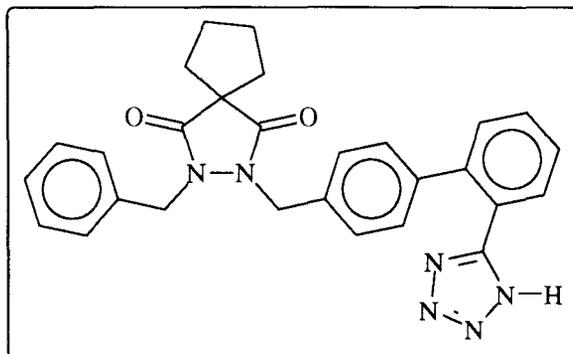
HPLC :

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	17,57	99,14%
254	17,52	99,10%
280	17,63	99,73%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	70,27	70,52
% H	5,47	5,23
% N	6,68	6,75

2-Benzyl-3-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (24)



$C_{28}H_{26}N_6O_2$

478,55 g.mol⁻¹

rendement : 27% (méthode B)

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,56 (CH₂Cl₂/EtOH : 9/1)

F : 186,3 °C (acétonitrile)

IR : 3200-2500 : NH
1720, 1650 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,80 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **4,70** (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; **4,72** (s, 2H, NCH₂BP) ; **7,07** (d, 2H, J₀ = 8,09 Hz, H₃, H₅) ; **7,18** (d, 2H, J₀ = 8,09 Hz, H₂, H₆) ; **7,23** (m, 2H, CH₂C₆H₅) ; **7,42** (m, 3H, CH₂C₆H₅) ; **7,58** (m, 2H, H_{3'}, H_{4'}) ; **7,67** (m, 2H, H_{5'}, H_{6'}).

SM :

478 : M⁺

235 : M (+CH₂BPT)

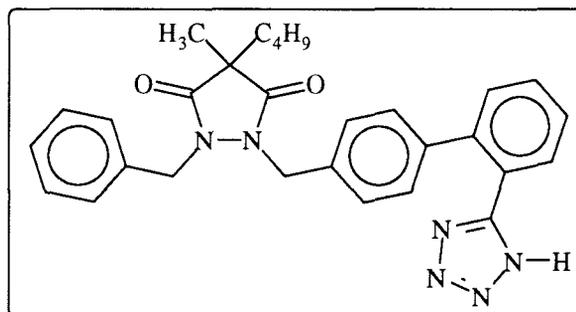
HPLC :

λ (nm)	tr(min)	pureté
220	9,36	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	70,27	70,21
% H	5,47	5,41
% N	17,56	17,56

1-Benzyl-4-butyl-4-méthyl-2-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]pyrazolidin-3,5-dione (28)



C₂₉H₃₀N₆O₂

494,59 g.mol⁻¹

rendement : 26% (méthode B)

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,40 (CH₂Cl₂/MeOH : 95/5)

F : 149,9 °C (acétonitrile)

IR : 2940, 2920, 2840 : CH
1720, 1660 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,67 (t, 3H, ³J = 7,39 Hz, CH₃CH₂) ; **0,72** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,02** (s, 3H, CCH₃) ; **1,08** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,51** (m, 2H, CCH₂) ; **4,80** (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; **4,75** (d, 1H, ²J = 15,96 Hz, NCH₂BP) ; **4,85** (d, 1H, ²J = 15,96 Hz, NCH₂BP) ; **7,05** (d, 2H, J_o = 8,13 Hz, H₃, H₅) ; **7,21** (d, 2H, J_o = 8,13 Hz, H₂, H₆) ; **7,30** (m, 5H, CH₂C₆H₅) ; **7,59** (m, 2H, H_{5'}, H_{6'}) ; **7,70** (m, 2H, H_{3'}, H_{4'}).

SM :

494 : M⁺

235 : M (+CH₂BPT)

HPLC :

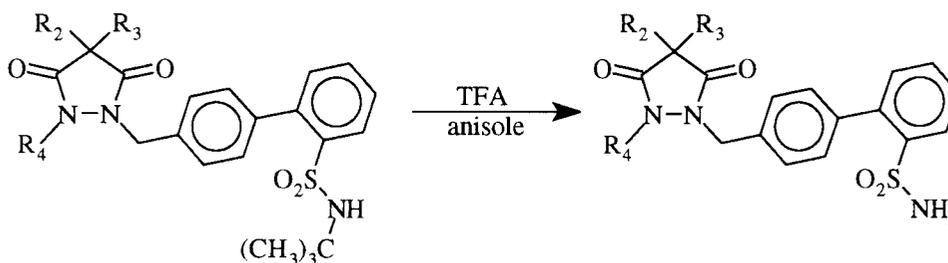
λ(nm)	tr(min)	pureté
230	5,45	99,33%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	70,42	70,36
% H	6,11	6,22
% N	16,99	17,25

II.1.4.1.4. Dérivés substitués par un groupe méthylènebiphénylsulfonamide

II.1.4.1.4.1. Déprotection de la fonction sulfonamide

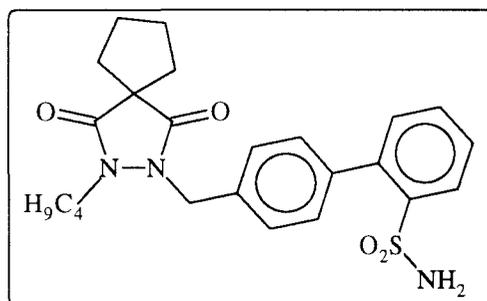


réactifs	équivalent
RSO ₂ NHtBu	1
anisole	0,02
acide trifluoroacétique	40

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Le sulfonamide est solubilisé dans l'acide trifluoroacétique. On ajoute quelques gouttes d'anisole puis le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 12 heures à température ambiante. L'acide trifluoroacétique est ensuite évaporé sous vide. L'huile obtenue est reprise par de l'eau. On alcalinise ensuite le milieu par de l'hydrogénocarbonate de sodium. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis à l'éther et recristallisé.

3-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (12)



C₂₄H₂₉N₃O₄S

455,57 g.mol⁻¹

rendement : 83%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,47 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 98 - 100 °C (toluène)

IR : 3350, 3200, 3060 : NH
2940, 2920, 2860 : CH
1720, 1670 : C=O
1335, 1160 : SO₂

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,82 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **1,17** (sext, 2H, CH₃CH₂) ; **1,40** (quint, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,80** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,52** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,87** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,20** (s, 2H, NH₂) ; **7,25** (m, 3H, H₃, H₅, H₆) ; **7,40** (d, 2H, J_o = 8,14 Hz, H₂, H₆) ; **7,60** (m, 2H, H₄, H₅) ; **8,02** (dd, 1H, J_o = 7,37 Hz, J_m = 1,47 Hz, H₃).

SM :

455 : M⁺

246 : M (+CH₂BPSO₂NH₂)

HPLC :

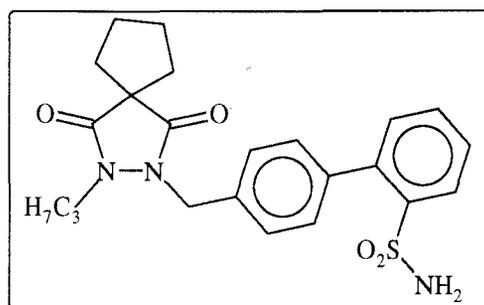
isocratique, colonne C8, 30% sol.A, 70% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	9,89	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	63,27	63,72
% H	6,41	6,68
% N	9,27	9,61

3-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-propyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (105)



C₂₃H₂₇N₃O₄S

441,55 g.mol⁻¹

rendement : 95%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,39 (hexane/AcOEt : 4/6)

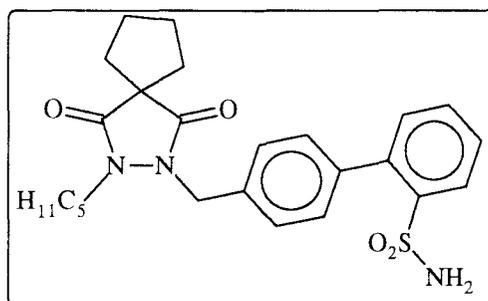
F : 156,8 °C (toluène)

IR : 3320, 3220, 3070 : NH
2960, 2860 : CH
1720, 1660 : C=O
1330, 1160 : SO₂

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,85 (t, 3H, ³J = 7,26 Hz, CH₃CH₂) ; **1,53** (quint, 2H, ³J = 7,23 Hz, NCH₂CH₂) ; **2,00** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,52** (t, 2H, ³J = 7,26 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,37** (s, 2H, NH₂) ; **4,83** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,30** (m, 2H, H₃, H₅) ; **7,45** (m, 4H, H₂, H₆, H_{5'}, H_{6'}) ; **7,60** (m, 1H, H_{4'}) ; **8,10** (d, 1H, H_{3'}).

3-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-pentyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (106)



C ₂₅ H ₃₁ N ₃ O ₄ S	469,6036 g.mol ⁻¹
---	------------------------------

rendement : 89 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,56 (hexane/AcOEt : 4/6)

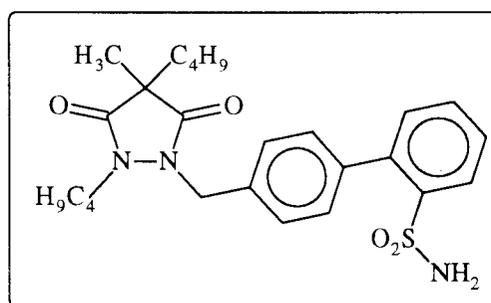
F : 108,5 °C (toluène)

IR : 3350, 3220, 3080 : NH
2940, 2850 : CH
1710, 1670 : C=O
1340, 1160 : SO₂

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,76 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **1,15** (m, 4H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,40** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,82** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,84** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,20** (s, 2H, NH₂) ; **7,29** (m, 3H, H₃, H₅, H_{6'}) ; **7,35** (m, 2H, H₂, H₆) ; **7,55** (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; **8,01** (d, 1H, H_{3'}).

2-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-1,4-dibutyl-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (107)



C₂₅H₃₃N₃O₄S

471,62 g.mol⁻¹

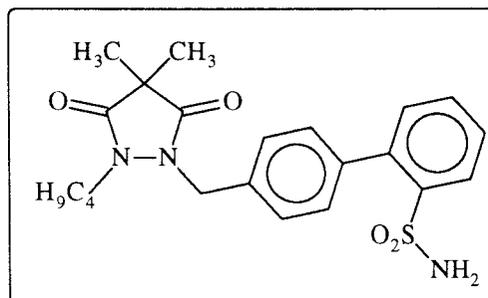
rendement : 64%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,2 (hexane/AcOEt : 4/6)

IR : 3370, 3160, 3040 : NH
2940, 2910, 2850 : CH
1730, 1660 : C=O
1330, 1160 : SO₂

2-[[2'-(Aminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-1-butyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (108)



C₂₂H₂₇N₃O₄S

429,54 g.mol⁻¹

rendement : 89 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,29 (hexane/AcOEt : 4/6)

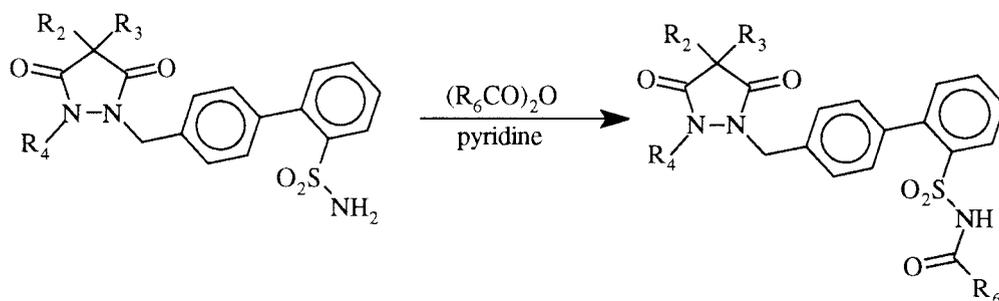
F : 123,6 °C (toluène)

IR : 3360, 3300, 3200 : NH
2960, 2920, 2880 : CH
1720, 1675 : C=O
1335, 1165 : SO₂

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,83 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **1,17** (m, 8H, C(CH₃)₂, CH₃CH₂) ; **1,40** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **3,54** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,87** (s, 2H, NCH₂BP) ; **7,19** (s, 2H, NH₂) ; **7,30** (m, 3H, H₃, H₅, H₆) ; **7,40** (m, 2H, H₂, H₆) ; **7,60** (m, 2H, H₄, H₅) ; **8,02** (d, 1H, H₃).

II.1.4.1.4.2. Obtention des acylsulfonamides

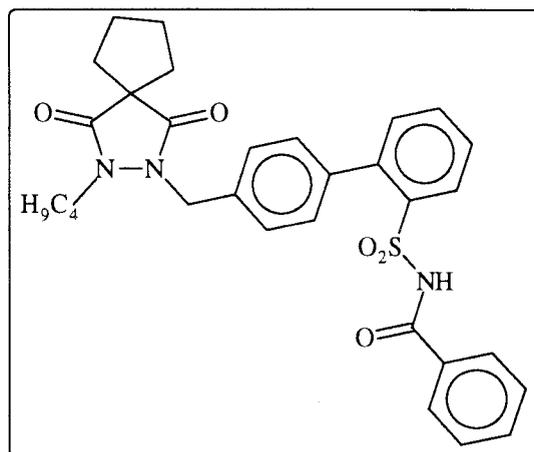


réactifs	équivalent
RSO ₂ NH ₂	1
(R ₆ CO) ₂ O	4

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

L'anhydride est ajouté à une solution de sulfonamide dans la pyridine. Le mélange est porté à reflux pendant 48 heures. Le milieu réactionnel est ensuite versé dans l'eau puis acidifié avec une solution aqueuse 12 N d'acide chlorhydrique. Le précipité formé est lavé à l'eau, à l'éther puis recristallisé.

3-[[2'-(Benzoylamino-sulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (11)



$C_{31}H_{33}N_3O_5S$

$559,68 \text{ g.mol}^{-1}$

rendement : 52%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,37 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 188 - 192 °C (alcool à 95°)

IR : 3150 : NH
2940, 2910, 2850 : CH
1720, 1660 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO- d_6) :

0,84 (t, 3H, $^3J = 7,19 \text{ Hz}$, CH_3CH_2) ; **1,18** (sext, 2H, $^3J = 7,34 \text{ Hz}$, CH_3CH_2) ; **1,43** (quint, 2H, $^3J = 7,38 \text{ Hz}$, NCH_2CH_2) ; **1,85** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,51** (t, 2H, $^3J = 7,16 \text{ Hz}$, NCH_2CH_2) ; **4,90** (s, 2H, NCH_2Ar) ; **7,22** (m, 5H, COC_6H_5) ; **7,42** (m, 2H, H_3, H_5) ; **7,63** (m, 5H, $\text{H}_2, \text{H}_6, \text{H}_4', \text{H}_5', \text{H}_6'$) ; **8,19** (d, 1H, H_3') ; **12,16** (signal, 1H, échangeable dans D_2O , NH).

SM :

559 : M^+

350 : $\text{M} (+\text{CH}_2\text{BPSO}_2\text{NHCOC}_6\text{H}_5)$

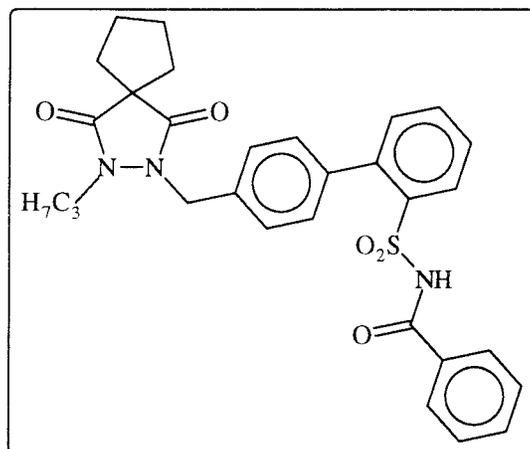
HPLC :

$\lambda(\text{nm})$	tr(min)	pureté
230	16,42	100%
254	16,49	100%
280	16,55	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	66,52	66,56
% H	5,94	5,92
% N	7,50	7,37

3-[[2'-(Benzoylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-propyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (25)



C₃₀H₃₁N₃O₅S

545,65 g.mol⁻¹

rendement : 79%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

R_f : 0,26 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 244 - 245 °C (alcool à 95°)

IR : 3130 : NH
2940, 2920, 2860 : CH
1715, 1680, 1650 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,71 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **1,46** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,89** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,46** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,86** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,21** (m, 5H, COC₆H₅) ; **7,40** (m, 2H, H₃, H₅) ; **7,62** (m, 5H, H₂, H₆, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'}) ; **8,16** (d, 1H, H_{3'}) ; **12,10** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

HPLC :

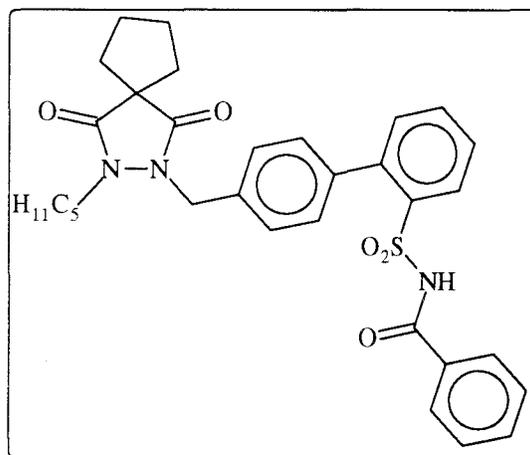
isocratique, colonne C8, 30% sol.A, 70% sol.B

λ (nm)	tr(min)	pureté
230	6,615	100%
254	6,615	100%
280	6,615	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	66,03	65,98
% H	5,72	5,83
% N	7,70	7,70

3-[[2'-(Benzoylaminosulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2-pentyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (26)



C₃₂H₃₅N₃O₅S

573,71 g.mol⁻¹

rendement : 73%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,26 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 188,1 °C (alcool à 95°)

IR : 3170 : NH
2940, 2900, 2840 : CH
1715, 1665 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,84 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **1,22** (m, 4H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,46** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂) ;
1,87 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,52** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,80** (s, 2H, NCH₂Ar) ;
7,25 (m, 5H, COC₆H₅) ; **7,45** (m, 2H, H₃, H₅) ; **7,62** (m, 5H, H₂, H₆, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'}) ;
8,18 (d, 1H, H_{3'}) ; **12,16** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

HPLC :

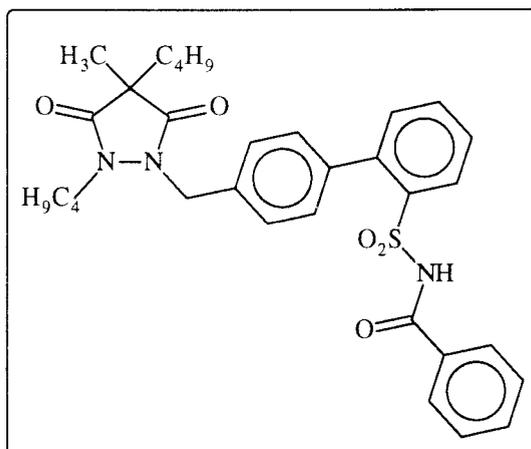
isocratique, colonne C8, 30% sol.A, 70% sol.B

λ (nm)	tr(min)	pureté
230	13,576	100%
254	13,581	100%
280	13,581	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	66,99	66,77
% H	6,15	6,08
% N	7,32	7,19

3-[[2'-(Benzoylamino-sulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-1,4-dibutyl-4-méthylpyrazolidin-3,5-dione (27)



C₃₂H₃₇N₃O₅S

575,72 g.mol⁻¹

rendement : 69%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,36 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 132 °C (cyclohexane)

IR : 3270 : NH
 2950, 2920, 2860 : CH
 1730, 1680 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,75 (t, 3H, ³J = 7,33 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂C) ; **0,81** (t, 3H, ³J = 7,17 Hz, CH₃(CH₂)₂CH₂N) ; ; **1,01** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂C) ; **1,18** (s, 3H, CCH₃) ; **1,25** (m, 4H, CH₃CH₂CH₂CH₂C) ; **1,40** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂N) ; **1,60** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **3,51** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,80** (d, 1H, ²J = 16,01 Hz, NCH₂BP) ; **5,00** (d, 1H, ²J = 16,01 Hz, NCH₂BP) ; **7,30** (m, 5H, COC₆H₅) ; **7,45** (m, 2H, H₃, H₅) ; **7,64** (m, 5H, H₂, H₆, H₄, H₅, H₆) ; **8,20** (d, 1H, H₃) ; **12,12** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

SM :

575 : M⁺
 350 : M (+CH₂BPSO₂NHCOC₆H₅)

HPLC :

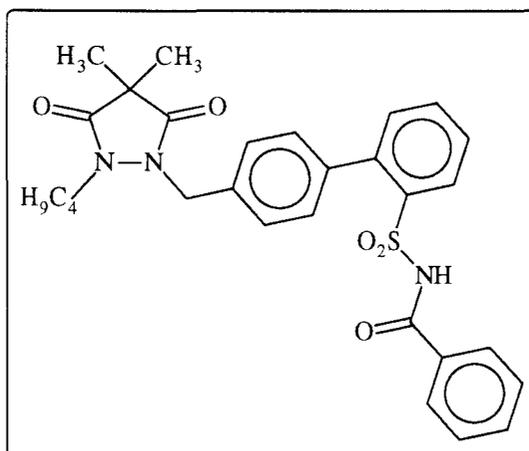
isocratique, colonne C8, 10% sol.A, 90% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
254	7,315	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	66,75	66,85
% H	6,47	6,49
% N	7,29	7,37

3-[[2'-(Benzoylamino-sulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-1-butyl-4,4-diméthylpyrazolidin-3,5-dione (29)



C₂₉H₃₁N₃O₅S

533,64 g.mol⁻¹

rendement : 82%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,25 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 190,9 °C (alcool à 95°)

IR : 3240 : NH
2960, 2920, 2860 : CH
1730, 1685 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,83 (t, 3H, CH₃CH₂) ; 1,22 (m, 8H, C(CH₃)₂, CH₃CH₂CH₂) ; 1,42 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; 3,53 (t, 2H, NCH₂CH₂) ; 4,88 (s, 2H, NCH₂Ar) ; 7,32 (m, 5H, COC₆H₅) ; 7,48 (m, 2H, H₃, H₅) ; 7,67 (m, 5H, H₂, H₆, H₄', H₅', H₆') ; 8,25 (d, 1H, H₃') ; 12,10 (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

HPLC :

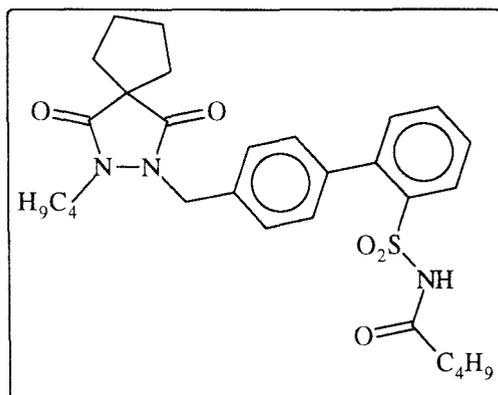
isocratique, colonne C8, 30% sol.A, 70% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	6,407	100%
254	6,405	100%
280	6,409	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	65,27	65,47
% H	5,85	5,93
% N	7,87	7,91

2-Butyl-3-[[2'-(valérylamino-sulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (14)



C₂₉H₃₇N₃O₅S

539,69 g.mol⁻¹

rendement : 57%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,54 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 153,5 °C (alcool à 95°)

IR : 3150 : NH
2960, 2920, 2860 : CH
1720, 1660 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,76 (t, 3H, ³J = 7,13 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂CO) ; **1,18** (t, 3H, ³J = 7,24 Hz, CH₃CH₂CH₂CH₂N) ; **1,17** (m, 4H, CH₃CH₂CH₂CH₂N, CH₃CH₂CH₂CH₂CO) ; **1,3** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂CO) ; **1,41** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂N) ; **1,80** (massif, 8H, H tétraméthylène) ; **1,91** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂CO) ; **3,50** (t, 2H, ³J = 6,94 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,88** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,29** (m, 5H, H_{aromatique}) ; **8,07** (d, 1H, J_o = 7,74 Hz, H_{5'}) ; **8,07** (t, 1H, J_o = 7,74 Hz, H_{4'}) ; **8,07** (d, 1H, J_o = 7,74 Hz, H_{3'}) ; **11,55** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

SM :

539 : M⁺
330 : M (+CH₂BPSO₂NHCOC₄H₉)
246 : M (+CH₂BPSO₂NH₂)

HPLC :

isocratique, colonne C8, 10% sol.A, 90% sol.B

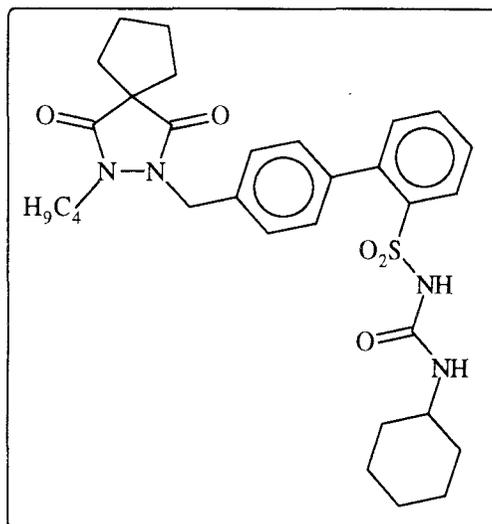
λ(nm)	tr(min)	pureté
230	7,214	100%
254	7,210	100%
280	7,212	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	64,54	64,31
% H	6,91	6,96
% N	7,78	7,87

II.1.4.1.4.3. Obtention du sulfonylcarbamate **104** et de la sulfonylurée **15**

2-Butyl-3-[2'-(cyclohexylaminosulfonylcarbonylaminosulfonyl)]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (15)



$C_{31}H_{40}N_4O_5S$	$580,74 \text{ g.mol}^{-1}$
-----------------------	-----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
12	1g	2,19	1	$455,57 \text{ g.mol}^{-1}$
isocyanate de cyclohexyle	0,84 ml	6,58	3	$125,17 \text{ g.mol}^{-1}$ d = 0,980
carbonate de potassium	0,91 g	6,58	3	40 g.mol^{-1}

MODE OPÉRATOIRE

Le carbonate de potassium est ajouté à une solution du composé **12** dans 50 ml d'acétone. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 1 heure. On ajoute ensuite l'isocyanate de cyclohexyle puis la solution est portée à reflux pendant 12 heures. L'acétone est évaporée sous vide. On ajoute de l'eau puis le mélange est acidifié avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le précipité formé est essoré et lavé à l'eau. Il est alors repris par un minimum d'acétone. La dicyclohexylurée insoluble est éliminée par filtration. Le filtrat est évaporé ; on ajoute de l'éther ; le précipité formé est essoré, lavé à l'éther puis recristallisé.

rendement : 63%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,64 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 155 °C (acétonitrile)

IR : 3380, 3200, 3060 : NH
2920, 2840 : CH
1725, 1680 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,83 (t, 3H, CH₃CH₂) ; **1,00** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,12** (m, 5H, C₆H₁₁) ; **1,30** (m, 3H, C₆H₁₁) ; **1,57** (m, 4H, C₆H₁₁, NCH₂CH₂) ; **1,77** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,20** (signal, 1H, C₆H₁₁) ; **3,47** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,82** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **5,88** (signal, 1H, NH) ; **7,17** (m, 3H, H_{aromatique}) ; **7,33** (d, 1H, J₀ = 7,74 Hz, H_{5'}, H_{6'}) ; **7,47** (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; **8,00** (d, 1H, H_{3'}).

SM :

580 : M⁺

HPLC :

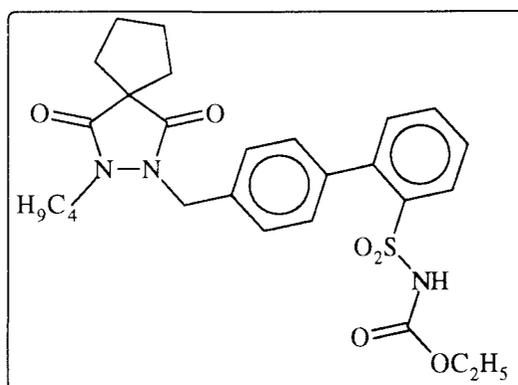
isocratique, colonne C8, 10% sol.A, 90% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	6,320	100%
254	6,318	100%
280	6,318	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	60,37	60,78
% H	7,19	6,68
% N	9,08	9,18

2-Butyl-3-[[2'-(éthoxycarbonylamino)sulfonyl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (104)



C ₂₇ H ₃₁ N ₃ O ₆ S	525,62 g.mol ⁻¹
---	----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
12	0,622 g	1,36	1	455,57 g.mol ⁻¹
hydrure de sodium	0,036 g	1,49	1,1	23,9 g.mol ⁻¹
chloroformiate d'éthyle	1,32 ml	13,6	10	108,5 g.mol ⁻¹ d = 1,115

MODE OPÉRATOIRE

L'hydrure de sodium est ajouté par portions à une solution du composé **12** dans 10 ml de diméthylformamide. Le mélange réactionnel est agité sous courant d'azote pendant 2 heures à 60 °C. Le chloroformiate d'éthyle est alors ajouté goutte à goutte. L'agitation est ensuite poursuivie à 60°C pendant 12 heures. Le milieu réactionnel est versé dans 150 ml d'eau et acidifié par une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. La phase aqueuse est extraite par deux fois 100 ml d'éther. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée. Le précipité formé est essoré, lavé à l'éther puis recristallisé.

rendement : 15%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,54 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 145 °C (alcool à 95°)

IR : 3160, 3060, 3080 : NH
2960, 2860 : CH
1725, 1680 : CO

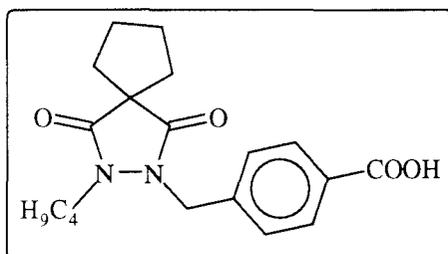
RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,84 (t, 3H, CH₃CH₂CH₂CH₂N) ; **1,07** (t, 3H, CH₃CH₂O) ; **1,17** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂N) ; **1,41** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,85** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,52** (q, 2H, CH₃CH₂O) ; **3,96** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,89** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,31** (m, 5H, H_{aromatique}) ; **7,63** (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; **8,06** (d, 1H, H_{3'}) ; **11,58** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

II.1.4.2. Dérivés ne possédant pas la structure biphényle

II.1.4.2.1. Dérivés comportant un groupement 4-(2-carboxyphénylaminocarbonyl)benzyle

2-Butyl-3-(4-carboxybenzyl)-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (21)



C₁₉H₂₄N₂O₄

344,41 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
84a	2 g	5,57	1	358,43 g.mol ⁻¹
acide chlorhydrique 12N	5ml	60	10	

MODE OPÉRATOIRE

La solution d'acide chlorhydrique concentrée est ajoutée à une solution du composé **84a** dans 100 ml d'acide acétique. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 10 heures. Le solvant est évaporé sous vide. On ajoute de l'eau. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis à l'éther et recristallisé.

rendement : 89%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,48 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

F : 106 °C (alcool à 95°/eau : 1/1)

IR : 3300 - 2500 : COOH
2950, 2930, 2800 : CH
1720, 1700, 1650 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,80 (t, 3H, ³J = 7,37 Hz, CH₃CH₂) ; **1,12** (sext, 2H, ³J = 7,48 Hz, CH₃CH₂) ; **1,25** (quint, 2H, ³J = 7,50 Hz, CH₃CH₂CH₂) ; **1,80** (m, 8H, Htétraméthylène) ; **3,46** (t, 2H, ³J = 6,97 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,87** (s, 2H, NCH₂) ; **7,40** (d, 2H, J₀ = 8,15 Hz, H₃, H₅) ; **7,91** (d, 2H, J₀ = 8,15 Hz, H₂, H₆) ; **13,02** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, COOH).

SM :

344 : M⁺
282 : M - (·CH₂CH₂CH₃)
209 : M - (·CH₂C₆H₄COOH(p))
135 : M

HPLC :

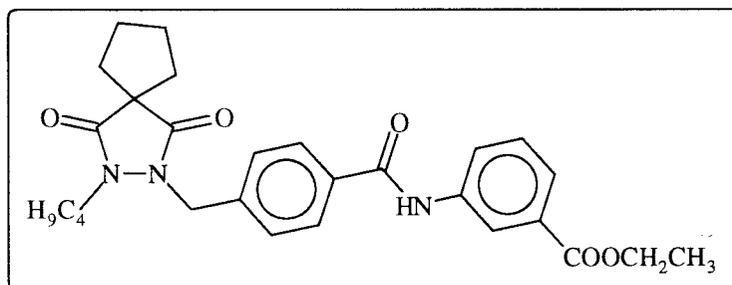
isocratique, colonne C8, 20% sol.A, 80% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	6,179	100%
254	6,177	100%
280	6,179	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	66,26	66,37
% H	7,02	7,10
% N	8,13	8,06

2-Butyl-3-[4-(3-carboéthoxyphénylaminocarbonyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (110)



$C_{28}H_{33}N_3O_5$	$491,58 \text{ g.mol}^{-1}$
----------------------	-----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
21	1,5 g	4,35	1	$344,41 \text{ g.mol}^{-1}$
chlorure de thionyle	1,27 ml	17,4	4	$118,97 \text{ g.mol}^{-1}$ d = 1,631
3-amino benzoate d'éthyle	0,72g	4,35	1	$165,19 \text{ g.mol}^{-1}$
triéthylamine	1,82ml	13,06	3	$101,19 \text{ g.mol}^{-1}$ d = 0,726

MODE OPÉRATOIRE

Etape 1 : formation du chlorure d'acide

Le chlorure de thionyle est ajouté goutte à goutte à une solution froide (0°C) du composé **21** dans 100 ml de dichlorométhane anhydre. Le milieu réactionnel est ensuite laissé sous agitation pendant 1 heure à température ambiante puis pendant 10 heures à reflux. Le solvant ainsi que l'excès de chlorure de thionyle sont ensuite évaporés sous vide. On ajoute de l'éther de pétrole. Le précipité formé est essoré, séché au dessiccateur par de l'anhydride phosphorique. Il est utilisé tel quel pour l'étape suivante.

rendement : 86%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,50 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$: 4/6)

F : $103,1^{\circ}\text{C}$

IR : 2960, 2920, 2860 : CH
1775, 1730, 1680 : C=O

Etape 2 : amidification

La triéthylamine est ajoutée à une solution de 3-aminobenzoate d'éthyle dans 100 ml de dichlorométhane anhydre. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 1 heure à

température ambiante puis il est refroidi à 0°C. Une solution du chlorure d'acide préparé auparavant est alors ajouté goutte à goutte au milieu réactionnel. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé sous vide. On ajoute 200 ml d'éther puis la phase organique est lavée successivement à l'eau, avec une solution aqueuse 1N d'acide chlorhydrique puis avec une solution aqueuse 1N d'hydroxyde de sodium. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du sel et concentration de la solution, on obtient un précipité qui est essoré, lavé à l'éther puis recristallisé.

rendement : 78%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,57 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 140,9 - 142,3 °C (AcOEt)

IR : 3350 : NH
2940, 2920, 2860 : CH
1710, 1670 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,81 (t, 3H, ³J = 7,33 Hz, CH₃CH₂) ; **1,18** (sext, 2H, CH₃CH₂) ; **1,31** (t, 3H, ³J = 7,13 Hz, CH₃CH₂O) ; **1,40** (quint, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,80** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, ³J = 7,12 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,31** (q, 2H, ³J = 7,13 Hz, CH₃CH₂O) ; **4,90** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,42** (d, 2H, J_o = 8,14 Hz, H₃, H₅) ; **7,50** (t, 1H, J_o = 7,98 Hz, H_{5'}) ; **7,70** (d, 1H, J_o = 7,87 Hz, H₆) ; **7,95** (d, 2H, J_o = 8,14 Hz, H₂, H₆) ; **8,05** (d, 1H, J_o = 8,14 Hz, H_{4'}) ; **8,40** (s, 1H, H_{2'}) ; **10,48** (signal, 1H, NH).

SM :

491 : M⁺
282 : M (+CH₂C₆H₅CONHC₆H₄CO₂C₂H₅)

HPLC :

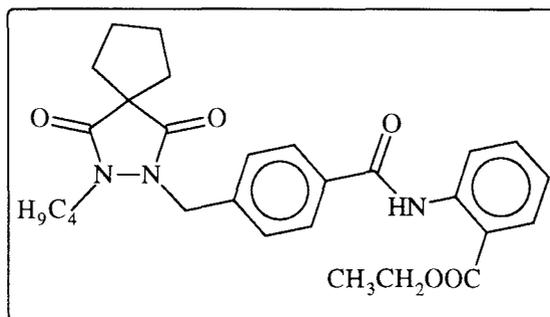
isocratique, colonne C8, 10% sol.A, 90% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	7,639	100%
254	7,639	100%
280	7,638	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	68,41	68,22
% H	6,76	6,80
% N	8,54	8,74

2-Butyl-3-[4-(2-carboéthoxyphénylamino)carbonyl]benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (109)



$C_{28}H_{33}N_3O_5$

491,58 g.mol⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Il est identique à celui adopté pour l'obtention du produit **110**

rendement : 90%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,44 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 100,3°C (cyclohexane)

IR : 3270 : NH
2950, 2860 : CH
1720, 1680 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,81 (t, 3H, ³J = 7,05 Hz, CH₃CH₂) ; **1,13** (sext, 2H, CH₃CH₂) ; **1,30** (t, 3H, CH₃CH₂O) ; **1,36** (quint, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,82** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,51** (t, 2H, ³J = 6,57 Hz, NCH₂CH₂) ; **4,35** (q, 2H, ³J = 7,13 Hz, CH₃CH₂O) ; **4,91** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,25** (t, 1H, J_o = 7,5 Hz, H_{5'}) ; **7,50** (d, 2H, J_o = 7,53 Hz, H₃, H₅) ; **7,68** (t, 1H, J_o = 7,53 Hz, H_{4'}) ; **7,98** (d, 2H, J_o = 7,53 Hz, H₂, H₆) ; **8,02** (d, 1H, H_{6'}) ; **8,5** (d, 1H, H_{3'}) ; **11,54** (signal, 1H, échangeable dans D₂O, NH).

HPLC :

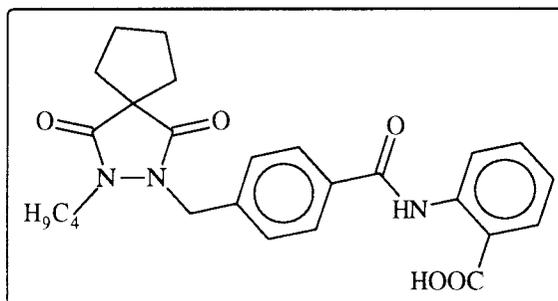
isocratique, colonne C8, 30% sol.A, 70% sol.B

λ (nm)	tr(min)	pureté
230	11,05	100%
254	11,05	100%
280	11,05	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C		
% H		
% N		

2-Butyl-3-[4-(2-carboxyphénylaminocarbonyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (17)



$C_{26}H_{29}N_3O_5$	$463,53 \text{ g.mol}^{-1}$
----------------------	-----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
109	0,520 g	1,05	1	$491,58 \text{ g.mol}^{-1}$
hydroxyde de sodium	0,084 g	2,11	2	40 g.mol^{-1}

MODE OPÉRATOIRE

Le composé **109** est mis en suspension dans 100 ml d'une solution alcool à 95°/eau : 1/1. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 10 heures à température ambiante. L'alcool est évaporé sous vide puis on ajoute 100 ml d'eau au milieu réactionnel. La phase aqueuse est lavée à l'éther puis acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le précipité obtenu est essoré, lavé à l'eau, à l'éther puis recristallisé.

rendement : 22%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,32 ($CH_2Cl_2/MeOH$: 9/1)

F : 202,1 °C (acétone)

IR : 3320 : NH
 3280-2500 : COOH
 2940, 2920, 2850 : CH
 1720, 1675, 1660 : C=O

RMN (^1H , 300 MHz, DMSO- d_6) :

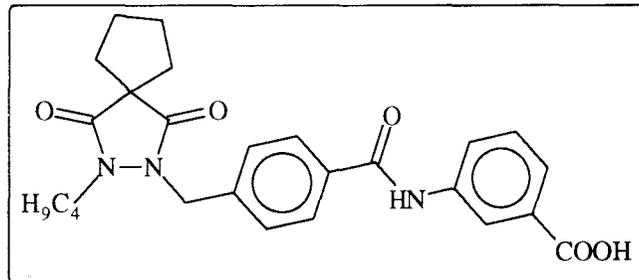
0,81 (t, 3H, CH_3CH_2) ; **1,12** (sext, 2H, CH_3CH_2) ; **1,35** (quint, 2H, NCH_2CH_2) ; **1,80** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, $^3J = 6,42$ Hz, NCH_2CH_2) ; **4,90** (s, 2H, NCH_2Ar) ; **7,20** (t, 1H, $J_0 = 7,38$ Hz, H_4') ; **7,51** (d, 2H, $J_0 = 8,37$ Hz, H_3 , H_5) ; **7,65** (t, 1H, H_5') ; **8,00** (d, 2H, $J_0 = 8,33$ Hz, H_2 , H_6) ; **8,10** (d, 1H, H_6') ; **8,70** (d, 1H, H_3') ; **12,00** (signal, 1H, échangeable dans D_2O , NH) ; **12,30** (signal, 1H, échangeable partiellement dans D_2O , COOH).

HPLC :

isocratique, colonne C8, 25% sol.A, 75% sol.B

$\lambda(\text{nm})$	tr(min)	pureté
230	8,48	100%
254	8,48	100%
280	8,48	100%

2-Butyl-3-[4-(3-carboxyphénylaminocarbonyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (19)



$\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_5$	$463,53 \text{ g.mol}^{-1}$
--	-----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
110	0,76 g	1,54	1	$491,58 \text{ g.mol}^{-1}$
hydroxyde de sodium	0,185 g	4,62	3	40 g.mol^{-1}

MODE OPÉRATOIRE

Le composé **110** est mis en suspension dans 100 ml d'une solution alcool à 95°/eau : 1/1. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 2 heures à température ambiante puis il est chauffé à 50°C pendant 3 heures. L'alcool est évaporé sous vide puis on ajoute 100 ml d'eau au milieu réactionnel. La phase aqueuse est lavée à l'éther puis acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le précipité obtenu est essoré, lavé à l'eau, à l'éther puis recristallisé.

rendement : 40%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,48 (AcOEt)

F : 156,7 °C (alcool à 95°)

IR : 3320 : NH
3280 - 2500 : COOH
2940, 2920, 2850 : CH
1720, 1670, 1650 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,90 (t, 3H, $^3J = 7,06$ Hz, CH_3CH_2) ; **1,20** (sext, 2H, CH_3CH_2) ; **1,40** (quint, 2H, NCH_2CH_2) ; **1,80** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,48** (t, 2H, $^3J = 6,84$ Hz, NCH_2CH_2) ; **4,89** (s, 2H, NCH_2Ar) ; **7,40** (m, 3H, H_5' , H_3 , H_5) ; **7,67** (d, 1H, $J_0 = 7,51$ Hz, H_6') ; **7,95** (d, 2H, $J_0 = 7,75$ Hz, H_2 , H_6) ; **8,01** (d, 1H, $J_0 = 7,89$ Hz, H_4') ; **8,40** (s, 1H, H_2') ; **10,42** (signal, 1H, NH) ; **13,00** (signal, 1H, échangeable dans D_2O , COOH).

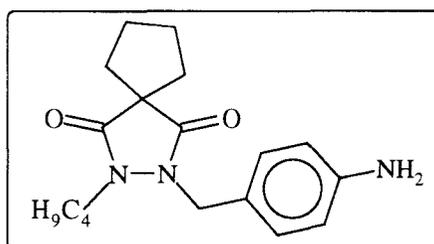
HPLC :

isocratique, colonne C8, 25% sol.A, 75% sol.B

λ (nm)	tr(min)	pureté
230	9,600	99,34%
254	9,598	99,41%
280	9,598	99,11%

II.1.4.2.2. Dérivé substitué par un groupe 4-(2-carboxybenzamido)benzyle

3-[(4-Aminobenzyl)-2-butyl-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (111)



$C_{18}H_{25}N_3O_2$

315,41 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
85a	3,95g	11,43	1	345,41 g.mol ⁻¹
chlorure d'étain	10,84g	57,18	5	189,61 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Le chlorure d'étain est ajouté à une solution du composé **85a** dans 70 ml d'alcool à 95° auquel on ajoute 2 ml d'eau. Le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. L'alcool est évaporé sous vide. Le résidu est solubilisé dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau, avec une solution aqueuse 1N d'hydroxyde de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant sous vide, le résidu est solubilisé dans l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau, avec une solution aqueuse 1N d'hydroxyde de sodium puis séchée sur sulfate de magnésium. Après évaporation du solvant sous vide, on obtient une poudre qui est lavée à l'éther et utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

rendement : 78%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,55 (hexane/AcOEt : 4/6)

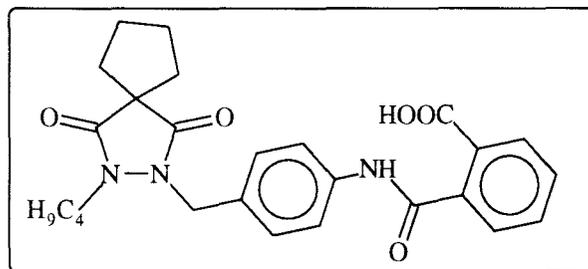
F : 95,2 °C (alcool à 95°)

IR : 3400, 3340, 3220 : NH
2930, 2900, 2840 : CH
1700, 1660 : CO

RMN (¹H, 300 MHz, CDCl₃) :

0,90 (t, 3H, ³J = 7,23 Hz, CH₃CH₂) ; **1,25** (sext, 2H, CH₃CH₂) ; **1,49** (quint, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,92** (m, 8H, Htétraméthylène) ; **3,51** (t, 2H, ³J = 7,23 Hz, NCH₂CH₂) ; **3,72** (signal, 2H, NH₂) ; **4,65** (s, 2H, NCH₂C₆H₄NO₂(p)) ; **6,60** (d, 2H, J_o = 8,40 Hz, H₂, H₆) ; **7,00** (d, 2H, J_o = 8,49 Hz, H₃, H₅).

2-Butyl-3-[4-(2-carboxybenzamido)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (16)



$C_{26}H_{29}N_3O_5, H_2O$	$479,53 \text{ g.mol}^{-1}$
----------------------------	-----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
111	1 g	3,17	1	$315,41 \text{ g.mol}^{-1}$
anhydride phtalique	0,47 g	3,17	1	$189,61 \text{ g.mol}^{-1}$

MODE OPÉRATOIRE

L'anhydride phtalique est ajouté à une solution du composé **111** dans 50 ml de pyridine. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 1 heure à température ambiante ; il est versé dans l'eau puis acidifié avec une solution aqueuse 6N d'acide chlorhydrique. Le précipité formé est lavé à l'eau puis recristallisé.

rendement : 65%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,49 ($CH_2Cl_2/MeOH$: 8/2)

F : 140 °C (acétonitrile)

IR : 3430, 3260 : NH
 2940, 2920, 2860 : CH
 1710, 1670, 1640, 1590 : C=O

RMN (300 MHz, $CDCl_3$) :

0,84 (t, 3H, $^3J = 7,35 \text{ Hz}$, \underline{CH}_3CH_2) ; **1,18** (sext, 2H, \underline{CH}_3CH_2) ; **1,42** (quint, 2H, $NCH_2\underline{CH}_2$) ; **1,81** (massif, 8H, Htétraméthylène) ; **3,50** (t, 2H, $^3J = 6,84 \text{ Hz}$, $NCH_2\underline{CH}_2$) ; **4,76** (s, 2H, NCH_2Ar) ; **7,23** (d, 2H, $J_0 = 7,89 \text{ Hz}$, H_3, H_5) ; **7,61** (m, 2H, $H_{4'}, H_{5'}$) ; **7,68** (m, 3H, $H_2, H_6, H_{6'}$) ; **7,87** (d, 1H, $J_0 = 7,35 \text{ Hz}$, $H_{3'}$) ; **10,4** (signal, 1H, NH) ; **13,05** (signal, 1H, échangeable dans D_2O , NH).

HPLC :

isocratique, colonne C8, 40% sol.A, 60% sol.B

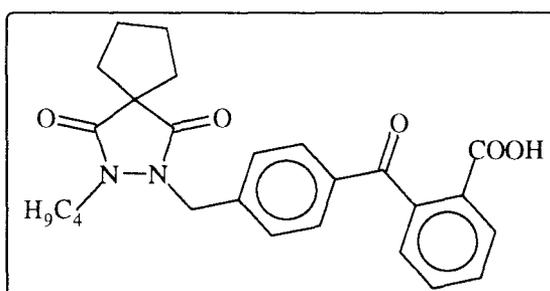
λ (nm)	tr(min)	pureté
230	7,650	99,75%
254	7,653	99,58%
280	7,650	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	64,85	65,05
% H	6,48	6,64
% N	8,72	8,96

II.1.4.2.3. Dérivé substitué par un groupe 4-(2-carboxybenzoyl)benzyle

2-Butyl-3-[4-(2-carboxybenzoyl)benzyl]-2,3-diazaspiro[4.4]nonan-1,4-dione (18)



$C_{26}H_{28}N_2O_2$

448,51 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
98	0,880 g	1,93	1	462,54 g.mol ⁻¹
acide chlorhydrique 12N	5ml	60	31	

MODE OPÉRATOIRE

Une solution d'acide chlorhydrique concentrée est ajoutée à une solution du composé **98** dans 100 ml d'acide acétique. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 10 heures. Le solvant est évaporé sous vide. On ajoute de l'eau. Le précipité formé est essoré, lavé à l'eau puis à l'éther et recristallisé.

rendement : 77%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,5 (CH₂Cl₂/EtOH : 95/5)

F : 144,2 °C (cyclohexane)

IR : 3300 - 2500 : COOH
2940, 2920, 2860 : CH
1710, 1650 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,78 (t, 3H, ³J = 7,32 Hz, CH₃CH₂) ; 1,14 (m, 2H, CH₃CH₂) ; 1,35 (m, 2H, NCH₂CH₂) ; 1,95 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; 3,45 (m, 2H, NCH₂CH₂) ; 4,87 (s, 2H, NCH₂Ar) ; 7,36 (m, 3H, H_{aromatique}) ; 7,61 (m, 4H, H_{aromatique}) ; 7,97 (d, 1H, H_{3'}) ; 13,19 (signal, 1H, échangeable dans D₂O, COOH).

HPLC :

isocratique, colonne C8, 30% sol.A, 70% sol.B

λ(nm)	tr(min)	pureté
230	7,912	100%
254	7,910	100%
280	7,912	100%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	69,62	69,43
% H	6,29	6,42
% N	6,24	6,40

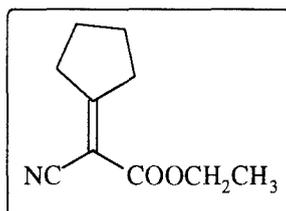
II.2. PYRIDAZINE-3,6-DIONE N,N'-DISUBSTITUÉES

II.2.1. Obtention des pyridazine-3,6-diones N-substituées (synthons A')

II.2.1.1. Obtention des pyridazine-3,6-diones N-benzylées 112a et 112b

II.2.1.1.1. Préparation du diester succinique 118

Cyclopentylidèncyanoacétate d'éthyle (114)



C₁₀H₁₃NO₂

179,22 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mol	équivalent	caractéristiques
cyclopentanone	10 ml	0,113	1	84,12 g.mol ⁻¹ d = 0,951
cyanoacétate d'éthyle	12,03 ml	0,113	1	113,12 g.mol ⁻¹ d = 1,063
acétate d'ammonium	1,74 g	0,0226	0,2	77,08 g.mol ⁻¹
acide acétique glacial	5,17 ml	0,090	0,8	60,05 g.mol ⁻¹ d = 1,049

MODE OPÉRATOIRE

La cyclopentanone, le cyanoacétate d'éthyle, l'acétate d'ammonium et l'acide acétique sont ajoutés successivement dans 200 ml de cyclohexane. Le mélange réactionnel surmonté d'un appareil de Dean Stark est chauffé à 180°C pendant 5 heures. L'eau qui se forme est régulièrement soutirée du milieu réactionnel. Le mélange est refroidi et le précipité formé est lavé à l'eau puis recristallisé.

rendement : 64 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,79 (hexane/AcOEt : 6/4)

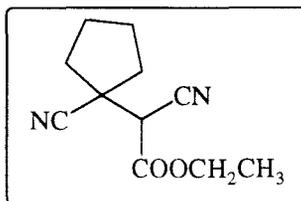
F : 57,8 °C (cyclohexane)

IR : 3010, 2930 : CH
2260 : CN
1740 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,34 (t, 3H, ³J = 7,13 Hz, CH₃CH₂) ; **1,88** (m, 4H, H_{cyclopentyl}) ; **2,80** (t, 2H, H_{cyclopentyl}) ; **3,00** (t, 2H, H_{tétraméthylène}) ; **4,27** (q, 2H, ³J = 7,13 Hz, CH₃CH₂).

2-(1-Cyanocyclopentyl)cyanoacétate d'éthyle (115)



C₁₁H₁₄N₂O₂

206,24 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
114	10,6 g	59,14	1	179,22 g.mol ⁻¹
cyanure de potassium	4,23 g	65,06	1,1	65,12 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Une solution de cyanure de potassium dans 50 ml d'eau est ajoutée goutte à goutte à température ambiante à une solution du composé **114** dans 50 ml d'alcool à 95°. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 3 heures à température ambiante. Après évaporation de l'alcool sous vide, le milieu réactionnel est repris par 100 ml d'éther. La phase organique est lavée à l'eau, avec une solution aqueuse saturée d'hydrogencarbonate de sodium, à l'eau puis séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation du solvant, on obtient une huile qui est utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

rendement : 77 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

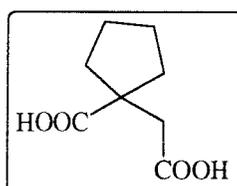
Rf : 0,55 (hexane/AcOEt : 6/4)

IR : 2960, 2880 : CH
2238 - 2242 : CN
1740 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,48 (t, 3H, $^3J = 7,16$ Hz, CH_3CH_2) ; **1,90** (m, 6H, $\text{H}_{\text{cyclopentyl}}$) ; **2,37** (m, 2H, $\text{H}_{\text{tétraméthylène}}$) ; **3,76** (s, 1H, CHCN) ; **4,32** (q, 2H, $^3J = 7,16$ Hz, CH_3CH_2).

Acide 2,2-tétraméthylènesuccinique (117)



$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{O}_4$	172,18 g.mol ⁻¹
-------------------------------------	----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
115	9,4 g	45,57	1	206,24 g.mol ⁻¹
acide chlorhydrique 12N	76 ml	911,4	20	

MODE OPÉRATOIRE

Une solution aqueuse d'acide chlorhydrique concentrée est ajoutée à une solution du composé **115** dans 30 ml d'acide acétique. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 12 heures puis extrait par l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur sulfate de magnésium. Après filtration du sel puis évaporation du solvant sous vide on obtient une huile.

Après agitation vigoureuse dans l'éther de pétrole, il se forme un précipité qui est essoré puis recristallisé.

rendement : 51 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,24 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

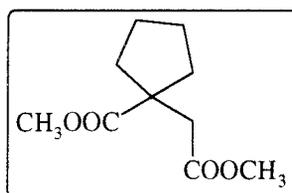
F : 154,9 - 159,2 °C (acétonitrile)

IR : 3600 - 2200 : COOH
2960, 2860 : CH
1700 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,60 (m, 6H, H_{tétraméthylène}); **2,00** (m, 2H, H_{tétraméthylène}); **2,55** (s, 2H, CH₂COOH); **12,00** (signal, 2H, échangeables dans D₂O, COOH).

2,2-Tétraméthylènesuccinate de méthyle (118)



C ₁₀ H ₁₆ O ₄	200,23 g.mol ⁻¹
--	----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
117	2,63 g	15,27	1	172,18 g.mol ⁻¹
chlorure de thionyle	4,45 ml	61,1	4	118,97 g.mol ⁻¹ d = 1,631

MODE OPÉRATOIRE

Le chlorure de thionyle est ajouté goutte à goutte à une solution froide (0°C) du composé **117** dans le méthanol. Le mélange réactionnel est ensuite laissé sous agitation pendant 12 heures à température ambiante. Après évaporation du solvant sous vide, le résidu est dissous dans l'éther. La phase organique est lavée avec une solution aqueuse à 10% de bicarbonate de sodium puis séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel puis évaporation du solvant, on obtient une huile qui est utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

rendement : 81 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,68 (hexane/AcOEt : 6/4)

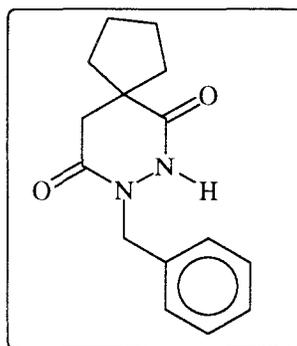
IR : 2940, 2870 : CH
1730 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,51 - 1,72 (m, 6H, H_{tétraméthylène}); 2,15 (m, 2H, H_{tétraméthylène}) ; 2,69 (s, 2H, CH₂) ;
3,69 (s, 6H, CH₃).

II.2.1.1.2. Etape de cyclisation

8-Benzyl-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (112a)



C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₂	258,32 g.mol ⁻¹
---	----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
118	4 g	19,9	1	200,23 g.mol ⁻¹
dichlorhydrate de benzylhydrazine	3,89 g	19,9	1	195,09 g.mol ⁻¹
sodium	1,39 g	83	4,2	22,98 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Le sodium est préalablement introduit par portions dans un ballon contenant 100 ml de méthanol. Le dichlorhydrate de benzylhydrazine est ajouté au milieu réactionnel qui est ensuite laissé sous agitation à température ambiante pendant 1 heure. L'éthanol est évaporé sous vide. Le solide obtenu est mis en suspension dans le chlorobenzène. Une solution du composé **118** dans 20 ml de chlorobenzène est ajoutée goutte à goutte puis le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 72 heures. Le solide obtenu après évaporation du solvant sous vide est mis en suspension dans une solution aqueuse acide qui est extraite par l'éther. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée après filtration. Le précipité formé est essoré, lavé à l'éther puis recristallisé.

rendement : 37 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,35 (hexane/AcOEt : 4/6)

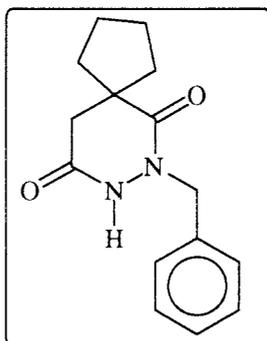
F : 130,6 °C (acétonitrile)

IR : 3180 - 3100 : NH
2950, 2920, 2850 : CH
1740 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,41 (m, 2H, H_{tétraméthylène}); **1,67** (m, 4H, H_{tétraméthylène}) ; **1,90** (m, 2H, H_{tétraméthylène}) ; **2,57** (s, 2H, CH₂CO) ; **4,76** (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; **7,30** (m, 5H, H_{aromatique}) ; **9,64** (s, signal, 1H, échangeable en partie dans D₂O).

7-Benzyl-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (112b)



C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₂	258,32 g.mol ⁻¹
---	----------------------------

MODE OPÉRATOIRE

Produit secondaire isolé au cours de la réaction conduisant à l'obtention du régioisomère **112a**

rendement : 10 %

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,45 (hexane/AcOEt : 4/6)

F : 135,5 °C (acétate d'éthyle)

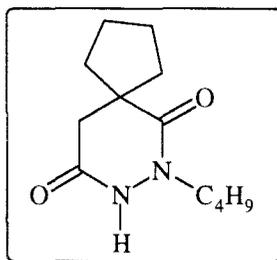
IR : 3200 - 3140 : NH
2940, 2900, 2860 : CH
1680 - 1625 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

1,53 (m, 2H, H_{tétraméthylène}); **1,74** (m, 4H, H_{tétraméthylène}) ; **2,17** (m, 2H, H_{tétraméthylène}) ; **2,52** (s, 2H, CH₂CO) ; **4,78** (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; **7,32** (m, 5H, H_{aromatique}) ; **9,23** (s, signal, 1H, échangeable en partie dans D₂O).

II.2.1.2. Obtention de la 1-butylpyridazine-3,6-dione 123a

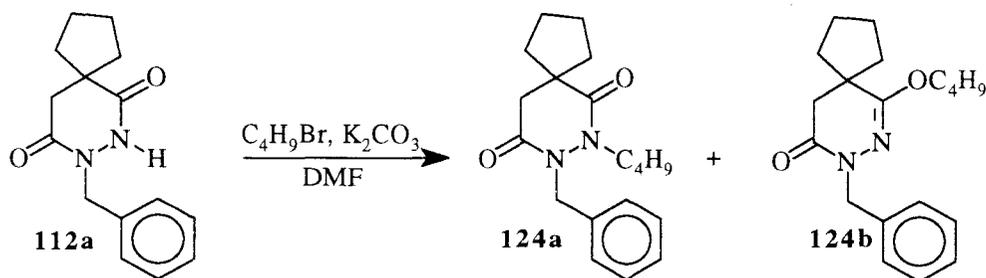
7-Butyl-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (123a)



$C_{12}H_{20}N_2O_2$

224,30 g.mol⁻¹

Etape 1 : alkylation de la 8-benzyl-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione par le 1-bromobutane



réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
112a	1,37 g	5,3	1	258,32 g.mol ⁻¹
carbonate de potassium	2,19 g	15,9	3	138,17 g.mol ⁻¹
1-bromobutane	0,68 ml	6,36	1,2	137,03 g.mol ⁻¹ d = 1,276

MODE OPÉRATOIRE

Le carbonate de potassium est ajouté par portions à une solution du composé **112a** dans le diméthylformamide. Le mélange est laissé sous agitation pendant 1 heure à température ambiante ; le 1-bromobutane est alors ajouté goutte à goutte au milieu réactionnel. L'agitation est poursuivie pendant 20 heures à température ambiante puis le mélange est versé dans 200 ml d'eau. La phase aqueuse alcaline est extraite par deux fois 100 ml d'acétate d'éthyle. Après séchage de la phase organique sur du sulfate de magnésium, filtration du sel et évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est utilisée telle quelle pour l'étape suivante.

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : **124a** : 0,52 (hexane/AcOEt : 6/4)
124b : 0,52 (hexane/AcOEt : 6/4)

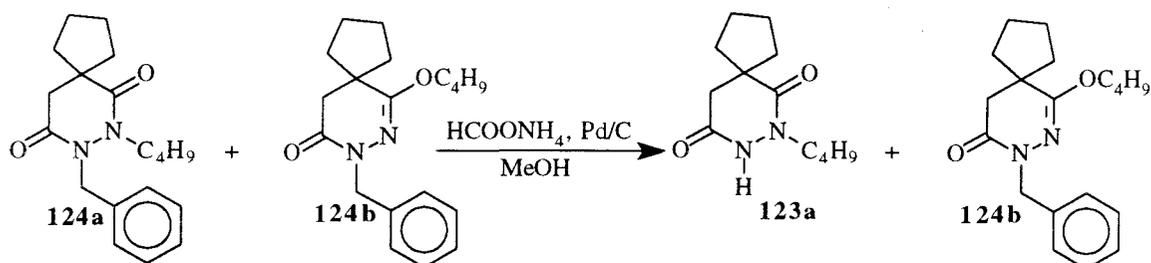
IR : 1660, 1620 : C=O, C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

remarque : signaux caractéristiques permettant de déterminer les pourcentages relatifs (50/50) des deux isomères

3,97 (t, 2H, OCH₂) ; **3,76** (t, 2H, NCH₂).

Etape 2 : débenzylation



réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
mélange 124a + 124b	9 g	17,5	1	314,42 g.mol ⁻¹
formiate d'ammonium	5,51g	87,5	5	63,06 g.mol ⁻¹
Palladium sur charbon (10%)	2 g			

MODE OPÉRATOIRE

Le palladium sur charbon et le formiate d'ammonium sont ajoutés successivement à une solution du mélange des isomères O- et N-alkylés dans 100 ml de méthanol. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à 60°C pendant 1 heure. Le charbon palladié est alors essoré puis lavé avec une solution chaude d'alcool à 95°. Le filtrat est évaporé sous vide. L'huile obtenue est solubilisée dans une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium. La phase aqueuse est lavée deux fois à l'éther, acidifiée avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique puis extraite par l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est utilisée par la suite sans autre purification.

remarque : l'isomère O-alkylé ne subit pas la débenzylation ; il est récupéré dans la phase étherée

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES (123a)

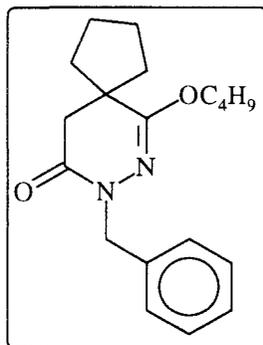
Rf : 0,38 (hexane/AcOEt : 4/6)

IR : 3160 : NH
2940, 2860 : CH
1685, 1635 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,87 (t, 3H, CH₃) ; 1,22 (m, 2H, CH₃CH₂) ; 1,42 - 1,8 (m, 8H, NCH₂CH₂, H_{tétraméthylène}) ; 2,10 (m, 2H, H_{tétraméthylène}) ; 2,48 (s, 2H, CH₂CO) ; 3,64 (t, 2H, NCH₂) ; 10,26 (signal, 1H, NH).

8-Benzyl-6-butyloxy-7,8-diazaspiro[4.5]déc-8-én-9-one (124b)



C₁₉H₂₆N₂O₂

314,42 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

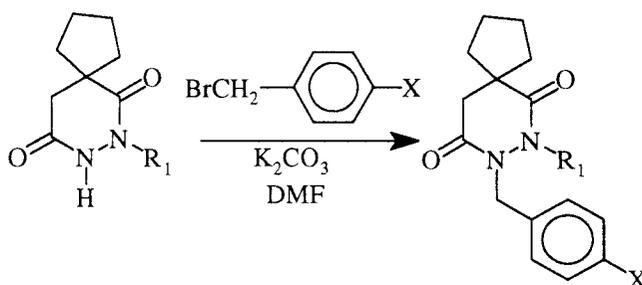
R_f : 0,53 (hexane/AcOEt : 6/4)

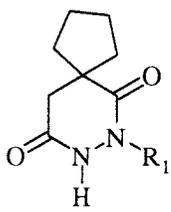
IR : 2940, 2860 : CH
1660 : C=O
1620 : C=N

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

0,91 (t, 3H, CH₃) ; 1,35 (m, 2H, CH₃CH₂) ; 1,47 - 1,70 (m, 8H, CH₃CH₂CH₂, H_{tétraméthylène}) ; 1,90 (m, 2H, H_{tétraméthylène}) ; 2,45 (s, 2H, CH₂CO) ; 4,00 (t, 2H, NCH₂) ; 4,80 (t, 2H, OCH₂) ; 7,30 (m, 5H, H_{aromatique}).

II.2.2. Obtention des pyridazine-3,6-dione N,N'-disubstituées

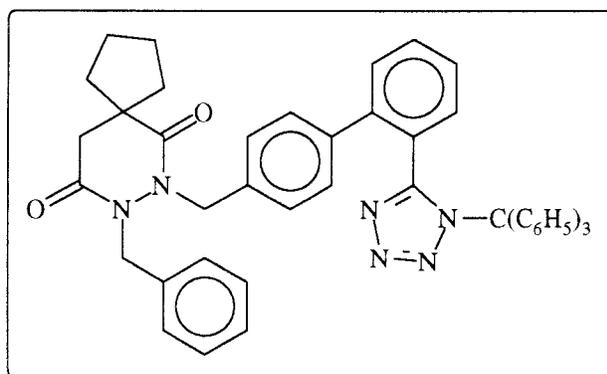


réactifs	équivalent
	1,5
BrCH ₂ C ₆ H ₄ X(p)	1
carbonate de potassium	3

MODE OPÉRATOIRE GÉNÉRAL

Le carbonate de potassium est ajouté par portions à une solution de la pyridazine-3,6-dione N-substituée appropriée dans le diméthylformamide. Le mélange est laissé sous agitation pendant 1 heure à température ambiante ; le dérivé bromé choisi est alors ajouté en 1 fois au milieu réactionnel. L'agitation est poursuivie pendant 20 heures à température ambiante puis le mélange est versé dans l'eau. La phase aqueuse alcaline est extraite par l'éther. Après séchage de la phase organique sur du sulfate de magnésium et filtration du sel on obtient une huile. Le produit attendu est isolé soit par chromatographie sur colonne soit par précipitation dans un solvant donné suivi d'une recristallisation.

8-Benzyl-7-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (127)



C ₄₈ H ₄₂ N ₆ O ₂	734,89 g.mol ⁻¹
---	----------------------------

rendement : 51%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,38 (hexane/AcOEt : 7/3)

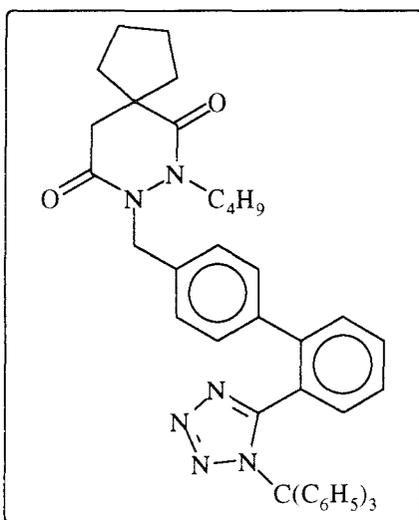
F : 202 °C (AcOEt)

IR : 2940, 2920 : CH
1670 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,16 (massif, 2H, H_{tétraméthylène}) ; 1,47 (massif, 6H, H_{tétraméthylène}) ; 2,33 (s, 2H, CH₂CO) ; 4,73 (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; 4,92 (s, 2H, NCH₂BP) ; 6,88 (m, 6H, H_{6'}, CH₂C₆H₅) ; 7,27 (m, 4H, H_{aromatique}) ; 7,36 (m, 15H, H_{aromatique}) ; 7,55 (m, 2H, H_{4'}, H_{5'}) ; 7,80 (t, 1H, H_{3'}).

7-Butyl-8-[[2'-[1-(triphénylméthyl)-1H-tétrazol-5-yl]-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (128)



C₄₅H₄₄N₆O₂

700,88 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

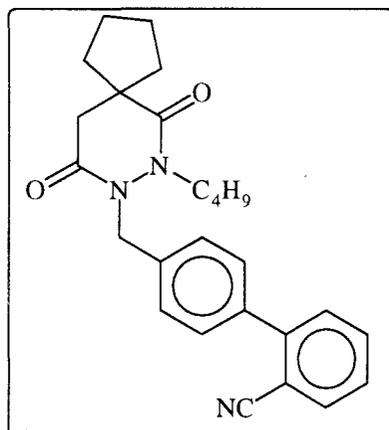
purification par chromatographie sur colonne :
éluant : hexane/AcOEt : 8/2

R_f : 0,37 (hexane/AcOEt : 7/3)

F : 88 °C ()

IR : 2950, 2920, 2860 : CH
1660 : C=O

7-Butyl-8-[[2'-cyano-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (129a)



$C_{26}H_{29}N_3O_2$

415,53 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

purification par chromatographie sur colonne :
éluant : hexane/AcOEt : 78/22

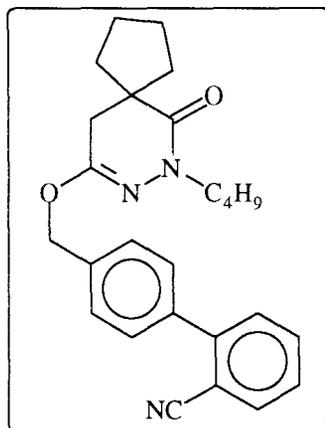
Rf : 0,22 (hexane/AcOEt : 7/3)

IR : 2940, 2920, 2860 : CH
2220 : nitrile
1660 : C=O

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,88 (t, 3H, CH₃) ; **1,24** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,45** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,60** (massif, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **2,51** (s, 2H, COCH₂) ; **3,79** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,86** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,45** (m, 6H, H₂, H₃, H₅, H₆, H_{5'}, H_{6'}) ; **7,62** (m, 1H, H_{4'}) ; **7,76** (d, 1H, H_{3'}).

7-Butyl-9-[[2'-cyano-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyloxy]-7,8-diazaspiro[4.5]déc-8-én-6-one (129b)



$C_{26}H_{29}N_3O_2$

415,53 g.mol⁻¹

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

purification par chromatographie sur colonne :
éluant : hexane/AcOEt : 78/22

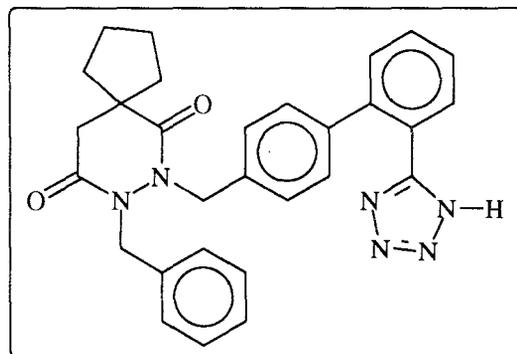
Rf : 0,40 (hexane/AcOEt : 7/3)

IR : 2940, 2860 : CH
2220 : nitrile
1730 : C=O
1660 : C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,92 (t, 3H, CH₃) ; **1,31** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,48** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,57 - 1,80** (massif, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **2,50** (s, 2H, COCH₂) ; **3,70** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **5,2** (s, 2H, OCH₂Ar) ; **7,68** (m, 6H, H₂, H₃, H₅, H₆, H_{5'}, H_{6'}) ; **7,68** (m, 1H, H_{4'}) ; **7,80** (d, 1H, H_{3'}).

8-Benzyl-7-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (126)



C₂₉H₂₈N₆O₂, H₂O

510,57 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
127	1,87 g	2,54	1	734,89 g.mol ⁻¹
acide chlorhydrique 12N	4,24 ml	51	20	

MODE OPÉRATOIRE

Une solution d'acide chlorhydrique concentrée est ajoutée à une solution du composé **127** dans un mélange eau / acide acétique 1/5. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 12 heures. L'acide acétique est évaporé sous vide. On ajoute 100 ml d'eau. La phase aqueuse est alcalinisée avec une solution aqueuse 2N d'hydroxyde de sodium, lavée à l'éther puis acidifiée goutte à goutte avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le milieu réactionnel est extrait par deux fois 100 ml d'éther. La phase organique est ensuite lavée à l'eau, séchée sur sulfate de magnésium puis concentrée après filtration. Le précipité formé est essoré, lavé à l'éther puis recristallisé.

rendement : 30%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,6 (CH₂Cl₂/MeOH : 9/1)

F : 182,8 °C (AcOEt)

IR : 2960 : CH
1700, 1630 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

1,10 (massif, 2H, H_{tétraméthylène}) ; **1,48** (massif, 6H, H_{tétraméthylène}) ; **2,36** (s, 2H, COCH₂) ; **4,76** (s, 2H, NCH₂C₆H₅) ; **4,92** (s, 2H, NCH₂BP) ; **7,10** (m, 4H, H₂, H₃, H₅, H₆) ; **7,27** (m, 5H, CH₂C₆H₅) ; **7,62** (m, 4H, H_{3'}, H_{4'}, H_{5'}, H_{6'}) .

HPLC :

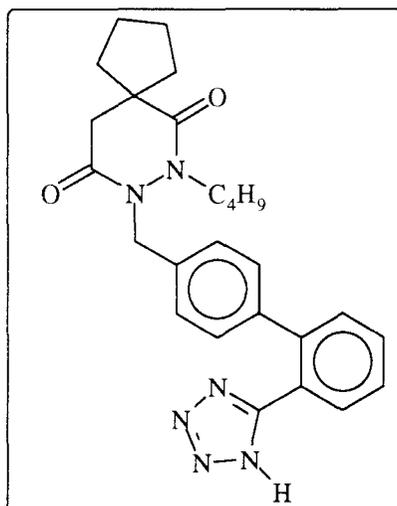
isocratique, colonne C8, 20% sol.A, 80% sol.B

λ (nm)	tr(min)	pureté
230	4,91	99,71%
254	4,91	99,60%
280	4,91	98,99%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	68,21	68,25
% H	5,92	5,77
% N	16,45	16,41

7-Butyl-8-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)-(1,1'-biphényl)-4-yl]méthyl]-7,8-diazaspiro[4.5]décan-6,9-dione (30a)



$C_{26}H_{30}N_6O_2$

$458,56 \text{ g.mol}^{-1}$

METHODE A

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
128	0,87 g	1,24	1	$700,88 \text{ g.mol}^{-1}$
acide chlorhydrique 12N	2,06 ml	24	20	

MODE OPÉRATOIRE

Une solution d'acide chlorhydrique concentrée est ajoutée à une solution du composé **128** dans 50 ml d'un mélange eau / tétrahydrofurane 1/4. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation pendant 8 heures à température ambiante. Le tétrahydrofurane est évaporé sous vide. On ajoute 100 ml d'eau. La phase aqueuse est alcalinisée avec une solution aqueuse 2N

d'hydroxyde de sodium, lavée à l'éther puis acidifiée goutte à goutte avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique. Le précipité obtenu est essoré, lavé à l'eau puis à l'éther et recristallisé.

rendement : 53%

METHODE B

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
composé 129a	1 g	2,40	1	415,53 g.mol ⁻¹
chlorure de tributylétain	2,61 ml	9,62	4	325,5 g.mol ⁻¹ d = 1,200
azoture de sodium	0,625 g	9,62	4	65,01 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Le chlorure de tributylétain et l'azoture de sodium sont ajoutés successivement à une solution du composé **129a** dans 15 ml de diméthylformamide. Le mélange réactionnel est alors chauffé à 130°C sous courant d'azote pendant 12 heures. Après refroidissement, le milieu réactionnel est versé dans l'eau puis acidifié avec une solution aqueuse 6N d'acide chlorhydrique. Le précipité formé est lavé à l'eau, à l'hexane puis recristallisé.

rendement : 61%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,50 (AcOEt)

F : 198 °C (acétonitrile)

IR : 2960, 2920, 2840 : CH
1670, 1635 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,82 (t, 3H, CH₃) ; **1,14** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,31** (m, 2H, NCH₂CH₂) ; **1,54** (massif, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **2,53** (s, 2H, COCH₂) ; **3,70** (t, 2H, NCH₂CH₂) ; **4,79** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,08** (d, 2H, H₃, H₅) ; **7,25** (d, 2H, H₂, H₆) ; **7,48** (m, 1H, H_{aromatique}) ; **7,57** (m, 1H, H_{aromatique}) ; **7,65** (m, 2H, H_{aromatique}).

HPLC :

isocratique, colonne C8, 35% sol.A, 65% sol.B

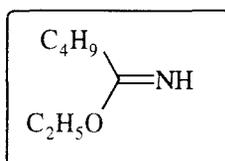
λ (nm)	tr(min)	pureté
230	9,142	99,77%
254	9,142	99,84%
280	9,142	99,90%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	68,10	67,92
% H	6,59	6,70
% N	18,32	18,30

II.3. SYNTHÈSE DU SR 47436

Butylacétimide d'éthyle (130)



$C_7H_{15}NO$	129,20 g.mol ⁻¹
---------------	----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
valéronitrile	31,44 ml	300,7	1	83,13 g.mol ⁻¹ d = 0,795
alcool absolu	9,5 ml	309,9	1,03	46,07 g.mol ⁻¹ d = 0,785
acide chlorhydrique gaz	11,3 g	309,9	1,03	36,55 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

Le valéronitrile et l'éthanol sont ajoutés successivement dans un tricol de 500 ml. Le milieu réactionnel est refroidi à -5°C puis l'acide chlorhydrique est introduit dans la solution. Après 6 heures d'agitation à 0°C, le mélange est laissé au réfrigérateur pendant 5 jours. 200 ml d'éther anhydre sont ensuite ajoutés à la solution qui est refroidie à -15 °C. On fait alors passer un courant d'ammoniaque pendant 1 heure 30 sous agitation vigoureuse. Le chlorure d'ammonium formé est éliminé par filtration. Après évaporation de l'éther au bain marie, on obtient une huile qui est purifiée par distillation.

rendement : 66%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,86 (AcOEt)

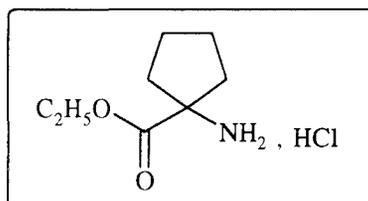
E : 48°C (12 mmHg)

IR : 3300-3200 : NH
2980-2800 : CH

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

0,97 (t, 3H, CH₃CH₂CH₂) ; 1,23 (s, 3H, CH₃CH₂O) ; 1,40 - 1,70 (q, 4H, CH₃CH₂CH₂) ; 2,20 (t, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂) ; 4,09 (q, 2H, CH₃CH₂O) ; 6,05 (d, 1H, NH) .

Chlorhydrate du 1-aminocyclopentanecarboxylate d'éthyle (132)



C₈H₁₆ClNO₂

193,67 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
acide 1-aminocyclopentane carboxylique	5 g	38	1	129,16 g.mol ⁻¹
alcool absolu				
chlorure de thionyle	13,85 ml	116	3	118,97 g.mol ⁻¹ d = 1,631

MODE OPÉRATOIRE

De l'acide chlorhydrique gazeux est introduit dans une solution d'acide 1-aminocyclopentane carboxylique dans 100 ml d'alcool absolu. Le chlorure de thionyle est ajouté goutte à goutte au milieu réactionnel préalablement refroidi dans un bain de glace. L'agitation est poursuivie pendant 1 heure 30 à température ambiante puis l'alcool est évaporé sous vide. On ajoute 30 ml d'eau puis la solution est alcalinisée avec une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium. Après extraction à l'acétate d'éthyle, la phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur du sulfate de magnésium. Le sel est filtré et le solvant est évaporé sous vide. L'huile obtenue est dissoute dans l'alcool absolu. Après barbotage d'acide chlorhydrique, on obtient un précipité qui est essoré, séché puis recristallisé.

rendement : 60%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

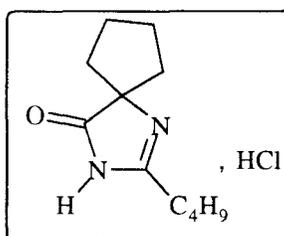
F : 242°C (isopropanol)

IR : 3200-2500 : NH⁺ chlorhydrate
1720 : C=O

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

1,20 (t, 3H, CH₃) ; **1,80 - 2,00** (m, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **4,20** (q, 2H, CH₃CH₂O) ; **8,80** (massif, 3H, NH) .

Chlorhydrate de 2-butyl-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one (134)



C₁₁H₁₉ClN₂O

230,73 g.mol⁻¹

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
133	2,01 g	12,8	1	157,16 g.mol ⁻¹
131	2 g	15,4	1,2	129,20 g.mol ⁻¹
acide acétique glacial	2 ml	34,9	2,7	60,05 g.mol ⁻¹ d = 1,049

MODE OPÉRATOIRE

L'acide acétique glacial est ajouté à une solution du butylacétimide d'éthyle et du 1-aminocyclopentancarboxylate d'éthyle dans 20 ml de xylène. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 7 heures. Après refroidissement, le solvant est évaporé sous vide. L'huile obtenue est solubilisée dans l'alcool absolu. Le précipité formé après barbotage d'acide chlorhydrique est essoré, séché puis recristallisé.

rendement : 60%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,44 (CH₂Cl₂/EtOH : 9/1)

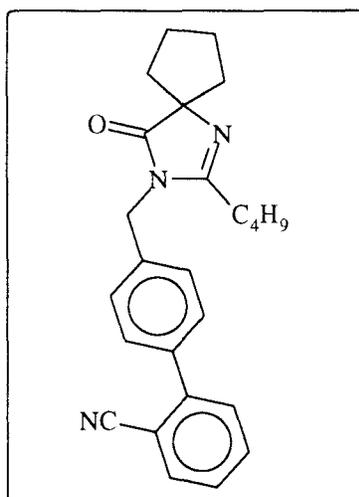
F : 237°C (éthanol à 95°)

IR : 3150-2300 : NH⁺ chlorhydrate
1760 : C=O

RMN (80 MHz, CDCl₃) :

0,83 (t, 3H, CH₃) ; 1,50 (massif, 4H, CH₃CH₂CH₂CH₂) ; 1,81 (m, 8H, H_{tétraméthylène}) ;
2,38 (t, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂) ; 7,24 (s, 1H, NH) .

2-Butyl-3-[(2'-cyanobiphényl-4-yl)méthyl]-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one
(135)



C ₂₅ H ₂₇ N ₃ O	385,50 g.mol ⁻¹
--	----------------------------

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
134	2g	8,66	1	230,73 g.mol ⁻¹
4'-(bromométhyl)-2-cyanobiphényle	6,36 g	23,40	2,7	272,14 g.mol ⁻¹
hydrure de sodium	0,43 g	18,20	2,1	24,00 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

L'hydrure de sodium est ajouté par portions à une solution du composé **134** dans 40 ml de diméthylformamide. Le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 30 minutes à température ambiante. Le 4'-(bromométhyl)-2-cyanobiphényle est ensuite additionné en une fois. Après 12 heures d'agitation à température ambiante, la solution est versée dans 200 ml d'eau, acidifiée à pH 4 avec une solution aqueuse 3N d'acide chlorhydrique puis extraite à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation du solvant sous vide, on obtient un solide qui est purifié par recristallisation.

rendement : 44%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,23 (hexane/AcOEt : 6/4)

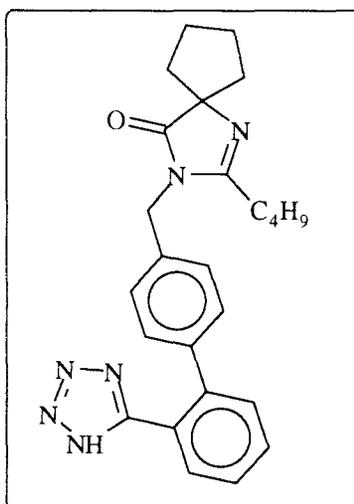
F : 92-93°C (hexane)

IR : 2980-2800 : CH
2200 : nitrile
1700 : C=O
1615 : C=N

RMN (300 MHz, CDCl₃) :

0,75 (t, 3H, CH₃) ; 1,25 (m, 2H, CH₃CH₂) ; 1,50 (m, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; 1,65 - 1,85 (massif, 8H, Htétraméthylène) ; 2,30 (t, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂) ; 4,75 (s, 2H, NCH₂Ar) ; 7,25-7,95 (m, 8H, H_{aromatique})

2-Butyl-3-[[2'-(1H-tétrazol-5-yl)biphényl-4-yl]-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-én-4-one (SR 47436)



C₂₅H₂₈N₆O

428,53 g.mol⁻¹

Etape 1 : synthèse de l'azoture de tributylétain

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
azoture de sodium	5,0 g	76,91	1,5	65,01 g.mol ⁻¹
chlorure de tributylétain	13,9 ml	51,12	1	325,49 g.mol ⁻¹ d = 1,200

MODE OPÉRATOIRE

Le chlorure de tributylétain est ajouté à une solution d'azoture de sodium dans 100 ml d'eau. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est extrait par le

dichlorométhane. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel et évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est purifiée par distillation sous pression réduite.

rendement : 73%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

E : 140°C (1mmHg)

IR : 2940-2820 : CH
2200 : N₃

Etape 2 : transformation du groupe nitrile en tétrazole

réactifs	quantités	mmol	équivalent	caractéristiques
135	3 g	7,78	1	385,50 g.mol ⁻¹
azoture de tributylétain	3,79 g	11,67	1,5	325,49 g.mol ⁻¹

MODE OPÉRATOIRE

L'azoture de tributylétain est ajouté sous azote à une solution du composé **135** dans 40 ml de xylène. Le mélange réactionnel est porté à reflux pendant 4 jours. Après évaporation du solvant sous vide, on obtient une huile qui est reprise par 150 ml d'eau. Le mélange est alcalinisé par une solution aqueuse 2N de soude. La phase aqueuse est lavée à l'éther, acidifiée avec une solution aqueuse d'acide acétique puis extraite à l'acétate d'éthyle. La phase organique est lavée à l'eau puis séchée sur du sulfate de magnésium. Après filtration du sel puis évaporation du solvant sous vide on obtient une huile qui, en présence d'éther fournit un précipité purifié par recristallisation.

rendement : 10%

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

Rf : 0,46 (CH₂Cl₂/EtOH : 9/1)

F : 185°C (alcool à 95°C)

IR : 2940-2840 : CH
1710 : C=O

RMN (300 MHz, DMSO-d₆) :

0,80 (t, 3H, CH₃) ; **1,30** (m, 2H, CH₃CH₂) ; **1,60** (m, 2H, CH₃CH₂CH₂) ; **1,80** (massif, 8H, H_{tétraméthylène}) ; **2,30** (t, 2H, CH₃CH₂CH₂CH₂) ; **4,67** (s, 2H, NCH₂Ar) ; **7,08** (m, 8H, H_{aromatique})

SM :

428 : M⁺

235 : M (+CH₂BPT)

HPLC :

λ (nm)	pureté
230	99,54%
254	99,76%
280	99,35%

Analyse élémentaire :

	théorique	expérimental
% C	70,07	69,97
% H	6,58	6,59
% N	19,61	19,63

III. PROTOCOLES PHARMACOLOGIQUES

Les études de binding ont été réalisées à l'Institut de Chimie Pharmaceutique, par J.F. GOOSSENS.

III.1. RÉCEPTEURS AT₁

Source du récepteur

Membranes non purifiées de cellules d'hépatomes humains, PLC-PRF-5 centrifugées à 30 000 g et conservées dans un tampon Tris 20 mM - Sucrose 250 mM dans l'azote liquide.

Radioligand

[tyrosyl-3,5-H³] Ang II (5-L-iso-leucine), 45 Ci / mmol

Substance témoin-méthode

Losartan (DUP 753) et Irbesartan (SR 47436), synthétisés à l'ICPL

Concentration: 3.10⁻⁹ M

Incubation

Tampon: Tris 50 mM, MgCl₂ 2 mM, pH = 7.4 complété de bacitracine à la concentration finale de 100 mg/ml. Quantité de traceur: 25000-30000 cpm / préparation. Concentration en protéines membranaires: entre 5 et 7.5 mg / préparation. Température: 25°C. Temps: 90 min. Tampon de rinçage des filtres: Tris 50 mM, pH = 7.4.

Caractéristiques de l'essai

$K_D = 1.1 \text{ nM}$ (soit 55 000 dpm)

Bmax - 60 fmol / préparation (soit 700 fmol / mg de protéines)

III.2. RÉCEPTEURS AT2

Source du récepteur

Membranes non purifiées de cellules issues de cervelet de veau centrifugées à 30 000 g et conservées dans un tampon Tris 20 mM - Sucrose 250 mM dans l'azote liquide.

Radioligand

L-tyrosyl-3,5- H^3 Ang II (5-L-isoleucine), 45 Ci / mmol

Substance témoin-méthode

PD 123177, synthétisé à l'ICPL

Concentration: $5 \cdot 10^{-9} \text{ M}$

Préincubation

Cette préincubation est réalisée pour obtenir une bonne sensibilisation des récepteurs AT2 par exposition au DTT. Les membranes sont incubées pendant 30 min à 37°C dans du tampon phosphate salin (PBS) 100 mM, pH = 7.0 (pH = 7.3 à 25°C) contenant: 1 mM DTT, 0.12 mM PMSF, 5 mM EDTA, 0,5% BSA. A la fin de l'incubation, une centrifugation à 30 000 g est réalisée, le culot est repris dans du tampon Tris 20 mM - sucrose 250 mM.

Incubation

Tampon: PBS 100 mM, pH = 7.0 + DTT 1 mM, PMSF 0.1 mM, EDTA 5.0 mM, BSA 0.5%

Quantité de traceur: 35000-40000 cpm / préparation

Concentration en protéines membranaires: environ 0.5 mg / préparation

Température: 25°C

Temps: 60 min

Tampon de rinçage: NaCl 0.9%

Caractéristiques de l'essai

$K_D = 1 \text{ nM}$ (soit 49 950 dpm)

$B_{\text{max}} = 25 \text{ fmol / préparation}$ (soit 50 fmol / mg de protéines)

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Ashton W. T., Chang L. L., Flanagan K. L., Hutchins S. M., Naylor E. M., Chakravarty P. K., Patchett A. A., Greenlee W. J., Chen T. B., Faust K. A., Chang R. S. L., Lotti V. J., Zingaro G. J., Schorn T. W., Siegl P. K. S., Kivlighn S. D.
Triazolinone biphenylsulfonamide derivatives as orally active angiotensin II antagonists with potent AT₁ receptor affinity and enhanced AT₂ affinity
J. Med. Chem., **1994**, 37, 2808-2824

Azizi M., Chatellier G., Guyene T.T., Murieta-Geoffroy D., Ménard J.
Additive effects of combined angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II antagonism on blood pressure and renin release in sodium-depleted normotensives
Circulation, **1995**, 92, 825-834

Baker K.M., Booz G.W., Dostal D.E.
Cardiac actions of angiotensin II : role of an intracardiac renin-angiotensin system
Annu. Rev. Physiol., **1992**, 54, 227-241

Baumgarten H.E., Chen P.Y.N., Taylor H.W., Huang D.R.
Reactions of amines.20.Syntheses of racemic and optically active alkyl hydrazines and N-acyl-N-alkyl and N-acyl-N-arylhydrazines
J. Org. Chem., **1976**, 41, 3805-3811

Bauters C., Meurice T., Hamon M., Mc Fadden E., Lablanche J.M., Bertrand M.E.
Mechanisms and prevention of restenosis : from experimental models to clinical practice
Cardiovasc. Res., **1996**, 31, 835-846

Ben-Ari E.T., Garrison J.C.
Regulation of angiotensinogen mRNA accumulation in rat hepatocytes
Am. J. Physiol., **1988**, 255, E70-E79

Bergsma D. J., Ellis C., Kumar C., Nuthulaganti P., Kersten H., Eishourbagy N., Griffin E., Stadel J. M., Aiyar N.
Cloning and characterization of a human angiotensin II type-1 receptor
Biochem. Biophys. Res. Commun., **1992**, 183, 989-995

Bernhart C. A., Perreaut P.M., Ferrari B.P., Muneaux Y.A., Assens J.L.A., Clément J., Haudricourt F., Muneaux C.F., Taillades J.E., Vignal M.A., Gougat J., Guiraudon P.R., Lacour C.A., Roccon A., Cazaubon C.F., Brelière J.C., Le Fur G., Nisato D.
A new series of imidazolones : highly specific and potent non peptide AT₁ angiotensin II receptor antagonists.
J. Med. Chem., **1993**, 36, 3371-3380

Bernier S.G., Guillemette G.
L'angiotensine IV : une nouvelle hormone du système rénine-angiotensine
Médecine/Sciences, **1996**, 12, 609-613

Bernstein K.E., Marrero M.B.
The importance of tyrosine phosphorylation in angiotensin II signalling
Trends Cardiovasc. Med., **1996**, 6, 179-187

Bhat G.J., Thekkumkara T.J., Thomas W.G., Conrad K.M., Baker K.M.
Angiotensin II stimulates *sis* -inducing factor-like DNA binding affinity. Evidence of that the AT₁ receptor activates transcription factor Stat 91 and/or a related protein
J. Biol. Chem., **1994**, 269, 31443-31449

Blair J.A., Gardner R.J.
J. Chem. Soc., **1970**, 1714-1717

Blankley C. J., Hodges J. C., Klutchko S. R., Himmelsbach R. J., Chucholowski A., Connolly C. J., Neergaard S. J., Van Nieuwenzhe M. S., Sebastian A., Quin J. III, Essenburg A. D., Cohen D. M.

Synthesis and structure-activity relationships of a novel series of non-peptide angiotensin II receptor binding inhibitors specific for the AT₂ subtype.

J. Med. Chem., **1991**, 34, 3248-3260

Bottari S. P., De Gasparo M., Steckelings U. M., Levens N. R.

Angiotensin II receptor subtypes : characterization, signalling mechanisms and possible physiological implications

Front. Neuroendocrinology, **1993**, 4, 123-171

Bottari S. P., King I. N., Reischlin S. S., Dahlstroem I., Lydon N., De Gasparo M.

The angiotensin AT₂ receptor stimulates protein tyrosine phosphatase activity and mediates inhibition of particulate guanylate cycles

Biochem. Biophys. Res. Commun., **1992**, 183, 206-211

Brecher P.

Angiotensin II and cardiac fibrosis

Trends Cardiovasc. Med., **1996**, 6, 193-198

Breidert M., Bornstein S.R., Ehrhart-Bornstein M., Scherbaum W.A., Holst J.J.

Angiotensin II regulates both adrenocortical and adrenomedullary function in isolated perfused pig adrenals

Peptides, **1996**, 17, 287-292

Brilla C.G., Zhou G., Rupp H., Maish B., Weber K.T.

Role of angiotensin II and prostaglandin E2 in regulating cardiac fibroblast collagen turnover

Am. J. Cardiol., **1995**, 76, 8D-13D

Bumpus F.M., Catt K.J., Chiu A.T., De Gasparo M., Goodfriend T., Husain A., Peach M.J., Taylor D.G., Timmermans P.B.M.W.M.

Nomenclature for angiotensin receptors. A report of the nomenclature committee of the council for high blood pressure research

Hypertension, **1991**, 17, 720-721

Bunnemann B., Fuxe K., Ganten D.

The renin-angiotensin system in the brain : an update 1993

Regul. Pept., **1993**, 46, 487-509

Camargo M.J.F., Von Lutterotti N., Pecker M.S., James G.D., Timmermans P.B.M.W.M., Laragh J.H.

DUP 753 increases survival in spontaneously hypertensive stroke-prone rats fed a high sodium diet

Am. J. Hypertension, **1991**, 4, 341S-355S

Carey R.M., Peach M.J., Vaughan E.D., Ayers C.R.

Response of angiotensin II and [des-aspartyl¹]-angiotensin II in man : are three different pathways?

Circ. Res., **1978**, 43, 163-169

Carini D. J., Duncia J. V., Aldrich P. E., Chiu A. T., Johnson A. L., Pierce M. E., Price W. A., Santella J. B. III, Wells G. J., Wexler R. R., Wong P. C., Yoo S. E., Timmermans P. B. M. W. M.

Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists : the discovery of a series of N-(biphenylmethyl)imidazoles as potent, orally-active antihypertensives.

J. Med. Chem., **1991**, 34, 2525-2547

Carr A.A., Prisant L.M.
Losartan : first of a new class of angiotensin antagonists for the management of hypertension
J. Clin. Pharmacol., **1996**, 36, 3-12

Cauvin C.
Apport de la diffraction de rayons X et de la modélisation moléculaire dans la conception d'antagonistes non peptidiques des récepteurs de l'angiotensine II
Mémoire de Mastère en Drug Design, Université de Lille 2, **1997**

Chakravarty P. K., Naylor E. M., Chen A., Chang R. S. L., Chen T. B., Faust K. A., Lotti V. J., Kivlighn S. D., Gable R. A., Zingaro G. J., Schorn T. W., Schaffer L. W., Broten T. P., Siegl P. K. S., Patchett A. A., Greenlee W. J.
A highly potent, orally active imidazo[4,5-b]pyridine biphenylacylsulfonamide (MK-996; L-159,282): a new AT(1)-selective angiotensin II receptor antagonist
J. Med. Chem., **1994**, 37, 4068-4072

Chang L.L., Ashton W.T., Flanagan K.L., Chen T.B., O'Malley S.S., Zingaro G.J., Kivlighn S.D., Siegl P.K.S., Lotti V.J., Chang R.S.L., Greenlee W.J.
Potent and orally active angiotensin II receptor antagonists with equal affinity for human AT1 and AT2 subtypes
J. Med. Chem., **1995**, 38, 3741-3758

Chang L.L., Greenlee W.J.
Angiotensin II receptor antagonists : nonpeptides with equivalent high affinity for both the AT1 and AT2 subtypes
Current Pharmaceutical Design, **1995**, 1, 407-424

Chiu A.T., Herblin W.F., Mc Call D.E., Ardecky R.J., Carini D.J., Duncia J.V., Pease L.J., Wong P.C., Wexler R.R., Johnson A.L., Timmermans P.B.M.W.M.
Identification of angiotensin II receptor subtypes
Biochem. Biophys. Res. Commun., **1989**, 165, 196-203

Cohn J.N.
The management of chronic heart failure
N. Eng. J. Med., **1996**, 335, 490-498

Conrad M., Zart A.
Über 1-phenyl-3-oxy-5-pyrazolonverbindungen.
Chem. Ber., **1906**, 39, 2282-2288

Cope A.C.
Condensation reactions. I. The condensation of ketones with cyanoacetic esters and the mechanism of the Knoevenagel reaction.
J. Am. Chem. Soc., **1937**, 59, 2327-2330

Cragoe E.J., Robb C.M., Sprague J.M.
The synthesis of α,α -disubstituted succinic acids from ethyl alkylidenecyanoacetates
J. Org. Chem., **1950**, 381-390

Crawford D.C., Chobanian A.V., Brecher P.
Angiotensin II induces fibronectin expression associated with cardiac fibrosis in the rat
Circ. Res., **1994**, 74, 727-739

Crozier I., Ikram H., Awan N., Cleland J., Stephen N., Dickstein K., Frey M., Young J., Klinger G., Makris L., Rucinska E.
Losartan in heart failure ; hemodynamic effects and tolerability
Circulation, **1995**, 91, 691-697

Daemen M.J., Lombardi D.M., Bosman F.T., Schwartz S.M.
Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall
Circ. Res., **1991**, 68, 450-456

De Gasparo M., Husain A., Alexander W., Catt K.J., Chiu A.T., Drew M., Goodfriend T., Harding J.W., Inagami T., Timmermans P.B.M.W.M.
Proposed update of angiotensin receptor nomenclature
Hypertension, **1995**, 25, 924-927

Delafontaine P., Brink M., Du J.
Angiotensin II modulation of insulin-like growth factor I expression in the cardiovascular system
Trends Cardiovasc. Med., **1996**, 6, 187-193

Dellipizzi A., Hilchey S.D., Bell-Quilley C.P.
Natriuretic action of angiotensin (1-7)
Br. J. Pharmacol., **1994**, 111, 1-3

Dickstein K., Chang P., Willenheimer R., Haunsø S., Remes J., Hall C., Kjekshus J.
Comparison of the effects of losartan and enalapril on clinical status and exercise performance in patients with moderate or severe chronic heart failure
J. Am. Coll. Cardiol., **1995**, 26, 438-445

Dostal D.E., Baker K.M.
Evidence for a role of an intracardiac renin-angiotensin system in normal and failing hearts
Trends Cardiovasc. Med., **1993**, 3, 67-74

Dostal D.E., Booz G.W., Baker K.M.
Angiotensin II signalling pathways in cardiac fibroblasts : conventional versus novel mechanisms in mediating cardiac growth and function
Mol. Cell. Biochem., **1996**, 157, 15-21

Dubau F.P., Zinner G.
Malonylierungsreaktionen an 4-monosubstituierten pyrazolidin-3,5-dionen
Chem. Ber., **1975**, 108, 2189-2201

Dubey R., Jackson E., Lüscher T.
Nitric oxide inhibits angiotensin II-induced migration of rat aortic smooth muscle cell : role of cyclic-nucleotides and angiotensin receptors
J. Clin. Invest., **1995**, 96, 141-149

Dudley D.T., Hamby J.M.
Recent advances in angiotensin II receptor antagonists
Curr. Opin. Ther. Pat., **1993**, 3, 581-596

Dzau R., Sasamura H., Hein L.
Heterogeneity of angiotensin synthetic pathways and receptor subtypes : physiological and pharmacological implications
J. Hypertension, **1993**, 11, s13-s18

- Feng Y.H., Noda K., Saad Y., Liu X.P., Husain A., Karnik S.
The docking of Arg2 of angiotensin II with Asp281 of AT1 receptor is essential for full agonism
J. Biol. Chem., **1995**, 270, 12846-12850
- Fornes P., Richer C., Vacher E., Pruneval P., Giudicelli J.F.
Losartan's protective effects in stroke prone spontaneously hypertensive rats persist durably after treatment withdrawal
J. Cardiovasc. Pharmacol., **1993**, 22, 305-313
- Furukawa Y., Matsumori A., Hirozane T., Sasayama S.
Angiotensin II receptor antagonist TCV-116 reduces graft coronary artery disease and preserves graft status in a murine model
Circulation, **1996**, 93, 333-339
- Gaillard P., Carrupt P.A., Testa B., Boudon A.
Molecular lipophilicity potential, a tool in 3D QSAR : method and applications
J. Comput-Aided Mol. Des., **1994**, 8, 83-96
- Garcia-Sainz G.A.
Angiotensin II receptors : one type coupled to two signals or receptor subtypes?
Trends Pharmacol. Sci., **1987**, 8, 48-49
- Goldstein S.
Database Mining
UCB Pharmaceutical Sector, communication privée, **1993**
- Goldstein S., Neuwels M., Moureau F., Berckmans D., Lassoie M.A., Differding E., Houssin R., Hénichart J.P.
Bioactive conformations of peptides and mimetics as milestones in drug design ; investigations of NK1 receptor antagonists
Lett. Peptide Sci., **1995**, 2, 125-134
- Groblewski T., Maigret B., Nouet S., Larguier R., Lombard C.
Amino acids of the third transmembrane domain of the AT1A angiotensin II receptor are involved in the differential recognition of the peptide and non peptide ligands
Biochem. Biophys. Res. Commun., **1995**, 209, 153-160
- Hahn A.W.A., Jonas U., Buehler F.R., Resink T.J.
Identification of a fourth angiotensin AT1 receptor subtype in rat
Biochem. Biophys. Res. Commun., **1993**, 192, 1260-1265
- Haller H.
Hypertension, the endothelium and the pathogenesis of chronic vascular disease
Kidney and Blood Press. Res., **1996**, 19, 166-171
- Hardman J.G., Limbird L.E., Molinoff P.B., Ruddon R.W., Goodman Gilman A.
Renin and angiotensin
in The pharmacological basis of therapeutics (ninth edition), **1995**, 31, pp. 733-758
- Hein L., Barsh G.S., Pratt R.E., Dzau V.J., Kobika B.K.
Behavioural and cardiovascular effects of disrupting the angiotensin II type-2 receptor gene in mice
Nature, **1995**, 377, 744-747
- Heisig G. B., Stodoler F. H.
1,1-Cyclobutane dicarboxylic acid and cyclobutane carboxylic acid
Organic synthesis, **1943**, 23, 16-20

- Hjorth S.A., Schambye H.T., Greenlee W.J., Schwartz T.W.
Identification of peptide binding residues in the extracellular domains of the AT1 receptor
J. Biol. Chem., **1994**, 269, 30953-30959
- Höhle S., Spitznagel H., Rascher W., Culman J., Unger T.
Angiotensin AT1 receptor-mediated vasopressin release and drinking are potentiated by an AT2 receptor antagonist
Eur. J. Pharmacol., **1995**, 275, 277-282
- Huff B. E., Staszak M. A.
A new method for the preparation of tetrazoles from nitriles using trimethylsilylazide / trimethylaluminium.
Tetrahedron Lett., **1993**, 34, 8011-8014
- Husain A.
The chymase-angiotensin system in human
J. Hypertension, **1993**, 13, 1155-1159
- Ichiki T., Kambayashi Y., Inagami T.
Transcription of the rat angiotensin II type 2 receptor gene
Biochem. Biophys. Res. Commun., **1996**, 222, 566-571
- Inagami T., Mizukoshi M., Guo D.F.
Angiotensin II receptor ; molecular cloning, functions and regulation
in Angiotensin receptors ; Saavedra J.M., Timmermans P.B.M.W.M Ed., **1994**, pp.1-15
- Ishiyama M., Umemura K., Uematsu T., Nakashima M.
Effects of losartan, an angiotensin II antagonist, on the development of cardiac hypertrophy due to volume overload
Biol. Pharm. Bull., **1995**, 18, 700-704
- Itoh H., Mukoyama M., Pratt R.E., Gibbons G.H., Dzau V.J.
Multiple autocrine growth factors modulate vascular smooth muscle cell growth response to angiotensin II
J. Clin. Invest., **1993**, 91, 2268-2274
- Jacquier R., Lacombe J.M., Maury G.
Recherches dans la série des azoles. LXXXI. Etude de la tautomérie des imidazolinones-5(4)
Bull. Soc. Chim. France, **1971**, 3, 1040-1051
- Jendralla H., Wagner A., Mollath M., Wunner J.
Efficient, simple procedures for the large-scale preparation of building blocks for angiotensin (II) receptor antagonists
Liebigs Ann., **1995**, 1253-1257
- Ji H., Leung M., Zhang Y., Catt K.J., Sandberg K.
Differential structural requirements for specific binding of non peptide and peptide antagonists to the AT1 receptor
J. Biol. Chem., **1994**, 269, 16533-16536
- Jöhren O., Inagami T., Saavedra J.M.
AT_{1A}, AT_{1B}, and AT₂ angiotensin II receptor subtype gene expression in rat brain
Neuroreport, **1995**, 6, 2549-2552

Kambayashi Y., Bardhan S., Takahashi K., Tsuzuki S., Inui H., Hamakubo T., Inagami T.

Molecular cloning of a novel angiotensin II receptor isoform involved in phosphotyrosine phosphatase inhibition.

J. Biol. Chem., **1993**, 268, 24543-24546

Kambayashi Y., Nagata K., Ichiki T., Inagami T.

Insulin and insulin-like growth factors induce expression of angiotensin type-2 receptor in vascular smooth muscle cells

Eur. J. Biochem., **1996**, 239, 558-565

Kanda T., Anaki M., Nakano M., Imai S., Suzuki T., Murata K.

Chronic effect of losartan in a murine model of dilated cardiomyopathy ; comparison with captopril

J. Pharmacol. Exp. Ther., **1995**, 273, 955-958

Kauffman R.F., Bean J.S., Zimmerman K.M., Brown R.F., Steinberg M.

Losartan, a non peptide angiotensin II antagonist, inhibits neointima formation following balloon injury to rat carotid arteries

Life Sci., **1991**, 49, PL223-PL228

Khosla M.C., Hall M.M., Smeby R.R., Bumpus F.M.

Agonist and antagonist relationships in 1- and 8-substituted analogs of angiotensin II

J. Med. Chem., **1974**, 17, 1156-1160

Kim D., Mantlo N. B., Tata J. R., Dhanoa D., Owens K., Levorse D., Siegl P. K. S., Chang R. S. N., Chen T., Scheck S., Zingaro G. J., Kivlighn S. D., Greenlee W. J.

Acidic phenols : a new class of potent nonpeptide angiotensin II receptor antagonists

Bioorg. Med. Chem. Lett., **1994**, 4, 207-212

Kim J.A., Berliner J.A., Nadler J.L.

Angiotensin II increases monocyte binding to endothelial cells

Biochem. Biophys. Res. Commun., **1996**, 226, 862-868

Kleinert H.K.

Renin Inhibition

Cardiovasc. Drugs Ther., **1995**, 9, 645-655

Klutchko S., Hamby J. M., Hodges J. C.

Tetrahydroisoquinoline derivatives with AT₂-specific angiotensin II receptor binding inhibitory activity

Bioorg. Med. Chem. Lett., **1994**, 4, 57-62

Kohzuki M., Yasujima M., Kanasawa M., Yoshida K., Fu L.P.

Antihypertensive and renal-protective effects of losartan in streptozotocin diabetic rats

J. Hypertension, **1995**, 13, 97-103

Kricheldorf H. R., Leppert E.

Synthese von isocyanaten, alkyl carbamaten und harnstoffen aus carbonsäure derivaten und tributylstannyl azid

Synthesis, **1976**, 5, 329-330

Laurent S., Vanhoutte P., Caverio I., Chabrier P.E., Dupuis B., Elghozi J.L., Hamon G., Janiak P., Juillet Y., Kher A., Koen R., Madonna O., Maffrand J.P., Pruneau D., Thuillez C.

The arterial wall : a new pharmacological and therapeutic target

Fundam. Clin. Pharmacol., **1996**, 10, 243-257

- Lawton G., Paciorek P.M.
The design and biological profile of ACE inhibitors
Adv. Drug Res., **1992**, 23, 161-220
- Lee M.W., Severson D.L.
Signal transduction in vascular smooth muscle : diacylglycerol second messengers and PKC action
Am. J. Physiol., **1994**, 267, C659-C678
- Libersa C., Caron J.
in Médicaments en pathologie cardiovasculaire (deuxième édition), **1992**, pp.1-520
- Lumbers E.R.
Functions of the renin-angiotensin system during development
Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., **1995**, 22, 499-505
- Martin M.M., Su B., Elton T.S.
Molecular cloning of the human angiotensin II type II receptor cDNA
Biochem. Biophys. Res. Commun., **1994**, 205, 645-651
- Martin M.M., White C.R., Li H., Miller P.J., Elton T.S.
A functional comparison of the rat type-1 angiotensin II receptors (AT₁AR and AT₁BR)
Regul. Pept., **1995**, 60, 135-147
- Martin Y.C., Bures M.G., Danaher E.A., DeLazzer J., Lico I., Pavlik P.A.
A fast new approach to pharmacophore mapping and its application to dopaminergic and benzodiazepine agonists
J. Comput-Aided Mol. Des., **1993**, 7, 83-102
- Meffert S., Stoll M., Steckelings U.M., Bottari S.P., Unger T.
The angiotensin II AT₂ receptor inhibits proliferation and promotes differentiation in PC12W cells
Mol. Cell. Endocr., **1996**, 122, 59-67
- Mentlein R., Roos T.
Proteases involved in the metabolism of angiotensin II, bradykinin, calcitonin gene-related peptide (CGRP), and neuropeptide Y by vascular smooth muscle cells
Peptides, **1996**, 17, 709-720
- Meurice T., Vallet B., Bauters C., Dupuis B., Lablanche J.M., Bertrand M.E.
Role of endothelial cells in restenosis after coronary angioplasty
Fundam. Clin. Pharmacol., **1996**, 10, 234-242
- Michel K., Matter M.
Synthese von pyrano[2,3-c]pyrazol-3-onen. Über pyrazole, 1. Mitteilung
Helv. Chim. Acta., **1961**, 122, 1025-1030
- Mimran A.
Les récepteurs de l'angiotensine II : nouvelle cible pour le traitement de l'HTA
Laboratoires Merck Sharp et Dohme Chibret, **1995**, pp. 1-36
- Minatoguchi S., Majewski H.
Modulation of norepinephrine release in adriamycin-induced heart failure in rabbits : role of presynaptic α 2-adrenoreceptors and presynaptic angiotensin II receptors
J. Cardiovasc. Pharmacol., **1994**, 23, 438-445

Miyaura N., Yanagi T., Suzuki A.
The palladium-catalysed cross-coupling reaction of phenylboronic acid with haloarenes in the presence of bases
Synth. Commun., **1981**, 11, 513-519

Mukoyama M., Nakajima M., Horiuchi M., Sasamura H., Pratt R. E., Dzau V. J.
Expression cloning of type 2 angiotensin II receptor reveals a unique class of seven transmembrane receptors
J. Biol. Chem., **1993**, 268, 24539-24542

Muratani H., Teruya H., Sesoko S., Takishita S., Fukiyama K.
Brain angiotensin and circulatory control
Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., **1996**, 23, 458-464

Murphy T. J., Alexander R. W., Griendling K. K., Runge M. S., Bernstein K. E.
Isolation of a cDNA encoding type-1 angiotensin II receptor.
Nature, **1991**, 351, 133-235

Nahmias C., Strosberg A. D.
The angiotensin AT₂ receptor : searching for signal transduction pathway and physiological function
Trends Pharmacol. Sci., **1995**, 16, 223-225

Nakajima M., Mukoyama M., Pratt R. E., Horiuchi M., Dzau V. J.
Cloning of cDNA and analysis of the gene for mouse angiotensin II type 2 receptor.
Bioorg. Med. Chem. Lett., **1993**, 197, 393-399

Nelson E.B., Harm S.C., Goldberg M., Shahinfar S., Goldberg A., Sweet C.S.
Clinical profile of the first angiotensin II (AT-1 specific) receptor antagonists
Hypertension : Pathophysiology, Diagnosis, and Management ; second edition, Laragh J.H., Vrenner B.M., Ed., Raven Press , **1995**, pp.2895-2916

Noda K., Saad Y., Kinoshita A., Boyle T.P., Graham R.M., Husain A., Karnik S.S.
Tetrazole and carboxylate groups of angiotensin receptor antagonists bind to the same subsite by different mechanisms
J. Biol. Chem., **1995**, 270, 2284-2289

Nozawa Y., Miyake H., Haruno A., Yamada S., Uchida S., Ohkura T., Kimura R., Suzuki H., Hoshino T.
Down-regulation of angiotensin II receptors in hypertrophied human myocardium
Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., **1996**, 23, 514-518

O'Brien E.D., Schwartz S.M.
Update on the biology and clinical study of restenosis
Trends Cardiovasc. Med., **1994**, 4, 169-178

Ondetti M.A., Cushman D.W.
Inhibition of the renin angiotensin system : a new approach to the therapy of hypertension
J. Med. Chem., **1981**, 24, 355-361

Perlman S., Schambye H.T., Rivero R.A., Greenlee W.J., Hjorth S.A., Schwartz T.W.
Non peptide angiotensin agonist. Functional and molecular interaction with the angiotensin AT₁ receptor
J. Biol. Chem., **1995**, 270, 1493-1496

- Pinto Y.M., Buikema H., Van Gilst W.H.
Hyperactive tissue renin-angiotensin systems in cardiovascular dysfunction :
experimental evidence and clinical hypotheses
Clin. Exper. Hypertension, **1995**, 17, 441-468
- Pitt B., Chang P., Timmermans P.B.M.W.M.
Angiotensin II receptor antagonists in Heart Failure : rationale and design of the
evaluation of losartan in the elderly (ELITE) trial
Cardiovasc. Drugs Ther., **1995**, 9, 693-700
- Poss M. A., Gu Z., Ryono D. E., Reid J. A., McMaster E. S., Spitzmiller E. R.,
Dejneka T., Dickinson E. J., Williams S. B., Moreland S., Delaney C. L., Bird E.,
Waldron T., Schaeffer T. R., Hedberg S. A., Petrillo E. W.
1,4-substituted indoles : a potent and selective class of angiotensin II receptor
antagonists
Bioorg. Med. Chem. Lett., **1994**, 4, 145-150
- Prescott M.F., Sawyer W.K.
ACE inhibition versus angiotensin II, AT1 receptor antagonism : a review of effects on
intimal lesion formation in animal models of vascular injury, restenosis and
atherosclerosis
Drug Develop. Res., **1993**, 29, 88-93
- Prescott M.F., Webb R.L., Reidy M.A.
Angiotensin-converting enzyme inhibitor versus angiotensin II-AT1 receptor antagonist
Amer. J. Pathology, **1991**, 39, 1291-1296
- Ram S., Ehrenkauf R.E.
Ammonium formate in organic synthesis : a versatile agent in catalytic hydrogen
transfer reductions
Synthesis, **1988**, 91-95
- Regitz-Zagrosek V., Neuss M., Holzmeister J., Warnecke C., Fleck E.
Molecular biology of angiotensin receptors and their role in human cardiovascular
disease
J. Mol. Med., **1996**, 74, 233-251
- Reynaud P., Moreau R.C.
Préparation et étude spectroscopique des iminoesters aliphatiques. II
Bull. Soc. Chim. France, **1964**, 2997-2999
- Riordan J.F.
Angiotensin II : biosynthesis, molecular recognition, and signal transduction
Cell. Mol. Neurobiol., **1995**, 15, 637-651
- Rosendorff C.
The renin-angiotensin system and vascular hypertrophy
J. Am. Coll. Cardiol., **1996**, 28, 803-812
- Ruzicka M., Yuan B., Harmsen E., Leenan F.H.H.
The renin-angiotensin system and volume overload-induced cardiac hypertrophy in rats.
Effects of angiotensin converting enzyme inhibitor versus angiotensin II receptor
blocker
Circulation, **1993**, 87, 921-930

Sadoshima J.I., Izumo S.
Signal transduction pathways of angiotensin II-induced *c-fos* gene expression in cardiac myocytes *in vitro*. Roles of phospholipid-derived second messengers
Circ. Res., **1993a**, 73, 424-438

Sadoshima J.I., Izumo S.
Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts
Circ. Res., **1993b**, 73, 413-423

Sandberg K., Ji H., Clark A.J.L., Shapira H., Catt K.J.
Cloning and expression of a novel angiotensin II receptor subtype
J. Biol. Chem., **1992**, 267, 9455-9458

Sasaki K., Yamano Y., Bardhan S., Iwai N., Murray J.J., Hasegawa M., Matsuda Y., Inagami T.
Cloning and expression of a complementary DNA encoding a bovine adrenal angiotensin II type-1 receptor
Nature, **1991**, 351, 230-233

Schambye H.T., Hjorth S.A., Bergsma D.J., Sathe G., Schwartz T.W.
Differentiation between binding sites for angiotensin II type 1 receptors
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **1994**, 91, 7046-7050

Schambye H.T., Hjorth S.A., Weinstock J., Schwartz T.W.
Interaction between the nonpeptide angiotensin antagonist SKF 108566 and histidine 256 (His VI : 16) of the angiotensin type 1 receptor
Mol. Pharmacol., **1995**, 47, 425-431

Schieffer B., Bernstein K.E., Marrero M.B.
The role of tyrosine phosphorylation in angiotensin II mediated intracellular signaling and cell growth
J. Mol. Med., **1996**, 74, 85-91

Schwartz T.W., Gether U., Schambye H.T., Hjorth S.A.
Molecular mechanism of action of non peptide ligands for peptide receptors
Current Pharmaceuticals Design, **1995**, 1, 325-342

Scott-Burden T., Hahn A.W., Resink T.J., Bühler F.R.
Modulation of extracellular matrix by angiotensin II : stimulated glycoconjugate synthesis and growth in vascular smooth muscle cells
J. Cardiovasc. Pharmacol., **1990**, 16 (suppl 4), S36-S41

Seneri G.G.N., Boddi M., Coppo M., Chechi T., Zarone N., Moira M., Poggesi L.
Evidence for the existence of a functional cardiac renin-angiotensin system in humans
Circulation, **1996**, 94, 1886-1893

Shi D.F., Bradschaw T.D., Wrigley S., Mc Call C.J., Lelieveld P., Fichtner I., Stevens M.F.G.
Antitumor Benzothiazoles. 3¹. Synthesis of 2-(4-aminophenyl)benzothiazoles and evaluation of their activities against breast cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*
J. Med. Chem., **1996**, 39, 3375-3384

Strandgaard S., Paulson O.B.
Antihypertensive drugs and cerebral circulation
Eur. J. Clin. Invest., **1996**, 26, 625-630

Stroh H.H., Scharnow H. G.
Zur Kondensation von Carboxylverbindungen mit Hydrazinen; XIII. Über die Reaktion von alkyl-und aralkylhydrazinen mit Zuckern.
Chem. Ber., **1965**, 95, 1588-1593

Struijker-Boudier H.A.J., Smits J.F.M., De Mey J.G.R.
Pharmacology of cardiac and vascular remodeling
Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., **1995**, 35, 509-539

Takahashi K., Bardhan S., Kambayashi Y., Shirai H., Inagami T.
Protein tyrosine phosphatase inhibition by angiotensin II in rat pheochromocytoma cells through type 2 receptor, AT2
Biochem. Biophys. Res. Commun., **1994**, 198, 60-66

Teerlink J.R.
Neurohumoral mechanisms in heart failure : a central role for the renin-angiotensin system
J. Cardiovasc. Pharmacol., **1996**, 27 (suppl 2), S1-S8

Timmermans P. B. M. W. M., Wong P. C., Chiu A. T., Herblin W. F., Benfield P., Carini D. J., Lee R. J., Wexler R. R., Saye J. A. M., Smith R. D.
Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists
Pharmacol. Rev., **1993**, 4, 205-251

Timmermans P.B.M.W.M., Wexler R.R.
in Medicinal chemistry of the renin-angiotensin system
Pharmacochemistry library, **1994**, vol.21

Underwood D.J., Strader C.D., Rivero R., Patchett A.A., Greenlee W., Prendergast K.
Structural model of antagonist and agonist binding to the angiotensin II, AT1 receptor subtype, G protein coupled receptor
Chem. Biol., **1994**, 1, 211-221

Van Atten M.K., Ensinger C.L., Chiu A.T., Mc Call D.E., Nguyen T.T., Wexler R.R., Timmermans P.B.M.W.
A novel series of selective, non peptide inhibitors of angiotensin II binding to the AT2 site
J. Med. Chem., **1993**, 36, 3985-3992

Vinson G.P., Ho M.M., Puddefoot J.R.
The distribution of angiotensin II type 1 receptors, and the tissue renin-angiotensin systems
Molecular Medicine Today, **1995**, 35-39

Viswanathan M., Tsutsumi K., Correa F.M.A., Saavedra J.M.
Changes in expression of angiotensin receptor subtypes in the rat aorta during development
Biochem. Biophys. Res. Commun., **1991**, 179, 1361-1367

Waeber B., Brunner H.R.
Cardiovascular hypertrophy : role of angiotensin II and bradykinin
J. Cardiovasc. Pharmacol., **1996**, 27 (suppl 2), S36-S40

Weinstock J., Keenan R. M., Samanen J.
1-(Carboxybenzyl)imidazole-5-acrylic acids : potent and selective angiotensin II receptor antagonists
J. Med. Chem., **1991**, 34, 1514-1517

Wexler R.R., Greenlee W.J., Irvin J.D., Goldberg M.R., Prendergast K., Smith R.D., Timmermans P.B.M.W.M.

Non peptide angiotensin II receptor antagonists : the next generation in antihypertensive therapy

J. Med. Chem., **1996**, 39, 625-656

Whitebread S., Mele M., Kamber B., De Gasparo M.

Preliminary biochemical characterization of two angiotensin II receptor subtypes

Biochem. Biophys. Res. Commun., **1989**, 163, 284-291

Wintersgill H., Warburton P., Bryson S., Ball S., Balmforth A.

Characterization of the angiotensin II receptor expressed by the human hepatoma cell line, PLC PRF-5

Eur. J. Pharmacol., **1992**, 227, 283-291

Wood J.M., Close P.

Renin inhibitors : cardiovascular drugs of the future?

Cardiovasc. Drugs Ther., **1996**, 10, 309-312

Wright J.W., Krebs L.T., Stobb J.F., Harding J.W.

The angiotensin IV system : functional implications

Front. Neuroendocrinology, **1995**, 16, 23-52

Wu M. T., Ikeler T. J., Ashton W. T., Chang R. S. L., Lotti V. J., Greenlee W. J.

Synthesis and structure-activity relationships of a novel series of non peptide AT₂ selective angiotensin II antagonists.

Bioorg. Med. Chem. Lett., **1993**, 3, 2023-2028

Yamano Y., Ohyama K., Chaki S., Guo D. F. Inagami T.

Identification of amino acid residues of rat angiotensin II receptor for ligand binding by site directed mutagenesis

Biochem. Biophys. Res. Commun., **1992**, 187, 1426-1431

Yamano Y., Ohyama K., Kikyo M., Sano T., Nakagomi Y., Inoue Y., Nakamura N., Morishima I., Guo D.F., Hamakubo T., Inagami T.

Mutagenesis and the molecular modeling of the rat angiotensin II receptor AT₁

J. Biol. Chem., **1995**, 270, 14024-14030

Zvilichovsky G., David M.

Acidity and alkylation of 4-phenyl-3,5-dihydroxypyrazole and its derivatives. C versus O- and N- alkylation

J. Heterocyclic Chem., **1988**, 25, 1307-1310

