

SIMON OUELLET

**NOUVELLE MÉTHODOLOGIE DE SYNTHÈSE DE MOLÉCULES À POTENTIEL
DIURÉTIQUE**

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en Chimie
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES ET DE GÉNIE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

JUILLET 2007

©Simon Ouellet, 2007

RÉSUMÉ

Le présent mémoire propose l'élaboration d'une nouvelle méthodologie de synthèse de molécules ayant un potentiel diurétique, et ciblant plus particulièrement les cotransporteurs cations-chlorures, responsables du mouvement couplé des ions sodium et/ou potassium avec celui du chlorure dans plusieurs types de cellules dont celles des néphrons.

La première partie est consacrée à une description de la chimie combinatoire, aux travaux antérieurs effectués dans notre laboratoire en chimie combinatoire sur support solide et à une introduction sur les sulfamides, les médicaments diurétiques et les transporteurs membranaires du rein. Le deuxième chapitre est consacré à la synthèse, à l'analyse et aux tests d'activité biologique effectués sur les molécules synthétisées. Le troisième chapitre traite de la synthèse et de la caractérisation de molécules de départ pouvant permettre la synthèse d'une gamme de produits au potentiel diurétique possédant des groupements fonctionnels encore plus diversifiés. Finalement, le quatrième et dernier chapitre traite de nos travaux effectués dans le but de synthétiser sur support solide des molécules au potentiel diurétique dans le but d'utiliser les énormes possibilités offertes par la chimie combinatoire et la synthèse rapide en parallèle.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à remercier mon directeur de recherche, le professeur Normand Voyer, qui m'a donné la chance d'effectuer des travaux de recherche stimulants au sein d'un groupe de recherche exceptionnel et dans une atmosphère où il fait bon se retrouver chaque jour. Merci Normand pour ton enthousiasme qui sait toujours nous faire tirer le meilleur de nous mêmes.

J'aimerais également remercier le docteur Paul Isenring, qui, par son expertise exceptionnelle en tant que néphrologue et chercheur du Centre de recherche de l'Hôtel-Dieu de Québec, m'a permis d'effectuer une partie importante de mes travaux de maîtrise et m'a accueilli au sein de son groupe lors d'une visite fort enrichissante.

Je voudrais aussi remercier mes collègues de laboratoire : Éric Biron, Dominique Hivon, Pierre-Luc Boudreault, David Lee, Michel Dumont, Julie Richer et Joelle Martin-Boutin. Plus que des collègues, ils ont été et seront toujours des amis avec qui j'ai passé des moments plus qu'agréables. Je tiens également à remercier nos professionnels de recherche, François Otis et Mélanie Tremblay, sans qui le travail ainsi que les fins de journées seraient souvent plus pénible. Je souligne aussi le travail de mon étudiant d'été, Jean-Philippe Blanchette, qui fût et qui est toujours un partenaire fort apprécié que je remercie grandement.

Je remercie également Marc Bergeron, étudiant au doctorat au sein du groupe du docteur Paul Isenring, pour sa participation essentielle à mon projet du point de vue biologique.

Finalement, je remercie mes amis et ma famille, en particulier mes parents, qui ont toujours cru en moi malgré toutes les difficultés, et souvent plus que je n'ai su croire en moi-même, merci infiniment.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	iv
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	vii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	xi
CHAPITRE 1.....	1
INTRODUCTION.....	1
1.1 CHIMIE COMBINATOIRE.....	1
1.1.1 <i>Généralités</i>	1
1.1.2 <i>Principes de la chimie combinatoire</i>	3
1.1.3 <i>Chimie combinatoire sur support solide</i>	5
1.1.3.1 Les résines.....	5
1.1.3.2 Les ancres.....	6
1.1.4 <i>Méthode de synthèse « Mix and Split »</i>	8
1.1.4.1 Déconvolution.....	9
1.1.5 <i>Synthèse en parallèle</i>	11
1.1.6 <i>Chimie combinatoire assistée par radiations micro-ondes</i>	12
1.1.7 <i>Encodage de librairies « tagging »</i>	13
1.2 LES SULFAMIDES.....	14
1.2.1 <i>Historique</i>	14
1.2.2 <i>Sulfamides diurétiques</i>	19
1.3 DIURÉTIQUES ET TRANSPORTEURS MEMBRANAIRES.....	25
1.3.1 <i>Les reins</i>	25
1.3.2 <i>Les néphrons</i>	26
1.3.3 <i>Les diurétiques</i>	27
1.3.3.1 Définition.....	27
1.3.3.2 Mécanismes d'action.....	28
1.3.4 <i>Les cotransporteurs cations-chlorures</i>	29
1.4 OBJECTIFS.....	32
CHAPITRE 2.....	33
SYNTHÈSE DE MOLÉCULES AU POTENTIEL DIURÉTIQUE.....	33
2.1 PRÉAMBULE.....	33
2.2 LE FUROSÉMIDE.....	34

2.2.1	<i>Généralités</i>	34
2.2.2	<i>Utilités thérapeutiques</i>	34
2.2.3	<i>Effets secondaires</i>	35
2.2.4	<i>Analyse structurale</i>	36
2.3	LE PROTOTYPE.....	37
2.3.1	<i>Les règles de Lipinski</i>	39
2.4	SYNTHÈSE DES MOLÉCULES.....	40
2.4.1	<i>Stratégie</i>	40
2.4.2	<i>Molécules de base et mécanisme</i>	42
2.4.3	<i>Molécules synthétisées</i>	43
2.4.4	<i>Difficultés et particularités</i>	46
2.4.4.1	Solubilité des réactifs.....	46
2.4.4.2	Sel de triéthylamine.....	47
2.4.4.3	Autres synthèses.....	49
2.5	TESTS D'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE.....	51
2.5.1	<i>Introduction</i>	51
2.5.2	<i>Flux radioactif</i>	52
2.5.3	<i>Résultats et discussion</i>	53
2.6	CONCLUSION.....	58
	CHAPITRE 3.....	59
	SYNTHÈSE DE NOUVEAUX SULFONAMIDES.....	59
3.1	PRÉAMBULE.....	59
3.2	STRATÉGIE DE SYNTHÈSE.....	60
3.3	COMPOSÉS SYNTHÉTISÉS.....	61
3.3.1	<i>Les anilines</i>	61
3.3.2	<i>Résultats et discussion</i>	62
3.3.2.1	Protection de la fonction amine.....	62
3.3.2.2	Synthèse d'acétamidobenzènesulfonamides halogénés.....	64
3.3.2.3	Synthèse d'aminobenzènesulfonamides halogénés.....	69
3.3.3	<i>Conclusion</i>	71
	CHAPITRE 4.....	72
	SYNTHÈSE SUR SUPPORT SOLIDE DE MOLÉCULES AU POTENTIEL DIURÉTIQUE.....	72

4.1	PRÉAMBULE.....	72
4.2	SUPPORT SOLIDE	73
4.2.1	<i>Préparation de la résine oxime</i>	73
4.3	STRATÉGIE DE SYNTHÈSE SUR SUPPORT SOLIDE	74
4.4	RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	76
4.4.1	<i>Préambule</i>	76
4.4.2	<i>Protection par un groupement BOC</i>	77
4.4.2.1	Acides aminobenzoïques	77
4.4.2.2	Acides aminobenzènesulfoniques.....	78
4.4.2.3	Conclusion	82
4.4.3	<i>Couplage sur résine oxime</i>	83
4.4.3.1	Préambule	83
4.4.3.2	Couplage d'acides BOC-aminobenzoïques	83
4.4.3.3	Couplage de l'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique.....	84
4.4.3.4	Couplage d'acides sulfoniques sans protection BOC	86
4.4.4	<i>Clivage avec l'ammoniaque</i>	88
4.4.5	<i>Conclusion</i>	89
	CONCLUSION GÉNÉRALE.....	90
	PARTIE EXPÉRIMENTALE	92
	ANNEXES.....	126
	RÉFÉRENCES.....	183

LISTE DES ABRÉVIATIONS

<u>Abréviation</u>	<u>Nom</u>
Ac ₂ O	Anhydride acétique
AcOEt	Acétate d'éthyle
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNc	Acide désoxyribonucléique complémentaire
Ala	Alanine
ANP	Peptide atrial natriurétique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ARNc	Acide ribonucléique complémentaire
ATP	Adénosine triphosphate
BOC	<i>Tert</i> -butyloxycarbonyl
BOP	Benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphoniumhexafluorophosphate
CCCs	Cotransporteurs cations-chlorures
CIP1	Protéine d'interaction CCC 1
CPM	Comptes par minute
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
DIC	Diisopropylcarbodiimide
DIEA	Diisopropyléthylamine
DMAP	4-(Diméthylamino)-pyridine
DMF	<i>N, N</i> -Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
Et ₃ N	Triéthylamine
Glu	Acide glutamique
HATU	2-(7-Aza-1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate
HOBt	Hydroxybenzotriazole
HPLC	Chromatographie liquide à haute pression
hu	human
IAC	Inhibiteur de l'anhydrase carbonique

KCC1	Cotransporteur ions potassium-chlorures 1
KCC2	Cotransporteur ions potassium-chlorures 2
KCC3	Cotransporteur ions potassium-chlorures 3
KCC4	Cotransporteur ions potassium-chlorures 4
Leu	Leucine
Lys	Lysine
MeCN	Acétonitrile
MeOH	Méthanol
ms	mouse
NCC1	Cotransporteur ions sodium-chlorures 1
NKCC1	Cotransporteur ions sodium-potassium-chlorures 1
NKCC2	Cotransporteur ions sodium-potassium-chlorures 2
PABA	Acide para-aminobenzoïque
Phe	Phénylalanine
rb	rabbit
rt	rat
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RMN ¹ H	Résonance magnétique nucléaire du proton
SDS	Dodécylsulfate de sodium
Ser	Sérine
SOSS	Synthèse organique sur support solide
T.P.	Température et pression ambiantes
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofuranne
Val	Valine

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Le procédé classique menant à la découverte ou à l'optimisation de composés actifs.....	2
Figure 2 : Principe de la synthèse conventionnelle (A) versus la synthèse combinatoire (B)...	3
Figure 3 : Exemples d'ancres utilisées en synthèse sur support solide.....	7
Figure 4 : Méthode de synthèse « Mix and Split ».....	8
Figure 5 : Principe de déconvolution.....	10
Figure 6 : Synthèse en parallèle.....	12
Figure 7 : Scission du Prontosil par réduction <i>in vivo</i>	15
Figure 8 : Métabolisme de l'acide folique	17
Figure 9 : Des sulfamides aux sulfones	17
Figure 10 : Sulfamides hypoglycémiant.....	18
Figure 11 : Représentation schématique du néphron et des sites d'action de certains diurétiques.....	19
Figure 12 : Sulfamides diurétiques et autre.....	21
Figure 13 : Sulfamides diurétiques et autres (suite).....	22
Figure 14 : Sulfamides diurétiques et autres (suite II).....	23
Figure 15 : Structure des néphrons	26
Figure 16 : Schéma des segments du tubule rénal	28
Figure 17 : Cladogramme de la famille des CCCs	30
Figure 18 : Modèles proposés et corrélations d'identité entre les protéines sNKCC1 et hNKCC1.....	30
Figure 19 : Modèle hypothétique du passage ordonné des ions	31
Figure 20 : Les pharmacophores du furosémide	36
Figure 21 : Prototype de nouvelles molécules à potentiel diurétique	38
Figure 22 : Structures 3D et champs électrostatiques du furosémide et de notre prototype ...	38
Figure 23 : Rétro-synthèse	41
Figure 24 : Stratégie de synthèse en solution	41
Figure 25 : Les synthons	43
Figure 26 : Structures des molécules synthétisées	44-45

Figure 27 : Traitement des sels de triéthylamine par résine échangeuse d'ions	48
Figure 28 : Synthèses plus ou moins réussies	49
Figure 29 : Expression de CCCs dans des oocytes de <i>Xenopus Laevis</i>	52
Figure 30 : Synthèse de sulfonamides halogénés	60
Figure 31 : Anilines utilisées pour la synthèse d'aminobenzènesulfonamides halogénés	62
Figure 32 : Structures des composés 69a, b, e et g	66
Figure 33 : Mécanisme réactionnel de la réaction avec l'acide chlorosulfonique	66
Figure 34 : Structures des composés 70a, e et g	69
Figure 35 : Préparation de la résine oxime 73	73
Figure 36 : Rétrosynthèse sur support solide d'un benzènesulfonamide prototype	74
Figure 37 : Schéma de synthèse sur support solide de benzènesulfonamides substitués	75
Figure 38 : Protection à l'aide du groupement BOC d'acides aminobenzoïques	77
Figure 39 : Réaction générale de protection BOC de l'acide 4-aminobenzènesulfonique (77).....	78
Figure 40 : Réaction générale de protection BOC de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique (78).....	80
Figure 41 : Tentative de couplage sur la résine oxime d'acides BOC-aminobenzoïques	83
Figure 42 : Couplage sur résine de l'acides BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique (78b)	85
Figure 43 : Schéma de réaction pour le couplage d'acides sulfoniques non protégés en BOC.....	86
Figure 44 : Clivage à l'aide d'ammoniaque gazeux.....	88

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Paramètres de Lipinski calculés pour le furosémide et le prototype.....	40
Tableau 2 : Résultats des synthèses en solution.....	45
Tableau 3 : Résultats des synthèses pour les composés 60 à 65	49
Tableau 4 : Résultats des tests d'inhibition de flux sur les composés 40 , 41 et 43	54
Tableau 5 : Résultats des tests d'inhibition de flux sur les composés 53 , 54 et 55	55
Tableau 6 : Résultats des tests d'inhibition de flux sur les composés 47 , 49 , 50 , 51 et 52	56
Tableau 7 : Résultats des synthèses d'acétanilides.....	63
Tableau 8 : Résultats des synthèses d'acétamidobenzènesulfonamides halogénés.....	65
Tableau 9 : Résultats des synthèses d'aminobenzènesulfonamides halogénés.....	69
Tableau 10 : Résultats des essais de protection BOC de l'acide 4-aminobenzènesulfonique (77).....	78
Tableau 11 : Résultats des essais de protection BOC de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique (78).....	81
Tableau 12 : Essais de couplage sur résine d'acides sulfoniques non protégés en BOC.....	87

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1 Chimie combinatoire

1.1.1 Généralités

La biologie moléculaire a changé la manière selon laquelle de nouveaux agents thérapeutiques sont découverts et optimisés. Les scientifiques d'aujourd'hui, ayant identifié une multitude de cibles biologiques liées à divers désordres, tentent désormais de développer des composés interagissant directement avec ces cibles spécifiques et pouvant ainsi mener à de nouvelles thérapies. Des milliers de composés sont ainsi testés grâce au criblage à haut débit sur chacune des cibles biologiques identifiées, et c'est ici que la chimie combinatoire devient un outil indispensable.

De manière conventionnelle, le développement d'un nouveau médicament par l'industrie pharmaceutique a toujours nécessité la synthèse individuelle et la mesure de l'activité biologique de centaines, voir de milliers de molécules organiques dans le but d'en optimiser l'activité, la sélectivité ainsi que la biodisponibilité, tout en diminuant sa toxicité le plus possible (Figure 1(1)). En moyenne, c'est plus de 6,5 années qui sont nécessaires à un composé pour en venir aux tests cliniques poussés (1). En effet, si nous prenons exemple sur la

nature, qui produit une multitude de composés possédant diverses fonctionnalités (les peptides par exemple) à partir de seulement quelques unités synthétiques (les 20 acides aminés), nous observons que pour la formation d'hexapeptides à partir de ces 20 acides aminés protéogéniques, il existe un nombre astronomique de possibilités d'arrangements différents de ces acides aminés, soit $20^6 = 64$ millions de différents peptides (2).

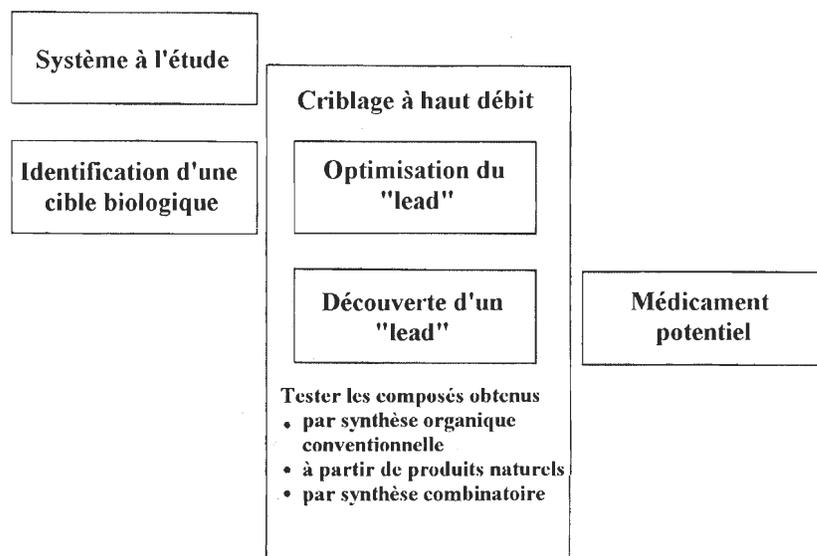


Figure 1 : Le procédé classique menant à la découverte ou à l'optimisation de composés actifs

La chimie combinatoire permet la synthèse rapide de molécules beaucoup plus rapidement que par les méthodes conventionnelles de synthèse organique. De cette manière, la chimie combinatoire a, depuis le début des années 1990, attiré l'attention des compagnies pharmaceutiques en ouvrant la porte à une possible diminution des coûts et du temps nécessaires au développement de nouveaux médicaments.

Les principes utilisés en chimie combinatoire appliquée à la synthèse de petites molécules organiques trouvent leurs racines dans la chimie de synthèse peptidique. Le design de l'appareil « multipin » de Geysen en 1984 (3) et la méthode « tea-bag » de Houghten en 1985 (4) sont à la base de la synthèse combinatoire de peptides, rendue possible par les travaux très convaincants de Merrifield sur la synthèse sur support solide de peptides décrite pour la première fois en 1963 (5). Cependant, c'est plus précisément Furka qui fit se matérialiser la

synthèse combinatoire sur support solide de peptides, en décrivant sa méthode dite « split and pool » en 1988 (6). Nous pouvons donc considérer cette date comme étant la naissance comme telle de la chimie combinatoire. De nombreuses études ont clairement démontré la puissance de la chimie combinatoire en chimie médicinale. Cependant, les peptides possèdent un certain nombre de désavantages en tant que médicament, comme une faible biodisponibilité et une dégradation protéolytique rapide. Pour ces raisons, leur utilité en tant qu'agents thérapeutiques est limitée (7). C'est pourquoi la chimie combinatoire des dernières années s'est plutôt dirigée vers la synthèse de bibliothèques de petites molécules organiques.

1.1.2 Principes de chimie combinatoire

Le principe de base de la chimie combinatoire est la préparation d'un grand nombre de composés différents en même temps, plutôt que de synthétiser les composés un à un de manière conventionnelle. Par la suite, il faut identifier le composé prometteur dans le but de l'améliorer par synthèse rapide d'analogues et par criblage à haut débit. Plusieurs composés sont donc synthétisés simultanément et sous des conditions réactionnelles identiques de manière systématique, permettant toutes les combinaisons possibles reliées à l'utilisation d'un ensemble de composés de départ « synthons » (Figure 2). L'ensemble de ces composés synthétisés simultanément est ce que nous appelons une bibliothèque de composés. La dite bibliothèque peut par la suite être testée dans le but d'en déterminer et d'en extraire le ou les composés actifs.

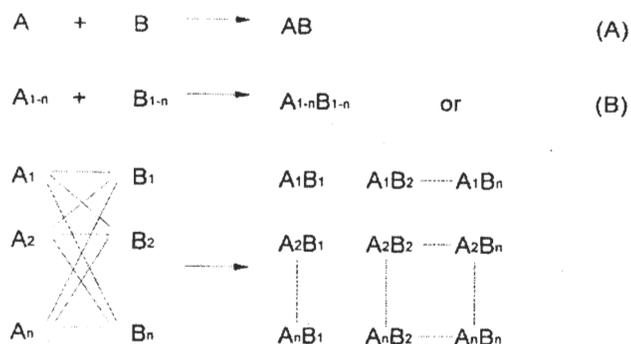


Figure 2 : Principe de la synthèse conventionnelle (A) versus la synthèse combinatoire (B)(1)

La taille des bibliothèques se situe habituellement entre quelques dizaines et quelques centaines de milliers de composés. Dans une synthèse combinatoire multi-étape, le nombre total de composés synthétisés est déterminé à l'aide de deux facteurs : le nombre de synthons utilisés par réaction et le nombre d'étapes réactionnelles dans lesquelles un nouveau synthon est incorporé. Le nombre total de composés (N) est donné par l'équation $N = bx$, où b est le nombre de synthons utilisés dans chacune des réactions (1, 2, ..., x) et x est le nombre d'étapes réactionnelles dans lesquelles un nouveau synthon est ajouté. Si le nombre de synthons varie pour chacune des étapes réactionnelles (i.e., a, b, c dans une synthèse à trois étapes) $N = a \cdot b \cdot c$ à ce moment. Il est cependant important de spécifier que la décision de produire une très grande bibliothèque comparativement à une plus petite se doit d'être prise en considérant le type de tests qui devront être effectués sur les composés en question. Il faut savoir si les produits doivent être testés de façon individuelle ou si des mélanges peuvent être testés. Cette décision influencera à la fois le type de synthèse ainsi que la procédure biologique à utiliser. Si nous utilisons des mélanges, il apparaît évident que plus de composés et de tests peuvent être effectués en moins de temps. Il ne faudrait cependant pas négliger le fait qu'il est possible, lors de tests de mélanges, d'obtenir des faux positifs ou négatifs. Il est possible de remédier à ce problème en synthétisant des bibliothèques comportant un nombre de molécules plus restreint. De ce fait, des études effectuées démontrent que pour déterminer efficacement la relation structure-activité d'une bibliothèque de composés, cette dernière doit contenir au plus une vingtaine de produits (2, 8).

La chimie combinatoire peut être effectuée à la fois en solution et sur support solide. La synthèse sur support solide de petites molécules organiques est de nos jours aussi bien optimisée que la synthèse de peptides. De plus, la synthèse sur support solide comporte plusieurs avantages par rapport à la synthèse en solution. La réaction peut être accélérée par l'utilisation d'un large excès de réactif, ce qui favorise l'obtention d'une réaction complète. Les purifications difficiles sont remplacées par de simples lavages et filtrations du support solide après chaque réaction. La synthèse sur support solide est, de plus, facilement automatisable, ce qui est un autre avantage qui permet d'expliquer pourquoi la majorité des petites molécules synthétisées par chimie combinatoire le sont à l'aide d'un support solide.

1.1.3 Chimie combinatoire sur support solide

Lors d'une synthèse sur support solide, les molécules synthétisées sont attachées à un polymère (résine) et muni d'une « ancre » (linker), permettant l'attache des molécules au support polymérique. Les types de support et d'ancre employés déterminent les conditions de synthèse à utiliser.

1.1.3.1 Les résines

Au cours des quinze dernières années, un nombre impressionnant de supports solides ont été synthétisés. Quatre grands facteurs guident l'utilisation de plus en plus croissante de ces supports (9). Premièrement, la facilité des manipulations, faisant en sorte que les réactions peuvent être accomplies en seulement trois étapes distinctes : addition des réactifs, filtration et lavage de la résine. C'est la facilité de cette procédure qui rend son automatisation possible. Deuxièmement, l'élimination des étapes de purification au cours de la synthèse. Seul le produit final, après clivage de sur la résine, a besoin d'être purifié. Troisièmement, en synthèse organique sur support solide (SOSS), il est possible d'utiliser des concentrations élevées de réactifs, ce qui permet d'amener les rendements à tout près de 100% à chaque étape. Finalement, cette technique permet de réaliser la synthèse de plusieurs substrats en parallèle.

Le choix du support solide, ainsi que des modes d'attachement et de clivage de la résine, peuvent également s'avérer importants pour la réussite de la synthèse organique sur support solide. Depuis les travaux de Merrifield (5), un copolymère du styrène, le polystyrène, est le support solide le plus couramment utilisé. Ce support insoluble a en effet une structure de gel qui permet la pénétration des réactifs et du solvant dans les billes, là où s'effectuent les réactions chimiques. Généralement, les polystyrènes utilisés possèdent 1 à 2% de réticulation causée par la présence de divinylbenzène, ce qui correspond à une valeur médiane permettant l'obtention d'une résine qui gonfle suffisamment pour rendre ses sites réactifs accessibles tout en conservant la stabilité du polymère.

Le polystyrène demeurant le support le plus utilisé, d'autres matériaux sont également d'un grand intérêt. Les polyacrylamides et les « billes de verre poreuses » sont encore très utilisés pour la synthèse d'oligonucléotides, mais peu utilisés en synthèse organique. Deux autres types de résines sont aussi très populaires, les TentaGel et les ArgoGel. Ces deux résines constituées de polystyrène possèdent des chaînes polyéthylèneglycols greffées jouant le rôle d'espaceurs entre le polymère et l'ancre. Ils permettent ainsi l'amélioration de la réactivité du milieu, conférant à ce dernier des propriétés similaires avec la synthèse conventionnelle en solution. Des chaînes alkyles peuvent également servir d'espaceurs. Les espaceurs peuvent cependant altérer les propriétés de clivage de l'ancre, affecter le gonflement du support et compliquer la réactivité par des effets électroniques. Il est donc souvent plus simple de travailler sans espaceur.

Le polyéthylèneglycol peut lui-même constituer un support de synthèse. Cette classe de supports sont des supports liquides mimant la réactivité en solution. Leur élimination plus complexe que les résines de polystyrène explique cependant le fait qu'ils soient moins utilisés.

Dans la plupart des cas de synthèse de petites molécules organiques de faible poids moléculaire, les chimistes utilisent comme polymère le polystyrène ramifié avec 1-2% de divinylbenzène. Il existe désormais une grande quantité de supports différents pouvant posséder toutes sortes d'ancres ayant des caractéristiques bien différentes (10).

1.1.3.2 Les ancres

Les ancres permettent de faire le lien entre le support solide et la molécule synthétisée. Plus de 200 ont été développées au cours des quinze dernières années. Elles sont classées en deux catégories (9), soit les ancres « intégrales » sur lesquelles une partie du support solide forme une partie ou la totalité de l'ancre et les ancres « non-intégrales », qui sont attachées au support solide. Le désavantage des ancres intégrales est leur proximité avec le polymère, ce

qui entraîne des effets stériques et électroniques nuisant à la réactivité. De ce fait, les ancres non-intégrales sont plus utilisées.

De façon générale, les ancres sont baso-labiles ou acido-labiles. C'est cette caractéristique principale qui influence le choix des groupements protecteurs utilisés sur la molécule à synthétiser. Il faut en effet pouvoir déprotéger les fonctions réactives sans cliver la molécule de la résine. Avec les avancements faits dans ce domaine au cours des dernières années, les ancres peuvent maintenant être divisées en catégories plus spécifiques : clivage électrophile, clivage nucléophile, photoclivage, procédures de clivage assistées d'un métal, clivage dans des conditions de réduction et d'oxydation, etc. Les plus utilisées sont les ancres clivables en milieu faiblement acide et par un nucléophile (9). Quelques ancres sont illustrées à la Figure 3.

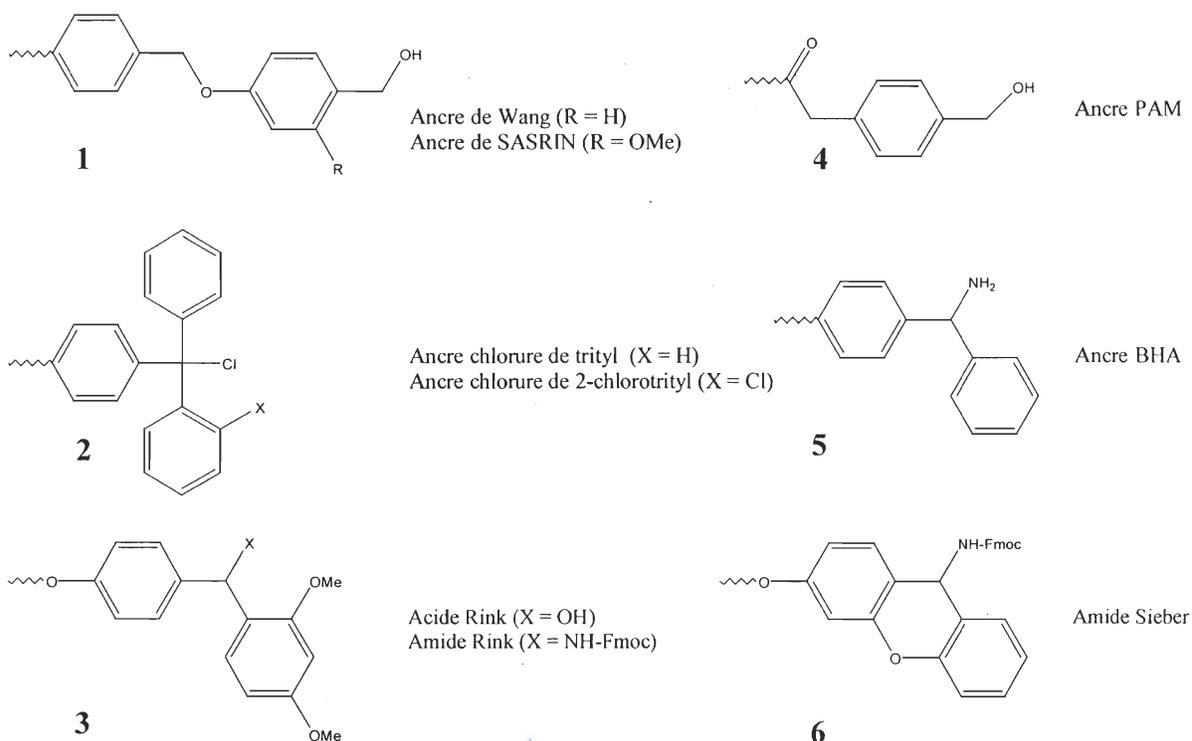


Figure 3 : Exemples d'ancres utilisées en synthèse sur support solide (10)

1.1.4 Méthode de synthèse « Mix and Split »

Furka est sans contredit le pionnier de la technique « mix and split » qui a marqué les débuts de la synthèse combinatoire (1, 6, 11). La procédure « mix and split » permet la création de bibliothèques combinatoires à l'aide de peu d'étapes réactionnelles (Figure 4). À la première étape, une quantité de résine est divisée (split) en de multiples et égales portions dans des ampoules réactionnelles séparées (3 dans l'exemple de la Figure 4). Chacune de ces portions est ensuite

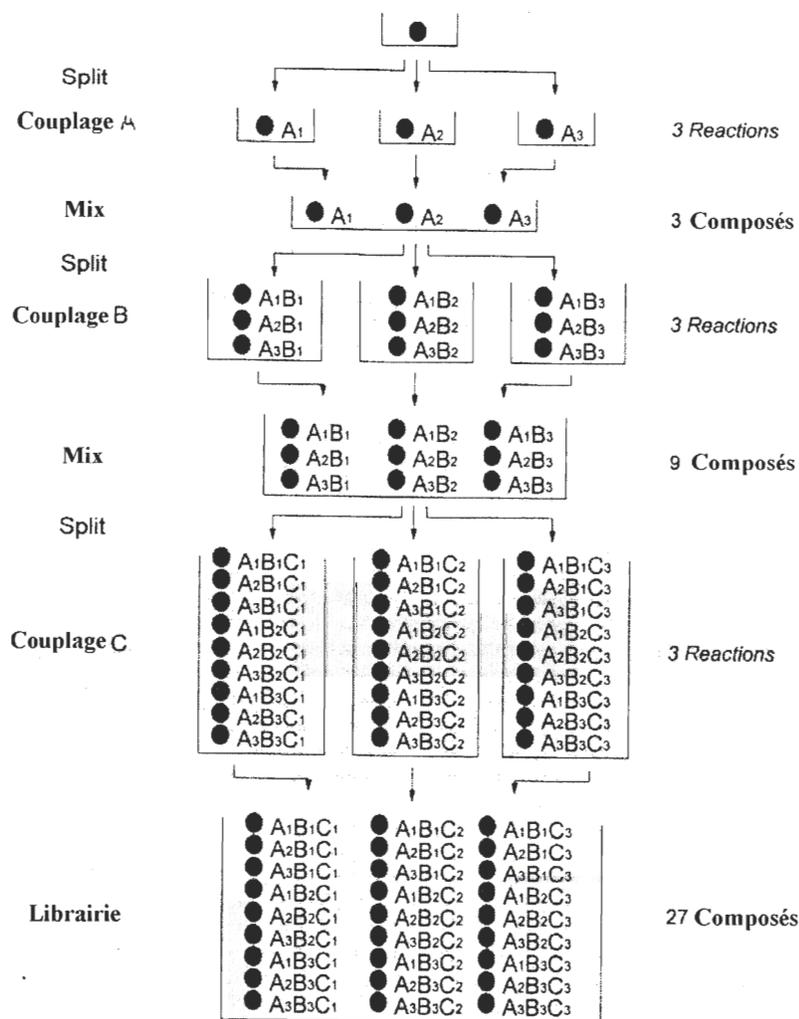


Figure 4 : Méthode de synthèse « Mix and Split » (1)

couplée à des synthons différents (A_1 , A_2 et A_3). Quand la première étape réactionnelle est complétée, les résines des trois portions sont mélangées ensemble de manière homogène dans un même contenant (mix). C'est à ce moment que toutes les étapes communes, telles les lavages, filtrations et réactions de déprotections, se font de façon simultanée. Le mélange homogène de résine est par la suite redivisé en diverses portions égales (trois dans l'exemple) pour faire réagir les synthons A_1 , A_2 et A_3 avec les synthons suivants (B_1 , B_2 et B_3). Les résines sont ensuite recombinaées (mix) et de nouveau soumises aux traitements appropriés pour ensuite être redivisées en diverses portions et réagir avec les nouveaux synthons (C_1 , C_2 et C_3). Ainsi, dans l'exemple présenté, 27 composés sont rapidement synthétisés en seulement 9 étapes réactionnelles réparties sur 3 cycles et en utilisant 9 synthons distincts. Maintenant, si nous considérons la possibilité d'utiliser 20 synthons différents divisés en 20 milieux réactionnels, en seulement 3 cycles, c'est-à-dire 60 étapes réactionnelles, il est possible d'obtenir 8000 composés différents les uns des autres. Présentement, la méthode de synthèse « mix and split » est la plus populaire pour la synthèse de grandes librairies de composés comprenant des centaines jusqu'à des centaines de milliers de composés.

1.1.4.1 Déconvolution

Une fois les librairies de composés synthétisées à l'aide de la méthode « mix and split », il est possible de déterminer l'activité biologique de celles-ci. Plusieurs composés peuvent donc être testés à la fois, cela permettant une grande économie de temps, les librairies inactives pouvant être éliminées. Cependant, vu le grand nombre de composés testés à la fois, il est impossible de déterminer la structure exacte du composé actif lorsqu'un test se révèle être positif. Il faut donc procéder à la déconvolution de la librairie (Figure 5), de manière à déterminer quel composé est le plus actif dans la librairie.

De façon plus détaillée, une fois la synthèse des librairies complétée, des tests d'activité biologique permettent de déterminer quelle est la librairie qui comporte la plus grande activité face à la cible choisie. Cela permet d'identifier quel synthon additionné à la dernière

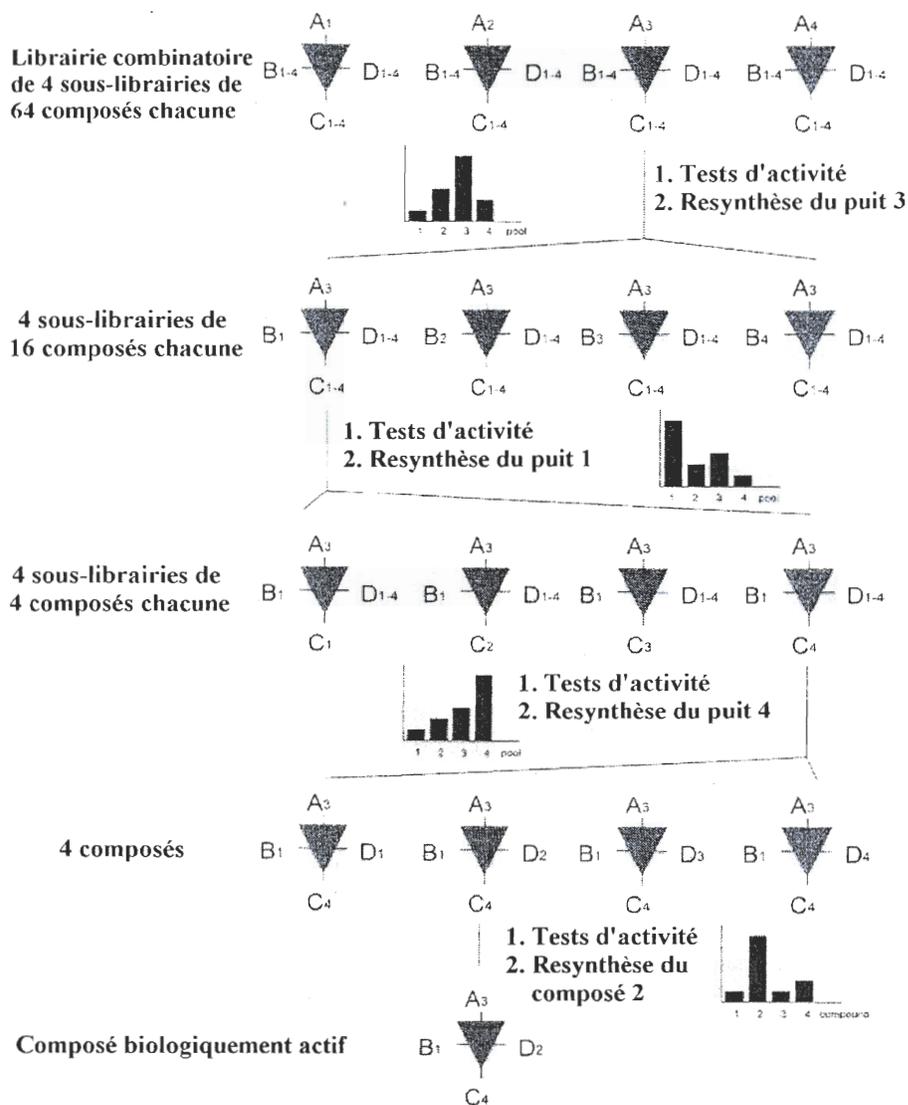


Figure 5 : Principe de déconvolution (1)

étape réactionnelle est le plus actif. Par la suite, comme ce synthon est désormais connu, par exemple ici A_3 , nous revenons à l'étape précédente en utilisant une quantité de résine préalablement archivée. Le synthon A_3 le plus actif est alors incorporé aux 4 librairies pour donner 16 composés possibles chacune, toujours selon l'exemple de la Figure 5. À ce moment, une nouvelle série de tests biologiques est effectuée pour déterminer lequel des synthons B est le plus actif. Une fois le plus actif des synthons B déterminé, il suffit de revenir une fois de plus en arrière pour faire réagir de la résine archivée avec, dans ce cas-ci, le synthon B_1 le plus actif. La réaction avec le A_3 le plus actif est ensuite faite, les 4 librairies de 4 composés

chacune testées, et ainsi de suite pour en arriver finalement au composé le plus actif, soit celui formé des synthons A₃, B₁, C₄ et D₂.

La méthode décrite ci-dessus est rapide, efficace et facile à adapter, peu importe le nombre de bibliothèques à tester ou le nombre de cycles de synthèse effectués. Pour pouvoir utiliser la déconvolution, il suffit donc d'archiver de la résine en quantité suffisante à chaque étape réactionnelle impliquant un nouveau synthon, et ce, avant chacun des mélanges « mix ». Il sera ainsi possible de revenir en arrière pour isoler et déterminer précisément la structure du composé le plus actif synthétisé.

1.1.5 Synthèse en parallèle

La synthèse en parallèle est une autre technique utilisée pour obtenir des bibliothèques de composés (1). Les composés sont synthétisés en parallèle en utilisant une série ordonnée de contenants réactionnels en suivant la philosophie traditionnelle du « un contenant-un composé » (Figure 6). Cela donne comme avantage que lors de tests d'activité biologique, chaque composé est unique, en considérant que la synthèse est effectuée avec de bons rendements et une grande efficacité lors de chacune des différentes étapes de synthèse. De plus, en synthèse en parallèle, la nature du composé dans chacun des contenants est connue. En général, c'est la synthèse automatisée qui est utilisée pour la synthèse en parallèle de bibliothèques comprenant jusqu'à des milliers de composés. Plusieurs supports solides et contenants réactionnels uniques sont utilisés pour ce type de synthèse et contrairement à la méthode « mix and split », qui requière absolument un support solide pour mener à terme les synthèses, la technique en parallèle peut aussi s'opérer en solution.

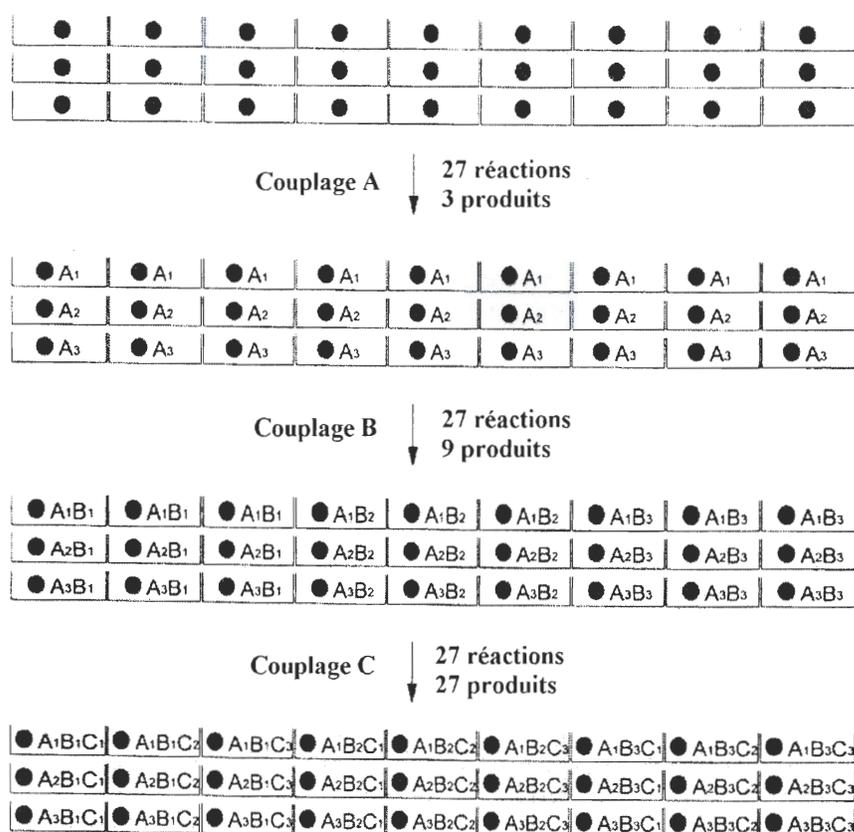


Figure 6 : Synthèse en parallèle (1)

1.1.6 Chimie combinatoire assistée par radiations micro-ondes

Malgré tous les avantages qu'elle peut apporter, la chimie combinatoire comporte aussi des contraintes de réactivité, de rendement et de temps de réactions identiques à celles de la chimie traditionnelle. Pour tenter de pallier à toutes ces contraintes, plusieurs se sont intéressés aux micro-ondes comme nouvelle source d'énergie en synthèse organique. La synthèse organique assistée par micro-ondes (SOAM) a été décrite pour la première fois par deux groupes de recherche distincts, soit ceux de Giguere et Gedye en 1986 (12,13). Depuis les débuts, la technique a grandement évolué et permet maintenant d'appliquer le chauffage aux micro-ondes en toute sécurité et d'ainsi permettre des gains substantiels en matière de

rendements et des temps de réaction, ces derniers pouvant passer de jours et heures à minutes et secondes (13).

La SOAM est déjà largement utilisée en synthèse traditionnelle et les exemples de synthèses améliorées par l'utilisation des micro-ondes comme source d'énergie regorgent dans les écrits scientifiques (13,14). En chimie combinatoire, l'utilisation des micro-ondes s'est aussi avérée efficace en synthèse peptidique sur support solide tant pour le clivage que pour le couplage. De plus, les micro-ondes permettent d'accélérer de manière significative la synthèse en parallèle de petites molécules, tant sur support solide qu'en solution. Plusieurs autres avenues sont également en développement, telles la synthèse combinatoire sans solvant assistée par micro-ondes et la synthèse via des réactifs solides (12).

1.1.7 Encodage de bibliothèques « tagging »

Une alternative très intéressante à la déconvolution, qui peut être parfois longue et pénible, consiste à utiliser des étiquettes ou « tags » pour marquer et ensuite identifier la structure du composé le plus actif d'une bibliothèque. Ce procédé est similaire à celui utilisé en biologie pour séquencer les gènes qui encodent les protéines.

Des étiquettes pour chacun des synthons utilisés sont donc fixées à la bille de polystyrène, permettant par la suite l'identification du composé synthétisé par simple analyse de ces différentes étiquettes. Ces étiquettes doivent être facilement analysables et chimiquement inertes, doivent pouvoir survivre aux conditions utilisées en chimie organique, doivent encoder plusieurs composés différents et, préférentiellement, doivent pouvoir être compactées dans de petits volumes (15). La méthode développée par Still *et al.* (16, 17) consiste à fixer un groupe d'étiquettes à une bille lors de chacune des étapes combinatoires d'une synthèse de type « split ». Les étiquettes forment donc une archive des synthons utilisés. À la fin de la synthèse, les étiquettes sont retirées et analysées, ce qui permet de décoder la structure du composé attaché à cette bille.

D'autres types d'étiquettes sont également utilisées. Entre autres, des étiquettes massiques halogénées récemment développées s'analysent par spectroscopie de masse MALDI FTMS (18), et d'autres étiquettes par radio-fréquence et par détection optique pour permettre d'identifier la structure de composés ciblés de manière rapide et précise (19).

1.2 Les sulfamides

1.2.1 Historique

Pour comprendre l'importance de la découverte des sulfamides en médecine, il est essentiel d'avoir à l'esprit l'état de la médecine il y a 70 ans. En 1935, les travaux de Pasteur ont entraîné un grand développement dans le domaine de la vaccination et donc de la prévention de plusieurs maladies comme la variole, la rage et la diphtérie. Le traitement des maladies infectieuses reposant sur la sérothérapie, les sérums antibactériens avaient une efficacité beaucoup plus limitée. Enfin, la thérapie chimique, créée par Erlich à la fin de XIX^e siècle, se limitait en grande partie au traitement de la syphilis (20).

Domagk et Flemming, marqués par la mortalité redoutable de l'infection microbienne pendant la première guerre mondiale, travaillèrent énormément au développement de thérapies anti-infectives. C'est ainsi que Domagk montra qu'un produit de synthèse, la sulfamidochrysoïdine (prontosil) (7), était très efficace dans le traitement de la septicémie expérimentale à streptocoque chez la souris, bien qu'inefficace sur le streptocoque *in vitro*. C'est ensuite l'équipe de Tréfouël qui montra que la sulfamidochrysoïdine était métabolisée dans l'organisme en une portion colorée inactive (9) et une portion blanche active appelée para-aminophényl-sulfamide (8) (figure 7). Il s'avère que ce dernier était actif autant *in vitro* que *in vivo*.

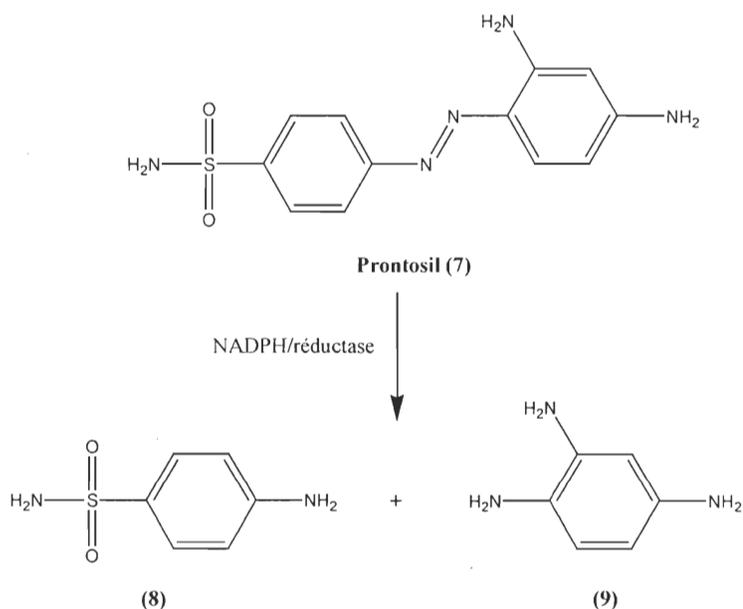


Figure 7 : Scission du Prontosil par réduction *in vivo* (21)

La caractérisation de ce premier sulfamide a eu des conséquences énormes sur les recherches d'antibiotiques. Il était désormais possible de faire subir à la molécule une foule de modifications pour en améliorer les propriétés pharmacologiques. Ainsi, c'est plus de 5000 produits qui furent créés de 1935 à 1945. De ces études ressortirent les faits suivants : l'importance du groupement aminé en para, l'inefficacité des modifications apportées à ce groupement et l'influence des modifications apportées sur le groupement sulfamide, menant à des produits de plus en plus actifs.

L'isolement des sulfamides permit également de les tester *in vitro* et de pouvoir déterminer lesquels étaient actifs. Un dosage fut mis au point, permettant la détermination de posologies adéquates aux cas particuliers. Le traitement des maladies infectieuses pouvait donc enfin être conduit de manière rationnelle. Le spectre d'activité des sulfamides s'étendit rapidement à plusieurs types de cocci Gram⁻ et Gram⁺, principaux responsables à cette époque de la morbidité et de la mortalité liées aux infections.

C'est d'abord contre le streptocoque que le rôle bénéfique des sulfamides fut démontré, soit par la guérison d'une méningite cérébrospinale à l'Hôpital de l'Institut Pasteur. Les sulfamides se révélèrent efficaces contre deux autres affections streptococciques, soit l'érysipèle et l'infection purpurale. Ils se révélèrent également actifs contre le staphylocoque, le gonocoque, le pneumocoque et quelques germes additionnels. De nos jours, des antibiotiques plus actifs leurs sont préférés, mais les sulfamides constituent encore un traitement prophylactique précieux, en particulier dans les pays en voie de développement, du fait de leur faible coût, et pour certaines infections opportunistes associées à l'immunosuppression.

Dans le but de comprendre le mode d'action des sulfamides, Wood émit l'hypothèse que ces composés, pour avoir une action germicide sans attaquer les cellules de l'hôte, devaient agir sur un facteur de croissance indispensable aux bactéries. Cette hypothèse s'avéra exacte, le facteur de croissance étant l'acide folique, que les microbes doivent synthétiser étant incapables, contrairement aux cellules eucaryotes, d'incorporer cette vitamine à partir du milieu extérieur (20). La figure 8 montre la succession des réactions qui aboutissent à la synthèse de l'acide folique et des bases puriques chez les microorganismes. Les sulfamides étant similaires structurellement à l'acide para-aminobenzoïque, ils inhibent la première réaction due à la dihydrofolate-synthétase. Ils apparaissent donc comme étant les premiers médicaments anti-foliques. La deuxième réaction, contrôlée par la dihydrofolate-réductase, est inhibée par une substance découverte par Hitchings et Bushby : le triméthoprim. Bien que les préparations associant deux médicaments antibactériens ne se soient pas utilisées beaucoup par le passé, la combinaison du triméthoprim avec un sulfamide est un exemple exceptionnel où une association permet l'inhibition, chez la bactérie, de deux réactions enzymatiques successives.

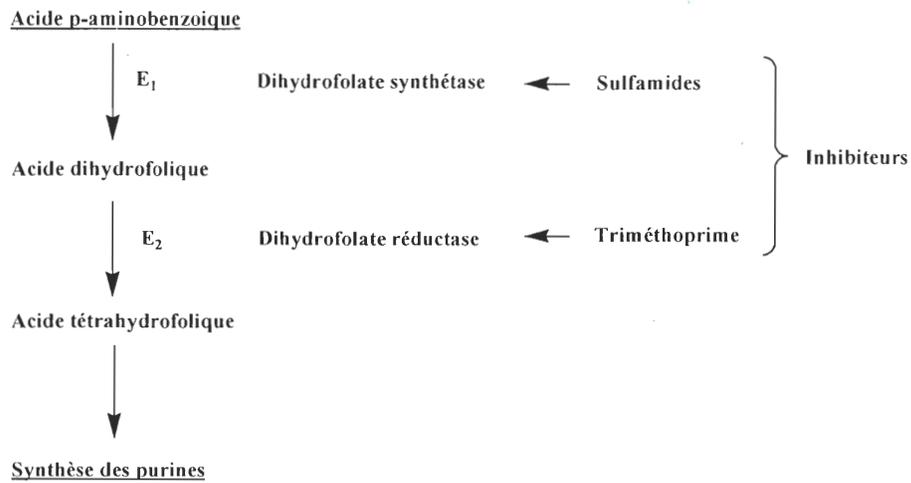


Figure 8 : Métabolisme de l'acide folique (20)

Partant de la conclusion que le soufre est le pivot de l'activité antibactérienne des sulfamides, Tréfouël prépara, il y a plusieurs années, le para-diaminophényl-sulfure (**10**). Ce produit était inactif, mais sachant que l'activité des sulfamides croît avec le degré d'oxydation du soufre, il prépara des produits de plus en plus oxydés. Le plus actif fut la para-diaminophényl-sulfone (**11**) (figure 9). Dénommé sulfone-mère, ce composé est 50 fois plus actif que le sulfamide, mais plus toxique. C'est Faget, aux Etats-Unis, qui découvrit par la suite l'effet des sulfones substitués contre la lèpre. Ces produits se révélèrent la première médication réelle contre la lèpre et même aujourd'hui, bien que la médication se soit diversifiée, les sulfones restent l'élément essentiel dans le traitement de cette maladie.

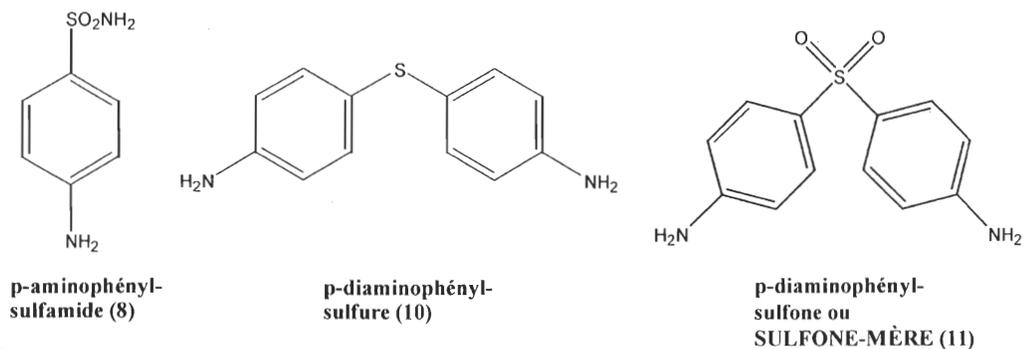


Figure 9 : Des sulfamides aux sulfones (20)

De façon intéressante, les inconvénients des sulfamides se révélèrent parfois bénéfiques. En 1942, par exemple, Janbon et ses collaborateurs, au cours d'essais de traitement de la fièvre typhoïde, identifièrent quelques cas d'hypoglycémie (20). Loubatières montra par la suite que ce composé n'avait pas d'action hypoglycémiant chez l'animal dépancréaté, suggérant qu'il agissait sur la sécrétion ou la libération d'insuline à partir du pancréas (20). En 1955, Franck et Fuch firent des observations semblables en utilisant la sulfonyle-urée **12**, et montrèrent ses possibilités thérapeutiques chez les sujets diabétiques (20). Ce produit possède le même mécanisme d'action que les dérivés thiazoliques, dont la structure générale **13** est représentée à la figure 10.

En accord avec Loubatières, les sulfamides hypoglycémiant ne sont utiles que chez les diabétiques qui ont conservé un pancréas au moins en partie fonctionnel. Malgré ces limitations, les sulfonyle-urées ont permis à des milliers de malades d'éviter une thérapie à base de piqûres quotidiennes d'insuline, qui demeure très contraignante pour les malades diabétiques insulino-dépendants.

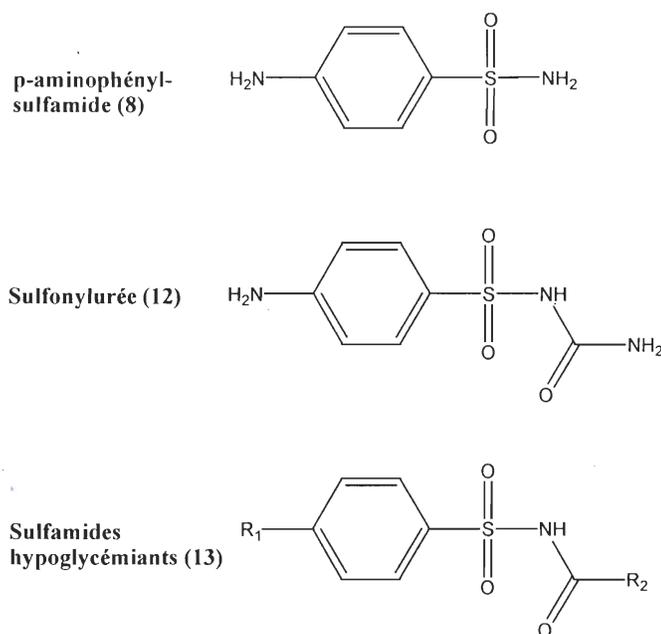


Figure 10 : Sulfamides hypoglycémiant (20)

1.2.2 Sulfamides diurétiques

Il fût rapidement noté que certains sulfamides antibactériens, tels la sulfanilamide (p-aminophényl-sulfamide) (8), exerçaient une activité diurétique mise en relation avec l'inhibition de l'anhydrase carbonique. L'exploitation de cette observation a donné naissance à l'ensemble des diurétiques arylsulfonamidés actuellement utilisés pour le traitement de l'hypertension et d'états œdémateux. Parmi les multiples composés utilisés dans ce but (diurétiques osmotiques, dérivés mercuriels, bases xanthiques, dérivés phénoxyacétiques, antagonistes de l'aldostérone), les diurétiques sulfamidés occupent, en raison de leur diversité et de leur efficacité, une place de choix (22).

L'anhydrase carbonique est une enzyme qui catalyse la formation de l'acide carbonique à partir d'eau et de dioxyde de carbone. Cet acide échange son proton avec l'ion sodium dans la membrane apicale du tube proximal du néphron, unité fonctionnelle du rein (figure 11).

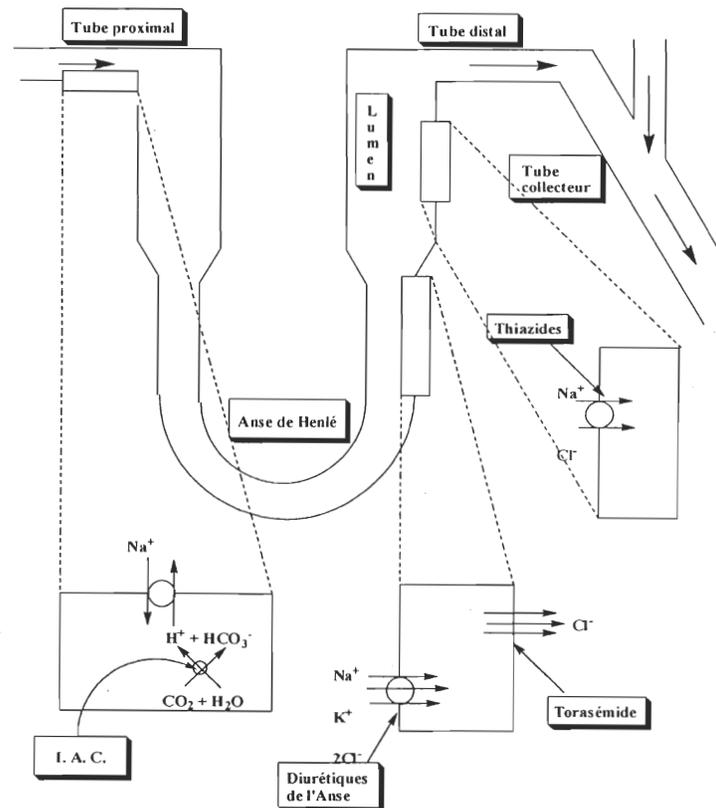


Figure 11 : Représentation schématique du néphron et des sites d'action de certains diurétiques (22)

Il en résulte une réabsorption de l'ion sodium luminal avec mouvement de l'eau secondaire, par osmose. Si l'anhydrase carbonique est bloquée, l'ion sodium reste dans l'urine (natriurie), provoquant une baisse de la réabsorption d'eau et donc une augmentation du volume urinaire. Il en résulte aussi une accumulation de protons dans les liquides corporels. L'acétazolamide (**14**) (DIAMOX®, 1950) (figure 12) est le premier dérivé arylsulfamidé inhibiteur de l'anhydrase carbonique (IAC) commercialisé pour ses propriétés diurétiques.

L'introduction sur le noyau de base d'un second groupement sulfonamide a donné naissance à des composés tels le dichlorophénamide (**15**) (ORATROL®) (figure 12) agissant comme IAC, ainsi qu'au chloraminophénamide (**16**) (SALAMIDE®). La cyclisation de **16** a mené à la découverte du chlorothiazide (**17**) (CHLOTRIDE®, 1957), le premier des diurétiques thiazidiques. La substitution du chlore par un brome ou un trifluorométhyle n'affecte pas l'activité du produit. Cependant, la suppression du groupement sulfonamide libre des thiazides a mené à des agents antihypertenseurs non diurétiques comme le diazoxide (**18**). D'autres modifications du composé **16** ont conduit à un diurétique encore plus puissant, l'hydrochlorothiazide (**19**) (ESIDREX®, DYTENZIDE®, MODURETIC®) toujours utilisé de nos jours (22). Ce composé perd cependant de son caractère IAC et son site d'action principal se situe maintenant dans la première partie du tube distal du néphron (figure 11). Il inhiberait la réabsorption de NaCl par un système de cotransport actif des ions chlorure et sodium. L'intérêt des thiazides et hydrothiazides est donc supérieur aux IAC puisqu'ils affectent moins la balance acide-basique plasmatique, une limitation des IAC purs.

De multiples analogues de l'hydrochlorothiazide ont été produits en modulant la structure de base (**20**) (figures 12 et 13), dont l'épitzide (**21**) (DYTA-URESE) et le polythiazide (**22**) (RENESE®). L'activité de cette série se voit liée à la présence essentielle d'un atome ou d'un groupement électroattracteur en position 6 (Cl, Br, CF₃). Le méfruside (**23**) (BAYCARON®) (figure 13) est structurellement apparenté aux IAC **15** et **16**. Il a cependant le même profil d'activité que les thiazides. Le remplacement isostérique de l'un des sulfonamides par un groupement carboxamide a donné la métolazone (**24**) (ZAROXOLIN®) quinazolinique, ainsi que la clorexolone (**25**) isoindolique.

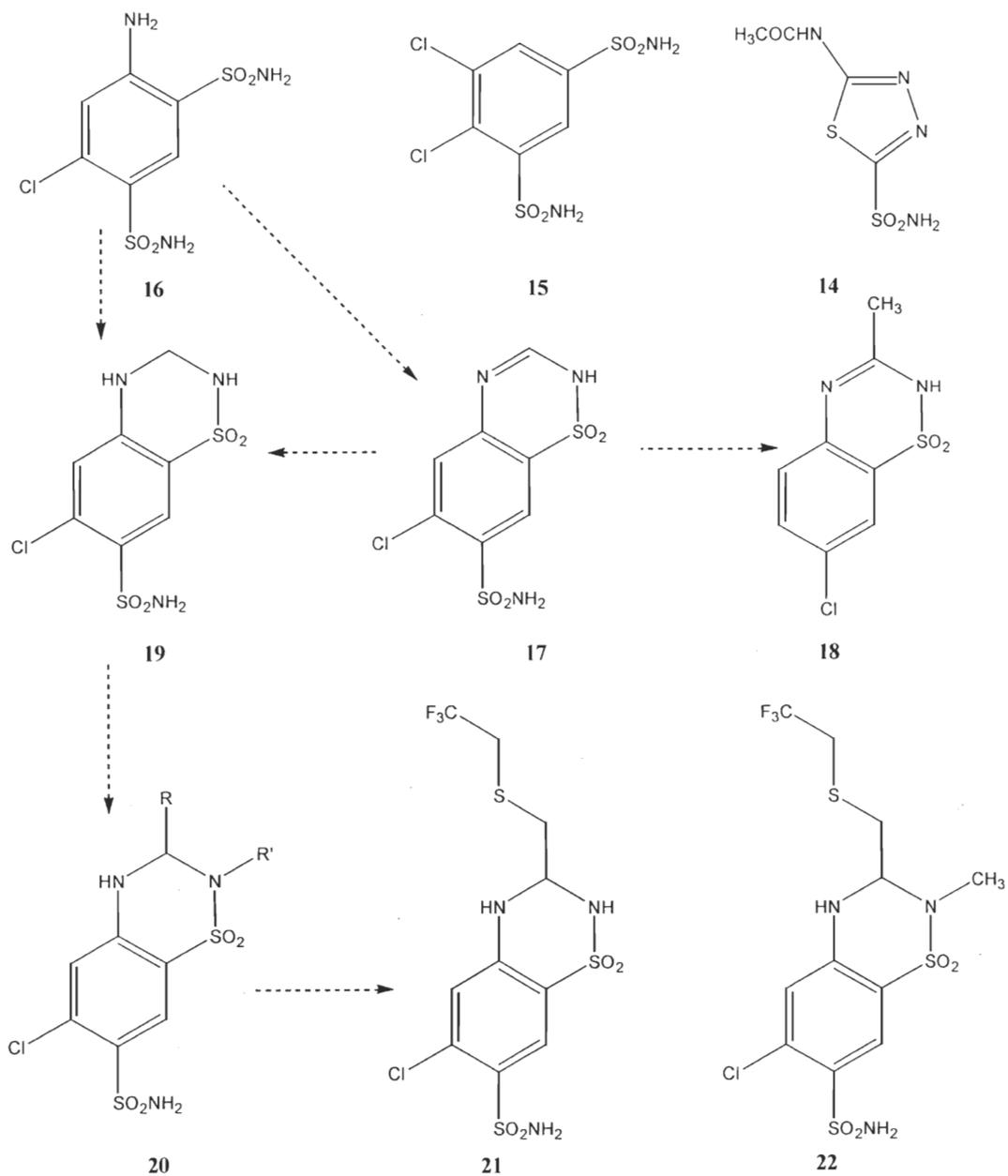


Figure 12 : Sulfamides diurétiques et autres (22)

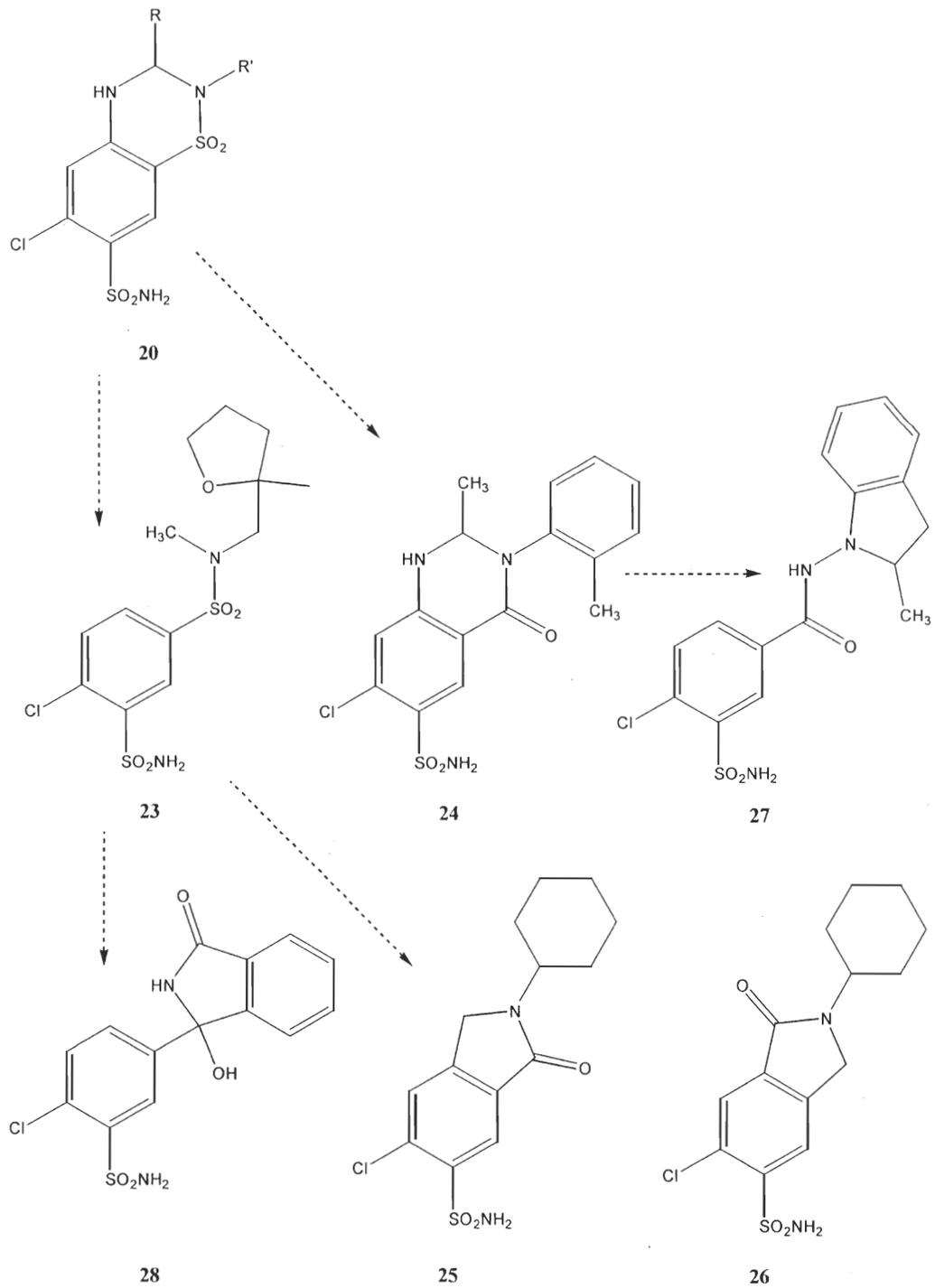


Figure 13 : Sulfamides diurétiques et autres (suite) (22)

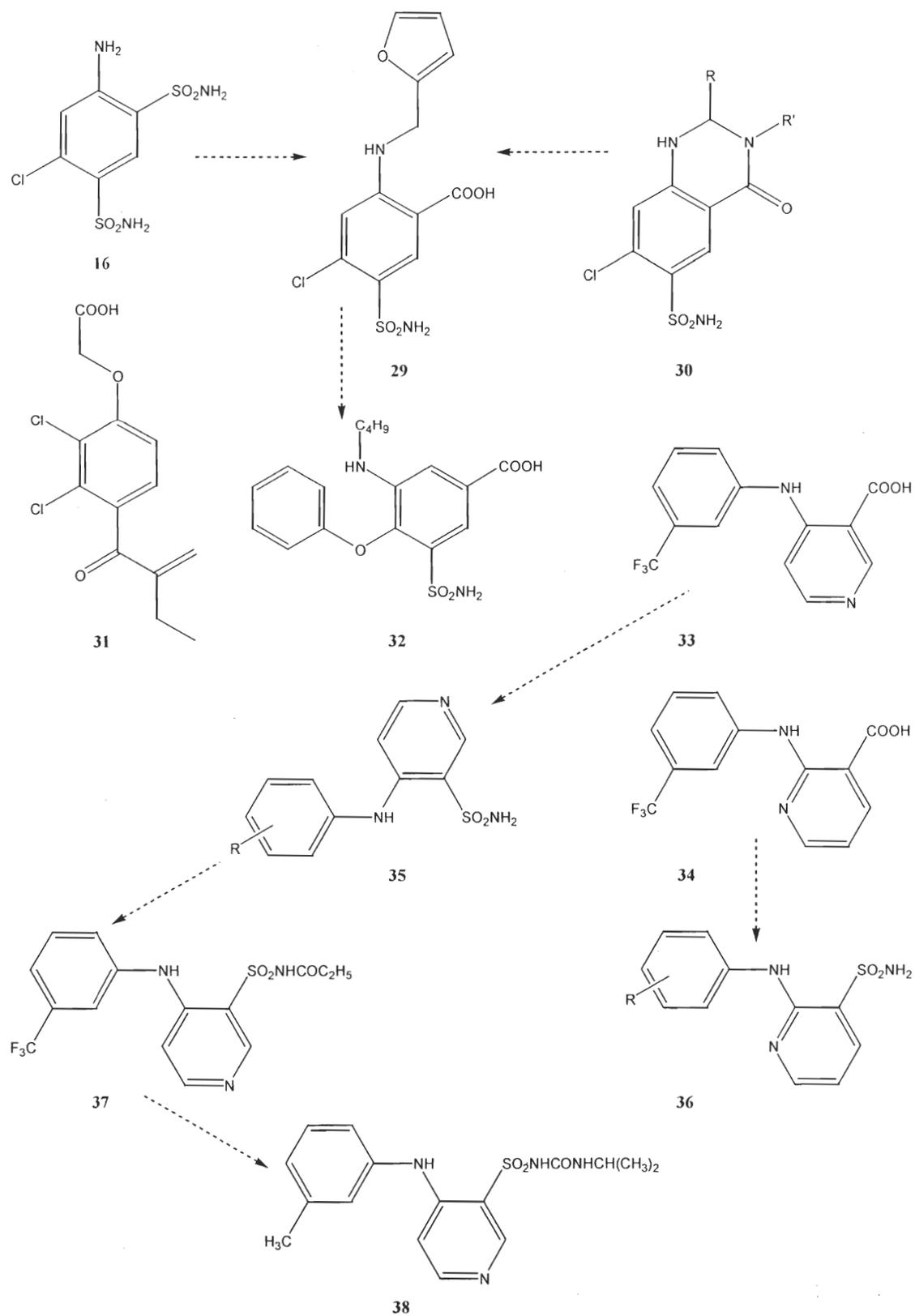


Figure 14 : Sulfamides diurétiques et autres (suite II) (22)

Il est intéressant de mentionner ici que l'isomère de position **26** est totalement inactif (22). Selon que l'on ouvre le cycle quinazoline ou que l'on remplace le groupement sulfonamide par une lactame hydroxylée, on obtient, respectivement, les diurétiques indapamide (**27**) (FLUDEX®) et chlortalidone (**28**) (HYGROTON®).

L'année 1963 marque l'arrivée du furosémide (**29**) (LASIX®) (figure 14) décrit dans une étude sur les dérivés de l'acide 5-sulfamoylanthranilique. C'est un analogue de **16** sur lequel on a remplacé un sulfonamide par une fonction acide carboxylique. Il peut aussi être comparé aux diurétiques quinazoliques **30** comme un analogue structural. Bien que structurellement apparenté aux diurétiques thiazidiques, le furosémide (**29**) a un mécanisme d'action totalement différent. Il bloque les cotransporteurs des ions $\text{Na}^+\text{K}^+2\text{Cl}^-$ situés du côté luminal des cellules de la branche ascendante large de l'anse de Henle (figure 11) (diurétique de l'anse). L'acide éthacrynique (**31**) est lui aussi un diurétique de l'anse, mais au mécanisme d'action difficilement réversible.

C'est dans les années 1970 qu'apparurent de nouveaux diurétiques de l'anse. Parmi ceux-ci, figurent le bumétanide (**32**) (BURINEX®) et la triflocine (**33**). Le bumétanide se compare au furosémide, le chlore étant remplacé par un groupement phénoxy et la fonction aminée déplacée de la position 2 à la position 3. L'analogue du furosémide qui possède un groupement phénoxy en position 4 est lui aussi un puissant diurétique. La triflocine, de son côté, n'est plus un arylsulfonamide, mais bien un isomère de position de l'acide niflumique (**34**) (NIFLURIL®). Les études cliniques portant sur ce diurétique se sont toutefois vues interrompues en raison de sa toxicité à long terme. Plus tard, des analogues pyridiniques de **33** et **34** ont été synthétisés et le remplacement du groupement carboxylique de la triflocine par un sulfonamide a fourni des dérivés de formules générales **35** et **36**, possédant une certaine activité antiinflammatoire, mais aucun pouvoir de diurèse. Par acylation de la fonction sulfonamide, l'activité diurétique réapparaît, ce dernier possédant une acidité comparable à celle de la fonction acide carboxylique de la triflocine. Le galosémide (**37**) présenta une activité diurétique supérieure à la triflocine et comparable au furosémide chez l'animal, mais s'avéra totalement inactif chez l'homme.

Le remplacement de l'acélsulfonamide par un sulfonylurée, aussi acide mais plus stable, a permis de générer des composés actifs chez l'homme comme le torasémide (38) (EXHYDRAN®, TOREM®). Ce diurétique de l'anse, supérieur au furosémide, présente, en plus de son inhibition du cotransport $\text{Na}^+\text{K}^+2\text{Cl}^-$, un effet de blocage des canaux chlorures de la membrane basolatérale de la partie ascendante de l'anse de Henlé (figure 11). Comparé au furosémide, il induit aussi une fuite de potassium urinaire moins grande, diminuant ainsi les risques d'hypokaliémie (trop faible taux de potassium sanguin).

1.3 Diurétiques et transporteurs membranaires

1.3.1 Les reins

Les reins purifient et équilibrent les liquides du milieu interne et ont une fonction essentielle au maintien de l'homéostasie. Les reins filtrent le plasma, excrètent dans l'urine des toxines en provenance du foie de même que des déchets métaboliques comme l'urée et des ions en excès, et renvoient les substances filtrées nécessaires dans le sang. L'élimination des déchets azotés, des toxines et des médicaments relève principalement des reins, bien que les poumons et la peau participent aussi à l'excrétion (23).

En plus d'excréter les déchets de l'organisme, les reins régulent la composition chimique du sang en conservant le juste équilibre entre l'eau et les électrolytes d'une part et entre les acides et les bases d'autre part. Les reins régulent aussi la pression artérielle en ajustant le volume circulant et produisant la rénine, la production de globules rouges dans la moelle osseuse en sécrétant de l'érythropoïétine, et la transformation de la vitamine D en sa forme active.

1.3.2 Les néphrons

Chaque rein contient plus de un million de néphrons (figure 15), de minuscules unités de filtration du sang où se déroulent les processus menant à la formation de l'urine. Chaque néphron est constitué d'un corpuscule rénal associé à un tubule rénal. Le corpuscule rénal est une vésicule composée de la capsule glomérulaire rénale, ou capsule de Bowman, et d'un bouquet de capillaires artériels appelé glomérule rénal. La capsule glomérulaire entoure complètement le glomérule. Elle est formée de deux feuillets séparés par une cavité, ou chambre glomérulaire, qui se prolonge par le tubule rénal. Le feuillet pariétal a un rôle strictement structural ; il forme la limite externe de la capsule et n'entre pas en contact avec le glomérule. Le feuillet vicéral, qui s'attache aux capillaires du glomérule, est composé de cellules épithéliales modifiées et ramifiées appelées podocytes ; ces cellules en forme de

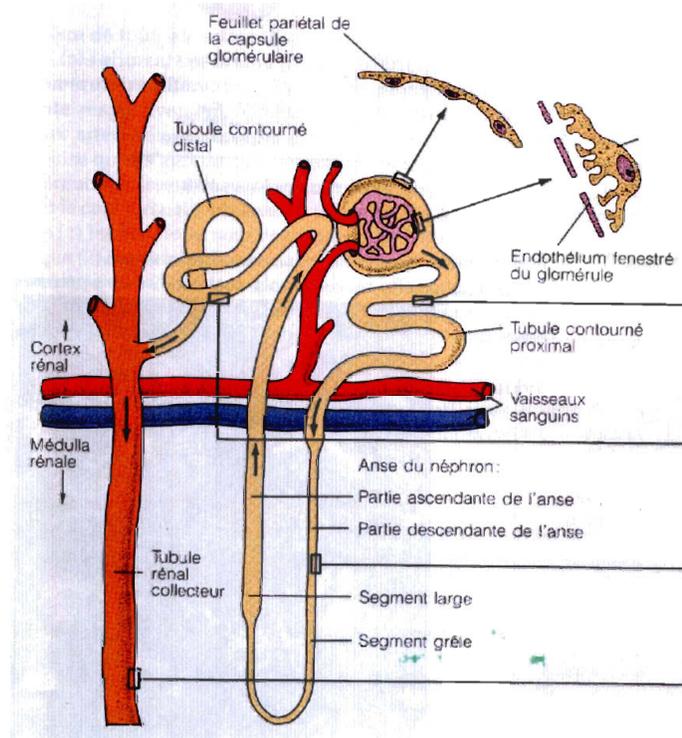


Figure 15 : Structure des néphrons (23)

pieuvres forment une partie de la membrane de filtration. Les ramifications des podocytes se terminent en pédicelles, des formations enchevêtrées qui s'attachent à la lame basale des

capillaires glomérulaires. Les espaces délimités par les pédicelles sont appelés fentes de filtration. L'endothélium des capillaires glomérulaires est fenestré, ce qui veut dire percé de pores, le rendant exceptionnellement poreux. Ils peuvent ainsi laisser passer de grandes quantités de liquide riche en solutés du sang vers la chambre glomérulaire du corpuscule rénal. Ce liquide dérivé du plasma est appelé filtrat glomérulaire, et il constitue la matière première à partir de laquelle les tubules rénaux produisent l'urine.

Le reste du tubule rénal mesure approximativement 3 cm de long. Après la capsule glomérulaire rénale, le tubule devient sinueux et forme le tubule contourné proximal ; il décrit ensuite un virage en épingle à cheveux appelé anse du néphron ou anse de Henle. Enfin, il redevient sinueux et prend le nom de tubule contourné distal avant de se jeter dans un conduit appelé tubule rénal collecteur. La longueur conférée au tubule rénal par ses méandres favorise le traitement du filtrat glomérulaire. Le tubule rénal collecteur, qui reçoit l'urine provenant de nombreux néphrons, parcourt la pyramide vers la papille rénale.

1.3.3 Les diurétiques

1.3.3.1 Définition

Un diurétique est une substance qui négative le bilan hydro-sodé des liquides extracellulaires de l'organisme suite à une augmentation du flux de l'urine. Il existe plusieurs types de diurétiques, que ce soit les aquarétiques, qui augmentent l'élimination de l'eau, les natriurétiques (ou salidiurétiques), qui augmentent l'élimination du sel, ou les diurétiques dits d'épargne du potassium, qui sont faiblement natriurétiques et surtout antikaliurétiques (24). Les diurétiques font également partie des médicaments les plus prescrits aux États-Unis de nos jours puisqu'ils ont une foule d'usages tels le traitement des œdèmes, l'élimination de certains déchets, le traitement de l'hypertension artérielle, etc. (25, 26)

1.3.3.2 Mécanismes d'action

Chaque jour, le rein filtre approximativement 25 000 mmol de sodium dont environ 99% sont réabsorbés afin de maintenir le bilan sodé de l'organisme. Les mouvements tubulaires du sodium et d'eau sont donc essentiellement dirigés dans le sens d'une réabsorption tubulaire, active en grande partie. La régulation du bilan sodé dépend de l'ajustement d'une infime fraction de la réabsorption du sodium dans les différents segments tubulaires (figure 16).

Les salidiurétiques agissent principalement en inhibant l'un des mécanismes de réabsorption tubulaire active du sodium. Les diurétiques peuvent être classés selon leur site tubulaire d'action, ou mieux, selon le type de transport actif qu'ils inhibent. Les types de transports actifs sont spécifiques à un segment de néphron. Nous ne nous attarderons ici que sur le mécanisme des « diurétiques de l'anse », qui sont le sujet principal de ce mémoire.

Légendes : G = glomérule; TCP = tube contourné proximal; SDP = segment droit du tube proximal (S3); BGH = branche grêle de l'anse de Henlé; BLAH = branche large de l'Anse de Henlé; TCD = tube contourné distal; CC = canal collecteur.

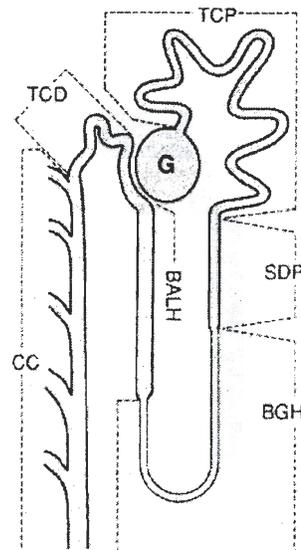


Figure 16 : Schéma des segments du tubule rénal

Dans la branche large ascendante de l'anse de Henle, environ 25% du sodium filtré est réabsorbé de façon active par les cotransporteurs NaKCl et KCl qui font parti de la famille des cotransporteurs cations-chlorures (CCCs). L'activité de ces isoformes des CCCs est inhibée par les « diurétiques de l'anse » (furosémide, bumétamide) qui exercent un effet salidiurétique très puissant. La réabsorption de calcium dans l'anse de Henlé étant essentiellement passive, les diurétiques de l'anse inhibent également la réabsorption du calcium.

1.3.4 Les cotransporteurs cations-chlorures

Les cotransporteurs cations-chlorures (CCCs) sont des protéines membranaires, constituées de 1000 à 1200 acides aminés (27), qui forment des structures apparentées à des pores dans la bicouche de la plupart des cellules. Ils opèrent en conjonction avec d'autres transporteurs pour réguler le transport d'ions Na^+ et/ou K^+ et Cl^- à travers les membranes. Au cours des 11 dernières années, huit isoformes des CCCs ont été identifiées et les séquences primaires d'acides aminés de plusieurs d'entre-elles sont maintenant disponibles (28). Cela est en partie dû à l'information obtenue par la caractérisation moléculaire de NCC1 (29) et de NKCC1 (30).

Comme il est illustré à la figure 17, les CCCs constituent une famille de protéines organisées phylogéniquement en trois branches : les transporteurs sodium-dépendants, les transporteurs potassium-dépendants et la protéine d'interaction CCC. La première branche inclue trois membres : le cotransporteur Na-Cl (NCC1) (29) et les cotransporteurs Na-K-Cl type 1 et 2 (NKCC1 (30-33), NKCC2 (34-35)). La branche des transporteurs potassium-dépendants inclue quatre membres : les cotransporteurs K-Cl de type 1, 3 et 4 (KCC1 (36), KCC3 (37-38), KCC4 (37)), et celui spécifique au cerveau (KCC2 (39)). La troisième branche, qui a été découverte très récemment, ne comprend à ce jour qu'une seule isoforme appelée « CCC interacting protein type 1 » (CIP1 (40)). Dans chacune des trois branches, les homologues n'appartenant pas aux mammifères, c'est-à-dire les CCCs *Caenorhabditis elegans* et *Saccharomyces cerevisiae* ont également été décrits (28).

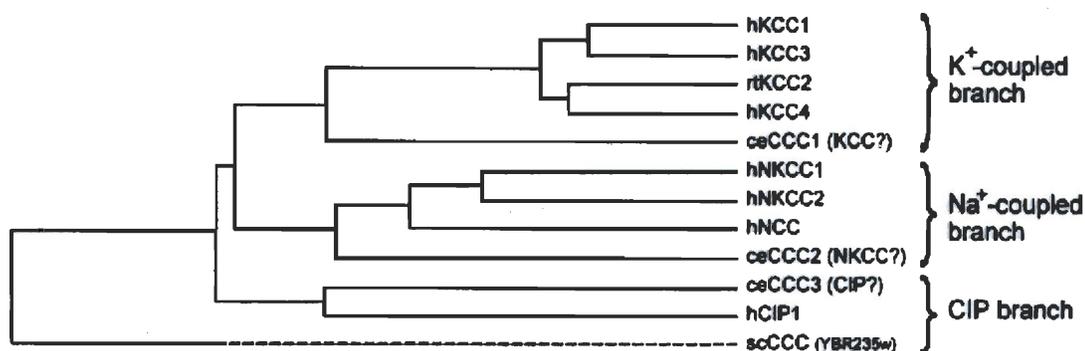
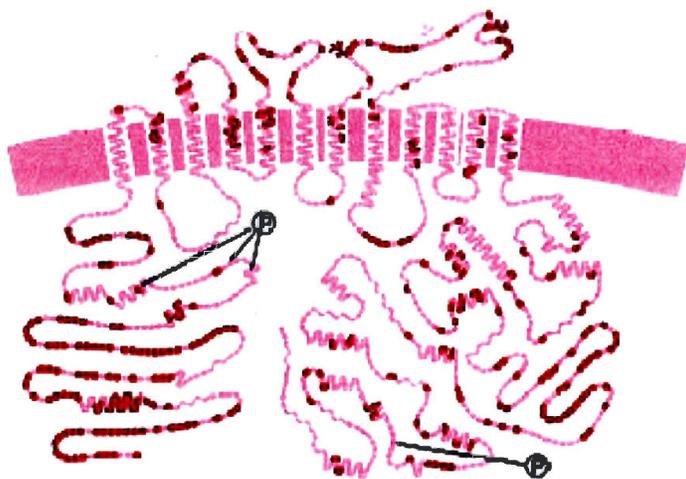


Figure 17 : Cladogramme de la famille des CCCs (28)

L'arbre phylogénétique inclus sept CCCs humains, le KCC2 du rat et quatre CCCs non-mammifères. Légende : ce = *Caenorhabditis elegans*, h = humain, rt = rat, sc = *Saccharomyces cerevisiae*.

Les membres de la famille des CCCs possèdent des caractéristiques structurales communes, illustrées par un exemple à la figure 18. Basé sur l'analyse hydrophatique de la séquence primaire des CCCs, il est prévu que ces protéines soient organisées en douze domaines transmembranaires (tm) ainsi qu'en hélices- α ou en feuillets- β dans les domaines intra-cellulaires. Des sites de phosphorylation ont également été identifiés chez plusieurs membres de la famille des CCCs. Entre les sous-familles ou familles, l'homologie est élevée, c'est-à-dire que les KCCs sont identiques à 75% entre eux ; NKCC1, NKCC2 et NCC1 sont identiques à 50-60% entre eux ; et les CCCs sodium-dépendants, les CCCs potassium-dépendants et hCIP1 sont identiques à 25-35% entre eux. Cette homologie est dite élevée puisqu'elle réfère au



Les résidus qui sont uniques à sNKCC1 sont représentés par les symboles rouges, et les acides aminés qui sont identiques entre les espèces sont représentés par des symboles roses. Les P encerclés indiquent les sites de phosphorylation putatifs (28).

Figure 18 : Modèles proposés et corrélations d'identité entre les protéines sNKCC1 et hNKCC1 (28)

pourcentage d'acides aminés identiques à une position donnée entre les isoformes concernées.

Les CCCs ont été identifiés comme étant le site d'action de divers composés incluant les dérivés de l'acide sulfamoylbenzoïque (furosémide et bumétanide) ainsi que les benzothiadiazines (hydrochlorothiazide et trichlorométhiazide). Plusieurs preuves indiquent également que ces composés bloquent les CCCs en interagissant directement avec eux (41-42). Ces expériences ont par ailleurs révélé que les NKCC1 et 2 sont tous deux sensibles au furosémide et au bumétanide (43), que les KCCs sont beaucoup plus sensibles au furosémide qu'au bumétanide (36), et que le NCC1 est sensible au benzothiadiazines mais pas au furosémide ou au bumétanide (28, 32). Les caractéristiques du transport des ions par les CCCs ont été étudiées de façon intensive. Nous savons par exemple que la stœchiométrie de la plupart des NKCCs est $1\text{Na} : 1\text{K} : 2\text{Cl}$ par protéine. D'autres études cinétiques des CCCs incluent un modèle strictement ordonné du passage des ions à travers la membrane, tel que représenté à la figure 19 (44).

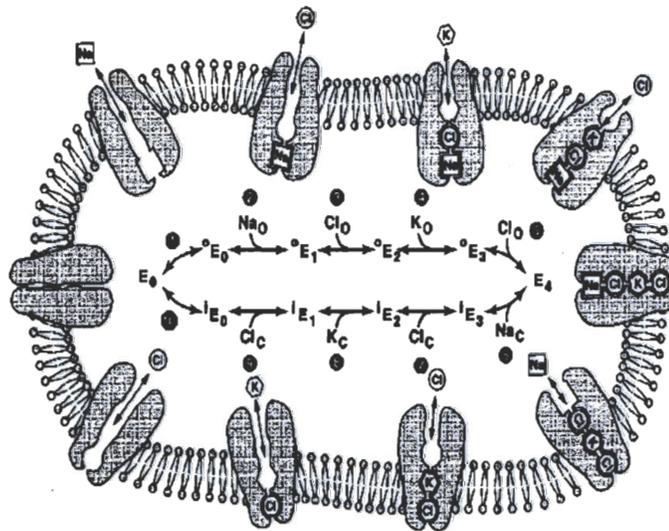


Figure 19 : Modèle hypothétique du passage ordonné des ions (44, 45)

Le cotransport est complètement réversible et seules les formes complètement remplies ou complètement vides des protéines de cotransport sont capables de changer l'orientation de l'intérieur vers l'extérieur et *vice versa*. Les chiffres réfèrent à l'ordre de liaison, de réorientation et de relâchement pour un cycle complet. Parce que la liaison ainsi que le relâchement sont ordonnés, une grande concentration de substrat du côté du relâchement peut gêner ce dernier. Une augmentation de Na^+ devrait donc prévenir un relâchement de Cl^- et K^+ en prévenant l'étape 7. Cela pourrait se manifester par une réduction de l'influx net ou par une augmentation de l'échange Na^+/Na^+ , dépendant des conditions ioniques exactes.

1.4 Objectifs

Les CCCs jouent des rôles clés dans plusieurs processus physiologiques. Ils sont en particulier impliqués dans le mouvement du sel et de l'eau le long du néphron, principalement situés dans la région de l'anse de Henle, dans l'homéostasie des fluides et dans la régulation de la pression sanguine. Les CCCs sont donc des cibles de choix pour le traitement clinique de désordres tels la rétention d'eau, l'hypertension systémique et l'hypertrophie cardiaque. Certains agents thérapeutiques, tels le furosémide et le bumétanide, sont largement utilisés pour le traitement de ces conditions. Cependant, les composés disponibles à l'heure actuelle sont non-spécifiques puisqu'ils bloquent plusieurs CCCs de façon concurrentielle (45). En effet, la découverte et l'identification d'isoformes des CCCs ne datant que d'une dizaine d'années, il n'y a que peu ou pas d'études qui ont été menées dans le but de découvrir des inhibiteurs spécifiques à ces diverses isoformes.

Le but de mon travail, dont les résultats sont présentés dans ce mémoire, est donc la synthèse d'une nouvelle génération de molécules possédant les groupements fonctionnels nécessaires à une activité anti-CCCs, mais placés différemment. Cette stratégie pourrait permettre une plus grande diversité d'interactions entre ces molécules et les CCCs et d'obtenir une meilleure sélectivité d'action. Ces travaux seront décrits et expliqués dans les chapitres 2 et 3. De plus, dans le but d'augmenter la diversité ainsi que la performance des synthèses, nous avons élaboré une stratégie tentant de tirer avantage de la synthèse sur support solide et de la chimie combinatoire, rendant possible l'exploitation d'une structure de base pour incorporer plusieurs sites fonctionnels et ainsi engendrer un degré de diversité encore plus élevé des nouvelles molécules synthétisées. Ces derniers travaux seront détaillés au chapitre 4.

CHAPITRE 2

SYNTHÈSE DE MOLÉCULES AU POTENTIEL DIURÉTIQUE

2.1 Préambule

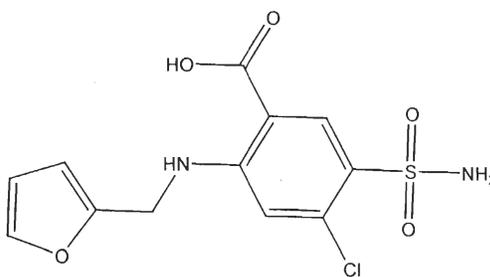
La synthèse combinatoire est un moyen efficace et rapide de produire une grande quantité de molécules diversifiées. Cependant, avant de pouvoir tirer pleinement avantage de cette technique, il faut que les différentes étapes réactionnelles soient optimisées en solution et sur support solide dans le but ultime d'en venir à une automatisation du procédé de synthèse combinatoire. C'est pourquoi nous élaborerons, dans un premier temps, une synthèse en solution de molécules à potentiel diurétique. La synthèse en solution de différents composés cibles ainsi que les tests d'activité biologique de ces derniers est donc le sujet de ce second chapitre.

2.2 Le furosémide

2.2.1 Généralités

Dans le but de synthétiser des composés potentiellement actifs et sélectifs envers les différentes isoformes des CCCs, nous avons décidé d'étudier plus attentivement le composé le plus largement utilisé en clinique et interagissant avec ces protéines membranaires : le furosémide.

Ce puissant diurétique de l'anse, commercialisé sous les noms de Lasix ou Lasilix, est en fait l'acide 4-chloro-N-(2-furyl-méthyl)-5-sulfamoyl-O-anthranilique, représenté par la structure 29.



29

Il agit en inhibant les cotransporteurs cations-chlorures, localisés dans la partie ascendante épaisse de l'anse de Henlé, d'où le nom de « diurétique de l'anse ». Cette inhibition empêche la réabsorption du sodium, ce qui provoque une augmentation du débit urinaire et provoque la diurèse (46).

2.2.2 Utilités thérapeutiques

Le furosémide est utilisé dans le traitement d'œdèmes chez des patients souffrant d'insuffisance cardiaque congestive et de cirrhose (47). Son efficacité l'a rendu très populaire et sa capacité à agir chez des patients souffrant d'hypoalbuminémie, d'hyponatrémie,

d'hypochlorémie et d'hypokaliémie est maintenue. Ce médicament entraîne une augmentation de l'excrétion du sodium et du volume urinaire moins de 15 minutes suivant son administration par voie intraveineuse. Cette action rapide est un autre avantage important, puisque bon nombre de diurétiques ne sont pas effectifs avant une à trois heures post-administration. Le furosémide peut également être utilisé en tant qu'antihypertenseur (traitement de l'hypertension artérielle), puisqu'il permet une diminution de la pression sanguine (47). Il est également rapporté que le furosémide peut être utilisé dans le traitement des empoisonnements aux barbituriques, la diurèse favorisant l'élimination du poison (46).

2.2.3 Effets secondaires

Les complications majeures engendrées par l'utilisation du furosémide sont provoquées par la perte rapide d'eau et d'électrolytes. S'il n'y a pas réhydratation, une diminution du volume extracellulaire ainsi que de l'hypotension peuvent se produire. Comme tout autre agent qui entraîne la diminution du volume extracellulaire, une augmentation de la concentration d'urée dans le sang se produit. Il peut également se produire une hyponatrémie, une hypochlorémie et de l'hypokaliémie après l'administration de ce produit. Certains cas d'hyperuricémie sévère ont également été observés (47). Des problèmes gastro-intestinaux, une sensation de faiblesse ou de fatigue, des étourdissements ainsi que des crampes musculaires, tous probablement causés par la déshydratation, sont d'autres effets secondaires possibles. Un certain nombre des effets secondaires sont probablement le résultat de l'action non sélective du furosémide sur les différentes isoformes des CCCs en plus de son action sur le cotransporteur Na-K-Cl.

2.2.4 Analyse structurale

Le furosémide possède, en plus de son noyau benzénique principal, cinq groupements pouvant être reliés à l'activité pharmacologique (figure 20).

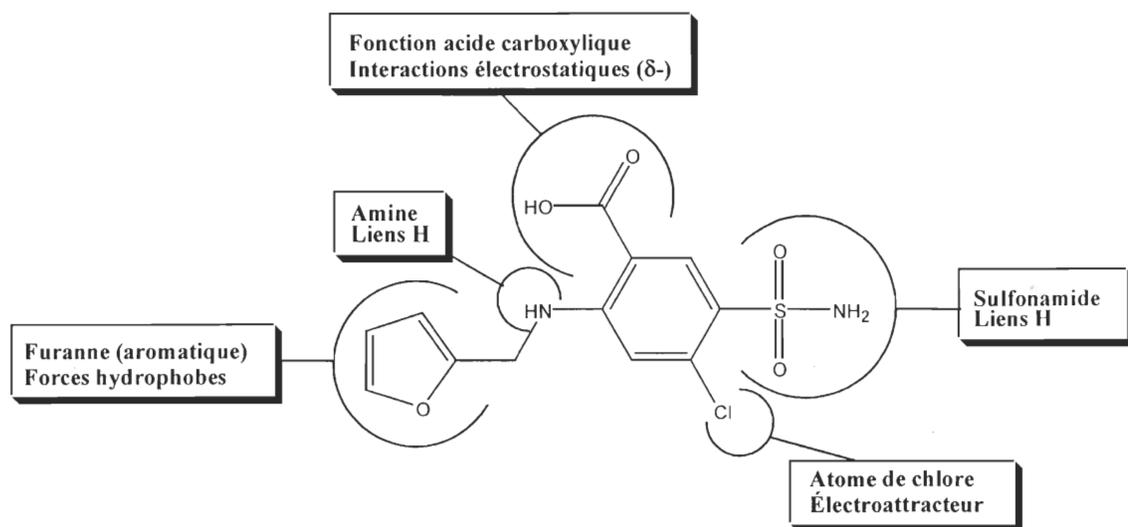


Figure 20 : Les pharmacophores du furosémide

Parmi les groupements illustrés à la figure 20, un ou plusieurs permettent la liaison à un site récepteur de manière plus ou moins sélective. Le furosémide possède une fonction acide carboxylique qui est génératrice d'interactions électrostatiques, produites par le dipôle induit par l'effet électroattracteur des atomes d'oxygène et par le fait qu'à pH physiologique ($\text{pH} = 7,4$) la fonction acide est déprotonée en COO^- , autre source d'électrons. La fonction amine sur cette molécule permet la formation de liens hydrogènes, grâce à la présence du doublet d'électrons libre de l'azote. Le groupement furanne, par son aromaticité, est générateur de forces hydrophobes et permet également des interactions aromatiques, tout comme le noyau benzénique principal de la molécule. L'atome de chlore, étant électroattracteur, est lui aussi un générateur d'interaction électrostatiques. Finalement, le groupement sulfonamide, présent dans une multitude de composés biologiquement actifs, rend possible la formation de liens hydrogènes et est également une source importante d'interactions électrostatiques, en plus de

favoriser la solubilité dans l'eau et de conduire à des agents qui peuvent s'administrer oralement.

Dans le cas du furosémide, il est cependant important de mentionner que comme le mécanisme de liaison de la molécule au récepteur des CCCs est inconnu, il nous est impossible de dire lequel ou lesquels des différents pharmacophores est ou sont nécessaires à l'activité du furosémide.

2.3 Le prototype

Suite aux différentes observations structurales effectuées sur le furosémide, nous avons élaboré un prototype permettant d'incorporer une foule de groupements fonctionnels diversifiés tout en conservant une géométrie et une orientation spatiale des groupements actifs similaires au composé modèle. Cette approche permet donc de produire une gamme de nouvelles molécules au potentiel diurétique ciblant les CCCs de l'anse de Henle de manière plus spécifique ou d'autres CCCs de dans des tissus extrarénaux.

Le furosémide aurait pu servir de prototype à modifier. Cependant, nous avons adopté la structure générale représentée à la figure 21. Cette structure nous permet d'incorporer tous les pharmacophores présents dans le furosémide, c'est-à-dire la fonction acide carboxylique, une fonction amide (remplaçant la fonction amine), un cycle aromatique benzénique en remplacement du furanne, le groupement électroattracteur en R₂, ainsi que la fonction sulfonamide en R₁. De plus, ce prototype permet l'incorporation de nouveaux groupements, soit en R₃, R₄, R₅, R₆ et R₇, permettant une diversité moléculaire accrue et essentielle puisque notre but est de synthétiser de nouveaux inhibiteurs potentiels des CCCs plus sélectifs.

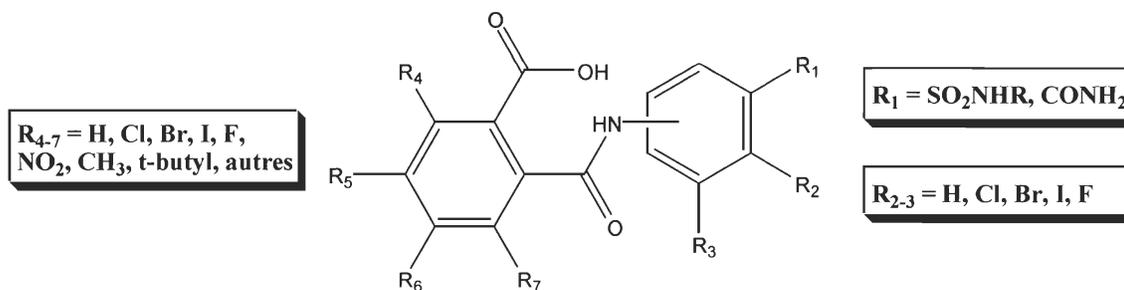


Figure 21 : Prototype de nouvelles molécules à potentiel diurétique

Nous avons aussi sélectionné la structure de base, illustrée à la figure 21, grâce aux similitudes structurales qu'elle partage avec le furosémide. En effet, une comparaison des deux molécules à l'aide de modèles tridimensionnels CPK nous a permis de constater à quel point les pharmacophores des deux structures sont superposables dans l'espace. Le prototype permet donc d'orienter les divers groupements fonctionnels de manière similaire à ceux du furosémide, ce qui nous permet de croire que cette structure pourrait mener à un ou plusieurs nouveaux inhibiteurs sélectifs des CCCs. Les deux structures 3D ainsi que les champs électrostatiques générés par les différents pharmacophores sont représentés à la figure 22.

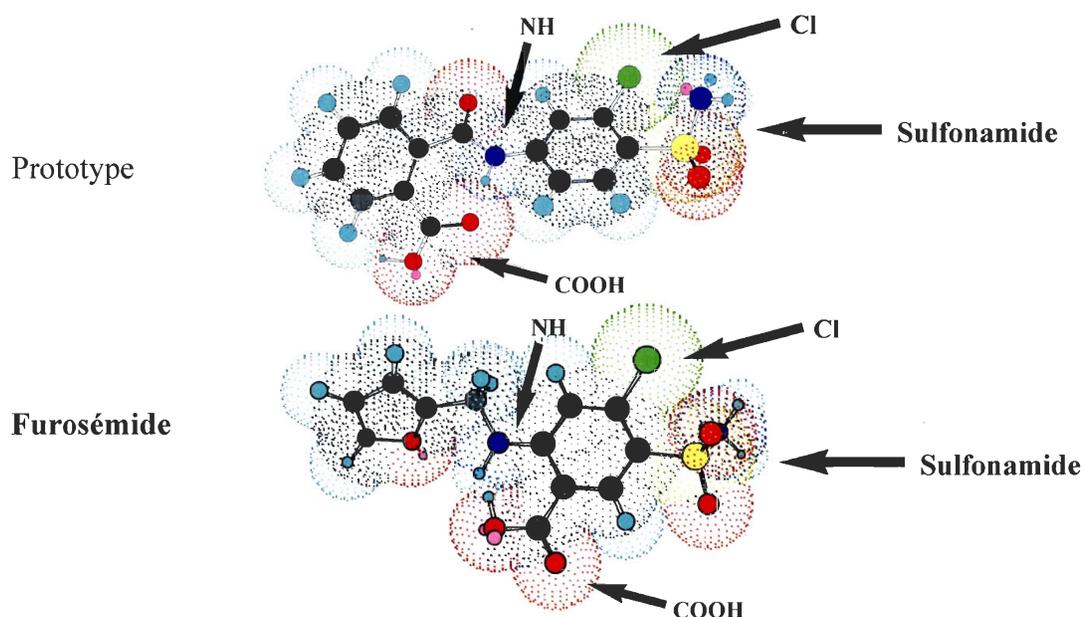


Figure 22 : Structures 3D et champs électrostatiques du furosémide et de notre prototype

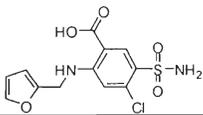
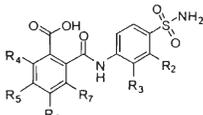
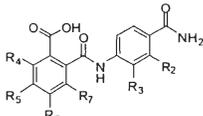
Bien que des études de modélisation moléculaire plus approfondie auraient pu être réalisées, nous avons opté pour la synthèse et l'évaluation des composés cibles compte tenu de leurs avantages et de leur nouveauté : en élaborant ce prototype structural, nous avons également décidé d'incorporer le groupement carboxamide, en position R₁ et en remplacement du groupement sulfonamide (voir figure 21), comme possibilité de groupement actif. Une analogie certaine entre les deux groupements a déjà été rapportée dans la littérature, autant sur les plans chimique que structural et biologique (48, 49). Le groupement carboxamide nous permet donc d'induire encore plus de diversité dans nos synthèses de molécules au potentiel diurétique.

2.3.1 Les règles de Lipinski

Les propriétés des molécules, telles la biodisponibilité ou la perméabilité membranaire, ont souvent été reliées à de simples descripteurs moléculaires, à savoir $\log P$ de la perméabilité ($\log P$), la masse moléculaire (MW), le compte des groupes accepteurs de ponts hydrogène (somme des O et N) et le compte des groupes de donneurs de ponts hydrogène (somme des OH et NH) (50, 51). Ces propriétés ont été utilisées par Lipinski *et al.* (50) pour formuler sa fameuse règle de 5 « Rule of 5 ». Cette règle dit que la plupart des molécules ayant une bonne perméabilité membranaire ont un $\log P \leq 5$, une masse moléculaire ≤ 500 , un nombre d'accepteurs de liens hydrogène ≤ 10 et un nombre de donneurs de liens hydrogène ≤ 5 .

Si nous appliquons cette règle au furosémide et à notre prototype de molécule, nous constatons que notre prototype satisfait aux règles, tout comme le furosémide, ce qui nous permet de croire que cette structure est prometteuse (voir tableau 1).

Tableau 1 : Paramètres de Lipinski calculés pour le furosémide et le prototype

Molécules	MW \leq 500	Accepteurs de liens H \leq 10	Donneurs de liens H \leq 5	LogP \leq 5
Furosémide 	331	7	4	0,74**
Prototype Sulfonamide 	320-491*	7-10*	4	1,14-4,20**
Prototype Carboxamide 	284-455*	6-9*	4	1,22-4,36**

*Ces paramètres ont été calculés en supposant au plus un groupement NO₂ et un I sur la molécule prototype.

**Estimations faites en utilisant le logiciel Chemdraw Ultra 10.0.

2.4 Synthèse des molécules

2.4.1 Stratégie

Notre objectif étant toujours la synthèse combinatoire sur support solide, une stratégie de synthèse en solution a été mise au point dans le but de produire une gamme diversifiée de nouvelles molécules au potentiel diurétique et de mettre au point des conditions réactionnelles pouvant s'appliquer à la synthèse supportée. Nous avons donc effectué une rétro-synthèse de notre molécule prototype, qui est représentée à la figure 23.

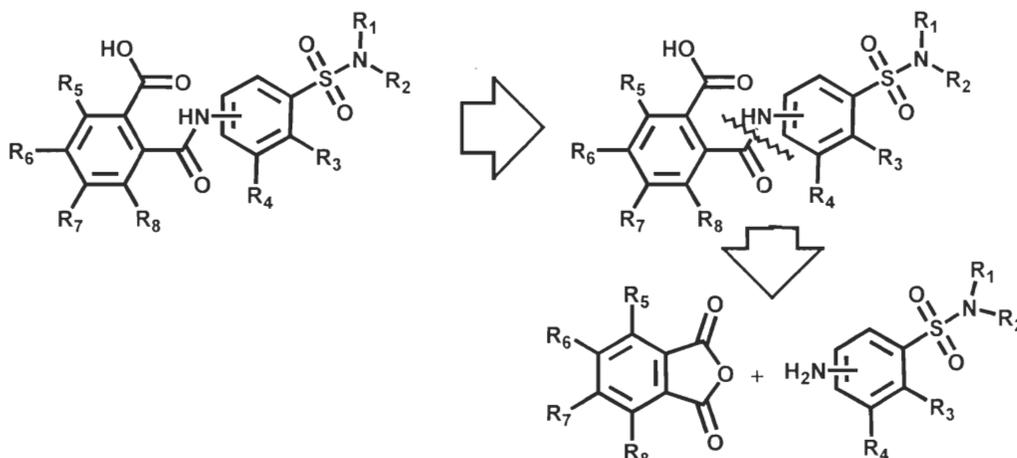


Figure 23 : Rétro-synthèse

Le prototype peut donc être synthétisé en utilisant deux synthons, soit un anhydride phtalique et un aminobenzènesulfonamide. Cette stratégie est très avantageuse, puisqu'elle utilise des anhydrides phtaliques, une grande variété étant disponible commercialement, ainsi que des aminobenzènesulfonamides, également disponibles commercialement. De plus, cette stratégie de synthèse est applicable au support solide, plus précisément à la stratégie BOC, puisqu'elle utilise la réactivité d'une amine libre. La fonction sulfonamide pourrait éventuellement être obtenue suite au clivage de la molécule finale de la résine. La stratégie sur support solide est discutée plus en détail au chapitre 4. La stratégie générale de synthèse, inspirée de travaux effectués par Scozzafava *et al.* (52), est représentée à la figure 24.

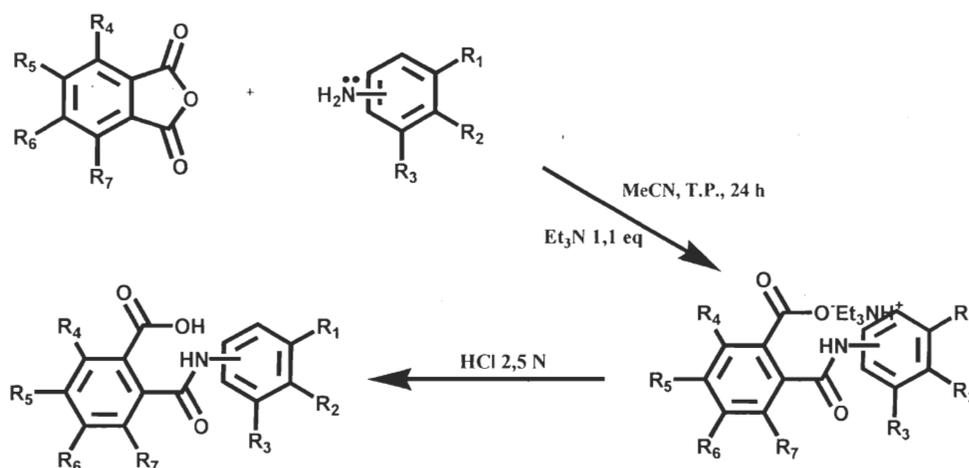


Figure 24 : Stratégie de synthèse en solution

Cette stratégie utilise deux synthons tel que mentionné, soit un anhydride phtalique et un aminobenzènesulfonamide ou benzamide. On commence d'abord par dissoudre le sulfonamide ou benzamide dans un minimum d'acétonitrile. On dissous également 1,0 équivalent d'anhydride dans un minimum d'acétonitrile et ceci, dans un contenant à part. On ajoute ensuite à la solution de sulfonamide ou benzamide, placée sous agitation magnétique, 1,1 équivalent de triéthylamine. La solution d'anhydride est par la suite additionnée goutte à goutte (2-5 minutes) à la solution de sulfonamide ou benzamide et triéthylamine. Le mélange obtenu est agité sous azote à température pièce pendant 24 heures, ou toute la nuit. Après avoir arrêté l'agitation, le mélange réactionnel est transféré dans un bécher, puis additionné d'un peu d'eau et acidifié avec HCl 2,5 N. Le produit final précipite au fond du bécher et peut être récolté par filtration sous vide avec un entonnoir Büchner. Le solide est finalement lavé avec quelques portions d'eau glacée.

2.4.2 Molécules de base et mécanisme

Pour effectuer les premières synthèses de composés, nous avons utilisé 5 anhydrides différents, ainsi que 3 benzamides et 2 sulfonamides (figure 25). Le mécanisme réactionnel général de ces réactions se déroule comme suit : [1] Le doublet de l'amine attaque et ouvre un des carbonyles de l'anhydride. [2] Une base, dans ce cas-ci la triéthylamine, va chercher le proton en excès sur l'amide formé. [3] Le sel de triéthylamine du produit est alors formé par liaison entre l'électron libre de l'oxygène de la fonction acide carboxylique et la base protonée Et_3NH^+ (triéthylamine). [4] On brise ensuite ce sel par acidification pour former le produit final.

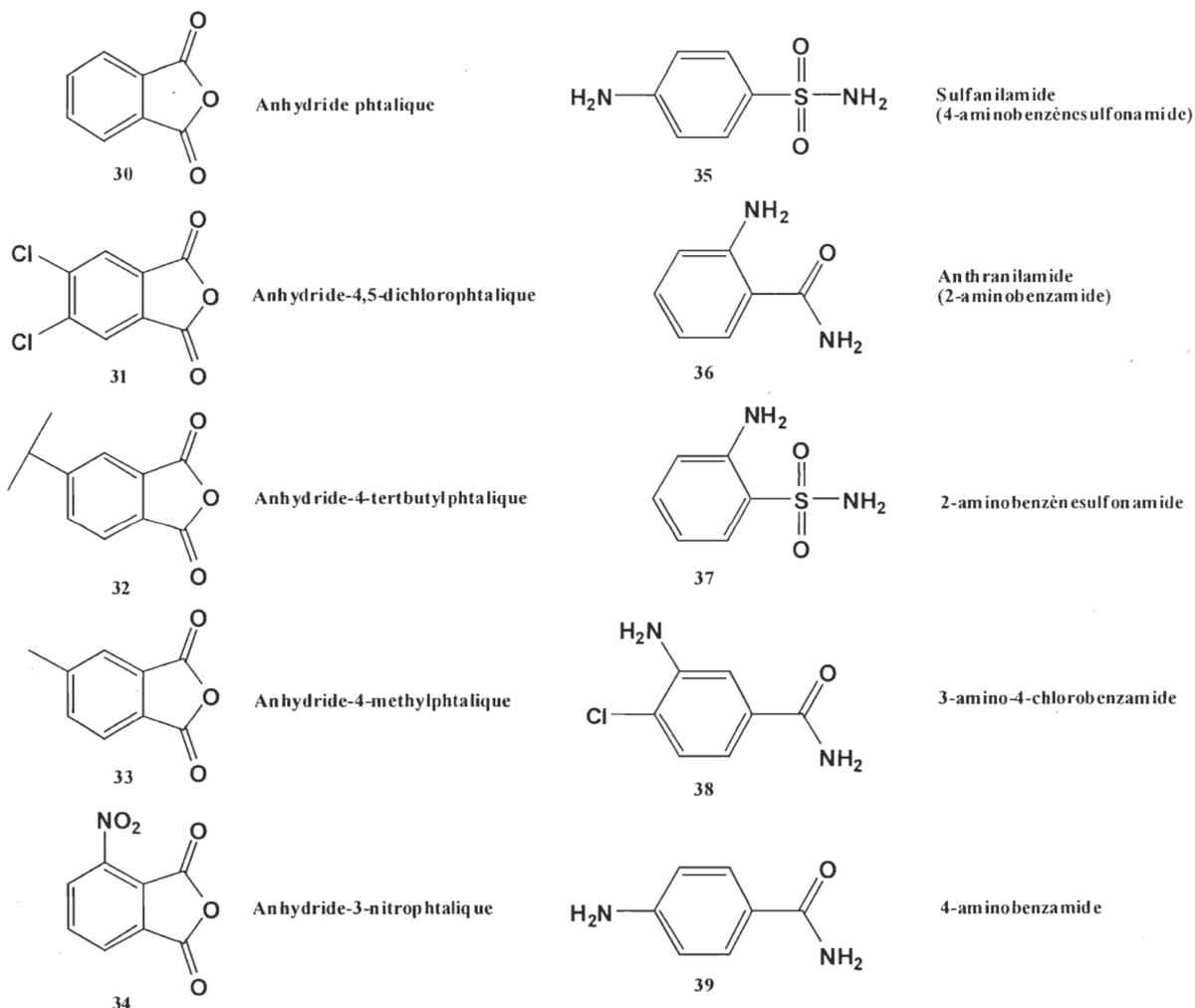


Figure 25 : Les synthons

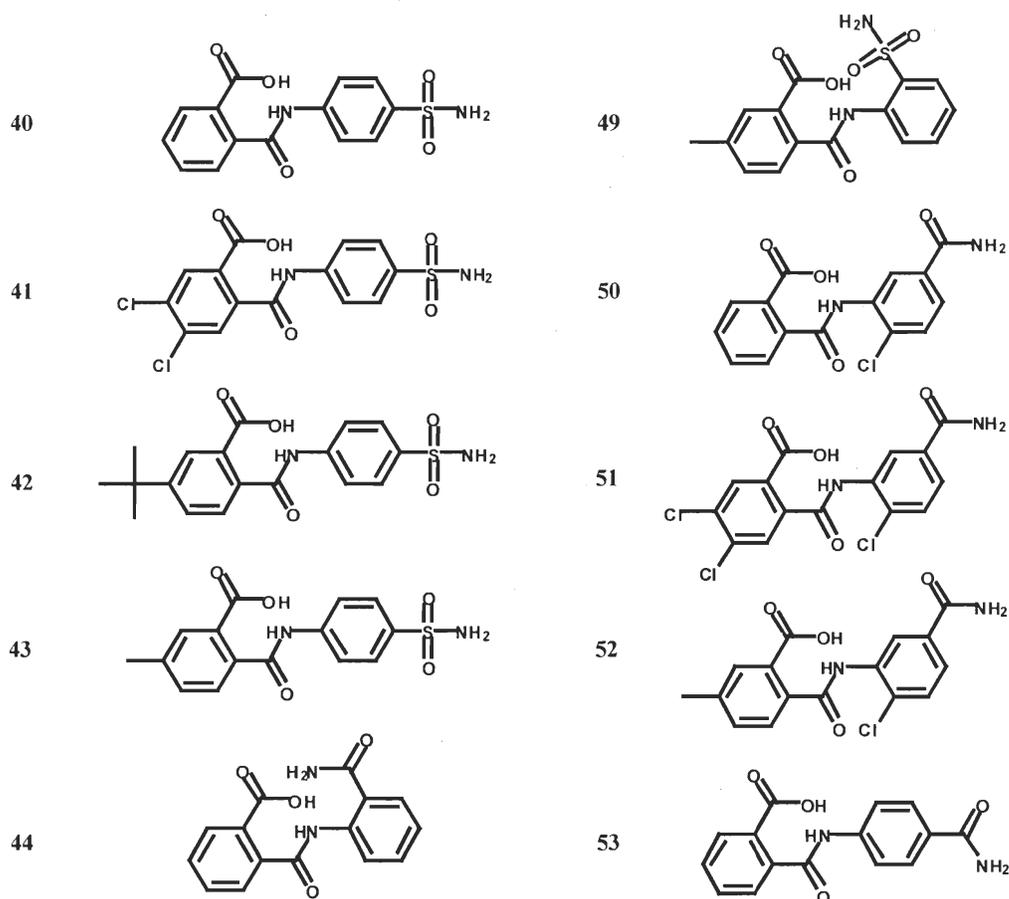
2.4.3 Molécules synthétisées

Nous avons synthétisé plus de 18 composés de structures distinctes en parallèle. Les structures de ces composés sont rapportées à la figure 26, tandis que les résultats de ces synthèses sont rapportés dans le tableau 2 à la page 45.

Ces composés ont tous été caractérisés par leur température de fusion et leurs spectres RMN du proton, infrarouge et de masse. L'analyse des spectres RMN du proton révèle la présence des protons correspondants à la structure des différentes molécules et de surcroît, la comparaison de ces spectres avec ceux des produits de départ révèle l'absence ou la quasi

absence de produit de départ. L'évaluation de la pureté a été faite à l'aide de la RMN du proton et révèle une excellente pureté de l'ordre de plus de 95% dans la majorité des composés présentés à la figure 26 et dans le tableau 2 et ce, après la cristallisation finale.

Le succès de ces synthèses a donc permis de tester ces molécules par rapport à leur activité anti-CCCs. Les résultats de ces tests ainsi que leur méthodologie seront discutés plus loin au point 2.6. Il est à noter que la caractérisation par spectroscopie RMN du carbone aurait pu être intéressante, mais qu'elle n'a pas été jugée nécessaire vu la qualité des résultats RMN du proton, des spectres de masse et la simplicité des structures des composés.



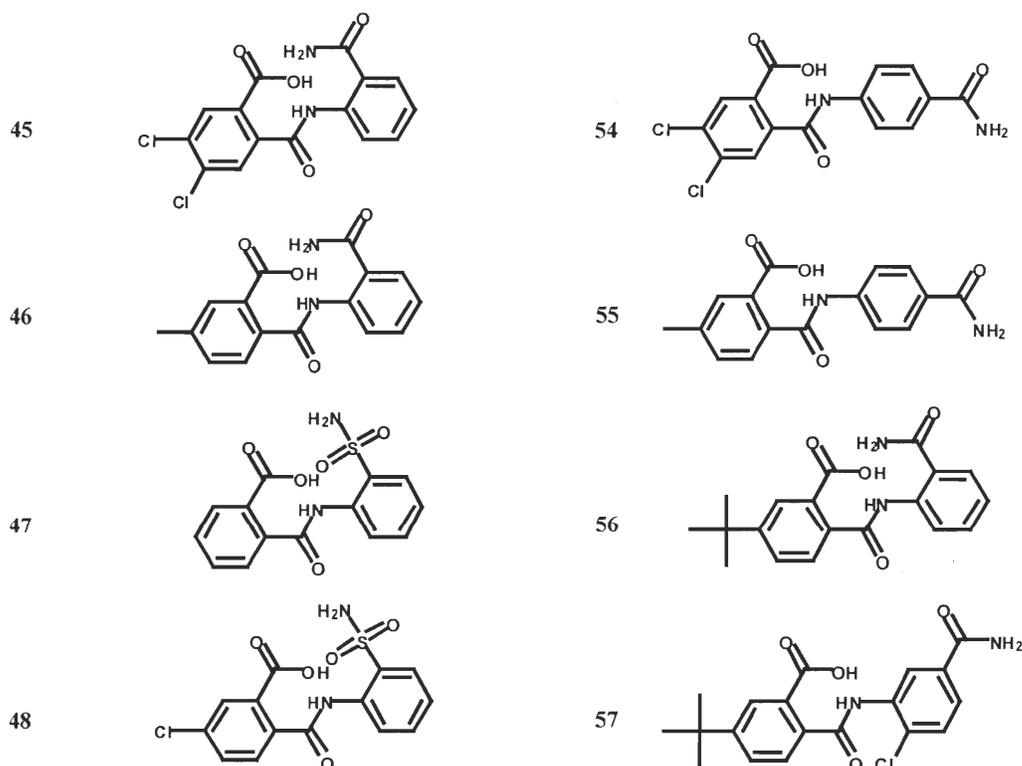


Figure 26 : Structure des molécules synthétisées

Tableau 2 : Résultats des synthèses en solution

Composés	M.M. Calculée (g/mol)	M.M. Expérimentale (g/mol)	T _f (°C)	Rendement (%)
40	320,32	320,4	255	32
41	389,21	390,0	>260	54
42	376,43	376,8	>260	55
43	334,35	334,0	>260	28
44	284,27	284,8	180	52
45	353,16	353,0	185	51
46	298,29	299,2	181	53
47	320,32	320,0	>260	62
48	389,21	389,9	>260	44
49	334,35	334,2	253	26
50	318,71	319,0	>260	86
51	387,60	388,8	>260	76
52	332,74	332,8	206	40
53	284,27	284,9	>260	59
54	353,16	353,0	>260	65
55	298,29	299,0	>260	51
56	340,37	341,2	158	65
57	374,82	375,2	148	65

2.4.4 Difficultés et particularités

Il est évident que toutes ces synthèses ne se sont pas toutes déroulées parfaitement comme prévu. Nous avons du faire face à de multiples embûches et trouver des solutions pour les contourner. De plus, pour l'implantation de cette stratégie sur support solide, il est primordial d'optimiser toutes les étapes du processus. Il sera traité ici de quelques problèmes importants qui ont été solutionnés.

2.4.4.1 Solubilité des réactifs

Comme nous appliquons ici un protocole général pour synthétiser une multitude de composés à base de deux synthons tous différents les uns des autres, il nous est apparu évident que certains problèmes de solubilité des réactifs dans le solvant adopté, soit l'acétonitrile, finiraient par poindre. Nous avons d'ailleurs constaté que le simple ajout d'un halogène ou d'un groupement fonctionnel sur un anhydride pouvait rendre ces composés tout à fait ou en partie insolubles dans l'acétonitrile (ex. l'anhydride-4,5-dichlorophtalique). Nous avons donc essayé de faire la réaction en suspension lorsque l'un ou l'autre des réactifs ne se solubilisait dans le solvant de réaction. C'est ainsi que le composé **41** a été obtenu (rendement de 54%). Il apparaît donc que la synthèse en suspension s'avère un moyen simple et efficace de contourner ce problème en nous évitant d'avoir à essayer plusieurs solvants réactionnels pour chaque synthon utilisé. Cependant, il faudra tenir compte de l'insolubilité des synthons lors de la SOSS, particulièrement lors des lavages.

2.4.4.2 Sel de triéthylamine

Si nous nous rapportons au schéma de synthèse présenté à la figure 24, nous constatons que le sel de triéthylamine du produit formé est éliminé par simple réaction d'acidification avec HCl 2,5N. Bien qu'efficace la plupart du temps, cette partie de la synthèse s'est avérée problématique à maintes reprises, empêchant souvent la récupération du produit solide, soluble dans le mélange acétonitrile/eau lorsque sous la forme d'un sel de triéthylamine. Nous avons en effet été observé que le traitement à l'acide de certains composés ne permettait pas l'élimination du sel par protonation de la fonction acide carboxylique de la molécule finale. Plusieurs composés ont donc été récupérés par évaporation à sec du milieu réactionnel et donc, par récupération de la forme « sel » du composé désiré.

Dans le but d'éliminer le sel et d'obtenir la forme acide des composés problématiques, nous avons tenté avec succès de traiter deux de ces composés avec une résine échangeuse d'ions de type acide, soit l'Amberlite IR-120 (plus), possédant des fonctions acides SO₃H. La méthode consiste simplement à mettre en solution dans le méthanol ou le dichlorométhane le composé sous forme de sel et à ajouter à cette solution une petite quantité de résine échangeuse d'ions. Après une bonne agitation mécanique, la résine est filtrée de la solution et cette dernière est évaporée à sec pour permettre la récupération du composé désiré correctement acidifié. Nous avons testé cette méthodologie toute simple avec deux composés sous forme de sel de triéthylamine, soit les composés **58** et **59** (figure 27). De cette manière, nous avons pu obtenir ces sels sous forme acide (composés **44** et **45**), la spectroscopie RMN du proton confirmant la disparition totale ou partielle du sel et l'apparition du proton acide de la fonction acide carboxylique.

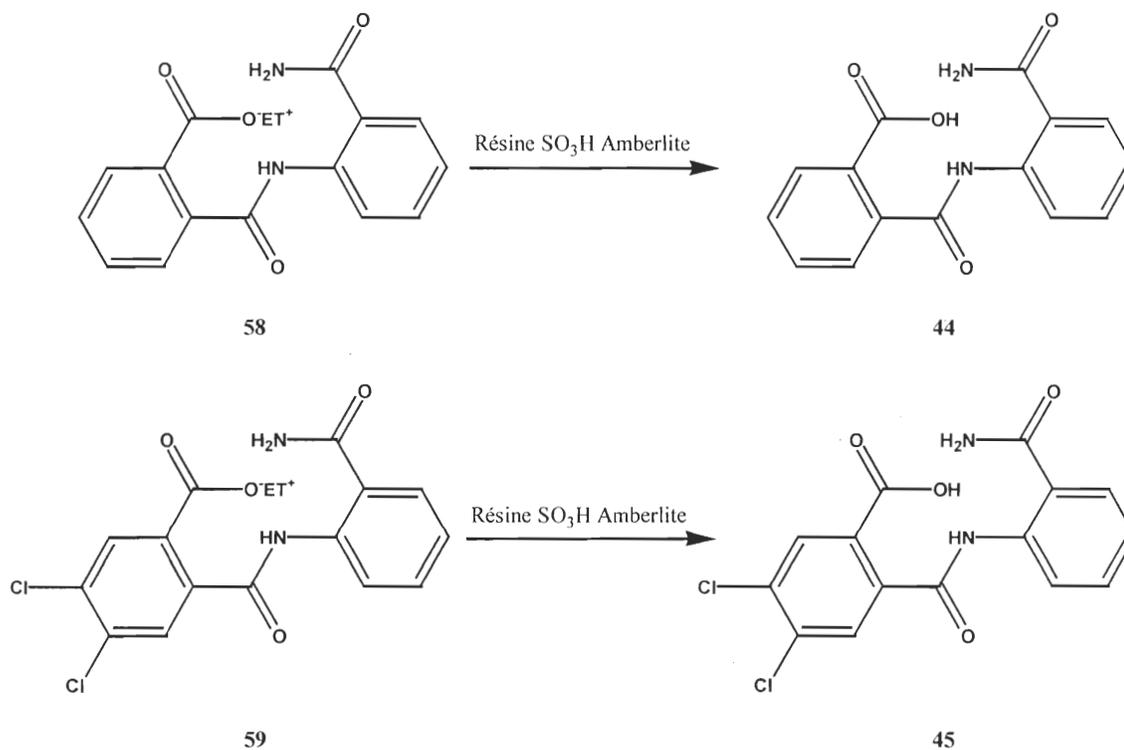


Figure 27 : Traitement des sels de triéthylamine par résine échangeuse d'ions

Il est important de noter que certains composés ont été laissés sous forme de sel de triéthylamine volontairement, dans le but de permettre leur solubilité dans l'eau et ainsi, de faciliter les tests d'activité biologique. Nous reviendrons sur ce point à la section 2.6.

2.4.4.3 Autres synthèses

La synthèse de certaines molécules n'a pas bien fonctionné. Les autres essais effectués et les résultats qui s'y rattachent sont résumés à la figure 28 (structures attendues) et au tableau 3 (résultats quantitatifs).

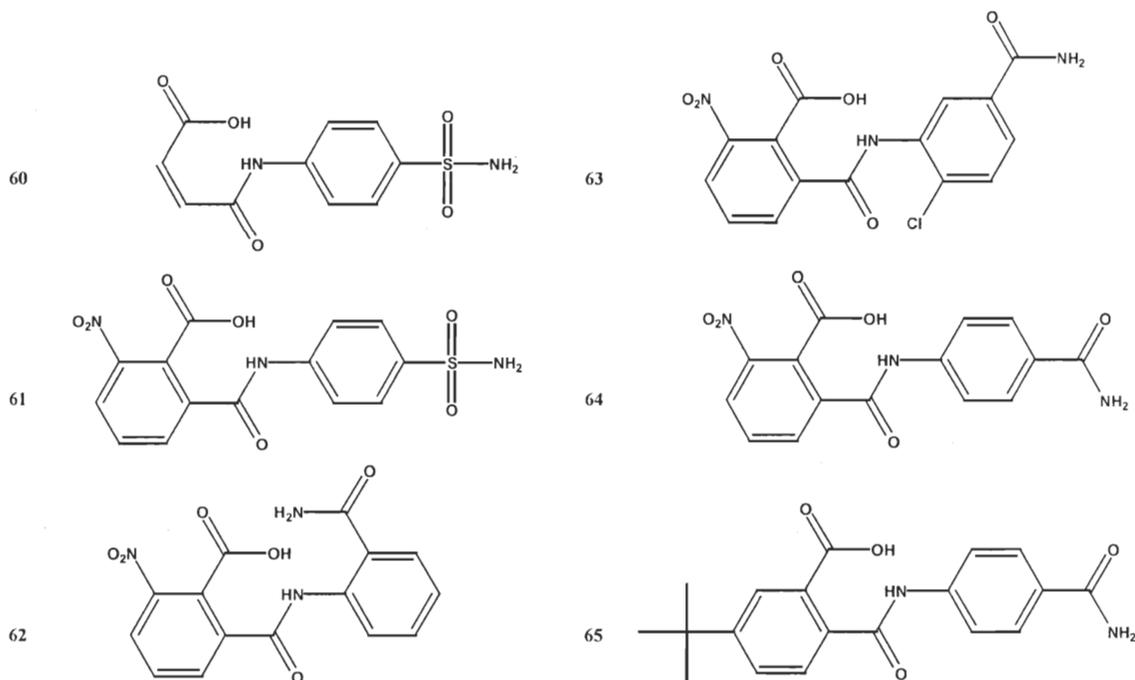


Figure 28 : Synthèses plus ou moins réussies

Tableau 3 : Résultats des synthèses pour les composés 60 à 65

Composés	M.M. Calculée (g/mol)	M.M. Expérimentale (g/mol)	T _f (°C)	Rendement (%)
60	270,26	n.d.	n.d.	n.d.
61	365,32	362,0	n.d.	80
62	329,26	n.d.	n.d.	n.d.
63	363,71	357,4	n.d.	21
64	329,26	n.d.	99	24*
65	340,37	n.d.	132	78*

*Ces rendements sont obtenus avec le produit brut non purifié.

Bien que nous ayons tenté la synthèse des composés **60** à **65** en solution, suivant le même protocole que présenté précédemment, la combinaison de ces synthons n'a pas conduit aux produits escomptés ou les a produit à faible rendement. Dans les paragraphes qui suivent, des explications plus détaillées sur les problèmes rencontrés sont fournies.

Par réaction du sulfanilamide avec l'anhydride maléique, nous avons obtenu un produit, identifié par la structure attendue **60**, en très faible quantité sous forme d'huile noire, très difficile à manipuler et à analyser. Le spectre RMN du proton révèle la présence des produits de départ, mais le manque de protons correspondant au produit final nous permet de conclure à l'échec de la réaction.

Un deuxième composé **61** a été synthétisé par réaction du sulfanilamide avec l'anhydride-3-nitrophthalique en solution. Bien que le RMN du proton semble à première vue nous indiquer que la synthèse est réussie, une analyse plus méticuleuse nous permet de voir que nous obtenons en fait un mélange des deux produits de départ. De plus, le spectre de masse révèle une valeur de 362,0 plutôt que de 365,3. À la lueur de ces données, il apparaît évident que cette synthèse est plus délicate. Il est possible que l'effet électroattracteur de la fonction nitro rende l'attaque du nucléophile inefficace.

Un troisième composé **62** était attendu par la réaction du 2-aminobenzamide avec l'anhydride-3-nitrophthalique. L'analyse du RMN du proton de ce composé révèle la présence du benzamide de départ et du produit désiré **62** en faible quantité sous forme de sel de triéthylamine. Le manque de protons caractéristiques de la structure **62** attendue nous laisse croire que cette synthèse n'a pas bien fonctionné.

Le produit brut de la réaction du 3-amino-4-chlorobenzamide avec l'anhydride-3-nitrophthalique révèle un spectre RMN du proton déficient en protons attendus. De plus, le spectre de masse indique une valeur de 357,4 pour une valeur attendue de 363,7. Cet écart de 6 est assez grand et difficile à expliquer. Mais il n'en reste pas moins que vu la piètre qualité du spectre RMN du proton, nous pouvons également conclure ici à l'échec de la synthèse de **63**.

Les composés **64** et **65**, devant être synthétisés par réaction du 4-aminobenzamide avec, respectivement, l'anhydride-3-nitrophthalique et l'anhydride-4-tertbutylphthalique, se retrouvent tous deux sous forme de sel de triéthylamine présents en faible quantité dans un mélange brut contenant en majorité le produit de départ benzamide. La RMN du proton révèle dans les deux cas l'absence de certains protons attendus, démontrant l'échec de ces deux synthèses.

Sur la foi des données présentées jusqu'à maintenant, la prochaine étape aurait sans doute été d'élaborer une méthode de purification pour séparer les produits synthétisés sous forme de mélange, soit par chromatographie sur colonne de silice ou par HPLC, dans le but d'identifier la structure exacte des produits secondaires formés pour comprendre d'avantage ce qui a bien pu se produire, de manière à confirmer hors de tout doute que ces synthèses n'ont réellement pas fonctionné. Étant donné les objectifs du projet et la possibilité de préparer une grande variété de produits avec de bons rendements par d'autres méthodes, nous n'avons pas jugé bon d'optimiser ces synthèses.

2.5 Tests d'activité biologique

2.5.1 Introduction

Suite à la synthèse de quelques 20 composés de structures distinctes et originales, nous avons effectué, en collaboration avec le groupe de recherche du Dr. Paul Isenring du Centre de recherche L'Hôtel-Dieu de Québec, des tests d'activité sur les différentes molécules synthétisées. Ces tests visent à déterminer si les molécules que nous avons synthétisées jusqu'à maintenant influencent l'activité de différentes isoformes des CCCs.

2.5.2 Flux radioactif

Avant de pouvoir effectuer les tests de flux radioactif, les CCCs sont exprimés à l'aide d'oocytes (œufs de grenouille) provenant de la grenouille *Xenopus Laevis*. L'ADNc des CCCs ciblés (comprenant les KCC et le NKCC2) est cloné puis linéarisé. L'ARNc est ensuite synthétisé à partir de cet ADNc non circulaire en utilisant la T7 polymérase, puis injecté dans les oocytes où il sera exprimé (figure 29).

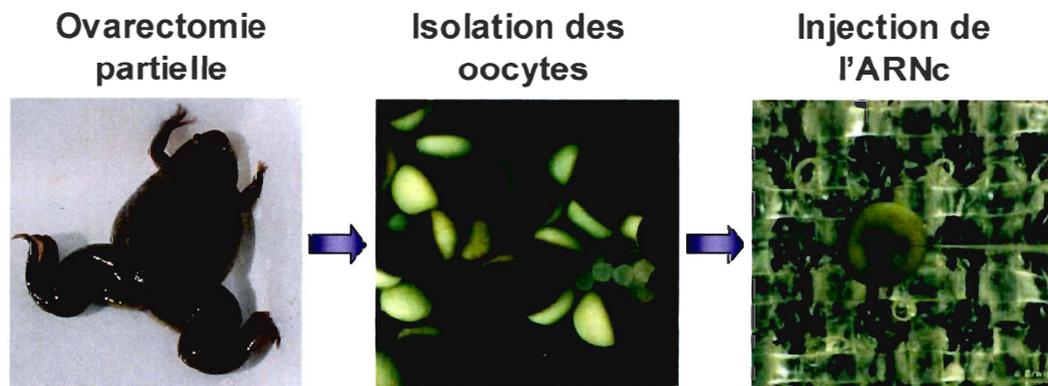


Figure 29 : Expression de CCCs dans des oocytes de *Xenopus Laevis* (54)

Les oocytes sont ensuite laissés en incubation 2-3 jours pour s'assurer d'une expression suffisante des protéines CCCs dans les parois des œufs. Ils sont par la suite laissés une heure dans une solution d'activation puis rincés à l'aide d'une solution à pH physiologique (7,4-7,5). Les molécules à être testées sont ensuite solubilisées dans l'eau ou le DMSO à des concentrations précises et ces solutions sont ajoutées à une solution de flux dans laquelle les oocytes sont incubés et testés pour leur activité de transport.

Il est à noter que les composés sont préférentiellement solubilisés dans l'eau, le DMSO étant toxique pour les oocytes. C'est pourquoi certains des composés synthétisés et testés l'ont été sous forme de sel de triéthylamine, cette forme permettant la solubilisation dans l'eau. Certains tests ont été menés avec la forme acide et avec la forme sel de composés, dans le but de déterminer si cela pouvait avoir un impact sur l'activité des composés. Jusqu'à maintenant,

il ne semble pas y avoir de différence, la fonction acide des composés se retrouvant sous forme COO^- à pH physiologique.

L'activité de transport se mesure par l'incorporation cellulaire de $^{86}\text{Rb}^+$ radioactif durant 45 minutes. Des contrôles parallèles sont faits en utilisant l'inhibiteur furosémide, en omettant tout composé, et en injectant les oocytes avec de l'eau plutôt que de l'ARNc. Après 45 minutes d'incubation avec le $^{86}\text{Rb}^+$, les oocytes sont rincés à l'aide d'une solution contenant 250 μM de furosémide ou bumétanide et 10 μM de ouabaïne. Les oocytes sont par la suite lysés dans une solution de 2% SDS (dodecylsulfate de sodium) et le $^{86}\text{Rb}^+$ radioactif est compté par scintillation- β liquide (53-55). Plus les cellules contiennent du $^{86}\text{Rb}^+$, moins bonne est l'activité inhibitrice des composés testés.

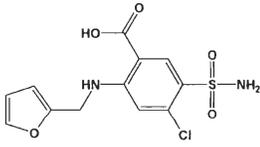
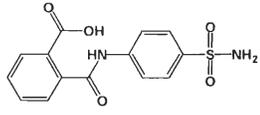
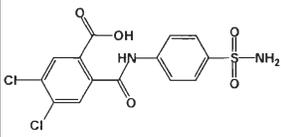
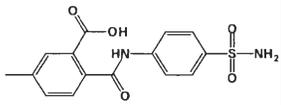
2.5.3 Résultats et discussion

Les résultats des tests d'activité des composés sont regroupés dans les tableaux 4 à 6 qui suivent. Il est à noter que les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition en référence au furosémide, les contrôles sans molécule comptant pour 0 et les valeurs obtenues avec le furosémide comptant pour 100% d'inhibition.

Quatre séries de tests d'activité ont été effectuées, suivant la synthèse des différents composés. La première série testée comprend les composés **40**, **41** et **43**, testés sur les isoformes rbKCC1, rtKCC2, huKCC3A et msKCC4 disponibles. Les résultats des flux, rapportés dans le tableau 4, indiquent que seul le composé **43** de cette série possède une activité, si on tient compte du pourcentage de changement et des écarts-types, étant un léger activateur de rtKCC2, donnant une valeur de 17,8% d'activation (valeur obtenue en dévaluant le plus possible l'écart en fonction des valeurs d'écart-type), les valeurs obtenues étant de $-32,5 \pm 6,3\%$ versus $0,0 \pm 8,4\%$ pour le contrôle. Il est à noter que ce résultat est encourageant et très intéressant, puisqu'il n'existe aucun activateur des isoformes des CCCs rapportés jusqu'à ce jour. Il faut toutefois répéter les expériences à quelques reprises, des changements de concentration en

DMSO entre les conditions pouvant expliquer ces résultats. Le DMSO augmente l'activité des CCCs par un mécanisme inconnu.

Tableau 4 : Résultats des tests d'inhibition de flux sur les composés **40**, **41** et **43**

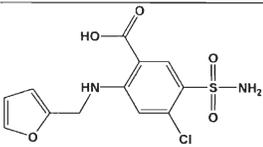
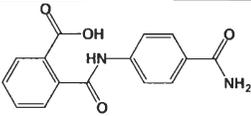
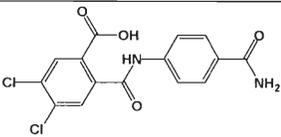
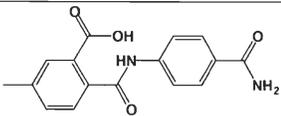
Composés testés	Structures	Résultats du flux (% d'inhibition)			
		rbKCCI	rtKCC2	huKCC3A	msKCC4
Sans molécule	-	0,0 ± 11,8	0,0 ± 8,4	0,0 ± 5,0	0,0 ± 8,2
Furosémide		100,0 ± 1,2	100,0 ± 1,0	100,0 ± 1,9	100,0 ± 4,8
40		-13,6 ± 9,4*	-12,9 ± 11,2*	0,9 ± 7,5	20,6 ± 10,7
41		20,0 ± 7,2	0,9 ± 9,6	18,3 ± 7,5	-5,6 ± 9,3*
43		4,5 ± 8,0	-32,5 ± 6,3*	1,6 ± 10,7	6,8 ± 11,4

* Composé activant, résultats les plus significatifs

Pour ce qui est de la deuxième série de tests portant sur les composés **53**, **54** et **55**, rapportée dans le tableau 5, nous obtenons, comme différence statistiquement significative, une très légère inhibition de l'isoforme rtKCC2 par 3,2% pour le composé **55**, obtenant une valeur de $24,1 \pm 8,8\%$ versus une valeur de $0,0 \pm 12,1\%$ pour le contrôle. Il est également intéressant de noter une autre légère activation, ici de l'isoforme rbNKCC2A, de 35,3% par le composé **54**. Nous obtenons ainsi une valeur de $-49,5 \pm 7,6\%$ versus une valeur de $0,0 \pm 6,6\%$ pour le contrôle sans molécule.

La troisième série de tests a été effectuée sur les composés **47**, **49**, **50**, **51** et **52**, les résultats étant rapportés dans le tableau 6. Le composé **47** se révèle être un léger activateur de l'isoforme rbNKCC2A par 26,7%. En effet, le test nous donne une valeur de $-48,7 \pm 12,9\%$ pour le composé alors que le contrôle donne une valeur de $0,0 \pm 9,1\%$. Le composé **49**, de son côté, active également rbNKCC2A, mais par 11,4%. Une valeur de $-34,9 \pm 14,4\%$ versus une valeur de $0,0 \pm 9,1\%$ pour le contrôle a été obtenue.

Tableau 5 : Résultats des tests d'inhibition de flux sur les composés **53**, **54** et **55**

Composés testés	Structures	Résultats du flux (% d'inhibition)	
		rtKCC2	rbNKCC2A
Sans molécule		$0,0 \pm 12,1$	$0,0 \pm 6,6$
Furosémide		$100,0 \pm 2,4$	$100,0 \pm 0,2$
53		$-15,5 \pm 15,3^*$	$-3,1 \pm 12,2^*$
54		$12,3 \pm 11,5$	$-49,5 \pm 7,6^*$
55		$24,1 \pm 8,8$	$8,4 \pm 7,6$

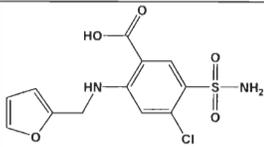
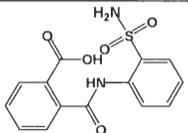
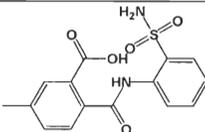
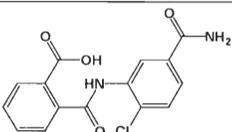
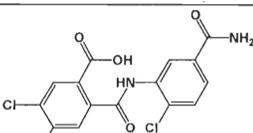
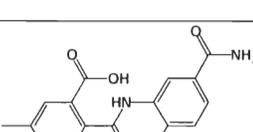
* Composé activant, résultats les plus significatifs

Le même résultat est observé pour le composé **52**, activant rbNKCC2A par 9,6%, nous donnant une valeur de $-34,9 \pm 16,2\%$ versus le blanc, donnant $0,0 \pm 9,1\%$.

Toujours au sein de la troisième série de tests, nous observons une inhibition de l'isoforme rtKCC2 par le composé **47**. En effet, une inhibition par 12,1% est observée, pour des valeurs de $27,0 \pm 7,8\%$ versus le contrôle, soit $0,0 \pm 7,1\%$. Le composé **49** peut également être considéré comme un léger inhibiteur par 13,5%, sa valeur étant de $31,9 \pm 11,3\%$

comparativement au contrôle donnant $0,0 \pm 7,1\%$. Il en est de même pour le composé **51**, qui inhibe rtKCC2 par 27,3%, sa valeur étant de $45,7 \pm 11,3\%$ versus $0,0 \pm 7,1\%$ pour le contrôle.

Tableau 6 : Résultats des tests d'inhibition de flux sur les composés **47**, **49**, **50**, **51** et **52**

Composés testés	Structures	Résultats du flux (% d'inhibition)	
		rbNKCC2A	rtKCC2
Sans molécule	-	$0,0 \pm 9,1$	$0,0 \pm 7,1$
Furosémide		$100,0 \pm 0,2$	$100,0 \pm 1,5$
47		$-48,7 \pm 12,9^*$	$27,0 \pm 7,8$
49		$-34,9 \pm 14,4^*$	$31,9 \pm 11,3$
50		$-16,7 \pm 15,7^*$	$11,4 \pm 10,4$
51		$-23,7 \pm 14,0^*$	$45,7 \pm 11,3$
52		$-34,9 \pm 16,2^*$	$54,9 \pm 8,5$

* Composé activant, résultats les plus significatifs

Le meilleur résultat ayant été obtenu jusqu'à maintenant dans la troisième série de tests est pour le composé **52** face à l'isoforme rtKCC2, qui est inhibiteur par 39,3%. La valeur obtenue est de $54,9 \pm 8,5\%$ comparativement au contrôle qui donne $0,0 \pm 7,1\%$. Le composé **52** nous

donne en fait un pourcentage d'inhibition variant entre 39,3% et 70,5% relativement à l'activité inhibitrice du furosémide, en tenant compte des valeurs d'incertitude.

Suite à l'analyse de ces résultats, il nous apparaît difficile de tirer des conclusions alliant la structure à l'activité dans le cas des composés se révélant activants. En effet, les trois meilleurs activants, soit respectivement **54**, **43** et **47**, le sont pour trois isoformes différentes des CCCs, soit respectivement rbKCC2A, rtKCC2 et rbNKCC2A. Les composés **49** et **52**, deux des autres meilleurs activants, le sont pour rbNKCC2A seulement. Des études plus approfondies seront nécessaires afin de mieux comprendre ces résultats d'activation, lesquels sont d'un intérêt potentiel certain.

Il est cependant très intéressant de comparer les composés possédant une activité inhibitrice. Cinq composés, soit **47**, **49**, **51**, **52** et **55** présentent une activité d'inhibition pour la même isoforme des CCCs, soit la rtKCC2, mais non pour la rbNKCC2A. Ce qui est encore plus intéressant, c'est que trois de ces composés, soit **47**, **49** et **52**, en plus de présenter une inhibition de rtKCC2, ont une certaine activité d'activation pour la rbNKCC2A. Le meilleur composé inhibiteur trouvé, le **52**, est de ces composés qui inhibent l'isoforme rtKCC2 tout en présentant une activation d'une autre isoforme. Il apparaît donc clairement que certains composés synthétisés possèdent un potentiel de sélectivité face à une isoforme en particulier. Ce potentiel de sélectivité ne pourra cependant être prouvé que lorsque le composé aura été testé face à toutes les isoformes des CCCs. Le composé **52**, structurellement parlant, possède un atome de chlore en para de sa fonction benzamide sur le cycle aromatique principal et un groupement méthyle sur le deuxième cycle aromatique, celui possédant la fonction acide carboxylique. Il apparaît également que trois des cinq composés ayant une activité d'inhibition possèdent un groupement méthyle sur le second cycle aromatique, soit **49**, **52** et **55**. Le composé **47** présente pour sa part une activité d'inhibition en ne possédant qu'un groupement sulfonamide sur son cycle aromatique principal, mais situé en position 2 du lien amide. Ces résultats nous permettent donc de présumer qu'un bon inhibiteur de l'isoforme rtKCC2 posséderait un groupement méthyle sur le second aromatique, un atome de chlore (ou groupement électroattracteur) sur l'aromatique principal et un groupement sulfonamide sur le cycle aromatique principal, préférablement en position 2 du groupement électroattracteur. Le

groupement benzamide n'est cependant pas à négliger, puisque le sulfonamide a également été retrouvé sur un composé activant l'isoforme rtKCC2, soit le **43**, mais situé en position 4 du lien amide et possédant lui aussi le groupement méthyle sur le deuxième aromatique. De plus, comme il a déjà été mentionné plus tôt, les groupement benzamide et sulfonamide sont chimiquement très similaires.

2.6 Conclusion

Nous avons mis au point la synthèse d'une gamme de composés benzamides et sulfonamides uniques par un procédé en solution simple et efficace. Les différents composés préparés ont pu être testés par la suite pour leur activité anti- ou pro-CCCs. Il est ressorti de ces tests que plusieurs composés pouvaient correspondre à des inhibiteurs de différentes isoformes des CCCs, et qu'il était même possible de faire des composés à propriétés activatrices du cotransport cation-Cl, ce qui serait une première dans le domaine des CCCs. De plus, un composé, soit le **52**, s'est révélé avoir une activité d'inhibition très intéressante pour l'isoforme rtKCC2 de la famille des CCCs en plus d'être sélective face à cette isoforme, à tout le moins en comparaison avec l'isoforme rbNKCC2A, puisqu'il est un léger activant de cette dernière. Ces résultats encourageants valident nos hypothèses de départ quant au design d'une structure générale capable d'orienter les pharmacophores requis. De plus, ils nous poussent à poursuivre nos synthèses en tentant d'obtenir de meilleurs inhibiteurs via les indices structuraux obtenus à l'aide de cette première génération de nouvelles petites molécules au potentiel diurétique.

CHAPITRE 3

SYNTHÈSE DE NOUVEAUX SULFONAMIDES

3.1 Préambule

Notre méthode de synthèse en solution de nouvelles molécules au potentiel diurétique ayant été mise au point, il nous apparaissait nécessaire de chercher à pallier au manque de réactifs de départ disponibles commercialement. En effet, il n'a pas été possible jusqu'à maintenant de synthétiser une molécule comportant un atome, ou groupement, électroattracteur situé en position ortho ou méta du groupement sulfonamide ou benzamide, tel qu'envisagé par la structure de notre prototype initial. Ce besoin de réactifs diversifiés ayant également été démontré par les tests d'activité effectués sur la première génération de molécules synthétisées, ce chapitre sera donc consacré aux travaux effectués pour produire de nouveaux sulfonamides incorporant au moins un atome électroattracteur en ortho ou en méta du groupement sulfonamide.

3.2 Stratégie de synthèse

Pour effectuer la synthèse de nouveaux aminobenzènesulfonamides possédant un ou des atomes électroattracteurs en position 2 ou 3 du groupement sulfonamide, nous nous sommes inspirés des travaux de Ilies *et al.* (56), qui ont produit une gamme de sulfonamides dihalogénés en positions 3 et 5 du groupement sulfonamide. Nous avons donc adopté la stratégie de synthèse représentée à la figure 30.

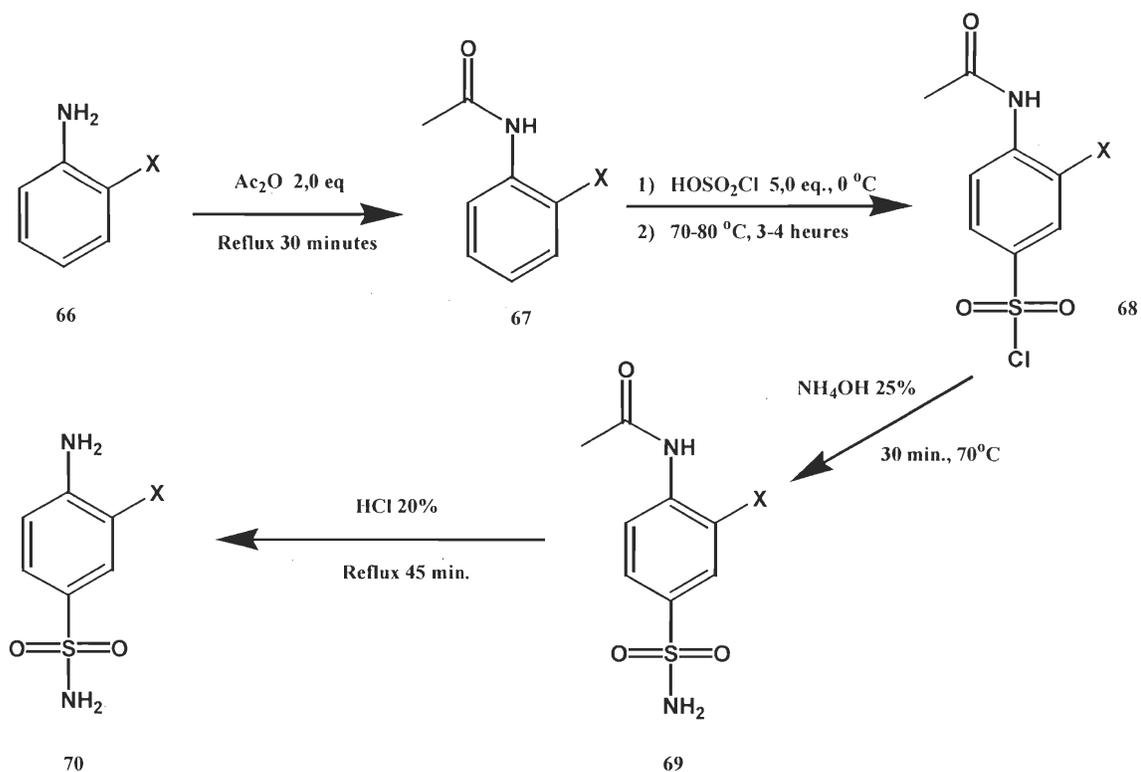


Figure 30 : Synthèse de sulfonamides halogénés

Cette stratégie consiste à protéger la fonction amine d'une aniline halogénée en position 2 (fig. 30, **66**) ou en position 3 en utilisant 2,0 équivalents d'anhydride acétique porté à reflux pour une durée de 30 minutes. L'halogénoacétanilide **67** ainsi obtenu est ensuite additionné de 5,0 équivalents d'acide chlorosulfonique à 0°C et le mélange généré est ensuite chauffé entre 70 et 80°C pour une durée de 3 à 4 heures. Le chlorure de sulfonyle **68** obtenu par cette réaction est immédiatement mis en présence d'hydroxyde d'ammonium concentré et le tout est chauffé à

70°C pour une durée de 30 minutes, ou jusqu'à ce que le dégagement d'ammoniac gazeux soit terminé. Le sulfonamide **69** résultant est ensuite mélangé à une solution d'acide chlorhydrique 20% et le tout est porté à reflux pour une durée de 45 minutes. L'amine est de ce fait déprotégée, donnant le composé final attendu qui est un 4-amino-3-halogénobenzènesulfonamide **70**, tel qu'illustré à la figure 30. Le composé peut tout aussi bien être halogéné en position 2, selon l'aniline de départ.

Cette stratégie de synthèse est fort intéressante puisqu'elle utilise des produits de départ disponibles commercialement en grande quantité et diversifiés, comprenant des anilines halogénées de façon simple ou multiple. Cette disponibilité de produits de départ nous permet donc d'envisager la préparation d'une foule de nouveaux sulfonamides halogénés pouvant mener à la synthèse d'une grande variété de composés encore plus diversifiés pouvant être testés pour l'activité pro- ou anti-CCCs.

3.3 Composés synthétisés

3.3.1 Les anilines

Comme notre objectif est de synthétiser des aminobenzènesulfonamides préférentiellement halogénés en position 2 ou 3, nous avons sélectionné une gamme d'anilines portant des halogènes brome, chlore, fluor et iode. Ces anilines sont la 2-chloroaniline (**66a**), la 3-chloroaniline (**66b**), la 2-bromoaniline (**66c**), la 3-bromoaniline (**66d**), la 2-fluoroaniline (**66e**), la 3-fluoroaniline (**66f**), la 2-iodoaniline (**66g**) et la 3-iodoaniline (**66h**) (figure 31). Il est cependant à noter que d'autres anilines dihalogénées sont également disponibles, de même que des anilines possédant d'autres groupements d'intérêt tels les groupements méthyle et nitro. Nous nous sommes donc limités à ces anilines dans le seul but d'élaborer un protocole reproductible permettant d'obtenir rapidement des aminobenzènesulfonamides halogénés.

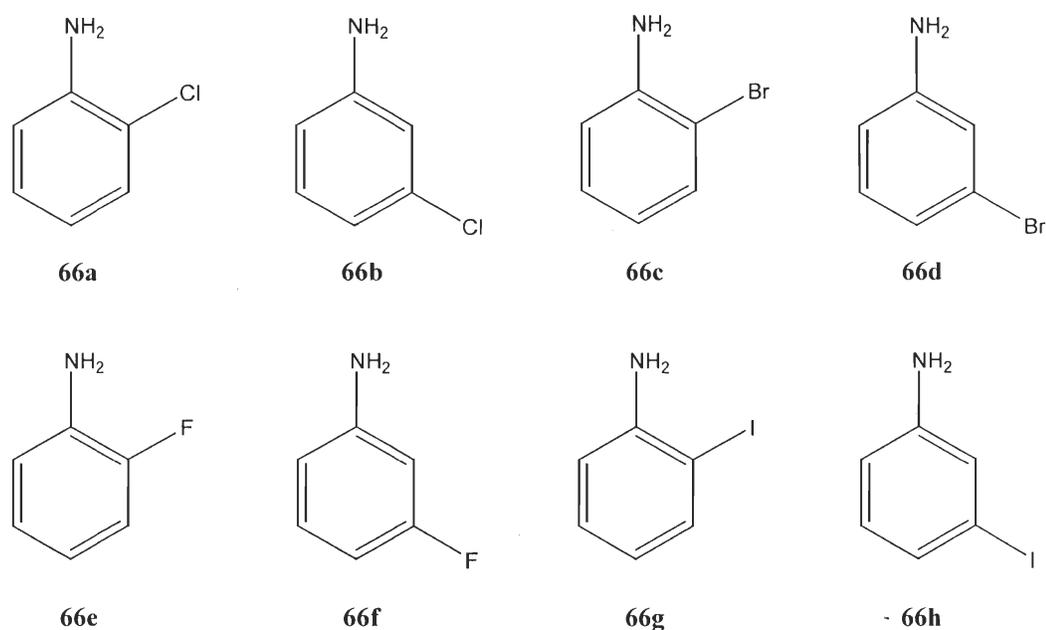


Figure 31 : Anilines utilisées pour la synthèse d'aminobenzènesulfonamides halogénés

3.3.2 Résultats et discussion

3.3.2.1 Protection de la fonction amine

Comme la synthèse d'aminobenzènesulfonamides halogénés comporte plusieurs étapes distinctes, nous avons regroupé les données relatives à ces synthèses de manière à présenter les résultats obtenus pour chacune des réactions, à l'exception de la synthèse du chlorure de sulfonyle **68**, ce dernier n'ayant pas été isolé en raison de sa grande réactivité avec l'humidité de l'air menant à la formation de l'acide sulfonique correspondant. Les résultats pour l'étape de protection de la fonction amine à l'aide de l'anhydride acétique, synthèse des acétanilides correspondants, sont donc rapportés dans le tableau 7 qui suit.

Tableau 7 : Résultats des synthèses d'acétanilides

Acétanilides	M.M. Calculée (g/mol)	M.M. Expérimentale (g/mol)	T _f (°C)	Rendement (%)
67a	169,61	170,2	80-85	77
67b	169,61	170,2	76	46
67c	214,06	214,2	92-95	13
67d	214,06	214,0	75-78	22
67e	153,15	154,2	74-77	65
67f	153,15	154,2	78-80	77
67g	261,06	262,0	102-103	26
67h	261,06	262,0	114-116	66

Nous avons réussi la synthèse des différents acétanilides avec des rendements variant entre 13 et 77%. Tous les acétanilides obtenus ont été caractérisés par spectroscopies RMN, infra-rouge et de masse.

Le composé **67a**, soit le 2-chloroacétanilide, est facilement obtenu par réaction avec l'anhydride acétique. Le produit final est extrait de l'excès d'anhydride en éliminant ce dernier par des lavages successifs avec de l'hydroxyde de sodium 2N jusqu'à précipitation de **67a**. L'hydroxyde de sodium permet en effet de dégrader l'anhydride acétique en acétate qui sera éliminé avec l'eau pour laisser le produit désiré précipiter. Les quelques traces d'acide acétique piégées par le solide cristallin obtenu sont éliminées par un lavage abondant à l'eau froide du solide broyé, ou par une recristallisation dans l'eau, si nécessaire.

Le composé **67b**, le 3-chloroacétanilide, est plus difficilement obtenu. En effet, la réaction résulte en une pâte rougeâtre et le contrôle de celle-ci par chromatographie sur couche mince (CCM) indique que la réaction n'est pas complète (traces de l'aniline de départ). Nous avons donc effectué une purification sur colonne de silice en utilisant un gradient acétate d'éthyle/hexanes en guise d'éluant. En débutant par un mélange peu polaire, (AcOEt/Hexanes 10 : 90) nous avons pu éliminer l'aniline de départ, le produit final étant élué par un mélange AcOEt/Hexanes 90 : 10, suivi d'un mélange dichlorométhane/méthanol (DCM/MeOH) 95 : 5. Le composé **67b** est ainsi obtenu avec une grande pureté, comme en témoigne le spectre RMN du proton obtenu.

Le 2-bromoacétanilide, composé **67c**, a également été synthétisé sous forme de mélange contenant des traces de produit de départ. Également précipité par lavage au NaOH 2N, le produit a pu être obtenu pur par lavage à l'éther froid, ce traitement occasionnant cependant de grandes pertes. Nous avons donc opté pour une purification par colonne de silice, en utilisant cette fois-ci un éluant à 100% DCM pour faire passer l'aniline de départ. Le produit final purifié a par la suite été récupéré à l'aide d'un solvant d'élution composé de DCM/MeOH 98 : 2 à 94 : 6.

Les composés 3-bromoacétanilide (**67d**), 2-fluoroacétanilide (**67e**), 2-iodoacétanilide (**67g**) et 3-iodoacétanilide (**67h**) ont également tous été obtenus sous forme de mélanges avec des traces de produit de départ. Ils ont tous été purifiés de la même manière à l'aide d'une colonne de silice utilisant le DCM suivit d'un léger gradient DCM/MeOH à titre d'éluant.

Finalement, le composé **67f**, le 3-fluoroacétanilide, a aussi des traces de l'aniline de départ. Le précipité impur a donc été lavé avec du NaOH 2N et beaucoup d'eau froide. Le filtrat ainsi obtenu a par la suite été extrait à l'aide de DCM. Après un séchage au sulfate de magnésium (MgSO₄) et l'évaporation à sec du DCM, le produit **67f** a été récupéré avec une excellente pureté.

3.3.2.2 Synthèse d'acétamidobenzènesulfonamides halogénés

Suite aux succès rencontrés lors de la première étape de protection de la fonction amine des anilines sélectionnées, nous nous sommes lancés dans les deuxième et troisième étapes de la synthèse, soit celle des chlorures de sulfonyle correspondants par réaction avec l'acide chlorosulfonique et une transformation en sulfonamide par l'hydroxyde d'ammonium concentré. Les résultats de ces synthèses sont comptabilisés dans le tableau 8 qui suit, les structures des composés synthétisés sont présentées à la figure 32 et le mécanisme réactionnel impliquant l'acide chlorosulfonique est présenté à la figure 33.

Tableau 8 : Résultats des synthèses d'acétamidobenzènesulfonamides halogénés

Acétamidobenzènesulfonamides	M.M. Calculée (g/mol)	M.M. Expérimentale (g/mol)	T _f (°C)	Rendement (%)
69a	248,69	249,0	192-195	56
69b	248,69	248,8	170	8
69e	232,23	232,25	178-180	12
69g	340,14	340,8	Subl.110	29

Le 4-acétamido-3-chlorobenzènesulfonamide (**69a**) est formé en deux étapes avec un rendement de 56%. Lors de la première étape, le 2-chloroacétanilide est dissous dans 5,0 équivalents d'acide chlorosulfonique à 0°C, puis chauffé entre 70 et 80°C pour une durée de trois à quatre heures sous agitation magnétique. Le mélange légèrement huileux obtenu est ensuite versé dans un ballon contenant une bonne quantité de glace. En effet, la réaction entre la glace et l'acide en excès permet son élimination par dégagement de HCl et de SO₃ gazeux alors que la réaction entre l'eau et l'acide chlorosulfonique donne une solution concentrée d'acide sulfurique et d'acide hydrochlorique.

Une fois l'acide en excès éliminé, on ajoute immédiatement à la pâte grise et gommeuse obtenue (chlorure de sulfonyle brut) une solution d'hydroxyde d'ammonium concentré. Il faut ensuite chauffer le mélange à 70°C pour environ trois à quatre heures sous agitation magnétique. Une fois la réaction terminée, la solution est refroidie puis acidifiée à pH 1-3. On laisse ensuite précipiter le solide blanc dans un bain de glace, on filtre et on lave à l'eau froide. Une fois séché sous vide, on obtient **69a** sous forme d'un solide blanc.

Le composé **69b**, 4-acétamido-2-chlorobenzènesulfonamide, est synthétisé en effectuant les mêmes manipulations que précédemment. Le produit est obtenu pur, mais dans un très faible rendement de 8%. Le faible rendement peut sans doute être attribué au fait que l'atome de chlore, situé en méta de l'acétamide, est électroattracteur, et qu'il désactive la position para du cycle benzénique, position d'attaque favorisée par l'effet activant de la fonction acétamide (ortho-para). Compte tenu du fait que la position 2 (ortho) est peu accessible vu l'encombrement stérique que présente la fonction acétamide, la réaction se fait moins bien en position para désactivée par l'effet du chlore.

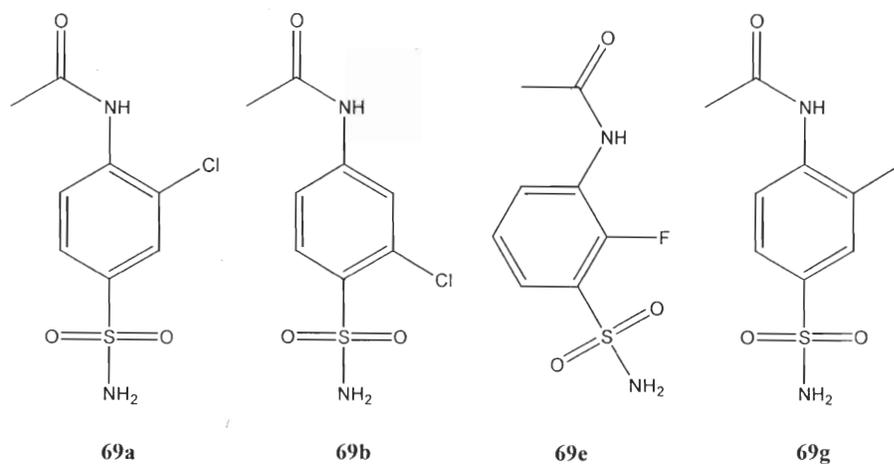


Figure 32 : Structures des composés 69a, b, e et g

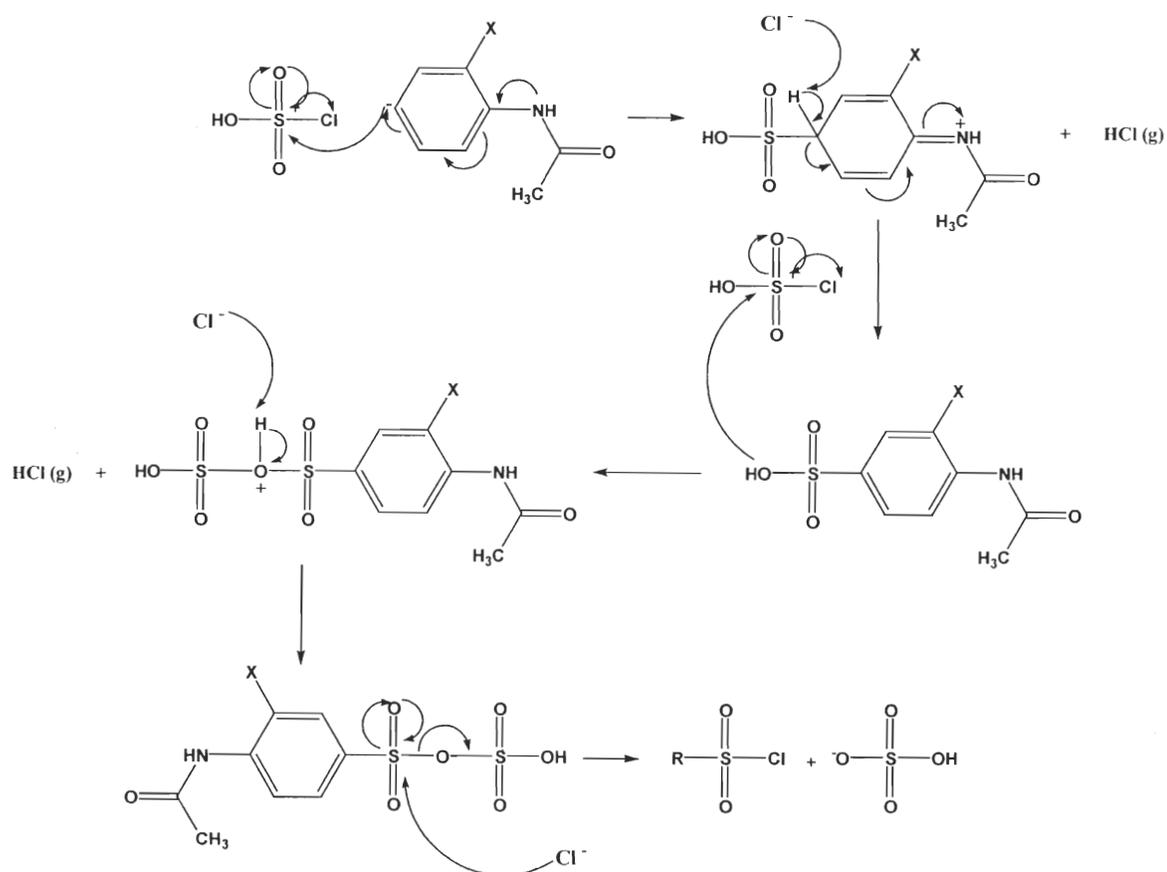


Figure 33 : Mécanisme réactionnel de la réaction avec l'acide chlorosulfonique

Le composé **69e**, 3-acétamido-2-fluorobenzènesulfonamide, est également obtenu en suivant la même démarche que précédemment. Il est important de noter que c'est le seul composé pour lequel nous obtenons le sulfonamide en ortho du groupement électroattracteur, soit le fluor, partant d'une aniline substituée en position 2. Nous l'obtenons cependant en très faible quantité, avec un rendement de 12%. Nous avons essayé plusieurs fois cette synthèse sans jamais obtenir plus de 12% de rendement. L'atome de fluor est pourtant positionné en position ortho de l'acétamide, ce qui ne devrait pas gêner outre mesure l'attaque en para par l'acide chlorosulfonique. Cependant, l'effet attracteur du fluor a probablement une influence sur la réactivité en para de l'acétamide. Le rendement de la réaction demeure faible et donne le composé substitué 1, 2 et 3. Il est possible d'expliquer cette réactivité par le fait que les halogènes, bien qu'électroattracteurs par effet d'induction, sont donneurs par effet de résonance, ce qui pourrait expliquer la réactivité de la position ortho au fluor. Ce résultat est néanmoins positif, puisque comme pour le furosémide, il est prouvé que l'activité de plusieurs diurétiques est liée à la présence d'un groupement électroattracteur en position ortho du sulfonamide. Nous pouvons donc supposer que le grand effet électroattracteur du fluor nuit à l'activation de la position en para de l'acétamide, tout en favorisant l'attaque de la position 3, probablement comme mentionné plus haut.

Le composé **69g**, 4-acétamido-3-iodobenzènesulfonamide, a également pu être synthétisé selon le protocole utilisé précédemment. Nous obtenons le composé pur, selon la RMN¹H, et un rendement faible mais meilleur que pour les composés **69b** et **69c**, soit de 29%. Ici aussi, il est difficile d'expliquer pourquoi nous n'arrivons pas à obtenir un rendement aussi bon que pour le composé **69a**. L'atome d'iode est beaucoup moins électronégatif que le fluor et il est donc difficile d'accepter le fait qu'il puisse être responsable à lui seul de la désactivation du cycle benzénique, surtout en position où a lieu l'attaque par l'acide chlorosulfonique, soit en position para du groupement acétamide. Il faut cependant considérer ici aussi le fait que l'iode est électroattracteur par effet inductif et donneur par résonance, ce qui peut encore expliquer la légère désactivation de la position en para de l'acétamide.

Pour tenter d'améliorer l'étape où il y a réaction entre le chlorure de sulfonyle et l'hydroxyde d'ammonium, nous avons essayé de trouver une alternative à l'usage de glace pour éliminer

l'excès d'acide chlorosulfonique. Le but est d'éviter une trop grande dilution de l'hydroxyde d'ammonium concentré, ce qui pourrait nuire à la réaction en permettant d'avantage l'hydrolyse du chlorure de sulfonyle par l'eau. Pour ce faire, nous avons préalablement congelé à l'azote liquide une quantité suffisante d'hydroxyde d'ammonium concentré dans un ballon réactionnel. L'eau de la solution concentrée peut donc servir de glace et permettre l'élimination de l'excès d'acide chlorosulfonique. Il suffit de démarrer le chauffage et le chlorure de sulfonyle se retrouve directement en solution dans l'hydroxyde d'ammonium concentré, non dilué par l'eau provenant de la glace comme dans le protocole précédent. Cette modification au protocole a été mise à l'essai, mais bien que semblant très prometteuse, elle n'a pas permis d'améliorer les rendements de manière significative.

Les problèmes réactionnels encourus lors des précédentes synthèses d'acétamidobenzènesulfonamides halogénés nous ont malheureusement contraint à la synthèse de quatre composés. Nous comptons néanmoins poursuivre ces synthèses dans un avenir rapproché, dans le but d'en affiner les conditions, de trouver un moyen d'améliorer les rendements obtenus et surtout, de synthétiser d'autres composés à partir des différents acétanilides obtenus, tel que mentionné à la partie 3.3.2.1. Il est cependant important de noter que nos rendements varient entre 8 et 56%, ce qui n'est pas si mal comparativement à ce que d'autres obtiennent pour des synthèses similaires, mais seulement à partir d'acétanilides halogénés en position 2 (56). Il faut aussi considérer le fait que nous avons travaillé avec des acétanilides halogénés également en position 3 (composé **69b**). Ce dernier est en fait prometteur puisqu'il pourra éventuellement permettre la synthèse de composés possédant un atome de chlore électroattracteur en position 2 du sulfonamide, soit la structure recherchée lors de l'élaboration de notre prototype.

3.3.2.3 Synthèse d'aminobenzènesulfonamides halogénés

La dernière étape réactionnelle afin d'obtenir des aminobenzènesulfonamides halogénés est la déprotection de la fonction amine par l'hydrolyse de la fonction acétamide. Ici, nous avons fait l'essai de la réaction d'hydrolyse sur trois des quatre acétanilides que nous avons en main. Les résultats de ces réactions ainsi que les rendements globaux pour ces synthèses d'aminobenzènesulfonamides halogénés sont comptabilisés dans le tableau 9 qui suit, et les structures des composés sont présentées à la figure 34.

Tableau 9 : Résultats des synthèses d'aminobenzènesulfonamides halogénés

Aminobenzènesulfonamides halogénés	M.M. (g/mol)	M.M. Expérimentale (g/mol)	T _f (°C)	Rendement (déprotection) (%)	Rendement (global) (%)
70a	206,65	207,0	155-158	78	33
70e	190,20	191,0	158-162	58	4,5
70g	298,10	299,0	n.d.	échec	n.d.

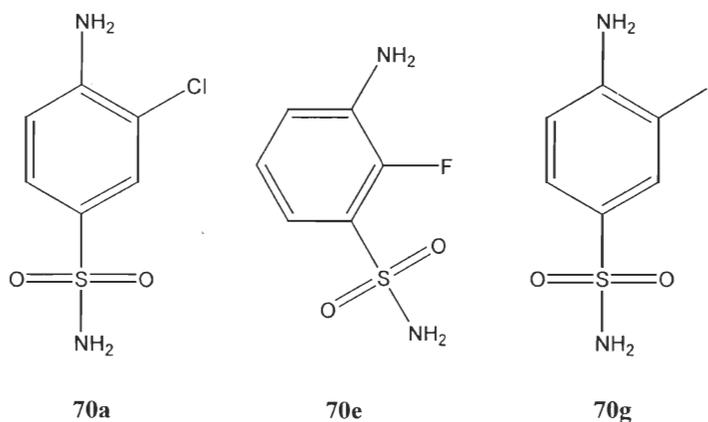


Figure 34 : Structures des composés **70a**, **e** et **g**

Le composé **70a**, le 4-amino-3-chlorobenzènesulfonamide, est obtenu après hydrolyse acide du 4-acétamido-3-chlorobenzènesulfonamide à l'aide d'acide hydrochlorique aqueux. Le rendement de cette dernière étape de déprotection de la fonction amine est bon, donnant 78%. Nous générons donc ici notre premier aminobenzènesulfonamide halogéné et le rendement global pour la synthèse est de 33%, ce qui est tout de même acceptable.

Le second composé synthétisé avec succès est le **70e**, soit 4-amino-3-fluorobenzènesulfonamide, obtenu dans les mêmes conditions d'hydrolyse acide décrites précédemment. Le rendement de la réaction de déprotection de l'amine est cependant inférieur, soit de 58%. Cet aminobenzènesulfonamide halogéné donne donc un décevant rendement global de 4%. Ce faible rendement est causé par la combinaison des deuxième et troisième étapes de synthèse, qui n'offrent qu'un rendement combiné de 12% (voir tableau 8). Il est clair qu'il serait nécessaire de travailler à optimiser ces étapes réactionnelles dans le but de faciliter l'obtention de ce composé ultérieurement.

Le troisième composé sur lequel nous avons effectué la réaction d'hydrolyse acide, soit le **69g**, devait donner le composé **70g**, soit le 4-amino-3-iodobenzènesulfonamide. Cependant, un problème est survenu lors de cette synthèse, nous empêchant de récupérer le produit final déprotégé de la phase aqueuse. Nous avons alors tenté de l'extraire avec des solvants courants (DCM, éther), mais sans succès. Nous avons également tenté d'évaporer la phase aqueuse pour récupérer le produit, mais le peu de produit récupéré et sa très faible pureté, évaluée par RMN¹H, nous a obligé à abandonner cette voie.

3.3.3 Conclusion

Nous avons réussi la synthèse de huit acétanilides halogénés aux positions 2 ou 3, ce qui correspond à la première étape vers la synthèse d'aminobenzènesulfonamides halogénés. De plus, nous avons également réussi la synthèse de quatre acétamidobenzènesulfonamides halogénés, soit les produits attendus après les deuxième et troisième étapes de la synthèse des produits désirés. Nous avons finalement réussi la synthèse de deux aminobenzènesulfonamides halogénés, composés obtenus avec une excellente pureté et avec des rendements acceptables, compte tenu du fait qu'il reste toujours des progrès à faire dans le but d'optimiser le protocole menant à la formation de ces produits. Il est important de mentionner que ces molécules simples en apparence sont tout de même difficiles à synthétiser et qu'elles ne sont pas, à notre connaissance, rapportées dans la littérature jusqu'à maintenant. Nous croyons qu'il sera éventuellement possible d'améliorer les étapes deux et trois, en perfectionnant entre autre la technique d'élimination à l'hydroxyde d'ammonium congelé que nous avons proposée. De plus, nous espérons poursuivre les étapes de synthèse deux à quatre sur tous les acétanilides halogénés que nous avons désormais en main, ce qui devrait nous permettre de produire une toute nouvelle gamme de composés encore plus diversifiés et concordant d'avantage avec la structure prototype que nous avons élaborée au départ comme inhibiteurs potentiels des CCCs.

CHAPITRE 4

SYNTHÈSE SUR SUPPORT SOLIDE DE MOLÉCULES AU POTENTIEL DIURÉTIQUE

4.1 Préambule

La synthèse de médicaments utiles cliniquement, c'est-à-dire ayant une cible biologique définie ou des caractéristiques physicochimiques correspondant aux traits les plus communs présents dans les composés reconnus actifs, peut être limitée par le temps et le coût nécessaires à la préparation conventionnelle des molécules, une à la fois. C'est pourquoi il est très intéressant de se tourner vers la chimie combinatoire ou la synthèse en parallèle (voir introduction) dans le but de produire une grande variété de composés pouvant être testés pour une activité biologique ciblée et ce, en un temps et avec des coûts moindres. Le chapitre qui suit traite donc des travaux que nous avons effectués afin d'adapter les synthèses en solution discutées aux chapitres précédents à la synthèse sur support solide, très utilisée en chimie combinatoire.

4.2 Support solide

Pour cette partie de nos travaux, notre choix s'est arrêté sur une ancre intégrale baso-labile simple, un groupement oxime. Cette résine est communément appelée la résine oxime ou résine de Kaiser (57). C'est une résine facile à synthétiser en laboratoire qui s'est déjà montrée utile pour la synthèse de segments peptidiques protégés et de peptides cycliques (58). Elle s'est également déjà montrée efficace pour la synthèse de bibliothèques de petites molécules à potentiel thérapeutique au sein même de notre groupe de recherche (2, 59, 60). Le lien ester d'oxime peut être clivé dans des conditions nucléophiles plus douces que le groupe ester standard, ce qui peut éventuellement nous permettre d'ajouter de la diversité aux molécules que nous voulons synthétiser. Ce point sera expliqué en détails plus loin dans ce chapitre.

4.2.1 Préparation de la résine oxime

La résine oxime se prépare en deux étapes (figure 35). Tout d'abord, une réaction de Friedel-Crafts sur le polystyrène en présence de chlorure de *p*-nitrobenzoyle permet l'acylation de quelques cycles aromatiques du polystyrène. Par la suite, la fonction oxime est générée par l'ajout d'hydroxylamine en conditions basiques. La résine **73** est ainsi obtenue avec un taux variant entre 0,5 et 0,7 millimoles de fonctions oxime par gramme de résine sèche et est prête pour l'utilisation en synthèse peptidique ou autre.

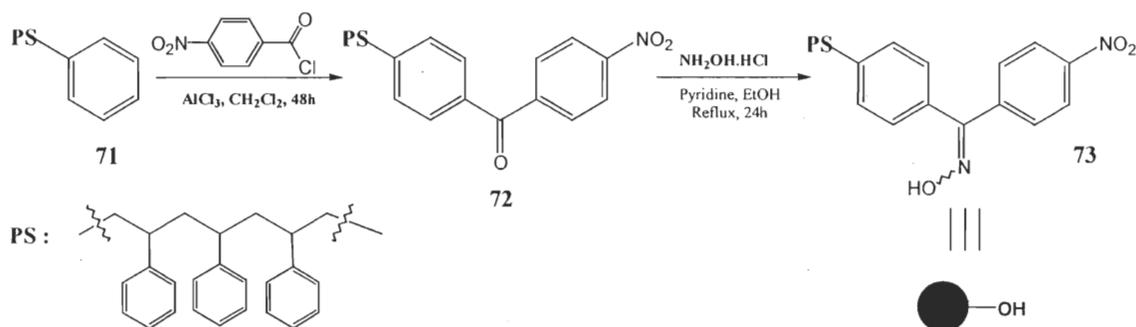


Figure 35 : Préparation de la résine oxime **73** (57)

4.3 Stratégie de synthèse sur support solide

Tel que déjà discuté dans le chapitre 2, nous avons élaboré un prototype de molécule au potentiel diurétique basé sur la structure et les pharmacophores présents sur le furosémide, un puissant diurétique de l'anse de Henle inhibant certains isoformes des CCCs, soit les KCCs et les NKCCs. La synthèse de ces composés adaptée au support solide est illustrée par la rétrosynthèse du prototype présentée à la figure 36.

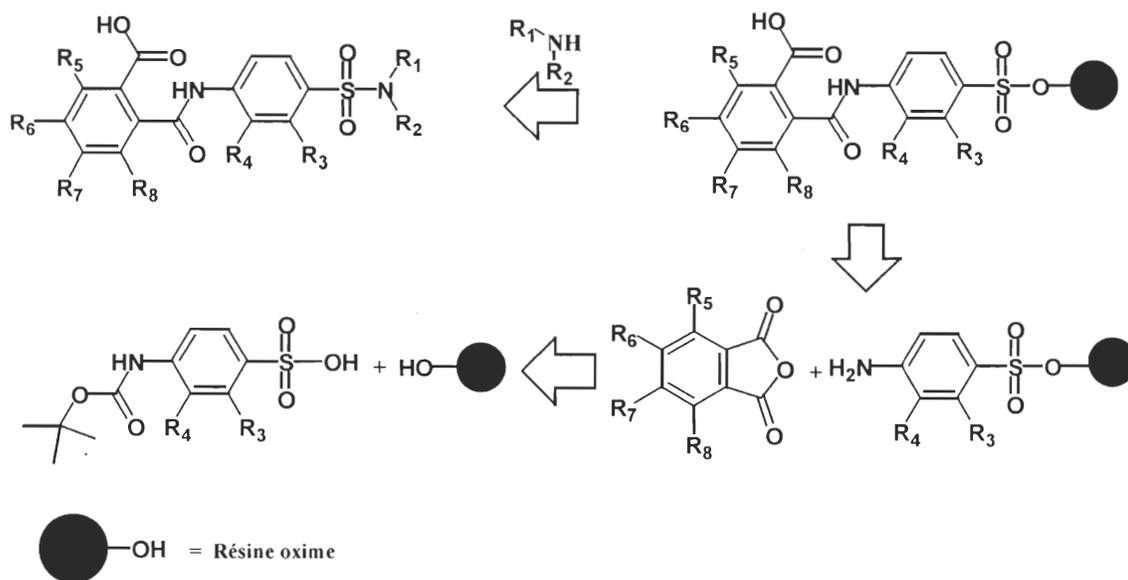


Figure 36 : Rétrosynthèse sur support solide d'un benzènesulfonamide prototype

Selon le schéma présenté ici, la molécule prototype peut être obtenue suite au clivage de la résine oxime à l'aide d'une amine quelconque. La molécule proviendrait de l'ouverture d'un anhydride phtalique par réaction avec l'amine libre d'un acide aminobenzènesulfonique ou d'un acide aminobenzoïque rattaché à la résine oxime. De cette manière, la première étape réactionnelle consiste à coupler sur résine oxime un acide aminobenzènesulfonique ou un acide aminobenzoïque protégé par un groupement tert-butoxycarbonyl (BOC). Suite à la rétrosynthèse du prototype, nous avons élaboré le schéma de réaction représenté à la figure 37.

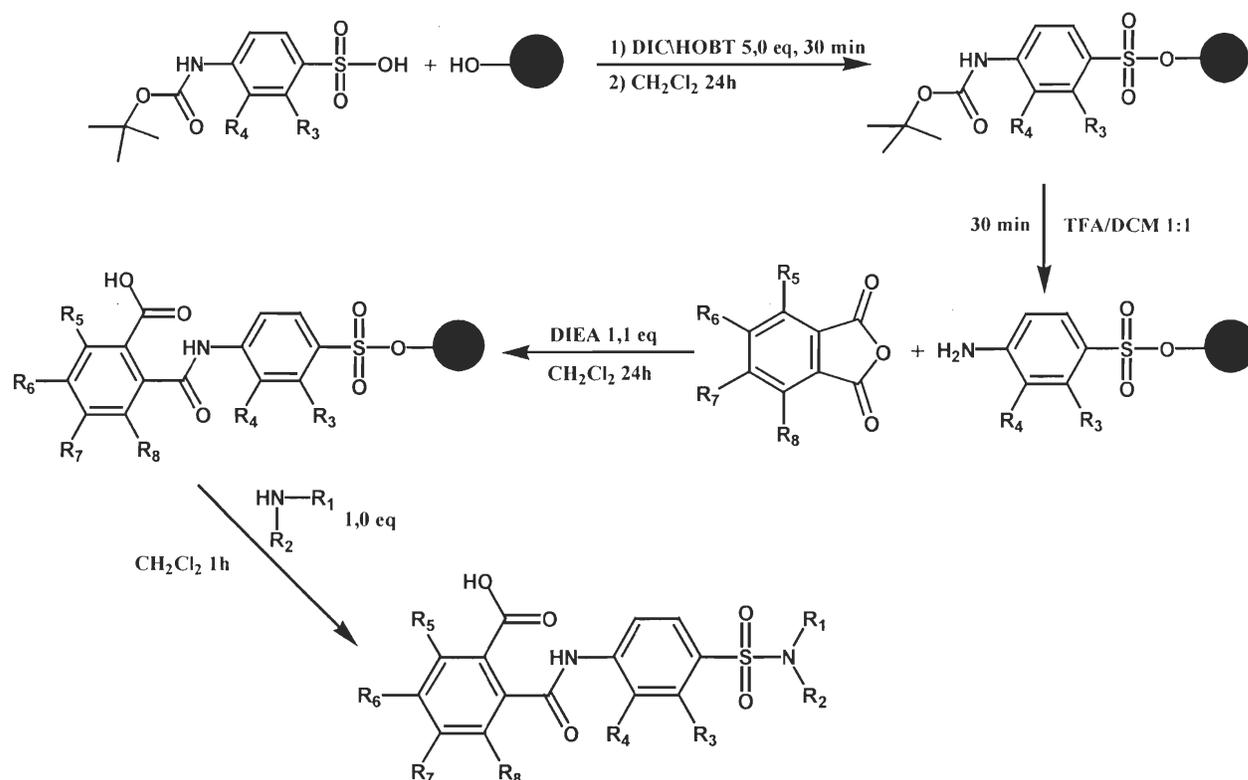


Figure 37 : Schéma de synthèse sur support solide de benzènesulfonamides substitués

La synthèse consiste tout d'abord à protéger par un groupement BOC la fonction amine des acides aminobenzènesulfoniques (ou des acides aminobenzoïques). Par la suite, il suffit de les coupler sur la résine oxime dans des conditions standards en utilisant par exemple les agents de couplage diisopropylcarbodiimide/hydroxybenzotriazole (DIC/HOBT), puis de laisser réagir sous agitation mécanique dans le DCM toute la nuit. Après avoir effectué la séquence de lavages et séché la résine sous vide, il faut déprotéger la fonction amine en retirant le groupement BOC par agitation dans un mélange TFA/DCM 1 : 1. La résine est ensuite lavée et séchée, puis traitée avec 5,0 équivalents d'un anhydride phtalique et 1,1 équivalent de DIEA dans le DCM. Le produit final peut être clivé de la résine avec 1,0 équivalent d'une amine dans le DCM et être récupéré par évaporation du filtrat après lavage de la résine. On sèche ensuite sous vide le produit final récupéré.

Une synthèse réussie de composés au potentiel diurétique sur support solide permettrait d'utiliser l'outil puissant qu'est la chimie combinatoire (voir chapitre 1). Ainsi, nous pourrions produire une gamme plus grande de composés et ce plus rapidement, car nous aurions la possibilité d'utiliser la stratégie « mix and split » ainsi que la synthèse en parallèle pour produire des molécules en librairies prêtes à être testées pour l'activité. De plus, l'approche sur support solide utilisant la résine oxime nous permet d'inclure un nouveau facteur de diversité moléculaire sur les composés synthétisés. En effet, la résine oxime se clivant dans des conditions nucléophiles douces, cela permet de faire varier le groupement amine directement lié au groupement $\text{RSO}_2\text{-}$ ou RCO- , habituellement de simples groupements sulfonamide ou benzamide (RSO_2NH_2 ou RCONH_2). Nous n'avons pour ce faire qu'à faire varier les amines utilisées (R_1NHR_2) pour cliver les produits finaux de la résine, tel qu'illustré dans le schéma de synthèse proposé à la figure 37. L'utilisation du support solide nous permet donc de produire plus vite et en plus grand nombre des molécules encore plus diversifiées visant l'inhibition sélective des membres de la famille des CCCs.

4.4 Résultats et discussion

4.4.1 Préambule

Pour adapter la synthèse de nos molécules cibles sur support solide, il faut d'abord commencer par la protection BOC d'acides aminobenzoïques et d'acides aminobenzènesulfoniques. Par la suite, il faut développer une méthode efficace pour coupler sur la résine oxime ces différents acides protégés BOC en testant différents agents de couplages et conditions de réaction. La troisième étape consiste à développer les conditions réactionnelles pour effectuer l'ouverture de différents anhydrides phtaliques par la molécule couplée sur résine et préalablement déprotégée de son groupement BOC. La quatrième et dernière étape sera l'élaboration des conditions de clivage, en utilisant une gamme variée d'amines primaires allant de l'ammoniac à la n-propylamine. Ce sont donc ces travaux qui seront analysés et discutés dans la section qui suit.

à d'autres acides aminobenzoïques, plus précisément des acides ayant des atomes électroattracteurs en position 2 ou 3, de manière à pouvoir éventuellement produire des molécules possédant toutes les caractéristiques visées par notre structure prototype discutée au chapitre 2.

4.4.2.2 Acides aminobenzènesulfoniques

Suite aux résultats obtenus pour la protection BOC des acides aminobenzoïques, nous avons essayé de faire de même avec l'acide 4-aminobenzènesulfonique. Le schéma général de la réaction est illustré à la figure 39 qui suit et les résultats de ces synthèses combinés dans le tableau 10. Les conditions utilisées avec les acides aminobenzoïques ne donnant pas de résultat concluant, nous avons essayé d'autres conditions, tel que discuté ci-dessous.

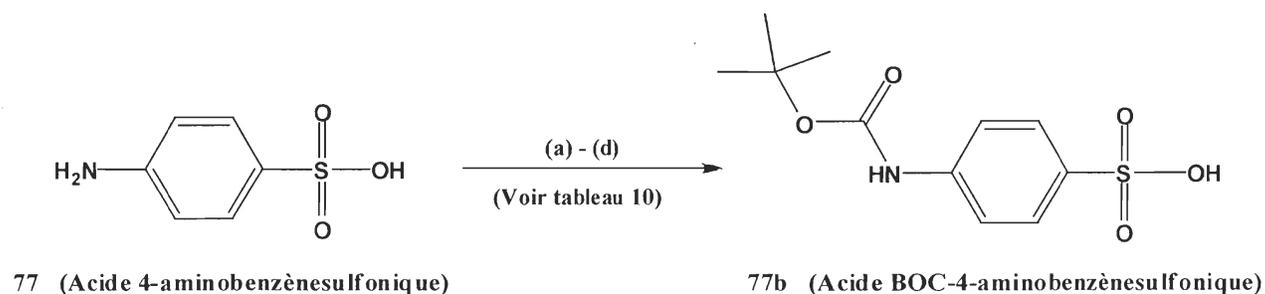


Figure 39 : Réaction générale de protection BOC de l'acide 4-aminobenzènesulfonique (77)

Tableau 10: Résultats des essais de protection BOC de l'acide 4-aminobenzènesulfonique(77)

Essai	Réactif	Base	Catalyseur	Solvant	Conditions réactionnelles	Rendement (%)
(a)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	Et ₃ N 1,1 eq	-	DCM	T.P. 24h	0
(b)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	-	DMAP 1,0 eq	DCM	T.P. 24h	0
(c)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	-	DMAP 1,5 eq	DCM	T.P. 24h	0
(d)	(BOC) ₂ O 1,1 eq	NaOH 1N 25%		Eau/THF 1 : 2	T.P. 24h	0

Nous avons tout d'abord essayé le protocole **(a)**, dont les conditions sont résumées au tableau 10 et qui consiste à dissoudre le 4-aminobenzènesulfonamide (acide sulfanilique) dans le DCM, de porter le mélange à 0°C et d'y ajouter 1,1 équivalent de triéthylamine (Et₃N) et 1,5 équivalent de (BOC)₂O préalablement dissous dans un minimum de DCM. Le mélange ainsi obtenu a été agité pour 24 heures à température pièce. Le premier problème rencontré fut celui de la solubilité du produit de départ. L'acide sulfanilique est en effet insoluble dans le DCM. Nous avons donc essayé d'effectuer la synthèse en suspension, puisque même après l'ajout de la triéthylamine, il ne s'est pas solubilisé. Il est important de comprendre que l'acide sulfanilique est zwitterionique, ce qui explique sa faible solubilité. Cependant, l'ajout d'une base, en outre la triéthylamine, devrait normalement contourner ce problème et aider à la réactivité de l'amine, puisque cette dernière sert à déprotoner l'amine NH₃⁺ pour ainsi l'activer et lui permettre d'attaquer le (BOC)₂O. Quoi qu'il en soit, cet agent n'a pas été utile, puisque nous n'obtenons aucune trace du produit désiré.

Suite à cet essai infructueux, nous avons adopté une nouvelle approche, soit en utilisant la 4-(diméthylamino)pyridine (DMAP) comme catalyseur (62) et base de la réaction. Cette dernière devrait attaquer le réactif (BOC)₂O pour faciliter l'attaque par l'amine, désactivée par l'aromaticité du cycle benzénique et par l'effet électroattracteur du groupement acide sulfonique. Tel que prévu, nous observons la solubilisation presque complète de l'acide sulfanilique après ajout du DMAP, ce qui est déjà un pas en avant. Cependant, le résultat demeure le même, la protection est inefficace, ne permettant de recueillir qu'un mélange impur contenant le produit de départ et des traces de réactif (BOC)₂O presque exclusivement. Nous avons donc réessayé en augmentant à 1,5 équivalent la quantité de DMAP. La seule amélioration fut la solubilisation complète de l'acide sulfanilique, le rendement de la réaction étant toujours nul.

Nous sommes finalement revenus au protocole utilisé pour la protection des acides aminobenzoïques. Même en utilisant NaOH comme base, présente dans le mélange réactionnel composé de THF/Eau/NaOH 1N, la solubilité de l'acide sulfanilique demeure problématique. Après plusieurs essais et plus de 24 heures de réaction, le résultat est demeuré

le même. Nous ne sommes donc pas arrivés à effectuer la protection BOC de l'amine de l'acide sulfanilique.

Dans un deuxième temps, nous avons tenté de protéger la fonction amine de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique (**78**) en espérant moins de problèmes de solubilité. Le schéma général de réaction est représenté à la figure 40 et les résultats obtenus, pour les différents essais, sont combinés dans le tableau 11.

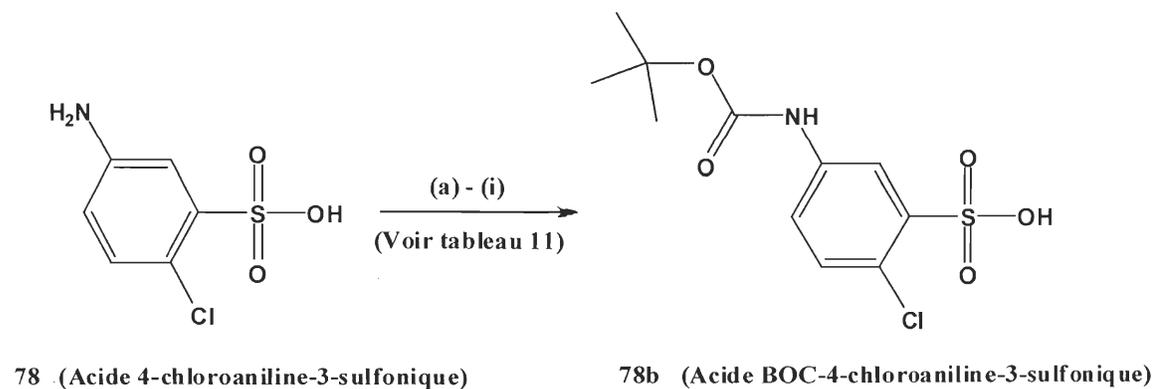


Figure 40 : Réaction générale de protection BOC de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique (**78**)

Nous avons tout d'abord débuté par l'essai d'un protocole dans le DCM, tout comme dans le cas de l'acide sulfanilique. Nous avons donc mélangé 1,5 équivalent de $(\text{BOC})_2\text{O}$ avec 1,1 équivalent de triéthylamine (Et_3N) comme base, le tout dans le DCM à température pièce pour 24 heures. Ce premier essai s'est avéré vain, les problèmes de solubilité de l'acide sulfonique étant toujours présents. Nous avons par la suite augmenté la Et_3N à 1,5 équivalent, puis l'avons retirée de la réaction. Nous avons également essayé la réaction en changeant de solvant (Eau/THF 1 : 2), ces essais ne donnant aucun résultat pour la protection de l'amine de **78**. Par la suite, tout en maintenant à 1,5 le nombre d'équivalent de $(\text{BOC})_2\text{O}$ et à 1,0 le nombre d'équivalent de Et_3N , nous avons essayé de faire la réaction en utilisant le DMAP

Tableau 11 : Résultats des essais de protection BOC de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique (78)

Essai	Réactif	Base	Catalyseur	Solvant	Conditions réactionnelles	Rendement (%)
(a)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	Et ₃ N 1,1 eq	-	DCM	T.P. 24h	0
(b)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	Et ₃ N 1,5 eq	-	DCM	T.P. 24h	0
(c)	(BOC) ₂ O 1,1 eq		-	Eau/THF 1 : 2	T.P. 24h	0
(d)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	Et ₃ N 1,0 eq	DMAP 0,1 eq	DCM	T.P. 24h	0
(e)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	Et ₃ N 1,0 eq	DMAP 1,0 eq	DCM	T.P. 24h	0
(f)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	Et ₃ N 1,0 eq	DMAP 0,5 eq	DCM	T.P. 24h	0
(g)	(BOC) ₂ O 2,0 eq	Et ₃ N 1,0 eq	DMAP 1,0 eq	DCM	T.P. 24h	0
(h)	(BOC) ₂ O 1,5 eq	-	DMAP 1,0 eq	DCM	T.P. 24h	0
(i)	(BOC) ₂ O 5,5 eq	TBAH	-	Dioxane	4°C 24h	60,0

comme catalyseur (62), tout d'abord à 0,1 équivalent. Cela permet, tout comme dans le cas de l'acide sulfanilique, d'amorcer la solubilisation du produit de départ, en partie. En augmentant ensuite le DMAP à 1,0 équivalent, il y a eu solubilisation complète de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique, mais toujours pas de réaction avec le réactif (BOC)₂O. Nous avons continué de varier les conditions réactionnelles, en utilisant d'abord 0,5 équivalent de DMAP puis de nouveau 1,0 équivalent et 2,0 équivalents de (BOC)₂O, toujours dans le DCM, sans obtenir de résultat. Le dernier essai effectué suivant ce protocole fut avec 1,5 équivalent de (BOC)₂O, sans Et₃N, mais avec 1,0 équivalent de DMAP dans le DCM, toujours à température pièce pour 24 heures, ce protocole ne donnant lui non plus qu'un rendement nul.

Un examen approfondi d'écrits scientifiques pertinents nous a permis de trouver un exemple de la protection de la fonction amine en BOC de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique (63). Dans cette publication, les auteurs utilisent 5,5 équivalents de (BOC)₂O dans le dioxane à 4°C pour 24 heures, avec comme base, l'hydroxyde de tétrabutylammonium. Nous avons donc

utilisé ces conditions réactionnelles et avons finalement réussi à obtenir l'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique (**78b**) avec un rendement de 60%, le tout confirmé par RMN¹H. Le produit a cependant été obtenu avec des traces d'hydroxyde de tétrabutylammonium dont il n'a pas été possible de se débarrasser jusqu'à maintenant. Bien que nous ayons tenté de purifier le produit par colonne de silice, nous n'avons pas été capable d'éliminer l'hydroxyde de tétrabutylammonium complètement. Nous avons jugé que cela pouvait être acceptable pour les essais subséquents de couplage sur résine oxime et que la présence de cette base piégée ne devrait pas nuire aux réactions suivantes.

4.4.2.3 Conclusion

Pour conclure sur cette partie, nous avons réussi, après une foule d'essais divers avec les composés acide sulfanilique et acide 4-chloroaniline-3-sulfonique, à synthétiser l'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique avec un rendement de 60%, ne possédant comme impureté résiduelle que des traces d'hydroxyde de tétrabutylammonium, qui ne devraient pas nuire aux réactions subséquentes à être menées sur la résine oxime. Nous avons donc décidé d'effectuer des essais dans le but de synthétiser sur support solide des molécules au potentiel diurétique.

4.4.3 Couplage sur résine oxime

4.4.3.1 Préambule

Dans le but de rendre possible la synthèse sur support solide de molécules au potentiel diurétique ciblant les CCCs, nous avons effectué une foule d'essais de couplages sur la résine oxime impliquant, dans un premier temps, les acides BOC-aminobenzoïques préalablement synthétisés, dans un deuxième temps l'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique synthétisé et finalement, les acides sulfanilique et 4-chloroaniline-3-sulfonique non protégés en BOC.

4.4.3.2 Couplage d'acides BOC-aminobenzoïques

Nous avons premièrement tenté de coupler sur résine oxime les différents acides BOC-aminobenzoïques que nous avons préalablement synthétisés. Il s'agit des composés **74b**, **75b** et **76b**, respectivement les acides BOC-2-, BOC-3- et BOC-4-aminobenzoïques. Le schéma général de synthèse pour ce couplage est représenté à la figure 41.

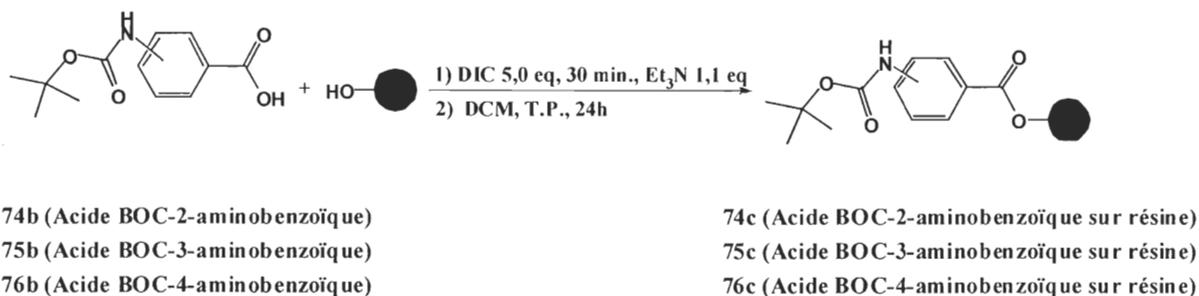


Figure 41 : Tentative de couplage sur la résine oxime d'acides BOC-aminobenzoïques

Nous avons débuté nos essais en essayant des conditions de couplage couramment utilisées pour le couplage d'acides aminés sur la résine oxime. Ces conditions sont 5,0 équivalents de produit à coupler, activé dans le DCM en présence de 5,0 équivalents de diisopropylcarbodiimide (DIC) pour une durée de 30 minutes. Par la suite, le produit activé est

transféré dans une ampoule contenant de la résine oxime gonflée au DCM et mélangé avec 1,1 équivalent de Et_3N et agité mécaniquement pendant 24 heures à température pièce. Nous avons fait l'essai de ces conditions de couplage plusieurs fois sur les trois composés **74b**, **75b** et **76b**, sans jamais réussir à obtenir de preuve que le couplage ait marché. Pour vérifier le taux de couplage de nos composés sur la résine, nous avons procédé par clivage à l'aide d'une petite quantité de résine en utilisant la n-propylamine. Nous avons vérifié le clivage par spectroscopie RMN du proton du produit obtenu. Dans tous les cas, nous avons obtenu un produit clivé sous forme d'huile jaunâtre en très infime quantité et les spectres se sont avérés dans tous les cas impossibles à analyser, comportant plusieurs pics d'intensité extrêmement faible ne correspondant pas du tout avec ce qui aurait dû être obtenu selon la structure attendue.

Bien que nous ayons essayé plusieurs fois ces tentatives de couplage, tous les résultats se sont avérés négatifs. Nous voulons donc, dans un avenir rapproché, tenter le couplage de ces composés dans d'autres conditions, c'est-à-dire en utilisant d'autres agents de couplage. Des essais utilisant le DIC combiné à l'hydroxybenzotriazole (HOBt) ainsi que le benzotriazol-1-yloxytris(diméthylamino)phosphoniumhexafluorophosphate (BOP) utilisés comme agents de couplage sont présentement menés, et nous espérons qu'ils donneront des résultats plus positifs que ceux obtenus dans nos essais préliminaires.

4.4.3.3 Couplage de l'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique

Nous avons poursuivi nos essais de couplage sur support solide de résine oxime avec l'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique (**78b**) que nous avons synthétisé plus tôt. Le schéma général de la réaction est représenté à la figure 42 qui suit.

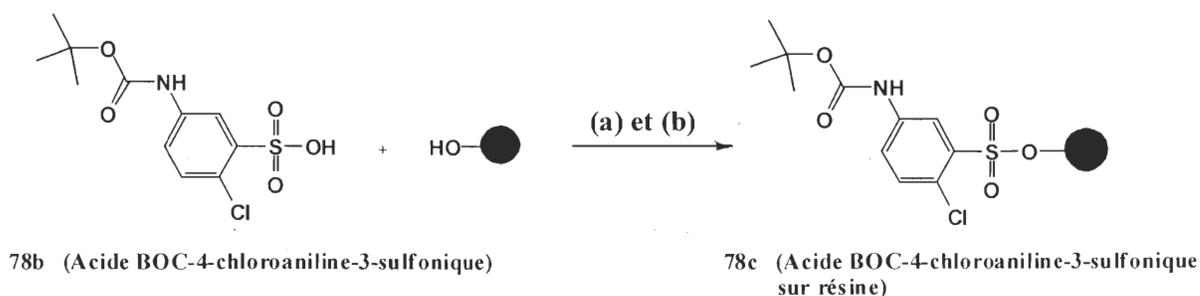


Figure 42 : Couplage sur résine de l'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique (78b)

Nous avons débuté nos essais avec un protocole de couplage classique utilisé en synthèse peptidique, c'est-à-dire 5,0 équivalents d'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique activés avec 5,0 équivalents de DIC dans le DCM pour 30 minutes. Cette solution a été par la suite ajoutée à la résine oxime gonflée à l'aide de DCM, puis nous avons ajouté 1,1 équivalent de Et₃N et agité le tout à température pièce pour 24 heures. Plusieurs essais de ce protocole ont tous donné un résultat nul, c'est-à-dire qu'après clivage d'une petite quantité de résine à l'aide de *n*-propylamine, nous n'obtenons qu'un résidu de produit de masse extrêmement faible, donnant un spectre RMN du proton impossible à analyser et surtout, ne correspondant pas au produit attendu. Vu cet échec, nous avons essayé un autre agent de couplage, le BOP, en suivant la même procédure que précédemment. Ici aussi, malheureusement, le couplage n'a pas fonctionné.

Bien que nous n'ayons pas réussi à coupler sur résine oxime les produits protégés en BOC synthétisés jusqu'à maintenant, nous prévoyons poursuivre nos essais en essayant d'autres agents de couplage tels le HOBt combiné au DIC, au DCC ou au BOP, ou encore le HATU (2-(7-Aza-1H-benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetraméthyluronium hexafluorophosphate). Nous espérons ainsi pouvoir poursuivre éventuellement la synthèse sur support solide de molécules au potentiel diurétique selon notre plan de synthèse initialement prévu.

4.4.3.4 Couplage d'acides sulfoniques sans protection BOC

Si nous tenons compte du fait que nous avons eu beaucoup de difficultés jusqu'à maintenant avec la protection BOC des acides sulfoniques, il serait logique de prétendre que cela soit provoqué par le fait que la fonction amine est désactivée par l'effet électroattracteur de la fonction acide sulfonique combiné à l'effet désactivant provoqué par le cycle aromatique benzénique. Si la fonction amine est suffisamment désactivée, donc peu nucléophile, pour ne réagir que difficilement avec le réactif $(\text{BOC})_2\text{O}$, peut-être serait-il possible de coupler directement sur résine oxime les produits non protégés en BOC, soit les acides sulfanilique (77) et 4-chloroaniline-3-sulfonique (78). Nous avons donc procédé à quelques essais de couplage sur résine oxime de 77 et 78. Les schémas de ces réactions sont représentés à la figure 43 qui suit et le détail des essais effectués est regroupé dans le tableau 12.

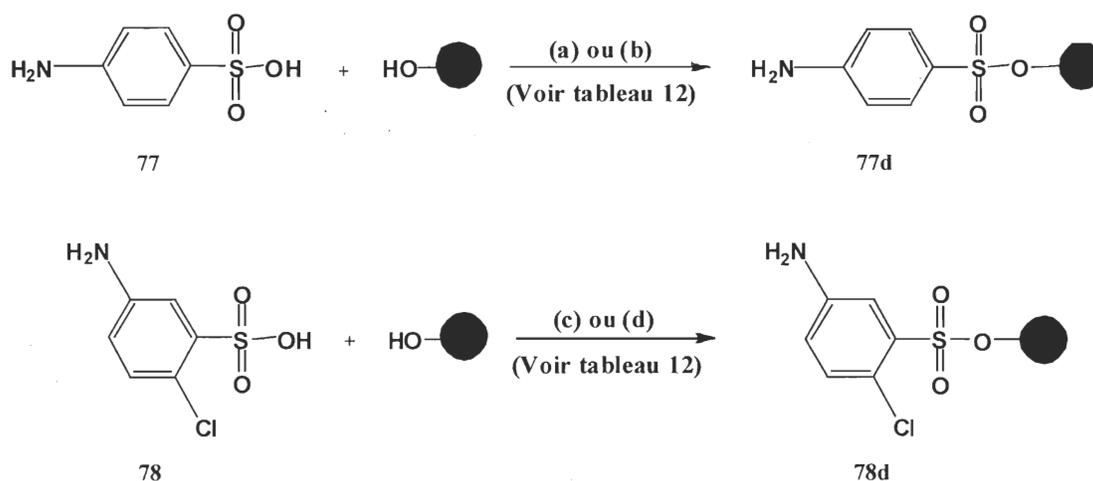


Figure 43 : Schéma de réaction pour le couplage d'acides sulfoniques non protégés en BOC

Tableau 12 : Essais de couplage sur résine d'acides sulfoniques non protégés en BOC

Acide sulfonique	Essais	Équivalents	Agent de couplage	Base	Solvant	Conditions réactionnelles	Taux de substitution
77	(a)	5,0	DIC 5,0 eq 30 min.	Et ₃ N 1,1 eq	DCM	T.P. 24h	0
77	(b)	5,0	DIC 5,0 eq 30 min.	DIEA 2,0 eq	DCM	T.P. 24h	0
78	(c)	5,0	DIC 5,0 eq 30 min.	Et ₃ N 1,1 eq	DCM	T.P. 24h	0
78	(d)	5,0	BOP 1,0 eq 30 min.	Et ₃ N 1,1 eq	DCM	T.P. 24h	0

Nous avons débuté avec le même protocole de base utilisé aux sections 4.4.3.2 et 4.4.3.3, (a), sur le composé **77**. Après vérification de l'efficacité du couplage par un clivage à l'aide de la *n*-propylamine et la prise du spectre RMN du proton du peu de produit clivé, il nous est apparu que le couplage n'avait pas fonctionné. Nous avons alors effectué un autre essai, (b), en changeant la base Et₃N pour de la DIEA 2,0 équivalents, dans le but de varier la force et l'encombrement de la base utilisée. Une fois de plus nous obtenons un taux de couplage nul après vérification.

Malgré l'échec des deux conditions de couplage tentées, nous avons fait l'essai du couplage sans protection BOC sur le composé **78**. Dans un premier temps, nous avons également utilisé le protocole de base, soit l'essai (c), pour tenter de coupler sur résine oxime le composé **78**. Ici aussi, après clivage, nous avons généré un solide dont le spectre RMN du proton ne révèle absolument rien d'attendu. Nous avons donc essayé un nouvel agent de couplage, en outre le BOP, selon les conditions (d) du tableau 12. Malheureusement, ce dernier essai de couplage sur résine oxime n'a pas donné de résultat positif non plus.

Il est difficile d'expliquer pourquoi le couplage sur la résine oxime des acides sulfoniques ne fonctionne pas. Il est certain que le caractère zwitterionique des acides non protégés en BOC peut expliquer la difficulté à réaliser le couplage, rendant le composé insoluble et moins

réactif. Le fait que la fonction acide sulfonique soit grandement stabilisée par résonance peut aussi être un facteur réduisant la réactivité. Il est cependant forcé d'admettre que nous ne nous attendions pas à ce que ce couplage soit infructueux.

4.4.4 Clivage avec l'ammoniaque

Dans le but éventuel d'obtenir une molécule finale synthétisée sur support solide (résine oxime) la fonction sulfonamide ou carboxamide (voir figure 37), fonctions désirées parmi d'autres pour l'élaboration de notre prototype de molécule à potentiel diurétique, nous avons voulu déterminer la faisabilité d'un clivage à l'aide de l'ammoniaque gazeux. Pour ce faire, nous avons choisi de tester ce clivage sur un acide aminé protégé en BOC couramment utilisé en synthèse sur support solide sur résine oxime, soit une BOC-Leucine (BOC-Leu) déjà fixée sur résine oxime. Le schéma réactionnel de ce clivage est représenté à la figure 44 qui suit.

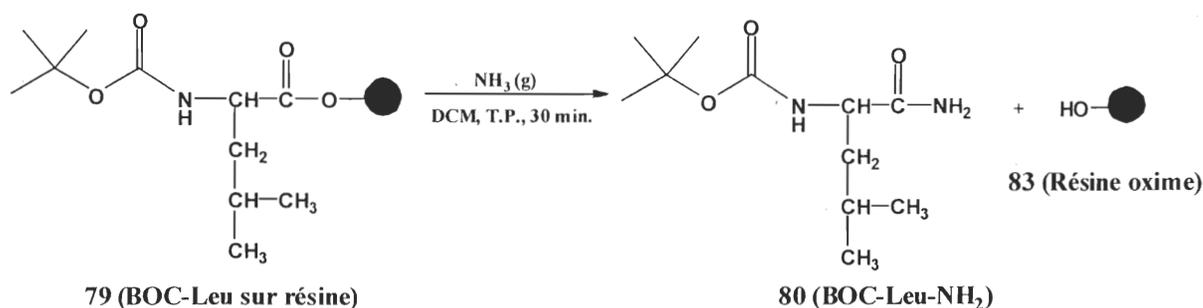


Figure 44 : Clivage à l'aide d'ammoniaque gazeux

L'essai que nous avons effectué est selon un protocole élaboré par nous mêmes qui est relativement simple. Nous avons utilisé une BOC-Leu déjà couplée sur résine oxime. La résine **79** a été mise dans une ampoule à synthèse peptidique puis a été gonflée à l'aide de DCM. Nous avons ensuite ajouté une quantité suffisante de DCM pour que la résine puisse

être mise facilement en suspension et avons ensuite inséré dans l'ampoule une aiguille immergée dans le DCM et reliée à une bombonne d'ammoniaque gazeux. Nous avons ensuite fait buller la solution de DCM et de résine en suspension avec l'ammoniaque gazeux pendant 30 minutes, puis lavé la résine et évaporé le filtrat. Après analyse RMN du proton du produit obtenu, nous pouvons confirmer que cette technique de clivage simple fonctionne parfaitement pour cliver de la résine oxime une BOC-Leu pour obtenir l'amide BOC-Leu-NH₂ **80** avec un rendement de 75%. Cela vient donc confirmer l'idée qu'il est possible d'obtenir facilement la terminaison NH₂ sur des molécules synthétisées sur la résine oxime et nous permet de croire possible la faisabilité de molécules formant les groupements sulfonamide et carboxamide lors du clivage final de la résine.

4.4.5 Conclusion

La partie de notre travail visant à adapter au support solide la synthèse de petites molécules au potentiel diurétique s'est avérée difficile. Nous avons réussi à protéger en BOC trois acides aminobenzoïques différents, soit les acides 2-, 3- et 4-aminobenzoïque, et à protéger, non sans difficultés, un seul acide sulfonique, l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique. Malheureusement, il s'est avéré que tous nos essais de couplage sur résine oxime des produits de départ, protégés en BOC ou non, ont été vains. Cependant, il faut dire qu'une grande quantité d'agents de couplages et de conditions n'ont pas encore été essayés. Malgré tout, nous avons prouvé qu'il était simple d'effectuer le clivage d'un acide aminé couplé sur résine oxime à l'aide d'ammoniaque gazeux simplement bullé dans un mélange de résine en suspension dans le DCM. Cela nous permet de croire que ce résultat serait éventuellement reproductible sur une molécule plus complexe, dans le but de former un groupement sulfonamide ou carboxamide lors du clivage de la résine sur une éventuelle molécule au potentiel diurétique synthétisée sur support solide de résine oxime.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Nous avons réussi la synthèse en solution de plus d'une quinzaine de composés possédant des structures variées et diversifiées, et ciblant la famille des cotransporteurs cations-chlorures (CCCs). Nous avons effectué des tests d'activité avec plusieurs des composés synthétisés et avons observé une activité faiblement inhibitrice ou parfois activatrice pour plusieurs de ces molécules. Un composé en particulier, le **52**, aurait une activité d'inhibition un peu plus forte pour l'isoforme rtKCC2, en plus de lui être sélectif. Bien qu'il semble aussi agir sur l'isoforme rbNKCC2A, il n'en diminue pas la fonction de transport, mais il l'augmente un peu.

Il est important de mentionner ici qu'il faut se méfier des effets biologiques discrets observés. Dans les épreuves de flux ionique, une différence de moins de 20% pourrait être difficile à reproduire sur un nombre plus élevé d'échantillons. De surcroît, plusieurs des molécules ont du être diluées dans des volumes non négligeables de DMSO, substance qui affecte plusieurs CCCs par des mécanismes inconnus. Il sera donc important de retester les produits plus prometteurs en augmentant le nombre de « n », en faisant des courbes dose-réponse et, éventuellement, en trouvant d'autres méthodes biologiques de mesurer la liaison des composés aux transporteurs d'intérêt.

Comme autre réalisation, nous avons synthétisé en quatre étapes deux aminobenzènesulfonamides halogénés, soit les composés **70a** et **70e**, qui pourront éventuellement être utilisés dans la synthèse de composés à être testés et possédant toutes les caractéristiques que nous nous étions fixées lors de l'élaboration du prototype. Ces étapes ont été : [1] la synthèse de huit acétanilides halogénées aux positions 2 ou 3, [2] et [3] la synthèse de quatre acétamidobenzènesulfonamides halogénés, et [4] la synthèse des produits en question. Nous prévoyons poursuivre ces travaux et obtenir une nouvelle gamme de composés plus diversifiés, concordant d'avantage avec la structure prototype élaborée au départ pour cibler les différentes isoformes des CCCs.

Comme autre grande réalisation, nous avons effectué la protection BOC des acides 2-, 3- et 4-aminobenzoïques, ainsi que celle de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique, dans le but d'adapter notre méthode synthétique au support solide. Nous n'avons cependant pas réussi à coupler sur résine oxime les acides sulfoniques et benzoïques protégés ou non. Nous croyons cependant qu'il est possible de réussir en poursuivant les essais avec de nouveaux agents de couplage utilisés dans des conditions réactionnelles variées. Ces travaux pourraient permettre de synthétiser des molécules encore plus diversifiées et plus rapidement, puisqu'elles pourraient se faire par chimie combinatoire et synthèse en parallèle.

En dernier lieu, nous avons démontré la faisabilité du clivage de la résine oxime d'une Boc-Leu à l'aide de l'ammoniaque gazeux, en utilisant un protocole simple et rapide. Cette démonstration nous permet de croire qu'il sera possible d'ajouter un groupement sulfonamide ou carboxamide lors du clivage de la résine.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Partie expérimentale

1. REMARQUES GÉNÉRALES

Les solvants et réactifs utilisés ont été traités ou purifiés de la façon suivante :

- Dichlorométhane (DCM), distillé
- Diméthylformamide (DMF), dégazé à l'azote
- Eau (H₂O), distillée, déionisée et filtrée sur membrane 0,45 µM
- Tétrahydrofurane (THF), distillé sur LiAlH₄ puis sur Na
- Acétonitrile (MeCN), distillé sur CaH₂
- *n*-Propylamine, triéthylamine (Et₃N) et diisopropyléthylamine (DIEA) distillées sur KOH

Les autres solvants ont été utilisés directement :

- Méthanol
- Éther diéthylique, réactif ACS
- Acétate d'éthyle, réactif ACS
- Chloroforme, réactif ACS
- Hexanes, réactif ACS

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton ont été enregistrés avec des appareils Brüker WM-300 MHz et Varian Innova 400 MHz (Université Laval). Les

déplacements chimiques sont rapportés en parties par million (ppm). Le standard interne est le pic résiduel du solvant. Les abréviations suivantes ont été utilisées dans l'interprétation des spectres :

DMSO-D₆ : diméthylsulfoxyde hexadeutééré

δ : déplacement chimique

J : constante de couplage

s : singulet

d : doublet

t : triplet

q : quadruplet

m : multiplet

Les points de fusion ont été mesurés sur un appareil Gallenkamp de design enregistré #889339.

Les spectres infrarouges ont été enregistrés sur un appareil de marque BOMEM, modèle Arid-Zone, MB-series.

Les spectres de masse ont été réalisés au laboratoire du Molecular Medicine Research Center (MMRC) de l'Université de Toronto. Le Sciex API III⁺ est un spectromètre de masse à quadrupôle triple à ionisation par jet d'électrons (electrospray).

Les chromatographies sur colonne ont été réalisées en utilisant un gel de silice de maille 230-400 (Silicycle) comme adsorbant et une pression positive d'air.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques de gel de silice de 60Å, 250µm d'épaisseur avec fond de verre. Les composés ont été détectés à l'aide d'une exposition à la lumière ultraviolette et/ou avec une solution révélatrice de ninhydrine.

La résine échangeuse d'ions utilisée est de marque Amberlite IR-120 (plus), de type gel avec des fonctions acide sulfonique.

2. SYNTHÈSES

2.1 Synthèse de molécules de type sulfonamide et carboxamide

4-(2-Carboxy-phénylcarboxamido)-benzènesulfonamide (40)

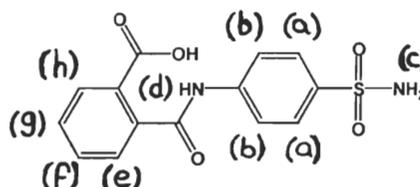
Dissoudre 5,0 mmol (0,861g) de 4-aminobenzènesulfonamide dans 20-30 mL d'acétonitrile anhydre dans un ballon de 50 mL. Préparer une solution de 5,0 mmol (0,740g) d'anhydride phtalique dissout dans 10 mL d'acétonitrile anhydre. Ajouter ensuite 5,5 mmol (0,780 mL, 1,1 équivalent) de triéthylamine à la solution de 4-aminobenzènesulfonamide. Additionner lentement et goutte à goutte sur 10 minutes la solution d'anhydride phtalique à la solution de 4-aminobenzènesulfonamide et laisser sous agitation magnétique toute la nuit à la température de la pièce sous un courant d'azote. Ajouter un peu d'eau et acidifier à pH 2-3 la solution à l'aide d'acide chlorhydrique 2N jusqu'à précipitation d'un solide blanc. Filtrer et laver le solide blanc obtenu sur un entonnoir Büchner avec de l'eau distillée froide. Laisser sécher à l'air. Le composé **40** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (0,51g).

Rendement = 32 %

$T_f = 255^\circ\text{C}$

M.M. : 320,32 ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$)

S.M. (exp.) : 320,4 = (M^+)



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 6,39 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 6,59 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{b})$) ; 7,60 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{a})$) ; 7,87 (s, 4H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{e, f, g, h})$).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3600-3200 (OH), 3367 (NH allongement), 1720 (C=O acide carboxylique et amide), 1596 et 1500 (C=C aromatiques), 1302 et 1140 (S=O sulfonamide) 1125 (C-O), 1125 (C-N amines).

4-(2-Carboxy-4,5-dichlorophénylcarboxamido)-benzènesulfonamide (41)

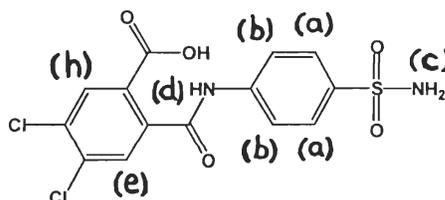
Le composé **41** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 1,085g d'anhydride 4,5-dichlorophthalique ont été utilisés, en suspension et non dissous. Le composé **41** est obtenu sous forme d'une poudre rosée (1,13g).

Rendement = 54 %

$T_f = >260^\circ\text{C}$

M.M. : 389,21 ($\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$)

S.M. (exp.) : 390,0 = $(\text{M}+\text{H})^+$



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 7,44 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 7,60 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{b})$) ; 7,92 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{a})$) ; 8,30 (s, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{e}, \text{h})$).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3600-3200 (OH), 3400-3100 (NH allongement), 1720 (C=O acide carboxylique et amide), 1592 et 1401 (C=C aromatiques), 1312 et 1261 (S=O sulfonamide), 1163 (C-N amines), 1088 (C-O).

4-(2-Carboxy-4-tertbutylphénylcarboxamido)-benzènesulfonamide (42)

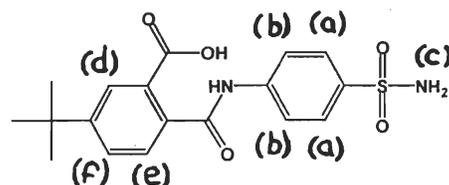
Le composé **42** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 1,021g d'anhydride 4-tertbutylphthalique ont été utilisés. Le composé **42** est obtenu sous forme de poudre blanche légèrement jaunâtre (1,04g).

Rendement = 55 %

$T_f = >260^\circ\text{C}$

M.M. : 376,34 ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$)

S.M. (exp.) : 376,8 = (M^+) , 394,0 = $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$



RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 1,34 (s, 9H, H_{t-butyl}) ; 7,59 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, H_{arom.}(b)) ; 7,90 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom.}(c)) ; 7,99 (s, 1H, H_{arom.}(d)) ; 8,03 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H_{arom.}(e,f)).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3600-3200 (OH), 3450 (NH allongement), 1600 (C=O acide carboxylique et amide), 1595 et 1400 (C=C aromatiques), 1314 et 1156 (S=O sulfonamide), 1355 (C-N amines), 1096 (C-O).

4-(2-Carboxy-4-méthylphénylcarboxamido)-benzènesulfonamide (43)

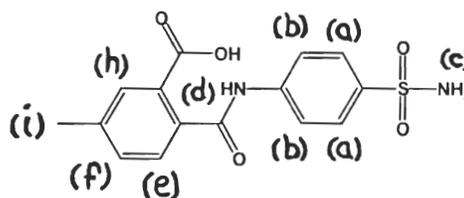
Le composé **43** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,919g d'anhydride 4-méthylphthalique ont été utilisés. Le composé **43** est obtenu sous forme d'une poudre beige (0,48g).

Rendement = 28 %

T_f = >260°C

M.M. : 334,35 (C₁₅H₁₄N₂O₅S)

S.M. (exp.) : 334,0 = (M⁺)



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 2,44 (s, 3H, CH₃) ; 6,43 (s, 2H, SO₂NH₂) ; 6,57 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom.}(b)) ; 7,60 (d, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{arom.}(a)) ; 8,19 (s, 3H, H_{arom.}(e, f, h)).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3600-3200 (OH), 3357 (NH allongement), 1744 (C=O acide carboxylique et amide), 1594 et 1500 (C=C aromatiques), 1377 et 1261 (S=O sulfonamide), 1194 (C-N amines), 1168 (C-O).

2-(2-Carboxy-phénylcarboxamido)-benzamide (44)

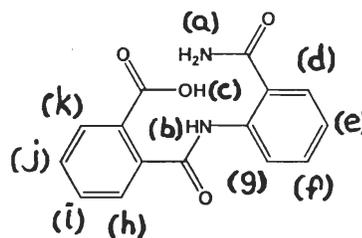
Dissoudre 5,0 mmol (0,680g) de 2-aminobenzamide dans 20-30 mL d'acétonitrile anhydre dans un ballon de 50 mL. Préparer une solution de 5,0 mmol (0,740g) d'anhydride phtalique dissout dans 10 mL d'acétonitrile anhydre. Ajouter ensuite 5,5 mmol (0,780 mL, 1,1 équivalent) de triéthylamine à la solution de 2-aminobenzamide. Additionner lentement et goutte à goutte sur 10 minutes la solution d'anhydride phtalique à la solution de 2-aminobenzamide et laisser sous agitation magnétique toute la nuit à la température de la pièce sous un courant d'azote. Filtrer et laver la poudre blanche obtenue sur un entonnoir Büchner avec de l'eau distillée froide. Laisser sécher à l'air. Dissoudre le solide obtenu dans du MeOH et ajouter un peu de résine échangeuse d'ions acide. Agiter le mélange quelques minutes, puis filtrer la résine sur un entonnoir Büchner et évaporer le filtrat. Sécher le solide blanc obtenu à l'air. Le composé **44** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (0,70 g).

Rendement = 52 %

$T_f = 180^\circ\text{C}$

M.M. : 284,27 ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$)

S.M. (exp.) : 284,8 = (M^+)



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 7,12 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (e)) ; 7,62 (m, 4H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (h, i, j, k)) ; 7,68 (s, 1H, CONH_2) ; 7,80 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (d, f)) ; 8,27 (s, 1H, CONH_2) ; 8,54 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (g)) ; 12,16 (s, 1H, NH) ; 13,05 (s, 1H, COOH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3550-3200 (OH), 3500-3150 (NH allongement), 1686 et 1661 ($\text{C}=\text{O}$ acide carboxylique et amide), 1594 et 1449 ($\text{C}=\text{C}$ aromatiques), 1285 ($\text{C}-\text{O}$), 1100 ($\text{C}-\text{N}$ amines).

2-(2-Carboxy-4,5-dichlorophénylcarboxamido)-benzamide (45)

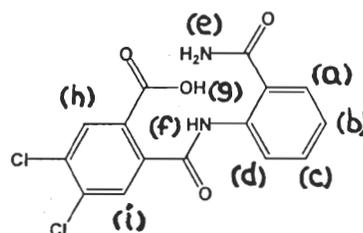
Le composé **45** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **44**. 1,085g d'anhydride 4,5-dichlorophtalique ont été utilisés, en suspension et non dissous. Le composé en solution est acidifié avec de l'acide chlorhydrique 2N jusqu'à précipitation d'un solide blanc. Une fois filtrée, lavée à l'eau distillée froide et séchée à l'air, le composé est dissous dans le DCM pour être traité à l'aide d'une résine échangeuse d'ions comme pour **44**. Le composé **45** est obtenu sous forme de poudre blanche (0,91g).

Rendement = 51 %

$T_f = 185^\circ\text{C}$

M.M. : 353,16 ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$)

S.M. (exp.) : 353,0 = (M^+), 354,8 = ($\text{M}+\text{H}^+$), 371,0 = ($\text{M}+\text{NH}_4^+$)



RMN¹H (400 MHz, DMSO- D_6) δ : 7,15 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{c})$) ; 7,50 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{b})$) ; 7,71 (s, 1H, CONH_2) ; 7,80 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{a})$) ; 7,90 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{h})$) ; 7,98 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{i})$) ; 8,27 (s, 1H, CONH_2) ; 8,42 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{d})$) ; 12,17 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3600-3200 (OH), 3382 (NH allongement), 1703 et 1661 (C=O acide carboxylique et amide), 1592 et 1527 (C=C aromatiques), 1273 (C-N amines), 1134 (C-O), 756 (C-Cl).

2-(2-Carboxy-4-méthylphénylcarboxamido)-benzamide (46)

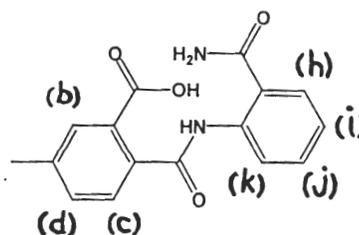
Le composé **46** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,642g de 2-aminobenzamide ainsi que 0,919g d'anhydride 4-méthylphthalique ont été utilisés. Le composé **46** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (0,79g).

Rendement = 53 %

$T_f = 181^\circ\text{C}$

M.M. : 298,29 ($\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$)

S.M. (exp.) : 299,2 = $(\text{M}+\text{H})^+$



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 2,36 (s, 3H, CH_3) ; 7,11 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{i})$) ; 7,36 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{h})$) ; 7,47 (m, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{j})$) ; 7,58 (s, 1H, CONH_2) ; 7,71 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{b})$) ; 7,78 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{c})$) ; 7,81 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{d})$) ; 8,26 (s, 1H, CONH_2) ; 8,54 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{k})$) ; 12,05 (s, 1H, NH) ; 12,16 (s, 1H, COOH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3600-3200 (OH), 3385 (NH allongement), 1726 et 1655 ($\text{C}=\text{O}$ acide carboxylique et amide), 1522 et 1449 ($\text{C}=\text{C}$ aromatiques), 1314 ($\text{C}-\text{N}$ amines), 1132 ($\text{C}-\text{O}$).

2-(2-Carboxy-phénylcarboxamido)-benzènesulfonamide (47)

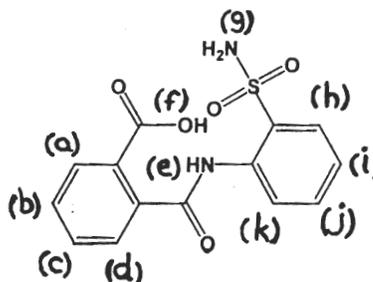
Le composé **47** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,861g de 2-aminobenzènesulfonamide ont été utilisés. Le composé **47** est obtenu sous forme d'une poudre jaunâtre (1,00g).

Rendement = 62 %

$T_f = >260^\circ\text{C}$

M.M. : 320,23 ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$)

S.M. (exp.) : 320,0 = (M^+)



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 7,58 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{arom.}(i)) ; 7,83 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, H_{arom.}(j)) ; 7,89 (m, 3H, SO₂NH₂ + H_{arom.}(k)) ; 8,00 (m, 3H, H_{arom.}(a, b, d)) ; 8,04 (t, 1H, $J = 4,0$ Hz, H_{arom.}(c)) ; 8,76 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, H_{arom.}(h)).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3650-3200 (OH), 3581 (NH allongement), 1776 et 1640 (C=O acide carboxylique et amide), 1600 et 1478 (C=C aromatiques), 1384 et 1200 (S=O sulfonamide), 1324 (C-N amines) 1239 (C-O).

2-[[[2-sulfonamidophényl)amino]carbonyl]-4,5-dichlorobenzoate de triéthylammonium
(48)

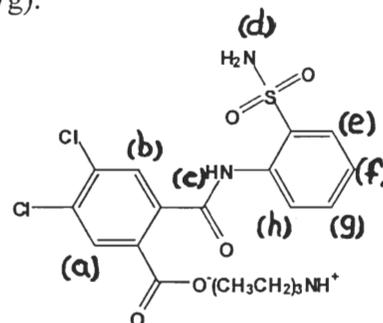
Le composé **48** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **50**. 0,861g de 2-aminobenzènesulfonamide ainsi que 1,085g d'anhydride 4,5-dichlorophthalique ont été utilisés. Le composé **48** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (0,87g).

Rendement = 62 %

T_f = >260°C

M.M. : 389,21 (C₁₄H₁₀Cl₂N₂O₅S) ou 490,40 (C₂₀H₂₅Cl₂N₃O₅S)

S.M. (exp.) : 389,9 = (M⁺)



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 1,10 (t, 9H, $J = 7,9$ Hz, (CH₃CH₂)₃N) ; 2,99 (q, 6H, $J = 7,6$ Hz, (CH₃CH₂)₃N) ; 7,16 (s, 2H, SO₂NH₂) ; 7,28 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H_{arom.}(e)) ; 7,42 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, H_{arom.}(g)) ; 7,65 (t, 1H, $J = 8,6$ Hz, H_{arom.}(f)) ; 7,78 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H_{arom.}(h)) ; 8,13 (s, 1H, H_{arom.}(b)) ; 8,28 (s, 1H, H_{arom.}(a)).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3600-3100 (OH), 3356 (NH allongement), 1624 et 1600 (C=O acide carboxylique et amide), 1569 et 1479 (C=C aromatiques), 1383 et 1330 (S=O sulfonamide), 1330 (C-N amines), 1138 (C-O), 757 (C-Cl).

2-(2-Carboxy-4-méthylphénylcarboxamido)-benzènesulfonamide (49)

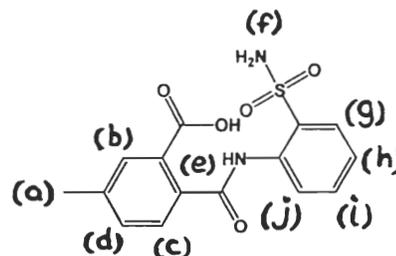
Le composé **49** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,861g de 2-aminobenzènesulfonamide ainsi que 0,815g d'anhydride 4-méthylphthalique ont été utilisés. Le composé **49** est obtenu sous forme d'une poudre beige-pâle (0,45g).

Rendement = 26 %

$T_f = 253^\circ\text{C}$

M.M. : 334,35 ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$)

S.M. (exp.) : 334,2 = (M^+)



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 2,45 (s, 3H, CH_3) ; 7,57 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{i})$) ; 7,70 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{h})$) ; 7,80 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{b})$) ; 7,83 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{g})$) ; 7,88 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 7,91 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{j})$) ; 7,98 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{d})$) ; 8,74 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{c})$).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3600-3200 (OH), 3408 (NH allongement), 1773 et 1640 ($\text{C}=\text{O}$ acide carboxylique et amide), 1600 et 1476 ($\text{C}=\text{C}$ aromatiques), 1381 et 1324 ($\text{S}=\text{O}$ sulfonamide), 1175 ($\text{C}-\text{N}$ amines), 1086 ($\text{C}-\text{O}$).

3-(2-Carboxy-phénylcarboxamido)-4-chlorobenzamide (50)

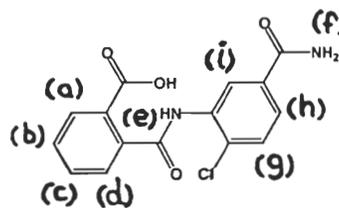
Le composé **50** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,853g de 3-amino-4-chlorobenzamide a été utilisé. Le composé **50** est obtenu sous forme d'une poudre beige-pâle (1,40g).

Rendement = 86 %

$T_f = >260^\circ\text{C}$

M.M. : 318,71 ($\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_4$)

S.M. (exp.) : 319,0 = ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 337,8 = ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 7,45 (s, 1H, H_{arom.}(i)) ; 7,55 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_{arom.}(b)) ; 7,57 (s, 2H, CONH₂) ; 7,63 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{arom.}(c)) ; 7,69 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{arom.}(d)) ; 7,83 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz, H_{arom.}(a)) ; 8,01 (s, 1H, H_{arom.}(h)) ; 8,15 (s, 1H, H_{arom.}(g)) ; 10,07 (s, 1H, NH) ; 13,07 (s, 1H, COOH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3600-3100 (OH), 3354 (NH allongement), 1709 et 1660 (C=O acide carboxylique et amide), 1599 et 1477 (C=C aromatiques), 1145 (C-O), 1078 (C-N amines).

3-(2-Carboxy-4,5-dichlorophénylcarboxamido)-4-chlorobenzamide (51)

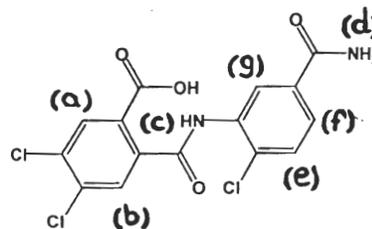
Le composé **51** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,853g de 3-amino-4-chlorobenzamide ainsi que 1,085g d'anhydride 4,5-dichlorophthalique ont été utilisés. Le composé **51** est obtenu sous forme d'une poudre beige-pâle (1,54g).

Rendement = 76 %

T_f = >260°C

M.M. : 387,60 (C₁₅H₉Cl₃N₂O₄)

S.M. (exp.) : 388,8 = (M+H)⁺, 406,0 = (M+NH₄)⁺



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 7,46 (s, 1H, CONH₂) ; 7,56 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom.}(f)) ; 7,70 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom.}(e)) ; 7,83 (s, 1H, H_{arom.}(g)) ; 8,01 (s, 1H, CONH₂) ; 8,02 (s, 1H, H_{arom.}(b)) ; 8,20 (s, 1H, H_{arom.}(a)) ; 10,22 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3600-3200 (OH), 3242 (NH allongement), 1710 et 1661 (C=O acide carboxylique et amide), 1580 et 1490 (C=C aromatiques), 1288 (C-N amines), 1097 (C-O), 763 (C-Cl).

3-(2-Carboxy-4-méthylphénylcarboxamido)-4-chlorobenzamide (52)

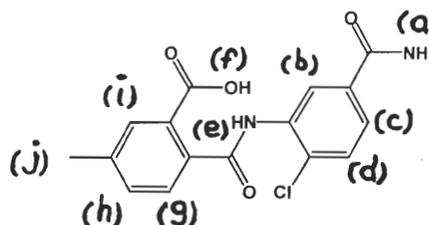
Le composé **52** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,853g de 3-amino-4-chlorobenzamide ainsi que 1,085g d'anhydride 4-méthylphthalique ont été utilisés. Le composé **52** est obtenu sous forme d'une poudre beige-pâle (0,69g).

Rendement = 40 %

$T_f = 206^\circ\text{C}$

M.M. : 332,74 ($\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_4$)

S.M. (exp.) : 332,8 = (M^+), 350,0 = ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺



RMN¹H (400 MHz, DMSO- D_6) δ : 2,36 (s, 3H, CH_3) ; 7,33 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (c)) ; 7,44 (s, 2H, CONH_2) ; 7,55 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (h)) ; 7,62 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (i)) ; 7,67 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (g)) ; 7,75 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (d)) ; 8,00 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (b)) ; 8,15 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3600-3200 (OH), 3241 (NH allongement), 1708 et 1659 ($\text{C}=\text{O}$ acide carboxylique et amide), 1560 et 1478 ($\text{C}=\text{C}$ aromatiques), 1271 ($\text{C}-\text{N}$ amines), 1208 ($\text{C}-\text{O}$).

2-[[[(4-benzamidophényl)amino]carbonyl]benzoate de triéthylammonium (53)

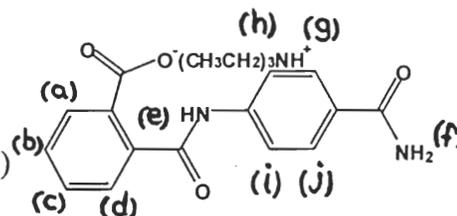
Le composé **53** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,681g de 4-aminobenzamide a été utilisé. Le composé **53** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (1,14g).

Rendement = 59 %

$T_f = >260^\circ\text{C}$

M.M. : 284,27 ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$) ou 385,46 ($\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4$)

S.M. (exp.) : 284,9 = (M^+), 302,0 = ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 1,04 (t, 9H, $J = 7,3$ Hz, (CH₃CH₂)₃N) ; 2,88 (q, 6H, $J = 7,4$ Hz, (CH₃CH₂)₃N) ; 7,19 (s, 1H, CONH₂) ; 7,42 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom.}(i, h)) ; 7,61 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_{arom.}(b)) ; 7,72 (m, 3H, H_{arom.}(a, c, d)) ; 7,80 (m, 3H, H_{arom.}(j, g) + CONH₂) ; 12,11 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3500-3100 (OH), 3387 (NH allongement), 1680 et 1630 (C=O acide carboxylique et amide), 1532 et 1461 (C=C aromatiques), 1326 (C-N amines), 1127 (C-O).

2-[[[4-benzamidophényl]amino]carbonyl]-4,5-dichlorobenzoate de triéthylammonium
(54)

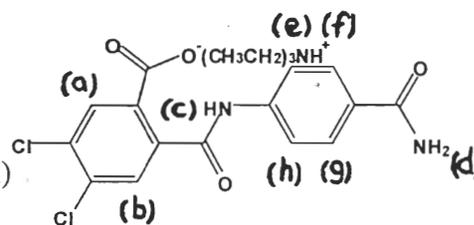
Le composé **54** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,681g de 4-aminobenzamide ainsi que 1,085g d'anhydride 4,5-dichlorophtalique ont été utilisés. Le composé **54** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (1,53g).

Rendement = 65 %

T_f = >260°C

M.M. : 353,16 (C₁₅H₁₀Cl₂N₂O₄) ou 454,35 (C₂₁H₂₅Cl₂N₃O₄)

S.M. (exp.) : 353,0 = (M⁺), 371,9 = (M+NH₄)⁺



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 1,07 (t, 9H, $J = 7,2$ Hz, (CH₃CH₂)₃N) ; 2,92 (q, 6H, $J = 7,2$ Hz, (CH₃CH₂)₃N) ; 7,19 (s, 1H, CONH₂) ; 7,67 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H_{arom.}(h, e)) ; 7,81 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, H_{arom.}(g, f)) ; 7,83 (s, 1H, CONH₂) ; 7,85 (s, 1H, H_{arom.}(b)) ; 7,95 (s, 1H, H_{arom.}(a)).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3500-2800 (OH), 3386 (NH allongement), 1680 et 1661 (C=O acide carboxylique et amide), 1586 et 1543 (C=C aromatiques), 1346 (C-N amines), 1273 (C-O), 762 (C-Cl).

2-[[4-(4-benzamidophényl)amino]carbonyl]-5-méthylbenzoate de triéthylammonium (55)

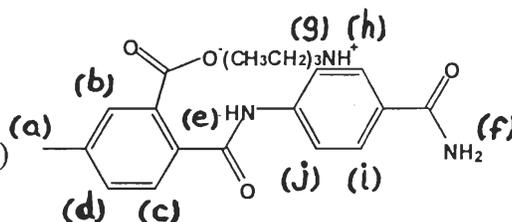
Le composé **55** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,681g de 4-aminobenzamide ainsi que 0,815g d'anhydride 4-méthylphtalique ont été utilisés. Le composé **55** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (1,03g).

Rendement = 51 %

$T_f = >260^\circ\text{C}$

M.M. : 298,29 ($\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$) ou 399,48 ($\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4$)

S.M. (exp.) : 299,0 = $(\text{M}+\text{H})^+$, 316,1 = $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 1,00 (t, 9H, $J = 7,2$ Hz, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{N}$) ; 2,31 (s, 3H, CH_3) ; 2,75 (q, 6H, $J = 7,3$ Hz, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{N}$) ; 7,20 (s, 1H, CONH_2) ; 7,25 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{d})$) ; 7,40 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{b})$) ; 7,58 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{c})$) ; 7,70 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{j}, \text{g})$) ; 7,80 (m, 3H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{i}, \text{h}) + \text{CONH}_2$) ; 7,65 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3500-2900 (OH), 3384 (NH allongement), 1680 et 1630 ($\text{C}=\text{O}$ acide carboxylique et amide), 1586 et 1459 ($\text{C}=\text{C}$ aromatiques), 1323 ($\text{C}-\text{N}$ amines), 1262 ($\text{C}-\text{O}$).

2-(2-Carboxy-4-tert-butylphénylcarboxamido)-benzamide (56)

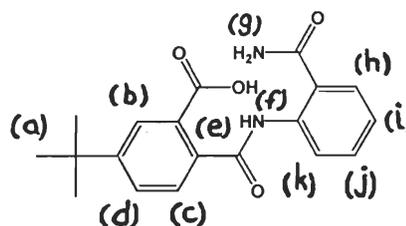
Le composé **56** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,642g de 2-aminobenzamide ainsi que 1,021g d'anhydride 4-tert-butylphtalique ont été utilisés. Le composé **56** est obtenu sous forme d'une poudre blanche (1,08g).

Rendement = 65 %

$T_f = 158^\circ\text{C}$

M.M. : 340,37 ($\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$)

S.M. (exp.) : 341,2 = $(\text{M}+\text{H})^+$



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 1,28 (s, 9H, t-butyl) ; 7,12 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_{arom.}(j)) ; 7,51 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_{arom.}(h)) ; 7,52 (s, 1H, NH) ; 7,58 (s, 1H, H_{arom.}(b)) ; 7,66 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_{arom.}(k)) ; 7,75 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H_{arom.}(d)) ; 7,76 (s, 1H, CONH₂) ; 7,82 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom.}(c)) ; 8,26 (s, 1H, CONH₂) ; 8,58 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{arom.}(i)) ; 12,15 (s, 1H, COOH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3600-3000 (OH), 3258 (NH allongement), 1697 et 1658 (C=O acide carboxylique et amide), 1590 et 1485 (C=C aromatiques), 1318 (C-N amines), 1166 (C-O).

3-(2-Carboxy-4-tert-butylphénylcarboxamido)-4-chlorobenzamide (57)

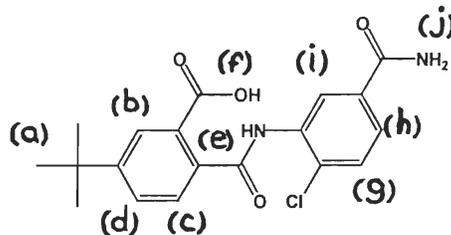
Le composé **57** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **40**. 0,853g de 3-amino-4-chlorobenzamide ainsi que 1,021g d'anhydride 4-tert-butylphthalique ont été utilisés. Le composé **57** est obtenu sous forme d'une poudre beige-pâle (1,19g).

Rendement = 65 %

T_f = 148°C

M.M. : 374,82 (C₁₉H₁₉ClN₂O₄)

S.M. (exp.) : 375,2 = (M+H)⁺



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 1,28 (s, 9H, t-butyl) ; 7,45 (s, 1H, H_{arom.}(b)) ; 7,52 (s, 1H, H_{arom.}(i)) ; 7,55 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_{arom.}(h)) ; 7,57 (s, 2H, CONH₂) ; 7,65 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H_{arom.}(g)) ; 7,80 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H_{arom.}(d)) ; 8,02 (s, 1H, NH) ; 8,18 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H_{arom.}(c)) ; 10,02 (s, 1H, COOH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3600-2900 (OH), 3300 (NH allongement), 1700 et 1630 (C=O acide carboxylique et amide), 1604 et 1524 (C=C aromatiques), 1306 (C-N amines), 1255 (C-O).

2.2 Synthèse d'aminobenzènesulfonamides halogénés

2.2.1 Synthèse des acétanilides

2-Chloroacétanilide (67a)

À 0,1 mol (12,76g) de 2-chloroaniline agitée à 0°C (dans un bain de glace), ajouter 0,2 mol (21 mL, 2,0 équivalents) d'anhydride acétique et maintenir l'agitation à 0°C quelques instants. Porter le mélange à reflux 30 minutes, puis laisser refroidir à la température de la pièce. Traiter le mélange réactionnel avec plusieurs portions de NaOH 2N pour éliminer l'anhydride acétique en excès ainsi que l'acide acétique formé. Filtrer et laver le solide blanc cristallin obtenu avec plusieurs portions de NaOH 2N et d'eau froide. Sécher le solide à l'air par succion, puis sous vide. Recristalliser dans l'eau. Le composé **67a** est obtenu sous forme de cristaux blancs (13,03g).

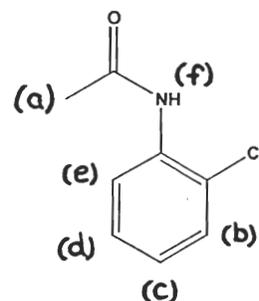
Rendement = 77 %

$T_f = 80-85^\circ\text{C}$

$T_f \text{ théorique} = 88-90^\circ\text{C}$

M.M. : 169,61 ($\text{C}_8\text{H}_8\text{ClNO}$)

S.M. (exp.) : 170,2 = $(\text{M}+\text{H})^+$



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 2,04 (s, 3H, CH_3) ; 7,12 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{c})$) ; 7,25 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{d})$) ; 7,43 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{e})$) ; 7,64 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{b})$) ; 9,46 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3243 (NH allongement), 1663 (C=O amide), 1588 et 1474 (C=C aromatiques), 1302 (C-N amide), 754 (C-Cl).

3-Chloroacétanilide (67b)

Le composé **67b** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **67a**. 12,76g de 3-chloroaniline ont été utilisés. Le composé **67b** brut (rouge huileux) est purifié sur colonne de silice. Préparer une colonne de silice dans l'hexane et dissoudre le produit rouge dans un minimum de DCM. Éluer la 3-chloroaniline avec un mélange AcOEt/Hexanes 10 : 90, puis éluer la 3-chloroacétanilide à l'aide d'un mélange AcOEt/Hexanes 90 : 10 à 100% AcOEt. Un solide blanc-rosé est obtenu. (7,73g).

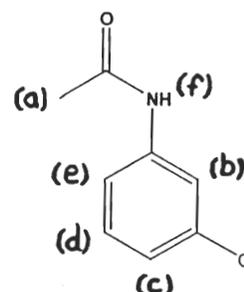
Rendement = 46 %

$T_f = 76^\circ\text{C}$

$T_f \text{ théorique} = 79-81^\circ\text{C}$

M.M. : 169,61 ($\text{C}_8\text{H}_8\text{ClNO}$)

S.M. (exp.) : 170,2 = (M+H)⁺



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 2,00 (s, 3H, CH_3) ; 7,02 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (e)) ; 7,26 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (d)) ; 7,35 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (c)) ; 7,77 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (b)) ; 10,07 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3293 (NH allongement), 1671 (C=O amide), 1541 et 1474 (C=C aromatiques), 1280 (C-N amide), 782 (C-Cl).

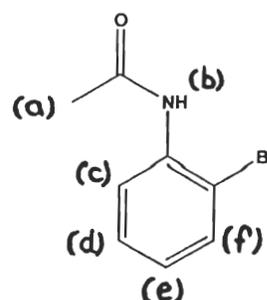
2-Bromoacétanilide (67c)

Le composé **67c** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **67b**. 17,20g de 2-bromoaniline ont été utilisés. Un solide blanc cristallin est obtenu. (2,74g).

Rendement = 13 %

$T_f = 92-95^\circ\text{C}$

$T_f \text{ théorique} = 96-100^\circ\text{C}$



M.M. : 214,06 (C₈H₈BrNO)

S.M. (exp.) : 214,2 = (M⁺), 231,0 = (M+NH₄)⁺

RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 2,02 (s, 3H, CH₃) ; 7,08 (t, 1H, J = 7,7 Hz, H_{arom.}(e)) ; 7,31 (t, 1H, J = 7,8 Hz, H_{arom.}(d)) ; 7,53 (d, 1H, J = 7,8 Hz, H_{arom.}(c)) ; 7,61 (d, 1H, J = 7,6 Hz, H_{arom.}(f)) ; 9,42 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3451 (NH allongement), 1661 (C=O amide), 1532 et 1438 (C=C aromatiques), 1297 (C-N amide).

3-Bromoacétanilide (67d)

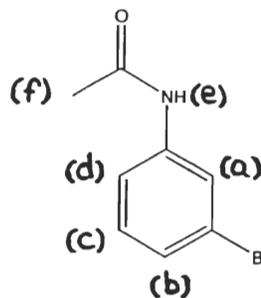
Le composé **67d** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **67b**. 17,20g de 3-bromoaniline ont été utilisés. Lors de la chromatographie, terminer l'élution du composé en ajoutant 2 à 5% de MeOH à l'AcOEt utilisé à la fin de la purification sur colonne de silice. Une poudre blanche-rosée est obtenue. (4,59g).

Rendement = 22 %

T_f = 75-78°C

M.M. : 214,06 (C₈H₈BrNO)

S.M. (exp.) : 214,0 = (M⁺)



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 2,00 (s, 3H, CH₃) ; 7,21 (m, 2H, H_{arom.}(c, d)) ; 7,40 (d, 1H, J = 6,2 Hz, H_{arom.}(b)) ; 7,89 (s, 1H, H_{arom.}(a)) ; 10,05 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3238 (NH allongement), 1650 (C=O amide), 1591 et 1472 (C=C aromatiques), 1285 (C-N amide), 608 (C-Br).

2-Fluoroacétanilide (67e)

Le composé **67e** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **67d**. 39,20g de 2-fluoroaniline ont été utilisés. Le mélange réactionnel a été porté à la température de reflux pour 4 heures. Un solide blanc cristallin est obtenu. (35,26g).

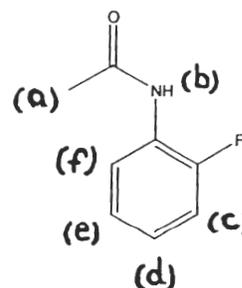
Rendement = 65 %

$T_f = 74-77^\circ\text{C}$

$T_{f \text{ théorique}} = 77-79^\circ\text{C}$

M.M. : 153,20 ($\text{C}_8\text{H}_8\text{FNO}$)

S.M. (exp.) : 154,2 = $(\text{M}+\text{H})^+$, 171,0 = $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$



RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 2,03 (s, 3H, CH_3) ; 7,09 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (d, f)) ; 7,17 (t, 1H, $J = 7,4 \text{ Hz}$, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (e)) ; 7,81 (d, 1H, $J = 7,6 \text{ Hz}$, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (c)) ; 9,66 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3244 (NH allongement), 1640 ($\text{C}=\text{O}$ amide), 1600 et 1457 ($\text{C}=\text{C}$ aromatiques), 1369 ($\text{C}-\text{F}$), 1318 ($\text{C}-\text{N}$ amide).

3-Fluoroacétanilide (67f)

Le composé **67f** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **67a**. 11,11g de 3-fluoroaniline ont été utilisés. Le mélange réactionnel a été porté à la température de reflux pour 2 heures. Un solide blanc cristallin est obtenu. (11,81g).

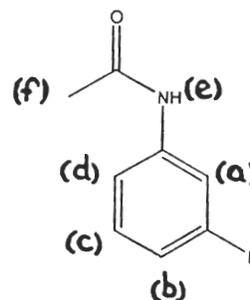
Rendement = 77 %

$T_f = 78-80^\circ\text{C}$

$T_{f \text{ théorique}} = 82-84^\circ\text{C}$

M.M. : 153,20 ($\text{C}_8\text{H}_8\text{FNO}$)

S.M. (exp.) : 154,2 = $(\text{M}+\text{H})^+$



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 2,00 (s, 3H, CH₃) ; 6,80 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz, H_{arom.}(c)) ; 7,23 (m, 2H, H_{arom.}(a, d)) ; 7,54 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_{arom.}(b)) ; 10,09 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3256 (NH allongement), 1675 (C=O amide), 1602 et 1480 (C=C aromatiques), 1266 (C-N amide), 1260 (C-F).

2-Iodoacétanilide (67g)

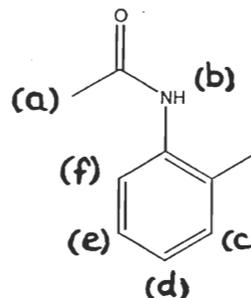
Le composé **67g** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **67e**. 29,07g de 2-iodoaniline ont été utilisés. Une poudre blanche est obtenue. (27,13g).

Rendement = 78 %

T_f = 102-103°C

M.M. : 261,06 (C₈H₈INO)

S.M. (exp.) : 262,0 = (M+H)⁺, 279,0 = (M+NH₄)⁺



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 2,00 (s, 3H, CH₃) ; 6,93 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz, H_{arom.}(d)) ; 7,34 (m, 2H, H_{arom.}(e, f)) ; 7,81 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, H_{arom.}(c)) ; 9,37 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3273 (NH allongement), 1660 (C=O amide), 1582 et 1463 (C=C aromatiques), 1293 (C-N amide), 664 (C-I).

3-Iodoacétanilide (67h)

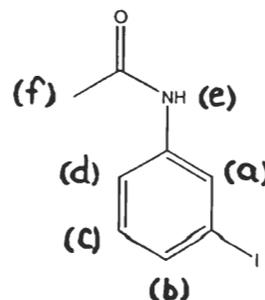
Le composé **67h** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **67e**. 10,0g de 3-iodoaniline ont été utilisés. Une poudre blanche et cristalline est obtenue. (7,92g).

Rendement = 66 %

T_f = 114-116°C

M.M. : 261,06 (C₈H₈INO)

S.M. (exp.) : 262,0 = (M+H)⁺



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 1,98 (s, 3H, CH₃) ; 7,08 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, H_{arom.}(c)) ; 7,33 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, H_{arom.}(d)) ; 7,45 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, H_{arom.}(b)) ; 8,03 (s, 1H, H_{arom.}(a)) ; 9,98 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3295 (NH allongement), 1669 (C=O amide), 1590 et 1468 (C=C aromatiques), 1283 (C-N amide), 606 (C-I).

2.2.2 Synthèse des acétamidobenzènesulfonamides

4-Acétamido-3-chlorobenzènesulfonamide (69a)

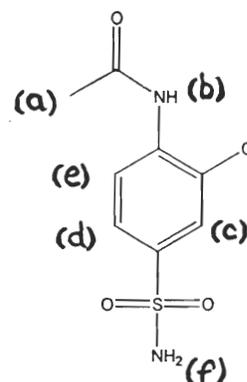
Refroidir 0,06 mol (10,07g) de 2-chloroacétanilide (**67a**) à 0°C (dans un bain de glace) et ajouter lentement 0,29 mol (20,0 mL, 5,0 équivalents) d'acide chlorosulfonique. Laisser agiter le tout à 0°C quelques instants, puis chauffer le mélange sous agitation magnétique dans un bain de sable à 70-85 °C pour 4 heures. Arrêter le chauffage et préparer un ballon contenant une bonne quantité de glace et le fixer dans un bain d'eau glacée. Verser le mélange réactionnel sur la glace, éliminant ainsi l'excès d'acide chlorosulfonique. Le chlorure de sulfonyle est alors récupéré sur la glace dans le ballon sous forme d'une pâte gommeuse grisâtre. Sans plus attendre, ajouter 25 à 50 mL d'hydroxyde d'ammonium concentré (NH₄OH) dans le ballon. Retirer le ballon du bain d'eau glacée et chauffer le mélange sur bain de sable à 70°C sous agitation magnétique toute la nuit. Refroidir le mélange et précipiter le sulfonamide par addition de HCl 2N. Filtrer, laver avec de l'eau glacée et sécher le solide obtenu à l'air. Recristalliser dans l'eau. Une poudre blanche est obtenue (5,21g).

Rendement = 35 %

$T_f = 192-195^\circ\text{C}$

M.M. : 248,69 ($\text{C}_8\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$)

S.M. (exp.) : 249,0 = (M^+), 266,0 = ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺

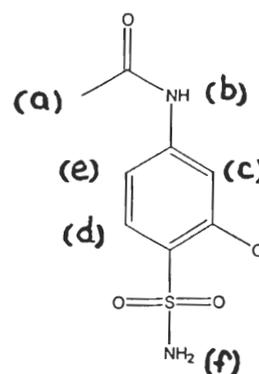


RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 2,10 (s, 3H, CH_3) ; 7,41 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 7,67 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{e})$) ; 7,82 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{c})$) ; 7,96 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{d})$) ; 9,69 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3273 (NH allongement), 1665 ($\text{C}=\text{O}$ amide), 1581 et 1520 ($\text{C}=\text{C}$ aromatiques), 1334 et 1163 ($\text{S}=\text{O}$ sulfonamide), 1305 ($\text{C}-\text{N}$ amide), 778 ($\text{C}-\text{Cl}$).

4-Acétamido-2-chlorobenzènesulfonamide (69b)

Le composé **69b** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **69a**. 4,00g de 3-chloroacétanilide (**67b**) ont été utilisés. Une poudre rosée est obtenue (0,49g).



Rendement = 8 %

$T_f = 170^\circ\text{C}$

M.M. : 248,69 ($\text{C}_8\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$)

S.M. (exp.) : 248,8 = (M^+), 266,0 = ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺

RMN^1H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 2,03 (s, 3H, CH_3) ; 7,44 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 7,50 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{e})$) ; 7,84 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{d})$) ; 7,90 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}(\text{c})$) ; 10,38 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}): 3293 (NH allongement), 1672 (C=O amide), 1586 et 1474 (C=C aromatiques), 1375 et 1162 (S=O sulfonamide), 1333 (C-N amide), 627 (C-Cl).

3-Acétamido-2-fluorobenzènesulfonamide (69e)

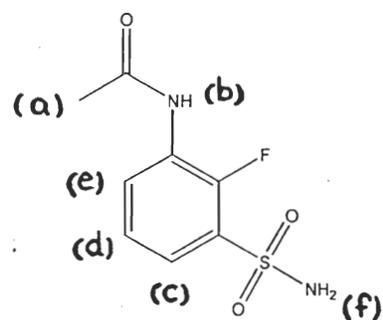
Le composé **69e** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **69a**. 16,47g de 2-fluoroacétanilide (**67e**) ainsi que 100 mL de NH_4OH ont été utilisés. Un solide beige est obtenu (3,25g).

Rendement = 12 %

$T_f = 178-180^\circ\text{C}$

M.M. : 232,25 ($\text{C}_8\text{H}_9\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}$)

S.M. (exp.) : 233,0 = $(\text{M}+\text{H})^+$, 250,0 = $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$

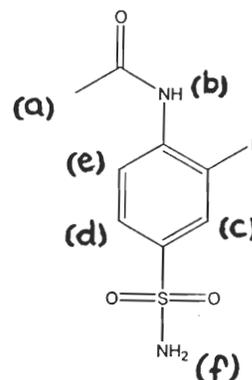


RMN¹H (400 MHz, DMSO-D_6) δ : 2,09 (s, 3H, CH_3) ; 7,35 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 7,57 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (c, e)) ; 8,14 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (d)) ; 9,97 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}): 3257 (NH allongement), 1689 (C=O amide), 1609 et 1491 (C=C aromatiques), 1370 et 1292 (S=O sulfonamide), 1152 (C-N amide), 1126 (C-F).

4-Acétamido-3-iodobenzènesulfonamide (69g)

Le composé **69g** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **69e**. 16,48g de 2-iodoacétanilide (**67g**) ont été utilisés. Un solide brun-mauve est obtenu (6,20g).



Rendement = 29 %

T_f = subl. 110°C

M.M. : 340,14 (C₈H₉IN₂O₃S)

S.M. (exp.) : 340,8 = (M⁺), 358,0 = (M+NH₄)⁺

RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 2,05 (s, 3H, CH₃) ; 7,39 (s, 2H, SO₂NH₂) ; 7,59 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{arom.}(e)) ; 7,73 (d, 1H, J = 8,4 Hz, H_{arom.}(d)) ; 8,19 (s, 1H, H_{arom.}(c)) ; 9,52 (s, 1H, NH).

IR (Pastille KBr, cm⁻¹) : 3250 (NH allongement), 1659 (C=O amide), 1570 et 1509 (C=C aromatiques), 1389 et 1161 (S=O sulfonamide), 1333 (C-N amide), 650 (C-I).

2.2.3 Synthèse des aminobenzènesulfonamides

4-Amino-3-chlorobenzènesulfonamide (70a)

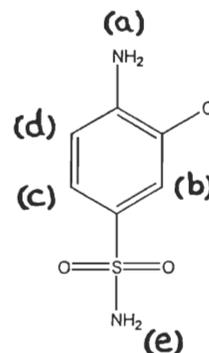
Mettre 0,01 mol (2,08g) de 4-acétamido-3-chlorobenzènesulfonamide (**69a**) en suspension dans 20 mL de HCl 20% et porter à la température de reflux pour 1 heure. Laisser ensuite refroidir à la température de la pièce et amener le pH à environ 4 avec du NaOH 2N (jusqu'à précipitation). Filtrer le solide et le laver à l'eau glacée. Une poudre blanche est obtenue (1,35g).

Rendement = 78 %

$T_f = 155-158^\circ\text{C}$

M.M. : 206,60 ($\text{C}_6\text{H}_7\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}$)

S.M. (exp.) : 207,0 = $(\text{M}+\text{H})^+$, 224,2 = $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$



RMN¹H (400 MHz, DMSO- D_6) δ : 6,05 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 6,78 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (d)) ; 7,03 (s, 2H, NH_2) ; 7,39 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (c)) ; 7,54 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (b)).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}) : 3477 (NH allongement), 1635, 1590 et 1499 (C=C aromatiques), 1331 et 1154 (S=O sulfonamide), 1313 (C-N amine), 751 (C-Cl).

3-Amino-2-fluorobenzènesulfonamide (70e)

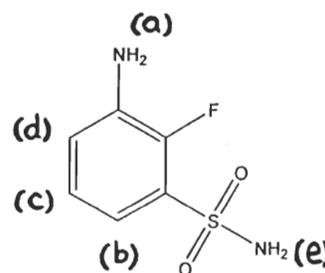
Le composé **70e** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **70a**. 3,25g de 3-acétamido-2-fluorobenzènesulfonamide (**69e**) ont été utilisés. Une poudre grise est obtenue (1,54g).

Rendement = 58 %

$T_f = 158-162^\circ\text{C}$

M.M. : 190,20 ($\text{C}_6\text{H}_7\text{FN}_2\text{O}_2\text{S}$)

S.M. (exp.) : 191,0 = $(\text{M}+\text{H})^+$, 208,0 = $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$



RMN¹H (400 MHz, DMSO- D_6) δ : 5,86 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 6,76 (t, 1H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (c)) ; 7,01 (s, 2H, NH_2) ; 7,30 (m, 2H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (b, d)).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}): 3471 (NH allongement), 1643, 1517 et 1432 (C=C aromatiques), 1329 et 1135 (S=O sulfonamide), 1316 (C-F), 1314 (C-N amine).

4-Amino-3-iodobenzènesulfonamide (70g)

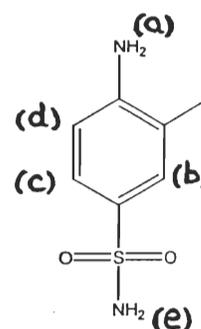
Le composé **70g** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **70a**. 6,00g de 4-acétamido-3-iodobenzènesulfonamide (**69g**) ont été utilisés. Un solide brun-noir est obtenu à l'état de trace.

Rendement = n.d.

T_f = n.d.

M.M. : 298,10 ($\text{C}_6\text{H}_7\text{IN}_2\text{O}_2\text{S}$)

S.M. (exp.) : 299,0 = $(\text{M}+\text{H})^+$, 315,8 = $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$



RMN¹H (400 MHz, DMSO- D_6) δ : 5,87 (s, 2H, NH_2) ; 6,71 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (d)) ; 7,00 (s, 2H, SO_2NH_2) ; 7,42 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (c)) ; 7,89 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (b)).

IR (Pastille KBr, cm^{-1}): 3483 (NH allongement), 1612, 1579 et 1487 (C=C aromatiques), 1321 et 1139 (S=O sulfonamide), 1307 (C-N amine), 655 (C-I).

2.3 Protection BOC d'acides aminobenzoïques

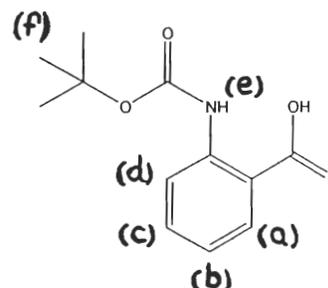
Acide BOC-2-aminobenzoïque (74b)

Dans une solution composée de 40 mL de tétrahydrofuranne (THF), de 20 mL d'eau et de 20 mL de NaOH 1N, dissoudre 20 mmol (2,74g) d'acide 2-aminobenzoïque. Refroidir le mélange à 0°C et y ajouter une solution composée de 22 mmol (4,80g) de di-tert-butylcarbonate ((BOC)₂O) dissous dans un minimum de THF. Agiter ensuite le mélange durant 2 heures à la température de la pièce. Concentrer le mélange et l'acidifier à pH 2-3 avec une solution de KHSO₄ diluée. Extraire la phase aqueuse avec deux portions d'acétate d'éthyle (AcOEt). Combiner les fractions organiques et les laver avec deux portions d'eau. Sécher au sulfate de magnésium (MgSO₄), filtrer et évaporer le filtrat à sec. Recristalliser à l'aide d'un mélange Hexanes/AcOEt. Une poudre blanche est obtenue (2,75g).

Rendement = 58 %

T_f = n.d.

M.M. : 237,25 (C₁₂H₁₅NO₄)



RMN¹H (400 MHz, DMSO-D₆) δ : 1,43 (s, 9H, t-butyl) ; 7,01 (t, 1H, *J* = 8,2 Hz, H_{arom.}(b)) ; 7,51 (t, 1H, *J* = 8,7 Hz, H_{arom.}(c)) ; 7,90 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, H_{arom.}(d)) ; 8,24 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, H_{arom.}(a)) ; 10,56 (s, 1H, COOH).

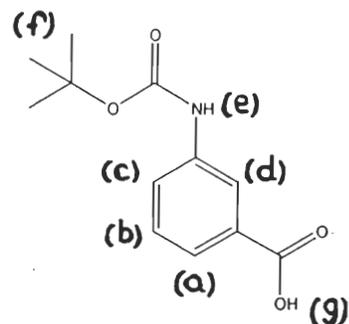
Acide BOC-3-aminobenzoïque (75b)

Le composé **75b** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **74b**. 2,74g d'acide 3-aminobenzoïque ont été utilisés. Une poudre blanche est obtenue (3,23g).

Rendement = 68 %

T_f = n.d.

M.M. : 237,25 ($C_{12}H_{15}NO_4$)



RMN^1H (400 MHz, $DMSO-D_6$) δ : 1,43 (s, 9H, t-butyl) ; 7,31 (t, 1H, $J = 7,9$ Hz, $H_{arom.}(b)$) ; 7,48 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, $H_{arom.}(c)$) ; 7,57 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, $H_{arom.}(a)$) ; 8,09 (s, 1H, $H_{arom.}(d)$) ; 9,50 (s, 1H, NH) ; 12,85 (s, 1H, COOH).

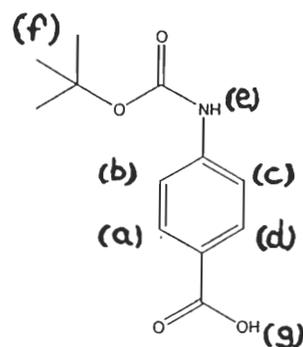
Acide BOC-4-aminobenzoïque (76b)

Le composé **76b** est préparé suivant la même procédure que pour le composé **74b**. 2,74g d'acide 4-aminobenzoïque ont été utilisés. Une poudre blanche est obtenue (3,04g).

Rendement = 64 %

T_f = n.d.

M.M. : 237,25 ($C_{12}H_{15}NO_4$)



RMN^1H (400 MHz, $DMSO-D_6$) δ : 1,44 (s, 9H, t-butyl) ; 5,82 (s, 1H, NH) ; 6,48 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, $H_{arom.}(c)$) ; 7,49 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz, $H_{arom.}(b)$) ; 7,56 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, $H_{arom.}(d)$) ; 7,77 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, $H_{arom.}(a)$) ; 9,67 (s, 1H, COOH).

2.4 Protection BOC de l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique

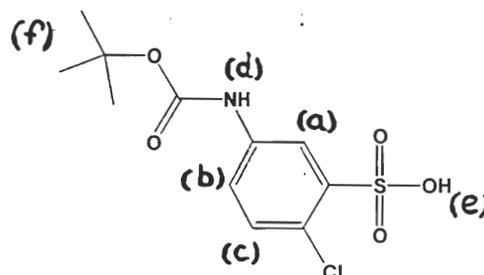
Acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique (78b)

Dissoudre 7,5 mmol (1,56g) d'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique dans un minimum de dioxane et ajouter cette solution à une autre composée de 41,3 mmol (9,0g, 5,5 équivalents) de $((\text{BOC})_2\text{O})$ dissous dans 15 mL de dioxane. Ajouter lentement la solution précédemment formée à 11,5 mL d'une solution aqueuse 1N d'hydroxyde de tetrabutylammonium à plus ou moins 4°C. Agiter toute la nuit sous atmosphère d'azote à 4°C. Évaporer le solvant, diluer le résidu dans l'eau, réévaporer et purifier le solide sur colonne de silice (AcOEt/MeOH 95 : 5). Un solide blanc contenant de l'hydroxyde de tetrabutylammonium est obtenu (1,38g).

Rendement = 60 %

T_f = n.d.

M.M. : 307,75 ($\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{ClNO}_5\text{S}$)



RMN¹H (400 MHz, DMSO- D_6) δ : 1,48 (s, 9H, t-butyl) ; 7,21 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (c)) ; 7,38 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (b)) ; 8,04 (s, 1H, $\text{H}_{\text{arom.}}$ (a)) ; 9,48 (s, 1H, NH).

2.5 Procédure générale pour les essais en support solide

2.5.1 Procédure générale pour le couplage d'acides BOC-aminobenzoïques

La résine oxime, possédant un taux de substitution théorique de 0,5 mmol/g, est insérée dans une ampoule de verre munie d'un fritté et d'un robinet à une extrémité et d'un bouchon de téflon à l'autre. La résine est gonflée deux fois au DCM. Parallèlement, l'acide BOC-aminobenzoïque (5,0 équivalents) est dissous dans un minimum de DCM. Le DIC (5,0 équivalents) est alors ajouté à la solution et le tout est agité durant 30 minutes. La suspension est alors versée dans l'ampoule contenant la résine, le tout étant additionné de 1,1 équivalent de Et₃N, qui est mise sous agitation mécanique pendant 24 heures. Le contenu de l'ampoule est ensuite filtré par succion et la résine est lavée selon la séquence de lavage décrite à la section 2.5.1.1.

2.5.1.1 Séquence de lavages

La résine est lavée par agitations successives en présence des solvants suivants : DMF (3 X 25 mL), MeOH (3 X 25 mL), DCM (3 X 25 mL) et MeOH (3 X 25 mL). Elle est ensuite séchée sous pression réduite.

2.5.1.2 Détermination du taux de substitution

Le taux de substitution « expérimental » est déterminé par clivage d'une petite quantité de résine (100mg). 100mg de résine, à laquelle a été couplé un composé (acide aminobenzoïque ou autre), sont pesés dans une ampoule à synthèse peptidique. Gonfler et rincer la résine 2 X au DCM. Ajouter un peu de DCM pour assurer une bonne agitation. Additionner 1,0 équivalent de *n*-propylamine (5,0μL pour 100mg de résine) et soumettre à l'agitation mécanique pour 1 heure. Filtrer le contenu de l'ampoule et rincer la résine selon la séquence suivante : DCM (3 X 10 mL), MeOH (3 X 10 mL), DCM (3 X 10 mL) et MeOH (3 X 10 mL).

Combiner et évaporer à sec les filtrats des lavages. Vérifier la qualité du produit clivé par RMN¹H et déterminer le taux de substitution par masse comme suit :

$$\frac{\text{Masse de produit recueilli en g}}{\text{Masse molaire du produit en g/mol}} \times 1000 = \text{Quantité de produit en mmol}$$

$$\frac{\text{Quantité de produit en mmol}}{\text{Masse de résine clivée en g}} = \text{Taux de substitution en mmol/g de résine sèche}$$

2.5.2 Procédure générale pour le couplage de l'acide BOC-4-chloroaniline-3-sulfonique

Les essais ont été réalisés en suivant la procédure décrite en 2.5.1. Le BOP (5,0 équivalents) a également été utilisé comme agent de couplage. La résine est lavée selon la séquence de lavage 2.5.1.1 et le taux de substitution est déterminé suivant la procédure décrite à la section 2.5.1.2.

2.5.3 Procédure générale pour le couplage d'acides sulfoniques sans protection BOC

2.5.3.1 Essais avec l'acide sulfanilique (acide 4-aminobenzènesulfonique)

Les essais ont été réalisés en suivant la procédure décrite en 2.5.1. La DIEA (2,0 équivalents) a également été utilisée comme base. La résine est lavée selon la séquence de lavage 2.5.1.1 et le taux de substitution est déterminé suivant la procédure décrite à la section 2.5.1.2.

2.5.3.2 Essais avec l'acide 4-chloroaniline-3-sulfonique

Les essais ont été réalisés en suivant la procédure décrite en 2.5.1. Le BOP (1,0 équivalent) a également été utilisé comme agent de couplage. La résine est lavée selon la séquence de

lavage 2.5.1.1 et le taux de substitution est déterminé suivant la procédure décrite à la section 2.5.1.2.

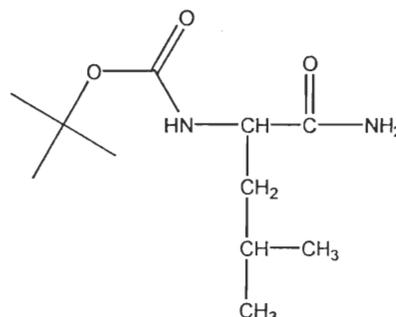
2.6 Clivage d'une BOC-Leucine avec ammoniacque gazeux

Dans une ampoule de verre munie d'un fritté et d'un robinet à une extrémité et d'un bouchon de téflon à l'autre, peser 500mg de BOC-Leucine préalablement fixée sur résine oxime. Gonfler et rincer la résine deux fois au DCM et ajouter suffisamment de DCM pour mettre la résine en suspension. Faire barboter de l'ammoniacque gazeux dans le DCM contenant la résine en suspension pour une durée de 30 minutes. Filtrer le contenu de l'ampoule et laver la résine selon la séquence suivante : 3xDCM, 3xMeOH, 3xDCM et 3xMeOH. Combiner le filtrat avec ceux des lavages et évaporer le tout à sec. Vérifier la qualité du clivage par l'analyse RMN¹H de la poudre obtenue.

Rendement = 75 %

T_f = n.d.

M.M. : 230,30 (C₁₁H₂₂N₂O₃)



RMN¹H (300 MHz, DMSO-D₆) δ : 0,87 (m, 6H, RCH(CH₃)₂) ; 1,39 (s, 11H, t-butyl + CH₂) ; 1,60 (m, 1H, RCH(CH₃)₂) ; 3,88 (t, 1H, R₂CHCONH₂) ; 6,79 (s, 1H, NH) ; 6,92 (s, 1H, NH₂) ; 7,22 (s, 1H, NH₂).

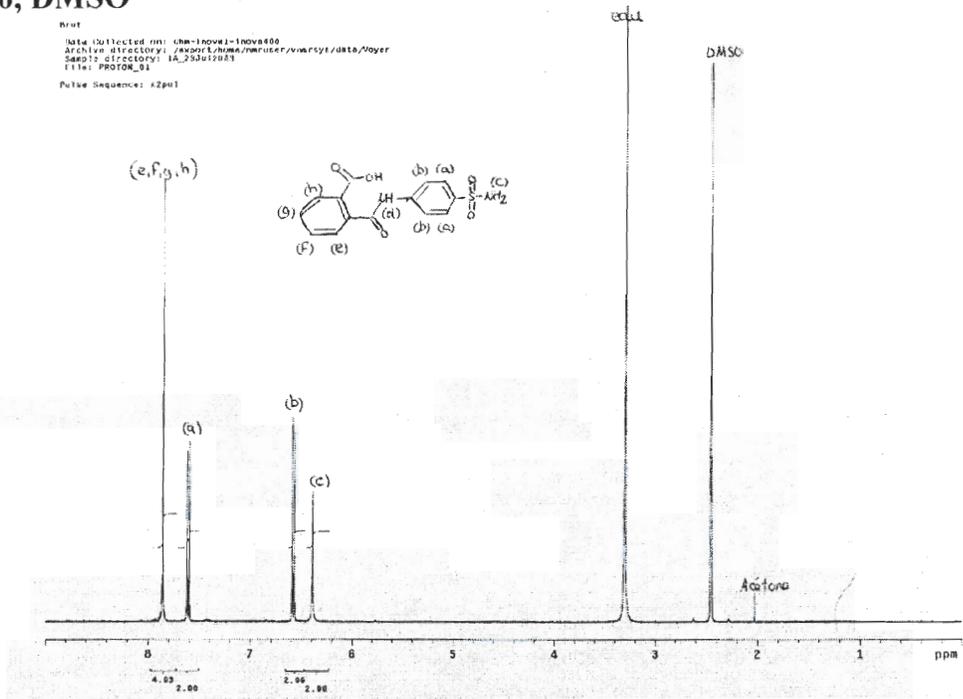
ANNEXES

ANNEXE 1

SPECTRES RMN ^1H

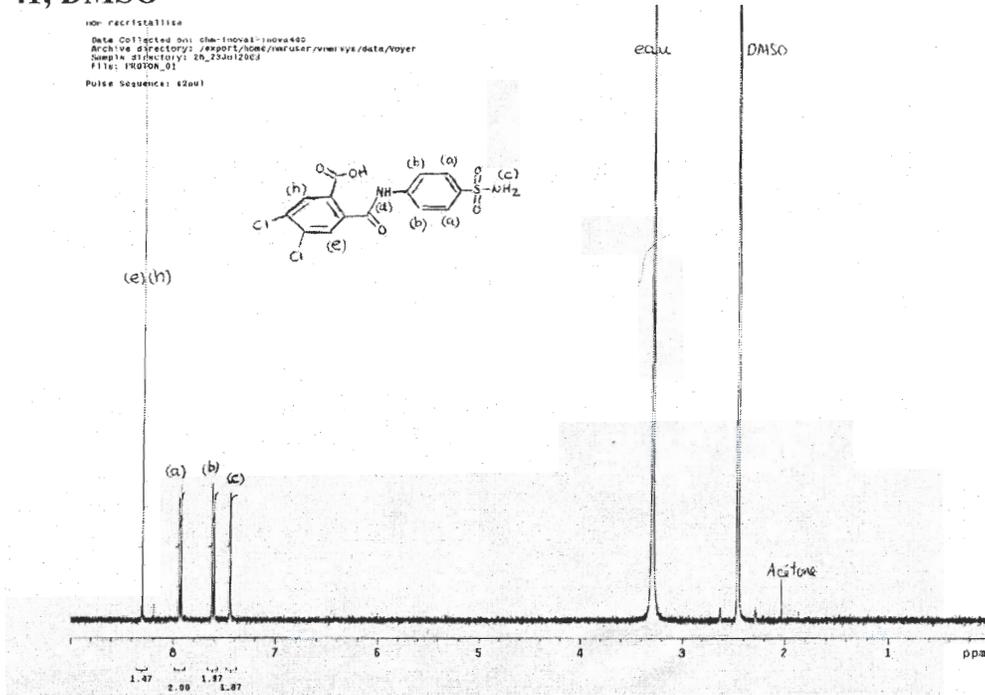
40, DMSO

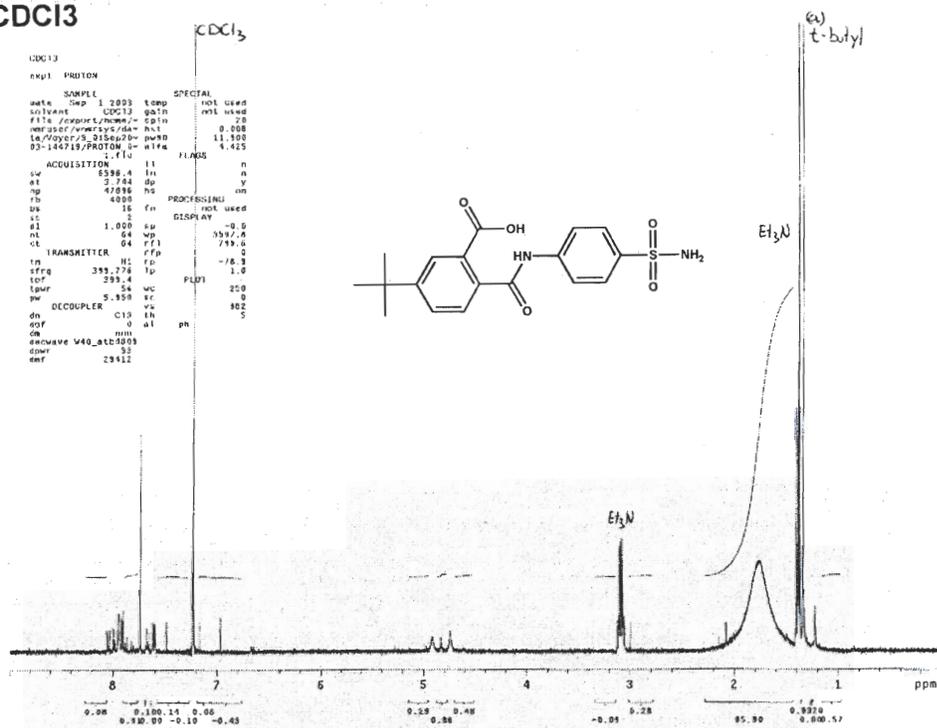
nmr
 Date Collected on: 08-10-94-1104400
 Archive directory: /ns001/home/nmruser/vwwr/sys/date/boyer
 Sample directory: 1A_25Jul1983
 File: PROTON_01
 Pulse Sequence: s2p01



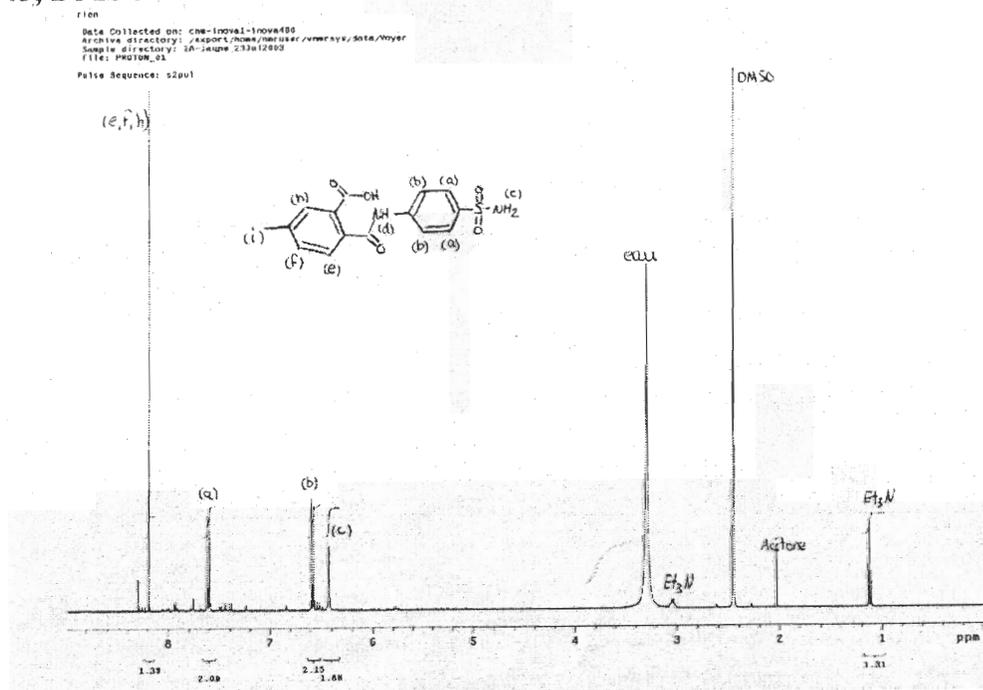
41, DMSO

non recrystallise
 Date Collected on: 08-10-94-1104400
 Archive directory: /ns001/home/nmruser/vwwr/sys/date/boyer
 Sample directory: 2B_25Jul1983
 File: PROTON_01
 Pulse Sequence: s2p01

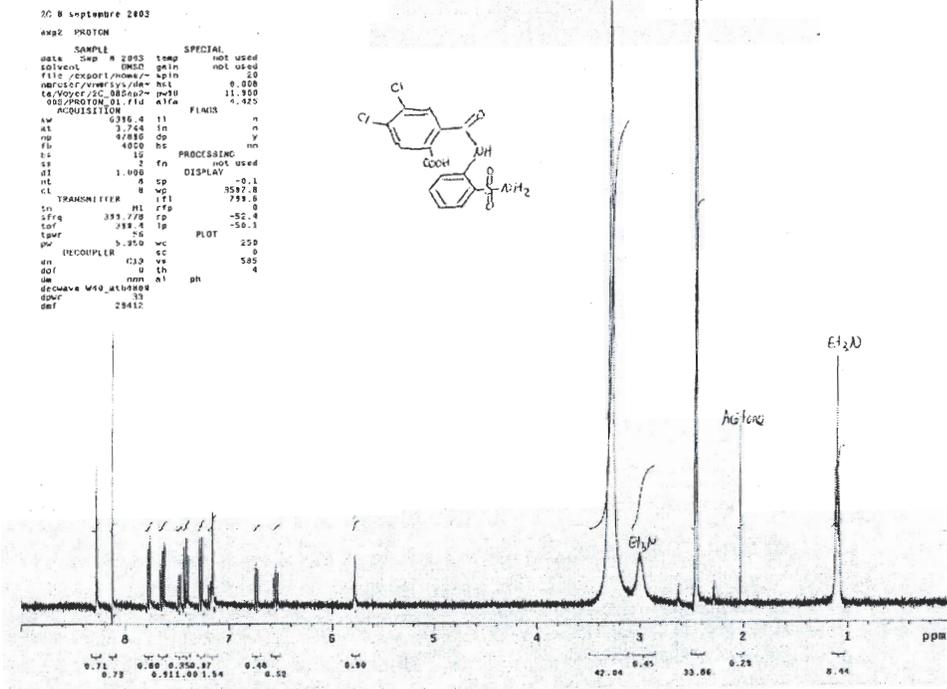


42, CDCl₃

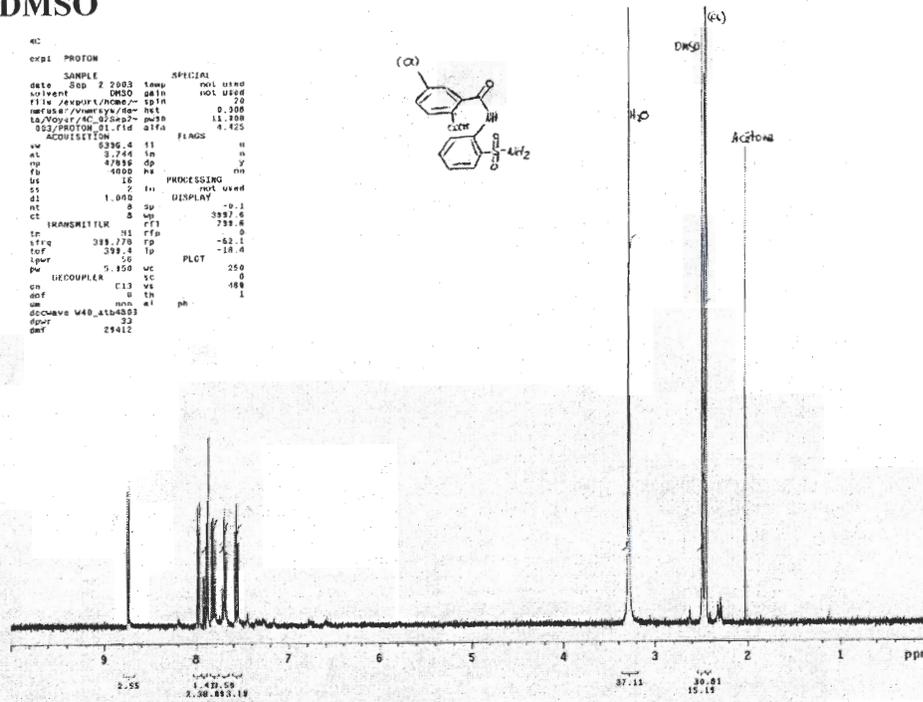
43, DMSO



48, DMSO

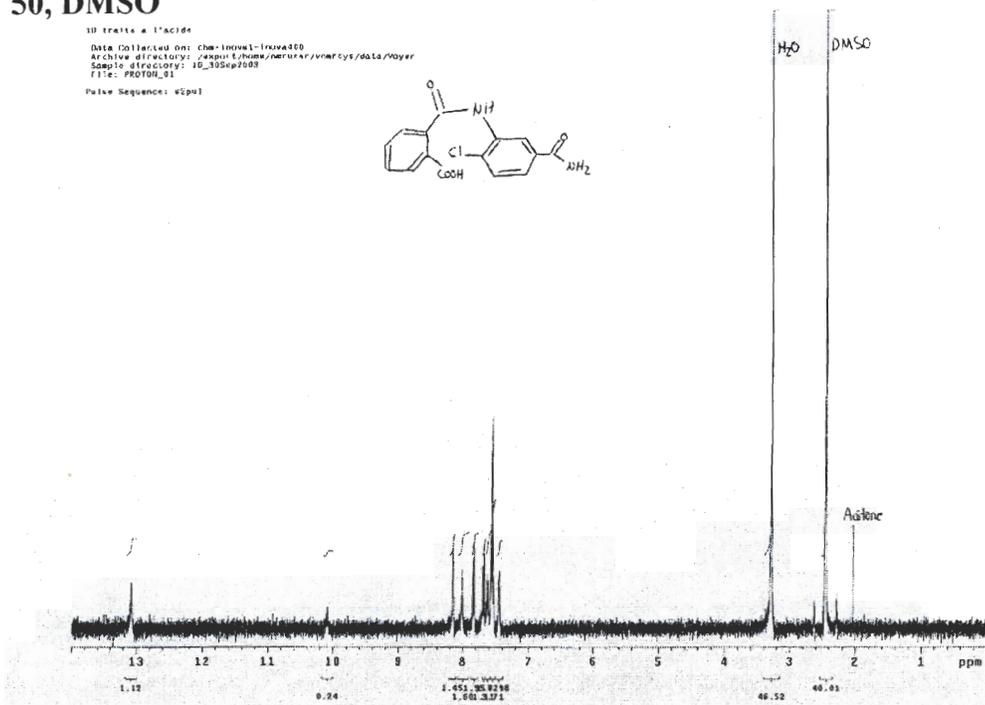
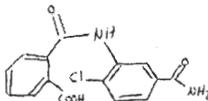


49, DMSO



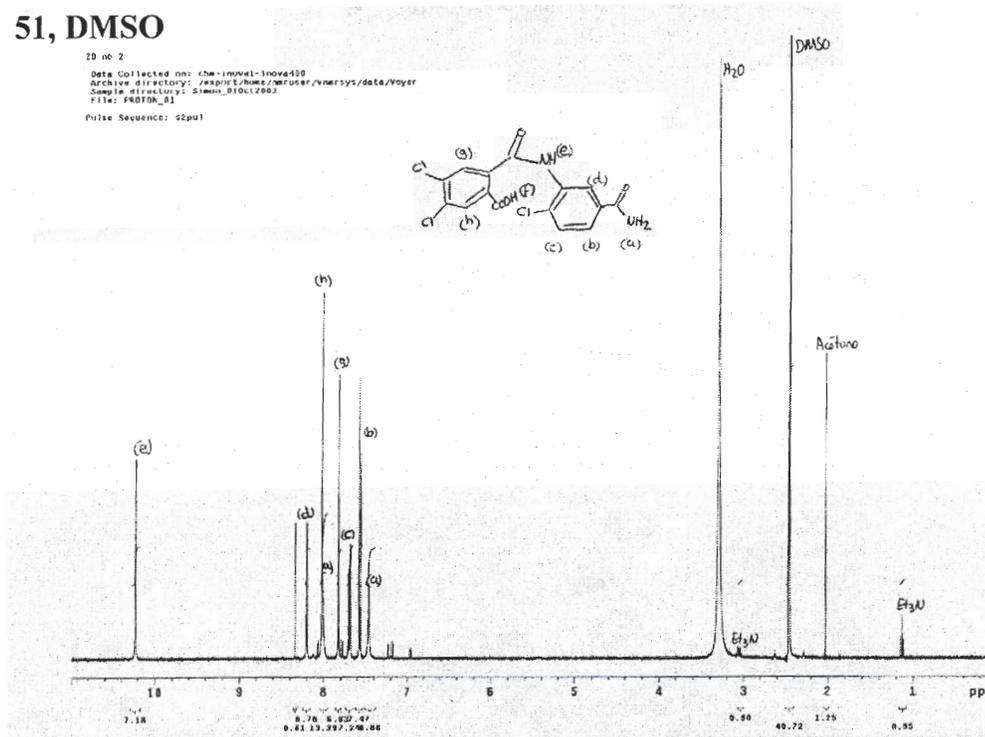
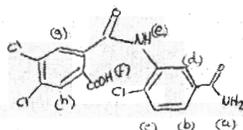
50, DMSO

101 tratta a l'acide
 Data Collected on: CHE-INNOV-1106450
 Archive directory: /export/home/meruser/vnmrsys/data/voyer
 Sample directory: 10_10Sep2009
 File: PROT09_01
 Pulse Sequence: s2pul



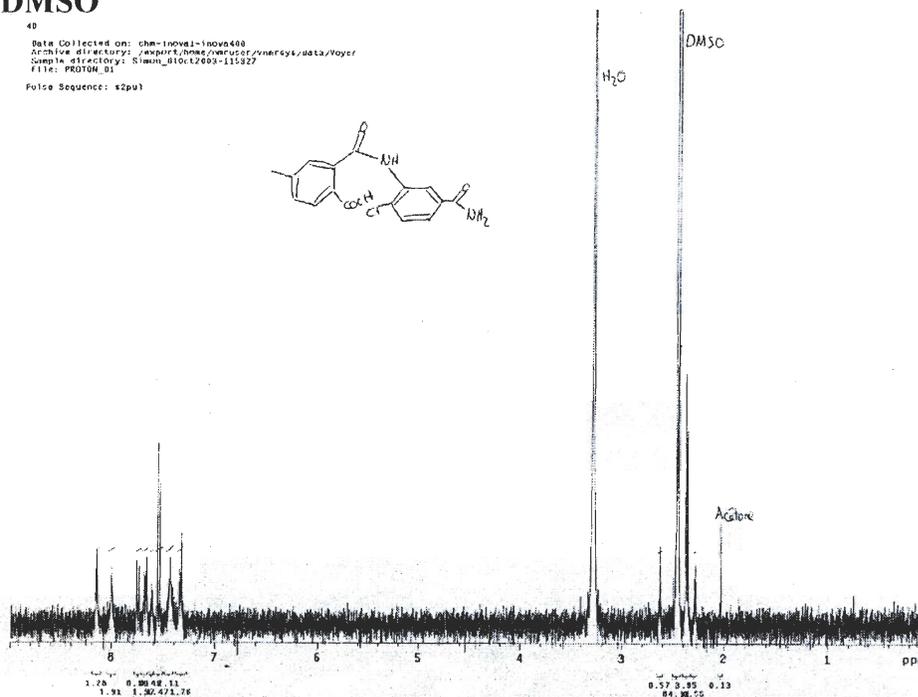
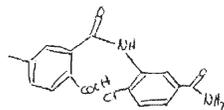
51, DMSO

20 no 2
 Data Collected on: CHE-INNOV-1106450
 Archive directory: /export/home/meruser/vnmrsys/data/voyer
 Sample directory: 01mar_01061100
 File: PROT09_01
 Pulse Sequence: s2pul



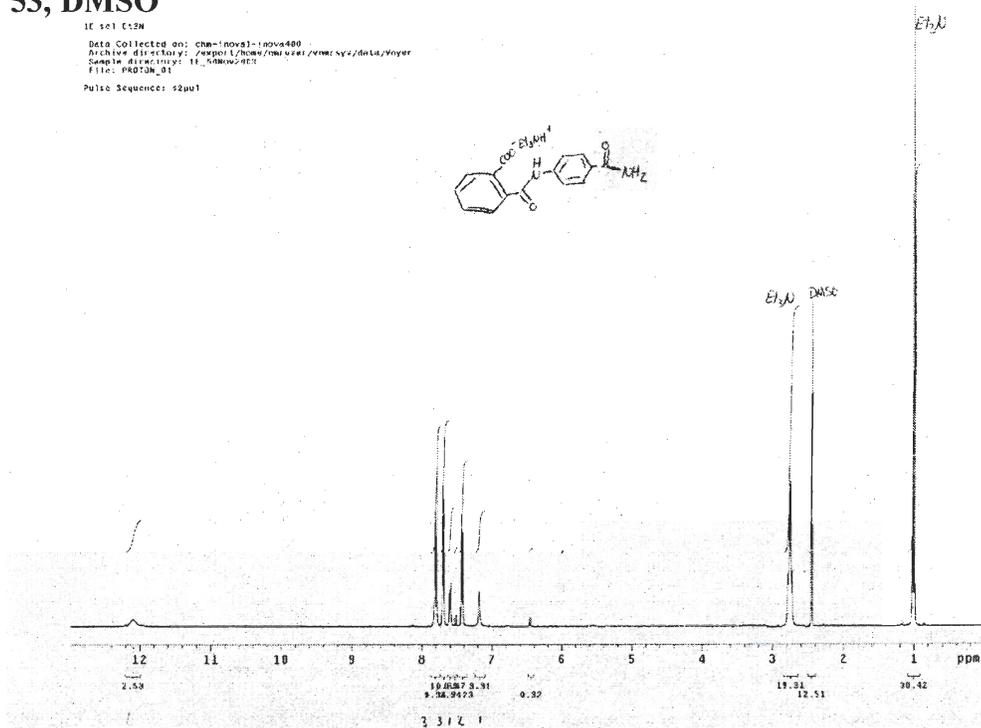
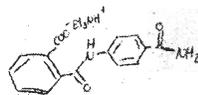
52, DMSO

40
 Data Collected on: chm-nova1-nova400
 Archive directory: /export/home/nmruser/nmr/sys/data/Voyager
 Sample directory: /Simon_01Oct2003-115327
 File: PROTON_01
 Pulse Sequence: s2pu1



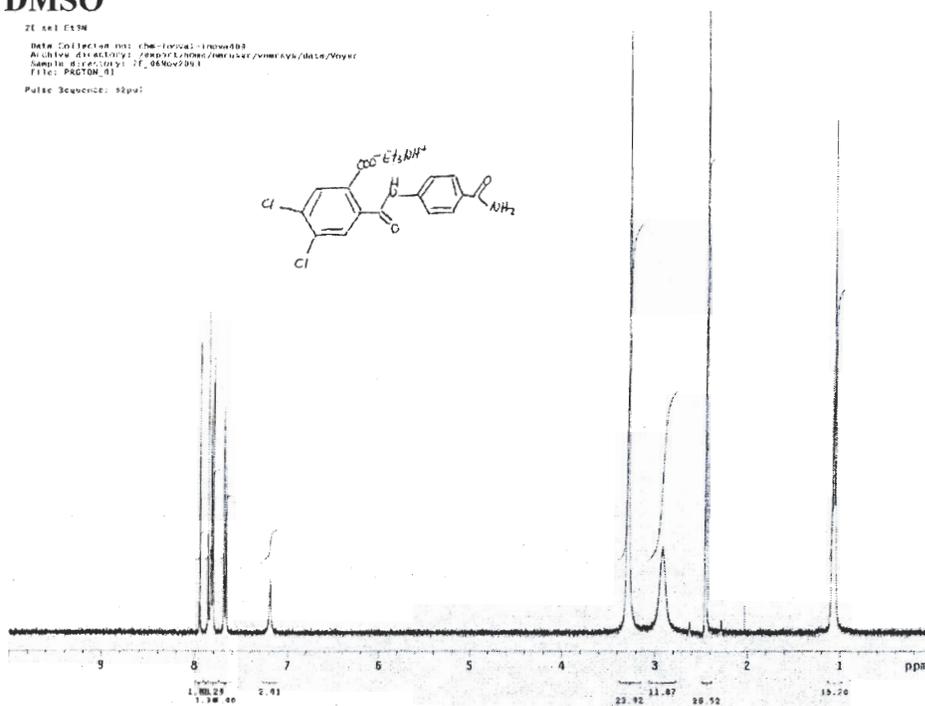
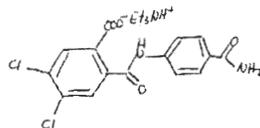
53, DMSO

10 sep 1:53M
 Data Collected on: chm-nova1-nova400
 Archive directory: /export/home/nmruser/nmr/sys/data/Voyager
 Sample directory: /11_09Nov2003
 File: PROTON_01
 Pulse Sequence: s2pu1



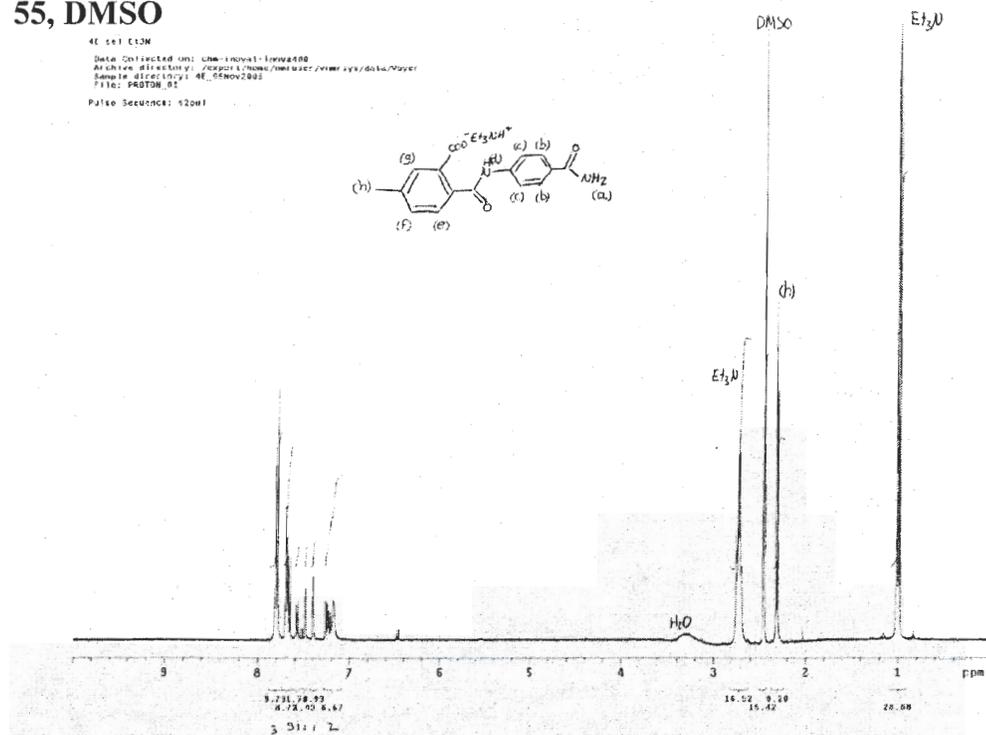
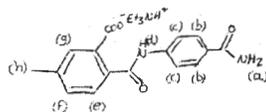
54, DMSO

2E 461 E43M
 Date Collected (m): 1996-11-04 11:00:00
 Archive directory: /p0001/chem/chemuser/vmr/sys/data/0707
 Sample directory: 4E_06Nov2004
 File: PACTON_01
 Pulse Sequence: zgpgw

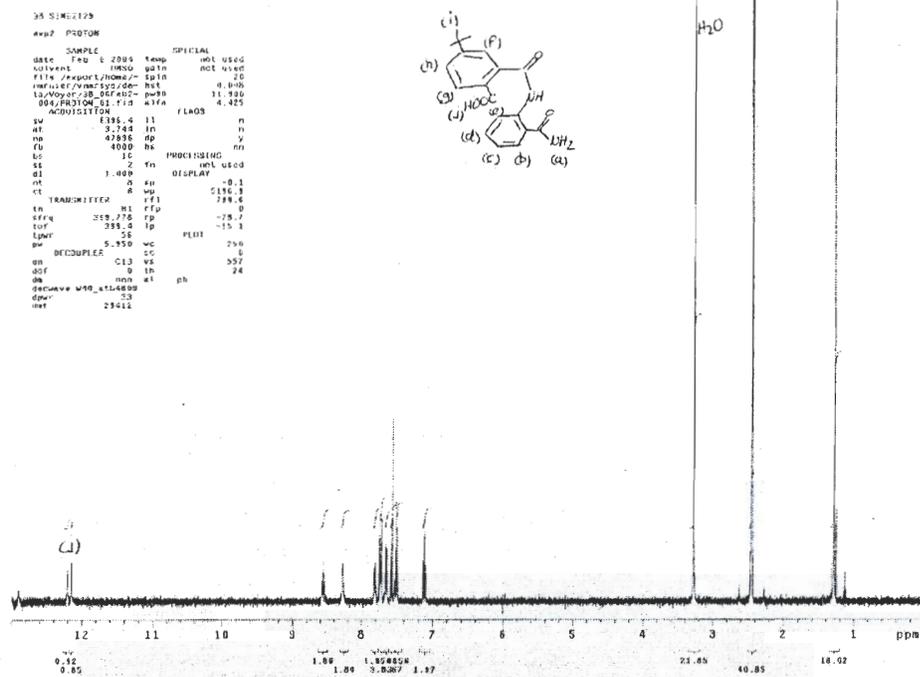


55, DMSO

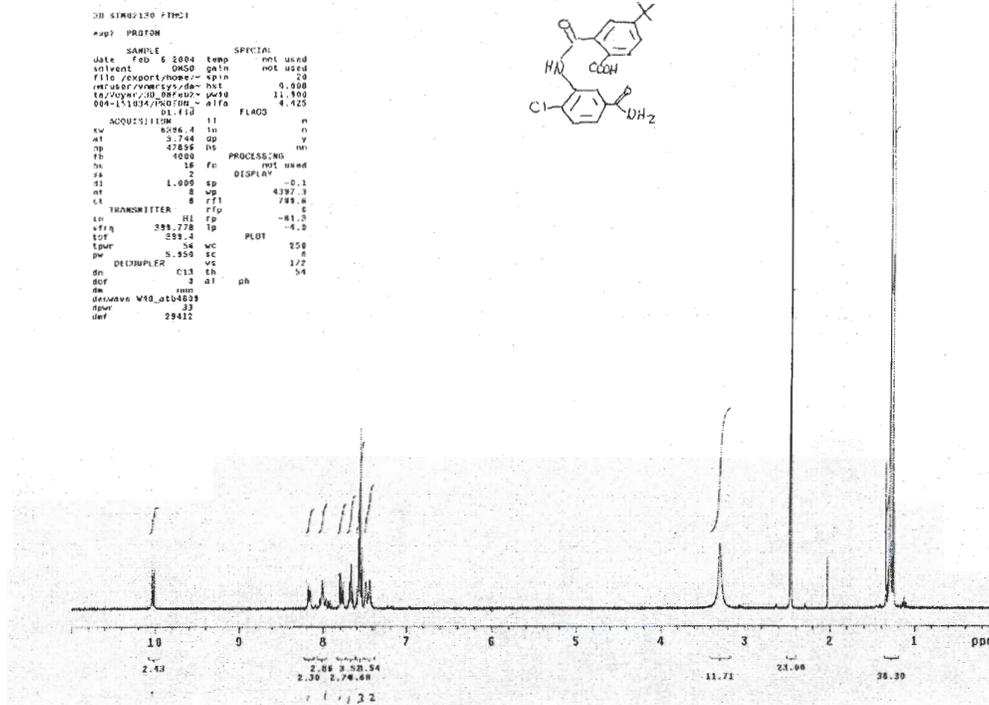
4E 561 E43M
 Date Collected (m): 1996-11-04 11:00:00
 Archive directory: /p0001/chem/chemuser/vmr/sys/data/0707
 Sample directory: 4E_06Nov2004
 File: PACTON_01
 Pulse Sequence: zgpgw



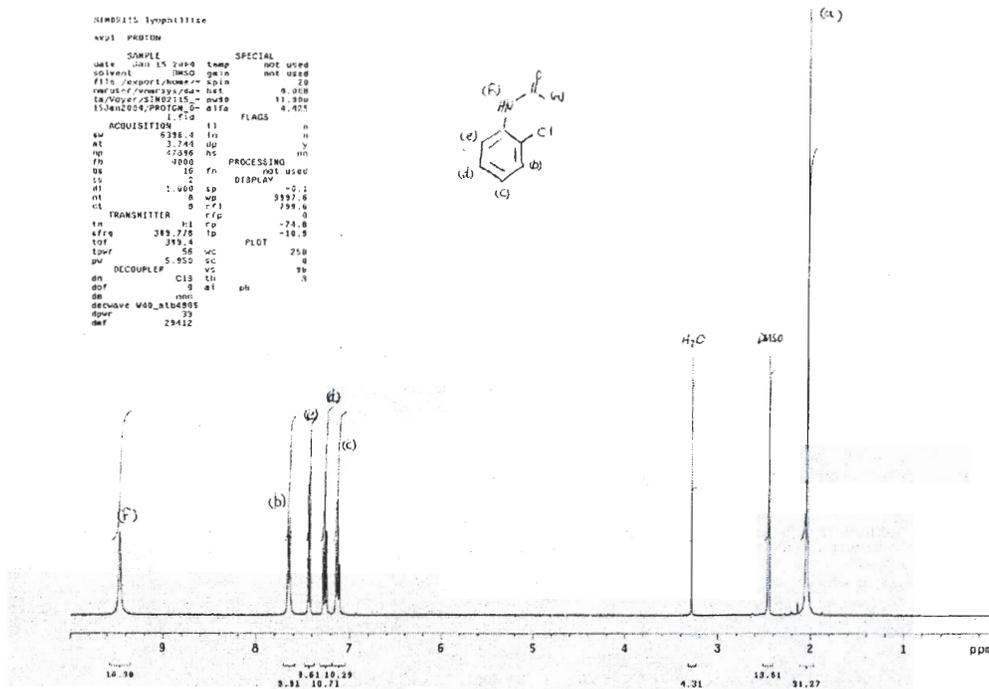
56, DMSO



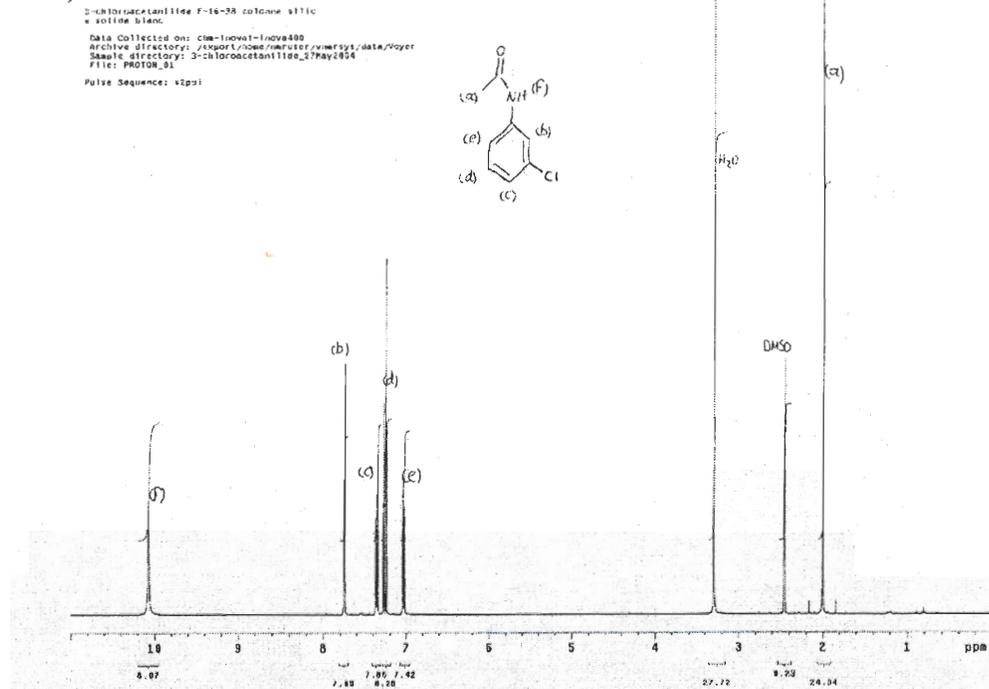
57, DMSO



67a, DMSO

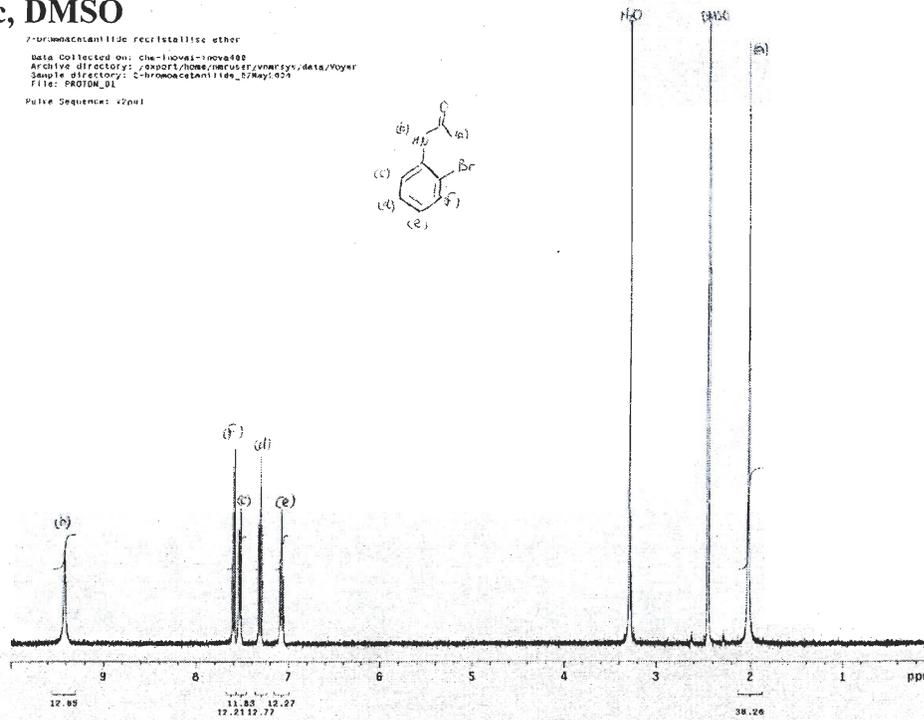
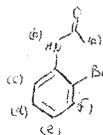


67b, DMSO



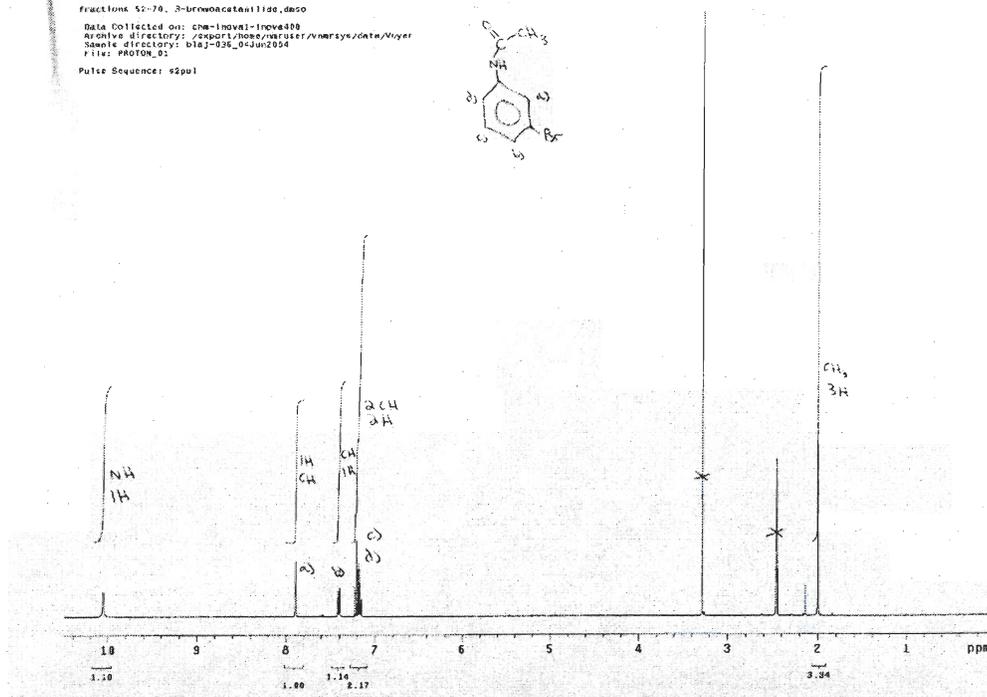
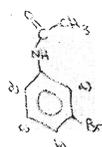
67c, DMSO

7-bromoacetanilide recrystallise ether
 Data Collected on: chemnova1-nova400
 Archive directory: /export/home/maruser/vnmrsvs/data/voyer
 Sample directory: C-bromoacetanilide_17/may/05
 File: PROTON_01
 Pulse Sequence: s2p01



67d, DMSO

Fractions 52-70, 3-bromoacetanilide, dms0
 Data Collected on: chemnova1-nova400
 Archive directory: /export/home/maruser/vnmrsvs/data/voyer
 Sample directory: 0182-026_05jun0504
 File: PROTON_01
 Pulse Sequence: s2p01



67e, DMSO

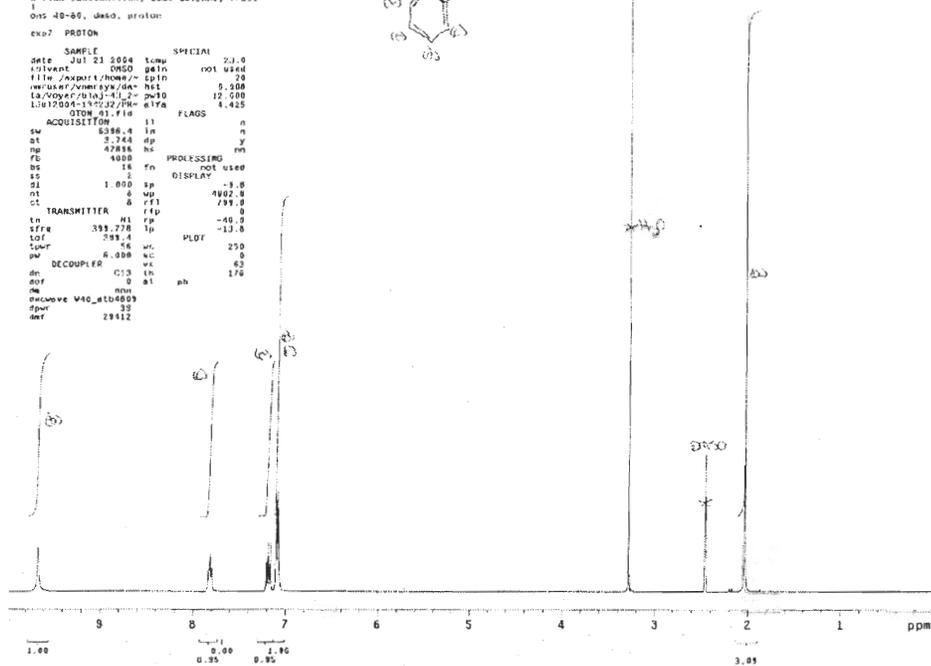
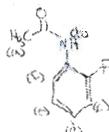
3-fluoroacetanilide, 1mm colimn, fract
1
Ost 40-85, usso, proton

exo7 PROTON

SAMPLE SPECIAL
date Jul 21 2004 comp 23.0
c11eact DMSO gain rot 1464
file /export/home/~ spin 20
reuser/owner/ps/da/ hel 1.000
ls/owner/ps/da/ l1_2_2e10 12.000
ls/12004-147232/ps/ a17a 4.425

OTOM 01 file FLAGS 4.425

ACQUISITION 13 n
sw 5386.4 kh n
at 3.744 dp y
mg 47884 hk n
FE 4000 PROCESSING mh
ds 16 fn not used
ss 2 DISPLAY
SI 1.000 sp -9.8
SI 4 sp 4902.8
ct TRANSMITTER & rff 799.0
rf 0
tn M1 rp -40.0
effe 393.778 tp -13.0
LoF 293.4 PLDF
Lpwr 16
pwr 6.000 wc 250
DECOUPLER C13 wc 0
dn 0.1m ph 62
dof 0 at ph 170
me
pqcwve W40_010509
spin 30
det 28412

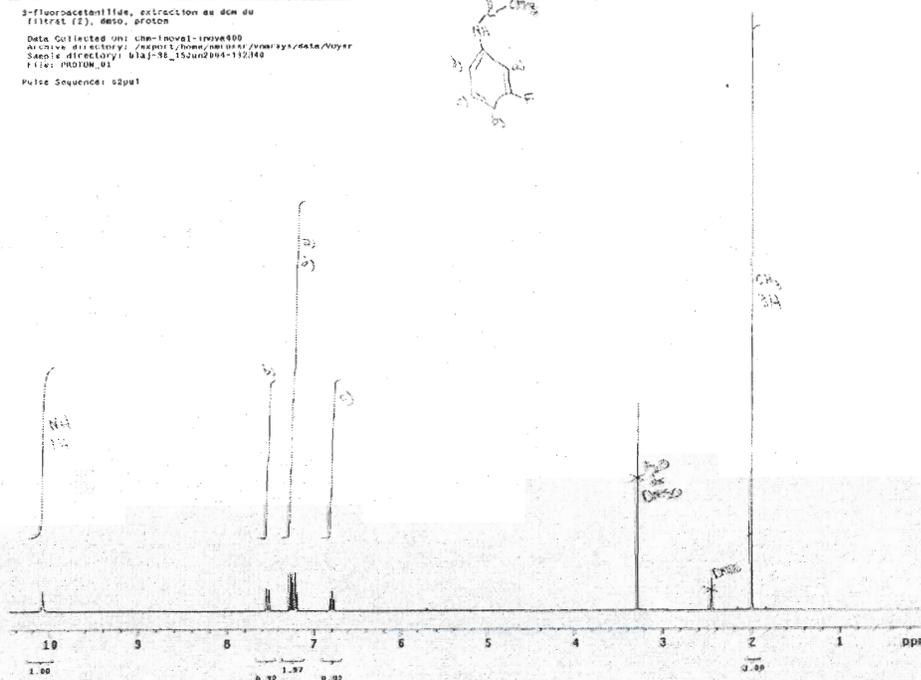


67f, DMSO

3-fluoroacetanilide, extraction au dm du
filtrat (2), dms0, proton

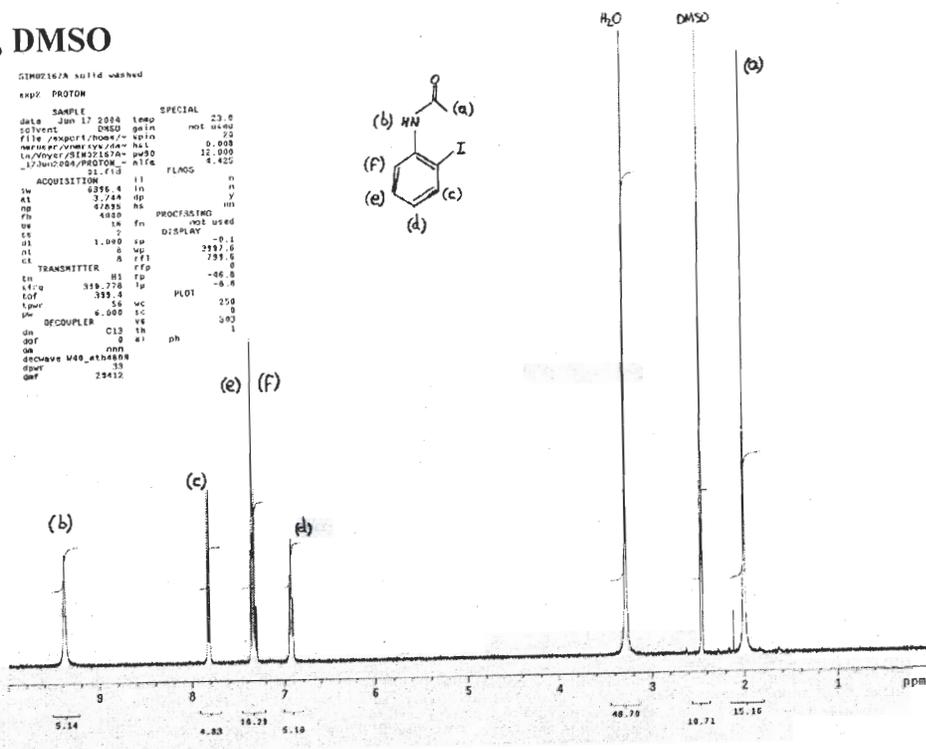
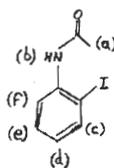
Data Collected on: che-novel-imv400
Archive directory: /export/home/00104/ps/ps/ps/data/ps/ps
Sample directory: ls/12004-147232/ps/112/140
File: PROTON_01

Pulse Sequence: g2p1



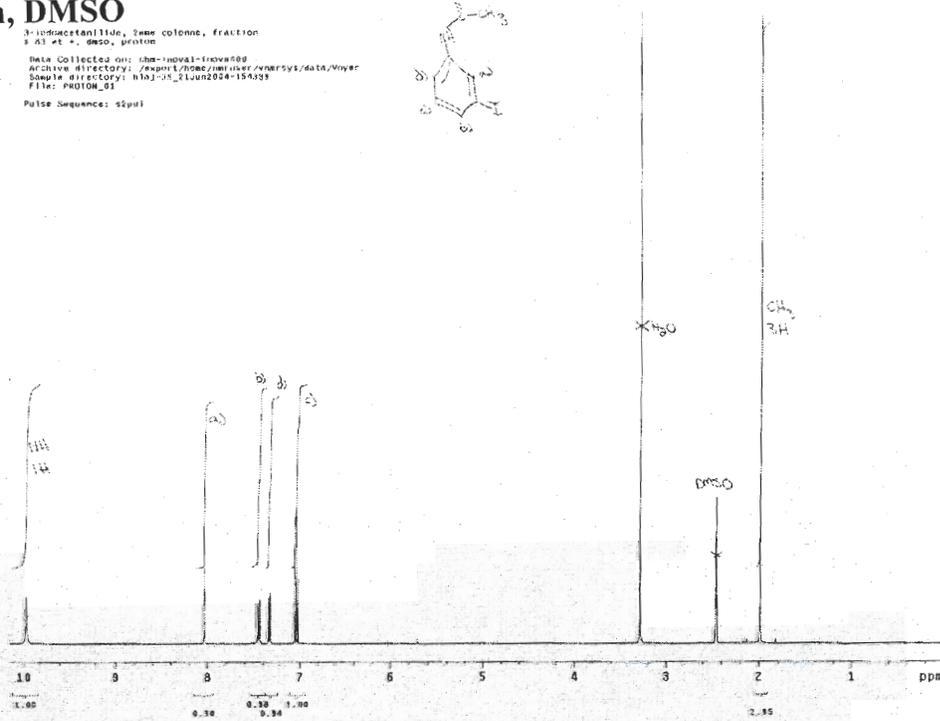
67g, DMSO

SIM02167A solid washed
 exp: PROTON
 SAMPLE
 date Jan 12 2008 10:00 SPECIAL 23.0
 solvent DMSO gain not used
 file /export/roes/vp/mercer/vmexsys/data/67g
 ln/vmex/20080112/67g-01.p00 12.000
 -12-hmc-009/PROTON - n1ca 4.420

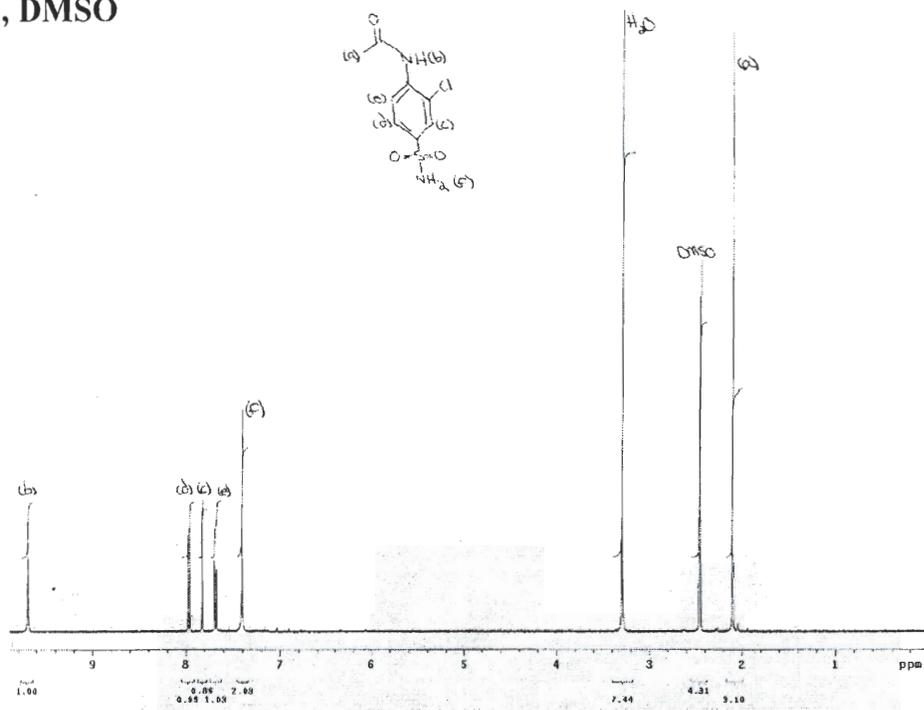


67h, DMSO

3-iodoacetanilide, Sem column, fraction
 1 A1 at +. DMSO, proton
 Data Collected on: lha-impal-ironv00
 Archive directory: /export/roes/vmexsys/data/vmex/67h
 Sample directory: hha3-on_51and024-15033
 File: PROTON_01
 Pulse Sequence: zgpg30



69a, DMSO

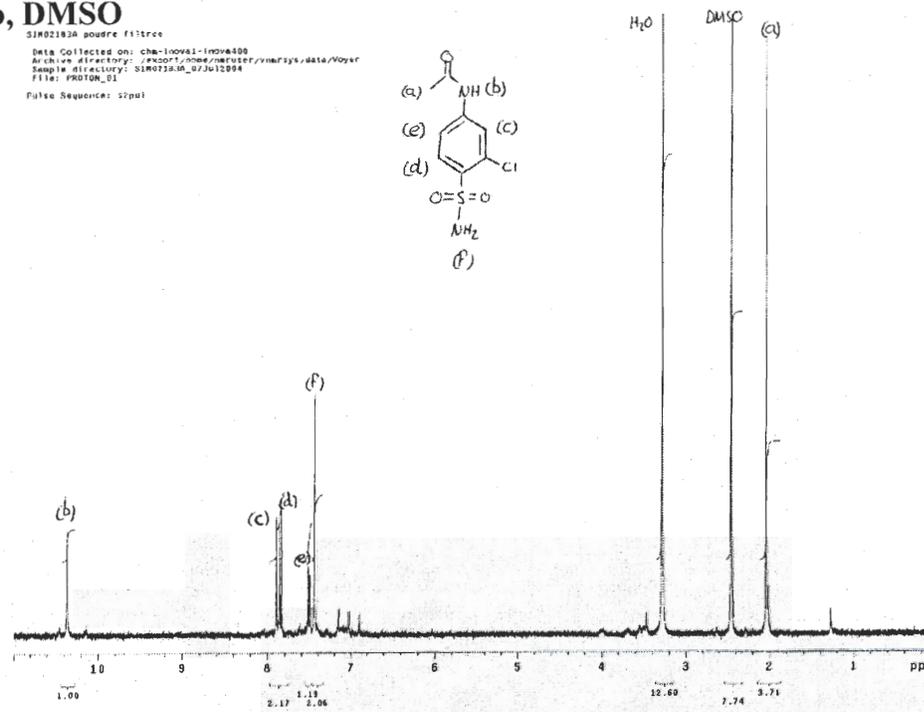


69b, DMSO

SIM02183a poudre filtrée

Data Collected on: cha-100v41-10v4100
 Archive directory: j:\export\ome\mofuser\mofsys\data\0v41
 Sample directory: SIM02183a_073012094
 File: PROTON_01

Pulse Sequence: zgpg30



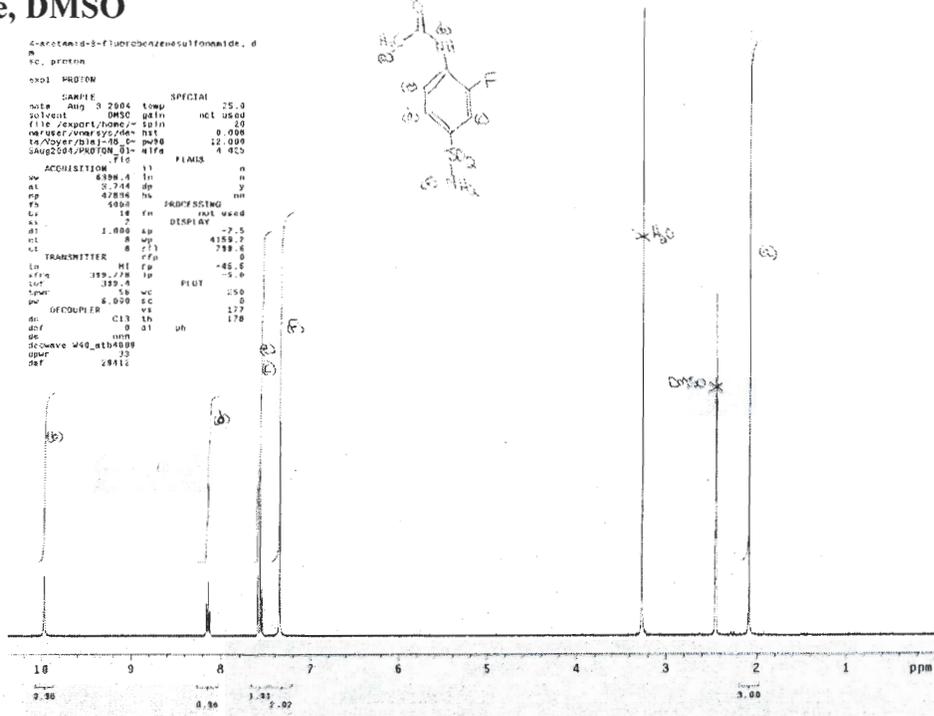
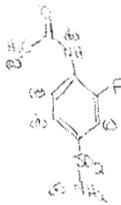
69e, DMSO

4-acetamid-3-fluorobenzoesulfonamide
 M. proton

001 PR070M

DATE 3 2904 TIME 25.3
 SOLVENT DMSO 901m NCL US04
 FILE /export/home/.../...
 NAME /vms/cyz/...
 TA /vms/cyz/...
 SUGGESTION/DIAGNOSTIC

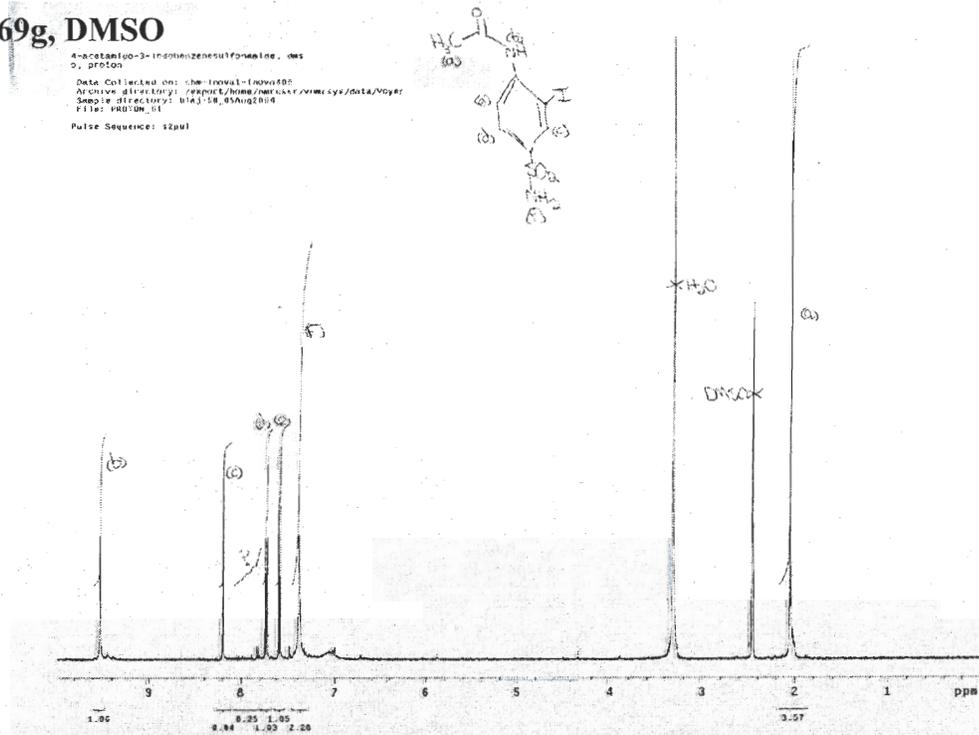
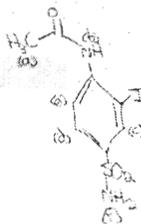
ACQUISITION F10 FILMS n
 SW 8398.4 1n n
 AL 3.744 3p 3
 RP 47894 96 nm
 FS 5000 3KHZ/SCANNING
 LS 14 1m 1ml weed
 AL 1.000 4p DISPLAY -7.5
 NL 8 4p 4359.7
 CL 8 713 739.6
 TRANSMITTER M1 1p 45.5
 FREQ 319.738 1p 5.0
 TUNER 18 1p 250
 PW 8.000 5C 0
 DECOUPLER 14 1p 177
 DC C13 1h 178
 DEF 0 01 1h
 GC 1mm
 SLOWAVE W40_atb4000
 UPPER 33
 DEF 28412



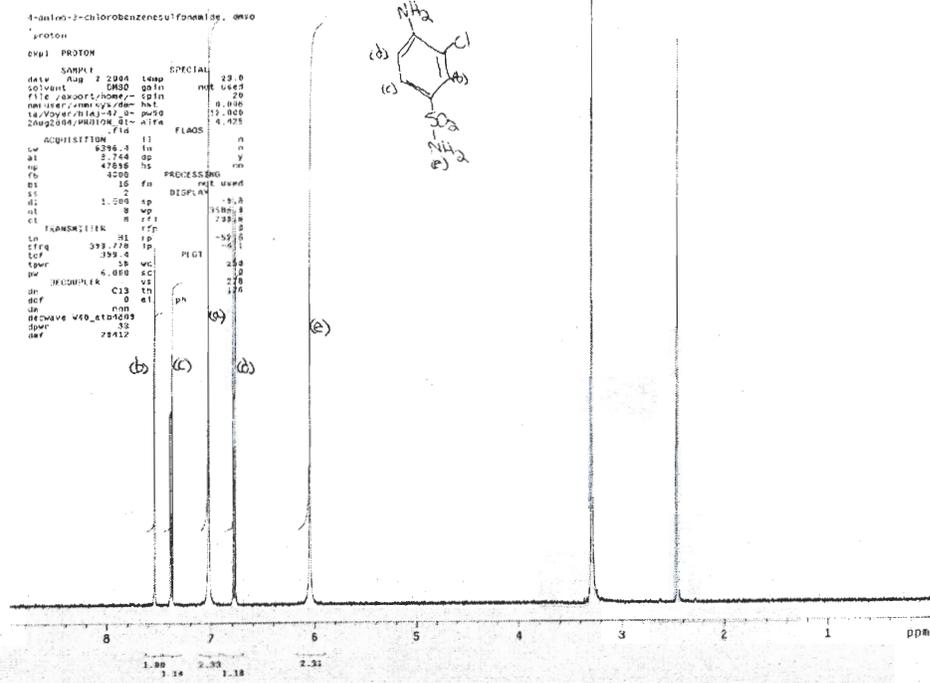
69g, DMSO

4-acetamid-3-iodobenzoesulfonamide
 D. proton

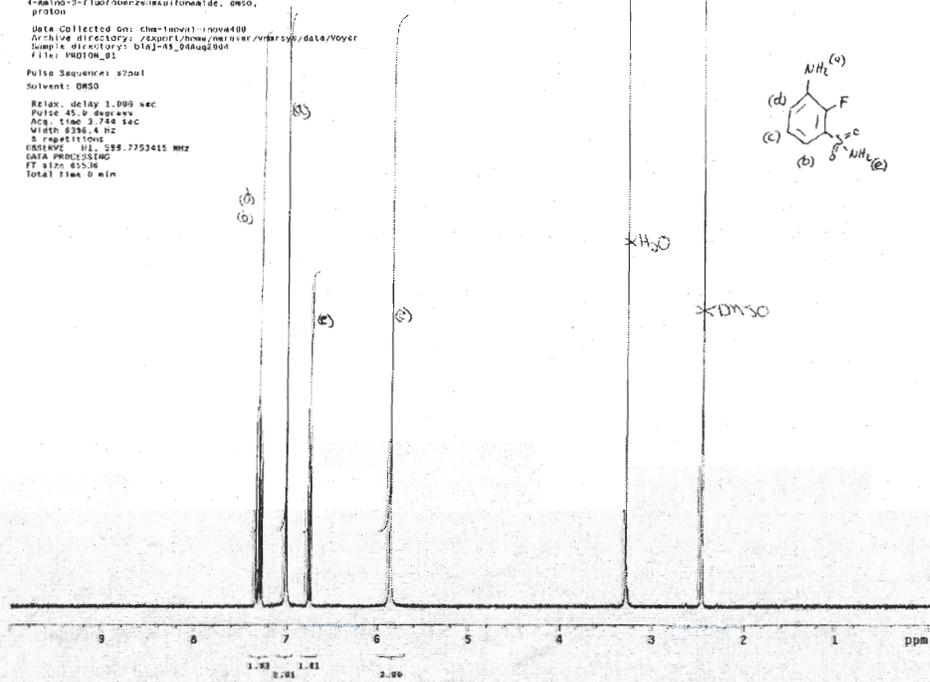
Date Collected on: 08-10-03-10:00:00
 Archive directory: /export/home/nmr/cacz/vms/cyz/data/Voyer
 Sample directory: bin3-50_03Aug2004
 File: PR070M_01
 Pulse Sequence: 12pml



70a, DMSO

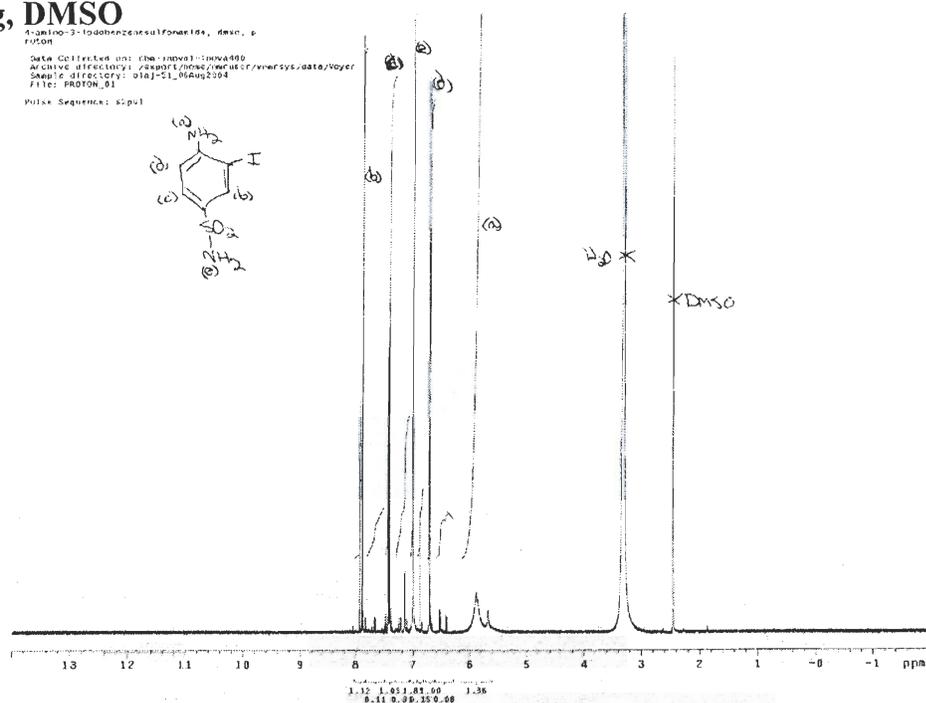
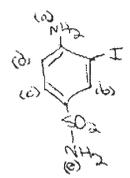


70e, DMSO



70g, DMSO

4-amino-3-iodobenzenesulfonamide, dms, 6
 r0508
 Date Collected on: Thu Jun 03 11:00:48
 Acquire directory: /export/home/ruw/ruw/sys/data/voyer
 Sample directory: 01g-21_06Aug2004
 File: PROTON_01
 Pulse Sequence: zgpg1

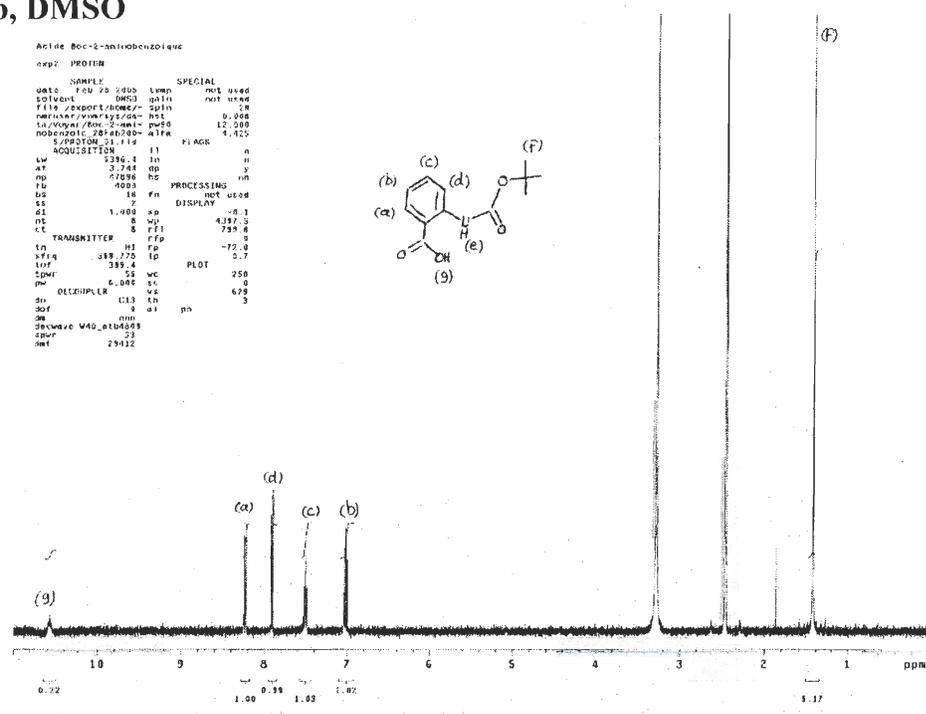
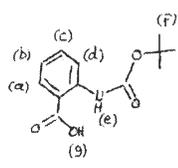


74b, DMSO

Acide Boc-L-tyrosine

exp2: PROTON

NAME	UNIT	SPECIAL
DATE	F04 25 2005	WSP not used
SOLVENT	DMSO	spin not used
FILE	/export/home/ruw/ruw/sys/data/voyer	
METHOD	zgpg1	spin
NUC1	13C	0.068
NUC2	1H	12.000
PROBHD	5mm QNP 1H/13C	4.425
PROCNO	1	
EXPNO	1	
F2	100.626	MHz
F1	400.146	MHz
DELTA	1.900	sec
TE	300.2	K
NUC1PROB	13C	
NUC2PROB	1H	
DELTA2	0.000	sec
DELTA3	0.000	sec
DELTA4	0.000	sec
DELTA5	0.000	sec
DELTA6	0.000	sec
DELTA7	0.000	sec
DELTA8	0.000	sec
DELTA9	0.000	sec
DELTA10	0.000	sec
DELTA11	0.000	sec
DELTA12	0.000	sec
DELTA13	0.000	sec
DELTA14	0.000	sec
DELTA15	0.000	sec
DELTA16	0.000	sec
DELTA17	0.000	sec
DELTA18	0.000	sec
DELTA19	0.000	sec
DELTA20	0.000	sec
DELTA21	0.000	sec
DELTA22	0.000	sec
DELTA23	0.000	sec
DELTA24	0.000	sec
DELTA25	0.000	sec
DELTA26	0.000	sec
DELTA27	0.000	sec
DELTA28	0.000	sec
DELTA29	0.000	sec
DELTA30	0.000	sec
DELTA31	0.000	sec
DELTA32	0.000	sec
DELTA33	0.000	sec
DELTA34	0.000	sec
DELTA35	0.000	sec
DELTA36	0.000	sec
DELTA37	0.000	sec
DELTA38	0.000	sec
DELTA39	0.000	sec
DELTA40	0.000	sec
DELTA41	0.000	sec
DELTA42	0.000	sec
DELTA43	0.000	sec
DELTA44	0.000	sec
DELTA45	0.000	sec
DELTA46	0.000	sec
DELTA47	0.000	sec
DELTA48	0.000	sec
DELTA49	0.000	sec
DELTA50	0.000	sec
DELTA51	0.000	sec
DELTA52	0.000	sec
DELTA53	0.000	sec
DELTA54	0.000	sec
DELTA55	0.000	sec
DELTA56	0.000	sec
DELTA57	0.000	sec
DELTA58	0.000	sec
DELTA59	0.000	sec
DELTA60	0.000	sec
DELTA61	0.000	sec
DELTA62	0.000	sec
DELTA63	0.000	sec
DELTA64	0.000	sec
DELTA65	0.000	sec
DELTA66	0.000	sec
DELTA67	0.000	sec
DELTA68	0.000	sec
DELTA69	0.000	sec
DELTA70	0.000	sec
DELTA71	0.000	sec
DELTA72	0.000	sec
DELTA73	0.000	sec
DELTA74	0.000	sec
DELTA75	0.000	sec
DELTA76	0.000	sec
DELTA77	0.000	sec
DELTA78	0.000	sec
DELTA79	0.000	sec
DELTA80	0.000	sec
DELTA81	0.000	sec
DELTA82	0.000	sec
DELTA83	0.000	sec
DELTA84	0.000	sec
DELTA85	0.000	sec
DELTA86	0.000	sec
DELTA87	0.000	sec
DELTA88	0.000	sec
DELTA89	0.000	sec
DELTA90	0.000	sec
DELTA91	0.000	sec
DELTA92	0.000	sec
DELTA93	0.000	sec
DELTA94	0.000	sec
DELTA95	0.000	sec
DELTA96	0.000	sec
DELTA97	0.000	sec
DELTA98	0.000	sec
DELTA99	0.000	sec
DELTA100	0.000	sec

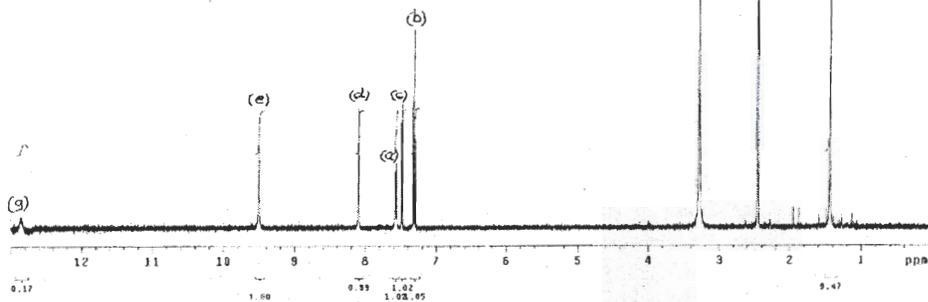
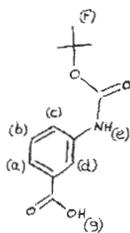


75b, DMSO

```

AC164 Boc-3-aminobenzoic
exp2 PROTON
SAMPLE
date Feb 28 2005 time 1:40:00 SPECIAL
solvent DMSO gain not used
file /export/home/epin not used
nu1user/nu1user/da- not
La/Mayer/Boc-3-amin- pu88 12.000
nu2user/nu2user/da- not
nu2user/nu2user/da- not
nu2user/nu2user/da- not
S:PROTON 11.716 FLAGS 4.425
ACQUISITION
sv 6396.4 in n
at 3.744 da y
rg 47856 hs PROCESSING
fb 4000 fr not used
sk 2 DISPLAY
sl 1.000 sp -0.1
nl 0 wp 3897.5
cl 0 rfp 799.5
tr TRANSMITTER 0 rfp 0
s/rq 339.776 tp -73.2
tof 399.4 PLOT 0
tpwr 4.000 wc 25.0
pw 4.000 vc 0
decoupler C13 ls 37.4
di 0 at ph 1
dof 0
de wave M40_A104503
dpr /
dat 25412

```

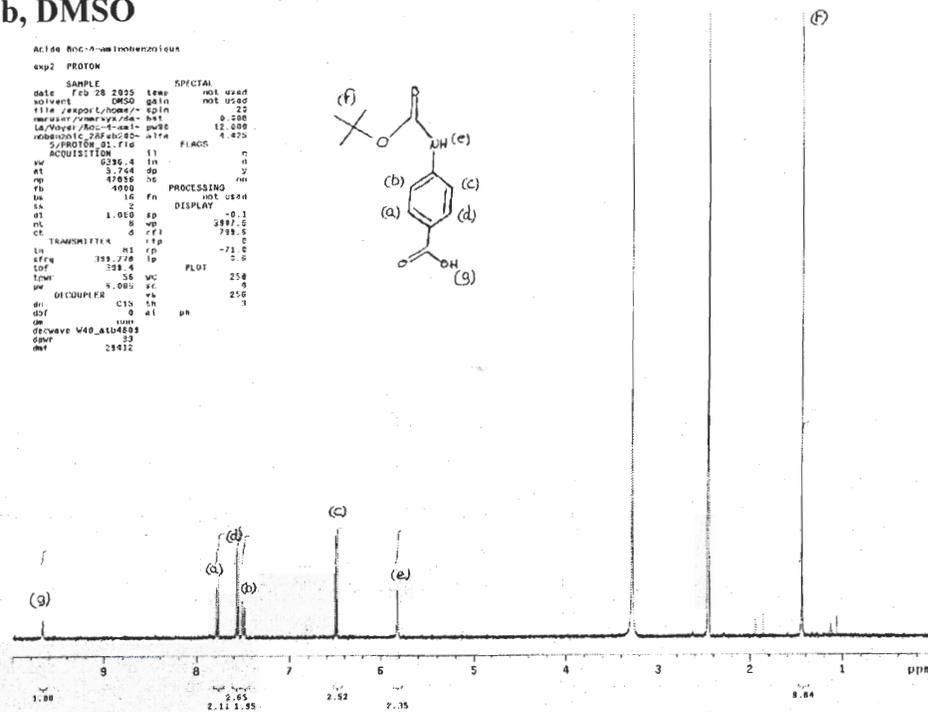
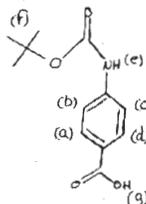


76b, DMSO

```

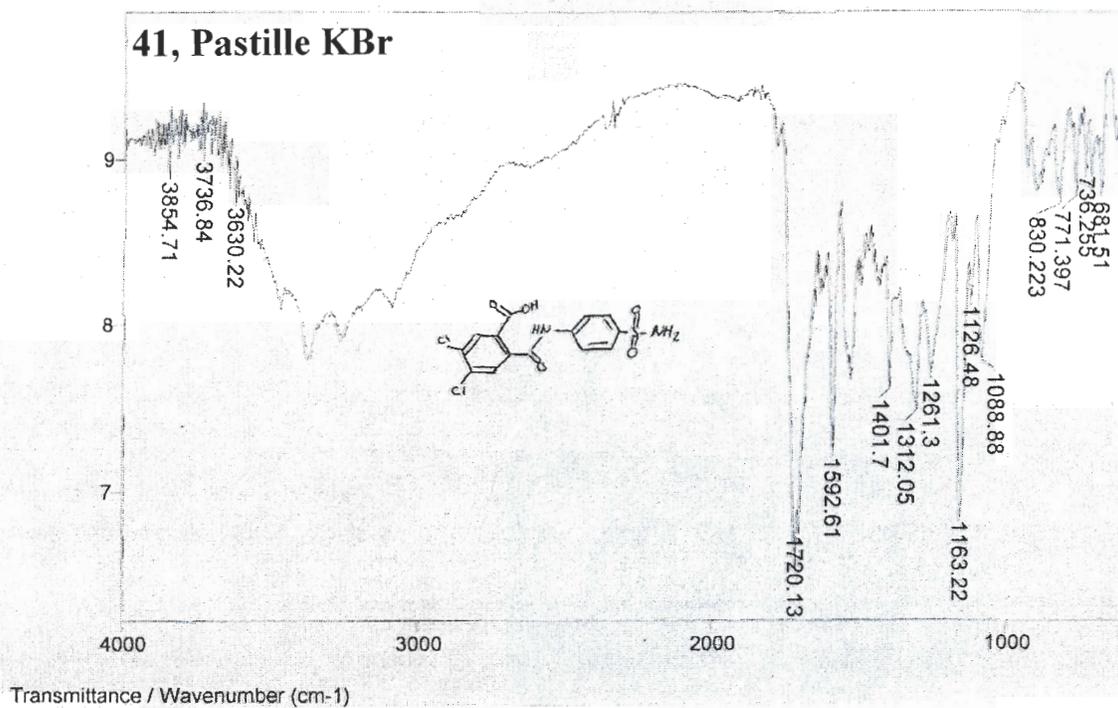
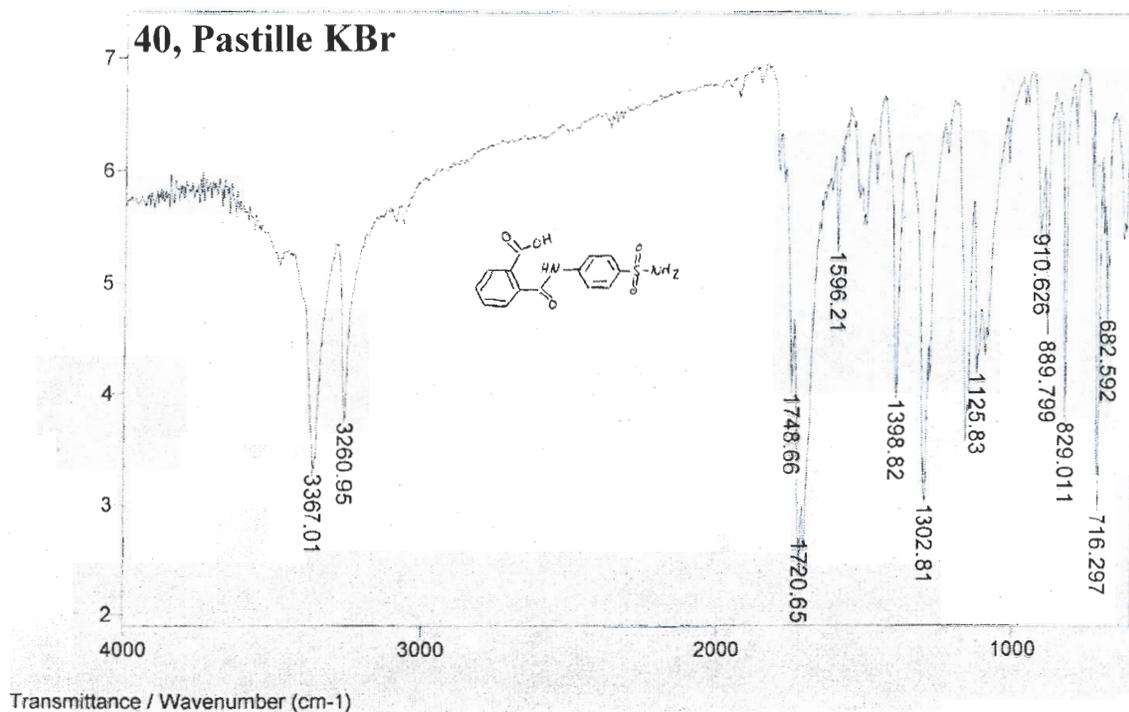
AC164 Boc-3-aminobenzoic
exp2 PROTON
SAMPLE
date Feb 28 2005 time 1:40:00 SPECIAL
solvent DMSO gain not used
file /export/home/epin not used
nu1user/nu1user/da- not
La/Mayer/Boc-3-amin- pu88 12.000
nu2user/nu2user/da- not
nu2user/nu2user/da- not
nu2user/nu2user/da- not
S:PROTON 11.716 FLAGS 4.425
ACQUISITION
sv 6396.4 in n
at 3.744 da y
rg 47856 hs PROCESSING
fb 4000 fr not used
sk 2 DISPLAY
sl 1.000 sp -0.1
nl 0 wp 3897.5
cl 0 rfp 799.5
tr TRANSMITTER 0 rfp 0
s/rq 339.776 tp -73.2
tof 399.4 PLOT 0
tpwr 4.000 wc 25.0
pw 4.000 vc 0
decoupler C13 ls 37.4
di 0 at ph 1
dof 0
de wave M40_A104503
dpr /
dat 25412

```

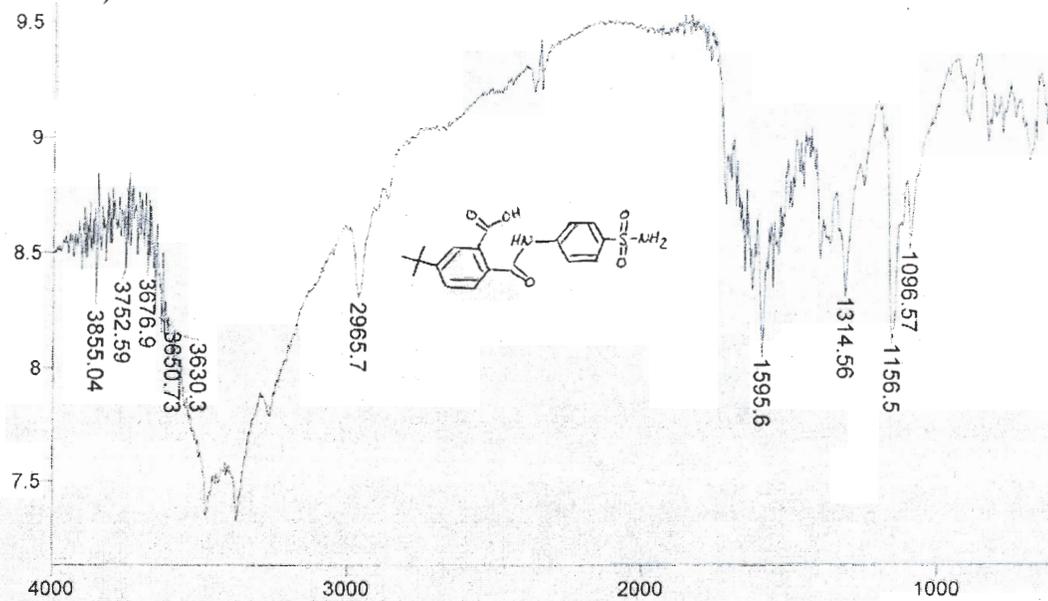


ANNEXE 2

SPECTRES IR

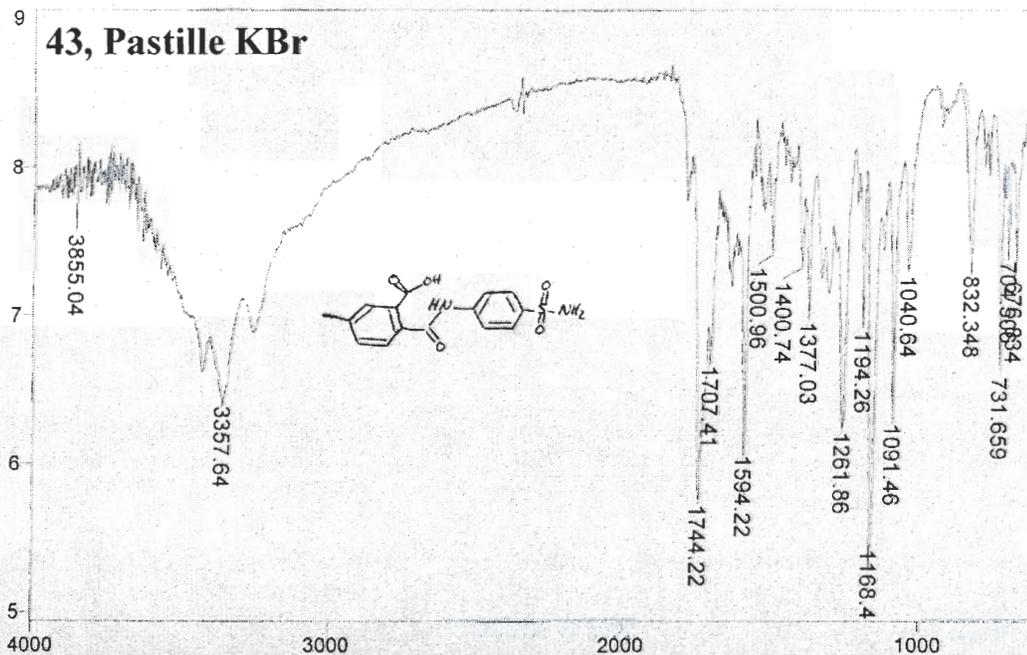


42, Pastille KBr

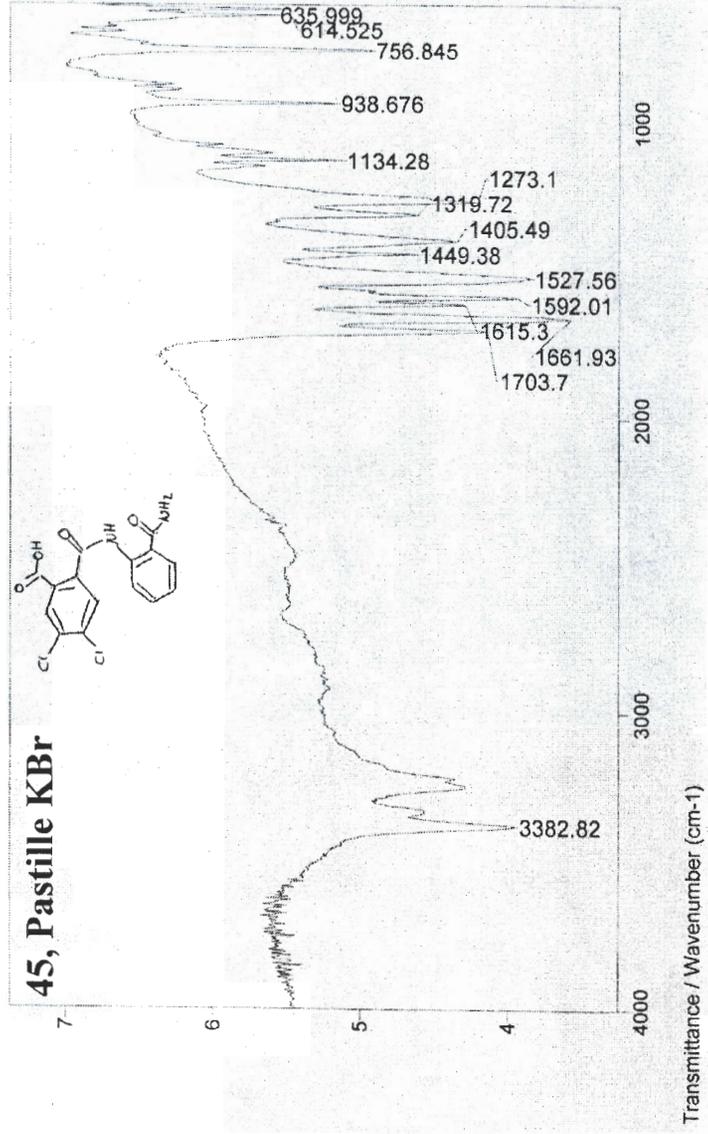
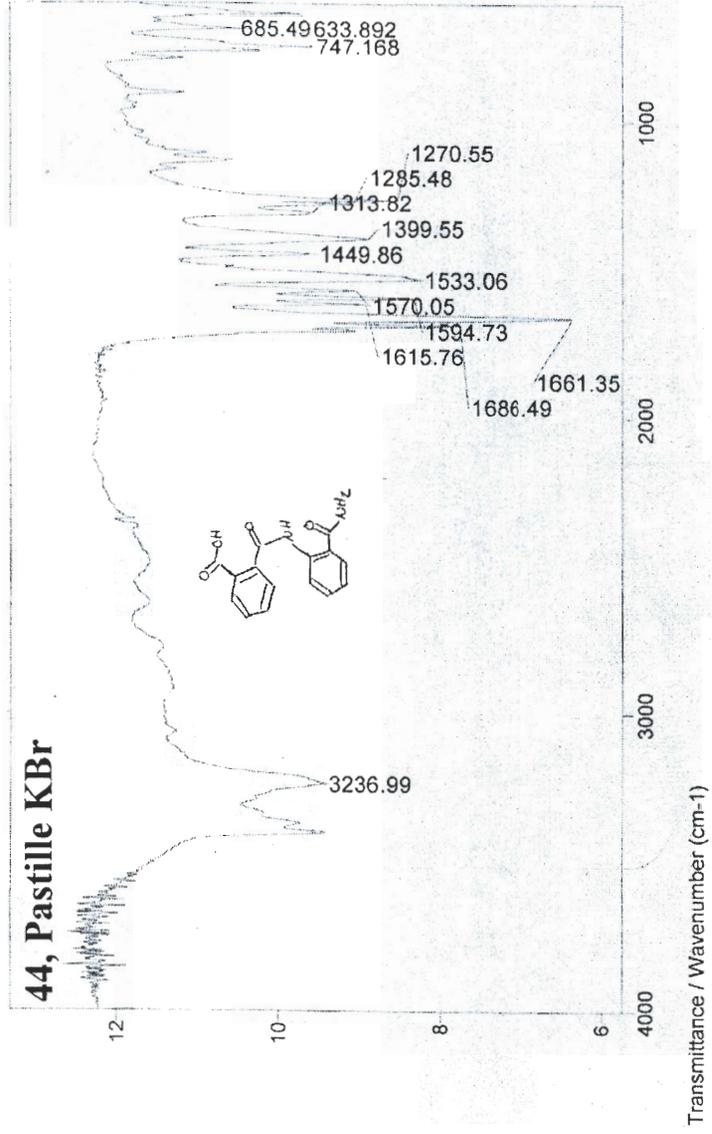


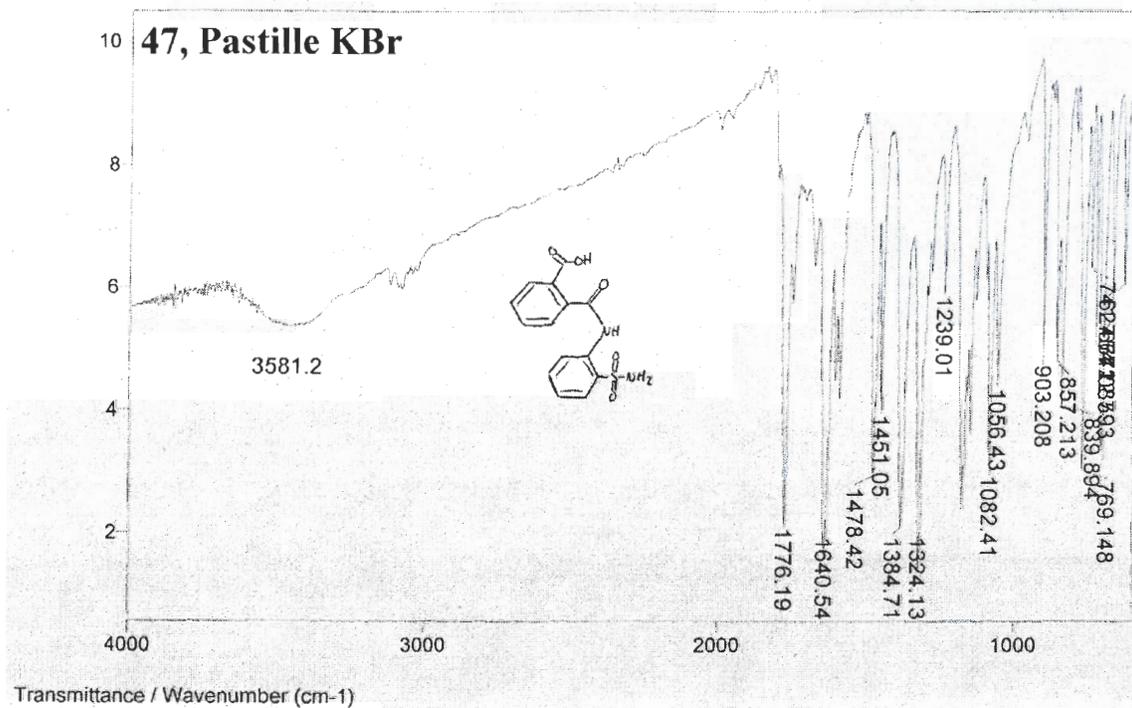
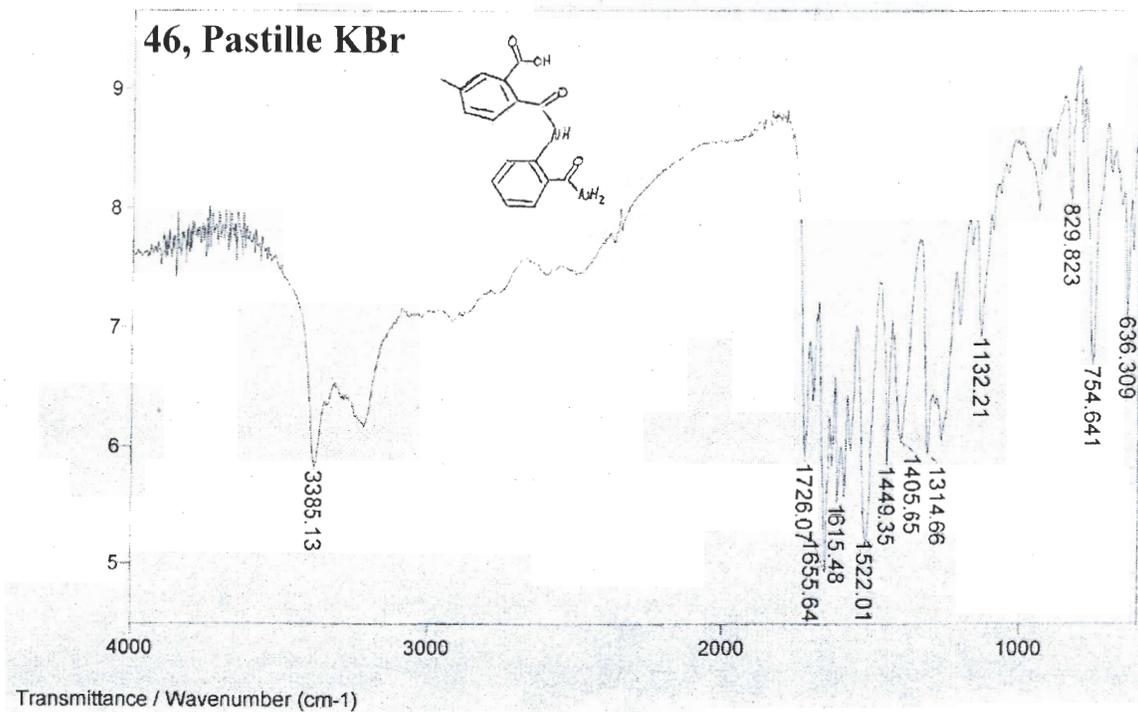
Transmittance / Wavenumber (cm-1)

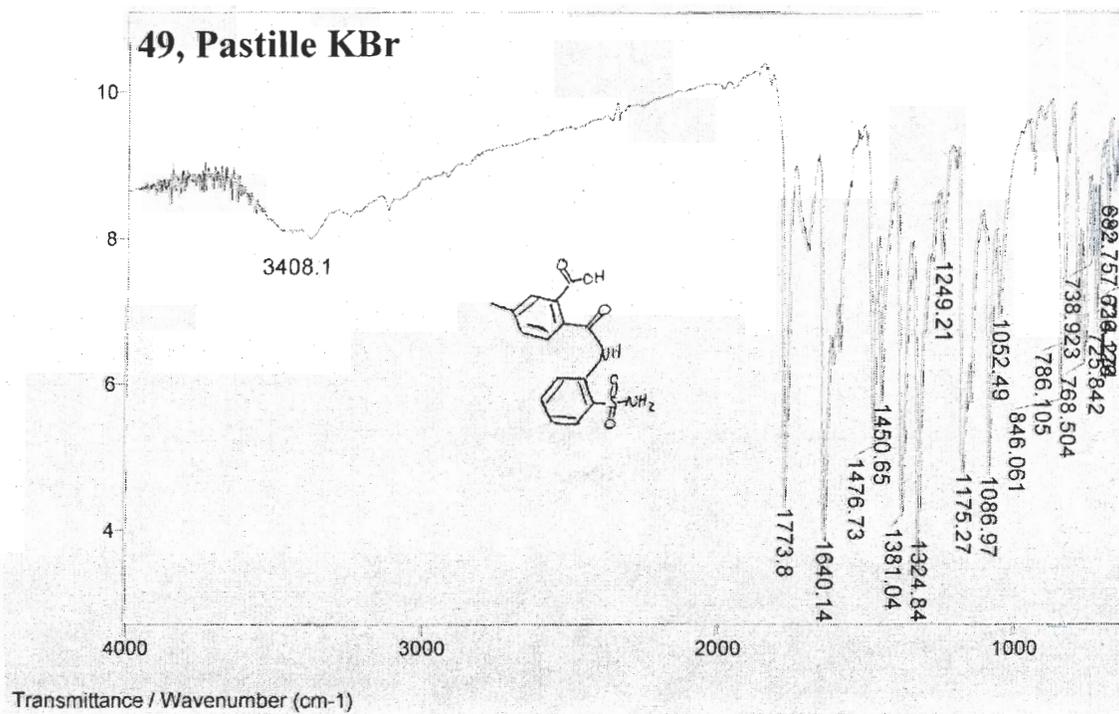
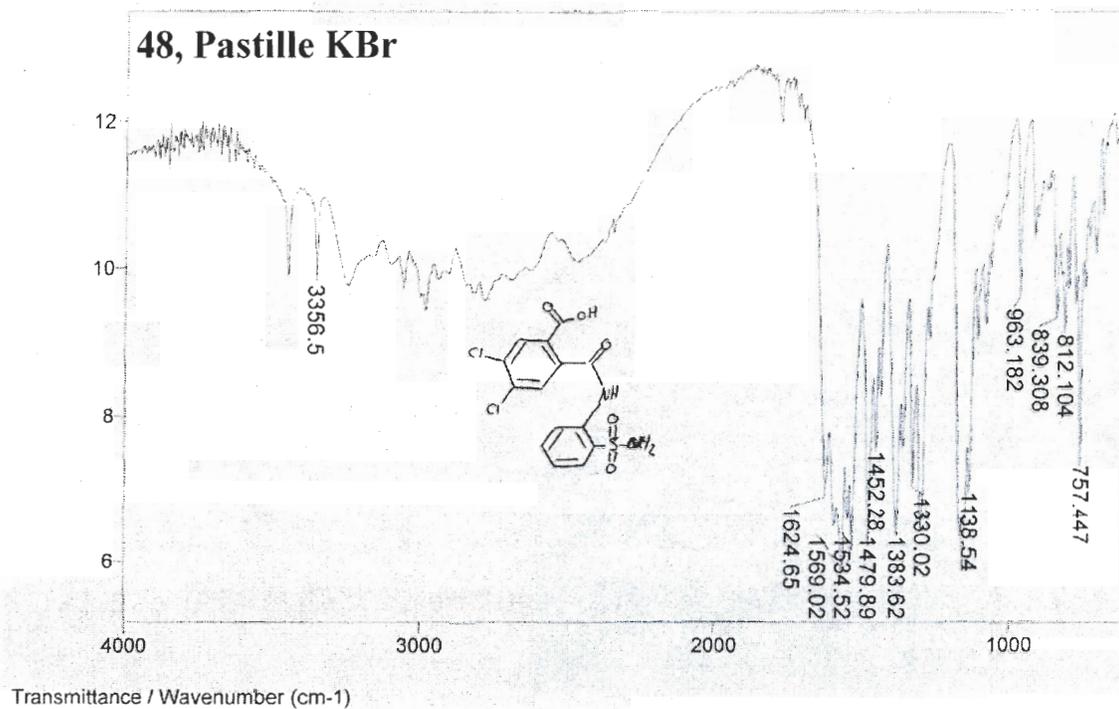
43, Pastille KBr

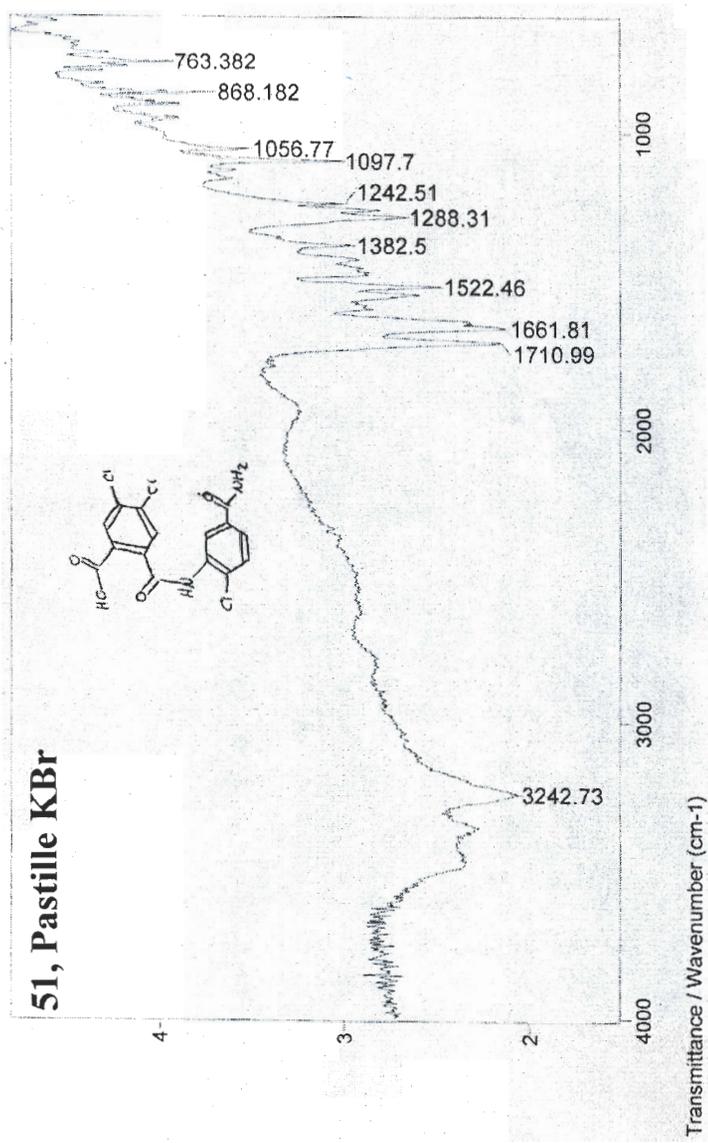
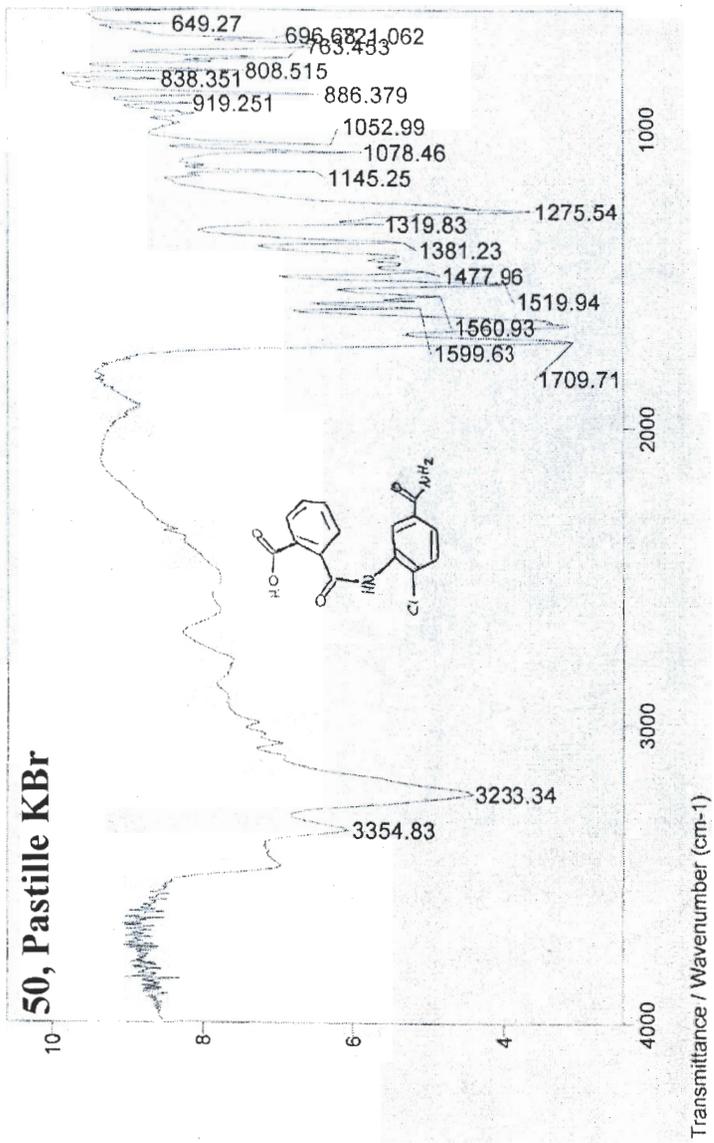


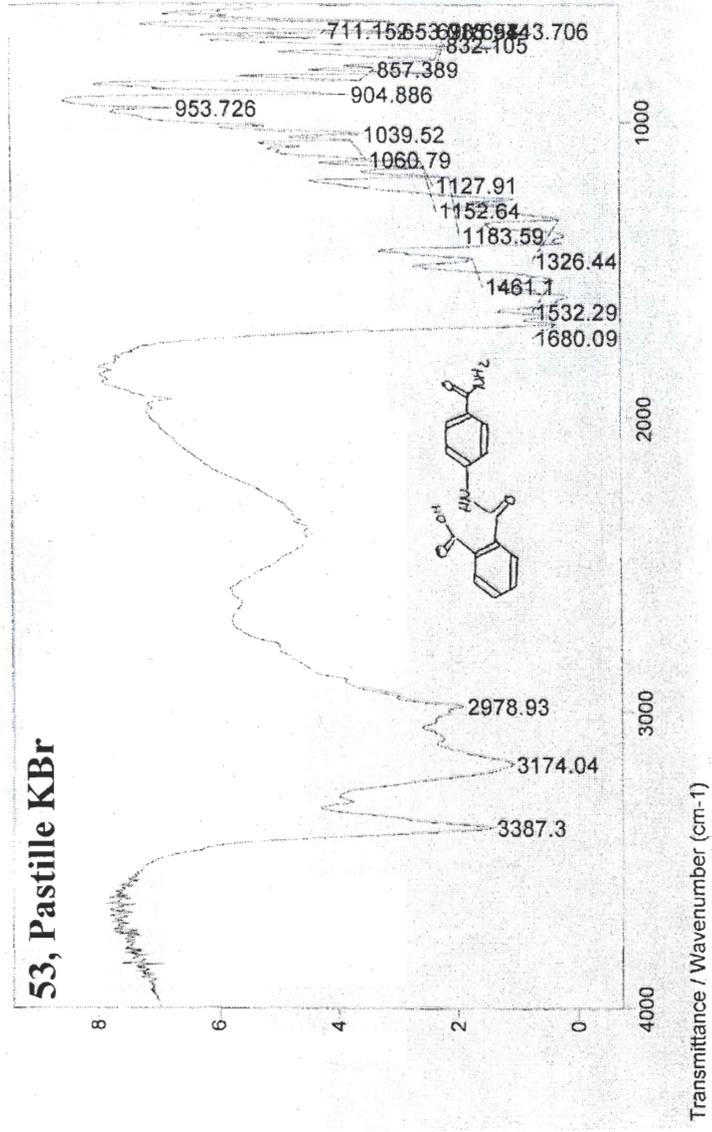
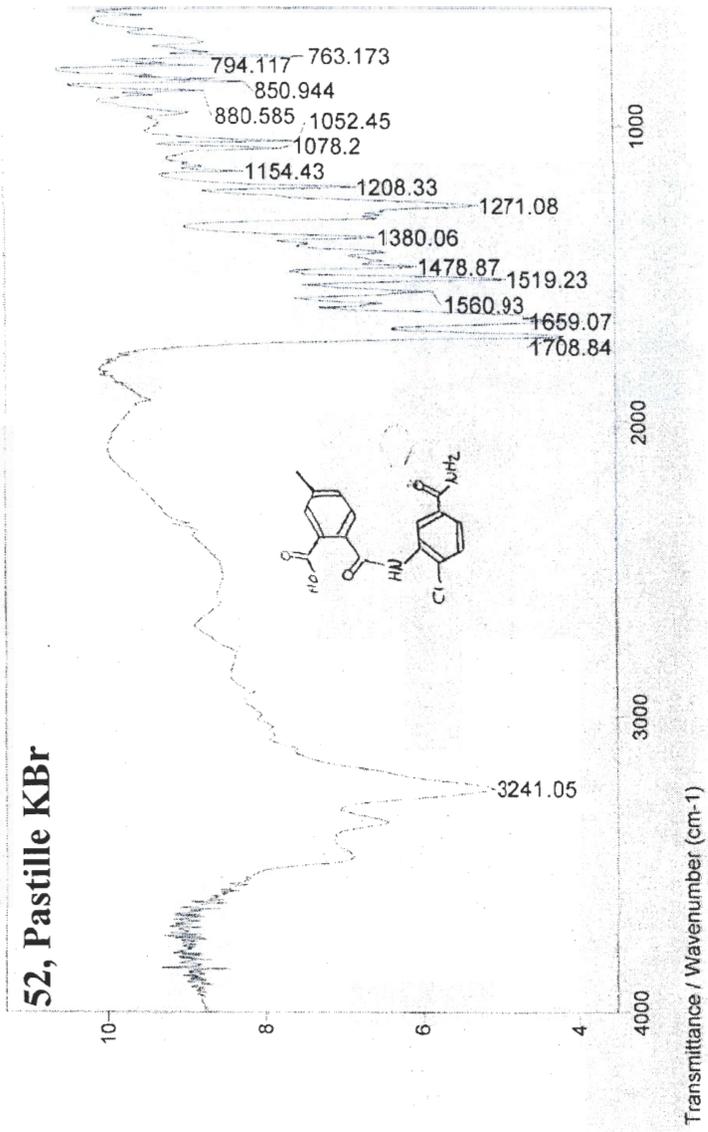
Transmittance / Wavenumber (cm-1)



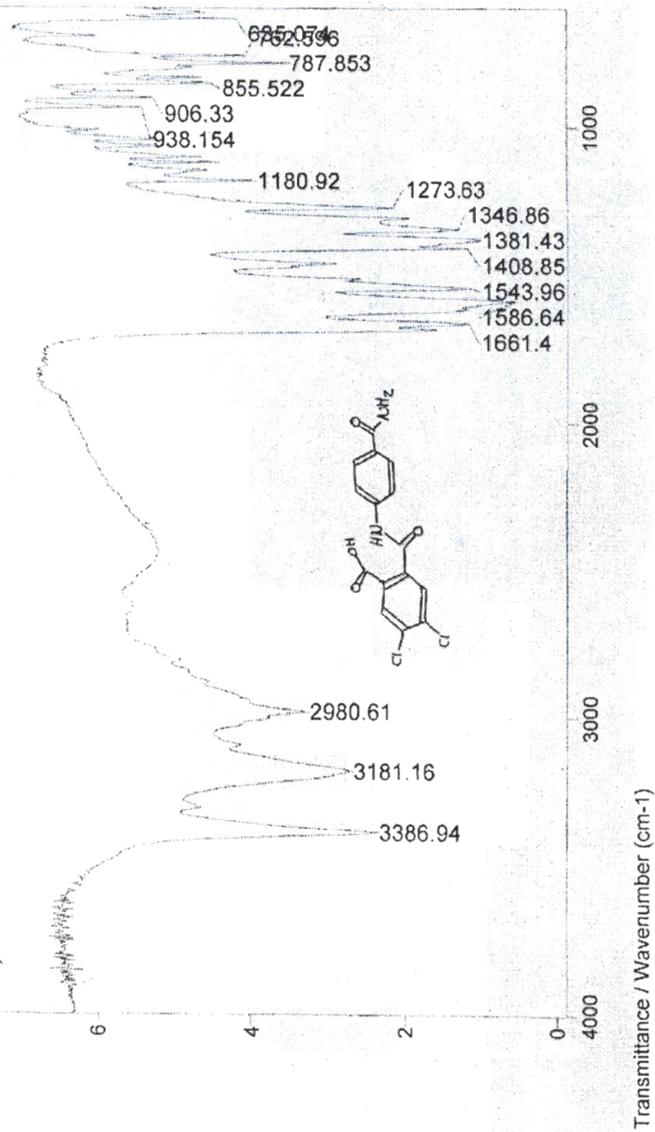




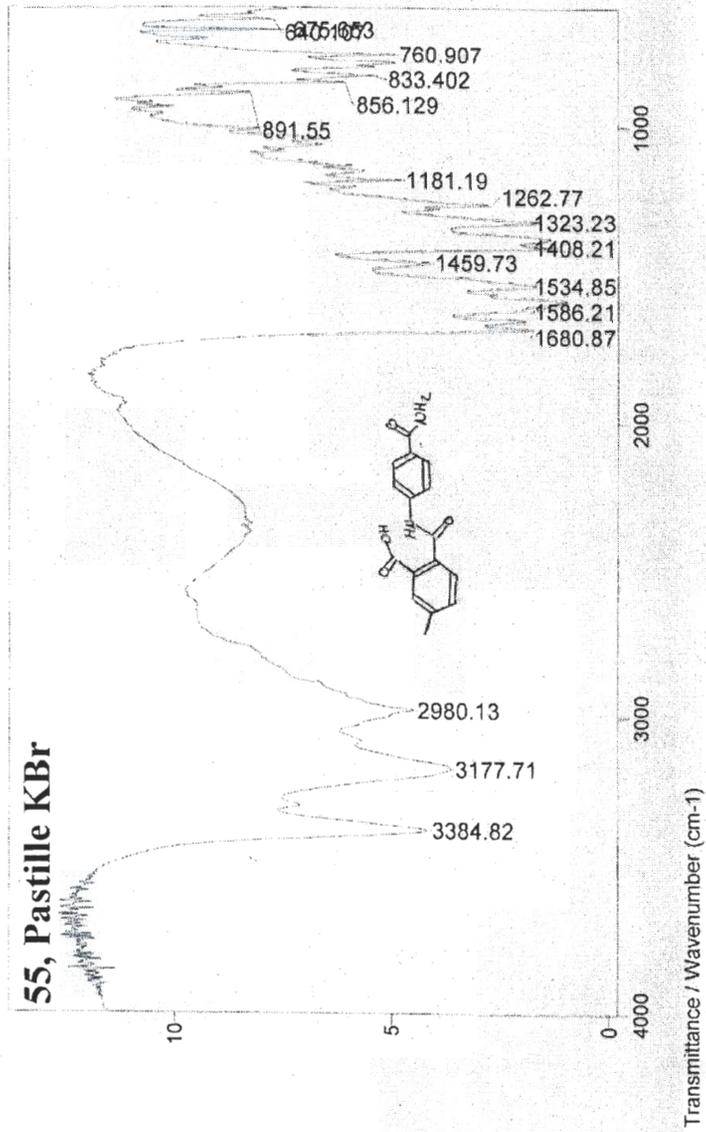


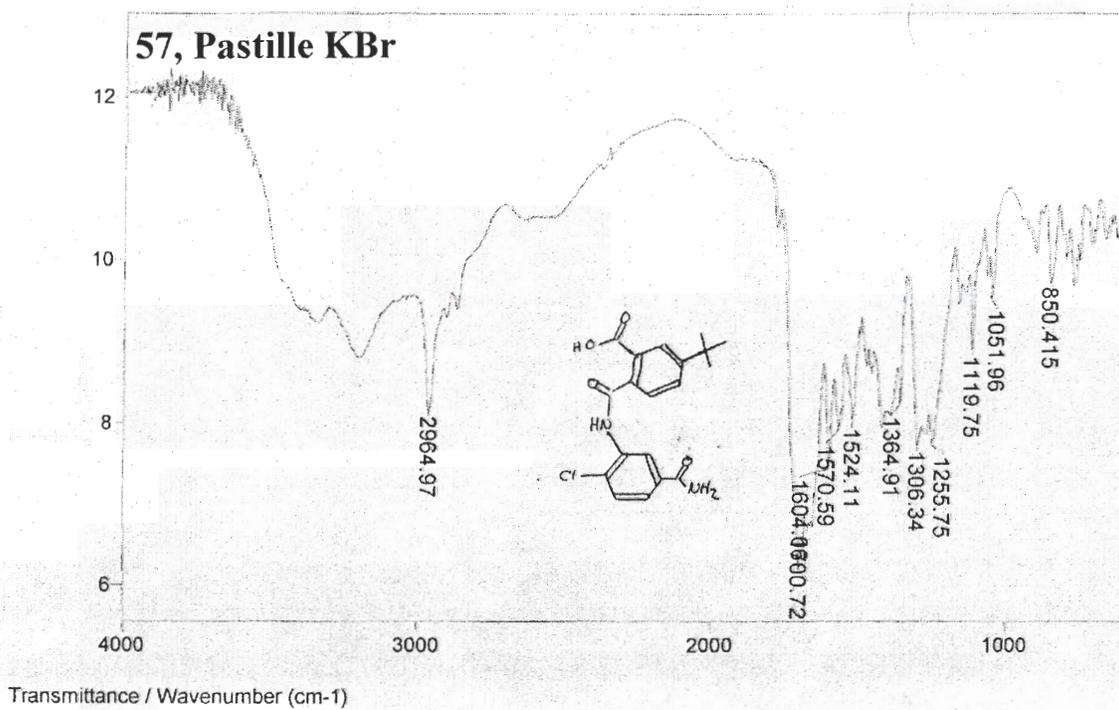
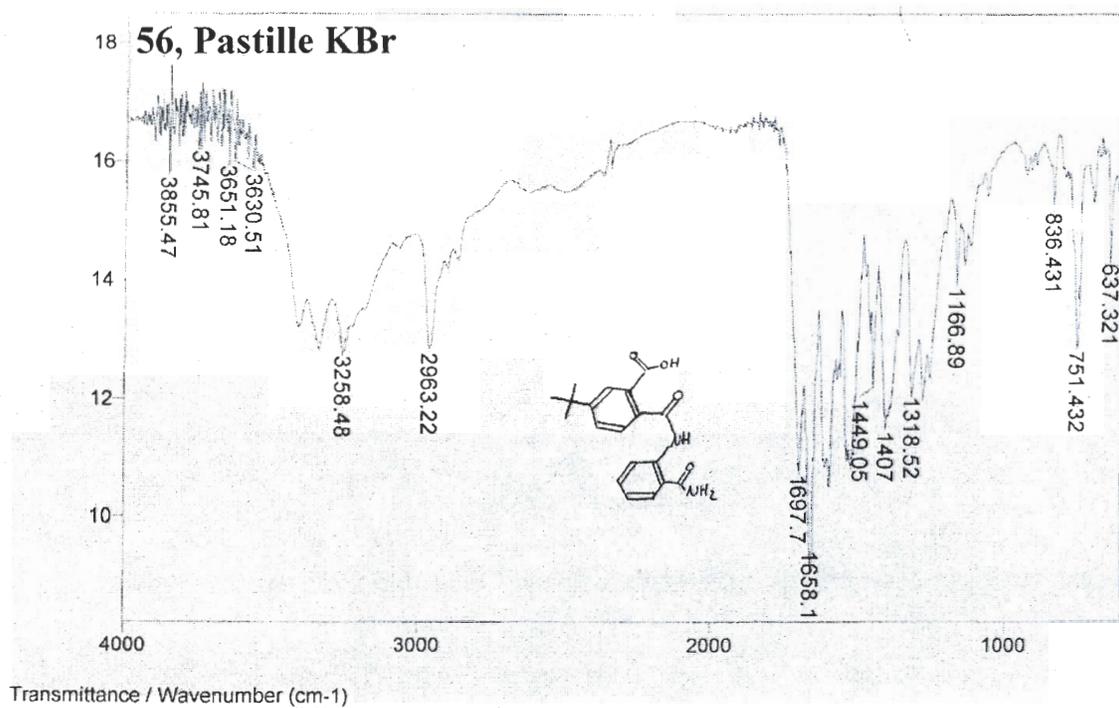


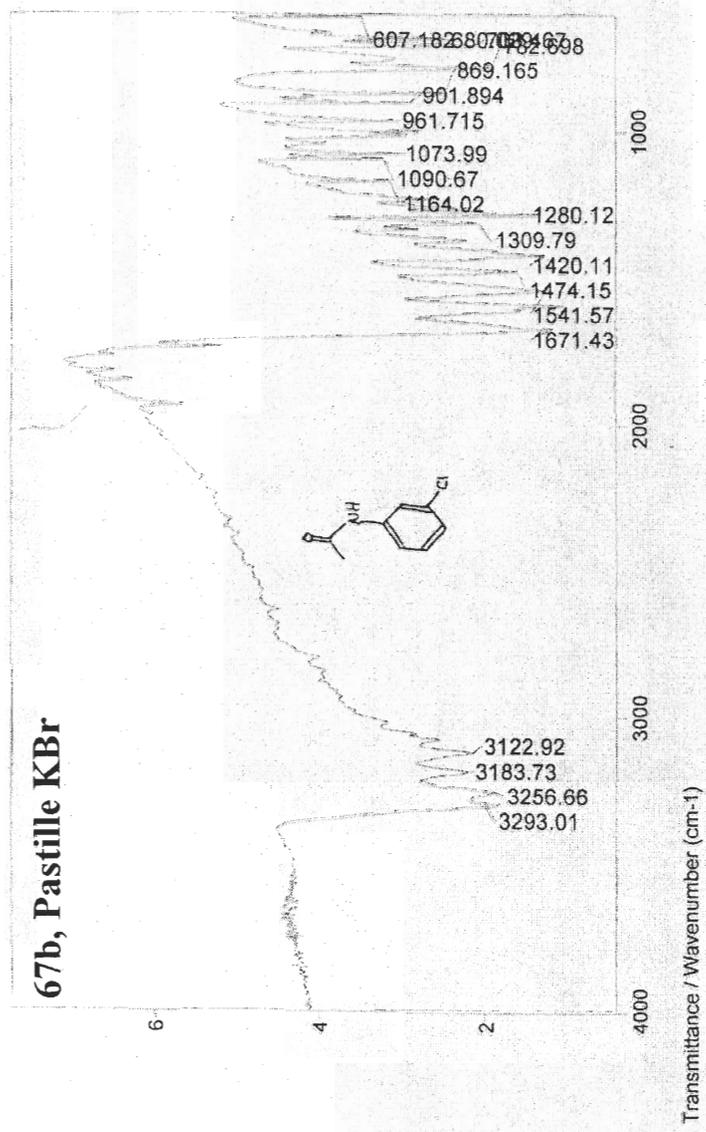
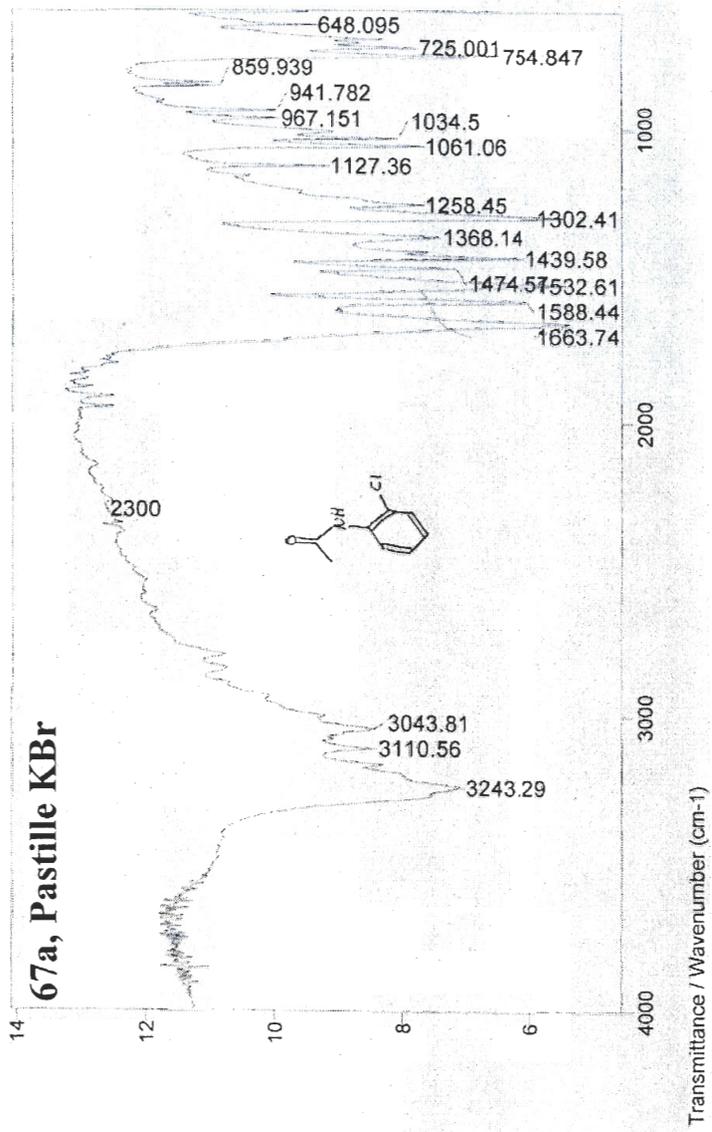
54, Pastille KBr

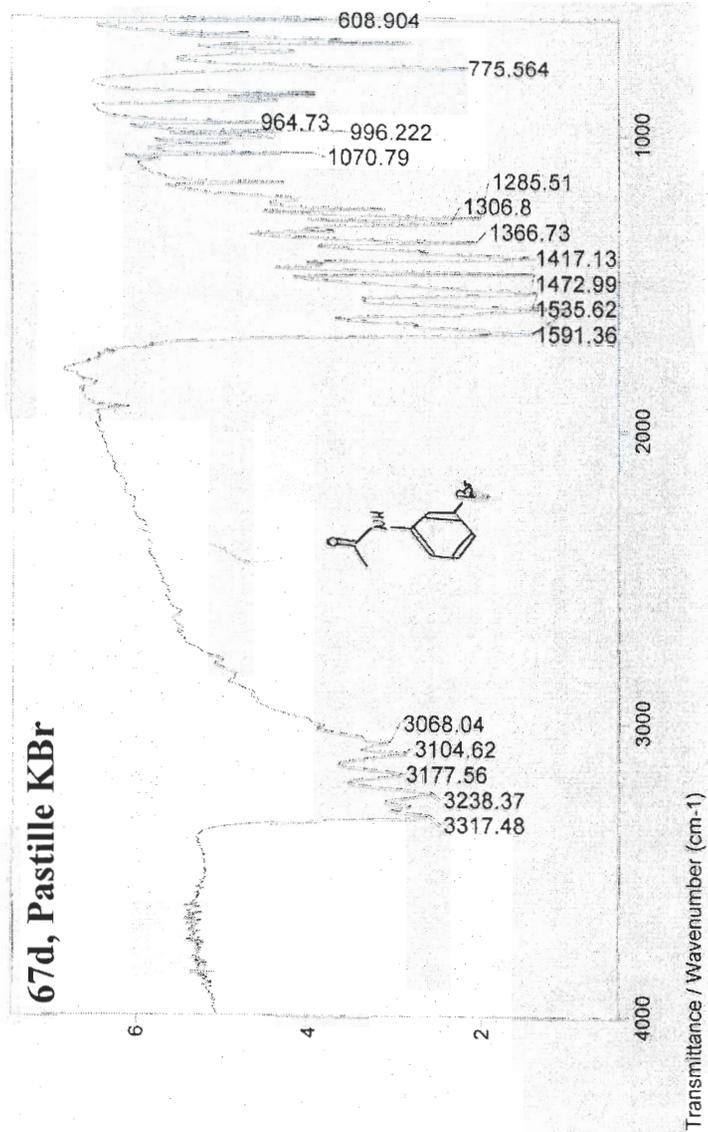
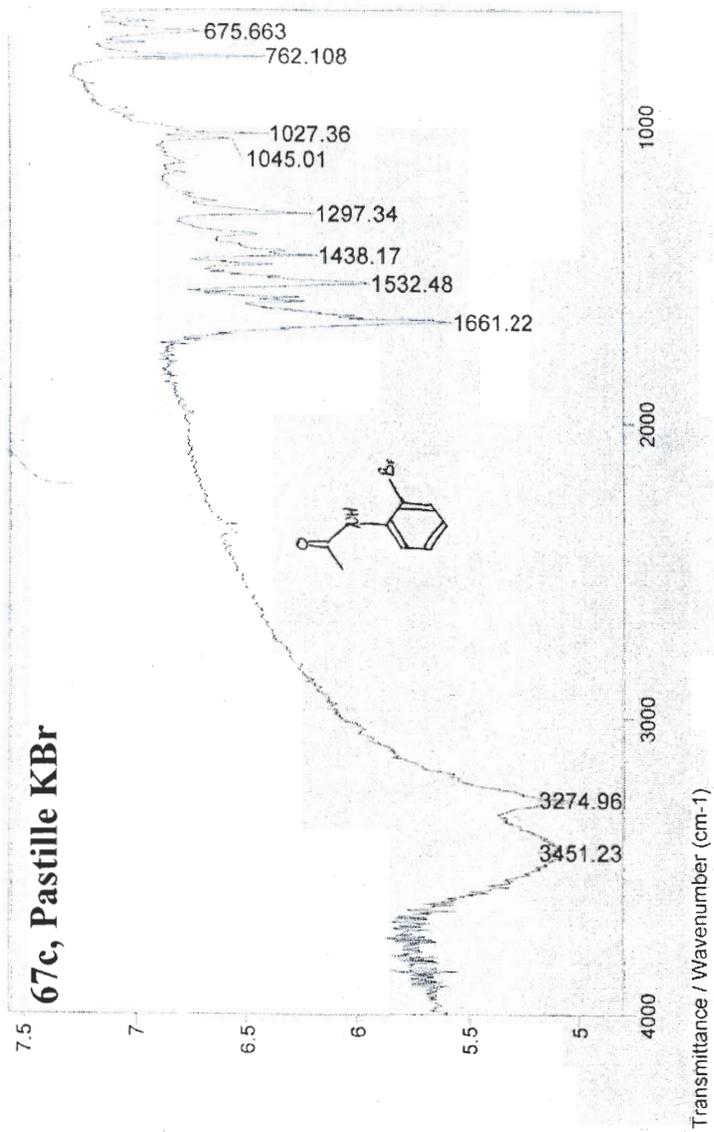


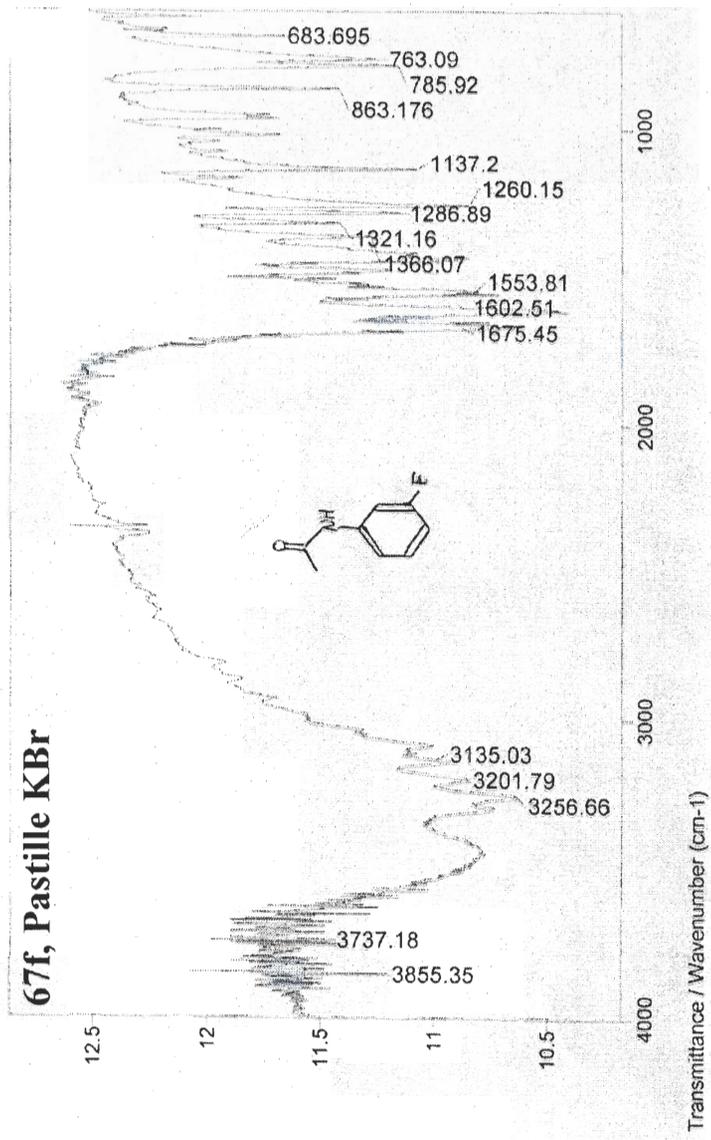
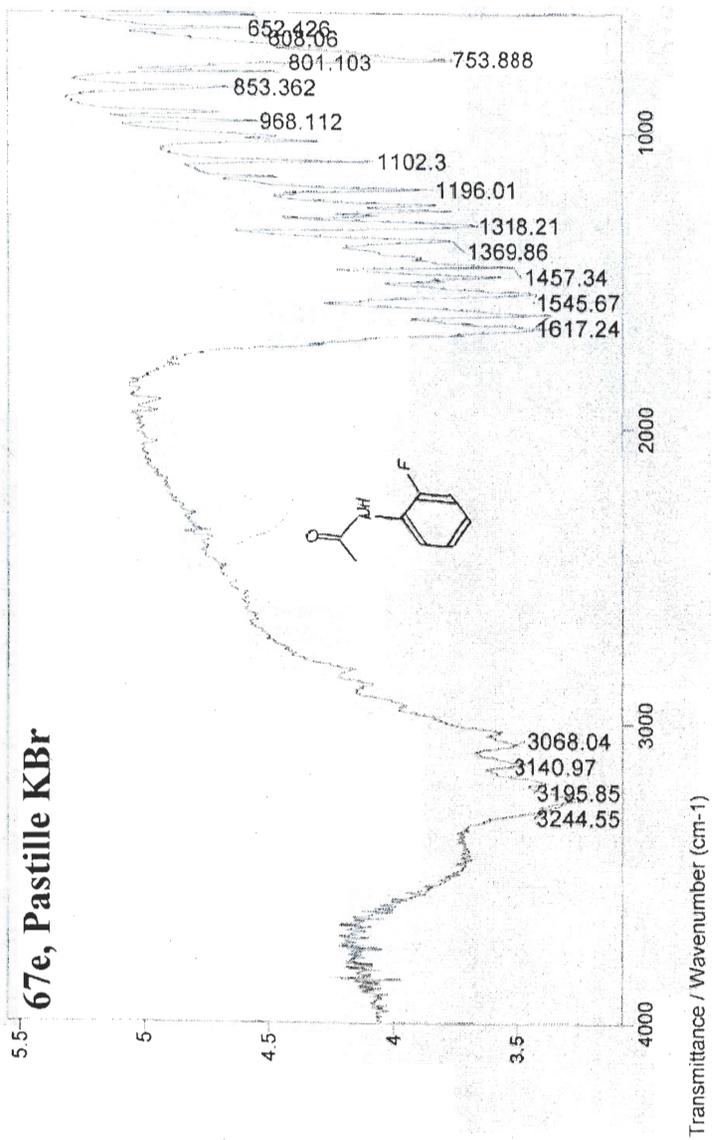
55, Pastille KBr

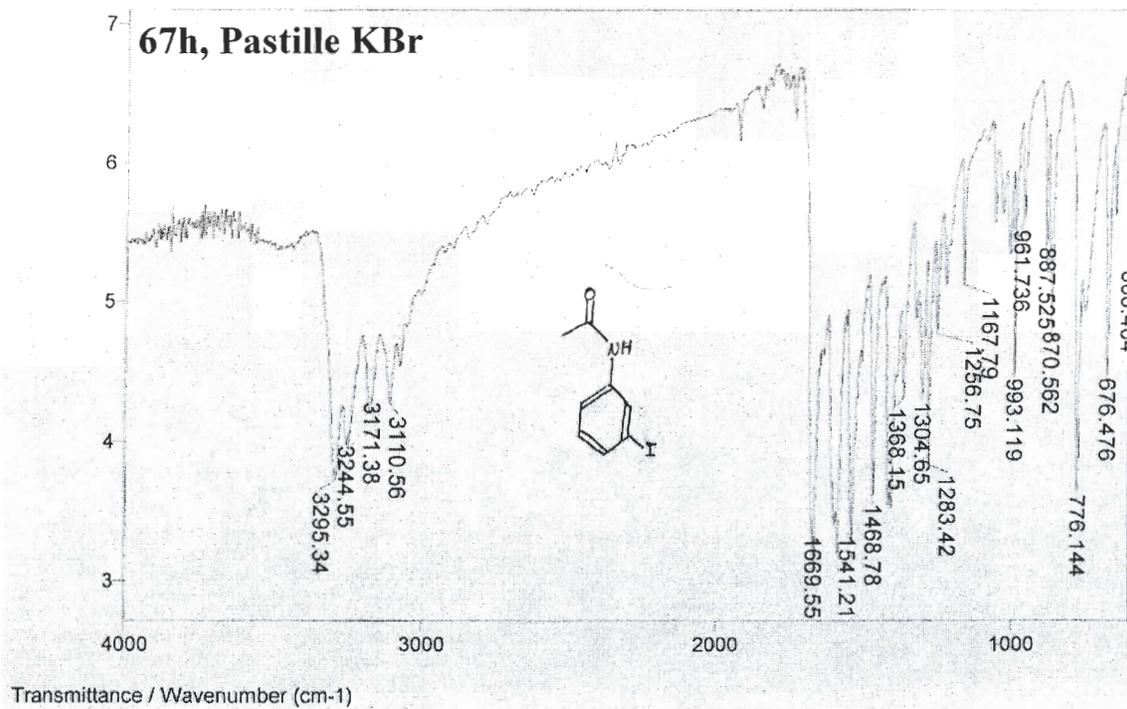
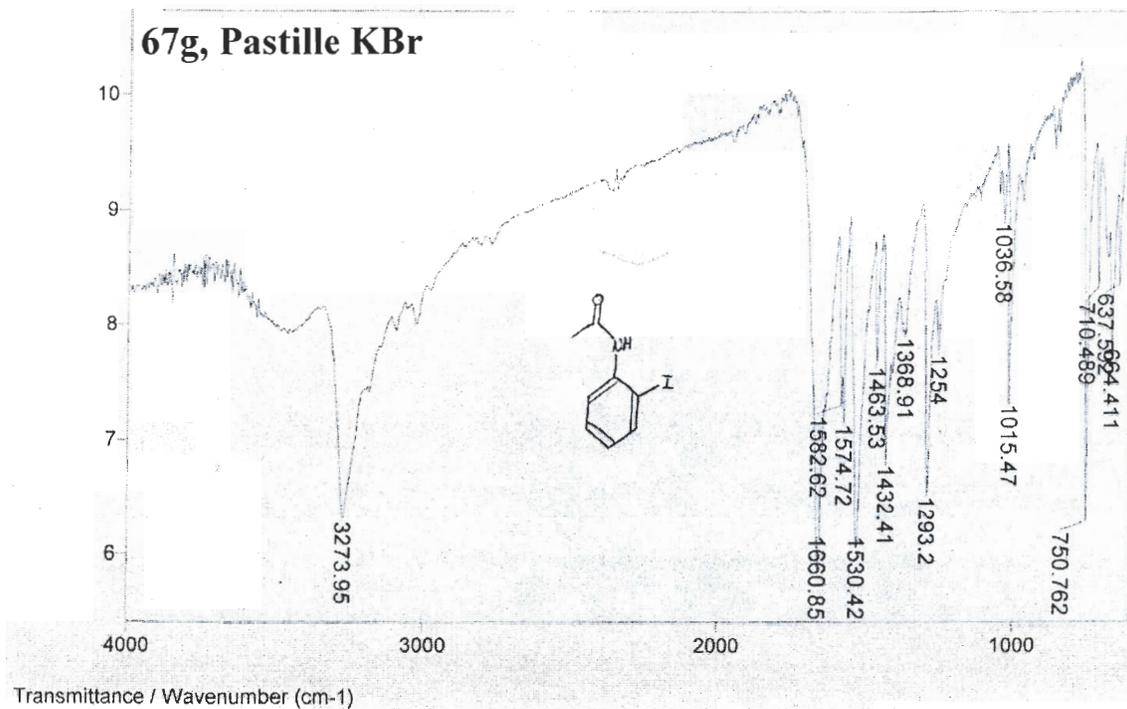


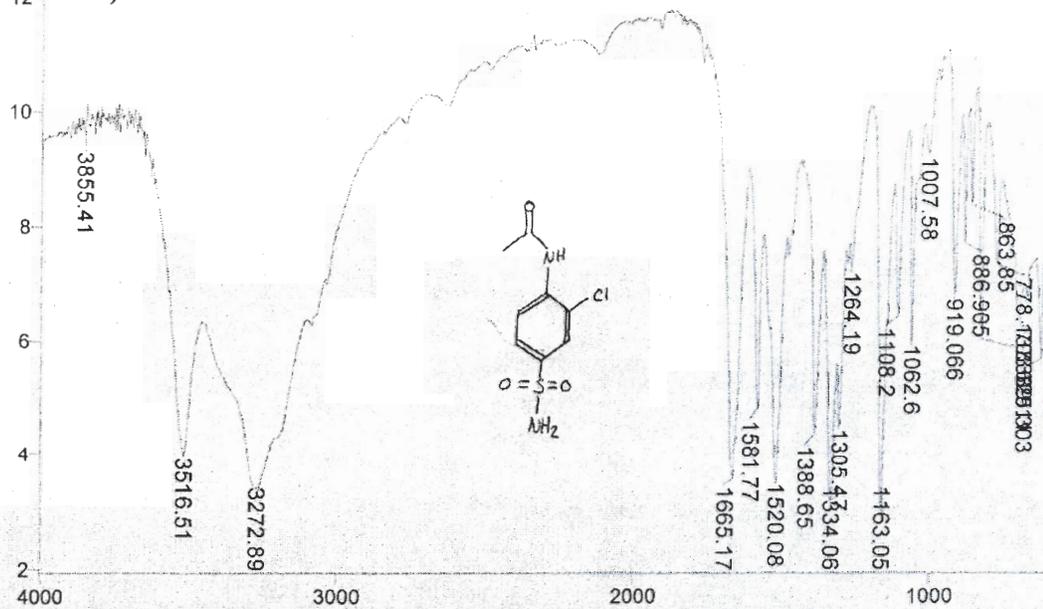




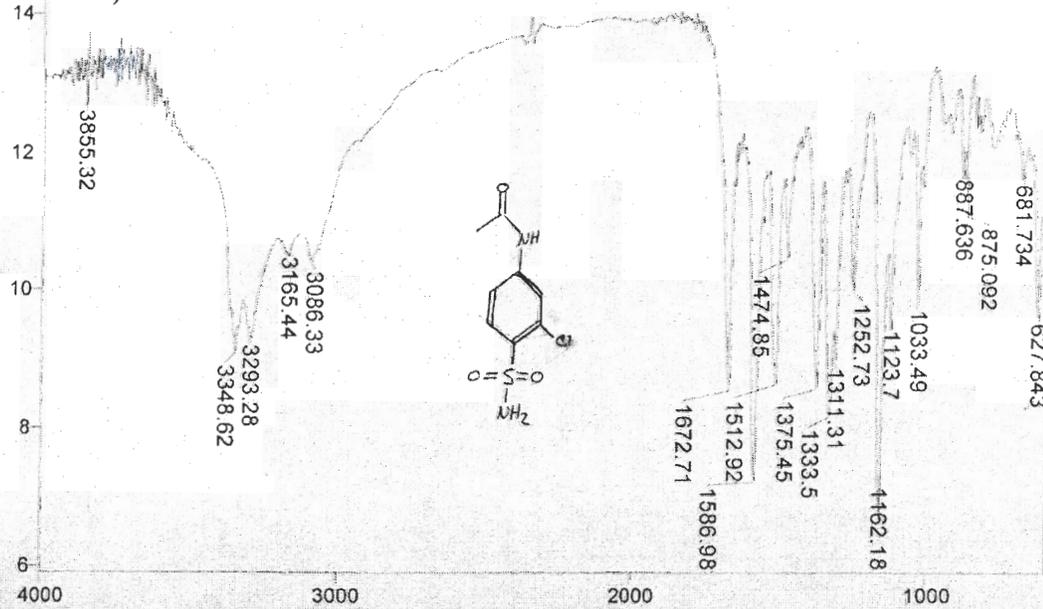




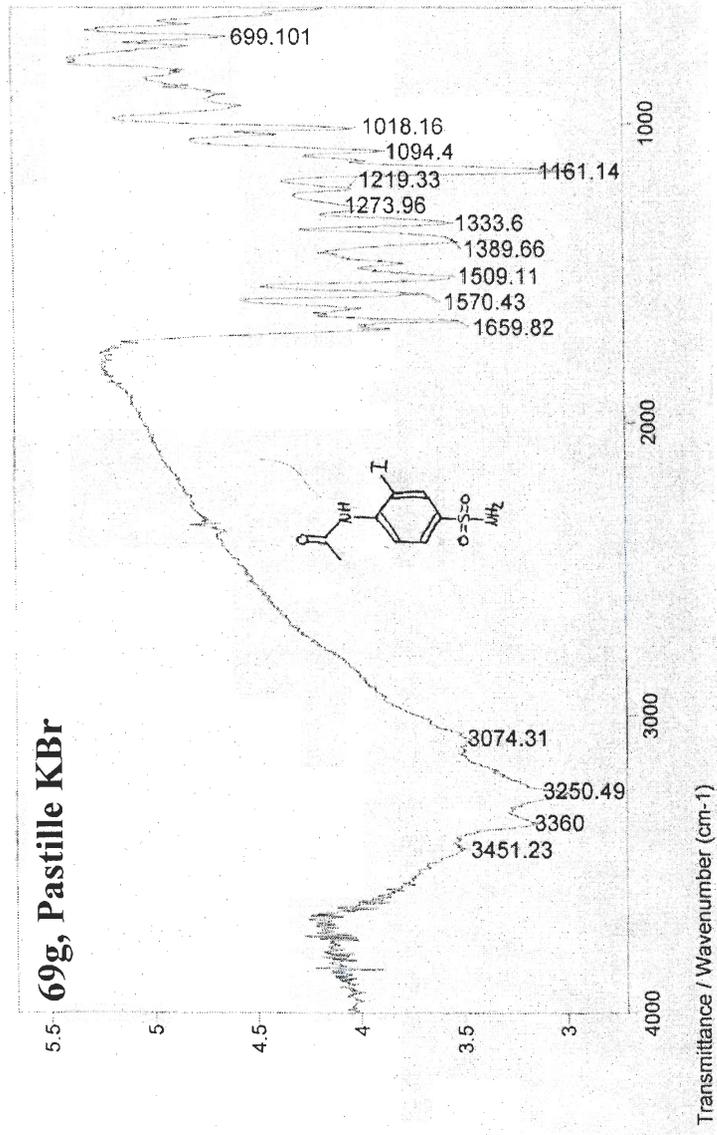
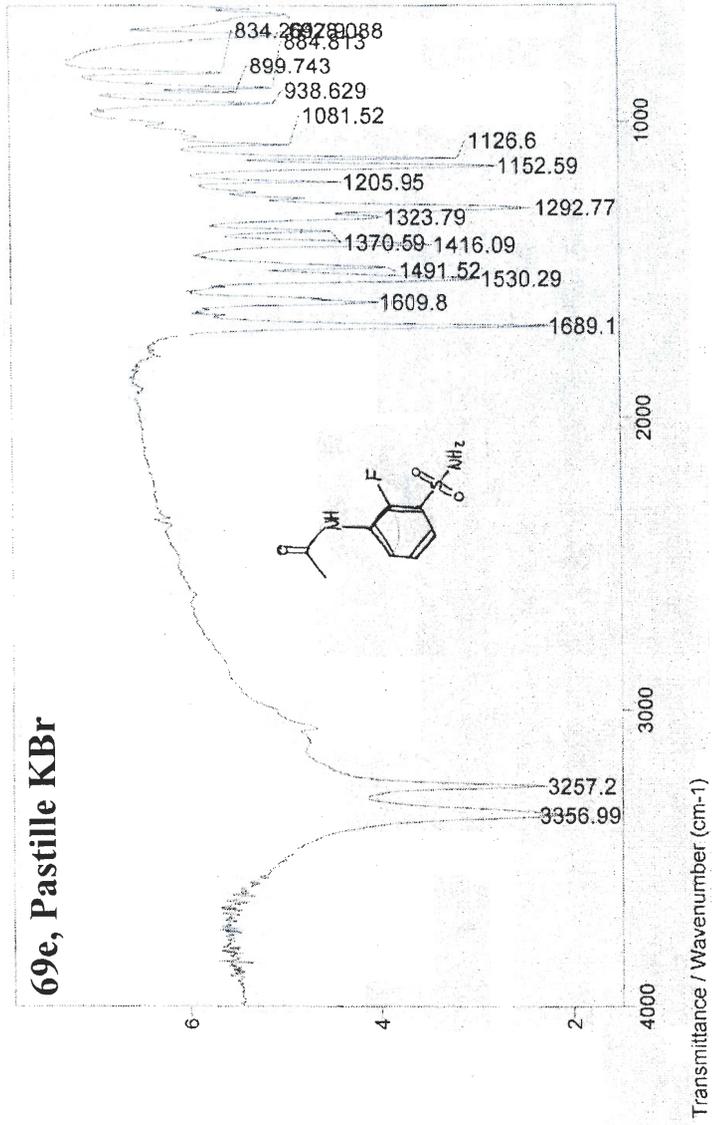


69a, Pastille KBr

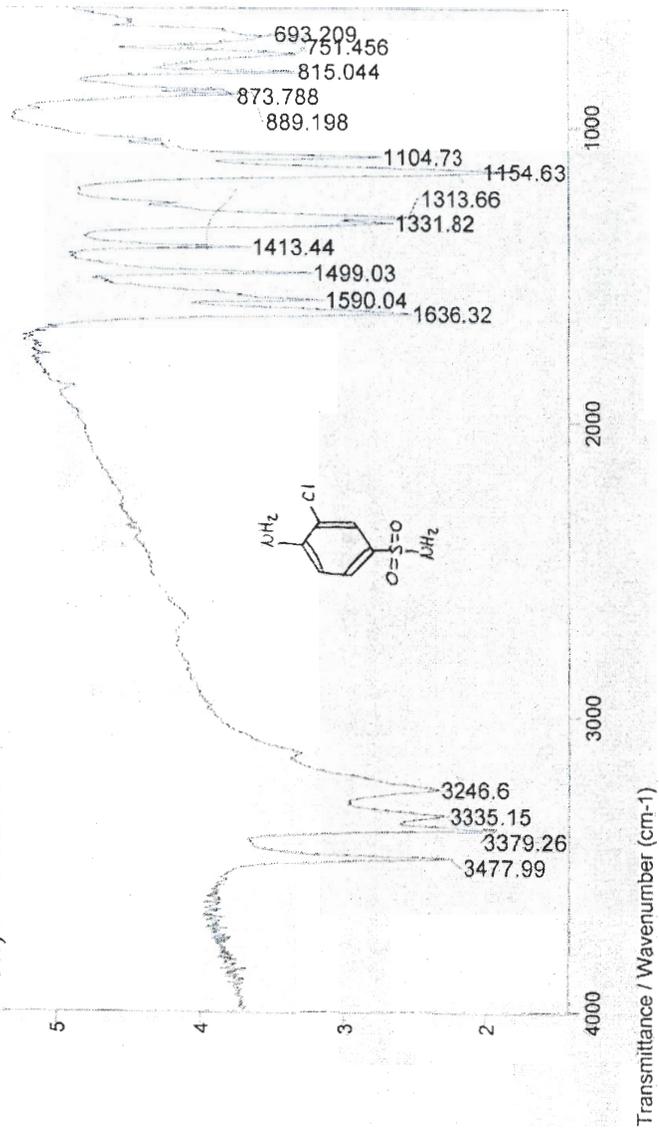
Transmittance / Wavenumber (cm-1)

69b, Pastille KBr

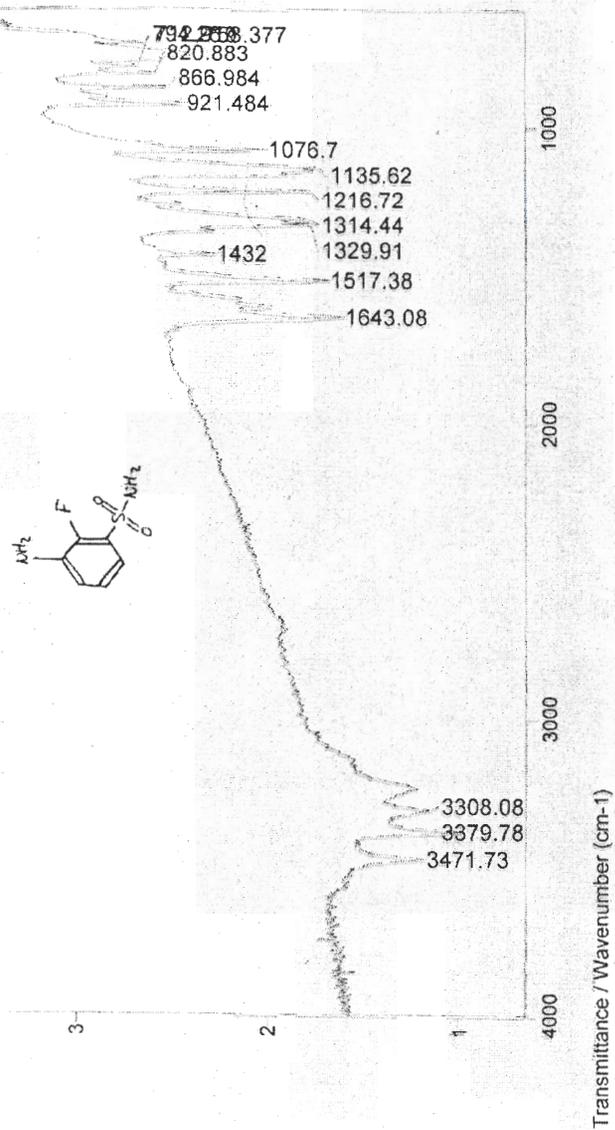
Transmittance / Wavenumber (cm-1)

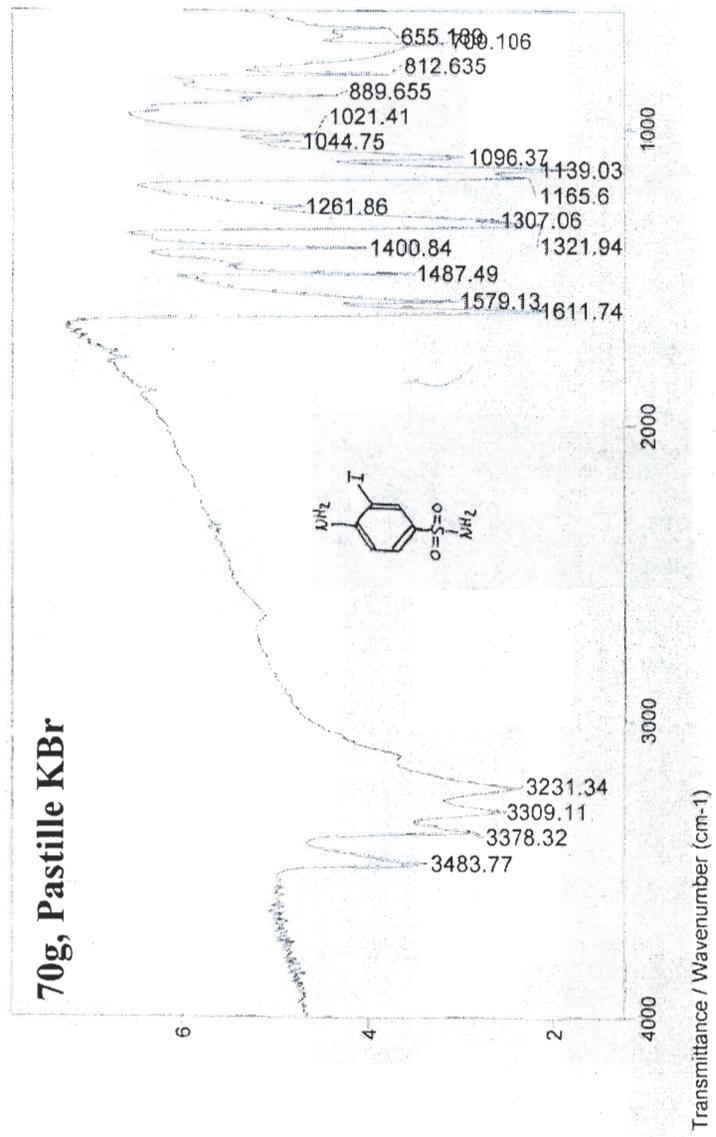


70a, Pastille KBr



70e, Pastille KBr





ANNEXE 3

SPECTRES DE MASSE

40

+Profile Q3SCAN

Average of scans 32 to 33 Time=1.36 min

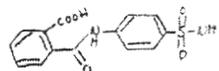
Sciex32378d - 07/25/2003 - 11:57

David [Dr. Voyer] # 1A

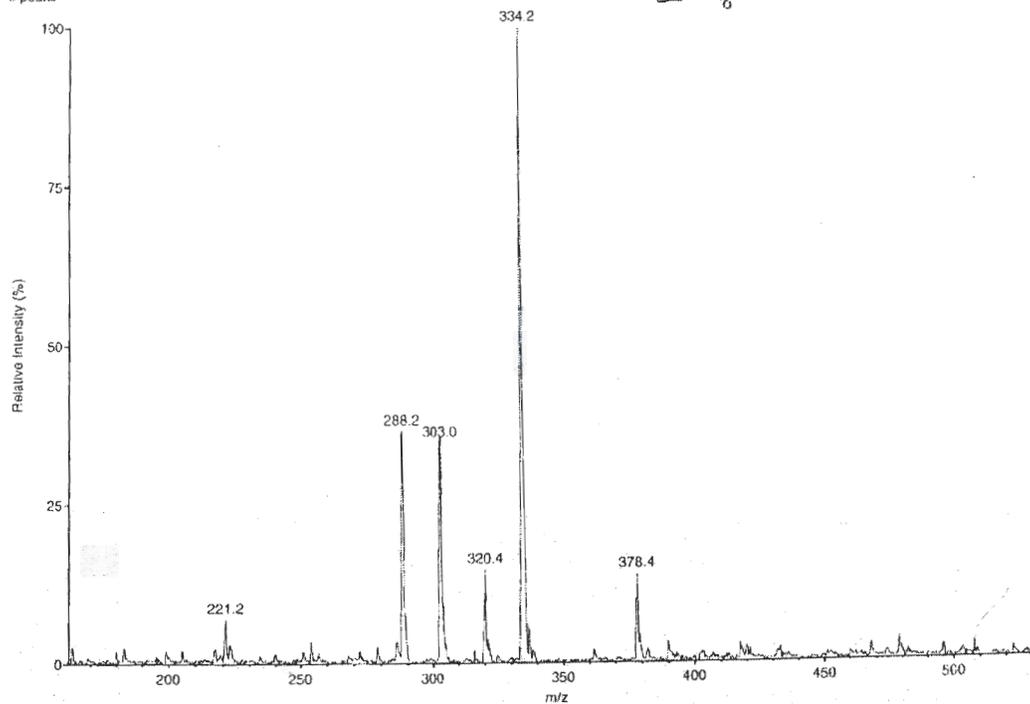
8 peaks

Sciex32378d/Scans 32-33

MW. 320.322



2,255,000



41

+Profile Q3SCAN

Scans 16-27 minus 3-8 & 5-9 Time=0.78 min

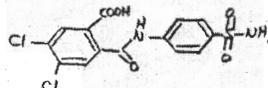
Sciex32385d - 07/25/2003 - 12:58

David [Dr. Voyer] # 2A

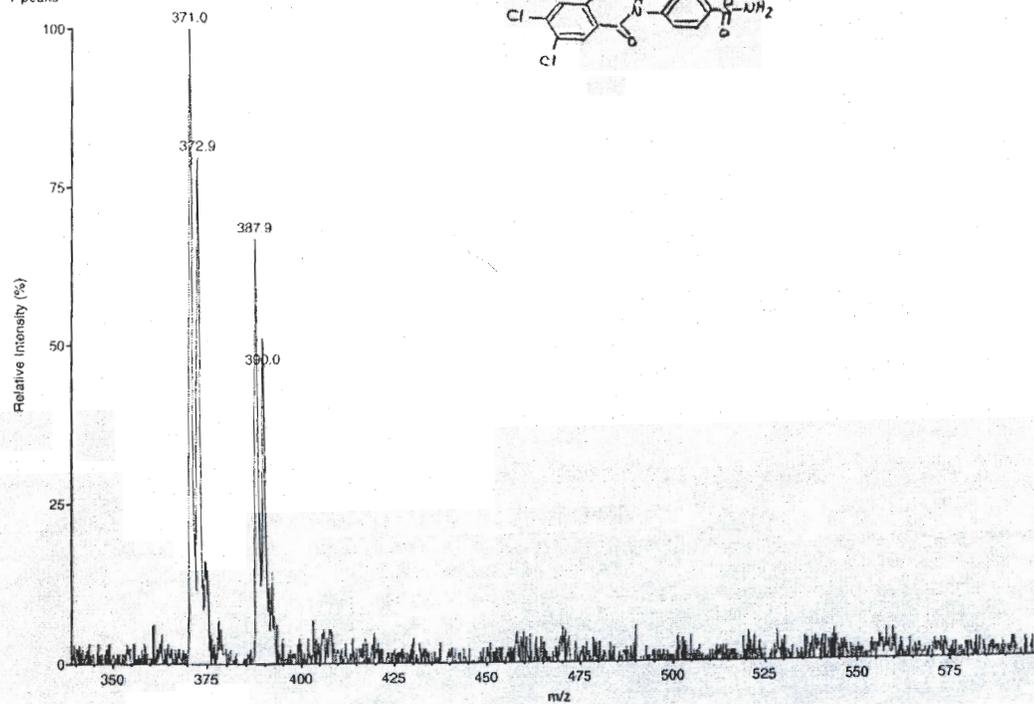
7 peaks

Sciex32385d/Scans 16-27

MW. 389.21



115,834



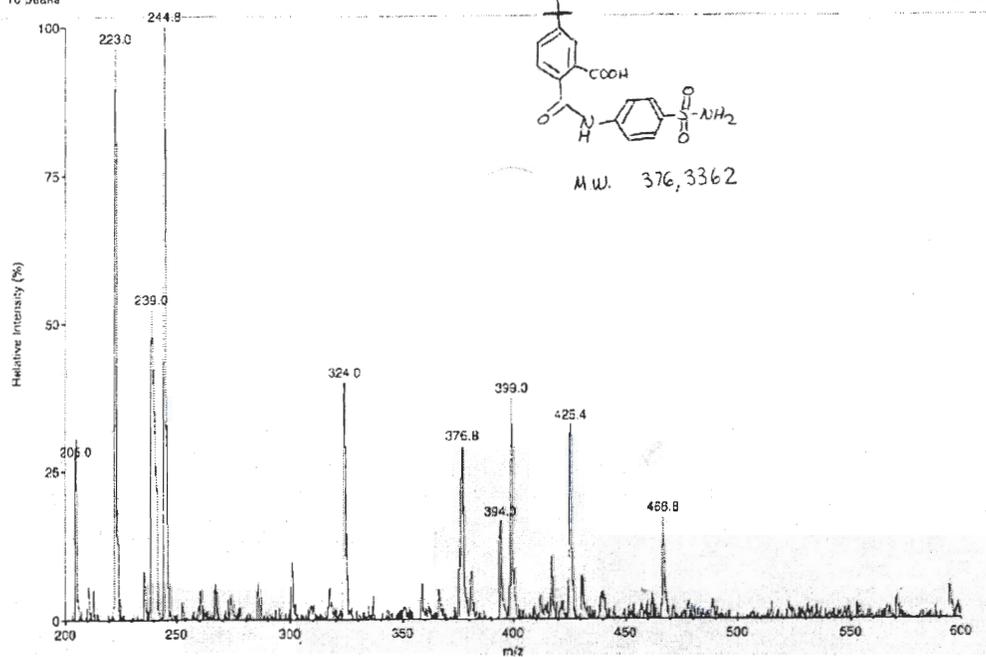
42

+Profile Q3SCAN
Scans 32-38 minus 3-11 & 12-25 Time=1.16 min
Sc:ex32601d - 09/05/2003 - 12:32 PM
Pierre (Dr. Voyer) #3

Sc:ex32601d/Scans 32-38

10 peaks

3:7.675



43

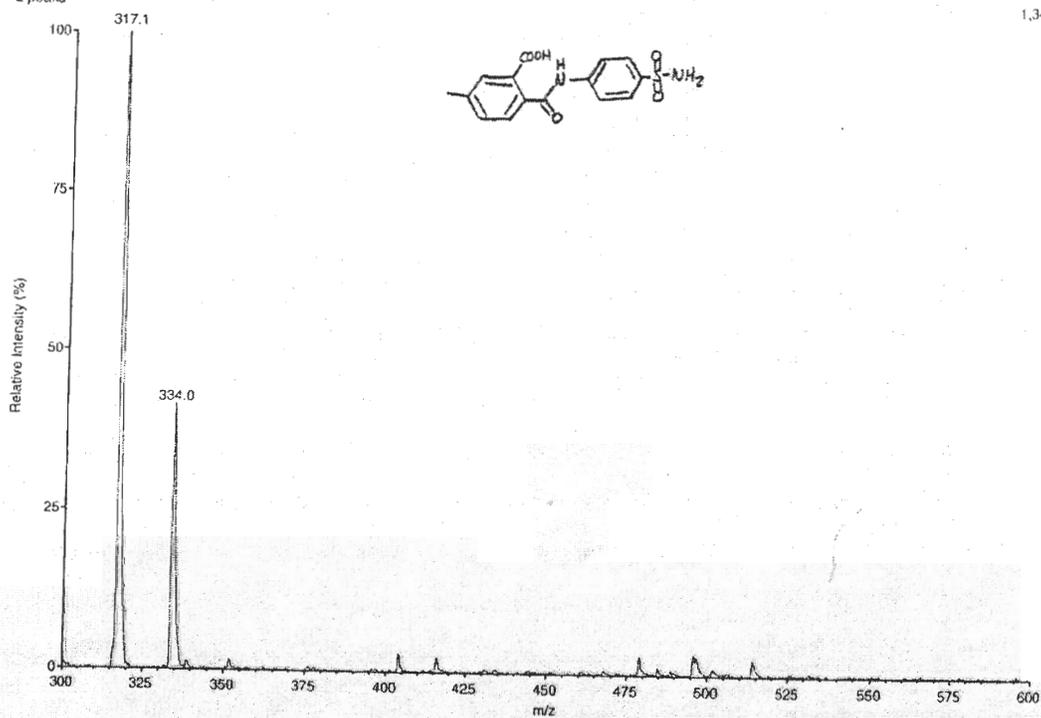
+Profile Q3SCAN
Scans 40-53 minus 3-21 & 1-22 Time=1.60 min
Sc:ex32387d - 07/25/2003 - 13:06
David (Dr. Voyer) # 4B

Sc:ex32387d/Scans 40-53

M.W. 334, 348

2 peaks

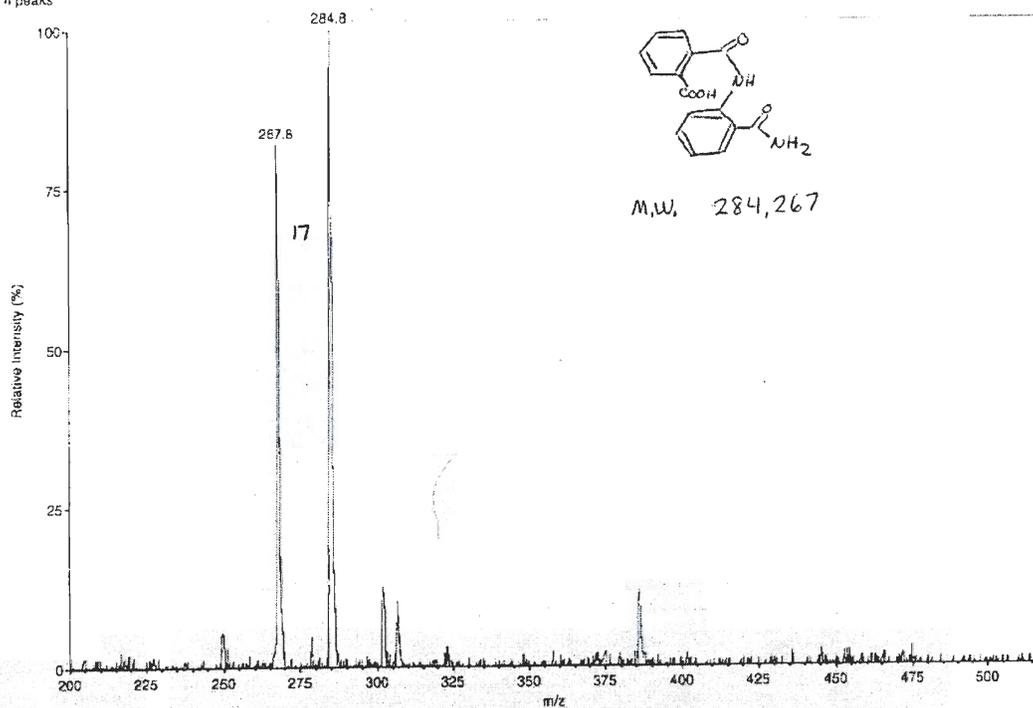
1,341,294



44

+Profile Q3SCAN
 Scans 30-31 minus 3-22 & 16-26 Time=1.04 min
 Sciex32602d - 06/05/2003 - 12:35 PM
 Pierre (Dr. Voyer) 1B
 4 peaks

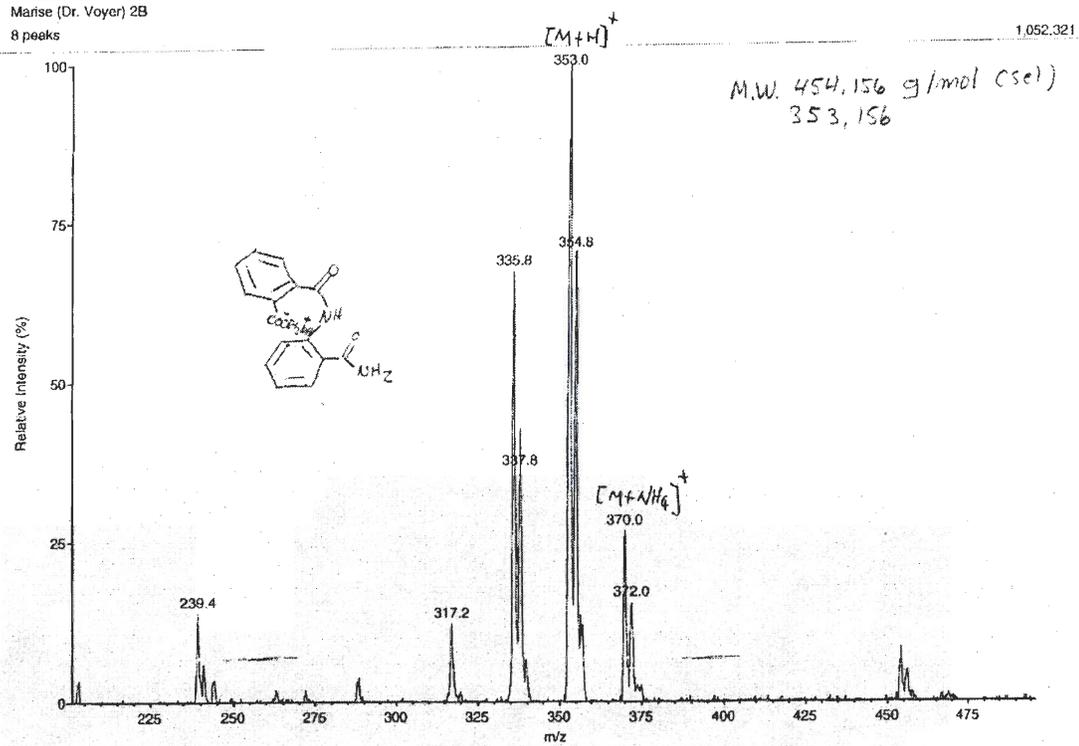
Sciex32602d/Scans 30-31



45

+Profile Q3SCAN
 Scans 46-47 minus 1-33 & 1-38 Time=1.60 min
 Sciex32724d - 11/12/2003 - 1:42 PM
 Marise (Dr. Voyer) 2B
 8 peaks

Sciex32724d/Scans 46-47

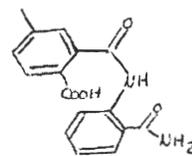
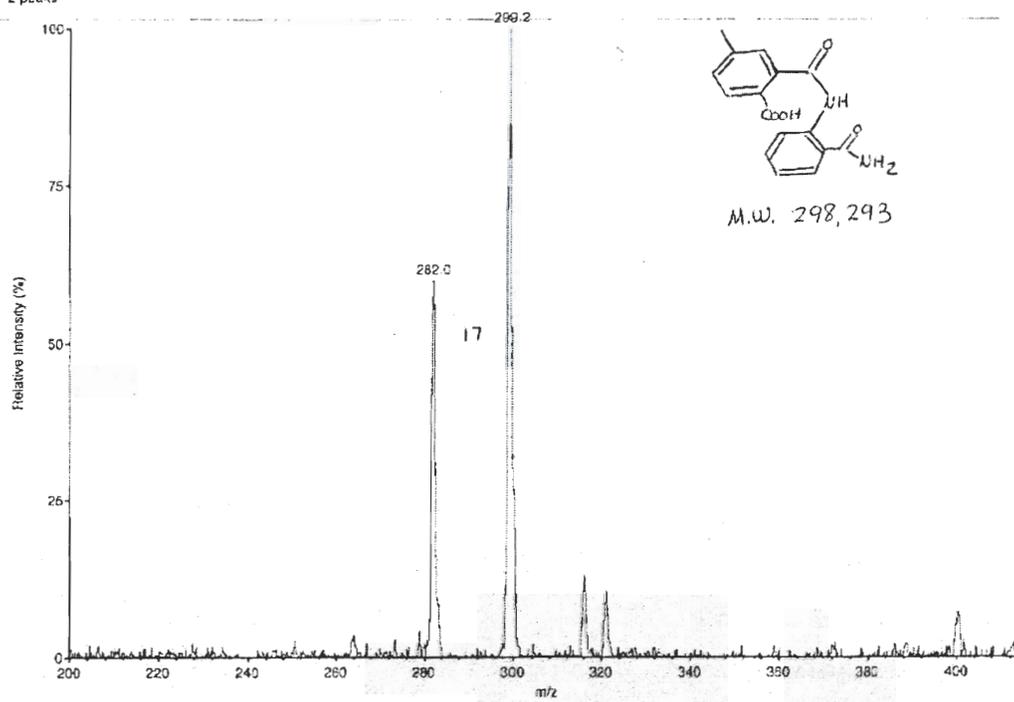


46

+Profile Q3SCAN
 Scans 25-26 minus 2:21 & 3:21 Time=0.56 min
 Sc:ex32504d - 09/05/2003 - 12:41 PM
 Pierre (Dr. Voyer) 4B
 2 peaks

Sc:ex32504c/Scans 25-26

536.922



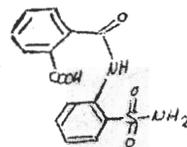
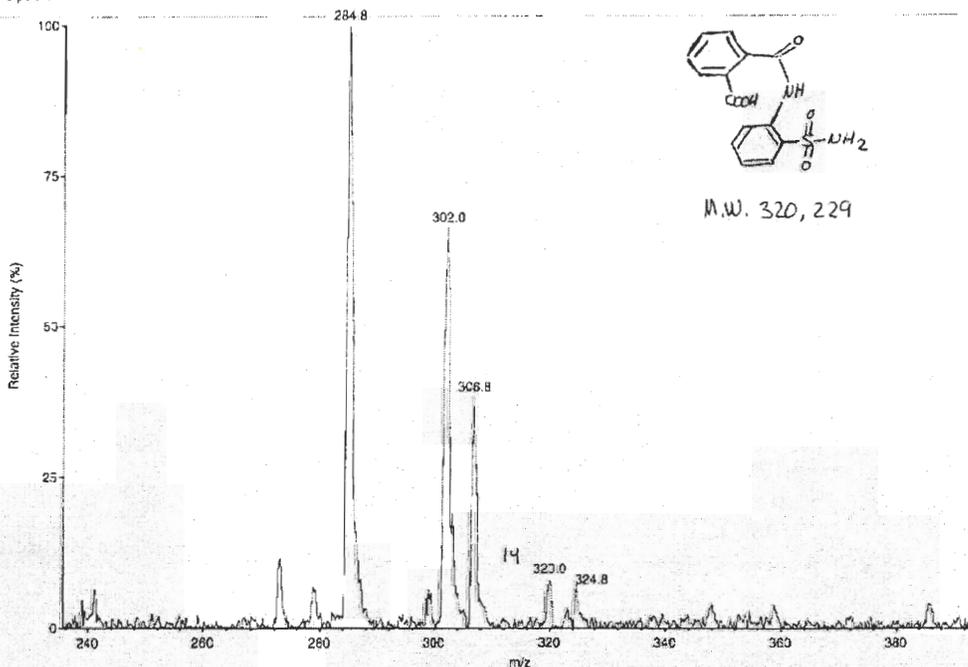
M.W. 298, 293

47

+Profile Q3SCAN
 Scans 33-36 minus 5:27 & 6:27 Time=1.18 min
 Sc:ex32605d - 09/05/2003 - 12:43 PM
 Pierre (Dr. Voyer) 1C
 5 peaks

Sc:ex32605d/Scans 33-36

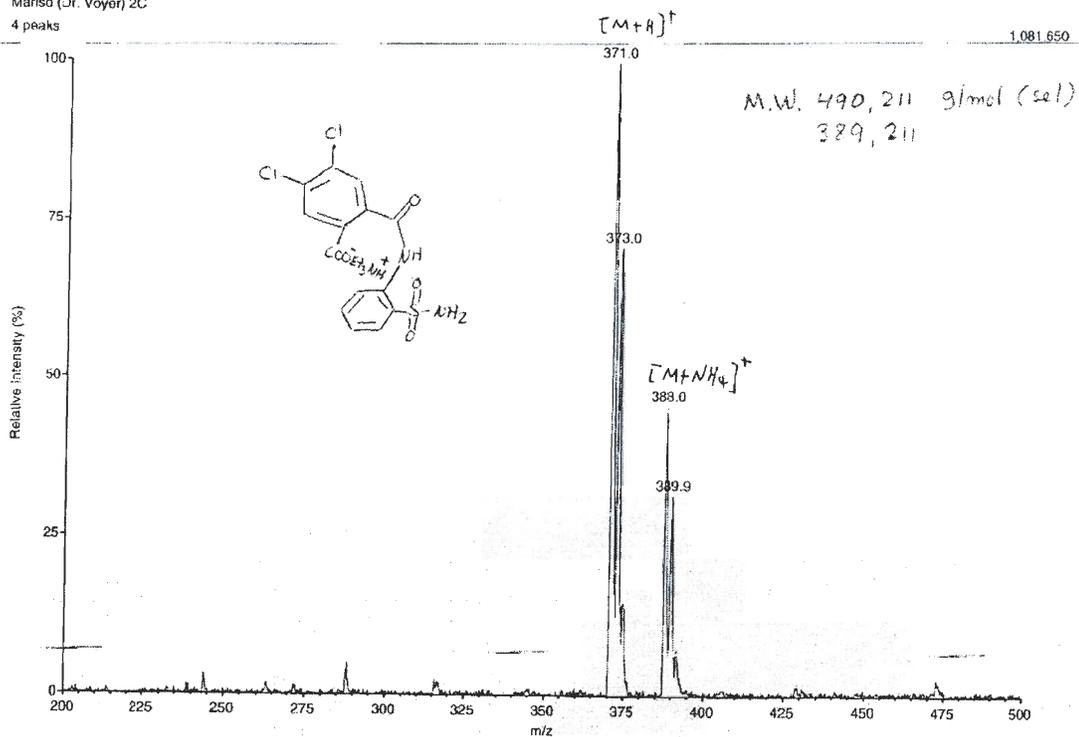
403.429



M.W. 320, 229

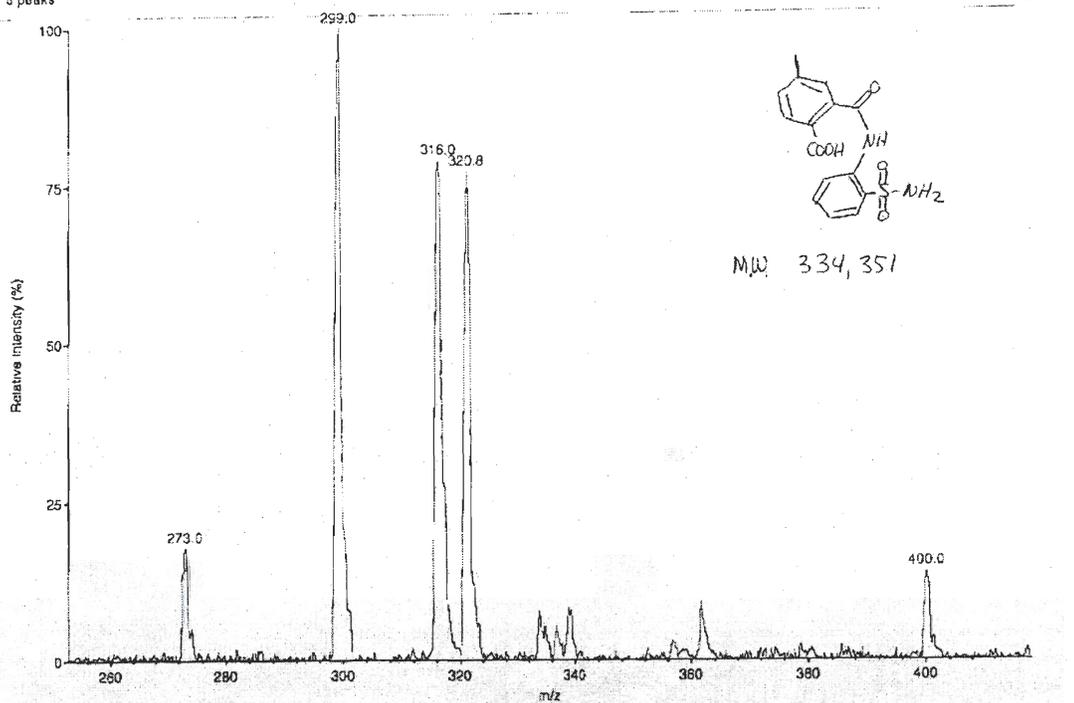
48 +Profile Q3SCAN
Scans 33-34 minus 2-25 & 3-25 Time=1.36 min
Sciex32725d - 11/12/2003 - 1:46 PM
Marisa (Dr. Voyer) 2C
4 peaks

Sciex32725d/Scans 33-34



49 +Profile Q3SCAN
Scans 30-33 minus 4-25 & 12-25 Time=1.07 min
Sciex32605d - 19/05/2003 - 12:48 PM
Pierra (Dr. Voyer) 4C
8 peaks

Sciex32605d/Scans 30-33

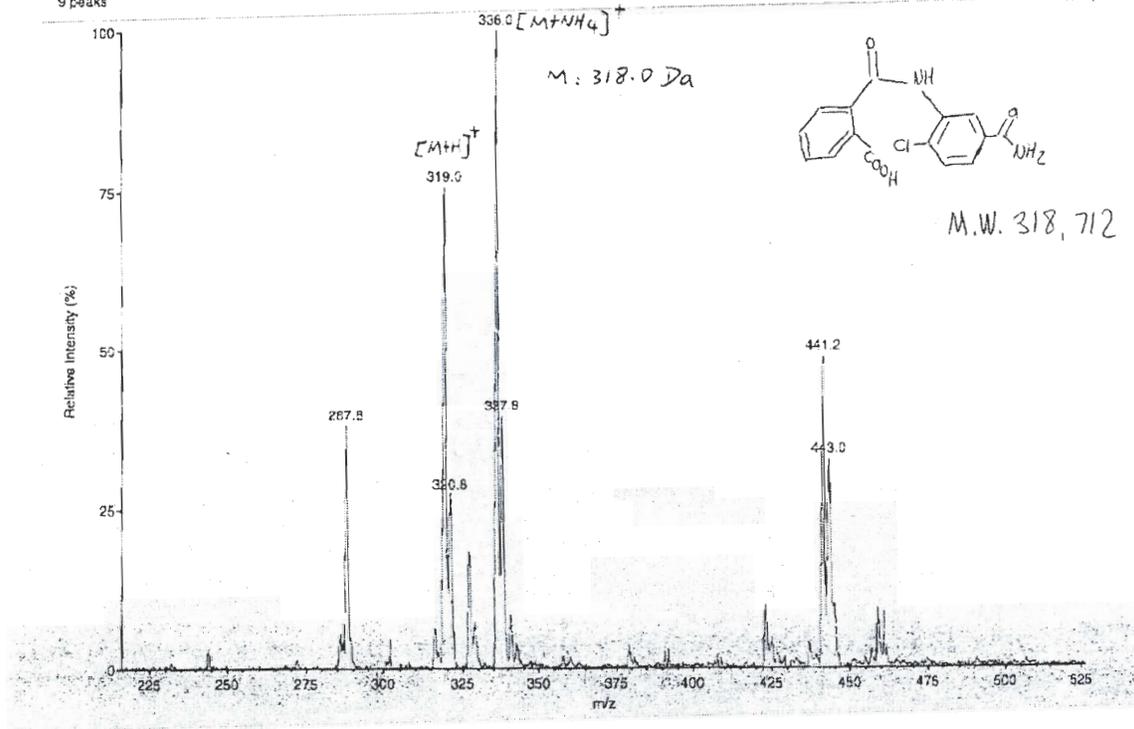


50

+Profile Q3SCAN
 Scans 35-39 minus 7-20 & 2-25 Time=1.58 min
 Sclex32636d - 10/03/2003 - 11:57 AM
 Michel [Dr. Voyer] #1D
 9 peaks

Sclex32636d/Scans 35-39

1.624,733-

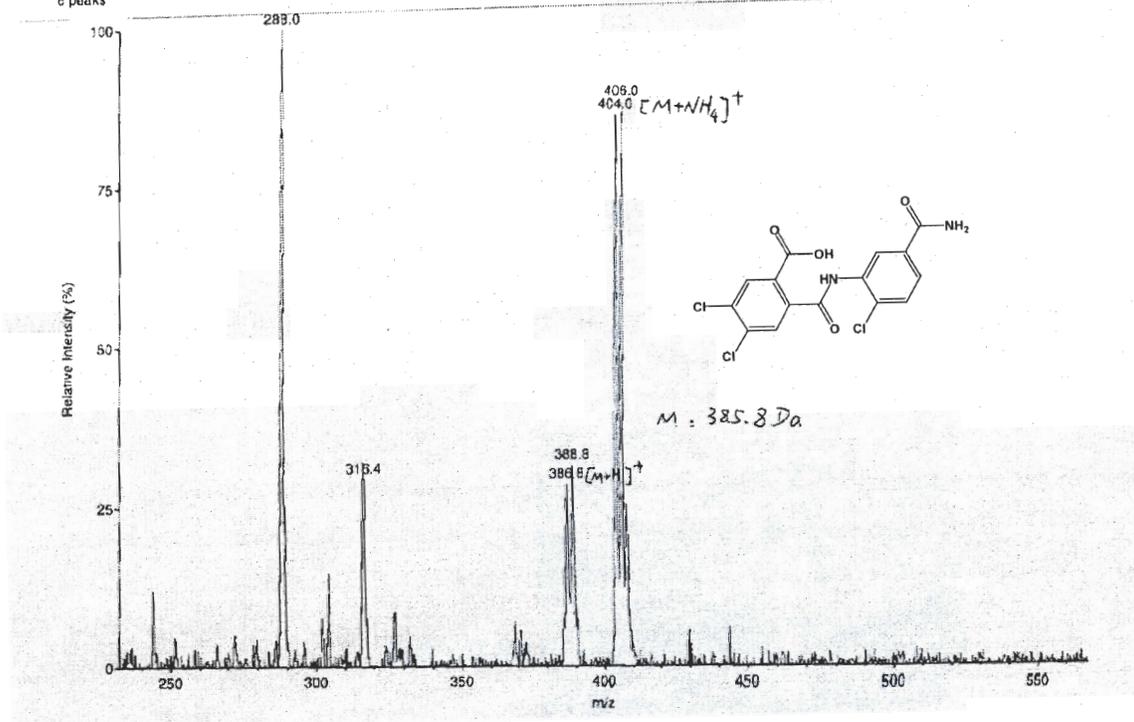


51

+Profile Q3SCAN
 Scans 29-45 minus 6-20 & 2-23 Time=1.60 min
 Sclex32637d - 10/03/2003 - 12:02 PM
 Michel [Dr. Voyer] 2D#1
 6 peaks

Sclex32637d/Scans 29-45

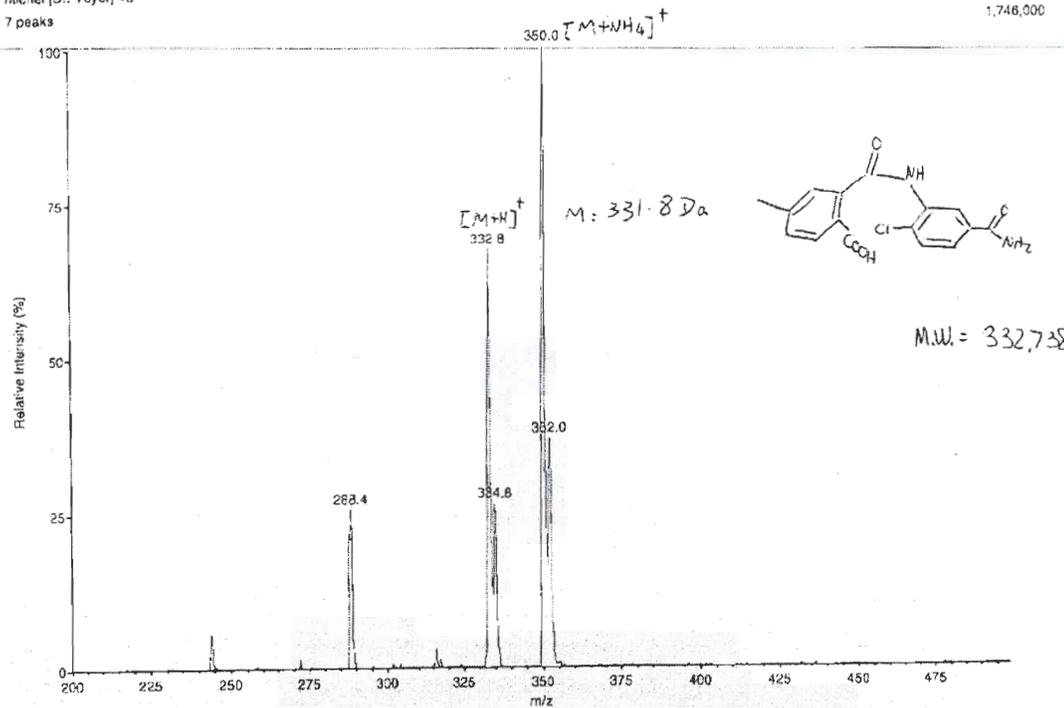
210,471-



52 +Profile Q3SCAN
Scans 48-61 minus 7-18 & 10-17 Time=2.13 min
Sciex326399 - 10/03/2003 - 12:12 PM
Michel [Dr. Voyer] 4D
7 peaks

Sciex326399/04/11/4001

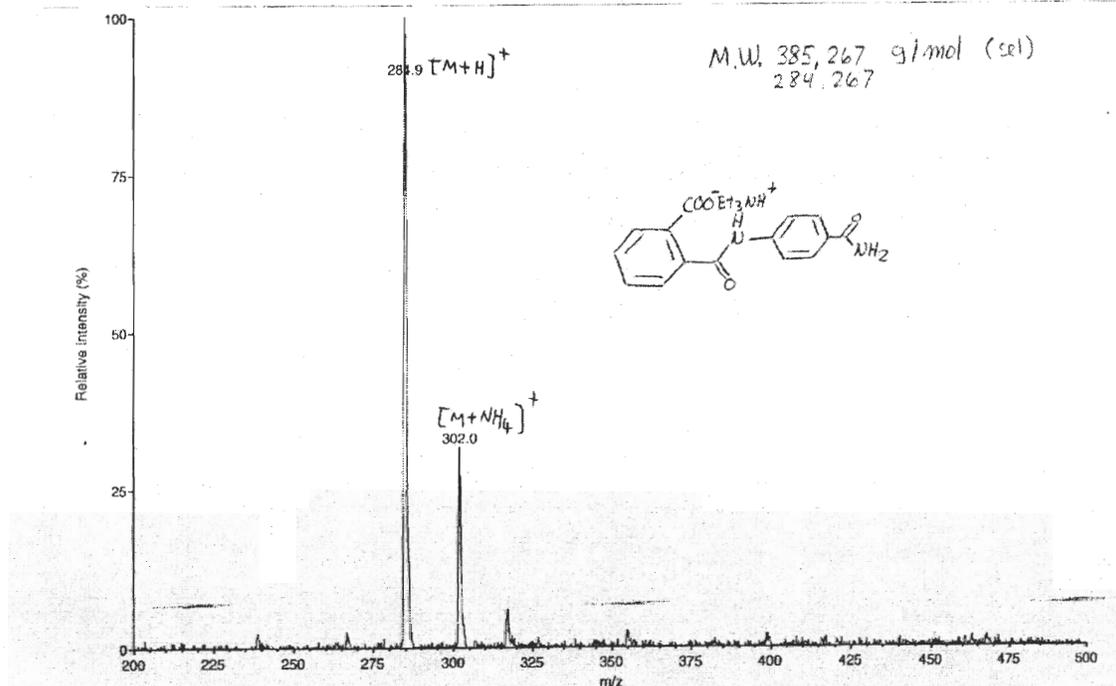
1,746,000



53 +Profile Q3SCAN
Scans 23-25 minus 2-12 & 3-15 Time=0.96 min
Sciex32727d - 11/12/2003 - 1:52 PM
Matse [Dr. Voyer] 1E
2 peaks

Sciex32727d/Scans 23-25

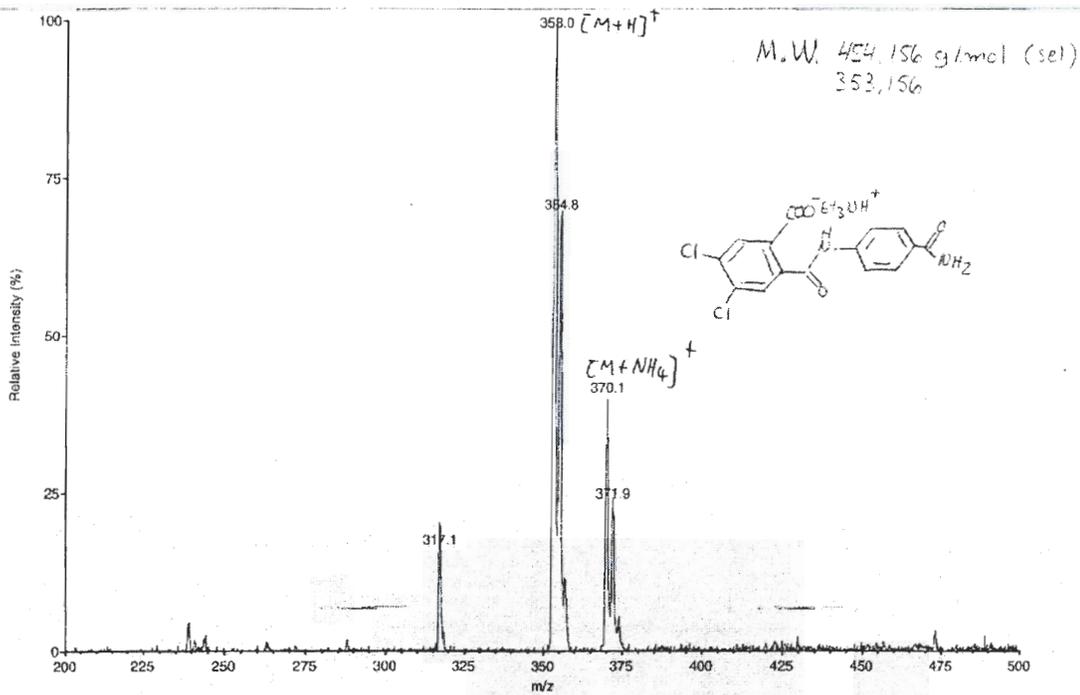
655,216



54 +Profile Q3SCAN
 Scans 31-33 minus 4-21 & 2-22 Time=1.30 min
 Sciex32728d - 11/12/2003 - 1:54 PM
 Marise (Dr. Voyer) 2E
 5 peaks

Sciex32728d/Scans 31-33

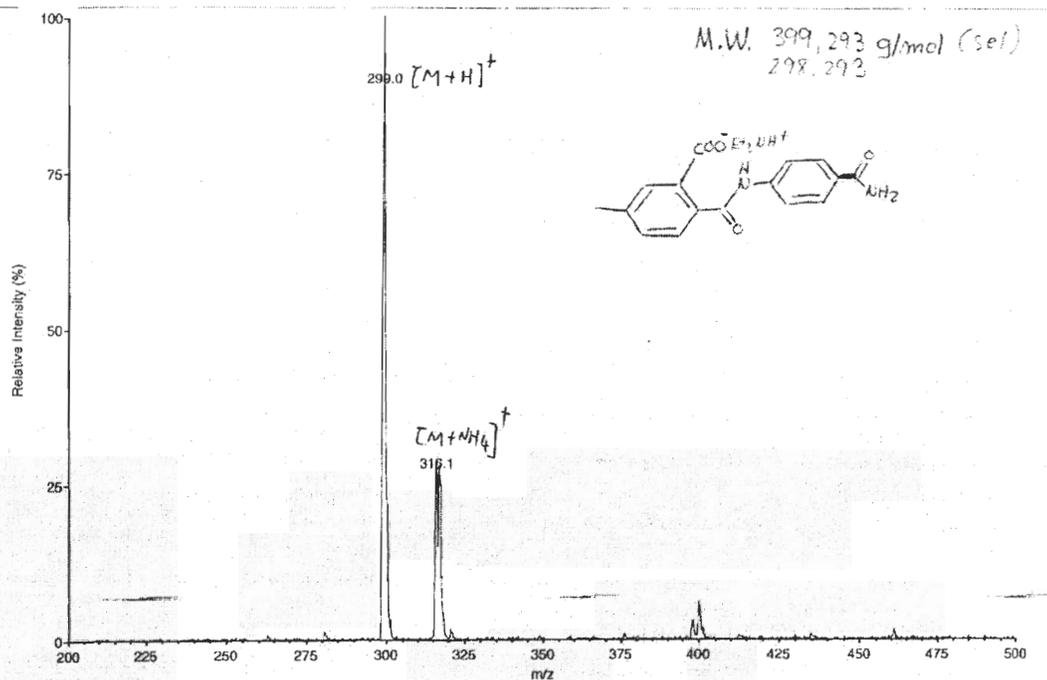
749,802



55 +Profile Q3SCAN
 Scans 21-22 minus 2-14 & 3-16 Time=0.86 min
 Sciex32729d - 11/12/2003 - 1:57 PM
 Manise (Dr. Voyer) 4E
 2 peaks

Sciex32729d/Scans 21-22

1,909,112



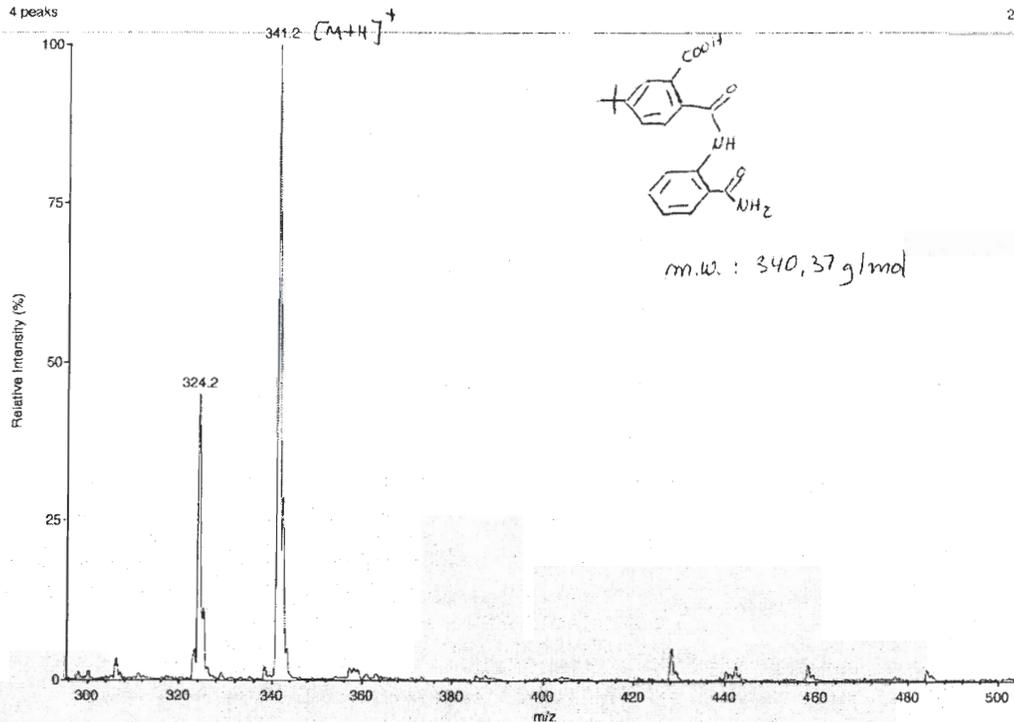
56

Profile Q3SCAN
Scans 39-46 minus 2-35 & 2-32 Time=1.46 min
Sciex33058d - 02/13/2004 - 2:19 PM
Francose (Dr. Voyer) 3B

Sciex33058d/Scans 39-46

4 peaks

2,537,728



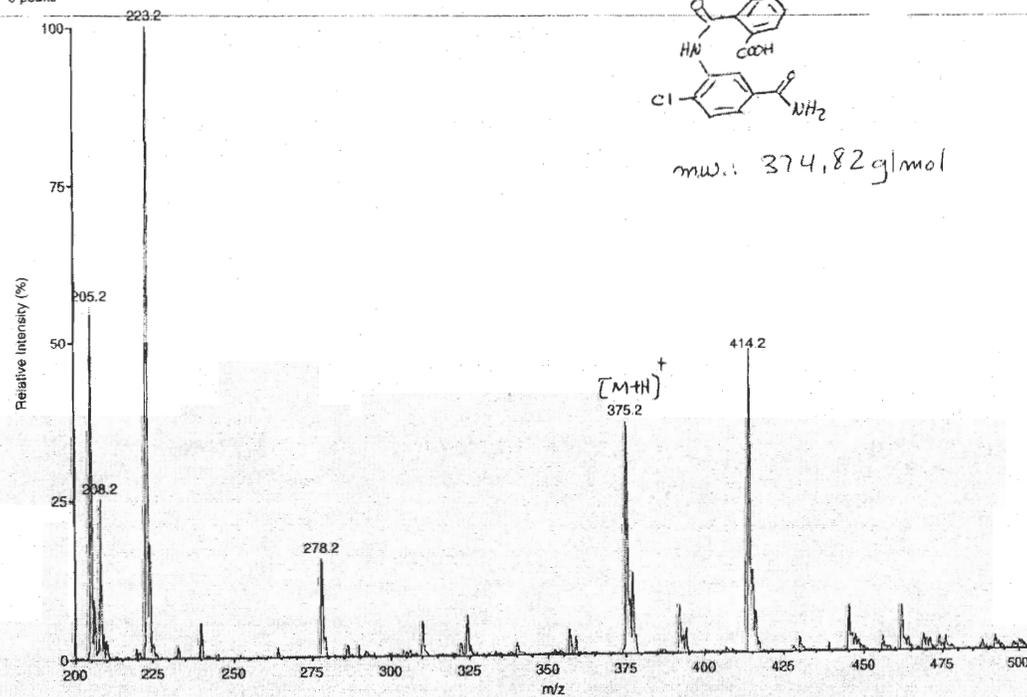
57

Profile Q3SCAN
Scans 45-54 minus 3-40 & 1-42 Time=1.71 min
Sciex33057d - 02/13/2004 - 2:13 PM
Francose (Dr. Voyer) 3D

Sciex33057d/Scans 45-54

8 peaks

1,526,737

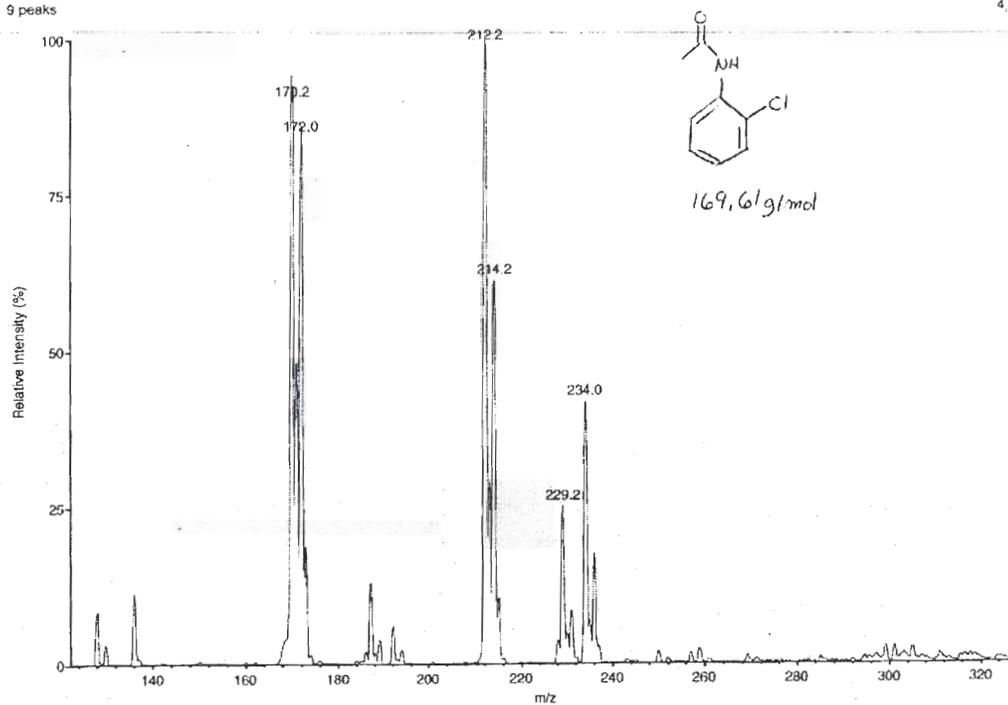


67a

+Profile Q3SCAN
Scans 66-70 minus 22:41 & 11:30 Time=2.27 min
Sciex33502d - 07/06/2004 - 1:21 PM
Melanie [Dr. Voyer] # SIM02151
9 peaks

Sciex33502d/Scans 66-70

4,482,000

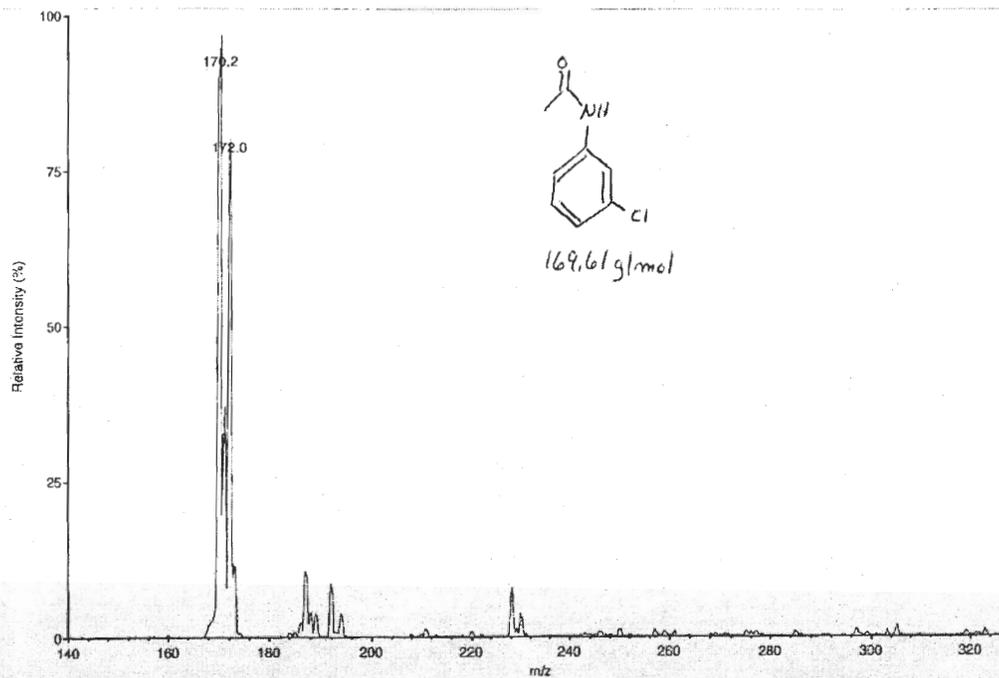


67b

+Profile Q3SCAN
Scans 44-49 minus 10:25 & 3:27 Time=1.60 min
Sciex33507d - 07/06/2004 - 1:41 PM
Melanie [Dr. Voyer] # SIM02155 (2)
4 peaks

Sciex33507d/Scans 44-49

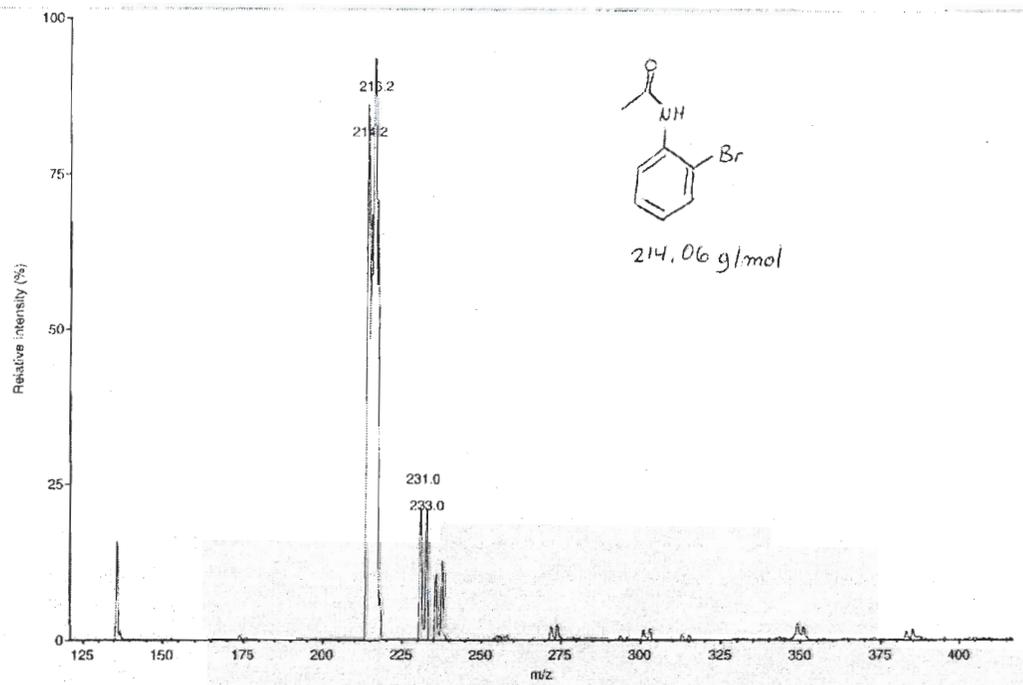
3,431,892



67c +Profile Q3SCAN
Scans 57-62 minus 2-31 & 13-31 Time=1.06 min
Sciex33503d - 07/06/2004 - 1:25 PM
Melanie [Dr. Voyer] # BLAJ-35
7 peaks

Sciex33503d/Scans 57-62

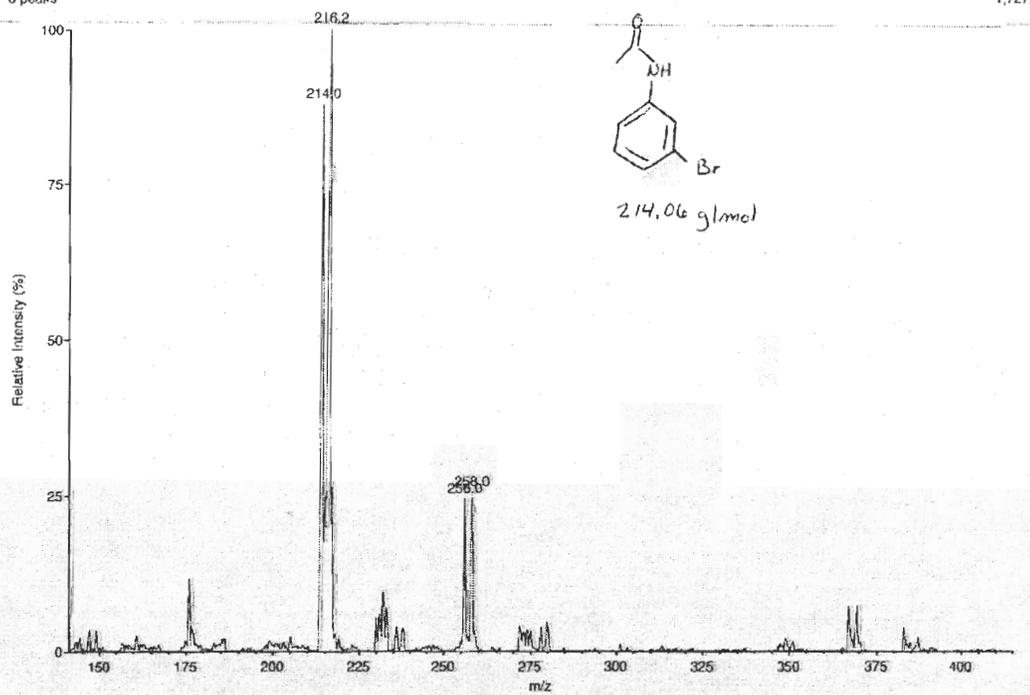
3,479,018



67d +Profile Q3SCAN
Scans 80-92 minus 11-39 & 11-46 Time=2.70 min
Sciex33508d - 07/06/2004 - 1:49 PM
Melanie [Dr. Voyer] # BLAJ-36
6 peaks

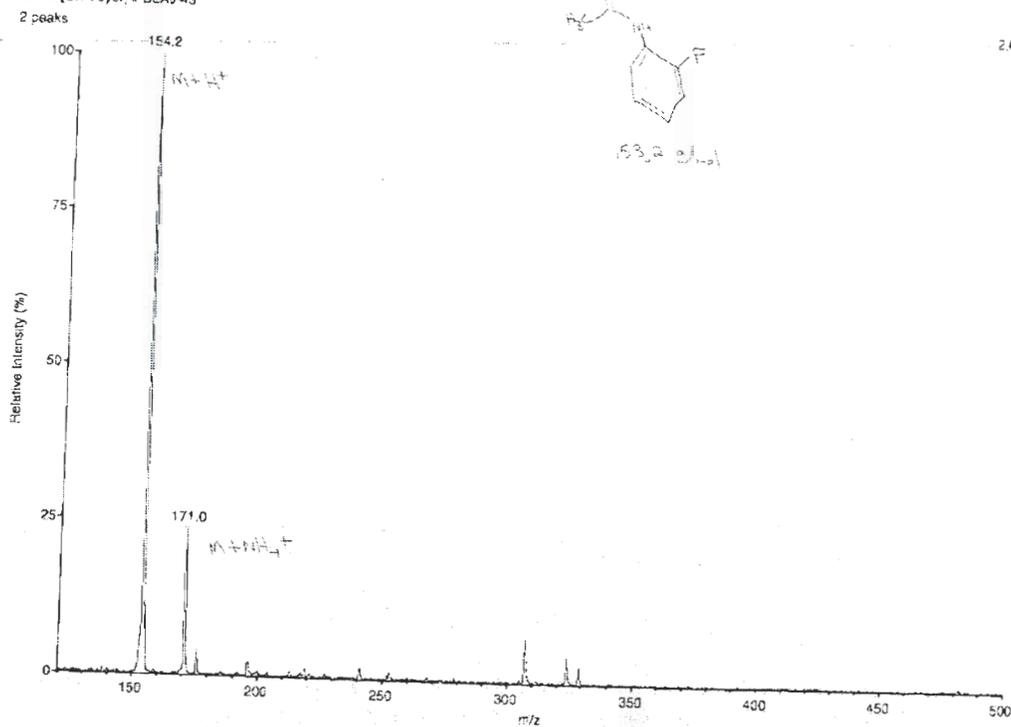
Sciex33508d/Scans 80-92

1,727,998



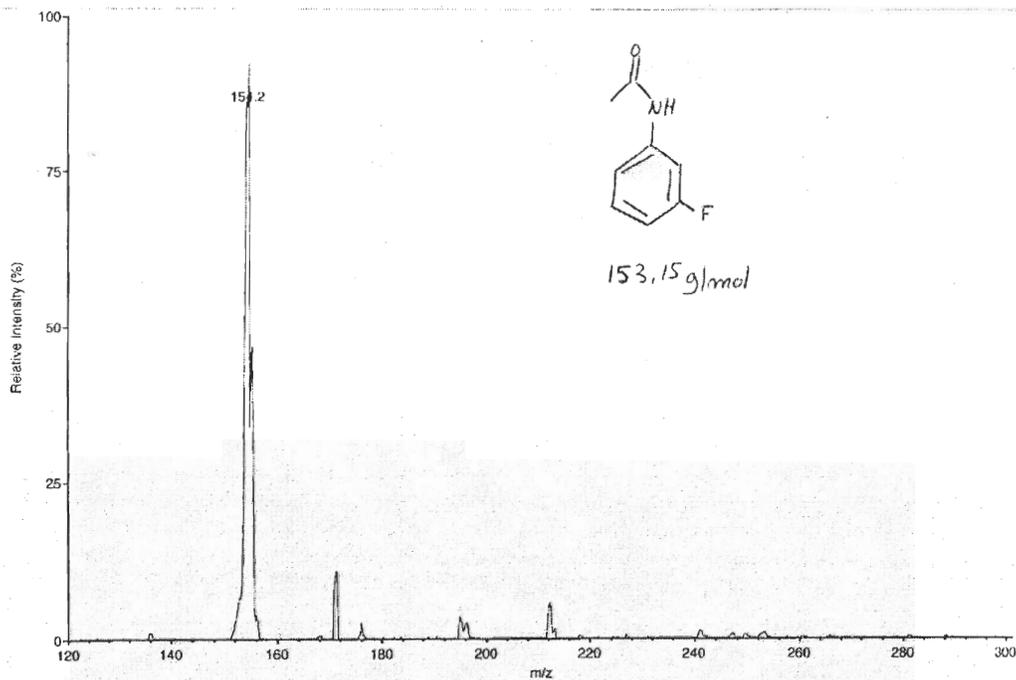
67e +Profile Q3SCAN
 Scans 42-45 minus 6-30 & 9-33 Time=1.44 min
 Sciex33603d - 08/04/2004 - 2:29 PM
 Joute [Dr. Voyer] # BLAJ-43

Sciex33603d/Scans 42-45



67f +Profile Q3SCAN
 Scans 47-50 minus 14-32 & 8-29 Time=1.59 min
 Sciex33509d - 07/06/2004 - 1:54 PM
 Melanie [Dr. Voyer] # BLAJ-38

Sciex33509d/Scans 47-50



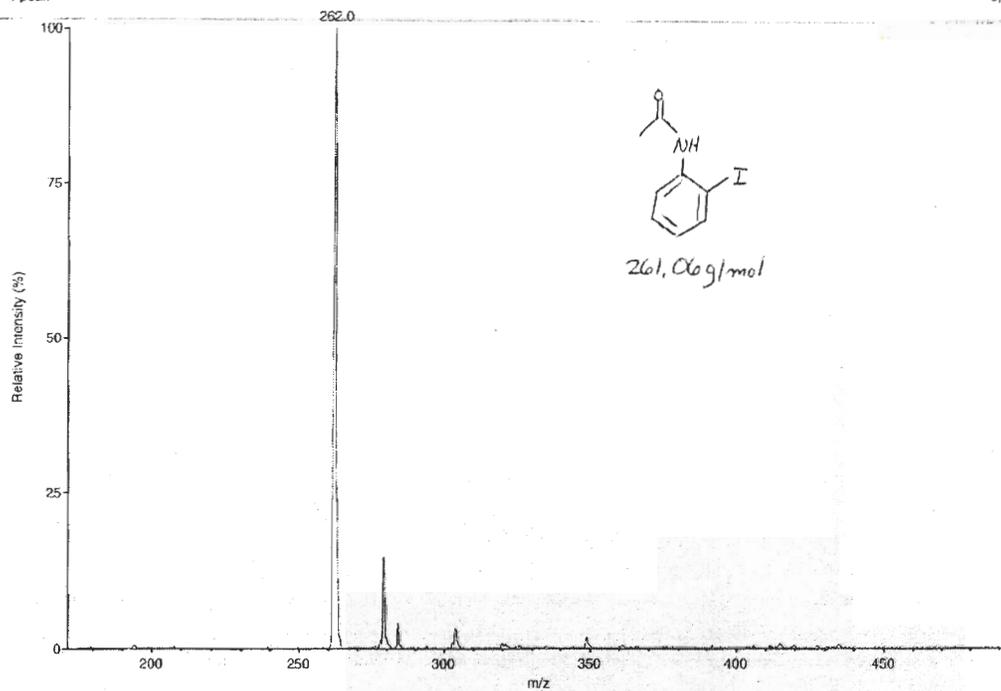
67g

+Profile Q3SCAN
Scans 56-62 minus 5-24 & 7-32 Time=2.24 min
Sciex33505d - 07/06/2004 - 1:33 PM
Melanie [Dr. Voyer] # SIM02157A

Sciex33505d/Scans 56-62

1 peak

5,599,275



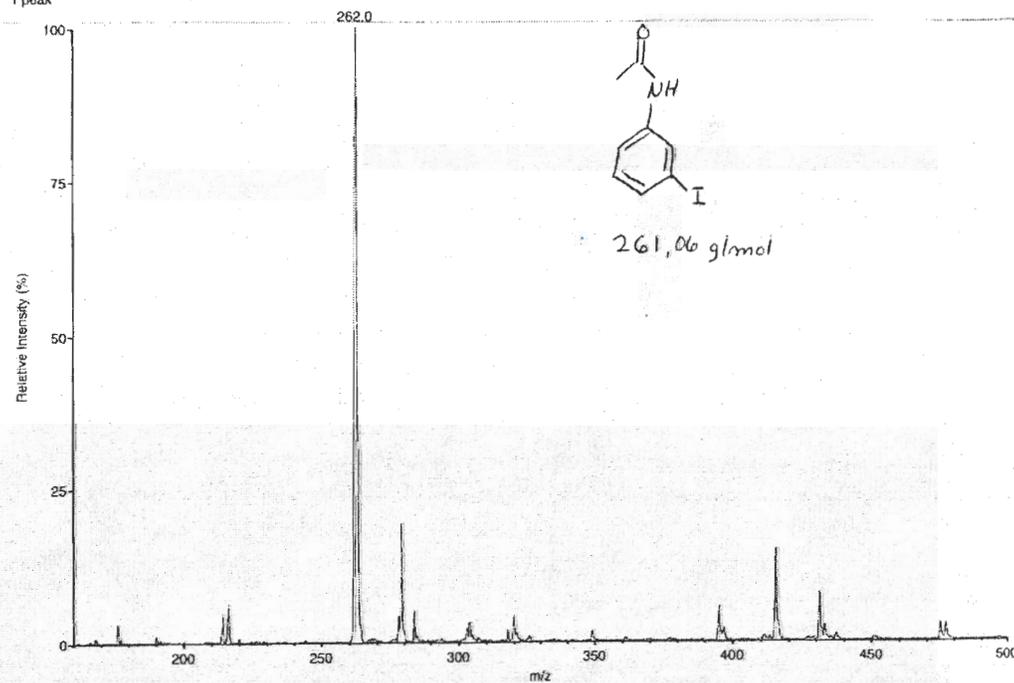
67h

+Profile Q3SCAN
Scans 48-51 minus 6-31 & 8-32 Time=1.45 min
Sciex33510d - 07/06/2004 - 1:57 PM
Melanie [Dr. Voyer] # BLAJ-39

Sciex33510d/Scans 48-51

1 peak

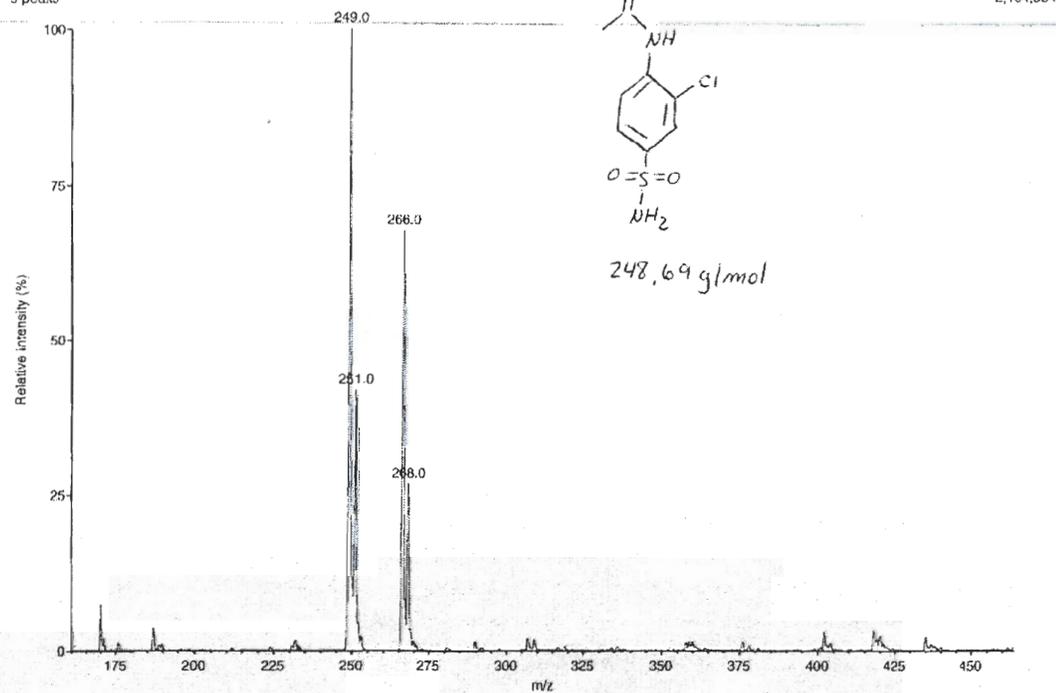
5,408,146



69a

+Profile Q3SCAN
 Scans 54-60 minus 7-39 & 7-43 Time=1.68 min
 Sciex33511d - 07/09/2004 - 2:00 PM
 Melanie [Dr. Voyer] # BLAJ-41
 5 peaks

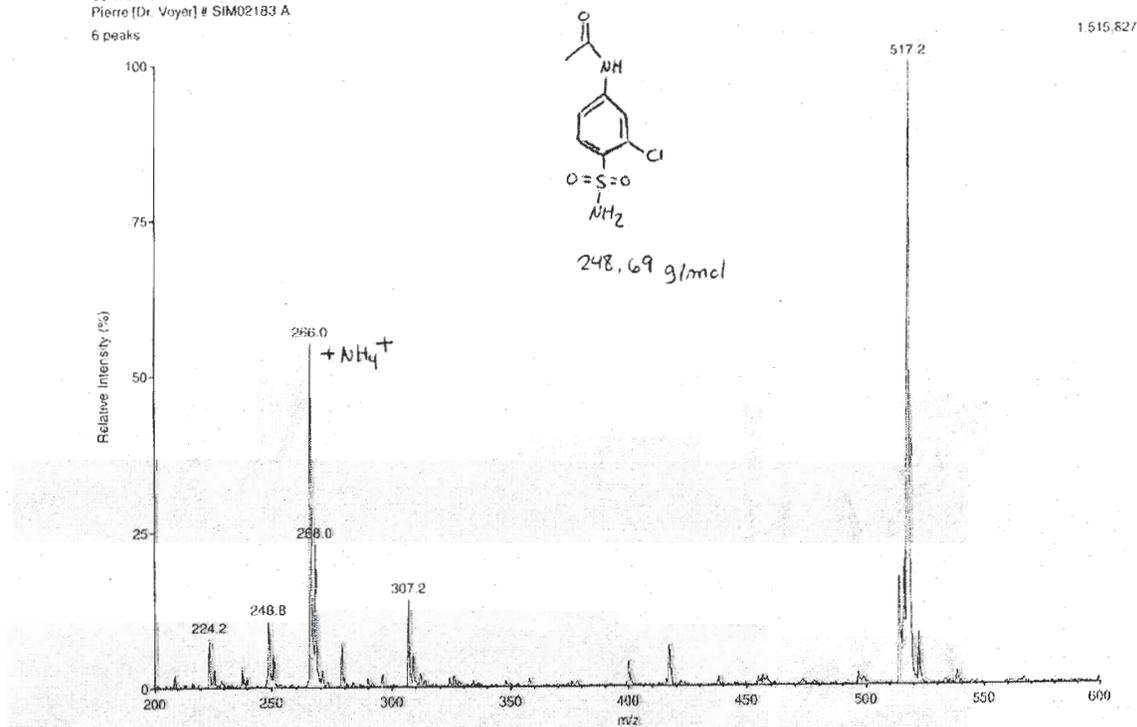
Sciex33511d/Scans 54-60



69b

+Profile Q3SCAN
 Scans 46-58 minus 10-35 & 15-34 Time=1.79 min
 Sciex33538d - 07/12/2004 - 12:29 PM
 Pierre [Dr. Voyer] # SIM02183 A
 6 peaks

Sciex33538d/Scans 46-58

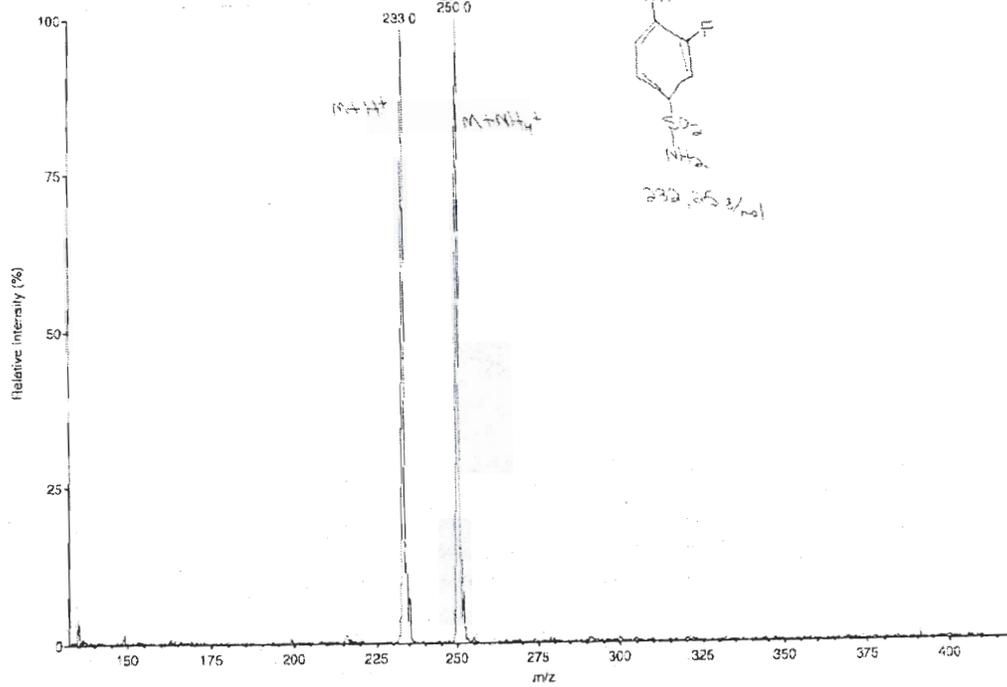


69e

-Profile Q3SCAN
 Scans 33-40 minus 12-25 & 6-26 Time=1.19 min
 Sciex33867d - 08/C4/2004 - 2:42 PM
 Jcutel (Dr. Voyer) # BLAJ-4B

Sciex33507d/Scans 33-40

1.64E 227

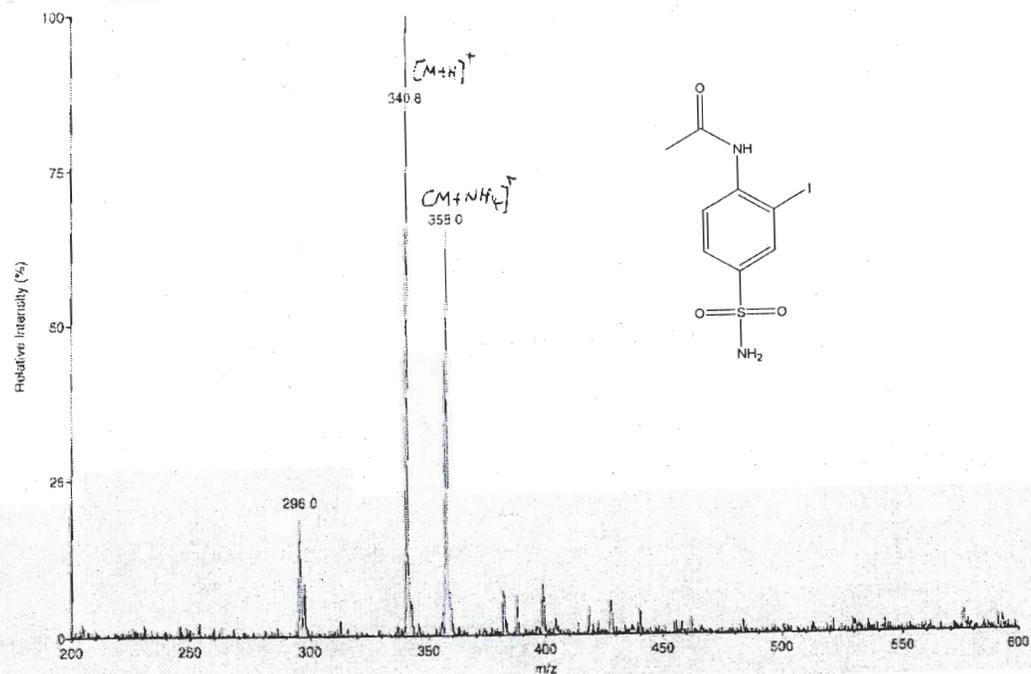


69g

-Profile Q3SCAN
 Scans 35-37 minus 7-29 & 6-30 Time=1.23 min
 sciex34342d - 02/02/2005 - 1:22 PM
 Miche (Dr. Voyer) BLAJ53 (ESI)

sciex34342d/Scans 35-37

491.246

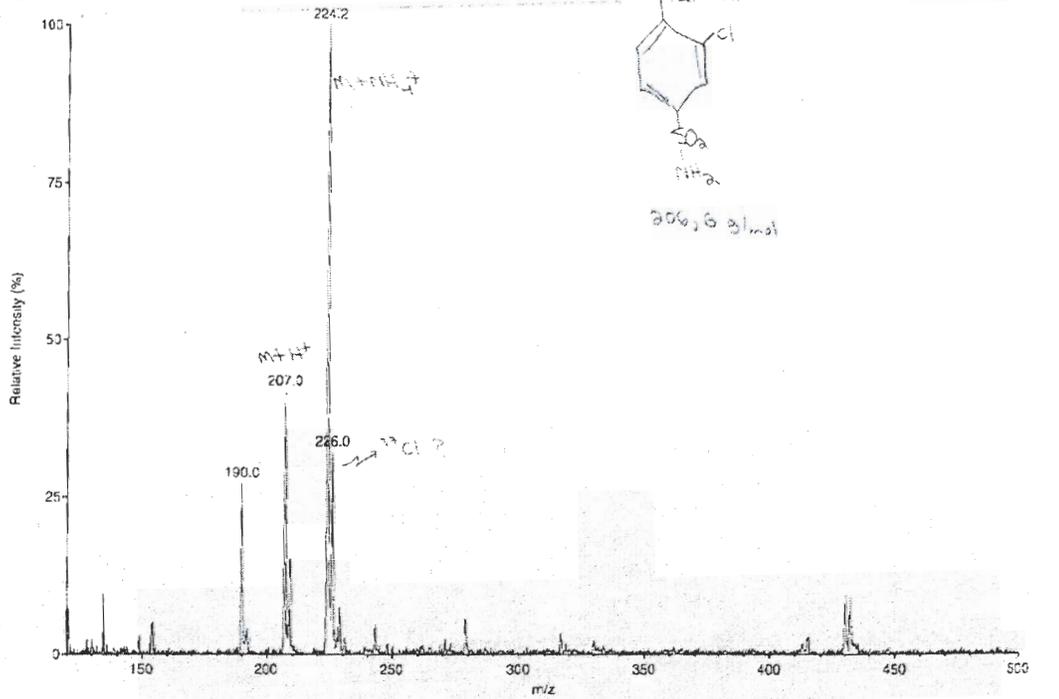


70a

+Profile Q3SCAN
 Scans 34-37 minus 11-25 & 7-23 Time=1.16 min
 Sciex33606d - 08/04/2004 - 2:39 PM
 Joutel (Dr. Voyer) # BLAJ-47

Sciex33606d/Scans 34-37

4 peaks



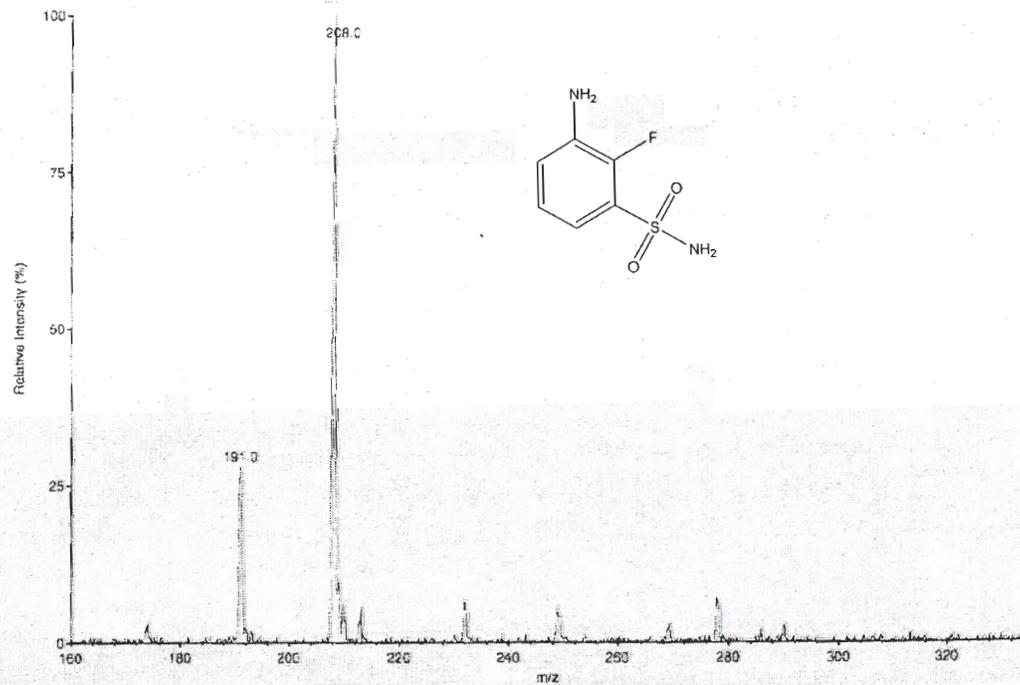
70e

+Profile Q3SCAN
 Scans 48-49 minus 7-29 & 7-32 Time=1.64 min
 sciex34341d - 02/02/2005 - 1:10 PM
 Michel (Dr. Voyer) BLAJ49 (ESI)

sciex34341d/Scans 48-49

2 peaks

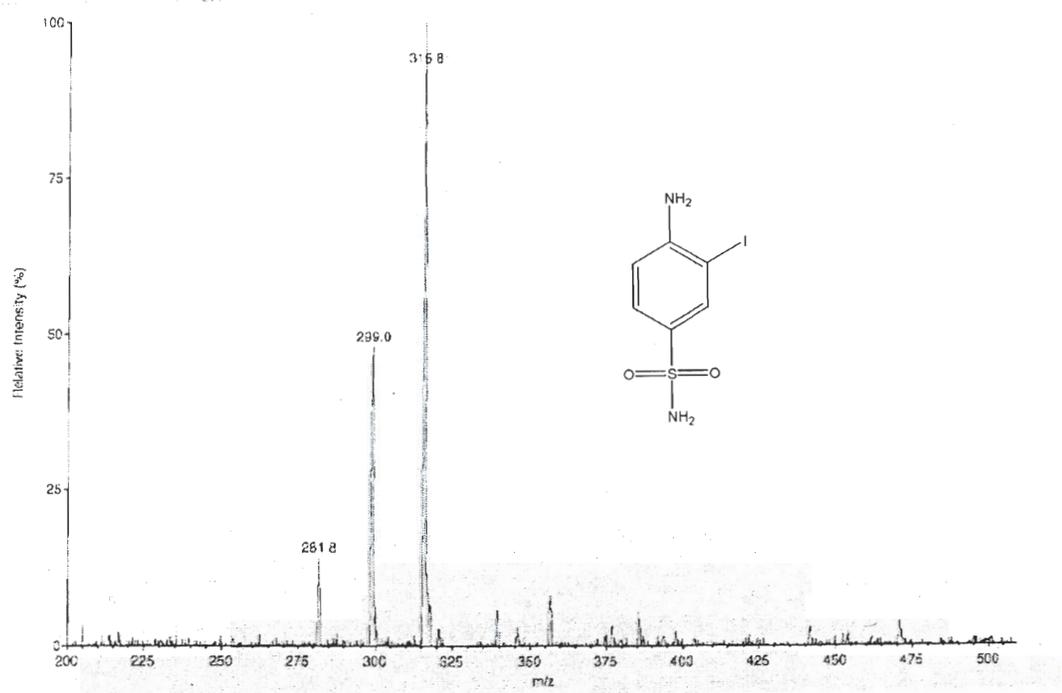
885.965



70g -Profile Q3SCAN
Scans 39-42 minus 8-37 & 8-35 Time=1.39 min
scix34343d - 02/02/2005 - 1:27 PM
M.chel (Dr. Voyer) BLA_51 (ES)
4 peaks

scix34343d;Scans 39-42

421.631



RÉFÉRENCES

1. G. Jung, *Combinatorial Chemistry : Synthesis, Analysis, Screening*, WILEY-VCH, **1999**, 601 pages.
2. M. Beaumont, *Synthèse sur support solide de molécules hautement fonctionnalisées à visée thérapeutique*, Mémoire de maîtrise, U. Laval, **2002**.
3. M. H. Geysen, R. H. Meloen, S. J. Barteling, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1984**, 81, 3998.
4. R. A. Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1985**, 82, 5131.
5. R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 2149.
6. A. Furka, *Comb. Chem.*, **2002**, 7, 1.
7. R. Hirschmann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1991**, 30, 1278.
8. F. Balkenhohl, C. Bussche-Hünnefeld, A. Lansky, C. Zechel, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 2288.
9. F. Guillier, D. Orain, M. Bradley, *Med. Chem. Rev.*, **2000**, 100, 2091.
10. J. S. Früchtel, G. Jung, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1996**, 35, 17.
11. A. Furka, *Drug Dev. Res.*, **1995**, 36, 1.
12. A. Lew, P. O. Krutzik, M. E. Hart, A. R. Chamberlin, *J. Comb. Chem.*, **2002**, 4, 95.
13. M. Larhed, A. Hallberg, *D. D. T.*, **2001**, 6, 406.
14. B. Wathey, J. Tierney, P. Lidström, J. Westman, *D. D. T.*, **2002**, 7, 373.
15. R. B. Silverman, *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action Second Edition*, Elsevier Academic Press, USA, 2004, 617 pages.
16. M. H. Ohlmeyer, R. N. Swanson, L. W. Dillard, J. C. Reader, G. Asouline, R. Kobayashi, M. Wigler, W. C. Still, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, 90, 10922.
17. H. P. Nestler, P. A. Bartlett, W. C. Still, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 4723.
18. S. H. Hwang, A. Lehman, X. Cong, M. M. Olmstead, K. S. Lam, C. B. Lebrilla, M. J. Kurth, *Org. Lett.*, **2004**, 6, 3829.

19. K. C. Nicolaou, J. A. Pfefferkorn, H. J. Mitchell, A. J. Roecker, S. Barluenga, G.-Q. Cao, R. L. Affleck, J. E. Lilling, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 9954.
20. C. Lapresle, *Bull. Inst. Pasteur*, **1986**, 84, 181.
21. www-personal.une.edu.au/.../sld078.htm
22. B. Pirotte, B. Masereel, M. Schynts, J. Delarge, *Chimie Nouvelle*, **1990**, 8, 920.
23. E. N. Marieb et G. Laurendeau, *Anatomie et Physiologie Humaines*, Éditions du Renouveau Pédagogique Inc., **1993**, 1014 pages.
24. A. J. Reyes and W. P. Leary, *Clinical Pharmacology and Therapeutic Uses of Diuretics*, Library of Congress, **1986**, 319 pages.
25. R. A. Pizzi, *Mod. Drug Disc.*, **2003**, February, 19.
26. A. F. Lant and G. M. Wilson, *Modern Diuretic Therapy in the Treatment of Cardiovascular and renal disease*, Excerpta Medica Amsterdam, **1973**, 365 pages.
27. M. L. Moore-Hoon, R. J. Turner, *Eur. J. Morph.*, **1998**, 36, 137.
28. P. Isenring, B. Forbush, *C. B. P. Part A*, **2001**, 130, 487.
29. G. Gamba, S. N. Saltzberg, M. Lombardi, A. Miyanoshta, J. Lytton, M. A. Hediger, B. M. Brenner, S. C. Hebert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1993**, 90, 2749.
30. J. C. Xu, C. Lytle, T. T. Zhu, J. A. Payne, E. Jr. Benz, B. III Forbush, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, 91, 2201.
31. E. Delpire, M. I. Rauchman, D. R. Beier, S. C. Hebert, S. R. Gullans, *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 25677.
32. G. Gamba, A. Miyanoshta, M. Lombardi, J. Lytton, W. S. Lee, M. A. Hediger, S. C. Hebert, *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 17713.
33. J. A. Payne, B. III Forbush, *Curr. Op. Cell. Biol.*, **1995**, 7, 493.
34. S. C. Hebert, G. Gamba, *Proc. Ass. Am. Phys.*, **1995**, 107, 76.
35. J. A. Payne, B. III Forbush, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1994**, 91, 4544.
36. C. M. Gillen, S. Brill, J. A. Payne, B. III Forbush, *J. Biol. Chem.*, **1996**, 271, 16237.
37. D. B. Mount, A. Mercado, L. Song, J. Xu, A. L. Jr. George, E. Delpire, G. Gamba, *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 16355.

38. J. E. Race, F. N. Makhoul, P. J. Logue, F. H. Wilson, P. B. Dunham, E. J. Holtzman, *Am. J. Physiol.*, **1999**, 277, C1210.
39. J. A. Payne, T. J. Stevenson, L. F. Donaldson, *J. Biol. Chem.*, **1996**, 271, 16245.
40. L. Caron, F. Rousseau, E. Gagnon, P. Isenring, *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275, 32027.
41. P. Blakely, D. A. Vaughn, D. D. Fanestil, *J. Am. Soc. Neph.*, **1996**, 7, 1052.
42. B. III Forbush, H. C. Palfrey, *J. Biol. Chem.*, **1983**, 258, 11787.
43. P. Isenring, S. C. Jacoby, B. III Forbush, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, 95, 7179.
44. C. Lytle, T. J. McManus, M. Haas, *Am. J. Physiol.*, **1998**, 274, C299.
45. J. M. Russell, *Phys. Rev.*, **2000**, 80, 211.
46. K. E. Kim, G. Onesti, J. H. Moyer, C. Swartz, *Am. J. Car.*, **1971**, 27, 407.
47. W. M. Kirkendall, J. H. Stein, *Am. J. Card.*, **1968**, 22, 162.
48. R.-C. Moreau, *Bull. Acad. Nat. Méd.*, **1982**, 66, 361.
49. R.-C. Moreau, J.-P. Fournier, G. Narcisse, F. Hubert, P. Choay, *Eur. J. Med. Chem.*, **1977**, 12, 421.
50. C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Del. Rev.*, **2001**, 46, 3.
51. M. Remko, C.-W. von der Lieth, *Bioorg. Med. Chem.*, **2004**, 12, 5395.
52. A. Scozzafava, F. Mincione, L. Menabuoni, C. T. Supuran, *Drug Des. Disc.*, **2001**, 17, 337.
53. M. J. Bergeron, E. Gagnon, B. Wallendorff, J.-Y. Lapointe, P. Isenring, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, **2003**, 285, F68.
54. E. Gagnon, B. Forbush, L. Caron, P. Isenring, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **2003**, 284, C365.
55. P. Isenring, S. C. Jacoby, J. Chang, B. Forbush III, *J. Gen. Physiol.*, **1998**, 112, 549.
56. M. A. Ilies, D. Vullo, J. Pastorek, A. Scozzafava, M. Ilies, M. T. Caproiu, S. Pastorekova, C. T. Supuran, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 2187.
57. W. F. Degrado, E. T. Kaiser, *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 1295.

58. G. Ösapay, A. Profit, J. W. Taylor, *Tet. Lett.*, **1990**, 31, 6121.
59. M. Tremblay, *Design et synthèse de molécules peptidomimétiques à motif sulfahydantoïne*, Mémoire de maîtrise, U. Laval, **2001**.
60. M. Tremblay, N. Voyer, S. Boujabi, G. F. Dewynter, *J. Comb. Chem.*, **2002**, 4, 429.
61. A. I. Vogel, *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry Fifth Edition*, Longman Scientific & Technical, **1989**, 1514 pages.
62. L. A. Paquette, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis Volume 3*, John Wiley & Sons, **1995**, 1602.
63. P. Jacques, P. Perret, M.-J. Bouchet, B. Foucaud, M. Goeldner, D. Benke, *Eur. J. Biochem.*, **1999**, 264, 189.