

UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE



**THESE**

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE I**

*Discipline : Chimie Organique et Macromoléculaire*

présentée et soutenue publiquement par

**Iuliana-Ecaterina POP-BOTEZ**

le 27 mai 1998

NOUVELLES TECHNIQUES CHIMIQUES ET  
ANALYTIQUES EN PHASE SOLIDE, APPLIQUEES A LA  
SYNTHESE PARALLELE A HAUT DEBIT

Pr. Jean-Claude GESQUIERE

Président

Pr. Michel MARRAUD

Rapporteur

Pr. Jean MARTINEZ

Rapporteur

Pr. Jacques BROCARD

Examinateur

Dr. Guy LIPPENS

Examinateur

Pr. André TARTAR

Examinateur

A la mémoire de ma mère.

A mon père.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Service de Chimie des Biomolécules de l'Institut Pasteur de Lille, URA CNRS 1309, dirigé par le Professeur André Tartar, ainsi qu'aux laboratoires CEREP, dirigés par Monsieur Thierry Jean.

Il a fait l'objet d'une collaboration avec le Centre de Recherches de France des Laboratoires GLAXO WELLCOME, dirigé par Monsieur François Hyafil.

Il a été réalisé grâce à une bourse du Centre International des Etudiants et des Stagiaires offerte par les Laboratoires GLAXO WELLCOME, l'Institut Pasteur de Lille et la Société CEREP.

Je tiens à remercier :

Monsieur **André TARTAR** de m'avoir accueillie dans son laboratoire. *Je vous suis vivement reconnaissante de m'avoir confié ce travail, qui m'a conduit à découvrir et à aimer la synthèse combinatoire, et qui m'a également donné l'occasion d'aborder des domaines très différentes de la synthèse organique.*

Monsieur **Jean-Claude GESQUIERE** de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider ce jury, et d'avoir accepté de diriger mon travail pendant ma dernière année de thèse. *Je ne saurai pas vous remercier assez pour le soutien, scientifique et moral, que vous m'avez accordé durant ces dernières mois, ainsi que pour la bonne volonté dont vous avez fait preuve pour me sortir de tous les pièges administratives qui m'ont été posés cette année.*

Messieurs **Michel MARRAUD** et **Jean MARTINEZ** d'avoir accepté d'examiner ce travail en tant que rapporteurs. *Je suis sensible à l'intérêt que vous avez bien voulu porter à ce travail, et je vous prie de recevoir toute ma gratitude.*

Monsieur **Jacques BROCARD**, de l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de juger cette thèse. *J'ai beaucoup apprécié la clarté et la qualité de vos cours lors de mon Diplôme d'Etudes Approfondies, et je suis touchée par l'intérêt que vous avez montré à l'égard de ce travail.*

Monsieur **Guy LIPPENS**, d'avoir accepté de juger mon travail en faisant partie du jury de cette thèse. *C'est grâce à toi, à tes précieux conseils et aux discussions qu'on a eu ensemble que j'ai pu découvrir une petite partie de la RMN à l'angle magique, et pour ceci je te remercie encore.*

Je voudrais remercier tout particulièrement **Benoît DEPREZ**, qui m'a suivi et conseillé pendant toutes les années de thèse. *J'ai appris énormément de choses en travaillant avec toi, j'ai apprécié ton dynamisme, ta bonne humeur et tes qualités d'organisateur, et je te suis reconnaissante pour la confiance et le soutien que tu m'a toujours accordés.*

Mes meilleurs pensées vont également à **Line BOUREL** et **Xavier WILLARD** qui, dès mon arrivé de Roumanie, m'ont entouré d'amitié et d'affection, et m'ont toujours accordé de l'aide et du soutien pendant les moments difficiles.

Je tiens à adresser toute ma reconnaissance et toute ma sympathie à l'équipe RMN, et plus particulièrement à **Christophe DHALLUIN**, pour l'enregistrement d'un nombre important de spectres de RMN MAS, et pour les discussions enrichissantes qu'on a eu lors de l'interprétation de ses spectres ; à **Gérard MONTAGNE**, pour l'enregistrement de spectres RMN MAS et pour la patience dont il a fait preuve en m'apprenant à les retraiter ; et à **Seetharaman CHIDAMBARAKRISHNAN** pour la disponibilité qu'il a montré pour l'enregistrement de spectres RMN MAS supplémentaires, pour sa gentillesse et son inégalable optimisme, qui ne cesseront pas de m'étonner.

Je remercie chaleureusement **Patricia MELNYK**, **Oleg MELNYK** et **Béatrice BONNET** pour les précieux conseils en chimie qu'ils m'ont accordés. J'oublierai pas non plus la terrible « corvée » à laquelle Patricia s'est engagée de bon coeur en corrigeant ce manuscrit, et dont je lui suis reconnaissante.

Je tiens également à exprimer ma très sincère reconnaissance aux personnes qui ont participé à ce travail :

**Christelle BIVILLE**, **Marie-Isabelle STEELAND** et **Valérie THOREL-DUREUX**, qui m'ont aidé à la synthèse d'un grand nombre de résines et d'amides.

**Dragos HORVATH**, pour les études de modélisation moléculaires qu'il a réalisées.

**Guillaume GESQUIERE**, pour le temps qu'il m'a fait gagner en faisant l'office de « facteur » entre la CEREP et la Faculté de Pharmacie, et sans lequel un grand nombre de tâches administratives aurait été difficiles et longues à remplir.

Je remercie chaleureusement l'ensemble de l'équipe de chimistes, ingénieurs et techniciens de CEREP Lille, parce que chacun, à un moment ou à un autre, m'a aidée ou encouragée.

Je n'oublierai pas non plus tous les membres de l'URA CNRS 1309, qui m'ont entouré avec chaleur et m'ont aidé lors de mon travail au sein de leur équipe. Soyez-en remerciés.

Je finirai par remercier ceux qui me sont proches et qui m'ont toujours soutenu et encouragé : mon époux qui, après toutes ces années s'étonne toujours devant les « hexagones » que je ne cesse pas de dessiner ; mon père, mes soeurs, ma nièce, ma belle soeur et mon beau frère, mes beaux-parents, ma belle famille et mes amis.

## TRAVAUX

### PUBLICATIONS

1 - Pop, I.; Dhalluin, C.; Déprez, B.; Melnyk, P.; Lippens, G.; Tartar, A.

« Monitoring of a three-step solid phase synthesis involving a Heck reaction using MAS NMR Spectroscopy »

*Tetrahedron* 1996, **52**, 12209-12222

2 - Pop, I. ; Déprez, B. ; Tartar, A.

« Versatile Acylation of *N*-Nucleophiles Using a New Polymer-Supported 1-Hydroxybenzotriazole Derivative »

*Journal of Organic Chemistry* 1997, **62**, 2594-2603

3 - Bourel L., Williard X., Pop I., Baudelle R., Horvath D., Déprez B., Melnyk P., Tartar A.,

« Synthèse Combinatoire : Les autoroutes de la diversité »

*Actualités chimiques* 1995, décembre 1995, page 33

4 - Melnyk P., Bourel L., Williard X., Pop I., Horvath D., Déprez B., Tartar A.,

« Combinatorial chemistry : a rational access to molecular diversity »

*Actualités de Chimie Thérapeutique* 1995 22e série 51-66

5 - Williard X., Pop I., Bourel L., Horvath D., Baudelle R., Melnyk P., Déprez B., Tartar A.,

« Combinatorial chemistry : a rational access to chemical diversity »

*Eur. J. Med. Chem.* 1996, **31**, 87-98

6 - Dhalluin, C.; Pop, I.; Déprez, B.; Melnyk, P.; Tartar, A.; Lippens, G.

« MAS NMR of polystyrene-bound organic molecules - Monitoring of a three-step solid phase synthesis involving a Heck reaction using MAS NMR Spectroscopy »

*Exploiting Molecular Diversity*, Chaiken, I.; Janda, K., Eds. ACS Books

## COMMUNICATIONS

1 - First European Congress on Catalysis EuropaCat-I, Montpellier France (12 - 17 septembre 1993)

« *Acid Sites, Molecular Traffic and Catalytic Activity of SAPO-34 Zeolites* », poster

Pop, E. I.; Pop, Gr.; Tomi, P.; Ganea, R.

2 - 9 ème Réunion Peptides et Protéines (Aussois, 1995)

" *Banques Chimiques et Combinatoires*", poster

Déprez, B.; Williard, X.; Bourel, L.; Pop, I.; Pop, V.; Melnyk, P.; Tartar, A.

3 - Molecular Diversity & Combinatorial Chemistry, San Diego USA (24-26 janvier 96)

« *A three-step solid phase synthesis monitored by gel phase NMR* », poster

Pop, I.; Dhalluin, C.; Déprez, B.; Melnyk, P.; Lippens, G.; Tartar, A.

4 - Exploiting Molecular Diversity, Coronado USA (29-31 janvier 96)

« *A three-step solid phase synthesis monitored by gel phase NMR* », poster

Pop, I.; Dhalluin, C.; Déprez, B.; Melnyk, P.; Lippens, G.; Tartar, A.

5 - Solid phase synthesis, Coronado USA (1-2 février 96)

« *A three-step solid phase synthesis monitored by gel phase NMR* », poster

Pop, I.; Dhalluin, C.; Déprez, B.; Melnyk, P.; Lippens, G.; Tartar, A.

6 - SECO XXXIII, Grande Motte (2 - 8 juin 1996)

« *Utilisation de la technique MAS (Magic Angle Spinning) RMN pour le suivi direct d'une synthèse en phase solide* », communication orale

**SOMMAIRE**

Remerciements	3
Travaux	6
Sommaire	8
Abréviations	15
<b>RESULTATS</b>	
<b>AVANT-PROPOS</b>	17
<b>CHAPITRE 1. LA SYNTHÈSE COMBINATOIRE, TECHNIQUES ET REACTIONS DE BASE</b>	18
1.I. DEFINITION ET PRINCIPE DE LA SYNTHÈSE COMBINATOIRE	18
1.II. L'ACCES A LA DIVERSITE MOLECULAIRE : STRATEGIES ET TECHNIQUES	20
1.II.1. La synthèse en phase solide	21
1.II.2. Les techniques d'assemblage	22
1.II.2.1. La dimérisation	23
1.II.2.2. L'oligomérisation	24
1.II.2.3. L'assemblage de la diversité structurale autour d'une molécule polyfonctionnelle (squelettes « décorés »)	27
1.II.2.4. L'assemblage d'hétérocycles	27
1.II.2.5. Les réactions de la chimie organique sur support solide	29
1.III. LES GENERATIONS DE BIBLIOTHEQUES COMBINATOIRES : DE LA SYNTHÈSE EN MELANGE DE PEPTIDES A LA SYNTHÈSE PARALLELE A HAUT DEBIT DE PETITES MOLECULES	30
1.III.1. Evolution des chimies en synthèse combinatoire	30
1.III.2. Evolution de la géométrie des chimiothèques en synthèse combinatoire	31
1.IV. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 1	33
<b>CHAPITRE 2. SYNTHÈSE ET EVALUATION D'UN NOUVEAU REACTIF ANCRE SUR UN POLYMERE INSOLUBLE POUR L'ACYLATION DES N-NUCLEOPHILES</b>	34
2.I. CONCEPTION D'UNE CHIMIOTHEQUE D'AMIDES	34
2.I.1. La notion de <i>tenseur</i>	34
2.I.2. La diversité structurale autour du tenseur <i>liaison amide</i>	35
2.I.3. La formation de la liaison amide	36
2.I.3.1. Assemblage d'amides en phase homogène	36
2.I.3.2. Assemblage d'amides en phase solide	36
2.I.3.3. Assemblage d'amides en utilisant des agents d'activation immobilisés sur polymère insoluble	38
2.I.4. Choix du schéma réactionnel pour la synthèse parallèle à haut	

débit d'amides	41
2.II. MISE AU POINT D'UNE METHODE D'ASSEMBLAGE D'AMIDES EN UTILISANT UN REACTIF D'ACTIVATION IMMOBILISE SUR POLYMERE	42
2.II.1 Synthèse et évaluation d'un carbodiimide immobilisé sur polymère	42
2.II.1.1. Synthèse d'un carbodiimide sur un copolymère insoluble de type polystyrène et divinylbenzène	43
2.II.1.2. Etudes préliminaires d'utilisation du carbodiimide immobilisé sur polymère ( <b>2</b> ) pour l'assemblage d'amides	47
2.II.1.3. Conclusions	52
2.II.2. Synthèse et évaluation d'un nouveau dérivé d'HOBt ancré sur support polymérique	52
2.II.2.1. Synthèse d'un nouveau dérivé d'HOBt sur un copolymère insoluble de type polystyrène et divinylbenzène	54
2.II.2.2. Estimation des propriétés acido-basiques du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide immobilisé sur polymère ( <b>20</b> )	61
2.II.2.3. Etudes préliminaires d'utilisation du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide ( <b>20</b> ) pour la formation de la liaison amide	63
2.II.2.4. Choix du solvant pour l'assemblage d'amides en utilisant le 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide sur polymère ( <b>20</b> )	70
2.II.2.5. Choix du réactif d'activation soluble	71
2.II.2.6. Optimisation de l'activation des acides carboxyliques sous forme d'ester activé sur polymère ( <b>27</b> )	73
2.II.2.7. Etude de stabilité des esters activés ( <b>27</b> )	75
2.II.2.8. Optimisation de la réaction des esters activés ( <b>27</b> ) avec les <i>N</i> -nucléophiles (étape de couplage)	76
2.II.2.9. Généralité de la méthode d'assemblage d'amides en utilisant le réactif ( <b>20</b> )	78
2.II.2.10. Conclusions	86
2.III. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 2	88

**PUBLICATION :** *Versatile Acylation of N-Nucleophiles Using a New Polymer-Supported 1-Hydroxybenzotriazole Derivative* 89

### CHAPITRE 3. SYNTHÈSE DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE 90

3.I. CONCEPTION D'UNE CHIMIOTHEQUE DE BENZIMIDAZOLES POUR LA SYNTHÈSE PARALLELE A HAUT DEBIT	90
3.I.1. Chimiothèques issues de la même diversité structurale, engendrant des pharmacophores différents	90
3.I.2. Assemblage d'hétérocycles à partir d'amines et d'acides carboxyliques	93
3.I.2.1. Assemblage d'imidazoles et de benzimidazoles à partir d'acides carboxyliques et d'amines	94
3.I.2.2. Schémas réactionnels de synthèse d'imidazoles et de benzimidazoles	95

3.I.2.3. Etude comparée de faisabilité des synthèses d'imidazoles et de benzimidazoles en phase solide	100
3.1.2.4. Intérêt de la synthèse de benzimidazoles par assemblage d'amines et d'acides carboxyliques : espace structural exploré par une chimiothèque de benzimidazoles par rapport à une chimiothèque d'amides	100
3.II. CHOIX DU SCHEMA REACTIONNEL OPTIMUM POUR LA SYNTHESE PARALLELE A HAUT DEBIT DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE	104
3.II.1. Choix des principaux réactifs	104
3.II.1.1. Choix du bras de fonctionnalisation du polymère	104
3.II.1.2. Choix du tenseur précurseur	111
3.II.1.3. Choix du support solide	109
3.II.2. Choix du schéma d'introduction de la diversité structurale des amines	110
3.II.2.1. Introduction de la diversité structurale des amines en phase homogène	112
3.II.2.2. Introduction de la diversité structurale des amines en phase solide	114
3.III. MISE AU POINT DE LA SYNTHESE DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE	115
3.III.1. Ancrage du tenseur précurseur	115
3.III.1.1. Utilisation du tenseur précurseur chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle ( <b>18</b> )	115
3.III.1.2. Utilisation du tenseur précurseur acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque ( <b>65</b> )	117
3.III.2. Substitution nucléophile aromatique	118
3.III.2.1. Optimisation de la S <sub>N</sub> Ar sur le dérivé sulfonamide chloronitré	118
3.III.2.2. S <sub>N</sub> Ar en phase solide sur le dérivé carboxamide fluoronitré ( <b>76</b> )	124
3.III.3. Réduction du groupement nitro aromatique	125
3.III.3.1. Choix de l'agent réducteur	125
3.III.3.2. Mécanisme de réduction des dérivés nitrés par le SnCl <sub>2</sub>	127
3.III.3.3. Optimisation de la réduction des dérivés nitrés sulfonamide et carboxamide en phase homogène et en phase solide	129
3.III.4. Acylation de la fonction aniline primaire des <i>o</i> -phénylenediamines	138
3.III.4.1. Acylation du dérivé <i>o</i> -phénylenediamine sulfonamide ( <b>88</b> )	138
3.III.4.2. Acylation du dérivé <i>o</i> -phénylenediamine carboxamide ( <b>90</b> )	139
3.III.4.3. Conclusions sur l'acylation des dérivés <i>o</i> -phénylenediamines sulfonamide ( <b>88</b> ) et carboxamide ( <b>90</b> )	142
3.III.5. Cyclisation en benzimidazole	142
3.III.6. Criblage chimique des monomères	145
3.III.6.1. Criblage chimique des <i>N</i> -nucléophiles	146
3.III.6.2. Criblage chimique des acides carboxyliques	148

3.III.6.3. Conclusions sur le criblage chimique des <i>N</i> -nucléophiles et des acides carboxyliques	151
3.IV. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 3	153
<b>CHAPITRE 4. UTILISATION DE LA SPECTROSCOPIE DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE SOUS L'ANGLE MAGIQUE POUR LE SUIVI DES REACTIONS SUR SUPPORT POLYMERIQUE INSOLUBLE</b>	<b>156</b>
4.I. TECHNIQUES ANALYTIQUES APPLIQUEES A L'ANALYSE DES MOLECULES IMMOBILISEES SUR POLYMERE	156
4.II. APPLICATION DE LA TECHNIQUE RMN MAS POUR LE SUIVI DES REACTIONS EN PHASE SOLIDE	158
4.II.1. Facteurs qui influencent la résolution dans la spectroscopie RMN des molécules attachées au support polymérique insoluble	158
4.II.2. Préparation de l'échantillon de résine à analyser par RMN MAS	160
4.II.2.1 Etudes de gonflement d'une résine de type PS/DVB dans différents solvants	160
4.II.2.2. Préparation de l'échantillon de résine	162
4.II.3. Etudes RMN MAS sur la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc ( <b>99</b> ) dans différents solvants	162
4.II.4. Attribution complète de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc ( <b>99</b> ) en utilisant les données spectrales de RMN MAS	164
4.II.5. Suivi des trois étapes d'une réaction en phase solide en utilisant la technique RMN MAS	166
4.II.5.1. Choix de la réaction modèle	166
4.II.5.2. Schéma réactionnel de synthèse d'oléfines substituées à partir de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc ( <b>99</b> )	167
4.II.5.3. Choix du solvant de gonflement des résines pour les études RMN MAS	169
4.II.5.4. Attribution complète des intermédiaires de réaction à l'aide des spectres TOCSY RMN MAS	169
4.III. APPLICATION DE LA TECHNIQUE RMN MAS POUR LE SUIVI DES REACTIONS IMPLIQUEES DANS LA SYNTHESE DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE	173
4.III.1. Rappel du schéma réactionnel de synthèse de benzimidazoles en phase solide	173
4.III.2. Suivi de la synthèse de benzimidazoles en phase solide par RMN MAS	174
4.III.2.1. Etapes impliquées dans la conception d'une chimiothèque	174
4.III.2.2. Intérêt de l'application de la technique RMN MAS pour le suivi de la synthèse des benzimidazoles en phase solide	174
4.III.2.3. Analyse par RMN MAS des résines de départ utilisées dans la synthèse de benzimidazoles	175
4.III.2.4. Analyse par RMN MAS des résines intermédiaires intervenant dans la synthèse de benzimidazoles	178

---

4.IV. EVALUATION DE LA SENSIBILITE DE LA SPECTROSCOPIE RMN MAS APPLIQUEE A DES MOLECULES ATTACHEES AU SUPPORT POLYMERIQUE	186
4.V. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 4	188
<b>PUBLICATION</b> : <i>Monitoring of a Three-Step Solid Phase Synthesis Involving a Heck Reaction Using Magic Angle Spinning NMR Spectroscopy</i>	189
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	190
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	192
<b>MATERIELS ET METHODES</b>	192
MATERIELS	192
METHODES	195
<b>CHAPITRE 2</b>	199
E-2.II.1. Synthèse et évaluation d'un carbodiimide immobilisé sur polymère	199
E-2.II.1.1. Synthèse d'un carbodiimide sur un copolymère insoluble de type polystyrène et divinylbenzène	199
Synthèse de la résine carbodiimide (2)	199
a/ Synthèse de la résine phtalimide (8)	199
b/ Synthèse de la résine aminométhylée (5)	199
c/ Synthèse de la résine urée (6)	200
d/ Synthèse de la résine carbodiimide (2)	200
E-2.II.1.2. Etudes préliminaires d'utilisation du carbodiimide immobilisé sur polymère (2) pour l'assemblage d'amides	201
a/ Synthèse du Boc- <i>N</i> -benzylglycylamide (10) en utilisant la <i>O</i> -acyl urée sur polymère (9) comme espèce activée	201
b/ Synthèse du Boc- <i>N</i> -benzylglycylamide (10) en utilisant l'anhydride symétrique comme espèce activée	201
c/ Synthèse du Boc- <i>N</i> -benzylvalylamide en utilisant l'anhydride symétrique comme espèce activée	202
d/ Synthèse du Boc-( <i>OBzl</i> )- <i>N</i> -benzylthréonylamide en utilisant l'anhydride symétrique comme espèce activée	202
E-2.II.2. Synthèse et évaluation d'un nouveau dérivé d'HOBt immobilisée sur support polymérique	202
E-2.II.2.1. Synthèse d'un nouveau dérivé d'HOBt sur un copolymère insoluble de type polystyrène et divinylbenzène	202
a/ Synthèse du polymère <i>N</i> -benzyl-4-chloro-3-nitrobenzène-sulfonamide (19)	203
b/ Synthèse du polymère 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (20)	203
c/ Détermination de la charge du polymère 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (20)	203
E-2.II.2.2. Estimation des propriétés acido-basiques du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide immobilisé sur polymère (20)	204
a/ Synthèse du <i>N</i> -benzyl-4-chloro-3-nitrobenzène-	

---

sulfonamide (22)	204
b/ Synthèse du <i>N</i> -benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-	
sulfonamide (23)	205
c/ Mesures de pKa des composés (23), (24), (25), (26) et (14)	206
E-2.II.2.3. Etudes préliminaires d'utilisation du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (20) pour la formation de la liaison amide	206
a/ Synthèse du Boc- <i>N</i> -benzylvalylamide (29) en phase homogène, en présence de DCC	206
b/ Synthèse d'amides en présence de résine (20)	206
E-2.II.2.9. Généralité de la méthode d'assemblage d'amides en utilisant le réactif (20)	208
a/ Procédure générale de synthèse des esters activés sur polymère (27)	208
b/ Procédure générale de synthèse d'amides à partir d'esters activés sur polymère (27)	208
c/ Synthèse d'amides en utilisant le réactif (20), selon les procédures générales décrites aux points a/ et b/	208
<b>CHAPITRE 3</b>	233
E-3.III. MISE AU POINT DE LA SYNTHÈSE DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE	233
Procédure générale de clivage et de récupération des produits synthétisés sur une résine de type Rink-amide (63)	233
E-3.III.1. Ancrage du tenseur précurseur	234
E-3.III.1.1. Utilisation du tenseur précurseur chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzène-sulfonyle (18)	234
Synthèse du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74)	234
a/ Synthèse du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) en phase homogène	234
b/ Synthèse d'une résine 4-(2',4'-diméthoxyphényl)-Fmoc-aminométhylphénoxy (75)	234
c/ Synthèse du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) en phase solide	235
E-3.III.1.2. Utilisation du tenseur précurseur acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65)	235
Ancrage de l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque sur la résine (63)	236
a/ Utilisation du PyBrOP comme agent activateur	236
b/ Utilisation du DCC comme agent activateur	236
E-3.III.2. Substitution nucléophile aromatique	237
E-3.III.2.1. Optimisation de la SNAr sur le dérivé sulfonamide chloronitré	237
a/ Synthèse du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78) en phase homogène	237
b/ Procédure générale de détermination de l'avancement de la SNAr	238
c/ Cinétique de SNAr en phase homogène	238
d/ SNAr en phase homogène, avec chauffage aux micro-ondes	238
e/ SNAr en phase solide	239

E-3.III.2.2. SNAr sur le dérivé carboxamide fluoronitré (76)	240
a/ Synthèse en phase homogène du 4-( <i>N</i> -benzyl)amino-3-nitrobenzène-carboxamide (81)	240
b/ SNAr en phase solide, à 50 °C	242
c/ SNAr en phase solide, à température ambiante	243
E-3.III.3. Réduction du groupement nitro aromatique	243
E-3.III.3.3. Optimisation de la réduction des dérivés nitrés sulfonamide et carboxamide en phase homogène et en phase solide	243
a/ Etude de stabilité du bras de fonctionnalisation Rink dans les conditions de réduction	243
b/ Etudes de réduction du dérivé nitré sulfonamide	244
c/ Réduction en phase solide du dérivé nitré carboxamide (80)	247
E-3.III.4. Acylation de la fonction aniline primaire des <i>o</i> -phénylenediamines	248
E-3.III.4.1. Acylation du dérivé <i>o</i> -phénylenediamine sulfonamide (88)	248
E-3.III.4.2. Acylation du dérivé aminé carboxamide (90)	248
E-3.III.5. Cyclisation en benzimidazole	249
E-3.III.6. Criblage chimique des monomères	250
E-3.III.6.1. Criblage chimique des <i>N</i> -nucléophiles	250
a/ Généralités	250
b/ Substitution nucléophile aromatique	251
c/ Réduction	256
d/ Acylation	260
e/ Cyclisation en benzimidazole et clivage de la résine	264
E-3.III.6.2. Criblage chimique des acides carboxyliques	269
a/ Acylation	269
b/ Essais de cyclisation en benzimidazole	273
<b>CHAPITRE 4</b>	274
E-4.1. Synthèse des résines	274
E-4.2. Détermination du gonflement de la résine (99) dans différents solvants	276
E-4.3. Expériences de RMN MAS	276
<b>ANNEXES</b>	277
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	278

## ABBREVIATIONS

- ACD - *Available Chemicals Directory*  
 AcOEt - acétate d'éthyle  
 AcOH - acide acétique  
 APCI - *Atmospheric Pressure Chemical Ionisation*  
 AU - *Absorbance Unities*  
 Boc-(OBzl)Thr-OH - *N-tertbutyloxycarbonyl-(O-benzyl)thréonine*  
 Boc-Aib-OH - acide *N-tertbutyloxycarbonylaminoisobutyrique*  
 Boc-Gly-OH - *N-tertbutyloxycarbonyl-glycine*  
 Boc-Val-OH - *N-tertbutyloxycarbonyl-valine*  
 BOP - benzotriazole-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium hexafluorophosphate  
 BPF - *Bipolar Pharmacological Fingerprint*  
 C<sub>6</sub>D<sub>6</sub> - benzène deutéré  
 CCE - chromatographie sur couche épaisse  
 CCM - chromatographie sur couche mince  
 CD<sub>3</sub>CN - acétonitrile deutéré  
 D<sub>2</sub>O - eau deutérée  
 DBU - 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-ene(1,5-5)  
 DCC - *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide  
 DCU - *N,N'*-dicyclohexylurée  
 DIC - *N,N'*-diisopropylcarbodiimide  
 DIEA - diisopropyléthylamine  
 DMF - *N,N'*-diméthylformamide  
 DMF-*d7* - *N,N'*-diméthylformamide deutéré  
 DMSO-*d6* - diméthylsulfoxyde deutéré  
 DO - densité optique  
 dt - doublet de triplets  
 DVB - divinylbenzène  
 Et<sub>2</sub>O - éther éthylique  
 Et<sub>3</sub>N - triéthylamine  
 EtOH - éthanol  
 Fmoc - 9-fluorénylméthoxyloxycarbonyl  
 Fmoc-(Boc)-Lys-résine - *N<sup>α</sup>-(9-fluorénylméthoxyloxycarbonyl)-N<sup>ε</sup>-tertbutyloxycarbonyl-lysyl-résine*  
 Fmoc-Gly-NH<sub>2</sub> - *N-(9-fluorénylméthoxyloxycarbonyl)glycylamide*  
 Fmoc-Gly-OH - *N-(9-fluorénylméthoxyloxycarbonyl)glycine*  
 grad. - gradient  
 HBTU - 2-(1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate  
 HMQC - *Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*  
 HOAt - 1-hydroxy-7-azabenzotriazole  
 HOBt - 1-hydroxybenzotriazole  
 HOSu - 1-hydroxysuccinimide  
 HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*

IC - ionisation chimique  
IC<sub>50</sub> - *Inhibitory Concentration*  
IE - ionisation par impact électronique  
J - constante de couplage  
LC/MS - *Liquid Chromatography/Mass Spectroscopy*  
M<sup>+</sup> - masse molaire du radical cation  
MAS - *Magic Angle Spinning*  
MeOH - méthanol  
MH<sup>-</sup> - masse molaire de la molécule protonée  
MM - masse molaire  
NK - neurokinine  
NOE - *Nuclear Overhauser Effect*  
NOESY - *Nuclear Overhauser Spectroscopy*  
PEG - polyéthylèneglycol  
Pf - point de fusion  
PPh<sub>3</sub> - triphénylphosphine  
PS - polystyrène  
PyBOP - benzotriazole-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate  
PyBrOP - bromo-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate  
PyClOP - chloro-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate  
Rf - rapport frontal  
SN<sub>2</sub> - substitution nucléophile d'ordre 2  
SNA<sub>r</sub> - substitution nucléophile aromatique  
t.a. - température ambiante  
*t*BuOH - alcool *tert*butylique  
TDM - 4,4'-tétraméthylldiaminodiphénylméthane  
TFA - acide trifluoroacétique  
THF - tétrahydrofurane  
TOCSY - *Total Correlation Spectroscopy*  
TOF - *Time of Flight*  
*t*<sub>R</sub> - temps de rétention

## **RESULTATS**

## AVANT-PROPOS

Le travail qui fait l'objet de cette thèse a pour but la mise au point de nouvelles techniques de synthèse et d'analyse de produits pour la chimie combinatoire, une toute jeune branche de la synthèse organique appliquée à la découverte de nouveaux médicaments.

Nous allons commencer par un rappel sur la synthèse combinatoire et ses applications. Nous allons présenter, dans le premier chapitre, les grandes techniques et les réactions utilisées en chimie combinatoire en nous basant sur les articles que nous avons publiés depuis 1995 et qui présentent ce sujet d'une façon synthétique.<sup>1, 2, 3</sup>

Dans le deuxième chapitre, nous allons présenter nos recherches et nos résultats dans la synthèse et l'utilisation d'un nouveau réactif ancré sur polymère insoluble, pour la synthèse à haut débit d'amides. Ces travaux ont fait l'objet d'un article qui a été publié dans « *The Journal of Organic Chemistry* ».

Dans le troisième chapitre, nous allons présenter les recherches que nous avons effectuées autour de ce qu'on a appelé un *tenseur*. Dans ce cas particulier, le tenseur est une molécule qui, grâce à sa polyfonctionnalité, permet de réunir autour d'elle une grande diversité chimique, provenant des différentes classes de composés chimiques qui peuvent y être greffés. Nous allons présenter les différentes voies de synthèse explorées à partir d'un tenseur trifonctionnel ancré sur polymère insoluble.

Le quatrième et dernier chapitre sera dédié aux méthodes d'analyse rapides et non destructives appliquées en synthèse combinatoire au contrôle des réactions en phase solide. Nous allons décrire l'application de la technique de résonance magnétique nucléaire sous l'angle magique, *RMN MAS*, pour l'analyse directe des produits sur le support de synthèse insoluble. Ce travail a fait l'objet d'un article qui a été publié dans le journal « *Tetrahedron* ».

## CHAPITRE 1

### LA SYNTHÈSE COMBINATOIRE: TECHNIQUES ET REACTIONS DE BASE

Alors que la conception raisonnée de ligands pour des récepteurs et enzymes, basée sur les connaissances préalablement acquises sur ces cibles est apparue il y a 20 ans comme l'approche la plus efficace pour la découverte de nouvelles molécules biologiquement actives, l'industrie pharmaceutique n'a jamais abandonné l'approche purement empirique reposant sur le criblage systématique de grands nombres de composés qui ne possèdent pas de similitude structurale avec le ligand naturel. Cette méthode a conduit, et conduit encore, à la découverte de la majorité des nouvelles têtes de séries. De plus, la découverte de nouvelles cibles biologiques, l'utilisation d'ensembles robotisés, ainsi que la miniaturisation ont conduit ces dernières années, à une augmentation impressionnante des capacités de criblage des sociétés pharmaceutiques: une grande société pharmaceutique peut tester des centaines de milliers de produits par an sur des centaines de tests biologiques. Des méthodes de synthèse combinatoire se sont alors développées, permettant d'augmenter en conséquence le nombre de nouvelles molécules à tester.

#### 1.1. DEFINITION ET PRINCIPE DE LA SYNTHÈSE COMBINATOIRE

Les molécules qui vont alimenter les tests de criblage à haut débit doivent être en grand nombre mais en même temps elles doivent couvrir une grande diversité structurale.

Traditionnellement, ces composés provenaient des échantillothèques des sociétés pharmaceutiques, alimentées au fil des années par la production des chimistes ou par les substances naturelles, qu'elles soient issues de plantes, d'animaux ou de la fermentation microbienne. Les échantillothèques chimiques présentent néanmoins une faible diversité structurale car elles sont le reflet des grands programmes développés antérieurement au sein des sociétés. Par exemple, la récente découverte de plusieurs activités totalement inattendues chez des séries de composés appartenant à la famille des benzodiazépines, s'explique probablement en grande partie par leur sur-représentation au sein des échantillothèques. Les

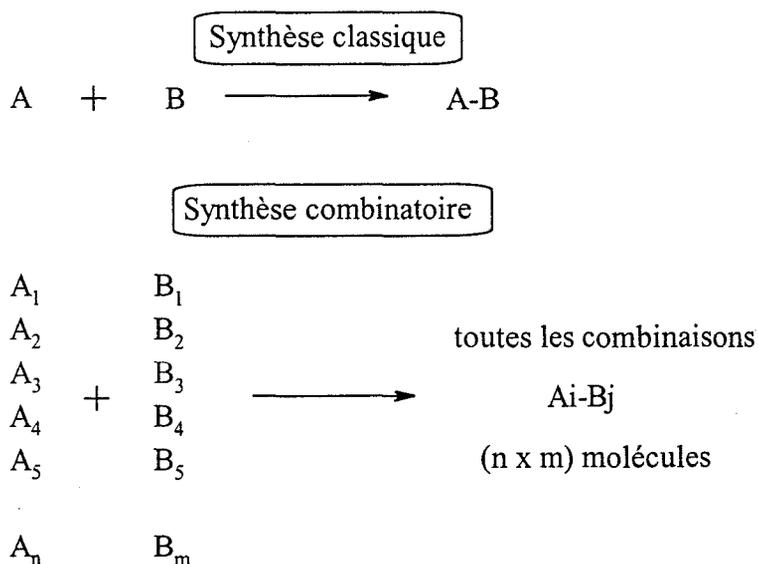
produits d'origine naturelle représentent une source inégalable de diversité structurale mais ils exigent des étapes longues et difficiles de purification et d'analyse structurale, pouvant conduire *in fine* à des composés très complexes et difficile à exploiter (synthèse totale difficile, faible nombre d'analogues accessibles).

Une rationalisation de l'approvisionnement des tests de criblage en composés originaux s'est donc imposée graduellement. Une solution à ce problème était de synthétiser d'une façon simple et rapide un grand nombre de composés, très différents les uns des autres. Sachant qu'un chimiste organicien classique peut synthétiser durant toute sa carrière quelques milliers de produits, il fallait trouver des solutions originales permettant de synthétiser des centaines, voir des milliers de produits par jour pour pouvoir alimenter les tests de criblage. A la base de ces solutions originales se trouve le concept de *synthèse combinatoire*.<sup>4, 5</sup>

En synthèse organique classique, deux réactifs A et B sont mis en réaction dans des conditions conduisant à un produit A-B sinon unique, pour le moins majoritaire.

À l'opposé, en synthèse combinatoire, les réactions mettent en jeu des ensembles de réactifs : un ensemble de **n** composés d'une réactivité A ( $A_1$  à  $A_n$ ) sera opposé à un ensemble de **m** composés de l'autre réactivité B ( $B_1$  à  $B_m$ ) conduisant à un mélange de **n x m** produits contenant toutes les combinaisons possibles  $A_i-B_j$ , et qui est appelé *bibliothèque* ou *chimiothèque* combinatoire. Le principe général de la synthèse combinatoire est schématisé sur la figure 1.1.

Figure 1.1. Principe général de la synthèse combinatoire



La répétition de quelques étapes combinatoires conduit rapidement à un très grand nombre de composés (tableau 1.1).

**Tableau 1.1.** Nombre de composés susceptibles d'être synthétisés en utilisant différentes stratégies combinatoires

Nombre de monomères	Nombre d'étapes combinatoires	Nombre de composés synthétisés
	2	$10^2$
10	3	$10^3$
	4	$10^4$
	2	$10^4$
100	3	$10^6$
	4	$10^8$

Les stratégies de ce type ont l'air très prometteur mais elle doivent quand même être considérées avec précautions, car il est difficile de détecter un composé actif dans des mélanges très complexes.

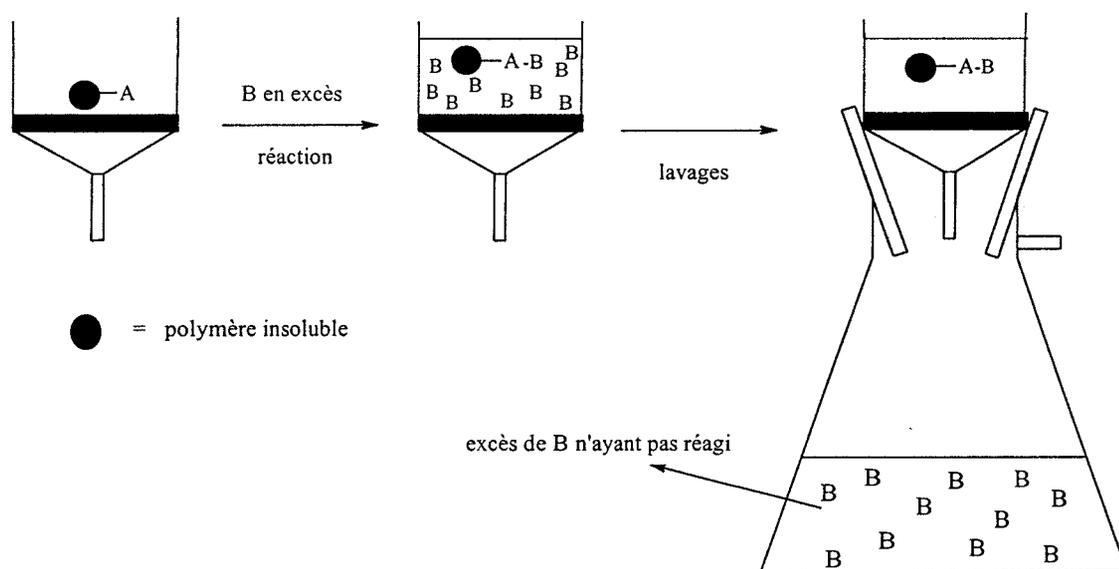
## 1.II. L'ACCES A LA DIVERSITE MOLECULAIRE: STRATEGIES ET TECHNIQUES

Plus encore qu'en synthèse organique classique, en synthèse combinatoire il est important que les réactions utilisées soient robustes, s'appliquant de manière générale à une grande variété de réactifs A ou B et conduisant selon un même chemin réactionnel à une structure générique A-B unique avec de bons rendements. Dans le cas inverse, on aboutira à des mélanges inextricables rendant illusoire toute tentative d'identification structurale d'un composé actif. Dans ce contexte, les méthodes de synthèse sur support solide apportent un avantage considérable.

### 1.II.1. La synthèse en phase solide

En 1963 Merrifield introduisait le concept de synthèse sur support solide.<sup>6</sup> Le principe en est simple: au départ, un réactif A est lié de manière covalente à un polymère insoluble. Le second réactif B est amené en solution. A l'issue de la réaction, le produit A-B, lié de manière covalente au polymère, est facilement séparé des solvants, réactifs en excès ou sous-produits obtenus en solution par une simple opération de filtration (figure 1.2). Si les réactifs utilisés sont bi- ou polyfonctionnels, ce cycle peut être répété plusieurs fois pour engendrer des oligomères de haut poids moléculaire, comme c'est le cas pour les peptides ou les oligonucléotides.

Figure 1.2. Principe général de la synthèse en phase solide



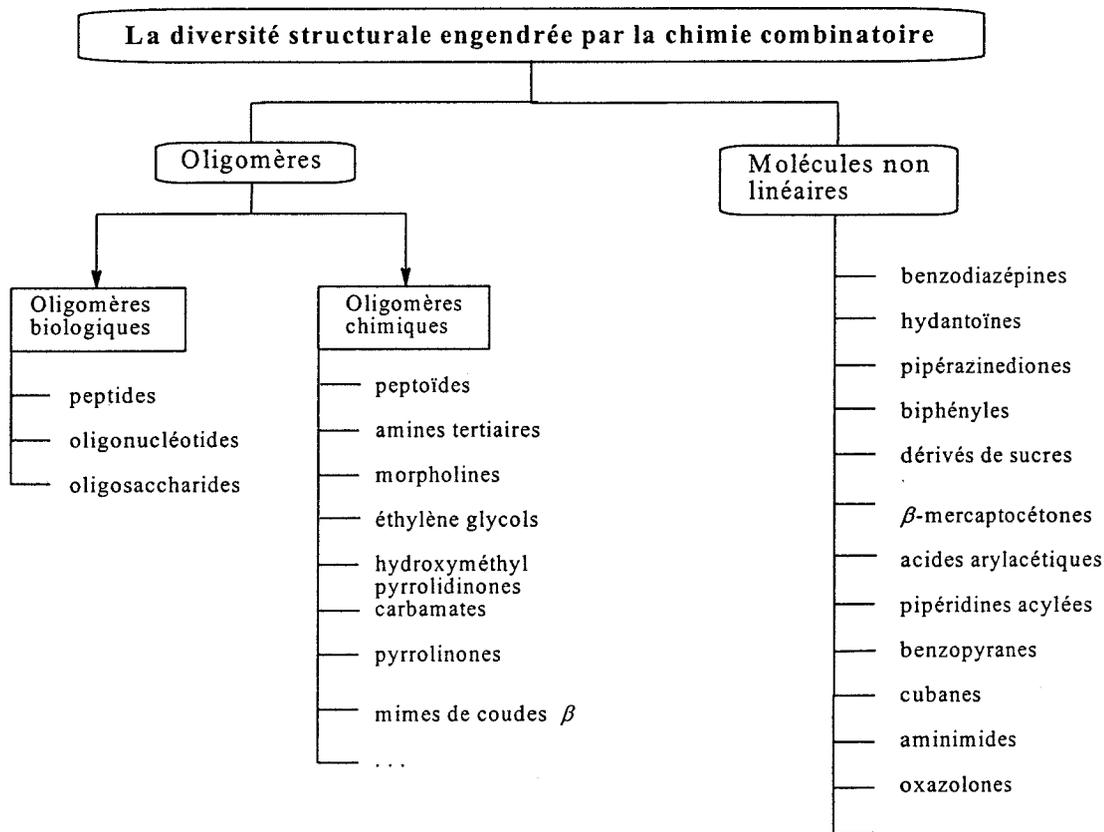
La synthèse sur support solide présente plusieurs avantages par rapport à la synthèse en phase homogène. On a, d'une part, la possibilité d'utiliser des excès de réactifs pour augmenter les cinétiques des réactions et, d'autre part, on peut s'en débarrasser très facilement par des simples opérations de lavage et de filtration. De plus, les composés synthétisés restent attachés au polymère jusqu'à la fin de la synthèse, évitant ainsi les pertes de produits lors des précipitations, extractions ou autres méthodes de purification utilisées en phase homogène. A la fin du cycle de réactions, le produit obtenu sur polymère insoluble peut être clivé et récupéré en solution. Selon les cas, les produits des réactions peuvent être testés directement,

encore liés de manière covalente au polymère, ou sous forme soluble, après clivage de la liaison qui les associe au support solide.

### 1.II.2. Les techniques d'assemblage

Les éléments de base qui valident une stratégie combinatoire sont essentiellement la diversité structurale et l'originalité des composés obtenus, et non seulement leur nombre. Les différentes stratégies qui ont été suivies pour engendrer la diversité structurale sont illustrées dans la figure 1.3.

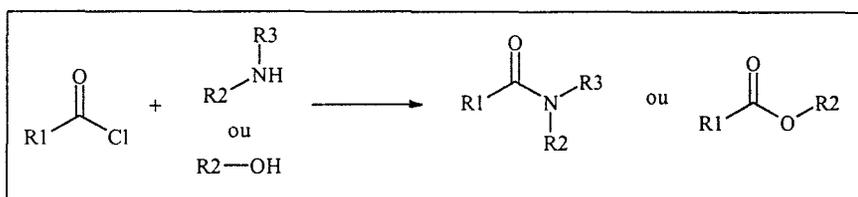
Figure 1.3. Stratégies de synthèse combinatoire pour l'obtention de la diversité structurale



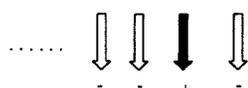
### 1.II.2.1. La dimérisation

La dimérisation est la plus simple technique utilisée en synthèse combinatoire. Pour le cas des monomères monofonctionnels, la synthèse en phase homogène peut être utilisée si les adjuvants de synthèse n'interfèrent pas avec les tests biologiques. Un exemple récent est une chimiothèque de 1600 dimères, obtenue par réaction entre 40 chlorures d'acides et 40 nucléophiles (alcools ou amines) (figure 1.4). Deux chimiothèques de géométrie différente contenant chacune les mêmes 1600 dimères ont en fait été synthétisées, permettant ainsi une identification rapide des produits actifs : dans une première chimiothèque, 40 chlorures d'acides différents ont été mis en réaction, individuellement, avec le mélange de 40 nucléophiles, conduisant à 40 mélanges de 40 dimères chacun ; dans une deuxième chimiothèque, les mêmes 40 nucléophiles ont été mis en réaction individuellement avec le mélange de 40 chlorures d'acyle, conduisant à une deuxième série de 40 mélanges de 40 dimères chacun. Les 80 mélanges ont été testés et ont conduit à l'identification d'un inhibiteur peu puissant du récepteur neurokinine NK<sub>3</sub> ( $IC_{50} = 60 \mu M$ ).<sup>7</sup>

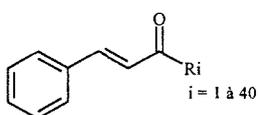
Figure 1.4. Chimiothèque de dimères



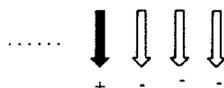
40 sous-bibliothèques de 40 composés chaque



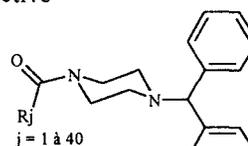
la sous-bibliothèque comportant les 40 *trans*-cinnamylamides est active



40 sous-bibliothèques de 40 composés chaque

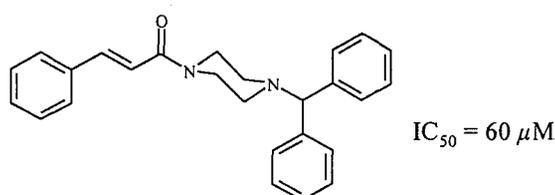


la sous-bibliothèque comportant les 40 carboxamides du 4-(4-chlorobenzhydryl)pipéridine est active



2 x 40 tests sur le récepteur NK<sub>3</sub>

identification

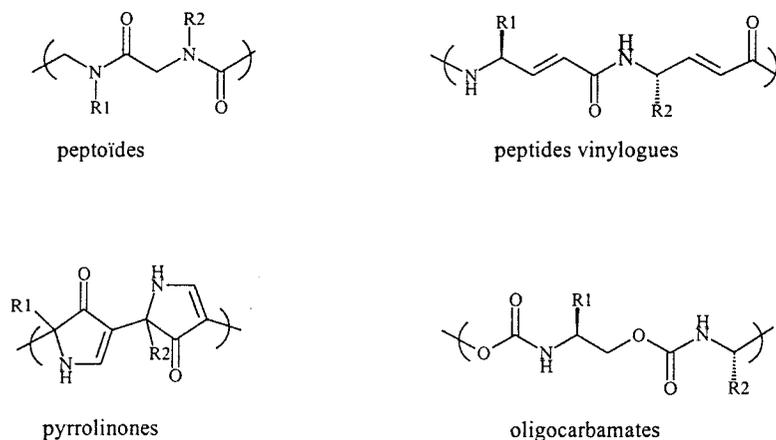


### 1.II.2.2. L'oligomérisation

Quand le nombre d'étapes combinatoires augmente, l'utilisation de la phase solide devient indispensable. Les premières générations d'oligomères en synthèse combinatoire étaient des peptides. Il y avait dans ce cas l'avantage de l'utilisation d'une technique robuste et bien documentée et la possibilité d'introduire une diversité structurale assez importante à partir d'acides aminés non naturels commerciaux.

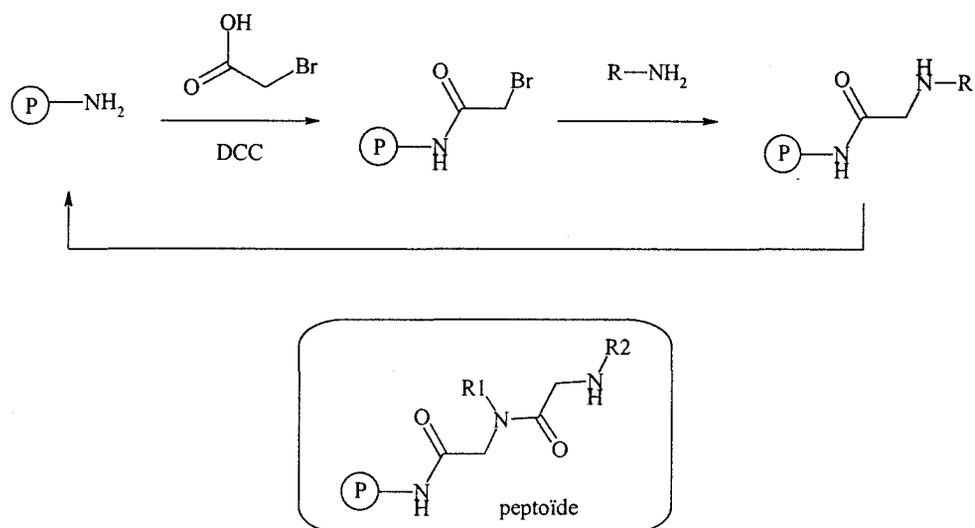
Cependant, la mauvaise biodisponibilité orale et les courtes demi-vies plasmatiques des peptides ont orienté les recherches vers d'autres types de liaisons qui, à l'opposé de la liaison peptidique, présentent une bonne stabilité métabolique. Des exemples typiques sont illustrés dans la figure 1.5.

Figure 1.5. Oligomères chimiques



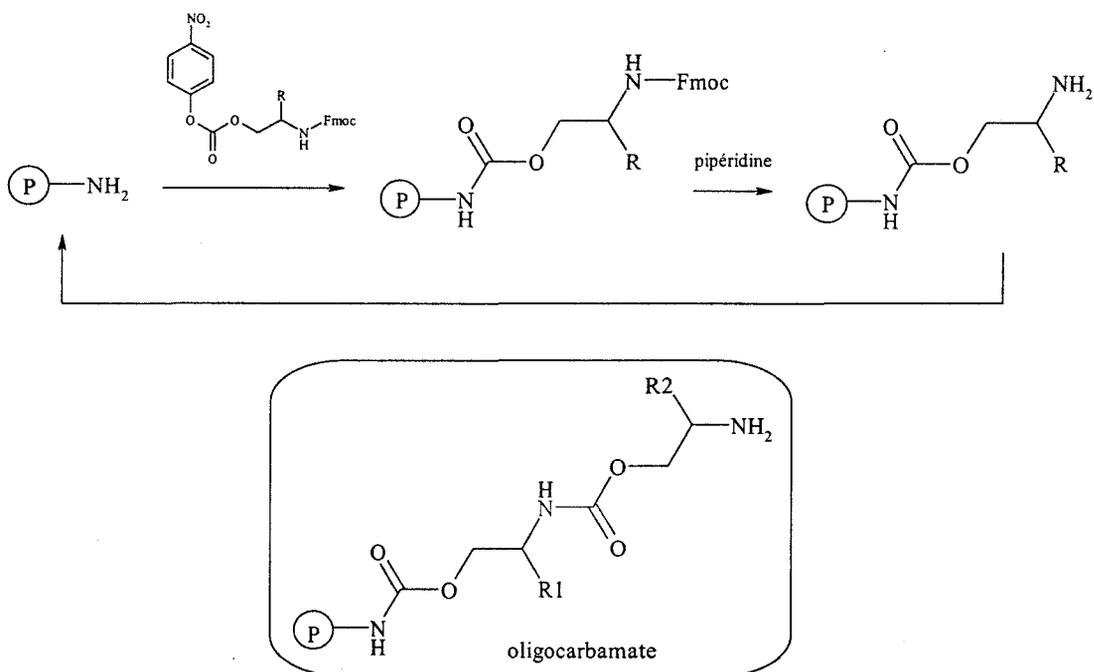
Les peptoïdes, par exemple, sont constitués d'un enchaînement de glycines *N*-substituées. Cette synthèse a été décrite par Zuckerman *et al*<sup>8</sup> (figure 1.6): couplage de l'acide bromoacétique au moyen d'un carbodiimide avec une amine ancrée sur support solide, puis substitution du brome par une série d'amines primaires conduisant à la formation d'une amine secondaire sur polymère, sur laquelle une nouvelle molécule d'acide bromoacétique peut être couplée. Cette stratégie a l'avantage de puiser sa diversité au sein des amines primaires, une des familles chimiques les plus vastes.

Figure 1.6. Structure et synthèse des peptoides



Dans le cas des oligocarbamates,<sup>9</sup> la liaison peptidique est remplacée par une liaison carbamate. Pour cela, les aminoacides *N*-protégés sont d'abord transformés en  $\beta$ -aminoalcools et puis traités par du chlorocarbonate de *p*-nitrophénol conduisant à des esters activés qui réagissent facilement avec les amines (figure 1.7).

Figure 1.7. Structure et synthèse des oligocarbamates

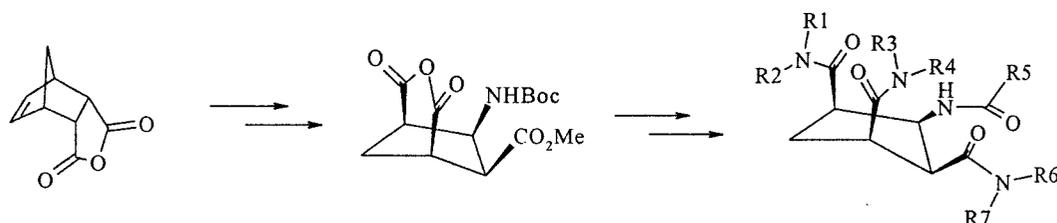


De nombreux autres types d'oligomères chimiques ont été décrits (polypyrrolinones, peptides vinylogues...) (figures 1.3 et 1.5).<sup>10</sup>

### 1.II.2.3. L'assemblage de la diversité structurale autour d'une molécule polyfonctionnelle (squelettes « décorés »)

Les défauts majeurs des oligomères de type peptide modifiés sont leur trop grande flexibilité et une diversité structurale limitée. Pour y remédier, se sont développées des stratégies basées sur des squelettes polyfonctionnels rigides. Le rôle du squelette est, d'une part, de définir la géométrie de l'espace exploré par la molécule et, de l'autre part, par la nature des groupements chimiques qui y sont attachés, de recruter des familles de monomères très diverses. Un exemple de ce type d'approche est la « décoration » de chacune des fonctions engendrées à partir d'un anhydride à structure norbornène, en utilisant la diversité des amines et des acides carboxyliques (figure 1.8).<sup>11</sup>

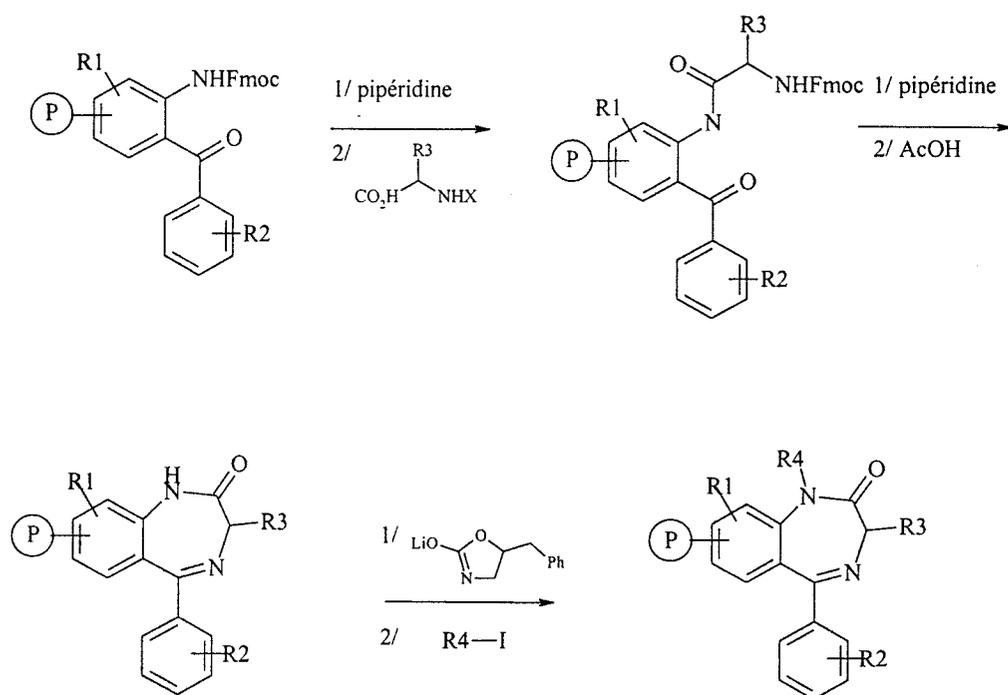
**Figure 1.8.** Décoration du squelette d'un anhydride à structure norbornène



### 1.II.2.4. L'assemblage d'hétérocycles

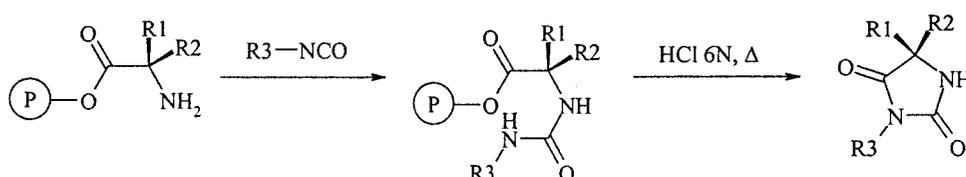
Sachant que la plupart des médicaments actuellement commercialisés ont à leur base des structures hétérocycliques, beaucoup d'efforts ont été faits pour élargir le domaine de la synthèse combinatoire à des structures de ce type, et ce, surtout par des stratégies en phase solide. Une des premières chimiothèques d'hétérocycles, dont la synthèse a été décrite en 1993 par Hobbs de Witt *et al.*,<sup>12</sup> était composée d'un nombre réduit de benzodiazépines, à peu près 40 structures, synthétisées séparément et en phase solide. Cette synthèse fait appel à des monomères appartenant à des séries chimiques bien représentées:  $\alpha$ -aminoacides et dérivés halogénés (figure 1.9).

Figure 1.9. Synthèse d'une chimiothèque de benzodiazépines en utilisant des  $\alpha$ -aminoacides et des dérivés halogénés



De même, la synthèse d'hydantoïnes en phase solide exploite la diversité des  $\alpha$ -aminoacides et des isocyanates.<sup>12</sup> D'une façon originale cette synthèse associe, lors de la dernière étape, le clivage de la liaison avec le polymère et la cyclisation intramoléculaire, conduisant directement aux composés solubles (figure 1.10).

Figure 1.10. Synthèse d'une chimiothèque d'hydantoïnes

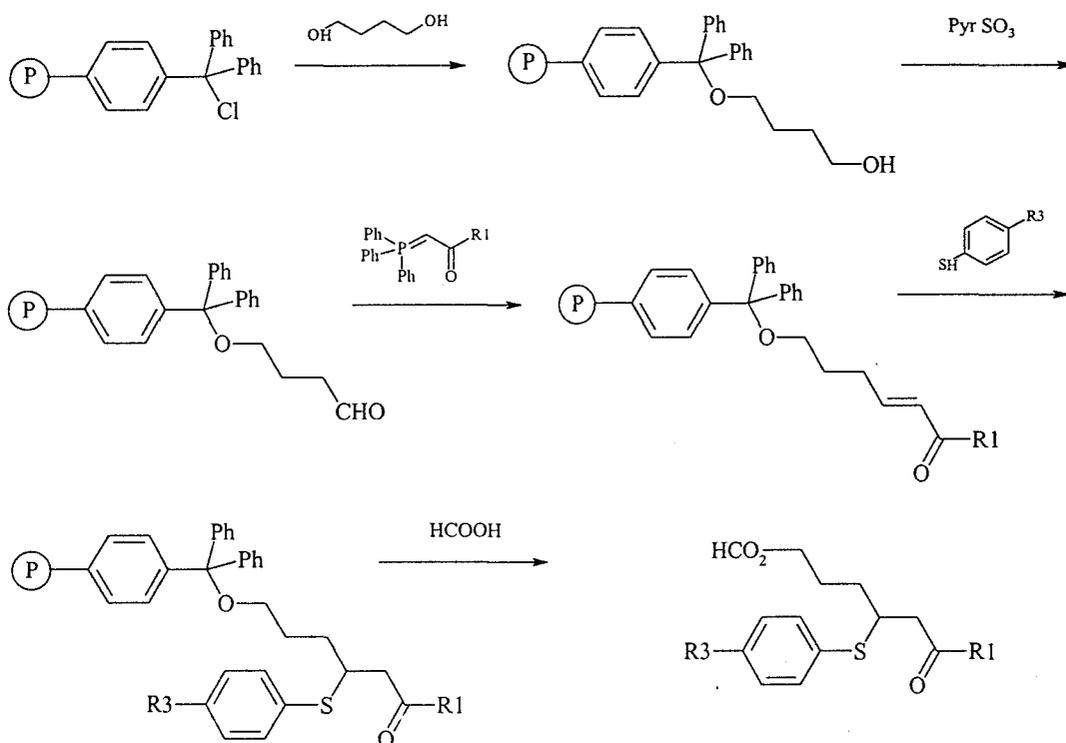


Au fur et à mesure que les technologies se sont perfectionnées, le nombre d'hétérocycles pharmacologiquement intéressants et les tailles des bibliothèques ont augmenté.

## 1.2.2.5. Les réactions de la chimie organique sur support solide

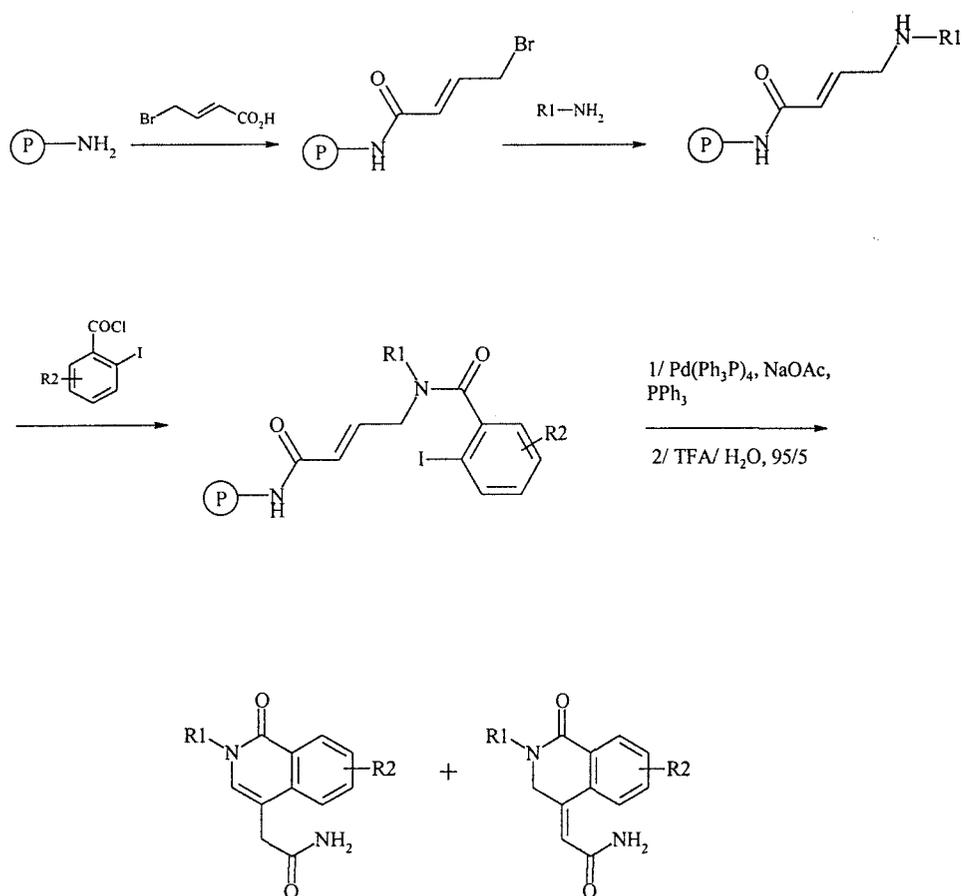
La nécessité d'augmenter la diversité structurale des molécules accessibles par la synthèse combinatoire a été un moteur très puissant pour l'adaptation de nombreuses grandes réactions organiques aux exigences de la synthèse en phase solide. Des synthèses en phase solide de plus en plus sophistiquées et utilisant des réactions de plus en plus élaborées comme celles de Mitsunobu,<sup>13</sup> Horner-Emmons,<sup>14</sup> Suzuki,<sup>15</sup> ont été mises au point. Une petite bibliothèque de  $\beta$ -mercaptocétones a été synthétisée en utilisant la condensation de Horner-Emmons d'ylures stabilisés avec un aldéhyde fixé sur support solide (figure 1.11).<sup>14</sup> L'addition de Michael de thiophénols sur les cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées suivie d'une étape de clivage acide permet de libérer les produits du support pour les tester en solution.

Figure 1.11. Synthèse d'une bibliothèque de  $\beta$ -mercaptocétones



L'équipe de Zuckerman a décrit en 1995 une synthèse d'isoquinolinones utilisant la réaction de Heck (figure 1.12).<sup>16</sup>

Figure 1.12. Synthèse d'une chimiothèque d'isoquinolinones



Ces travaux n'en sont encore qu'à leur début, mais avec le développement conjoint de nouveaux supports insolubles et de nouvelles fonctionnalisations, l'éventail des réactions réalisables en phase solide va probablement beaucoup augmenter les prochaines années.

### 1.III. LES GENERATIONS DE BIBLIOTHEQUES COMBINATOIRES: DE LA SYNTHÈSE EN MELANGE DE PEPTIDES A LA SYNTHÈSE PARALLELE A HAUT DEBIT DE PETITES MOLECULES ORGANIQUES

#### 1.III.1. Evolution des chimies en synthèse combinatoire

Durant ces 20 dernières années, la découverte d'un grand nombre de peptides possédant une activité biologique a focalisé une partie de la chimie médicinale sur les petites molécules peptidiques.<sup>17</sup> De plus, dans l'optique de robustesse des réactions chimiques, la

formation de la liaison peptidique est une très bonne candidate pour la synthèse de bibliothèques combinatoires. Les premières chimiothèques étaient donc constituées de mélanges de peptides obtenus à partir d'acides aminés naturels.<sup>18</sup> Cependant, la mauvaise biodisponibilité orale et les courtes demi-vies plasmatiques des peptides ont orienté les recherches vers d'autres types de liaisons.

Une deuxième génération de chimiothèques est ainsi apparue, dont les mélanges de produits étaient constitués d'oligomères non naturels comme les polyglycines *N*-substituées (peptoïdes)<sup>8</sup> ou les oligocarbamates<sup>9</sup> (figure 1.5). Ces oligomères sont faciles à synthétiser, tout en permettant l'accès rapide à un grand nombre de composés par simple répétition des cycles de synthèse combinatoire, mais ils présentent deux défauts majeurs: une trop grande flexibilité et une diversité structurale limitée.

Pour y remédier, une troisième génération de bibliothèques combinatoires, constituées de petites molécules organiques, s'est développée. Comme nous l'avons déjà mentionné dans le paragraphe 1.II.2. il s'agit, par exemple, de molécules obtenues en « décorant » un squelette rigide polyfonctionnel par une série de molécules monofonctionnelles très diversifiées,<sup>11</sup> ou bien de l'assemblage d'hétérocycles comme les benzodiazépines, hydantoïnes ou dicétopipérazines,<sup>12, 19, 20, 21</sup> tout en faisant appel à la diversité structurale de grandes séries chimiques ( $\alpha$ -acides aminés, amines, acides carboxyliques, dérivés halogénés, *isocyanates*...). La synthèse des chimiothèques de la troisième génération fait également appel aux grandes réactions de la chimie organique telles que Mitsunobu,<sup>13</sup> Still,<sup>22, 23</sup> Heck,<sup>24, 25</sup> Horner-Emmons<sup>14</sup>...

### 1.III.2. Evolution de la géométrie des chimiothèques en synthèse combinatoire

Les deux premières générations de chimiothèques étaient constituées de mélanges, obtenus par réaction de groupes de réactifs mis en contact simultanément. Le problème majeur était dans ces conditions d'identifier la molécule responsable pour l'activité biologique détectée au sein d'un mélange de produits. Les architectures des bibliothèques combinatoires ont donc été conçues d'une manière très raisonnée (sous-bibliothèques, bibliothèques orthogonales), et une série de techniques de déconvolution ont été mises au point,<sup>18, 26, 27, 28, 29</sup> de façon à pouvoir identifier par la suite le produit actif dans le mélange.

Lors de la déconvolution des mélanges de produits on découvre un des défauts majeurs de ces stratégies: l'activité d'un mélange peut être aussi bien due à un produit unique très actif qu'à un effet cumulatif de faibles activités de plusieurs molécules. Dans ce dernier cas, au fur et à mesure qu'on avance dans la déconvolution, l'activité initiale du mélange diminue. De plus, la complexité toujours plus importante des réactions chimiques utilisées en synthèse combinatoire augmente la probabilité d'obtenir des mélanges complexes, de structure difficile à prévoir et à contrôler.

La solution à ces problèmes a été la synthèse de produits uniques. Ainsi, les chimiothèques de la dernière génération sont constituées non plus de mélanges de produits mais de collections allant de centaines à des milliers ou même des dizaines de milliers de composés individuels. La synthèse concomitante d'un nombre considérable de produits a été rendue possible par les progrès réalisés dans le domaine de la miniaturisation et de la robotisation en synthèse organique. Il s'agit de la *synthèse multiple* ou *synthèse parallèle* de produits chimiques individuels, de manière semi-automatique ou complètement robotisée. Pour des chimiothèques de ce type il faut gérer d'une façon très stricte le devenir de chaque réactif introduit dans la synthèse, parce que la déconvolution est basée sur la possibilité de déterminer précisément l'emplacement de chaque produit sur le support de synthèse. Si les synthèses se font dans des plaques de micro-titration par exemple, 96 réactions différentes peuvent avoir lieu en même temps dans une micro-plaque. L'identification des produits se trouvant dans chacun des 96 puits se fait par des étiquettes code barre, une étiquette associée à une plaque rassemblant toute l'information concernant les structures et le positionnement des produits.

#### 1.IV. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 1

Les techniques de synthèse combinatoire se sont développées pour répondre à la nécessité d'alimenter des tests de criblage dont le débit est allé sans cesse croissant, par un grand nombre de molécules très diverses.

Au départ, la solution a été trouvée dans la synthèse de mélanges de produits. Assez rapidement, il s'est avéré que le point faible des bibliothèques en mélange est la déconvolution: dans de nombreux cas l'identification des produits au sein des mélanges n'a pas abouti, soit à cause de faux positifs engendrés par des continuums d'activités (plusieurs produits de faible activité présents dans le même mélange), soit parce que les produits actifs étaient en fait issus de réactions secondaires inattendues et par conséquent très difficiles à identifier. Les chimiothèques actuelles sont constituées de produits uniques synthétisés en parallèle par centaines voir milliers par jour, grâce à la miniaturisation et à l'automatisation des procédés de synthèse.

Les chimies employées en synthèse combinatoire ont elles aussi évolué. Les oligomères naturels de départ (oligopeptides, oligonucléotides...) présentant des mauvaises biodisponibilités orales et des courtes demi-vies plasmatiques ont été remplacés par des oligomères non naturels. Le besoin d'augmenter la diversité structurale au sein des chimiothèques et d'obtenir des structures plus rigides avec des géométries bien définies, ont par la suite orienté la synthèse combinatoire vers des petites molécules organiques obtenues par « décoration » de molécules polyfonctionnelles ou par assemblage d'hétérocycles. La complexité des réactions impliquées dans ces synthèses est elle aussi devenue plus importante, pratiquement toutes les réactions de la chimie organique étant désormais susceptibles d'être employées en synthèse combinatoire.

La phase solide est, dans ce contexte, un outil de base pour la synthèse combinatoire. Des synthèses plus complexes et permettant d'aboutir à des structures plus diverses peuvent être envisagées en phase solide, alors qu'en phase homogène elles seraient difficiles à envisager à cause des contaminations des produits par les différents réactifs, catalyseurs, sous-produits ou excès de réactifs. Le développement de nouveaux polymères insolubles et de nouveaux bras de fonctionnalisation permettent l'utilisation de tous les types de solvants et d'une grande variété de réactifs et de conditions réactionnelles.

## **CHAPITRE 2**

## CHAPITRE 2

# SYNTHESE ET EVALUATION D'UN NOUVEAU REACTIF ANCRE SUR UN POLYMERE INSOLUBLE POUR L'ACYLATION DES N- NUCLEOPHILES

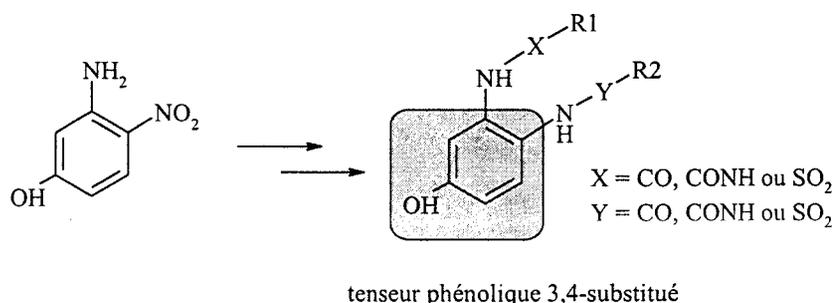
### 2.I. CONCEPTION D'UNE CHIMIOTHEQUE D'AMIDES

#### 2.I.1. La notion de *tenseur*

Nous avons appelé *tenseur* une entité autour de laquelle il est possible d'engendrer une diversité structurale combinatoire. Le tenseur joue le rôle de squelette sur lequel sont greffés les groupements pharmacophores. Il impose en même temps la géométrie de la molécule, permettant ainsi l'exploration de régions différentes de l'espace.

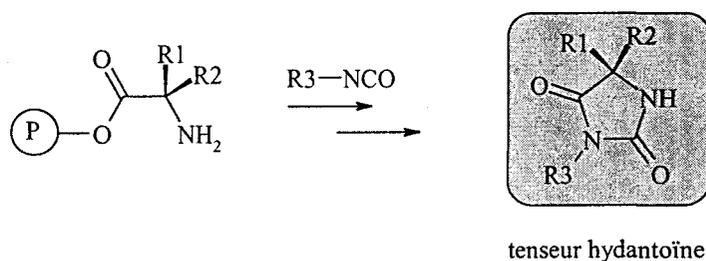
On peut distinguer deux types de tenseurs: des tenseurs *préexistants* dans la synthèse et des tenseurs *créés* durant la synthèse. Les tenseurs préexistants dans la synthèse sont des molécules polyfonctionnelles sur lesquelles on greffe la diversité structurale par des molécules fonctionnelles simples. Le 3-amino-4-nitrophénol est un exemple de ce type: il permet d'exploiter la diversité des acides carboxyliques et des sulfohalogénures ou des isocyanates (figure 2.1).<sup>30</sup>

Figure 2.1. Le tenseur phénol 3,4-substitué



Les tenseurs de la seconde catégorie apparaissent lors de la synthèse. Un hétérocycle comme celui des hydantoïnes, qui réunit la diversité des groupements provenant d'acides aminés et d'isocyanates en constitue un exemple (figure 2.2).<sup>12</sup>

Figure 2.2. Le tenseur hydantoïne



Parmi les tenseurs de seconde catégorie, le tenseur le plus simple créé durant la synthèse est tout simplement une liaison chimique, la liaison amide par exemple.

### 2.1.2. La diversité structurale autour du tenseur *liaison amide*

La liaison amide permet l'assemblage d'amines, et autres N-nucléophiles (hydroxylamines, hydrazines, hydrazides, hydrazones, ...) avec les acides carboxyliques. Ce sont deux classes de composés organiques très largement représentées : plus de mille amines et acides carboxyliques commercialement disponibles ont été trouvés lors d'une recherche informatisée sur la base de données ACD (*Available Chemicals Directory*), ce qui permet théoriquement l'accès à quelques centaines de milliers d'amides qui recouvrent une large variété structurale. Le nombre élevé d'acides carboxyliques et d'amines disponibles commercialement, et implicitement leur facilité d'accès, peuvent être expliqués par leur stabilité d'une part, et par leur capacité d'ionisation et d'isolation facile en milieu aqueux acide ou basique de l'autre.

Nous avons donc considéré que la synthèse d'une bibliothèque d'amides serait d'un grand intérêt du point de vue de la diversité engendrée par l'assemblage de N-nucléophiles avec les acides carboxyliques, et aussi du point de vue de la facilité d'assemblage de la liaison amide.

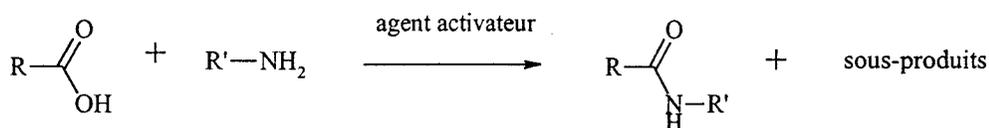
### 2.I.3. La formation de la liaison amide

La formation de la liaison amide est une réaction très robuste, qui a été beaucoup étudiée aussi bien en phase homogène qu'en phase solide, surtout dans le domaine de la synthèse peptidique.

#### 2.I.3.1. Assemblage d'amides en phase homogène

D'une manière générale, la formation d'une liaison amide demande la présence d'un agent activateur qui convertit l'acide carboxylique en une espèce plus réactive (figure 2.3). En même temps, l'agent d'activation est converti en une espèce plus stable qui, si elle reste dans le milieu réactionnel, va contaminer l'amide formé en solution. Des étapes supplémentaires sont alors nécessaires pour purifier cet amide.

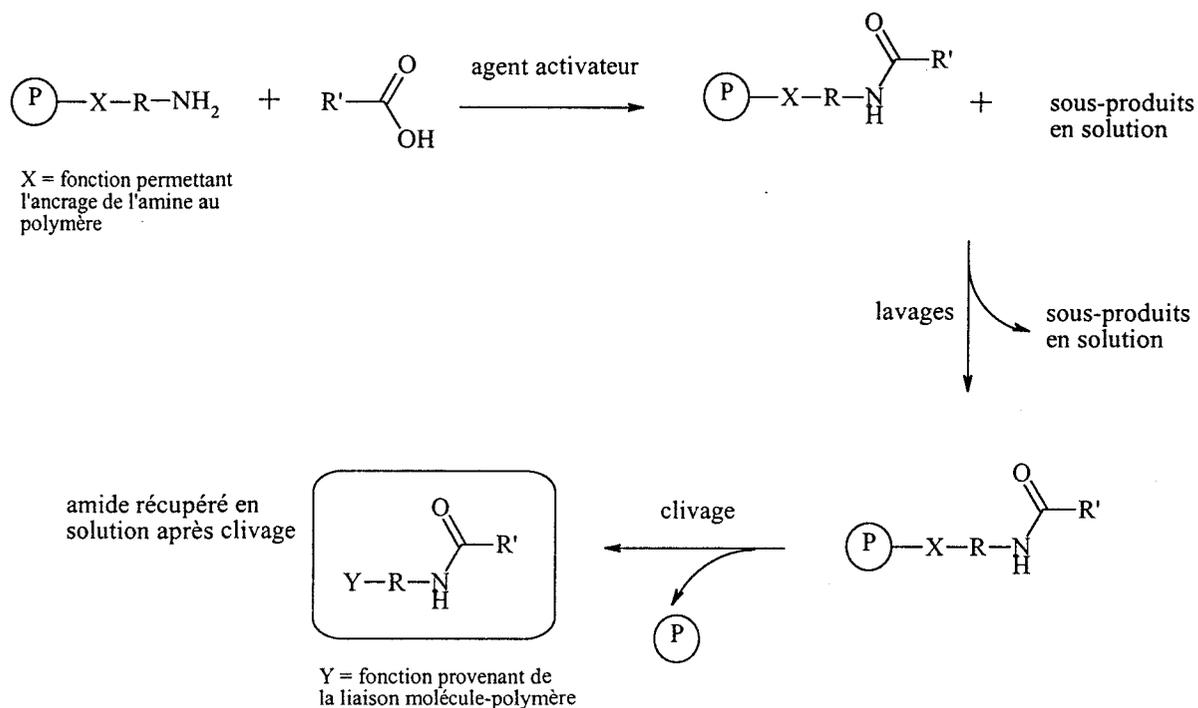
Figure 2.3. Principe de synthèse d'amides en phase homogène



#### 2.I.3.2. Assemblage d'amides en phase solide

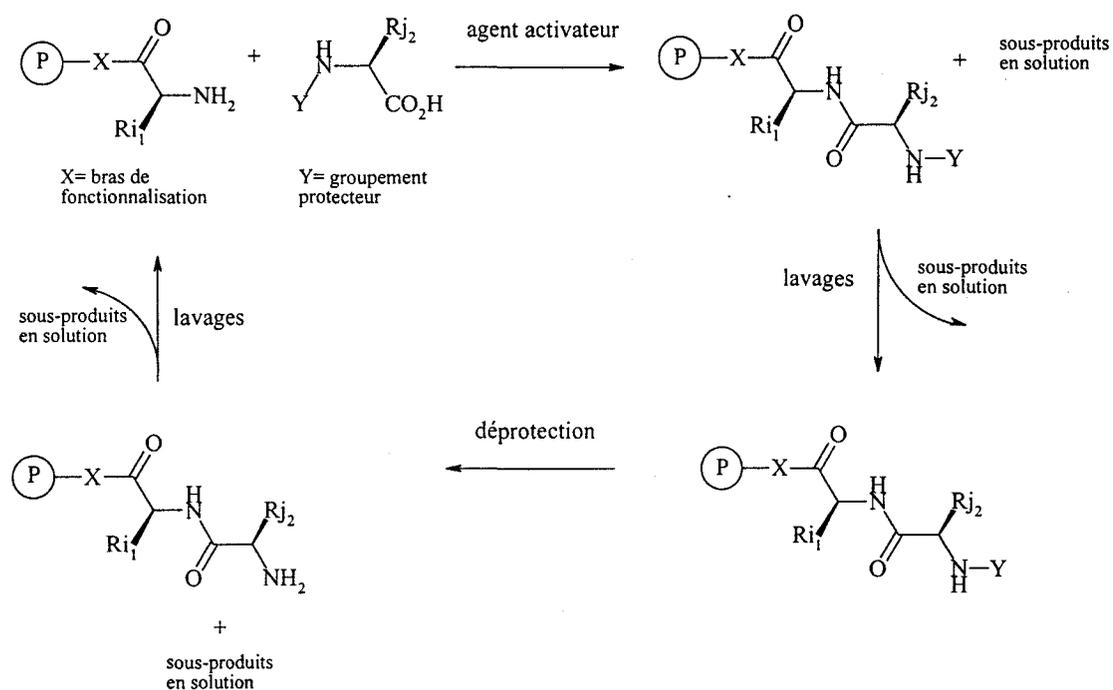
A ses origines, cette technique a été développée dans le domaine de la synthèse peptidique par Merrifield.<sup>6</sup> En synthèse peptidique en phase solide selon l'approche de Merrifield, le composé aminé est lié de manière covalente à un polymère insoluble, alors que l'acide carboxylique et l'agent d'activation sont amenés en solution. Les réactifs en excès et les sous-produits obtenus en solution durant le couplage sont éliminés par des lavages et filtrations appropriés, tandis que l'amide reste attaché au polymère. En fin de synthèse le produit est détaché du support polymérique et récupéré en solution. En fonction du type de lien existant entre la molécule et le polymère, le produit fini peut contenir dans sa structure des fonctions provenant de cette liaison (figure 2.4).

Figure 2.4. Principe d'assemblage de la liaison amide en phase solide classique



Pour des molécules bifonctionnelles comme les acides aminés, le cycle de formation de la liaison amide peut être répété plusieurs fois, alterné par des étapes de lavage et déprotection (figure 2.5). En fin de synthèse, le peptide est détaché de son support de synthèse et récupéré en solution.

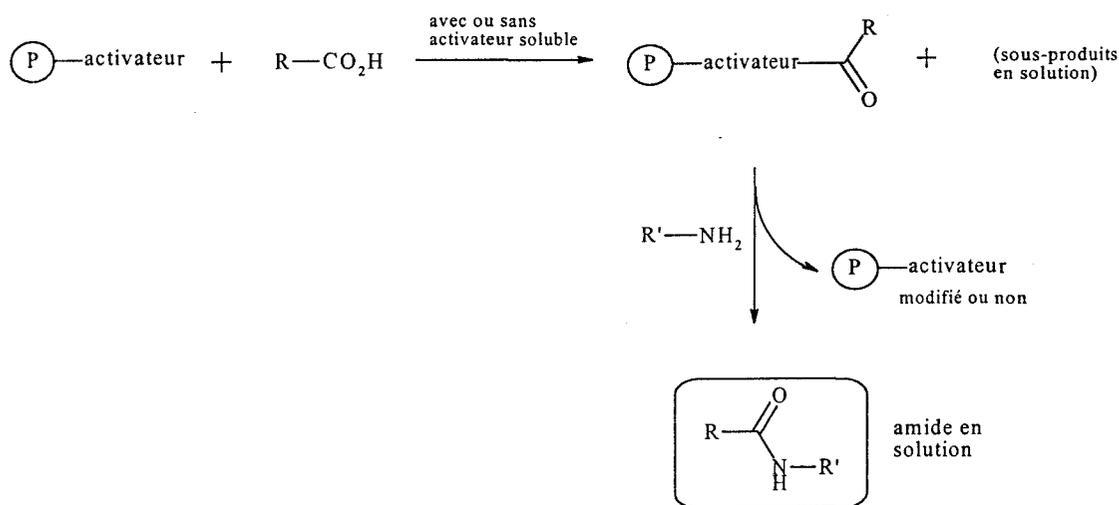
Figure 2.5. Principe de synthèse des peptides en phase solide selon la méthode de Merrifield



### 2.1.3.3. Assemblage d'amides en utilisant des agents d'activation immobilisés sur polymère insoluble

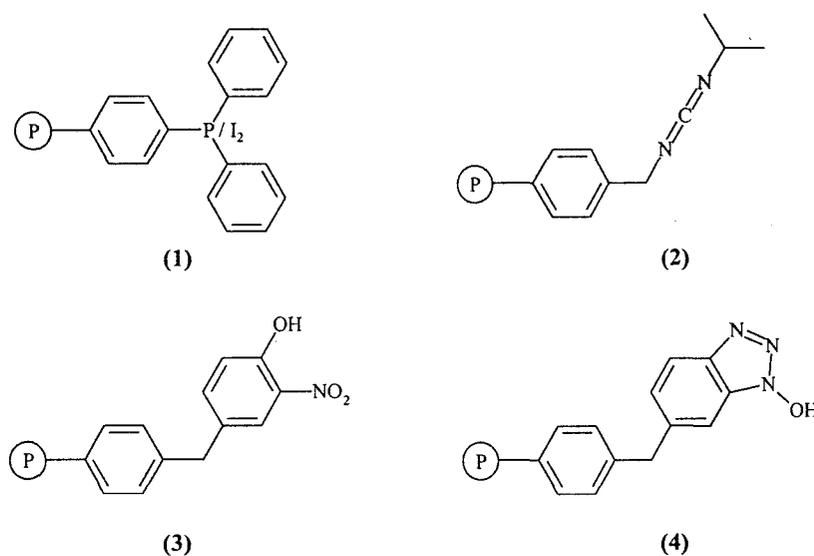
Selon cette stratégie, c'est l'agent d'activation qui est lié de manière covalente au support insoluble. L'acide carboxylique est amené en solution et réagit avec l'activateur insoluble pour engendrer une espèce activée sur le polymère. Le *N*-nucléophile est ensuite amené en solution. Le transfert du résidu carboxylique du donneur insoluble vers l'accepteur lors de la réaction d'acylation s'accompagne de la libération de l'amide formé (figure 2.6), qui est ainsi récupéré directement sous forme soluble, sans avoir besoin d'une étape supplémentaire de clivage.

Figure 2.6. Principe d'assemblage de la liaison amide en utilisant des réactifs d'activation immobilisés sur polymère



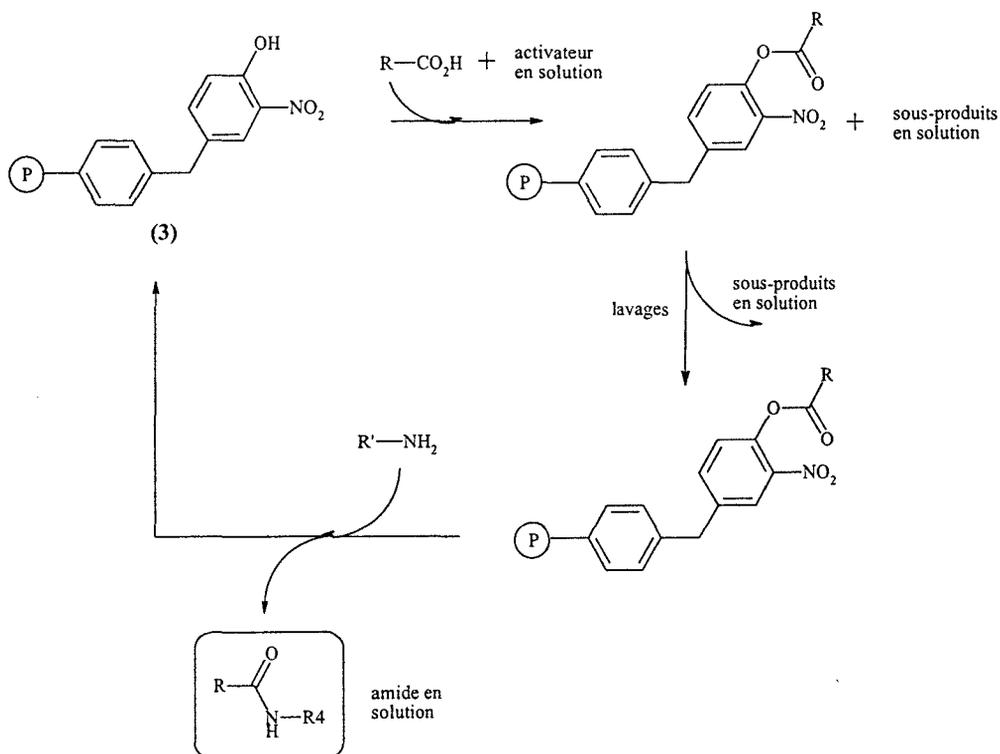
Plusieurs réactifs d'activation comme le complexe de triphénylphosphine/ $\text{I}_2$  (1),<sup>31, 32, 33</sup> des carbodiimides (2),<sup>34, 35</sup> le *o*-nitrophénol (3)<sup>36, 37, 38, 39</sup> ou le 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) (4),<sup>40, 41, 42</sup> ont été synthétisés sur support solide (figure 2.7). Ces réactifs ont été utilisés principalement pour la synthèse de peptides, des dipeptides jusqu'à des octapeptides.

Figure 2.7. Réactifs d'activation immobilisés sur polymère



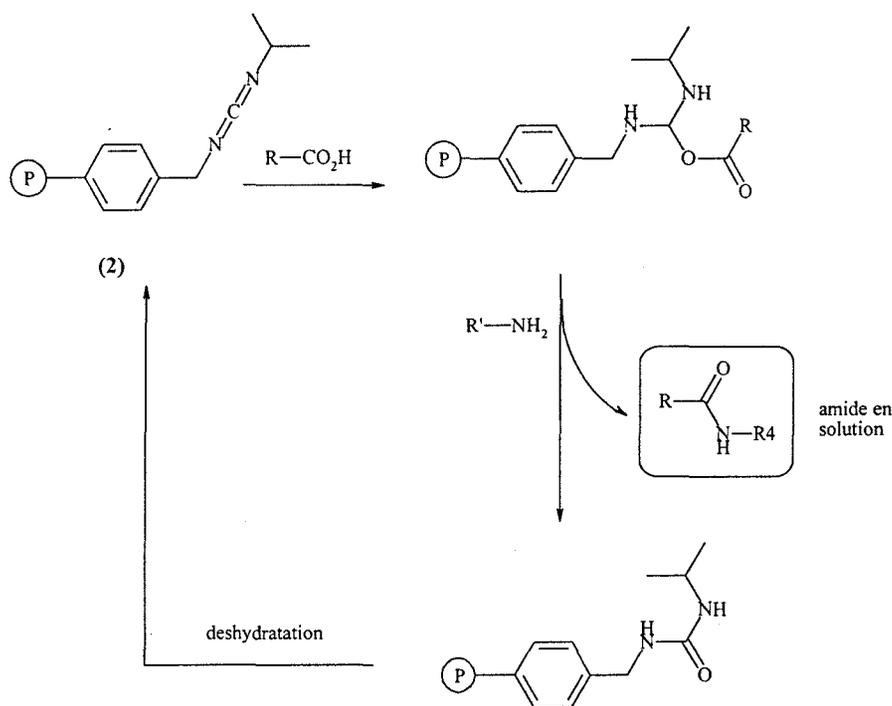
En fonction du groupe fonctionnel immobilisé sur polymère, la formation de l'espèce activée sur résine peut nécessiter la présence d'un activateur soluble. Ceci est le cas du *o*-nitrophénol (3) et du 1-hydroxybenzotriazole (4) (figure 2.8) : l'acide carboxylique est préactivé en solution, ensuite l'espèce activée soluble réagit avec le polymère. Après la réaction d'acylation, le polymère se retrouve non modifié, pouvant être réutilisé.

Figure 2.8. Principe d'utilisation du *o*-nitrophénol immobilisé sur polymère (3) pour l'assemblage d'amides



Dans le cas du complexe triphénylphosphine/ $I_2$  (1) ou du carbodiimide (2), il n'y a pas besoin d'un activateur soluble, l'acide réagissant directement avec la résine. Le polymère fonctionnalisé se retrouve modifiée après l'acylation, et la résine ne peut pas être réutilisée, sauf régénération préalable (figure 2.9).

Figure 2.9. Principe d'utilisation d'un carbodiimide ancré sur résine (2) pour l'assemblage d'amides



L'assemblage d'amides utilisant des agents d'activation immobilisés sur polymère insoluble est très intéressante pour des processus non répétitifs, appliqués à des molécules monofonctionnelles.

#### 2.I.4. Choix du schéma réactionnel pour la synthèse parallèle à haut débit d'amides

Nous avons analysé les différentes méthodes d'assemblage d'amides du point de vue de la facilité de mise en oeuvre et de la pureté des produits obtenus.

Le plus facile à mettre en oeuvre est l'assemblage en phase homogène, mais dans ce cas les amides seraient contaminés par des sous-produits provenant de l'activateur. Pour éviter cette contamination il est envisageable, au lieu d'une activation *in situ*, de mettre en réaction des espèces acylantes comme les halogénures d'acyle. L'utilisation de ces espèces diminue tout de même la diversité structurale, parce que les halogénures d'acyle commerciaux sont plus limités en nombre ainsi qu'en diversité par rapport aux acides carboxyliques. De plus, ces composés sont d'une plus faible stabilité. La synthèse d'une bibliothèque combinatoire à partir de ces dérivés activés impose le contrôle systématique des monomères avant leur mise

en réaction, un travail long et délicat. Par contre, dans le cas d'une activation *in situ* seul le contrôle de l'agent activateur s'avère nécessaire.

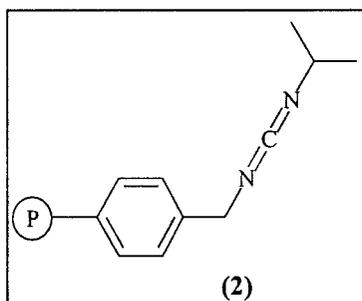
L'assemblage d'amides en phase solide selon l'approche classique de Merrifield présente dans notre cas plusieurs inconvénients. Ne pouvant s'appliquer qu'à des molécules bifonctionnelles, au moins pour l'un des partenaires de la réaction, il réduit beaucoup le nombre et la diversité structurale des partenaires disponibles pour le couplage. Il nécessite également des étapes de déprotection et de clivage final du produit, qui sont inutiles pour la formation de la liaison amide en elle même et peuvent donner suite à des réactions secondaires. De plus, en fonction du type de lien existant entre la molécule et le support de synthèse, le produit fini peut contenir dans sa structure des résidus de cette liaison qui ne sont pas toujours désirés.

Nous avons trouvé que l'utilisation de réactifs d'activation immobilisés sur polymère était une approche mieux adaptée à la synthèse parallèle à haut débit d'amides. Cette technique est très intéressante surtout pour des processus non répétitifs appliqués à des molécules monofonctionnelles, comme c'était notre cas. Des amides non contaminés par l'agent d'activation ou autres sous-produits sont obtenus directement sous forme soluble, sans étape intermédiaire de clivage. Nous nous sommes alors penchés sur l'étude de la synthèse de tels réactifs d'activation et sur leur utilisation pour l'assemblage d'amides.

## 2.II. MISE AU POINT D'UNE METHODE D'ASSEMBLAGE D'AMIDES EN UTILISANT UN REACTIF D'ACTIVATION IMMOBILISE SUR POLYMERE

### 2.II.1. Synthèse et évaluation d'un carbodiimide immobilisé sur polymère

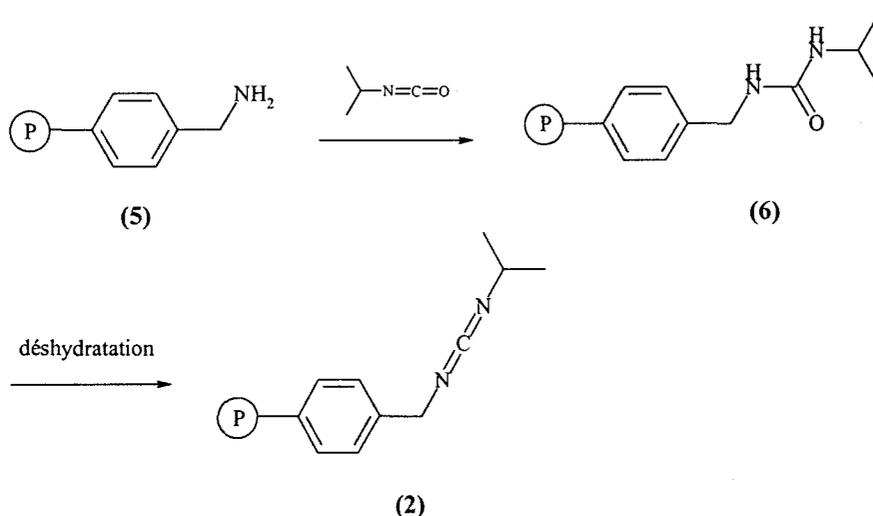
Nous nous sommes d'abord penchés sur la synthèse et l'utilisation du carbodiimide (2).



Ne nécessitant pas d'activateur soluble pour la formation de l'espèce acylante sur résine, ce réactif est d'une utilisation facile et peu coûteuse.-

La synthèse du carbodiimide (2), décrite en 1972 par Weinshenker *et al.*,<sup>34</sup> est facile à mettre en oeuvre et implique seulement deux étapes : réaction d'une résine aminée (5) avec l'isocyanate d'isopropyle, suivie par une déshydratation de l'urée formée sur résine (6) en présence de chlorure de *p*-toluène sulfonyle (figure 2.10). Cette synthèse peut s'appliquer à des polymères fonctionnalisés par des groupements -NH<sub>2</sub>.

Figure 2.10. Principe de synthèse du carbodiimide (2)



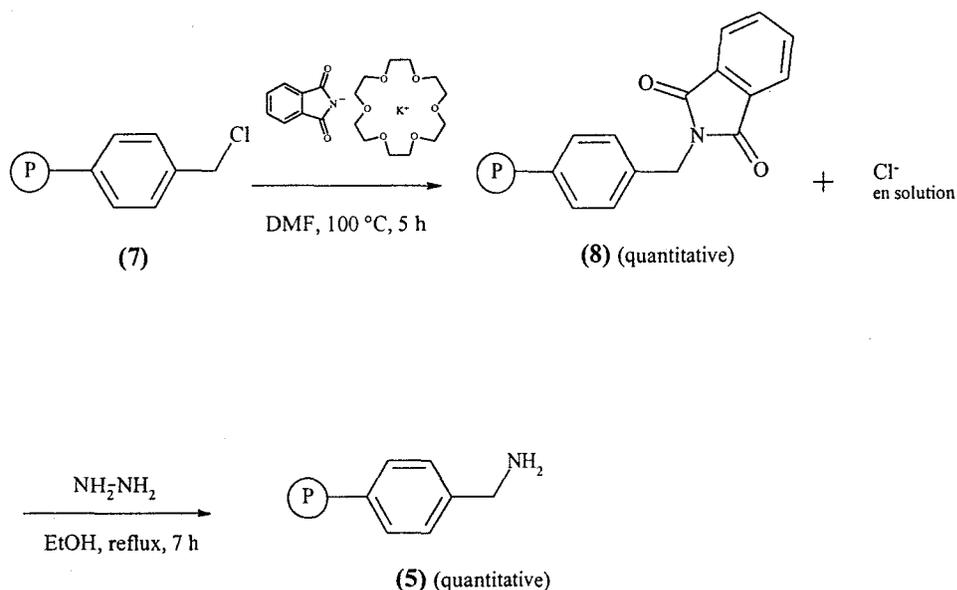
### 2.II.1.1. Synthèse d'un carbodiimide sur un copolymère insoluble de type polystyrène et divinylbenzene

Nous avons synthétisé le polymère fonctionnalisé (2) en nous basant sur la stratégie décrite par Weinshenker *et al.*<sup>34</sup>

La résine aminométhylée (5) a été obtenue à partir d'une résine de type polystyrène / divinylbenzene (PS / DVB) chlorométhylée (7) (résine de Merrifield) ayant une charge de 0,7 mmol / g : la résine (7) a été traitée par le phtalimide de potassium en présence de 1 équivalent d'éther couronne pour faciliter la solubilisation du phtalimide de potassium et augmenter sa nucléophilie, dans le DMF à 100 °C pendant 5 h. Elle a ensuite été soumise à une hydrazinolyse dans l'EtOH à reflux pendant 7 h (figure 2.11). La conversion de la résine chlorométhylée (7) en phtalimidoyl-résine (8) a été évaluée par dosage de Charpentier-Vohlart

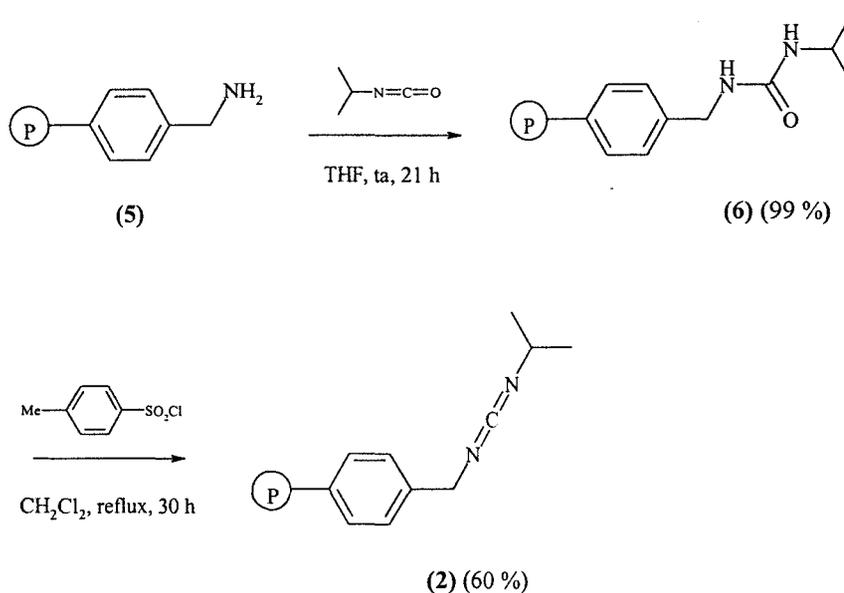
des ions chlorure libérés en solution.<sup>43</sup> La conversion du phtalimidoyl-résine (**8**) en résine aminée (**5**) a été évalué par dosage des fonctions  $-NH_2$  sur le polymère, en utilisant un test colorimétrique à l'acide picrique.<sup>112</sup>

Figure 2.11. Synthèse de la résine aminométhylée (**5**)



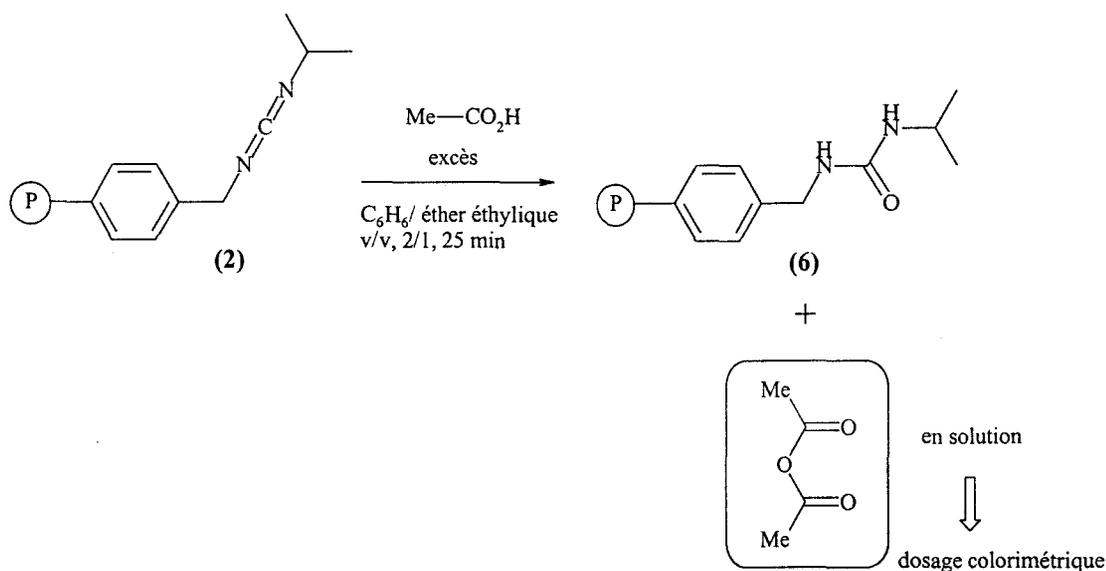
L'urée (**6**) a été obtenue par réaction de la résine aminométhylée (**5**) au moyen d'*isocyanate d'isopropyle* dans le tétrahydrofurane (THF) à température ambiante pendant 21 h. La conversion en urée a été évaluée par dosage des fonctions  $-NH_2$  résiduelles, en utilisant le test colorimétrique de Kaiser.<sup>44</sup> La déshydratation de l'urée (**6**) en carbodiimide (**2**) a été poursuivie en présence de chlorure de *p*-toluène sulfonyle et de triéthylamine ( $Et_3N$ ) dans le dichlorométhane ( $CH_2Cl_2$ ) à reflux pendant 18 h (figure 2.12).

Figure 2.12. Synthèse de la résine carbodiimide (2)



Le taux de conversion de l'urée (6) en carbodiimide (2) a été évalué d'une manière indirecte : réaction d'un excès d'acide acétique avec (2), suivie par dosage colorimétrique de l'anhydride acétique<sup>45</sup> obtenu en solution (figure 2.13). Le résultat de ce dosage, qui représente le pouvoir de conversion de la résine, a été traduit en milliéquivalents de fonctions carbodiimide par gramme de polymère.

Figure 2.13. Principe de détermination de la charge de la résine carbodiimide (2)



La déshydratation de l'urée (**6**) s'est avérée l'étape la plus délicate de la synthèse. L'évolution de la déshydratation a été suivie au long des 18 h de réaction. Les résultats de cette expérience sont exposés dans le tableau 2.1 : selon les dosages que nous avons effectués sur des échantillons de polymère prélevés aux différents moments, nous avons établi que la déshydratation est assez lente et qu'elle s'arrête au bout d'environ 12 h à une conversion qui ne dépasse pas 33 %, soit un pouvoir acylant de 0,2 meq/ g de résine.

**Tableau 2.1.** Evolution de la conversion en carbodiimide (**2**) en fonction de la durée de déshydratation <sup>a</sup>

Entrée	Durée de déshydratation (h)	Pouvoir acylant de la résine (meq/ g)	Conversion en carbodiimide (%)
1	4	0,04	6
2	6	0,09	13
3	8	0,10	15
4	10	0,12	18
5	12	0,22	33
6	14	0,20	29
7	18	0,21	31

<sup>a</sup> Conditions de déshydratation: 4 équiv de chlorure de *p*-toluène sulfonyle, 8 équiv de Et<sub>3</sub>N par rapport au polymère, dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> au reflux.

La réaction a été suivie également par spectroscopie infrarouge. Des spectres infrarouges réalisés à partir de pastilles de KBr ont été enregistrés pour la résine à différents moments de la réaction : après 4 h de déshydratation, nous avons détecté une faible bande d'absorption à 2110 cm<sup>-1</sup>, qui est spécifique du carbodiimide.<sup>34</sup> Après 17 h de réaction, cette bande d'absorption devient beaucoup plus intense (Annexe 1).

Nous avons émis l'hypothèse que l'arrêt de la réaction de déshydratation au bout de 12 h est dû à la dégradation de l'agent déshydratant en présence de traces d'eau présentes dans le milieu réactionnel. Nous avons tenté d'augmenter la conversion en utilisant un plus gros excès d'agent déshydratant, renouvelé régulièrement. Cet essai nous a permis d'aboutir, après un total de 30 h de réaction, à une charge de 0,4 mmol carbodiimide/ g résine (60 % conversion).

Le tableau 2.2 montre l'évolution de la charge en carbodiimide de la résine, en fonction de la durée de déshydratation.

**Tableau 2.2.** Evolution de la conversion en carbodiimide lors du renouvellement régulier de l'agent déshydratant <sup>a</sup>

Entrée	Durée de déshydratation (h) <sup>b</sup>	Pouvoir acylant de la résine (meq/ g)	Conversion en carbodiimide (%)
1	7	0,16	24
2	17	0,27	40
3	23	0,34	51
4	30	0,40	60

<sup>a</sup> Conditions de déshydratation: 10 équiv chlorure de *p*-toluène sulfonyle et 20 équiv de Et<sub>3</sub>N par rapport au polymère, dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> au reflux. <sup>b</sup> La résine a été lavée après chaque étape de déshydratation, et la réaction a été à chaque fois poursuivie avec une solution fraîche de chlorure de *p*-toluène sulfonyle; les temps de réaction indiqués sont des temps cumulés après chaque étape.

Nous avons par ailleurs tenté l'utilisation d'un autre agent déshydratant, le chlorure de thionyle (SOCl<sub>2</sub>). Les résultats ont été également décevants : au bout de 4 h de réaction en présence de 10 équiv de SOCl<sub>2</sub> au reflux dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, seulement 3 % de conversion ont été obtenus.

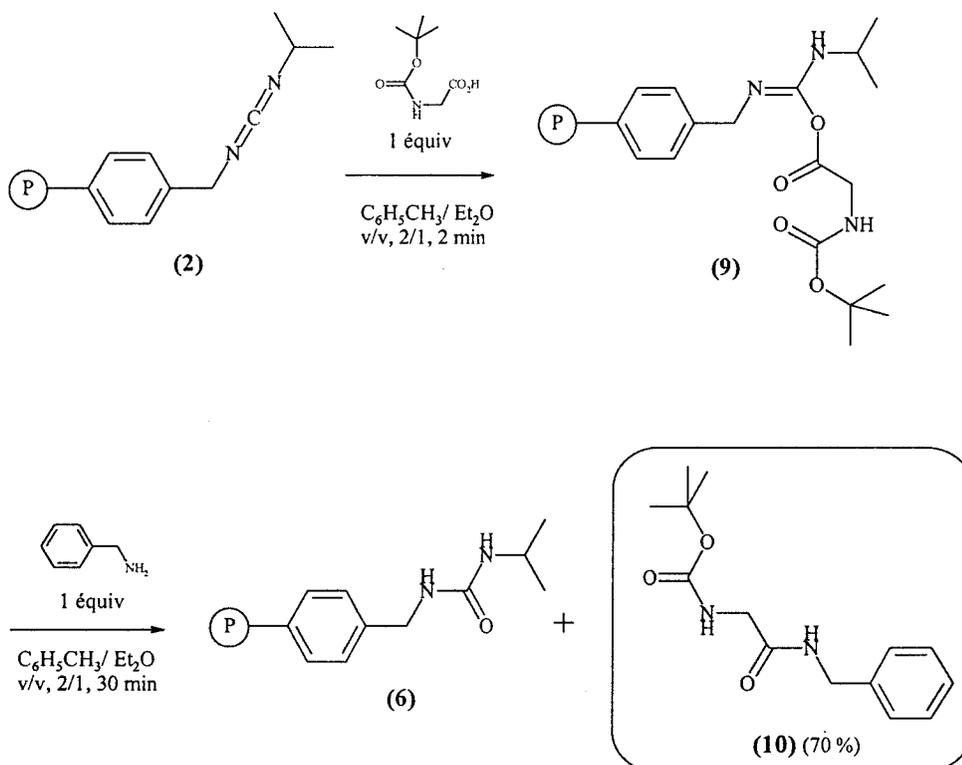
#### 2.II.1.2. Etudes préliminaires d'utilisation du carbodiimide immobilisé sur polymère (2) pour l'assemblage d'amides

Le carbodiimide immobilisé sur polymère (2) ayant une charge de 0,4 mmol/ g, a été utilisé pour la synthèse des *N*-benzylamides de quelques acides aminés protégés sur la fonction amine, selon deux approches différentes.

**A. Formation d'une *O*-acyl isourée sur polymère et réaction directe de cette espèce activée avec la benzylamine.** Cette approche implique l'utilisation d'une quantité stœchiométrique d'acide carboxylique par rapport à la résine, conduisant à la formation d'une *O*-acyl isourée sur polymère qui réagit avec le *N*-nucléophile amené en solution.

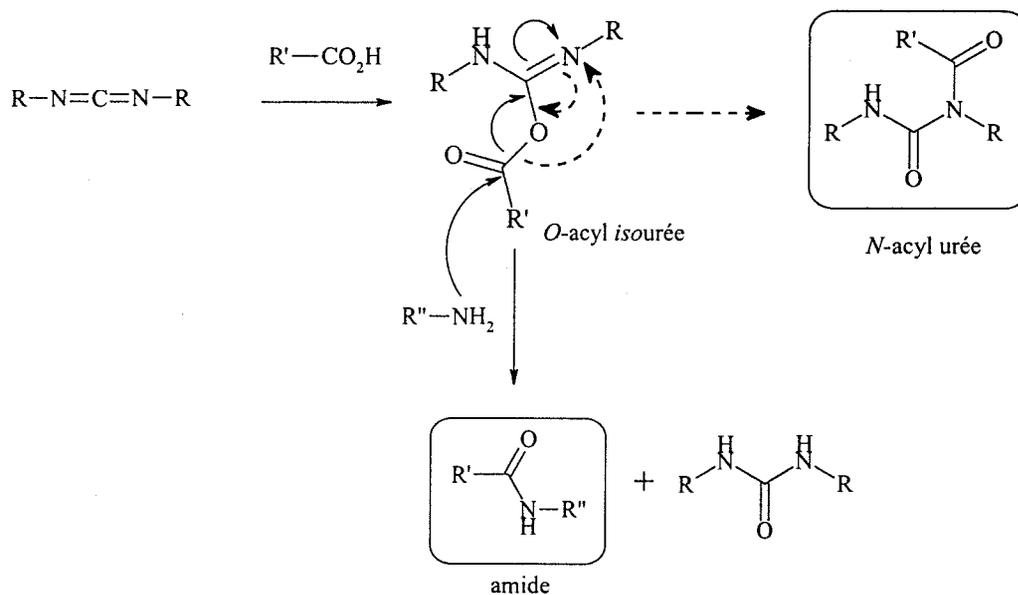
La résine (2) a d'abord été traitée par 1 équivalent de glycine protégée (Boc-Gly-OH) dans un mélange toluène/éther 2/1 (v/v) pendant 2 min, puis par 1 équivalent de benzylamine dans le mélange toluène/éther 2/1 (v/v) pendant 30 min (figure 2.14). La conversion en amide (10) a été évaluée par dosage colorimétrique de Kaiser de la benzylamine résiduelle.

**Figure 2.14.** Synthèse d'un amide en utilisant 1 équivalent d'acide carboxylique par rapport à la résine (2)



Quand la réaction d'acylation n'est pas assez rapide, une réaction d'isomérisation de la O-acyl isourée en N-acyl urée peut entrer en compétition avec la formation de la liaison amide (figure 2.15). Une étape d'activation courte est donc nécessaire pour réduire les risques d'isomérisation en N-acyl urée qui, elle, n'est plus une espèce acylante. Cette réaction secondaire avait déjà été suspectée par Weinshenker *et al.* d'être responsable de la perte partielle de réactivité de la résine carbodiimide (2): la charge de la résine (2) obtenue par deshydratation de l'urée (6) après une réaction de couplage était plus faible par rapport à la charge de la résine (2) de départ.

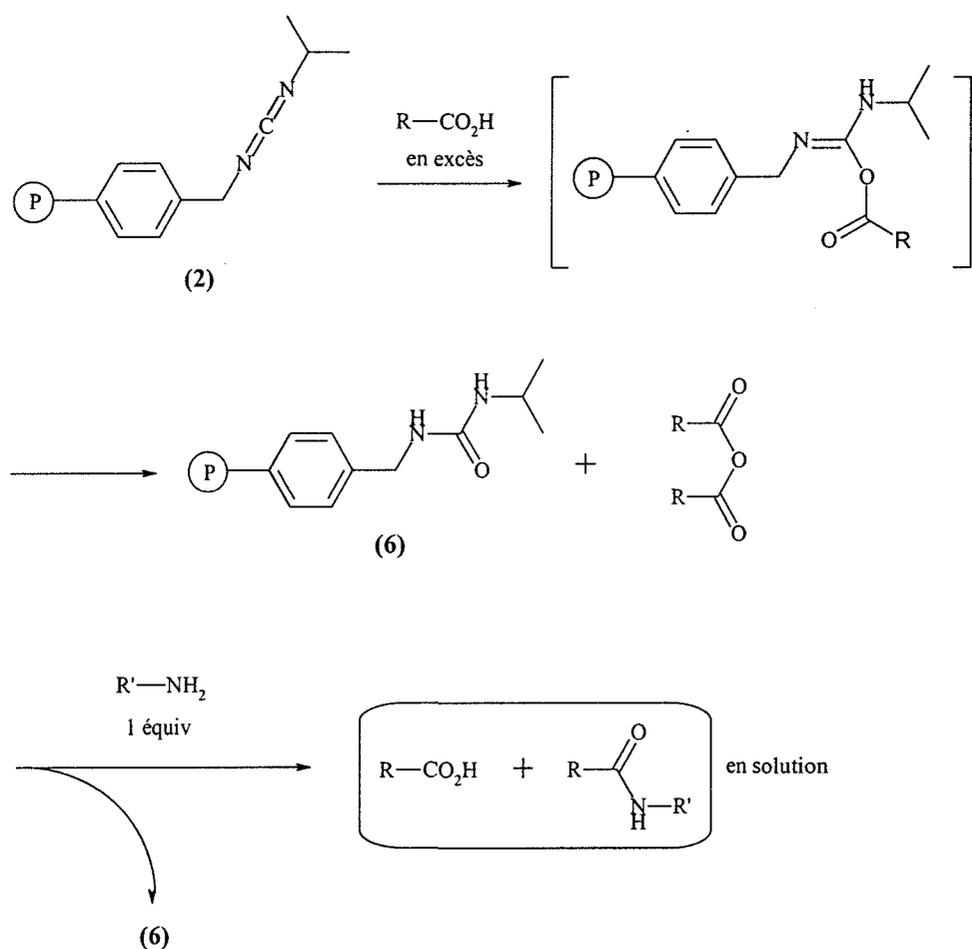
Figure 2.15. Compétition entre la réaction d'isomérisation en *N*-acyl urée et l'acylation



Dans notre cas, la conversion moyenne (70 %) observée pour le couplage de la Boc-Gly-OH avec la benzylamine nous a fait également penser qu'une réaction secondaire de réarrangement avait lieu sur le polymère.

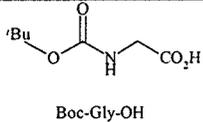
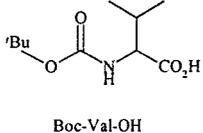
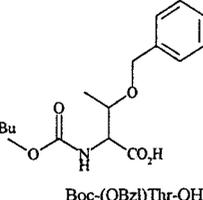
**B. Formation d'un anhydride symétrique en solution et réaction de cette espèce activée avec la benzylamine.** Cette approche implique l'utilisation d'un excès d'acide par rapport à la résine (2): la *O*-acyl isourée formée dans un premier temps sur résine réagit avec l'excès d'acide carboxylique, conduisant à la formation d'un anhydride symétrique en solution qui lui, réagit avec le *N*-nucléophile amené en solution (figure 2.16). L'avantage de cette méthode est que le nucléophile intermédiaire, dans ce cas le carboxylate, est présent dans le milieu réactionnel en même temps que la *O*-acyl isourée, pouvant réagir tout de suite avec celle-ci, tout en réduisant les risques d'isomérisation en *N*-acyl urée.

Figure 2.16. Assemblage d'amides en utilisant un excès d'acide carboxylique par rapport à la résine (2)



Les *N*-benzylamides de quelques acides aminés protégés sur la fonction amine ont été synthétisés selon cette approche, en utilisant différentes quantités d'acide carboxylique par rapport à la résine (2) et différents solvants. Après l'étape d'activation, les conversions en anhydride ont été évaluées en utilisant un dosage colorimétrique (Annexe 2). Les conversions en amide ont été évaluées par un dosage colorimétrique de Kaiser de l'amine résiduelle (Annexe 4). Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 2.3.

**Tableau 2.3.** Assemblage d'amides en utilisant un excès d'acide carboxylique par rapport à la résine carbodiimide (2)<sup>a</sup>

Entrée	Acide	Equiv. d'acide par rapport à (2)	Conversion en anhydride (%)	Conversion en N-benzylamide (%)
1	 Boc-Gly-OH	2	nd <sup>b</sup>	100
2	 Boc-Val-OH	2	59	nd
3		4	74	nd
4 <sup>c</sup>		4	95	75
5	 Boc-(OBzl)Thr-OH	2	55	nd
6		4	97	93
7 <sup>c</sup>		4	nd	82

<sup>a</sup> L'activation (formation de l'anhydride symétrique) a été réalisée dans les conditions suivantes : 30 min à température ambiante dans un mélange toluène/éther 2/1 v/v (sauf autrement indiqué). Le couplage avec la benzylamine a été réalisée dans les conditions suivantes : 45 min à température ambiante dans le mélange toluène/éther 2/1 v/v (sauf autrement indiqué). <sup>b</sup> Non déterminée. <sup>c</sup> Le solvant utilisé pour les deux étapes de la réaction est le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Pour Boc-Gly-OH qui est peu encombrée stériquement, seulement 2 équiv d'acide sont suffisants pour assurer une activation efficace (tableau 2.3, entrée 1). Par contre, Boc-Val-OH et Boc-(OBzl)Thr-OH possèdent un encombrement stérique plus important et les cinétiques d'activation sont plus lentes conduisant, dans les mêmes conditions d'activation que pour Boc-Gly-OH, à des conversions moyennes en anhydride (tableau 2.3, entrées 2 et 5). Dans ces cas, l'utilisation d'excès d'acides (4 équiv par rapport à la résine (2)) a permis l'augmentation des conversions en anhydride (tableau 2.3, entrées 3, 4 et 6). De même le changement de solvant, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à la place de toluène/éther, a permis l'augmentation de la conversion dans le cas de la Boc-Val-OH (tableau 2.3, entrée 4). Pour Boc-Val-OH et Boc-(OBzl)Thr-OH, la

conversion de l'anhydride en amide n'est pas non plus totale, l'encombrement stérique, cette fois-ci de l'espèce activée, influençant la cinétique de l'étape d'acylation (tableau 2.3, entrées 4 et 6). Ces résultats indiquent qu'une amélioration des conversions est possible en jouant sur différents paramètres comme le nombre d'équivalents d'acide, la concentration, le solvant ou la durée de réaction.

Cette approche conduit à des meilleurs résultats, mais elle présente tout de même l'inconvénient de la contamination du produit par l'acide en excès ou par l'acide libéré lors du couplage.

### 2.II.1.3. Conclusions

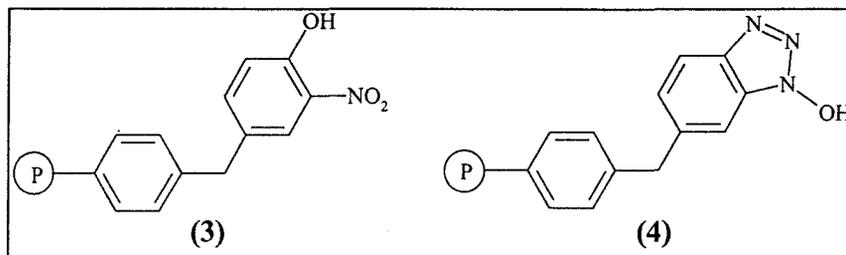
Lors des différents essais de synthèse de la résine carbodiimide (**2**), la charge la plus élevée que nous avons pu atteindre a été de 0,4 mmol carbodiimide/g polymère soit une conversion de 60 %. Nous avons observé que l'étape limitante de synthèse de la résine (**2**) était la déshydratation de la résine urée (**6**). Les essais de formation d'amides ont par ailleurs conduit à des rendements corrects lors de l'utilisation d'un excès d'acide par rapport à la résine, mais cette méthode n'est pas recommandée en raison de la contamination du produit par l'acide carboxylique.

Nous avons donc abandonné l'utilisation de la résine carbodiimide (**2**), et nous nous sommes penchés sur l'étude d'autres réactifs d'activation immobilisés sur polymère.

### **2.II.2. Synthèse et évaluation d'un nouveau dérivé d'HOBt immobilisé sur support polymérique<sup>46</sup>**

Des composés hydroxyliques possédant des groupements électroattracteurs comme le 1-hydroxybenzotriazole (HOBt) ou le *o*-nitrophénol, sont largement employés comme additifs d'activation en synthèse peptidique. Ils réagissent rapidement avec l'espèce activée obtenue par réaction entre l'activateur et l'acide carboxylique, conduisant à un ester activé qui lui est l'espèce acylante. L'utilisation d'additifs d'activation permet la diminution drastique de la racémisation lors des couplages.<sup>47, 49, 51</sup>

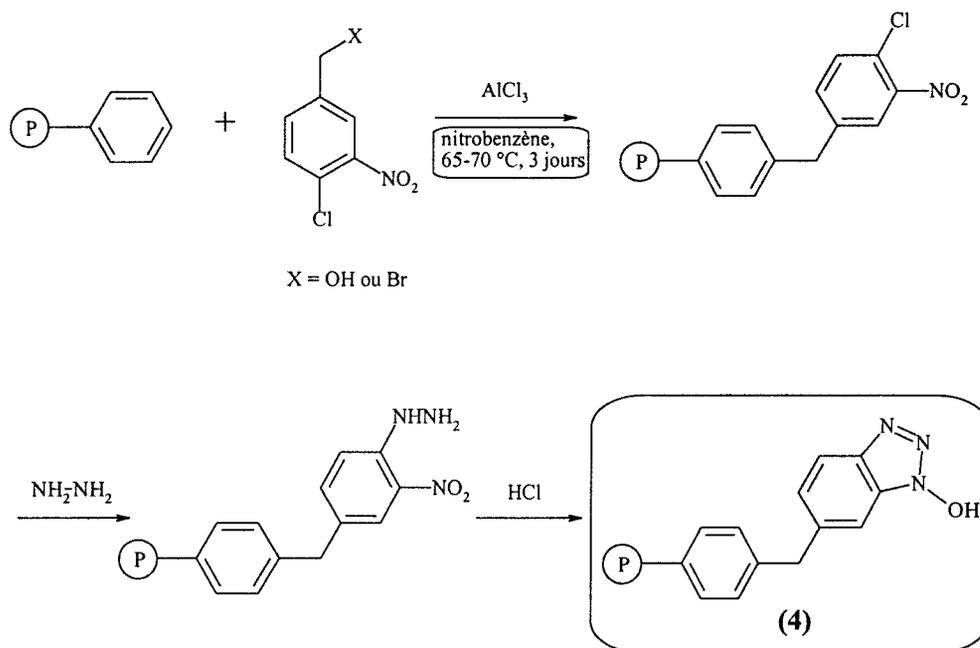
Des additifs d'activation sur support solide comme le *o*-nitrophénol (3)<sup>36-39</sup> ou l'HOBt (4)<sup>40-42</sup> ont également été utilisés en synthèse peptidique.



Le plus efficace pour la formation de la liaison amide s'est avéré le polymère fonctionnalisé par l'HOBt (4). Nous nous sommes donc intéressés à la synthèse d'un dérivé d'HOBt sur polymère et nous avons tenté d'en améliorer la réactivité.

La synthèse du polymère fonctionnalisé (4) décrite en 1975 par Kalir *et al*<sup>40</sup> comporte une étape d'alkylation Friedel-Crafts des billes de polystyrène-divinylbenzène qui est longue et assez délicate (figure 2.17). De plus, cette réaction n'est possible qu'avec des polymères à base de polystyrène, ce qui interdit l'utilisation d'autres supports organiques insolubles comme les résines de type polystyrène/divinylbenzène-polyéthylèneglycol (PS/DVB-PEG), polypropylène ou polyéthylène fonctionnalisés. Ces derniers polymères sont à l'heure actuelle de plus en plus utilisés en synthèse en phase solide : leur propriétés physico-chimiques particulières (capacité de gonflement dans tous les types de solvants pour le PS/DVB-PEG ou distribution des sites réactifs qu'une surface du polymère pour le polypropylène ou polyéthylène fonctionnalisés) permettent le travail avec une gamme plus étendue de solvants et de réactifs, pratiquement toutes les réactions de la chimie organique pouvant y être réalisées. Nous avons alors cherché un autre type d'ancrage de l'HOBt, pouvant s'appliquer à tout type de polymères insolubles.

Figure 2.17. Synthèse de l'HOBt sur polymère (4), selon Kalir et al.<sup>40</sup>



### 2.II.2.1. Synthèse d'un nouveau dérivé d'HOBt sur un copolymère insoluble de type polystyrène et divinylbenzène

*A. Choix du dérivé d'HOBt à synthétiser sur polymère.* Une série d'additifs de couplage solubles dérivés d'HOBt, très efficaces pour la formation de la liaison amide, ont été récemment décrits (figure 2.18).<sup>47, 48, 49, 50</sup> L'efficacité de ces nouveaux réactifs de couplage s'explique par la présence de groupements électroattracteurs sur le noyau benzénique du benzotriazole. C'est en particulier le cas du 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (HOAt) (14), dont la grande efficacité serait également due à une catalyse intramoléculaire basique (figure 2.19).

Figure 2.18. Additifs de couplage dérivés de l'HOBt

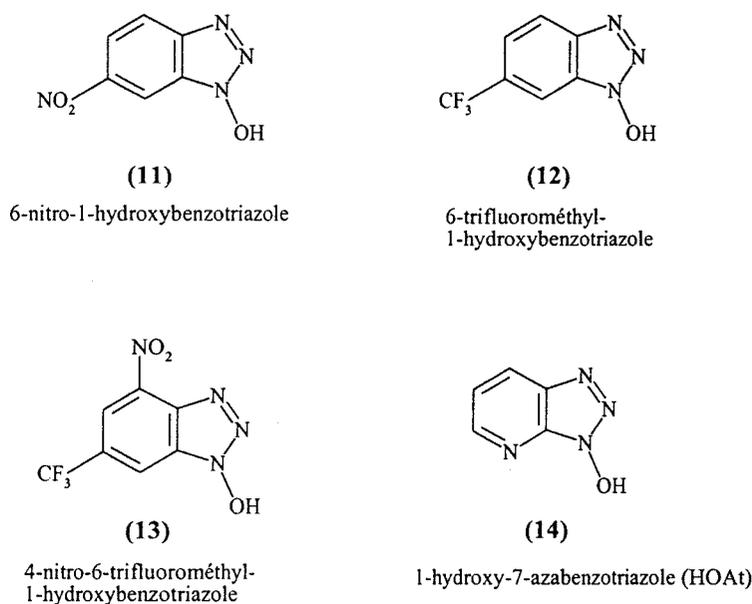
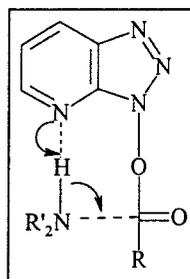
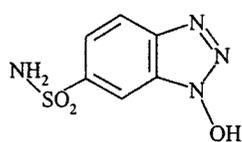


Figure 2.19. Effet d'assistance proposé pour expliquer l'augmentation de la réactivité des esters activés de l'HOAt <sup>46</sup>

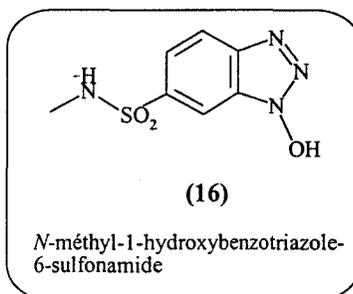


Nous avons imaginé augmenter la réactivité du benzotriazole immobilisé sur polymère en lui incorporant un groupement électroattracteur. La synthèse de quelques dérivés d'HOBt solubles répondant à cette définition, comme le 6-nitro-1-hydroxybenzotriazole (11), le 6-(trifluorométhyl)-1-hydroxybenzotriazole (12), le 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (15), le *N*-méthyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (16) et le *N,N*-diéthyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (17) avait été décrite.<sup>51</sup>



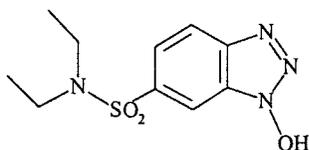
(15)

1-hydroxybenzotriazole-  
6-sulfonamide



(16)

*N*-méthyl-1-hydroxybenzotriazole-  
6-sulfonamide



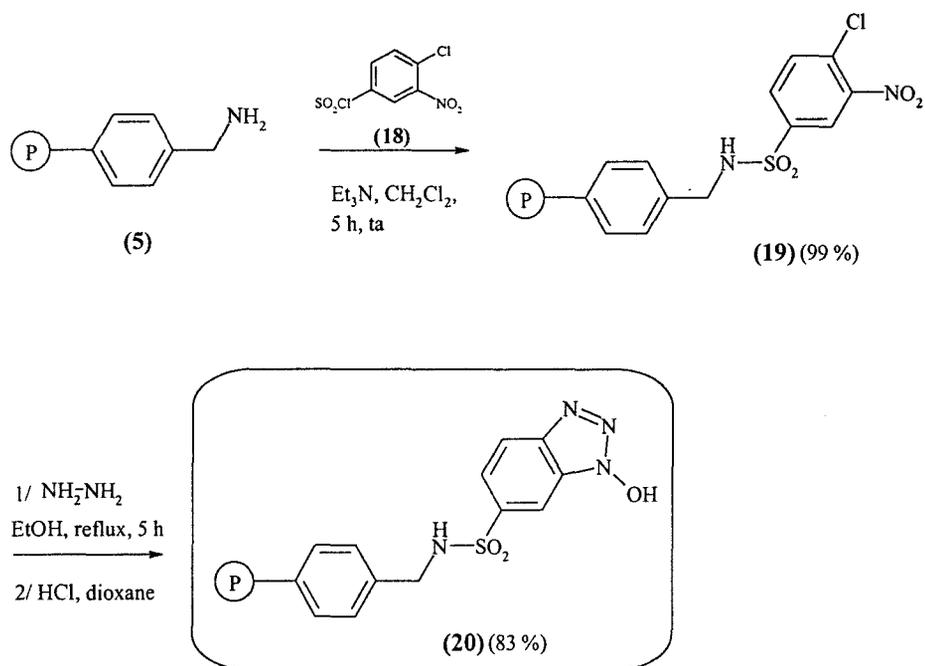
(17)

*N,N*-diéthyl-1-hydroxybenzotriazole-  
6-sulfonamide

Parmi ces dérivés, nous avons sélectionné comme composé modèle pour la fonctionnalisation d'une résine aminée le *N*-méthyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (16), qui pouvait être synthétisé facilement à partir de matières premières commerciales.

**B. Synthèse du dérivé 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide sur polymère.** Un polymère de type polystyrène-divinylbenzène aminométhylé, a été mis en réaction avec le chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyl (18) à température ambiante en présence de Et<sub>3</sub>N, pour aboutir au polymère fonctionnalisé (19). La réaction de couplage était complète au bout de 5 h, conformément au test colorimétrique de Kaiser effectué sur les grains de résine. La réaction du polymère (19) avec l'hydrate d'hydrazine au reflux dans l'EtOH, suivie par un traitement avec une solution d'HCl dans le dioxane, ont conduit à la formation sur polymère du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide sous forme neutre (20) (figure 2.20).

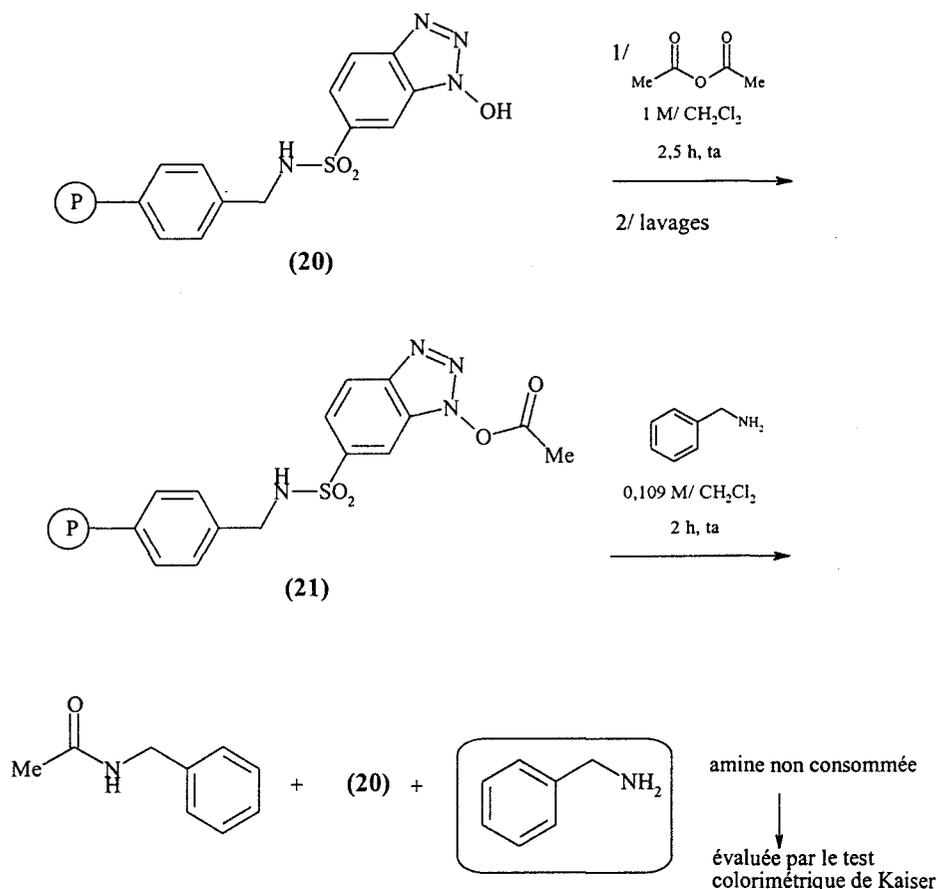
Figure 2.20. Synthèse du dérivé 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide sur polymère (20)



### C. Détermination de la charge du polymère 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide

(20). Il n'est pas aisé de mesurer directement par dosage acido-basique la quantité de groupements hydroxyle présents sur polymère, à cause du mauvais gonflement de la résine dans les solutions aqueuses généralement utilisées pour ce type de dosage. Nous avons utilisé une méthode indirecte de mesure, faisant intervenir le pouvoir acylant de la résine : la charge du polymère (20) a été établie par acétylation des groupements hydroxyle du polymère avec un excès d'anhydride acétique, suivie par une aminolyse de l'ester activé avec la benzylamine (figure 2.21), et quantification de l'amine n'ayant pas réagi au moyen du test colorimétrique de Kaiser (Annexe 4).

Figure 2.21. Détermination de la charge de la résine (20)



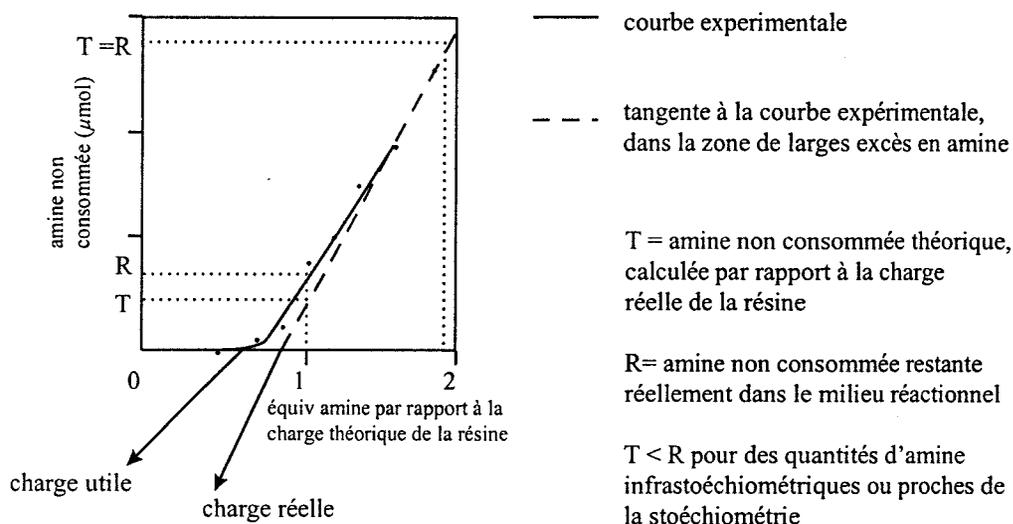
Par cette méthode indirecte, deux paramètres sont en fait mesurés : la quantité de groupements hydroxyle présents sur résine et la réactivité de ces groupements, qui est variable en fonction de leur accessibilité. Les considérations suivantes ont donc été prises en compte pour déterminer la charge réelle du polymère (20) :

1/ pour un temps de couplage relativement court, l'utilisation d'une quantité stoechiométrique ou de faibles excès d'amine peut conduire à une conversion incomplète à cause de la cinétique très lente en fin de réaction, entraînant ainsi une sous-évaluation de la charge de la résine.

2/ l'utilisation d'un large excès d'amine peut forcer la réaction d'aller jusqu'au bout et dans ce cas, la quantité d'amine non consommée permet de déterminer la charge réelle de la résine

3/ en traitant la résine acétylée (21) avec des excès de plus en plus importants d'amine, une dépendance linéaire entre la quantité d'amine non consommée et le nombre d'équivalents d'amine mis en réaction est obtenue dans la zone de larges excès en amine.

Figure 2.22. Principe de détermination de la charge de la résine (20)



Comme indiqué dans la figure 2.22, la quantité d'amine non consommée réellement, notée  $R$ , est plus grande que la quantité d'amine non consommée théorique, notée  $T$ . Cet écart est réduit et même éliminé lors de l'utilisation d'excès de plus en plus larges d'amine, et la droite tangente à la courbe expérimentale dans cette zone reflète la quantité d'amine non consommée théoriquement en fonction de la quantité d'amine utilisée. L'intersection de cette droite avec l'axe des abscisses donne la charge réelle de la résine, tandis que la tangente de la courbe expérimentale avec l'axe des abscisses reflète la charge utile de la résine (figure 2.22).

Expérimentalement, des échantillons de résine acétylée (21), obtenus à partir d'une résine (20) ayant une charge théorique de 0,9 mmol/g, ont été traités par différents volumes d'une solution de benzylamine, de façon à ce que la quantité mise en réaction varie entre 0,5 et 1,5 équivalents par rapport à la charge théorique de la résine. La dépendance entre le nombre d'équivalents d'amine mis en réaction et la quantité d'amine résiduelle est indiquée dans le tableau 2.4. Le dosage de la benzylamine résiduelle a été réalisé à l'aide du test colorimétrique de Kaiser (Annexe 4).

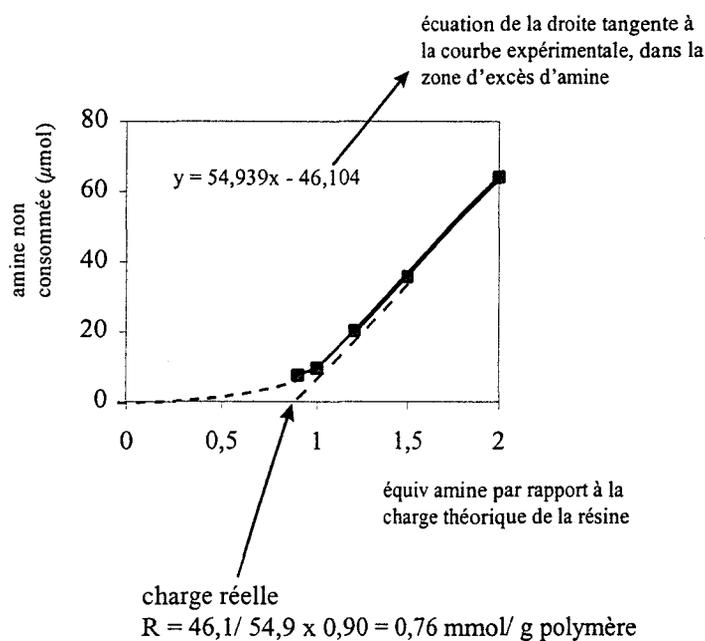
Tableau 2.4. Résultats expérimentaux obtenus lors de l'étude de charge du polymère (20) <sup>a</sup>

entrée	quantité d'amine mise en réaction ( $\mu\text{mol}$ )	nombre d'équivalents d'amine mis en réaction <sup>b</sup>	amine non consommée ( $\mu\text{mol}$ )
1	19,50	0,5	0
2	29,25	0,75	4,9
3	33,15	0,85	7,4
4	35,10	0,9	9,6
5	46,80	1,2	16
6	58,50	1,5	27,8

<sup>a</sup> Charge théorique du polymère (20) : 0,90 mmol/g. 39  $\mu\text{mol}$  fonctions immobilisées sur polymère ont été théoriquement mis en réaction pour chaque essai. <sup>b</sup> Le nombre d'équivalents d'amine mis en réaction est calculé par rapport à la charge théorique de la résine (20).

La charge réelle du polymère (20), calculée à l'aide de la courbe expérimentale illustré dans la figure 2.23, était de 0,76 mmol/ g (83 % conversion).

Figure 2.23. Courbe expérimentale utilisée pour déterminer la charge réelle de la résine (20)

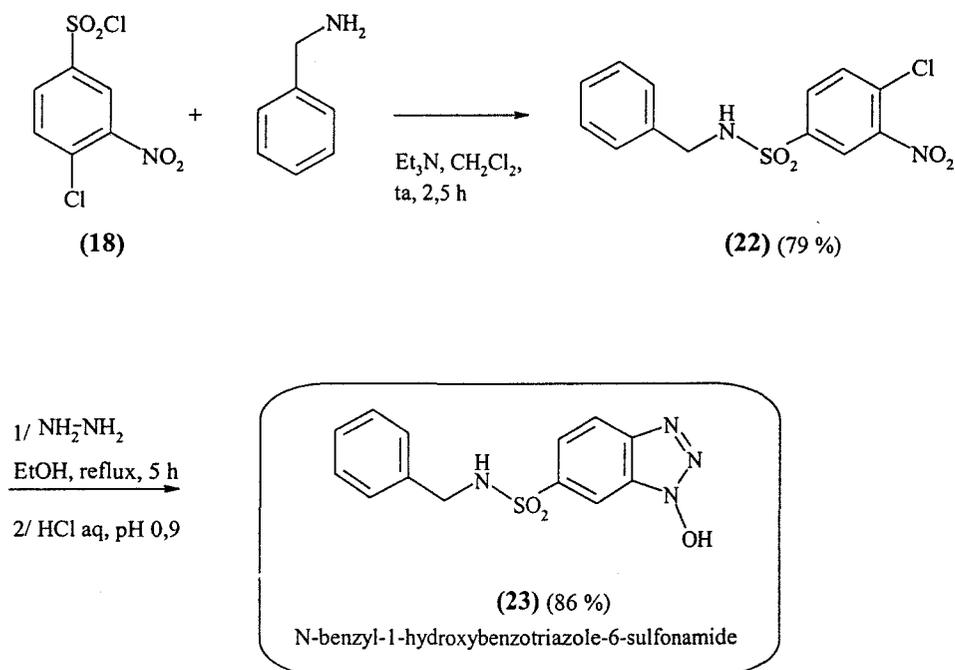


### 2.II.2.2. Estimation des propriétés acido-basiques du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide immobilisé sur polymère (20)

Afin de pouvoir disposer d'un élément de comparaison utilisable en phase homogène, nous avons synthétisé le *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (**23**). Nous avons réalisé des études de pKa et de RMN <sup>1</sup>H pour comparer son acidité à celle d'autres additifs de couplage connus: HOBt, HOSu (1-hydroxysuccinimide), *p*-nitrophénol et HOAt.

**A. Synthèse du *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (23).** Le chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyl (**18**) a été mis en réaction avec 1 équivalent de benzylamine en présence de Et<sub>3</sub>N dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à température ambiante pendant 2,5 h, pour obtenir le *N*-benzyl-4-chloro-3-nitrobenzène sulfonamide (**22**). Après purification, le sulfonamide (**22**) a été traité par l'hydrate d'hydrazine dans l'EtOH au reflux pendant 5 h pour obtenir le dérivé d'HOBt (**23**), qui a été isolé par précipitation en milieu acide (figure 2.24).

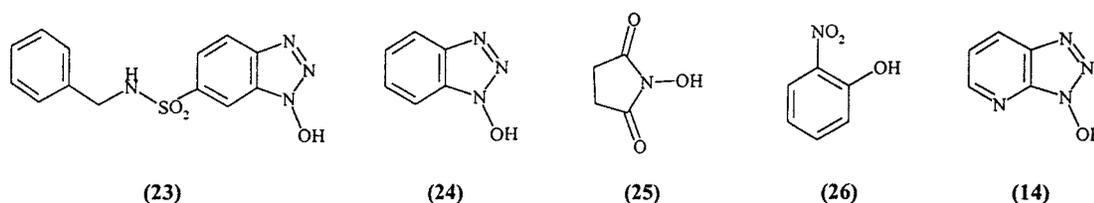
Figure 2.24. Synthèse du *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (**23**)



**B. Evaluation des propriétés acido-basiques du *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (23).** Nous avons déterminé les pKa du dérivé d'HOBt (**23**) et des différents

additifs de couplage : HOBt (**24**), HOSu (**25**), *p*-nitrophénol (**26**) et HOAt (**14**), par titration des solutions hydro-alcooliques (8 % de MeOH) 2 mM de ces composés avec une solution aqueuse 2 mM de NaOH. Les courbes de titration ayant servi au calcul des pKa sont incluses dans l'annexe 3. Les valeurs des pKa que nous avons trouvées étaient en bonne concordance avec la littérature.<sup>52</sup> Nous avons réalisé également une étude RMN <sup>1</sup>H de ces composés, en suivant le déplacement chimique du proton du groupement hydroxyle : plus ce proton est acide, plus sa résonance doit être déplacée dans les zones de bas champ du spectre RMN <sup>1</sup>H. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 2.5.

**Tableau 2.5.** Valeurs des pKa et des déplacements chimiques du proton acide, déterminées expérimentalement pour les composés (**14**), (**23**) - (**24**)



composé	pKa expérimental (pKa dans la littérature)	déplacement chimique du proton acide (ppm) <sup>a</sup>
<b>23</b>	3,59	14,0
<b>24</b>	4,64 (4,60)	13,6
<b>25</b>	6,00 (6,09)	11,0
<b>26</b>	7,15	10,6
<b>14</b>	3,35 (3,47)	13,7

<sup>a</sup> Les spectres RMN <sup>1</sup>H ont été enregistrés dans le C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>

La valeur du pKa ainsi que le déplacement chimique du proton de l'hydroxyle ont indiqué une acidité plus grande du *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (**23**) par rapport à l'HOBt, HOSu et *o*-nitrophénol. Ceci s'explique par le fort effet électroattracteur induit par le groupement sulfonamide. L'acidité du *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (**23**) est proche de celle de l'HOAt (**14**), réactif de couplage connu pour son efficacité en synthèse peptidique. Sachant que la réactivité d'un ester activé est corrélée à l'acidité de l'alcool

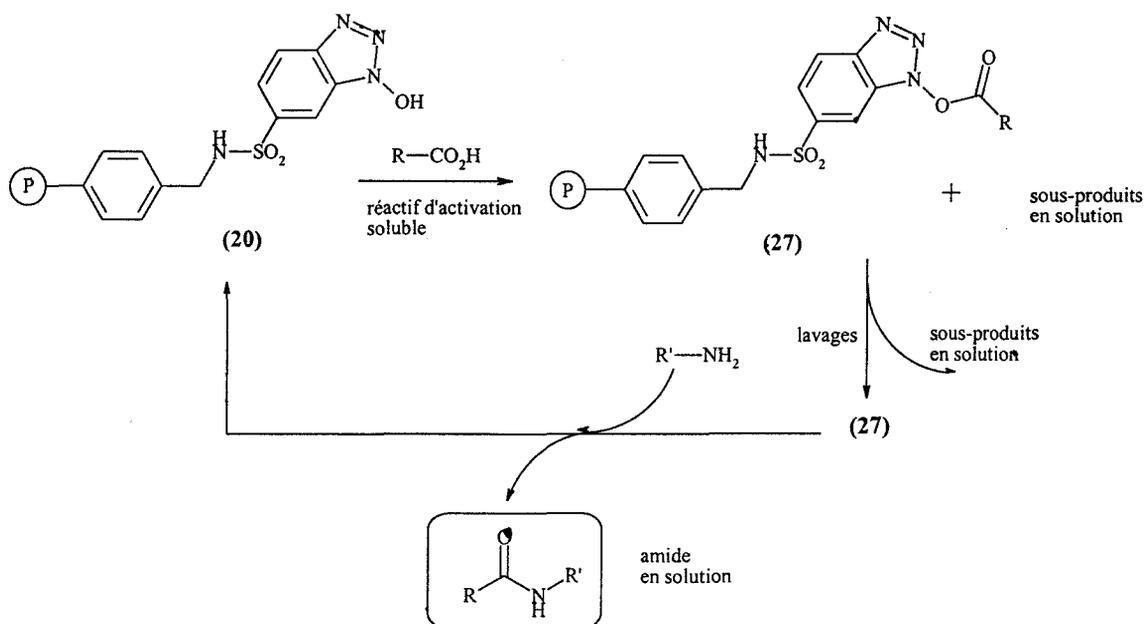
correspondant,<sup>52</sup> ces résultats laissent prévoir une grande efficacité du réactif polymérique (20) pour la formation de la liaison amide.

### 2.II.2.3. Etudes préliminaires d'utilisation du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (20), pour la formation de la liaison amide

La synthèse d'amides en utilisant le réactif supporté (20) implique deux étapes (figure 2.25) :

- 1/ l'activation de l'acide carboxylique, qui consiste en l'estérification de l'HOBt immobilisé sur polymère à l'aide d'un réactif d'activation soluble.
- 2/ après élimination du réactif en excès, le couplage, qui implique la réaction d'attaque nucléophile qui libère l'amide formé en solution.

Figure 2.25. Principe d'assemblage d'amides en utilisant le réactif (20)



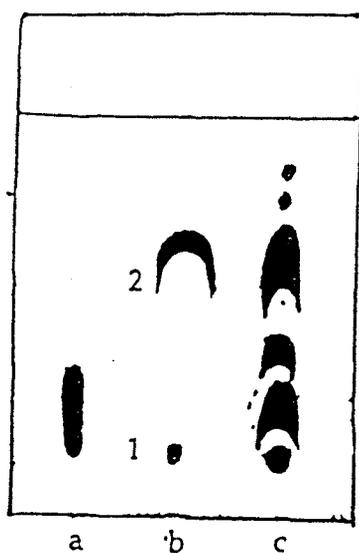
Lors des études préliminaires concernant l'utilisation du réactif (20) nous avons analysé la pureté des produits obtenus et nous avons étudié différentes conditions d'activation. Nous avons ensuite synthétisé une série d'amides dont quelques-uns avaient déjà été obtenus à l'aide du carbodiimide immobilisé sur polymère (2).

**Figure 2.27.** Analyse CCM des milieux réactionnels de synthèse de la Boc-N-benzylvalylamide en utilisant le réactif (20), et en phase homogène

a/ Boc-Val-OH témoin

b/ milieu réactionnel de synthèse de la Boc-N-benzylvalylamide en utilisant le réactif (20) : b1 - benzylamine ; b2 - Boc-N-benzylvalylamide

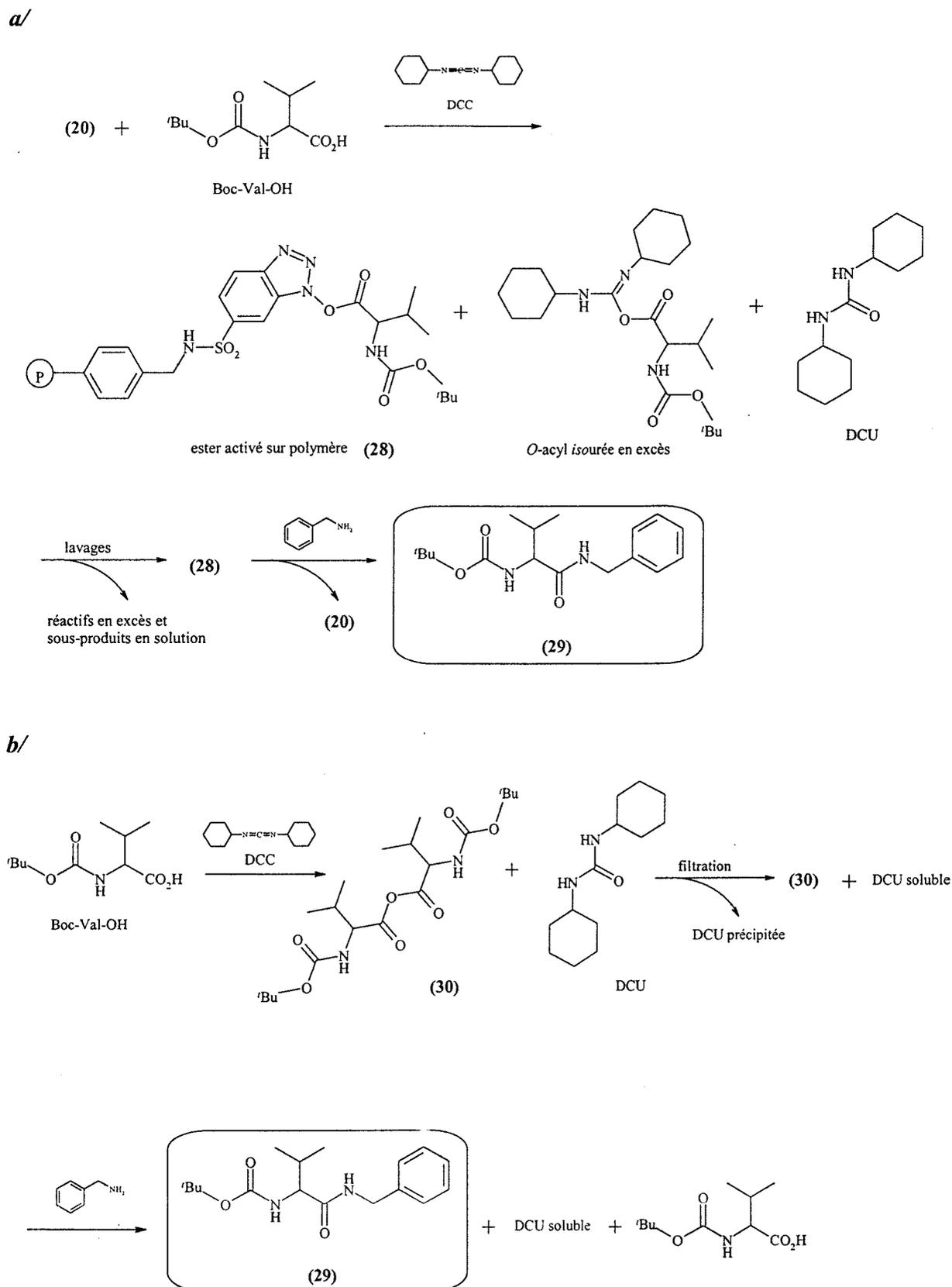
c/ milieu réactionnel de synthèse de la Boc-N-benzylvalylamide en phase homogène



**A. La pureté des amides obtenus en utilisant le réactif de couplage (20).** Le Boc-*N*-benzylvalylamide (29) a été synthétisé en utilisant le réactif (20) en présence de *N, N'*-dicyclohexylcarbodiimide (DCC), car le DCC ne conduit pas à la libération de sous-produits nucléophiles, comme le font par exemple l'HBTU (hexafluorophosphate de 2-(1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium) et le BOP (hexafluorophosphate de benzotriazole-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium), susceptibles d'entrer en compétition avec la résine (20) et de décrocher l'espèce activée. Les produits présents dans le milieu réactionnel lors de l'activation : Boc-Val-OH, DCC et *O*-acyl isourée en excès, *N, N'*-dicyclohexylurée (DCU) en partie précipitée et éventuellement *N*-acylurée, ont été éliminés par des lavages au DMF avant couplage avec la benzylamine (figure 2.26.a). En parallèle, ce même amide a été synthétisé en phase homogène en présence de DCC, par formation initiale d'un anhydride symétrique de la Boc-Val-OH suivie, après filtration de la DCU précipitée, par un traitement avec la benzylamine (figure 2.26.b/).

Les deux produits ont été analysés par chromatographie en couche mince (CCM), en utilisant comme révélateur le 4,4'-tétraméthyl-diaminodiphénylméthane (TDM) en présence de KI.<sup>53</sup> Une différence remarquable a pu être constatée en comparant les deux produits (figure 2.27): l'amide synthétisé en phase homogène est contaminé par les sous-produits obtenus lors de l'activation et du couplage (DCU, acide, amine n'ayant pas réagi) ; par contre, l'amide synthétisé en utilisant le réactif (20) est seulement contaminé par des traces d'amine non consommée, indiquant que les lavages de la résine après l'étape d'activation ont été extrêmement efficaces.

Figure 2.26. Synthèse de Boc-N-benzylvalylamide (29) a/ en utilisant le réactif (20), et b/ en phase homogène, en présence de DCC



**B. Etude préliminaire de l'activation.** L'activation de l'acide acétique sous forme d'ester activé de (20) a été étudiée en utilisant comme réactifs d'activation solubles le DCC ou le *N, N'*-diisopropylcarbodiimide (DIC), différentes quantités d'acide par rapport à la résine, et différents solvants et temps d'activation. L'efficacité de l'activation a été évaluée par quantification de l'amine résiduelle, lors du couplage de l'ester activé (21) avec benzylamine (figure 2.21). Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 2.5.

Nous avons constaté que la DCU obtenue lors de l'activation en présence de DCC précipite en partie et s'élimine très difficilement lors des lavages avant couplage. Par contre, la di-*isopropylurée* obtenue lors de l'activation en présence de DIC, plus soluble, est plus facile à éliminer. En analysant les résultats exposés dans le tableau 2.5, on peut également tirer les conclusions suivantes :

1/ pour des temps d'activation relativement courts, le meilleur solvant est un mélange DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1/3 (v/v) (tableau 2.5, entrées 6 et 7). Ceci pourrait s'expliquer en partie par la meilleure capacité du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à gonfler la résine, le DMF étant néanmoins nécessaire pour réduire la précipitation de l'urée, peu soluble dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

2/ l'augmentation du nombre d'équivalents d'acide activé est favorable à l'activation (tableau 2.5, entrées 3 et 5). Pour l'acide acétique nous avons pu utiliser des gros excès, n'étant pas limités par sa solubilité dans le milieu réactionnel.

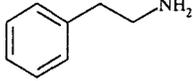
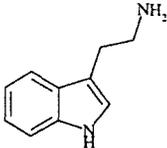
3/ dans le cas particulier d'activation de l'acide acétique, le temps d'activation (entre 30 min et 90 min) n'influence pas d'une façon significative la conversion (tableau 2.5, entrées 2 à 7).

**Tableau 2.5.** Activation de l'acide acétique sous forme d'ester activé de (20), suivie par couplage avec la benzylamine

Entrée	Activateur	Equiv. acide et activateur	Temps d'activation (min)	Solvant	Conversion (%)
1	DCC	3	45	DMF	39
2	DCC	3	45	DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 1/1 (v/v)	85
3	DCC	10	45		100
4	DIC	3	60		87
5	DIC	10	60		99
6	DCC	3	30	DMF/CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 1/3 (v/v)	99
7	DIC	3	90		99
8	DCC	3	90	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	98

**C. Synthèse de quelques amides en utilisant le réactif (20).** Les tests préliminaires de réactivité de la résine (20) ont été poursuivis en faisant le couplage d'une série de partenaires différents. Quelques amines ont été d'abord couplées avec l'acide acétique activé sous forme d'ester de (20). Les conversions ont été évaluées en quantifiant l'amine résiduelle dans le milieu réactionnel par le test colorimétrique de Kaiser pour les amines primaires et le test colorimétrique de Christensen<sup>54</sup> pour les amines secondaires. Les courbes d'étalonnage ayant servi aux quantifications sont incluses dans l'annexe 4. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 2.6.

Tableau 2.6. Couplage de l'acide acétique avec différentes amines en utilisant le réactif (20)<sup>a</sup>

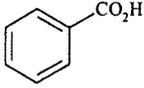
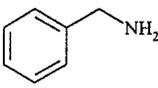
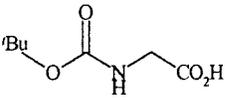
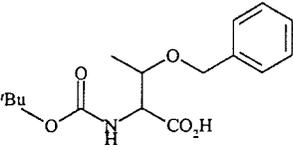
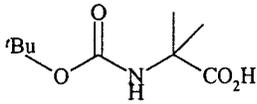
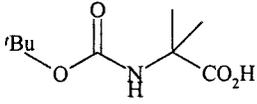
Entrée	Amine	Conversion (%)
1		100
2		100
3		75
4		100

<sup>a</sup> L'acide acétique a été activé sous forme d'ester de (20), en utilisant 5 équivalents d'anhydride acétique dans le mélange DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1/3 (v/v), pendant 45 min.

De même, une série d'acides carboxyliques ont été activés sous forme d'esters de (20) en présence de DCC ou de DIC, et ont été couplés avec la benzylamine ou la pipéridine. Les conversions ont été évaluées par rapport à l'amine non consommée, quantifiée à l'aide des tests colorimétriques de Kaiser (pour la benzylamine) et de Christensen (pour la pipéridine). Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 2.7.

Des conversions élevées ont été obtenues dans pratiquement tous les cas, exception faite pour l'acide stéarique (tableau 2.7, entrée 2), probablement en raison de sa faible solubilité dans le solvant utilisé pour la réaction. Il faut notamment remarquer la bonne réactivité de l'ester du Boc-Aib-OH (tableau 2.7, entrées 5 et 6), réputé pour être difficile à coupler en synthèse peptidique, en raison de son encombrement stérique.<sup>55</sup>

Tableau 2.7. Couplage de différents acides carboxyliques activés sous forme d'esters de (20) avec la benzylamine et la pipéridine <sup>a</sup>

Entrée	Acide carboxylique	Amine	Conversion (%)
1			93
2	CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> -CO <sub>2</sub> H acide stéarique		57
3	 Boc-Gly-OH		94
4	 Boc-(OBzl)Thr-OH		97
5 <sup>b</sup>	 Boc-Aib-OH		69
6 <sup>c</sup>	 Boc-Aib-OH		78

<sup>a</sup> L'activation a été réalisée en présence de 3 équiv d'acide et de DCC dans le mélange DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1/3 (v/v) pendant 90 min (sauf indication contraire). <sup>b</sup> L'acide encombré a été activé pendant 120 min.

#### 2.II.2.4. Choix du solvant pour l'assemblage d'amides en utilisant le 1-hydroxy-benzotriazole-6-sulfonamide sur polymère (20)

Le choix du solvant est d'une importance cruciale pour la synthèse parallèle à haut débit : il doit être choisi de façon à solubiliser le plus grand nombre de monomères susceptibles d'être mis en réaction, et en même temps être compatible avec le système robotique dans lequel sera développé le processus de synthèse.

Lors de nos études préliminaires nous avons constaté que le solvant de choix pour l'assemblage d'amides dans les conditions particulières de ces études (activation sur résine de l'acide acétique en présence de DCC ou DIC), était un mélange DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1/3 (v/v). Ce mélange de solvants risquait tout de même de ne solubiliser qu'un nombre limité de monomères : des études de solubilité sur une série de molécules représentatives, plus de 700 acides carboxyliques et de 700 amines, ont montré que le DMF était un meilleur solvant par rapport au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : 86 % des amines étaient solubles à une concentration 0,1 M dans le DMF, tandis que seulement 55 % étaient solubles à cette même concentration dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et 84 % des acides carboxyliques étaient solubles à une concentration 0,75 M dans le DMF (tableau 2.8). Le DMF est également un solvant plus facile à manipuler dans un système robotique, en raison de son point d'ébullition et de sa viscosité élevés.

Nous avons donc choisi le DMF pour la synthèse parallèle à haut débit d'amides.

**Tableau 2.8.** Données de solubilité pour un lot représentatif d'amines et d'acides carboxyliques

Entrée	Solvant	Concentration (M)	Amines solubles (%) <sup>a</sup>	Acides carboxyliques solubles (%) <sup>b</sup>
1	DMF	0,1	86	90
2	DMF	0,25	26	
3	DMF	0,75	26	84
4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0,1	55	
5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0,25	45	

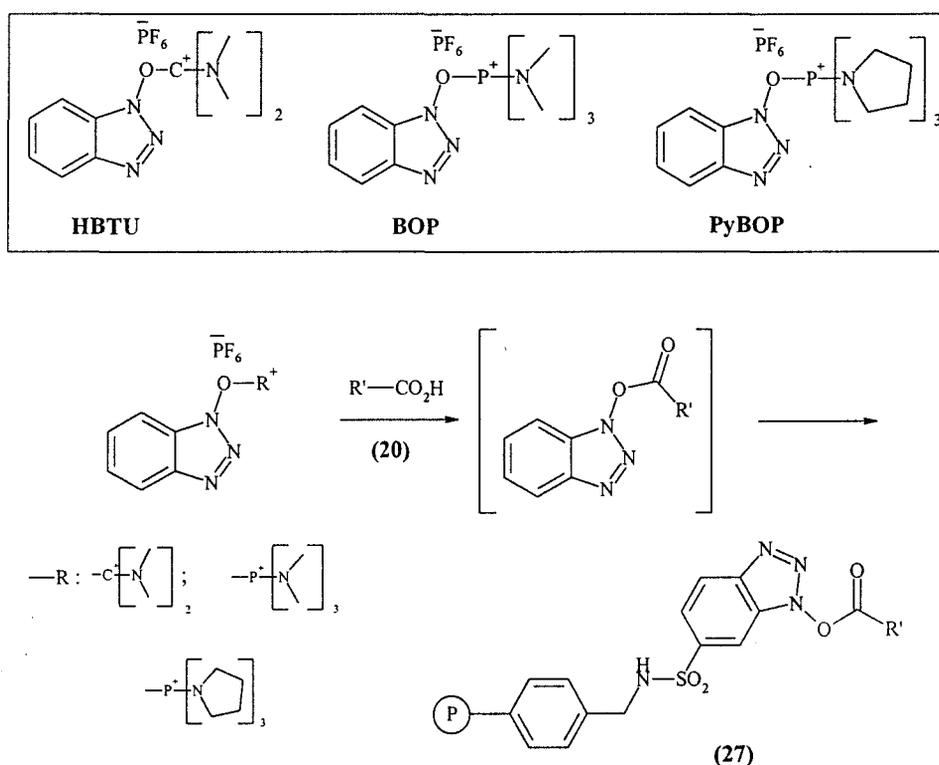
<sup>a</sup> Données obtenues sur un ensemble de 81 amines. <sup>b</sup> Données obtenues sur un ensemble de 50 acides carboxyliques.

### 2.II.2.5. Choix du réactif d'activation soluble

Lors des études préliminaires d'activation en utilisant le DCC et le DIC, nous avons rencontré des difficultés dues à la précipitation d'urée, même dans le DMF. De plus, les carbodiimides sont des composés assez toxiques et difficile à manipuler en quantités importantes. Nous avons par conséquent cherché d'autres réactifs d'activation solubles qui ne posant pas ces problèmes.

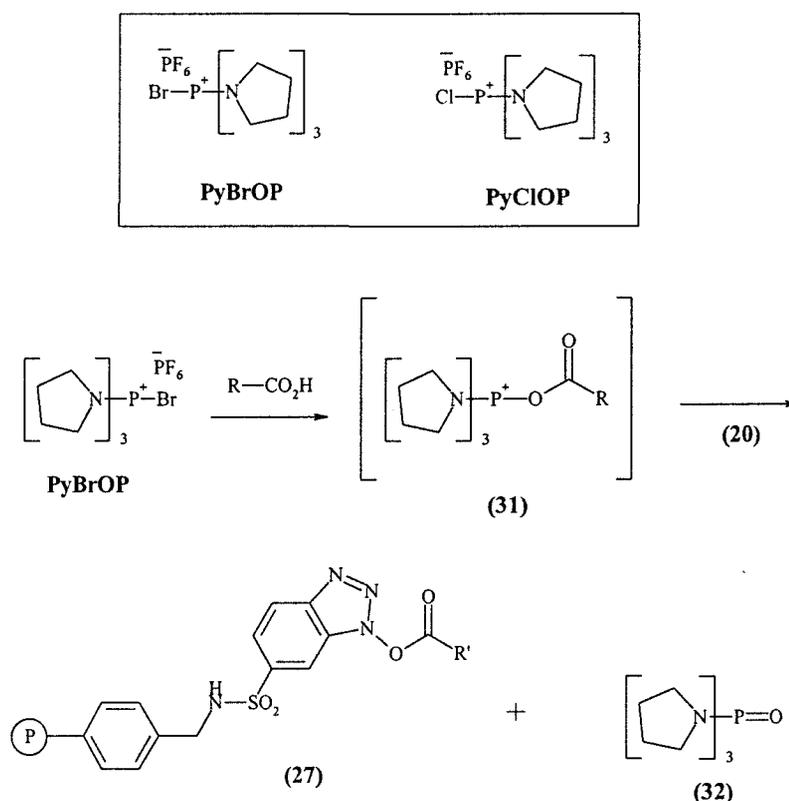
Des réactifs d'activation contenant un oxybenzotriazole comme l'HBTU (hexafluorophosphate de 2-(1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium), le BOP (hexafluorophosphate de benzotriazole-1-yl-oxy-tris-(diméthylamino)-phosphonium) ou le PyBOP (hexafluorophosphate de benzotriazole-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-phosphonium), impliquent la formation intermédiaire d'un ester d'HOBt qui lui, entre en compétition avec la formation de l'ester activé sur polymère (27) (figure 2.28). Nous avons par conséquent évité l'utilisation de tels réactifs d'activation.

Figure 2.28. Formation d'un ester activé sur polymère (27), en utilisant des agents d'activation solubles contenant un oxybenzotriazole



D'autres réactifs d'activation comme le PyBrOP (hexafluorophosphate de bromo-tris-pyrrolidino-phosphonium) ou le PyClOP (hexafluorophosphate de chloro-tris-pyrrolidino-phosphonium) impliquent la formation intermédiaire d'un acyl oxyphosphonium (31) très réactif, qui réagit par la suite avec la résine (20) pour engendrer l'ester activé (27) sans produire de nucléophile réactif (figure 2.29).<sup>55</sup> Ces composés sont connus comme étant d'excellents réactifs de couplage, surtout dans le cas des couplages difficiles d'acides aminés encombrés.<sup>55, 56</sup>

Figure 2.29. Formation d'un ester activé sur polymère (27), en utilisant comme agents d'activation solubles des sels de phosphonium qui ne contiennent pas d'oxybenzotriazole



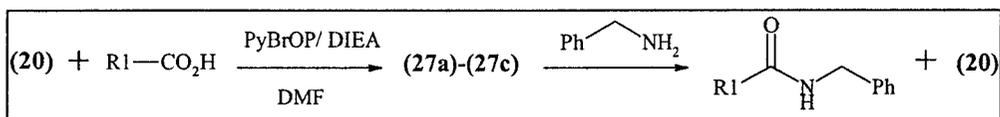
Nous avons choisi l'utilisation de PyBrOP comme agent d'activation soluble parce qu'il présente plusieurs avantages : il est commercialement disponible ; il est stable ; le PyBrOP est facile à manipuler en quantités importantes ; de même, le PyBrOP ainsi que l'oxyde de tris-pyrrolidinophosphine (32) sont très solubles dans le DMF. Le PyBrOP est recommandé pour les couplages très difficiles de molécules encombrées.<sup>55, 56</sup>

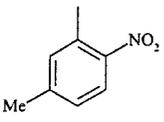
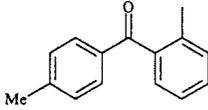
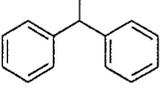
2.II.2.6. Optimisation de l'activation des acides carboxyliques sous forme d'ester activé sur polymère (27)

Conformément aux choix de solvant et d'agent activateur soluble réalisés auparavant, l'optimisation de l'étape d'activation a été poursuivie dans le DMF et en présence de PyBrOP.

Trois acides ont été utilisés: l'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (a), l'acide 2-(p-toluoyl)benzoïque (b) et l'acide diphenylacétique (c). L'efficacité de l'activation a été corrélée à la conversion en amide, suite à la réaction des espèces activées obtenues sur polymère avec la benzylamine. Nous avons testé différentes durées d'activation, des simples et doubles activations, ainsi que différentes quantités d'acide par rapport au réactif (20). Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 2.9.

Tableau 2.9. Influence de la quantité d'acide et de la durée de réaction sur l'étape d'activation<sup>a</sup>



Entrée	Composé	R <sub>1</sub>	Equiv. d'acide	Temps d'activation (h)	Rendement (%) <sup>b</sup>
1	(33)		2	3	40
2			2+2	3+3	47
3			3+3	3+3	84
4	(34)		3+1	3+3	80
5			3+3	3+3	87
6	(35)		2	3	18
7			2+2	3+3	27
8			3+3	3+3	50

<sup>a</sup> Pour chaque activation, nous avons utilisé des solutions d'acides 0,27 M dans le DMF, 1 équiv de PyBrOP et 2 équiv de DIEA par rapport à l'acide. Pour le couplage nous avons utilisé 1 équiv de benzylamine par rapport à l'ester activé (27), 0,16 M dans le DMF. <sup>b</sup> Rendements en produits isolés.

Nous avons constaté que l'utilisation de 2 équiv d'acide par rapport à la résine (20), même en utilisant une procédure de double activation, n'est pas suffisante pour une activation efficace (tableau 2.9, entrées 1, 2, 6 et 7). Les meilleurs résultats ont été obtenus en utilisant une procédure de double activation, avec 3 équiv d'acide par rapport au polymère (20) pour chaque étape d'activation (tableau 2.9, entrées 3, 5 et 8). Des essais pour améliorer l'activation en augmentant la durée de réaction n'ont pas été satisfaisants (tableau 2.10).

**Tableau 2.10.** Influence de la durée de réaction sur l'étape d'activation <sup>a</sup>

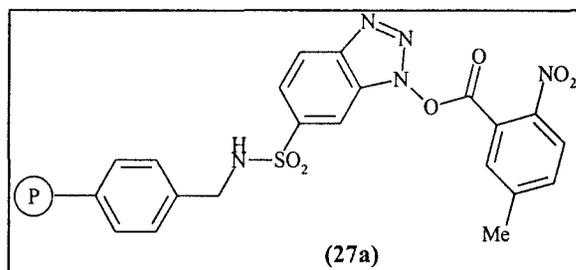
Entrée	Composé	Equiv d'acide	Temps d'activation	Rendement (%) <sup>b</sup>
1	(33)	3+3	5+15	33
2		3+3	3+3	84
3	(34)	3+3	5+15	73
4		3+3	3+3	87
5	(35)	3+3	5+15	13
6		3+3	3+3	50

<sup>a</sup> Pour chaque activation, nous avons utilisé des solutions d'acides 0,27 M dans le DMF, 1 équiv de PyBrOP et 2 équiv de DIEA par rapport à l'acide. Pour le couplage nous avons utilisé 1 équiv de benzylamine par rapport à l'ester activé (27), 0,16 M dans le DMF. <sup>b</sup> Rendements en produits isolés.

La diminution, dans certains cas très importante (tableau 2.10, entrées 1 et 5), des conversions lors de l'augmentation de la durée d'activation a été attribué à l'instabilité des esters activés en milieu basique: la formation de l'ester activé sur le polymère est concurrencée par sa décomposition en milieu basique. Tant que du PyBrOP est présent dans le milieu réactionnel, la réaction d'estérification va compenser la décomposition de l'ester activé (27). Mais dès que le PyBrOP est entièrement consommé, la décomposition de l'ester activé devient décelable. Le temps de réaction a été par conséquent optimisé pour permettre la réaction des espèces moins réactives et pour minimiser la décomposition des esters activés (27). Nous avons trouvé que les meilleures conditions d'activation dans le DMF en présence de PyBrOP étaient les suivantes: deux étapes d'activation durant 3 h chaque, en utilisant à chaque fois 3 équiv d'acide par rapport au réactif supporté (20).

### 2.II.2.7. Etude de stabilité des esters activés (27)

Nous avons étudié la stabilité de l'ester activé de l'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (27a) dans différentes conditions : sous forme sèche et en suspension dans le DMF, en absence et en présence de base.



La résine (27a) a été synthétisée dans les conditions optimisées définies auparavant, et elle a été stockée sous forme sèche, sous azote à 4 °C. Après deux mois de stockage, cette résine a été mise en réaction avec la phénéthylamine, conduisant à une conversion quantitative en amide. Cette expérience prouve que les esters activés (27) sont stables, à condition qu'ils soient gardés sous forme sèche.

Par contre, ces composés sont instables dans le DMF, surtout en présence d'une base. Nous avons suivi la décomposition de l'ester activé (27a) en suspension dans le DMF, en présence et en absence de base. Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 2.11.

**Tableau 2.11.** Décomposition de l'ester activé (27a) en suspension dans le DMF, en présence et en absence de base <sup>a</sup>

Temps (min)		5	10	20	30	60	90	1500
taux de décomposition	base (DIEA) <sup>b</sup>	8	17	26	33	40	46	62
(%)	sans base	1	2	3	4	7	10	62

<sup>a</sup> Le taux de décomposition de l'ester activé (27a) a été déterminé par HPLC, en quantifiant l'acide présent dans le surnageant. La courbe d'étalonnage ayant servi à la quantification de l'acide est incluse dans l'Annexe 5. <sup>b</sup> La décomposition a été suivie en présence de 2 équiv de DIEA par rapport au polymère.

La présence de DIEA accélère visiblement la décomposition de l'ester activé: 46 % d'ester sont décomposés pendant 90 min, tandis que seulement 10 % sont décomposés en

absence de DIEA. Nous avons attribué ce phénomène à une attaque nucléophile des traces d'eau présentes dans le milieu réactionnel, catalysée par la base organique. Après un temps de réaction suffisamment long (1500 min), le taux de décomposition en présence et en absence de DIEA atteint le même niveau (62 %), correspondant probablement à la consommation des traces d'eau présentes dans le milieu réactionnel.

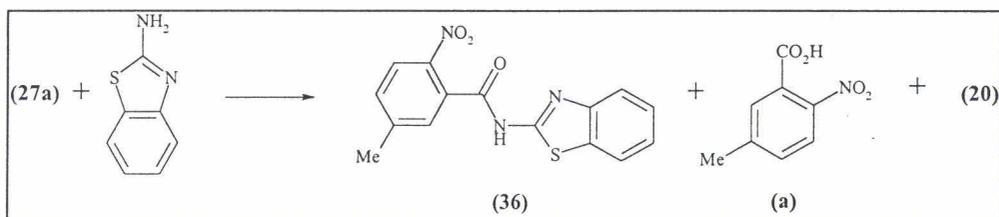
#### 2.II.2.8. Optimisation de la réaction des esters activés (27) avec les *N*-nucléophiles (étape de couplage)

Nous avons étudié l'influence de la durée du couplage et de la présence d'une base dans le milieu réactionnel lors du couplage.

*A. Optimisation du temps de couplage.* Pour déterminer le temps optimum de couplage, nous avons d'abord étudié les réactions de la benzylamine et du 2-aminobenzothiazole avec l'ester activé de l'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (**27a**). Les réactions ont été suivies par HPLC, et les conversions calculées à l'aide des courbes d'étalonnage indiquées dans l'annexe 6. L'acylation de la benzylamine était quantitative au bout d'une heure. Par contre, la réaction du 2-aminobenzothiazole dans les mêmes conditions a été beaucoup plus lente, une conversion maximum de 68 % n'étant obtenue qu'après 25 h. En même temps, la présence d'acide carboxylique en solution nous a indiqué un taux de décomposition de 20 % de l'ester activé (**27a**) (tableau 2.12).

En analysant les résultats exposés dans le tableau 2.12, nous avons évalué le temps de couplage optimum à 20 h. Prolonger le temps de couplage dans ces conditions est sans intérêt, car nous avons déjà montré, lors des études de stabilité, qu'en absence de nucléophile 62 % de l'ester activé (**27a**) s'hydrolyse spontanément dans le DMF seul.

**Tableau 2.12.** Réaction et décomposition de l'ester activé (27a) lors du couplage du 2-aminobenzothiazole <sup>a</sup>



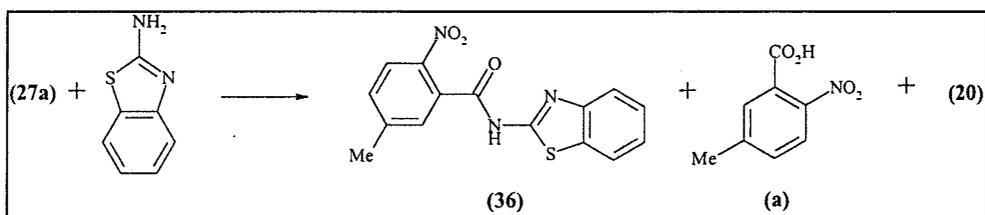
Temps (min)	5	10	20	30	60	90	1500	2940
composé (36) (%) <sup>b</sup>	7	17	25	33	45	46	68	68
acide (a) (%) <sup>c</sup>	1	2	2	3	4	5	18	20

<sup>a</sup> L'ester (27a) a été synthétisé conformément aux conditions d'activation optimum définies ultérieurement. Le couplage a été réalisé avec une solution 0,16 M de 2-aminobenzothiazole dans le DMF. <sup>b</sup> La conversion a été déterminée par HPLC, en utilisant des courbes d'étalonnage. <sup>c</sup> Acide détecté en solution, provenant de la décomposition de l'ester activé, déterminé par HPLC en utilisant des courbes d'étalonnage.

**B. Influence de la présence d'une base dans le milieu réactionnel.** Nous avons supposé que la présence d'une base dans le milieu réactionnel pouvait catalyser le couplage, au moins pour des nucléophiles faibles comme le 2-aminobenzothiazole. Deux réactions compétitives peuvent avoir lieu: l'attaque du nucléophile pour conduire à la formation de l'amide désiré, et la décomposition de l'ester activé pour former l'acide. Nous avons suivi la réaction du 2-aminobenzothiazole avec l'ester activé de l'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (27a) en présence et en absence de DIEA. La conversion en amide ainsi que l'acide libéré en solution par décomposition de l'ester activé ont été suivies par HPLC (tableau 2.13).

En analysant les résultats exposés dans le tableau 2.13, on peut conclure que la DIEA catalyse surtout la réaction de décomposition de l'ester activé : la conversion en amide est plus faible, ne dépassant pas 45 %, tandis que la décomposition de l'ester activé est plus importante, atteignant 30 %, en présence de DIEA. Nous avons par conséquent décidé de ne pas rajouter de base lors de l'étape de couplage.

**Tableau 2.13.** Réaction et décomposition de l'ester activé (27a) lors du couplage de 2-aminobenzothiazole en présence et en absence de base <sup>a</sup>



Entrée	Temps (min)	amide (36) (%)		acide (a) (%)	
		sans base	DIEA	sans base	DIEA
1	5	8	12	1	13
2	10	17	23	2	17
3	20	25	30	2	21
4	30	33	33	3	22
5	60	45	41	4	27
6	90	46	42	5	28
7	1500	68	46	18	30
8	2940	68	45	20	30

<sup>a</sup> L'ester (27a) a été synthétisé conformément aux conditions d'activation optimum définies ultérieurement. Le couplage a été réalisé avec une solution 0,16 M de 2-aminobenzothiazole dans le DMF.

### 2.II.2.9. Généralité de la méthode d'assemblage d'amides en utilisant le réactif (20)

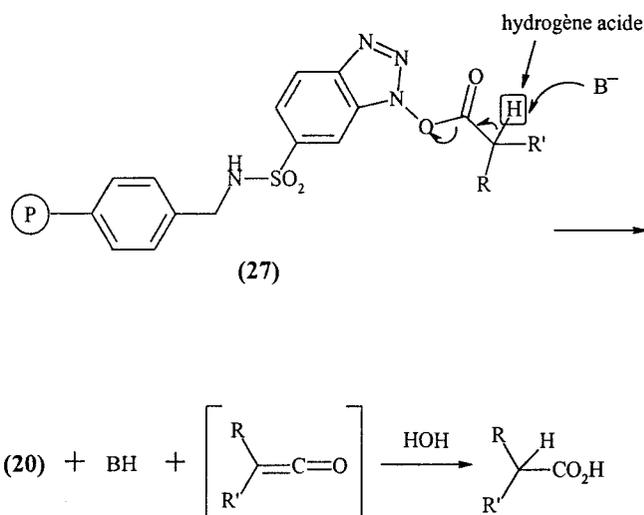
Les acides carboxyliques et les *N*-nucléophiles commerciaux, à peu près 700 structures différentes de chaque, ont été divisés en plusieurs classes, suivant des critères de structure et réactivité. Nous avons choisi des structures représentatives de chaque classe et nous les avons testés dans les conditions optimisées préalablement, pour déterminer la généralité d'application de cette méthode d'assemblage d'amides.

**A. Réactivité des acides carboxyliques.** Les classes d'acides carboxyliques que nous avons testées sont les acides benzoïques, substitués sur le noyau aromatique avec des groupements électroattracteurs ou électrodonneurs, les acides aliphatiques plus ou moins encombrés, les acides contenant des groupements nucléophiles et les acides possédant un



Les acides (c) et (h) présentent au moins un hydrogène  $\alpha$  acide. Dans les conditions basiques de l'activation, l'acidité de l'hydrogène  $\alpha$  pourrait être responsable de la formation d'un cétène, le polymère jouant le rôle de groupement partant (figure 2.30).

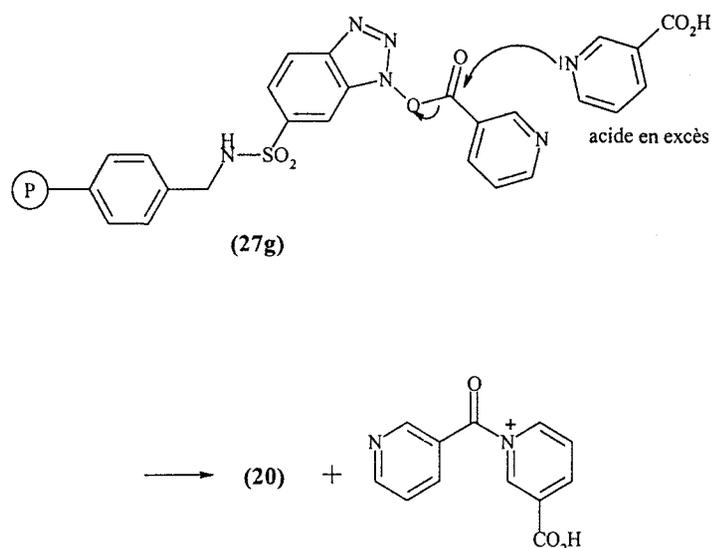
Figure 2.30. Mécanisme de décrochage des acides carboxyliques possédant des hydrogènes  $\alpha$  acides, par le biais d'un cétène



En ce qui concerne l'acide nicotinique, le noyau pyridine présente un caractère nucléophile, son acylation se traduisant par le clivage de la liaison ester avec formation d'un acyl-pyridinium soluble. Ce décrochage peut avoir lieu pour tout acide carboxylique possédant un site nucléophile dans sa structure (figure 2.31). Dans ce cas particulier, la réduction de la durée d'activation de 3 h à 1 h permet d'augmenter de 37 % à 55 % la conversion.

Il faut mentionner ici que ces acides carboxyliques qui doivent être écartés pour la synthèse d'une chimiothèque d'amides par cette méthode ne représentent qu'à peu près 25 % des acides carboxyliques commerciaux. Il reste donc un nombre très important d'acides carboxyliques commerciaux tolérés par cette chimie, permettant la synthèse d'une chimiothèque d'amides d'une grande diversité.

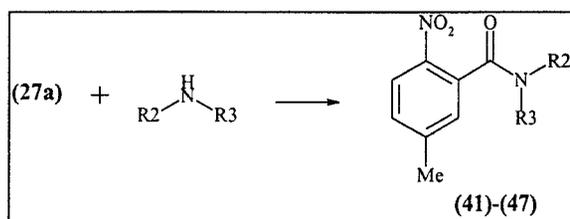
Figure 2.31. Mécanisme de décrochage de l'acide nicotinique (g)



**B. Réactivité des *N*-nucléophiles.** Nous avons testé les classes suivantes de *N*-nucléophiles: amines aliphatiques, hydroxylamines, anilines présentant différents substituants sur le noyau aromatique, ainsi que des molécules ayant un groupement  $\text{-NH}_2$  lié à un hétérocycle. Nous avons principalement suivi l'influence des effets électroniques sur le couplage. La réactivité des *N*-nucléophiles a été estimée au travers de la quantité d'amide formé par réaction avec l'ester activé de l'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (27a). Les réactions ont été suivies par HPLC et les conversions calculées à l'aide des courbes d'étalonnage incluses dans l'annexe 6. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 2.15.

Des conversions élevées et d'excellentes puretés ont été obtenues pour les couplages de la phénéthylamine, de la *N*, *O*-diméthyl-hydroxylamine, du 2-amino-5-méthyl-1,3,4-thiadiazole, de la benzophénone hydrazone et du 5-nitroindazole (tableau 2.15, entrées 1 à 3, 5 et 6). Dans certains cas, des traces d'acide ou d'amine n'ayant pas réagi ont été détectées dans le milieu réactionnel. Les chromatogrammes HPLC correspondants sont inclus dans l'annexe 7.

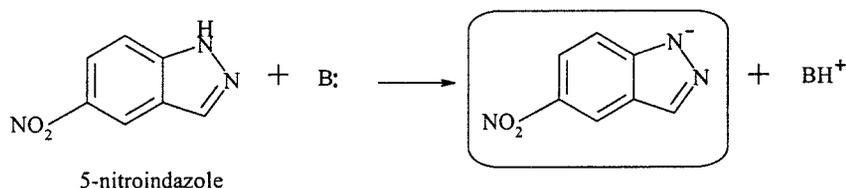
Tableau 2.15. Réaction de l'ester activé (27a) avec différents N-nucléophiles <sup>a</sup>



Entrée	1	2	3	4	5	6	7	8	9
R2	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H		H	H	H
R3									
Composé	(41)	(42)	(43)	(44)	(45)	(46)	(47)	-	-
Conversion (%)	82	85	91	44	69	80 <sup>b</sup>	17	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Les réactions ont été réalisées dans les conditions optimisées précédemment définies. Des solutions d'acides 0,4 M dans le DMF et d'amines 0,1 M dans le DMF ont été utilisées. <sup>b</sup> Il n'y a pas eu de formation d'amide quand le couplage a été réalisé en absence de base. Une conversion de 80 % a été obtenue seulement en présence de 1 équiv de DIEA lors du couplage. <sup>c</sup> Il n'y a pas eu de couplage.

Il faut mentionner ici le cas particulier du 5-nitroindazole (tableau 2.15, entrée 6), qui ne réagit qu'en présence d'un équivalent de base, en absence de base la conversion étant nulle: l'espèce nucléophile dans ce cas est, probablement, l'anion formé par déprotonation.



Les conversions des anilines substituées sur le noyau aromatique sont fortement influencées par les effets électroniques : la présence de substituants désactivant le noyau aromatique conduit à une diminution importante des conversions. Une conversion moyenne

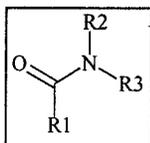
(44 %) est obtenue pour le 4-aminobenzoate d'éthyle (tableau 2.15, entrée 4), alors que dans le cas de la 4-nitroaniline il n'y a pas de réaction de couplage (tableau 2.15, entrée 8), seul l'acide obtenu par décomposition de l'ester activée (**27a**) étant détectable dans le milieu réactionnel. Ce résultat n'est pas surprenant, compte tenu de l'effet fortement désactivant du groupement -NO<sub>2</sub> aromatique en position 2 ou 4.

La présence d'atomes d'azote sur le cycle aromatique, comme c'est le cas avec la 2-aminopyridine et de la 2-aminopyrimidine, diminue aussi la réactivité du groupement -NH<sub>2</sub> aromatique : seulement 17 % de conversion ont été obtenus pour le couplage de la 2-aminopyridine, tandis qu'aucune réaction n'a eu lieu avec la 2-aminopyrimidine (tableau 2.15, entrées 7 et 9).

Selon ces résultats, seules les anilines possédant des groupement désactivants sur le noyau aromatique ainsi que les 2-aminopyridines et les 2-aminopyrimidines ne peuvent pas être utilisés pour l'assemblage d'amides par cette méthode. La majeure partie de *N*-nucléophiles : amines primaires et secondaires, hydroxylamines, anilines non désactivées aussi bien que des *N*-nucléophiles spéciaux comme les hydrazones peuvent être utilisés pour l'assemblage d'amides.

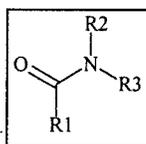
**C. Synthèse de 17 amides en utilisant le réactif de couplage (20).** Nous avons croisé une série d'acides carboxyliques et de *N*-nucléophiles appartenant aux différentes classes compatibles avec l'assemblage d'amides. Des acides de type benzoïque possédant différents substituants sur le noyau aromatique et des acides aliphatiques plus ou moins encombrés, ont été couplés à des amines aliphatiques encombrées ou non, des anilines non désactivées et quelques *N*-nucléophiles exotiques. Tous les produits ont été isolés avec les rendements indiqués dans le tableau 2.16. Dans la majorité des cas, des bons rendements (entre 60 % et 85 %) en produits isolés ont été obtenus.

Tableau 2.16. Synthèse d'amides utilisant différents acides carboxyliques et N-nucléophiles



Entrée	Amide	R1	R2	R3	Rendement (%)
1	(36)		H		55
2	(43)	(a)	H		70
3	(45)		H		70
4	(46)				77
5	(48)		H		50
6	(49)	(f)	H		82
7	(50)		H		74
8	(51)		H		64
9	(52)		H		50

Tableau 2.16. (suite) Synthèse d'amides utilisant différents acides carboxyliques et N-nucléophiles



Entrée	Amide	R1	R2	R3	Rendement (%)
10	(53)		H		79
11	(54)	(d)	H		79
12	(55)				72
13	(56)		H		70
14	(57)		H		51
15	(58)				85
16	(59)		H		65
17	(60)	(j)	H		65

En analysant les résultats exposés dans le tableau 2.16, on peut tirer les conclusions suivantes :

1/ les encombrements stériques de l'acide carboxylique et du N-nucléophile mis en réaction jouent un rôle important sur la conversion. Si on compare les rendements en amides obtenus

par couplage de l'acide 3-chlorobenzoïque (**d**) (tableau 2.16, entrées 10, 11 et 13) et ceux obtenus par couplage de l'acide 2, 2'-diphénylpropionique (**f**) avec les mêmes amines (tableau 2.16, entrées 7 à 9), on constate un écart qui varie entre 5 % et 20 %. Cette baisse de rendement lors du couplage d'un acide encombré est d'autant plus importante que l'amine est un mauvais nucléophile comme l'aniline (tableau 2.16, entrées 8 et 11), ou que l'amine est très encombrée comme la 1-adamantylamine (tableau 2.16, entrées 9 et 13). Des rendements intermédiaires (65 %) ont été obtenus lors du couplage de la 1-adamantylamine avec l'acide 1-adamantylacétique (**i**) et de l'acide cyclohexanecarboxylique (**j**) (tableau 2.16, entrées 16 et 17), ce qui corrèle avec l'encombrement stérique moindre de ces acides par rapport à l'acide 2, 2'-diphénylpropionique (**f**).

2/ des rendements satisfaisants ont été obtenus pour le couplage de quelques *N*-nucléophiles moins usuels comme le 2-aminobenzothiazole, le 2-amino-5-méthyl-1,3,4-thiadiazole, la benzophénone hydrazone, et le 5-nitroindazole (tableau 2.16, entrées 1 à 4). Le rendement de seulement 50 % obtenu pour le produit de couplage de l'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (**a**) avec l'hydrazide 2-furoïque (tableau 2.16, entrée 5) a été attribué à un problème d'isolement du produit pur, et non pas à un problème de réactivité.

Nous avons également remarqué une excellente sélectivité pour la formation de l'amide lors du couplage d'un aminoalcool (tableau 2.16, entrées 7 et 10). Dans ce cas, nous n'avons détecté dans le milieu réactionnel aucune trace d'ester ou d'espèces polymériques, l'amide étant l'unique produit de la réaction.

#### 2.II.2.10. Conclusions

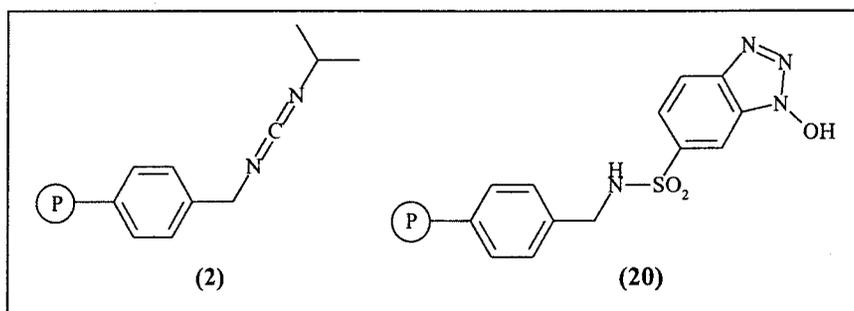
Nous avons mis au point la synthèse d'un nouveau réactif d'activation, dérivé d'HOBt, immobilisé sur polymère (**20**). Cette méthode de synthèse présente l'avantage de pouvoir s'appliquer à tout type de support polymérique insoluble, fonctionnalisé avec des groupements -NH<sub>2</sub>. Une grande efficacité de ce dérivé d'HOBt pour l'assemblage d'amides a été obtenue par incorporation d'un groupement électroattracteur sulfonamide sur le noyau benzénique du benzotriazole, la réactivité de ses esters activés étant corrélée à son acidité. Des études de pKa et par RMN ont confirmé l'acidité élevée du *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (**23**), l'homologue soluble du réactif supporté (**20**).

Le réactif (20) permet la synthèse d'amides d'une pureté élevée, car les produits ne sont pas contaminés par le réactif de couplage. Des études d'optimisation d'assemblage d'amides par cette méthode ont été réalisées sur une série d'acides carboxyliques et *N*-nucléophiles très divers, afin de définir des conditions de réaction standard automatisables, ainsi que des classes de composés compatibles avec cette méthode. La pureté et les taux de conversion des amides synthétisés par cette méthode ont été tout à fait satisfaisants.

### 2.III. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 2

L'assemblage d'acides carboxyliques et de *N*-nucléophiles par le biais d'une liaison amide permet d'accéder à la très large diversité engendrée par ces deux classes de composés. Nous avons développé une méthode permettant l'assemblage d'un maximum de monomères, avec des bonnes conversions et une bonne pureté.

L'approche la mieux adaptée nous a paru l'utilisation de réactifs de couplage immobilisés sur support polymérique insoluble. Nous avons synthétisé deux réactifs de couplage immobilisés sur polymère: un benzyl-*isopropyl*carbodiimide (**2**) et un dérivé de *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (**20**).



Ces deux polymères ont été soumis à des tests préliminaires de synthèse d'amides. Plusieurs facteurs ont été pris en compte pour choisir le réactif de couplage le mieux adapté à la synthèse à haut débit d'amides: la facilité et la reproductibilité de sa synthèse, ainsi que l'efficacité et la facilité d'utilisation pour l'assemblage d'amides. Dans tous les cas, le dérivé d'HOBt (**20**) s'est avéré le mieux adapté.

Nous avons mis au point une méthode générale d'assemblage d'amides en utilisant le réactif (**20**) qui conduit à des produits de bonne pureté avec des conversions généralement élevées, et qui permet l'accès à une large diversité d'acides carboxyliques et de *N*-nucléophiles. Cette chimie s'avère donc d'une grande utilité pour la synthèse parallèle à haut débit d'amides sous forme soluble. De plus, la pureté élevée des amides synthétisés par cette méthode permet leur utilisation dans des tests biologiques sans aucune purification préalable.

*Versatile Acylation of N-Nucleophiles Using a New Polymer-Supported 1-Hydroxybenzotriazole Derivative*

---

**Versatile Acylation of *N*-Nucleophiles  
Using a New Polymer-Supported  
1-Hydroxybenzotriazole Derivative**

---

Iuliana E. Pop, Benoît P. Déprez, and André L. Tartar

CEREP, 1 rue du Pr. Calmette, 59 019 Lille Cédex, France and  
Chimie des Biomolécules, URA CNRS 1309, Institut Pasteur de Lille,  
Faculté de Pharmacie, 1 rue du Pr. Calmette,  
59 019 Lille Cédex, France

The Journal of  
**Organic  
Chemistry**<sup>®</sup>

Reprinted from  
Volume 62, Number 8, Pages 2594–2603



# Versatile Acylation of *N*-Nucleophiles Using a New Polymer-Supported 1-Hydroxybenzotriazole Derivative

Iuliana E. Pop,<sup>†</sup> Benoît P. Déprez,<sup>†,‡</sup> and André L. Tartar\*<sup>‡</sup>

CEREP, 1 rue du Pr. Calmette, 59 019 Lille Cédex, France and Chimie des Biomolécules, URA CNRS 1309, Institut Pasteur de Lille, Faculté de Pharmacie, 1 rue du Pr. Calmette, 59 019 Lille Cédex, France

Received September 13, 1996<sup>§</sup>

The synthesis of a new polymer-supported coupling reagent derived from 1-hydroxybenzotriazole is described. An aminomethylated polystyrene was functionalized by reaction with 3-nitro-4-chlorobenzenesulfonyl chloride (2) followed by treatment with hydrazine hydrate, to give the polymeric *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (4). The polymeric reagent 4 was shown to be highly efficient for the synthesis of amides. The efficiency of 4 could be attributed to its high acidity, conferred by the sulfonyl moiety. The procedure for amide synthesis involves the formation of an activated ester on the derivatized polymer followed, in a second step, by treatment with an amine to generate the amide in solution. Simple filtration allows the separation of the product from the polymeric reagent which in this case plays the role of leaving group. An optimization study of this two-step procedure was performed. As amides are obtained in solution free of reaction byproducts, this method can be used in an automated procedure to recover them directly into a 96 well plate, ready to be used in high throughput screening assays. Thus 4 was shown to be particularly suitable for the high throughput parallel synthesis of amides libraries.

## Introduction

Recent advances in molecular biology and automation have led to a dramatic increase in the throughput of the biological screening. Consequently, the rapid generation of large arrays of chemically diverse compounds has become a major tool in the search for novel lead structures. Large numbers of oligomeric compounds have been synthesized rapidly by repetitive coupling reactions, using both solid phase techniques and automated synthesizers which were developed for peptide and oligonucleotide synthesis during the past three decades. The limited number of building blocks from which they stem limits their chemical diversity. In this context, the synthesis of diverse small organic molecules has received much attention during the recent years.

One of the major difficulties encountered during the synthesis of large chemical libraries is conciliating the need for highly diverse arrays of compounds with their heterogeneous behavior either from physical or from chemical points of view. Organic synthesis by solid phase methods is therefore emerging as a powerful tool for clean generation of structurally diverse small organic molecules. Tethering starting materials or reagents to an insoluble polymer allows great simplifications in all handling steps, rendering the automation process readily feasible. Heterocycles as benzodiazepines, diketopiperazines, and hydantoins were synthesized on insoluble polymers.<sup>1-3</sup> A wide range of organic reactions such as Mitsunobu,<sup>4</sup> Still,<sup>5,6</sup> Heck,<sup>7,8</sup> Horner-Emmons<sup>9</sup> have already been performed on solid phase. However, in-

soluble polymers can also be used not only as supports for the growing molecule but also as tethers for reagents or catalysts. In this case, unlike classical solid phase syntheses, the reagents remain attached to the insoluble matrix, while the desired product generated in solution is easily recovered by filtration. Reagents such as nitrophenol,<sup>10-13</sup> HOBt (1-hydroxybenzotriazole),<sup>14-16</sup> carbodiimides,<sup>17,18</sup> DMAP (4-(dimethylamino)pyridine)<sup>19</sup> or triphenylphosphine,<sup>20-22</sup> which have been synthesized on polymeric beads, should meet a renewed interest for the synthesis of small organic molecules, especially for two- or three-step routes.

Taking into account that commercially available amines and carboxylic acids give access to a wide structural diversity space, our aim was to design a reaction scheme

- (7) Yu, K.-L.; Deshpande, M. S.; Vyas, D. M. *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 8919.  
 (8) Hiroshige, M.; Hauske, J. R.; Zhou, P. *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 4567.  
 (9) Chen, C.; Ahlberg Randall, L. A.; Miller, R. B.; Jones, A. D.; Kurth, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 2661.  
 (10) Fridkin, M.; Patchornic, A.; Katchalski, E. *J. Am. Chem. Soc.* 1965, 87, 4646.  
 (11) Fridkin, M.; Patchornic, A.; Katchalski, E. *J. Am. Chem. Soc.* 1966, 88, 3164.  
 (12) Kalir, R.; Fridkin, M.; Patchornic, A. *Eur. J. Biochem.* 1974, 42, 151.  
 (13) Fridkin, M.; Hazum, E.; Kalir, R.; Rotman, M.; Koch, Y. *J. Solid-Phase Biochem.* 1977, 2, 175.  
 (14) Kalir, R.; Warshawsky, A.; Fridkin, M.; Patchornic, A. *Eur. J. Biochem.* 1975, 59, 55.  
 (15) Mokotoff, M.; Patchornic, A. *Int. J. Pept. Protein Res.* 1983, 21, 145.  
 (16) Mokotoff, M.; Zhao, M.; Roth, S. M.; Slavosky, J. N.; Stalley, J. A. *J. Med. Chem.* 1990, 33, 354.  
 (17) Weinschenker, A.; Shen, C.-M. *Tetrahedron Lett.* 1972, 3281.  
 (18) Desai, M. C.; Stephens Straminello, L. M. *Tetrahedron Lett.* 1993, 34, 7685.  
 (19) Shai, Y.; Jacobson, K. A.; Patchornic, A. *J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 4249.  
 (20) McKenzie, W. M.; Sherrington, D. C. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*; John Wiley & Sons, Inc., 1982; Vol. 20.  
 (21) Harrison, C. R.; Hodge, P.; Hunt, B. J.; Khoshdel, E.; Richardson, G. *J. Org. Chem.* 1983, 48, 3721.  
 (22) Caputo, R.; Cassano, E.; Longobardo, L.; Mastroiani, D.; Palumbo, G. *Synthesis* 1995, 141.

<sup>†</sup> CEREP.

<sup>‡</sup> Institut Pasteur de Lille.

<sup>§</sup> Abstract published in *Advance ACS Abstracts*, March 1, 1997.

- (1) Bunin, B. A.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114, 10997.  
 (2) Hobbs DeWitt, S.; Kiely, J. S.; Stankovic, C. J.; Schroeder, M. C.; Reynolds Cody, D. M.; Pavia, M. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1993, 90, 6909.  
 (3) Hobbs DeWitt, S.; Schroeder, M. C.; Stankovic, C. J.; Strode, J. E.; Czarnic, A. W. *Drug Dev. Res.* 1994, 33, 116.  
 (4) Rano, T. A.; Chapman, K. T. *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 3789.  
 (5) Deshpande, M. S. *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 5613.  
 (6) Forman, F. W.; Sucholeiki, I. *J. Org. Chem.* 1995, 60, 523.

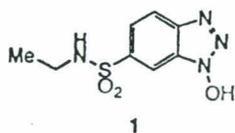


for the synthesis of large arrays of amides, easily implementable in a robotic system. The need for a clean activation procedure led us first to focus on the use of the previously described polymeric carbodiimide.<sup>18</sup> No additional soluble reagent is needed when activating acids with this polymeric carbodiimide. Nevertheless, we encountered two major difficulties associated with this functionalized polymer. The described synthesis of this polymeric reagent lacks reproducibility and is not easily monitored, neither is the final reagent easily characterized.<sup>23</sup> Considering these difficulties, we decided to develop a procedure involving a soluble activating reagent and a polymeric nucleophile, likely to form reactive isolable esters with most of the carboxylic acids. Polymeric nitrophenol and 1-hydroxybenzotriazole (HOBT) were already used in peptide synthesis; however, the most successful for the amide bond creation was a HOBT-containing polymer.<sup>10-16</sup> HOBT is well known for its efficiency in coupling amino acids, improving reactions kinetics, and decreasing racemization. On these bases, our interest has been devoted to the synthesis of an improved polymer-supported HOBT.

The previously described<sup>14</sup> functionalization of polystyrene beads via a Friedel-Crafts alkylation is rather delicate and moreover, is limited to aryl-containing polymers. Our aim was to design a more versatile anchoring scheme of the HOBT moiety, suitable for any kind of amino-functionalized polymer such as polyethylene oxide-grafted polystyrene, polymethacrylate, functionalized polyethylene, or polypropylene. In this paper we describe the synthesis and evaluation of a new polymer-supported HOBT derivative, and we explore the reactivity of this polymeric coupling reagent toward a variety of carboxylic acids and *N*-nucleophiles.

## Results and Discussion

Highly efficient HOBT-derived soluble coupling reagents have recently been reported.<sup>24-27</sup> The increased effectiveness of these novel coupling reagents was obtained by incorporating electron-withdrawing substituents on the benzotriazole ring (although, in the case of the 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (HOAt) an intramolecular base catalysis was also suspected). In this context, incorporating an electron-withdrawing substituent in the polymer-supported benzotriazole ring was expected to enhance its reactivity. Syntheses of several HOBT derivatives were already described.<sup>28</sup> Among them, *N*-ethyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (1) was selected for the derivatization of an aminofunctionalized polymer. Indeed, a polymer-supported derivative



of 1 is not only easy to obtain from commercially available

(23) The synthesis and use of a polymer-bound carbodiimide cationic derivative, which seems to overcome these difficulties, was meanwhile reported.<sup>18</sup>

(24) Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 4397.

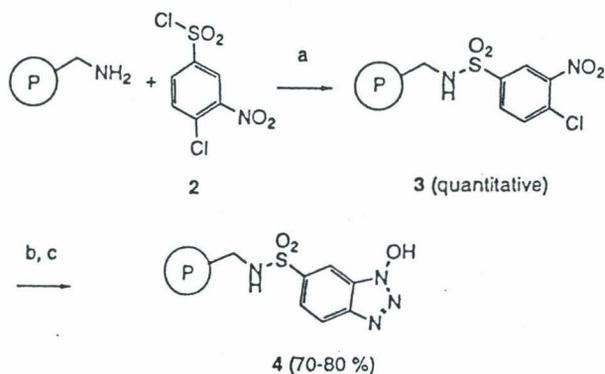
(25) Jensen, T.-H.; Olsen, C. A.; Holm, A. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 1257.

(26) Carpino, L. A.; Faham, A. -E.; Minor, C. A.; Albericio, F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1994, 201.

(27) Wijkmans, J. C. H. M.; Blok, F. A. A.; van der Marel, G. A.; van Boom, J. H.; Bloemhoff, W. *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 4643.

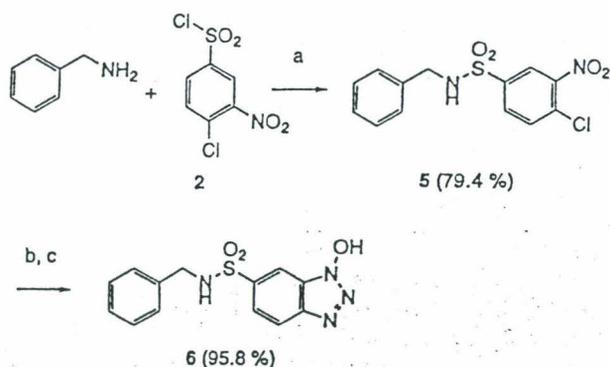
(28) König, W.; Geiger, R. *Chem. Ber.* 1970, 103, 788.

## Scheme 1<sup>a</sup>



<sup>a</sup> (a) Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 5 h; (b) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, EtOH, reflux, 5 h; (c) HCl, dioxane.

## Scheme 2<sup>a</sup>



<sup>a</sup> (a) Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 2.5 h; (b) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, EtOH, reflux, 5 h; (c) aqueous HCl, pH 0.9.

materials, but also allows the introduction of the required electron-withdrawing group. An aminomethylated divinylbenzene cross-linked polystyrene charged with 1.6 mmol of amino-groups/g was reacted with the sulfonyl chloride 2 at room temperature in the presence of Et<sub>3</sub>N to give the sulfonamide-derivatized polymer 3 (Scheme 1). The reaction went to completion within 5 h, as determined by a quantitative ninhydrin test.<sup>29</sup> Reacting 3 with hydrazine hydrate under reflux of ethanol and subsequent treatment with a dioxane solution of hydrochloric acid afforded the polymer-bound 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (4) under neutral form. The loading of 4 was determined by acetylation of the hydroxyl groups on the polymer followed by aminolysis of the polymer-bound activated ester with benzylamine and subsequent quantification of the unreacted amine in the reaction mixture. A substitution level of 0.8–1 mmol of hydroxyl-groups/g of polymer was found.

In order to evaluate its properties, the soluble *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (6) was also synthesized (Scheme 2). p*K*<sub>a</sub> and <sup>1</sup>H NMR studies were performed to compare the acidities of the following compounds: 6, HOBT (7), HOSu (1-hydroxysuccinimide) (8), and 2-nitrophenol (9). The p*K*<sub>a</sub> values found for 7–9 were in good agreement with the literature.<sup>30</sup> Both the p*K*<sub>a</sub> and chemical shifts of the hydroxyl proton indicated a higher acidity of 6 (Table 1). This is explained by the strong electron-withdrawing effect induced by the sulfonyl moiety. The acidity of 6 (p*K*<sub>a</sub> = 3.59) is close to that

(29) Sarin, V. K.; Kent, B. H.; Tam, J. P.; Merrifield, R. B. *Anal. Biochem.* 1981, 117, 147.



Table 1.  $pK_a$  Values and Chemical Shift of the Acid Proton for 6–9

compd	$pK_a$	chemical shift (ppm) <sup>a</sup>
6	3.59	14.0
7	4.64	13.6
8	6.00	11.0
9	7.15	10.6

<sup>a</sup> <sup>1</sup>H NMR spectra were performed in C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>.

of HOAt ( $pK_a = 3.47$ ), which is known to be a highly efficient coupling reagent in the peptide synthesis. According to the general assumption that the electrophilicity of an active ester is related to the acidity of the parent alcohol,<sup>30</sup> these findings should indicate a great effectiveness of 4 in promoting amide bond formation.

**General Optimization of Amides Synthesis Using the Polymeric Reagent 4.** Our aim was to adapt the use of 4 to the coupling of the largest array of carboxylic acids and *N*-nucleophiles, in the view of its further use in parallel combinatorial synthesis. Synthesis of amides using 4 requires a two-step procedure: first, the esterification of the polymer-bound HOBt with the carboxylic acid by the mean of a soluble activating reagent. After removal of the reagent in excess, the next step involves the reaction of the *N*-nucleophile and subsequent release of the acylated product in a soluble form (Scheme 3). Systematic optimization of both steps was performed. DMF was found to be the solvent of choice for the synthesis, according to the solubility studies performed on a representative cross section of a large set of compounds (about 700 carboxylic acids and 700 amines): 86% of the amines were soluble at 0.1 M concentration in DMF while only 55% were soluble at the same concentration in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, and 84% of the carboxylic acids were soluble at 0.75 M concentration in DMF. Moreover, DMF is easily handled in an automated process, due to its high boiling point and viscosity.

**A. Activation Step.** The soluble activating reagent, activating time, and excess of reagents were studied to define a general procedure to activate carboxylic acids via the polymer-bound reagent 4.

**1. Choice of the Soluble Activating Reagent.** The use of activating reagents, such as HBTU (2-(1*H*-benzotriazole-1-yl)tetramethyluronium hexafluorophosphate) or BOP (benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate), that generate nucleophilic species likely to compete with the nucleophilic polymer was avoided. Preliminary studies were performed using DCC (*N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide), DIC (*N,N'*-diisopropylcarbodiimide), and PyBrOP (bromotrispyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate). Difficulties were encountered when using DCC because of the poorly soluble dicyclohexylurea generated during the activation. Thus, the separation of the polymer from the reagents in excess and byproducts becomes difficult and

requires large volumes of solvents. This problem could be only partially overcome using DIC (data not shown). On the contrary, PyBrOP is highly soluble, as well as the byproducts generated during the activation. PyBrOP was shown to be highly effective for difficult couplings in the field of peptide synthesis.<sup>31,32</sup> It was thus selected and submitted to further experimentation to determine the most suitable activating conditions.

**2. Optimization of the Activation Step Using PyBrOP as Soluble Activating Reagent.** To this aim, three acids were used: 5-methyl-2-nitrobenzoic acid (a), 2-(*p*-toluoyl)benzoic acid (b), and diphenylacetic acid (c). The efficiency of the activation was determined in each case by the amount of amide formed upon reaction of the resulting polymer-bound species with benzylamine. Single and double activation procedures were tested, as well as different amounts of acid with respect to the polymer-bound reagent 4 (Table 2). The best results were obtained when using a double activation procedure (entries 3, 5, and 8 in Table 2). Attempts to improve the activation by increasing the activation time were unsatisfactory (entries 1, 3, and 5 in Table 3). The reaction time was optimized to allow the reaction of less reactive species and to minimize the decomposition of the polymer-bound esters.<sup>33</sup> The conditions for an effective activation when using PyBrOP as soluble activating reagent were found to be: 2 × 3 h activating time using 3 equiv of acid for each activation step.

**B. Coupling Step. Optimization of the Coupling Time.** The reaction time of the polymer-bound esters with *N*-nucleophiles was then investigated. In initial experiments, reactions of benzylamine and 2-aminobenzothiazole with the polymer-bound active ester of 5-methyl-2-nitrobenzoic acid (10a) were used to determine the optimum coupling time. While benzylamine was quantitatively acylated within 1 h, used under the same conditions, 2-aminobenzothiazole reacted more slowly, a maximal conversion of 68% being obtained after 25 h. In the meantime, 20% of the activated ester was decomposed, as indicated by the presence of free carboxylic derivative in the solution (Table 4). The optimum coupling time was found to be 20 h. Further increase of the coupling time was not likely to improve coupling yields, as we have previously shown<sup>33</sup> that in the absence of nucleophile, 62% of the polymer-bound ester is hydrolyzed in DMF solution during that period of time.

**C. Scope of the Method.** Commercially available carboxylic acids and *N*-nucleophiles (about 700 different structures in each group) were divided into several classes, according to criteria based on structural and reactivity parameters. Representative structures were chosen for each class and were tested under the conditions previously defined, to establish the range of applicability of this method to the synthesis of amides.

**1. Reactivity of Carboxylic Acids toward the Polymer-Bound Reagent 4.** The following compounds were chosen to investigate the reactivity of the different

(31) Frérot, E.; Coste, J.; Pantaloni, A.; Dufour, M.-N.; Jouin, P. *Tetrahedron* 1991, 47, 259.

(32) Coste, J.; Frérot, E.; Jouin, P. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 1967.

(33) Stability studies of the polymer-bound activated ester 10a showed that, in suspension in neat DMF and in the presence of *N*-ethyl-diisopropylamine, 62% of 10a is decomposed during 25 h to give the starting polymer 4 and the free carboxylic acid in solution. Stored under appropriate conditions, the activated esters of 4 were quite stable. After storage in dry form for two months at +4 °C and under nitrogen, 10a still gave quantitative yield when reacted with phenethylamine.

(30) Koppel, I.; Koppel, J.; Leito, I.; Pihl, V.; Grehn, L.; Ragnarsson, U. *J. Chem. Res. (S)* 1993, 446.

1917

The following is a list of the members of the American Medical Association for the year 1917. The list is arranged in alphabetical order by state and territory. The names are given in full, including the degree, if any, and the city and state. The list is divided into sections for each state and territory, with the names of the members of each section listed in alphabetical order. The list is as follows:

**Alabama**  
 Dr. J. H. [Name], [City], Ala.  
 Dr. [Name], [City], Ala.

**Arizona**  
 Dr. [Name], [City], Ariz.

**Arkansas**  
 Dr. [Name], [City], Ark.

**California**  
 Dr. [Name], [City], Calif.  
 Dr. [Name], [City], Calif.

**Colorado**  
 Dr. [Name], [City], Colo.

**Connecticut**  
 Dr. [Name], [City], Conn.

**Delaware**  
 Dr. [Name], [City], Del.

**District of Columbia**  
 Dr. [Name], [City], D.C.

**Florida**  
 Dr. [Name], [City], Fla.

**Georgia**  
 Dr. [Name], [City], Ga.

**Idaho**  
 Dr. [Name], [City], Idaho.

**Illinois**  
 Dr. [Name], [City], Ill.  
 Dr. [Name], [City], Ill.

**Indiana**  
 Dr. [Name], [City], Ind.

**Iowa**  
 Dr. [Name], [City], Iowa.

**Kansas**  
 Dr. [Name], [City], Kan.

**Kentucky**  
 Dr. [Name], [City], Ky.

**Louisiana**  
 Dr. [Name], [City], La.

**Maine**  
 Dr. [Name], [City], Me.

**Maryland**  
 Dr. [Name], [City], Md.

**Massachusetts**  
 Dr. [Name], [City], Mass.

**Michigan**  
 Dr. [Name], [City], Mich.

**Minnesota**  
 Dr. [Name], [City], Minn.

**Mississippi**  
 Dr. [Name], [City], Miss.

**Missouri**  
 Dr. [Name], [City], Mo.

**Montana**  
 Dr. [Name], [City], Mont.

**Nebraska**  
 Dr. [Name], [City], Neb.

**Nevada**  
 Dr. [Name], [City], Nev.

**New Hampshire**  
 Dr. [Name], [City], N.H.

**New Jersey**  
 Dr. [Name], [City], N.J.

**New Mexico**  
 Dr. [Name], [City], N.M.

**New York**  
 Dr. [Name], [City], N.Y.  
 Dr. [Name], [City], N.Y.

**North Carolina**  
 Dr. [Name], [City], N.C.

**North Dakota**  
 Dr. [Name], [City], N.D.

**Ohio**  
 Dr. [Name], [City], Ohio.

**Oklahoma**  
 Dr. [Name], [City], Okla.

**Oregon**  
 Dr. [Name], [City], Ore.

**Pennsylvania**  
 Dr. [Name], [City], Pa.

**Rhode Island**  
 Dr. [Name], [City], R.I.

**South Carolina**  
 Dr. [Name], [City], S.C.

**South Dakota**  
 Dr. [Name], [City], S.D.

**Tennessee**  
 Dr. [Name], [City], Tenn.

**Texas**  
 Dr. [Name], [City], Tex.

**Utah**  
 Dr. [Name], [City], Utah.

**Vermont**  
 Dr. [Name], [City], Vt.

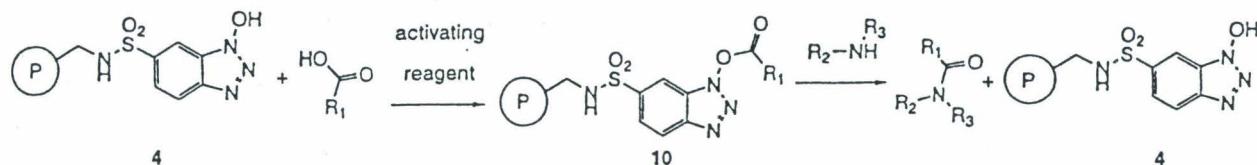
**Virginia**  
 Dr. [Name], [City], Va.

**Washington**  
 Dr. [Name], [City], Wash.

**West Virginia**  
 Dr. [Name], [City], W. Va.

**Wisconsin**  
 Dr. [Name], [City], Wis.

**Wyoming**  
 Dr. [Name], [City], Wyo.

Scheme 3<sup>-</sup>Table 2. Influence of the Quantity of Acid on the Activation Step<sup>a</sup>

entry	compd	R <sub>1</sub>	equiv of acid	activating time (h)	yield (%)
1	11		2	3	40
2	11		2+2	3+3	47
3	11		3+3	3+3	84
4	12		3+1	3+3	80
5	12		3+3	3+3	87
6	13		2	3	18
7	13		2+2	3+3	27
8	13		3+3	3+3	50

<sup>a</sup> For each activation step, 0.27 M DMF solutions of acids and an equimolar quantity of PyBrOP with respect to the acid were used. For the coupling step, 0.16 M DMF solutions of benzylamine were used, in equimolar quantity with respect to the polymer-bound ester.

Table 3. Influence of the Reaction Time on the Activation Step<sup>a</sup>

entry	compd	equiv of acid	activating time (h)	yield (%)
1	11	3 + 3	5 + 15	33
2	11	3 + 3	3 + 3	84
3	12	3 + 3	5 + 15	73
4	12	3 + 3	3 + 3	87
5	13	3 + 3	5 + 15	13
6	13	3 + 3	3 + 3	50

<sup>a</sup> For each activation step, 0.27 M DMF solutions of acids and an equimolar quantity of PyBrOP with respect to the acid were used. For the coupling step, 0.16 M DMF solutions of benzylamine were used, in equimolar quantity with respect to the polymer-bound ester.

classes of carboxylic acids toward the reagent 4: the benzoic-type acids **a**, **b**, and **d**, possessing different substituents on the aromatic ring; acids **e** and **f**, for which the carboxyl moiety is linked to a hindered aliphatic carbon; acid **g**, possessing a nucleophilic group, and acids **c** and **h**, containing an acidic  $\alpha$  proton (Table 5). Their reactivity was estimated by quantifying the amount of amide formed upon reaction of the corresponding polymer-bound esters with benzylamine. Very good yields in

Table 4. Conversion and Decomposition of the Polymer-Bound Ester 10a during Coupling With 2-Aminobenzothiazole<sup>a</sup>

time (min)	5	10	20	30	60	90	1500	2940
compd 14 (%) <sup>b</sup>	7.6	16.7	25.2	32.5	44.9	45.9	68.3	68.0
acid (%) <sup>c</sup>	1.3	1.6	2.0	2.6	4.0	4.8	17.7	19.5

<sup>a</sup> 10a was obtained under the optimized activating conditions previously defined. For the coupling step, 0.16 M DMF solution of 2-aminobenzothiazole, in equimolar quantity with respect to 10a was used. <sup>b</sup> Yield was determined by HPLC using calibration curves. <sup>c</sup> Free acid found in the solution due to the decomposition of 10a, determined by HPLC using calibration curves.

isolated amide were obtained when reacting benzoic type acids **a**, **b**, and **d**, as well as sterically hindered acids **e** and **f** (entries 1, 2, and 4–6 in Table 5). Moderate yields were obtained when activating acids **c** and **g**, while no reaction took place for acid **h** (entries 3, 7, and 8 in Table 5). For the polymer-bound esters of acids **c** and **h**, under the basic conditions of the activation, the acidity of the  $\alpha$  proton is likely to be responsible for the formation of a ketene, in which the polymer plays the role of leaving group. For the nicotinic acid **g**, the nucleophilic pyridine ring is likely to be acylated, leading to the cleavage of the activated ester bond. In this latter case, the activation could be improved to 55% by reducing the activation time at 1 h (when activating 2 × 3 h, only 37% yield in isolated amide was obtained). It is noteworthy that carboxylic acids showing particular reactivities as **c**, **g**, and **h**, which should be eliminated when synthesizing a library of amides by this method, represent about 25% of the commercially available carboxylic acids. Nevertheless, the large number of the commercially available carboxylic acids tolerated by this chemistry would allow the synthesis of a very large numbered library of amides.

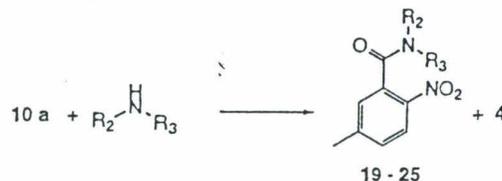
**2. Reactivity of *N*-Nucleophiles toward the Polymer-Bound Activated Esters 10.** In the next step, compounds belonging to different classes of *N*-nucleophiles were tested to determine their reactivity toward the polymer-bound esters. *N*-nucleophiles were reacted with the polymer-bound ester 10a. Reactions were followed by HPLC, and conversions were determined using calibration curves (Table 6). Good conversions and excellent purities were obtained when coupling phenethylamine, *N,O*-dimethylhydroxylamine, 2-amino-5-methyl-1,3,4-thiadiazole, ethyl 4-aminobenzoate, benzophenonehydrazone, and 5-nitroindazole (entries 1–6 in Table 6). Only traces of free acid generated by decomposition of the polymer-bound ester or nonreacted nucleophile were in some cases detected in the reaction mixture. Interestingly, coupling of 5-nitroindazole (entry 6 in Table 6) required the presence of a base, due to the fact that in this particular case the reactive species is



Table 5. Synthesis of Amides Using Carboxylic Acids a-h and Benzylamine<sup>a</sup>

entry	1	2	3	4	5	6	7	8
acid								
compd	11	12	13	15	16	17	18	-
yield (%)	84	87	50	85	81	86	55 <sup>b</sup>	na <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Syntheses were performed under the previously defined conditions (unless otherwise noted). <sup>b</sup> Activation was performed under the following conditions: 1 × 1 hours using 3 × 3 equiv of acid. <sup>c</sup> No activation took place.

Table 6. Reaction of Polymer-Bound Ester 10a with Different *N*-Nucleophiles

entry	1	2	3	4	5	6	7	8	9
R <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H		H	H	H
R <sub>3</sub>									
compd	19	20	21	22	23	24	25	-	-
conversion (%) <sup>b</sup>	82	85	91	44	69	80 <sup>c</sup>	17	nr <sup>d</sup>	nr

<sup>a</sup> Reactions were performed under the previously defined conditions. 0.4 M solutions of acids and 0.1 M solutions of amines in DMF were used.

<sup>b</sup> Conversions were determined by HPLC using calibration curves. <sup>c</sup> No reaction occurred when coupling was performed in the absence of base.

80% conversion was obtained when 1 equiv of DIEA was added to the reaction mixture during coupling. <sup>d</sup> No reaction.

the anion formed by deprotonation. 2-Aminopyridine showed only a poor reactivity (entry 7 in Table 6), while 4-nitroaniline and 2-aminopyrimidine did not react with 10a (entries 8 and 9 in Table 6). Thus highly deactivated anilines, 2-aminopyrimidines, or 2-aminopyridines should be eliminated as being too poor nucleophiles to generate amides by this method. Results in Table 6 show that a large variety of *N*-nucleophiles: primary and secondary amines, moderately deactivated anilines, as well as other nucleophiles such as hydrazones can be successfully used for the synthesis of amides, good to excellent purities of the crude products being obtained.

A small library of amides was synthesized under the optimized conditions (Table 7). In most cases good yields in isolated products were obtained. An excellent selectivity for the amide formation was found when coupling an amino alcohol (entries 6 and 10 in Table 7). No traces of ester or polymeric species were found in these cases in the reaction mixture, the amide being the sole product. Satisfactory yields were also obtained when coupling some less usual *N*-nucleophiles (entries 1–4 and 9 in Table 7), which introduce a larger diversity into the amide library.

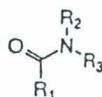
## Conclusion

A novel HOBt derivative-tethered polymer has been synthesized. This polymer was designed for the rapid and clean synthesis of large combinatorial arrays of amides and related compounds. Optimization studies of this two-step synthesis, carried out on a wide variety of carboxylic acids and *N*-nucleophiles, allowed the choice of standard reaction conditions. Amides generated in solution showed in most cases good to excellent purities. This should allow their direct use in the biological screenings, without purification. The chemistry described in this work should be of broad utility in the multiple simultaneous synthesis of amide libraries in a soluble form.

## Experimental Section

**General Methods.** All commercial reagents and solvents were used without further purification. The aminomethylated divinylbenzene cross-linked polystyrene used to synthesize 4 was obtained as described,<sup>18</sup> starting from a Merrifield resin (1.7 mmol/g) purchased from Fluka. The PyBrOP was purchased from Nova Biochem. Melting points are uncorrected.



Table 7. Synthesis of Amides Using Various Carboxylic Acids and *N*-Nucleophiles

entry	amide	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	yield (%)	entry	amide	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	yield (%)
1	14		H		55	10	31		H		79
2	21		H		70	11	32		H		79
3	23		H		70	12	33		H		72
4	24		H		77	13	34		H		70
5	26		H		82	14	35		H		51
6	27		H		74	15	36		Et		85
7	28		H		64	16	37		H		65
8	29		H		50	17	38		H		65
9	30		H		50						

HPLC analyses were performed using a 250 × 4 mm<sup>2</sup> reversed-phase Vydac C18 5 μm column. A gradient starting from 100% H<sub>2</sub>O/0.05% TFA and going to 100% H<sub>2</sub>O/80% CH<sub>3</sub>CN/0.0425% TFA within 30 min at 1 mL/min flow rate was used. Elemental analyses were determined by Service Central d'Analyse, Vernaison, France.

**Polymer-Bound 1-Hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (4).** 4-Chloro-3-nitrobenzenesulfonyl chloride (2) (59.0 g, 230.7 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (800 mL) was added to an aminomethylated divinylbenzene cross-linked polystyrene (47.2 g, 76.9 mmol) preswollen with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 mL). Et<sub>3</sub>N was added (32 mL, 230.7 mmol), and the reaction mixture was gently stirred at room temperature. After 5 h the resin was filtered, washed with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1500 mL), DMF (1000 mL), DMF/water (1/1, V/V, 1000 mL), water (1500 mL), 95% EtOH (1000 mL), and diethyl ether (1000 mL) and dried at room temperature to give the polymer 3, for which a coupling level of 99% of the amino groups was determined using a quantitative ninhydrin procedure.<sup>23</sup> Polymer 3 (67.2 g) was then treated with hydrazine hydrate (134 mL) in 95% EtOH (200 mL). The reaction mixture was gently stirred under reflux. After 5 h, the resin was washed with EtOH (1500 mL), water (1500 mL), DMF/water (1/1, V/V, 500 mL), DMF (500 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 mL), 1% HCl in dioxane (1000 mL), dioxane (500 mL), and diethyl ether (500 mL) and was dried at room temperature to give 59.6 g (95.6% yield with respect to the starting aminomethylated resin) of polymer 4.

**Substitution Level of Polymer 4.** Samples of polymer 4 were introduced into six tubes (30 mg, 37.0 μmol theoretical, in each tube) and suspended into 0.2 mL of 2 M acetic anhydride in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. After shaking for 2.5 h at room temperature, the six samples were washed with DMF (20 mL) and diethyl ether (8 mL) and dried under vacuum at room

temperature. The acetylated resins were reacted with different amounts of 0.195 M benzylamine in DMF (19.5 μmol, 29.25 μmol, 33.15 μmol, 35.1 μmol, 46.8 μmol, and 58.5 μmol). After shaking at room temperature for 4 h, the polymeric beads were filtered, and the solutions were diluted with DMF. The amount of unreacted amine was determined for each reaction mixture using a quantitative ninhydrin test.

***N*-Benzyl-4-chloro-3-nitrobenzenesulfonamide (5).** A mixture of benzylamine (5.45 mL, 50 mmol) and Et<sub>3</sub>N (6.95 mL, 50 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (300 mL) was added dropwise to a solution of 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonyl chloride (12.8 g, 50 mmol) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL). The mixture was stirred at room temperature for 2.5 h. The solvent was removed by rotary evaporation, leaving a yellow powder which was taken up in EtOAc (300 mL), washed with water (3 × 200 mL), and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and the solvent was removed under reduced pressure to give 12.95 g (79.4%) of crude *N*-benzyl-4-chloro-3-nitrobenzenesulfonamide (5): mp 90 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm) *t*<sub>R</sub> = 29.7 min; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.61–8.67 (t, *J* = 6.26 Hz, NH, 1H), 8.30 (d, *J* = 2.0 Hz, ArH, 1 H), 8.01–7.97 (dd, *J* = 2.0, 8.46 Hz, ArH, 1 H), 7.95–7.92 (d, *J* = 8.45 Hz, ArH, 1 H), 7.27–7.19 (m, ArH, 5 H), 4.12 (d, *J* = 6.24 Hz, CH<sub>2</sub>, 2 H); <sup>13</sup>C NMR δ 147.9, 141.9, 137.70, 133.8, 132.2, 129.9, 129.07, 128.7, 128.1, 124.9, 47.1.

***N*-Benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (6).** To a solution of 5 (12 g, 36.7 mmol) in 95% EtOH (400 mL) was added hydrazine hydrate (80 mL), and the mixture was stirred under reflux. After 5 h, the solvent was removed by rotary evaporation to give a dark yellow oil which was taken up in water (500 mL) and acidified with aqueous HCl (pH 0.9). The crude product precipitated and was separated by filtration and dried under vacuum to give 10.7 g (95.8%) of crude 6. Upon crystallization from EtOH (113 mL)/water (100 mL), the



product was obtained as pale yellow crystals (9.2 g, 86.8% yield): mp 200–205 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 22.3 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  14.12 (s, OH, 1 H), 8.42 (t,  $J$  = 6.3 Hz, NH, 1 H), 8.20–8.17 (dd,  $J$  = 8.8, 0.5 Hz, ArH, 1 H), 8.09 (m, ArH, 1 H), 7.78–7.75 (dd,  $J$  = 1.6, 8.8 Hz, ArH, 1 H), 7.25–7.14 (m, ArH, 5 H), 4.06 (d,  $J$  = 6.3 Hz, CH<sub>2</sub>, 2 H);  $^{13}\text{C NMR}$   $\delta$  144.6, 140.54, 138.1, 129.0, 128.5, 127.9, 127.80, 122.9, 121.5, 110.5, 47.1; TOF-MS  $m/z$  304.5 ( $\text{M}^+$ ). Anal. Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S: C, 51.31; H, 3.95; N, 18.42; O, 15.79; S, 10.53. Found: C, 50.87; H, 3.91; N, 18.10; O, 15.59; S, 10.71.

**pK<sub>a</sub> Measurements for Compounds 6, 7, 8, and 9.** 2 mM hydroalcoholic solutions (9% MeOH in water) of 6–9 were prepared. These solutions (15 mL) were titrated with aqueous NaOH (2 mM), and the pH was followed using a 3 M KCl/AgCl electrode. pK<sub>a</sub> values were determined from the titration plots.

**General Procedure for the Preparation of Polymer-Bound Activated Esters 10.** One equivalent of PyBrOP and two equivalents of diisopropylethylamine with respect to the acid were used. The acid was taken up in a DMF solution of PyBrOP, and diisopropylethylamine was added next. The resin 4, preswollen with DMF, was reacted with this mixture at room temperature for 3 h (unless otherwise noted). After the first activation step the resin was washed with DMF (three times). The second activation step was performed under the same conditions as the first one (unless otherwise noted), and the resin was washed with DMF (five times).

**General Procedure for the Preparation of Compounds 11–38.** One equivalent of *N*-nucleophile with respect to the resin 4 was generally used. The amine was taken up in DMF, and diisopropylethylamine was added to this solution if necessary. The polymer-bound activated ester was reacted with this mixture at room temperature. After 20 h, the supernatant was separated from the resin by filtration. The polymeric beads were washed with DMF (three times), the washing solutions were recovered and combined with the supernatant previously recovered, and the solvent was removed under vacuum. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol, and the solution was frozen and lyophilized to give the crude products (unless otherwise noted).

***N*-Benzyl-5-methyl-2-nitrobenzamide (11).** By the general procedure, the reaction of 5-methyl-2-nitrobenzoic acid (a) (0.087 g, 0.48 mmol) and PyBrOP (0.224 g, 0.48 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.223 mL, 0.96 mmol) in DMF (1.5 mL) with the resin 4 (0.2 g, 0.16 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with benzylamine (17  $\mu\text{L}$ , 0.16 mmol) in DMF (1 mL) at room temperature. The product was recovered by the general procedure to give 36.3 mg (84%) of crude 11: mp 156 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 20.5 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.15 (t,  $J$  = 5.80 Hz, NH, 1 H), 7.96 (d,  $J$  = 8.24 Hz, ArH, 1 H), 7.50–7.46 (m, ArH, 2 H), 7.37 (m, ArH, 4 H), 7.29–7.25 (m, ArH, 1 H), 4.46 (d,  $J$  = 5.95 Hz, CH<sub>2</sub>, 2 H), 2.44 (s, CH<sub>3</sub>, 3 H); MS(Cl)  $m/z$  271 ( $\text{MH}^+$ ), 165, 106, 91. Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: C, 66.66; H, 5.18; N, 10.37. Found: C, 66.66; H, 5.00; N, 10.18.

***N*-Benzyl-2-(*p*-toluoyl)benzamide (12).** By the general procedure, the reaction of 2-(*p*-toluoyl)benzoic acid (b) (0.115 g, 0.48 mmol) and PyBrOP (0.224 g, 0.48 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.223 mL, 0.96 mmol) in DMF (1.5 mL) with the resin 4 (0.2 g, 0.16 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with benzylamine (17  $\mu\text{L}$ , 0.16 mmol) in DMF (1 mL). The product was recovered by the general procedure to give 46.1 mg (87%) of crude 12: mp 152 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 25.3 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.74–7.71 (m, ArH, 1 H), 7.56–7.49 (m, ArH, 2 H), 7.27–7.07 (m, ArH, NH, 1 H), 4.49 (d,  $J$  = 15.47 Hz, CH<sub>2</sub>, 1 H), 4.18 (d,  $J$  = 15.47 Hz, CH<sub>2</sub>, 1 H), 2.24 (s, CH<sub>3</sub>, 3 H); MS(Cl)  $m/z$  330 ( $\text{MH}^+$ ), 223, 106, 91.

***N*-Benzyl-diphenylacetamide (13).** By the general procedure, the reaction of diphenylacetic acid (c) (0.101 g, 0.48 mmol) and PyBrOP (0.224 g, 0.48 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.223 mL, 0.96 mmol) in DMF (1.5 mL) with the resin 4 (0.2 g, 0.16 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with benzylamine (17.5  $\mu\text{L}$ , 0.16 mmol) in DMF (1 mL). The product was recovered by

the general procedure to give 24.1 mg (50%) of crude 13: mp 125 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 30.5 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.78 (t,  $J$  = 5.80 Hz, NH, 1 H), 7.35–7.19 (m, ArH, 15 H), 5.02 (s, CH, 1 H), 4.31 (d,  $J$  = 5.81 Hz, CH<sub>2</sub>, 2 H); MS(EI)  $m/z$  301 ( $\text{M}^+$ ), 167, 91.

**Preparation of *N*-(2-Benzothiazolyl)-5-methyl-2-nitrobenzamide (14).** By the general procedure, the reaction of 5-methyl-2-nitrobenzoic acid (a) (0.652 g, 3.6 mmol) and PyBrOP (1.678 g, 3.6 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (1.255 mL, 7.2 mmol) in DMF (5 mL) with the resin 4 (1.5 g, 1.2 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with 2-aminobenzothiazole (0.162 g, 1.08 mmol) and diisopropylethylamine (0.376 mL, 1.08 mmol) in DMF (5 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in EtOAc (250 mL), the solution was washed with 0.1 M aqueous NaHCO<sub>3</sub> (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), the solvent was removed by rotary evaporation, and the residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (10 mL), frozen, and lyophilized to give 0.183 g (54%) of crude 14: mp 205–210 °C (dec); C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 28.9 min;  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMF- $d_7$ )  $\delta$  8.36 (d,  $J$  = 8.45 Hz, ArH, 1 H), 8.27 (d,  $J$  = 7.60 Hz, ArH, 1 H), 7.98 (d,  $J$  = 8.03 Hz, ArH, 1 H), 7.96 (d,  $J$  = 1.04 Hz, ArH, 1 H), 7.88 (dd,  $J$  = 8.44, 1.06 Hz, ArH, 1 H), 7.68 (td,  $J$  = 7.66, 1.16 Hz, ArH, 1 H), 7.58 (td,  $J$  = 7.63, 1.02 Hz, ArH, 1 H), 2.74 (s, CH<sub>3</sub>, 3 H); MS(EI)  $m/z$  313 ( $\text{M}^+$ ), 267, 164, 149.

***N*-Benzyl-3-chlorobenzamide (15).** By the general procedure, the reaction of 3-chlorobenzoic acid (d) (0.279 g, 1.78 mmol) and PyBrOP (0.831 g, 1.78 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.622 mL, 3.56 mmol) in DMF (3.80 mL) with the resin 4 (0.7 g, 0.59 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with benzylamine (64.9  $\mu\text{L}$ , 0.59 mmol) in DMF (5.95 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions coming from the washings of the resin. This solution was concentrated by rotary evaporation. The residual solution was purified by preparative RP HPLC (column Vydac C18, 5  $\mu\text{m}$ , 500  $\times$  20 mm<sup>2</sup>), using as eluents water/0.050% TFA and aqueous acetonitrile (80%)/0.045% TFA (grad) at 4 mL/min flow rate and detecting at 254/280 nm. The pure fractions were combined, and the solvent was removed by rotary evaporation to give 0.124 g (85%) of 15: mp 89 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 27.7 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  9.18 (t,  $J$  = 5.83 Hz, NH, 1 H), 7.95 (t,  $J$  = 1.97, ArH, 1 H), 7.87 (dt,  $J$  = 1.38, 7.67, ArH, 1 H), 7.62 (ddd,  $J$  = 2.12, 7.99 Hz, ArH, 1 H), 7.52 (t,  $J$  = 7.83 Hz, ArH, 1 H), 7.38–7.32 (m, ArH, 4 H), 7.28–7.22 (m, ArH, 1 H), 4.50 (d,  $J$  = 5.98 Hz, CH<sub>2</sub>, 2 H); MS(EI)  $m/z$  245–247 ( $\text{M}^+$ ), 139–141, 111–113, 106, 91. Anal. Calcd for C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>NOCl: C, 67.88; H, 4.85; N, 5.66. Found: C, 67.69; H, 4.87; N, 5.77.

***N*-Benzyl-3-(4-chlorophenyl)-1-cyclopropanecarboxamide (16).** By the general procedure, the reaction of 3-(4-chlorophenyl)-1-cyclopropanecarboxylic acid (e) (94 mg, 0.48 mmol) and PyBrOP (0.224 g, 0.48 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.223 mL, 0.96 mmol) in DMF (1.5 mL) with the resin 4 (0.2 g, 0.16 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with benzylamine (17.5  $\mu\text{L}$ , 0.16 mmol) in DMF (1 mL). The product was recovered by the general procedure to give 37.2 mg (81%) of crude 16: mp 107 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 25.3 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>)  $\delta$  7.21–7.07 (m, ArH, 5 H), 7.05–7.00 (m, ArH, 2 H), 6.87–6.83 (m, ArH, 2 H), 5.40 (br s, NH, 1 H), 4.27 (d,  $J$  = 6.10 Hz, CH<sub>2</sub>, 2 H), 1.88–1.84 (m, CH<sub>2</sub>, 2 H), 0.81–0.77 (m, CH<sub>2</sub>, 2 H); MS(EI)  $m/z$  285–287 ( $\text{M}^+$ ), 194–196, 180–182, 151–153, 91.

***N*-Benzyl-2,2'-diphenylpropionamide (17).** By the general procedure, the reaction of 2,2'-diphenylpropionic acid (f) (0.156 g, 0.69 mmol) and PyBrOP (0.322 g, 0.69 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.241 mL, 1.38 mmol) in DMF (2 mL) with the resin 4 (0.4 g, 0.23 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with benzylamine (25  $\mu\text{L}$ , 0.23 mmol) in DMF (2 mL). The product was recovered by the general procedure to give 62.1 mg (86%) of crude 17. mp 95–97 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  =



32.1 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  7.93 (t,  $J = 5.96$  Hz, NH, 1 H), 7.33–7.15 (m, ArH, 15 H), 4.30 (d,  $J = 5.99$  Hz,  $\text{CH}_2$ , 2 H), 1.90 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H); MS(EI)  $m/z$  315 ( $\text{M}^+$ ), 181, 167, 103, 91, 77.

***N*-Benzylnicotinamide (18).** The reaction of nicotinic acid (g) (85 mg, 0.69 mmol) and PyBrOP (0.322 g, 0.69 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.241 mL, 1.38 mmol) in DMF (2 mL) with the resin 4 (0.4 g, 0.23 mmol) twice for 1 h each time gave the polymer-bound activated ester which was reacted with benzylamine (25  $\mu\text{L}$ , 0.23 mmol) in DMF (2 mL). The product was recovered by the general procedure to give 29.4 mg (60%) of crude 18 which was purified by preparative TLC (MN-Kieselgel G/UV<sub>254</sub> glass plate; eluent:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$  9/1/0.1/0.05) to give 20.5 mg of 18: mp 120–130 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R = 17.8$  min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMF-}d_7$ )  $\delta$  9.42 (br s, NH, 1 H), 9.38 (dd,  $J = 0.78$ , 2.30 Hz, ArH, 1 H), 8.93 (dd,  $J = 1.66$ , 4.81 Hz, ArH, 1 H), 8.54 (dt,  $J = 1.99$ , 7.94 Hz, ArH, 1 H), 7.75–7.70 (m, ArH, 1 H), 7.62–7.45 (m, ArH, 5 H), 4.80 (d,  $J = 5.93$  Hz,  $\text{CH}_2$ , 2 H); MS(CI)  $m/z$  213 ( $\text{MH}^+$ ), 106, 91.

***N*-(2-(5-Methyl-1,3,4-thiadiazolyl))-5-methyl-2-nitrobenzamide (21).** By the general procedure, the reaction of 5-methyl-2-nitrobenzoic acid (a) (0.326 g, 1.8 mmol) and PyBrOP (0.839 g, 1.8 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.627 mL, 3.6 mmol) in DMF (2.5 mL) with the resin 4 (0.75 g, 0.6 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with 2-amino-5-methyl-1,3,4-thiadiazole (62 mg, 0.6 mmol) in DMF (2 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in EtOAc (150 mL), the solution was washed with 0.1 M aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), the solvent was removed by rotary evaporation, and the residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (10 mL), frozen, and lyophilized to give 0.106 g (71%) of crude 21: mp 226 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R = 22.9$  min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  13.03 (s, NH, 1 H), 8.12 (d,  $J = 8.34$  Hz, ArH, 1 H), 7.64 (s, ArH, 1 H), 7.60 (d,  $J = 8.42$  Hz, ArH, 1 H), 2.67 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H), 2.47 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H); MS(CI)  $m/z$  279 ( $\text{MH}^+$ ), 164.

**Benzophenone (5-Methyl-2-nitrobenzoyl)hydrazone (23).** By the general procedure, the reaction of 5-methyl-2-nitrobenzoic acid (a) (0.543 g, 3 mmol) and PyBrOP (1.398 g, 3 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (1.05 mL, 6 mmol) in DMF (4 mL) with the resin 4 (1.25 g, 0.8 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with benzophenone hydrazone (0.196 g, 1 mmol) in DMF (6 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in EtOAc (30 mL), the solution was washed with 0.1 M aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), and the solvent was removed by rotary evaporation to give 0.253 g (70%) of crude 23 which was crystallized from EtOAc (4 mL) to give 99 mg of pure 23 (2 isomers 2.13/1): mp 204–206 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R = 31.7$  min;  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  10.83 (s, NH, 1 H), 10.45 (s, NH, 1 H), 8.15 (d,  $J = 8.38$  Hz, ArH, 1 H), 8.02 (d,  $J = 8.38$ , ArH, 1 H), 7.60–7.25 (m, ArH, 11 H), 7.06 (d,  $J = 7.35$ , ArH, 1 H), 2.49 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H), 2.42 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H); MS(EI)  $m/z$  359 ( $\text{M}^+$ ), 195, 180, 165, 77. Anal. Calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$ : C, 70.19; H, 4.74; N, 11.70. Found: C, 69.83; H, 4.80; N, 11.88.

**1-(5-Methyl-2-nitrobenzoyl)-5-nitroindazole (24).** By the general procedure, the reaction of 5-methyl-2-nitrobenzoic acid (a) (0.652 g, 3.6 mmol) and PyBrOP (1.678 g, 3.6 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (1.255 mL, 7.2 mmol) in DMF (5 mL) with the resin 4 (1.5 g, 1.2 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with 5-nitroindazole (0.196 g, 1.2 mmol) and diisopropylethylamine (0.418 mL, 2.4 mmol) in DMF (3 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in EtOAc (250 mL), the solution was washed with 0.1 M aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (three times) and dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), and the solvent was removed by rotary evaporation.

The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (12 mL), frozen, and lyophilized to give 0.273 g (77%) of 24: mp 210–215 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R = 31.3$  min;  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMF-}d_7$ )  $\delta$  9.01 (d,  $J = 2.15$  Hz, ArH, 1 H), 8.76 (d,  $J = 9.10$  Hz, ArH, 1 H), 8.72 (s, ArH, 1 H), 8.68 (dd,  $J = 9.07$ , 2.21 Hz, ArH, 1 H), 8.35 (d,  $J = 8.48$  Hz, ArH, 1 H), 7.92 (d,  $J = 1.09$  Hz, ArH, 1 H), 7.80 (dd,  $J = 8.47$ , 1.14 Hz, ArH, 1 H), 2.76 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H); MS(CI)  $m/z$  327 ( $\text{MH}^+$ ), 280, 164.

***N*-Phenethyl-2,2'-diphenylpropionamide (26), *N*-(( $\beta$ )-*R*-Hydroxy-( $\alpha$ )-*S*-methylphenethyl)-5-methyl-2-nitrobenzamide (27), and 2,2'-Diphenylpropanilide (28).** By the general procedure, the reaction of 2,2'-diphenylpropionic acid (f) (1.627 g, 7.2 mmol) and PyBrOP (3.355 g, 7.2 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (2.51 mL, 14.4 mmol) in DMF (18 mL) with the resin 4 (3 g, 2.4 mmol) gave the polymer-bound activated ester. The resin beads were washed with DMF (three times) and with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (twice) and dried under vacuum. A portion of the polymer-bound activated ester (0.48 mmol) was reacted with phenethylamine (60.0  $\mu\text{L}$ , 0.48 mmol) in DMF (4.8 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , the solution was washed with 0.1 M aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), and the solvent was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (12 mL), frozen, and lyophilized to give 129.5 mg (82%) of 26. By the same procedure, reaction of the polymer-bound activated ester (0.48 mmol) with (1*R*,2*S*)-(-)-norephedrine (79.2 mg, 0.52 mmol) in DMF (4.8 mL) gave 128 mg (74%) of 27. By the same procedure, reaction of the polymer-bound activated ester (0.48 mmol) with aniline (45.5 mg, 0.48 mmol) in DMF (4.8 mL) gave 82.6 mg (64%) of 28. Data for compound 26: mp 63–66 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R = 32.3$  min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  7.32–7.10 (m, NH, ArH, 16 H), 3.35 (m,  $\text{CH}_2$ , 2 H), 2.74 (t,  $J = 7.19$  Hz,  $\text{CH}_2$ , 2 H), 1.83 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H); MS(EI)  $m/z$  329 ( $\text{M}^+$ ), 181, 167, 103, 91, 77. Data for compound 27: mp 60–62 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R = 29.9$  min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  7.31–7.23 (m, ArH, 11 H), 7.10 (m, ArH, 2 H), 6.94 (m, ArH, 2 H), 6.63 (d,  $J = 8.68$  Hz, NH, 1 H), 5.41 (d,  $J = 4.59$  Hz, OH, 1 H), 4.53 (m, CH, 1 H), 4.10 (m, CH, 1 H), 1.78 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H), 0.97 (d,  $J = 6.67$  Hz,  $\text{CH}_3$ , 3 H); MS(EI)  $m/z$  341 ( $\text{M}^+$ ), 253, 181, 165, 103, 77. Data for compound 28: mp 110 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R = 32.2$  min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9.19 (s, NH, 1 H), 7.62 (d,  $J = 1.24$  Hz, ArH, 2 H), 7.38–7.24 (m, ArH, 12 H), 7.06 (t,  $J = 1.24$  Hz, ArH, 1 H), 2.06 (s,  $\text{CH}_3$ , 3 H); MS(EI)  $m/z$  301 ( $\text{M}^+$ ), 181, 167, 103, 77.

***N*-(1-Adamantyl)-2,2'-diphenylpropionamide (29).** By the general procedure, the reaction of 2,2'-diphenylpropionic acid (f) (0.638 g, 2.40 mmol) and PyBrOP (1.118 g, 2.40 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.837 mL, 4.80 mmol) in DMF (7 mL) with the resin 4 (1 g, 0.8 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with 1-adamantanamine chlorhydrate (0.15 g, 0.8 mmol) and diisopropylethylamine (0.139 mL, 0.8 mmol) in DMF (4 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , the solution was washed with 0.1 M aqueous  $\text{NaHCO}_3$  (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), and the solvent was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (20 mL), frozen, and lyophilized to give 0.144 g (50%) of 29: mp 103–107 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R = 38.9$  min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  7.21–7.00 (m, ArH, 10 H), 5.65 (s, NH, 1 H), 1.84–1.45 (m, 18 H); MS(CI)  $m/z$  360 ( $\text{MH}^+$ ), 182, 135, 103.

***N*'-(5-Methyl-2-nitrobenzoyl)-2-furoichthyridine (30).** By the general procedure, the reaction of 5-methyl-2-nitrobenzoic acid (a) (0.608 g, 3.36 mmol) and PyBrOP (1.565 g, 3.36 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (1.171 mL, 6.72 mmol) in DMF (5 mL) with the resin 4 (1.4 g, 1.12 mmol) gave the polymer-bound activated ester. The resin beads were washed with DMF (three times), with diethyl ether (twice) and dried under vacuum. A portion of the polymer-bound



activated ester (0.08 mmol) was reacted with 2-furoic hydrazide (10.1 mg, 0.08 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (27.9  $\mu$ L, 0.16 mmol) in DMF (0.5 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The crude product was purified by column chromatography (silica gel, pentane/EtOAc 1/1) to give 11.5 mg (50%) of 30: mp 194–202 °C dec; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 18.7 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.61 (s, NH, 1 H), 10.57 (s, NH, 1 H), 8.04–8.01 (d,  $J$  = 8.30 Hz, ArH, 1 H), 7.93 (d,  $J$  = 3.16 Hz, ArH, 1 H), 7.58–7.55 (d,  $J$  = 8.39 Hz, ArH, 1 H), 7.52 (s, ArH, 1 H), 7.32–7.31 (d,  $J$  = 3.11 Hz, ArH, 1 H), 6.69–6.68 (q,  $J$  = 1.73 Hz, ArH, 1 H), 2.48 (s, CH<sub>3</sub>, 3 H);  $m/z$  290 (MH<sup>+</sup>), 164, 149.

***N*-( $\beta$ )*R*-Hydroxy-( $\alpha$ )*S*-methylphenethyl)-3-chlorobenzamide (31).** By the general procedure, the reaction of 3-chlorobenzoic acid (d) (0.279 g, 1.78 mmol) and PyBrOP (0.831 g, 1.78 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.622 mL, 3.56 mmol) in DMF (3.80 mL) with the resin 4 (0.7 g, 0.59 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with (1*R*,2*S*)-(-)-norephedrine (89.8 mg, 0.595 mmol) in DMF (5.95 mL). The product was recovered and purified by preparative RP HPLC, as described for compound 15, to give 0.135 g (79%) of 31: mp 140 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 25.6 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.37 (d,  $J$  = 8.32 Hz, NH, 1 H), 7.83 (t,  $J$  = 1.74 Hz, ArH, 1 H), 7.74 (dt,  $J$  = 7.67, 1.39 Hz, ArH, 1 H), 7.58 (ddd,  $J$  = 7.99, 1.08 Hz, ArH, 1 H), 7.48 (t,  $J$  = 7.80, ArH, 1 H), 7.40 (m, ArH, 2 H), 7.31 (m, ArH, 2 H), 7.24–7.18 (m, ArH, 1 H), 5.46 (d,  $J$  = 4.84 Hz, OH, 1 H), 4.71 (t,  $J$  = 5.13 Hz, CH, 1 H), 4.19–4.12 (m, CH, 1 H), 1.11 (d,  $J$  = 6.77 Hz, CH<sub>3</sub>, 3 H); MS(EI)  $m/z$  272–274 (M<sup>+</sup> - OH), 183–185, 139–141.

**3-Chlorobenzanilide (32).** By the general procedure, the reaction of 3-chlorobenzoic acid (d) (0.279 g, 1.78 mmol) and PyBrOP (0.831 g, 1.78 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.622 mL, 3.56 mmol) in DMF (3.80 mL) with the resin 4 (0.7 g, 0.59 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with aniline (55 mg, 0.595 mmol) in DMF (5.95 mL). The product was recovered and purified by preparative RP HPLC, as described for compound 15, to give 0.109 g (79%) of 32: mp 134–136 °C; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 28.6 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10.36 (s, NH, 1 H), 8.02 (t,  $J$  = 1.83 Hz, ArH, 1 H), 7.93 (dt,  $J$  = 7.70, 1.38 Hz, ArH, 1 H), 7.80–7.76 (m, ArH, 2 H), 7.67 (ddd,  $J$  = 8.02, 1.08 Hz, ArH, 1 H), 7.58 (t,  $J$  = 7.86, ArH, 1 H), 7.41–7.34 (m, ArH, 2 H), 7.16–7.10 (m, ArH, 1 H); MS(EI)  $m/z$  231–233 (M<sup>+</sup>), 139–141, 111–113.

***N*-(3-Chlorobenzoyl)piperidine (33).** By the general procedure, the reaction of 3-chlorobenzoic acid (d) (0.376 g, 2.40 mmol) and PyBrOP (1.118 g, 2.40 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.837 mL, 4.80 mmol) in DMF (7 mL) with the resin 4 (1 g, 0.8 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with piperidine (79  $\mu$ L, 0.8 mmol) in DMF (4 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, the solution was washed with 0.1 M aqueous NaHCO<sub>3</sub> (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and the solvent was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol, frozen, and lyophilized to give 0.128 g (72%) of 33: mp 44–48 °C; C18 RP HPLC (215/200 nm)  $t_R$  = 27.1 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  7.48–7.39 (m, ArH, 3 H), 7.32–7.29 (m, ArH, 1 H), 3.63 (br s, 2 H), 3.29 (br s, 2 H), 1.72–1.52 (br m, 6 H); MS(EI)  $m/z$  224–226 (MH<sup>+</sup>), 188, 139–141. Anal. Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>NOCl: C, 64.42; H, 6.26; N, 6.26. Found: C, 64.38; H, 6.31; N, 6.18.

***N*-(1-Adamantyl)-3-chlorobenzamide (34).** By the general procedure, the reaction of 3-chlorobenzoic acid (d) (0.376 g, 2.40 mmol) and PyBrOP (1.118 g, 2.40 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.837 mL, 4.80 mmol) in DMF (7 mL) with the resin 4 (1 g, 0.8 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with 1-adamantanamine chlorhydrate (0.15 g, 0.8 mmol) and diisopropylethylamine (0.139 mL, 0.8 mmol) in DMF (4 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash

the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL), the solution was washed with 0.1 M aqueous NaHCO<sub>3</sub> (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and the solvent was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (20 mL), frozen, and lyophilized to give 0.161 g (70%) of 34: mp 156–159 °C; C18 RP HPLC (215/200 nm)  $t_R$  = 34.7 min;  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.83 (t,  $J$  = 1.75 Hz, ArH, 1 H), 7.76–7.74 (m, ArH, NH, 2 H), 7.57–7.55 (m, ArH, 1 H), 7.46 (t,  $J$  = 7.86 Hz, ArH, 1 H), 2.07 (s, CH, 9 H), 1.66 (s, CH, 6 H); MS(EI)  $m/z$  289–291 (M<sup>+</sup>), 232–234, 139–141, 111–113. Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>NOCl: C, 70.47; H, 6.91; N, 4.83. Found: C, 70.27; H, 6.99; N, 4.63.

***N*-*tert*-Butyl-3-chlorobenzamide (35).** By the general procedure, the reaction of 3-chlorobenzoic acid (d) (0.376 g, 2.40 mmol) and PyBrOP (1.118 g, 2.40 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.837 mL, 4.80 mmol) in DMF (7 mL) with the resin 4 (1 g, 0.8 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with *tert*-butylamine (84  $\mu$ L, 0.8 mmol) in DMF (4 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, the solution was washed with 0.1 M aqueous NaHCO<sub>3</sub> (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and the solvent was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (10 mL), frozen, and lyophilized to give 0.086 g (51%) of 35: mp 99–101 °C; C18 RP HPLC (215/200 nm)  $t_R$  = 27.9 min;  $^1\text{H NMR}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.90 (s, NH, 1 H), 7.85 (t,  $J$  = 1.81 Hz, ArH, 1 H), 7.76 (dt,  $J$  = 7.72, 1.20 Hz, ArH, 1 H), 7.57 (m, ArH, 1 H), 7.47 (t,  $J$  = 7.86 Hz, ArH, 1 H), 1.38 (s, CH<sub>3</sub>, 9 H); MS(EI)  $m/z$  211–213 (M<sup>+</sup>), 196–199, 156–158, 139–141, 111–113. Anal. Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>NOCl: C, 62.41; H, 6.62; N, 6.62. Found: C, 62.53; H, 6.64; N, 6.43.

***N*-Ethyl-*N*-phenyl-3-chlorobenzamide (36).** By the general procedure, the reaction of 3-chlorobenzoic acid (d) (0.376 g, 2.40 mmol) and PyBrOP (1.118 g, 2.40 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.837 mL, 4.80 mmol) in DMF (7 mL) with the resin 4 (1 g, 0.8 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with *N*-ethylaniline (100  $\mu$ L, 0.8 mmol) in DMF (4 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, the solution was washed with 0.1 M aqueous NaHCO<sub>3</sub> (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and the solvent was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (12 mL), frozen, and lyophilized to give 0.178 g (86%) of 36: oil; C18 RP HPLC (215/254 nm)  $t_R$  = 29.9 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.33–7.16 (m, ArH, 9 H), 3.86 (q,  $J$  = 7.10 Hz, CH<sub>2</sub>, 2 H), 1.11 (t,  $J$  = 7.10 Hz, CH<sub>3</sub>, 3 H); MS(EI)  $m/z$  259–261 (M<sup>+</sup>), 139–141, 120, 111–113. Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>NOCl: C, 69.36; H, 5.39; N, 5.39. Found: C, 69.11; H, 5.67; N, 5.42.

***N*-(1-Adamantyl)-1-adamantanacetamide (37).** By the general procedure, the reaction of 1-adamantanacetic acid (0.466 g, 2.40 mmol) and PyBrOP (1.118 g, 2.40 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.837 mL, 4.80 mmol) in DMF (7 mL) with the resin 4 (1 g, 0.8 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with 1-adamantanamine chlorhydrate (0.15 g, 0.8 mmol) and diisopropylethylamine (0.139 mL, 0.8 mmol) in DMF (4 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL), the solution was washed with 0.1 M aqueous NaHCO<sub>3</sub> (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and the solvent was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (25 mL), frozen, and lyophilized to give 0.170 g (65%) of 37: mp 254–260 °C; C18 RP HPLC (215/200 nm)  $t_R$  = 39.1 min;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  7.14 (s, NH, 1 H), 2.05–1.97 (m, 12 H), 1.86 (s, CH<sub>2</sub>, 2 H), 1.74–1.65 (m, 18 H); MS (EI)  $m/z$  327 (M<sup>+</sup>), 270, 151, 94, 79, 67, 135. Anal. Calcd for C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>NO: C, 80.73; H, 10.09; N, 4.28. Found: C, 80.53; H, 10.23; N, 4.19.

*N*-(1-Adamantyl)cyclohexanecarboxamide (38). By the general procedure, the reaction of cyclohexanecarboxylic acid (0.307 g, 2.40 mmol) and PyBrOP (1.118 g, 2.40 mmol) in the presence of diisopropylethylamine (0.837 mL, 4.80 mmol) in DMF (7 mL) with the resin 4 (1 g, 0.8 mmol) gave the polymer-bound activated ester which was reacted with 1-adamantanamine chlorhydrate (0.15 g, 0.8 mmol) and diisopropylethylamine (0.139 mL, 0.8 mmol) in DMF (4 mL). The supernatant was collected and combined with the DMF solutions used to wash the resin. DMF was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL), the solution was washed with 0.1 M aqueous NaHCO<sub>3</sub> (three times) and with 0.37 M aqueous HCl (three times) and dried (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), and the solvent was removed by rotary evaporation. The residue was taken up in *tert*-butyl alcohol (25 mL), frozen, and lyophilized to give 0.136 g (65%) of 38: mp 189–192 °C; C18 RP HPLC (215/200 nm) *t*<sub>R</sub> = 33.6 min; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.04 (s, NH, 1 H), 2.05 (t, *J* = 11.50, 3.40 Hz, 1 H), 1.99 (s, 3 H), 1.90 (m, 6 H), 1.70–1.61 (m, 11 H), 1.31–

1.13 (m, 5 H); MS (EI) *m/z* 261 (M<sup>+</sup>), 206, 135, 94, 79, 67. Anal. Calcd for C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>NO: C, 78.16; H, 10.34; N, 5.36. Found: C, 77.82; H, 10.18; N, 5.20.

**Acknowledgment.** We thank the GlaxoWellcome Laboratories for financial support. We thank Christelle Biville and Valérie Thorel for their assistance in the synthesis and physical characterization of the compounds in this study.

**Supporting Information Available:** <sup>1</sup>H NMR spectra and HPLC chromatograms for all the compounds described in the Experimental Section (54 pages). This material is contained in libraries on microfiche, immediately follows this article in the microfilm version of the journal, and can be ordered from the ACS; see any current masthead page for ordering information.

JO961761G

## **CHAPITRE 3**

## CHAPITRE 3

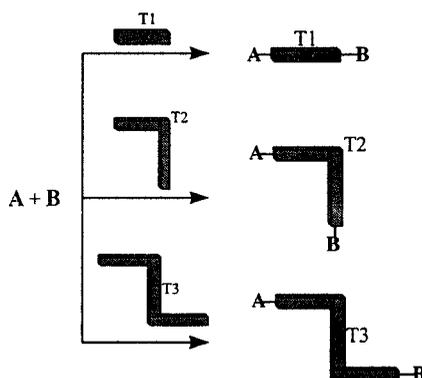
## SYNTHESE DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE

3.I. CONCEPTION D'UNE CHIMIOTHEQUE DE BENZIMIDAZOLES POUR LA  
SYNTHESES PARALLELE A HAUT DEBIT3.I.1. Chimiothèques issues de la même diversité structurale, engendrant des  
pharmacophores différents

L'activité biologique d'une molécule est liée à ses propriétés physico-chimiques (capacité de formation de liaisons d'hydrogène, interactions acido-basiques) déterminées par la présence de groupements pharmacophores, et à sa capacité d'atteindre les sites actifs d'une enzyme ou d'un récepteur ou d'en bloquer l'accès aux ligands naturels. Dans tous les cas, un positionnement approprié des groupements pharmacophores est une condition indispensable pour qu'une molécule manifeste une activité biologique.

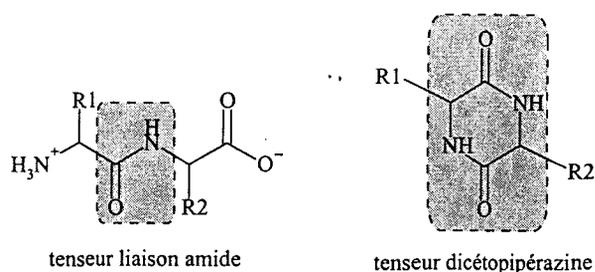
Comme nous l'avons déjà mentionné dans le chapitre 2, les tenseurs permettent de moduler l'agencement spatial des éléments de diversité structurale apportés par les différentes classes de monomères. Pour l'assemblage par exemple de deux monomères A et B, plusieurs tenseurs, T1, T2 et T3, peuvent être employés, conduisant à des molécules avec des propriétés physico-chimiques et des géométries différentes (figure 3.1).

Figure 3.1. Assemblage de deux monomères en utilisant des tenseurs différents



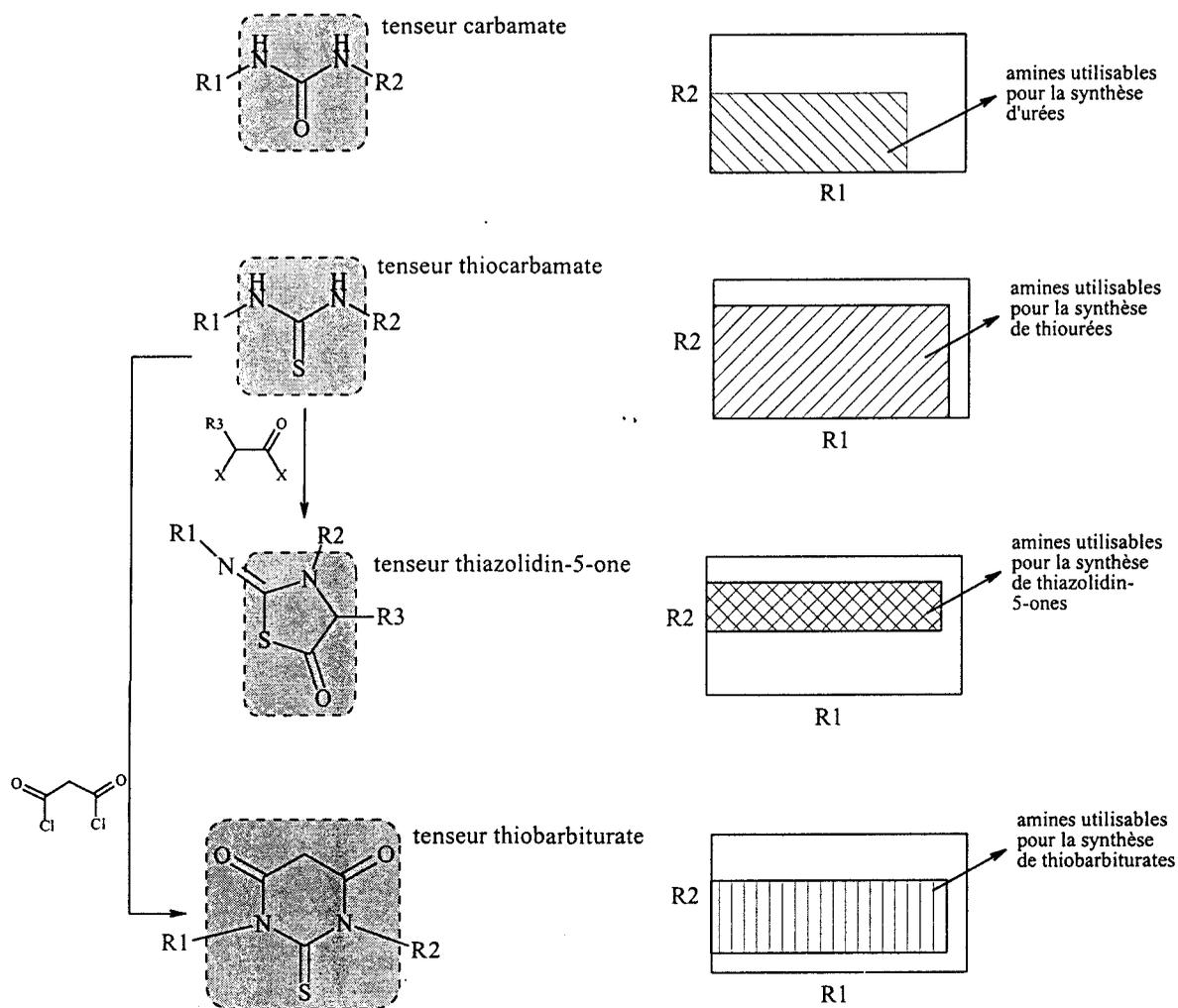
L'assemblage de deux acides aminés par exemple, peut se faire par le biais d'un tenseur liaison amide ou par celui d'un tenseur dicétopipérazine. Le tenseur liaison amide conduit à un dipeptide, molécule linéaire de type zwitterion, tandis que le tenseur dicétopipérazine conduit à une molécule cyclique non chargée, permettant ainsi d'obtenir des chimiothèques complètement différentes à partir de mêmes monomères.<sup>57</sup>

Figure 3.2. Assemblage de deux acides aminés en utilisant deux tenseurs différents



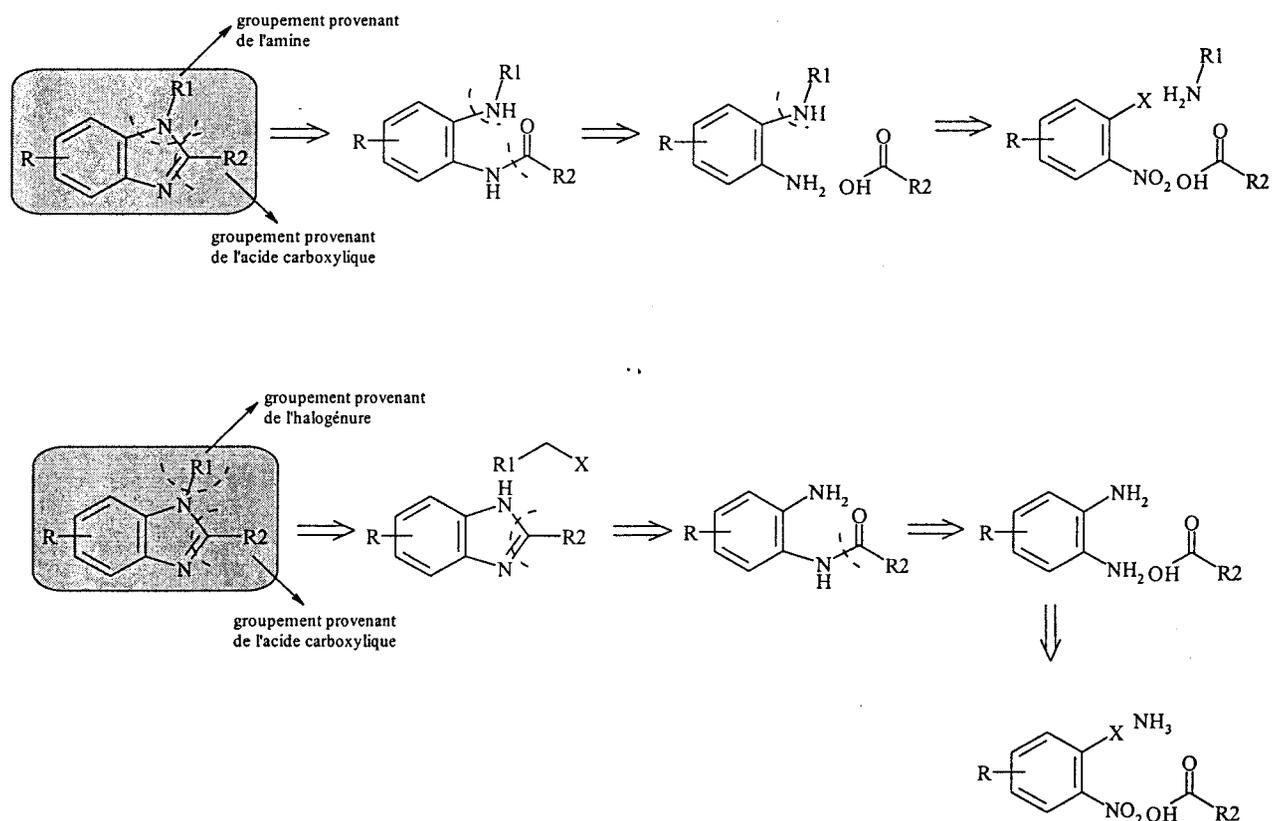
L'utilisation de tenseurs différents apparaît très intéressante lors des synthèses de chimiothèques primaires, car ils permettent le recrutement de partenaires de réactivité différente dans chacune des classes de monomères. Si on considère le cas où deux amines sont assemblées par le biais de plusieurs tenseurs (figure 3.3), des ensembles différents de monomères seront recrutés pour chaque tenseur, car les amines utilisables par exemple pour la synthèse de thiourées ne seront pas toutes utilisables pour la synthèse d'urées ou pour la formation d'hétérocycles comme les thiazolidin-5-ones<sup>58</sup> ou les thiobarbiturates (figure 3.3).<sup>59</sup> Un nombre plus important de monomères sont ainsi croisés par l'utilisation de plusieurs tenseurs.

Figure 3.3. Assemblage de deux amines en utilisant différents tenseurs



Les tenseurs jouent aussi un rôle important lors de la synthèse de chimiothèques focalisées autour de molécules actives issues des chimiothèques primaires : ils permettent de moduler le positionnement relatif des pharmacophores d'une part, et de recruter de nouvelles classes de monomères en changeant de schéma rétro-synthétique de l'autre. Prenant le cas des benzimidazoles 1,2-disubstitués, ils peuvent être synthétisés à partir d'amines et d'acides carboxyliques, mais également à partir d'acides carboxyliques et d'halogénures (figure 3.4).

Figure 3.4. Assemblage du même tenseur benzimidazole, en recrutant des classes différentes de monomères



### 3.1.2. Assemblage d'hétérocycles à partir d'amines et d'acides carboxyliques

Le développement de nouveaux supports insolubles ainsi que de nouveaux bras de fonctionnalisation et d'ancrage a rendu possible la réalisation de synthèses en phase solide de plus en plus complexes. C'est aussi le cas de la synthèse d'hétérocycles en phase solide, qui est devenu à l'heure actuelle le domaine le plus exploré par les chimistes combinateurs.

Les hétérocycles aromatiques sont des ensembles compacts, chimiquement et métaboliquement stables, garantissant généralement une durée de vie satisfaisante à la structure médicamenteuse. De plus ils offrent, de part la présence d'hétéroatomes, des possibilités d'interactions ioniques ou par liaisons d'hydrogène. Les voies d'accès aux hétérocycles sont nombreuses, l'assemblage du même type d'hétérocycle pouvant généralement se faire selon plusieurs schémas réactionnels permettant ainsi le recrutement de classes de monomères différentes. Cette possibilité d'accès à de nouvelles diversités est très

importante, surtout lors de la synthèse de chimiothèques focalisées. Ces caractéristiques rendent les hétérocycles intéressants comme base de réflexion dans la conception de médicaments, et le fait que plus de 50 % des médicaments actuellement commercialisés comporte au moins un hétérocycle constitue un facteur supplémentaire pour le développement de la synthèse combinatoire hétérocyclique.

Dans ce contexte, nous avons dirigé nos efforts vers l'utilisation des amines et des acides carboxyliques pour l'assemblage d'hétérocycles en phase solide. Nous avons déjà exploré la diversité de ces deux classes de composés lors de nos études antérieures de synthèse d'amides et il nous a paru très intéressant de l'exploiter à travers d'autres schémas réactionnels. Nous avons retenu deux schémas réactionnels, aboutissant respectivement à des imidazoles et à des benzimidazoles.

### 3.I.2.1. Assemblage d'imidazoles et de benzimidazoles à partir d'acides carboxyliques et d'amines

**A. Schéma rétro-synthétique d'assemblage d'imidazoles.** Le greffage d'acides carboxyliques et d'amines sur un squelette  $\alpha$ -aminocétone suivi par une cyclisation, conduit d'une façon générale à des imidazoles 1,2,4,5-substitués (figure 3.5).

**B. Schéma rétro-synthétique d'assemblage de benzimidazoles.** Le greffage d'amines et d'acides carboxyliques sur un squelette *o*-halo nitroaromatique suivi par cyclisation conduit, selon deux voies différentes, à des benzimidazoles 1,2-disubstitués (figure 3.6).

Figure 3.5. Schéma rétro-synthétique de synthèse d'imidazoles 1,2,4,5-substitués

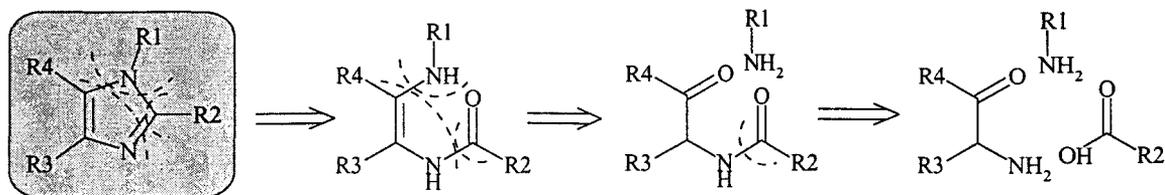
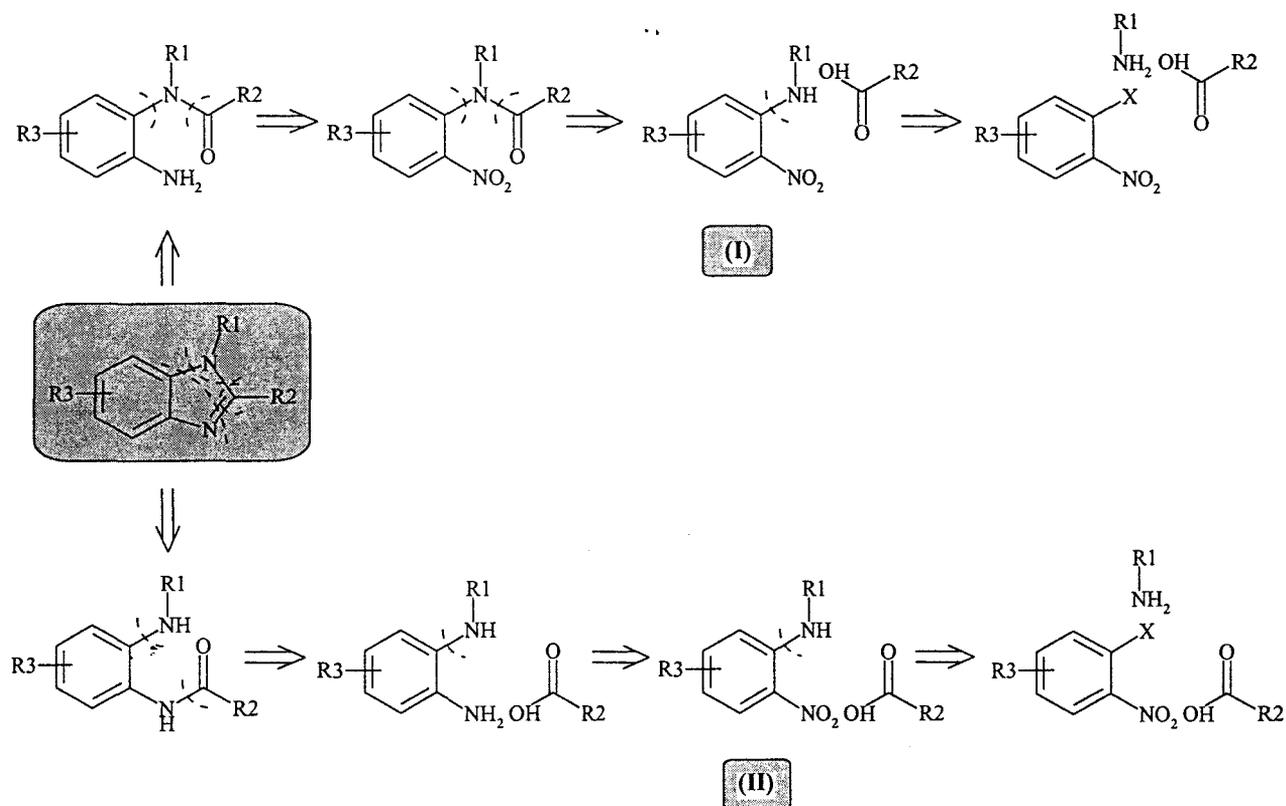


Figure 3.6. Schéma rétro-synthétique de synthèse de benzimidazoles 1,2-disubstitués

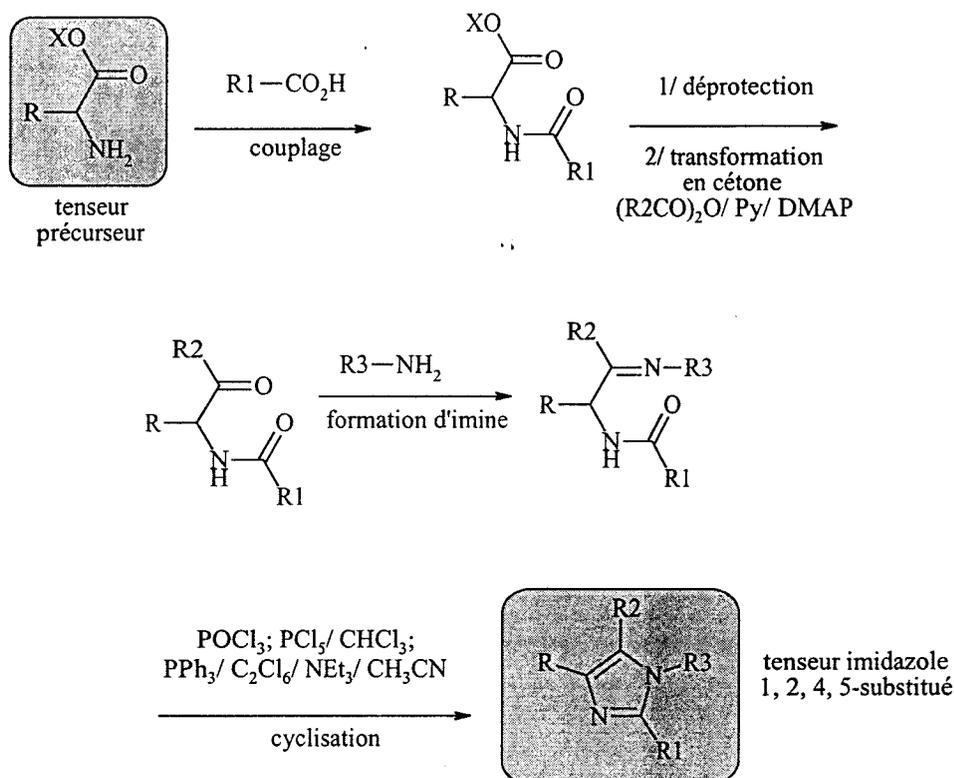


### 3.1.2.2. Schémas réactionnels de synthèse d'imidazoles et de benzimidazoles

A. *Schéma réactionnel de synthèse d'imidazoles 1,2,4,5-substitués.* A partir du schéma rétro-synthétique présenté dans la figure 3.5, nous avons envisagé le schéma réactionnel suivant : le point de départ de la synthèse, ce qu'on a appelé *tenseur précurseur*, est un acide aminé protégé sur la fonction carboxylique. Après introduction des acides carboxyliques par couplage avec la fonction amine et déprotection de la fonction carboxylique de l'acide aminé, celle-ci est transformée en cétone;<sup>60</sup> les amines sont ensuite introduites par

formation d'une  $\alpha$ -acylaminocétimine qui est cyclisée en imidazole par traitement avec  $\text{PPh}_3$  en présence de hexachloroéthane et  $\text{Et}_3\text{N}$ , ou avec  $\text{PCl}_5$  ou  $\text{POCl}_3$  (figure 3.7).<sup>61</sup>

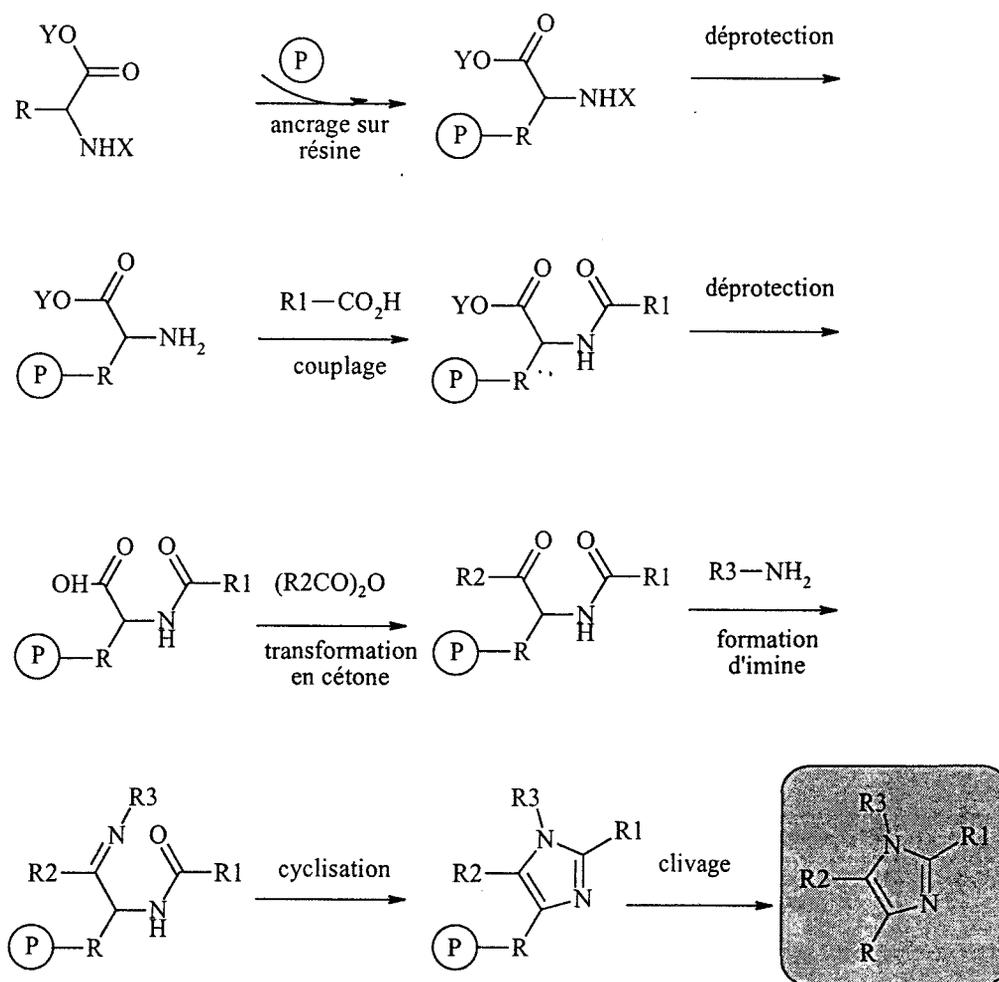
Figure 3.7. Synthèse d'imidazoles 1,2,4,5-substitués



Nous avons envisagé l'adaptation de ce schéma réactionnel à la synthèse en phase solide de la façon suivante (figure 3.8):

- 1/ ancrage sur résine à l'aide de sa chaîne latérale d'un aminoacide possédant des protections orthogonales sur la chaîne principale
- 2/ déprotection sélective de la fonction amine
- 3/ acylation de l'amine
- 4/ déprotection de la fonction acide carboxylique
- 5/ transformation de la fonction carboxylique en cétone
- 6/ formation d'imine
- 7/ cyclisation de l' $\alpha$ -acylaminocétimine en imidazole
- 8/ clivage de l'imidazole du support de synthèse

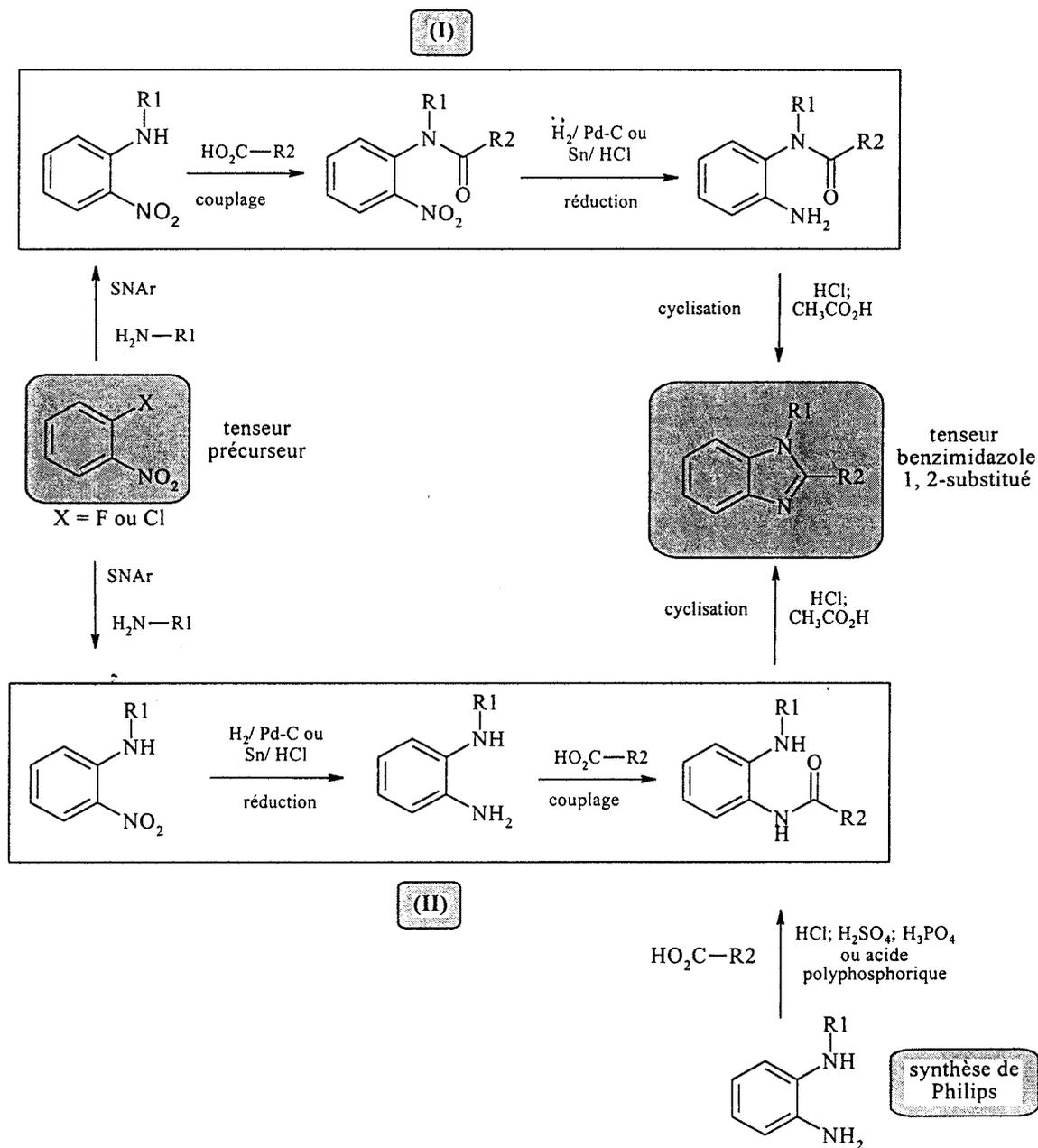
Figure 3.8. Schéma réactionnel envisagé pour la synthèse d'imidazoles 1,2,4,5-substitués en phase solide



**B. Schéma réactionnel de synthèse de benzimidazoles 1,3-substitués.** Selon le schéma rétro-synthétique (figure 3.6), le tenseur précurseur dans la synthèse de benzimidazoles est un dérivé halogéné aromatique *o*-nitré, qui permet l'introduction des amines par substitution nucléophile aromatique. La *o*-nitroaniline ainsi obtenue peut être couplée avec un acide carboxylique et, après réduction du *o*-nitroanilide, la cyclisation en benzimidazole se fait en milieu acide, avec de l'AcOH à reflux, de l'HCl dans l'EtOH ou de l'HCl/ZnCl<sub>2</sub> dans l'EtOH à température ambiante (figure 3.9, voie (I)).<sup>62, 63, 64, 65</sup> Cette synthèse présente l'inconvénient de l'acylation très difficile des *o*-nitroanilines. La voie (II) du schéma rétro-synthétique implique la réduction préliminaire de l'*o*-nitroaniline, suivie de couplage d'un acide carboxylique et cyclisation. Cette voie correspond à la synthèse générale

de benzimidazoles décrite par Phillips en 1930, qui consiste en la condensation d'une *o*-phénylenediamine avec un acide carboxylique en milieu acide à haute température, conduisant à un intermédiaire monoacylé qui n'est pas isolé, subissant une déshydratation sous l'action catalytique de l'acide minéral (figure 3.9, voie (II)).<sup>66, 67</sup>

Figure 3.9. Voies de synthèse de benzimidazoles 1,2-substitués

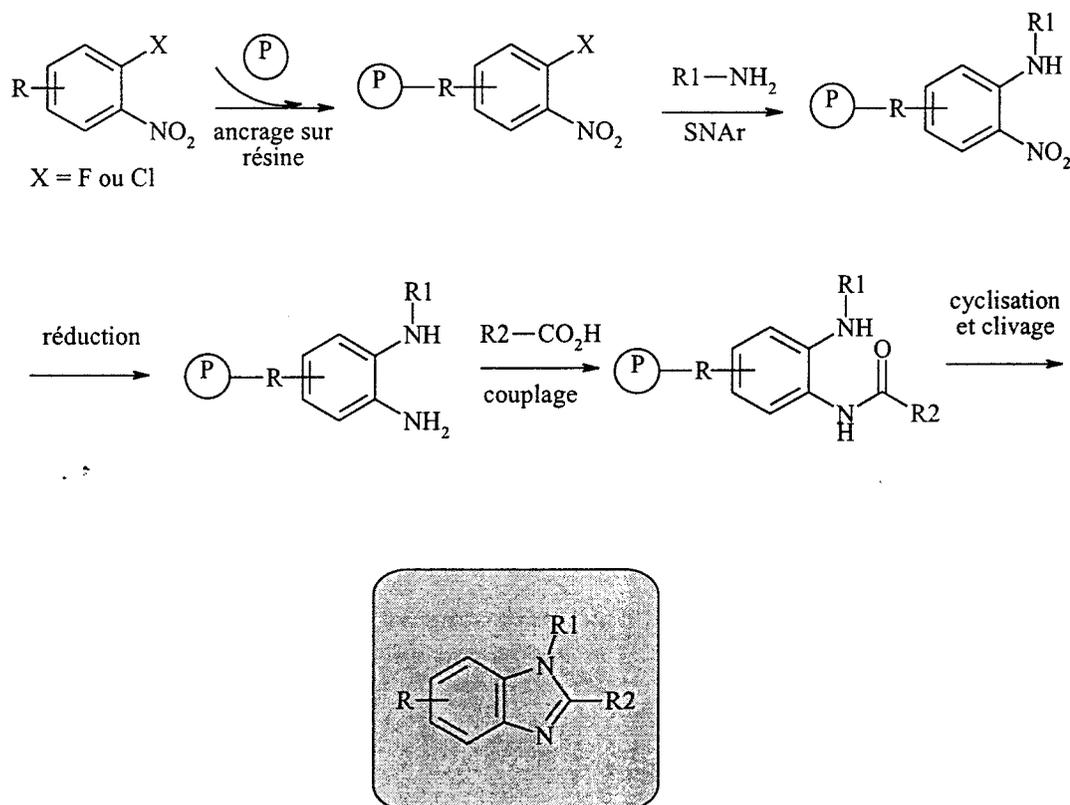


Nous avons envisagé l'adaptation de ce schéma réactionnel à la synthèse en phase solide de la façon suivante (figure 3.10):

- 1/ ancrage sur résine d'un dérivé halogéné aromatique *o*-nitré
- 2/ substitution nucléophile aromatique
- 3/ réduction du groupement nitro aromatique
- 4/ acylation sélective de l'aniline primaire
- 5/ cyclisation du *o*-nitroanilide en benzimidazole et clivage concomitants du produit de son support de synthèse



**Figure 3.10.** Schéma réactionnel envisagé pour la synthèse de benzimidazoles 1,2-substitués en phase solide



### 3.I.2.3. Etude comparée de faisabilité des synthèses d'imidazoles et de benzimidazoles en phase solide

Nous avons analysé les deux chemins réactionnels du point de vue de la facilité de mise en oeuvre des synthèses en phase solide et de la possibilité de les adapter à un système robotique.

Le schéma réactionnel de synthèse d'imidazoles (figure 3.8) comporte une série d'étapes stériles pour l'introduction de la diversité structurale ou pour la formation de l'hétérocycle (deux déprotections). Ces étapes rallongent beaucoup la synthèse et risquent de rendre laborieux un procédé robotique, en raison du nombre important de lavages des résines, qui est multiplié par le nombre d'étapes de synthèse.

Le schéma réactionnel de synthèse de benzimidazoles (figure 3.10) est moins laborieux, ne comportant pas d'étapes de déprotection. De plus, en choisissant le bras de fonctionnalisation du polymère d'une façon appropriée, on peut envisager la cyclisation et le clivage concomitant du produit de son support de synthèse insoluble.

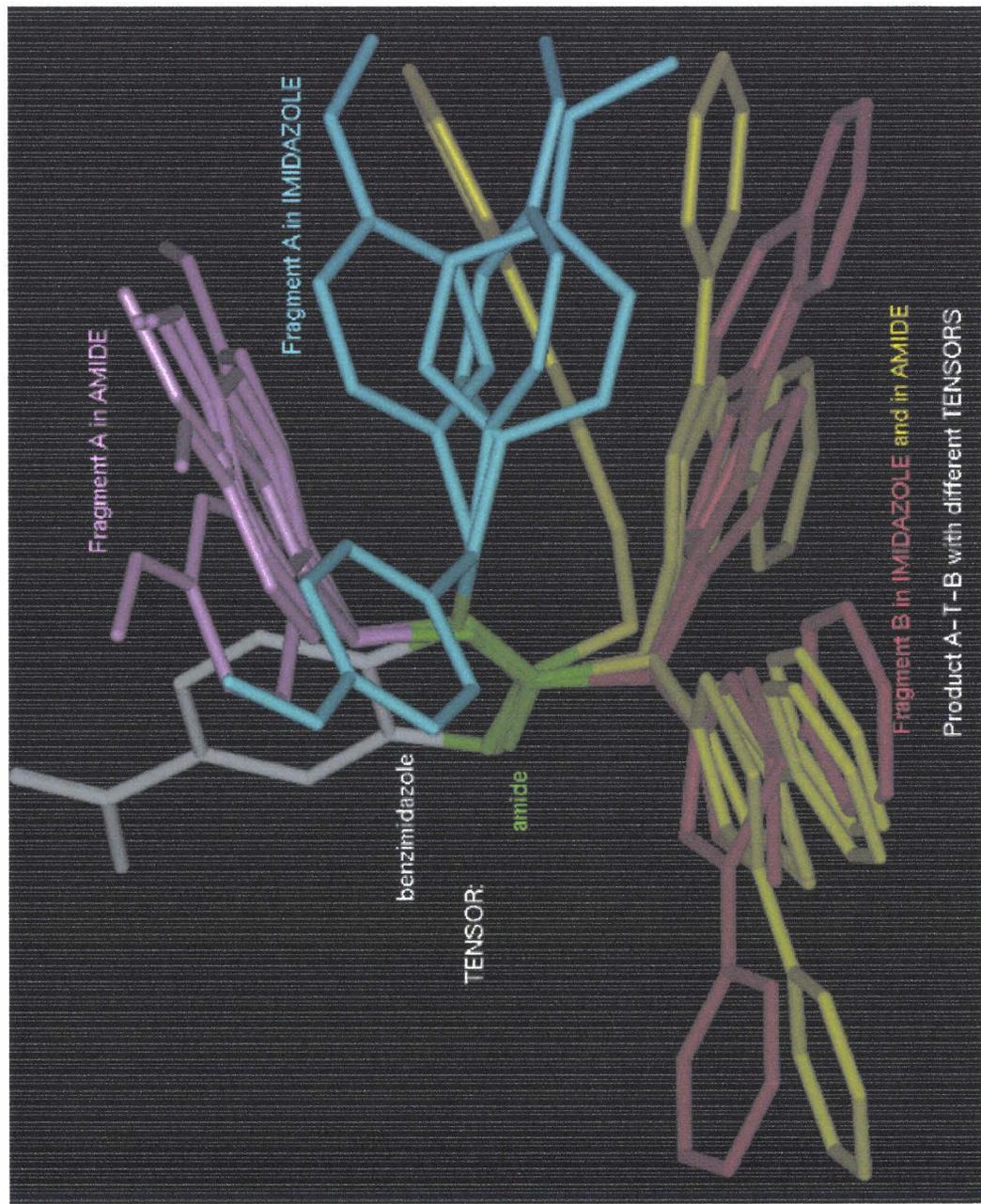
Nous avons donc dirigé nos recherches sur la voie de synthèse des benzimidazoles en phase solide, selon le schéma réactionnel présenté ci-dessus.

### 3.I.2.4. Intérêt de la synthèse de benzimidazoles par assemblage d'amines et d'acides carboxyliques : espace structural exploré par une chimiothèque de benzimidazoles par rapport à une chimiothèque d'amides

Dans notre hypothèse de travail, les chaînes latérales porteuses de groupements pharmacophores sont en grande partie responsables de l'activité biologique d'une molécule. Le maillon qui permet leur assemblage et qu'on a appelé tenseur ne nous intéresse pas pour l'instant du point de vue de sa capacité à établir des interactions avec différents substrats, car sa fonction principale est d'imposer le positionnement dans l'espace des fonctions qu'il regroupe autour de lui. Nous avons donc tenté de montrer que des chaînes latérales ayant la même structure conduisent à des molécules de géométrie différente, selon le fait qu'elles aient été assemblées autour d'une liaison amide ou autour d'un benzimidazole.

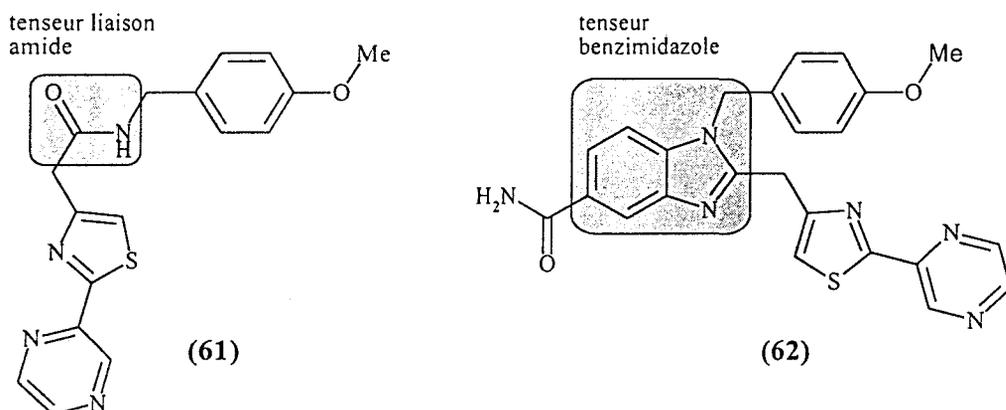
Un amide et un benzimidazole issus des mêmes monomères ont fait l'objet d'une étude de modélisation moléculaire, à l'aide d'un logiciel mis au point au laboratoire.<sup>68, 69</sup> Les

**Figure 3.12.** *Comparison des familles de conformères engendrées pour l'amide (61) et le benzimidazole (62)*



chaînes latérales de l'amine et de l'acide carboxylique de départ ont été choisies de façon à ce qu'elles soient riches en pharmacophores : possédant des groupements donneurs ou accepteurs de liaisons hydrogène, de charges positives ou négatives, de noyaux aromatiques...(figure 3.11).

Figure 3.11. Amide et benzimidazole soumis à l'étude de modélisation moléculaire



L'étude de modélisation moléculaire suit les étapes suivantes :

I/ Des structures 3D « brutes » sont d'abord engendrées. Pour cela, une routine de détection des cycles va différencier dans la molécule les fragments cycliques des fragments non cycliques. Les conformations des chaînes linéaires et ramifiées seront reconstituées tenant compte des rayons covalents standards et des angles de valence. Les géométries des fragments cycliques seront retrouvées par comparaison avec des données contenues dans une base de géométries de cycles. Un nombre de géométries NG sera obtenu par jonction des différents fragments de la molécule.

II/ Un ensemble de conformations est ensuite engendré pour la molécule : 10 axes de torsion centrale sont détectées pour chaque géométrie et l'angle de torsion autour de chaque axe est exploré par pas de  $120^\circ$  pour les liaisons simples et de  $180^\circ$  pour les doubles liaisons. Cette opération conduit à un nombre maximum de  $3^{10} \times \text{NG}$  conformations explorées.

III/ Trois règles seront successivement appliquées pour restreindre le nombre de conformations :

1/ toutes les conformations ayant des distances de moins de 2 Å entre deux atomes non liés sont éliminées

2/ la similitude des conformations est ensuite évaluée selon trois critères : la distance minimum  $d_{\min}$  entre deux atomes non liés, la distance maximum  $d_{\max}$  entre deux atomes non liés et un descripteur topologique  $T_E$  qui est fonction de l'électronégativité et des distances entre toutes les paires d'atomes de la molécule.<sup>70</sup> Si une conformation déjà acceptée a des valeurs  $d_{\min}$ ,  $d_{\max}$  et  $T_E$  proches de la conformation testée, cette dernière est éliminée

3/ parmi les conformations retenues après la règle no. 2/, on choisit les 20 conformations les plus étendues (ayant un  $d_{\min}$  maximum)

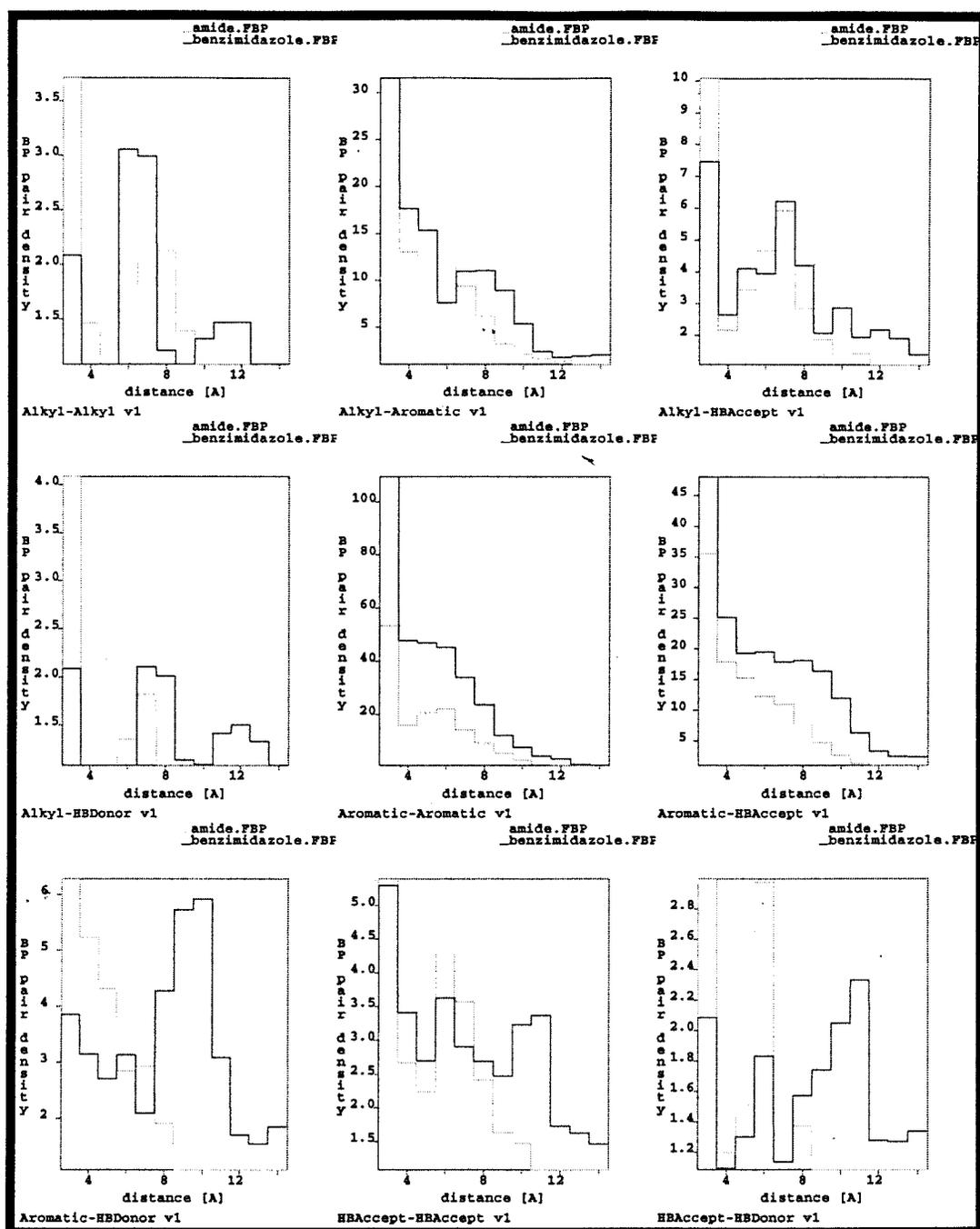
IV/ Les conformations restantes sont soumises à une minimisation d'énergie. On obtient ainsi une famille de conformères.

V/ Caractérisation de la molécule par un set de descripteurs calculés en fonction des paramètres d'hydrophobicité, d'aromaticité, de présence de donneurs et d'accepteurs de liaisons hydrogène et de charges positives et négatives. Cette méthode est appelée la méthode du *BPF* (*Bipolar Pharmacological Fingerprint*).<sup>68</sup> 21 types d'interactions sont possibles si l'on considère les 6 caractéristiques pharmacologiques énumérées auparavant: hydrophobe-hydrophobe, hydrophobe-aromatique, hydrophobe-donneur de liaison hydrogène et ainsi de suite. Des distances entre les atomes présents dans les groupements pharmacophores sont calculées, et trois valeurs sont déterminées: la distance minimum, maximum et moyenne entre deux atomes impliqués dans chaque type d'interaction. La molécule sera donc finalement caractérisée par une matrice comportant 63 valeurs. Pour pouvoir comparer plusieurs molécules, des corrélations sont par la suite établies pour les distances entre les différents pharmacophores présents dans ces composés.

En suivant cet algorithme, une famille de conformères a été établie pour l'amide (61) et pour le benzimidazole (62). Pour l'amide (61), le nombre plus important de conformations trouvées montre la flexibilité de la molécule. Au contraire, le benzimidazole présente une structure plus rigide. Visuellement, en superposant une partie commune des deux molécules, *ie* la chaîne latérale provenant de l'acide, on constate que les chaînes latérales provenant de l'amine touchent des zones de l'espace complètement différentes (figure 3.12).

L'amide et le benzimidazole ont été ensuite comparés selon la méthode du BPF: des histogrammes indiquant le nombre d'atomes impliqués dans chaque type d'interaction en fonction de la distance entre les atomes ont été tracés pour l'amide (61) et pour le benzimidazole (62) (figure 3.13).

Figure 3.13. Distances entre les différents pharmacophores dans l'amide (61) et le benzimidazole (62), calculées par la méthode du BPF



La chimiothèque d'amides et celle de benzimidazoles sont donc différentes de point de vue de l'emplacement spatial des groupements pharmacophores et de point de vue de la flexibilité des composés. Les amides, ayant des structures plus flexibles, pourrait toucher un plus grand nombre de cibles biologiques, mais avec moins d'affinité à cause d'un facteur entropique défavorable à la fixation. Les benzimidazoles sont des molécules plus rigides et ils toucherait probablement un nombre plus restreint de cibles, mais avec une meilleure affinité.

### 3.II. CHOIX DU SCHEMA REACTIONNEL OPTIMUM POUR LA SYNTHESE PARALLELE A HAUT DEBIT DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE

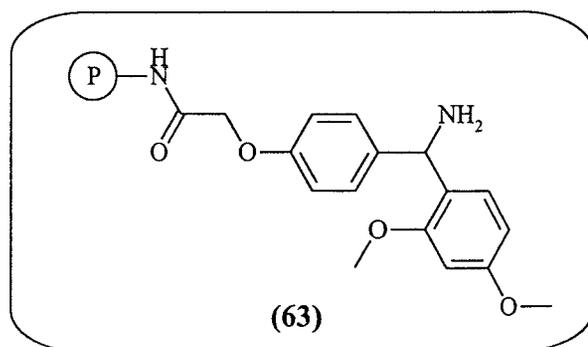
#### 3.II.1. Choix des principaux réactifs

Le succès de la synthèse de benzimidazoles en phase solide dépend du choix approprié des réactifs de base: le support de synthèse insoluble, le bras de fonctionnalisation, et le tenseur précurseur qui est un dérivé halogéné aromatique *o*-nitré permettant l'ancrage au support solide.

##### 3.II.1.1. Choix du bras de fonctionnalisation du polymère

Dans le schéma réactionnel envisagé, la cyclisation en benzimidazole et le clivage du support solide doivent se faire dans une seule étape, ce qui implique une liaison acido-labile molécule-polymère. L'adaptation de la synthèse à un système robotique demande aussi un maximum de simplicité et des conditions douces pour l'étape de clivage (acide dilué, température ambiante, pression atmosphérique). En tenant compte de toutes ces conditions, nous avons jugé que le bras de fonctionnalisation *Rink* (figure 3.14) était le mieux adapté à nos besoins.

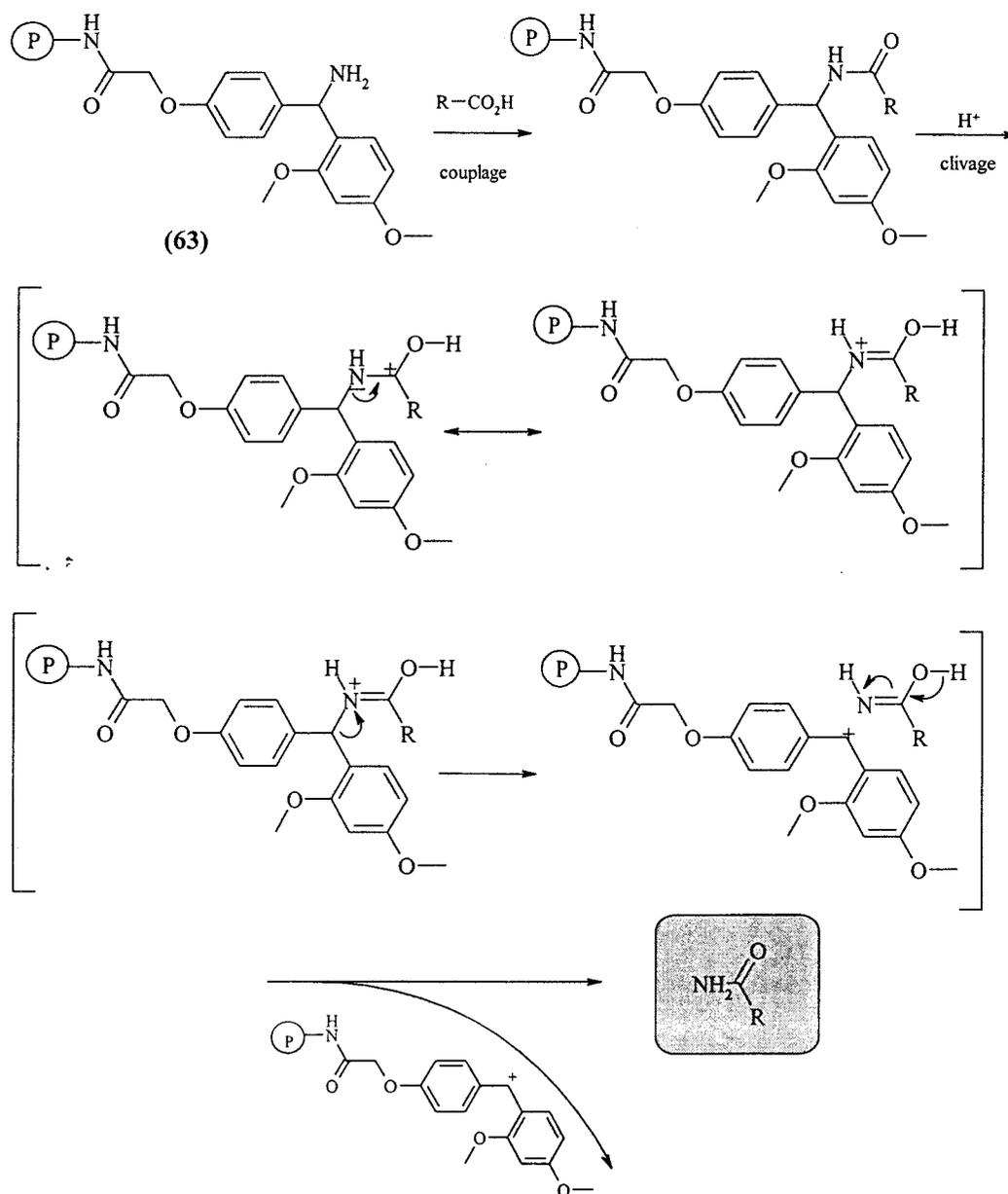
Figure 3.14. Résine fonctionnalisée avec le bras *Rink*



De manière usuelle, la molécule à ancrer possédant une fonction acide carboxylique est attachée au polymère au moyen d'une liaison amide, très facile à créer en utilisant un

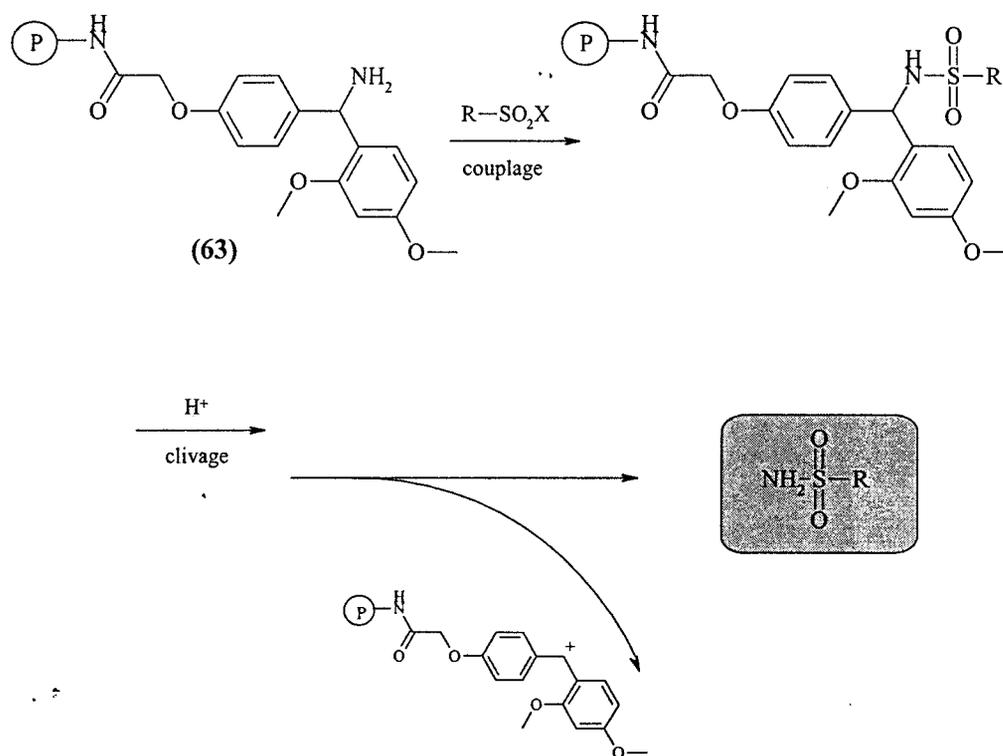
excès d'acide activé. Le clivage de la molécule du polymère est par ailleurs relativement facile, il se fait en présence de faibles concentrations d'acide trifluoroacétique (TFA) dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , pendant quelques heures à température ambiante. Le clivage a lieu par l'intermédiaire d'un cation obtenu par protonation de l'amide, suivi de coupure de la liaison C ( $sp^3$ ) - N, facilitée par la formation sur résine d'un carbocation stabilisé.<sup>71</sup> Le produit libéré de la résine ne contient plus une fonction carboxylique mais une fonction carboxamide (figure 3.15).

Figure 3.15. Ancrage et clivage d'un acide carboxylique sur une résine fonctionnalisée avec le bras Rink



Nous avons par ailleurs envisagé la possibilité d'ancrage par une liaison sulfonamide, par réaction directe d'un sulfohalogénure avec le bras Rink. Ce type d'ancrage est plus facile à réaliser, puisqu'il ne nécessite pas de réactif d'activation. Le produit libéré dans ce cas lors du clivage de la résine serait un sulfonamide (figure 3.16).

**Figure 3.16.** Ancrage et clivage d'un sulfohalogénure sur une résine fonctionnalisée avec le bras Rink



### 3.II.1.2. Choix du tenseur précurseur

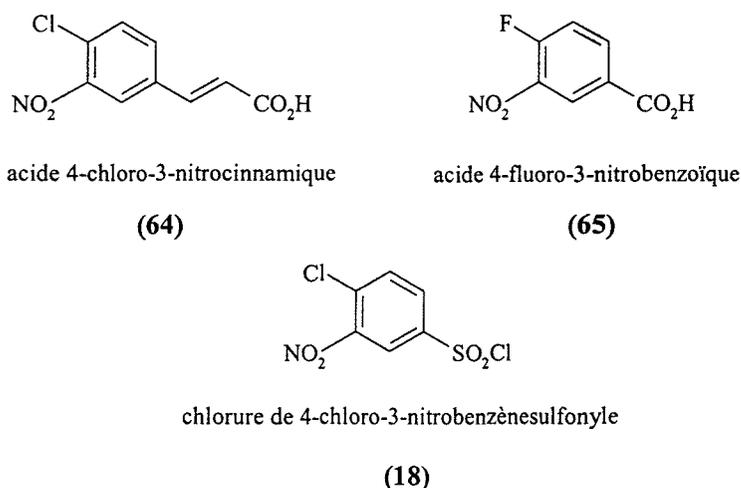
Le point de départ de la synthèse de benzimidazoles en phase solide est l'ancrage au support solide du tenseur précurseur, qui doit être un dérivé halogéné aromatique *o*-nitré.

Plusieurs facteurs doivent être pris en compte lors du choix du tenseur précurseur :

- 1/ facilité d'ancrage au support solide
- 2/ sélectivité de la réaction d'ancrage par rapport à la SNAr
- 3/ facilité de clivage du support solide en fin de synthèse

Le choix du tenseur précurseur est directement lié au choix du bras de fonctionnalisation du polymère: le fait d'utiliser le bras fonctionnel Rink nécessite la présence d'une fonction acide carboxylique dans la structure du tenseur précurseur ou bien, comme nous l'avons envisagé, d'une fonction sulfohalogénure. Une recherche que nous avons effectuée sur la base générale de produits commerciaux ACD (*Available Chemicals Directory*) nous a permis de trouver deux acides carboxyliques et un sulfohalogénure correspondant à nos critères: l'acide 4-chloro-3-nitrocinnamique (**64**), l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (**65**) et le chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyl (**18**) (figure 3.17).

Figure 3.17. Tenseurs précurseurs

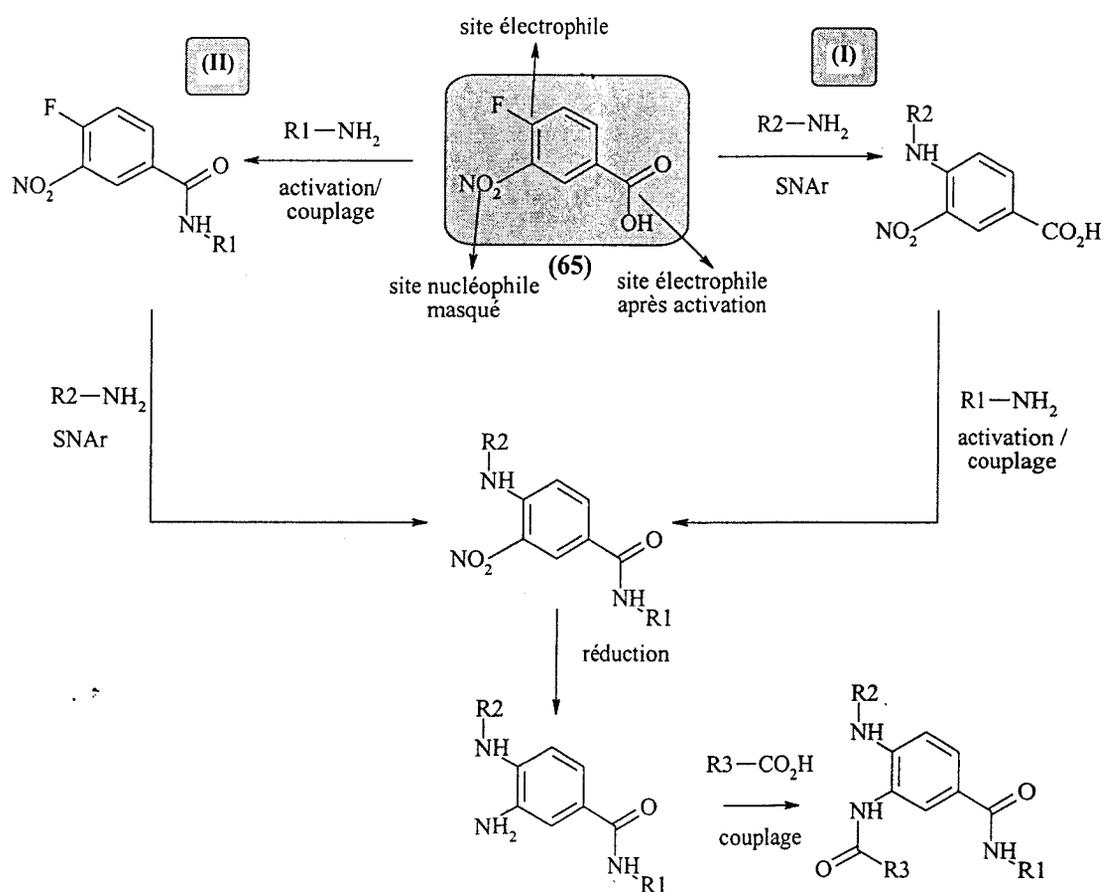


La SNAr d'un fluor étant beaucoup plus facile par rapport à celle d'un chlore,<sup>72</sup> l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (**65**) nous a paru mieux adapté à notre synthèse que l'acide 4-chloro-3-nitrocinnamique (**64**). De plus, la double liaison du composé (**64**) entraînerait des risques de polymérisation. Nous avons également retenu le chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzenesulfonyl (**18**), compte tenu de la facilité d'ancrage au support solide.

*A. Le tenseur précurseur acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65).* Cette molécule possède deux sites électrophiles et un site nucléophile masqué. Elle ne nécessite pas de protection supplémentaire pour l'attaque sélective de ses fonctions. Le groupement  $-NO_2$  est lui-même une fonction amine masquée, qui sera « démasquée » par réduction seulement après réaction au niveau des deux sites électrophiles. La substitution du fluor par attaque

nucléophile, dans notre cas par une amine, n'interfère pas avec la formation d'une liaison amide qui, elle, nécessite l'activation préalable de la fonction carboxylique (figure 3.18, voie (I)). Si on désire faire d'abord le couplage de l'acide carboxylique avec une amine, il y a tout de même un risque d'interférence de la  $S_NAr$ , qui dépendra de la réactivité relative des deux sites électrophiles (figure 3.18, voie (II)).

Figure 3.18. Réaction des trois fonctions de l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque

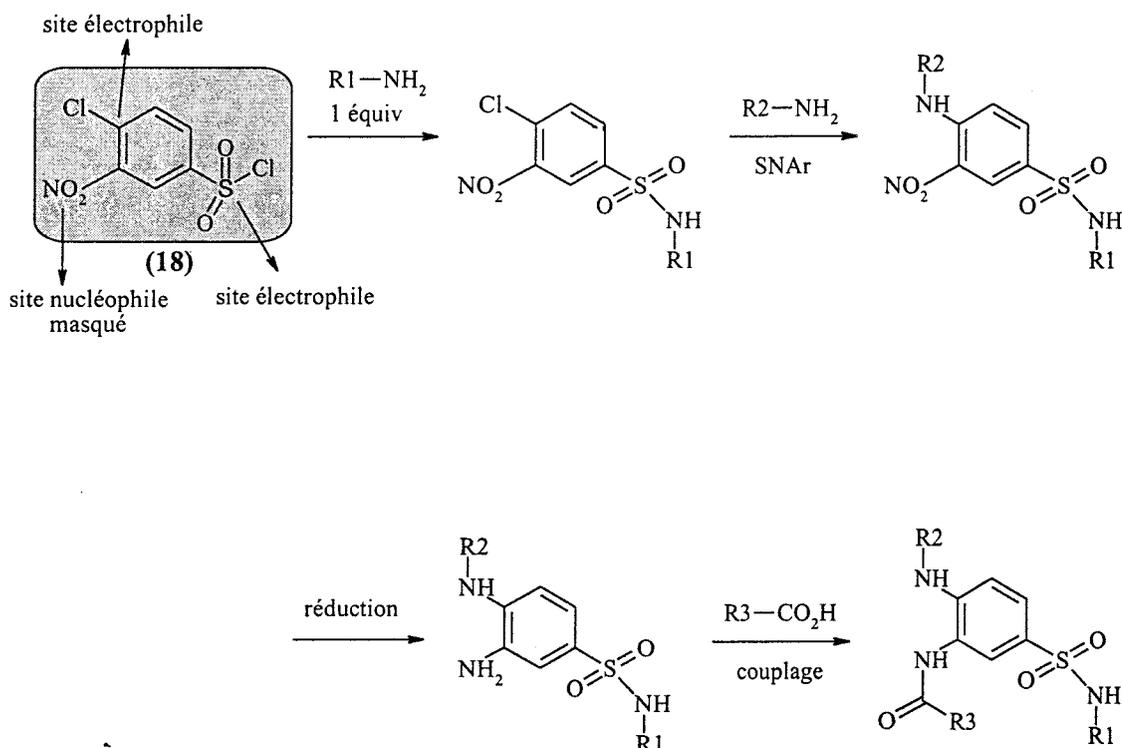


### B. Le tenseur précurseur chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle (18).

L'utilisation du chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle (18) peut être plus délicate, dans la mesure où l'attaque sélective peut se faire seulement s'il y a une différence de réactivité entre les deux sites électrophiles. Nous avons déjà constaté, lors de l'utilisation du composé (18) pour les synthèses des dérivés d'HOBt exposés dans le chapitre 2, que l'attaque nucléophile d'une amine se fait dans un premiers temps sur la fonction sulfochlorure. La  $S_NAr$  du chlore est plus difficile, nécessitant un excès d'amine et éventuellement du

chauffage. Par conséquent, l'utilisation d'un seul équivalent de nucléophile par rapport au sulfohalogénure conduit dans un premier temps au sulfonamide, qui pourra être ensuite mis en réaction avec un second nucléophile (figure 3.19).

**Figure 3.19.** Attaque sélective des trois fonctions du chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzène-sulfonyle (18)



### 3.II.1.3. Choix du support solide

Les polymères les plus utilisés pour la synthèse en phase solide sont les copolymères de styrène et divinylbenzène, développés au départ par Merrifield pour la synthèse des peptides. Ces polymères présentent une très bonne stabilité chimique et mécanique, ce qui est extrêmement important pour les synthèses multi-étape. Leur principal inconvénient est de ne gonfler correctement que dans des solvants aprotiques comme le  $CH_2Cl_2$ , le  $CHCl_3$ , le benzène ou le DMF. Ils ne gonflent presque pas dans des solvants protiques comme l'eau ou les alcools, ni dans des solvants peu polaires comme les éthers ou l'acétonitrile, ce qui rend impossible la réalisation de synthèses dans ces solvants.

Dans notre cas, la synthèse de benzimidazoles comporte deux étapes assez délicates, la réduction du groupement nitro aromatique et la cyclisation, qui peuvent nécessiter l'utilisation de solvants comme l'éthanol ou l'éther. Nous avons donc besoin d'un polymère utilisable avec tous les types de solvants. Nous avons choisi comme support insoluble pour notre synthèse un polymère de type polystyrène/divinylbenzène-polyéthylèneglycol (PS/DVB-PEG). Ces polymères sont constitués d'une partie centrale à base de polystyrène réticulé greffé par des chaînes de PEG. Ces polymères gonflent de manière importante dans tous les solvants, ce qui permet leur utilisation dans une gamme très large de réactions.<sup>73, 74, 75</sup>

### 3.II.2. Choix du schéma d'introduction de la diversité structurale des amines

L'étape combinatoire d'introduction de la diversité structurale des amines peut se faire de deux façons:

1/ en phase homogène, avant ancrage du tenseur précurseur sur résine (figure 3.20)

2/ en phase solide, après ancrage du tenseur précurseur sur résine (figure 3.21)

Figure 3.20. Introduction de la diversité structurale des amines en phase homogène

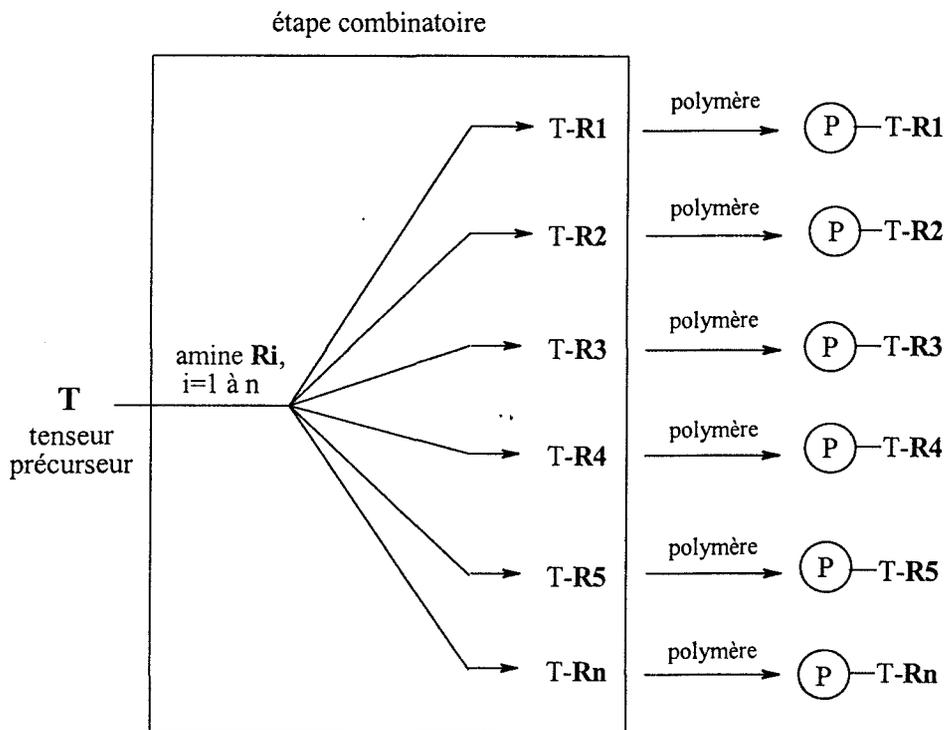
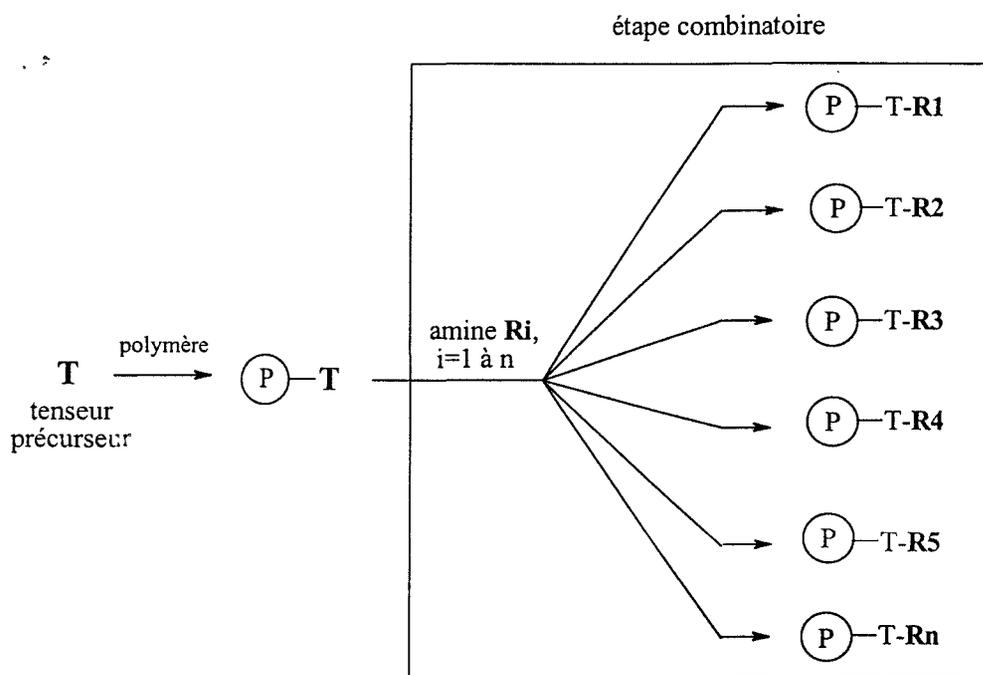


Figure 3.21. Introduction de la diversité structurale des amines en phase solide



### 3.II.2.1. Introduction de la diversité structurale des amines en phase homogène

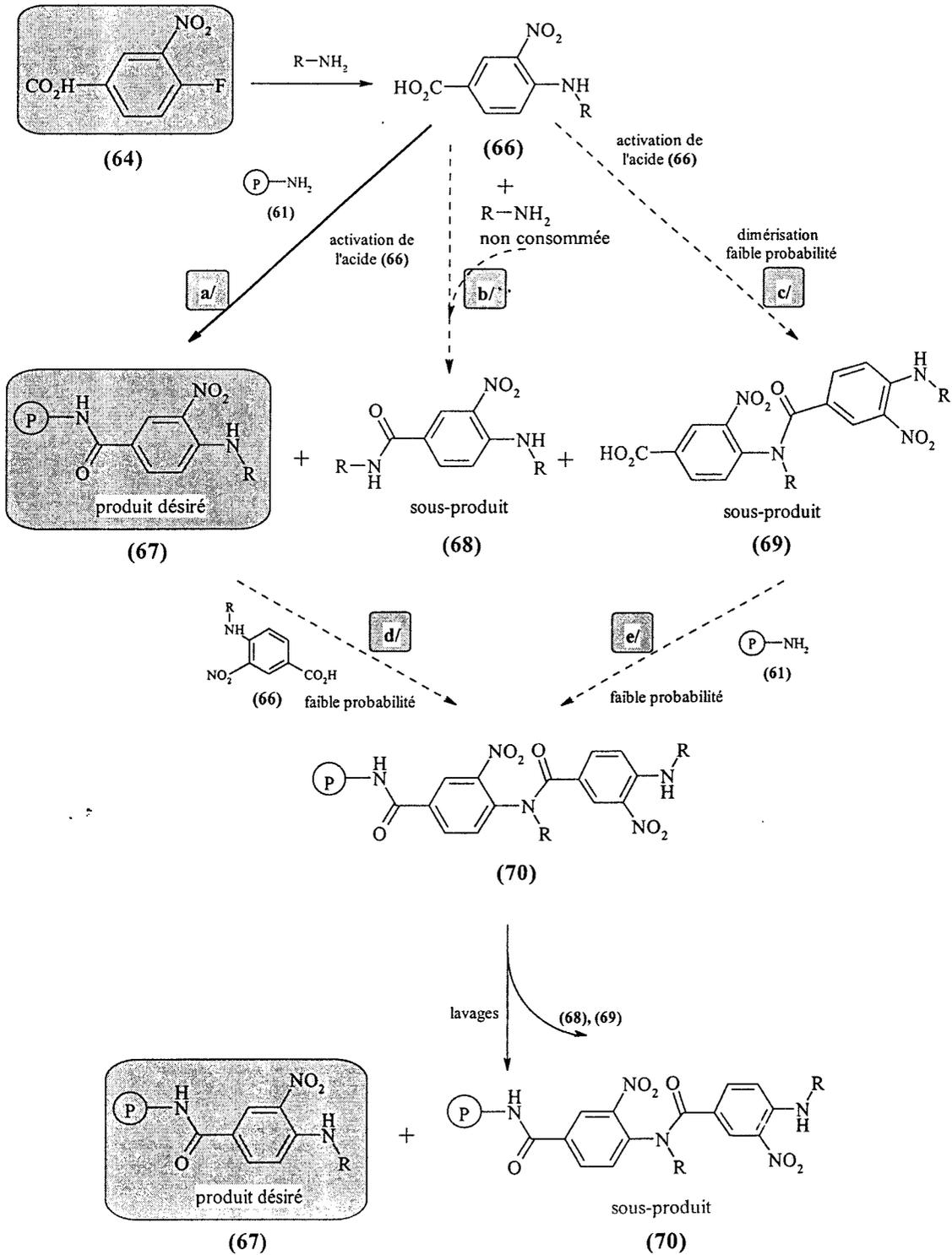
Selon ce schéma réactionnel, le tenseur précurseur est mis en réaction avec les amines en phase homogène de manière individuelle. Cette étape est suivie d'une étape non combinatoire, qui consiste en l'ancrage au support solide du tenseur précurseur déjà substitué (figure 3.20). Ce schéma réactionnel peut s'appliquer seulement au tenseur précurseur acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65). Les risques qui peuvent intervenir dans ce schéma sont les suivants:

1/ l'amine n'ayant pas réagi lors de la S<sub>N</sub>Ar va consommer en partie l'acide (66) activé, engendrant l'amide (68) en solution (figure 3.22, voie b/). Néanmoins, le produit désiré (67) obtenu sur polymère ne serait pas contaminé par cet amide, qui est éliminé lors des lavages après couplage.

2/ il peut y avoir une oligomérisation du dérivé bifonctionnel (66), lors de l'activation de sa fonction carboxylique. Ceci conduirait au dimère possédant une fonction carboxylique (69), et dans ce cas il y a des risques de contamination du produit en phase solide avec le dimère (70) ou même avec des oligomères (figure 3.22, voies c/ et e/). Ce même dimère (70) peut être aussi le résultat de la réaction de l'acide activé (66) avec l'aniline secondaire (67) obtenue sur polymère (figure 3.22, voie d/). Ces risques sont néanmoins négligeables, la nucléophilie de l'aniline secondaire *o*-nitrée étant beaucoup plus faible par rapport à la nucléophilie de l'amine primaire du bras Rink.

Concernant l'automatisation de ce procédé, l'adaptation au système robotique devrait se faire dès la première étape de synthèse, puisqu'elle implique déjà une étape combinatoire.

Figure 3.22. Réactions impliquées dans la synthèse lors de l'introduction de la diversité des amines en phase homogène

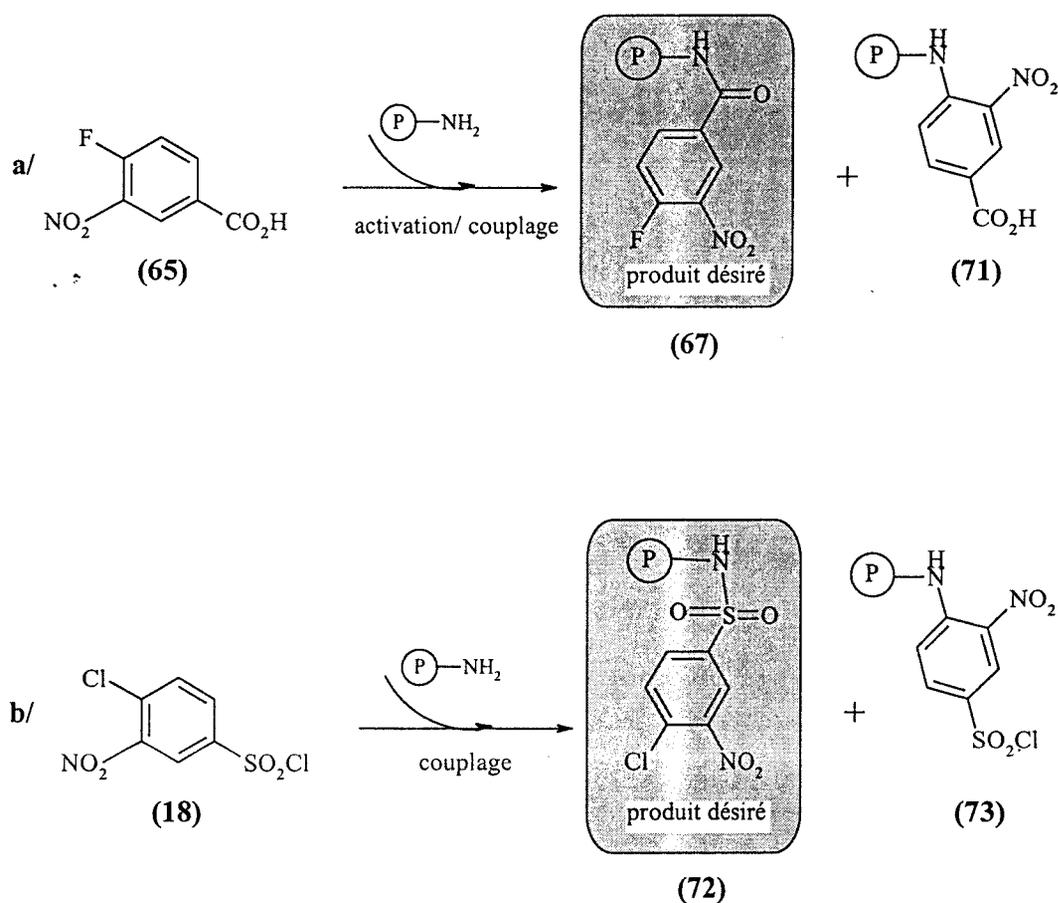


## 3.II.2.2. Introduction de la diversité structurale des amines en phase solide

Selon ce schéma réactionnel, le tenseur précurseur est d'abord mis en réaction, de façon non combinatoire, avec la totalité de résine nécessaire à la synthèse. Cette résine est ensuite divisée et mise en réaction avec les amines de manière individuelle (figure 3.21). Ce schéma réactionnel est plus généraliste, pouvant s'appliquer à l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (**64**) et également au chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyl (**18**).

Le risque associé à ce schéma correspond au fait que l'amine du bras Rink puisse attaquer le tenseur précurseur par S<sub>N</sub>Ar. Les produits (**71**) et (**73**) ainsi obtenus sur résine ne vont par ailleurs pas contaminer le produit, parce qu'ils ne seront pas clivés de la résine lors du traitement acide final (figure 3.23).

**Figure 3.23.** Réactions impliquées dans la synthèse lors de l'introduction de la diversité des amines en phase solide



L'introduction tardive des étapes combinatoires est aussi très avantageuse de point de vue de l'automatisation du procédé. La première réaction, non-combinatoire, peut se faire en amont du système robotique, ce qui réduit le nombre d'étapes nécessitant l'automatisation.

Nous avons considéré que ce schéma réactionnel était le plus adapté, autant point de vue chimique (plus généraliste, moins de risques de réactions secondaires) que du point de vue robotique (moins d'étapes à automatiser), à la synthèse parallèle à haut débit de benzimidazoles.

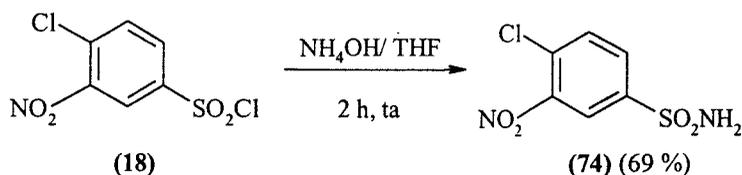
### 3.III. MISE AU POINT DE LA SYNTHÈSE DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE

#### 3.III.1. Ancrage du tenseur précurseur

##### 3.III.1.1. Utilisation du tenseur précurseur chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle (**18**).

*A. Synthèse en phase homogène du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74).* Afin d'en disposer comme produit de référence, le 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (**74**) a été synthétisé en phase homogène par traitement du chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle (**18**) dans le THF avec une solution d'ammoniaque, à température ambiante pendant 2 h (figure 3.24).

**Figure 3.24.** Synthèse en phase homogène du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (**74**)

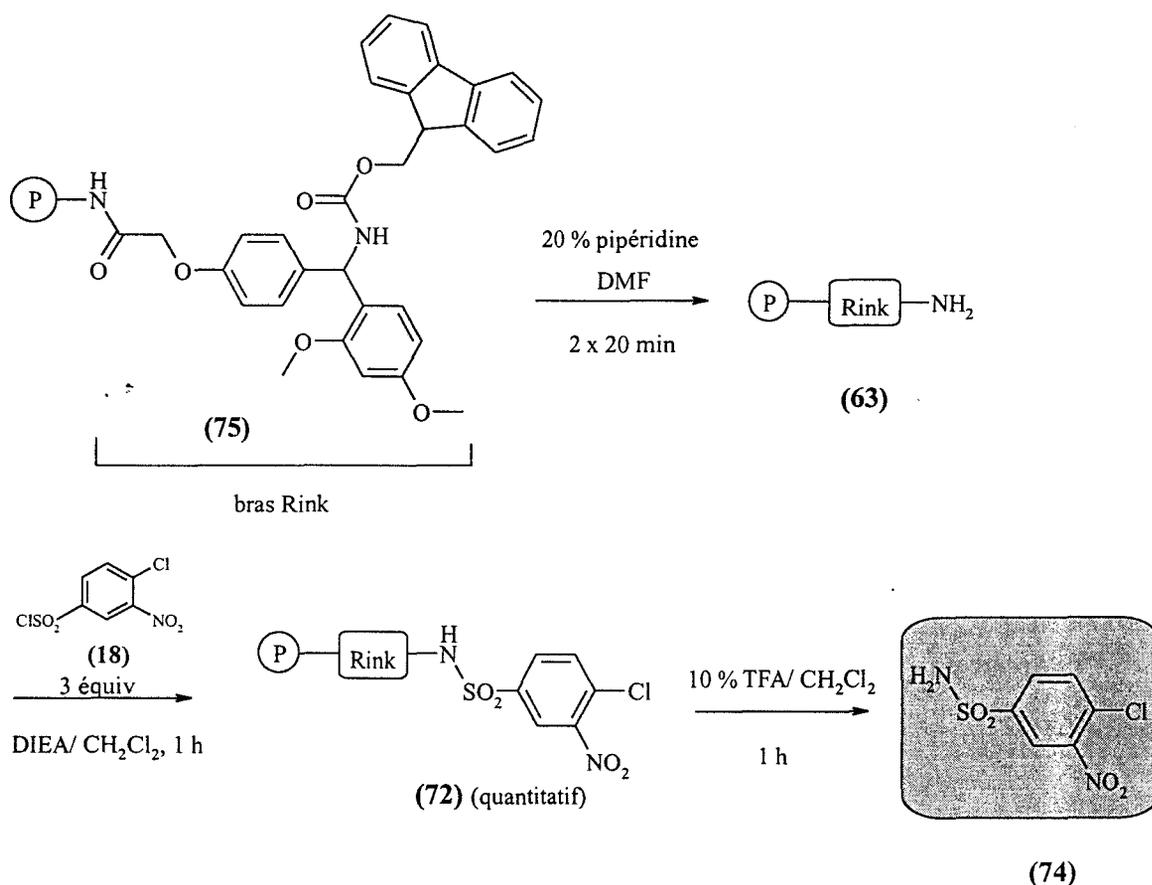


Le sulfonamide (**74**) a été utilisé comme témoin pour l'identification du produit obtenu sur résine, et pour tracer une courbe d'étalonnage HPLC (Annexe 8) qui, par la suite, a servi à quantifier le conversion lors des études d'optimisation de la SNAr.

**B. Synthèse du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) sur résine.** Nous avons une bonne connaissance de l'utilisation du sulfochlorure (18), qui nous avait servi pour la synthèse de la résine 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (20) décrite dans le chapitre.

Une résine type benzhydrylamine: 4-(2',4'-diméthoxyphényl-9-fluorénylméthoxy-carbonyl-aminométhyl)-phénoxy (75) ayant une charge de 0,47 mmol/ g a été déprotégée avec la pipéridine dans le DMF. La résine aminée obtenue (63) a été couplée avec le chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle (18) en excès, dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en présence de DIEA. La réaction était complète au bout de 1 h de couplage, comme indiqué par un test de Kaiser qualitatif effectué sur les grains de résine. La résine (72) a été ensuite traitée par une solution d'acide trifluoroacétique (TFA) dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (figure 3.25).

Figure 3.25. Synthèse en phase solide du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74)



Le produit obtenu par traitement acide de la résine a été analysé par CCM, HPLC et RMN et il a été comparé au 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) synthétisé en phase

homogène. Ces analyses ont indiqué que le produit clivé de la résine et celui synthétisé en phase homogène étaient identiques. Ce résultat est très intéressant du fait que, d'après nos connaissances, il s'agit du premier sulfonamide obtenu par clivage d'une résine de type benzhydrylamine.

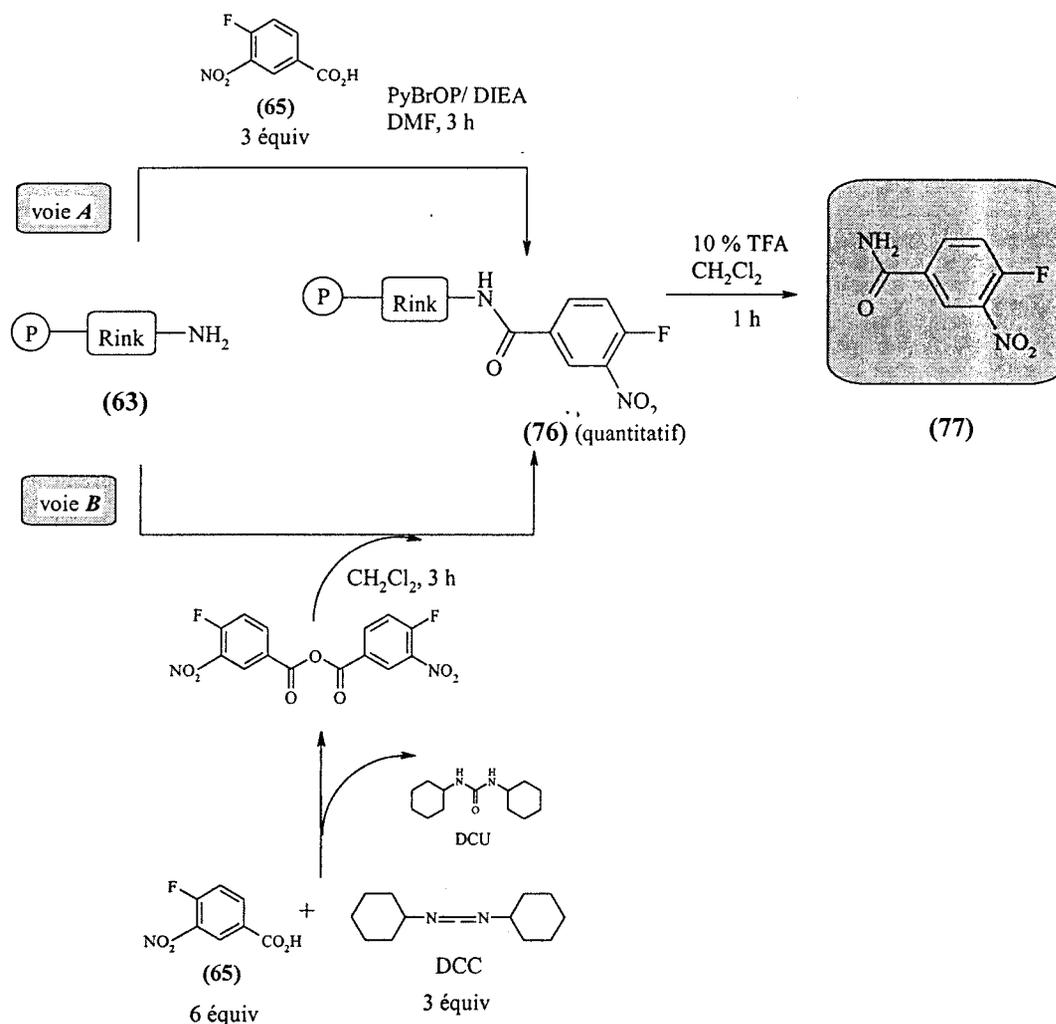
### 3.III.1.2. Utilisation du tenseur précurseur acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65).

Deux agents de couplage ont été testés pour l'ancrage de l'acide (65) sur une résine fonctionnalisée avec le bras Rink (75): le PyBrOP et le DCC.

*A. Ancrage en utilisant comme agent activateur le PyBrOP.* Une résine (63) ayant une charge de 0,271 mmol/g a été traitée par l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65) en présence de PyBrOP et de DIEA dans le DMF. La réaction était presque complète (99,6 % conversion) au bout de 3 h de couplage, comme indiqué par un test de Kaiser quantitatif effectué sur les grains de résine. La résine (76) ainsi obtenue a été traitée par une solution de TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (figure 3.26, voie A). La structure du carboxamide (77) obtenu par traitement acide de la résine a été confirmé par analyses HPLC, RMN et spectrométrie de masse.

*B. Ancrage en utilisant comme agent activateur le DCC.* Nous avons d'abord synthétisé l'anhydride symétrique de l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65) en présence d'un demi équivalent de DCC dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Après séparation par filtration de la DCU précipitée, une résine fonctionnalisée (63) ayant une charge de 0,236 mmol/g a été traitée par cette solution d'anhydride dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le couplage était complet au bout de 3 h de réaction, comme indiqué par un test de Kaiser qualitatif effectué sur les grains de résine (figure 3.26, voie B).

Figure 3.26. Synthèse en phase solide du 4-fluoro-3-nitrobenzamide



Les deux procédés d'ancrage conduisent donc sensiblement aux mêmes résultats. Le coût de l'acide étant relativement bas et le PyBrOP étant beaucoup plus cher que le DCC, nous avons choisi, pour des raisons économiques, d'utiliser par la suite l'activation au DCC pour la synthèse de quantités plus importantes de résine acylée (76).

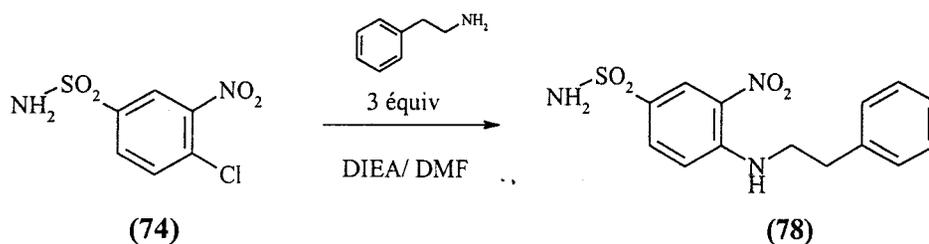
### 3.III.2. Substitution nucléophile aromatique

#### 3.III.2.1. Optimisation de la S<sub>N</sub>Ar sur le dérivé sulfonamide chloronitré

**A. Synthèse du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide en phase homogène.** Le 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78) a été synthétisé en

phase homogène par traitement du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (**74**) avec 3 équiv de phénéthylamine en présence de DIEA dans le DMF (figure 3.27).

**Figure 3.27.** Synthèse en phase homogène du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (**78**)



Les conditions de la SNA<sub>r</sub> n'ayant pas encore été mises au point, nous avons commencé l'étude par une réaction à température ambiante puis nous avons augmenté la température à 70 °C et à 100 °C afin d'améliorer la conversion. Le 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (**78**) a été purifié par chromatographie sur couche épaisse. Le produit pur ainsi obtenu nous a servi pour tracer une courbe d'étalonnage HPLC (Annexe 8) qui a ensuite été utilisée afin de quantifier les conversions lors des études d'optimisation de la SNA<sub>r</sub>.

**B: SNA<sub>r</sub> en phase homogène, à température ambiante.** Le 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (**74**) a été mis en réaction avec 3 équiv de phénéthylamine en présence de 3 équiv de DIEA dans le DMF à température ambiante. La réaction a été suivie par HPLC, et la conversion globale du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (**74**) a été établie selon la courbe d'étalonnage tracée précédemment (tableau 3.1).

**Tableau 3.1.** Conversion du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) lors de la S<sub>N</sub>Ar par la phénéthylamine en phase homogène, à température ambiante

Entrée	Temps (min)	Conversion du produit de départ (%)
1	10	17
2	30	28
3	60	44
4	90	50
5	120	56
6	150	63
7	180	74
8	210	76
9	240	81
10	270	83
11	300	86
12	330	87
13	360	89
14	390	91
15	420	92
16	450	93
17	480	94

En analysant les résultats exposés dans le tableau 3.1, on peut constater que la conversion du réactif de départ atteint des taux élevés (94 %) après 8 h de réaction à température ambiante, le produit largement majoritaire étant le produit attendu (78), issu de la S<sub>N</sub>Ar. Deux produits secondaires qui n'ont pas été identifiés ont également été détectés dans le milieu réactionnel.

**C. S<sub>N</sub>Ar en phase homogène, avec chauffage aux micro-ondes.** Les micro-ondes sont connues pour leur capacité d'accélérer certaines réactions chimiques ou bien de forcer les

réactions sur des chemins préférentiels.<sup>76, 77</sup> Il nous a paru donc judicieux de tester cette technique afin d'accélérer la SNAr et d'éliminer la formation de produits secondaires.

Le 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (**74**) a été mis en réaction avec 3 équiv de phénéthylamine en présence de 3 équiv de DIEA dans le DMF avec chauffage aux micro-ondes à différentes puissances, et la réaction a été suivie par HPLC. La conversion globale du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (**74**) et la conversion en produit désiré (**78**) ont été établies par HPLC, selon les courbes d'étalonnage tracées précédemment (tableau 3.2).

**Tableau 3.2.** Conversion globale et conversion en produit attendu du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (**74**) lors de la SNAr par la phénéthylamine en phase homogène, avec chauffage aux micro-ondes

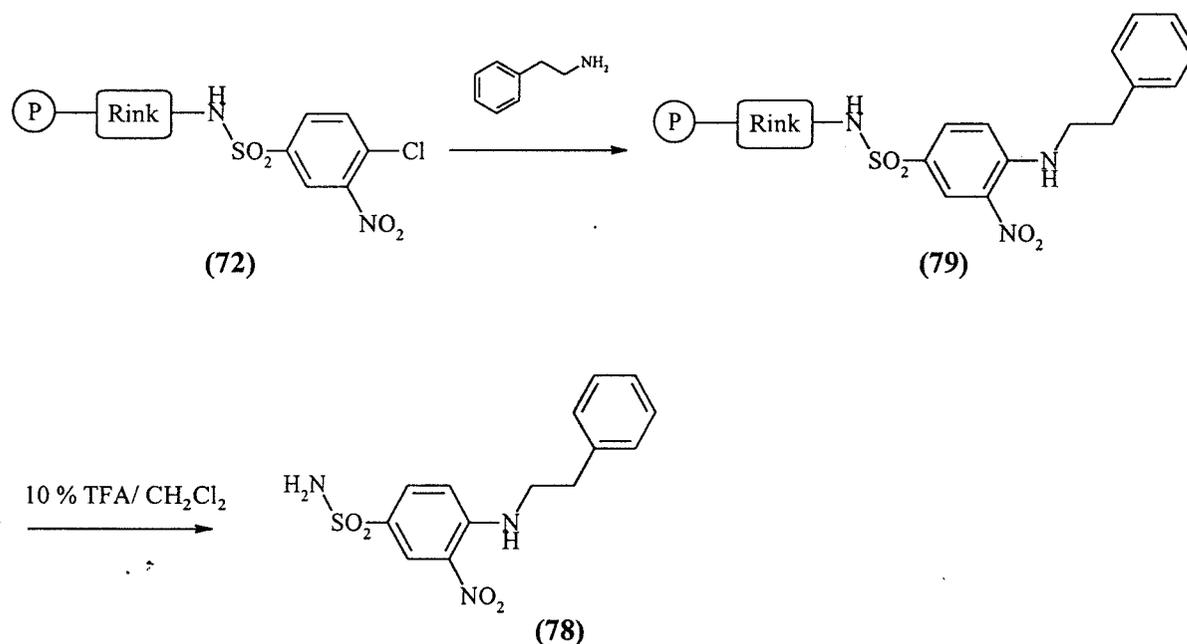
Entrée	Puissance (W)	Temps (min)	Conversion du produit de départ (%)	Conversion en produit attendu (%)	Commentaires
1	300	20	96	76	2 sous-produits
2	300	40	100	87	2 sous-produits
3	100	20	13	13	uniquement le produit désiré
4	100	40	26	26	uniquement le produit désiré
5	100 W ensuite 200 W	40  20	51	51	uniquement le produit désiré

Nous avons constaté qu'en utilisant le chauffage aux micro-ondes pendant 20 min à une puissance de 300 W (tableau 3.2, entrée 1), on obtient pratiquement la même conversion qu'après 8 h de réaction à température ambiante, mais aussi une quantité plus importante de produits secondaires. En travaillant à des puissances plus faibles (100 W ou 200 W : tableau 3.2, entrées 3 à 6) pour éviter la formation de sous-produits, les micro-ondes n'apportent qu'une faible amélioration par rapport au chauffage classique: après 40 min ou 60 min de chauffage aux micro-ondes, les conversions sont similaires à celles obtenues par chauffage

classique pour la même durée de réaction (voir le tableau 3.1, entrée 3). Cette technique n'apporte donc pas d'amélioration pour la réaction de  $S_NAr$ .

**D.  $S_NAr$  en phase solide.** La résine sulfonamide chloronitrée (72) préparée précédemment a été traitée dans un premier temps avec 3 équiv de phénéthylamine 0,1 M dans le DMF en présence de DIEA, à température ambiante, pendant 15 h. La résine a été ensuite lavée et une portion a été clivée par le TFA dans  $CH_2Cl_2$ .

**Figure 3.28.**  $S_NAr$  du dérivé sulfonamide chloronitré (72)



Le produit de clivage a été analysé par HPLC et la conversion a été évaluée selon les courbes d'étalonnage établies pour le 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) et le 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78). Dans ces conditions, nous avons obtenu une conversion de seulement 31 %, le reste étant du produit de départ n'ayant pas réagi. Nous avons attribué cette importante baisse de conversion à la différence de cinétique entre les réactions en phase homogène et les réactions en phase solide, la vitesse de ces derniers étant contrôlée par la diffusion des réactifs en solution vers les sites actifs situés à l'intérieur des grains de résine. Les réactions sur support solide seront donc favorisées par des concentrations plus élevées des réactifs, par une augmentation des températures de réaction et par des temps

de réaction plus longs. Dans notre cas, nous ne pouvions pas augmenter la concentration de l'amine parce que cela nous aurait amené, selon nos études précédentes de solubilité, à renoncer à une grande diversité d'amines. Nous avons donc agi sur d'autres facteurs: le temps de réaction, la température et l'utilisation de catalyseurs.

La SNAr a été poursuivie dans les mêmes conditions, 3 équiv de phénéthylamine dans le DMF en présence de DIEA à température ambiante pendant 16 h, sur la résine déjà substituée à un taux de 31 %. La conversion a été augmentée dans ces conditions à 54 %, ce qui n'était toujours pas satisfaisant. Par la suite nous en avons recours à une augmentation de la température de réaction et à l'utilisation d'une autre base, le 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-ene(1.5-5) (DBU), qui pourrait agir comme catalyseur.<sup>72</sup> Ces essais ont été effectués sur la résine substituée à un taux de 54 % en présence de 3 équiv de phénéthylamine et 3 équiv de base organique dans le DMF pendant 15 h (tableau 3.3).

**Tableau 3.3.** SNAr par la phénéthylamine en phase solide, en présence de DIEA et de DBU

Entrée	Température	Catalyseur	Conversion en produit attendu (%)
1	ta	DIEA	68
2	ta	DBU	63
3	50 °C	DIEA	88
4	50 °C	DBU	82

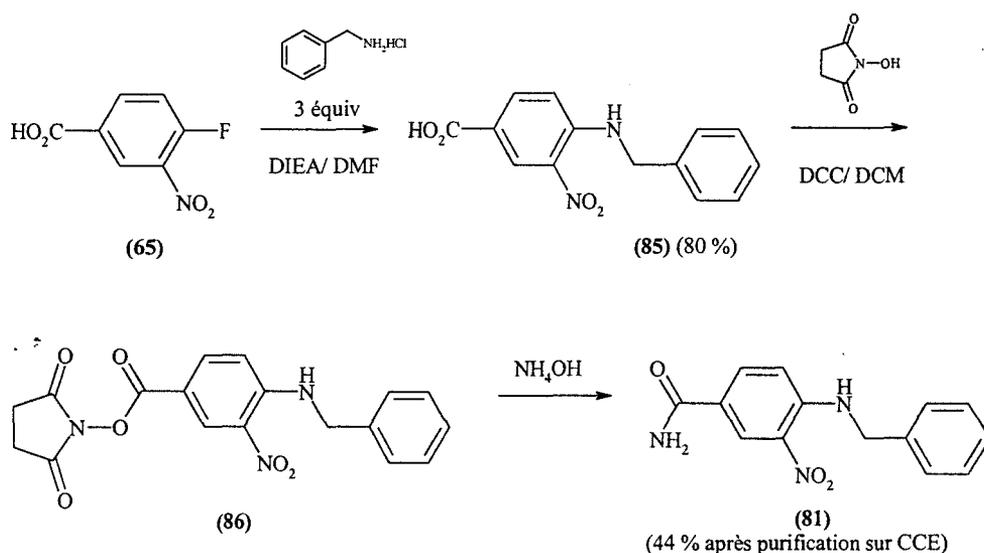
Les résultats exposés dans le tableau 3.3 montrent que les conversions sont nettement améliorées si la température de réaction est augmentée à 50 °C, mais les conversions ne sont pas améliorées en présence de DBU par rapport à la DIEA. Nous avons obtenu un taux de conversion satisfaisant, de 88 % (tableau 3.3, entrée 3), en réalisant la SNAr en présence de DIEA à 50 °C.

Une réaction de SNAr a été réalisée par la suite sur la résine (72) de départ non substituée, avec 3 équiv de phénéthylamine et 3 équiv de DIEA dans le DMF à 50 °C, pendant 20 h. La conversion a été totale, et nous avons décidé de travailler par la suite à 50 °C pour la SNAr du dérivé sulfonamide chloronitré (72).

## 3.III.2.2. SNAr en phase solide sur le dérivé carboxamide fluoronitré (76)

**A. Synthèse en phase homogène du 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (81).** Afin d'en disposer comme étalon, nous avons synthétisé le 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (81) en phase homogène. L'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65) a été traité par 3 équivalents de benzylamine. Après purification par recristallisation, l'acide 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzoïque (85) a été activé en présence de DCC sous forme d'ester de N-hydroxysuccinimide (86), et il a été mis en réaction avec une solution d'ammoniaque (figure 3.29). Le 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (81) ainsi obtenu a été purifié par chromatographie sur couche épaisse.

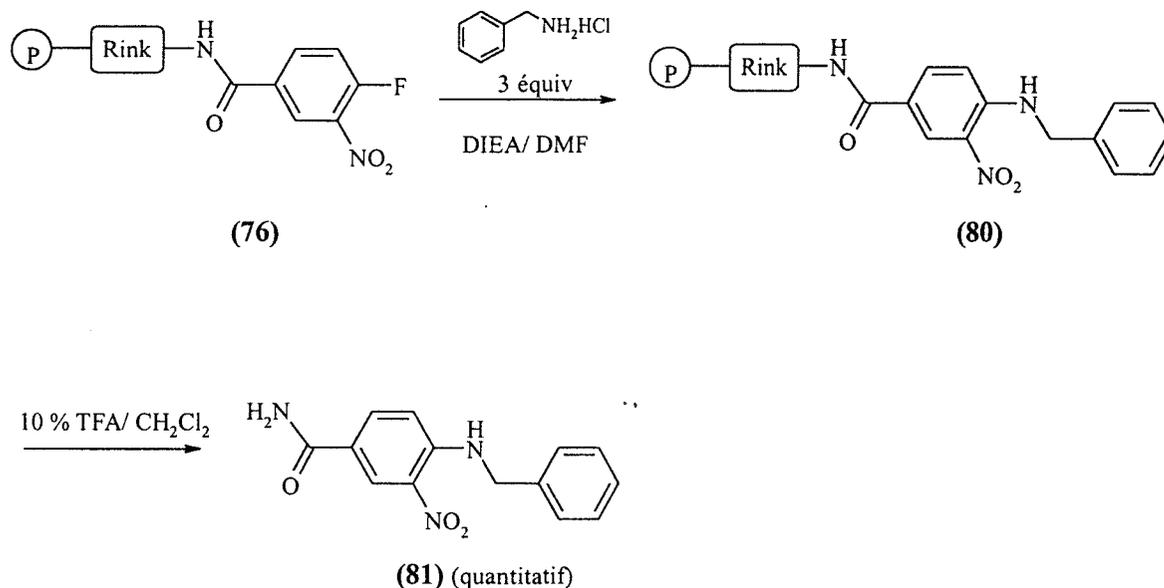
**Figure 3.29. Synthèse en phase homogène du 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (81)**



**B. Synthèse du 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (81) en phase solide.**

La résine carboxamide fluoronitrée (76) a été d'abord traitée avec la benzylamine, dans les conditions précédemment mises au point : 3 équivalents d'amine en présence de DIEA dans le DMF à 50 °C (figure 3.30).

Figure 3.30. SNAr du dérivé carboxamide fluoronitré (76)



Après 6 h de réaction la résine a été lavée et une portion a été clivée par le TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le contrôle HPLC du produit ainsi obtenu a montré que la réaction était totale.

Sachant que les dérivés aromatiques fluoronitrés sont plus réactifs vis-à-vis de la SNAr que les dérivés chloronitrés,<sup>72</sup> nous avons tenté d'effectuer cette réaction à température ambiante. Au bout de 3 h de réaction la résine a été lavée, une portion a été clivée par le TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et le produit de clivage a été contrôlé par HPLC. La réaction était presque totale, puisque seules des traces de produit non substitué ont été détectées.

Nous avons donc décidé de travailler par la suite à température ambiante pour la SNAr du dérivé carboxamide fluoronitrée (76).

### 3.III.3. Réduction du groupement nitro aromatique

#### 3.III.3.1. Choix de l'agent réducteur

Beaucoup de méthodes ont été développées pour la réduction des dérivés nitrés aromatiques en amines. Les plus couramment utilisées sont les métaux de transition (Zn, Sn ou Fe) en milieu acide (HCl ou AcOH), l'hydrogénation catalytique en présence de Nickel de Raney, Pd sur charbon ou autre métaux de transition,<sup>78</sup> l'hydrazine en présence de Nickel de

Raney,<sup>79</sup> de Pd sur charbon ou de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> et FeCl<sub>3</sub>,<sup>80</sup> les hydrures métalliques (KBH<sub>4</sub> ou NaBH<sub>4</sub>) en présence de catalyseurs comme SnCl<sub>2</sub>, CoCl<sub>2</sub>, NiCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.<sup>81</sup>

Dans le cas de réduction des dérivés nitrés aromatiques sur support insoluble, le choix du réactif de réduction doit tenir compte d'une série d'impératifs qui sont plus contraignants que dans le cas de la réduction d'un composé en solution.

1/ les réactifs doivent être solubles dans les solvants utilisés pour avoir, d'une part, une bonne diffusion vers les centres réactifs de la résine et pour permettre, d'autre part, leur séparation par filtration en fin de réaction. Ceci exclut tout l'hydrogénation catalytique et la réduction en présence de catalyseurs en phase hétérogène.

2/ le réactif de réduction ne doit pas interagir avec le bras de fonctionnalisation de la résine. Cette interaction peut avoir plusieurs effets, comme le clivage précoce du produit, ou une modification de la structure du bras de fonctionnalisation, induisant l'impossibilité de clivage du produit fini de la résine. Dans le cas concret du bras Rink qui est sensible au clivage en milieu acide, la réduction en présence de catalyseurs acides est exclue.

De plus, dans le cas de la synthèse combinatoire où la diversité moléculaire est impérative, il faut trouver pour chaque étape des conditions de réaction standard, qui seront tolérées par une variété très large de fonctions chimiques. Dans ce contexte, le réactif de réduction doit être compatible avec d'autres fonctions sensibles à la réduction notamment aldéhyde, cétone, ester, nitrile, halogène ou éther benzylique, permettant d'aboutir à une grande diversité structurale.

Le chlorure stanneux (SnCl<sub>2</sub>) était depuis longtemps utilisé pour réaliser des réductions en présence d'HCl et d'eau.<sup>82</sup> En 1936, Albert *et al.* ont décrit l'utilisation de SnCl<sub>2</sub> anhydre dans des conditions très douces (dans un mélange AcOH/anhydride acétique et à froid) pour la réduction très efficace de nitroacridones.<sup>83</sup> En 1981, Satoh *et al.* ont proposé l'utilisation du mélange NaBH<sub>4</sub>/SnCl<sub>2</sub> pour la réduction sélective des dérivés nitrés aromatiques dans l'EtOH.<sup>81</sup>

Plus intéressant encore, Bellamy *et al.* ont décrit en 1984 la réduction des dérivés nitrés aromatiques en amines par le SnCl<sub>2</sub> (dihydraté ou anhydre) dans l'EtOH ou dans l'AcOEt à 70 °C.<sup>84</sup> Une grande variété de nitrobenzènes substitués ont été réduits de façon sélective par cette méthode avec de très bons rendements (plus de 90 % dans tous les cas), d'autres fonctions sensibles à la réduction ou aux acides (ester, éther, aldéhyde, halogène, nitrile) étant retrouvées intactes après réduction. De plus, les rendements en anilines substituées n'étaient

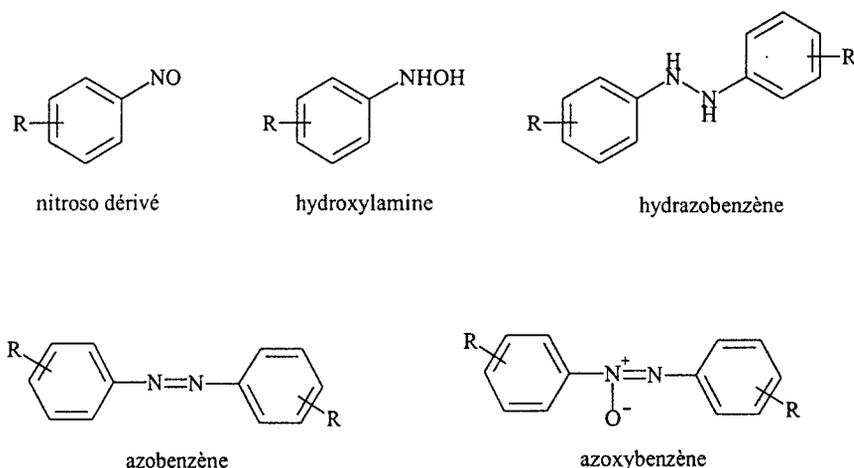
pas affectés par la nature ou la position des substituants des nitrobenzènes correspondants. L'utilisation de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$  dans le DMF a été aussi mentionnée récemment par Meyer *et al.* pour la réduction de dérivés nitrés aromatiques en phase solide, dans le cadre d'un schéma réactionnel plus complexe pour la synthèse de chimiothèques de phénols.<sup>30</sup>

En considérant toutes ces données bibliographiques, nous avons jugé que le  $\text{SnCl}_2$  en milieu neutre était un réducteur bien adapté pour notre cas particulier de réduction de dérivés nitrés aromatiques, précurseurs de benzimidazoles, en phase solide.

### 3.III.3.2. Mécanisme de réduction des dérivés nitrés par le $\text{SnCl}_2$

La réduction des dérivés nitrés aromatiques peut donner une gamme large de produits, correspondant à d'états de réduction intermédiaires: nitroso dérivés, hydroxylamines, hydrazobenzènes, azobenzènes et azoxybenzènes peuvent être obtenus de cette manière (figure 3.31).<sup>85</sup> Une série de procédés ont été développés pour obtenir le dérivé réduit au stade désiré.<sup>86</sup>

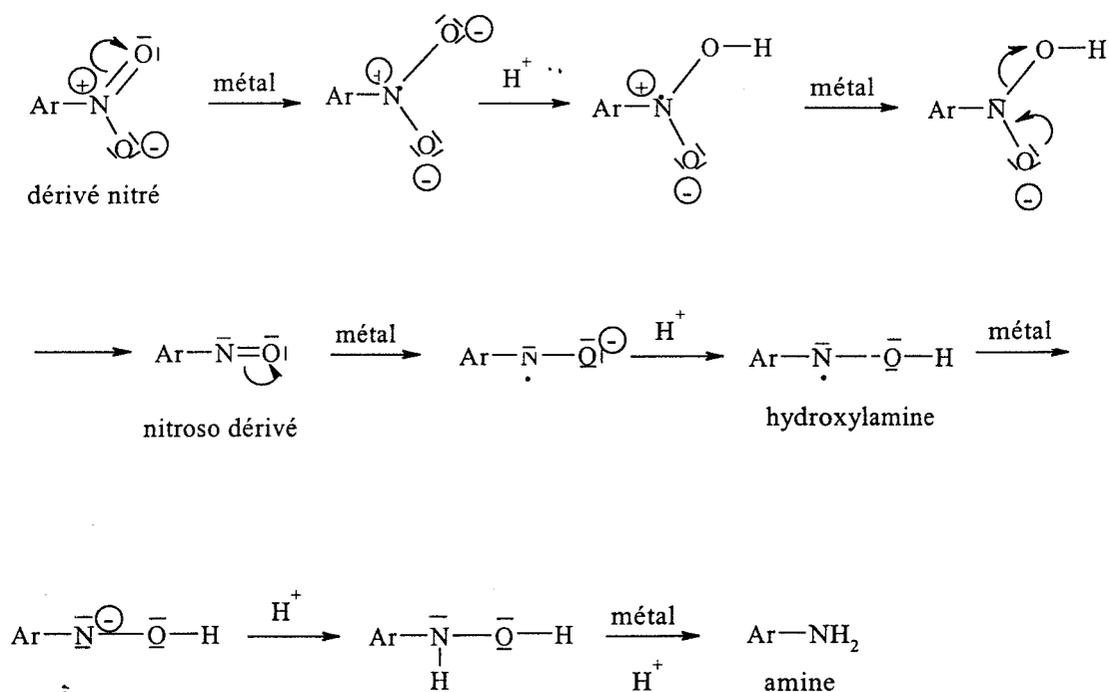
**Figure 3.31.** Produits pouvant être obtenus lors de la réduction des dérivés nitrés aromatiques



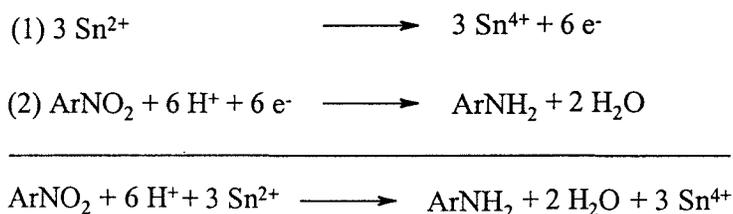
La réduction par des métaux en présence d'acides minéraux, par exemple, ne peut pas être arrêtée à une étape intermédiaire, conduisant toujours à l'amine. Le mécanisme de ces réductions a été très peu étudié, mais il est présumé qu'avec au moins certains agents

réducteurs comme les métaux en présence de donneurs de protons, les nitroso dérivés et les hydroxylamines sont intermédiaires de la réaction (figure 3.32). Les nitroso dérivés n'ont en fait jamais été isolés en raison de leur grande réactivité. Par contre les hydroxylamines peuvent, elles, être isolées.

Figure 3.32. Le mécanisme général de réduction en présence de métaux et donneurs de protons <sup>85</sup>



Le mécanisme de réduction par le SnCl<sub>2</sub> est vraisemblablement le même que celui de la réduction par des métaux en présence d'acides minéraux. L'étain passe du degré d'oxydation +2 au degré d'oxydation +4, tandis que le donneur de protons est soit l'EtOH, si pour la réduction on utilise le SnCl<sub>2</sub> anhydre dans l'EtOH, soit l'eau, si pour la réduction on utilise le SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O dans l'AcOEt ou le DMF. <sup>84</sup>

Figure 3.33. Réduction des dérivés nitrés par le  $\text{SnCl}_2$ 

### 3.III.3.3. Optimisation de la réduction des dérivés nitrés sulfonamide et carboxamide en phase homogène et en phase solide

*A. Etude de stabilité du bras de fonctionnalisation Rink dans les conditions de réduction.* Deux questions s'imposent concernant l'utilisation du  $\text{SnCl}_2$  pour la réduction en phase solide:

1/ Un traitement par le  $\text{SnCl}_2$  conduit-il à une modification du bras de fonctionnalisation Rink, rendant impossible le clivage du produit ancré sur résine ?

2/ Un traitement par le  $\text{SnCl}_2$  provoque-t-il, par son acidité, le clivage de la molécule ancrée sur résine par le bras Rink?

Pour répondre à ces questions, l'action du  $\text{SnCl}_2$  sur la résine (**82**) ayant ancrée la glycine *N*-protégée par un groupement 9-fluorénylméthoxy-carbonyle (Fmoc), a été étudiée.

Une résine fonctionnalisée (**75**) ayant une charge de 0,25 mmol/g a été d'abord déprotégée par la pipéridine dans le DMF, puis couplée avec la Fmoc-Gly-OH en présence de PyBrOP et de DIEA dans le DMF (figure 3.34). La réaction était complète au bout de 1 h de couplage, comme indiqué par un test de Kaiser qualitatif effectué sur les grains de résine. Une portion de cette résine a été traitée par le TFA dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (figure 3.34 voie a/). La Fmoc-Gly-NH<sub>2</sub> (**83**) ainsi obtenue a été analysée par CCM et HPLC et a été utilisée par la suite comme témoin pour l'identification du produit clivé de la résine après traitement au  $\text{SnCl}_2$ .

Une deuxième portion de résine (**82**) a été traitée par 5 équiv de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans l'EtOH absolu à 70 °C, pendant 14 h. Le surnageant a été analysé par CCM et HPLC, et la présence de Fmoc-Gly-NH<sub>2</sub> (**83**) vraisemblablement coupée de la résine dans les conditions de réduction a été détectée (figure 3.34, voie b/).

La résine traitée par  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  a été ensuite clivée par le TFA dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Le surnageant a été analysé par CCM et HPLC et la présence de Fmoc-Gly- $\text{NH}_2$  (**83**) a également été constatée (figure 3.29, voie c/).

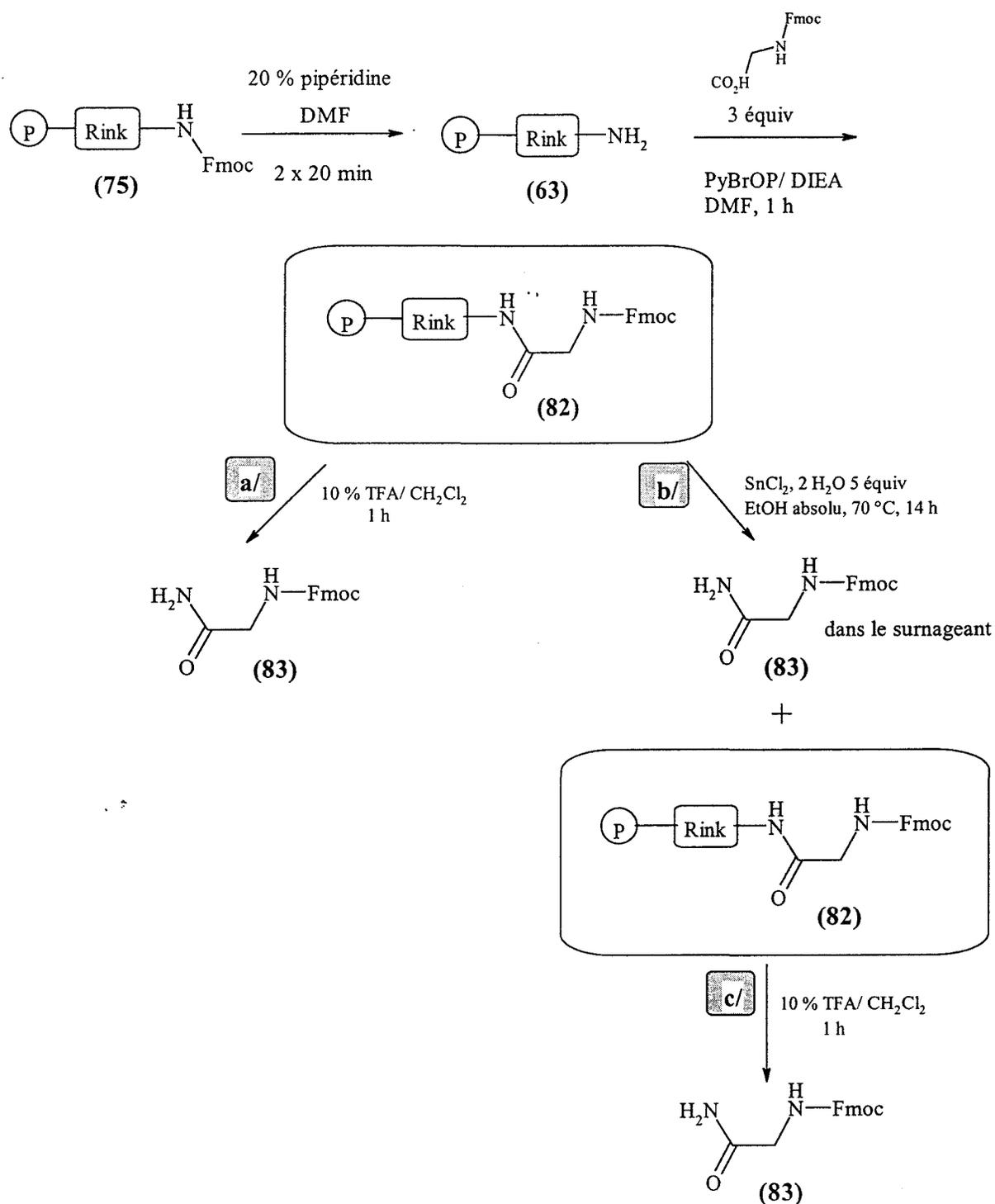
Cette étude a montré que le clivage du produit ancré sur résine est toujours possible, même après un long traitement au  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  à chaud, et que le  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans l'EtOH provoque la clivage partiel du produit : environ 8 % de produit a été clivé dans les conditions de cette étude. Ceci est imputable à l'acidité du milieu réactionnel, en raison de la formation d'HCl à partir du  $\text{SnCl}_2$  en présence d'eau. Nous avons alors tenté :

1/ l'utilisation de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en présence de 1 équiv de DIEA pour neutraliser l'HCl formé dans le milieu réactionnel durant la réduction,

2/ l'utilisation comme solvant de réduction du DMF qui, par sa capacité élevée de solvation des protons permettrait de beaucoup diminuer les risques de clivage.<sup>87</sup>

La stabilité de la résine (**82**) a été par la suite testée en présence de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans l'EtOH à 70 °C avec 1 équiv de DIEA, et en présence de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans le DMF. Dans ces conditions, nous n'avons pas observé de clivage.

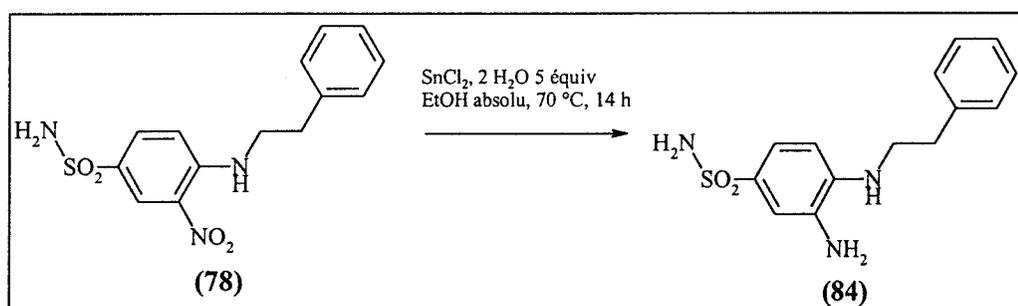
Figure 3.34. Réactions impliquées dans l'étude de stabilité du bras de fonctionnalisation Rink en présence de  $\text{SnCl}_2$



**B. Etude de la réduction du dérivé nitré sulfonamide.**

**Essais préliminaires de réduction en phase homogène du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78).** Afin de disposer du produit réduit de référence, nous avons au départ reproduit les conditions de réduction décrites par Bellamy *et al.* : 5 équiv de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans l'EtOH à 70 °C.<sup>84</sup> La réaction a été suivie par HPLC et la conversion du dérivé nitré (78) a été calculée à l'aide des courbes d'étalonnage précédemment établies. Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 3.4. Le 3,4-(2-phénéthyl)diamino-benzènesulfonamide (84) ainsi obtenu a été purifié par HPLC préparative, et sa structure a été confirmée par RMN et spectrométrie de masse.

**Tableau 3.4.** Réduction du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78) avec 5 équiv de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans l'EtOH à 70 °C



Entrée	Temps (h)	Conversion du produit de départ (78) (%)
1	1,1	61
2	1,5	72
3	2	78
4	2,5	88
5	3	92
6	3,5	95
7	4	97
8	4,5	98
9	5	99
10	5,5	99

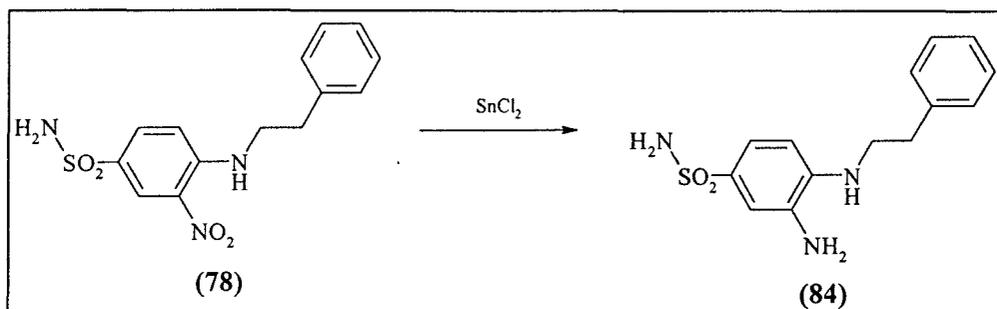
La conversion du dérivé nitré (**78**) était pratiquement complète au bout de 5 h de réduction. Nous avons également constaté la formation d'un sous-produit non identifié présent en faible quantité. Le milieu réactionnel a été analysé par LC/MS (*Liquid Chromatography/Mass Spectrometry*) et nous avons confirmé la formation, de façon majoritaire, du produit désiré (**84**).

**Etudes comparées de réduction en phase homogène du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78): choix des meilleures conditions de réduction.** Différentes conditions de réaction ont été étudiées permettant, d'une part, d'aboutir à une conversion maximum de dérivé réduit (**84**) (augmentation de la quantité d'agent réducteur, changement de solvant) et, d'autre part, d'éviter le décrochage du produit de la résine lors de la réduction en phase solide (réduction en présence de DIEA avec le  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ou avec le  $\text{SnCl}_2$  anhydre, et réduction dans le DMF).

En analysant les résultats exposés dans le tableau 3.5 ainsi que les chromatogrammes HPLC des milieux réactionnels correspondants (Annexe 9), nous avons tiré les conclusions suivantes:

- 1/ la conversion du dérivé nitré (**78**) est plus rapide en présence qu'en absence de DIEA mais conduit à des quantités plus importantes de sous-produit (tableau 3.5, entrées 1 et 2). D'autre part, nous avons constaté la précipitation du chlorhydrate de DIEA, susceptible de poser des problèmes de lavage et de colmatage des filtres dans une stratégie de synthèse en phase solide.
- 2/ la réduction avec le  $\text{SnCl}_2$  anhydre donne des résultats similaires à la réduction avec le  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (tableau 3.5, entrées 1 et 3).
- 3/ l'augmentation de la concentration ainsi que du nombre d'équivalents de  $\text{SnCl}_2$  accélèrent la réaction (tableau 3.5, entrées 3 et 4).
- 4/ dans tous les cas où on travaille dans l'EtOH la réduction du dérivé nitré (**78**) est incomplète, et conduit en même temps à des quantités plus ou moins importantes de sous-produit. La réduction incomplète peut être expliquée par une cinétique de réaction lente dans nos conditions de concentration de l'agent réducteur, le  $\text{SnCl}_2$  étant insoluble dans l'EtOH à des concentrations plus élevées.
- 5/ la réduction avec 10 équiv de  $\text{SnCl}_2$  à une concentration 2,0 M dans le DMF est presque complète au bout de 7 h et conduit uniquement à la *o*-phénylenediamine (**84**) (tableau 3.5, entrée 5).

**Tableau 3.5.** Réduction du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78) dans différentes conditions



Conditions expérimentales						
Entrée	Réducteur ; no. d'équiv.	Concentration ; solvant	Additifs <sup>a</sup>	Température ; durée	Conversion (%) <sup>b</sup>	Produits obtenus
1	SnCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O 5 équiv.	0,33 M ; EtOH	/	70 °C ; 3 h 6 h	85 94	(84) + sous- produit
2	SnCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O 5 équiv.	0,33 M ; EtOH	DIEA 1 équiv	70 °C ; 3 h 6 h	99 100	(84) + sous- produit
3	SnCl <sub>2</sub> anhydre 5 équiv.	0,33 M ; EtOH	/	70 °C ; 3 h 6 h	81 92	(84) + sous- produit
4	SnCl <sub>2</sub> anhydre 10 équiv.	0,67 M ; EtOH	/	70 °C ; 3 h 6 h	95 100	(84) + sous- produit
5	SnCl <sub>2</sub> anhydre 10 équiv.	2,0 M ; DMF	/	température ambiante ; 7 h	99	(84)

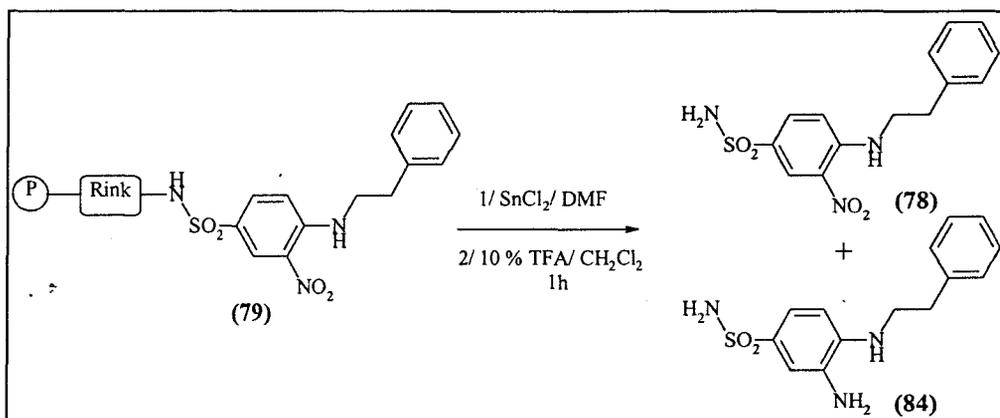
<sup>a</sup> La quantité de base est indiquée par rapport au SnCl<sub>2</sub>. <sup>b</sup> Conversion par rapport au produit de départ (78).

Nous avons trouvé que les meilleures conditions de réduction en phase homogène étaient : 10 équiv de SnCl<sub>2</sub> 2 M dans le DMF, à température ambiante.

**Réduction en phase solide du dérivé nitré sulfonamide (79).** Tenant compte des résultats obtenus en phase homogène, la réduction en phase solide du dérivé nitré sulfonamide a été testée en utilisant différentes concentrations de  $\text{SnCl}_2$  dans le DMF, en présence et en absence de base (tableau 3.6). Conformément aux études de réduction en phase homogène, la présence de DIEA accélère la réduction. Pour la réduction en phase solide nous avons préféré utiliser à la place de DIEA la pyridine, dont le chlorhydrate est plus soluble. Les surnageants de réduction ont été contrôlés par HPLC, mais dans aucun cas nous n'avons détecté de produits clivés de la résine lors de la réduction.

Les produits obtenus sur support solide ont été contrôlés en solution par HPLC et LC/MS, après clivage de la résine par le TFA dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Ces produits n'ont été analysés que du point de vue qualitatif (consommation ou non du réactif de départ et formation ou non du produit attendu). Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 3.6.

**Tableau 3.6.** Résultats de la réduction en phase solide du dérivé nitré sulfonamide <sup>a</sup>



Entrée	Conditions expérimentales	Produits clivés de la résine
1	10 équiv $\text{SnCl}_2$ 1,0 M/ DMF, ta, 10 h	(78)
2	10 équiv $\text{SnCl}_2$ 1,0 M/ DMF, ta, 72 h	1/ (78) 2/ traces de (84) 3/ sous-produits non identifiés
3	100 équiv $\text{SnCl}_2$ , 2 $\text{H}_2\text{O}$ 2,0 M/ DMF, 0,5 équiv pyridine, ta, 23 h	1/ (84) majoritaire 2/ traces de (78)

En analysant ces résultats, nous avons émis les hypothèses suivantes:

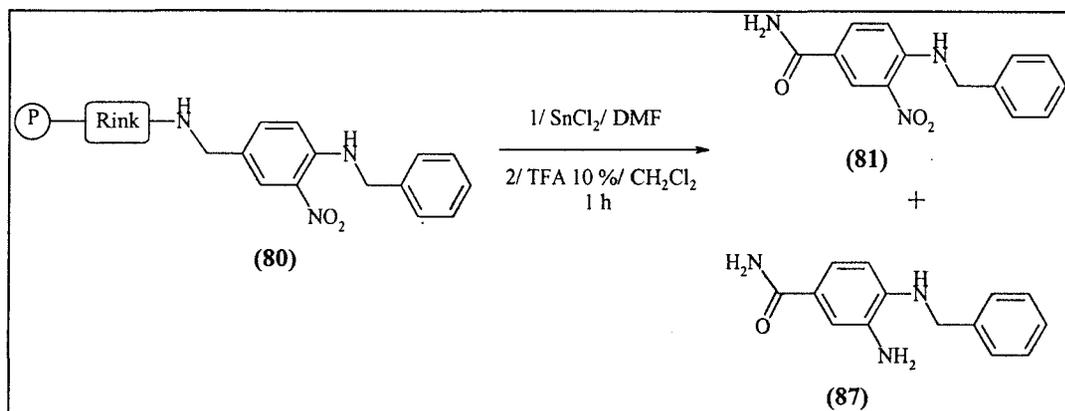
1/ la cinétique extrêmement lente de réduction en phase solide (tableau 3.6, entrées 1 et 2) peut être due :

- à l'effet de diffusion du réactif vers les sites actifs de la résine
- à la diminution de la concentration du réactif suite à l'augmentation du volume de solvant imposée par la nécessité d'un bon gonflement de la résine
- à un effet de blocage par complexation du  $\text{SnCl}_2$  par les oxygènes du PEG de la résine.

2/ l'augmentation de la concentration et du nombre d'équivalents de  $\text{SnCl}_2$  ainsi que la présence d'une base (tableau 3.6, entrée 3) accélèrent beaucoup la cinétique de la réduction en phase solide. L'utilisation d'une solution très concentrée de  $\text{SnCl}_2$  corrélée avec le volume de solution nécessaire pour assurer un bon gonflement de la résine, nous ont conduit à l'utilisation d'un excès très important d'agent réducteur (100 équiv).

Nous avons décidé d'utiliser les conditions suivantes de réduction en phase solide du dérivé nitré sulfonamide (**79**) : une solution de  $\text{SnCl}_2$  2,0 M dans le DMF (soit 100 équiv de  $\text{SnCl}_2$  par rapport à la résine), 0,5 équiv de pyridine par rapport au  $\text{SnCl}_2$ , 24 h à température ambiante.

**C. Etude de la réduction en phase solide du dérivé nitré carboxamide (80).** Nous avons réalisé des essais de réduction du dérivé nitré carboxamide ancré sur résine (**80**) dans différentes conditions, proches de celles établies pour la réduction sur résine du dérivé nitré sulfonamide (**79**). Les produits obtenus sur support solide ont été contrôlés en solution par HPLC, après clivage de la résine par le TFA dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . L'analyse de ces produits n'a été effectuée que du point de vue qualitatif (consommation ou non du réactif de départ et formation ou non du produit attendu). Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 3.7.

Tableau 3.7. Résultats de la réduction en phase solide du dérivé nitré carboxamide (80)<sup>a</sup>

## Conditions expérimentales

Entrée	Conc. du $\text{SnCl}_2$ ; nombre d'équiv	Additifs <sup>b</sup>	Durée	Produits clivés de la résine
1	2,0 M 100 équiv	/	12 h	1/ (87) majoritaire 2/ (81) traces
2	2,0 M 100 équiv	pyridine 1 équiv	12 h	1/ (87) majoritaire 2/ (81) traces
3	2,0 M 100 équiv	/	24 h	(87)
4	2,0 M 100 équiv	pyridine 1 équiv	24 h	(87)
5	2,0 M 100 équiv	pyridine 0,5 équiv	24 h	(87)

<sup>a</sup> La réduction a été réalisée dans le DMF, à température ambiante. <sup>b</sup> La quantité de base est indiquée par rapport au  $\text{SnCl}_2$ .

Lors de cette étude nous avons constaté que :

- 1/ les milieux réactionnels sont plus propres quand la réduction est réalisée en présence de pyridine
- 2/ après 12 h de réaction avec ou sans pyridine, la réduction du dérivé nitré carboxamide est presque totale (tableau 3.7, entrées 1 et 2)
- 3/ après 24 h de réaction on ne détecte plus de produit non réduit (tableau 3.7, entrées 3 et 4)

4/ l'utilisation de 1 équivalent de pyridine n'apporte pas d'amélioration par rapport à 0,5 équivalent, mais conduit à l'apparition d'un précipité qui par la suite rend difficiles les lavages de la résine (tableau 3.7, entrées 4 et 5)

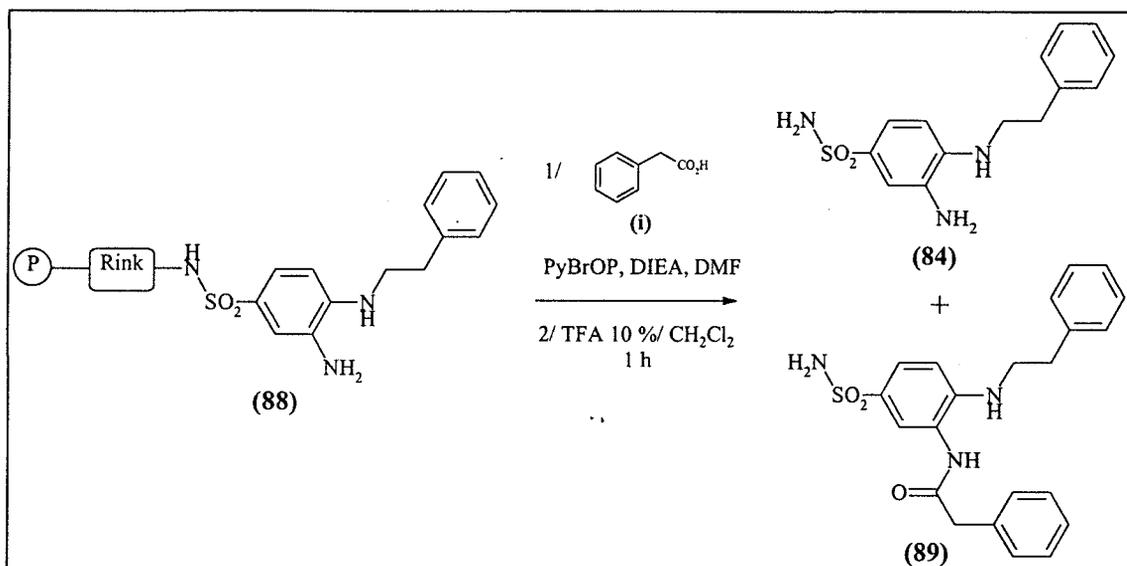
Les meilleures conditions de réduction en phase solide du dérivé nitré carboxamide (**80**) sont les mêmes que celles du dérivé nitré sulfonamide (**79**) : une solution de SnCl<sub>2</sub> 2,0 M dans le DMF (soit 100 équivalent de SnCl<sub>2</sub> par rapport à la résine), 0,5 équivalent de pyridine par rapport au SnCl<sub>2</sub>, 24 h à température ambiante

### 3.III.4. Acylation de la fonction aniline primaire des *o*-phénylenediamines

Les anilines sont connues pour être de faibles nucléophiles. De plus, dans notre cas particulier, l'aniline primaire est en partie désactivée par la présence en *mé*ta d'un groupement sulfonamide ou carboxamide. Comme déjà mentionné dans le chapitre 2, le PyBrOP est un réactif d'activation très efficace pour les couplages difficiles,<sup>55, 56</sup> et nous avons décidé de l'utiliser pour l'acylation de la fonction aniline primaire des *o*-phénylenediamines.

#### 3.III.4.1. Acylation du dérivé *o*-phénylenediamine sulfonamide (**88**)

Des portions de résine fonctionnalisée avec le dérivé *o*-phénylenediamine sulfonamide (**88**) ont été traitées par un excès d'acide phénylacétique (**i**) en présence de PyBrOP et de DIEA dans le DMF. Les produits obtenus sur support solide ont été contrôlés en solution par HPLC et LC/MS, après clivage de la résine par le TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. L'analyse de ces produits n'a été effectuée que du point de vue qualitatif (consommation ou non du réactif de départ et formation ou non du produit attendu). Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 3.8.

Tableau 3.8. Acylation en phase solide du dérivé *o*-phénylenediamine sulfonamide (**88**)<sup>a</sup>

Conditions expérimentales			
Entrée	Conc. de l'acide; nombre d'équiv.	Durée	Produits clivés de la résine
1	0,4 M 30 équiv.	3 h	1/( <b>84</b> ) 2/ dérivé mono-acylé ( <b>89</b> ) en faible quantité 3/ sous-produits non identifiés
2 <sup>b</sup>	0,4 M 30 équiv.	3 h + 17 h	1/( <b>84</b> ) 2/ dérivé mono-acylé ( <b>89</b> ) en faible quantité 3/ sous-produits non identifiés

<sup>a</sup> L'acylation a été effectuée en présence de 1 équiv de PyBrOP et 2 équiv de DIEA par rapport à l'acide, dans le DMF à température ambiante. <sup>b</sup> Après 3 h de couplage la résine a été lavée et un second couplage a été réalisé dans le mêmes conditions que le premier.

Comme indiqué dans le tableau 3.8, l'acylation de la résine (**88**) est incomplète même en utilisant des gros excès d'acide et en effectuant un double couplage.

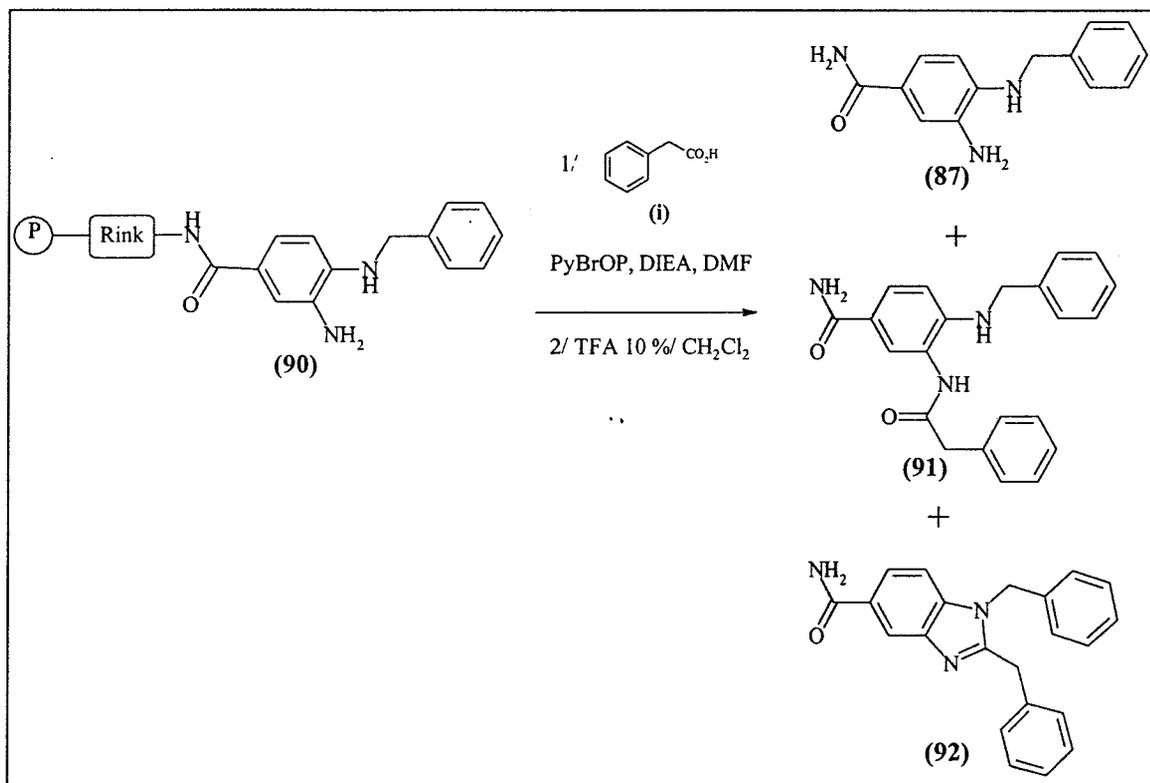
#### 3.III.4.2. Acylation du dérivé *o*-phénylenediamine carboxamide (**90**)

Des portions de résine fonctionnalisée avec le dérivé *o*-phénylenediamine carboxamide (**90**) ont été traitées par un excès d'acide phénylacétique (**i**) en présence de PyBrOP et de DIEA

dans le DMF. Les produits obtenus sur support solide ont été contrôlés en solution par LC/MS, après clivage de la résine par le TFA dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . L'analyse de ces produits n'a été effectuée que du point de vue qualitatif (consommation ou non du réactif de départ et formation ou non du produit attendu). Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 3.9.

Suite à cette étude, nous avons constaté que :

- 1/ l'acylation est presque complète après une première étape de couplage (tableau 3.9, entrée 1)
- 2/ aucune trace de produit bis-acylé n'est détectée par LC/MS, ce qui confirme l'acylation sélective de la fonction aniline primaire de la *o*-phénylenediamine carboxamide (**90**)
- 2/ la cyclisation partielle du produit mono-acylé (**91**) en benzimidazole (**92**) est observée

Tableau 3.9. Acylation en phase solide du dérivé *o*-phénylenediamine carboxamide (92) <sup>a</sup>


Conditions expérimentales			
Entrée	Conc. de l'acide; nombre d'équiv.	Durée	Produits clivés de la résine
1	0,4 M 3 équiv.	18 h	1/ (91) majoritaire 2/ benzimidazole (92) 3/ (87) traces 4/ traces de sous-produits non identifiés
2 <sup>b</sup>	0,4 M 3 équiv.	18 h + 17 h	1/ (91) majoritaire 2/ benzimidazole (92) 3/ traces de sous-produits non identifiés

<sup>a</sup> L'acylation a été réalisée en présence de 1 équiv de PyBrOP et 2 équiv de DIEA par rapport à l'acide, dans le DMF à température ambiante. <sup>b</sup> Après 18 h de couplage la résine a été lavée et un second couplage a été réalisé dans les mêmes conditions que le premier.

### 3.III.4.3. Conclusions sur l'acylation des dérivés *o*-phénylenediamines sulfonamide (88) et carboxamide (90)

1/ la fonction aniline primaire du dérivé *o*-phénylenediamine sulfonamide (88) est vraisemblablement trop désactivée pour subir des attaques électrophiles

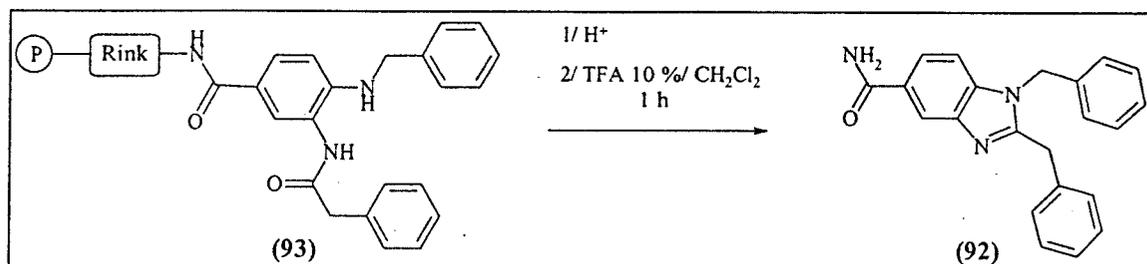
2/ la fonction aniline primaire du dérivé *o*-phénylenediamine carboxamide (90) est moins désactivée, son acylation étant complète dans des conditions moins drastiques que celles utilisées pour l'acylation du dérivé sulfonamide (88)

Tenant compte de ces résultats, nous n'avons par la suite focalisé nos recherches que sur le dérivé carboxamide.

### **3.III.5. Cyclisation en benzimidazole**

La cyclisation en benzimidazole se fait en milieu acide.<sup>88, 89</sup> Lors de l'analyse du produit obtenu par clivage de la résine (93), nous avons constaté que la *o*-phénylenediamine acylée (91) était déjà partiellement cyclisée en benzimidazole (92). Ce résultat fait penser à une catalyse de la réaction par le TFA utilisé pour le clivage, mais la cinétique de cyclisation dans ces conditions serait vraisemblablement assez lente. Différentes conditions réactionnelles décrites dans la littérature ont par la suite été testées pour mener au bout la cyclisation.<sup>88, 89</sup>

Des aliquotes de résine acylée (93) ont été traitées par une série d'acides, minéraux ou organiques, dans diverses conditions de solvant et température. Les surnageants ont été contrôlés par HPLC et les résines ont été ensuite clivées par le TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, sans séparation préalable du surnageant. Les produits obtenus après clivage ont été également analysés par HPLC. Les résultats de cette étude sont exposés dans le tableau 3.10.

Tableau 3.10. Cyclisation en benzimidazole de la *o*-phénylenediamine mono-acylée (93)

Conditions expérimentales				
Entrée	Acide; solvant	Température; durée	Produits détectés dans le surnageant	Produits clivés de la résine
1	HCl 1,0 M/ Et <sub>2</sub> O EtOH	t.a. 15 h	(92)	(92)
2	AcOH	70 °C 15 h	(92)	(92)
3	HCl aq. 1,0 M/ AcOH	70 °C 15 h	produit non identifié	1/ produit majoritaire non identifié 2/ (92) minoritaire
4	Me-SO <sub>3</sub> H 1,0 M toluène	t.a. 15 h	aucun produit	1/ (92) 2/ produit non cyclisé (91) en traces 3/ sous-produits non identifiés en traces

En analysant les résultats exposés dans le tableau 3.10, nous avons tiré les conclusions suivantes :

1/ les cyclisations avec l'HCl à température ambiante ou avec l'AcOH à 70 °C (tableau 3.10, entrées 1 et 2) conduisent au benzimidazole désiré (92)

2/ la cyclisation avec un mélange d'HCl/AcOH à 70 °C (tableau 3.10, entrée 3) conduit à un produit qui n'a pas été identifié

3/ la cyclisation avec l'acide méthanesulfonique à température ambiante (tableau 3.10, entrée 4) conduit au benzimidazole (92), mais la réaction n'est pas complète. De même, on remarque la formation de quantités plus importantes de sous-produits.

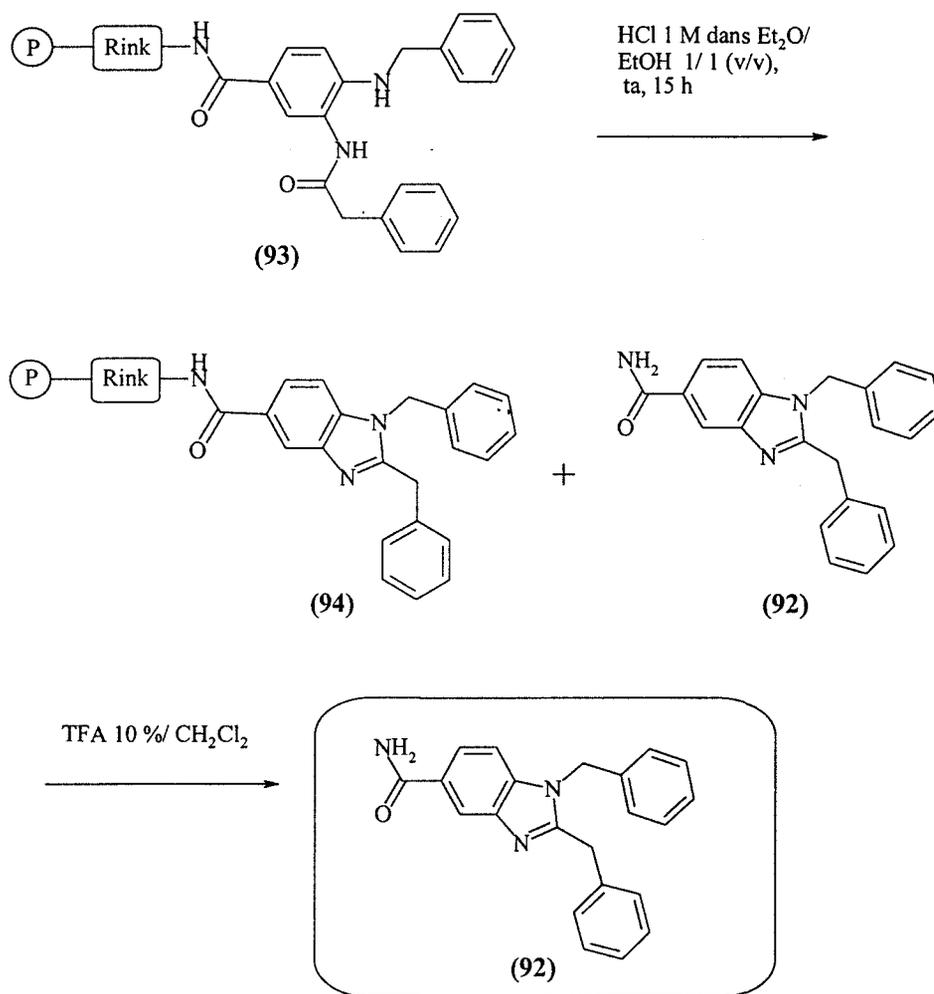
4/ le traitement de la résine (93) avec l'HCl à température ambiante ou l'AcOH à 70 °C provoque le clivage partiel du produit attaché au polymère, le clivage complet ne se faisant qu'en présence de TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Nous avons trouvé que les meilleures conditions de cyclisation étaient : utilisation d'un mélange d'HCl 1,0 M dans l'Et<sub>2</sub>O/EtOH absolu 1/1 (v/v), à température ambiante. Pour assurer un clivage complet du benzimidazole de la résine la cyclisation doit être suivie par un traitement par le TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (figure 3.35).

Il faut mentionner ici que, dans la mesure où la cyclisation est réalisée sur résine en utilisant comme solvant un mélange Et<sub>2</sub>O/EtOH, l'utilisation d'une résine de type PS/DVB-PEG s'impose. Celle-ci est d'ailleurs la seule étape qui demande l'utilisation de ce type de support polymérique, les autres étapes du schéma réactionnel étant réalisées dans des solvants permettant l'emploi du PS/DVB. Dans ces conditions, la cyclisation en benzimidazole *après* clivage s'avère intéressante du point de vue du coût des produits, car elle permet l'utilisation comme support de synthèse du PS/DVB, qui est moins cher et généralement plus chargé que le PS/DVB-PEG. La cyclisation *a posteriori* du benzimidazole a été réalisée par la suite lors du criblage chimique des monomères, conduisant à de bons résultats.

En conclusion, la cyclisation se fait aussi bien avant qu'après le clivage du produit de son support de synthèse, mais pour des raisons économiques nous avons choisi d'utiliser cette dernière possibilité pour la synthèse de la chimiothèque de benzimidazoles. Les conditions réactionnelles dans ce cas sont les suivantes: clivage, récupération du produit en solution et évaporation du solvant, suivi par le traitement du résidu sec avec un mélange d'HCl 1,0 M dans l'Et<sub>2</sub>O/EtOH absolu 1/1 (v/v) à température ambiante, pendant 3 h à 4 h.

Figure 3.35. Cyclisation en phase solide du benzimidazole



### 3.III.6. Criblage chimique des monomères

Les conditions réactionnelles des 4 étapes de synthèse des benzimidazoles en phase solide (substitution nucléophile aromatique, réduction, acylation et cyclisation/clivage) ont été établies pour un nombre restreint de monomères : deux amines et un acide carboxylique. L'utilisation de ce procédé pour la synthèse d'une chimiothèque de benzimidazoles impose ce qu'on a appelé un *criblage chimique*. Celui-ci consiste en à déterminer expérimentalement les différentes classes de *N*-nucléophiles et d'acides carboxyliques susceptibles d'être utilisées dans les conditions précédemment établies.

3.III.6.1. Criblage chimique des *N*-nucléophiles

Des amines primaires représentant différentes classes de *N*-nucléophiles ont été testées, à partir de la  $S_NAr$  en phase solide jusqu'à la cyclisation et le clivage du produit de son support de synthèse. L'acylation des *o*-phénylenediamines primaires (**96**) a toujours été réalisée avec des acides aliphatiques non encombrés : l'acide 4-phénylbutyrique (**j**) ou l'acide 3-(3,4-méthylendioxyphényl)propionique (**k**) (figure 3.36). Après chaque étape de synthèse, des aliquotes de résine ont été clivées par le TFA dans le  $CH_2Cl_2$  et les produits ont été analysés par HPLC et/ ou LC/MS. L'analyse de ces produits n'a été effectuée que d'un point de vue qualitatif (consommation ou non du réactif de départ et formation ou non du produit attendu). Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 3.11.

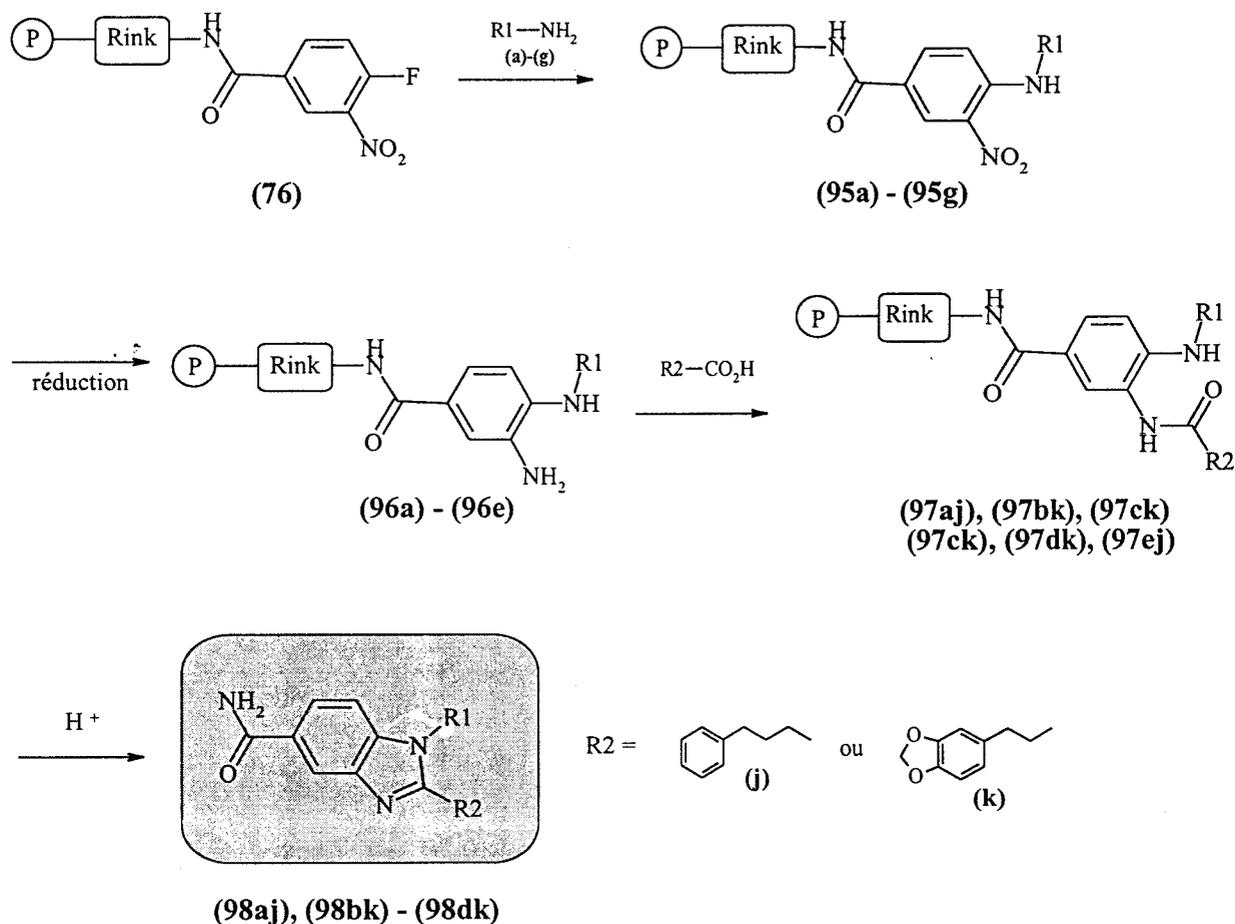
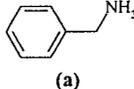
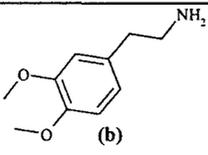
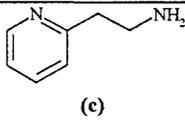
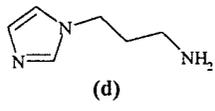
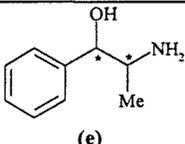
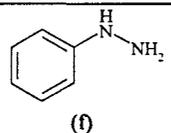
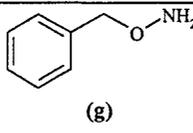
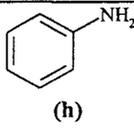
Figure 3.36. Criblage chimique des *N*-nucléophiles

Tableau 3.11. Résultats du criblage chimique des N-nucléophiles

Entrée	N-nucléophile	Avancement de la réaction <sup>a</sup>			
		SNAr	Réduction	Acylation	Cyclisation/ clivage <sup>b</sup>
1 <sup>c</sup>	 (a)	complète	traces de produit non réduit	complète	complète
2 <sup>d</sup>	 (b)	complète	traces de produit non réduit	complète	complète
3 <sup>d</sup>	 (c)	complète	complète	complète	complète
4 <sup>d</sup>	 (d)	complète	complète	complète	complète
5 <sup>e</sup>	 (e)	complète	traces de produit non réduit (95e)	complète	pas de cyclisation
6 <sup>e</sup>	 (f)	formation d'un produit non identifié	—	—	—
7 <sup>e</sup>	 (g)	faible	—	—	—
8 <sup>e</sup>	 (h)	nulle	—	—	—

<sup>a</sup> L'avancement des réactions et l'identité des produits ont été évalués par HPLC et LC/MS, après leur clivage du support de synthèse. <sup>b</sup> La cyclisation a été testée de deux façons: avant et après clivage du produit de la résine. <sup>c</sup> L'acide 4-phénylbutyrique (**j**) a été utilisé pour l'acylation. <sup>d</sup> L'acide 3-(3,4-méthylendioxyphényl)propionique (**k**) a été utilisé pour l'acylation. <sup>e</sup> Les étapes suivantes de la synthèse n'ont pas été réalisées, parce que la SNAr était incomplète ou nulle.

Suite à cette étude nous avons conclu que :

1/ concernant la SNAr :

- la réaction est complète quand le *N*-nucléophile est une amine primaire aliphatique dégagée (non substituée en  $\alpha$ ) ou moyennement encombrée (possédant un substituant en  $\alpha$ ) (tableau 3.11, entrées 1 à 5)
- la phénylhydrazine (**f**) conduit à la formation d'un produit qui n'a pas été identifié (tableau 3.11, entrée 6)
- la réaction est incomplète pour l'hydroxylamine (**g**) (tableau 3.11, entrée 7)
- l'aniline ne réagit pas (tableau 3.13, entrée 8)

Par conséquent, nous n'avons retenu que les amines primaires aliphatiques dégagées et moyennement encombrées pour continuer le criblage chimique.

2/ la réduction se fait de façon similaire pour les différentes anilines secondaires *o*-nitrées (**95a**)-(b) issues de l'étape de SNAr par réaction des amines primaires aliphatiques (**a**)-(e)

3/ l'acylation se fait de façon similaire pour les différentes *o*-phénylenediamines (**96a**)-(f) issues de l'étape de réduction

4/ la cyclisation en benzimidazole n'a pas lieu pour la *o*-phénylenediamine mono-acylée (**97e**), provenant d'une amine primaire substituée en  $\alpha$  (tableau 3.11, entrée 5).

Nous avons donc supposé que l'encombrement autour de l'aniline secondaire doit jouer un rôle important dans la cyclisation, et que seulement les amines primaires aliphatiques non encombrées (non substituées en  $\alpha$ ) peuvent être utilisées pour la synthèse de benzimidazoles par cette méthode.

### 3.III.6.2. Criblage chimique des acides carboxyliques

Des acides carboxyliques représentant différentes classes (acides aliphatiques non encombrés, acides aliphatiques encombrés, acides benzoïques, acides cinnamiques) ont été testés, à partir de l'acylation en phase solide de la fonction aniline primaire des *o*-phénylenediamines (**96a**) et (**96e**), obtenues par SNAr avec des amines primaires aliphatiques, jusqu'à la cyclisation et le clivage du produit de son support de synthèse (figure 3.37). Après chaque étape de synthèse, des aliquotes de résine ont été clivées par le TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et les produits de clivage ont été analysés par HPLC et/ ou LC/MS. L'analyse de ces produits n'a été effectuée

que d'un point de vue qualitatif (consommation ou non du réactif de départ et formation ou non du produit attendu). Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 3.12.

Figure 3.37. Criblage chimique des acides carboxyliques

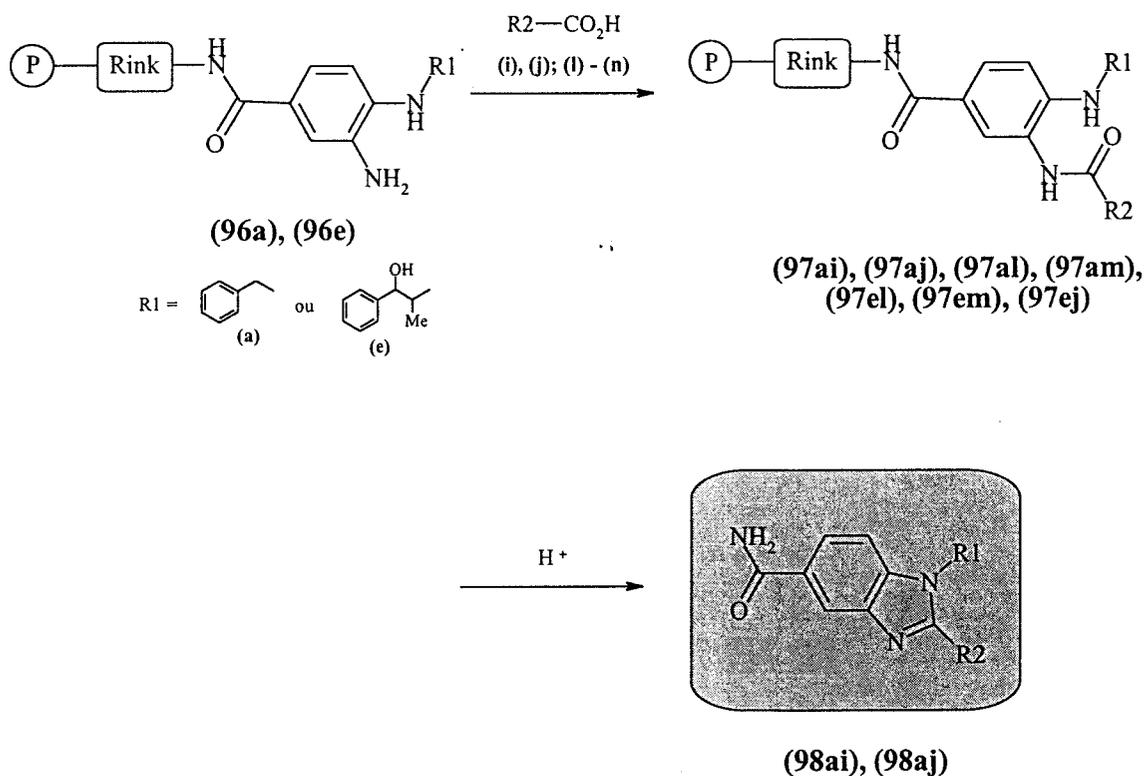
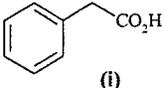
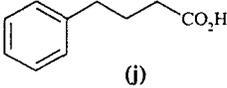
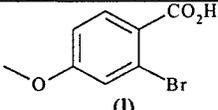
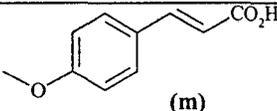
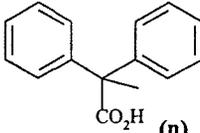


Tableau 3.12. Résultats du criblage chimique des acides carboxyliques <sup>a</sup>

Entrée	Acide carboxylique	Amine	Avancement de la réaction <sup>a</sup>	
			Acylation	Cyclisation/clivage <sup>b</sup>
1	 (i)	(a)	complète	complète
2	 (j)	(a)	complète	complète
3		(e)	complète	pas de cyclisation
4	 (l)	(a)	complète	pas de cyclisation
5		(e)	complète	pas de cyclisation
6 <sup>c</sup>	 (m)	(a)	milieu réactionnel sale	—
7 <sup>c</sup>		(e)	milieu réactionnel sale	—
8 <sup>c</sup>	 (n)	(a)	pas d'acylation	—
9 <sup>c</sup>		(e)	pas d'acylation	—

<sup>a</sup> L'avancement des réactions et l'identité des produits ont été évalués par HPLC et LC/MS, après leur clivage du support de synthèse. <sup>b</sup> La cyclisation a été testée des deux façons: avant et après clivage du produit de la résine. <sup>c</sup> La cyclisation n'a pas été réalisée à cause des mauvais résultats obtenus lors de l'acylation.

Suite à cette étude nous avons conclu que :

1/ concernant l'acylation :

- les acides aliphatiques non encombrés réagissent de façon quantitative avec les *o*-phénylenediamines (tableau 3.12, entrées 1 à 3)
- l'acide benzoïque encombré en *ortho* réagit de façon quantitative avec les *o*-phénylenediamines (tableau 3.12, entrées 4 et 5)
- l'acide aliphatique encombré ne réagit pas avec les *o*-phénylenediamines (tableau 3.12, entrées 8 et 9)

- l'acide cinnamique conduit à des milieux réactionnels assez sales, probablement à la cause de l'instabilité de la double liaison dans les conditions de clivage (tableau 3.12, entrées 6 et 7)

2/ concernant la cyclisation :

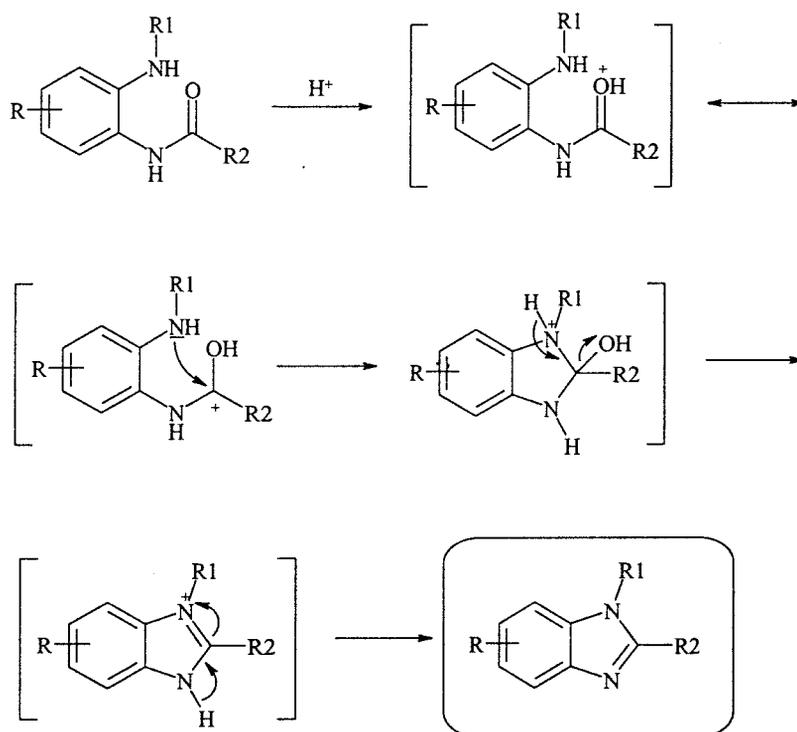
- la cyclisation en benzimidazole des *o*-phénylenediamines obtenues à partir d'amines aliphatiques non encombrées et acylées par des acides aliphatiques non encombrés est complète (tableau 3.12, entrées 1 et 2)
- il n'y a pas de cyclisation dans le cas des *o*-phénylenediamines acylées par l'acide benzoïque encombré en *ortho* (tableau 3.12, entrées 4 et 5)
- on confirme le fait que la cyclisation n'a pas lieu dans le cas où la *o*-phénylenediamine est obtenue à partir d'une amine aliphatique encombrée (tableau 3.12, entrées 4 et 5)

Nous avons donc supposé que, de même que pour les amines, l'encombrement autour de l'aniline acylée doit jouer un rôle important dans la cyclisation, et que seuls les acides carboxyliques non encombrés peuvent être utilisés pour la synthèse de benzimidazoles par cette méthode.

### 3.III.6.3. Conclusions sur le criblage chimique des *N*-nucléophiles et des acides carboxyliques

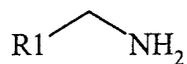
Nous avons constaté que l'encombrement de l'amine et de l'acide carboxylique impliqués dans la synthèse, c'est à dire l'encombrement autour des atomes impliqués dans la cyclisation en benzimidazole doit être minimum. Pour expliquer ce phénomène, nous avons proposé un mécanisme de cyclisation impliquant une attaque nucléophile  $S_N2$  sur un carbone  $sp^3$ , qui est très sensible à l'encombrement stérique (figure 3.38) :

Figure 3.38. Mécanisme de cyclisation en milieu acide des *o*-phénylenediamines mono-acylées

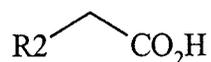


Les tests de réactivité réalisés avec des représentants de différentes classes de *N*-nucléophiles et d'acides carboxyliques nous ont permis de distinguer les classes de monomères les mieux adaptées à notre stratégie de synthèse de benzimidazoles en phase solide :

- les amines aliphatiques non substituées en  $\alpha$  de type :



- les acides aliphatiques non substitués en  $\alpha$  de type :

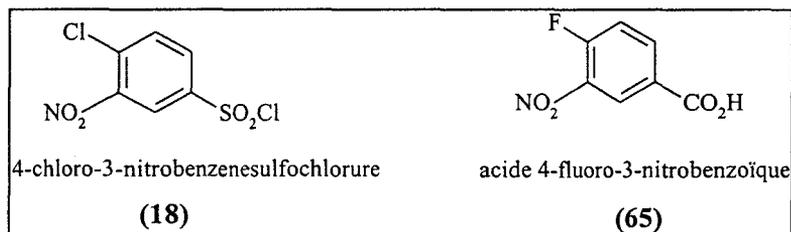


Il faut rappeler aussi qu'il est indispensable d'éliminer toutes les amines possédant des groupements -NO<sub>2</sub> aromatiques, parce que ceux-ci seraient réduits lors de l'étape de réduction.

## 3.IV. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 3

Nous avons conçu la synthèse en phase solide d'une chimiothèque de benzimidazoles, en croisant la diversité des amines par celle des acides carboxyliques. Comme montré par les études de modélisation moléculaire, l'intérêt de la synthèse d'une chimiothèque de benzimidazoles utilisant en partie la même diversité de monomères que pour une chimiothèque d'amides, consiste à engendrer des molécules possédant un positionnement relatif différent des éléments pharmacophores.

Le choix initial du support de synthèse, le PS/DVB-PEG, et du bras de fonctionnalisation de celui-ci, le bras Rink, a été effectué en fonction des exigences imposées par les différentes étapes de la synthèse: gonflement dans une grande variété de solvants et clivage facile des molécules ancrées au polymère. Deux tenseurs précurseurs ont été retenus pour l'étude de la synthèse des benzimidazoles en phase solide : le chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle (**18**) pour sa facilité d'ancrage au support solide, et l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (**65**) pour sa facilité de subir des attaques nucléophiles aromatiques.



Après analyse de plusieurs schémas réactionnels, un schéma optimum pour l'adaptation de la réaction à la synthèse parallèle à haut débit a été choisi. Ce schéma consiste en la réalisation de la première étape combinatoire, l'introduction des amines par  $S_NAr$ , en phase solide, après ancrage du tenseur précurseur sur la totalité de la résine.

Les 4 étapes de la synthèse ont été étudiées sur des composés modèles, permettant de trouver des conditions optimales pour chaque étape :

1/  $S_NAr$  : 3 équiv d'amine 0,1 M dans le DMF, 3 équiv de DIEA, 6 h à température ambiante

2/ réduction :  $SnCl_2 \cdot 2 H_2O$  2,0 M dans le DMF (100 équiv), 0,5 équiv de pyridine par rapport au  $SnCl_2 \cdot 2 H_2O$ , 24 h à température ambiante

3/ acylation : 3 équiv d'acide 0,4 M dans le DMF, 3 équiv de PyBrOP, 6 équiv de DIEA, 15 h à température ambiante

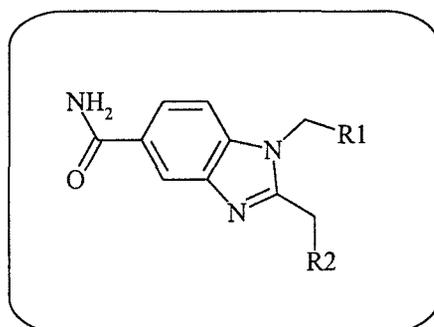
4/ clivage/cyclisation : 10 % de TFA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 1 h à température ambiante, puis évaporation du solvant, suivie par le traitement avec un mélange d'HCl 1,0 M dans l'Et<sub>2</sub>O/EtOH absolu 1/1 (v/v) à température ambiante, pendant 3 h à 4 h.

Les études d'optimisation de la cyclisation ont donc montré que cette étape peut être réalisée après clivage du produit de la résine, permettant ainsi l'utilisation d'un support polymérique de type PS/DVB, mieux adapté du point de vue économique à la synthèse de la chimiothèque.

Lors des études d'optimisation des différentes étapes, seul le tenseur précurseur acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (**65**) s'est avéré utilisable, car nous avons constaté que la *o*-phénylenediamine dérivée du tenseur précurseur chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzène-sulfonyle (**18**) était trop désactivée pour être acylée.

Un criblage chimique des différentes classes de monomères susceptibles d'être utilisées pour la synthèse de benzimidazoles a été réalisé. Nous avons montré qu'un encombrement stérique minimum autour des sites impliqués dans la cyclisation est très important pour la formation du benzimidazole. Les classes de monomères retenues pour la synthèse ont été les amines et les acides aliphatiques non encombrés (non substitués en  $\alpha$ ). La formule générique de la chimiothèque de benzimidazoles serait (figure 3.39) :

Figure 3.39. Structure générique d'une chimiothèque de benzimidazoles 1, 2-disubstitués

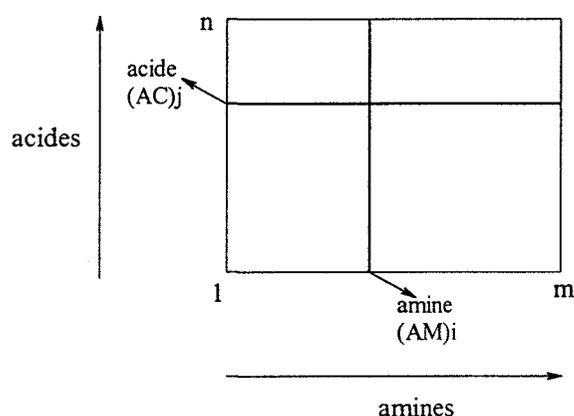


Une telle chimiothèque de benzimidazoles synthétisée en phase solide peut atteindre des dimensions importantes : 10 000 produits pourraient être synthétisés par croisement, par

exemple, de 100 amines avec 100 acides carboxyliques. Ces chiffres sont compatibles avec le nombre de structures commercialement disponibles qui nous intéressent (quelques centaines d'amines et d'acides carboxyliques non encombrés).

Il faut mentionner ici que l'élargissement de la taille de la chimiothèque de benzimidazoles, ou bien une confirmation du fait que seuls les acides carboxyliques et les amines aliphatiques non substitués en  $\alpha$  sont utilisables, imposent la réalisation d'études complémentaires sur d'autres amines et acides carboxyliques aliphatiques moyennement encombrés en  $\alpha$ , et sur des acides benzoïques non substitués en *ortho*. Cette étude pourrait être réalisée lors de l'étape de **qualification** des monomères, qui suit l'optimisation de la réaction et qui s'impose avant son transfert dans le système robotique. Lors de la qualification il faudra mettre en réaction les amines choisies selon les critères établis, de manière individuelle, avec un seul acide (noté (AC)<sub>j</sub> sur la figure 3.40). De même, il faudra mettre en réaction les acides carboxyliques choisis selon les critères établis, de manière individuelle, avec une seule amine (noté (AM)<sub>i</sub> sur la figure 3.40). La qualification permet ainsi de traiter de manière individuelle chaque monomère et de déceler des problèmes de réactivité inattendus.

Figure 3.40. Stratégie de la qualification



Parmi les monomères soumis à la qualification, seuls ceux qui donnent de bonnes conversions et des milieux réactionnels propres seront « qualifiés » pour la synthèse de la chimiothèque. Les travaux de qualification sont actuellement en cours au laboratoire.

## CHAPITRE 4

## CHAPITRE 4

### UTILISATION DE LA SPECTROSCOPIE DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE SOUS L'ANGLE MAGIQUE POUR LE SUIVI DES REACTIONS SUR SUPPORT POLYMERIQUE INSOLUBLE

#### 4.1. TECHNIQUES ANALYTIQUES APPLIQUEES A L'ANALYSE DES MOLECULES IMMOBILISEES SUR POLYMERE

Un nombre impressionnant de synthèses organiques en phase solide a été développé ces dernières années, avec des applications principalement rencontrées dans le domaine de la synthèse combinatoire. Malheureusement, les techniques analytiques permettant une analyse rapide de ces produits ont évolué, elles, à un rythme beaucoup moins soutenu et ceci constitue une des plus importantes lacunes de la synthèse combinatoire en phase solide.

Depuis l'introduction par Merrifield, en 1963, du concept de synthèse en phase solide,<sup>6</sup> l'analyse des produits obtenus sur polymère s'est basée, le plus couramment, sur des techniques indirectes comme les tests colorimétriques effectués sur des billes de résine pour déterminer l'avancement des réactions (Kaiser,<sup>44</sup> acide picrique<sup>12</sup> ...), ou alors sur le clivage et l'analyse en solution pour déterminer les structures des intermédiaires et des produits finis. Le principal inconvénient de ces méthodes réside dans le fait qu'elles sont destructives, conduisant à une perte de matériel. De plus, elles peuvent être assez fastidieuses, conduisant aussi à une perte importante de temps.

Au départ, la phase solide était appliquée à la synthèse de peptides et d'oligonucléotides. Les techniques d'analyse en solution après clivage y étaient bien adaptées, car un nombre relativement faible de produits possédant une grande complexité structurale était à analyser, ce qui imposait l'utilisation de spectres bien résolus pour aboutir aux déterminations structurales.

Par contre, en chimie combinatoire, la phase solide s'est principalement dirigée vers la synthèse très rapide d'un grand nombre de petites molécules organiques, de structure relativement simple, et en faible quantité (de l'ordre de quelques  $\mu$ moles). Dans ces conditions, la procédure classique de clivage et analyse des produits en solution devient

rapidement un facteur limitant du point de vue de la consommation de matériel et de temps. De plus, dans certains cas, les produits intermédiaires ne sont pas stables dans les conditions de clivage ou peuvent être insolubles. Un facteur très important en synthèse combinatoire est la rapidité d'obtention des analyses, même si cela conduit à une réduction de la résolution des spectres, tant que ceux-ci permettent l'identification structurale des molécules simples.

En 1972, Weinshenker *et al.* ont pour la première fois mentionné l'utilisation de la technique de spectroscopie infrarouge en pastille de KBr pour l'analyse d'un carbodiimide immobilisé sur polymère.<sup>34</sup> D'autres techniques d'analyse directe de molécules liées au polymère ont par ailleurs été développées depuis peu de temps : on peut citer ici la spectroscopie infrarouge utilisant la transformée de Fourier (FTIR), appliquée à l'analyse des produits sur une bille de polymère unique.<sup>90</sup> Cette technique a été utilisée pour le suivi des réactions chimiques en temps réel, et permet l'évaluation des conversions en observant la disparition d'une bande de vibration caractéristique du produit de départ et l'apparition d'une autre bande, spécifique du produit fini. Ces spectres souffrent cependant d'une résolution assez faible, les bandes de vibration étant généralement larges. La faible résolution a été attribuée aux interférences de l'eau et du dioxyde de carbone dues au chemin long et irrégulier parcouru par le rayon infrarouge à travers la bille de polymère. La résolution a été améliorée par la suite en enregistrant des spectres IR sur des billes de résine aplaties.<sup>91</sup> La spectroscopie IR a néanmoins ses limites, puisqu'elle ne peut s'appliquer qu'à des réactions qui impliquent des transformations de chromophores à bandes de vibration bien particulières, et qu'elle ne peut pas non plus être utilisée pour effectuer des déterminations structurales complètes.

D'autres techniques d'application plus large qui se sont développées récemment, font appel à l'analyse par spectroscopie RMN des molécules attachées aux polymères insolubles, « gonflés » dans des solvants appropriés. Le principal problème à surmonter dans ce cas est l'élargissement des résonances dû à une mobilité réduite des molécules attachées au polymère, mais aussi aux inhomogénéités du champ magnétique autour des billes de résine. L'utilisation de la spectroscopie RMN sous l'angle magique, la *RMN MAS (Magic Angle Spinning)*,<sup>92, 93</sup> qui est une technique appliquée aux échantillons solides, a permis l'élimination en partie de ces limitations. Des résultats très prometteurs ont été obtenus en utilisant des sondes prototype, spécialement conçues pour ce genre d'applications et appelées « nano » sondes,<sup>94, 95, 96</sup> mais également les équipements standards de la spectroscopie RMN MAS des solides.<sup>97, 98, 99</sup>

## 4.II. APPLICATION DE LA TECHNIQUE RMN MAS POUR LE SUIVI DES REACTIONS EN PHASE SOLIDE

L'utilisation de la technique de MAS a permis une réduction importante de la largeur de ligne spectrale des molécules attachées au support insoluble par rapport à la RMN classique. Nous avons donc étudié les différents facteurs qui influencent la résolution, dans le but d'appliquer cette technique pour le suivi de routine de nos réactions en phase solide.<sup>100, 101</sup>

Même si les premiers spectres de RMN MAS des molécules attachées à un support polymérique insoluble ont été obtenus en utilisant une sonde prototype<sup>94 - 96</sup> spécialement conçue à cet effet, des résultats tout à fait satisfaisants ont été présentés par la suite, en utilisant une sonde standard pour les solides: en 1995, Anderson *et al.* ont publié l'attribution complète de la Fmoc-(Boc)Lys- attachée à une résine de type polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB), à l'aide des spectres de corrélation <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H TOCSY (*Total Correlation Spectroscopy*)<sup>102</sup> et <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*),<sup>103</sup> présentant une résolution voisine de celle des spectres des molécules en phase liquide.<sup>98</sup> Nous avons donc décidé de réaliser nos études en utilisant une sonde standard pour les solides.

### 4.II.1. Facteurs qui influencent la résolution dans la spectroscopie RMN des molécules attachées au support polymérique insoluble

Dans la spectroscopie RMN de haute résolution conventionnelle, la libre rotation des molécules placées dans un champ magnétique homogène induit une compensation des différentes interactions et par conséquent les lignes de résonance seront très fines. Au contraire, des résonances très larges sont obtenues pour des molécules attachées à un polymère insoluble, du fait de leur mobilité réduite et de l'inhomogénéité du champ magnétique provenant des discontinuités de susceptibilité magnétique à l'interface solvant/polymère.

Pour une résine mise en contact avec un solvant approprié, la pénétration du solvant à l'intérieur des billes de résine se traduit, au niveau macroscopique, par une augmentation du volume appelée *gonflement*, qui, au niveau microscopique, est accompagnée d'une augmentation de la mobilité des molécules attachées au polymère. Les différentes interactions, comme les interactions homonucléaires dipolaires, qui influencent la largeur de ligne du

signal RMN seront ainsi moyennées. Typiquement, la largeur des signaux des protons passera de 20 kHz dans un échantillon solide statique, à 750 Hz dans un échantillon de résine statique bien gonflé. Cette largeur de ligne ne permet toujours pas d'attribution, même avec des techniques multidimensionnelles.

L'élargissement des résonances provenant du couplage dipolaire résiduel et de l'inhomogénéité du champ magnétique autour des billes de résine peut être encore réduit en faisant tourner l'échantillon selon un axe incliné à  $54,7^\circ$ , *l'angle magique*, par rapport au champ magnétique, à une vitesse angulaire supérieure à la largeur de ligne statique. Ceci conduit à la suppression des inhomogénéités du champ magnétique dues à la différence de susceptibilité magnétique solvant/polymère et à l'interface irrégulière solvant/polymère. Pour les molécules provenant du support polymérique, leur rigidité est telle que la rotation à des vitesses réduites (moins de 5 kHz) ne réduit pas suffisamment les interactions statiques ; ces lignes resteront donc larges et ne seront pas observées.

La rotation de l'échantillon sous l'angle magique ne va pas contribuer à l'élimination des inhomogénéités du champ magnétique macroscopique, dues aux différences de susceptibilité magnétique du matériau de construction de la sonde ou aux interfaces rotor/échantillon. Pour les échantillons liquides, l'homogénéité du champ magnétique macroscopique est obtenue par une procédure d'ajustement de champ appelée *shimming*.<sup>104</sup> Pour la RMN MAS des résines, l'ajustement du champ sera également très important, contrairement à la RMN classique des solides, où l'élargissement intrinsèque des résonances est trop important pour nécessiter un ajustement extensif du champ.

En conclusion, les trois opérations de base à suivre pour obtenir des spectres RMN de bonne qualité des molécules attachées au support insoluble sont :

- 1/ un ajustement soigné du champ magnétique statique, pour éliminer les inhomogénéités macroscopiques
- 2/ un gonflement approprié de la résine, conduisant à une mobilité augmentée des molécules et à une compensation des différentes interactions déterminant la largeur de ligne (y compris les interactions homonucléaires dipolaires)
- 3/ la rotation de l'échantillon sous un angle de  $54,7^\circ$  par rapport au champ magnétique statique à une vitesse angulaire supérieure à la largeur de ligne statique (RMN MAS).

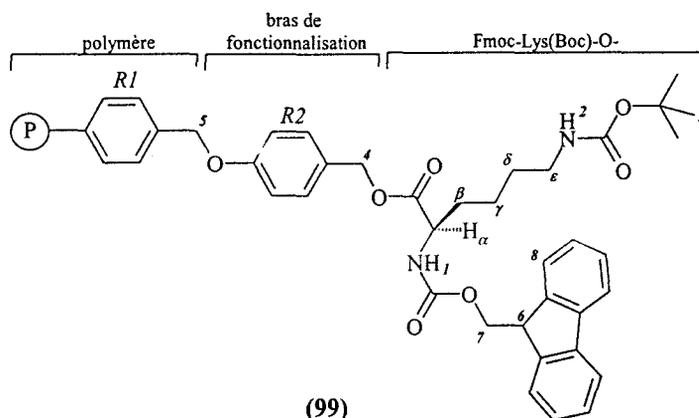
#### 4.II.2. Préparation de l'échantillon de résine à analyser par RMN MAS

La préparation de l'échantillon de résine est d'une extrême importance si l'on veut obtenir de spectres de RMN MAS d'une bonne résolution. Des travaux récents ont montré que la structure du support de synthèse, incluant la matrice polymérique de base, la structure et la longueur du bras de fonctionnalisation, constituent les facteurs déterminants de la largeur de ligne spectrale, le solvant jouant seulement un rôle secondaire.<sup>105</sup> Des résines constituées de chaînes polymériques longues et mobiles comme le PS/DVB-PEG ou bien présentant des bras de fonctionnalisation longs seront donc préférées, parce qu'elles confèrent une mobilité importante aux molécules qui leur sont attachées. Cependant, en synthèse organique en phase solide d'autres facteurs interviennent pour le choix d'une résine : la réactivité, la facilité de synthèse, la disponibilité et le prix. Quand la résine de choix ne possède pas de chaîne polymérique mobile et présente un bras de fonctionnalisation relativement court, la qualité des spectres de RMN MAS sera largement influencée par le solvant utilisé pour « gonfler » la résine.

##### 4.II.2.1 Etudes de gonflement d'une résine de type PS/DVB dans différents solvants

Nous avons choisi une résine présentant des chaînes polymériques rigides de type PS/DVB et un bras de fonctionnalisation relativement court, ayant ancrée une lysine doublement protégée : la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99) (figure 4.1)

Figure 4.1. Structure de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99)



Une manière précise d'estimer la capacité d'un solvant à « gonfler » une résine est de déterminer l'augmentation du volume des billes de résine individuelles. Cette modification de volume n'est influencée que par la quantité de solvant pénétrée à l'intérieur du réseau polymérique. Nous avons étudié le gonflement de la résine (99) au niveau microscopique en présence de six solvants, en déterminant le volume des billes par mesure directe de leur diamètre, à l'aide d'un microscope doté d'un oculaire micrométrique. Pour chaque solvant, le diamètre d'au moins 100 billes de résine a été mesuré, et un diamètre moyen a été calculé à partir de ces données. La capacité de gonflement des différents solvants a été exprimée sous forme de rapport entre le volume de la bille gonflée et le volume de la bille sèche. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 4.1.

Nous avons établi par cette étude que la pyridine possède les meilleures capacités de gonflement de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99), suivie par le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (tableau 4.1, entrées 1 et 2). Le chloroforme et le benzène présentent des capacités de gonflement similaires, néanmoins inférieures à la pyridine (tableau 4.1, entrées 3 et 4). Nous avons trouvé que le DMF possédait une capacité de gonflement plutôt faible pour la résine (99) (tableau 4.1, entrée 5). Enfin le DMSO ne pénètre que très peu à l'intérieur des billes de résine (tableau 4.1, entrée 6).

**Tableau 4.1.** Etude du gonflement microscopique de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (**99**) dans différents solvants

entrée	solvant	diamètre moyen des billes de résine ( $\mu\text{m}$ )	rapport des rayons <sup>a</sup>	rapport des volumes <sup>b</sup>
1	pyridine	109,6	1,84	6,3
2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	107,5	1,81	5,9
3	CHCl <sub>3</sub>	103,4	1,74	5,4
4	benzène	102,9	1,73	5,2
5	DMF	92,7	1,56	3,8
6	DMSO	85,1	1,43	2,9
7 <sup>c</sup>	-	59,5	1	1

<sup>a</sup> Rapport entre le rayon de la bille gonflée et le rayon de la bille sèche. <sup>b</sup> Rapport entre le volume de la bille gonflée et le volume de la bille sèche, calculés à partir des diamètres moyens. <sup>c</sup> Résine sèche.

#### 4.II.2.2. Préparation de l'échantillon de résine

L'échantillon doit se comporter comme une suspension stable de billes de résine dans le solvant : il faut éviter la séparation de deux phases distinctes dans le rotor tournant car ceci induirait une détérioration de l'homogénéité du champ magnétique. Pour respecter cette condition, les échantillons de résine doivent être traités avec le minimum de solvant nécessaire pour leur assurer un bon gonflement, tout en évitant la séparation d'une couche de solvant.

#### **4.II.3. Etudes RMN MAS sur la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (**99**) dans différents solvants**

Pour établir une corrélation entre la capacité de gonflement d'un solvant et la résolution spectrale, des expériences RMN MAS TOCSY et <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMQC ont été réalisées sur la résine (**99**) gonflée dans les 6 solvants précédemment étudiés. Une vitesse angulaire de 2 kHz a été suffisante pour obtenir des lignes de résonance assez fines et pour repousser toutes

les bandes de rotation parasites en dehors de la fenêtre spectrale qui nous intéressait. Pour des vitesses angulaires supérieures à 3 kHz la rotation de l'échantillon a été difficile à stabiliser, avec en plus pour le DMSO-*d6* et le CHCl<sub>3</sub>-*d1* des problèmes d'étanchéité du rotor. Néanmoins, pour les autres solvants où des vitesses de rotation plus importantes ont pu être utilisées, nous n'avons pas constaté une amélioration significative de la qualité spectrale. Ainsi, toutes les études suivantes ont été réalisées à une vitesse de rotation de 2 kHz.

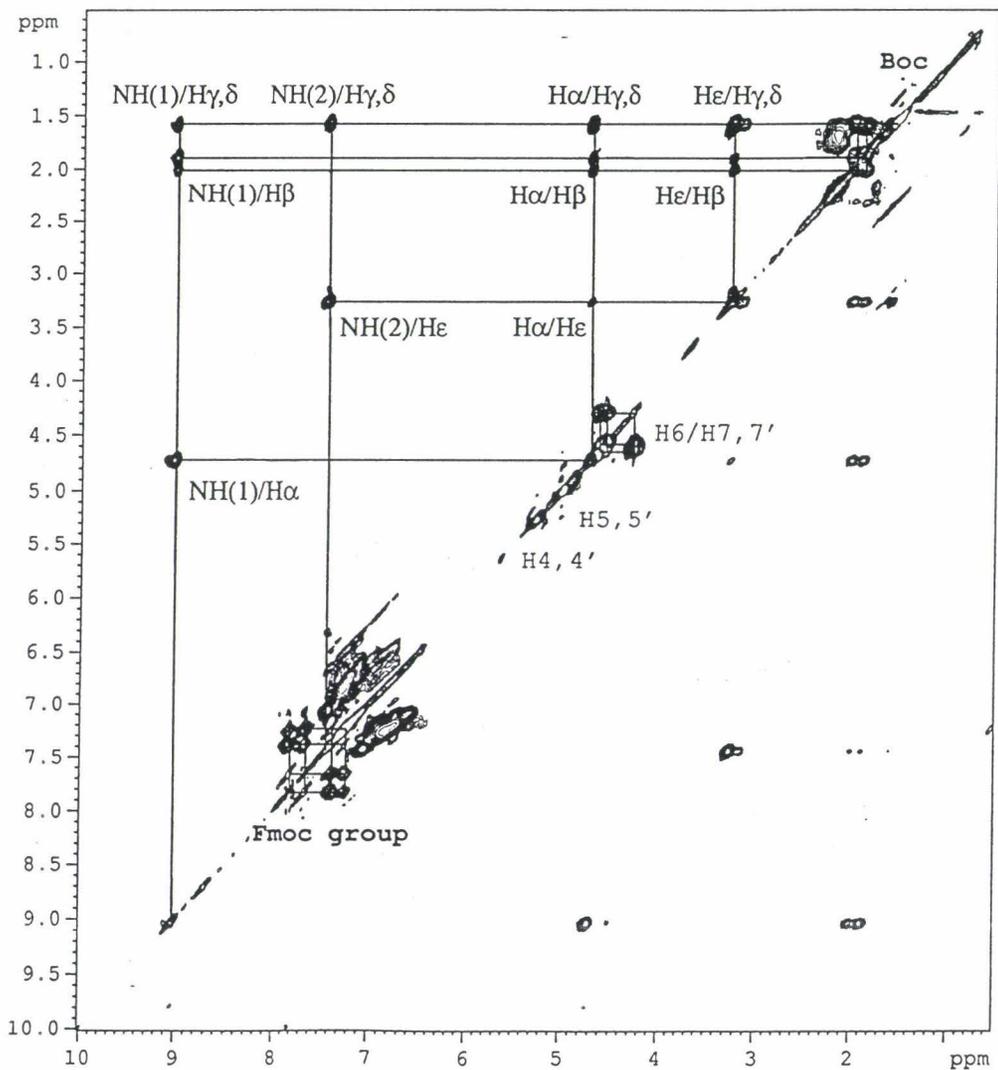
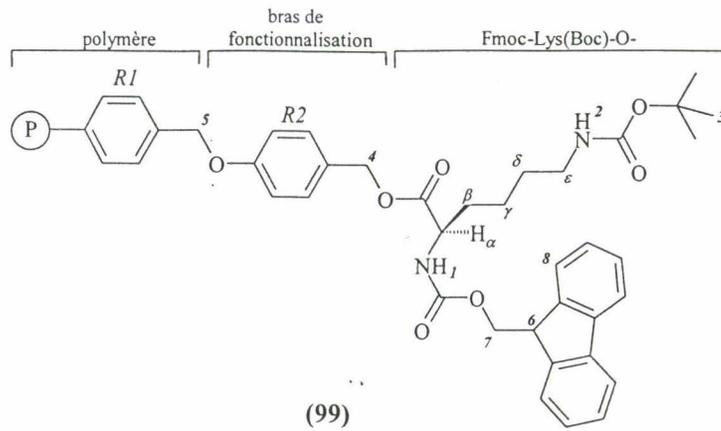
Pour la résine gonflée dans le DMSO-*d6* nous n'avons pas pu obtenir des données interprétables. Ce résultat corrèle bien avec la faible capacité du DMSO à pénétrer dans le réseau polymérique. La liberté de mouvement des molécules se trouvant à l'intérieur des billes de polymère, représentant plus de 99 % de la totalité des molécules attachées, est probablement extrêmement réduite quand le DMSO est utilisé, par rapport aux autres solvants. Des largeurs de ligne très similaires ont été obtenues pour les spectres RMN MAS de la résine (99) gonflée dans les autres solvants, y compris le DMF-*d7* pour lequel nous avons trouvé une capacité de gonflement plutôt médiocre (tableau 4.2, entrée 5). Ceci indique que la mobilité des molécules attachées au polymère est très similaire dans les 5 solvants et qu'il existe probablement un seuil du volume de solvation au delà duquel leur mobilité devient assez importante pour réduire le couplage dipolaire résiduel.

**Tableau 4.2.** La solvation et la largeur de ligne spectrale RMN MAS du <sup>1</sup>H de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99) dans différents solvants

entrée	solvant	diamètre moyen des billes de résine (μm)	largeur de ligne spectrale du <sup>1</sup> H <sup>a</sup> (Hz)
1	pyridine- <i>d5</i>	109,6	21
2	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> - <i>d2</i>	107,5	21
3	CHCl <sub>3</sub> - <i>d1</i>	103,4	21
4	benzène- <i>d6</i>	102,9	32
5	DMF- <i>d7</i>	92,7	21
6	DMSO- <i>d6</i>	85,1	non déterminée <sup>b</sup>

<sup>a</sup> La largeur de ligne spectrale de RMN MAS a été déterminée comme étant la largeur à demi-hauteur du signal du proton Hε de la lysine. <sup>b</sup> Aucun résultat interprétable n'a été obtenu dans le DMSO-*d6*.

**Figure 4.2.** Spectre TOCSY de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99) gonflée dans la pyridine-d5



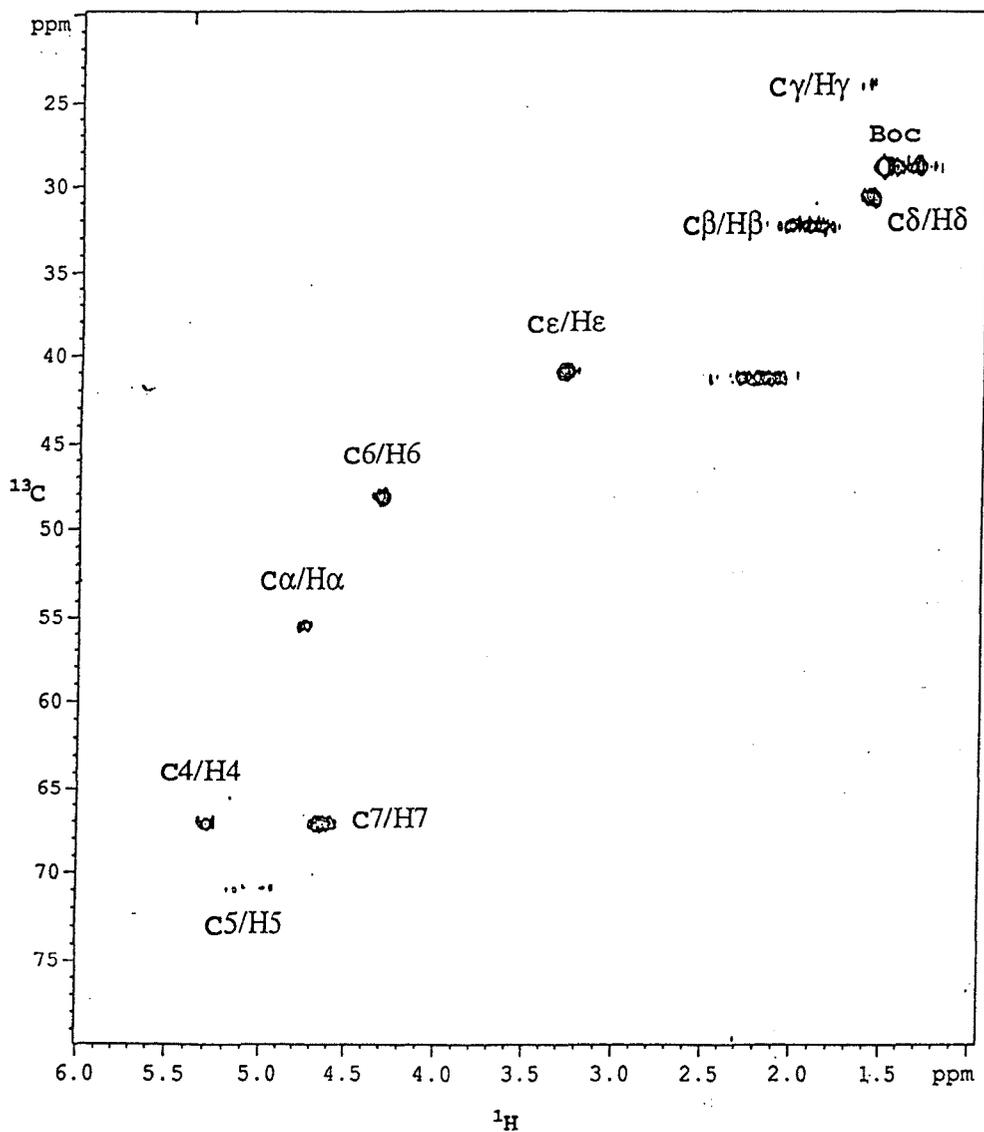
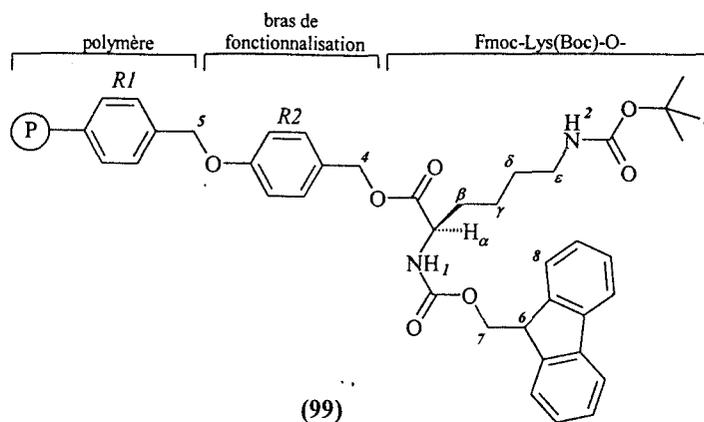
Des spectres de la lysine attachée au polymère, comparables aux spectres en phase liquide, ont été obtenus dans la pyridine-*d*5, le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-*d*2, le CHCl<sub>3</sub>-*d*1, le benzène-*d*6 et le DMF-*d*7. Une largeur de ligne du proton de 21 Hz peut être considérée comme étant trop importante pour les études RMN de haute résolution. Cette résolution s'est néanmoins révélée entièrement satisfaisante pour l'obtention de données structurales à partir des spectres RMN MAS en deux dimensions.

#### 4.II.4. Attribution complète de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99) en utilisant les données spectrales de RMN MAS

L'attribution complète des protons et des carbones et l'identification structurale de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99), ont été aisément réalisés en utilisant des expériences TOCSY et <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMQC standard. Le temps d'acquisition de chaque expérience 2D a été de 3 h. Des résultats similaires ont été obtenus pour les autres solvants, à l'exception du DMSO-*d*6.

L'identification du système de protons de la lysine protégée a été faite sans ambiguïté en utilisant les lignes de corrélation du spectre TOCSY, comme indiqué dans la figure 4.2. La chaîne a pu être tracée à partir du proton du groupement protégé (NH)1 de la chaîne principale, en passant par le proton H $\alpha$  et les différents protons de la chaîne latérale jusqu'au proton H $\epsilon$ . Le chemin inverse, à partir du proton du groupement protégé (NH)2 de la chaîne latérale et passant par le proton H $\epsilon$  jusqu'au proton H $\alpha$  a été aussi identifié. Le groupement protecteur Fmoc est caractérisé par des lignes de résonance spécifiques dans la région des aromatiques. Les protons H6 et H7 ont été attribués comme étant un groupe de trois protons interconnectés. Par contre, les protons H4 et H5 provenant du bras de fonctionnalisation et du polymère sont isolés et ils n'ont pas pu être attribués sans ambiguïté à ce stade. L'attribution des carbones a été faite en utilisant les tâches de corrélation <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C du spectre HMQC, comme indiqué dans la figure 4.3. L'attribution complète des protons et des carbones de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99) est indiquée dans le tableau 4.3. Les déplacements chimiques que nous avons obtenus sont en accord avec les valeurs publiées par Anderson *et al.*<sup>98</sup>

**Figure 4.3.** Région aliphatique du spectre  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99) gonflée dans la pyridine- $d_5$

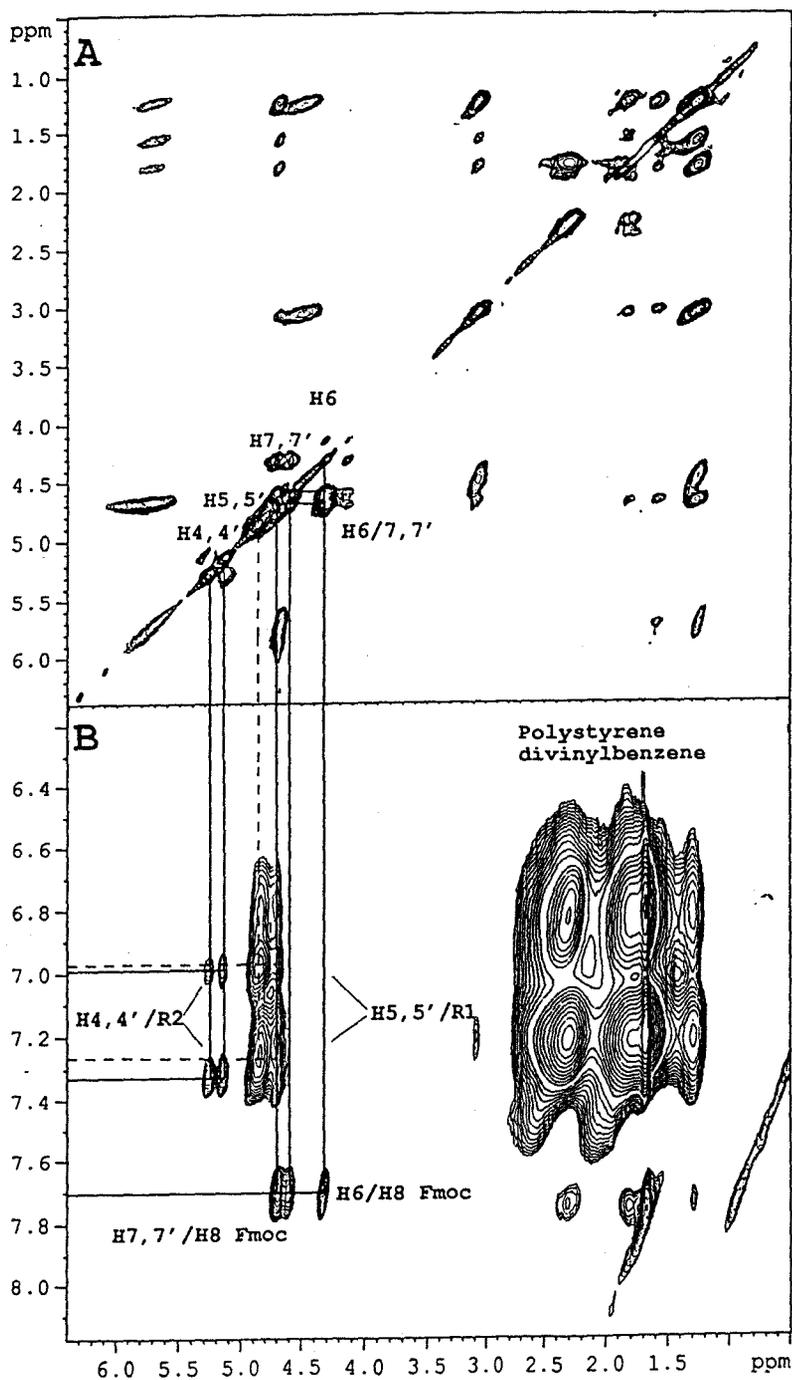


**Tableau 4.3.** Attribution des  $^1\text{H}$  et des  $^{13}\text{C}$  de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc(99) gonflée dans la pyridine- $d_5$

Attribution	Déplacement chimique du $^1\text{H}$ (ppm)	Déplacement chimique du $^{13}\text{C}$ (ppm)
$\alpha$	4,73	55,26
$\beta$	1,89; 2,03	32,14
$\gamma$	1,59	23,85
$\delta$	1,59	30,31
$\varepsilon$	3,26	41,13
1	9,03	/
2	7,43	/
Boc	1,53	28,73
4	5,27	66,80
5	5,00	70,46
Fmoc aromatiques	7,83; 7,65; 7,34; 7,24	non déterminé
6	4,30	47,89
7	4,57; 4,66	66,80

La rotation de l'échantillon sous l'angle magique à une vitesse de 2 kHz élimine l'élargissement de la ligne déterminé par les différences de susceptibilité magnétique et le couplage dipolaire, mais elle n'a aucun effet sur le mécanisme de relaxation croisé dipolaire.<sup>106</sup> Ainsi, une expérience NOESY (*Nuclear Overhauser Spectroscopy*)<sup>107</sup> nous a permis d'observer des tâches de corrélation très intenses entre les protons proches dans l'espace. Dans la figure 4.4. sont indiqués le spectre TOCSY de la résine (99) gonflée dans le benzène- $d_6$  (A), et une partie du spectre NOESY correspondant (B). On peut remarquer ici les corrélations NOE entre les protons H6 et H7 et le proton H8 du groupement Fmoc. Le spectre NOESY permet une identification sans ambiguïté des protons H4 et H5. Une tâche de corrélation NOE très fine a été observé entre le proton H4 et les deux protons aromatiques du

Figure 4.4. Spectre TOCSY (A) et spectre NOESY (B) de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99) gonflée dans le benzène-d6



cycle noté R2. Par contre, une tâche de corrélation NOE large a été observé entre le proton H5 et les deux protons aromatiques du cycle R1 qui lui, appartient au polymère.

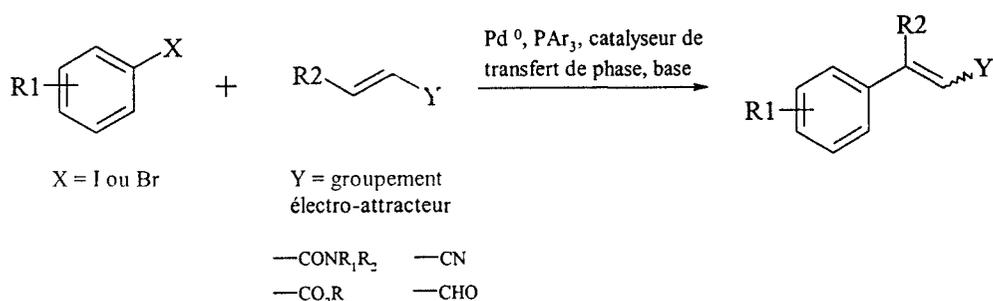
La largeur de ligne spectrale obtenue dans les expériences NOESY est directement corrélée avec la liberté de mouvement des protons H4 et H5 : le proton H5 est plus proche du polymère réticulé par rapport au proton H4 et présente donc une résonance plus large. Cette différence de largeur de ligne spectrale indique sans doute le gradient de mobilité entre les noyaux aromatiques R1 et R2: les résonances des protons du noyau R1, appartenant au polystyrène sont larges, tandis que la présence du bras de fonctionnalisation confère un degré de liberté plus important au noyau R2, qui se traduit par des résonances plus fines pour les protons de ce dernier.

#### 4.II.5. Suivi des trois étapes d'une réaction en phase solide en utilisant la technique de RMN MAS

##### 4.II.5.1. Choix de la réaction modèle

Nous avons choisi comme modèle la réaction de Heck (figure 4.5). Cette réaction permet d'engendrer des liaisons C-C, conduisant à des oléfines substituées. Comme une large variété de substrats peuvent être exploités, elle présente un grand intérêt pour la synthèse combinatoire. De plus, la réaction de Heck a lieu dans des conditions douces (pas de conditions strictement anhydres ou d'atmosphère inerte), se met en oeuvre et s'automatise facilement.

Figure 4.5. Schéma général de la réaction de Heck



Des travaux publiés récemment concernant la réaction de Heck en phase solide<sup>108, 109</sup> ont montré qu'il est nécessaire que l'halogénure d'aryle (bromure ou, mieux iodure) soit attaché au support solide, et que l'oléfine soit amenée en solution. Dans le cas contraire, il n'y a pas de transformation.<sup>109</sup> Il est également apparu que le DMF était un solvant de choix pour la réaction. Des catalyseurs tels que l'acétate de palladium Pd(OAc)<sub>2</sub> ont été utilisés, et la présence de ligands de type tris(2-tolyl)phosphine a été nécessaire pour le couplage des substrats moins réactifs. Le système catalytique doit contenir également une base, généralement la triéthylamine (Et<sub>3</sub>N), et éventuellement un catalyseur de transfert de phase, le chlorure ou le bromure de *n*-tetrabutylammonium. En fonction des substrats et des catalyseurs, la réaction peut se réaliser à des températures situées entre 40 °C et 100 °C.

#### 4.II.5.2. Schéma réactionnel de synthèse d'oléfines substituées à partir de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99)

Nous avons décidé de tirer profit des résultats des expériences RMN MAS réalisées sur la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99), en les utilisant comme point de départ pour le suivi de la réaction de Heck en phase solide. Un schéma réactionnel comportant trois étapes synthétiques a été conçu à partir de cette résine (figure 4.6):

1/ clivage du groupement protecteur Fmoc

2/ couplage de l'acide 3-iodobenzoïque avec le groupement (NH<sub>2</sub>) $\alpha$  précédemment déprotégé

3/ réaction de l'iodure d'aryle obtenu sur polymère avec l'acrylate d'éthyle dans le DMF, en présence de Pd(OAc)<sub>2</sub>, de tris(2-tolyl)phosphine et d'Et<sub>3</sub>N à 60 °C

Figure 4.6. Schéma réactionnel de synthèse d'oléfines substituées à partir de la résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc (99)

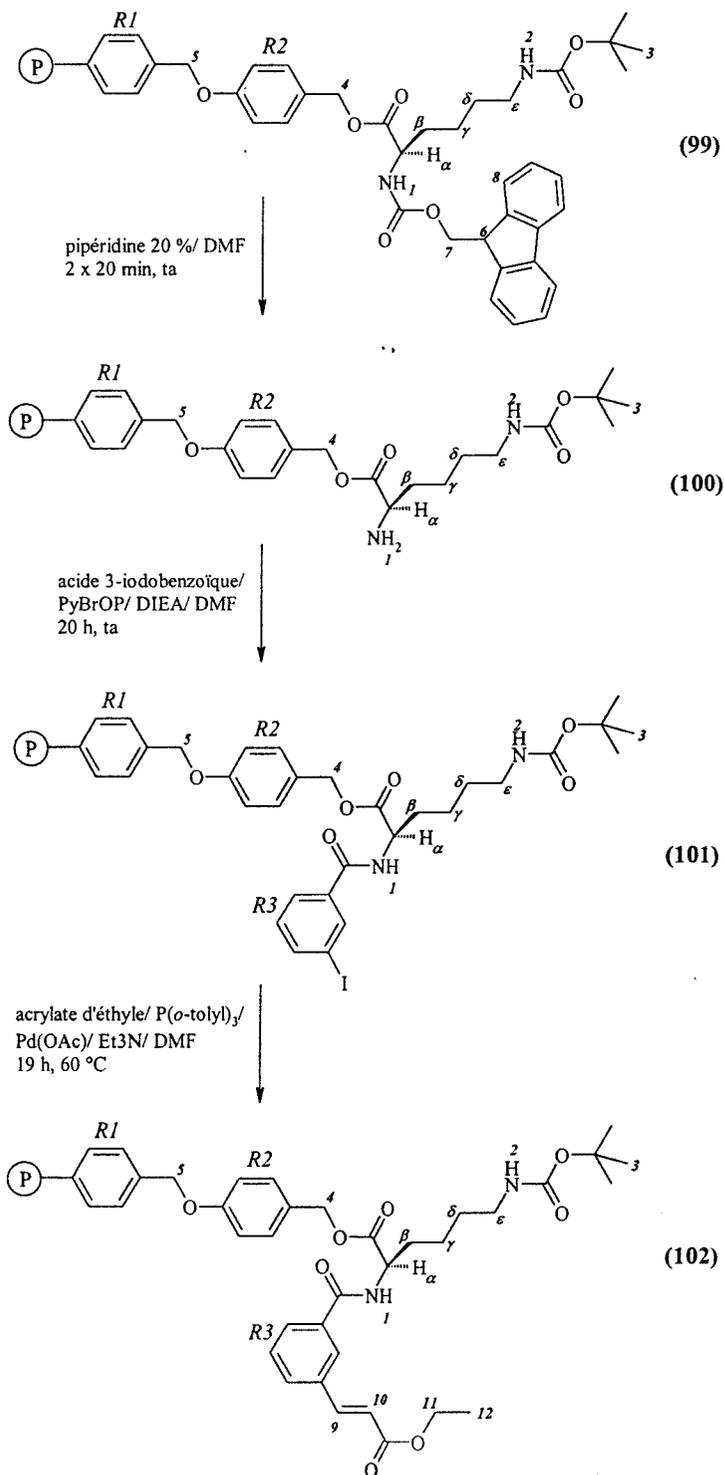
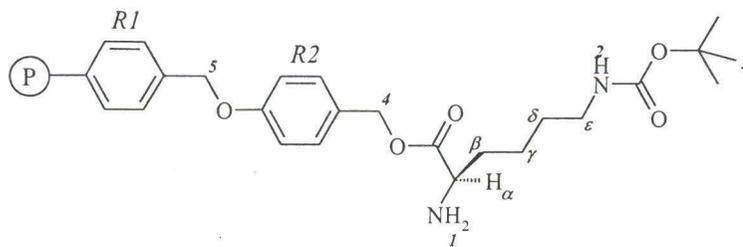
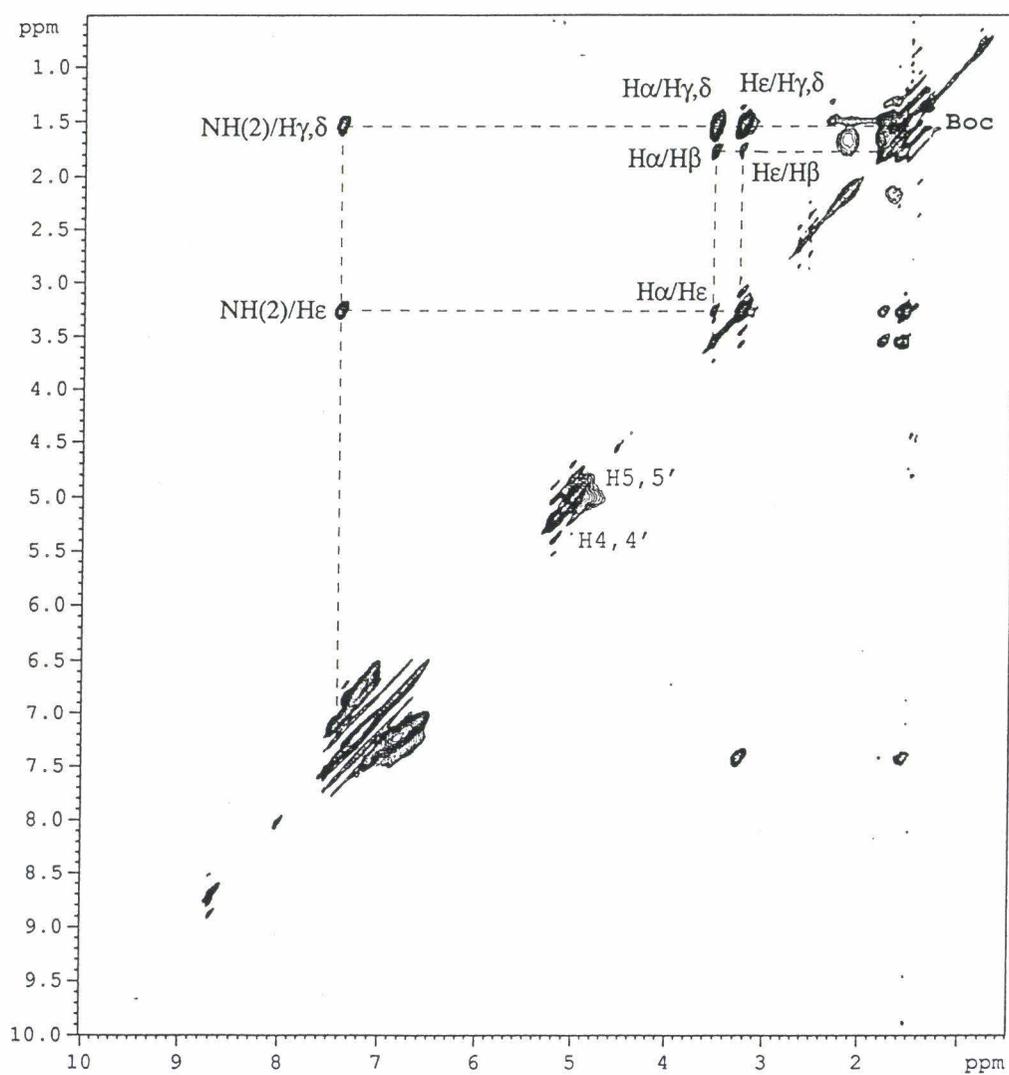


Figure 4.5. Spectre TOCSY de la résine (100) gonflée dans la pyridine-d5



(100)



#### 4.II.5.3. Choix du solvant de gonflement des résines pour les études RMN MAS

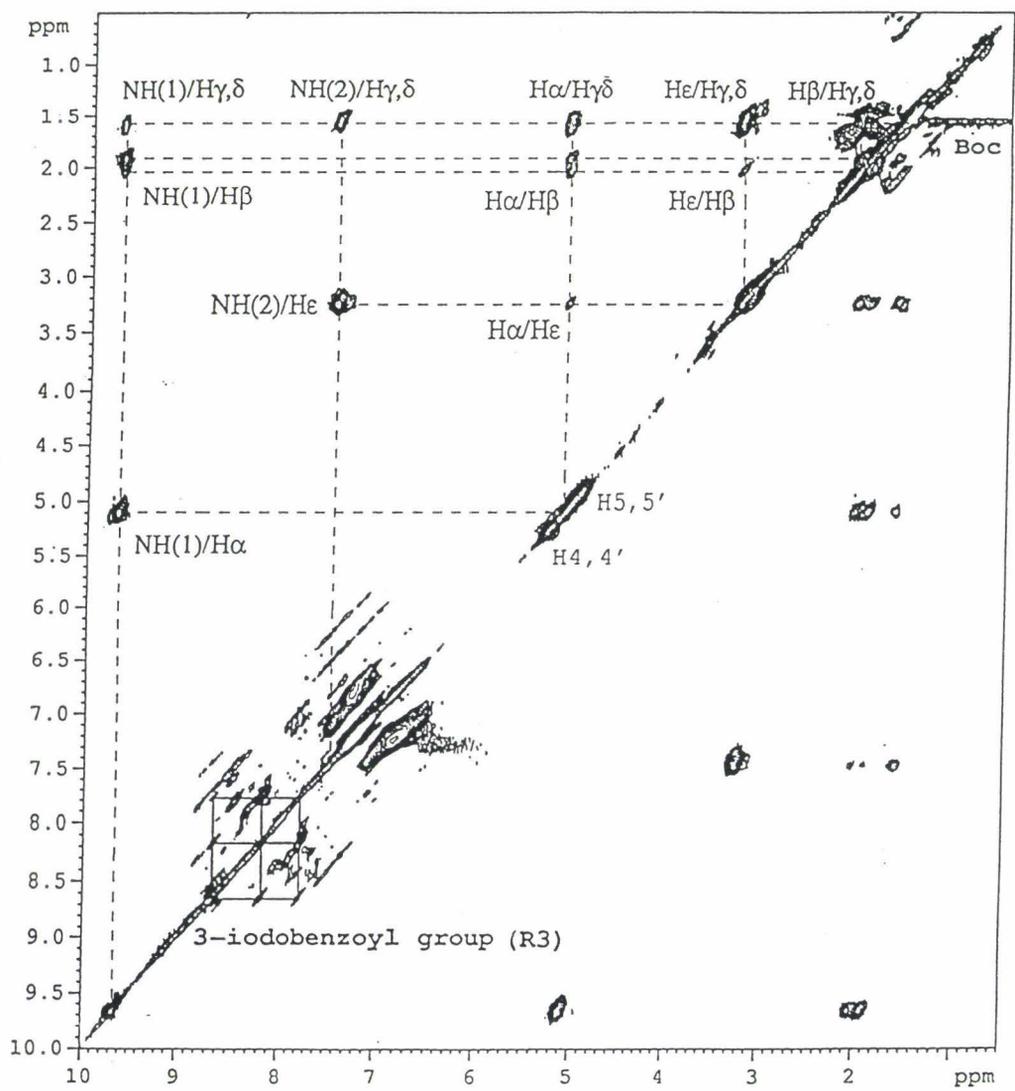
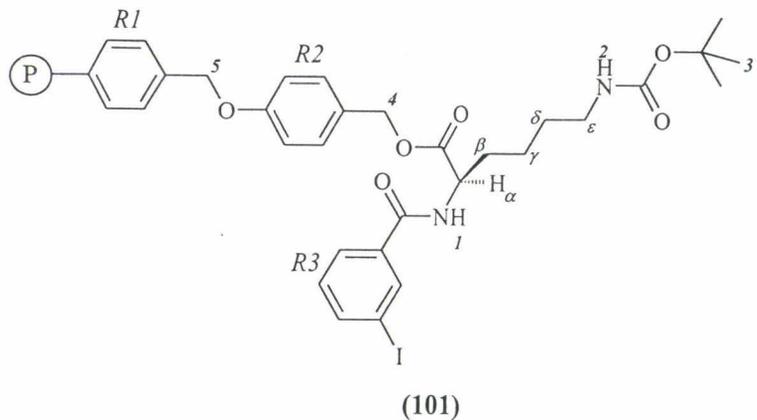
Comme déjà mentionné, un bon gonflement de la résine est indispensable pour l'obtention de spectres RMN MAS de bonne qualité des molécules qui y sont attachées. Le suivi d'une réaction avec un nombre relativement grand d'étapes, comme par exemple la synthèse d'un peptide, peut devenir assez délicat dans la mesure où les différentes résines intermédiaires, possédant des propriétés physico-chimiques différentes, peuvent également présenter des capacités de gonflement différentes. Des études très récentes ont montré que, à partir d'un certain nombre de résidus, la structuration d'un peptide sur le support de synthèse conduit à des spectres de faible résolution si les études RMN MAS des résines intermédiaires sont effectuées dans le même solvant de gonflement du début jusqu'à la fin de l'élongation de la chaîne peptidique.<sup>110</sup> Dans ces conditions, une étude systématique des capacités de gonflement des résines intermédiaires s'impose.

Dans le cas particulier de synthèse de petites molécules organiques sur des supports polymériques relativement peu chargés, les modifications structurales suivant les différentes étapes synthétiques ne vont pas apporter de modifications significatives des propriétés physico-chimiques de l'ensemble du polymère. On peut donc considérer que les polymères intermédiaires possèdent les mêmes propriétés de gonflement que le polymère de départ. Pour le suivi par RMN MAS des trois étapes du schéma réactionnel incluant la réaction de Heck, nous avons donc choisi d'utiliser la pyridine-*d*<sub>5</sub> comme solvant de gonflement des résines intermédiaires, comme pour la résine de départ (99).

#### 4.II.5.4. Attribution complète des intermédiaires de réaction à l'aide des spectres TOCSY RMN MAS

La première étape du schéma réactionnel (figure 4.6) correspond au clivage du groupement protecteur Fmoc. En effet, pour la résine (100) on constate sur le spectre TOCSY la disparition des pics dans la région aromatique et des pics des protons H6 et H7, correspondant au groupement Fmoc (figure 4.7). En même temps, le déplacement du pic du proton H $\alpha$  vers les hauts champs confirme l'élimination de la fonctionnalité carbamate qui se trouvait à proximité de la position C $\alpha$ . Nous avons également constaté l'absence des signaux

Figure 4.6. Spectre TOCSY de la résine (101) gonflée dans la pyridine-d5



correspondant aux protons du groupement  $(\text{NH}_2)I$  nouvellement formé. Un effet similaire avait déjà été remarqué pour le groupement  $\text{NH}_3^+$  de la L-alanine.<sup>111</sup> Dans notre cas un élargissement des résonances dû aux échanges intermédiaires des protons  $(\text{NH}_2)I$  était attendu, ce phénomène se trouvant probablement à l'origine de l'absence de ces pics dans le spectre.

La deuxième étape du schéma réactionnel implique le couplage de l'acide 3-iodobenzoïque avec le groupement  $(\text{NH}_2)I$ . Pour la résine acylée (**101**), nous avons attribué le système de spin apparu dans la région aromatique au groupement 3-nitrobenzoyle (noyau aromatique noté *R3*) attaché à la résine. Il faut également noter la réapparition du signal correspondant au proton du groupement  $(\text{NH})I$ , qui est maintenant acylé. A cette étape, un déblindage important noté pour le proton  $\text{H}\alpha$  vient confirmer la présence de la liaison carboxamide dans la proximité du  $\text{C}\alpha$  (figure 4.8).

Lors de la dernière étape, l'iodure d'aryle a été mis en réaction avec l'acrylate d'éthyle, pour engendrer une oléfine disubstituée. Le spectre TOCSY de la résine (**102**) ainsi obtenue présente des nouveaux pics qui ont été attribués aux protons oléfiniques *H9* et *H10* et aux protons *H11* et *H12* du groupement éthyle (figure 4.9).

Figure 4.7. Spectre TOCSY de la résine (102) gonflée dans la pyridine-d5

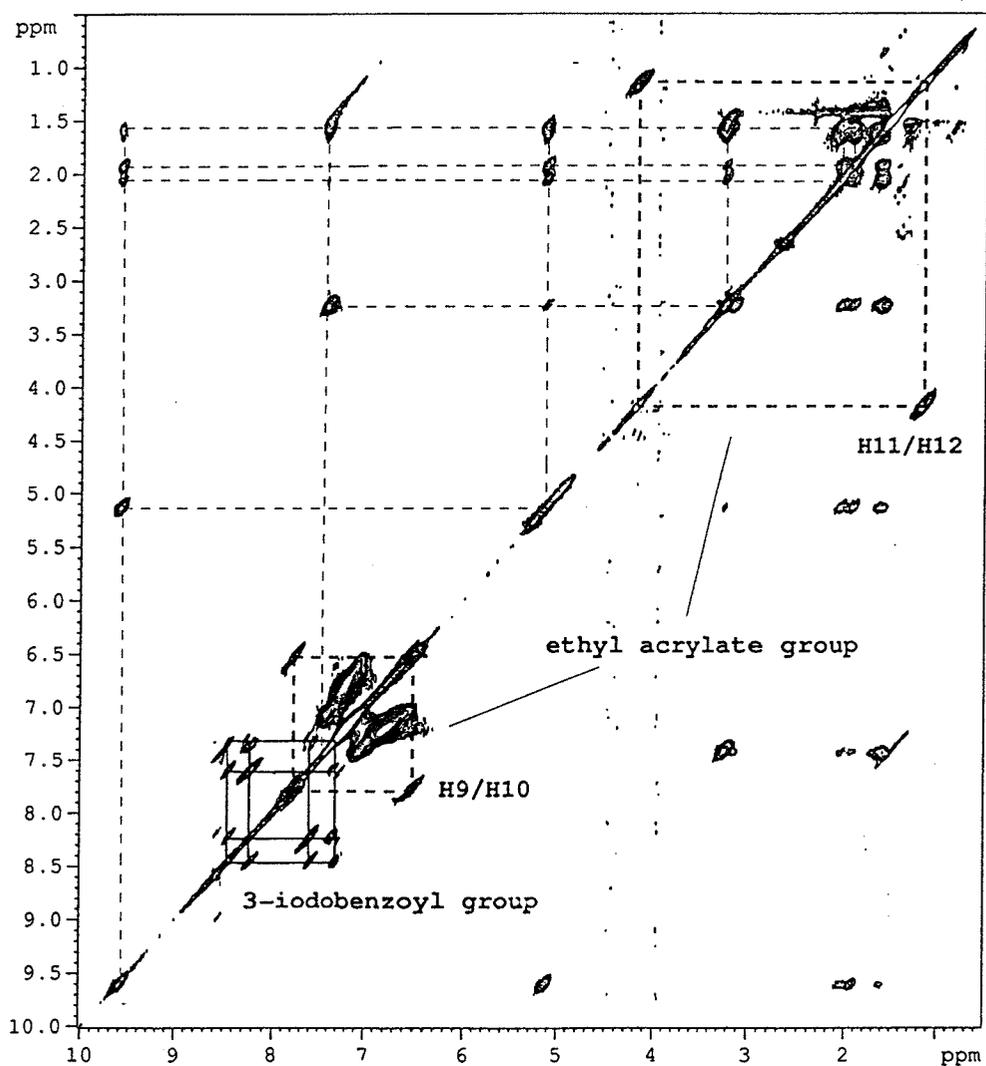
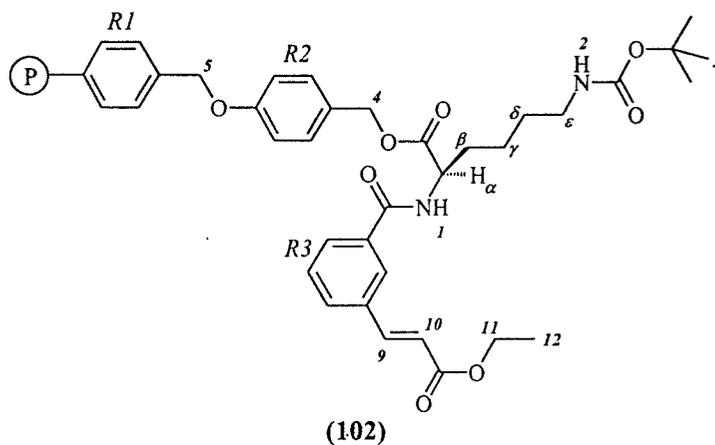


Tableau 4.4. Attribution des  $^1\text{H}$  des résines (100), (101) et (102) gonflées dans la pyridine- $d_5$

Attribution	Déplacement chimique du $^1\text{H}$ (ppm)		
	résine (100)	résine (101)	résine (102)
$\alpha$	3,55	5,11	5,14
$\beta$	1,80	1,94 ; 2,05	1,94 ; 2,06
$\gamma$	1,57	1,56	1,54
$\delta$	1,57	1,56	1,54
$\varepsilon$	3,28	3,24	3,25
(NH)1	non déterminé	9,64	9,91
(NH)2	7,41	7,45	7,42
3	1,52	1,50	1,49
4	5,22	5,27	5,27
5	5,04	4,95	4,98
R3	-	8,63 ; 8,17 ; 7,76	8,47 ; 8,23 ; 7,60 ; 7,34
9	-	-	7,78
10	-	-	6,52
11	-	-	4,18
12	-	-	1,15

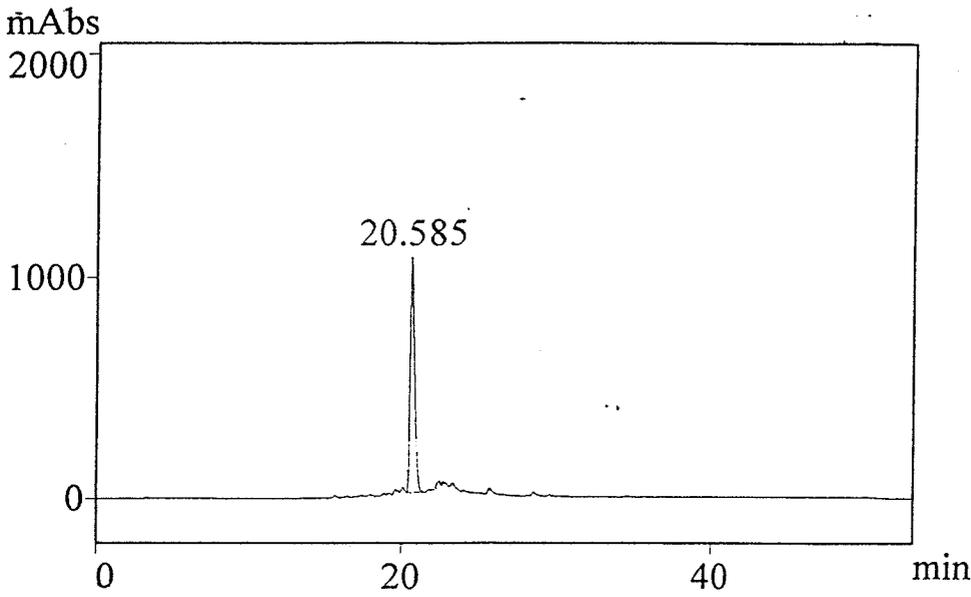
Pour chaque étape de réaction, nous n'avons pas détecté de résonances correspondant aux produits des étapes précédentes. Dans ce contexte, nous avons pris en compte deux possibilités :

1/ l'espèce de départ a réagi en totalité.

2/ la quantité de produit non réagi restant sur polymère était trop faible pour être détectée par la technique RMN MAS.

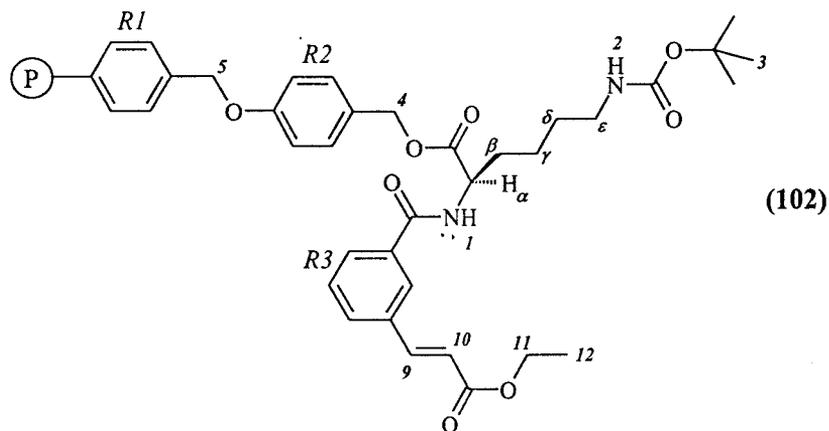
Pour vérifier ces hypothèses, la résine (102) a été clivée par le TFA (figure 4.11) et le produit de clivage a été analysé par HPLC. Nous avons ainsi constaté que toutes les étapes de réaction ont été quantitatives, puisque un pic unique a été observé par HPLC (figure 4.10). A ce stade

Figure 4.10. Profile HPLC du produit (103) (215 nm)

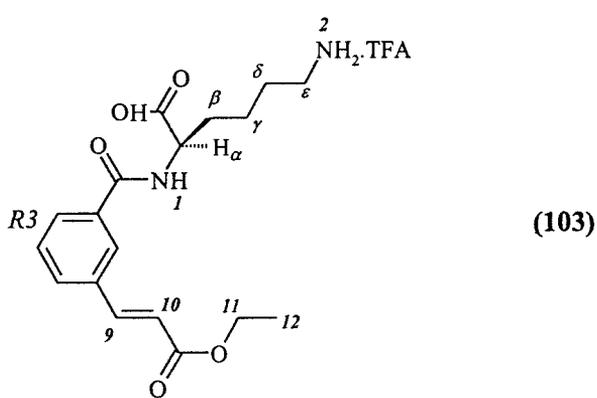


il est donc difficile d'établir à partir de quel taux de conversion les produits n'ayant pas réagi serait encore détectés par RMN MAS.

Figure 4.11. Clivage du produit fini de la résine



TFA 90 % / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

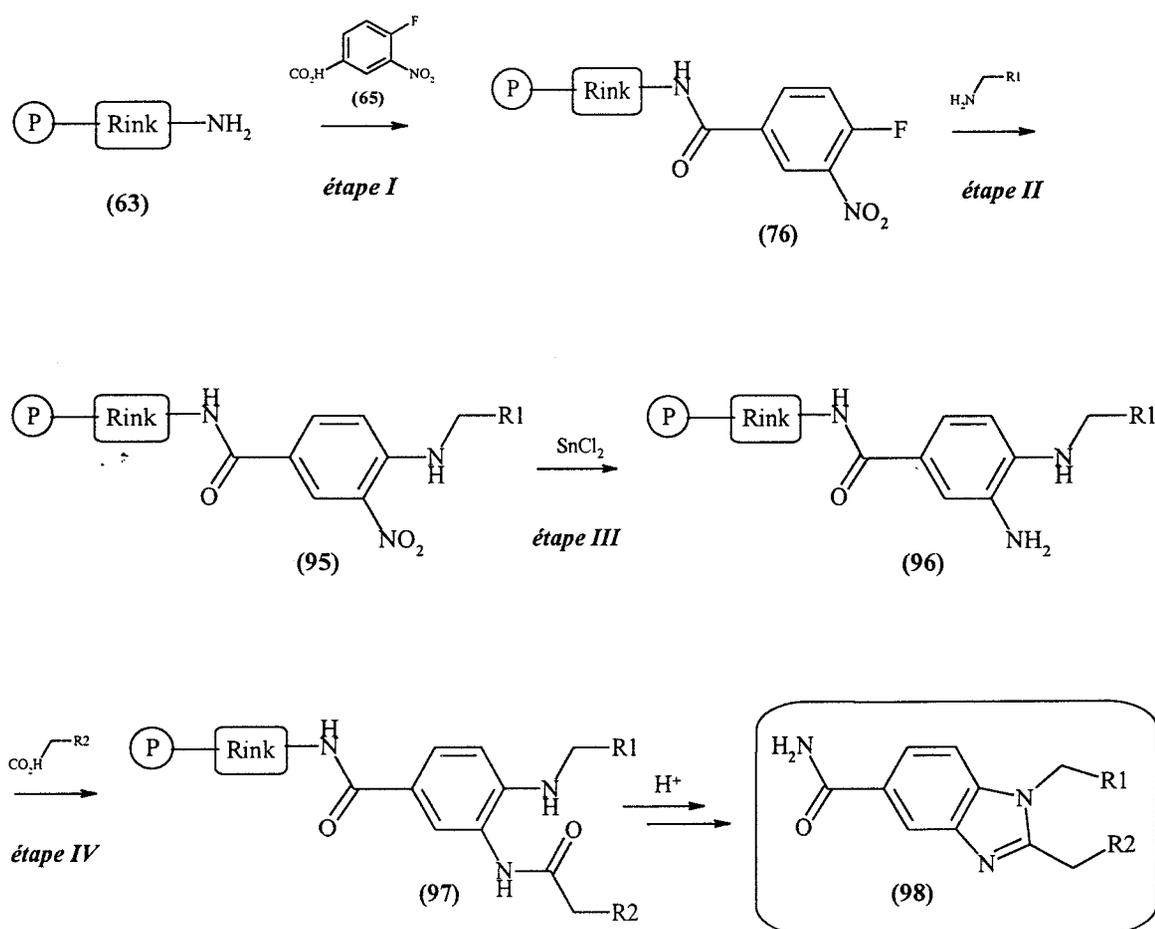


### 4.III. APPLICATION DE LA TECHNIQUE RMN MAS POUR LE SUIVI DES REACTIONS IMPLIQUEES DANS LA SYNTHESE DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE

#### 4.III.1. Rappel du schéma réactionnel de synthèse de benzimidazoles en phase solide

Dans le chapitre 3, nous avons présenté la mise au point d'une réaction de synthèse parallèle à haut débit de benzimidazoles en phase solide à partir d'amines et d'acides carboxyliques.

Figure 4.12. Schéma général de synthèse de benzimidazoles en phase solide



Comme figuré dans le schéma réactionnel (figure 4.12), nous avons établi que les monomères les mieux adaptés à cette synthèse (étapes II et IV) étaient des amines et des acides non encombrés (non substitués en  $\alpha$ ).

### 4.III.2. Suivi de la synthèse de benzimidazoles en phase solide par RMN MAS

#### 4.III.2.1. Etapes impliquées dans la conception d'une chimiothèque

Les étapes que nous suivons au laboratoire lors de la conception d'une chimiothèque sont :

1/ le **criblage chimique** de la réaction envisagée pour la synthèse de la chimiothèque : quelques réactions avec un nombre restreint de monomères représentatifs sont d'abord effectuées, ce qui permet de déterminer si la réaction est -ou non- une bonne candidate pour la synthèse parallèle à haut débit

2/ la **mise au point** des différentes étapes synthétiques en utilisant des monomères représentatifs pour les classes de composés chimiques impliquées dans le schéma réactionnel, et la détermination des différentes classes de monomères pouvant y être utilisées

3/ la **qualification** des monomères appartenant aux classes utilisables dans la chimie choisie : celle-ci consiste, pour une étape combinatoire impliquant par exemple 2 classes de monomères A et B, la mise en réaction de toutes les molécules de la classe A avec une molécule de réactivité moyenne de la classe B, et vice versa. Ainsi, toutes les molécules de chaque classe seront analysées de point de vue de leur réactivité, ce qui permet de déceler des problèmes de réactivité inattendus.

4/ la **synthèse** de la chimiothèque à partir des monomères qualifiés

#### 4.III.2.2. Intérêt de l'application de la technique RMN MAS pour le suivi de la synthèse des benzimidazoles en phase solide

L'analyse des produits intermédiaires est utile non seulement lors des mises au point des réactions, mais également lors des qualifications et de la synthèse des chimiothèques. Pour une synthèse multi-étape comme celle des benzimidazoles, le temps, mais surtout la perte de matériel, peuvent devenir deux facteurs limitants lors d'une analyse des intermédiaires après clivage du support solide. Dans ces conditions, l'analyse non destructive des résines est très intéressante, car elle permet d'évaluer l'avancement des réactions intermédiaires et guide la décision avant d'envisager l'étape synthétique suivante.

L'échantillon de résine analysé peut être remis en réaction, pour suivre le chemin réactionnel désiré.

Prenant l'exemple de la réduction du groupement nitro aromatique des composés (95) (figure 4.12), l'une des étapes les plus sensibles de la synthèse des benzimidazoles, l'analyse par RMN MAS de quelques produits de la chimiothèque peut donner des informations sur l'efficacité de la réduction. Si la réduction n'est pas complète, elle peut être continuée et les résines réanalysées par la suite, sans pour autant perdre des produits de la chimiothèque, car à chaque fois les résines sont récupérées et remises en réaction.

#### 4.III.2.3. Analyse par RMN MAS des résines de départ utilisées dans la synthèse de benzimidazoles

Il nous a paru intéressant de réaliser une comparaison entre les spectres RMN MAS de 2 résines différentes : une première résine ayant une matrice de base de type PS/DVB-PEG (63) et une seconde ayant une matrice de base de type PS/DVB (63'). L'utilisation d'une résine de type PS/DVB s'impose du point de vue économique, mais la mobilité réduite des molécules attachées peut devenir un facteur limitant pour la spectroscopie sur support solide. Dans tous les cas, les analyses RMN MAS ont été effectuées dans le  $\text{CHCl}_3\text{-}d1$ , qui permet de gonfler de façon comparable les deux types de résines.

Des spectres TOCSY ont été réalisés sur les résines Rink-amide de départ (63) et (63'), ainsi que sur les résines fonctionnalisées avec le tenseur précurseur, (76) et (76') (figure 4.13). L'analyse de ces spectres nous a permis de repérer des pics spécifiques provenant du polymère et du bras de fonctionnalisation, ainsi que du tenseur précurseur.

Figure 4.13. Couplage du tenseur précurseur (65) sur les résines (63) et (63')

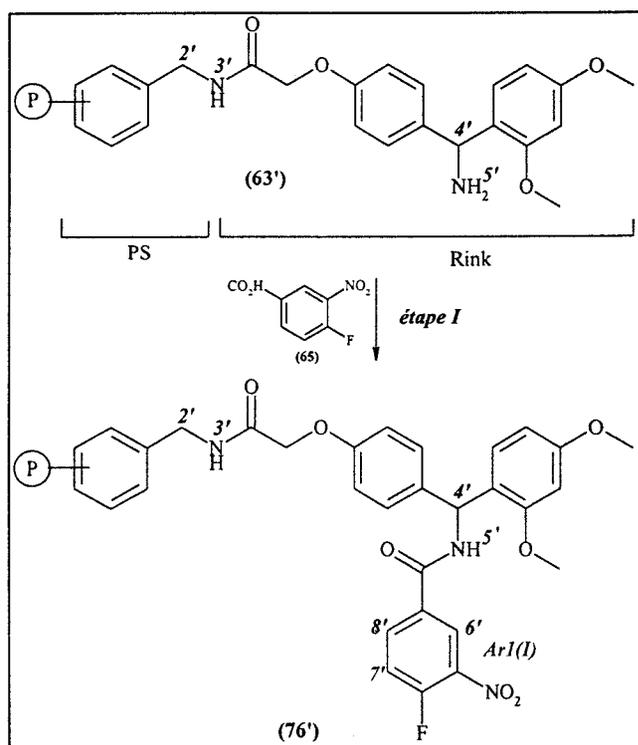
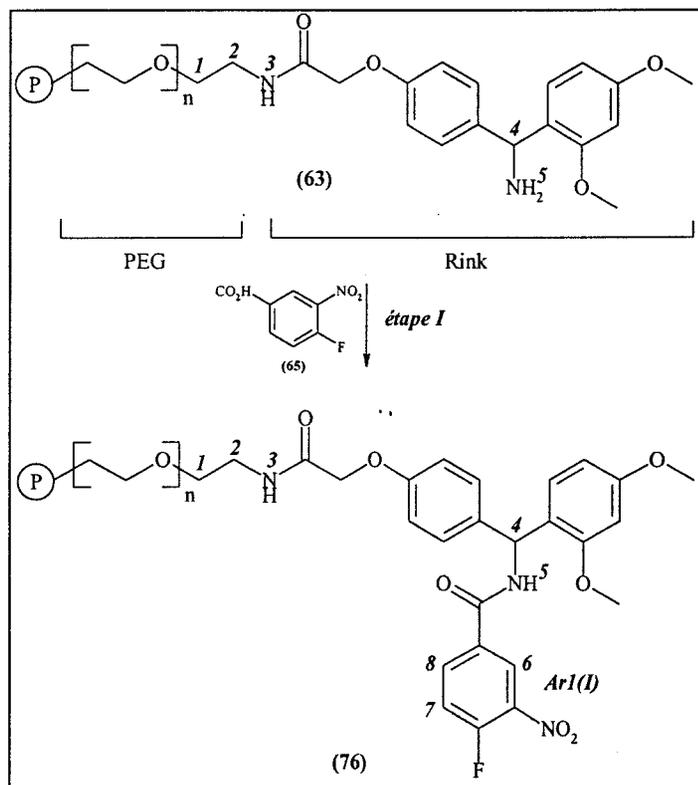
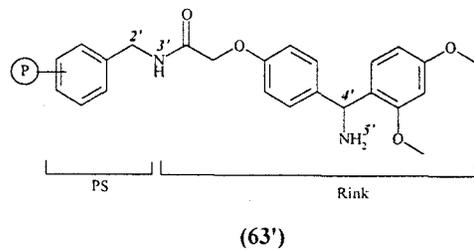
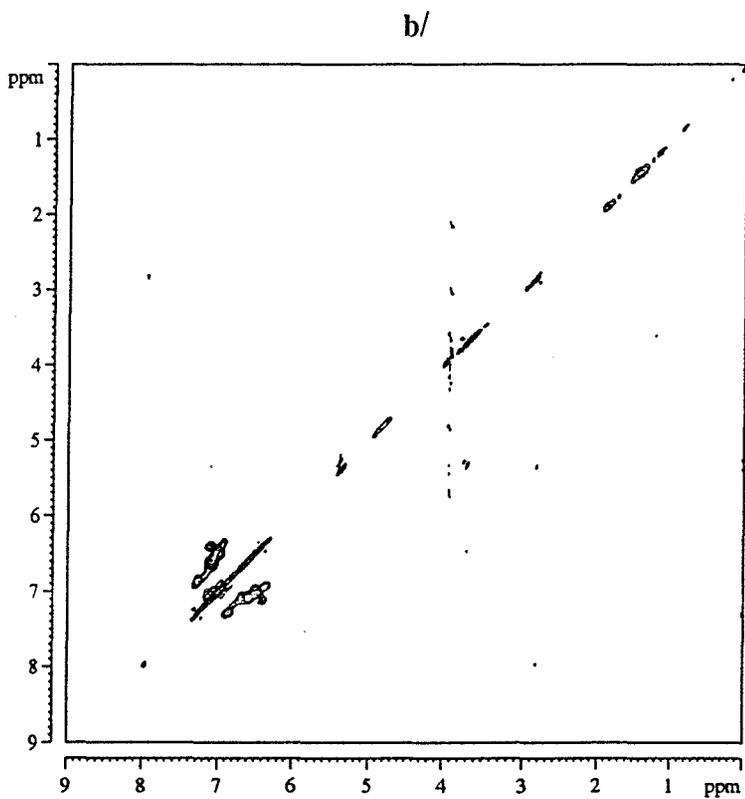
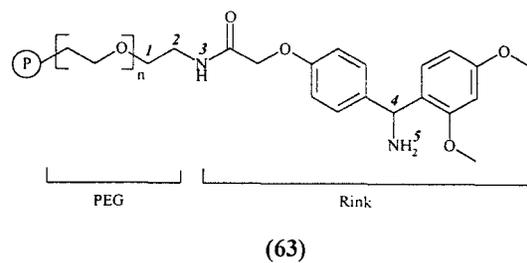
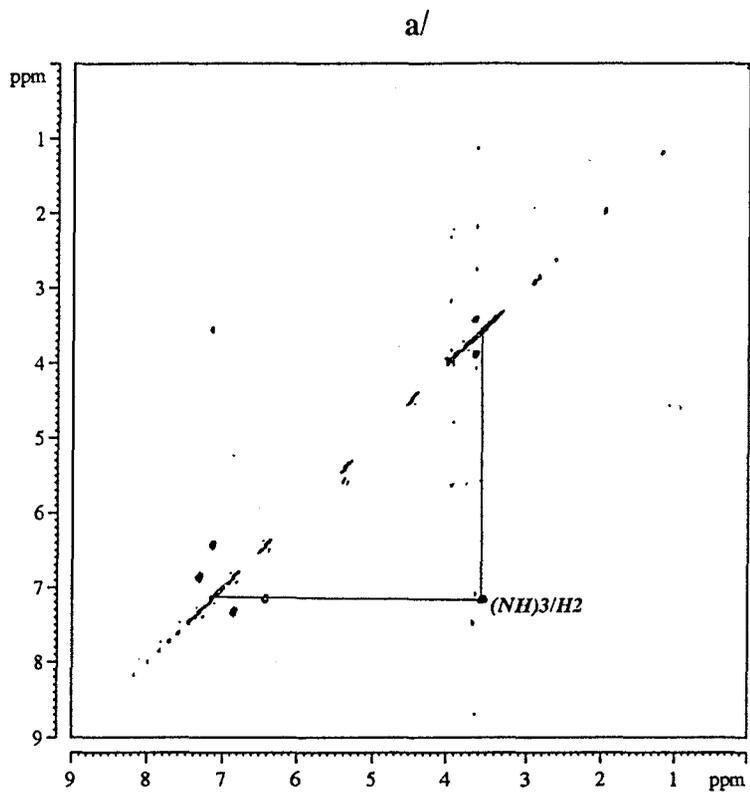


Figure 4.14. Spectres TOCSY des résines (63) et (63') gonflées dans le CDCl<sub>3</sub>



Pour la résine de type PS/DVB-PEG (63), nous avons constaté sur le spectre TOCSY (figure 4.14 a/) l'existence d'une tâche de corrélation attribuée au couplage entre le proton du groupement (NH)<sub>3</sub> et les protons H<sub>2</sub>, qui appartiennent au PEG. L'attribution de ce pic a été confirmée par son absence dans le spectre de la résine (63'), et ensuite par sa présence dans tous les spectres des résines PEG intermédiaires, avec des faibles modifications des déplacements chimiques. Pour la résine (63'), on ne détecte pas de tâche de corrélation entre le proton du groupement (NH)<sub>3</sub> et le proton H<sub>2</sub>, qui appartiennent au PS/DVB, ce qui confirme la mobilité réduite du bras de fonctionnalisation (figure 4.14 b/). Pour les deux résines, des pics ont été détectés dans la région des aromatiques (7,4-6,4 ppm), provenant vraisemblablement des noyaux aromatiques du bras Rink et des supports polymériques. L'absence des spectres de signaux correspondant aux groupements (NH)<sub>5</sub> et (NH)<sub>5</sub>' n'est pas étonnante, car nous avons déjà rencontré ce phénomène lors de nos études RMN MAS sur la réaction de Heck,<sup>100, 101</sup> et il avait déjà été mentionné dans la littérature.<sup>111</sup>

Après couplage du tenseur précurseur (65), l'apparition d'un système de trois protons attribué au noyau aromatique noté *Ar1(I)*, est constatée sur les spectres TOCSY des résines (76) (figure 4.15 a/) et (76') (figure 4.15 b/). Il faut signaler aussi l'apparition sur les deux spectres d'une tâche de corrélation attribuée au couplage entre les protons (NH)<sub>5</sub>/H<sub>4</sub> et (NH)<sub>5</sub>'/H<sub>4</sub>'. La résolution du spectre est meilleure pour la résine de type PS/DVB-PEG (76), car on peut distinguer les couplages entre tous les trois protons du noyau *Ar1(I)*, à la différence de la résine de type PS/DVB (76'), où seulement les couplages entre les protons H<sub>6</sub>'/H<sub>8</sub>' et H<sub>7</sub>'/H<sub>8</sub>' sont visibles. Généralement, les protons de la résine de type PS/DVB sont légèrement plus blindés par rapport aux protons de la résine de type PS/DVB-PEG.

Figure 4.15. Spectres TOCSY des résines (76) et (76') gonflées dans le CDCl<sub>3</sub>

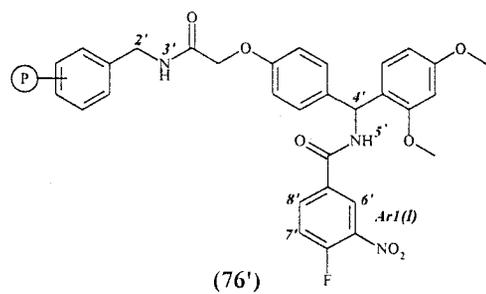
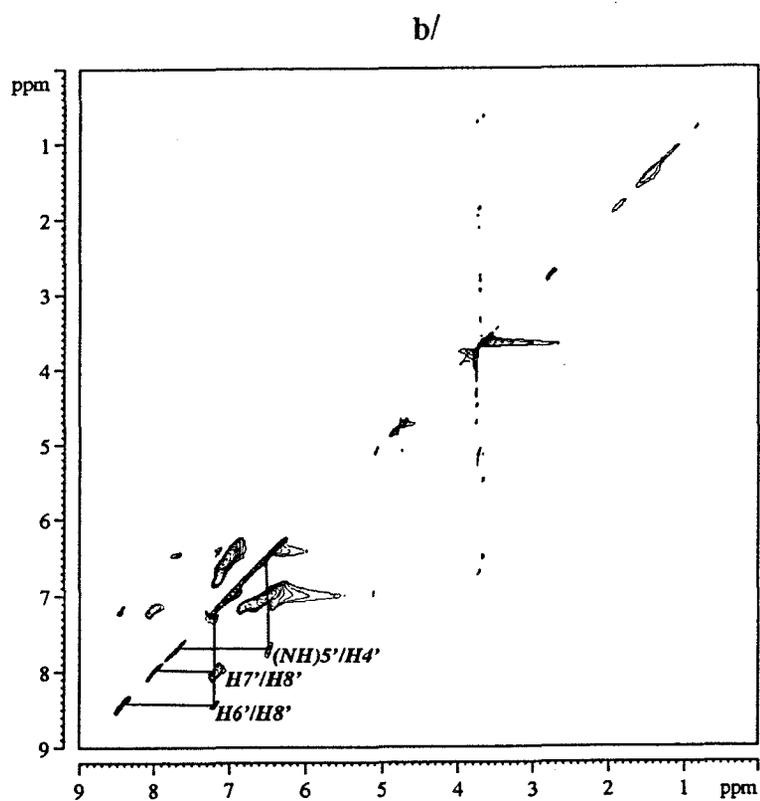
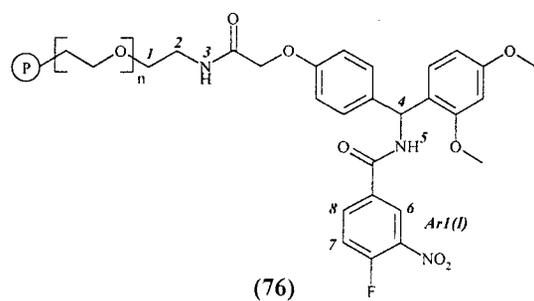
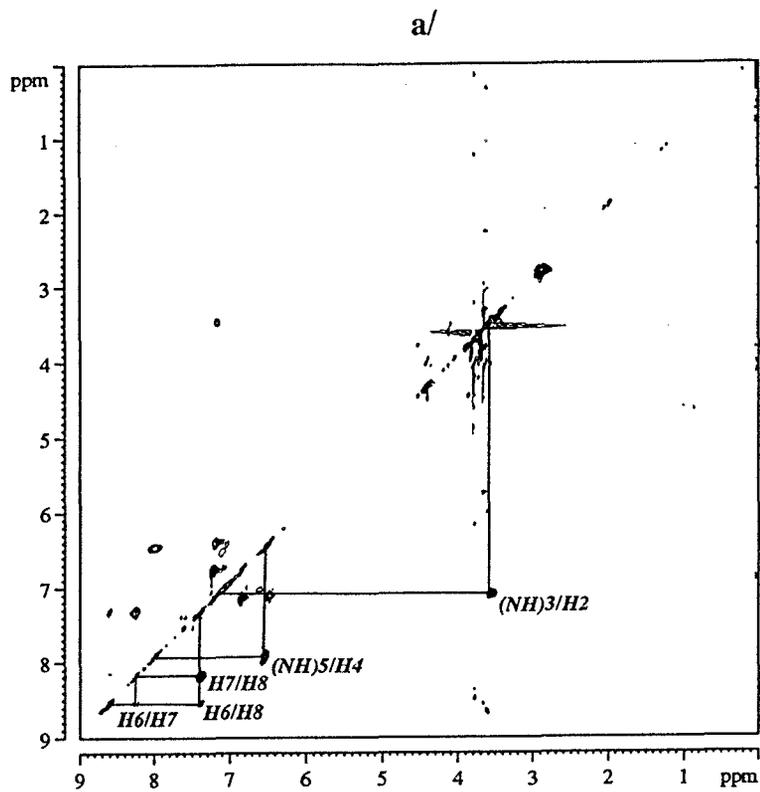


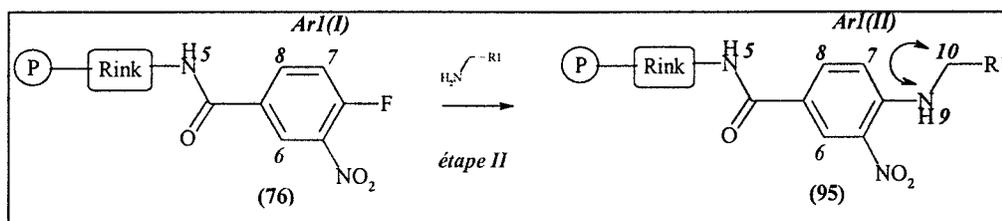
Tableau 4.5. Attribution des  $^1\text{H}$  des résines (63), (63'), (76) et (76') gonflées dans le  $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$

Attribution	Déplacement chimique du $^1\text{H}$ (ppm)			
	résine (63)	résine (63')	résine (76)	résine (76')
2 ou 2'	3,54	-	3,48	-
(NH)3 ou (NH)3'	7,15	-	7,16	-
4 ou 4'	-	-	6,47	6,46
(NH)5 ou (NH)5'	-	-	7,98	7,70
6 ou 6'	-	-	8,60	8,44
7 ou 7'	-	-	8,24	8,02
8 ou 8'	-	-	7,32	7,19

4.III.2.4. Analyse par RMN MAS des résines intermédiaires intervenant dans la synthèse de benzimidazoles

A. Analyse des résines issues de la  $\text{S}_\text{N}\text{Ar}$  (étape II). Les amines utilisées pour la synthèse de benzimidazoles sont des amines aliphatiques non substituées en  $\alpha$ . Après la  $\text{S}_\text{N}\text{Ar}$  (étape II) on doit donc observer sur le spectre TOCSY non seulement une modification des déplacements chimiques des protons du noyau aromatique  $\text{ArI}$ , mais également des tâches de corrélation entre le proton du groupement (NH)9 et les protons H10 du méthylène provenant de l'amine (figure 4.16).

Figure 4.16. Substitution nucléophile aromatique



Plusieurs résines obtenues après SNAr avec différentes amines primaires aliphatiques ont été analysées par RMN MAS.

Dans le tableau 4.6 est indiquée, de façon comparative, l'attribution des protons des résines (**95b**) et (**95b'**) obtenues par SNAr avec la 3,4-diméthoxyphénéthylamine (**b**), par rapport aux résines de départ (**76**) et (**76'**). Pour les deux résines substituées, le remplacement du fluor par une amine conduit au blindage des protons du noyau aromatique *Ar1*. L'apparition d'un système de trois protons attribué à la chaîne aliphatique apportée par l'amine confirme la SNAr. Sur les spectres TOCSY des résines substituées, les tâches de corrélation correspondant au noyau aromatique, *Ar1(I)* du produit de départ ne sont plus détectées. Une bonne résolution a été obtenue pour la résine de type PS/DVB-PEG (**95b**), ainsi que pour la résine de type PS/DVB (**95b'**) (figure 4.17 a/ et b/).

Dans le tableau 4.7 est indiquée, de façon comparative, l'attribution des protons de la résine (**95c**) obtenue par SNAr avec la 2-(2-aminoéthyl)pyridine (**c**), et de la résine (**95d**) obtenue par SNAr avec le 1-(3-aminopropyl)imidazole (**d**), par rapport à la résine de départ (**76**). Pour les deux résines, la SNAr est confirmée par le blindage du système de trois protons aromatiques du noyau *Ar1*, et par l'apparition d'un système de respectivement trois et quatre protons, attribués aux chaînes aliphatiques apportées par les amines. Sur le spectre TOCSY de la résine (**95c**) (figure 4.18 a/), un système de spin de faible intensité correspondant au noyau aromatique *Ar1(I)* de la résine de départ (**76**) est observé, indiquant que la SNAr n'était pas complète dans ce cas. Par contre, pour la résine (**95d**) aucun proton résiduel provenant de la résine de départ n'a pas été observé (figure 4.18 b/).

Figure 4.17. Spectres TOCSY des résines (95b) et (95b') gonflées dans le CDCl<sub>3</sub>

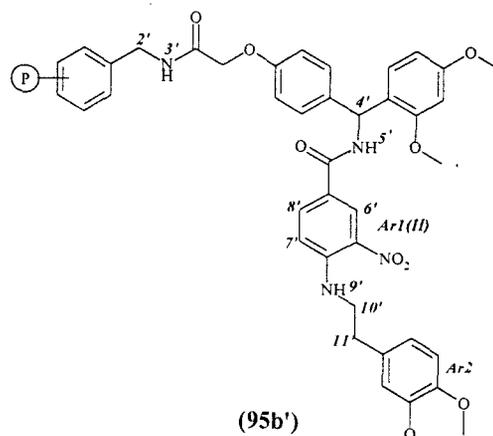
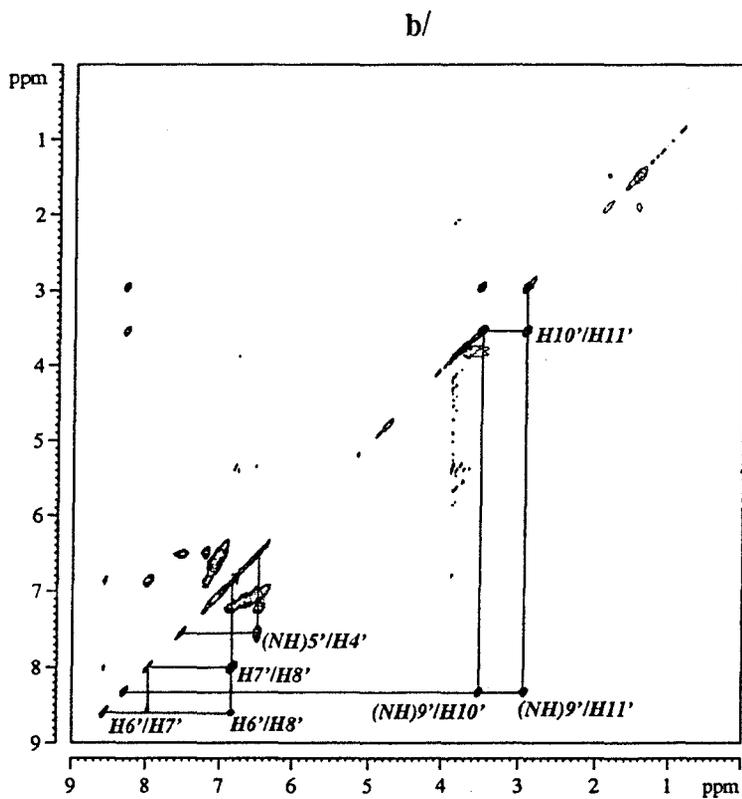
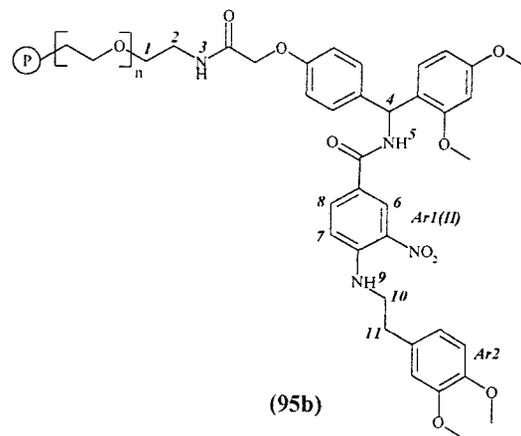
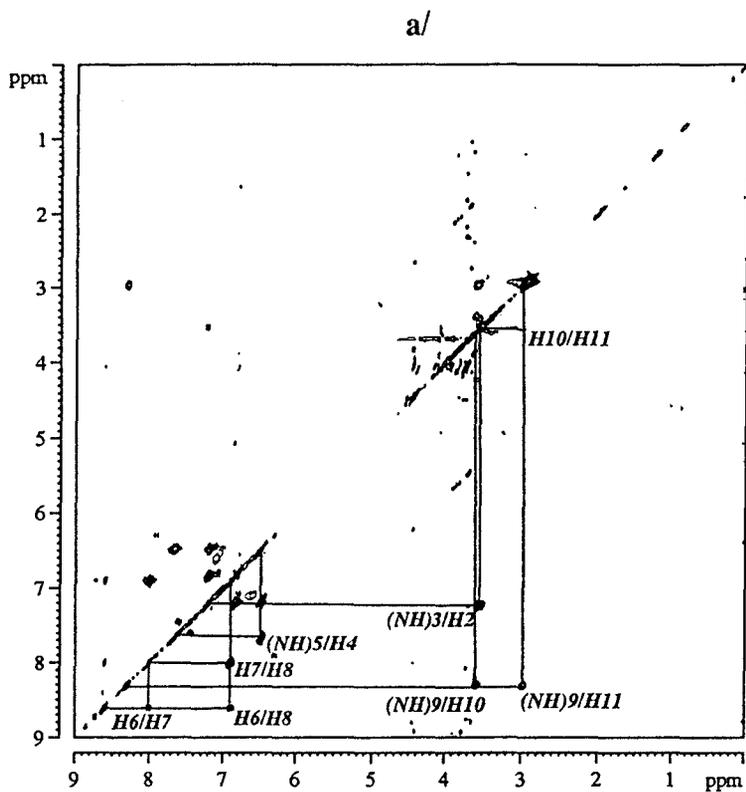
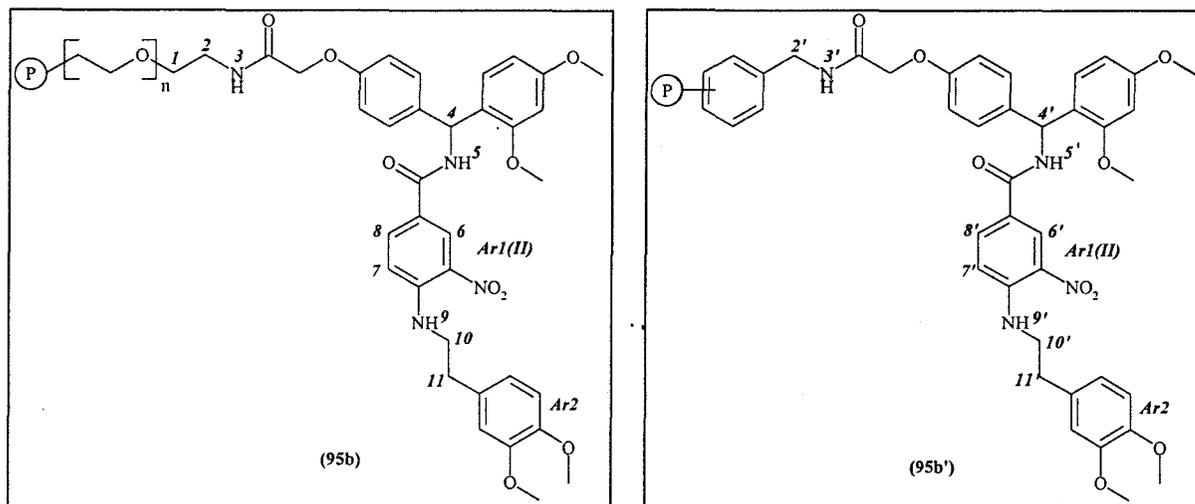


Tableau 4.6. Attribution des  $^1\text{H}$  des résines (76), (76'), (95b) et (95b') gonflées dans le  $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$



Attribution	Déplacement chimique du $^1\text{H}$ (ppm)			
	résine (76)	résine (95b)	résine (76')	résine (95b')
2 ou 2'	3,48	3,51	-	-
(NH)3 ou (NH)3'	7,16	7,21	-	-
4 ou 4'	6,47	6,47	6,46	6,43
(NH)5 ou (NH)5'	7,98	7,66	7,70	7,55
6 ou 6'	8,60	8,60	8,44	8,54
7 ou 7'	8,24	7,99	8,02	7,91
8 ou 8'	7,32	6,89	7,19	6,89
(NH)9 ou (NH)9'	-	8,31	-	8,24
10 ou 10'	-	3,57	-	3,56
11 ou 11'	-	2,96	-	2,96

Figure 4.18. Spectres TOCSY des résines (95c) et (95d) gonflées dans le CDCl<sub>3</sub>

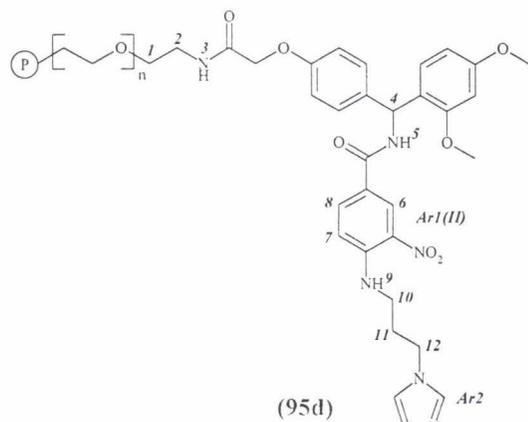
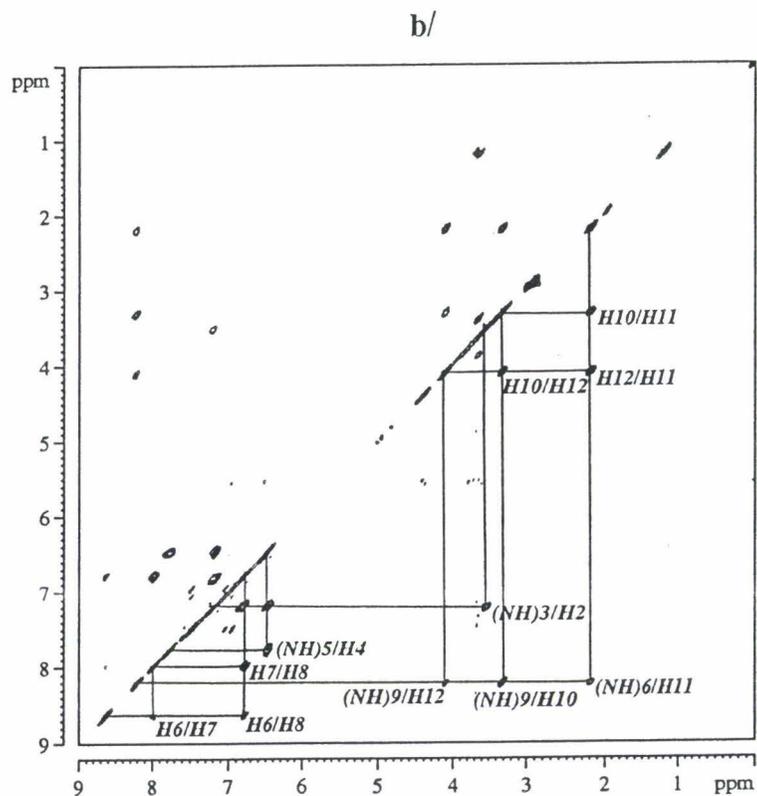
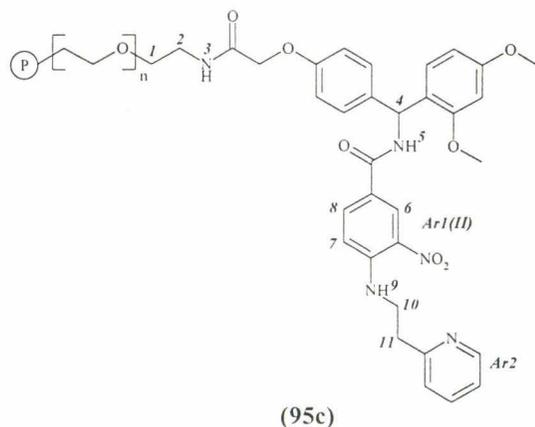
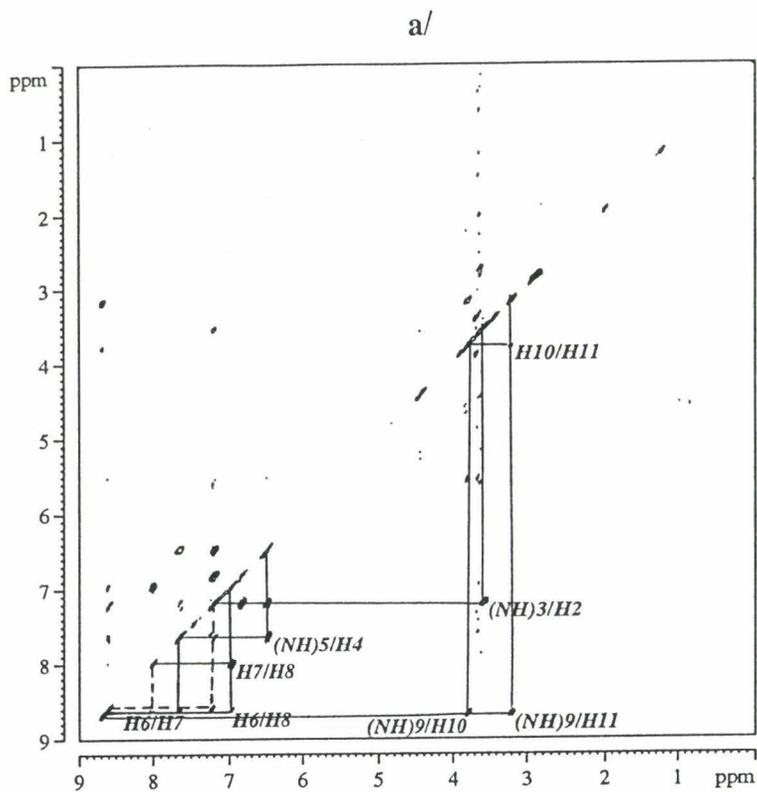
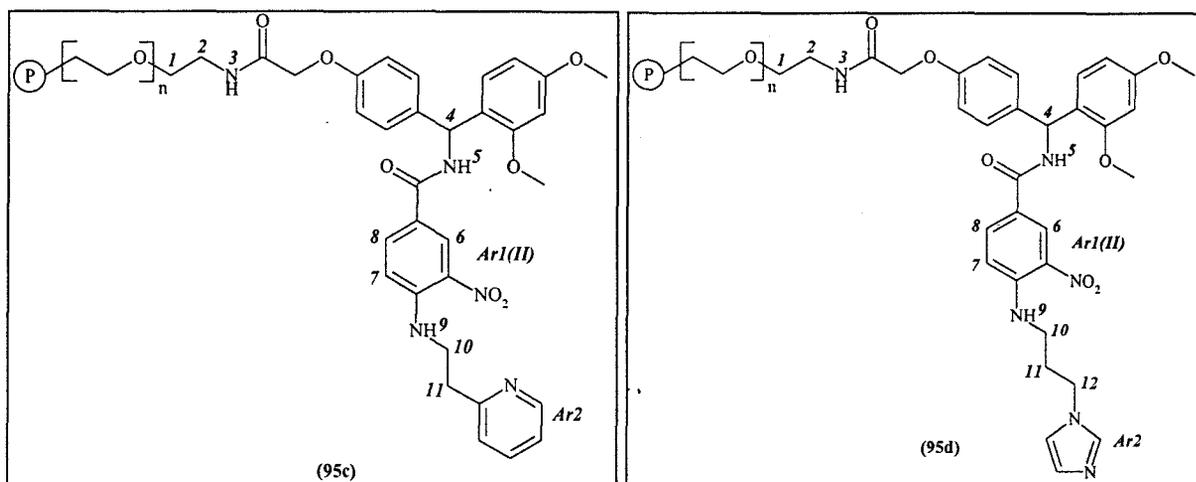


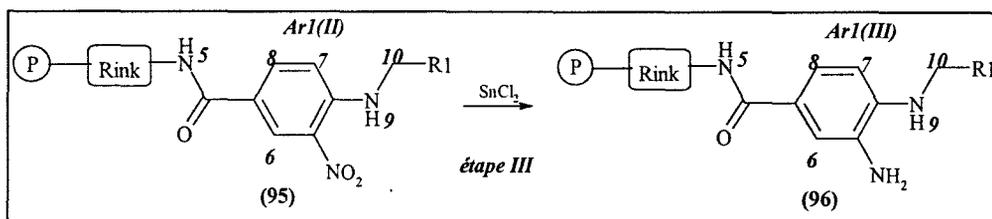
Tableau 4.7. Attribution des  $^1\text{H}$  des résines (76), (95c) et (95d) gonflées dans le  $\text{CHCl}_3\text{-d}_1$



Attribution	Déplacement chimique du $^1\text{H}$ (ppm)		
	résine (76)	résine (95c)	résine (95d)
2	3,50	3,55	3,55
(NH)3	7,00	7,12	7,25
4	6,50	6,47	6,47
(NH)5	7,90	7,65	7,80
6	8,60	8,60	8,65
7	8,20	8,00	7,99
8	7,30	7,00	6,75
(NH)9	-	8,70	8,23
10	-	3,80	3,30
11	-	3,20	2,20
12	-	-	4,10

**B. Analyse des résines issues de la réduction (étape III).** La réduction du groupement nitro aromatique va influencer les déplacements chimiques des différents protons se trouvant à proximité, comme les protons aromatiques du noyau *Ar1* et les protons de la chaîne aliphatique apportée par l'amine lors de la  $\text{S}_\text{N}\text{Ar}$  (figure 4.19).

Figure 4.19. Réduction



Les résonances des protons aromatiques du noyau *Ar1* des résines de type PS/DVB-PEG (**96b**) et de type PS/DVB (**96b'**) sont déplacées vers les hauts champs et on ne peut plus les attribuer sans ambiguïté, étant très proches de celles des autres protons aromatiques. De même, les protons *H10* et *H11* de la chaîne aliphatique sont légèrement blindés après réduction (figure 4.20 a/ et b/). Il faut signaler ici la disparition des spectres des signaux correspondant au proton du groupement (NH)*9*. Nous avons supposé que ce phénomène provenait d'un élargissement des résonances, dû aux échanges intermédiaires du proton (NH)*9*, et favorisés après réduction du groupement -NO<sub>2</sub> se trouvant à proximité. Dans le tableau 4.8 sont indiquées, de façon comparative, les attributions des protons des résines réduites (**96b**) et (**96b'**), par rapport aux résines de départ (**95b**) et (**95b'**).

Figure 4.20. Spectres TOCSY des résines (96b) et (96b') gonflées dans le CDCl<sub>3</sub>

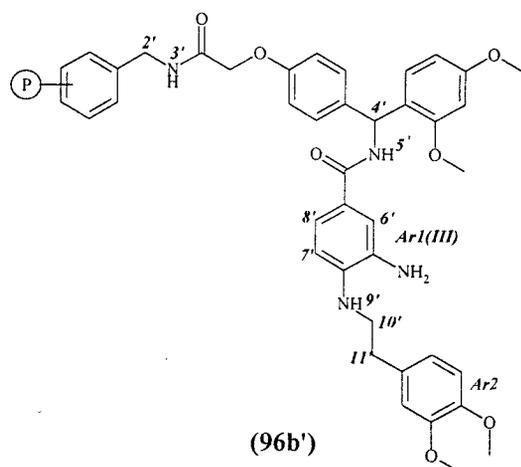
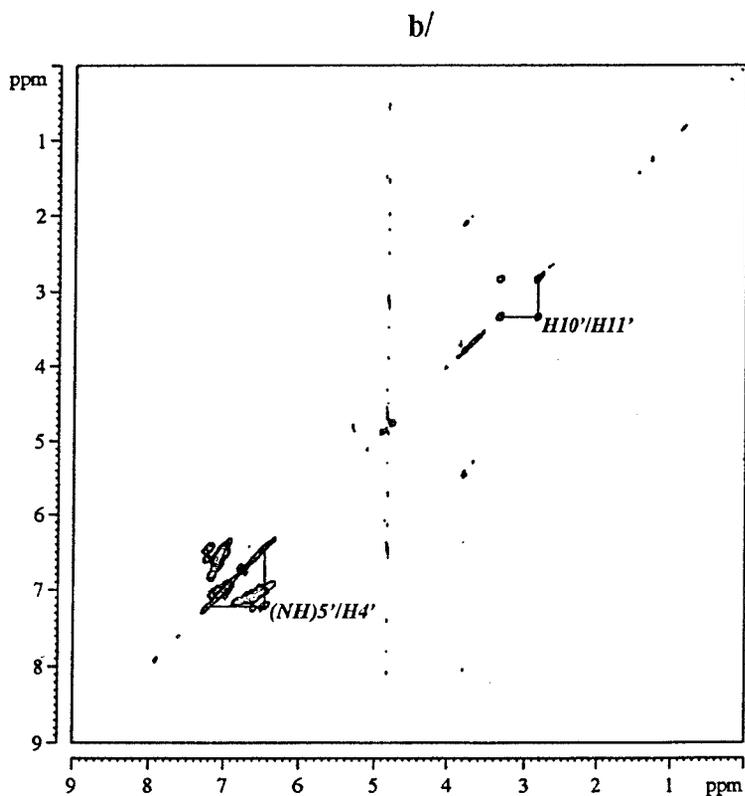
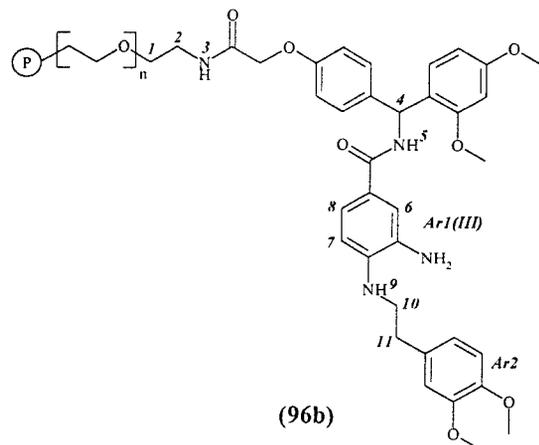
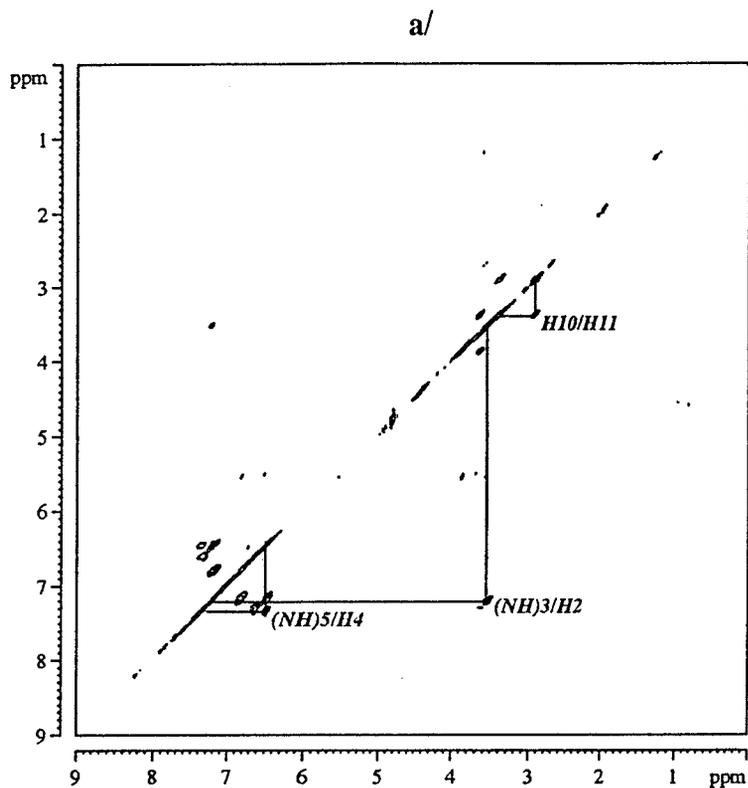
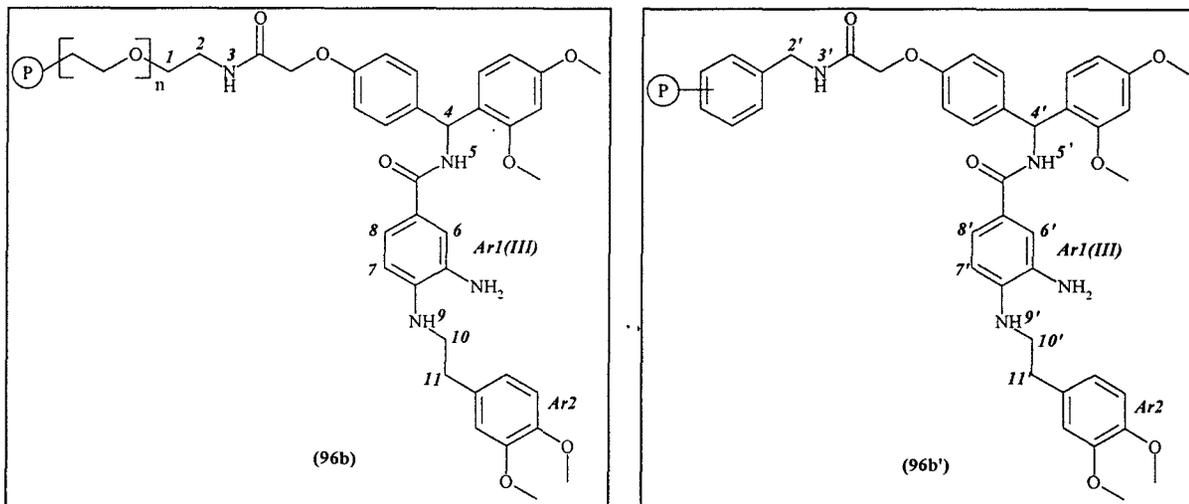


Tableau 4.8. Attribution des  $^1\text{H}$  des résines (95b), (96b), (95b') et (96b') gonflées dans le  $\text{CHCl}_3\text{-}d_1$

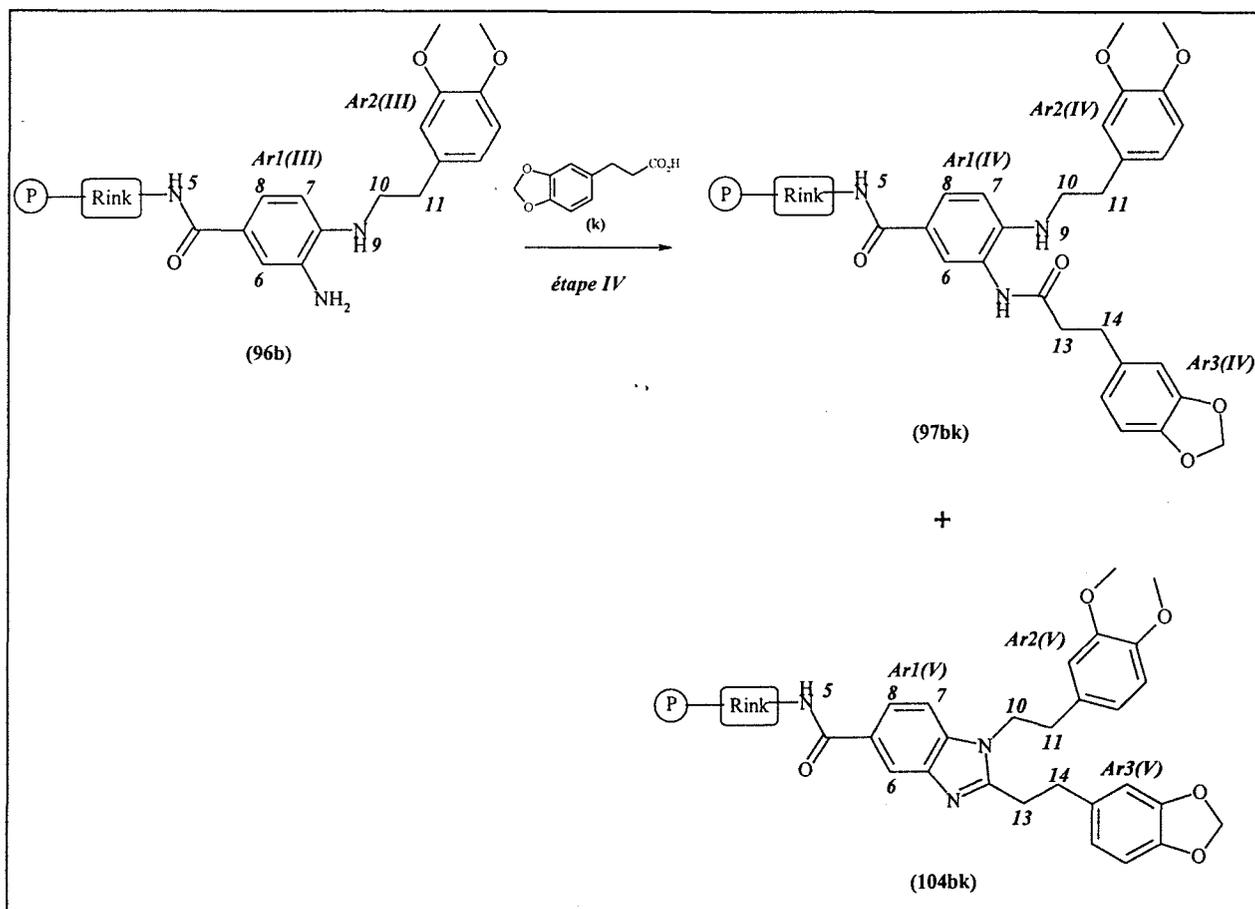


Attribution	Déplacement chimique du $^1\text{H}$ (ppm)			
	résine (95b)	résine (96b)	résine (95b')	résine (96b')
2 ou 2'	3,51	3,51	-	-
(NH)3 ou (NH)3'	7,21	7,21	-	-
4 ou 4'	6,47	6,45	6,43	6,43
(NH)5 ou (NH)5'	7,66	7,34	7,55	2,83
6 ou 6'	8,60	nd <sup>a</sup>	8,54	nd
7 ou 7'	7,99	nd	7,91	nd
8 ou 8'	6,89	nd	6,89	nd
(NH)9 ou (NH)9'	8,31	-	8,24	-
10 ou 10'	3,57	3,39	3,56	3,34
11 ou 11'	2,96	2,91	2,96	2,83

<sup>a</sup> Non déterminé.

C. Analyse d'une résine après couplage de l'acide carboxylique (étape IV). Une résine de type PS/DVB-PEG (96b) a été couplée avec l'acide 3-(3,4-méthylendioxyphényl)propionique (k) conduisant, comme nous avons pu montrer par la suite grâce au spectre TOCSY, à un mélange de résine acylée (97bk) et de résine-benzimidazole (104bk) (figure 4.21).

Figure 4.21. Couplage avec l'acide 3-(3,4-méthylènedioxyphényl)propionique (k)



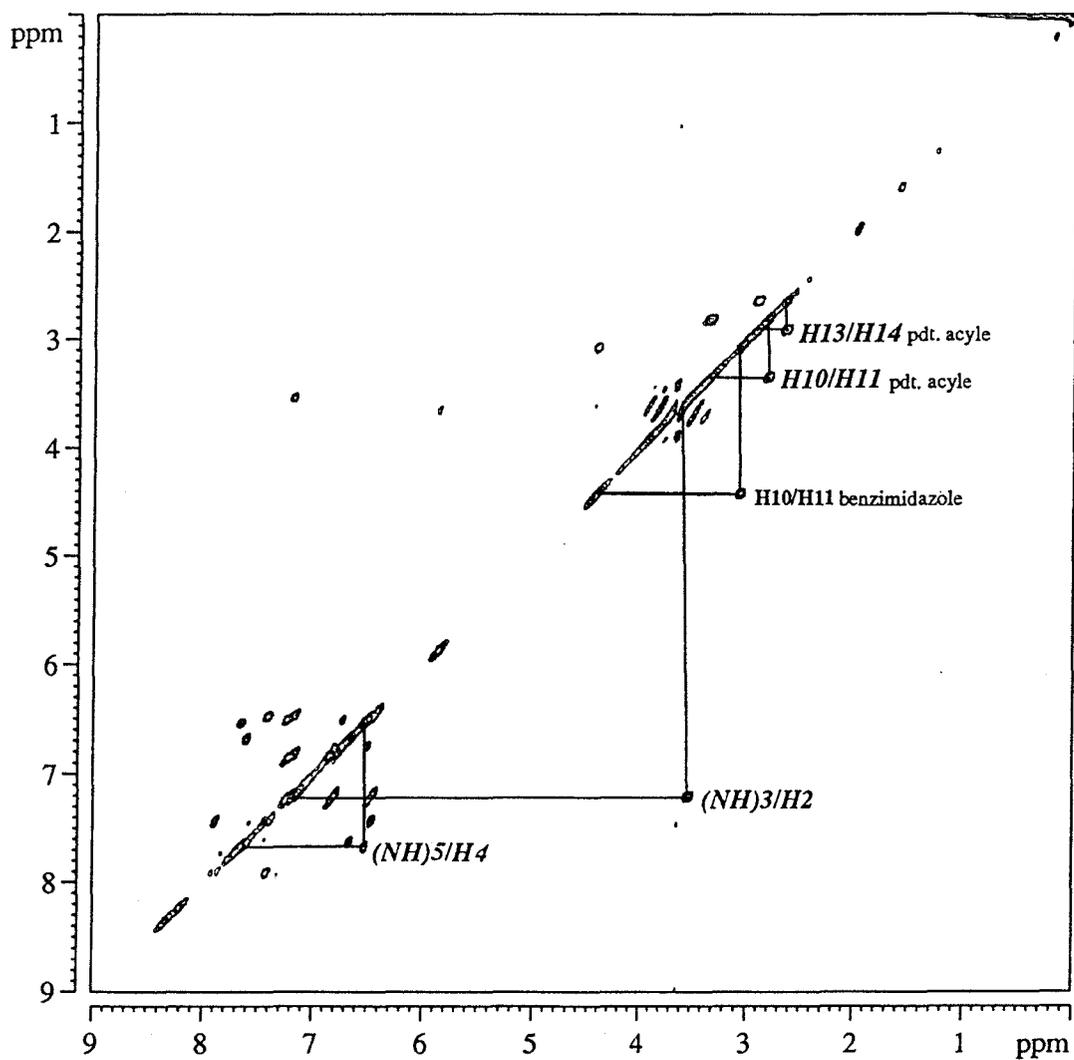
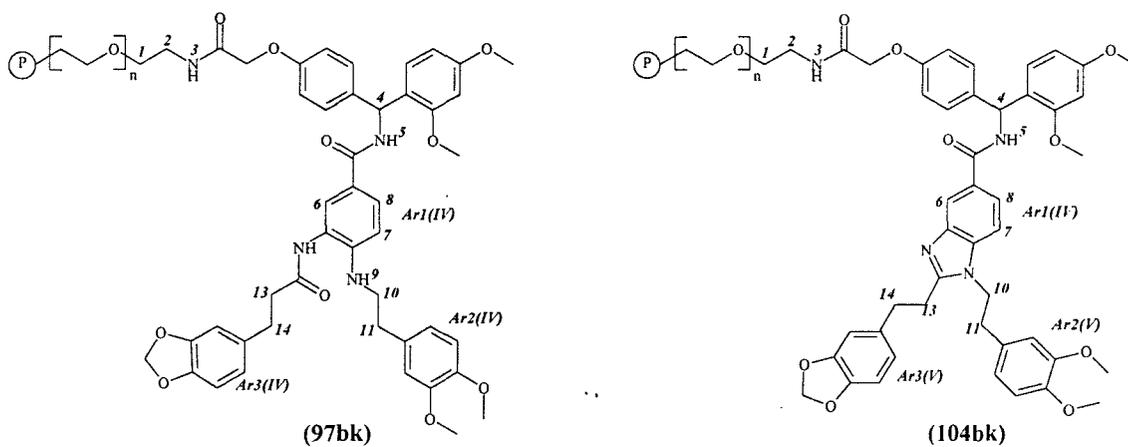
Sur le spectre TOCSY de cette résine, deux tâches de corrélation apparaissent dans la région des protons aliphatiques (figure 4.22) :

1/ une tâche de corrélation correspondant au couplage de deux protons se trouvant à 4,42 ppm et à 3,07 ppm, attribuée aux protons H10 et H11 dans le dérivé cyclisé (104bk)

2/ une tâche de corrélation correspondant au couplage de deux protons se trouvant à 2,90 ppm et à 2,64 ppm, attribuée aux protons H13 et H14 de la chaîne aliphatique apportée par l'acide carboxylique.

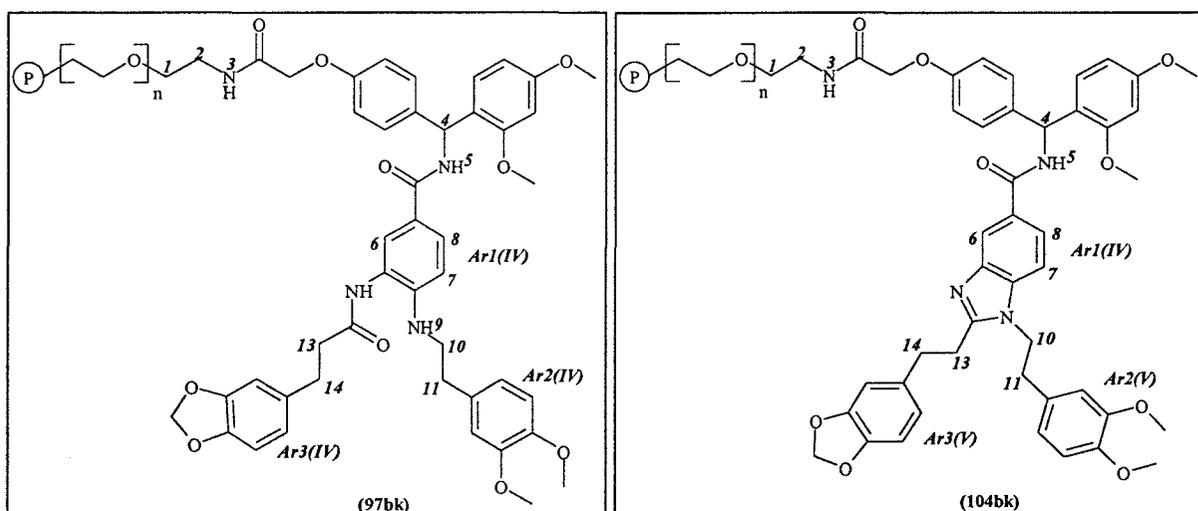
Les déplacements chimiques des protons H13 et H14 dans le dérivé acylé et dans le dérivé cyclisé étant très proches, les pics correspondants sont probablement superposés, ce qui explique le fait qu'une seule tâche de corrélation soit visible. L'apparition d'autres tâches dans la région des aromatiques peut être attribuée aux résonances des protons des noyaux Ar2(IV), Ar3(IV), Ar2(V) et Ar3(V) apportés par l'amine et l'acide carboxylique, ainsi qu'aux noyaux Ar1(IV) et Ar1(V), mais une attribution sans ambiguïté ne peut pas être effectuée.

Figure 4.22. Spectre TOCSY du mélange des résines (97bk) et (104bk) gonflées dans le  $CDCl_3$



Il faut mentionner ici que la mise en évidence d'une cyclisation partielle sur polymère est un résultat très intéressant de l'étude par RMN MAS de la résine acylée, dans la mesure où ce phénomène ne pouvait pas être prouvé par analyse du produit en solution, après clivage de la résine. Ceci est lié au fait que la présence en solution du benzimidazole peut être due à deux phénomènes: la cyclisation spontanée sur le polymère, corrélée avec la cyclisation catalysée par le TFA durant le clivage.

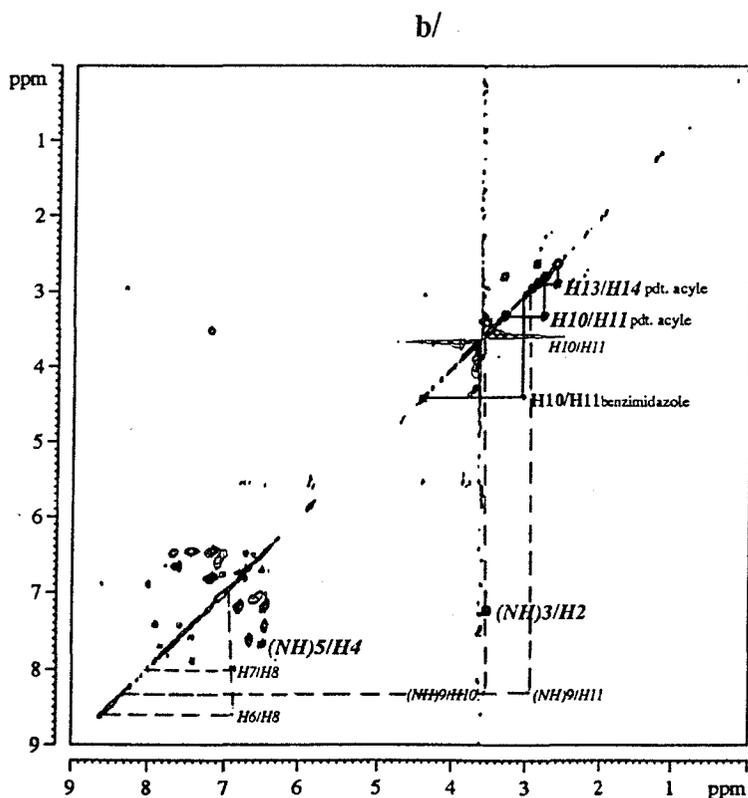
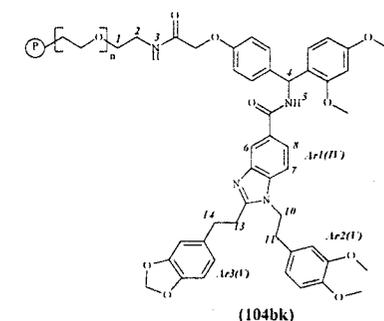
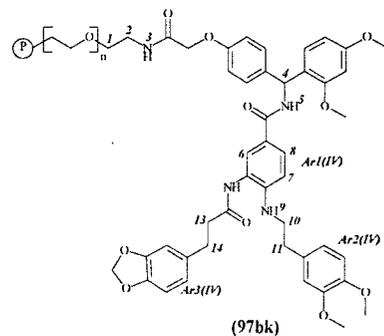
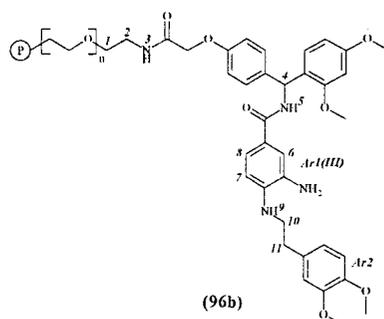
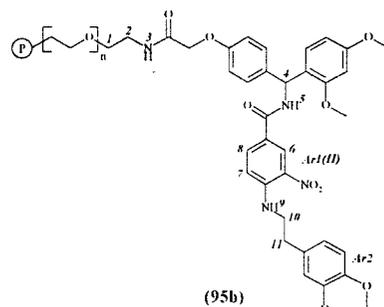
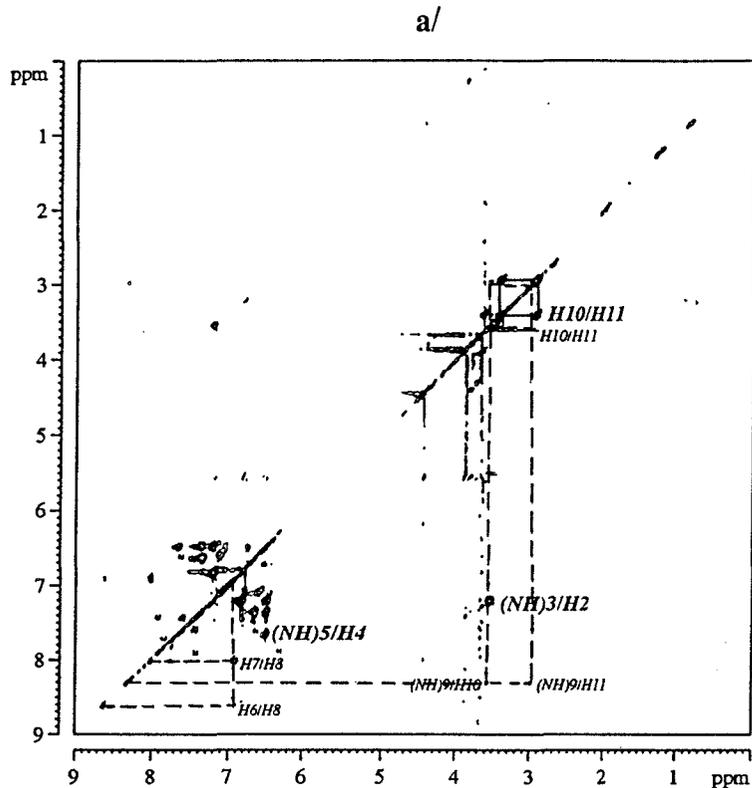
Tableau 4.9. Attribution des  $^1\text{H}$  des résines (96b), (97bk) et (104bk)



Attribution	Déplacement chimique du $^1\text{H}$ (ppm)		
	résine (96b)	résine (97bk) pdt. acylé	résine (104bk) benzimidazole
2	3,51	3,58	nd <sup>a</sup>
(NH)3	7,21	7,20	nd
4	6,45	6,69	nd
(NH)5	7,34	7,65	nd
10	3,35	3,35	4,45
11	2,90	2,80	3,08
13	-	2,64	nd
14	-	2,92	nd

<sup>a</sup> Non déterminé. Les déplacements chimiques de ces protons dans le benzimidazole sont probablement les mêmes que ceux dans le dérivé non cyclisé, en se superposant.

Figure 4.23. Spectres TOCSY de mélanges des résines (95b) et (96b) (a), et (95b), (97bk) et (104bk) (b), gonflées dans le CDCl<sub>3</sub> (les corrélations entre les protons provenant du dérivé nitré non réduit sont indiquées en ligne pointillée, et l'attribution des protons en petits caractères)



#### 4.IV. EVALUATION DE LA SENSIBILITE DE LA SPECTROSCOPIE RMN MAS APPLIQUEE A DES MOLECULES ATTACHEES AU SUPPORT POLYMERIQUE

Lors de l'étude RMN MAS des intermédiaires intervenant dans la synthèse des benzimidazoles en phase solide, nous avons parfois observé la présence sur les spectres TOCSY de résonances des protons appartenant aux résines n'ayant pas réagi en totalité lors des étapes synthétiques précédentes. C'était, par exemple, le cas de la résine (**95c**), obtenue à partir de la résine fluoronitrée (**76**) par  $\text{SNAr}$  avec la 2-(2-aminoéthyl)pyridine (**c**) : la substitution incomplète du fluor était indiquée par la détection du système de trois protons du noyau aromatique  $\text{Ar}1(I)$  de la résine de départ (figure 4.18 a/).

Ce phénomène a été encore plus évident lors de l'analyse de quelques résines (**96**) se trouvant à des stades de réduction incomplètes. Dans la figure 4.23 a/ est présenté le spectre TOCSY de la résine (**96b**) incomplètement réduite : sur ce spectre, les systèmes de spin appartenant à la résine nitrée de départ (**95b**), ainsi qu'à la résine réduite (**96b**) sont observés. Après couplage de cette résine avec l'acide 3-(3,4-méthylendioxyphényl)propionique (**k**), sur le spectre TOCSY, à côté des pics appartenant aux résines finales (**97bk**) et (**104bk**), les pics appartenant à la résine nitrée (**95b**) sont toujours visibles (figure 4.23 b/). L'analyse en solution du produit après clivage nous a permis de quantifier, à l'aide des courbes d'étalonnage établies par HPLC (Annexe 10), la conversion, qui était de 88 % : 12 % de dérivé nitré n'ayant pas réagi sont donc observés par RMN MAS.

Nous avons, par la suite, suivi la réduction de la résine nitrée (**95b**) par RMN MAS, des spectres TOCSY étant enregistrés toutes les 100 min pendant 25 h de réduction. L'analyse de ces spectres a montré que l'intensité des pics de la résine de départ diminue progressivement : ces signaux sont difficilement repérables après 10 h et ils deviennent invisibles après 14,5 h de réduction. La conversion à différents moments a été évaluée par analyse après clivage des produits en solution, en utilisant la courbe d'étalonnage HPLC établie pour le dérivé nitré. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 4.10.

**Tableau 4.10.** Suivi de la réduction de la résine (95b) par RMN MAS et en solution, après clivage du produit

Durée de la réduction (h)	Résultat de l'analyse par RMN MAS	Conversion du dérivé nitré (%)
10	signaux de la résine (95b) faiblement visibles	81
14,5	signaux de la résine (95b) non observés	86
25	signaux de la résine (95b) non observés	88

La conversion non quantitative même après 25 h de réaction peut être expliquée par l'absence de l'agitation ainsi que par la quantité d'agent réducteur plus faible (environ 3 fois moins) lors du suivi de la réduction par RMN MAS, par rapport aux conditions de réaction réelles. Ceci est dû à la quantité limitée de solvant utilisé pour gonfler la résine dans la sonde RMN.

Cette étude nous a permis de montrer que les produits de départ sont détectés jusqu'à au moins 80 % de conversion, ce qui est acceptable pour le suivi sur polymère de réactions comportant un nombre relativement faible d'étapes. Cette expérience de routine a été effectuée en utilisant des temps d'acquisition de seulement 100 min, mais des meilleures résolutions pourrait être obtenues pour des temps d'acquisition plus longs, permettant ainsi de détecter des quantités plus faibles de produits résiduels sur résine.

#### 4.IV. CONCLUSIONS DU CHAPITRE 4

L'analyse rapide, non destructive, des produits obtenus sur support solide est une avancée très importante de point de vue de la chimie combinatoire. Nous avons montré dans ce chapitre que la RMN à l'angle magique (RMN MAS) appliquée à des résines convenablement gonflées dans différents solvants est une technique très promettante pour l'analyse des produits et pour le suivi des réactions en phase solide. Une réaction modèle, la réaction de Heck, a été d'abord suivie par RMN MAS, et les produits intermédiaires ont été identifiés grâce aux spectres TOCSY.

Nous avons démontré par la suite l'utilité et l'applicabilité de la technique RMN MAS à l'analyse des résines intermédiaires intervenant dans la synthèse de benzimidazoles en phase solide : à chaque étape du schéma réactionnel, l'apparition de systèmes de spin spécifiques ainsi que la disparition d'autres systèmes de spin facilement repérables permettent l'évaluation de l'avancement des réactions. La méthode nous a permis de détecter des produits n'ayant pas réagi lors d'étapes synthétiques antérieures jusqu'à au moins 80 % de conversion, mais la sensibilité peut être facilement améliorée.

Des molécules ancrées sur deux types de supports polymériques, le PS/DVB-PEG et le PS/DVB, portant le même bras de fonctionnalisation ont été analysées par RMN MAS, conduisant à des spectres de résolution comparable. Ces résultats indiquent la possibilité d'utiliser le PS/DVB, qui est plus accessible du point de vue du prix, comme support de synthèse, car il permet l'identification sans difficulté des produits qui y sont attachés. Des temps d'accumulation de 2,5 h ont été utilisés pour l'enregistrement de spectres TOCSY de routine ayant une résolution tout à fait satisfaisante pour l'identification des produits.

La RMN MAS se développera probablement en tant qu'outil très efficace pour l'analyse des produits intermédiaires lors des mises au point des réactions et lors de la synthèse des chimiothèques en phase solide.

*Monitoring of a Three-Step Solid Phase Synthesis Involving a Heck Reaction  
Using Magic Angle Spinning NMR Spectroscopy*

Reprinted from

*TETRAHEDRON*

*Vol. 52, No. 37, pp. 12209–12222*

MONITORING OF A THREE-STEP SOLID PHASE SYNTHESIS INVOLVING  
A HECK REACTION USING MAGIC ANGLE SPINNING NMR  
SPECTROSCOPY

IULIANA E. POP, CHRISTOPHE F. DHALLUIN, BENOÎT P. DÉPREZ, PATRICIA C. MELNYK,  
GUY M. LIPPENS AND ANDRÉ L. TARTAR

Chimie des Biomolécules, URA CNRS 1309, Institut Pasteur de Lille, 1 rue du Pr Calmette, 59019 Lille Cédex, France

PERGAMON

1996



## Monitoring of a Three-Step Solid Phase Synthesis Involving a Heck Reaction Using Magic Angle Spinning NMR Spectroscopy

Iuliana E. Pop, Christophe F. Dhalluin, Benoît P. Déprez, Patricia C. Melnyk, Guy M. Lippens and  
André L. Tartar\*

Chimie des Biomolécules, URA CNRS 1309, Institut Pasteur de Lille, 1 rue du Pr Calmette, 59019 Lille Cédex, France.

FAX: (33) 20 87 73 77, e-mail: scbm@pasteur-lille.fr

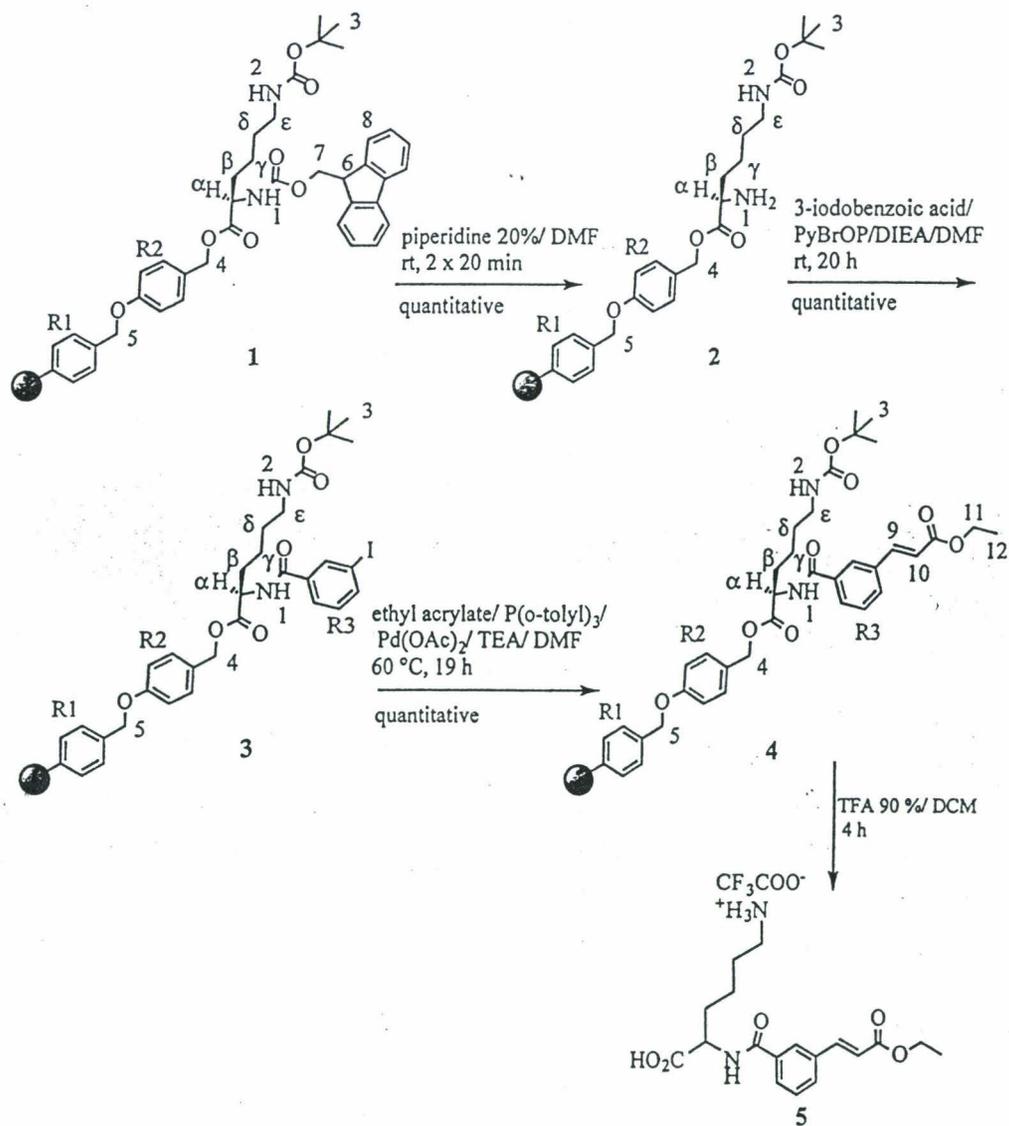
**Abstract:** MAS NMR technique with standard equipment was used to characterize the intermediate products in a three step reaction scheme leading to disubstituted olefins on solid support. The step-by-step analysis of the reaction presented here demonstrates that the goal of reaction characterization and optimization *in situ* can be obtained in an entirely satisfying manner using conventional MAS NMR. Some of the experimental parameters that should be taken into consideration to obtain workable spectra are examined. Copyright © 1996 Elsevier Science Ltd

### INTRODUCTION

Organic synthesis by solid phase methods is emerging as a powerful tool for the combinatorial and parallel simultaneous multiple synthesis of large arrays of small molecules. An important research topic is therefore the development of straightforward and robust chemical reactions that offer the possibility of exploiting a large variety of building blocks and that can be used in automated synthesis protocols. A second important topic is the development of rapid and reliable protocols for the characterization and optimization of such reactions. Problems of significant losses of both time and material when using the traditional « cleave and analyse » strategies, as well as difficulties encountered due to alteration of fragile products at the cleavage step or to limited solubility of the intermediates have been overcome by Magic Angle Spinning (MAS)<sup>1, 2</sup> NMR techniques of organic molecules while still attached to their solid support<sup>3-7</sup>. Indeed, whereas the standard high resolution NMR of compounds tethered to the insoluble matrix is impractical due to the important line broadening caused by bulk magnetic susceptibility and homonuclear dipolar interactions, spinning the macroscopic sample under an angle of 54.7° (the « magic angle ») has overcome some of these limitations, and very promising results have been presented both with conventional solid-state MAS equipment<sup>3, 4</sup> and with specially designed probes<sup>5-7</sup>. However,

whereas the latter magnetic-susceptibility-matching probe technology convincingly leads to improved line widths, it is not clear at this point what resolution is needed for routine structure assignment in the framework of reaction characterization and optimization in combinatorial chemistry.

We describe here the use of MAS with standard equipment to characterize the intermediate products in a three step reaction scheme that leads to disubstituted olefins on solid support (Scheme 1).



Scheme 1

The Heck reaction chosen for this purpose has been previously described in solid phase synthesis<sup>8, 9</sup>. This process of generating carbon-carbon bonds presents a great interest for the combinatorial synthesis, as it offers the possibility of exploiting a large variety of building blocks. Moreover, the Heck reaction generally proceeds under very mild conditions, thus being readily amenable to automation. The step-by-step analysis of the reaction presented here demonstrates that the goal of reaction characterization and optimization *in situ* can be obtained in an entirely satisfying manner using conventional MAS NMR. We further examine some of the experimental parameters that should be taken into consideration in order to obtain high quality spectra.

## RESULTS AND DISCUSSION

The solvent motion in the polymer network leads to chain expansion observable on a macroscopic scale as a swelling of the bead and is accompanied by an enhanced local mobility of the attached molecules at the microscopic level. As a consequence of the enhanced molecular mobility the various interactions that govern the line width of the NMR signal will be motionally averaged, including the homonuclear dipolar interaction that can broaden proton signals up to values of 20 kHz in a static solid state sample. This motional averaging may be incomplete, due to the anisotropic environment of the solvent molecules in the polymer. The resulting residual broadening due to the local anisotropy can be further reduced by spinning the sample at the magic angle at a spinning rate higher than the non-spinning residual line width. This last condition on the spinning rate can be advantageously exploited to suppress the lines of the more rigid supporting polymer while obtaining a liquid-like spectrum for the more mobile attached molecules. Furthermore, MAS will also eliminate the magnetic-susceptibility broadening caused by the difference in magnetic susceptibility between the polymer and the pure solvent, combined with the irregular shape of the solvent/polymer interface<sup>3-7</sup>. The contribution of magnetic-susceptibility discontinuities within the materials used for the probe construction, however, will not be eliminated by MAS, and can only be eliminated by a careful probe design.

The theoretical considerations mentioned above lead to the conclusion that the resin sample preparation will be crucial to obtain workable data. Recent work along these lines came to the conclusion that the resin structure is the dominant factor influencing the line widths, with the solvent playing only a secondary role<sup>6</sup>. These results would promote resins with relatively long linkers and hence inherently mobile moieties in view of the subsequent NMR analysis. In the solid phase organic chemistry however, requirements such as reactivity, ease of synthesis, availability and price of the resin are often more

determining factors for the choice of the resin. When the resin under consideration has only short linkers, the quality of the NMR spectra will be largely influenced by the choice of the solvent used to swell the beads.

This is demonstrated here by our results on a 1 % divinylbenzene crosslinked polystyrene Wang-Lys(Boc)-Fmoc resin (**1**). A first physicochemical test concerned the ability of six different solvents to swell the resin. In this context, two aspects have to be taken into account: the macroscopic swelling of a collection of beads, and the microscopic swelling of a single bead. At the macroscopic level, the swelling ability of a solvent can be estimated by measuring the volume increase of a given resin sample upon the addition of the solvent. This volume increase, however, will depend on both the increase of the bead diameter due to the penetration of the solvent inside the polymer network and the amount of interstitial liquid among the polymeric beads. This latter highly depends on the relative density of the resin bead and the solvent. Therefore, the correlation between the macroscopic volume increase of a resin sample and the swelling ability of the solvent is not obvious. A direct correlation between the extent of the volume increase of a resin sample upon addition of solvent and the spectral quality could not be established<sup>6</sup>.

A more precise manner to evaluate the swelling ability of a solvent is to determine the diameter increase of a single resin bead, as this parameter will only be influenced by the amount of solvent that has penetrated inside the bead. The volume of a single polymeric bead swollen in different solvents was determined by direct measurement of the bead diameter under a light microscope provided with a micrometric ocular. The averaged diameter of the dry bead was 59.5  $\mu\text{m}$ . The swelling ability of the solvents is expressed on the basis of this latter criterium as the ratio of solvated bead volume to the volume of the dry bead (Table 1). The pyridine possesses the best swelling ability and it is closely followed by dichloromethane (DCM), as can be seen from the radius and volume ratio. Chloroform and benzene possess neighbouring swelling properties while *N,N*-dimethylformamide (DMF) follows with a rather poor swelling ability. Regarding the dimethylsulfoxide (DMSO), the volume ratio shows that it does not efficiently penetrate into the polymer network.

In order to correlate the physicochemical data of Table 1 with the resulting NMR results, MAS NMR TOCSY<sup>10</sup> and <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMQC<sup>11</sup> experiments were performed on the starting polymer **1**, using resin beads swollen with the six different deuterated solvents. A spinning rate of 2 kHz was sufficient to obtain line narrowing and to remove all spinning side bands outside the interesting spectral window. For spinning rates superior to 3 kHz, the rotation of the sample was harder to stabilize, and for DMSO-*d*<sub>6</sub> and chloroform-*d*<sub>3</sub> the solvent tightness of the rotor proved to be a limiting factor. However, for samples where the higher spinning rate could be used, no significant improvement of the spectral quality was

observed when operating at 3 kHz or higher spinning rates. Therefore, all further studies were performed at a 2 kHz spinning rate.

Table 1. Solvation and MAS NMR  $^1\text{H}$  line width for the Wang-Lys(Boc)-Fmoc Resin (1)

entry	solvent	averaged diameter ( $\mu\text{m}$ )	radius ratio	volume ratio <sup>a</sup>	MAS NMR $^1\text{H}$ line width <sup>b</sup> (Hz)
1	pyridine	109.6	1.84	6.3	21
2	DCM	107.5	1.81	5.9	21
3	chloroform	103.4	1.74	5.4	21
4	benzene	102.9	1.73	5.2	32
5	DMF	92.7	1.56	3.8	21
6	DMSO	85.1	1.43	2.9	-

<sup>a</sup> the ratio of solvated volume and the volume of dry resin as calculated from the averaged diameters.

<sup>b</sup> the MAS NMR line width was measured as the width at half height of the lysine  $\epsilon$ -protons signal.

No workable data could be collected for DMSO- $d_6$ . This can be correlated to the poor swelling ability of this solvent, as a good swelling of the bead is likely to be related to a wide relaxation of the polymeric framework and an improved mobility of the tethered molecules. The motional freedom for the molecules located within the polymer network, which represent more than 99 % of the tethered molecules, is probably more restricted when using DMSO than for the other solvents. The resulting MAS NMR spectra of the resin 1 showed very similar line widths for DCM- $d_2$ , chloroform- $d_3$ , benzene- $d_6$  and pyridine- $d_5$  as well as for DMF- $d_7$ , despite the lesser degree of swelling ability of the latter. This indicates that the mobility of the tethered molecules in all five solvents is very similar (see Table 1). Probably, a threshold exists for the solvation volume above which the mobility of the tethered molecules becomes sufficient to reduce the residual dipolar coupling, resulting in liquid-like spectra for the  $^1\text{H}$  resonances of the protected lysine bound to the solvent swollen beads. Although a proton line width of 21 Hz can be considered as broad for high resolution studies, this resolution proved to be entirely satisfactory for the extraction of structural information through two-dimensional NMR spectra.

It should be remarked here that 2D spectra are not limited by the sensitivity, as the amount of resin is not the limiting factor when one tries, as it is the case here, to characterize and eventually optimize reaction conditions.

As recently reported<sup>7</sup>, MAS NMR can also be used for the completely different goal of identifying the product on a single bead. In this perspective, the required sensitivity to do a full structural analysis by multidimensional NMR becomes a real problem, and will require specially designed probe heads. In the perspective of chemical research or parallel simultaneous multiple synthesis of individual compounds, however, such identification of the molecules on individual beads is not directly necessary, and multidimensional spectra can be obtained in a couple of hours. Moreover, a statistical collection of beads to be analysed will present the averaged properties of the whole of the resin thus being more representative for the reaction advancement than a single bead. Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR assignments and structural identification for the resin 1 could readily be obtained using standard TOCSY and  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC experiments. These results for the pyridine- $d_5$  swollen beads are shown in Fig. 1 and Fig. 2. Results for the other solvents (excepting DMSO- $d_6$ ) were very similar.

The identification of the  $^1\text{H}$  spin system of the protected lysine was unambiguous using the pattern of the relayed connectivities in the TOCSY spectrum as depicted in Fig. 1. The chain can be traced from the backbone amide proton through the  $\alpha$ -proton and the different side chain protons up to the  $\epsilon$ -protons, as was shown by Shapiro *et al.*<sup>13</sup>.

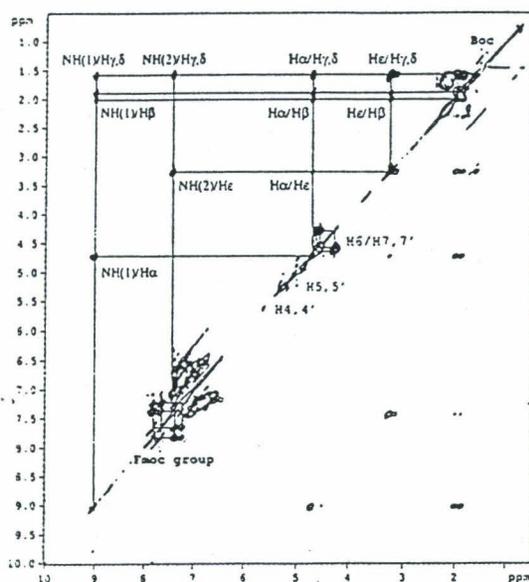


Figure 1. 2D Phase sensitive TOCSY spectrum for resin 1 swollen in pyridine- $d_5$

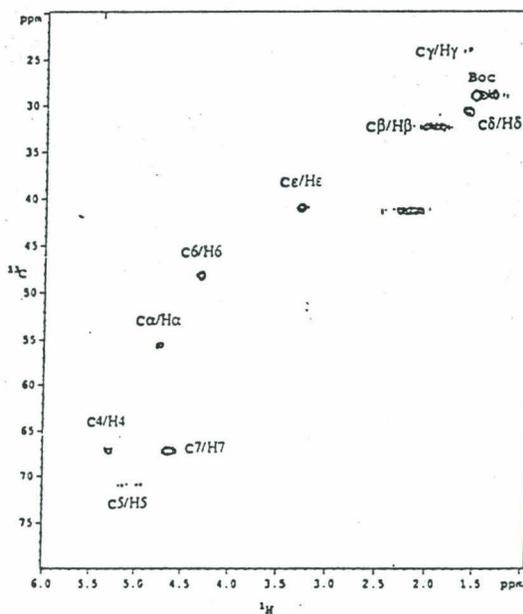


Figure 2. Aliphatic region of the  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC spectrum for resin 1 swollen in pyridine- $d_5$

The reverse pathway from the *tert*-butoxycarbonyl (Boc) protected amine proton through the  $\epsilon$ -protons and all side chain protons until the  $\alpha$ -proton can also be identified. The 9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) proton resonances are characterized by a typical pattern of connectivities in the aromatic region. The H6 and H7 protons connecting the Fmoc group to the lysine residue were assigned as a group of three interconnected protons, whereas the H4 and H5 protons form isolated proton pairs and could not be unambiguously assigned at this stage. The carbon assignments follow directly from the  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  correlation peaks as shown in Fig. 2. Complete  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR assignments for resin 1 swollen in the pyridine- $d_5$  are provided in Table 2. The chemical shift assignment obtained here agrees well with the values reported by Shapiro *et al.* for the Wang-Lys(Boc)-Fmoc resin<sup>3</sup>.

Whereas the 2 kHz Magic Angle Spinning removes the residual static line broadening caused by the magnetic susceptibilities and the proton dipolar coupling, the dipolar cross-relaxation mechanism is unaffected by this process<sup>12</sup>. Therefore, a NOESY<sup>13</sup> experiment yielded intense cross peaks between the protons spins of the attached molecules. Fig. 3A shows the TOCSY spectrum for the resin 1 swollen in benzene- $d_6$ , which yields results very comparable to those obtained in pyridine- $d_5$ . A part of the corresponding NOESY spectrum is shown in Fig. 3B. NOE connectivities between the H6 and H7 proton resonances and the H8 proton resonance of the Fmoc group can be observed. The NOESY spectrum allows further an unambiguous identification of the H4 and H5 resonances. A sharp NOE peak was observed between H4 and two aromatic protons of the ring noted R2, whereas a broad NOE peak was observed between H5 and two aromatic protons of the ring noted R1 which already belongs to the polystyrene backbone.

The line width read from these NOE connectivities is directly correlated to the motional freedom of the protons H4 and H5 in the molecule: H5 is closer to the crosslinked polymer than H4, and presents a broader line width. The difference in line width clearly indicates the mobility gradient for the two

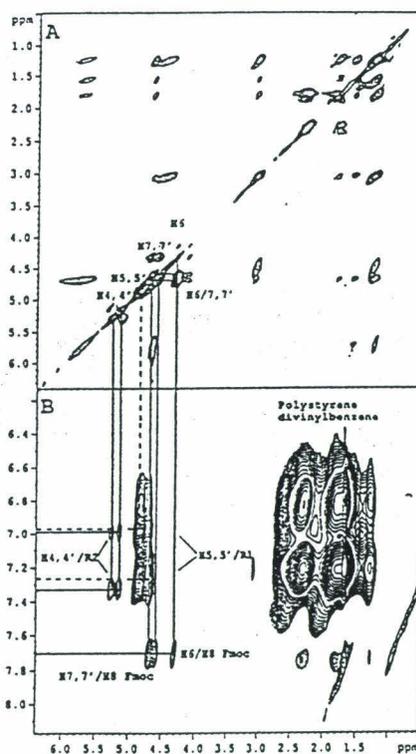


Figure 3. 2D Phase sensitive TOCSY (A) and (B) NOESY spectrum for resin 1 swollen in benzene- $d_6$

aromatic rings R1 and R2: whereas the proton resonances of the R1 ring of the polystyrene are large, the presence of the ether linker confers an important degree of motional freedom to the R2 ring, resulting in a narrow line width for protons on the latter. In the TOCSY spectrum, the resonances of the resin are effectively suppressed by relaxation during the spin-lock field, but they show up as intense and broad connectivities between the different proton spins belonging to the polystyrene in the NOESY spectrum.

The complete assignment of all  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  resonances of the Wang-Lys(Boc)-Fmoc forms the base for the step-by-step characterization by MAS NMR of the reaction depicted in the Scheme 1. MAS TOCSY and HMQC NMR spectra were recorded using the experimental conditions previously determined for the Wang-Lys(Boc)-Fmoc resin. Pyridine was found to be the solvent of choice to swell the polymeric beads for the resins in all the three reaction steps. Whereas this facilitated our analysis, as previous resonance assignments could readily be used to identify the products in the next reaction step, it should be kept in mind that swelling properties of a resin depend on the nature of the growing molecule fixed on the polymer. Therefore, it might be necessary to perform a systematic study of the swelling after each step of the synthesis.

TOCSY spectra collected using pyridine- $d_5$  swollen beads are presented in Fig. 4, Fig. 5 and Fig. 6. In Table 2, the assignment of the protons for each new molecular entity formed on the polymer is also presented.

The first reaction step involves the deprotection of the Fmoc protecting group. Indeed, for resin 2, peaks corresponding to the Fmoc protecting group disappear (Fig. 4). Simultaneously, the shift of the  $\alpha$ -proton toward high field values confirms the elimination of the carbamate moiety which was present in the proximity of the  $\text{C}\alpha$  position. We further remarked the absence of proton resonances for the  $\alpha\text{NH}_2$  protons in the spectrum. This inability to observe amino proton resonances in MAS NMR was previously reported in the case

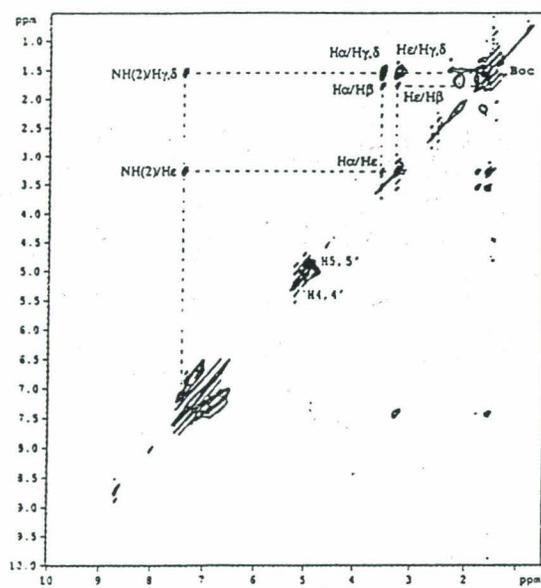


Figure 4. 2D Phase sensitive TOCSY spectrum for resin 2 swollen in pyridine- $d_5$

of the  $\text{NH}_3^+$  of L-alanine<sup>14</sup>. In that case, it was explained by an interference phenomenon between the molecular dynamics and the characteristic radiofrequency field strength of homonuclear pulse trains employed in the NMR experiments leading to dramatic broadening of lines of amino protons. Here, we expect that line broadening due to intermediate exchange of the  $\text{NH}_2$  protons is at the origin of the absence of the expected lines.

The second reaction step involves the coupling of the 3-iodobenzoic acid to the liberated  $\alpha\text{NH}_2$  group. For the acylated resin 3, peaks that appeared in the aromatic zone of the TOCSY NMR chart could be attributed to the 3-iodobenzoyl group newly attached to the resin, but we could not identify which peak corresponded to a defined proton. At this step, the important downfield shift noted for the  $\alpha$ -proton confirms the presence of the benzene ring in the proximity of the  $\text{C}\alpha$  position (Fig. 5).

Finally, the aryl iodide on the resin was reacted with ethyl acrylate under the conditions of the Heck reaction, to generate the desired disubstituted olefin on the polymeric support. For the resin 4, apparition of peaks attributed to the ethyl acrylate group on the TOCSY NMR chart confirmed the formation of the *trans* disubstituted olefin on resin, *via* the Heck reaction.

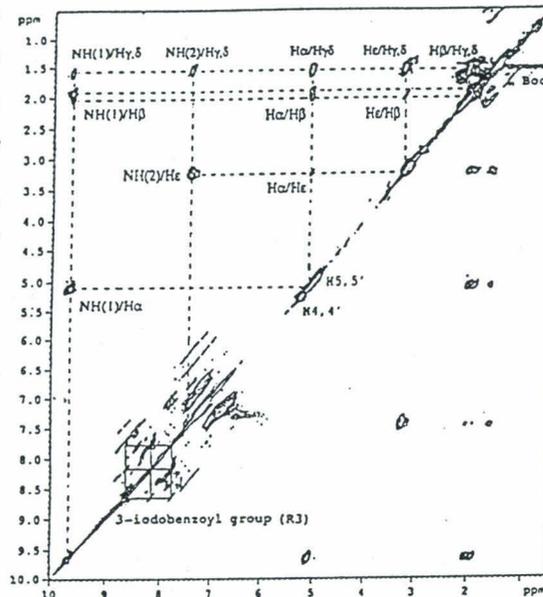


Figure 5. 2D Phase sensitive TOCSY spectrum for resin 3 swollen in pyridine-*d*<sub>5</sub>

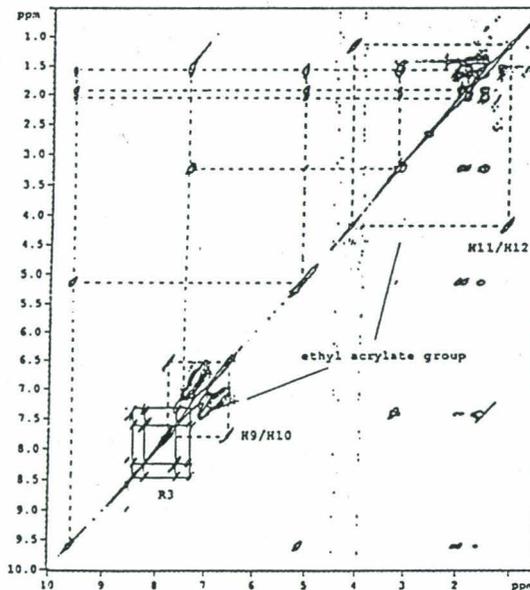


Figure 6. 2D Phase sensitive TOCSY spectrum for resin 4 swollen in pyridine-*d*<sub>5</sub>

This time, the four protons corresponding to the R3 aromatic ring are much better resolved than in compound 3 but once more we could not identify which peak corresponded to a defined proton (Fig. 6).

Table 2.  $^{13}\text{C}$  Assignments for the resin 1 and  $^1\text{H}$  assignments for the resins 1, 2, 3 and 4

Assignment	$^{13}\text{C}$ shift	$^1\text{H}$ shift			
	resin 1	resin 1	resin 2	resin 3	resin 4
a	55.2	4.73	3.55	5.11	5.14
b	32.14	1.89, 2.03	1.80	1.94, 2.05	1.94, 2.06
g	23.85	1.59	1.57	1.56	1.54
d	30.31	1.59	1.57	1.56	1.54
e	41.13	3.26	3.28	3.24	3.25
NH(1)	-	9.03	not determined	9.64	9.91
NH(2)	-	7.43	7.41	7.45	7.42
3	28.73	1.53	1.52	1.50	1.49
4	66.80	5.27	5.22	5.27	5.27
5	70.46	5.00	5.04	4.95	4.98
Fmoc group					
aromatics	not determined	7.83, 7.65 7.34, 7.24	-	-	-
6	47.89	4.3	-	-	-
7	66.80	4.57, 4.66	-	-	-
R3	-	-	-	8.63, 8.17, 7.76	8.47, 8.23, 7.60, 7.34
9	-	-	-	-	7.78
10	-	-	-	-	6.52
11	-	-	-	-	4.18
12	-	-	-	-	1.15

For each reaction step, no proton resonance corresponding to the starting compound could be detected. In this context, two possibilities had to be taken into account. Either the starting species on the resin completely reacted, or it only partially reacted but the quantity still existing on the polymer can no more be detected by this technique. To determine which was the case in our experiment, resin 4 was cleaved in presence of trifluoroacetic acid (TFA) and analysed by High Pressure Liquid Chromatography (HPLC), NMR and mass spectroscopy.

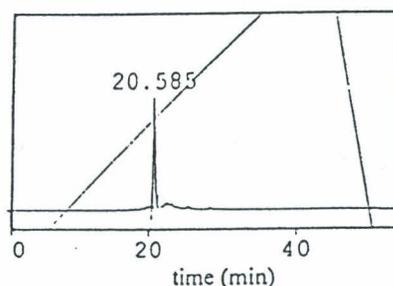


Figure 7. HPLC Profile of crude 5 (215 nm)

We confirmed thus the structure of the compound 5 and we also proved that reactions were quantitative, as a simple peak was detected in HPLC (Fig. 7).

In summary, the Magic Angle Spinning (MAS) NMR technique applied to solvent swollen resins was successfully used to follow a multi-step solid phase synthesis without cleavage of the products from the polymeric support. A spinning rate of 2 kHz, easily obtainable on a standard solid state probe, proved to be sufficient to obtain high quality spectra, when a good swelling of the resin beads was obtained. Application of these simple rules allows the complete attribution of structurally complex molecules attached to a polymeric support, using 1D and 2D homonuclear and heteronuclear spectra, as is demonstrated here for the disubstituted olefin obtained *via* a Heck reaction. We believe that this technique is very promising in the characterization and optimization of organic reactions on solid support.

## EXPERIMENTAL

### *Materials and Synthetic Reaction*

The starting material in the reaction scheme previously presented was a 1 % divinylbenzene crosslinked polystyrene Wang-Lys(Boc)-Fmoc resin (200-400 mesh) purchased from NovaBiochem (1.5 g, 0.49 mmol/g). Fmoc groups were cleaved by treatment with a 20 % piperidine solution in DMF, twice, for 20 min each time and the resin was washed with DMF (5 times). 3-iodobenzoic acid (0.364 g, 1.47 mmol) was dissolved in DMF in presence of bromo-tris-pyrrolidino-phosphonium hexafluorophosphate (0.685 g, 1.47 mmol) and then diisopropylethylamine was added (0.512 mL, 2.94 mmol). A final solution volume of 3.7 mL was obtained. Resin 2 (1.3 g, 0.49 mmol) was treated with this solution and the mixture was

stirred at ambient temperature for 15 h. The resin was then washed with DMF (5 times), with DCM (3 times) and dried under vacuum. The completion of the reaction was determined by quantification of the residual amino groups on the resin, according to the quantitative ninhydrin procedure<sup>15</sup>. Palladium acetate (0.112 g, 0.5 mmol) was dissolved into 3 mL of DMF into which nitrogen was bubbled. The tris(2-tolyl)phosphine (0.304 g, 1 mmol) was dissolved into 4 mL of DMF. These two solutions were added to the resin 3 (0.6 g, 0.239 mmol). Ethyl acrylate (0.324 mL, 3 mmol) and triethylamine (1 mL, 7.2 mmol) were then added to this mixture. After the reaction mixture was stirred under nitrogen at 60 °C for 19 h, the resin was washed several times with DMF, water/di-sodium hydrogen phosphate solution, again DMF, DCM and was dried under vacuum. Resin 4 (0.2 g, 0.081 mmol) was treated with a 90 % TFA solution in DCM for 4 h. The crude product was analysed by HPLC using a column Vydac C18, 5  $\mu$ , 25x4 mm and H<sub>2</sub>O/ 80 % acetonitrile in H<sub>2</sub>O (grad) as eluent, at 1 mL/ min flowing rate (100 % conversion determined in HPLC). The crude product was purified by preparative reversed phase HPLC using a column Vydac C18, 5  $\mu$ , 300x20 mm and H<sub>2</sub>O/ 80 % acetonitrile in H<sub>2</sub>O (grad) as eluent, at 4 mL/ min flowing rate, to give 16 mg of 5 (43 % yield with respect to the 0.081 mmol of resin 4 submitted to the TFA treatment). <sup>1</sup>H NMR  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>): 1.26-1.31 (t, 3 H, *J* = 7.09 Hz), 1.45 (m, 2 H), 1.59 (m, 2 H), 1.84 (m, 2H), 2.79-2.81 (m, 2 H), 4.19-4.26 (q, 2 H, *J* = 7.09 Hz), 4.43 (m, 1 H), 6.74-6.80 (d, 1H, *J* = 16.05 Hz), 7.53-7.58 (t, 1 H, *J* = 7.74 Hz), 7.69-7.75 (d, 1 H, *J* = 16.05 Hz), 7.72 (2.5 H), 7.89-7.95 (m, 2 H), 8.27 (s, 1 H), 8.69-8.71 (d, 1 H, *J* = 7.85 Hz); <sup>13</sup>C NMR  $\delta$  (DMSO-*d*<sub>6</sub>): 15.0, 23.7, 27.4, 31.0, 39.6, 53.2, 61.1, 120.1, 127.3, 129.9, 130.4, 132.4, 134.9, 135.2, 144.5, 166.6, 166.9, 174.5. Found: MH<sup>+</sup>, 349.174. Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: MH, 349.175.

#### *Determination of Swelling Ability*

The individual polymeric bead volumes were determined by direct measurement of their diameters under a light microscope provided with a micrometric ocular. Beads preswollen in the solvent were spread over a slide with a coverglass to minimize solvent evaporation. The resin beads proved to have even diameters so a total count of about 100 beads for each determination was enough to determine an averaged diameter.

#### *MAS NMR Experiments*

TMS was added as internal reference to the deuterated solvent before the resin swelling. The resins submitted to the MAS NMR experiments were swollen with the minimal volume of deuterated solvent before introducing them into the rotor. Data were collected using a conventional 7 mm MAS solid state

probe on a Bruker DRX-300 spectrometer at a spinning rate of 2 kHz. The  $^2\text{H}$  resonance of the solvent was used for the field frequency lock during the homonuclear data collection. Heteronuclear spectra were run without field locking. Field drifting was not important during the reasonably short duration of the HMQC spectra. For the TOCSY experiments, a 70 ms MLEV-17 mixing time was used with a field strength of 10 kHz and appropriated delays to compensate for ROESY effects (clean-TOCSY)<sup>11</sup>. The TOCSY and HMQC data were collected as a data matrix of 1024\*256 complex points with 16 scans per increment. The NOESY experiment was performed with a 600 ms mixing time. The total time for each 2D experiment was approximately 3 hours.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Dr. P. Lux and Dr. M. Piotto (Bruker Spectrospin France) for the solid MAS probe, and Y. Dumazy (Université des Sciences et Technologies de Lille) for his help in obtaining these data. We are grateful to Prof. J. Jeener and Prof. P. Broekaert (ULB, Brussels, Belgium) for careful reading of the manuscript and Dr. O. Melnyk for helpful discussions. C. F. D. acknowledges receipt of a graduate fellowship cofinanced by Bruker Spectrospin France, and the Région Nord-Pas de Calais (France). I. E. P., B. P. D. and P. C. M. thank GlaxoWellcome for the financial support. The 300 MHz facility used in this study was funded by the Région Nord-Pas de Calais (France), the CNRS and the Institut Pasteur de Lille.

#### REFERENCES

1. Lowe, I.J. *Phys. Rev. Lett.* 1959, 2, 285-287
2. Andrew, E. R.; Bradbury, A.; Eades R. G. *Nature* 1959, 183, 1802-1803
3. Anderson, R. C.; Stokes, J. P.; Shapiro, M. J. *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 5311-5314
4. Anderson, R. C.; Jarema, M. A.; Shapiro, M. J.; Stokes, J. P.; Ziliox, M. *J. Org. Chem.* 1995, 60, 2650-2651
5. Fitch, W. L.; Detre, G.; Holmes, C. P.; Shoreley, J. N.; Keifer, P. A. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 7955-7956
6. Keifer, P. A. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 1558-1599
7. Sarkar, S. K.; Garigipati, R. S.; Adams, J. L.; Keifer, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* 1996, 118, 2305-2306
8. Hiroshige, M.; Hauske, J. R.; Zhou, P. *Tetrahedron Lett.* 1995, 36, 4567-4570

9. Yu, K.-L.; Deshpande, M. S.; Vyas, D. M. *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 8919-8922
10. Griesinger, C.; Otting, G.; Wüthrich, K.; Ernst, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1988, 110, 7870-7872
11. Bax, A.; Griffey, R.H.; Hawkins, B.L. *J. Am. Chem. Soc.* 1983, 105, 7188-7190
12. Ganapathy, S.; Rajamohanan, P. R.; Ramanujulu, P. M.; Mandhare, A. B.; Mashelkar, R. A. *Polymer*, 1994, 35, 888-891
13. Kumar, A.; Ernst, R. R.; and Wüthrich, K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1980, 95, 1-6
14. Long, J. R.; Sun, B. Q.; Bowen, A. ; Griffin, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 11950-11956
15. Sarin, V. K.; Kent, B. H.; Tam, J. P.; Merrifield, R. B. *Analytical Biochem.* 1981, 117, 147-157

(Received in Belgium 29 April 1996; accepted 25 July 1996)

## CONCLUSION GÉNÉRALE

L'alimentation des tests de criblage à haut débit des sociétés pharmaceutiques demande à l'heure actuelle un nombre de plus en plus important de molécules à tester. Ces produits doivent remplir une série de conditions, comme : une bonne stabilité chimique et métabolique garantissant une durée de vie satisfaisante de la structure médicamenteuse ; une grande diversité structurale ; des structures « ouvertes », c'est à dire permettant la conception d'analogues ; les synthèses de ces produits doivent être relativement faciles à mettre en oeuvre. La synthèse parallèle à haut débit est ainsi devenue, depuis quelques années, un fournisseur très important de molécules pour les tests de criblage.

Le choix de monomères au sein de familles chimiques largement représentées (amines, acides carboxyliques, alcools, phénols...) corrélé avec les différents schémas d'assemblage pouvant être employés, permet d'aboutir à des produits très divers. Dans ce contexte, les réactions envisagées pour la synthèse parallèle à haut débit doivent se faire dans des conditions relativement douces, et sont optimisées de façon à permettre la mise en réaction d'un maximum de monomères possédant des fonctions pharmacophoriques très diverses.

Ainsi la synthèse en phase solide apparaît très intéressante, car elle permet d'engendrer des composés de pureté élevée pouvant être utilisés directement, sans purification préalable, dans les tests de criblage biologique. Nous nous sommes donc intéressés à l'application des techniques en phase solide pour la synthèse parallèle à haut débit et pour l'analyse de petites molécules organiques liées à leur support de synthèse.

Nous nous sommes penchés sur l'utilisation des familles d'acides carboxyliques et de *N*-nucléophiles afin d'engendrer des chimiothèques d'une grande diversité. Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à la synthèse d'amides en utilisant des réactifs de couplage ancrés sur support polymérique insoluble, stratégie qui conduit à des produits directement en solution, sans contamination par l'agent activant. Ainsi, un nouveau réactif de couplage, dérivé d'HOBt, a été synthétisé sur polymère insoluble, et l'assemblage d'amides au moyen de ce réactif a été mis au point. Cette méthode s'est avérée extrêmement efficace, permettant le recrutement d'une très large diversité d'acides carboxyliques et de *N*-nucléophiles et conduisant à des produits de pureté élevée. L'utilisation de ce nouveau réactif

de couplage immobilisé sur polymère serait d'une grande utilité pour la synthèse parallèle à haut débit d'amides sous forme soluble.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes penchés sur l'utilisation des familles d'acides carboxyliques et de *N*-nucléophiles dans d'autres schémas réactionnels, permettant d'engendrer des chimiothèques possédant des caractéristiques pharmacologiques différentes par rapport aux amides, notamment les hétérocycles. Un schéma réactionnel en 4 étapes a été mis au point pour la synthèse en phase solide de benzimidazoles 1,2-disubstitués, qui permettrait d'aboutir à une chimiothèque de dimensions relativement importantes (près de 10000 produits). L'intérêt de ces structures s'est aussi révélé par la découverte très récente d'antagonistes du récepteur du neuropeptide Y-1, ayant un squelette de base benzimidazole 1,2-disubstitué.<sup>113</sup> Ce schéma réactionnel s'avère donc utile pour la synthèse de chimiothèques de benzimidazoles, destinées dans un premier temps au criblage primaire.

Enfin, nous nous sommes intéressés à l'analyse des produits obtenus en phase solide directement sur leur support de synthèse. Nous avons contribué au développement de la technique de résonance magnétique nucléaire sous l'angle magique, RMN MAS, qui a été utilisée pour le suivi, d'abord, d'un schéma réactionnel modèle conduisant aux oléfines selon la réaction de Heck. A notre connaissance, c'était la première fois que le suivi complet, à l'aide de spectres TOCSY RMN MAS de routine, d'une réaction multi-étape en phase solide était réalisé. Cette technique a été par la suite appliquée avec succès à l'analyse des résines intermédiaires intervenant dans la synthèse en phase solide de benzimidazoles 1,2-disubstitués. Nous avons ainsi montré que la RMN MAS est un outil qui peut être appliqué en routine pour le suivi des réactions en phase solide, tout en évitant des pertes de matériel lors d'analyse des résines intermédiaires dans des schémas réactionnels multi-étapes.

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

## PARTIE EXPERIMENTALE

### MATERIELS ET METHODES

#### Matériels

##### 1/ Spectrométrie UV

Les dosages colorimétriques des amines (les tests de Kaiser, de Christensen, le dosage à l'acide picrique) et des anhydrides (dosage à l'hydroxylamine et au FeCl<sub>3</sub>) sont réalisés sur un spectromètre UV Shimadzu. Les échantillons sont placés dans une cuve en quartz de trajet optique de 1 cm.

##### 2/ Spectrométrie IR

Les spectres infrarouges en pastille de KBr de la résine carbodiimide (2) sont enregistrés sur un spectromètre NICOLET 205 FT-IR.

##### 3/ Spectrométrie de masse

Les spectres de masse obtenus selon la technique du temps de vol (TOF) sont réalisés sur un appareil BioIon/Applied Biosystem 20K, en utilisant une source de <sup>252</sup>Cf pour générer les fragments.

Les spectres de masse obtenus selon les techniques d'impact électronique (IE) et d'ionisation chimique (IC) sont réalisés sur un spectromètre Hewlett Packard – GC HP 5890/MS HP 5971 – GC/MS ou sur un spectromètre ATI Unicam Automass. L'ionisation chimique des molécules est réalisée en utilisant le méthane.

##### 4/ LC/MS (Liquid Chromatography/Mass Spectroscopy)

Les analyses LC/MS sont réalisées sur un appareil MicroMass Platform possédant un système HPLC doté d'un détecteur Hewlett Packard 1100 (détection de 190 nm à 950 nm à l'aide d'une barrette de diodes), de pompes Hewlett Packard et d'un injecteur Gilson 215, relié à un spectromètre de masse utilisant l'ionisation APCI (*Atmospheric Pressure Chemical*

*Ionisation*). Les séparations HPLC sont réalisées sur une colonne de 50 x 4,6 mm<sup>2</sup> en phase inverse C18 TSK-GEL Super ODS 2μm, à un débit de 2,75 mL/min, en utilisant comme éluants les mélanges H<sub>2</sub>O/0,050 % TFA (solvant A) et acétonitrile aqueux (80 %)/0,045 % TFA (solvant B) et un gradient qui passe en 5 min de 0 % à 100 % de solvant B, avec un temps d'équilibrage de la colonne de 0,5 min en début et en fin de gradient.

#### 5/ HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Les analyses HPLC sont réalisées sur une chaîne Shimadzu possédant un injecteur de type SIL-10A, des pompes LC-10AS et un détecteur à double longueur d'onde de type SPD-10A. Les séparations des produits sont réalisées sur des colonnes en phase inverse en utilisant comme éluants les mélanges H<sub>2</sub>O/0,050 % TFA (solvant A) et acétonitrile aqueux (80 %)/0,045 % TFA (solvant B). Un débit de 1 mL/min et des gradients de 30 min (passage de 0 % à 100 % de solvant B en 30 min suivi par une élution à 100 % solvant B pendant 10 min, avec un équilibrage de la colonne de 5 min en début et en fin de gradient) et de 15 min (passage de 0 % à 100 % de solvant B en 15 min suivi par une élution à 100 % de solvant B pendant 5 min, avec un équilibrage de la colonne de 2,5 min en début et en fin de gradient) sont utilisés lors des séparations sur une colonne en phase inverse Vydac C18 5μm, 250 x 4 mm<sup>2</sup>. Un débit de 2,75 mL/min et un gradient de 5 min (passage de 0 % à 100 % de solvant B en 5 min suivi par une élution à 100 % de solvant B pendant 3 min, avec un équilibrage de la colonne de 0,5 min en début et en fin de gradient) sont utilisés lors des séparations sur une colonne en phase inverse C18 TSK-GEL Super ODS 2μm, 50 x 4,6 mm<sup>2</sup>.

Ce même appareil est utilisé pour les purifications des produits par HPLC préparative.

#### 6/ Résonance Magnétique Nucléaire

Les spectres RMN sont enregistrés sur des appareils Bruker DRX – 300 ou Bruker DMX – 600. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en ppm. Les abréviations s, d, dd, ddd, t, dt, tt, q, m désignent successivement des singulets, doublets, doublets de doublets, doublets de doublets de doublets, triplets, doublets de triplets, triplets de triplets, quadruplets et massifs. Les indices *a* et *e* se rapportent à la position axiale ou équatoriale d'un substituant sur un cycle à six chaînons.

### 7/ Points de fusion

Les points de fusion sont mesurés sur un appareil Büchi 530 et ne sont pas corrigés.

### 8/ Analyses élémentaires

Les microanalyses sont réalisées au Service Central d'Analyse à Vernaison.

### 9/ Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les CCM sont réalisées sur plaques de silice 60 F<sub>254</sub> (Merck).

### 10/ Chromatographie sur couche épaisse (CCE)

Les CCE sont réalisées sur plaques de verre couvertes de gel de silice MN-Kieselgel G/UV<sub>254</sub> (Merck).

### 11/ Vaisselle utilisée pour les synthèses en phase solide

Les synthèses sur résines sont réalisées dans des récipients en verre silanisés : ballons, réacteurs ou tubes à essais. Les réacteurs utilisés pour les synthèses en phase solide sont des récipients dont le fond est un verre fritté, munis d'un robinet permettant d'adapter un tuyau relié à une trompe à eau, et d'un bouchon (figure E1).

**Figure E1.** Réacteur utilisé pour les synthèses en phase solide



## 12/ Solvants et réactifs

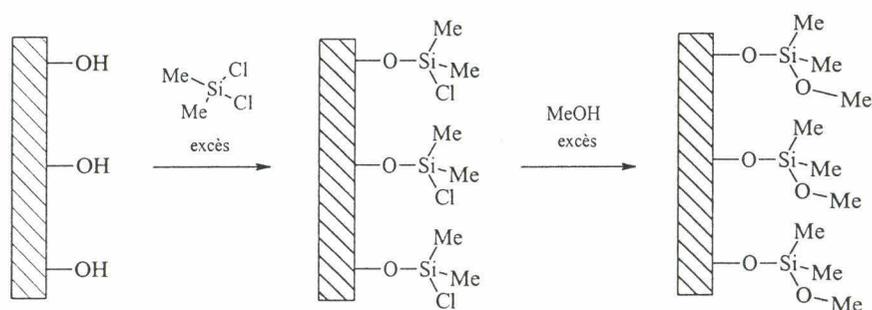
Les solvants et les réactifs commerciaux sont utilisés sans séchage ou purification préliminaire.

## Méthodes

### 1/ Silanisation de la vaisselle utilisée pour les synthèses en phase solide

La silanisation diminue l'adhérence des billes de polymère aux parois en verre des réacteurs, permettant ainsi une récupération quasi intégrale de la résine. La vaisselle est silanisée par le dichlorodiméthylsilane ( $\text{Me}_2\text{SiCl}_2$ ), la fonction chlorosilylée apparue étant neutralisée par un lavage au MeOH en excès (figure E2).

**Figure E2.** Réactions impliquées dans le processus de silanisation du verre



### 2/ Dosage de chlorures par la méthode de Charpentier – Vohlart <sup>43</sup>

Dans notre cas, cette méthode est utilisée pour évaluer la conversion d'une résine chlorométhylée (7) en phtalimidoyl-résine (8).

A 10 mL de la solution à doser sont ajoutés 5 mL d'acide nitrique 6 N, 20 mL d'une solution titrée 50 mM d' $\text{AgNO}_3$ , 1 mL de nitrobenzène et 1 mL d'alum de fer ammoniacal comme indicateur. Ce mélange est titré par une solution 50 mM de KSCN, jusqu'à l'apparition d'une faible coloration rougeâtre persistante.

### 3/ Dosage des groupements $-\text{NH}_2$ d'une résine aminométhylée par l'acide picrique <sup>112</sup>

Dans notre cas, cette méthode est utilisée pour évaluer la conversion d'une phtalimidoyl-résine (8) en résine aminométhylée (5).

50 mg de résine aminométhylée (**5**) sont traités par 3 x 20 mL d'une solution d'acide picrique 0,1 N dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. En fin de traitement la résine est lavée 6 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> pour élimination de l'excès d'acide, ensuite elle est traitée 5 x 5 % de DIEA dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ces 5 solutions sont récupérées et mélangées, elles sont ramenées au CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> à un volume final de 250 mL, et la densité optique de cette dernière solution est déterminée à l'aide d'un spectromètre UV ( $\lambda_{\text{max}} = 362 \text{ nm}$ ). La charge de la résine aminométhylée (**5**) est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{charge (mmol -NH}_2\text{/g résine)} = 5 \times (\text{DO}/\varepsilon), \text{ où :}$$

- DO est la densité optique de la solution
- $\varepsilon$  est le coefficient d'extinction,  $\varepsilon = 15000 \text{ L/mol} \times \text{cm}$
- 5 est un terme qui permet de ramener de 50 mg à 1 g et de 250 mL à 1 L

#### 4/ Dosage des amines primaires par le test colorimétrique de Kaiser <sup>44</sup>

Dans notre cas, cette méthode est utilisée pour évaluer le taux de couplage d'une résine aminométhylée (**5**), et pour le dosage des amines primaires en solution.

**Test de Kaiser sur les grains de résine.** Une quantité connue (10 mg à 20 mg) de résine est traitée par 100  $\mu\text{L}$  d'un mélange phénol/EtOH (4 g de phénol dans 1 mL d'EtOH), par 100  $\mu\text{L}$  d'une solution à 2 % dans la pyridine de KCN aqueux 1mM, et par 100  $\mu\text{L}$  d'une solution de ninhydrine 0,28 M dans l'EtOH. Ce mélange est chauffé pendant 5 min à 100 °C, il est dilué à 5 mL par l'EtOH à 60 %, et la densité optique de cette solution est déterminée à l'aide d'un spectromètre UV ( $\lambda_{\text{max}} = 570 \text{ nm}$ ). Le taux de couplage de la résine aminométhylée (**5**) est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{conversion (\%)} = 1 - \left[ \frac{1000 \times \text{DO} \times \text{V}}{\varepsilon \times \text{m} \times \text{s}} \right]$$

- DO est la densité optique de la solution
- V représente la dilution de l'échantillon. Dans notre cas, V = 5 mL.
- $\varepsilon$  est le coefficient d'extinction,  $\varepsilon = 15000 \text{ L/mol} \times \text{cm}$
- m (mg) représente la quantité de résine utilisée pour le dosage.
- s (mmol/g) représente le taux de substitution de la résine aminométhylée (**5**)
- 1000 est un terme qui permet de ramener de mL au L, de mg au g, et de mmol au mol

**Dosage des amines primaires en solution.** Des solutions de différentes concentrations d'amine, au moins 4 concentrations (de 1  $\mu\text{mol/mL}$  à 10  $\mu\text{mol/mL}$  pour la benzylamine et de 2  $\mu\text{mol/mL}$  à 35  $\mu\text{mol/mL}$  pour les autres amines primaires), sont préparées dans le DMF. Un test colorimétrique de Kaiser est effectué, selon la procédure décrite auparavant, sur 50,0  $\mu\text{L}$  de ces solutions, et la DO est déterminée à l'aide d'un spectromètre UV ( $\lambda_{\text{max}} = 570 \text{ nm}$ ). Des courbes d'étalonnage « DO » en fonction de la « concentration d'amine ( $\mu\text{mol mL}$ ) » sont tracées (Annexe 4), et elles servent au dosage des amines résiduelles en solution.

#### 5/ Dosage des amines secondaires en solution par le test colorimétrique de Christensen

Dans notre cas, cette méthode est utilisée pour le dosage de la pipéridine en solution .

**Le test colorimétrique de Christensen.** 100  $\mu\text{L}$  de la solution à doser est traitée par 200  $\mu\text{L}$  d'acétone et 50  $\mu\text{L}$  d'une solution saturée de 2,3,5,6-tétrachloro-1,4-benzoquinone dans le toluène, pendant 5 min à température ambiante. Cette solution est ensuite diluée à 1,5 mL avec le mélange DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1/3 (v/v) et sa DO est déterminée à l'aide d'un spectromètre UV ( $\lambda_{\text{max}} = 575 \text{ nm}$ ).

**Dosage de la pipéridine.** 4 solutions de différentes concentrations de pipéridine (de 1  $\mu\text{mol/mL}$  à 20  $\mu\text{mol/mL}$ ), sont préparées dans le DMF. Un test colorimétrique de Christensen est effectué sur ces solutions, selon la procédure décrite auparavant. Une courbe d'étalonnage « DO » en fonction de la « concentration d'amine ( $\mu\text{mol/mL}$ ) » est tracée (Annexe 4), et elle sert au dosage de la pipéridine en solution.

#### 6/ Dosage colorimétrique des anhydrides

Dans notre cas, cette méthode est utilisée pour le dosage de l'anhydride acétique et des anhydrides symétriques de quelques acides aminés en solution .

##### **Réactifs utilisés :**

a/ Le chlorhydrate d'hydroxylamine à 10 % dans le MeOH est neutralisé par une solution méthanolique 2,5 N de NaOH, en présence de phénolphtaléine pour détecter le point de virage. Le NaCl précipité est filtré, 1 mL du filtrat est dilué à 50 mL par l'AcOEt, et le NaCl supplémentaire précipité est filtré à nouveau. La solution d'hydroxylamine libre ainsi obtenue est utilisée pour le dosage des anhydrides.

b/ Solution à 3 % de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dans une solution éthanolique à 1 % d'acide perchlorique à 70 %.

**Dosage des anhydrides.** A 1 mL de solution d'anhydride acétique dans le mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v) sont ajoutés 0,5 mL de réactif a/, ensuite 3 mL de réactif b/. La DO de cette solution est déterminée à l'aide d'un spectromètre UV ( $\lambda_{\text{max}} = 525 \text{ nm}$ ). Ce dosage est effectué sur des solutions de différentes concentrations d'acide acétique, une courbe d'étalonnage « DO » en fonction de la « concentration d'anhydride acétique ( $\mu\text{mol/mL}$ ) » est tracée (Annexe 2), et elle sert au dosage des anhydrides en solution.

#### 7/ Dosage par HPLC des produits en solution

Des solutions méthanoliques de plusieurs concentrations (de 0,2 mg/mL à 1 mg/mL) des composés à doser (acides carboxyliques, amines, amides ou autres) sont préparées. 20  $\mu\text{L}$  de ces solutions sont injectés en HPLC et des courbes d'étalonnage « aire du pic ( $AU \times s$ ) » en fonction de la « concentration ( $\mu\text{mol/mL}$ ) » sont tracées (Annexes 5, 6, 8 et 13). Ces courbes servent au dosage des produits en solution.



## CHAPITRE 2

### **E-2.II.1. Synthèse et évaluation d'un carbodiimide immobilisé sur polymère**

#### E-2.II.1.1. Synthèse d'un carbodiimide sur un copolymère insoluble de type polystyrène et divinylbenzène

##### Synthèse de la résine carbodiimide (2)

Les synthèses des résines (8), (5), (6) et (2) décrites dans ce paragraphe sont effectuées dans des ballons silanisés, sous agitation magnétique légère. Les lavages des résines sont effectués sur des verres frittés, silanisés.

##### a/ Synthèse de la résine phtalimide (8)

0,93 g (5,00 mmol) de phtalimide de potassium sont solubilisés aux ultrasons dans 25,0 mL de DMF, en présence de 1,32 g (5,00 mmol) d'éther 1-couronne-6. Cette solution est mise en contact avec 2,95 g (2,10 mmol) de résine chlorométhylée 200-400 mesh (Fluka) (7) préalablement gonflée dans 5,0 mL de DMF et le milieu réactionnel est chauffé à 100 °C pendant 5 h. La résine est ensuite lavée 3 x DMF, 3 x DMF/H<sub>2</sub>O 1/1 (v/v), 3 x 3 DMF/EtOH 1/1 (v/v), 3 x EtOH et 2 x MeOH. Les 7 premiers lavages sont récupérés, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est dissout dans 200,0 mL d'H<sub>2</sub>O déminéralisée. Le dosage de Charpentier-Vohlart des ions de Cl<sup>-</sup> est effectué sur 10,00 mL de cette solution (conversion 100 %).

##### b/ Synthèse de la résine aminométhylée (5)

3,00 g (1,95 mmol) de résine phtalimide (8) est traitée avec 6,00 mL (193 mmol) d'hydrate d'hydrazine dans 25,0 mL d'EtOH au reflux pendant 7 h. La résine est ensuite lavée 3 x EtOH, 3 x H<sub>2</sub>O, 3 x MeOH et 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La conversion en résine aminométhylée (5) est déterminée par dosage colorimétrique à l'acide picrique des fonctions -NH<sub>2</sub> sur quelques dizaines de milligrammes de résine (conversion 100 %).

c/ Synthèse de la résine urée (6)

2,80 g (2,00 mmol) de résine aminométhylée (5) est traitée avec 1,00 mL (10,00 mmol) d'isocyanate d'isopropyle dans 30,0 mL de THF pendant 21 h à température ambiante. La résine est ensuite lavée 3 x THF et 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La conversion en résine urée (6) est déterminée par dosage colorimétrique de Kaiser des fonctions -NH<sub>2</sub> sur quelques milligrammes de résine (conversion 99 %).

d/ Synthèse de la résine carbodiimide (2)

*Deshydratation de la résine urée (6) en une seule étape, en présence de chlorure de p-toluène sulfonyle.* 0,75 g (0,50 mmol) de résine urée (6) est traitée avec 0,38 g (2,00 mmol) de chlorure de p-toluène sulfonyle en présence de 0,56 mL (4,00 mmol) d'Et<sub>3</sub>N dans 12,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, pendant 18 h au reflux. La résine est ensuite lavée 5 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La conversion en résine carbodiimide (2) est évaluée en utilisant un dosage colorimétrique de l'anhydride acétique obtenu en solution par réaction d'un excès d'acide acétique avec quelques milligrammes de résine (conversion 33 %). IR (pastille KBr),  $\nu = 2110$  (-N=C=N-).

*Deshydratation de la résine urée (6) en plusieurs étapes, en présence de chlorure de p-toluène sulfonyle.* 0,50 g (0,34 mmol) de résine urée (6) est traitée avec 0,64 g (3,40 mmol) de chlorure de p-toluène sulfonyle en présence de 0,95 mL (6,80 mmol) d'Et<sub>3</sub>N dans 12,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, pendant 7 h au reflux. La résine est ensuite lavée 5 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Trois autres étapes de deshydratation sont réalisées dans les mêmes conditions en utilisant des solutions de chlorure de p-toluène sulfonyle renouvelées à chaque étape. La conversion en résine carbodiimide (2) est évaluée après chaque étape de deshydratation en utilisant un dosage colorimétrique de l'anhydride acétique obtenu en solution par réaction d'un excès d'acide acétique avec quelques milligrammes de résine (conversion après 4 étapes de deshydratation : 60 %).

*Deshydratation de la résine urée (6) en une seule étape, en présence de chlorure de thionyle.* 0,70 g (0,42 mmol) de résine urée (6) est traitée avec 0,31 mL (4,20 mmol) de chlorure de thionyle en présence de 1,17 mL (8,40 mmol) d'Et<sub>3</sub>N dans 12,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, pendant 4 h au reflux. La résine est ensuite lavée 5 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La conversion en résine carbodiimide (2) est évaluée en utilisant un dosage colorimétrique de l'anhydride acétique obtenu en solution par réaction d'un excès d'acide acétique avec quelques milligrammes de résine (conversion 3 %).

***Evaluation de la conversion de la résine urée (6) en résine carbodiimide (2).*** Après les différentes étapes de deshydratation, la conversion est évaluée de la façon suivante : des échantillons de résine (2) (environ 20 mg) sont introduits dans des tubes à essais silanisés et sont mis en réaction avec 25 équiv. d'acide acétique dans 0,25 mL d'un mélange C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>/éther éthylique 2/1 (v/v), pendant 25 min à température ambiante. Les milieux réactionnels sont ensuite dilués avec 1,75 mL de C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>/éther éthylique 2/1 (v/v), et l'anhydride acétique est dosé au moyen d'un test colorimétrique.

#### E-2.II.1.2. Etudes préliminaires d'utilisation du carbodiimide immobilisé sur polymère (2) pour l'assemblage d'amides

##### Synthèse de N-benzylamides d'acides aminés protégés

Les synthèses de N-benzylamides d'acides aminés décrites dans ce paragraphe sont effectuées dans des tubes à essais silanisés, bouchés, sous agitation mécanique (utilisation d'un agitateur oscillant) et à température ambiante.

##### a/ Synthèse du Boc-N-benzylglycylamide (10) en utilisant la O-acyl urée sur polymère (9) comme espèce activée

20 mg (8,0 μmol) de résine (2) sont mis en réaction avec 8,0 μmol de Boc-Gly-OH 0,16 M dans un mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v), pendant 2 min. 8,0 μmol de benzylamine 0,16 M dans un mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v) sont additionnés, et la réaction est poursuivie pendant 30 min. En fin de réaction le milieu est dilué à 1,00 mL avec un mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v), et la quantité d'amine résiduelle est déterminée au moyen d'un test colorimétrique de Kaiser (conversion 70 %).

##### b/ Synthèse du Boc-N-benzylglycylamide (10) en utilisant l'anhydride symétrique comme espèce activée (tableau 2.3, entrée 1)

15,3 mg (5,90 μmol) de résine (2) sont mis en réaction avec 11,8 μmol de Boc-Gly-OH 79 mM dans un mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v), pendant 15 min. 5,9 μmol de benzylamine 0,12 M dans un mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v) sont additionnés, et la réaction est poursuivie pendant 45 min. En fin de réaction le milieu est dilué à 2,00 mL avec

un mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v), et les quantités d'amine et d'anhydride résiduelles sont déterminées au moyen de tests colorimétriques (conversion 100 %).

c/ Synthèse du Boc-*N*-benzylvalylamide en utilisant l'anhydride symétrique comme espèce activée (tableau 2.3, entrée 4)

9,8 mg (3,8  $\mu$ mol) de résine (2) sont mis en réaction avec 15,2  $\mu$ mol de Boc-Val-OH 101 mM dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, pendant 30 min. 3,8  $\mu$ mol de benzylamine 76 mM dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sont additionnés, et la réaction est poursuivie pendant 45 min. En fin de réaction le milieu est dilué à 2,00 mL avec un mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v), et les quantités d'amine et d'anhydride résiduelles sont déterminées au moyen de tests colorimétriques (conversion de l'amine 75 %).

d/ Synthèse du Boc-(OBzl)-*N*-benzylthréonylamide en utilisant l'anhydride symétrique comme espèce activée (tableau 2.3, entrée 7)

10,6 mg (4,10  $\mu$ mol) de résine (2) sont mis en réaction avec 16,4  $\mu$ mol de Boc-(OBzl)Thr-OH 109 mM dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, pendant 30 min. 4,1  $\mu$ mol de benzylamine 82 mM dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> sont additionnés, et la réaction est poursuivie pendant 45 min. En fin de réaction le milieu est dilué à 2,00 mL avec un mélange toluène/éther éthylique 2/1 (v/v), et les quantités d'amine et d'anhydride résiduelles sont déterminées au moyen de tests colorimétriques (conversion de l'amine 82 %).

## **E-2.II.2. Synthèse et évaluation d'un nouveau dérivé d'HOBt immobilisée sur support polymérique**

### E-2.II.2.1. Synthèse d'un nouveau dérivé d'HOBt sur un copolymère insoluble de type polystyrène et divinylbenzène

Les synthèses des résines (19) et (20) décrites dans ce paragraphe sont effectuées dans des ballons silanisés, sous agitation magnétique légère. Les lavages des résines sont effectués sur des verres frittés, silanisés.

a/ Synthèse du polymère N-benzyl-4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (19)

59,0 g (230,70 mmol) de chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle (18) sont solubilisés dans 800 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et sont mis en contact avec 47,2 g (76,90 mmol) de résine aminométhylée (5) 200-400 mesh (synthétisée à partir d'une résine de Merrifield, comme décrit dans le paragraphe E-2.II.1.1 aux points a/ et b/), préalablement gonflée dans 300 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. 32,0 mL (230,70 mmol) de Et<sub>3</sub>N sont additionnés, et la réaction est poursuivie à température ambiante pendant 5 h. La résine obtenue est filtrée, lavée avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1500 mL), DMF (1000 mL), DMF/H<sub>2</sub>O 1/1 (v/v, 1000 mL), H<sub>2</sub>O (1500 mL), EtOH 95 % (1000 mL) et éther éthylique (1000 mL) et elle est séchée à température ambiante. La conversion est déterminée par un test de Kaiser quantitatif effectué sur quelques milligrammes de résine (19) (conversion 99 %).

b/ Synthèse du polymère 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (20)

67,2 g (228,00 mmol) de polymère (19) sont mis en réaction avec 134,0 mL (4,31 mol) d'hydrate d'hydrazine, dans 200 mL d'EtOH 95 %, pendant 5 h au reflux. La résine est ensuite lavée avec de l'EtOH (1500 mL), H<sub>2</sub>O (1500 mL), DMF/H<sub>2</sub>O 1/1 (v/v, 500 mL), DMF (500 mL), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 mL), HCl 1 % dans du dioxane (1000 mL), dioxane (500 mL) et éther éthylique (500 mL), et elle est séchée à température ambiante. 59,6 g de résine (20) (96 % rendement par rapport à la résine aminométhylée de départ) ayant une charge de 0,75 mmol/ g (conversion 83 %) sont obtenus.

c/ Détermination de la charge du polymère 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (20)

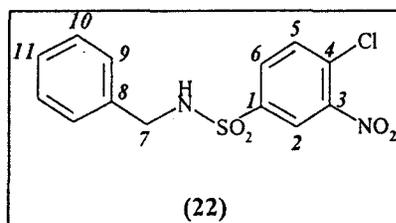
Des échantillons de résine (20) sont introduits dans six tubes à essais silanisés (30 mg, 37,0 μmol théoriquement par tube) et ils sont mis en réaction avec 200 μL d'une solution d'anhydride acétique 2,0 M dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, pour obtenir les résines acétylées (21). Après 2,5 h d'agitation à température ambiante, les six résines sont lavées au DMF (20 mL) et à l'éther éthylique (8 mL), et elles sont séchées sous vide à température ambiante. Les six résines acétylées (21) sont ensuite mises en réaction avec différentes quantités de benzylamine 195 mM dans le DMF (19,5 μmol, 29,25 μmol, 33,15 μmol, 35,1 μmol, 46,8 μmol et 58,5 μmol). Après agitation à température ambiante pendant 4 h les résines sont filtrées et les solutions sont dilués avec du DMF. La quantité d'amine non consommée est déterminée au moyen d'un

test de Kaiser quantitatif. Ce dosage permet d'établir la charge réelle du polymère (20) selon la procédure décrite dans le chapitre 2, paragraphe 2.II.2.1. C.).

E-2.II.2.2. Estimation des propriétés acido-basiques du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide immobilisé sur polymère (20)

a/ Synthèse du *N*-benzyl-4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (22)

5,45 mL (50,00 mmol) de benzylamine et 6,95 mL (50,00 mmol) de Et<sub>3</sub>N sont mis en solution dans 300 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et ce mélange est versé goutte à goutte sur une solution contenant 12,8 g (50,00 mmol) de chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyle dans 50 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Le milieu réactionnel est agité à température ambiante pendant 2,5 h. Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite, le résidu obtenu est solubilisé dans l'AcOEt (300 mL), il est lavé avec de l'H<sub>2</sub>O (3 x 200 mL), et il est séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Après évaporation sous pression réduite de l'AcOEt, 12,95 g (79 %) de *N*-benzyl-4-chloro-3-nitrobenzène sulfonamide (22) sont obtenus.



poudre jaune

MM = 326,5

Pf : 90 °C

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 29,7$  min

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*6) :

8,61-8,67	(t, $J = 6$ Hz, 1 H : NH)
8,30	(d, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
8,01-7,97	(dd, $J = 2 ; 8$ Hz, 1 H : H6)
7,95-7,92	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H5)
7,27-7,19	(m, 5 H : 2 H9, 2 H10, 1 H11)

4,12

(d,  $J = 6$  Hz, 2 H : H7)

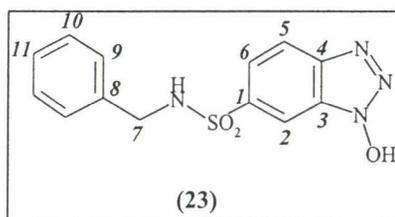
**RMN  $^{13}\text{C}$  (75,4 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**

147,9 ; 141,9 ; 137,7 ; 133,8 ; 132,2 ; 129,9 ; 129,07 ; 128,7 ; 128,1 ; 124,9 ;

47,1 (C7)

**b/ Synthèse du *N*-benzyl-1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (23)**

12,0 g (36,70 mmol) de (22) sont mis en solution dans l'EtOH 95 % (400 mL), 80,0 mL (2,57 mol) d'hydrate d'hydrazine sont additionnés, et le mélange est agité au reflux pendant 5 h. Le solvant est ensuite évaporé sous pression réduite conduisant à une huile qui est dissoute dans l' $\text{H}_2\text{O}$  (500 mL) et acidifiée au pH 0,9 avec de l'HCl aqueux. Le produit attendu précipite et il est séparé par filtration et séché sous vide conduisant à 10,7 g (96 %) de (23). Ce produit est cristallisé dans un mélange EtOH (113 mL)/ $\text{H}_2\text{O}$  (100 mL), conduisant à 9,2 g (86 %) de produit (23) pur.



cristaux jaune pale

MM = 304

**Pf :** 200-205 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :**  $t_R = 22,3$  min

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**

14,12	(s, 1 H : OH)
8,42	(t, $J = 6$ Hz, 1 H : NH)
8,20-8,17	(dd, $J = 9 ; 0,5$ Hz, 1 H : H5)
8,09	(m, 1 H : H2)
7,78-7,75	(dd, $J = 9 ; 2$ Hz, 1 H, H6)
7,25-7,14	(m, 5 H : 2 H9, 2 H10, 1 H11)
4,06	(d, $J = 6$ Hz, 2 H : H7)

**RMN  $^{13}\text{C}$  (75,4 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**

144,6 ; 140,54 ; 138,1 ; 129,0 ; 128,5 ; 127,9 ; 127,8 ; 122,9 ; 121,5 ; 110,5 ;  
47,1 (C7)

**SM (TOF,  $m/z$ ) :** 304,5 (MH $^+$ )

**Microanalyse :** C $_{13}$ H $_{12}$ N $_4$ O $_3$ S

calculée C : 51,31 ; H : 3,95 ; N : 18,42 ; O : 15,79 ; S : 10,53

trouvée C : 50,87 ; H : 3,91 ; N : 18,10 ; O : 15,59 ; S : 10,71

**c/ Mesures de pKa des composés (23), (24), (25), (26) et (14)**

Des solutions de ces composés à une concentration 2 mM dans un mélange MeOH/H $_2$ O (9 % MeOH) sont préparées. 15,0 mL de chaque solution sont titrés avec une solution aqueuse 2 mM de NaOH, et le pH est suivi à l'aide d'une électrode 3 M KCl/AgCl. Des courbes des titration « pH » en fonction du « volume de la solution de titration » sont tracées, et les valeurs des pKa sont calculées à l'aide de ces courbes de titration.

**E-2.II.2.3. Etudes préliminaires d'utilisation du 1-hydroxybenzotriazole-6-sulfonamide (20) pour la formation de la liaison amide**

**a/ Synthèse du Boc-N-benzylvalylamide (29) en phase homogène, en présence de DCC**

0,43 g (2,00 mmol) de Boc-Val-OH sont mis en solution dans 1,0 mL de CH $_2$ Cl $_2$ . 0,20 g (1,00 mmol) de DCC dans 1,0 mL de CH $_2$ Cl $_2$  sont ajoutés à cette solution. Après 45 min d'agitation le précipité formé est filtré, 0,10 mL (0,91 mmol) de benzylamine sont ajoutés au filtrat et le mélange est agité à nouveau pendant 30 min. Le milieu réactionnel est analysé par CCM (CH $_2$ Cl $_2$ /AcOEt 9/1, v/v) : Rf du Boc-N-benzylvalylamide = 0,69.

**b/ Synthèse d'amides en présence de résine (20)**

Les synthèses d'amides en présence de résine (20) décrites dans ce paragraphe sont effectuées dans des tubes à essais silanisés, bouchés, sous agitation mécanique (utilisation d'un agitateur oscillant) et à température ambiante.

**Synthèse du Boc-N-benzylvalylamide (29).** 25,4 mg (117  $\mu\text{mol}$ ) de Boc-Val-OH sont solubilisés dans 0,30 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et ils sont mis en réaction avec 30 mg (39,0  $\mu\text{mol}$ ) de résine (20). 24,1 mg (117  $\mu\text{mol}$ ) de DCC dans 0,30 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  sont additionnés à ce mélange, la réaction est poursuivie pendant 45 min et la résine est ensuite lavée 6 x DMF. Cette résine est par la suite mise en réaction avec 4,3  $\mu\text{L}$  (39,0  $\mu\text{mol}$ ) de benzylamine dans 0,20 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  pendant 60 min. Le milieu réactionnel est analysé par CCM ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}$  9/1, v/v) : Rf du Boc-N-benzylvalilamide = 0,70.

**Synthèse du N-benzylacétamide.** Environ 20,0 mg (environ 23,6  $\mu\text{mol}$ ) de résine (20) sont mis en réaction avec 3 équiv ou 10 équiv d'acide acétique dans 100  $\mu\text{L}$  de solvant ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , DMF ou mélanges de ces 2 solvants), en présence de 3 équiv respectivement 10 équiv de carbodiimide dans 100  $\mu\text{L}$  de solvant ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , DMF ou mélanges de ces 2 solvants). Après agitation pendant 30 min à 90 min la résine est lavée 6 x DMF, 2 x éther éthylique et elle est séchée dans un dessiccateur sous vide. La résine est par la suite mise en réaction avec 1 équiv de benzylamine dans 200  $\mu\text{L}$  de solvant ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , DMF ou mélanges de ces 2 solvants), pendant 30 min. En fin de réaction le milieu réactionnel est dilué avec 1,60 mL de DMF et la conversion de la benzylamine est déterminée au moyen du test colorimétrique de Kaiser. Le nombre d'équivalents d'acide, le type d'agent de couplage, le temps d'activation, les solvants utilisés ainsi que les conversions sont indiqués dans le tableau 2.5 du chapitre 2.

**Synthèse d'acétamides de différentes amines.** Environ 20,0 mg (environ 23,6  $\mu\text{mol}$ ) de résine (20) sont mis en réaction avec 5 équiv d'anhydride acétique dans 200  $\mu\text{L}$  d'un mélange DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1/3 (v/v). Après agitation pendant 45 min la résine est lavée 6 x DMF, 2 x éther éthylique et elle est séchée dans un dessiccateur sous vide. La résine est par la suite mise en réaction avec 1 équiv d'amine dans 200  $\mu\text{L}$  d'un mélange DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1/3 (v/v), pendant 30 min. En fin de réaction le milieu réactionnel est dilué avec 0,600 mL de DMF et la conversion de l'amine est déterminée au moyen du test colorimétrique de Kaiser pour les amines primaires, et au moyen du test colorimétrique de Christensen pour la pipéridine. Les amines utilisées ainsi que les conversions sont indiquées dans le tableau 2.6 du chapitre 2.

**Synthèse de N-benzylamides de différents acides carboxyliques.** Environ 20,0 mg (environ 23,6  $\mu\text{mol}$ ) de résine (20) sont mis en réaction avec 3 équiv d'acide en présence de 3 équiv de DCC dans 200  $\mu\text{L}$  d'un mélange DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1/3 (v/v). Après agitation pendant 90 min la résine est lavée 6 x DMF, 2 x éther éthylique et elle est séchée dans un dessiccateur sous vide. La résine est par la suite mise en réaction avec 1 équiv de benzylamine dans 200

$\mu\text{L}$  d'un mélange DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1/3 (v/v), pendant 30 min. En fin de réaction le milieu réactionnel est dilué avec 2,60 mL de DMF et la conversion de la benzylamine est déterminée au moyen du test colorimétrique de Kaiser. Les acides carboxyliques utilisés ainsi que les conversions sont indiqués dans le tableau 2.7 (entrées 1 à 4) du chapitre 2.

*Synthèse du N-(Boc- $\alpha$ -méthyl-alanyl)pipéridine.* 20,0 mg (23,6  $\mu\text{mol}$ ) de résine (20) sont mis en réaction avec 14,4 mg (70,8  $\mu\text{mol}$ ) de Boc- $\alpha$ -méthyl-Ala-OH en présence de 14,6 g (70,8  $\mu\text{mol}$ ) de DCC, dans 400  $\mu\text{L}$  d'un mélange DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1/3 (v/v). Après agitation pendant 120 min la résine est lavée 6 x DMF, 2 x éther éthylique et elle est séchée dans un dessiccateur sous vide. La résine est par la suite mise en réaction avec 2,1  $\mu\text{L}$  (23,6  $\mu\text{mol}$ ) de pipéridine dans 200  $\mu\text{L}$  d'un mélange DMF/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1/3 (v/v), pendant 45 min. En fin de réaction le milieu est dilué avec 0,600 mL de DMF et la conversion de la pipéridine est déterminée au moyen du test colorimétrique de Christensen (78 %) (tableau 2.7, chapitre 2).

#### E-2.II.2.9. Généralité de la méthode d'assemblage d'amides en utilisant le réactif (20)

Les synthèses d'amides en présence de résine (20) décrites dans ce paragraphe sont effectuées dans des réacteurs pour la synthèse en phase solide. L'agitation des milieux réactionnels est mécanique (utilisation d'un agitateur oscillant) et les réactions se font à température ambiante.

#### a/ Procédure générale de synthèse des esters activés sur polymère (27)

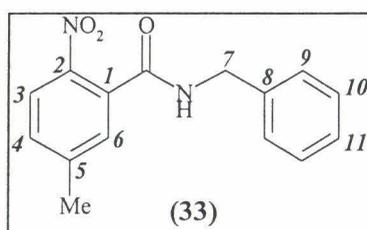
1 équivalent de PyBrOP et 2 équivalents de DIEA par rapport à l'acide sont utilisés. L'acide est dissout dans une solution de PyBrOP dans le DMF et la DIEA est ensuite ajoutée. Ce mélange est mis en réaction avec la résine (20) préalablement gonflée dans le DMF, pendant 3 h (sauf indication contraire). Après la première étape d'activation la résine est lavée 3 x DMF, et la seconde étape d'activation est réalisée dans les mêmes conditions que la première (sauf indication contraire). En fin d'activation, la résine est lavée 5 x DMF.

b/ Procédure générale de synthèse d'amides à partir d'esters activés sur polymère (27)

1 équivalent de *N*-nucléophile par rapport à la résine (20) est généralement utilisé. L'amine est solubilisée dans le DMF et ensuite, si nécessaire, la DIEA est ajoutée. L'ester activé sur polymère (27) est mis en réaction avec cette solution d'amine. Après 20 h de réaction, le surnageant est séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans le *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant aux produits bruts (sauf indication contraire).

c/ Synthèse d'amides en utilisant le réactif (20), selon les procédures générales décrites aux points a/ et b/

*N*-benzyl-5-méthyl-2-nitrobenzamide (33). Selon la procédure générale, la réaction de 87 mg (0,480 mmol) d'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (a), en présence de 0,224 g (0,480 mmol) de PyBrOP et de 0,223 mL (0,960 mmol) de DIEA dans 1,50 mL de DMF, avec 0,20 g (0,160 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27a). Cet ester activé est mis en réaction avec 17,5  $\mu$ L (0,160 mmol) de benzylamine dans 1,00 mL de DMF. Le produit obtenu est récupéré selon la procédure générale, conduisant à 36 mg (84 %) d'amide (33).



MM = 270

**Pf**: 156 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)**:  $t_R$  = 20,5 min

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*6)** :

9,15	(t, $J$ = 6 Hz, 1 H : NH)
7,96	(d, $J$ = 8 Hz, 1 H : H3)
7,50-7,46	(m, 2 H : H4, H6)

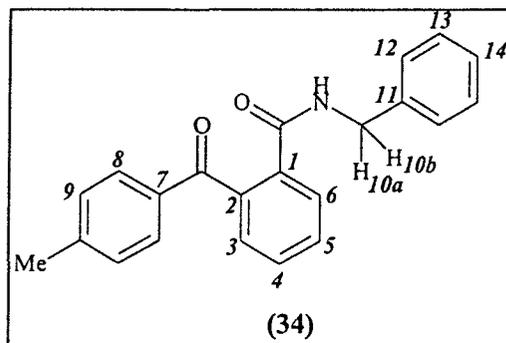
7,37	(m, 4 H : 2 H9, 2 H10)
7,29-7,25	(m, 1 H, H11)
4,46	(d, $J = 6$ Hz, 2 H : H7)
2,44	(s, 3 H : Me)

**SM (IC,  $m/z$ )** : 271 ( $MH^+$ ), 165 (5-méthyl-2-nitrobenzoyl $H^+$ ), 106 ( $C_7H_7NH^+$ ), 91 ( $C_7H_7^+$ )

**Microanalyse** :  $C_{15}H_{14}N_2O_3$

calculée	C : 66,66 ; H : 5,18 ; N : 10,37
trouvée	C : 66,66 ; H : 5,00 ; N : 10,18

*N*-benzyl-2-(*p*-toluoyl)benzamide (34). Selon la procédure générale, la réaction de 0,115 g (0,480 mmol) d'acide 2-(*p*-toluoyl)benzoïque (b), en présence de 0,224 g (0,480 mmol) de PyBrOP et de 0,223 mL (0,960 mmol) de DIEA dans 1,50 mL de DMF, avec 0,20 g (0,16 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27b). Cet ester activé est mis en réaction avec 17,5  $\mu$ L (0,160 mmol) de benzylamine dans 1,00 mL de DMF. Le produit obtenu est récupéré selon la procédure générale, conduisant à 46 mg (87 %) d'amide (34).



MM = 329

**Pf** : 152 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 25,3$  min

**RMN  $^1H$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )** :

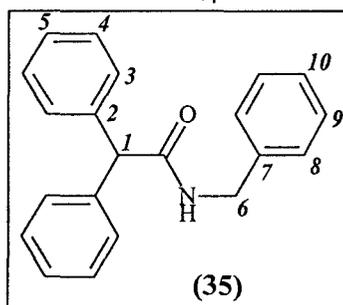
7,74-7,71	(m, 1 H : ArH)
7,56-7,49	(m, 2 H : ArH)
7,27-7,07	(m, 11 H : NH et 10 ArH)
4,49	(d, $J = 15$ Hz, 1 H : H10a)
4,18	(d, $J = 15$ Hz, 1 H : H10b)

2,24

(s, 3 H : Me)

**SM (IC, m/z)** : 330 (MH<sup>+</sup>), 223 (2-(*p*-toluoyl)benzoyl<sup>+</sup>), 106 (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>NH<sup>+</sup>), 91 (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>)

*N*-benzylidiphénylacétamide (35). Selon la procédure générale, la réaction de 0,101 g (0,480 mmol) d'acide diphénylacétique (c), en présence de 0,224 g (0,480 mmol) de PyBrOP et de 0,223 mL (0,960 mmol) de DIEA dans 1,50 mL de DMF, avec 0,20 g (0,160 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27c). Cet ester activé est mis en réaction avec 17,5 μL (0,160 mmol) de benzylamine dans 1,00 mL de DMF. Le produit obtenu est récupéré selon la procédure générale, conduisant à 24 mg (50 %) d'amide (35).



MM = 301

**Pf** : 125 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 30,5$  min

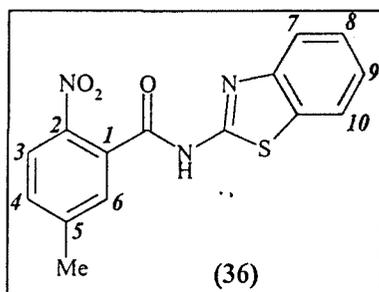
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** :

8,78	(t, $J = 6$ Hz, 1 H : NH)
7,35-7,19	(m, 15 H : ArH)
5,02	(s, 1 H : HI)
4,31	(d, $J = 6$ Hz, 2 H : H6)

**SM (IE, m/z)** : 301 (M<sup>+</sup>), 167 (diphénylacétyl<sup>+</sup>), 91 (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub><sup>+</sup>)

*N*-(2-benzothiazolyl)-5-méthyl-2-nitrobenzamide (36). Selon la procédure générale, la réaction de 0,652 g (3,600 mmol) d'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (a), en présence de 1,678 g (3,600 mmol) de PyBrOP et de 1,255 mL (7,200 mmol) de DIEA dans 5,00 mL de DMF, avec 1,50 g (1,200 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27a). Cet ester activé est mis en réaction avec 0,162 g (1,080 mmol) de 2-aminobenzothiazole et 0,376 mL (1,080 mmol) de DIEA dans 5,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par

filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 250 mL d'AcOEt, la phase organique est lavée 3 x NaHCO<sub>3</sub> aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 10,0 mL de *t*BuOH, la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 0,183 g (54 %) d'amide (36).



MM = 313

**Pf** : 205-210 °C (décomposition)

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 28,9$  min

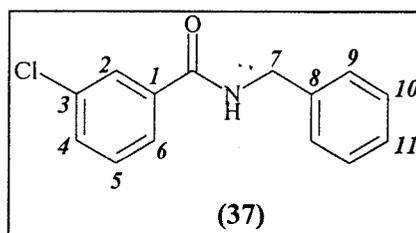
**RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, DMF-*d*7)** :

8,36	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H3)
8,27	(d, $J = 7,6$ Hz, 1 H : H7)
7,98	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H10)
7,96	(d, $J = 1$ Hz, 1 H : H6)
7,88	(dd, $J = 8 ; 1$ Hz, 1 H, H4)
7,68 ; 7,58	(td, $J = 7,6 ; 1$ Hz, 1 H ; td, $J = 7,6 ; 1$ Hz, 1 H : H8 et H9)
2,74	(s, 3 H, Me)

**SM (IE,  $m/z$ )** : 313 ( $M^+$ ), 267 ( $M - NO_2$ ), 164 (5-méthyl-2-nitrobenzoyl<sup>+</sup>), 149 (2-aminobenzothiazolyl<sup>+</sup>)

*N*-benzyl-3-chlorobenzamide (37). Selon la procédure générale, la réaction de 0,279 g (1,780 mmol) d'acide 3-chlorobenzoïque (d), en présence de 0,831 g (1,780 mmol) de PyBrOP et de 0,622 mL (3,560 mmol) de DIEA dans 3,80 mL de DMF, avec 0,70 g (0,590 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27d). Cet ester activé est mis en réaction avec

64,9  $\mu\text{L}$  (0,590 mmol) de benzylamine dans 5,95 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et la solution est concentrée sous pression réduite. La solution restante est purifiée par HPLC préparative en phase inverse (colonne Vydac C18, 5  $\mu\text{m}$ , 500 x 20  $\text{mm}^2$ ), en utilisant comme éluants les mélanges  $\text{H}_2\text{O}/0,050\%$  TFA et acétonitrile aqueux (80 %)/0,045 % TFA (gradient) à un débit de 4 mL/min, et avec une détection à 254/280 nm. Les fractions pures sont réunies et le solvant est évaporé sous pression réduite, conduisant à 124 mg (85 %) d'amide (37).



MM = 245,5

**Pf** : 89 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 , grad. 30 min)** :  $t_R = 27,7$  min

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )** :

9,18	(t, $J = 6$ Hz, 1 H : NH)
7,95	(t, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
7,87	(dt, $J = 1 ; 8$ Hz, 1 H : H6)
7,62	(ddd, $J = 2 ; 8$ Hz, 1 H : H4)
7,52	(t, $J = 8$ Hz, 1 H : H5)
7,38-7,32	(m, 4 H : 2 H9, 2 H10)
7,28-7,22	(m, 1 H : H11)
4,50	(d, $J = 6$ Hz, 2 H : H7)

**SM (IE,  $m/z$ )** : 245-247 ( $\text{M}^+$ ), 139-141 (3-chlorobenzoyl $^+$ ), 111-113 (3-chlorobenzényl $^+$ ), 106

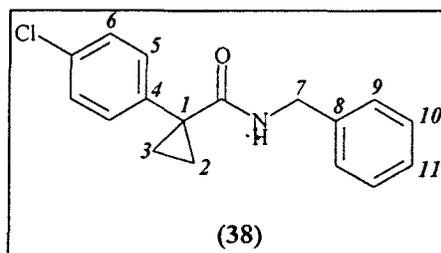
( $\text{C}_7\text{H}_7\text{NH}^+$ ), 91 ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ )

**Microanalyse** :  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{NOCl}$

calculée      C : 67,88 ; H : 4,85 ; N : 5,66

trouvée      C : 67,68 ; H : 4,87 ; N : 5,77

*N*-benzyl-1-(4-chlorophényl)-1-cyclopropanecarboxamide (38). Selon la procédure générale, la réaction de 0,094 g (0,480 mmol) d'acide 1-(4-chlorophényl)-1-cyclopropanecarboxylique (e), en présence de 0,224 g (0,480 mmol) de PyBrOP et de 0,223 mL (0,960 mmol) de DIEA dans 1,50 mL de DMF, avec 0,20 g (0,160 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27e). Cet ester activé est mis en réaction avec 17,5  $\mu$ L (0,160 mmol) de benzylamine dans 1,00 mL de DMF. Le produit obtenu est récupéré selon la procédure générale, conduisant à 37 mg (81 %) d'amide (38).



MM = 285,5

Pf : 107 °C

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 25,3$  min

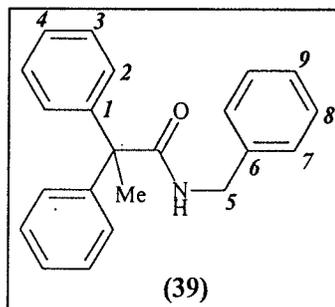
RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{C}_6\text{D}_6$ ) :

7,21-7,07	(m, 5 H : 2 H9, 2 H10, H11)
7,05-7,00	(m, 2 H : H5)
6,87-6,83	(m, 2 H : H6)
5,40	(s large, 1 H : NH)
4,27	(d, $J = 6$ Hz, 2 H : H7)
1,88-1,84	(m, 2 H : H2 ou H3)
0,81-0,77	(m, 2 H : H2 ou H3)

SM (IE,  $m/z$ ) : 285-287 ( $\text{M}^{++}$ ), 194-196 ( $\text{M}$  - benzyle), 151-153 (1-(4-chlorophényl)-1-cyclopropyl $^+$ ), 91 ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ )

*N*-benzyl-2,2'-diphénylpropionamide (39). Selon la procédure générale, la réaction de 0,156 g (0,690 mmol) d'acide 2,2'-diphénylpropionique (f), en présence de 0,322 g (0,690 mmol) de PyBrOP et de 0,241 mL (1,380 mmol) de DIEA dans 2,00 mL de DMF, avec 0,40 g (0,230 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27f). Cet ester activé est mis en réaction

avec 25,0  $\mu\text{L}$  (0,230 mmol) de benzylamine dans 2,00 mL de DMF. Le produit obtenu est récupéré selon la procédure générale, conduisant à 62 mg (86 %) d'amide (39).



MM = 315

**Pf** : 95-97 °C

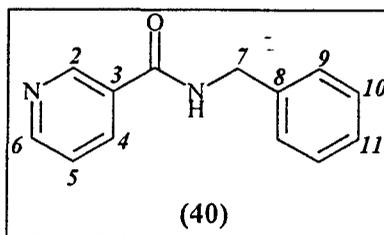
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 32,1$  min

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )** :

7,93	(t, $J = 6$ Hz, 1 H : NH)
7,33-7,15	(m, 15 H : 4 H <sub>2</sub> , 4 H <sub>3</sub> , 2 H <sub>4</sub> , 2 H <sub>7</sub> , 2 H <sub>8</sub> , H <sub>9</sub> )
4,30	(d, $J = 6$ Hz, 2 H : H <sub>5</sub> )
1,90	(s, 3 H : Me)

**SM (IE,  $m/z$ )** : 315 ( $\text{M}^+$ ), 181 (2,2'-diphénylpropyl $^+$ ), 91 ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ ), 77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ )

**N-benzylnicotinamide (40)**. La réaction de 85 mg (0,690 mmol) d'acide nicotinique (g), en présence de 0,322 g (0,690 mmol) de PyBrOP et de 0,241 mL (1,380 mmol) de DIEA dans 2,00 mL de DMF, avec 0,40 g (0,230 mmol) de résine (20), 2 fois pendant 1 h à chaque fois, conduit à l'ester activé (27g). Cet ester activé est mis en réaction avec 25,0  $\mu\text{L}$  (0,230 mmol) de benzylamine dans 2,00 mL de DMF et le produit obtenu est récupéré par la procédure générale, conduisant à 29 mg (60 %) d'amide (40). L'amide est purifié par chromatographie en couche épaisse (éluant :  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$  9/1/0,1/0,05), conduisant à 21 mg (42 %) de produit (40) pure.



MM = 212

**Pf** : 120-130 °C

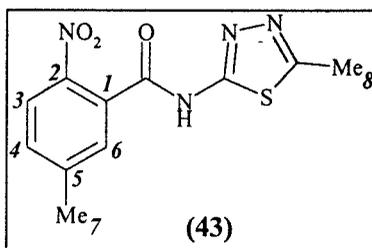
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 17,8$  min

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMF- $d_7$ )** :

9,42	(s large, 1 H : NH)
9,38	(dd, $J = 1 ; 2$ Hz, 1 H : H2)
8,93	(dd, $J = 1 ; 5$ Hz, 1 H : H6)
8,54	(dt, $J = 2 ; 8$ Hz, 1 H : H4)
7,75-7,70	(m, 1 H : H5)
7,62-7,45	(m, 5 H : 2 H9, 2 H10, H11)
4,80	(d, $J = 6$ Hz, 2 H : H7)

**SM (IC,  $m/z$ )** : 213 ( $\text{MH}^+$ ), 106 (nicotinyln $^+$ ), 91 ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ )

*N*-(2-(5-méthyl-1,3,4-thiadiazolyl))-5-méthyl-2-nitrobenzamide (43). Selon la procédure générale, la réaction de 0,326 g (1,800 mmol) d'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (a), en présence de 0,839 g (1,800 mmol) de PyBrOP et de 0,627 mL (3,600 mmol) de DIEA dans 2,50 mL de DMF, avec 0,75 g (0,600 mmol) de résine (20) conduit à l'ester activé (27a). Cet ester activé est mis en réaction avec 62 mg (0,600 mmol) de 2-amino-5-méthyl-1,3,4-thiadiazole dans 2,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 150 mL d'AcOEt, la phase organique est lavée 3 x  $\text{NaHCO}_3$  aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 10,0 mL de *t*BuOH, la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 0,106 g (71 %) d'amide (43).



MM = 278

**Pf** : 226 °C

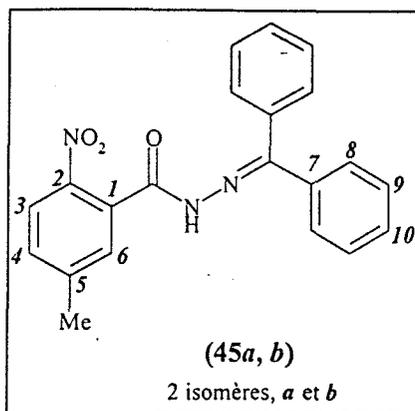
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 22,9$  min

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** :

13,03	(s, 1 H : NH)
8,12	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H3)
7,64	(s, 1 H : H6)
7,60	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H4)
2,67	(s, 3 H : Me8)
2,47	(s, 3 H : Me7)

**SM (IC, *m/z*)** : 279 (MH<sup>+</sup>), 164 (5-méthyl-2-nitrobenzoyl<sup>+</sup>)

**Benzophénone (N-benzyl-5-méthyl-2-nitrobenzoyl)hydrazone (45)**. Selon la procédure générale, la réaction de 0,543 g (3,000 mmol) d'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (a), en présence de 1,398 g (3,000 mmol) de PyBrOP et de 1,050 mL (6,000 mmol) de DIEA dans 4,00 mL de DMF, avec 1,25 g (0,800 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27a). Cet ester activé est mis en réaction avec 0,196 g (1,000 mmol) de benzylamine dans 6,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 30 mL d'AcOEt, la phase organique est lavée 3 x NaHCO<sub>3</sub> aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et le solvant est évaporé sous pression réduite conduisant à 0,253 g (70 %) d'amide (45). Ce produit est purifié par cristallisation dans 4,0 mL d'AcOEt, conduisant à 99 mg (27 %) d'amide (45) pure sous forme de deux isomères de ratio 2,13/1.



MM = 359

Pf : 204-206 °C

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 31,7$  min

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :

10,83	(s, 1 H : NH $a$ )
10,45	(s, 1 H : NH $b$ )
8,15	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H3 $b$ )
8,02	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H3 $a$ )
7,60-7,06	(m, 24 H : H4 $a$ , H4 $b$ , H6 $a$ , H6 $b$ , 4 H8 $a$ , 4 H8 $b$ , 4 H9 $a$ , 4 H9 $b$ , 2 H10 $a$ , 2 H10 $b$ ,)
2,49	(s, 3 H, Me $b$ )
2,42	(s, 3 H : Me $a$ )

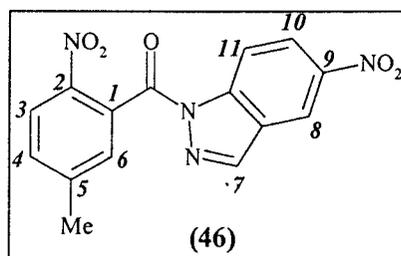
SM (IE,  $m/z$ ) : 359 (( $M^+$ ), 165 (5-méthyl-2-nitrobenzoyl $H^+$ ), 77 ( $C_6H_5^+$ )

Microanalyse :  $C_{21}H_{17}N_3O_3$

calculée	C : 70,19 ; H : 4,74 ; N : 11,70
trouvée	C : 69,83 ; H : 4,80 ; N : 11,88

*1-(5-méthyl-2-nitrobenzoyl)-5-nitroindazole (46)*. Selon la procédure générale, la réaction de 0,652 g (3,600 mmol) d'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (**a**), en présence de 1,678 g (3,600 mmol) de PyBrOP et de 1,255 mL (7,200 mmol) de DIEA dans 5,00 mL de DMF, avec 1,50 g (1,200 mmol) de résine (**20**), conduit à l'ester activé (**27a**). Cet ester activé est mis en réaction avec 0,196 g (1,200 mmol) de 5-nitroindazole et 0,418 mL (2,400 mmol) de DIEA dans 3,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la

résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 250 mL d'AcOEt, la phase organique est lavée 3 x NaHCO<sub>3</sub> aqueux 0,10 M, elle est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 12,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 0,273 g (77 %) d'amide (46).



MM = 326

**Pf** : 210-215 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 31,3$  min

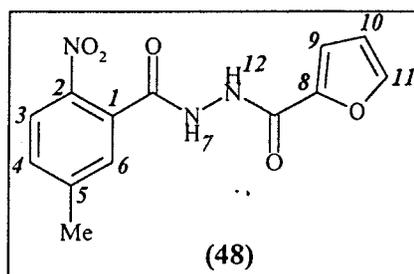
**RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, DMF-*d*7)** :

9,01	(d, $J = 2$ Hz, 1 H : H8)
8,76	(d, $J = 9$ Hz, 1 H : H11)
8,72	(s, 1 H : H7)
8,68	(dd, $J = 9 ; 2$ Hz, 1 H : H10)
8,35	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H3)
7,92	(d, $J = 1$ Hz, 1 H : H6)
7,80	(dd, $J = 8 ; 1$ Hz, 1 H : H4)
2,76	(s, 3 H : Me)

**SM (IC,  $m/z$ )** : 327 (MH<sup>+</sup>), 280 (M - NO<sub>2</sub>), 164 (5-méthyl-2-nitrobenzoyl<sup>+</sup>)

**Hydrazide *N'*-(5-méthyl-2-nitrobenzoyl)-2-furoïque (48)**. Selon la procédure générale, la réaction de 0,608 g (3,360 mmol) d'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (**a**), en présence de 1,565 g (3,360 mmol) de PyBrOP et de 1,171 mL (6,720 mmol) de DIEA dans 5,00 mL de DMF, avec 1,40 g (1,120 mmol) de résine (**20**), conduit à l'ester activé (**27a**). La résine (**27a**) est lavée 3 x DMF, 2 x éther éthylique et elle est séchée sous vide. 0,080 mmol d'ester activé (**27a**) sont ensuite mis en réaction avec 10 mg (0,080 mmol) d'hydrazide 2-

furoïque en présence de 27,9  $\mu\text{L}$  (0,160 mmol) de DIEA dans 5,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le produit est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : pentane/AcOEt 1/1), conduisant à 12 mg (50 %) d'amide (48).



MM = 289

**Pf** : 194-202 °C (décomposition)

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 18,7$  min

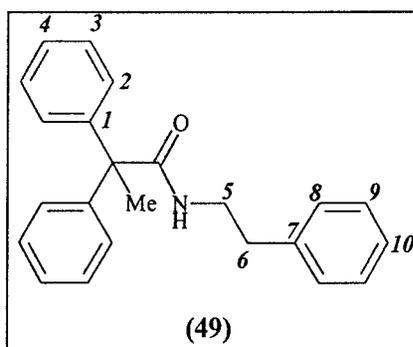
**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )** :

10,61 ; 10,57	(2 s, 2 H : NH7, NH12)
8,04-8,01	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H3)
7,93	(d, $J = 1,6$ Hz, 1 H : H11)
7,58-7,55	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H4)
7,52	(s, 1 H : H6)
7,32-7,31	(d, $J = 3$ Hz, 1 H : H9)
6,69-6,68	(dd, $J = 1,6 ; 3$ Hz, 1 H : H10)
2,48	(s, 3 H : Me)

**SM (IC,  $m/z$ )** : 290 ( $\text{MH}^+$ ), 164 (5-méthyl-2-nitrobenzoyl $^+$ )

*N*-phénéthyl-2,2'-diphénylpropionamide (49) ; *N*-(( $\beta$ )*R*-hydroxy-( $\alpha$ )*S*-méthylphénéthyl)-2,2'-diphénylpropionamide (50) et 2,2'-diphénylpropanilide (51). Selon la procédure générale, la réaction de 1,627 g (7,200 mmol) d'acide 2,2'-diphénylpropionique (f), en présence de 3,355 g (7,200 mmol) de PyBrOP et de 2,510 mL (14,400 mmol) de DIEA dans 18,00 mL de DMF, avec 3,00 g (2,400 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27f). La résine (27f) est lavée 3 x DMF, 2 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et elle est séchée sous vide. Une portion

(0,480 mmol) de l'ester activé (**27f**) est mise en réaction avec 60,0  $\mu$ L (0,480 mmol) de phénéthylamine dans 4,80 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , la phase organique est lavée 3 x  $\text{NaHCO}_3$  aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 12,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 129 mg (82 %) d'amide (**49**). Selon la même procédure, la réaction de 0,480 mmol d'ester activé (**27f**) avec 79 mg (0,520 mmol) de (1*R*,2*S*)-(-)-noréphédrine dans 4,80 mL de DMF conduit à 128 mg (74 %) d'amide (**50**). Selon la même procédure, la réaction de 0,480 mmol d'ester activé (**27f**) avec 46 mg (0,480 mmol) d'aniline dans 4,80 mL de DMF conduit à 83 mg (64 %) d'amide (**51**).



MM = 329

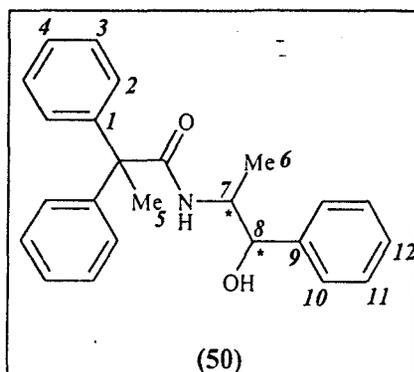
**Pf** : 63-66 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 32,3$  min

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO-*d*6)** :

7,32-7,10	(m, 16 H : NH, 4 H2, 4 H3, 2 H4, 2 H8, 2 H9, H 10)
3,35	(m, 2 H : H5)
2,74	(t, $J = 7$ Hz, 2 H : H6)
1,83	(s, 3 H : Me)

**SM (IE,  $m/z$ )** : 329 ( $\text{M}^+$ ), 181 (2,2'-diphénylpropyl $^+$ ), 91 ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ ), 77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ )



MM = 359

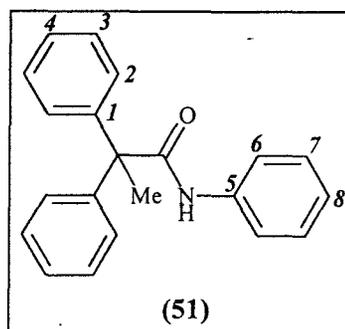
Pf : 60-62 °C

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 29,9$  min

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :

7,31-7,23	(m, 11 H : 4 H <sub>2</sub> , 4 H <sub>3</sub> , 2 H <sub>4</sub> , NH)
7,10	(m, 2 H : 2 H <sub>10</sub> )
6,94	(m, 2 H : 2 H <sub>11</sub> )
6,63	(m, 1 H : H <sub>12</sub> )
5,41	(d, $J = 4,5$ Hz, 1 H : OH)
4,53	(m, 1 H : H <sub>8</sub> )
4,10	(m, 1 H : H <sub>7</sub> )
1,78	(s, 3 H : Me <sub>5</sub> )
0,97	(d, $J = 7$ Hz, 3 H : Me <sub>6</sub> )

SM (IE,  $m/z$ ) : 341 ( $\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$ ), 181 (2,2'-diphénylpropyl<sup>+</sup>), 77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ )



MM = 301

**Pf** : 110 °C

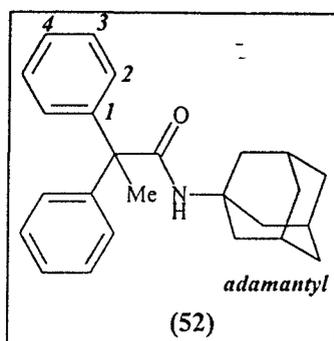
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 32,2$  min

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )** :

9,19	(s, 1 H, NH)
7,62	(d, $J = 1$ Hz, 2 H : H6)
7,38-7,24	(m, 12 H : 4 H2, 4 H3, 2 H4, 2 H7)
7,06	(t, $J = 1$ Hz, 1 H : H8)
2,06	(s, 3 H : Me)

**SM (IE,  $m/z$ )** : 301 ( $\text{M}^+$ ), 181 (2,2'-diphénylpropyl $^+$ ), 77 ( $\text{C}_6\text{H}_5^+$ )

*N*-(1-adamantyl)-2,2'-propionamide (52). Selon la procédure générale, la réaction de 0,638 g (2,400 mmol) d'acide 2,2'-diphénylpropionique (f), en présence de 1,118 g (2,400 mmol) de PyBrOP et de 0,837 mL (4,800 mmol) de DIEA dans 7,00 mL de DMF, avec 1,00 g (0,800 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27f). Cet ester activé est mis en réaction avec 0,150 g (0,800 mmol) de chlorhydrate de 1-adamantylamine en présence de 0,139 mL (0,800 mmol) de DIEA dans 4,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , la phase organique est lavée 3 x  $\text{NaHCO}_3$  aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 20,0 mL de *t*BuOH, la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 0,144 g (50 %) d'amide (52).



MM = 359

**Pf** : 103-107 °C

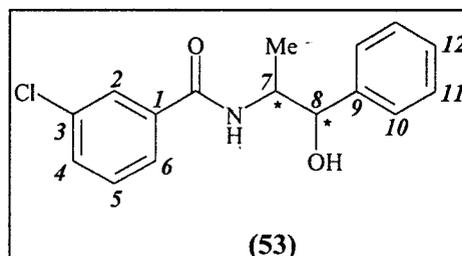
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 38,9$  min

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*6)** :

7,21-7,00	(m, 10 H : 4 H <sub>2</sub> , 4 H <sub>3</sub> , 2 H <sub>4</sub> )
5,65	(s, 1 H : NH)
1,84-1,45	(m, 18 H : 15 Hadamantyl, 3 H Me)

**SM (IC, *m/z*)** : 360 (MH<sup>+</sup>), 182 (2,2'-diphénylpropylH<sup>+</sup>)

*N*-(( $\beta$ )*R*-hydroxy-( $\alpha$ )*S*-méthylphénéthyl)-3-chlorobenzamide (**53**). Selon la procédure générale, la réaction de 0,279 g (1,780 mmol) d'acide 3-chlorobenzoïque (**d**), en présence de 0,831 g (1,780 mmol) de PyBrOP et de 0,622 mL (3,560 mmol) de DIEA dans 3,80 mL de DMF, avec 0,70 g (0,590 mmol) de résine (**20**), conduit à l'ester activé (**27d**). Cet ester activé est mis en réaction avec 90 mg (0,595 mmol) de (1*R*,2*S*)-(-)-noréphédrine dans 5,95 mL de DMF. Le produit est récupéré et purifié par HPLC préparative en phase inverse, selon la procédure décrite pour le composé (**37**), conduisant à 0,135 g (79 %) d'amide pure (**53**).



MM = 289,5

**Pf** : 140 °C

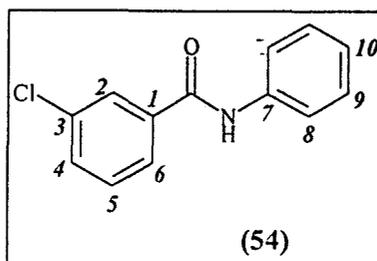
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 25,6$  min

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )** :

8,37	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : NH)
7,83	(t, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
7,74	(dt, $J = 8 ; 1$ Hz, 1 H : H6)
7,58	(ddd, $J = 8 ; 2 ; 1$ Hz, 1 H : H4)
7,48	(t, $J = 8$ Hz, 1 H : H5)
7,40	(m, 2 H : 2 H10)
7,31	(m, 2 H : 2 H11)
7,24-7,18	(m, 1 H : H12)
5,46	(d, $J = 5$ Hz, 1 H : OH)
4,71	(t, $J = 5$ Hz, 1 H : H8)
4,19-4,12	(m, 1 H : H7)
1,11	(d, $J = 7$ Hz, 3 H : Me)

**SM (IC,  $m/z$ )** : 272-274 ( $\text{MH}^+ - \text{H}_2\text{O}$ ), 139-141 (3-chlorobenzoyl $^+$ )

**3-chlorobenzanilide (54)**. Selon la procédure générale, la réaction de 0,279 g (1,780 mmol) d'acide 3-chlorobenzoïque (**d**), en présence de 0,831 g (1,780 mmol) de PyBrOP et de 0,622 mL (3,560 mmol) de DIEA dans 3,80 mL de DMF, avec 0,70 g (0,590 mmol) de résine (**20**), conduit à l'ester activé (**27d**). Cet ester activé est mis en réaction avec 55 mg (0,595 mmol) d'aniline dans 5,95 mL de DMF. Le produit est récupéré et purifié par HPLC préparative en phase inverse, selon la procédure décrite pour le composé (**37**), conduisant à 0,109 g (79 %) d'amide pure (**54**).



MM = 231,5

Pf : 134-136 °C

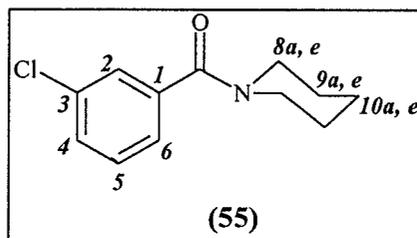
HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 28,6$  min

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :

10,36	(s, 1 H : NH)
8,02	(t, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
7,93	(dt, $J = 8 ; 1$ Hz, 1 H : H6)
7,80-7,76	(m, 2 H : 2 H8)
7,67	(ddd, $J = 8 ; 2 ; 1$ Hz, 1 H : H4)
7,58	(t, $J = 8$ Hz, 1 H : H5)
7,41-7,34	(m, 2 H : H9)
7,16-7,10	(m, 1 H : H10)

SM (IE,  $m/z$ ) : 231-233 ( $M^+$ ), 139-141 (3-chlorobenzoyl $^+$ ), 111-113 (3-chlorobenzényl $^+$ )

*N*-(3-chlorobenzoyl)pipéridine (55). Selon la procédure générale, la réaction de 0,376 g (2,400 mmol) d'acide 3-chlorobenzoïque (d), en présence de 1,118 g (2,400 mmol) de PyBrOP et de 0,837 mL (4,800 mmol) de DIEA dans 7,00 mL de DMF, avec 1,00 g (0,800 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27d). Cet ester activé est mis en réaction avec 79  $\mu\text{L}$  (0,800 mmol) de pipéridine dans 4,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , la phase organique est lavée 3 x  $\text{NaHCO}_3$  aqueux 0,10 M, 3 x  $\text{HCl}$  aqueux 0,37 M, elle est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 20,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 0,128 g (72 %) d'amide (55).



MM = 223,5

**Pf** : 44-48 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/200 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 27,1$  min

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CD<sub>3</sub>CN)** :

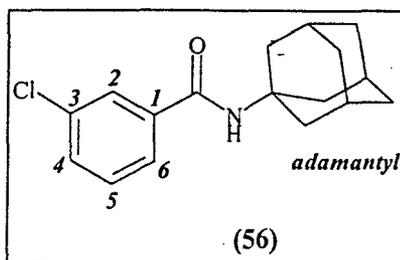
7,48-7,39	(m, 3 H : H2, H4, H6)
7,32-7,29	(m, 1 H : H5)
3,63	(m, 2 H : 2 H8e)
3,29	(m, 2 H : 2 H8a)
1,72-1,52	(m large, 6 H, 2 H9e, 2 H9a, H10e, H10a)

**SM (IC, m/z)** : 224-226 (MH<sup>+</sup>), 139-141 (3-chlorobenzoyl<sup>+</sup>)

**Microanalyse** : C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>NOCl

calculée	C : 64,42 ; H : 6,26 ; N : 6,26
trouvée	C : 64,38 ; H : 6,31 ; N : 6,18

*N*-(1-adamantyl)-3-chlorobenzamide (56). Selon la procédure générale, la réaction de 0,376 g (2,400 mmol) d'acide 3-chlorobenzoïque (d), en présence de 1,118 g (2,400 mmol) de PyBrOP et de 0,837 mL (4,800 mmol) de DIEA dans 7,00 mL de DMF, avec 1,00 g (0,800 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27d). Cet ester activé est mis en réaction avec 0,150 g (0,800 mmol) de chlorhydrate de 1-adamantylamine, en présence de 0,139 mL (0,800 mmol) de DIEA dans 4,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 30 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, la phase organique est lavée 3 x NaHCO<sub>3</sub> aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 20,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 0,161 g (70 %) d'amide (56).



MM = 289,5

**Pf** : 159-159 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/200 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 34,7$  min

**RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, DMSO-*d*6)** :

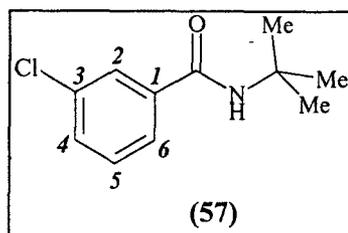
7,83	(t, $J = 1,75$ Hz, 1 H : H2)
7,76-7,74	(m, 2 H : NH, H6)
7,57-7,55	(m, 1 H : H4)
7,46	(t, $J = 8$ Hz, 1 H : H5)
2,07	(s, 9 H : 9 Hadamantyl équatoriaux)
1,66	(s, 6 H : 6 Hadamantyl axiaux)

**SM (IE, *m/z*)** : 232-234 ( $M^{+}$ ), 139-141 (3-chlorobenzoyl<sup>+</sup>), 111-113 (3-chlorobenzényl<sup>+</sup>)

**Microanalyse** : C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>NOCl

calculée	C : 70,47 ; H : 6,91 ; N : 4,83
trouvée	C : 70,27 ; H : 6,99 ; N : 4,63

*N-tert-butyl-3-chlorobenzamide* (57). Selon la procédure générale, la réaction de 0,376 g (2,400 mmol) d'acide 3-chlorobenzoïque (d), en présence de 1,118 g (2,400 mmol) de PyBrOP et de 0,837 mL (4,800 mmol) de DIEA dans 7,00 mL de DMF, avec 1,00 g (0,800 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27d). Cet ester activé est mis en réaction avec 84  $\mu$ L (0,800 mmol) de *tert*-butylamine dans 4,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 30 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, la phase organique est lavée 3 x NaHCO<sub>3</sub> aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 10,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 86 mg (51 %) d'amide (57).



MM = 211,5

**Pf** : 99-101 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/200 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 27,9$  min

**RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** :

7,90	(s, 1 H : NH)
7,85	(t, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
7,76	(dt, $J = 8 ; 1$ Hz, 1 H : H6)
7,57	(m, 1 H : H4)
7,47	(t, $J = 8$ Hz, 1 H : H5)
1,38	(s, 9 H : 3 Me)

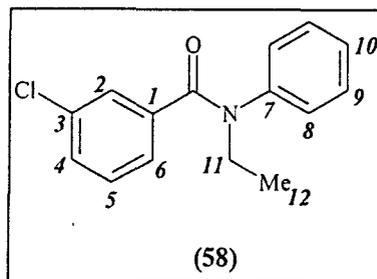
**SM (IE,  $m/z$ )** : 211-213 ( $M^+$ ), 196-199 ( $M - Me$ ), 139-141 (3-chlorobenzoyl<sup>+</sup>), 111-113 (3-chlorobenzényl<sup>+</sup>)

**Microanalyse** :  $C_{11}H_{14}NOCl$

calculée	C : 62,41 ; H : 6,62 ; N : 6,62
trouvée	C : 62,53 ; H : 6,64 ; N : 6,43

***N*-éthyl-*N*-phényl-3-chlorobenzamide (58)**. Selon la procédure générale, la réaction de 0,376 g (2,400 mmol) d'acide 3-chlorobenzoïque (**d**), en présence de 1,118 g (2,400 mmol) de PyBrOP et de 0,837 mL (4,800 mmol) de DIEA dans 7,00 mL de DMF, avec 1,00 g (0,800 mmol) de résine (**20**), conduit à l'ester activé (**27d**). Cet ester activé est mis en réaction avec 100  $\mu$ L (0,800 mmol) de *N*-éthylaniline dans 4,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 30 mL de  $CH_2Cl_2$ , la phase organique est lavée 3 x  $NaHCO_3$  aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur  $Na_2SO_4$  et le solvant est évaporé

sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 12,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 178 mg (86 %) d'amide (58).



MM = 139,5

### huile

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 29,9$  min

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :

7,33-7,16	(m, 9 H : H2, H4, H5, H6, 2 H8, 2 H9, H10)
3,86	(q, $J = 7,10$ Hz, 2 H : H11)
1,11	(t, $J = 7,10$ Hz, 3 H : Me12)

SM (IE,  $m/z$ ) : 259-261 ( $\text{M}^+$ ), 139-141 (3-chlorobenzoyl $^+$ ), 111-113 (3-chlorobenzényl $^+$ )

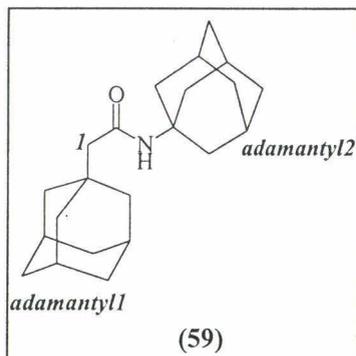
Microanalyse :  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{NOCl}$

calculée C : 69,36 ; H : 5,39 ; N : 5,39

trouvée C : 69,11 ; H : 5,67 ; N : 5,42

*N*-(1-adamantyl)-1-adamantanacétamide (59). Selon la procédure générale, la réaction de 0,466 g (2,400 mmol) d'acide 1-adamantylacétique (i), en présence de 1,118 g (2,400 mmol) de PyBrOP et de 0,837 mL (4,800 mmol) de DIEA dans 7,00 mL de DMF, avec 1,00 g (0,800 mmol) de résine (20), conduit à l'ester activé (27i). Cet ester activé est mis en réaction avec 0,150 g (0,800 mmol) de chlorhydrate de 1-adamantylamine, en présence de 0,139 mL (0,800 mmol) de DIEA, dans 4,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 50 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , la phase organique est lavée 3 x  $\text{NaHCO}_3$  aqueux 0,10 M, 3 x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et le solvant est évaporé sous pression

réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 25,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 170 mg (65 %) d'amide (**59**).



MM = 270

**Pf** : 254-260 °C

**HPLC (phase inverse C18, 215/200 nm, grad. 30 min)** :  $t_R = 39,1$  min

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )** :

7,14	(s, 1 H : NH)
2,05-1,97 ; 1,74-1,65	(m, 12 Hz ; m, 18 H : 15 <i>Hadamantyl1</i> , 15 <i>Hadamantyl2</i> )
1,86	(s, 2 H : HI)

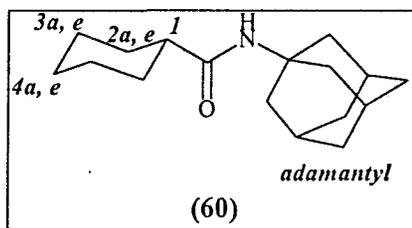
**SM (IE,  $m/z$ )** : 327 ( $M^+$ ), 135 (adamantyl $^+$ ), 111-113 (3-chlorobenzényl $^+$ )

**Microanalyse** :  $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}$

calculée	C : 80,73 ; H : 10,09 ; N : 4,28
trouvée	C : 80,53 ; H : 10,23 ; N : 4,19

*N*-(1-adamantyl)cyclohexanecarboxamide (**60**). Selon la procédure générale, la réaction de 0,307 g (2,400 mmol) d'acide cyclohexanecarboxylique (**j**), en présence de 1,118 g (2,400 mmol) de PyBrOP et de 0,837 mL (4,800 mmol) de DIEA dans 7,00 mL de DMF, avec 1,00 g (0,800 mmol) de résine (**20**), conduit à l'ester activé (**27j**). Cet ester activé est mis en réaction avec 0,150 g (0,800 mmol) de chlorhydrate de 1-adamantylamine, en présence de 0,139 mL (0,800 mmol) de DIEA, dans 4,00 mL de DMF. Le surnageant est ensuite séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x DMF, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu est dissout dans 50 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , la phase organique est lavée 3 x  $\text{NaHCO}_3$  aqueux 0,10 M, 3

x HCl aqueux 0,37 M, elle est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est dissout dans 25,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 136 mg (65 %) d'amide (60).



MM = 261

Pf : 189-192 °C

HPLC (phase inverse C18, 215/200 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 33,6$  min

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz, DMSO-*d*6) :

7,04 (s, 1 H : NH)  
2,05 (tt,  $J = 11,50 ; 3,40$  Hz, 1 H : H1)  
1,99 (s, large, 3 H) ; 1,90 (m, 6 H) ; 1,70-1,61 (m, 11 H), 1,31-1,13 (m, 5 H) :  
2 H2a, 2 H2e, 2 H3a, 2 H3e, H4a, H4e, 15 Hadamantyl

SM (IE,  $m/z$ ) : 261 ( $\text{M}^+$ ), 135 (adamantyl $^+$ )

Microanalyse :  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{NO}$

calculée C : 78,16 ; H : 10,34 ; N : 5,36

trouvée C : 77,82 ; H : 10,18 ; N : 5,20

## CHAPITRE 3

### E-3.III. MISE AU POINT DE LA SYNTHÈSE DE BENZIMIDAZOLES EN PHASE SOLIDE

Les synthèses en phase solide décrites dans ce paragraphe sont réalisées dans des réacteurs silanisés pour des quantités de résine de plus de 100 mg, et dans des tubes à essais silanisés pour des quantités de moins de 100 mg de résine.

L'analyse HPLC des produits en solution se fait toujours en phase inverse sur une colonne C18, avec détection à double longueur d'onde, à 215/254 nm.

L'analyse LC/MS des produits en solution se fait toujours en phase inverse sur une colonne C18, avec détection UV à l'aide d'une barrette de diodes, et une ionisation de type APCI<sup>+</sup>.

#### **Procédure générale de clivage et de récupération des produits synthétisés sur une résine de type Rink-amide (63)**

Les différentes résines fonctionnalisées obtenues à partir de la résine Rink-amide (63) sont clivées par une solution de TFA à 10 % dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> pendant 1 h à température ambiante. Les produits de clivage se trouvant en solution sont par la suite récupérés de la façon suivante : le surnageant est séparé du polymère par filtration, la résine est lavée 2 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant récupéré préalablement, et le solvant est évaporé à sec sous pression réduite.

### E-3.III.1. Ancrage du tenseur précurseur

#### E-3.III.1.1. Utilisation du tenseur précurseur chlorure de 4-chloro-3-nitro-benzènesulfonyl (18)

##### Synthèse du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74)

###### a/ Synthèse du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) en phase homogène

2,56 g (10,00 mmol) de chlorure de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonyl (18) sont solubilisés dans 2,50 mL de THF, et ils sont mis en réaction avec 5,00 mL d'une solution aqueuse à 28 % d'ammoniaque (80 mmol), pendant 2 h à température ambiante. 10,0 mL de THF sont ajoutés au milieu réactionnel en fin de réaction, la phase organique est séparée de la phase aqueuse et le solvant est évaporé à sec sous pression réduite. La poudre obtenue est mise en suspension dans 20,0 mL de solution aqueuse 0,025 M de NaHCO<sub>3</sub>, elle est passée aux ultrasons pendant 15 min, elle est filtrée et lavée à nouveau sur le filtre avec 10,0 mL de la solution aqueuse 0,025 M de NaHCO<sub>3</sub> et avec 50,0 mL d'eau, et ensuite elle est séchée sous vide, conduisant à 2,36 g (69 %) de sulfonamide (74).

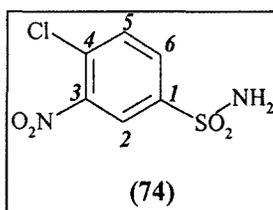
###### b/ Synthèse d'une résine 4-(2',4'-diméthoxyphényl-Fmoc-amino-méthyl)phénoxy (75)

10,0 g (3,0 mmol) de résine aminée TentaGel S NH<sub>2</sub> (Rapp Polymere) sont mis en réaction avec 1,78 g (3,30 mmol) d'acide *p*-[(*R,S*)- $\alpha$ -[1-(9H-fluoren-9-yl)méthoxyformamido]-2,4-diméthoxybenzyl]phénoxyacétique et 1,54 g (3,30 mmol) de PyBrOP, en présence de 1,15 mL (6,60 mmol) de DIEA dans 15,0 mL de DMF, pendant 6 h à température ambiante (71 % d'acylation, conformément au test Kaiser quantitatif effectué sur quelques milligrammes de résine). La résine est lavée 3 x DMF et un 2<sup>ème</sup> couplage est fait avec 0,97 g (1,80 mmol) d'acide et 0,84 g (1,80 mmol) de PyBrOP en présence de 0,67 mL (3,60 mmol) de DIEA dans 15,0 mL de DMF (93 % d'acylation). La résine est lavée 3 x DMF et un 3<sup>ème</sup> couplage est fait avec 0,45 g (0,48 mmol) d'acide et 0,39 g (0,48 mmol) de PyBrOP en présence de 0,29 mL (1,68 mmol) de DIEA dans 15,0 mL de DMF (98 % d'acylation). Après le 3<sup>ème</sup> couplage, la résine est lavée 3 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, elle est traitée avec une solution d'anhydride acétique à

10 % dans du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  pendant 1 h à température ambiante (99 % d'acylation après traitement à l'anhydride acétique), elle est ensuite lavée 5 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et elle est séchée à 50 °C, conduisant à 11,3 g (98 %) de résine fonctionnalisée (75).

c/ Synthèse du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) en phase solide

0,20 g (0,094 mmol) de résine 4-(2',4'-diméthoxyphényl-Fmoc-amino-méthyl)phénoxy (75) 200-400 mesh (NovaBiochem) est deprotégée 2 x 20 min avec 15,0 mL de pipéridine à 20 % dans du DMF, elle est lavée 3 x DMF, 2 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , et ensuite elle est traitée avec 72 mg (0,282 mmol) de sulfochlorure (18) en présence de 49  $\mu\text{L}$  (0,282 mmol) de DIEA dans 1,90 mL de DMF, pendant 1 h à température ambiante. Après réaction, la résine sulfonylée (72) est lavée 3 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , elle est clivée par le TFA et le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale, conduisant au sulfonamide (74).



MM = 236,5

CCM (AcOEt/pentane 3/1, v/v) :  $R_f = 0,83$

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 21,1$  min

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :

8,47	(d, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
8,12	(dd, $J = 2 ; 8$ Hz, 1 H : H6)
8,03	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H5)
7,75	(s large, 2 H : $\text{SO}_2\text{NH}_2$ )

SM (TOF,  $m/z$ ) : 237,3

E-3.III.1.2. Utilisation du tenseur précurseur acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65)

La résine (75) est traitée 2 x 20 min avec une solution de pipéridine à 20 % dans du DMF et ensuite elle est lavée 5 x DMF, conduisant à la résine deprotégée (63).

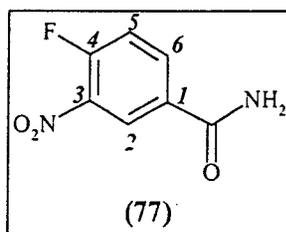
**Ancrage de l'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque sur la résine (63)****a/ Utilisation du PyBrOP comme agent activateur**

6,9 g (1,87 mmol) de résine (63) sont traités par 1,04 g (5,60 mmol) d'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65) et 2,61 g (5,60 mmol) de PyBrOP en présence de 1,95 mL (11,2 mmol) de DIEA dans 14,0 mL de DMF, pendant 3 h à température ambiante. Après couplage la résine est lavée 3 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et elle est séchée à 50 °C conduisant à 7,0 g (97 %) de résine acylée (76) ayant un taux de fonctionnalisation de 99 % (conformément au dosage des fonctions -NH<sub>2</sub> résiduelles après couplage).

**b/ Utilisation du DCC comme agent activateur**

0,58 g (2,83 mmol) de DCC dans 1,5 mL de DMF sont versés sur une solution contenant 1,05 g (5,67 mmol) d'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65) dans 13,0 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ce milieu réactionnel est agité pendant 30 min à température ambiante, le précipité formé est filtré et le filtrat est mis en réaction avec 4,0 g (0,94 mmol) de résine (63), préalablement gonflée dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Après 3 h d'agitation à température ambiante, la résine est lavée 5 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et elle est séchée à 50 °C conduisant à une résine acylée (76) ayant un taux de fonctionnalisation de 99 % (conformément au dosage des fonctions -NH<sub>2</sub> résiduelles après couplage).

257 mg (70,0 μmol) de résine (76) sont clivés par le TFA et le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale. Le résidu obtenu est dissout dans 10,0 mL de *t*BuOH et la solution est congelée et lyophilisée, conduisant à 7 mg (58 %) de carboxamide (77).



MM = 184

**CCM (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O/AcOH 9/1/0,1/0,05) : Rf = 0,50**

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min ; grad. 15 min ; grad. 5 min) :**  $t_R = 17,9$  min ;  $t_R = 11,5$  min ;  $t_R = 2,87$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min)/APCI<sup>+</sup>, m/z) :**  $t_R = 1,5$  min / 226 (MH<sup>+</sup> + acétonitrile)

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) :**

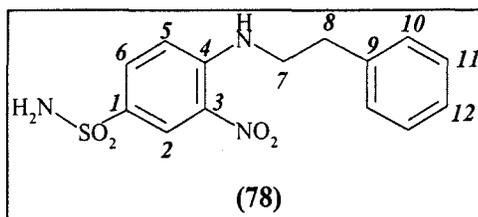
8,66-8,63	(dd, $J = 7 ; 2$ Hz, 1 H : H2)
8,33-8,28	(m, 2 H : H6, 1 H CONH <sub>2</sub> )
7,75-7,68	(m, 2 H : H5, 1 H CONH <sub>2</sub> )

### E-3.III.2. Substitution nucléophile aromatique

#### E-3.III.2.1. Optimisation de la S<sub>N</sub>Ar sur le dérivé sulfonamide chloronitré

##### a/ Synthèse du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78) en phase homogène

0,47 g (2,00 mmol) de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) sont mis en réaction avec 0,75 mL (6,00 mmol) de phénéthylamine en présence de 1,0 mL (6,00 mmol) de DIEA dans 8,0 mL de DMF, pendant 4 h à température ambiante, puis 1,5 h à 70 °C et 1 h à 100 °C. Le solvant est évaporé à sec et 50 mg de produit brut sont purifiés par chromatographie en couche épaisse (éluant : AcOEt/pentane 3/1 v/v), conduisant à 24 mg (48 %) de produit (78) pur (cristaux jaunes).



MM = 321

**Pf :** 136-138 °C

**CCM (AcOEt/pentane 3/1 ; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O/AcOH 9/1/0,1/0,05) :** R<sub>f</sub> = 0,81 ; 0,61

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :**  $t_R = 27,4$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min)/APCI<sup>+</sup>, m/z) :**  $t_R = 3,7$  min / 322 (MH<sup>+</sup>)

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) :**

8,51	(t, <i>J</i> = 6 Hz, 1 H : NH)
8,48	(d, <i>J</i> = 2 Hz, 1 H : H <sub>2</sub> )
7,87-7,84	(dd, <i>J</i> = 2 ; 9 Hz, 1 H : H <sub>6</sub> )
7,34-7,23	(m, 6 H : H <sub>5</sub> , 2 H <sub>10</sub> , 2 H <sub>11</sub> , H <sub>12</sub> )
3,73-3,66	(m, 2 H : 2 H <sub>7</sub> )
2,99-2,94	(t, <i>J</i> = 8 Hz, 2 H : 2 H <sub>8</sub> )

**b/ Procédure générale de détermination de l'avancement de la SNAr**

L'avancement des réactions lors des différentes études d'optimisation de la SNAr sur le dérivé sulfonamide chloronitré est déterminé par quantification du 4-chloro-3-nitrobenzène-sulfonamide (18) et du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78), utilisant des courbes d'étalonnage HPLC. Pour les réactions en phase solide la conversion est déterminée par quantification des produits en solution, après leur clivage du support de synthèse, selon la formule suivante :

$$\text{conversion (\%)} = \frac{\text{quantité de produit désiré } (\mu\text{mol})}{\text{quantité de produit désiré } (\mu\text{mol}) + \text{quantité de produit de départ } (\mu\text{mol})} \times 100$$

**c/ Cinétique de SNAr en phase homogène**

0,47 g (2,00 mmol) de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) sont mis en réaction avec 0,75 mL (6,00 mmol) de phénéthylamine en présence de 1,0 mL (6,00 mmol) de DIEA dans 8,0 mL de DMF, pendant 8 h à température ambiante. Des prises d'essais de 5,0  $\mu$ L sont prélevées du milieu réactionnel aux différents moments de la réaction, elles sont diluées avec 200,0  $\mu$ L de MeOH, et 20,0  $\mu$ L sont injectés en HPLC (grad. 30 min). L'avancement de la réaction est déterminé selon la procédure générale (94 % conversion après 8 h de réaction).

**d/ SNAr en phase homogène, avec chauffage aux micro-ondes**

Plusieurs échantillons de 23,6 mg (100,0  $\mu$ mol) de 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (74) sont mis en réaction avec 38,0  $\mu$ L (300,0  $\mu$ mol) de phénéthylamine en présence de 50,0  $\mu$ L (300,0  $\mu$ mol) de DIEA dans 3,00 mL de DMF aux micro-ondes, à différentes puissances. Des prises d'essais de 20,0  $\mu$ L sont prélevées des milieux réactionnels aux différents moments des

réactions, elles sont diluées avec 140,0  $\mu\text{L}$  de MeOH, 20,0  $\mu\text{L}$  sont injectés en HPLC (grad. 30 min) et l'avancement des réactions est déterminé selon la procédure générale.

Le chauffage aux micro-ondes est effectué de la manière suivante :

**Puissance 300 W** : 2 min de chauffage, 1 min d'arrêt, 2 min de chauffage, 1 min d'arrêt et ainsi de suite, jusqu'à un total de 20 min de chauffage, quand une prise d'essais est effectuée pour le contrôle par HPLC. Une 2<sup>ème</sup> étape de chauffage est par la suite effectuée de la même manière (87 % de produit désiré (78) après un total de 40 min de chauffage).

**Puissance 100 W et 200 W** : 2 min de chauffage, 1 min d'arrêt, 2 min de chauffage, 1 min d'arrêt et ainsi de suite, jusqu'à un total de 20 min de chauffage, quand une prise d'essais est effectuée pour le contrôle par HPLC. Une 2<sup>ème</sup> étape de chauffage est effectuée de la même manière que la première. Une 3<sup>ème</sup> étape de chauffage est effectuée de la même manière, mais à une puissance de 200 W. Des contrôles HPLC sont effectués après chaque étape (51 % de produit désiré (78) après un total de 40 min de chauffage à 100 W et 20 min de chauffage à 200 W).

#### e/ SNAr en phase solide

**Mise au point des conditions de SNAr en phase solide.** 0,50 g (0,125 mmol) de résine (72) sont mis en réaction avec 47  $\mu\text{L}$  (0,375 mmol) de phénéthylamine en présence de 22  $\mu\text{L}$  (0,125 mmol) de DIEA dans 3,75 mL de DMF, pendant 15 h à température ambiante. La résine est ensuite lavée 5 x DMF, 3 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , elle est séchée à 50 °C, et 120 mg (30,0  $\mu\text{mol}$ ) sont clivés par le TFA. Le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale, le résidu est dissout dans 4,00 mL de MeOH, 20,0  $\mu\text{L}$  sont injectés en HPLC (grad. 30 min) et l'avancement de la réaction est déterminé selon la procédure générale (31 % conversion).

83  $\mu\text{mol}$  de résine (79) issue de l'étape précédente de SNAr, ayant un taux de substitution de 31 %, sont mis en réaction avec 31  $\mu\text{L}$  (0,249 mmol) de phénéthylamine en présence de 15  $\mu\text{L}$  (83  $\mu\text{mol}$ ) de DIEA dans 2,50 mL de DMF, pendant 15 h à température ambiante. La résine est ensuite lavée 5 x DMF, 3 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 3 x acétonitrile, elle est séchée à 50 °C, et 26  $\mu\text{mol}$  sont clivés par le TFA. Le produit de clivage est récupéré et l'avancement de la réaction est déterminé selon la procédure générale (54 % conversion).

Dans 4 tubes à essais silanisés sont distribués 16  $\mu\text{mol}$  de résine (79) issue des deux étapes de SNAr précédentes, ayant un taux de fonctionnalisation de 54 %. Chaque résine est mise en réaction avec 23  $\mu\text{mol}$  de phénéthylamine dans 0,234 mL de DMF en présence de soit

4,0  $\mu\text{L}$  (23,4  $\mu\text{mol}$ ) de DIEA (dans 2 tubes), soit 3,5  $\mu\text{L}$  (23,4  $\mu\text{mol}$ ) de DBU (dans 2 autres tubes). Les milieux réactionnels sont mis en réaction pendant 15 h à température ambiante (une réaction en présence de DIEA et une autre en présence de DBU), ou à 50 °C (une réaction en présence de DIEA et une autre en présence de DBU). Les résines sont ensuite lavées 5 x DMF, 3 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , et elles sont clivées par le TFA. Les produits de clivage sont récupérés selon la procédure générale, et l'avancement des réactions est déterminé comme décrit auparavant (résultats indiqués dans le tableau 3.3 du chapitre 3).

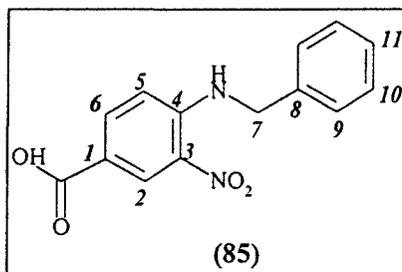
*Synthèse en phase solide du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78).*

0,60 g (0,150 mmol) de résine (72) sont mis en réaction avec 56  $\mu\text{L}$  (0,45 mmol) de phénéthylamine en présence de 78  $\mu\text{L}$  (0,45 mmol) de DIEA dans 4,5 mL de DMF, pendant 20 h à 50 °C. La résine est ensuite lavée 5 x DMF, 3 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , elle est séchée à 50 °C, et 45 mg (11  $\mu\text{mol}$ ) sont clivés par le TFA. Le produit est récupéré selon la procédure générale, et l'avancement de la réaction est déterminé comme décrit auparavant (100 % conversion).

E-3.III.2.2. SNAr sur le dérivé carboxamide fluoronitré (76)

a/ Synthèse en phase homogène du 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (81)

*acide 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxylique (85).* 0,55 g (3,00 mmol) d'acide 4-fluoro-3-nitrobenzoïque (65) sont mis en réaction avec 1,29 g (9,00 mmol) de chlorhydrate de benzylamine (a) en présence de 3,66 mL (21,00 mmol) de DIEA dans 90,0 mL de DMF pendant 4 h à 50 °C. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le produit est cristallisé dans 100 mL de mélange EtOH/MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  65/30/5 (v/v/v), conduisant à 0,65 g (80 %) d'acide 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxylique (85).



MM = 271

**Pf** : 210 °C

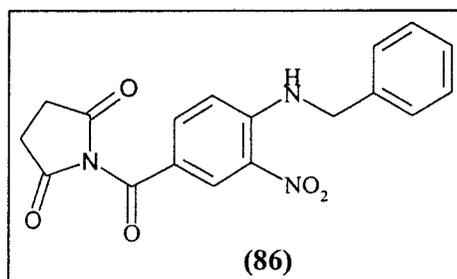
**CCM** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$  9/1/0,1) :  $R_f = 0,76$

**HPLC** (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 27,5$  min

**RMN  $^1\text{H}$**  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :

12,88	(s large, 1 H, $\text{CO}_2\text{H}$ )
9,03	(t, $J = 6$ Hz, 1 H : NH)
8,64	(d, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
7,91-7,87	(dd, $J = 2 ; 9$ Hz, 1 H : H6)
7,41-7,25	(m, 5 H : 2 H9, 2 H10, H11)
6,99	(d, $J = 9$ Hz, 1 H : H5)
4,70	(d, $J = 6$ Hz, 2 H : 2 H7)

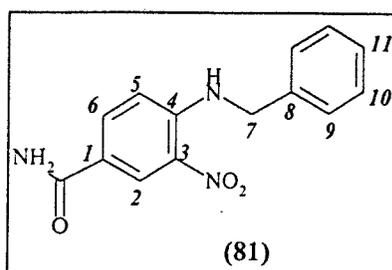
**4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (81)**. 0,44 g (1,64 mmol) d'acide 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxylique (**85**) sont mis en réaction avec 0,67 g (3,28 mmol) de DCC et 0,37 g (3,28 mmol) d'HOSu dans 8,2 mL de THF, pendant 2 h à température ambiante, conduisant à l'ester activé (**86**). Le précipité formé est filtré, et le filtrat est mis en réaction avec 3,0 mL (48 mmol) de solution aqueuse à 28 % d'ammoniaque, pendant 2 h à température ambiante. Le solvant est évaporé à sec, et le produit est purifié par chromatographie sur couche épaisse (éluant :  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  39/1 v/v), conduisant à 0,196 g (44 %) de 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (**81**) pur.



MM = 353

**CCM** ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  9/1) :  $R_f = 0,95$

**HPLC** (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 29,6$  min



MM = 271

CCM (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O/AcOH 9/1/0,1/0,05) : R<sub>f</sub> = 0,47

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min ; grad. 15 min ; grad. 5 min) : t<sub>R</sub> = 25,5 min ; t<sub>R</sub> = 14,9 min ; t<sub>R</sub> = 4,4 min

LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min./APCI<sup>+</sup>, m/z) : t<sub>R</sub> = 3,7 min/ 314 (MH<sup>+</sup> + acétonitrile); 272 (MH<sup>+</sup>)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) :

8,91	(t, J = 6 Hz, 1 H : NH)
8,67	(d, J = 2 Hz, 1 H : H2)
7,96	(s large, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,91	(dd, J = 2 ; 9 Hz, 1 H : H6)
7,41-7,25	(m, 6 H : 2 H9, 2 H10, 2 H11, 1 CONH <sub>2</sub> )
6,97	(d, J = 9 Hz, 1 H : H5)
4,69	(d, J = 6 Hz, 2 H : 2 H7)

b/ SNAr en phase solide, à 50 °C

0,75 g (0,188 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 80 mg (0,563 mmol) de chlorhydrate de benzylamine (a) en présence de 0,196 mL (1,125 mmol) de DIEA dans 5,63 mL de DMF, pendant 6 h à 50 °C. La résine est ensuite lavée 3 x DMF, 3 x *N*-méthylpyrrolidin-2-one, 2 x H<sub>2</sub>O, 2 x EtOH, 2 x acétonitrile, elle est séchée à 50 °C, 123 mg (31,0 μmol) sont clivés par le TFA et le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale. Le résidu est dissout dans 8,0 mL MeOH, 20,0 μL sont injectés en HPLC (grad. 30 min) et l'avancement de la réaction est évalué selon la disparition du 4-amino-3-

nitrobenzèncarboxamide (**77**),  $t_R = 17,9$  min, et la formation du 4-(*N*-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (**81**),  $t_R = 25,5$  min (100 % conversion).

c/ SNAr en phase solide, à température ambiante

2,00 g (0,488 mmol) de résine (**76**) sont mis en réaction avec 0,21 g (1,464 mmol) de chlorhydrate de benzylamine (**a**) en présence de 0,51 mL (2,928 mmol) de DIEA dans 14,6 mL de DMF, pendant 3 h à température ambiante. La résine est ensuite lavée 5 x DMF, 2 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, elle est séchée à 50 °C, et 50 mg (12 μmol) sont clivés par le TFA. Le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale, et l'avancement de la réaction est évalué comme décrit au point b/ de ce paragraphe (100 %).

### E-3.III.3. Réduction du groupement nitro aromatique

E-3.III.3.3. Optimisation de la réduction des dérivés nitrés sulfonamide et carboxamide en phase homogène et en phase solide

a/ Etude de stabilité du bras de fonctionnalisation Rink dans les conditions de réduction

**Synthèse de la résine Fmoc-Gly-résine (82).** 0,38 g (0,096 mmol) de résine TentaGel S RAM Fmoc (**75**) (Rapp Polymere) sont deprotégés 2 x 20 min avec une solution de pipéridine à 20 % dans le DMF, lavés 5 x DMF et ensuite traités avec 86 mg (0,288 mmol) de Fmoc-Gly-OH et 0,134 g (0,288 mmol) de PyBrOP en présence de 0,10 mL (0,576 mmol) de DIEA dans 1,0 mL de DMF, pendant 1 h à température ambiante. La résine est lavée 3 x DMF, et un second couplage est réalisé dans les mêmes conditions que le premier (100 % couplage, conformément au dosage des fonctions -NH<sub>2</sub> résiduelles). En fin de réaction, la résine est lavée 3 x DMF, 2 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 2 x acétonitrile, et elle est séchée sous vide et à 50 °C.

128 mg (32,0 μmol) de résine (**82**) sont clivés par le TFA, la Fmoc-Gly-NH<sub>2</sub> (**83**) ainsi obtenue est récupérée selon la procédure générale, et elle est analysé par CCM (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O/AcOH 9/1/0,1/0,05 : R<sub>f</sub> = 0,43) et par HPLC (grad. 30 min,  $t_R = 25,8$  min).

**Traitement de la Fmoc-Gly-résine (82) avec  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .**

a/ 128 mg (32,0  $\mu\text{mol}$ ) de résine (82) sont traités avec 36 mg (0,160 mmol) de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans 1,8 mL d'EtOH absolu, pendant 14 h à 70 °C. Le surnageant est séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x EtOH absolu, 3 x DMF, 3 x  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , les solutions de lavage sont réunies avec le surnageant préalablement récupéré, et le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu ainsi obtenu est dissout dans 4,00 mL de MeOH, et 40,0  $\mu\text{L}$  de cette solution sont injectés en HPLC (grad. 30 min) : Fmoc-Gly-NH<sub>2</sub> (83) détectée,  $t_R = 25,5$  min. La résine est ensuite clivée par le TFA, le produit est récupéré selon la procédure générale, il est solubilisé dans 2,00 mL de MeOH et 20,0  $\mu\text{L}$  de cette solution sont injectés en HPLC (grad. 30 min) : Fmoc-Gly-NH<sub>2</sub> (83) détectée,  $t_R = 25,7$  min. Le taux de clivage de la résine (82) par le  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans l'EtOH, évalué par HPLC, est de 8,4 %. La formule suivante est utilisée pour déterminer ce taux de clivage:

$$\text{taux de clivage (\%)} = \frac{\text{quantité de produit dans le surnageant}}{\text{quantité de produit dans le surnageant} + \text{quantité de produit clivée au TFA}}$$

b/ 128 mg (32,0  $\mu\text{mol}$ ) de résine (82) sont traités avec 36 mg (0,160 mmol) de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en présence de 28  $\mu\text{L}$  (0,160 mmol) de DIEA dans 2,8 mL d'EtOH absolu, pendant 5 h à 70 °C. Le surnageant est séparé de la résine par filtration, la résine est lavée 3 x EtOH absolu, le surnageant et les solutions de lavage sont réunis, et 20,0  $\mu\text{L}$  de cette solution sont injectés en HPLC (grad. 30 min) : pas de Fmoc-Gly-NH<sub>2</sub> (83) détectée. Cette même résine est ensuite de nouveau traitée par le  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans 2,8 mL d'EtOH absolu, pendant 5 h à 70 °C, mais en absence de DIEA. Le surnageant est récupéré et analysé par HPLC (grad. 30 min) : Fmoc-Gly-NH<sub>2</sub> (83) détectée,  $t_R = 25,3$  min.

**b/ Etudes de réduction du dérivé nitré sulfonamide**

**Synthèse en phase homogène du 3,4-(2-phénéthyl)diaminobenzènesulfonamide (84).** 16 mg (50  $\mu\text{mol}$ ) de dérivé nitré (78) sont mis en réaction avec 56 mg (0,250 mmol) de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans 1,5 mL d'EtOH absolu, pendant 5,5 h à 70 °C. Des prélèvements de 20,0  $\mu\text{L}$  de milieu réactionnel sont faits aux différents moments de la réduction, ils sont dilués dans 180  $\mu\text{L}$  de MeOH, 20,0  $\mu\text{L}$  de ces solutions sont injectés en HPLC, et la conversion est déterminée selon la courbe d'étalonnage HPLC établie pour le dérivé nitré (78) (99 % conversion après 5,5 h).

**Etudes comparées de réduction en phase homogène du dérivé nitré (78) : choix des meilleures conditions de réduction.** 16 mg (50  $\mu\text{mol}$ ) de dérivé nitré (78) sont introduits dans

5 tubes à essais. La réduction est effectuée à 70 °C pendant 6 h (7 h pour le tube 5), et des prises d'essais de 50  $\mu\text{L}$  (10,0  $\mu\text{L}$  pour le tube 5) sont prélevées aux différents moments de la réaction. Ces prises d'essais sont diluées avec 450  $\mu\text{L}$  de MeOH (190  $\mu\text{L}$  de MeOH pour le tube 5), 20,0  $\mu\text{L}$  sont injectés en HPLC (grad. 30 min), et la conversion est déterminée selon la courbe d'étalonnage HPLC établie pour le dérivé nitré (**78**). Les agents réducteurs et les solvants utilisés sont les suivants :

tube 1/ 56 mg (0,250 mmol) de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans 1,5 mL d'EtOH absolu

tube 2/ 56 mg (0,250 mmol) de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  en présence de 44  $\mu\text{L}$  (0,250 mmol) de DIEA dans 1,5 mL d'EtOH absolu

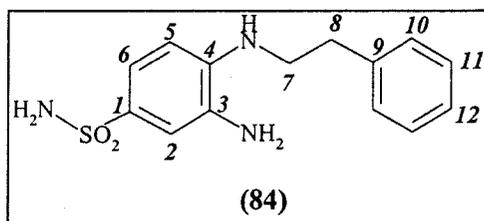
tube 3/ 47 mg (0,250 mmol) de  $\text{SnCl}_2$  anhydre dans 1,5 mL d'EtOH absolu

tube 4/ 94 mg (0,500 mmol) de  $\text{SnCl}_2$  anhydre dans 1,5 mL d'EtOH absolu

tube 5/ 94 mg (0,500 mmol) de  $\text{SnCl}_2$  anhydre dans 0,25 mL de DMF

Les conversions obtenues pour les différentes conditions de réduction sont indiquées dans le tableau 3.5 du chapitre 3.

Le 3,4-(2-phényléthyl)diaminobenzènesulfonamide (**84**) brut obtenu dans le tube 3 est purifié par HPLC préparative en phase inverse (colonne Vydac C18, 5  $\mu\text{m}$ , 500 x 20  $\text{mm}^2$ ), en utilisant comme éluants les mélanges  $\text{H}_2\text{O}/0,050\%$  TFA et acétonitrile aqueux (80 %)/0,045 % TFA (gradient) à un débit de 4 mL/min, et avec une détection à 254/280 nm. Les fractions pures sont réunies et le solvant est évaporé sous pression réduite, conduisant à 13 mg (89 %) de *o*-phénylenediamine (**84**) pure.



MM = 291

**CCM ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}/\text{AcOH}$  9/1/0,1/0,05) :**  $R_f = 0,48$

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min ; grad. 5 min) :**  $t_R = 22,4$  min ;  $t_R = 3,3$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :**  $t_R = 2,9$  min/  
292 ( $\text{MH}^+$ )

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>/D<sub>2</sub>O) :**

7,35-7,23	(m, 7 H : H2, H6, 2 H10, 2 H11, H12)
6,76	(d, <i>J</i> = 9 Hz, 1 H : H5)
3,39	(t, <i>J</i> = 8 Hz, 2 H : 2 H7)
2,90	(t, <i>J</i> = 8 Hz, 2 H : 2 H8)

**RMN <sup>13</sup>C (75,4 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>/D<sub>2</sub>O) :**

141,9 ; 140,2 ; 131,9 ; 129,6 et 129,3 (C10 et C11) ; 127,1 (C12) ; 126,4 ; 122,5 ; 117,0 ; 110,5 (C5) ; 45,5 (C7) ; 35,4 (C8)

**Réduction en phase solide du dérivé nitré sulfonamide (79).**

*a/* 0,250 g (50 μmol) de résine (79) préalablement gonflée dans le DMF sont mis en réaction avec 94 mg (0,500 mmol) de SnCl<sub>2</sub> anhydre dans 0,50 mL de DMF, pendant 10 h à température ambiante. La résine est ensuite lavée 3 x DMF, 2 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, elle est clivée avec une solution de TFA à 90 % dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale et il est contrôlé par HPLC (grad. 30 min) : *o*-phénylenediamine (84) sous forme de traces, *t*<sub>R</sub> = 22,3 min ; dérivé nitré (78) majoritaire, *t*<sub>R</sub> = 27,8 min ; sous-produits non identifiés.

*b/* 0,250 g (50 μmol) de résine (79) préalablement gonflée dans le DMF sont mis en réaction avec 94 mg (0,500 mmol) de SnCl<sub>2</sub> anhydre dans 0,70 mL de DMF, pendant 72 h à température ambiante. Le surnageant de réduction est dilué à moitié avec du MeOH et cette solution est contrôlée par HPLC (grad. 30 min) : aucun produit détecté. La résine est ensuite lavée 3 x DMF, 2 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, elle est clivée avec une solution de TFA à 95 % dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale et il est contrôlé par HPLC (grad. 30 min) : *o*-phénylenediamine (84), *t*<sub>R</sub> = 22,3 min ; dérivé nitré (78) majoritaire, *t*<sub>R</sub> = 27,8 min ; sous-produits non identifiés.

*c/* 0,100 g (25 μmol) de résine (79) préalablement gonflée dans le DMF sont mis en réaction avec 0,56 g (2,50 mmol) de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O en présence de 100 μL (1,250 mmol) de pyridine dans 1,25 mL de DMF, pendant 23 h à température ambiante. La résine est ensuite lavée 5 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et elle est séchée à 50 °C. 20 mg de résine *o*-phénylenediamine (88) ainsi obtenue sont clivés par le TFA, le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale et il est contrôlé par HPLC (grad. 5 min) : *o*-phénylenediamine (84), *t*<sub>R</sub> = 3,3 min, et LC/MS (grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, *m/z*) : *t*<sub>R</sub> = 2,9 min/292 (MH<sup>+</sup>).

Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.6 du chapitre 3.

c/ Réduction en phase solide du dérivé nitré carboxamide (80)

20 mg (4,8  $\mu\text{mol}$ ) de résine nitrée carboxamide (80) sont introduits dans 5 tubes à essais silanisés. 2,25 g (10,00 mmol) de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  sont mis en solution dans le DMF, à un concentration de 2,0 M. Les résines sont mises en réaction avec 250  $\mu\text{L}$  de cette solution (0,500 mmol de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), en présence ou en absence de pyridine, pendant 12 h ou 24 h à température ambiante, ensuite elles sont clivées par le TFA, les produits de clivage sont récupérés selon la procédure générale et ils sont contrôlés par HPLC (grad. 5 min) : 3,4-(*N*-benzyl)diaminobenzèncarboxamide (87),  $t_R = 3,4$  min ; 4-(*N*-benzyl)amino-3-nitrobenzène-carboxamide (81),  $t_R = 4,45$  min sous forme de traces. Les quantités de pyridine et les durées de réaction sont les suivantes :

tube 1 : sans pyridine, 12 h de réduction

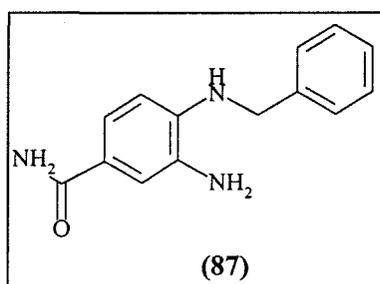
tube 2 : 40  $\mu\text{L}$  (0,500 mmol) de pyridine, 12 h de réduction

tube 3 : sans pyridine, 24 h de réduction

tube 4 : 40  $\mu\text{L}$  (0,500 mmol) de pyridine, 24 h de réduction

tube 5 : 20  $\mu\text{L}$  (0,250 mmol) de pyridine, 24 h de réduction

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 3.7 du chapitre 3.



MM = 241

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :  $t_R = 3,4$  min

LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :  $t_R = 2,3$  min/  
242 ( $\text{MH}^+$ )

### E-3.III.4. Acylation de la fonction aniline primaire des *o*-phénylenediamines

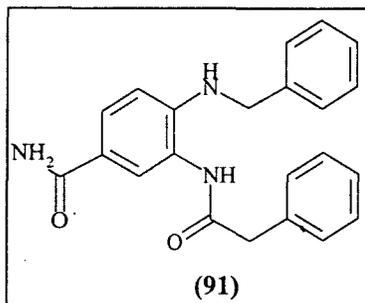
#### E-3.III.4.1. Acylation du dérivé *o*-phénylenediamine sulfonamide (88)

20 mg (5,0  $\mu$ mol) de résine (88) sont distribués dans 2 tubes à essais silanisés. Les résines sont mises en réaction avec 20 mg (0,150 mmol) d'acide phénylacétique (i) et 70 mg (0,150 mmol) de PyBrOP en présence de 52  $\mu$ L (0,30 mmol) de DIEA dans 278  $\mu$ L de DMF, pendant 3 h à température ambiante. Les résines sont ensuite lavées 3 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et une des résines est clivée par le TFA. Sur la seconde résine, un deuxième couplage est effectué dans les mêmes conditions que le premier, pendant 17 h, la résine est ensuite lavée 3 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et elle est clivée par le TFA. Les produits issus des clivages des deux résines sont récupérés selon la procédure générale et contrôlés par LC/MS (grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) : 3,4-(2-phénéthyl)-diaminobenzènesulfonamide (84),  $t_R = 2,5$  min/292 (MH<sup>+</sup>) ; 4-(2-phénéthyl)amino-3-phényl-acétamidobenzènesulfonamide (89),  $t_R = 3,8$  min/410 (MH<sup>+</sup>) minoritaire, autres produits non identifiés. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 3.8 du chapitre 3.

#### E-3.III.4.2. Acylation du dérivé aminé carboxamide (90)

*résine 4-(N-benzyl)amino-3-phénylacétamidobenzèncarboxamide (97ai)*. 0,300 g (71  $\mu$ mol) de résine (90) sont mis en réaction avec 29 mg (0,210 mmol) d'acide phénylacétique (i) et 99 mg (0,210 mmol) de PyBrOP en présence de 75  $\mu$ L (0,42 mmol) de DIEA dans 397  $\mu$ L de DMF, pendant 18 h à température ambiante. La résine est ensuite lavée 5 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et un second couplage est réalisé, dans les mêmes conditions que le premier. Les résines obtenues après couplages sont séchées à 50 °C, 20 mg de chaque résine sont clivés par le TFA, les produits de clivage sont récupérés selon la procédure générale et ils sont contrôlés par HPLC (grad. 5 min) : 4-(N-benzyl)amino-3-phénylacétamidobenzèncarboxamide (91),  $t_R = 4,2$  min ; 1,2-dibenzylbenzimidazole-5-carboxamide (92),  $t_R = 3,9$  min, et par LC/MS (grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) : 3,4-(N-benzyl)diaminobenzèncarboxamide (87),  $t_R = 2,3$  min/242 (MH<sup>+</sup>), sous forme de traces après le premier couplage; 4-(N-benzyl)amino-3-

phénylacétamidobenzèncarboxamide (**91**),  $t_R = 3,4$  min/360 ( $MH^+$ ), majoritaire; 1,2-dibenzylbenzimidazole-5-carboxamide (**92**),  $t_R = 3,9$  min/342 ( $MH^+$ ), minoritaire.



MM = 359

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min.)** :  $t_R = 4,2$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min./APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ )** :  $t_R = 3,4$  min/360 ( $MH^+$ )

### E-3.III.5. Cyclisation en benzimidazole

**1,2-dibenzylbenzimidazole-5-carboxamide (92)**. 50 mg (11,0  $\mu$ mol) de résine (**93**) sont distribués dans 4 tubes à essais silanisés. Les résines sont traitées en milieu acide, pendant 15 h, de la façon suivante :

tube 1 : 1,0 mL d'HCl 1,0 M dans le mélange éther éthylique/EtOH absolu 1/1 (v/v), à température ambiante

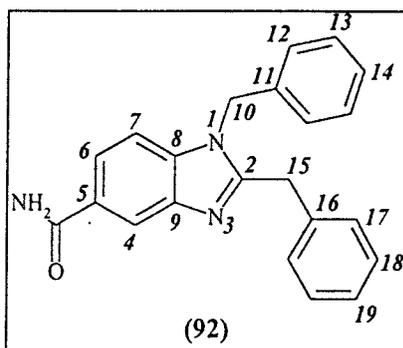
tube 2 : 1,0 d'AcOH glacial, à 70 °C

tube 3 : 1,0 mL d'HCl à 37 % en solution aqueuse/AcOH glacial 1/1 (v/v), à 70 °C

tube 4 : 1,0 mL de solution à 1 % d'acide méthanesulfonique dans du toluène, à température ambiante

Les surnageants sont ensuite dilués à 1/3 et ils sont contrôlés par HPLC (grad. 15 min) : 1,2-dibenzylbenzimidazole-5-carboxamide (**92**),  $t_R = 13,5$  min, détecté pour les résines 1 et 2 ; produit non identifié,  $t_R = 14,3$  min, pour la résine 3. Sans séparation du surnageant, les résines sont clivées par le TFA, les produits de clivage sont récupérés selon la procédure générale et ils sont contrôlés par HPLC (grad. 15 min) : 1,2-dibenzylbenzimidazole-5-carboxamide (**92**) ( $t_R = 13,5$  min) détecté pour les résines 1, 2 et 4 ; produit non identifié ( $t_R =$

14,3 min) pour la résine 3. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 3.10 du chapitre 3.



MM = 341

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :  $t_R = 13,5$  min**

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**

8,25	(d, $J = 1$ Hz, 1 H : H4)
8,10	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,90	(dd, $J = 1 ; 8$ Hz, 1 H : H6)
7,64	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H7)
7,46	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,36-7,27 ; 7,10	(2 M, 8 H et 2 H : 2 H12, 2 H13, H14, 2 H17, 2 H18, H19)
5,71	(s, 2 H : H10)
4,57	(s, 2 H : H15)

**SM (IC, m/z) : 342 (MH<sup>+</sup>)**

### E-3.III.6. Criblage chimique des monomères

#### E-3.III.6.1. Criblage chimique des *N*-nucléophiles

##### a/ Généralités

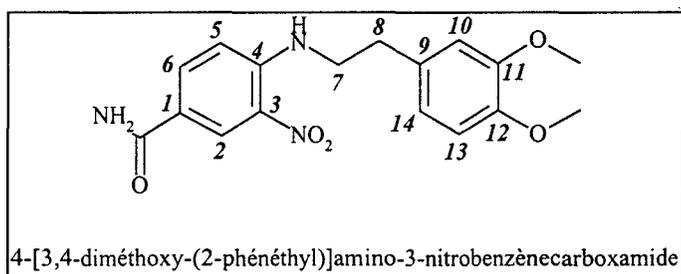
Après chaque étape de synthèse les résines sont lavées 5 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et le déroulement des réactions est contrôlé avant passage à l'étape synthétique suivante par clivage

par le TFA d'aliquotes de résine d'environ 20 mg, et contrôle des produits en solution par HPLC et/ou LC/MS ; les étapes synthétiques suivantes ne sont réalisées que sur les résines pour lesquelles les analyses indiquent que la réaction a eu lieu (apparition d'un pic correspondant au produit attendu et disparition du pic correspondant au produit de départ). Les résultats obtenus lors de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.11 du chapitre 3.

#### b/ Substitution nucléophile aromatique

**résine 4-(N-benzyl)amino-3-nitrobenzèncarboxamide (95a).** 2,00 g (0,480 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 0,21 g (1,460 mmol) de chlorhydrate de benzylamine (**a**) en présence de 0,51 (2,930 mmol) de DIEA dans 15 mL de DMF, pendant 3 h à température ambiante. Une seconde SNAr est réalisée, dans les mêmes conditions que la première. Contrôle du produit après clivage : HPLC (grad. 15 min): 4-benzylamino-3-nitrobenzèncarboxamide (**81**),  $t_R = 14,8$  min (100 % conversion) ; SM (IC), 272 (MH<sup>+</sup>).

**résine 4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]amino-3-nitrobenzèncarboxamide (95b).** 0,90 g (0,220 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 0,12 g (0,660 mmol) de 3,4-diméthoxyphénéthylamine (**b**) en présence de 115  $\mu$ L (0,660 mmol) de DIEA dans 6,59 mL de DMF, pendant 4,5 h à température ambiante. Contrôle du produit après clivage : HPLC (grad. 5 min): 4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]amino-3-nitrobenzèncarboxamide,  $t_R = 4,2$  min (100 % conversion).



MM = 345

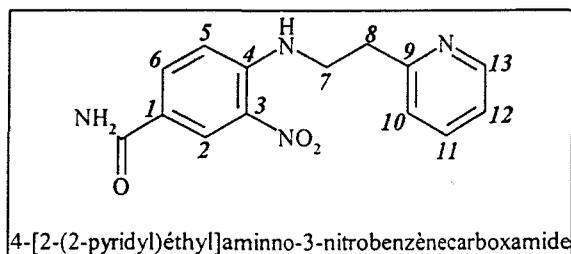
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :**  $t_R = 4,2$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :**  $t_R = 2,1$  min/  
346 (MH<sup>+</sup>)

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) :**

8,75	(d, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
8,29	(t, $J = 5$ Hz, 1 H : NH)
7,96	(dd, $J = 2 ; 9$ Hz, 1 H : H6)
7,94	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,24	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,10	(d, $J = 9$ Hz, 1 H : H5)
6,88	(d, $J = 2$ Hz, 1 H : H10)
6,82	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H13)
6,76	(dd, $J = 2 ; 8$ Hz, 1 H : H14)
3,70 ; 3,67	(2 s, 6 H : 2 CH <sub>3</sub> )
3,58	(m, 2 H : H7)
2,84	(t, $J = 7$ Hz, 2 H : H8)

*résine 4-[2-(2-pyridyl)éthyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide (95c)*. 0,10 g (0,240 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 8,9 mg (73,0  $\mu$ mol) de 2-(2-aminoéthyl)pyridine (c) en présence de 12,8  $\mu$ L (73,0  $\mu$ mol) de DIEA dans 0,24 mL de DMF, pendant 5,5 h à température ambiante. La résine est clivée par le TFA, le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale, il est contrôlé par HPLC (grad. 5 min) : 4-[2-(2-pyridyl)éthyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide,  $t_R = 1,5$  min (100 % conversion), et purifié par HPLC préparative (colonne Vydac C18, 5  $\mu$ m, 100 x 20 mm<sup>2</sup>), en utilisant comme éluants les mélanges H<sub>2</sub>O/0,050 % TFA et acétonitrile aqueux (80 %)/0,045 % TFA (gradient) à un débit de 7 mL/min, et avec une détection à 215/254 nm.



MM = 286

CCM (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH/H<sub>2</sub>O 9/1/0,1/0,05) : R<sub>f</sub> = 0,4

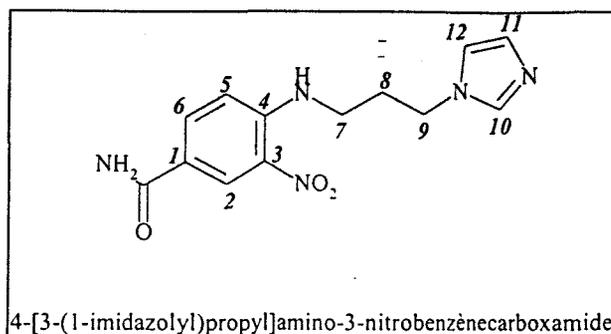
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :  $t_R = 1,5$  min**

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**

8,74	(d, $J = 5$ Hz, 1 H : H13)
8,67	(d, $J = 2$ Hz, 1 H : H2)
8,54	(m, 1 H : NH)
8,21	(m, 1 H : H11)
8,04	(s, 1 H : 1 H CONH <sub>2</sub> )
8,02	(dd, $J = 2 ; 9$ Hz, 1 H : H6)
7,74	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H10)
7,67	(m, 1 H : H12)
7,32	(s, 1 H : 1 H CONH <sub>2</sub> )
7,19	(d, $J = 9$ Hz, 1 H : H5)
3,85	(m, 2 H : H7)
3,25	(t, $J = 7$ Hz, 1 H : H8)

**SM (IC,  $m/z$ ) : 287 (MH<sup>+</sup>)**

**résine 4-[3-(1-imidazolyl)propyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide (95d).** 0,10 g (0,240 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 9,2 mg (73,0  $\mu\text{mol}$ ) de 1-(3-aminopropyl)imidazole (d) en présence de 12,8  $\mu\text{L}$  (73,0  $\mu\text{mol}$ ) de DIEA dans 0,24 mL de DMF, pendant 5,5 h à température ambiante. La résine est clivée par le TFA, le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale, il est contrôlé par HPLC (grad. 5 min) : 4-[3-(1-imidazolyl)propyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide,  $t_R = 1,4$  min (100 % conversion), et purifié par HPLC préparative (colonne Vydac C18, 5  $\mu\text{m}$ , 100 x 20 mm<sup>2</sup>), en utilisant comme éluants les mélanges H<sub>2</sub>O/0,050 % TFA et acétonitrile aqueux (80 %)/0,045 % TFA (gradient) à un débit de 7 mL/min, et avec une détection à 215/254 nm.



MM = 289

CCM (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH/H<sub>2</sub>O 9/1/0;1/0,05) : R<sub>f</sub> = 0,1

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) : t<sub>R</sub> = 1,4 min

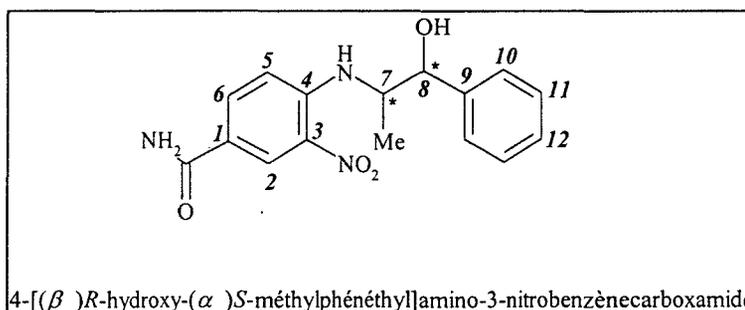
RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) :

9,10	(s, 1 H : H10)
8,67	(d, J = 2 Hz, 1 H : H2)
8,40	(t, J = 6 Hz, 1 H : NH)
8,03	(s, 1 H : 1 H CONH <sub>2</sub> )
8,02	(dd, J = 2 ; 9 Hz, 1 H : H6)
7,80	(t, J = 1,5 Hz, 1 H : H12)
7,67	(t, J = 1,5 Hz, 1 H : H11)
7,32	(s, 1 H : 1 H CONH <sub>2</sub> )
7,11	(d, J = 9 Hz, 1 H : H5)
4,30	(t, J = 7 Hz, 1 H : H9)
3,49	(m, 2 H : H7)
2,19	(m, 2 H : H8)

SM (IC, m/z) : 290 (MH<sup>+</sup>)

*résine 4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide (95e).*  
 2,00 g (0,480 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 0,22 g (1,460 mmol) de (1R,2S)-noréphédrine (e) en présence de 0,25 (1,460 mmol) de DIEA dans 15 mL de DMF, pendant 3 h à température ambiante. Une seconde SNAr est réalisée, dans les mêmes conditions que la

première. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 4-[( $\beta$ )*R*-hydroxy-( $\alpha$ )*S*-méthylphénéthyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide,  $t_R = 14,3$  min (100 % conversion).



MM = 315

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :**  $t_R = 14,3$  min

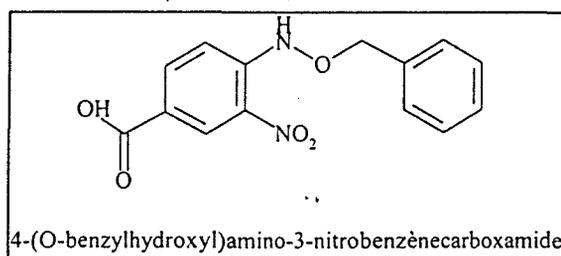
**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**

8,7	(s, 1 H, H2)
8,61	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H6)
8,01	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,99	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H5)
7,50-7,23	(m, 7 H : 1 H CONH <sub>2</sub> , NH, 2 H10, 2 H11, H12)
5,99	(m, 1 H : OH)
4,89	(m, 1 H : H8)
4,18	(m, 1 H : H7)
1,00	(d, $J = 6$ Hz, 3 H : Me)

**SM (IC,  $m/z$ ) :** 316 (MH<sup>+</sup>)

*essai de synthèse d'une résine 4-phénylhydrazino-3-nitrobenzèncarboxamide (95f).* 0,50 g (0,120 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 53 mg (0,360 mmol) de chlorhydrate de phénylhydrazine (f) en présence de 128  $\mu\text{L}$  (0,720 mmol) de DIEA dans 3,6 mL de DMF, pendant 6 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : produit non identifié,  $t_R = 12,1$  min; 4-fluoro-3-nitrobenzèncarboxamide (77),  $t_R = 11,5$  min (réaction incomplète) ; contrôle LC/MS (grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) : produit non identifié,  $t_R = 1,6$  min/210 (MH<sup>+</sup>) et 251 (MH<sup>+</sup> + acétonitrile).

*résine 4-(O-benzylhydroxyl)amino-3-nitrobenzène-carboxamide (95g)*. 0,50 g (0,120 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 58 mg (0,360 mmol) de chlorhydrate de *O*-benzylhydroxylamine (g) en présence de 128  $\mu$ L (0,720 mmol) de DIEA dans 3,6 mL de DMF, pendant 6 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 4-(*O*-benzylhydroxyl)-amino-3-nitrobenzène-carboxamide,  $t_R = 15,1$  min, en faible quantité; 4-fluoro-3-nitrobenzène-carboxamide (77),  $t_R = 11,5$  min (conversion faible).



MM = 287

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :**  $t_R = 15,1$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :**  $t_R = 2,2$  min/  
329 (MH<sup>+</sup> + acétonitrile), 288 (MH<sup>+</sup>)

*essai de synthèse d'une résine 4-phénylamino-3-nitrobenzène-carboxamide (95h)*. 2,00 g (0,48 mmol) de résine (76) sont mis en réaction avec 0,136 mL (1,46 mmol) d'aniline en présence de 0,25 (1,46 mmol) de DIEA dans 14,64 mL de DMF pendant 3 h à température ambiante. Une seconde SNAr est réalisée, dans les mêmes conditions que la première. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 4-fluoro-3-nitrobenzène-carboxamide (77),  $t_R = 11,5$  min (0 % conversion).

### c/ Réduction

*résine 3,4-benzyl-diaminobenzène-carboxamide (96a)*.

a/ 7,65 g (34,00 mmol) de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O sont solubilisés dans le DMF à une concentration de 1,0 M (34,0 mL de solution). 2,00 g (0,480 mmol) de résine (95a) sont d'abord mis à gonfler pendant 2 x 10 min avec, à chaque fois, 5,70 mL de la solution de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, l'excès de solution de gonflement est ensuite filtré et la résine est mise en

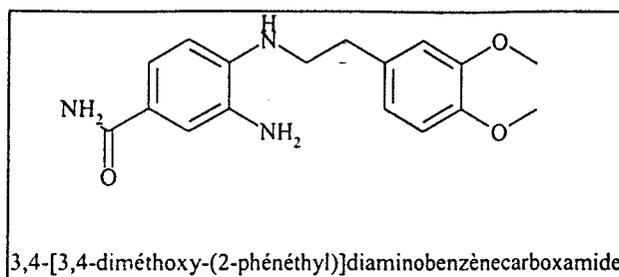
réaction avec 4,88 mL de cette solution (4,88 mmol de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), pendant 23 h à température ambiante. Une seconde réduction est réalisée, dans les mêmes conditions que la première, pendant 17 h. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 3,4-(*N*-benzyl)diaminobenzène-carboxamide (**87**),  $t_R = 11,6$  min ; 4-benzylamino-3-nitrobenzène-carboxamide (**81**) non réagi sous forme de traces,  $t_R = 14,7$  min.

*b/* 20 mg (4,8  $\mu\text{mol}$ ) de résine (**95a**) sont mis en réaction avec 0,25 mL de solution de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,50 mmol) à une concentration de 2,0 M dans le DMF, en présence de 20  $\mu\text{L}$  (0,250 mmol) de pyridine, pendant 24 h à température ambiante. Contrôle du produit après clivage : HPLC (grad. 5 min) : 3,4-(*N*-benzyl)diamino-benzèncarboxamide,  $t_R = 3,5$  min ; et LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, *m/z*) :  $t_R = 2,2$  min/ 242 (MH<sup>+</sup>) (100 % conversion).

**résine 3,4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]diaminobenzèncarboxamide (96b).**

*a/* 4,05 g (18,00 mmol) de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  sont solubilisés dans le DMF à une concentration de 1,0 M (18,0 mL de solution). 0,74 g (0,170 mmol) de résine (**95b**) sont d'abord mis à gonfler pendant 2 x 10 min avec, à chaque fois, 2,00 mL de la solution de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , l'excès de solution de gonflement est ensuite filtré, et la résine est mise en réaction avec 1,73 mL de cette solution (1,730 mmol de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), pendant 31 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 5 min) du produit après clivage : 3,4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]-diaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 3,4$  min ; 4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]amino-3-nitrobenzèncarboxamide,  $t_R = 4,2$  min (conversion incomplète).

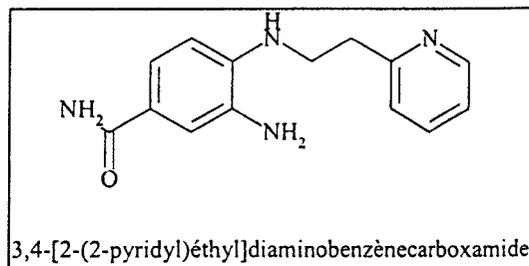
*b/* 20 mg (4,7  $\mu\text{mol}$ ) de résine (**95b**) sont mis en réaction avec 0,25 mL de solution de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,50 mmol) à une concentration de 2,0 M dans le DMF en présence de 40  $\mu\text{L}$  (0,500 mmol) de pyridine, pendant 24 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 5 min) du produit après clivage : 3,4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]diaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 3,5$  min ; 4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]-amino-3-nitrobenzèncarboxamide sous forme de traces,  $t_R = 4,0$  min.



MM = 315

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min/ :  $t_R = 3,5$  min****LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodés, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :  $t_R = 1,5$  min/  
316 (MH<sup>+</sup>)**

*résine 3,4-[2-(2-pyridyl)éthyl]diaminobenzèncarboxamide (96c).* 5,62 g (25,00 mmol) de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O sont solubilisés dans le DMF à une concentration de 1,0 M (25,0 mL de solution). 0,93 g (0,220mmol) de résine (95c) sont d'abord mis à gonfler pendant 2 x 10 min avec, à chaque fois, 2,60 mL de la solution de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, l'excès de solution de gonflement est ensuite filtré, et la résine est mise en réaction avec 2,20 mL de cette solution (22,00 mmol de SnCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O), pendant 46 h à température ambiante. Contrôle du produit après clivage : HPLC (grad. 5 min), 3,4-[2-(2-pyridyl)éthyl]diamino-benzèncarboxamide sort dans le pic d'injection,  $t_R = 0,3$  min; 4-[2-(2-pyridyl)éthyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide,  $t_R = 1,5$  min non détecté, (100 % conversion) ; CCM (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH/H<sub>2</sub>O 9/1/0,1/0,05), 3,4-[2-(2-pyridyl)éthyl]diaminobenzèncarboxamide, Rf = 0,1; 4-[2-(2-pyridyl)éthyl]amino-3-nitrobenzène-carboxamide, Rf = 0,4 non détecté,.

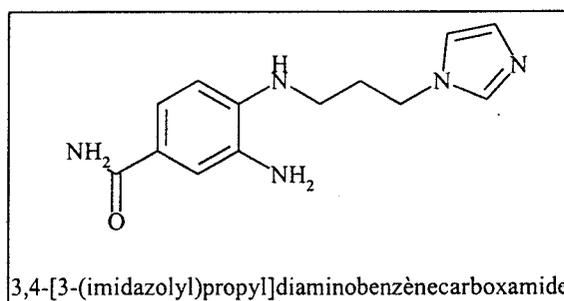


MM = 256

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :**  $t_R = 0,3$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :**  $t_R = 0,3$  min/  
257 (MH<sup>+</sup>)

*résine 3,4-[3-(1-imidazolyl)propyl]diaminobenzèncarboxamide (96d).* 0,93 g (0,220 mmol) de résine (95d) sont traités de la même façon que la résine (95c). Contrôle du produit après clivage : HPLC (grad. 5 min), 3,4-[3-(1-imidazolyl)propyl]diaminobenzèncarboxamide sort dans le pic d'injection,  $t_R = 0,3$  min; 4-[3-(1-imidazolyl)propyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide,  $t_R = 1,4$  min non détecté, (100 % conversion); CCM (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH/H<sub>2</sub>O 9/1/0,1/0,05), 4-[3-(1-imidazolyl)propyl]diaminobenzèncarboxamide, Rf = 0,0; 3,4-[3-(1-imidazolyl)propyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide, Rf = 0,1, non détecté.

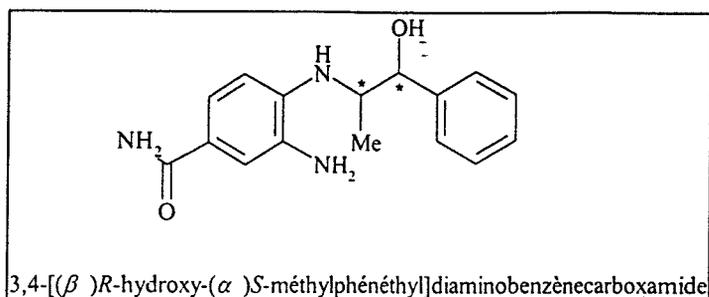


MM = 259

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :**  $t_R = 0,3$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :**  $t_R = 0,3$  min/  
260 (MH<sup>+</sup>)

*résine 3,4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]diaminobenzèncarboxamide (96e).* 2,00 g (0,480 mmol) de résine (95e) sont traités avec une solution de SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, de la même façon que la résine (95a) au point a/. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 3,4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]diaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 11,5$  min ; 4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]amino-3-nitrobenzèncarboxamide,  $t_R = 14,6$  min sous forme de traces.

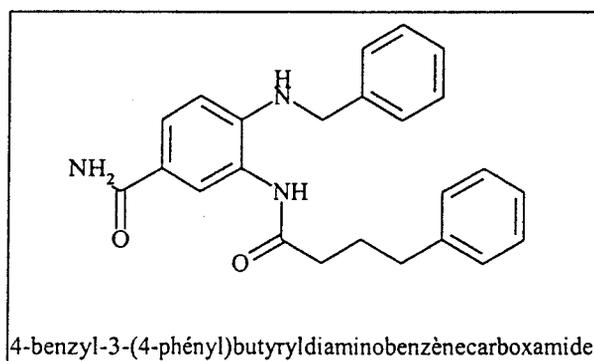


MM = 285

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :**  $t_R = 11,5$  min

d/ Acylation

*résine 4-benzyl-3-(4-phényl)butyryldiamiobenzèncarboxamide (97aj).* 0,34 g (83,0  $\mu$ mol) de résine (96a) sont mis en réaction avec 41 mg (0,249 mmol) d'acide 4-phénylbutyrique (j) et 116 mg (0,249 mmol) de PyBrOP en présence de 87  $\mu$ L (0,498 mmol) de DIEA dans 0,62 ML de DMF, pendant 17 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 4-benzyl-3-(4-phényl)butyryldiaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 16,0$  min ; 3,4-benzyldiaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 11,5$  min, sous forme de traces.

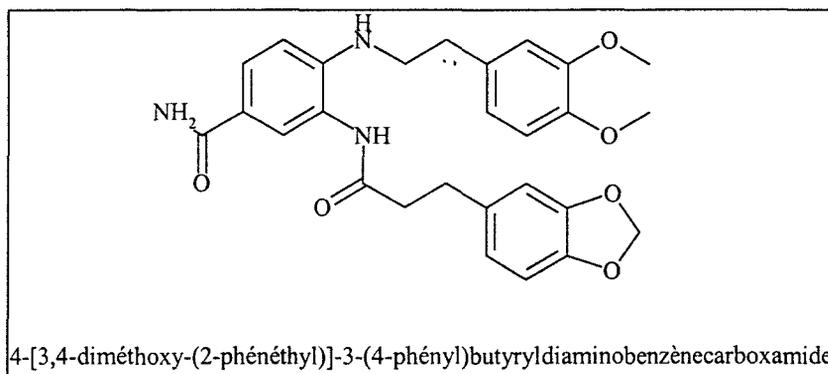


MM = 387

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :**  $t_R = 16,0$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :**  $t_R = 2,4$  min/  
388 (MH<sup>+</sup>)

**résine 4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]-3-[3-(3,4-méthylenedioxyphényl)]propionyldiaminobenzèncarboxamide (97bk).** 0,30 g (71  $\mu\text{mol}$ ) de résine (96b) sont mis en réaction avec 41 mg (0,213 mmol) d'acide 3-(3,4-méthylenedioxyphényl)propionique (**k**) et 99 mg (0,213 mmol) de PyBrOP en présence de 74  $\mu\text{L}$  (0,426 mmol) de DIEA dans 0,38 mL de DMF, pendant 20 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 5 min) du produit après clivage : 4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]-3-(4-phényl)butyryldiaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 4,5$  min ; 3,4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]diaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 3,6$  min, sous forme de traces.

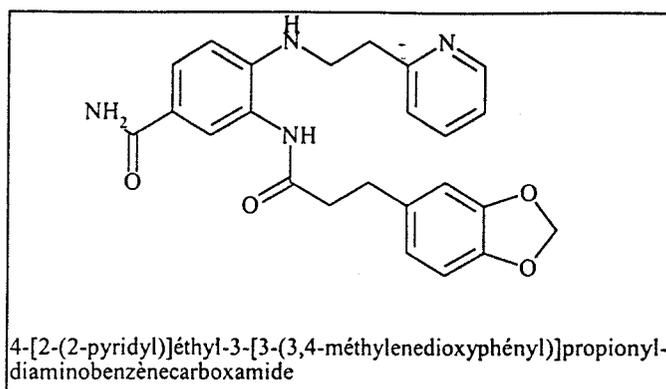


MM = 491

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :**  $t_R = 4,5$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :**  $t_R = 2,2$  min/  
492 (MH<sup>+</sup>)

**résine 4-[2-(2-pyridyl)]éthyl-3-[3-(3,4-méthylenedioxyphényl)]propionyldiaminobenzèncarboxamide (97ck).** 0,30 g (72  $\mu\text{mol}$ ) de résine (96c) sont mis en réaction avec 42 mg (0,216 mmol) d'acide 3-(3,4-méthylenedioxyphényl)propionique (**k**) et 101 mg (0,216 mmol) de PyBrOP en présence de 75  $\mu\text{L}$  (0,432 mmol) de DIEA dans 0,40 mL de DMF, pendant 15 h à température ambiante. Contrôle du produit après clivage : HPLC (grad. 5 min), 4-[2-(2-pyridyl)]éthyl-3-[3-(3,4-méthylenedioxyphényl)]propionyldiaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 3,3$  min, et CCM (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH/H<sub>2</sub>O 9/1/0,1/0,05), 4-[2-(2-pyridyl)]éthyl-3-[3-(3,4-méthylenedioxyphényl)]propionyldiaminobenzèncarboxamide, Rf = 0,3 ; 3,4-[2-(2-pyridyl)]éthyl]diaminobenzèncarboxamide, Rf = 0,1 sous forme de traces.

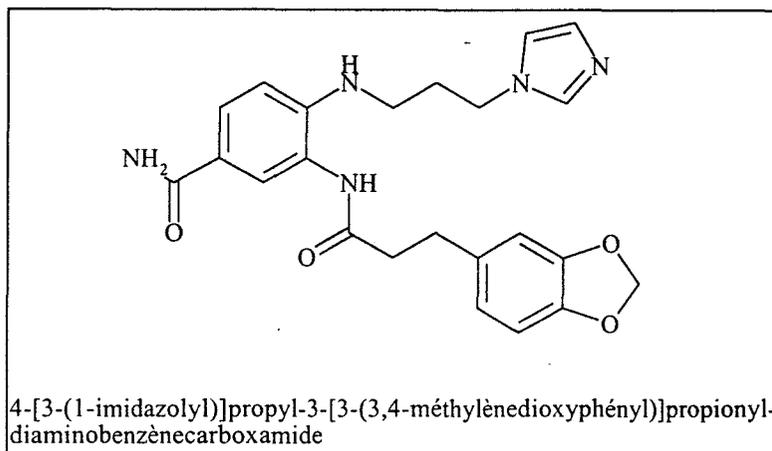


MM = 432

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :  $t_R = 3,3$  min**

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :  $t_R = 1,5$  min/  
433 (MH<sup>+</sup>)**

**résine** 4-[3-(1-imidazolyl)]propyl-3-[3-(3,4-méthylenedioxyphényl)]propionyl-diaminobenzèncarboxamide (97dk). 0,30 g (72  $\mu$ mol) de résine (96d) sont mis en réaction avec 42 mg (0,216 mmol) d'acide 3-(3,4-méthylenedioxyphényl)propionique (k) et 101 mg (0,216 mmol) de PyBrOP en présence de 75  $\mu$ L (0,432 mmol) de DIEA dans 0,40 mL de DMF, pendant 15 h à température ambiante. Contrôle du produit après clivage : HPLC (grad. 5 min), 4-[3-(1-imidazolyl)]propyl-3-[3-(3,4-méthylenedioxyphényl)]propionyl-diaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 3,3$  min, et CCM (éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/AcOH/H<sub>2</sub>O 9/1/0,1/0,05), 4-[3-(1-imidazolyl)]propyl-3-[3-(3,4-méthylene-dioxyphényl)]propionyl-diaminobenzèncarboxamide, Rf = 0,1 ; 3,4-[3-(1-imidazolyl) propyl]diaminobenzèncarboxamide, Rf = 0,0, sous forme de traces.

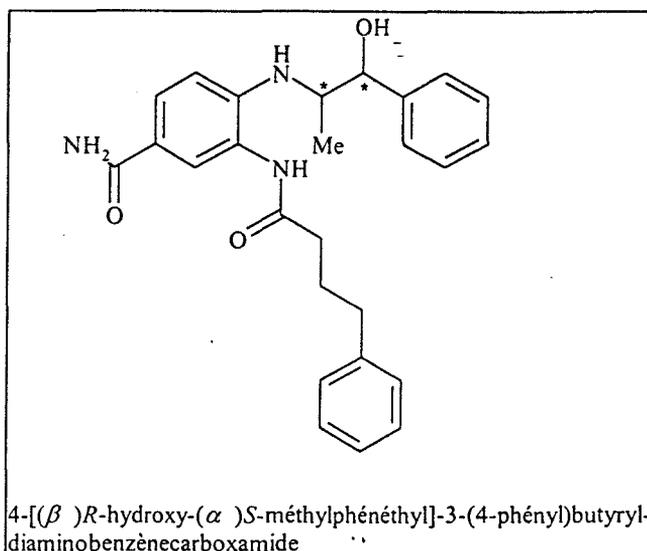


MM = 435

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :**  $t_R = 3,3$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :**  $t_R = 1,5$  min/  
436 (MH<sup>+</sup>)

*résine 4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]-3-(4-phényl)butyryldiaminobenzèncarboxamide (97ej).* 0,39 g (97 μmol) de résine (96e) sont mis en réaction avec 48 mg (0,291 mmol) d'acide 4-phénylbutyrique (j) et 135 mg (0,291 mmol) de PyBrOP en présence de 101 μL (0,582 mmol) de DIEA dans 0,73 mL de DMF, pendant 17 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]-3-(4-phényl)butyryldiaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 15,6$  min ; 3,4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]diaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 11,7$  min sous forme de traces.



MM = 431

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :  $t_R = 15,6$  min**

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :  $t_R = 2,3$  min/  
432 (MH<sup>+</sup>)**

e/ Cyclisation en benzimidazole et clivage de la résine

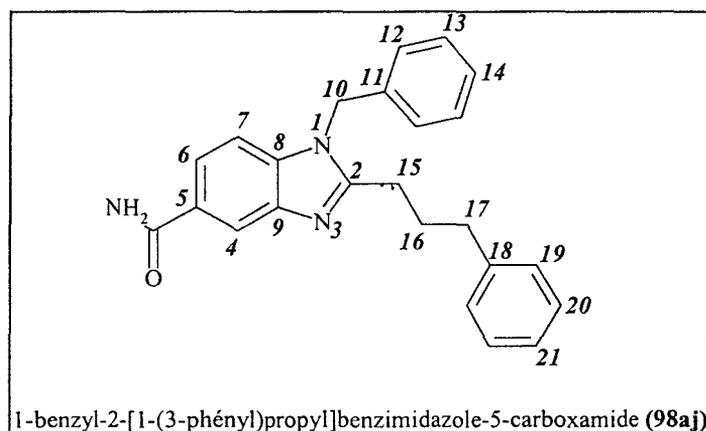
**Procédures générales de cyclisation.**

a/ Environ 50 mg de résine (97) sont traités avec 1,0 mL de mélange d'HCl 1,0 M dans l'éther éthylique/EtOH absolu 1/1 (v/v), à température ambiante pendant 14 h. Sans séparation du surnageant, la résine est clivée par le TFA et le produit de clivage est récupéré selon la procédure générale.

b/ Environ 100 mg de résine (97) sont clivés par le TFA, le produit de clivage est évaporé à sec et traité avec 1,5 mL de mélange d'HCl 1,0 M dans l'éther éthylique/EtOH absolu 1/1 (v/v), à température ambiante pendant 3,5 h.

Les produits sont purifiés par HPLC préparative (colonne Vydac C18, 5  $\mu$ m, 100 x 20 mm<sup>2</sup>), en utilisant comme éluants les mélanges H<sub>2</sub>O/0,050 % TFA et acétonitrile aqueux (80 %)/0,045 % TFA (grad.) à un débit de 7 mL/min, et avec une détection à 215/254 nm.

**1-benzyl-2-[1-(3-phényl)propyl]benzimidazole-5-carboxamide (98aj)**. Synthétisé selon les procédures générales a/ et b/, à partir de 50 mg (environ 11  $\mu\text{mol}$ ) et respectivement 80 mg (environ 18  $\mu\text{mol}$ ) de résine (**97aj**). Contrôle LC/MS (grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) du produit : 1-benzyl-2-[1-(3-phényl)propyl]benzimidazole-5-carboxamide (**98aj**),  $t_R = 2,1$  min/370 (MH<sup>+</sup>) ; 4-benzyl-3-(4-phényl)butyryldiaminobenzène-carboxamide,  $t_R = 2,4$  min/388 (MH<sup>+</sup>) sous forme de traces.



MM = 369

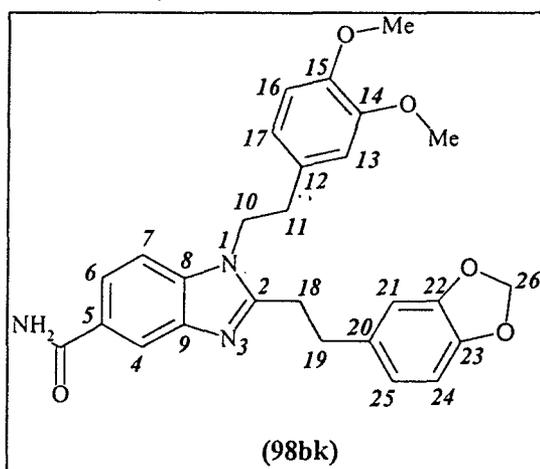
**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :  $t_R = 14,4$  min**

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :  $t_R = 2,1$  min/370 (MH<sup>+</sup>)**

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) :**

8,21	(d, $J = 1$ Hz, 1 H, H4)
8,07	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,88	(dd, $J = 1 ; 8,5$ Hz, 1 H, H6)
7,69	(d, $J = 8,5$ Hz, 1 H : H7)
7,40	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,37-7,14	(m, 10 H : 2 H12, 2 H13, H14, 2 H19, 2 H20, H21)
5,62	(s, 2 H : H10)
3,04	(t, $J = 7,5$ Hz, 2 H : H15)
2,67	(t, $J = 7$ Hz, 2 H : H17)
2,00	(m, 2 H : 2 H16)

1-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]-2-[2-(3,4-méthylendioxyphényl)éthyl]benzimidazole-5-carboxamide (98bk). Synthétisé selon la procédure générale b/, à partir d'environ 75 mg (environ 17  $\mu\text{mol}$ ) de résine (97bk). Contrôle LC/MS du produit (grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) : 1-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]-2-[2-(3,4-méthylendioxyphényl)éthyl]-benzimidazole-5-carboxamide (98bk),  $t_R = 2,1$  min/ 474 (MH<sup>+</sup>) majoritaire ; produits non identifiés sous forme de traces.



MM = 473

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 5 min) :  $t_R = 3,9$  min

LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) :  $t_R = 2,1$  min/ 474 (MH<sup>+</sup>).

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*6) :

8,21	(d, $J = 1$ Hz, 1 H, H4)
8,11	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,93	(dd, $J = 1 ; 8$ Hz, 1 H, H6)
7,77	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H7)
7,45	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
6,84-6,77	(m, 3 H : Ar)
6,66-6,63	(m, 2 H : Ar)
6,50	(dd, $J = 2 ; 8$ Hz, 1 H : Ar)
5,97	(s, 2 H : H26)
4,54	(t, $J = 6,5$ Hz, 2 H : H10)

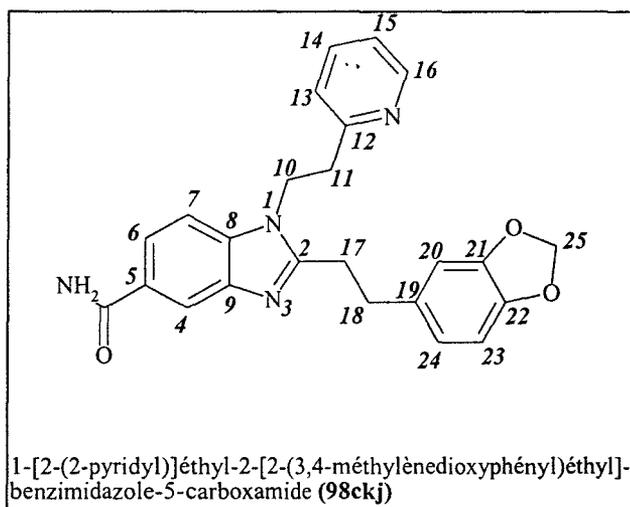
3,68 ; 3,60

(2 s, 6 H : 2 Me)

2,97-2,90

(m, 6 H : 2 H11, 2 H18, 2 H19)

**1-[2-(2-pyridyl)]éthyl-2-[2-(3,4-méthylènedioxyphényl)]éthyl]benzimidazole-5-carboxamide (98ck)**. Synthétisé selon les procédures générales a/ et b/, à partir de 50 mg (environ 11  $\mu$ mol) et respectivement 100 mg (environ 22  $\mu$ mol) de résine (97ck). Contrôle LC/MS (grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, *m/z*) du produit : 1-[2-(2-pyridyl)]éthyl-2-[2-(3,4-méthylène-dioxyphényl)]éthyl]-benzimidazole-5-carboxamide (98ck),  $t_R = 1,5$  min/416 (MH<sup>+</sup>) (conversion totale).



MM = 315

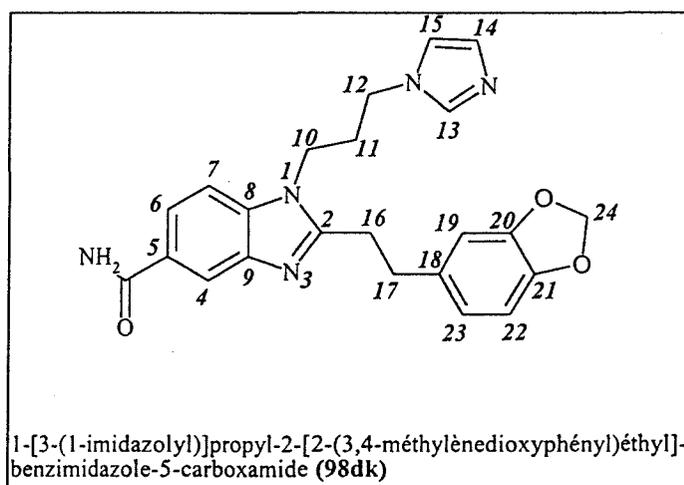
**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, *m/z*)** :  $t_R = 1,5$  min/316 (MH<sup>+</sup>)

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*6) :**

8,21	(d, $J = 1$ Hz, 1 H, H4)
8,07	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,88	(dd, $J = 1 ; 8$ Hz, 1 H, H6)
7,69	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H7)
7,40	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,37-7,14	(m, 9 H : H13, H14, H15, H16, H20, H23, H24, 2H10)
5,62	(s, 2 H : H25)

3,04	(t, $J = 7$ Hz, 2 H : H17)
2,70	(t, $J = 6$ Hz, 2 H : H11)
2,02	(m, 2 H : 2 H18)

**1-[3-(1-imidazolyl)]propyl-2-[2-(3,4-méthylènedioxyphényl)éthyl]benzimidazole-5-carboxamide (98dk)**. Synthétisé selon les procédures générales a/ et b/, à partir de 50 mg (environ 11  $\mu$ mol) et respectivement 80 mg (environ 18  $\mu$ mol) de résine (97dk). Contrôle LC/MS (grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ ) du produit : 1-[3-(1-imidazolyl)]propyl-2-[2-(3,4-méthylènedioxyphényl)éthyl]benzimidazole-5-carboxamide (98dk),  $t_R = 1,4$  min/418 (MH<sup>+</sup>) majoritaire ; 3,4-[3-(1-imidazolyl) propyl]diaminobenzène-carboxamide,  $t_R = 1,5$  min/436 (MH<sup>+</sup>) sous forme de traces.



MM = 417-

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>,  $m/z$ )** :  $t_R = 1,4$  min/418 (MH<sup>+</sup>)

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)** :

8,99	(s, H13)
8,13	(d, $J = 1$ Hz, 1 H : H4)
7,93	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
7,78	(dd, $J = 1 ; 8,5$ Hz, 1 H, H6)
7,73	(s, 1 H : H15)
7,61	(s, 1 H : H14)
6,50	(dd, $J = 2 ; 8,5$ Hz, 1 H : H7)

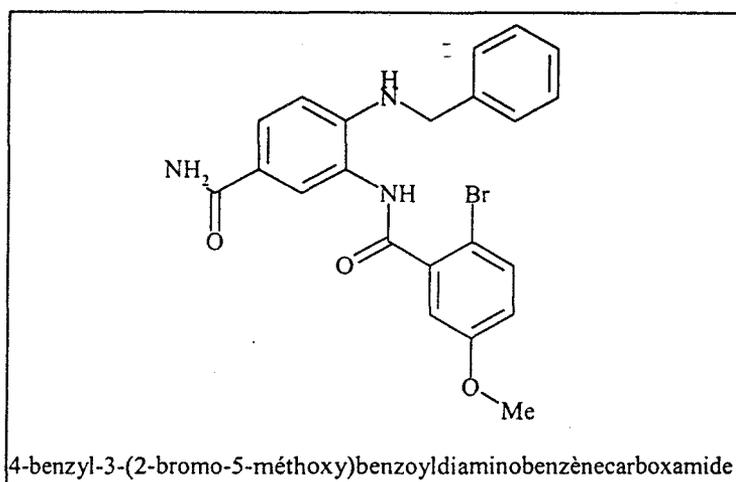
7,24	(s, 1 H : CONH <sub>2</sub> )
6,87	(d, $J = 1,5$ Hz, 1 H : H19)
6,77	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : H22)
6,69	(dd, $J = 1,5 ; 8$ Hz, 1 H : H23)
5,91	(s, 2 H : H24)
4,24-4,19	(m, 4 H : 2 H10, 2 H12)
3,18-3,04	(m, 4 H : 2 H16, 2 H17)
2,23-2,18	(m, 2 H : 2 H11)

*essai de cyclisation du 1-[( $\beta$ )R-hydroxy-( $\alpha$ )S-méthylphénéthyl]-2-[1-(3-phényl)propyl]-benzimidazole-5-carboxamide (98ej).* 50 mg (environ 11  $\mu$ mol) de résine (97ej) sont traités selon la procédure générale de cyclisation a/. Contrôle HPLC du produit (grad. 15 min) : 4-[( $\beta$ )R-hydroxy-( $\alpha$ )S-méthylphénéthyl]-3-(4-phényl)butyryldiaminobenzèncarbox-amide,  $t_R = 16,0$  min uniquement (0 % conversion).

### E-3.III.6.2. Criblage chimique des acides carboxyliques

#### a/ Acylation

*résine 4-benzyl-3-(2-bromo-5-méthoxy)benzoyldiaminobenzèncarboxamide (97al).* 0,34 g (83  $\mu$ mol) de résine (96a) sont mis en réaction avec 58 mg (0,249 mmol) d'acide 2-bromo-5-méthoxybenzoïque (I) et 116 mg (0,249 mmol) de PyBrOP en présence de 87  $\mu$ L (0,498 mmol) de DIEA dans 0,62 mL de DMF, pendant 4 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 4-benzyl-3-(2-bromo-5-méthoxy)benzoyldiaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 15,6$  min majoritaire ; 3,4-benzoyldiaminobenzèncarboxamide  $t_R = 11,9$  min sous forme de traces.

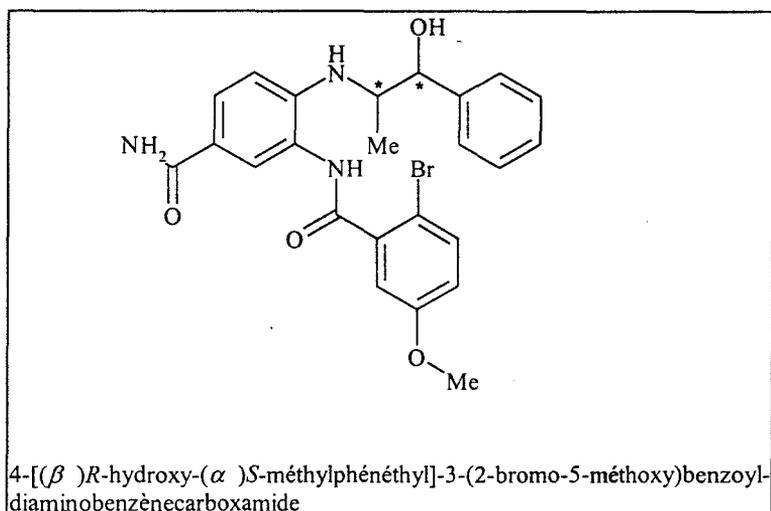


MM = 454

HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :  $t_R = 15,6$  min

LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :  $t_R = 2,4$  min/455 (MH<sup>+</sup>)

*résine* 4-[( $\beta$ )R-hydroxy-( $\alpha$ )S-méthylphénéthyl]-3-(2-bromo-5-méthoxy)benzoyldiaminobenzène-carboxamide (97e). 0,39 g (97  $\mu$ mol) de résine (96e) sont mis en réaction avec 67 mg (0,291 mmol) d'acide 2-bromo-5-méthoxybenzoïque (I) et 135 mg (0,291 mmol) de PyBrOP en présence de 101  $\mu$ L (0,582 mmol) de DIEA dans 0,73 mL de DMF pendant, 4 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 4-[( $\beta$ )R-hydroxy-( $\alpha$ )S-méthylphénéthyl]-3-(2-bromo-5-méthoxy)-benzoyldiaminobenzène-carboxamide,  $t_R = 15,3$  min majoritaire ; 3,4-[( $\beta$ )R-hydroxy-( $\alpha$ )S-méthylphénéthyl]diaminobenzène-carboxamide,  $t_R = 11,7$  min sous forme de traces.

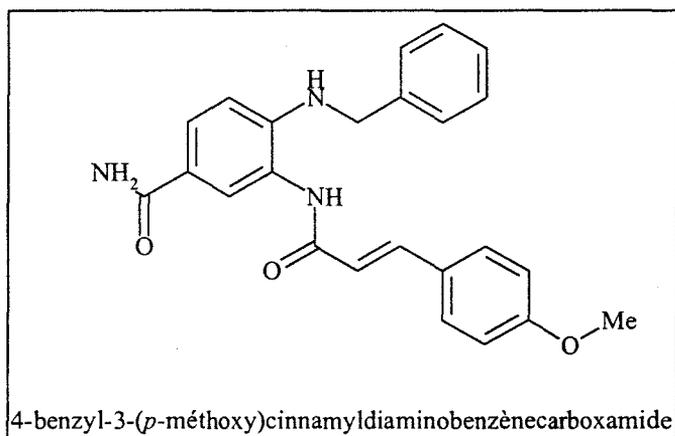


MM = 498

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 15 min) :**  $t_R = 15,3$  min

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :**  $t_R = 2,3$  min/  
499 (MH<sup>+</sup>)

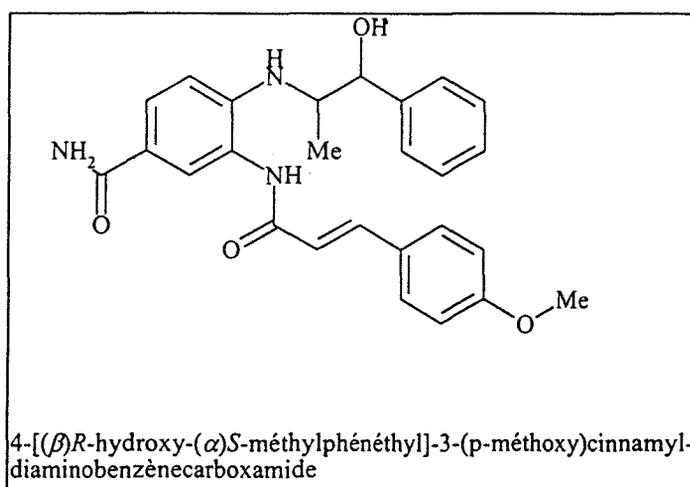
*résine 4-benzyl-3-(p-méthoxy)cinnamyl-diaminobenzène-carboxamide (97am).* 0,34 g (83 μmol) de résine (96a) sont mis en réaction avec 44 mg (0,249 mmol) d'acide *p*-méthoxycinnamique (m) et 116 mg (0,249 mmol) de PyBrOP en présence de 87 μL (0,498 mmol) de DIEA dans 0,62 mL de DMF, pendant 4 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : milieu réactionnel sale, plusieurs produits.



MM = 401

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :  $t_R = 2,4$  min/402 (MH<sup>+</sup>)**

**résine 4-[( $\beta$ )R-hydroxy-( $\alpha$ )S-méthylphénéthyl]-3-(p-méthoxy)cinnamyl-diaminobenzène-carboxamide (97em).** 0,39 g (97  $\mu$ mol) de résine (96e) sont mis en réaction avec 52 mg (0,291 mmol) d'acide p-méthoxycinnamique (m) et 135 mg (0,291 mmol) de PyBrOP en présence de 101  $\mu$ L (0,582 mmol) de DIEA dans 0,73 mL de DMF, pendant 4 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : milieu réactionnel sale, plusieurs produits.



MM = 445

**LC/MS (phase inverse C18, barrette de diodes, grad. 5 min/APCI<sup>+</sup>, m/z) :  $t_R = 2,3$  min/446 (MH<sup>+</sup>)**

**Essai de synthèse d'une résine 4-benzyl-3-(2,2'-diphényl)propionyl-diaminobenzène-carboxamide (97an).** Deux échantillons de 0,34 g (83  $\mu$ mol) de résine (96a) chacun, sont mis en réaction avec 56 mg (0,249 mmol) d'acide 2,2'-diphénylpropionique (n) et 116 mg (0,249 mmol) de PyBrOP en présence de 87  $\mu$ L (0,498 mmol) de DIEA dans 0,62 mL de DMF, pendant 4 h et respectivement 22 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 3,4-benzyl-diaminobenzène-carboxamide,  $t_R = 11,9$  min uniquement (0 % conversion).

*Essai de synthèse d'une résine 4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]-3-(2,2'-diphényl)propionyl-diaminobenzèncarboxamide (97en).* Deux échantillons de 0,39 g (97 μmol) de résine (96e) chacun, sont mis en réaction avec 66 mg (0,291 mmol) d'acide *p*-méthoxycinnamique (**m**) et 135 mg (0,291 mmol) de PyBrOP en présence de 101 μL (0,582 mmol) de DIEA dans 0,73 mL de DMF, pendant 4 h et respectivement 22 h à température ambiante. Contrôle HPLC (grad. 15 min) du produit après clivage : 3,4-[(β)R-hydroxy-(α)S-méthylphénéthyl]diaminobenzèncarboxamide,  $t_R = 11,7$  min uniquement (0 % conversion).

b/ Essais de cyclisation en benzimidazole

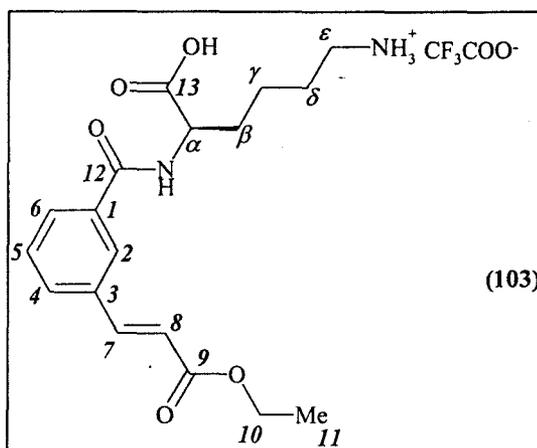
50 mg (environ 11 μmol) des résines (97ai) - (97am) et (97ej) - (97em) sont traités, selon la procédure générale de cyclisation a/, avec 1 mL d'un mélange d'HCl 1,0 M dans l'éther éthylique/EtOH absolu 1/1 (v/v), à température ambiante pendant 14 h. Les surnageants sont contrôlés par HPLC et ensuite, sans séparation des surnageants, les résines sont clivées par le TFA, les produits de clivage sont récupérés selon la procédure générale et contrôlés par HPLC (grad. 15 min). Des conversion complètes en benzimidazoles sont observées pour le traitement des résines (97ai) et (97aj). Pour le traitement des résines (97al), (97am) et (97ej) - (97em) seulement le produit non cyclisé de départ est détecté (0 % conversion). Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.12 du chapitre 3.

## CHAPITRE 4

### E-4.1. Synthèse des résines

*résine (101).* 1,50 g (0,490 mmol) de résine Wang-Lys(Boc)-Fmoc 200-400 mesh (NovaBiochem) est déprotégée avec une solution de pipéridine à 20 % dans le DMF, 2 fois pendant 20 min à chaque fois, ensuite elle est lavée 5 x DMF, et elle est mise en réaction avec 0,36 g (1,470 mmol) d'acide 3-iodobenzoïque et 0,68 g (1,470 mmol) de PyBrOP en présence de 0,51 mL (2,940 mmol) de DIEA dans 3,0 mL de DMF, pendant 15 h à température ambiante. Après 15 h de réaction, la résine (101) ainsi obtenue est lavée 5 x DMF, 3 x CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et elle est séchée sous pression réduite (100 % conversion, conformément au test de Kaiser effectué sur les grains de résine).

*résine (102).* 0,11 g (0,500 mmol) d'acétate de palladium sont dissous dans 3,0 mL de DMF, sous azote. 0,30 g (1,000 mmol) de tris(2-tolyl)phosphine sont dissous dans 4,0 mL de DMF, sous azote. Ces deux solutions sont mises en contact avec 0,60 g (0,239 mmol) de résine (101), et 0,32 mL (3,000 mmol) d'acrylate d'éthyle et 1,00 mL (7,200 mmol) de Et<sub>3</sub>N sont ensuite ajoutés. Ce mélange est laissé réagir sous azote pendant 16 h à 60 °C, la résine (102) ainsi obtenue est lavée avec du DMF, avec une solution aqueuse de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, de nouveau avec du DMF et finalement avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, et elle est séchée sous pression réduite. 0,20 g (0,081 mmol) de résine (102) sont clivés par le TFA à 90 % dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, pendant 4 h à température ambiante. Le produit de clivage est analysé par HPLC (100 % conversion) et il est purifié par HPLC préparative en phase inverse (colonne Vydac C18, 5 μm, 500 x 20 mm<sup>2</sup>), en utilisant comme éluants les mélanges H<sub>2</sub>O/0,05 % TFA et acétonitrile aqueux (80 %)/0,045 % TFA (gradient) à un débit de 4 mL/min, et avec une détection à 254/280 nm, conduisant à 16 mg de (103) (43 % rendement par rapport à la quantité de résine (102) clivée).



MM = 349

**HPLC (phase inverse C18, 215/254 nm, grad. 30 min) :  $t_R = 20,5$  min**

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz, DMSO- $d_6/D_2O$ ) :**

8,70	(d, $J = 8$ Hz, 1 H : CONH $\alpha$ )
8,27	(s, 1 H : H2)
7,89-7,95	(m, 2 H : H4, H6)
7,69-7,75	(m, 4 H : H7, 3 H NH $_3^+$ )
7,53-7,58	(d, $J = 16$ Hz, 1 H : H8)
4,43	(m, 1 H : H $\alpha$ )
4,19-4,26	(q, $J = 7$ Hz, 2 H : H10)
2,80	(m, 2 H : H $\epsilon$ )
1,84	(m, 2 H : H $\beta$ )
1,59	(m, 2 H : H $\delta$ )
1,26-1,31	(t, $J = 7$ Hz, 3 H : H11)

**RMN  $^{13}\text{C}$  (75,4 MHz, DMSO- $d_6$ ) :**

174,5 (C13) ; 166,9 et 166,6 (C9 et C12) ; 144,5 (C7) ; 135,2 et 134,9 (C1 et C3) ; 132,3 et 130,4 (C4 et C6) ; 129,9 (C5) ; 127,3 (C2) ; 128,7 ; 120,1 (C8) ; 61,1 (C107) ; 53,2 (C $\alpha$ ) ; 39,6 (C $\epsilon$ ) ; 31,0 (C $\beta$ ) ; 27,4 (C $\delta$ ) ; 23,7 (C $\gamma$ ) ; 15,1 (C $\alpha$ )

**SM (haute résolution,  $MH^+$ ) :  $C_{18}H_{25}N_2O_5$**

calculée	349,175
trouvée	349,174

Les résines (63), (63'), (76), (76'), (95b) - (95d), (95b'), (96b), (96b') et (97bk) sont synthétisées selon les procédures décrites dans la partie expérimentale du chapitre 3.

**E-4.2. Détermination du gonflement de la résine (99) dans différents solvants**

Les volumes des billes de résine sont déterminés par mesure directe de leur diamètres à l'aide d'un microscope prévu d'un oculaire micrométrique. La résine (99) gonflée dans le solvant désiré est dispersée sur une lamelle de microscope et elle est couverte par une deuxième lamelle, pour réduire au maximum l'évaporation du solvant. Les grains de résine ayant des diamètres homogènes, un nombre total d'environ 100 diamètres mesurés pour chaque solvant est utilisé pour déterminer le diamètre moyen.

**E-4.3. Expériences de RMN MAS**

Avant de gonfler les résines, le tétraméthylsilane est ajouté au solvant deutéré comme référence interne. Les résines analysées par RMN MAS sont gonflées avec le solvant deutéré, l'excès de solvant est éliminé par pipettage, et ce gel est introduit dans le rotor.

Pour le suivi de la synthèse d'oléfines en phase solide par la réaction de Heck, les données sont enregistrées en utilisant une sonde standard pour la RMN MAS des solides de 7 mm, sur un spectromètre Bruker DRX-300, à une vitesse angulaire de 2 kHz. Pour le suivi de la formation de benzimidazoles en phase solide, les données sont enregistrées en utilisant une sonde de haute résolution pour la RMN MAS des solides de 4 mm, sur un spectromètre Bruker DRX-300, dans le  $CDCl_3$ , à une vitesse angulaire de 4 kHz. La durée totale de chaque expérience 2D est d'environ 3 h, exception faite par les spectres enregistrés lors du suivi de la réduction de la résine (95b), où les temps d'acquisition sont de 1,7 h.

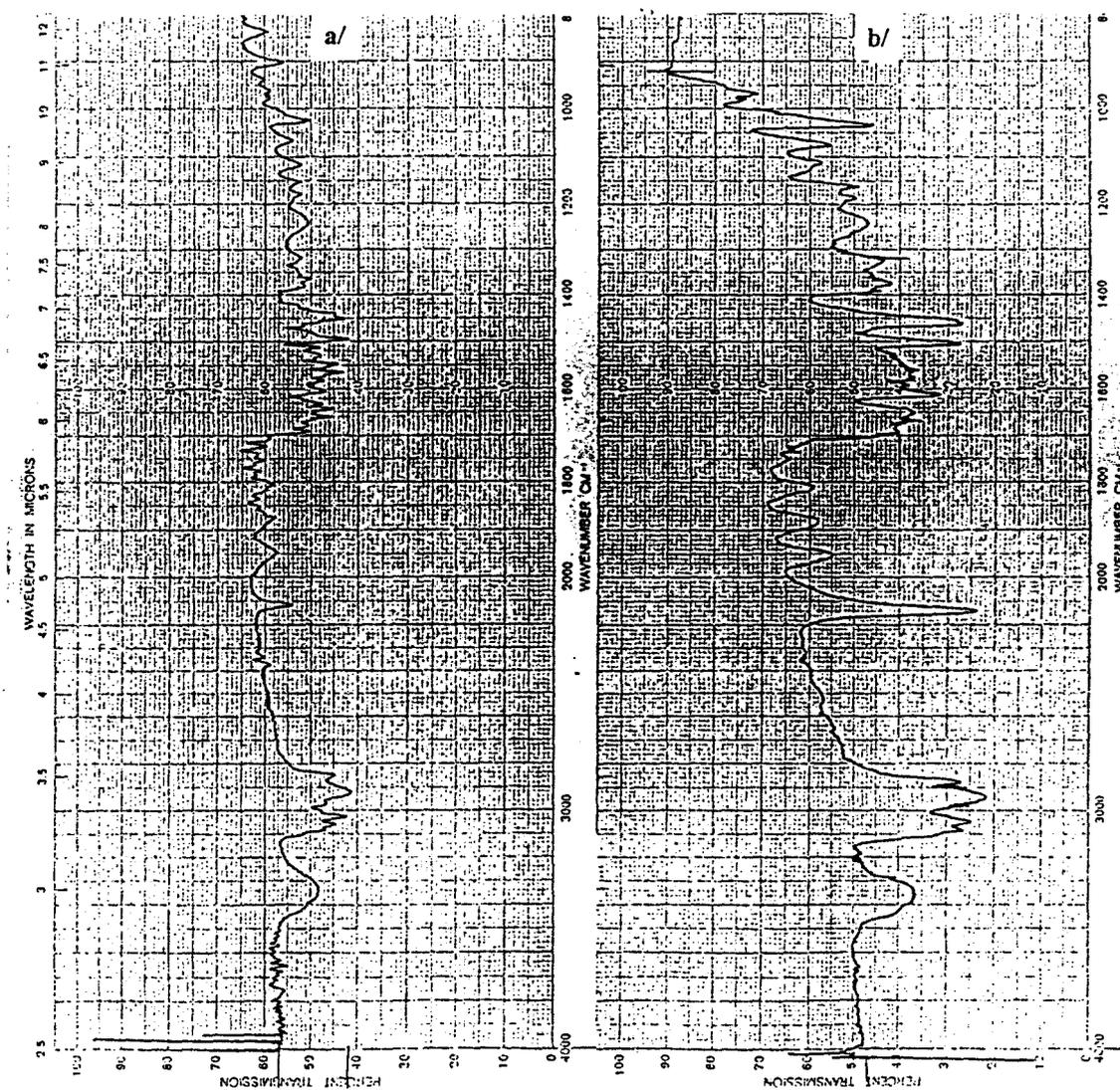
## ANNEXES

## Annexe 1

Spectres infrarouges réalisés sur résine lors de la synthèse de la résine-carbodiimide (2)  
(pastille KBr ;  $\nu_{\text{N=C=N}} = 2110 \text{ cm}^{-1}$ )

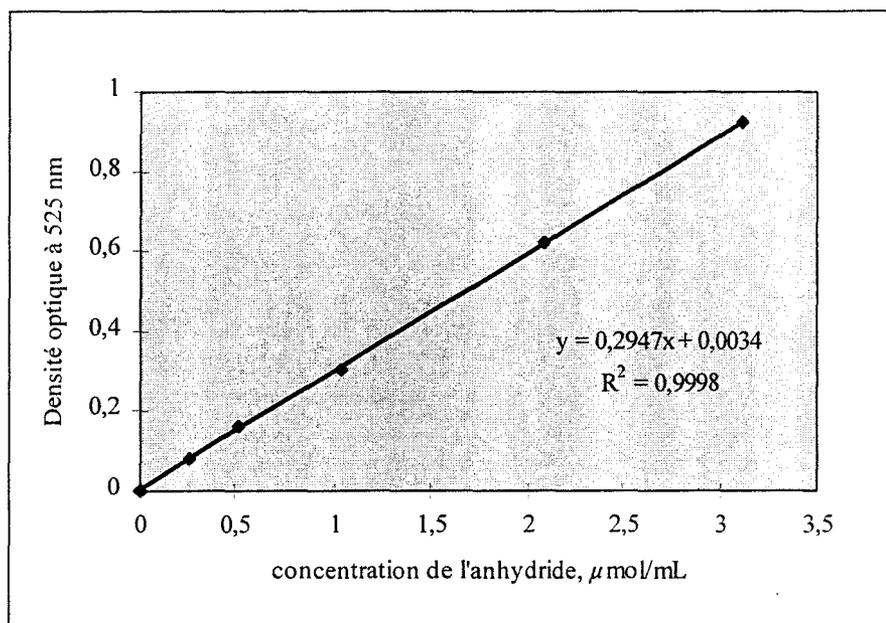
a/ 4 h de réaction

b/ 17 h de réaction



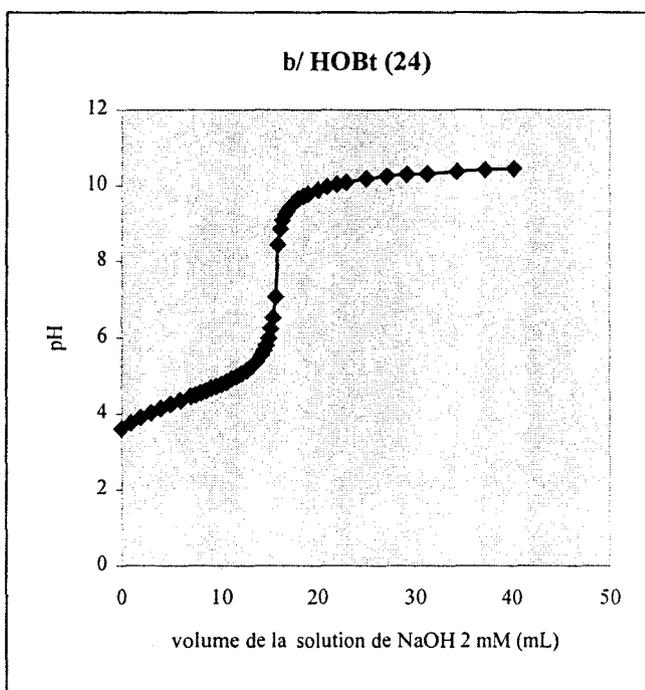
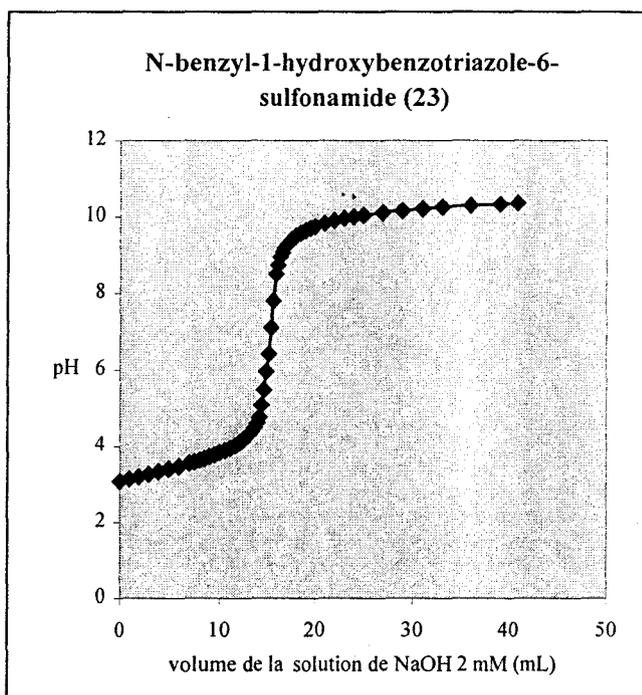
## Annexe 2

Courbe d'étalonnage de l'anhydride acétique, par dosage colorimétrique (détection à 525 nm) du complexe de l'acide hydroxamique avec le  $\text{Fe}^{3+}$ .



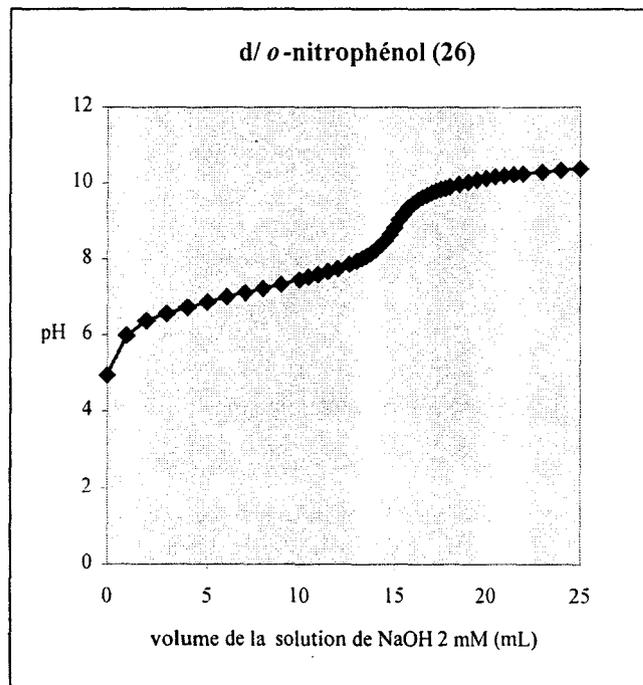
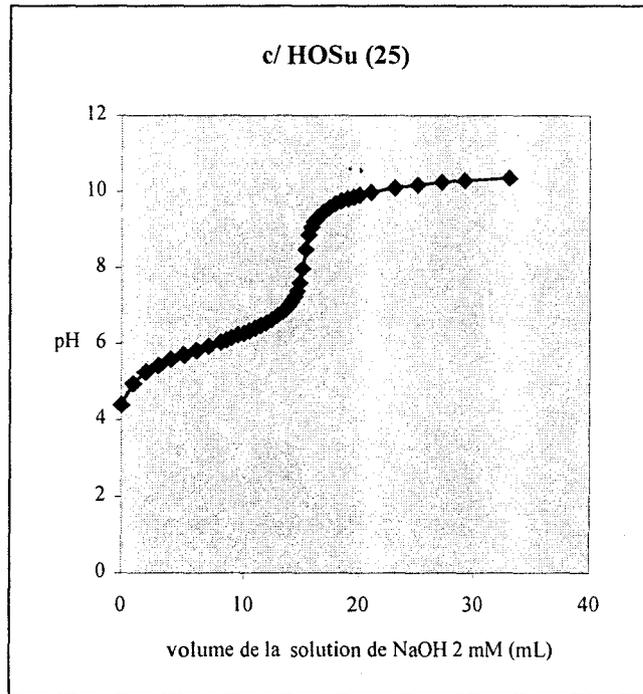
## Annexe 3

Courbes de titration utilisées pour déterminer les pKa des différents dérivés d'HOBt.



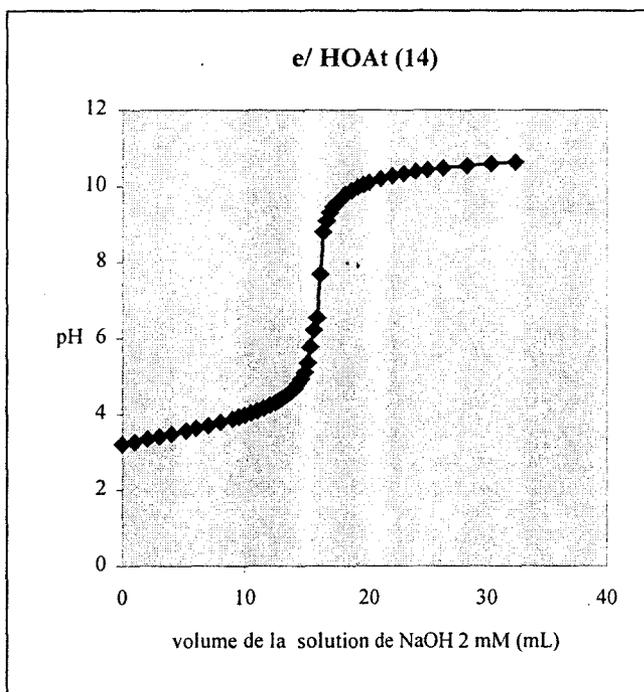
### Annexe 3 (suite)

Courbes de titration utilisées pour déterminer les pKa des différents dérivés d'HOBt.



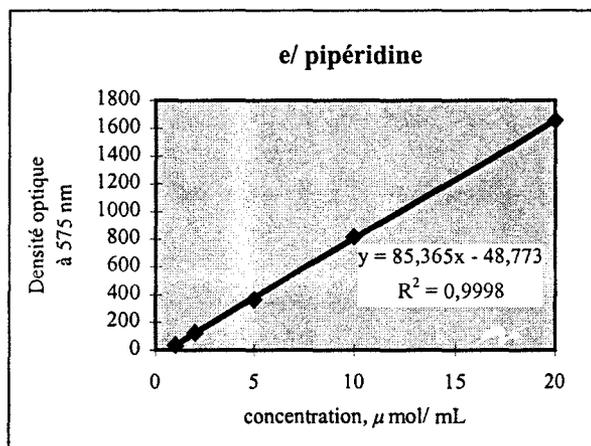
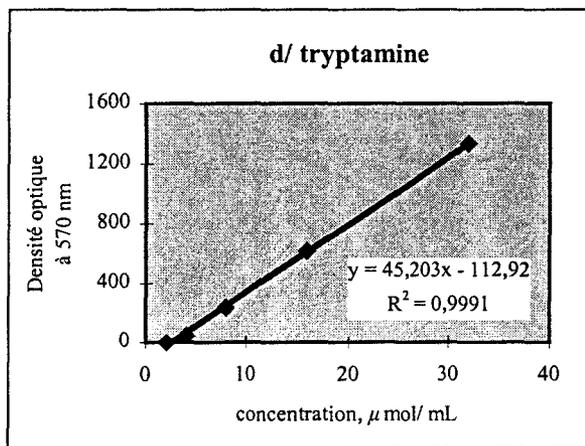
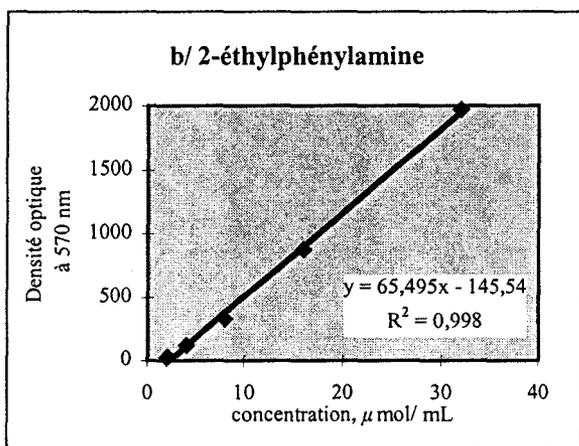
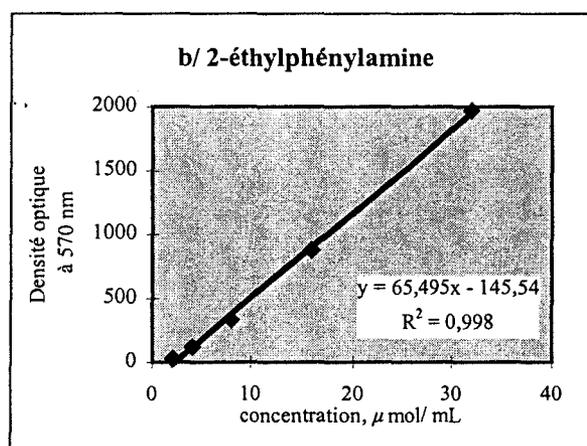
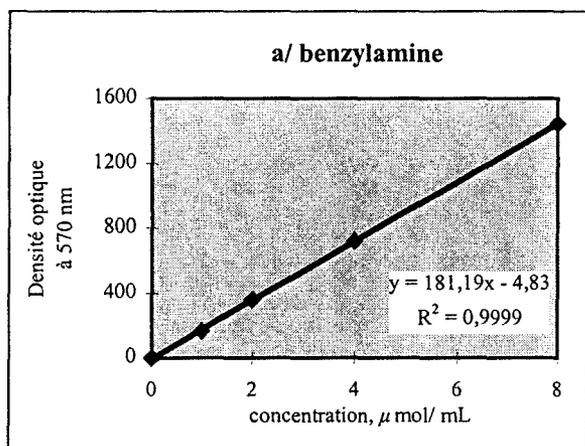
## Annexe 3 (suite)

Courbes de titration utilisées pour déterminer les pKa des différents dérivés d'HOBt.



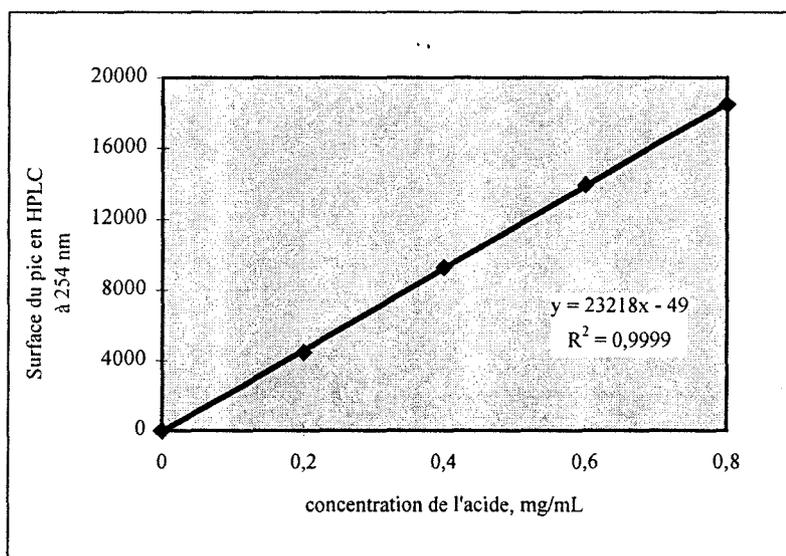
## Annexe 4

Courbes d'étalonnage de différentes amines, par dosage colorimétrique à la ninhydrine à 570 nm (pour les amines primaires a/, b/, c/ et d/), et à la 2,3,5,6-tétrachloro-1,4-benzoquinone à 575 nm (pour la pipéridine).



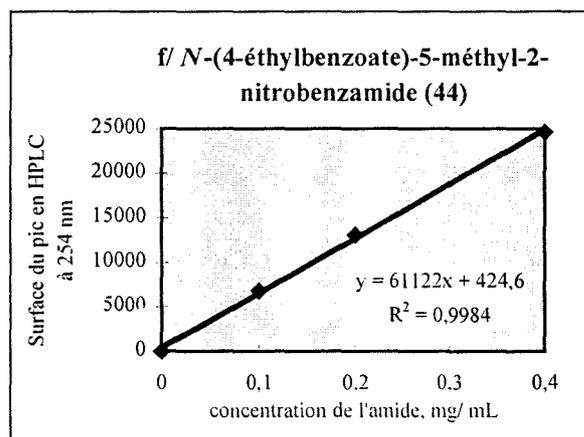
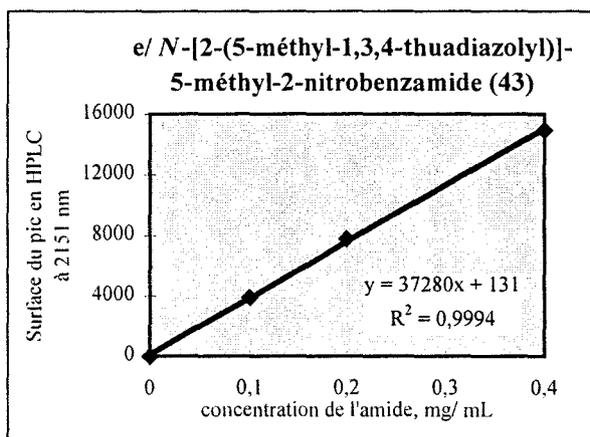
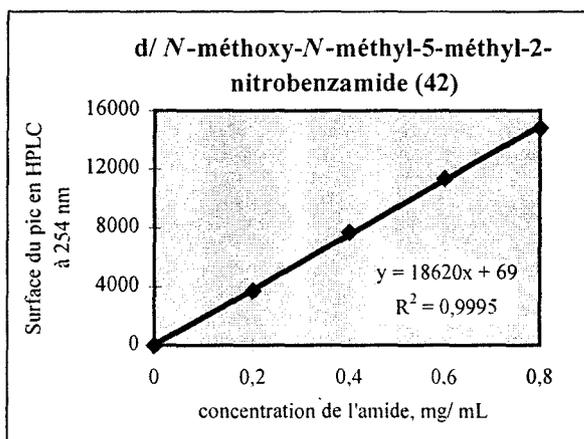
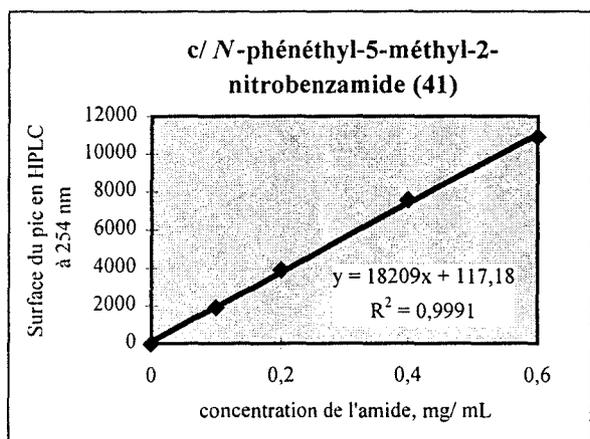
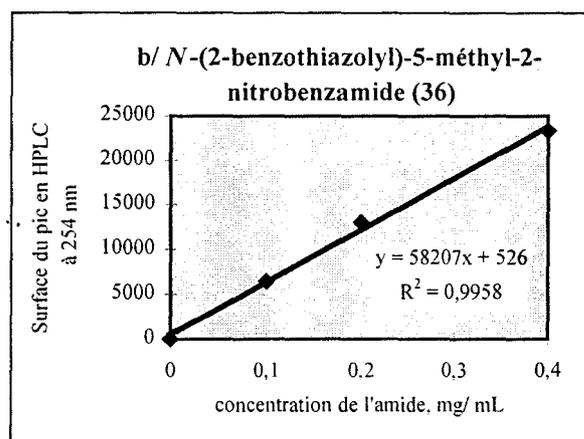
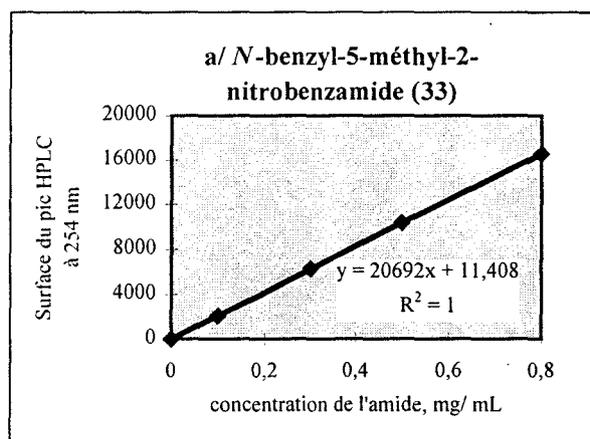
## Annexe 5

Courbe d'étalonnage HPLC (détection à 254 nm) de l'acide 5-méthyl-2-nitrobenzoïque (a).



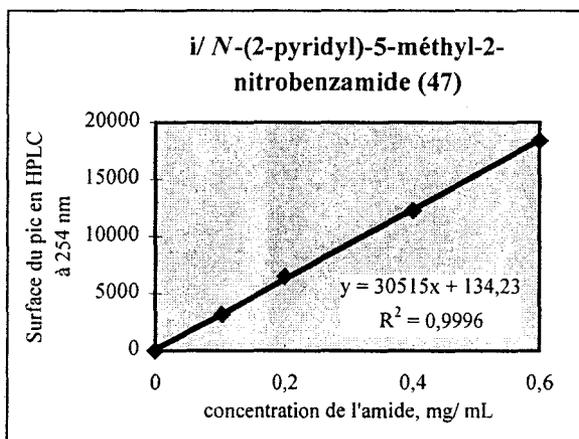
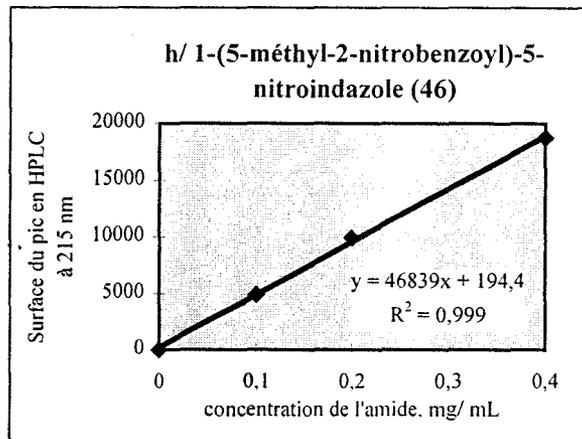
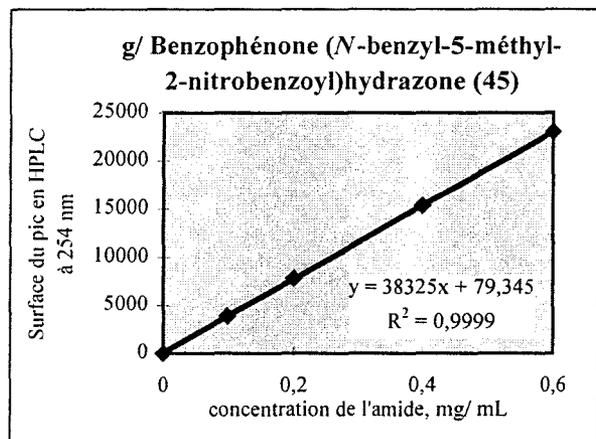
## Annexe 6

Courbes d'étalonnage HPLC (détection à 254 nm ou à 215 nm) de différents amides.



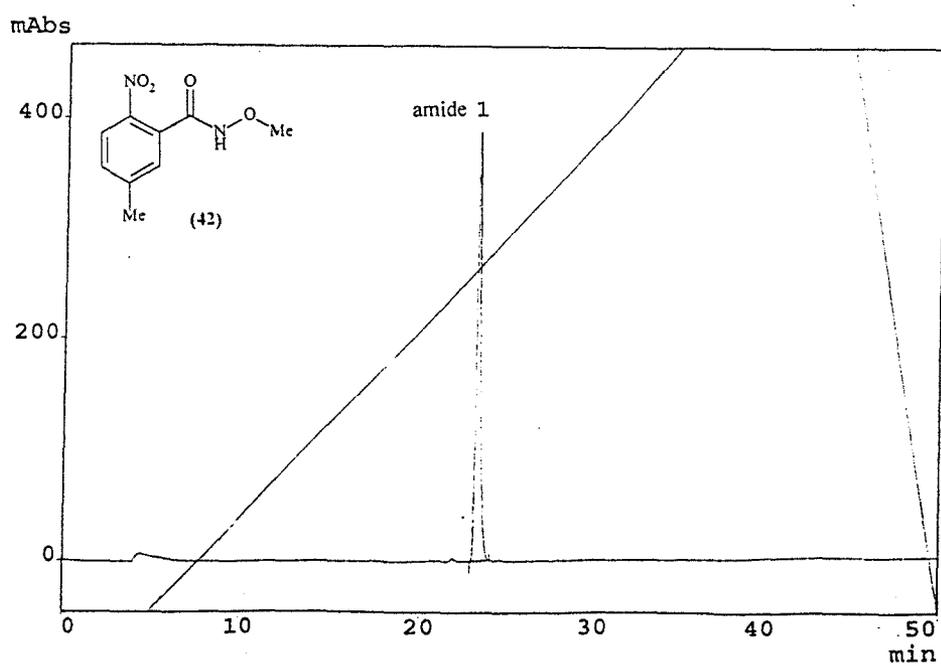
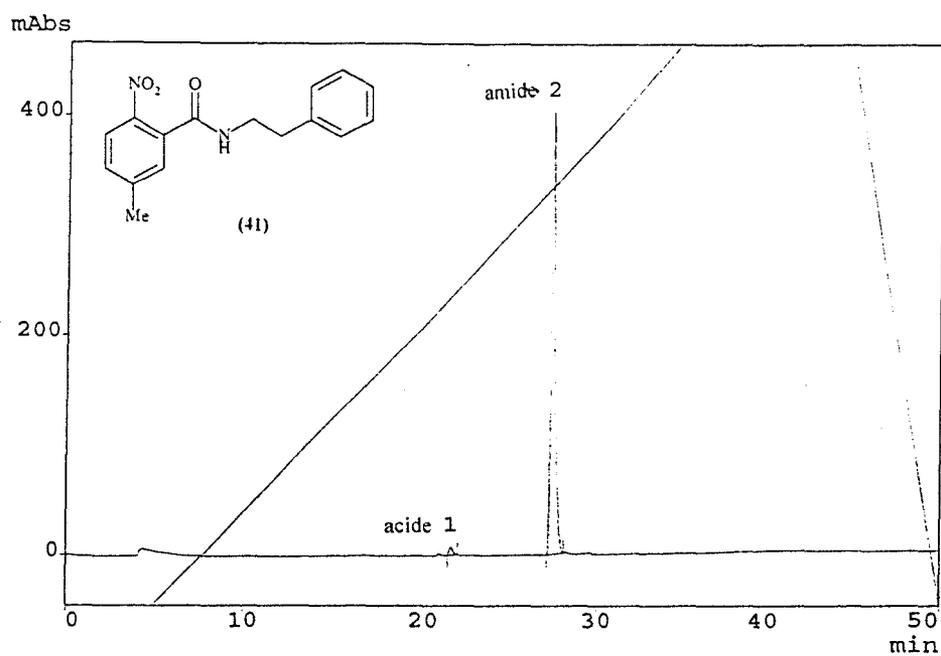
## Annexe 6 (suite)

Courbes d'étalonnage HPLC (détection à 254 nm ou à 215 nm) de différents amides.



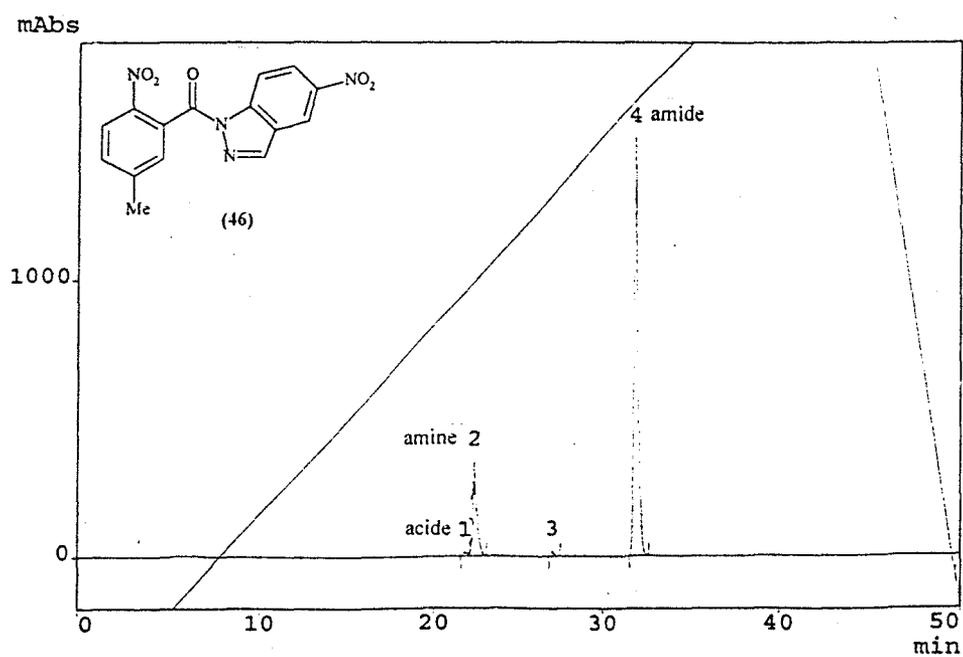
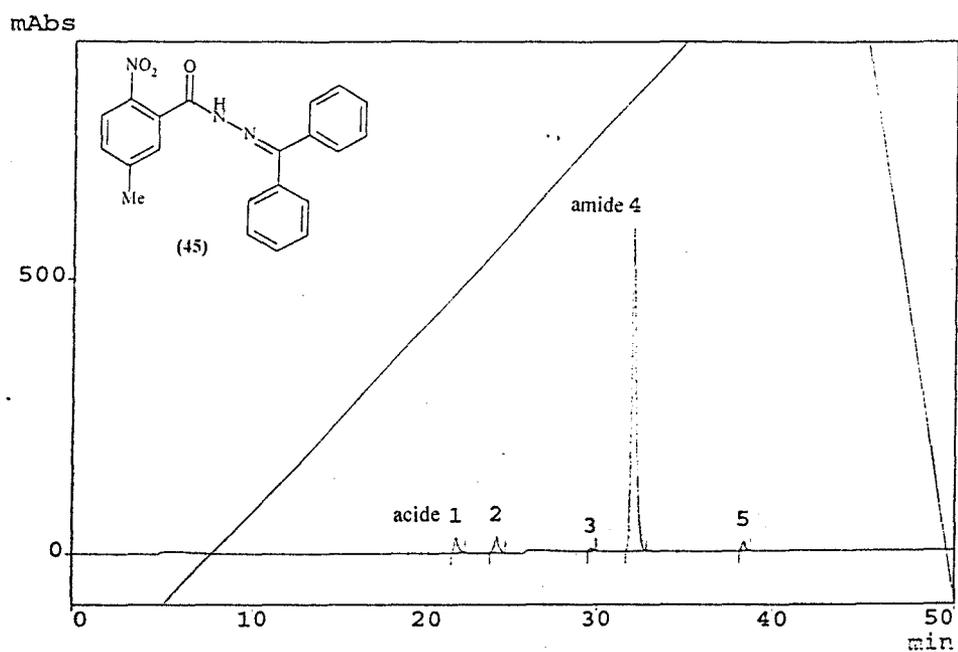
## Annexe 7

Chromatogrammes HPLC (détection à 254 nm, sauf pour l'amide (43), où la détection est réalisée à 215 nm) des milieux réactionnels de synthèse d'amides en présence du réactif (20).



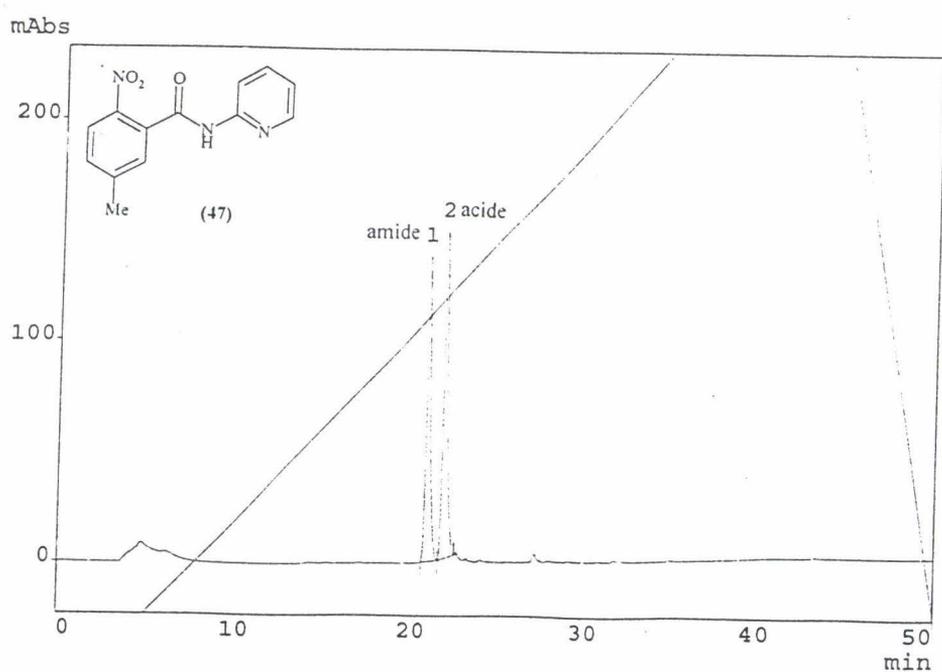
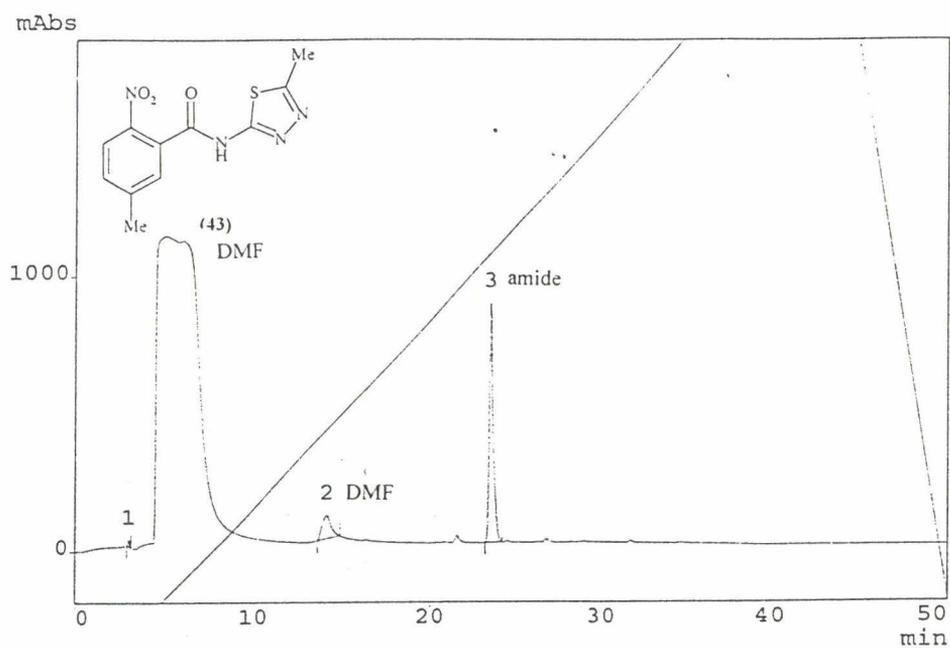
## Annexe 7 (suite)

Chromatogrammes HPLC (détection à 254 nm, sauf pour l'amide (43), où la détection est réalisée à 215 nm) des milieux réactionnels de synthèse d'amides en présence du réactif (20).



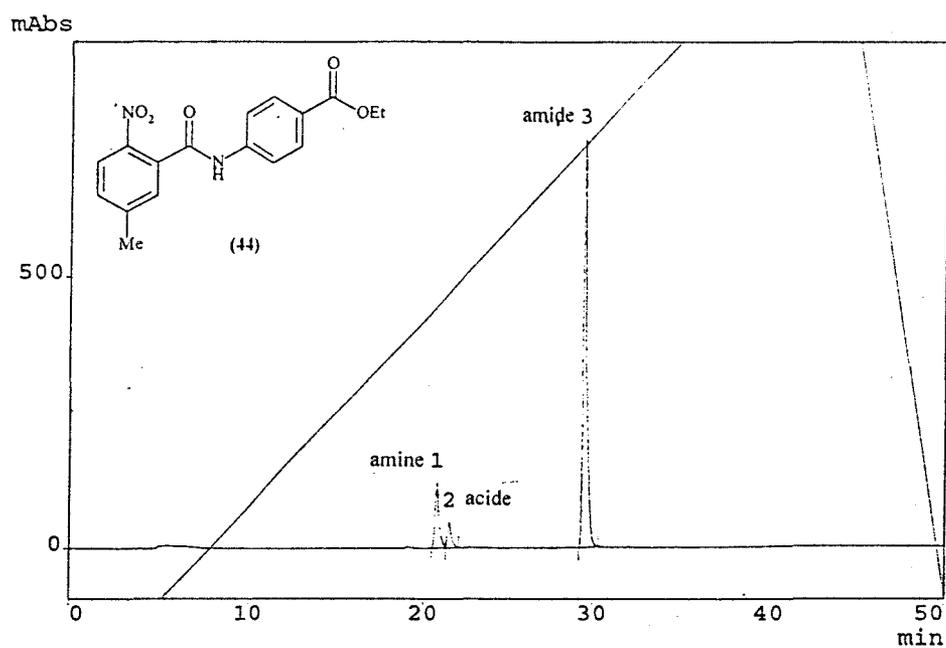
## Annexe 7 (suite)

Chromatogrammes HPLC (détection à 254 nm, sauf pour l'amide (43), où la détection est réalisée à 215 nm) des milieux réactionnels de synthèse d'amides en présence du réactif (20).



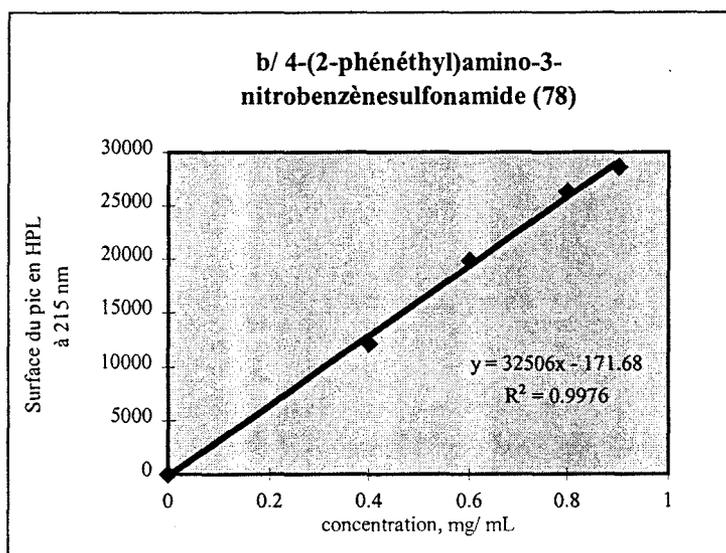
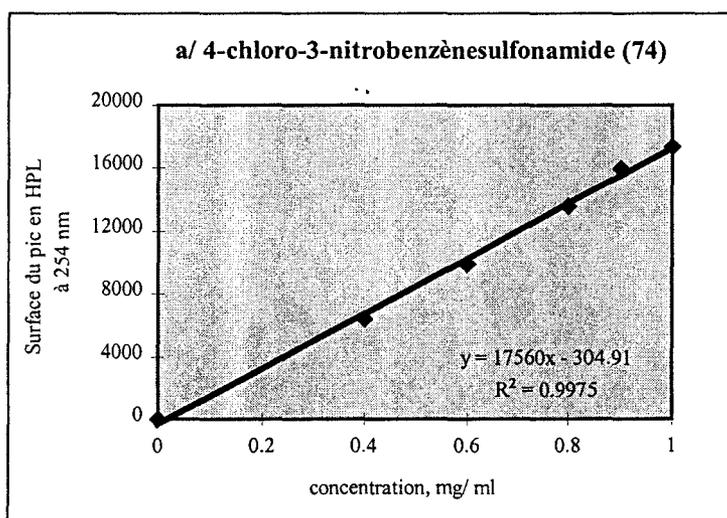
## Annexe 7 (suite)

Chromatogrammes HPLC (détection à 254 nm, sauf pour l'amide (43), où la détection est réalisée à 215 nm) des milieux réactionnels de synthèse d'amides en présence du réactif (20).



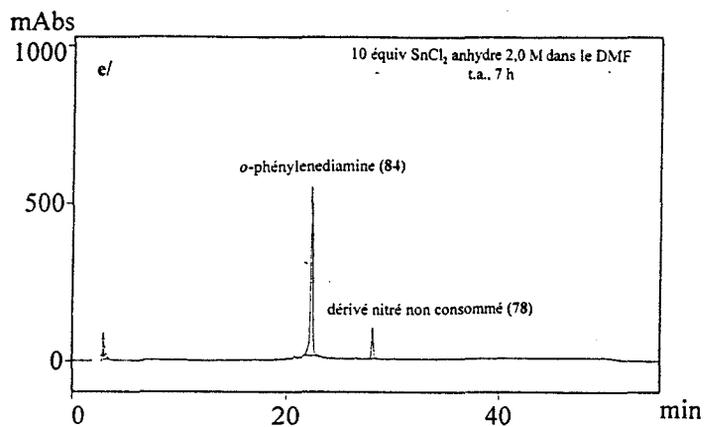
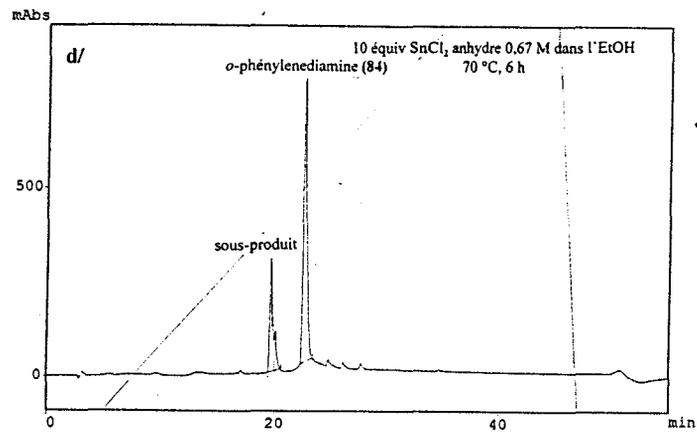
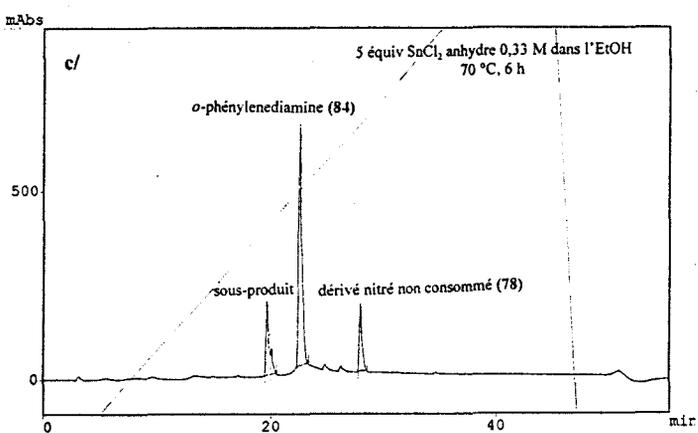
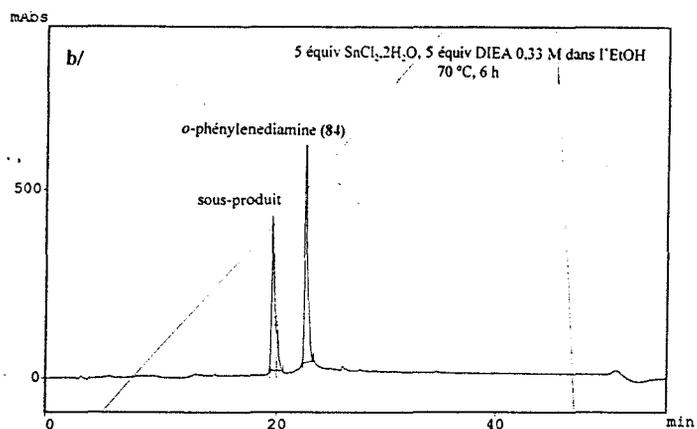
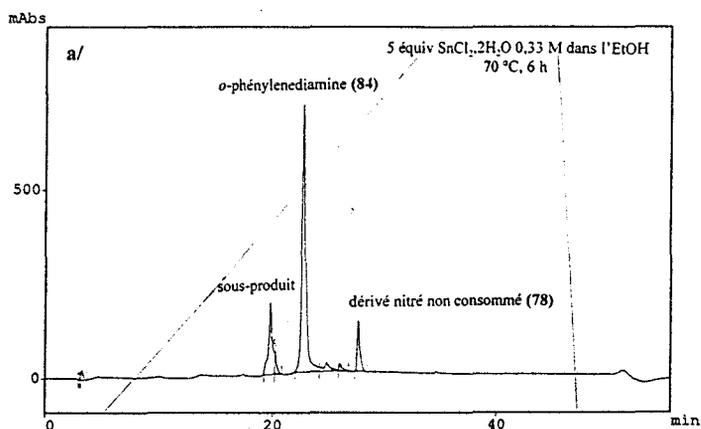
## Annexe 8

Courbes d'étalonnage HPLC du 4-chloro-3-nitrobenzènesulfonamide (75) (détection à 254 nm), et du 4-(2-phénéthyl)amino-3-nitrobenzènesulfonamide (78) (détection à 215 nm).



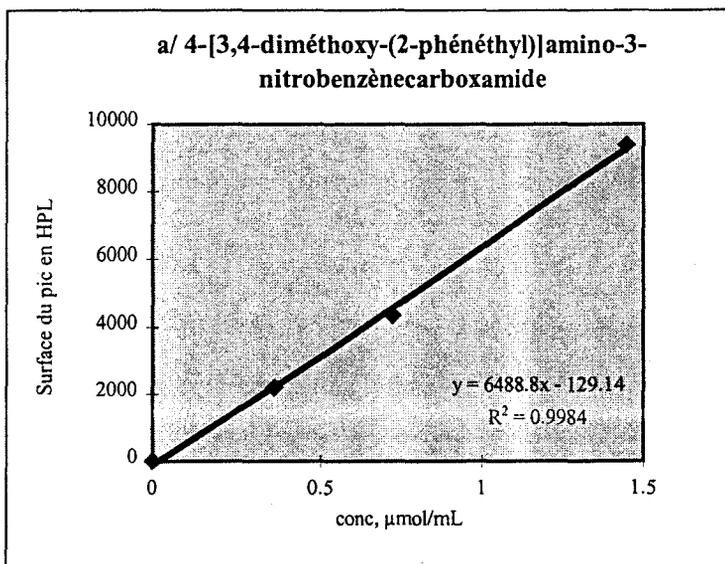
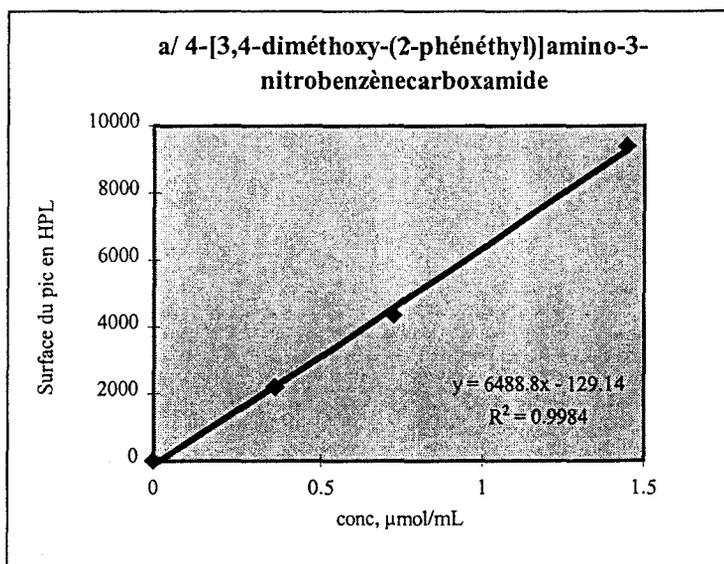
## Annexe 9

Chromatogrammes HPLC (détection à 215 nm, sauf pour le milieu réactionnel e/, où la détection est réalisée à 254 nm) des milieux réactionnels de réduction du dérivé nitré (78) dans différentes conditions



## Annexe 10

Courbes d'étalonnage HPLC du 4-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]amino-3-nitrobenzène-carboxamide et du 1-[3,4-diméthoxy-(2-phénéthyl)]-2-[2-(3,4-méthylendioxyphényl)éthyl]-benzimidazole-5-carboxamide (**98bk**) (détection à l'aide d'une barrette de diodes, de 200 nm à 400 nm).



## **BIBLIOGRAPHIE**

- <sup>1</sup> Willard, X. ; Pop, I. ; Bourel, L. ; Horvath, D. ; Baudelle, R. ; Melnyk, P. ; Déprez, B. ; Tartar, A., *Eur. J. Med. Chem.*, **1996**, *36*, 87-98
- <sup>2</sup> Bourel, L. ; Willard, X. ; Pop, I. ; Baudelle, R. ; Horvath, D. ; Déprez, B. ; Melnyk, P. ; Tartar, A., *L'actualité chimique*, déc. **1995**, 33-40
- <sup>3</sup> Melnyk, P. ; Bourel, L. ; Willard, X. ; Pop, I. ; Horvath, D. ; Déprez, B. ; Tartar, A., *Actualités de chimie thérapeutique*, **1995**, 22<sup>e</sup> série, 51-66
- <sup>4</sup> Gordon E. M., Barrett R. W., Dower W. J., Fodor S. P. A., Gallop M. A., *J. Med. Chem.*, **1994**, *37*, p. 1385-1401
- <sup>5</sup> Gallop M. A., Barrett R. W., Dower W. J., Fodor S. P. A., Gordon E. M., *J. Med. Chem.*, **1994**, *37*, 1233-1251
- <sup>6</sup> Merrifield, R. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, *85*, 2149-2154
- <sup>7</sup> Smith, P. W. ; Lai, J. Y. Q. ; Whittington, A. R. , *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1994**, *4*, 2821-2824
- <sup>8</sup> Zuckermann, R. N. ; Kerr, J. M. ; Kent, S. B. H. ; Moos, W. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10646-10647
- <sup>9</sup> Cho, C. Y. ; Moran, E. J. ; Cherry, S. R. ; Stephans, J. C. ; Fodor, S. P. A. ; Adams, C. L. ; Sundaram, A. ; Jacobs, J. W. ; Schutz, P. G., *Science*, **1993**, *261*, 1303-1305
- <sup>10</sup> Smith, A. B. ; Keenan, T. P. ; Holcomb, R. C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10672-10674
- <sup>11</sup> Pateck, M., Drake, B., Lebl, M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9169-9172
- <sup>12</sup> Hobbs DeWitt, S., Kiely, J. S., Stankovic C. J., Schroeder, M. C., Reynolds Cody, D. M., Pavia, M. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, *90*, 6909-6913
- <sup>13</sup> Rano, T. A. ; Chapman, K. T., *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 3789-3792
- <sup>14</sup> Chen, C. ; Ahlberg Randall, L. A. ; Miller, R. B. ; Jones, A. D. ; Kurth, M. J., *J. AM. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 2661-2662
- <sup>15</sup> Frenette, R. ; Friesen, R. W., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 9177-9180
- <sup>16</sup> Goff, D. A. ; Zuckermann, R. N., *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 5748-5749
- <sup>17</sup> Hirschmann, R., *Angew. Chem.*, **1991**, *30*, 1278-1301
- <sup>18</sup> Pinilla, C. ; Appel, J. R. ; Blanc, P. ; Houghten, R. A., *Biotechniques.*, **1992**, *13*, 901-905
- <sup>19</sup> Hobbs DeWitt, S. ; Schroeder, M. C. ; Stankovic, C. J. ; Strode, J. E. ; Czarnic, A. W. , *Drug Development Research*, **1994**, *33*, 116
- <sup>20</sup> Bunin, B. A. ; Ellman, J. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, 10997
- <sup>21</sup> Bunin, B. A. ; Plunkett, M. J. ; Ellman J. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, *91*, 4708-4712
- <sup>22</sup> Deshpande, M. S., *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 5613
- <sup>23</sup> Forman, F. W. ; Sucholeiki, I., *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 523
- <sup>24</sup> Yu, K. -L. ; Deshpande, M. S. ; Vyas, D. M., *Tetrahedron. Lett.* **1994**, *35*, 8919
- <sup>25</sup> Hiroshige, M. ; Hauske, J. R. ; Zhou, P., *Tetrahedron. Lett.* **1995**, *36*, 4567
- <sup>26</sup> Houghten, R. A. ; Pinilla, C. ; Blondelle, S. E. ; Appel, J. R. ; Dooley, C. T. ; Cuervo, J. H., *Nature*, **1991**, *354*, 84-86
- <sup>27</sup> Dooley, C. T. ; Houghten, R. A., *Life Sci.*, **1993**, *52*, 1509-1517
- <sup>28</sup> Déprez, B. ; Williard, X. ; Bourel, L. ; Coste, H. ; Hyafil, F. ; Tartar, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 5405-5406
- <sup>29</sup> Janda, K. D., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, *91*, 10779-10785
- <sup>30</sup> Meyers, H. V. ; Dilley, G. J. ; Durgin, T. L. ; Powers, T. S. ; Winssinger, N. A. ; Zhu, H. ; Pavia, M. R., *Molecular Diversity*, **1995**, *1*, 13-20
- <sup>31</sup> McKenzie, W. M. ; Sherrington, D. C., *J. Polymer Science : Polymer Chemistry Edition*, John Wiley & Sons, Inc., **1982**, Vol. 20

- <sup>32</sup> Harrison, C. R. ; Hodge, P. ; Hunt, B. J. ; Khoshedel, E. ; Richardson, G., *J. Org. Chem.*, **1983**, *48*, 3721
- <sup>33</sup> Caputo, R. ; Cassano, E. ; Longobardo, L. ; Mastroiani, D. ; Palumbo, G., *Synthesis*, **1995**, 141
- <sup>34</sup> Weinshenker, A. ; Shen, C. -M., *Tetrahedron Lett.*, **1972**, 3281
- <sup>35</sup> Desai, M. C. ; Stramiello, L. M. S., *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 7685-7688
- <sup>36</sup> Fridkin, M. ; Patchornic, A. ; Katchalski, E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, *87*, 4646
- <sup>37</sup> Fridkin, M. ; Patchornic, A. ; Katchalski, E., *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 3164
- <sup>38</sup> Kalir, R. ; Fridkin, M. ; Patchornic, A., *Eur. J. Biochem*, **1974**, *42*, 151
- <sup>39</sup> Fridkin, M. ; Hazum, E. ; Kalir, R. ; Rotman, M. ; Koch, Y., *J. Solid-Phase Biochem.*, **1977**, *2*, 175
- <sup>40</sup> Kalir, R. ; Warshawsky, A. ; Fridkin, M. ; Patchornic, A., *Eur. J. Biochem.*, **1975**, *59*, 55
- <sup>41</sup> Mokotoff, M. ; Patchornic, A., *Int. J. Pept. Protein Res*, **1983**, *21*, 145
- <sup>42</sup> Mokotoff, M. ; Zhao, M. ; Roth, S. M. ; Slavosky, J. N. ; Shelley, J. A., *J. Med. Chem.*, **1990**, *33*, 354
- <sup>43</sup> Guernet, M. ; Hamon, M., *Abrégé de Chimie Analytique, Tome 1, Chimie des solutions, 2<sup>e</sup> édition*, 137-138
- <sup>44</sup> Sarin, V. K. ; Kent, B. H. ; Tam, J. P. ; Merrifield, R. B., *Anal. Biochem.*, **1981**, *117*, 147
- <sup>45</sup> Bartos, J. ; Pesez, M., *Pratique de l'analyse organique colorimétrique et fluorimétrique, 2<sup>e</sup> édition*, 206-209
- <sup>46</sup> Pop, I. E. ; Dépréz, B. P. ; Tartar, A. L., *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 2594-2603
- <sup>47</sup> Carpino, L. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 4397-4398
- <sup>48</sup> Jensen, T. -H. ; Olsen, C. A. ; Holm, A., *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 1257-1263
- <sup>49</sup> Carpino, L. A. ; Faham, A. -E. ; Minor, C. A. ; Albericio, F., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1994**, 201-203
- <sup>50</sup> Wijkmans, J. C. H. M. ; Blok, F. A. A. ; van der Marel, G. A. ; van Boom, J. H. ; Bloemhoff, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, *36*, 4643-4646
- <sup>51</sup> König, W. ; Geiger, R., *Chem. Ber.*, **1970**, *103*, 788-798
- <sup>52</sup> Koppel, I. ; Koppel, J. ; Leito, I. ; Pihl, V. ; Grehn, L. ; Ragnarsson, U., *J. Chem. Res. (S)*, **1993**, 446
- <sup>53</sup> von Arx, E. ; Faupel, M. ; Brugger, M., *J. Chromatography*, **1976**, *120*, 224-228
- <sup>54</sup> Christensen, T., *Acta Chem. Scandinavica*, **1979**, 763-766
- <sup>55</sup> Frérot, E. ; Coste, J. ; Pantaloni, A. ; Dufour, M., -N. ; Jouin, P., *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 259-270
- <sup>56</sup> Coste, J. ; Frérot, E. ; Jouin, P., *Tetrahedron Lett.*, **1991**, *32*, 1967-1970
- <sup>57</sup> Mutch, D. A. ; Rodda, S. J. ; Benstead, M. ; Valerio, R. M. ; Geysen, H. M. *Peptide Res.* **1991**, *4*, 132-137
- <sup>58</sup> Okawara, T. ; Nakayama, K. ; Furukawa, M. *Heterocycles* **1982**, *19*, 1571-1574
- <sup>59</sup> Shalmashi, A. ; Palit, G. ; Srivastava, V. K. ; Shanker, K. *Indian J. Chem.* **1994**, *33B*, 597-599
- <sup>60</sup> Allinger, N. L. ; Wang, G. L. ; Dewhurst, B. B. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1730-1735
- <sup>61</sup> Engel, N. ; Steglich, W. *Liebigs Ann. Chem.* **1978**, 1916-1927
- <sup>62</sup> Poot, A. L. L. ; Willems, J. F. ; Heugebaert, F. C. *Bulletin des Sociétés Chimiques de Belgique* **1963**, *72*, 365-373
- <sup>63</sup> Kamel, M. ; Allam, M. A. ; Abou-Zeid, H. Y., *Tetrahedron* **1967**, *23*, 1863-1866
- <sup>64</sup> Goeker, H. ; Akguen, H. ; Yulug, N. *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)* **1991**, *5*, 283-286
- <sup>65</sup> Obase, H. ; Takai, H. ; Teranishi, M. *J. Heterocyclic Chem.* **1983**, *20*, 565-573

- <sup>66</sup> Phillips, M. A. *J. Chem. Soc.* **1930**, 1409
- <sup>67</sup> Roeder, C. H.; Day, A. R. *J. Org. Chem.* **1941**, *6*, 25
- <sup>68</sup> Horvath, D. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2412-2423
- <sup>69</sup> Horvath, D. ; Déprez, B. ; Tartar, A. *Act. Chim. Ther.* **1997**, *23*, 55-69
- <sup>70</sup> Robinson, D. ; Barlow, T. W. ; Richards, W. G. *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* **1997**, *37*, 943-950
- <sup>71</sup> King et al *Int. J. Peptide Protein Res.* **1990**, *36*, 255
- <sup>72</sup> March, J., *Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mecanisms and Structure, 4<sup>th</sup> edition*, 641-676
- <sup>73</sup> Bayer, E., *Angew. Chem.*, **1991**, *103*, 117, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1991**, *30*, 113
- <sup>74</sup> Bayer, E. ; Rapp, W., *Chem. Pept. Protein*, **1986**, *3*, 3
- <sup>75</sup> Bayer, E., *Int. J. Pept. Protein Res.*, **1985**, *25*, 178
- <sup>76</sup> Majetich, G. ; Hicks, R., *Res. Chem. Intermed.*, **1994**, *20*, 61-77
- <sup>77</sup> Geyde, R. ; Smith, F. ; Westway, K. ; Ali, H. ; Baldisera, L. ; Laberge, L. ; Roussel, J., *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 279-282
- <sup>78</sup> Rylander, P. *Catalytic Hydrogenation over Platinum Metals*; Academic Press: New York **1979**, 113
- <sup>79</sup> Yuste, F.; Saldana, M.; Walls, F. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 147-148
- <sup>80</sup> Furst, A.; Berlo, R. C.; Hooton, S. *Chem. Rev.* **1965**, *65*, 51-68
- <sup>81</sup> Satoh, T.; Mitsuo, N.; Inoue, Y.; Ooi, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 1443; TL 4555 (1969); *Chem. Pharm. Bull.* *29* 1159 (1981); BSCF 1996 (1959)
- <sup>82</sup> Xing, W. K.; Ogata, Y. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 3577
- <sup>83</sup> Albert, A.; Linnel, W. H. *J. Chem. Soc.* **1936**, 1614
- <sup>84</sup> Bellamy, F. D.; Ou, K. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 839-842
- <sup>85</sup> March, J., *Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mecanisms and Structure, 4<sup>th</sup> edition*, 1206-1233
- <sup>86</sup> Coombes, R. G. *Comprehensive Organic Chemistry*; Burton, D.; Ollis, W. D., Eds.; Pergamon Press: Oxford, 1979; Vol. 2, pp 343-344
- <sup>87</sup> Loupy, A. ; Haudrechy, A., *Effets de milieu en synthèse organique ; Des effets de solvants aux méthodes d'activation non classiques*, Ed. Masson, Paris, 1996, 1-63 et 116-200
- <sup>88</sup> Zimmerman, S. C., Schmitt, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10769-10770
- <sup>89</sup> Kamel, M.; Allam, M. A.; Abou-Zeid, H. Y.; *Tetrahedron* **1967**, *23*, 1863-1866
- <sup>90</sup> Yan, B. ; Kumaravel, G. ; Anjaria, H. ; Wu, A. ; Petter, R. C. ; Jewell, C. F. Jr. ; Wareing, J. *R. J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5736-5738
- <sup>91</sup> Yan, B. ; Kumaravel, G. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 843-848
- <sup>92</sup> Lowe, I. J. *Phys. Rev. Lett.* **1959**, *2*, 285-287
- <sup>93</sup> Andrew, E., R. ; Bradbury, A. ; Eades, R., *G. Nature* **1959**, *183*, 1802-1803
- <sup>94</sup> Fitch, X. L. ; Detre, G. ; Holmes, C. P. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7955-7956
- <sup>95</sup> Sarkar, S. K. ; Garigipat, R. S. ; Adams, J. L. ; Keifer, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2305-2306
- <sup>96</sup> Keifer, P. A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1558-1559
- <sup>97</sup> Anderson, R. C. ; Jarema, M. A. ; Shapiro, M. J. ; Stokes, J. P. ; Ziliox, M. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 2650-2651
- <sup>98</sup> Anderson, R. C. ; Stokes, J. P. ; Shapiro, M. J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5311-5314
- <sup>99</sup> Chin, J. : Fell, B. ; Shapiro, M. J. ; Tomesch, J. ; Wareing, J. R. ; Bray, A. B. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 538-539
- <sup>100</sup> Dhalluin, C. ; Pop, I. ; Déprez, B. ; Melnyk, P. ; Tartar, A. ; Lippens, G. *Molecular Diversity and Combinatorial Chemistry. Libraries and Drug Discovery*, « Proceedings of two

conferences sponsored by Cambridge Healthtech Institute, Coronado, California, January 28-February 2, 1996 », 1996, ACS conference proceeding series, ed. by Irvin M. Chaiken and Kim D. Janda, 255-272

<sup>101</sup> Pop, I. E. ; Dhalluin, C. F. ; Déprez, B. P. ; Melnyk, P. C. ; Lippens, G. M. ; Tartar, A. L. *Tetrahedron*, 1996, 52, 12209-12222

<sup>102</sup> Bax, A. ; Griffey, R. H. ; Hawkins, B. L. ; *J. Am. Chem. Soc.* 1983, 105, 7188-7190

<sup>103</sup> Griesinger, C. ; Otting, G. ; Wüthrich, K. ; Ernst, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* 1988, 110, 7870-7872

<sup>104</sup> Fuks, L. F. ; Huang, F. S. C. ; Carter, C. M. ; Edelstein, W. A. ; Roemer, P. B. *J. Mag. Res.* 1992, 100, 229

<sup>105</sup> Keifer, P. A. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 1558-1559

<sup>106</sup> Ganapathy, S. ; Rajamohanan, P. R. ; Ramanujulu, P. M. ; Mandhare, A. B. ; Mashelkar, R. A. *Polymer*, 1994, 35, 888-891

<sup>107</sup> Kumar, A. ; Ernst, R. R. ; Wüthrich, K. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1980, 95, 1-6

<sup>108</sup> Yu, K., -L. ; Deshpande, M., S. ; Vyas, D. M. *Tetrahedron Lett.* 1994, 35, 8919-8922

<sup>109</sup> Hiroshige, M. ; Hauske, J. R. ; Zhou, P. *Tetrahedron Lett.* 1995, 33, 4567-4570

<sup>110</sup> Dhalluin, C. ; Boutillon, C. ; Tartar, A. ; Lippens, G. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 10494-10500

<sup>111</sup> Long, J. R. ; Sun, B. ; Q. ; Bowen, A. ; Griffin, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 117, 147-157

<sup>112</sup> Arad, O. ; Houghten, R. A. *Pept. Res.* 1990, 3, 42-50

<sup>113</sup> Zimmerman, D. M. ; Cantrell, B. E. ; Smith, E. C. R. ; Nixon, J. A. ; Bruns, R. F. ; Gitter, B. ; Hipskind, P. A. ; Ornstein, P. L. ; Zarrinmayeh, H. ; Britton, T. C. ; Schober, D. A. ; Gehlert, D. R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998, 8, 473-476

