

## **Index des abréviations**

5-HT <sub>3</sub>	Récepteur 5-hydroxytryptamine de type 3
Å	Angström
AcOH	Acide acétique
Ach	Acétylcholine
AChBP(s)	Acetylcholine binding protein(s)
ADN	Acide désoxyribonucléique
AMI	Imidacloprid modifié par un azobenzène
ANR	Agence Nationale de la Recherche
APTS	Acide <i>para</i> -toluènesulfonique
ASIC	Canaux ioniques sensibles aux acides
Ar	Aryle
BMIM	1-Butyl-3-methylimidazolium
Bz	Benzoyle
CCM	Chromatographie sur couche mince
CD(s)	Cyclodextrine(s)
CL(s)	Cristaux liquid(s)
CLS(s)	Ligand(s) cagé(s)
ConA	Concanavaline A
Conv.	Conversion
Cys	Cystéine
Da	Dalton
DBE	Éther dibutylique
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DCE	1,2-dichloroéthane
DCM	Dichlorométhane
DL50	Dose létale médiane
DMAP	4-Diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
EC	Domaine extracellulaire
ELIC	Erwinia ligand-gated ion channel
éq	Equivalent(s)
GABA <sub>A</sub> R	Récepteur à l'acide $\gamma$ -aminobutyrique

GAD(s)	Colorant(s) azoïque(s) glycoconjugué(s)
GC-MS	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
GD	Groupe directeur
GF	Groupe fonctionnel
GLIC	Gloeobacter ligand-gated ion channel
Gln	Glutamine
GluCl	Glutamate-gated chloride channel
HFIP	Hexafluoro-2-propanol
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
<i>i</i> -Pr	Isopropyle
LC-MS	Chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
MW	Poids moléculaire
MWC	Modèle de Monod-Wyman-Changeux
nAChR(s)	Récepteur(s) nicotinique(s) à l'acétylcholine
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimide
NIS	<i>N</i> -Iodosuccinimide
nOesy	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
PA-Nic	Nicotine photoactivatable
PCL(s)	Ligand(s) photochromique(s)
PE	Éther de pétrole
PIDA	Diacétate d'iodobenzène
PIFA	[Bis(trifluoroacetoxy)iodo]benzene
PIP	2-(Pyridyl-2-yl) isopropyle
PivOH	Acide pivalique
Phe	Phénylalanine
pH	Potentiel hydrogène
pKa	Constante d'acidité logarithmique
pLGIC(s)	Canal(aux) ionique(s) pentamérique(s) activé(s) par des ligands
PNA	Lectine d'agglutine d'arachide
PSS	Etat Photostationnaire
PTL(s)	Ligand(s) photoisomérisable(s) fixé(s)
Pyr	Pyridinyle
PyICl	Iodochlorure de pyridinium
PVP	Polyvinylpyrrolidone

rdt	Rendement
RMN	Résonance magnétique nucléaire
SAM	Monocouche auto-assemblé
$S_E$	Substitution électrophile
Ta	Température ambiante
TBAF	Fluorure de tétra- <i>n</i> -butylammonium
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -Butyle
$T_{éb}$	Point d'ébullition
$T_{fus}$	Point de fusion
Tf	Triflate
TFE	Trifluoroéthanol
TMA	Trimethylammonium
TMADCl	Dichloroiodate de tétramethylammonium
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TM	domaine Transmembranaire
TMS	Triméthylsilyle
TsOH	Acide <i>para</i> -toluènesulfonique
UV	Ultraviolet

# **Table des matières**

<b>CHAPITRE I INTRODUCTION .....</b>	<b>5</b>
1 Les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine (nAChRs) : une cible thérapeutique .....	6
1.1 Structure des nAChRs .....	6
1.2 Transition allostérique: vers la compréhension de mécanisme d'ouverte-fermeture du canal ionique .....	9
2 Optopharmacologie : contrôle optique des récepteurs ionotropiques et allostériques par la lumière.. .....	14
2.1 Optopharmacologie chimique.....	14
2.2 Optopharmacologie et les nAChRs. ....	18
3 Molécules photoisomérisables.....	21
4 Projet de thèse.....	24
4.1 Contexte de recherche .....	24
4.2 Projet de recherche .....	25
<b>CHAPITRE II IODATION D'AZOBENZENES .....</b>	<b>27</b>
1 Iodation par substitution électrophile aromatique .....	28
1.1 Approche historique : iodation avec I <sub>2</sub> .....	28
1.2 Iodation oxydante .....	29
1.3 Iodations activées par les métaux de transition .....	39
1.4 Iodation sans additif en présence de HFIP .....	44
2 Iodation par activation C-H .....	46
2.1 Iodation par activation C-H pallado-catalysée .....	46
2.2 Activation C-H catalysée par les autres métaux de transition .....	48
3 Résultats et discussion .....	53
3.1 Iodation d'azobenzènes par activation C-H.....	53
3.2 Iodation d'azobenzènes par substitution électrophile aromatique en présence de HFIP.....	55
4 Conclusions .....	63
<b>CHAPITRE III CONCEPTION D'AZOBENZENES THIOGLYCOSYLES.....</b>	<b>64</b>
1 Introduction d'oligosides : amélioration de l'hydrosolubilité d'azobenzène .....	65
1.1 Stratégie d'amélioration de l'hydro solubilité .....	65
1.2 Exemples d'azobenzènes couplés à des oligosides. ....	65

2	Réaction de thioglycosylation de $C_{sp^2}$ .....	68
3	Résultats .....	74
3.1	Synthèse d'azobenzènes thioglycosylés .....	74
3.2	Caractérisations et analyses des azobenzènes thioglycosylés.....	76
4	Conclusion et perspectives .....	97
<b>CHAPITRE IV CONCLUSION .....</b>		<b>98</b>
<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>		<b>101</b>

# **CHAPITRE I**

## **INTRODUCTION**

# 1 Les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine (nAChRs) : une cible thérapeutique

Les récepteurs nicotiques à l'acétylcholine (nAChRs) ont été les premiers récepteurs transmembranaires qui furent isolés et identifiés chimiquement. Les nAChRs sont des cibles thérapeutiques capitales pour de nombreux médicaments et sont impliqués dans de nombreuses maladies telles que les maladies d'Alzheimer et de Parkinson, la schizophrénie, l'anxiété, la dépression et les addictions.

De récentes avancées sur la connaissance de la structure et des transitions allostériques des nAChRs induites par la fixation du ligand endogène, l'acétylcholine, ont été rapportées dans la littérature.<sup>1,2</sup> Cependant la maîtrise de la pharmacologie et de la modulation de l'activité de cette cible thérapeutique requiert une meilleure compréhension de la dynamique de ses changements conformationnels à l'échelle atomique.<sup>3</sup> En effet, bien que les informations biochimiques et électrophysiologiques sur les nAChRs soient abondantes, un manque de données structurales sur ce récepteur persiste encore. Cette carence de données provient de la difficulté à cristalliser ces protéines transmembranaires et d'obtenir des clichés radiocristallographiques nécessaires à l'acquisition d'informations à l'échelle moléculaire.

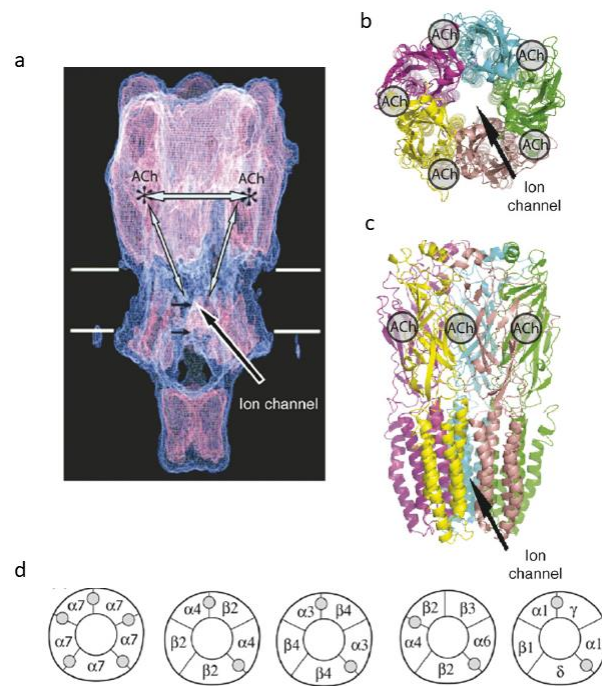
## 1.1 Structure des nAChRs

Les nAChRs sont des glycoprotéines transmembranaires comprenant cinq sous-unités identiques ou homologues d'environ 300 kDa arrangées pseudosymétriquement autour d'un canal ionique. Chez les mammifères, il existe différents sous-types de nAChRs qui diffèrent par leur composition en sous-unités ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  et  $\epsilon$ ) et dont l'expression est elle-même dépendante leur localisation tissulaire. Ainsi, 9 sous-unités  $\alpha$  et 3 sous-unités  $\beta$  sont exprimées dans le système nerveux central. Leurs structures moléculaires analysées par microscopie électronique sont décrites comme des cylindres transmembranaires de ~8 nm de diamètre et de 16 nm de longueur et sous la forme de rosette comprenant cinq sous-unités organisées autour d'un axe symétrique perpendiculaire au plan de la membrane (Figure 1d).<sup>1</sup>

<sup>1</sup> J. P. Changeux, A. Taly, *Trends. Mol. Med.* **2008**, *14*, 93-102.

<sup>2</sup> C. Gotti, M. Zoli, F. Clementi, *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, *27*, 482-491.

<sup>3</sup> A. B. Smit, N. I. Syed, D. Schaap, J. van Minnen, J. Klumperman, K. S. Kits, H. Lodder, R. C. van der Schors, R. van Elk, B. Sorgedraeger, *Nature* **2001**, *411*, 261-268.



**Figure 1.** Structure de nAChRs: a) Données de microscopie électronique obtenues à partir de cristaux 2D d'organes électriques *Torpedo*<sup>4</sup>; b) et c)  $\alpha 7$ -nAChR à modèle pentamère obtenu par modélisation comparative et représenté en vue latérale (b) et vue de dessus (c)<sup>5</sup>; d) représentation de la diversité du pentamère : le site de ACh-binding se trouve à la limite des sous-unités voisines et comprend une sous-unité principale de  $\alpha$ -type avec une sous-unité complémentaire de  $\beta$ -type.<sup>5</sup>

Les structures tridimensionnelles (3D) des nAChRs et de leurs homologues sont relativement bien caractérisées et l'analyse des séquences des protéines révèle un schéma général pour chaque sous-unité qui consiste en (i) un domaine extracellulaire (EC) globulaire N-terminal ressemblant topologiquement à l'immunoglobuline, (ii) un domaine transmembranaire (TM) constitué d'un faisceau de quatre hélices  $\alpha$  transmembranaires (M1 à M4) constituant le canal ionique et (iii) un domaine cytoplasmique, inséré entre M3 et M4, contribuant à l'ancrage des nAChRs dans la membrane postsynaptique et modulant l'activité du canal.

Les structures complètes des nAChRs ont été dans un premier temps établies à l'aide des études structurales de leurs composants: (i) La structure aux rayons X à 1,76 Å du domaine EC a été d'abord résolue pour l'ACh binding Protein (AChBP), un homologue pentamérique soluble du domaine EC du nAChR, initialement cloné à partir d'escargots invertébrés;<sup>6</sup> (ii) la structure cristalline à 1,94 Å de résolution d'une sous-unité  $\alpha$ -1 du domaine EC issue de souris a révélé la présence d'une molécule d'eau dans le sandwich  $\beta$  et d'une chaîne glucidique N-liée dans le domaine EC;<sup>7</sup> et (iii) des données obtenues par microscopie électronique à 4 Å de résolution basé sur des membranes riches en récepteurs issues de l'organe électrique du poisson *Torpedo* ont permis de visualiser les nAChRs en 2D (Figure 1 a).<sup>4</sup> Ces dernières données obtenues pour le domaine EC et le domaine TM ont été utilisées pour créer des modèles 3D des nAChRs (Figure 1b et Figure

<sup>4</sup> A. Taly, M. Delarue, T. Grutter, M. Nilges, N. Le Novère, P. J. Corringer, J. P. Changeux, *Biophys. J.* **2005**, 88, 3954-3965.

<sup>5</sup> C. Gotti, M. Zoli, F. Clementi, *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, 27, 482-491.

<sup>6</sup> T. K. Sixma, A. B. Smit, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2003**, 32, 311-334

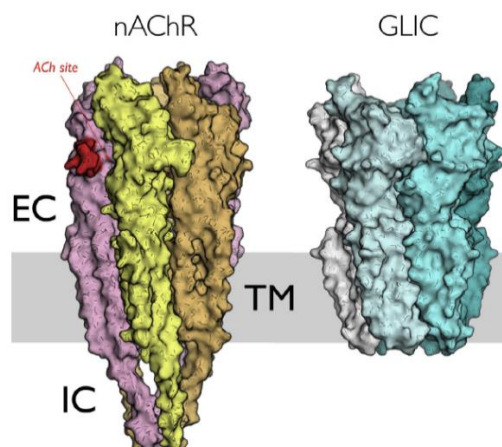
<sup>7</sup> S. Amiri, K. Tai, O. Beckstein, P. C. Biggin, M. S. Sansom, *Mol. Membr. Biol.* **2005**, 2, 151-162.



1c).<sup>8, 9, 10, 11</sup>

De plus, des expériences de marquage d'affinité et de mutagenèse dirigée menées avec divers nAChRs et des récepteurs homologues ont montré que (i) les sites de fixation de ACh sont situés à l'interface des deux sous-unités dans le domaine EC, (ii) les segments M2 du domaine TM bordent le canal ionique et (iii) les éléments de liaison impliqués lors de la régulation de l'ouverture du canal se partagent entre les deux domaines à l'interface des domaines EC-TM. Récemment, l'utilisation du cryo-microscopie électronique nous permet d'étudier la structure en haute résolution des nAChRs de type musculaire.<sup>12</sup> Le récepteur a été stabilisé en l'état fermé par la fixation de l' $\alpha$ -bungarotoxine. La structure révèle que la fixation d'une molécule de toxine à chacune des deux interfaces de sous-unités bloque la fixation de l'acétylcholine. La structure fournit un modèle pour comprendre le déclenchement de canaux activé par des ligands et comment des mutations dans nAChRs provoquent des syndromes myasthéniques congénitaux.

Les structures complètes de pLGICs ont été obtenues avec une résolution atomique grâce à deux homologues procaryotes des nAChRs issus de *Gloeobacter violaceus* (GLIC)<sup>13, 14</sup> (Figure 2), d'*Erwinia chrysanthemi* (ELIC)<sup>15</sup> et avec trois récepteurs eucaryotes: GluCl de *Caenorhabditis elegans*,<sup>16</sup> le récepteur 5-HT3 de la souris<sup>17</sup> et le récepteur GABA chez l'Homme.<sup>18</sup> Généralement, les structures cristallographiques disponibles des procaryotes et des eucaryotes des pLGICs révèlent une similitude frappante de la structure 3D des nAChRs avec ses récepteurs homologues.<sup>19, 20</sup>



**Figure 2.** Topologie générale de pLGICs.<sup>21</sup>

Les derniers structures obtenus des homologues des nAChRs nous permettent de mieux comprendre le

<sup>8</sup> A. Taly, P. J. Corringer, T. Grutter, L. P. de Carvalho, M. Karplus, J. P. Changeux, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2006**, *103*, 16965-16970.

<sup>9</sup> X. Cheng, B. Lu, B. Grant, R. J. Law, J. A. McCammon, *J. Mol. Biol.* **2006**, *355*, 310-324.

<sup>10</sup> J. Monod, J. Wyman, J. P. Changeux, *J. Mol. Biol.* **1965**, *12*, 88-118.

<sup>11</sup> M. B. Jackson, *Biophys. J.* **1986**, *49*, 663-672.

<sup>12</sup> M. M. Rahman, J. Teng, B. T. Worrell, C. M. Noviello, M. Lee, A. Karlin, R. E. Hibbs, *Neuron*, **2020**, *106*, 952-962.

<sup>13</sup> R. J. Hilf, R. Dutzler, *Nature* **2009**, *457*, 115-118.

<sup>14</sup> N. Bocquet, H. Nury, M. Baaden, C. Le Poupon, J. P. Changeux, M. Delarue, P. J. Corringer, *Nature* **2009**, *457*, 111-114.

<sup>15</sup> R. J. Hilf, R. Dutzler, *Nature* **2008**, *452*, 375-379.

<sup>16</sup> R. E. Hibbs, E. Gouaux, *Nature* **2011**, *474*, 54-60.

<sup>17</sup> G. Hassaine, C. Deluz, L. Grasso, R. Wyss, M. B. Tol, R. Hovius, A. Graff, H. Stahlberg, T. Tomizaki, A. Desmyter, *Nature* **2014**, *512*, 276-281.

<sup>18</sup> P. S. Miller, A. R. Aricescu, *Nature* **2014**, *512*, 270-275.

<sup>19</sup> P. J. Corringer, F. Poitevin, M. S. Prevost, L. Sauguet, M. Delarue, J. P. Changeux, *Structure* **2012**, *20*, 941-956.

<sup>20</sup> A. Taly, J. Hénin, J. P. Changeux, M. Cecchini, *Channels* **2014**, *8*, 350-360.

<sup>21</sup> M. Cecchini, J. P. Changeux, *Neuropharmacology*, **2015**, *96*, 137-149.

mécanisme d'ouverture-fermeture du canal ionique pentamérique. Tout d'abord, les structures cristallographiques de l'AChBP qui représentent la partie extracellulaire de la protéine donnent une image partielle, et figée du domaine EC des nAChRs sous forme ouverte, compliquant de fait le développement rationnel de molécules bioactives. Si les récepteurs ELIC et GluCl ont été obtenus dans un seul état, respectivement fermé et ouvert, le récepteur GLIC a lui pu être obtenu dans un état ouvert actif, puis dans deux états complémentaires, localement fermé et fermé par l'équipe de Dr Pierre Jean Corringer.<sup>22, 23</sup> Ceci fait de GLIC un modèle de choix pour la compréhension des transitions allostériques de la famille des récepteurs canaux pentamériques, car ces trois structures cristallographiques de GLIC ont permis de donner un regard nouveau sur les mouvements de transitions entre ces différents états.

## **1.2 Transition allostérique: vers la compréhension de mécanisme d'ouverte-fermeture du canal ionique**

Sur la base du modèle de Monod-Wyman-Changeux (MWC), la réponse fonctionnelle du nAChRs a été interprétée comme une séquence entre quelques états conformationnels *globaux* et *discrets* induits par la fixation de l'agoniste (Figure 3).<sup>10, 24 25</sup> En associant des études de stimulations de dynamique moléculaire avec des structures à haute résolution de pLGIC, ces approches ont permis d'établir une nouvelle dimension temporelle et ont mis en lumière les événements liant la liaison du neurotransmetteur à l'ouverture du canal ionique à une distance de 60 Å. Grâce à ces données, le mécanisme de déclenchement a été illustré avec précision. Il est initié par une isomérisation conformationnelle progressive, qui commence au niveau de site de fixation orthostérique (boucles A, B et C), se propage à l'interface des domaines EC et TM (boucle  $\beta$ 1- $\beta$ 2 et boucle Cys) *via* un réarrangement de la partie extracellulaire en sandwich  $\beta$  et descend ensuite vers les hélices transmembranaires (d'abord M2, puis M4 et M3) pour finalement ouvrir le pore (Figure 4).<sup>22, 26, 27, 28</sup>

<sup>22</sup> L. Sanguet, A. Shahsavari, F. Poitevin, C. Huon, A. Menny, A. Nemecek, A. Haouz, J. P. Changeux, P. J. Corringer, M. Delarue, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111*, 966-971.

<sup>23</sup> M. S. Prevost, L. Sanguet, H. Nury, C. Van Renterghem, C. Huon, F. Poitevin, M. Baaden, M. Delarue, P. J. Corringer, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2012**, *19*, 642-649.

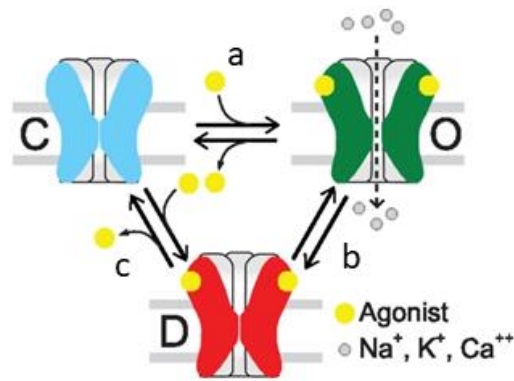
<sup>24</sup> J. P. Changeux, S. J. Edelstein, *Science*, **2005**, *308*, 1424-1428.

<sup>25</sup> Q. Cui, M. Karplus, *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* **2008**, *17*, 1295-1307.

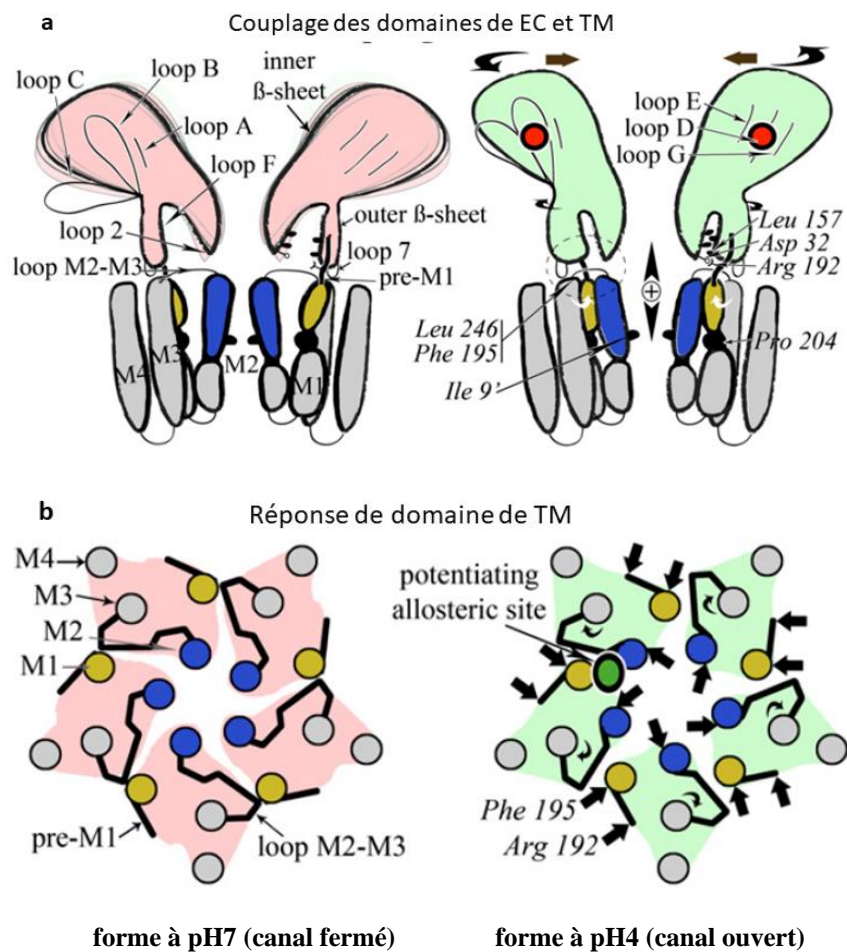
<sup>26</sup> N. Calimet, M. Simoes, J. P. Changeux, M. Karplus, A. Taly, M. Cecchini, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2013**, *110*, E3987-E3996.

<sup>27</sup> C. Grosman, M. Zhou, A. Auerbach, *Nature* **2000**, *403*, 773-776.

<sup>28</sup> P. Purohit, A. Mitra, A. Auerbach, *Nature* **2007**, *446*, 930-933.



**Figure 3.** Modèle MWC : a) le canal fermé est activé par la fixation de ligands ; b) après la désensibilisation par les ligands, le canal est fermé ; c) le canal retourne à l'état initial après la dissociation des ligands<sup>29</sup>

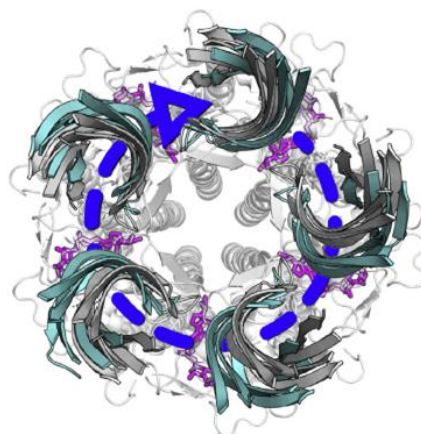


**Figure 4.** Les modèles pour l'activation de pLGLCs<sup>22</sup> : a) Changements d'interface des domaines de EC et TM, les deux hélices de M2 sont en bleu et les parties N-terminales de M1 en jaune ; b) Vue schématique de haut en bas de l'axe C5 du domaine TM dans les deux états. Le site de fixation pour un modulateur positif (anesthésiques) est indiqué en vert.

Par la suite, le mécanisme plus global a été étudié. Ainsi les structures cristallines des homologues procaryotes GLIC à pH4 (canal ouvert) et ELIC ou GLIC à pH7 (canal fermé) ont montré clairement

<sup>29</sup> J. Corradi, C. Bouzat, *Mol. Pharmacol.* **2016**, 90, 288-299.

l'apparition d'une torsion (*twisting*) globale lors de l'activation du récepteur (Figure 4b).<sup>14</sup> Ce réarrangement conformationnel, qui a été identifié pour la première fois par l'analyse d'un modèle homologue de  $\alpha 7$  nAChR,<sup>22</sup> est bien décrit par la rotation concertée dans le sens opposé du domaine EC par rapport au domaine TM autour de l'axe de symétrie C5 (le canal ionique) (Figure 5). Etant donné que ces changements de conformation impliquent une réorganisation quaternaire du récepteur avec un remodelage significatif de l'interface des sous-unités, il a été initialement suggéré que la torsion quaternaire implique directement l'activation des canaux ioniques.<sup>4</sup> La conformation mesurée par rayons X des homologues procaryotes des nAChRs a confirmé l'apparition de cette torsion quaternaire mais a également montré que les changements tertiaires apparaissant lors de l'activation, tels que l'inclinaison de M2, n'étaient pas pris en compte par le modèle de torsion minimale.<sup>13, 14, 15</sup> De plus, la conformation de l'état « localement fermé » (LC) de GLIC, qui montrait un pore ionique fermé dans un récepteur préservant la plupart des caractéristiques de l'état ouvert, conteste sérieusement le couplage direct entre la torsion globale et l'inclinaison de M2.<sup>23</sup>



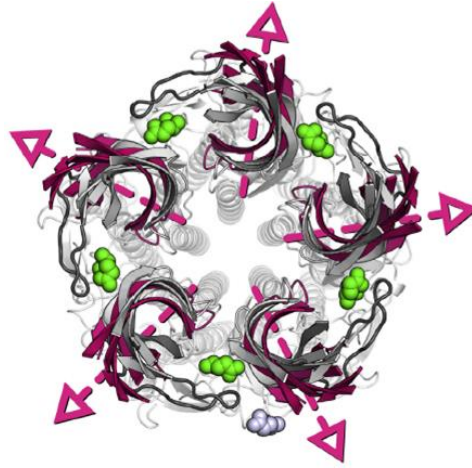
### Torsion

**Figure 5.** Représentation de la transition de torsion. Le modulateur allostérique positif *ivermectine* dans le domaine TM est représenté sous forme de bâtonnets magenta.<sup>16</sup> Les sandwichs  $\beta$  extracellulaires capturés par simulation à la fin de la transition de *twisting* sont représentés en cyan.<sup>26</sup> La grande flèche bleue indique la direction du mouvement de torsion de l'actif (non torsadé) au repos (torsadé).

Des analyses basées sur de la dynamique moléculaire ont permis d'avoir un nouveau regard sur le mécanisme d'activation du récepteur.<sup>26, 30</sup> L'analyse de la relaxation spontanée de la conformation du canal ouvert lors de la désassociation d'agoniste<sup>26, 30</sup> a mis en évidence l'existence d'un mécanisme de *couplage indirect* entre la fixation de l'agoniste et la fermeture (ouverture) de pore ionique. Plus en détails, les simulations de l'état ouvert du GLIC à pH 7<sup>30</sup> ou celui GluCl sans l'ivermectine<sup>26</sup> ont montré que la torsion globale induit la transition de fermeture en facilitant l'inclinaison des hélices M2, qui ne se produit pas lors de l'état non-torsadé (actif) du récepteur. Ainsi la torsion du récepteur contribue à l'activation du canal en « bloquant » le canal ionique sous sa forme ouverte. De plus, la simulation de GluCl sans l'ivermectine<sup>26</sup> a démontré qu'une grande réorientation radiale ou une inclinaison des sandwichs  $\beta$  extracellulaires vers l'extérieur seraient présentes lors de la transition allostérique entre le site de fixation du neurotransmetteur et

<sup>30</sup> H. Nury, F. Poitevin, C. Van Renterghem, J. P. Changeux, P. J. Corringer, M. Delarue, M. Baaden, *PNAS* **2010**, *107*, 6275-6280.

le pore ionique (Figure 6). Cette expansion radiale du domaine EC à l'état de relaxation a été récemment démontrée par l'analyse aux rayons X de GLIC à pH 7.<sup>22</sup> Enfin, la conformation de GluCl résolue le plus récemment sans agoniste a confirmé qu'une grande isomérisation « ressemblant à un phénomène de nyctinastie » du domaine EC se produit lors de l'activation du récepteur.<sup>26</sup> Ces observations confirment les phénomènes de torsion et d'épanouissement pendant les transitions conformationnelles de GluCl et de pLGIC.



#### Épanouissement

**Figure 6.** Représentation de la transition de type « épanouissement ».<sup>31</sup> Un agoniste hypothétique fixé au domaine EC est représenté par des sphères vertes ; Les flèches roses illustrent la direction de la transition de type « épanouissement » de l'actif (contracté) à l'état de repos (étendu).

Les isomérisations conformationnelles décrites ci-dessus se produisent avec une restructuration significative des interfaces entre les sous-unités et peuvent donc être potentiellement régulées par des fixations du ligand. L'électrophysiologie monocanale récente du nAChR de murin activé par une série d'agonistes orthostériques de puissance croissante<sup>26</sup> n'a pas montré la relation entre la fixation de l'agoniste et la vitesse d'ouverture. En revanche, des simulations informatiques de l'état actif de GluCl ont montré sans ambiguïté que la fixation d'agoniste sur un domaine TM contrôle la fermeture du canal ionique.<sup>26</sup> Ces observations contradictoires mettent en évidence que l'étape cinétiquement déterminante du déclenchement des changements conformationnels est différente lors de l'activation et de la désactivation. L'isomérisation de déclenchement en deux étapes (épanouissement / torsion) représentée ci-dessus confirme cette hypothèse et suggérerait que l'inverse de l'épanouissement est cinématiquement déterminant lors de l'activation, alors que la torsion déterminerait la vitesse de la fermeture des pores. La combinaison de deux transitions quaternaires distinctes conduit ainsi au développement d'un modèle asymétrique de déclenchement en deux étapes, qui est en accord avec des modèles cinétiques basés sur des analyses électrophysiologiques.<sup>32</sup> De plus, l'hypothèse du mécanisme en deux étapes implique également que l'agoniste fixé au(x) site(s) du neurotransmetteur orthostérique favoriserait l'activation en régulant principalement l'isomérisation « épanouissement », c'est-à-dire en favorisant la formation d'une forme contractée du domaine EC, alors que le ligand fixé au site transmembranaire allostérique empêche la torsion globale du récepteur.

<sup>31</sup> L.Sauguet, F. Poitevin, S. Murail, C. Van Renterghem, G. Moraga-Cid, L. Malherbe, M. Delarue, *EMBO J*, **2013**, 32, 728-741.

<sup>32</sup> P. Purohit, A. Auerbach, *J. Gen. Physiol.* **2013**, 141, 467-468.

Bien que les transitions allostériques du canal ionique soient de mieux en mieux connues, il reste encore des zones d'ombre concernant la compréhension des transitions allostériques du récepteur GLIC qui pourraient être classifiées grâce aux méthodes développées ces dernières décennies. L'utilisation de la lumière pour contrôler l'isomérisation des outils structuraux et donc de la conformation de la protéine est inspirée des récents développements de l'optogénétique chimique.

## 2 Optopharmacologie : contrôle optique des récepteurs ionotropiques et allostériques par la lumière

L'utilisation de la lumière est un outil intéressant pour perturber un système. Elle permet d'obtenir un contrôle spatiotemporel important, elle est souvent non invasive dans une large gamme de longueur d'onde, ne contamine pas l'échantillon et est orthogonale vis-à-vis à la majorité des éléments du système vivant.<sup>33, 34</sup> Depuis des années, des énormes progrès dans la compréhension des comportements des circuits neuronaux ont été accomplis en termes de précision temporelle, du contrôle *on-off* de l'activité neuronale et de la spécificité de type cellulaire.<sup>35</sup> Cependant, l'optogénétique classique requiert des techniques complexes de génétique et de biologie en générale. Afin de surmonter ce défi, l'optopharmacologie a été imaginée avec comme idée de contrôler les protéines par de petites molécules organiques photoisomérisables liées aux récepteurs cibles.

### 2.1 Optopharmacologie chimique

Trois approches différentes peuvent être envisagées pour contrôler par la lumière les récepteurs et les canaux ioniques : les approches génétiques, qui nécessitent une modification génétique de la protéine d'intérêt ; les approches chimiques, qui sont basées exclusivement sur des composés photosensibles synthétiques (sans modification des protéines cibles) ; et les approches hybrides, qui sont des systèmes à deux composants impliquant des modifications génétiques et chimiques. Généralement, ces approches ont leurs propres exigences, avec des avantages et des limites associées. Parmi elles, ce seront les approches chimiques et hybrides qui nous intéresseront le plus pour comprendre les transitions allostériques des nAChRs.

Les approches photochimiques ciblent des protéines non modifiées et ont été développées pour la première fois dans les années 1970.<sup>36</sup> L'idée générale est de conférer une sensibilité à la lumière à un ligand diffusable au sein d'une protéine cible. Diverses stratégies ont été développées pour le contrôle des récepteurs : les ligands « cagés » (CLSS), les ligands photochromiques (PCLs) et une approche hybride, les ligands photoisomérisables fixés (PTLs).

Les ligands « cagés » comportent un groupe protecteur photolabile qui est clivé lors de la stimulation lumineuse, libérant rapidement la molécule biologiquement active (Figure 7).<sup>37</sup> Plus en détails, le composé est pharmacologiquement inefficace dans l'obscurité, tandis que le processus de « uncaging » induit par la lumière conduit à une augmentation rapide de la concentration en molécule bioactive. Les ligands « cagés » diffusables sont sans doute ceux les plus utilisés en neurosciences.<sup>37</sup> Leur large utilisation peut s'expliquer par les propriétés suivantes<sup>37, 38, 39</sup> : i) Ils sont intrinsèquement biologiquement inactifs avant la photolyse, tandis que l'activité biologique complète est récupérée après l'irradiation. ii) Leur vitesse de « uncaging » est généralement beaucoup plus rapide que la plupart des processus biologiques étudiés, et la photolyse utilise des

<sup>33</sup> R. H. Kramer, A. Mourot, H. Adesnik, *Nat. Neurosci.* **2013**, *16*, 816-823.

<sup>34</sup> M. Scanziani, M. Hausser, *Nature* **2009**, *461*, 930-939.

<sup>35</sup> C. K. Kim, A. Adhikari, K. Deisseroth, *Nat. Rev. Neurosci.* **2017**, *18*, 222-235.

<sup>36</sup> W. J. Deal, B. F. Erlanger, D. Nachmansohn, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1969**, *64*, 1230-1234.

<sup>37</sup> G. C. Ellis-Davies, *Nat. Methods* **2007**, *4*, 619-628.

<sup>38</sup> G. C. R. Ellis-Davies, *Beilstein, J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 64-73.

<sup>39</sup> G. C. R. Ellis-Davies, *Front. Synaptic Neurosci.* **2019**, *10*, 48.



longueurs d'onde biocompatibles qui ne sont pas absorbées par les protéines ou l'ADN. iii) Les sous-produits chromophoriques sont généralement non toxiques. La plupart des neurotransmetteurs ont été « mis en cage » avec succès, y compris le dopamine<sup>40</sup> et la sérotonine (Figure 8).<sup>41</sup> De plus, la plupart des ligands « cagés » sont sensibles à la lumière à deux photons, permettant des manipulations à une résolution spatiale fine.<sup>42</sup> Des molécules « cagées » avec des spectres pharmacologiques compatibles ont également été développées, y compris des agonistes des récepteurs nicotiques telle que PA-Nic permettant le contrôle du récepteur ou de ses sous-types (Figure 8).<sup>43, 44</sup>

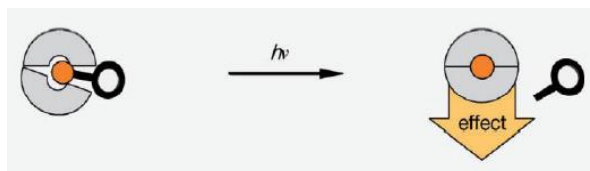


Figure 7. Principe des ligands cagés<sup>45</sup>

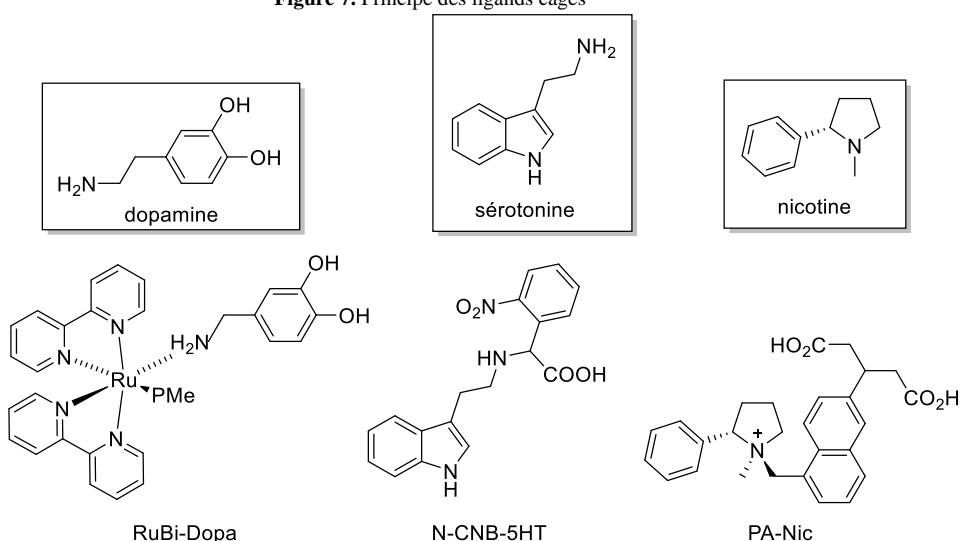


Figure 8. Exemples de ligands « cagés »

Cependant, la déprotection des CLSs est un processus irréversible et il est difficile, voir impossible, de revenir à la molécule initiale protégée. Ce problème peut être surmonté par une seconde approche utilisant des ligands photochromiques (PCLs) (Figure 9). Dans ce cas, les PCLs contiennent eux-même un groupe photoisomérisable, qui contrairement aux composés « cagés », peuvent alterner de manière réversible entre une forme active et une forme inactive en fonction de l'irradiation lumineuse à deux longueurs d'onde différentes.<sup>45, 46</sup> Ils sont donc capables de réaliser un contrôle réversible *on-off* des protéines cibles. Dans certains cas rares, des ligands photochromiques peuvent se fixer de manière covalente à un acide aminé réactif endogène idéalement positionné sur un récepteur ou un canal ionique cible.<sup>47, 48</sup> L'utilisation de deux longueurs

<sup>40</sup> R. Araya, V. Andino-Pavlovsky, R. Yuste, R. Etchenique, *ACS Chem. Neurosci.* **2013**, *4*, 1163-1167.

<sup>41</sup> H. G. Breiteringer, R. Wieboldt, D. Ramesh, B. K. Carpenter, G. P. Hess, *Biochemistry* **2000**, *39*, 5500-5508.

<sup>42</sup> D. Warther, S. Gug, A. Specht, F. Bolze, J. F. Nicoud, A. Mourot, M. Goeldner, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 7753-7758.

<sup>43</sup> S. Banala, M. C. Arvin, N. M. Bannon, X. T. Jin, J. J. Macklin, Y. Wang, C. Peng, G. Zhao, J. J. Marshall, K. R. Gee, D. L. Wokosin, V. J. Kim, J. M. McIntosh, A. Contractor, H. A. Lester, Y. Kozorovitskiy, R. M. Drenan, L. D. Lavis, *Nat. Methods* **2018**, *15*, 347-350.

<sup>44</sup> S. Passlick, E. R. Thapaliya, Z. Chen, M. T. Richers, G. C. R. Ellis-Davies, *J. Physiol.* **2018**, *596*, 5307-5318.

<sup>45</sup> K. Hüll, J. Morstein, D. Trauner, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 10710-10747.

<sup>46</sup> M. Volgraf, P. Gorostiza, S. Szobota, M. R. Helix, E. Y. Isacoff, D. Trauner, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 260-261.

<sup>47</sup> E. Bartels, N. H. Wassermann, B. F. Erlanger, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **1971**, *68*, 1820-1823.

<sup>48</sup> M. Izquierdo-Serra, A. Bautista-Barrufet, A. Trapero, A. Garrido-Charles, A. Díaz-Tahoces, N. Camarero, S. Pittolo, S. Valbuena, A. Pérez-Jiménez,



d'onde peut conduire à des états actifs et inactifs des photo-commutateur moléculaires, les étapes d'activation et de désactivation (ou d'inhibition et de désinhibition) peuvent ainsi être contrôlées précisément dans le temps.<sup>49</sup> Des ligands photochromiques ont été développés pour une grande variété de récepteurs, de neurotransmetteurs et de canaux ioniques<sup>33, 45, 50, 51, 52</sup> (Figure 10), y compris des agonistes<sup>47, 53</sup> et des bloqueurs de pores<sup>54</sup> des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR).

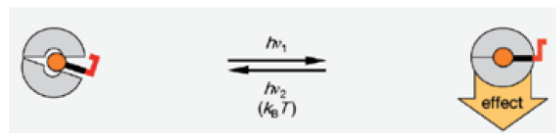


Figure 9. Principe des PCLs<sup>45</sup>

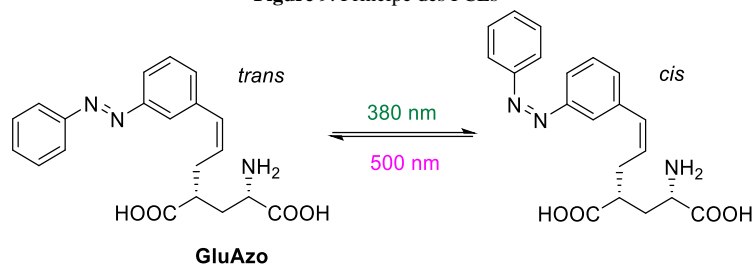


Figure 10. Représentation du neurotransmetteur photochromique GluAzo

Bien sûr, il y a des situations où la sélectivité envers un sous-type du récepteur est une donnée essentielle. Dans ce cas, une troisième approche, que nous appellerons l'approche "ligand photoisomérisable fixé" (PTL), peut être envisagée (Figure 11). Avec cette stratégie, le ligand est fixé au récepteur de manière covalente par un bras espaceur lui-même photoisomérisable. Les PTLs sont également une stratégie qui a été appliquée aux récepteurs et aux canaux ioniques. Cette fixation covalente d'un ligand photoisomérisable est réalisée soit directement à proximité de la poche de fixation *via* une réaction avec une cystéine<sup>55, 56</sup> soit à distance, par une réaction de bioconjugaison.<sup>57, 58</sup> Dans les deux cas, des irradiations à des longueurs d'onde différentes sont utilisées pour introduire ou retirer le groupe pharmacologiquement actif de sa poche de fixation.

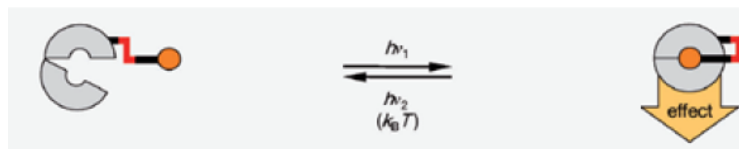


Figure 11. Principe des PTLs<sup>45</sup>

L'azobenzène a montré son utilité pour la conception de PTLs photo-contrôlant les récepteurs neuronaux et les canaux ioniques.<sup>33, 50, 51, 52</sup> Le ligand est constitué de trois parties : un groupement de tête

M. Gay, A. García-Moll, C. Rodríguez-Esrich, J. Lerma, P. de la Villa, E. Fernández, M. À Pericàs, A. Llebaria, P. Gorostiza, *Nat. Commun.* **2016**, 7, 12221.

<sup>49</sup> W. Szymanski, D. Yilmaz, A. Kocer, B. L. Feringa, *Acc. Chem. Res.* **2013**, 46, 2910-2923.

<sup>50</sup> S. Berlin, E. Y. Isacoff, *EMBO Rep.* **2017**, 18, 677-692.

<sup>51</sup> J. Broichhagen, D. Trauner, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, 21, 121-127.

<sup>52</sup> A. Reiner, J. Levitz, E. Y. Isacoff, *Curr. Opin. Pharmacol.* **2015**, 20, 135-143.

<sup>53</sup> A. Damijonaitis, J. Broichhagen, T. Urushima, K. Hüll, J. Nagpal, L. Laprell, M. Schönberger, D. H. Woodmansee, A. Rafiq, M. P. Sumser, W. Kummer, A. Gottschalk, D. Trauner *ACS Chem. Neurosci.* **2015**, 6, 701-707.

<sup>54</sup> H. A. Lester, M. E. Krouse, M. M. Nass, N. H. Wassermann, B. F. Erlanger, *Nature* **1979**, 280, 509-510.

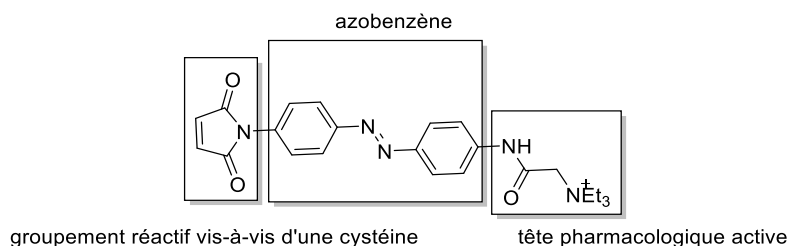
<sup>55</sup> M. Banghart, K. Borges, E. Isacoff, D. Trauner, R. H. Kramer, *Nat. Neurosci.* **2004**, 7, 1381-1386.

<sup>56</sup> M. Volgraf, P. Gorostiza, R. Numano, R. H. Kramer, E. Y. Isacoff, D. Trauner, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, 2, 47-52.

<sup>57</sup> J. Levitz, J. Broichhagen, P. Leippe, D. Konrad, D. Trauner, E. Y. Isacoff, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **2017**, 114, E3546-E3554.

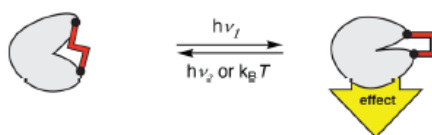
<sup>58</sup> H. Farrants, V. A. Gutzeit, A. Acosta-Ruiz, D. Trauner, K. Johnsson, J. Levitz, J. Broichhagen, *ACS Chem. Biol.* **2018**, 13, 2682-2688.

pharmacologiquement actif sous forme d'ammonium quaternaire, un second groupement réactif vis-à-vis d'une cystéine (généralement un maléimide) et un dernier reliant les deux premiers et centré autour d'un noyau azo photoréactif (Figure 12). La réaction de thio-conjugaison du résidu cystéine avec le maléimide est rapide (quelques minutes), hautement sélective, permettant l'installation permanente d'effecteurs photochromiques sur la protéine cible.



**Figure 12.** Représentation de la conception de PTLs avec l'azobenzène

Les ligands photoisomérisables à bi-ancrage (également connus sous les noms de nano-pinces ou d'opto-pinces) sont des outils optopharmacologiques supplémentaires qui peuvent contrôler les protéines membranaires en utilisant des forces mécaniques induites par la lumière entre deux segments de protéines (Figure 13).<sup>59, 60</sup> Ainsi, les nano-pinces photochromiques, qui se fixent de manière covalente à deux résidus de cystéine modifiées, remplacent entièrement la machinerie du déclenchement naturel des canaux en déclenchant des forces mécaniques semblables à des pinces sur des hélices transmembranaires lors de l'isomérisation de l'azobenzène. Cette technologie permet l'ouverture et la fermeture directes de canaux ioniques activés par des ligands tels que les récepteurs P2X<sup>59</sup> ou les canaux ioniques sensibles aux acides (ASIC).<sup>61</sup> Les opto-pinces de différentes tailles fournissent également des informations moléculaires utiles pour sonder les réarrangements conformationnels impliqués dans la dilatation des pores et le contrôle des flux ioniques.<sup>59, 60</sup>



**Figure 13.** Principe des « nano-pinces »<sup>45</sup>

La cinétique de photo-contrôle en présence des PTLs est fortement accélérée, parce que les PTLs sont présents en concentration locale élevée et ne peuvent pas diffuser.<sup>62</sup> Un autre avantage de ces ligands fixés, par rapport aux PCLs, est qu'ils fournissent un excellent contrôle de l'activité biologique par la variation des formes *cis* et *trans*. Ainsi, dans les cas idéals, les PTLs deviennent véritablement des interrupteurs photochimiques binaires pour les canaux ioniques et les récepteurs. L'approche du PTL nécessite également une modification minimale (une seule substitution d'acide aminé) de la protéine, limitant l'altération potentielle de la fonction de la protéine cible. De plus, ils permettent de contrôler des récepteurs avec une spécificité sous-

<sup>59</sup> C. Habermacher, A. Martz, N. Calimet, D. Lemoine, L. Peverini, A. Specht, M. Cecchini, T. Grutter, *eLife* **2016**, 5, e11050.

<sup>60</sup> M. Harkat, L. Peverini, A. H. Cerdan, K. Dunning, J. Beudez, A. Martz, N. Calimet, A. Specht, M. Cecchini, T. Chataigneau, T. Grutter, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **2017**, 114, E3786-E3795.

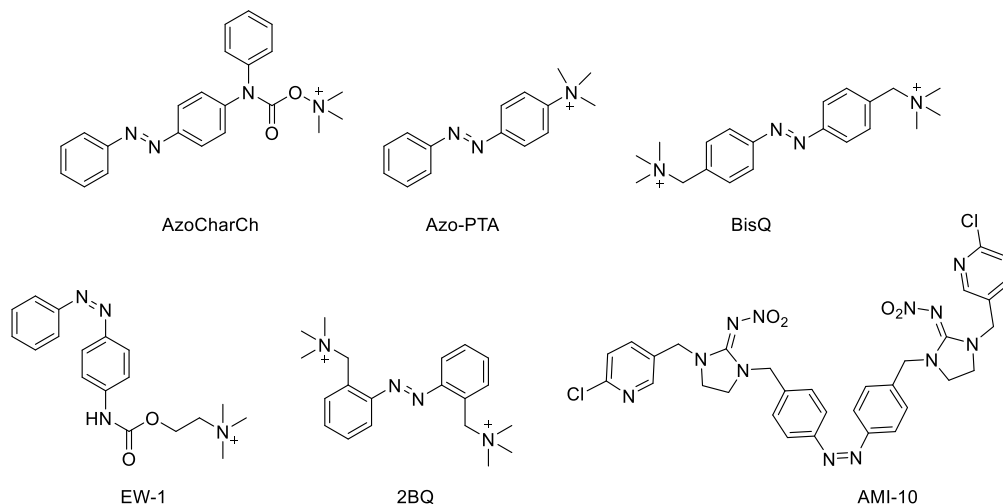
<sup>61</sup> L. E. Browne, J. P. Nunes, J. A. Sim, V. Chudasama, L. Bragg, S. Caddick, R. A. North, *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **2014**, 111, 521-526.

<sup>62</sup> A. Reiner, E. Y. Isacoff, *Nat. Chem. Biol.* **2014**, 10, 273-280.

typique. Par exemple, toute la famille GABA<sub>A</sub>R (contenant les sous-unités  $\alpha 1$ – $\alpha 6$ ) a été rendue photocontrôlable en utilisant la stratégie PTL.<sup>63</sup> Cependant, cette approche est probablement limitée aux sites qui sont accessibles lors de la conjugaison avec des protéines, excluant ainsi les domaines protéiques intracellulaires et transmembranaires.

## 2.2 Optopharmacologie et les nAChRs.

En 1969, le groupe d'Erlanger a été le premier à étudier les nAChRs en utilisant la photopharmacologie, en perfusant des électroplaques *Electrophorus* fonctionnalisées par les composés AzoCharCh et azo-PTA via l'approche des PCLs (Figure 14).<sup>36</sup> Ces composés sont des dérivés d'agents dépolarisants puissants, respectivement la carbamylcholine et le phényltriméthylammonium et inhibent de manière réversible l'activité de l'acétylcholinestérase à de faibles concentrations (azo-CarCh à 1  $\mu$ M, azo-PTA à 10  $\mu$ M). Deux ans plus tard, l'utilisation d'un PCL, BisQ a été publiée (Figure 14).<sup>47, 64, 65, 66</sup> Le *trans*-BisQ s'est avéré être un puissant activateur d'électroplaques *Electrophorus* et s'isomérise en isomère le moins actif *cis* lors d'une irradiation à 330 nm. Par la suite, BisQ a été réévalué et agit principalement sur les nAChRs musculaires, mais pas sur les nAChRs neuronaux.<sup>53</sup> Le groupe de Erlanger a ensuite contrôlé le potentiel membranaire de l'axone géant du calamar avec l'ion azobenzène ionique EW-1 (Figure 14)<sup>54, 67</sup> et l'antagoniste symétrique photochromique 2BQ (Figure 14).<sup>68</sup> Dans le même temps, le groupe de Li a modifié l'insecticide imidaclopride, un agoniste des nAChRs des insectes, en introduisant un azobenzène.<sup>69</sup> Les PCLs développés ont été testés pour leur activité insecticide contre la mouche domestique *Musca domestica*. Après l'irradiation aux UV, une diminution de la DL50 de 80% a été observée pour le composé le plus actif, l'AMI-10 (Figure 14).



**Figure 14.** PCLs utilisés sur les nChRs

Le composé QBr fonctionnant comme un PTL est constitué d'un azobenzène photoisomérisable, fonctionnalisé avec un atome de brome à une des extrémités et un groupement triméthylammonium (TMA)

<sup>63</sup> W.-C. Lin, M.-C. Tsai, C. M. Davenport, C. M. Smith, J. Veit, N. M. Wilson, H. Adesnik, R. H. Kramer, *Neuron*. **2015**, 88, 879-891.

<sup>64</sup> H. A. Lester, H. W. CHANG, *Nature* **1977**, 266, 373-374.

<sup>65</sup> M. M. Nass, H. A. Lester, M. E. Krouse, *Biophys. J.* **1978**, 24, 135-160.

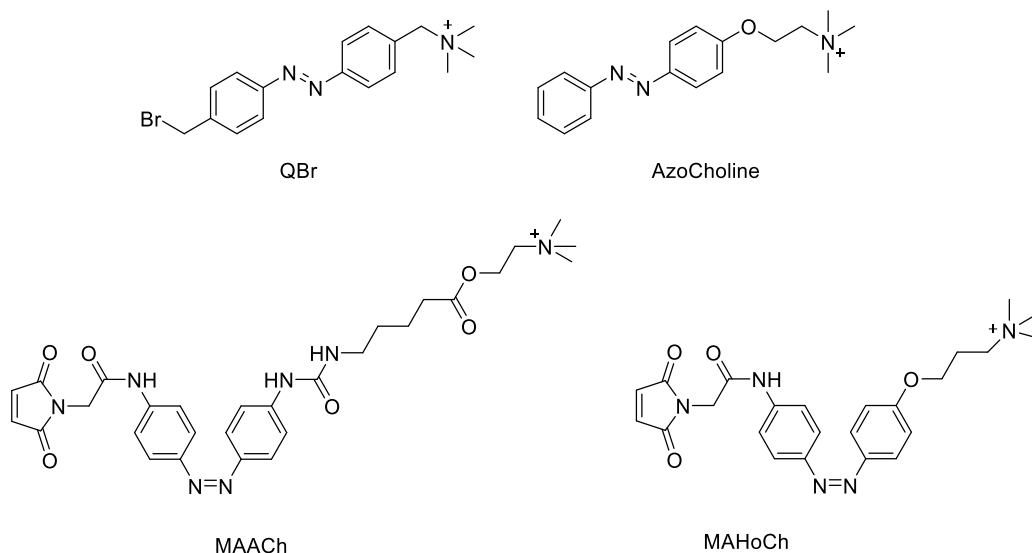
<sup>66</sup> H. A. Lester, M. E. Krouse, M. M. Nass, N. H. Wassermann, B. F. J. Erlanger, *Gen. Physiol.* **1980**, 75, 207-232.

<sup>67</sup> H. A. Lester, M. M. Nass, M. E. Krouse, J. M. Nerbonne, N. H. Wassermann, B. F. Erlanger, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1980**, 346, 475-490.

<sup>68</sup> M. E. Krouse, H. A. Lester, N. H. Wassermann, B. F. J. Erlanger, *Gen. Physiol.* **1985**, 86, 235-256.

<sup>69</sup> Z. Xu, L. Shi, D. Jiang, J. Cheng, X. Shao, Z. Li, *Sci. Rep.* **2015**, 5, 13962.

(Figure 15),<sup>47</sup> un ligand connu pour la poche de fixation du nAChR. Ce PTL peut être lié de manière covalente au récepteur et l'isomère *trans* peut interagir avec le site de fixation, provoquant l'ouverture du canal, suivie par la dépolarisation de la membrane. Quand le ligand est isomérisé sous forme *cis* par la lumière UV, le groupe TMA n'est plus capable de se lier au site actif. Ensuite, le groupe de Trauner a introduit un nouveau PTL, AzoCholine (Figure 15).<sup>53</sup> Ce composé, qui est dérivé de l'éther de phénylcholine, a répondu aux rayonnements de 360 nm / 440 nm et s'est avéré être un agoniste *trans*-actif pour les  $\alpha 7$  nAChRs neuronaux. Il a permis un contrôle optique de l'activité de battage des nématodes *Caenorhabditis elegans*. En appliquant le concept PTL aux récepteurs nicotiniques, Trauner, Kramer et ses collègues ont conçu le récepteur nicotinique de l'acétylcholine LinAChR en utilisant une structure radiographique alors disponible.<sup>70</sup> Par ailleurs, le PTL MAACH a agi comme un agoniste photos-activable, alors que MAHoCh s'est avéré être un antagoniste activé par la lumière (Figure 15). Les deux PTL répondent à une lumière émettant à 380 nm / 500 nm et sont bistables dans des conditions physiologiques.



**Figure 15.** PTLs utilisés sur les nAChRs

En conclusion, les approches pharmacologiques utilisant des CLS, PCL, PTL nous fournissent de nouveaux outils pour contrôler les systèmes biologiques par la lumière *via* des petites molécules photosensibles. Généralement, le choix du bon outil dépend spécifiquement de la question biologique posée et de la compatibilité de la cible à la modification génétique. Les PCLs sont l'outil idéal pour des applications thérapeutiques où un certain manque de sélectivité est toléré. De plus, ils ont également démontré une meilleure efficacité dans l'analyse des voies fonctionnelles. Par exemple, lors de la cartographie des circuits neuronaux où la transfection génétiquement ciblée d'une cellule spécifique, cette approche est avantageuse. Par ailleurs, la meilleure sélectivité des PTLs permet une utilisation plus aisée dans la dissection fonctionnelle de types de récepteurs étroitement liés : la sélectivité peut être obtenue par une liaison covalente sur un isoforme d'un

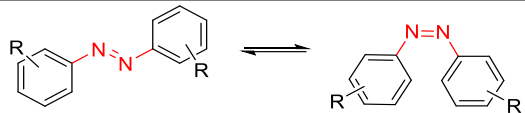
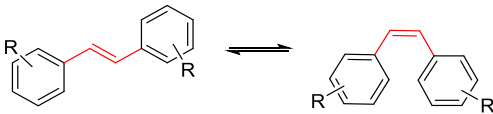
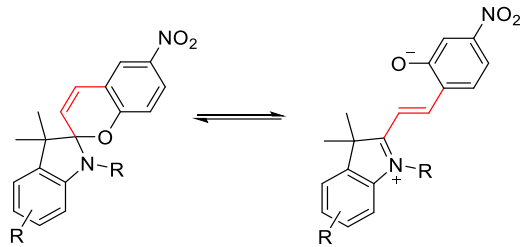
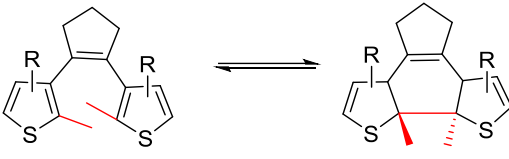
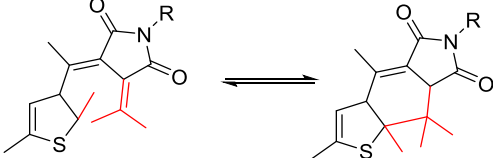
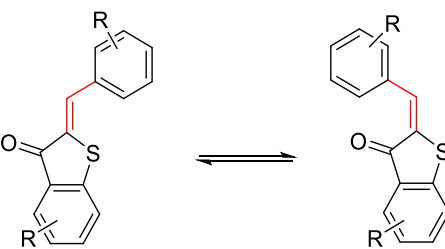
<sup>70</sup> I. Tochitsky, M. R. Banghart, A. Mourot, J. Z. Yao, B. Gaub, R. H. Kramer, D. Trauner, *Nat. Chem.* **2012**, 4, 105–111.

récepteur génétiquement modifié.

Ces développements de l'optopharmacologie chimique ont conduit à un intérêt croissant en faveur des petites molécules synthétiques photoisomérisables.

### 3 Molécules photoisomérisables

La photoisomérisation est un processus photochimique qui induit un changement, parfois réversible, de la structure de molécule. Plusieurs types de molécules photoisomérisables ont été développés (Tableau 1). Elles sont communément caractérisées par le maxima d'absorption de leurs isomères, ainsi que par leur état photostationnaire (PSS), défini comme la composition en isomères à l'équilibre au cours de l'irradiation. Certaines propriétés sont essentielles pour développer des composés photoisomérisables biocompatibles : i) un processus d'isomérisation rapide ; ii) un fort coefficient d'extinction avec un haut rendement quantique ; iii) une irradiation à des longueurs d'ondes qui sont non destructives pour les cellules vivantes.

Entrée	Molécules photoisomérisables	Structure
1	Azobenzènes	
2	Stilbènes	
3	Spiropyranes	
4	Diaryléthènes	
5	Thiophènefulgides	
6	Hémithioindigos	

**Tableau 1.** Molécules synthétiques photoisomérisables.

Parmi les photo-interrupteurs synthétiques, l'azobenzène a été le plus utilisé car il possède de

nombreux avantages.<sup>71, 72</sup> De petite taille (longueur <10 Å), en théorie facile à synthétiser, il présente un rendement quantique élevé (0,2–0,5) et un photoblanchiment minimal, et peut être activé rapidement de manière réversible entre une forme coudée, *cis* et une forme étendue, *trans* en utilisant deux irradiations différentes, classiquement proches des UV (360–400 nm) et d'un rayonnement bleu-vert (480–550 nm). Habituellement, la forme *trans* est l'isomère le plus stable (dans l'obscurité ou le rayonnement visible), tandis que la forme *cis* s'isomérisse progressivement vers la configuration *trans* dans l'obscurité avec une cinétique allant de la milliseconde à quelques jours, en fonction des substituants.<sup>73</sup> Les azobenzènes « pontés », qui possèdent un lien à plusieurs atomes entre les positions *ortho*, constituent une exception, et dans ce cas, leur configuration *cis* est thermodynamiquement favorisée.<sup>74, 75</sup> Les azobenzènes qui ont de longue demi-vie (de l'ordre de quelques heures) présentent une excellente bistabilité et ne nécessitent pas de longue durée d'irradiation. Généralement, des impulsions de lumière assez brèves suffisent pour faire basculer rapidement l'azobenzène entre ses deux états. Pour éviter l'irradiation aux UV et ainsi limiter la phototoxicité et améliorer la biocompatibilité, des azobenzènes dont les spectres d'absorption sont décalés vers le rouge ont été récemment développés.<sup>76, 77, 78</sup> Le décalage vers le rouge se fait généralement au détriment d'une cinétique spontanée de photorelaxation *cis*-à-*trans* plus rapide (de l'ordre de la milliseconde à la seconde).<sup>79</sup> Idéalement en photo pharmacologie, un photo-isomère de l'azobenzène devrait être totalement inactif pharmacologiquement tandis que l'autre serait actif. Mais en pratique, les deux isomères sont actifs dans une certaine mesure (pour les PCLs, au moins) et des différences d'activité allant de 10 à 100 entre les deux isomères sont observées. De plus, il est assez fréquent que les spectres d'absorption des deux isomères se chevauchent partiellement et le ratio entre les deux isomères à l'état photostationnaire est classiquement d'environ 95 : 5.<sup>80, 81</sup> Actuellement, beaucoup d'agents pharmacologiques peuvent être convertis en « médicaments » photochromiques en associant un motif azobenzène à son pharmacophore d'origine (appelé azologisation).<sup>72, 82, 83, 84</sup>

Les azobenzènes et leurs dérivés sont ainsi les composés photoisomérisables les plus utilisés dans les applications biologiques.<sup>71</sup> Si le milieu a une influence plutôt faible sur la photochimie, il a été démontré que la cinétique de l'étape thermodynamique est fortement influencée par des interactions secondaires avec les protéines.<sup>85</sup> Les rapports récents suggèrent que la différence d'énergie des isomères et que la hauteur de la barrière thermique pour l'isomérisation *cis-trans* (~18 kcal/mol) sont suffisantes pour entraîner des

<sup>71</sup> A. A. Beharry, G. A. Woolley, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 4422-4437.

<sup>72</sup> J. Broichhagen, J. A. Frank, D. Trauner, *Acc. Chem. Res.* **2015**, 48, 1947-1960.

<sup>73</sup> W. C. Lin, M. C. Tsai, R. Rajappa, R. H. Kramer, *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, 140, 7445-7448.

<sup>74</sup> S. Samanta, C. Qin, A. J. Lough, G. A. Woolley, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 6452-6455.

<sup>75</sup> E. R. Thapaliya, J. Zhao, G. C. R. Ellis-Davies, *ACS Chem. Neurosci.* **2019**, 10, 2481-2488.

<sup>76</sup> A. Mourrot, M. A. Kienzler, M. R. Banghart, T. Fehrentz, F. M. E. Huber, M. Stein, R. H. Kramer, D. Trauner, *ACS Chem. Neurosci.* **2011**, 2, 536-543.

<sup>77</sup> M. Dong, A. Babalhavaeji, S. Samanta, A. A. Beharry, G. A. Woolley, *Acc. Chem. Res.* **2015**, 48, 2662-2670.

<sup>78</sup> M. Dong, A. Babalhavaeji, C. V. Collins, K. Jarrah, O. Sadovski, Q. Dai, G. A. Woolley, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 13483-13486.

<sup>79</sup> S. Passlick, M. T. Richers, G. C. R. Ellis-Davies, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, 57, 12554-12557.

<sup>80</sup> P. Gorostiza, M. Volgraf, R. Numano, S. Szobota, D. Trauner, E. Y. Isacoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 10865-10870.

<sup>81</sup> A. Mourrot, I. Tochitsky, R. H. Kramer, *Neurosci.* **2013**, 6, 5.

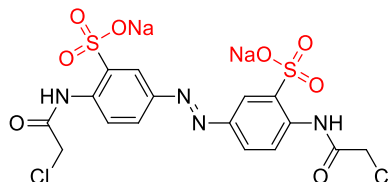
<sup>82</sup> R. Huckvale, M. Mortensen, D. Pryde, T. G. Smart, J. R. Baker, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14, 6676-6678.

<sup>83</sup> S. Pittolo, X. Gómez-Santacana, K. Eckelt, X. Rovira, J. Dalton, C. Goudet, J-P. Pin, A. Llobet, J. Giraldo, A. Llebaria, P. Gorostiza, *Nat. Chem. Biol.* **2014**, 10, 813-815.

<sup>84</sup> M. Schoenberger, A. Damijonaitis, Z. Zhang, D. Nagel, D. Trauner, *ACS Chem. Neurosci.* **2014**, 5, 514-518.

<sup>85</sup> P. Gorostiza, M. Volgraf, R. Numano, S. Szobota, D. Trauner, E. Y. Isacoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, 104, 10865-10870.

changements de conformation des protéines, permettant le contrôle photochimique du repliement et du dépliement de ces dernières en utilisant une nano-pince dérivée d'un motif azobenzène. Une des limitations à l'utilisation des azobenzène est néanmoins leur faible solubilité dans un milieu physiologique, phénomène qui diminue l'interaction entre la protéine cible et l'azobenzène utilisé. Cependant, l'introduction de groupements hydrophiles tel qu'un acide sulfonique sur les noyaux aromatiques de l'azobenzène a permis de surmonter cet inconvénient (Figure 16).<sup>86</sup> La seconde limitation majeure est la nécessité d'utiliser la lumière UV. Cette dernière pénètre difficilement dans les tissus tout en causant la dégradation des cellules vivantes.



**Figure 16.** Un azobenzène soluble dans l'eau substitué par un groupement acide sulfonique

<sup>86</sup> a) Z. H. Zhang, D. C. Burns, J. R. Kumita, O. S. Smart, G. A. Woolley, *Bioconjugate Chem.* **2003**, 14, 824-829. b) D. C. Burns, F. Z. Zhang, G. A. Woolley, *Nat. Protoc.* **2007**, 2, 251-258.



## 4 Projet de thèse

### 4.1 Contexte de recherche

Comme décrit dans la partie précédente concernant les nAChRs, les structures cristallographiques de GLIC ont permis de proposer un premier modèle des transitions allostériques. Afin de comprendre intégralement le déroulement du processus d'ouverture jusqu'à la fermeture des pLGICs, c'est à dire d'avoir une image complète des déterminants moléculaires impliqués dans la liaison du ligand induisant le réarrangement conformationnel, il est capital d'obtenir des structures des états intermédiaires de GLIC et d'apprendre leur rôle fonctionnel lors de la transmission du signal. L'accès à des structures de conformations intermédiaires des nAChRs par nature éphémères, ne peut se faire qu'en introduisant au niveau de la protéine des éléments structuraux permettant de figer cette protéine dans ces états intermédiaires.

Il est ici proposé d'induire les changements de conformations de la protéine au travers d'un couplage avec des pinces moléculaires photoisomérisables de type azobenzène (diphényldiazène),<sup>87</sup> ce type d'outils ayant déjà été utilisés pour la modulation conformationnelle de peptides.<sup>88</sup> Il serait ainsi par exemple possible de faire réagir sélectivement des composés adéquatement fonctionnalisés avec des résidus cystéine judicieusement positionnés par mutagenèse dirigée.<sup>89</sup> L'accès aux structures cristallographiques fermée, localement fermée et ouverte de GLIC permet par ailleurs de connaître *a priori* les zones les plus sensibles à la transition allostérique et ainsi de proposer les sites de positionnement des cystéines les plus stratégiques.

Le projet repose donc sur la synthèse de structures azobenzènes bifonctionnelles originales (Figure 17) répondant à différents critères. Des variations structurales au niveau des fonctions d'ancrage et des "linkers" permettront d'adapter la pince en fonction du récepteur mutant sélectionné, par l'utilisation de linkers de taille variable et de moduler l'amplitude des changements conformationnels par l'utilisation de pinces plus ou moins flexibles.

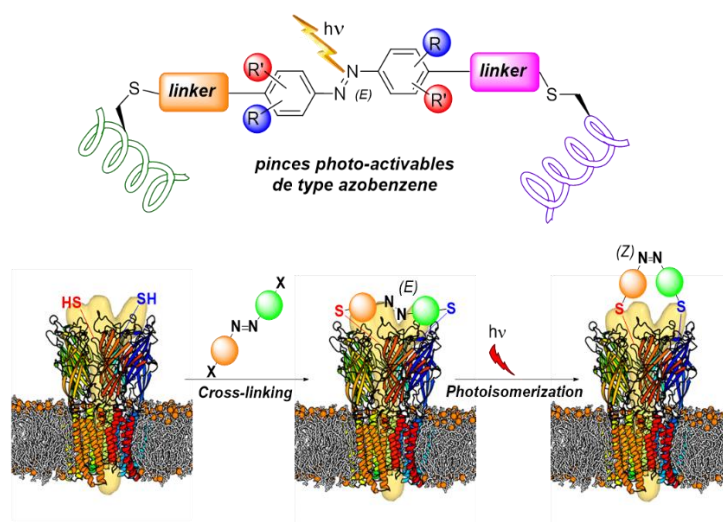
Par ailleurs, une étude sera menée sur la fonctionnalisation du noyau azobenzène. Ainsi, les paramètres de la solubilité en milieu physiologique, de l'irradiation en utilisant des longueurs d'ondes émettant dans le visible, du contrôle du temps de demi-vie ou encore de la stabilité au métabolisme réductif par le glutathion et à la lumière figurent parmi les grands défis que nous devons relever.

---

<sup>87</sup> A. A. Beharry, G. A. Woolley, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 4422-4437.

<sup>88</sup> T. S. Zatsepin, L. A. Abrosimova, M. V. Monakhova, A. Pingoud, E. A. Kubareva, T. Y. S. Oretskaya, *Russ. Chem. Rev.* **2013**, 82, 942-963.

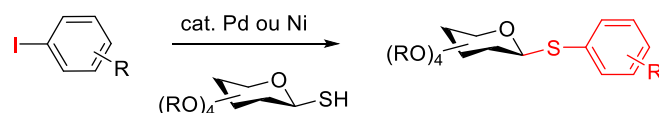
<sup>89</sup> F. Zhang, A. Zarrine-Afsar, M. S. Al-Abdul-Wahid, R. S. Prosser, A. R. Davidson, G. A. Woolley, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 2283-2289.



**Figure 17.** Modèle d'azobenzène et le fonctionnement sur la protéine.

Il a récemment été démontré que l'introduction de fonctions soufrées en *ortho* de la liaison N=N était une solution viable permettant de réduire le métabolisme réductif de cette double liaison.<sup>90</sup> De plus, afin d'augmenter la solubilité de l'azobenzène dans des conditions biologiques, nous avons pensé introduire des monosaccharides, et plus particulièrement des S-glycosides car ces derniers sont beaucoup plus stables que leurs homologues oxygénés, les O-glycosides, vis-à-vis de la dégradation chimique et du métabolisme enzymatique.

Parmi les méthodes classiques de thioglycosylation, le couplage de Buchwald-Hartwig-Migita (Schéma 1) est reconnu pour être une méthode efficace et assez tolérante sur les substrats aromatiques.<sup>91</sup> Dans ce cas, les substrats nécessitent la pré-fonctionnalisation par l'iode.



**Schéma 1.** Couplage de Buchwald-Hartwig-Migita

## 4.2 Projet de recherche

Les travaux de thèse seront divisés par deux parties : la iodation d'azobenzènes et la conception des azobenzènes thioglycosylés.

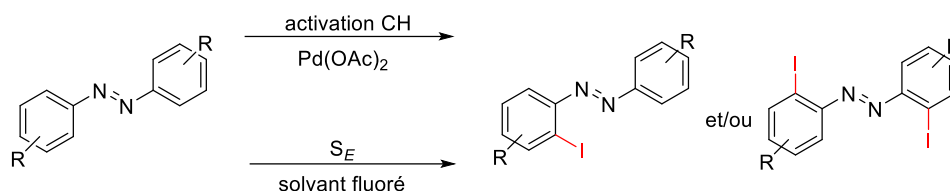
### 4.2.1 Iodation d'azobenzènes

Ainsi, nous nous intéresserons tout d'abord à la préparation des azobenzènes iodés selon deux réactions différentes, activation de la liaison CH ou la substitution électrophile aromatique (Schéma 2). Après un passage en revue de la bibliographie, nous avons remarqué que la gamme d'azos iodés était très faible. Afin d'argumenter la diversité moléculaire sur les différents substrats, nous commencerons le projet par recherches

<sup>90</sup> S. Samanta, T. M. McCormick, S. K. Schmidt, D. S. Seferos, G. A. Woolley, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 10314-10316.

<sup>91</sup> a) P. Naus, L. Leseticky, S. Smrcek, I. Tislerova, M. Sticha, *Synlett.* **2003**, 14, 2117-2122 ; b) A. Bruneau, M. Roche, A. Hamze, J.D. Brion, M. Alami, S. Messaoudi, *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 8375-8379.

de conditions opératoires idéales pour la iodation d'azobenzènes activés et désactivés en utilisant une méthode d'activation C-H pallado-catalysé. Suite à un résultat inattendu, nous nous sommes ensuite orientés vers la substitution électrophile aromatique dans les substrats fluorés.

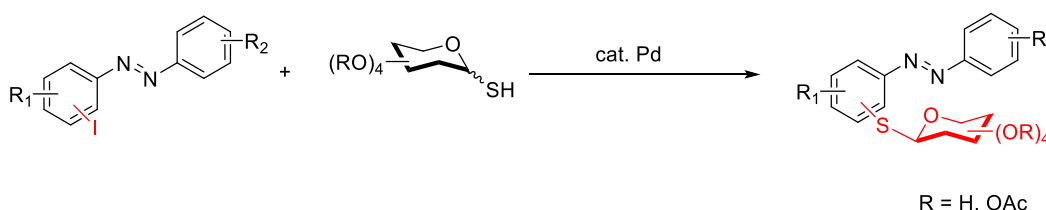


**Schéma 2.** Voies de synthèse pour la préparation d'azobenzènes iodés

#### 4.2.2 Conception d'azobenzènes thioglycolés

Outre la problématique de la solubilité, des exemples de la littérature ont démontré l'intérêt d'introduction des O-glycosides sur l'azobenzène, dans le développement de ligands photoisomérisables et des matériaux photosensibles. Leurs analogues S-glycoïdes ont été préparés par notre collaboration avec le Dr. Samir Messaoudi de BioCIS.<sup>92</sup>

En concernant les avantages décrits ci-dessus de S-glycoside, nous proposons ainsi la fonctionnalisation d'azobenzène par S-glycoside et la conception d'iodation d'azobenzène devrait nous permettre d'accéder à des dérivés thioglycosylés en utilisant la méthode bien établie par notre collaborateur Dr. Samir Messaoudi. (Schéma 3)



**Schéma 3.** Thioglycosylation d'azobenzène

Les azobenzènes thioglycosylés isolés seront ensuite évalués avec des expériences photochromiques et physico-chimiques partenariat avec Dr Nicolas Bogliotti du laboratoire PSMM de l'ENS Paris-Saclay. Les caractéristiques mesurées seront le spectre d'absorption UV-Vis, la photostabilité, la demi-vie et la solubilité en milieu aqueux.

<sup>92</sup> R. A. A. Al-Shuaeeb, D. Montoir, M. Alami, S. Messaoudi, *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 6720-6728.

# CHAPITRE II

## IODATION D'AZOBENZENES

Dans cette première partie, nous allons passer en revue les méthodes d'iodation de composés aromatiques.

## 1 Iodation par substitution électrophile aromatique

Généralement, la source d'iode ( $I_2$ , KI, NIS et al.) est oxydée par l'oxydant ou activée par le catalyseur et c'est l'espèce activée «  $I^+$  » qui joue le rôle d'électrophile en suivant le mécanisme classique de  $S_E$  aromatique. (Schéma 4)

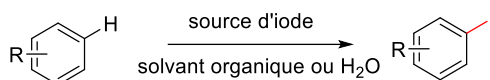


Schéma 4. Représentation générale d'iodation aromatique

### 1.1 Approche historique : iodation avec $I_2$

Historiquement,  $I_2$  a été le réactif qui fut le plus tôt utilisé pour réaliser des iodations sur les composés aromatiques. La méthode la plus ancienne a mis en jeu des arènes simples (arènes méthylés) en présence d'iode et d'acide nitrique concentré jouant le rôle d'oxydant (Schéma 5).<sup>93</sup> Cette méthode n'est pas régiosélective et conduit à des régioisomères (**2b** et **2b'**). Plus tard, c'est le système  $AcOH/H_2SO_4/HNO_3$  qui a permis d'ioder des arènes désactivés tels que le benzaldéhyde ou l'acide benzoïque (Schéma 6).<sup>94</sup> Afin d'améliorer cette dernière méthode, l'iodation des arènes activés tels que l'anisole, le vétratole et l'acétanilide a été finalement réalisée avec succès en faisant barboter du  $N_2O_4$  dans la solution (Schéma 7).<sup>95</sup>

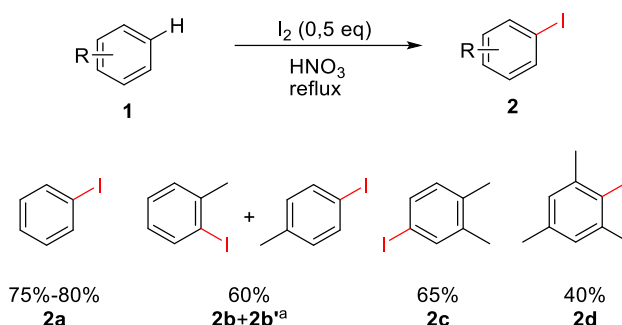


Schéma 5. Iodation aromatique utilisant le diiode dans  $HNO_3$  (<sup>a</sup>) le ratio des deux régioisomères n'a pas été mesuré)

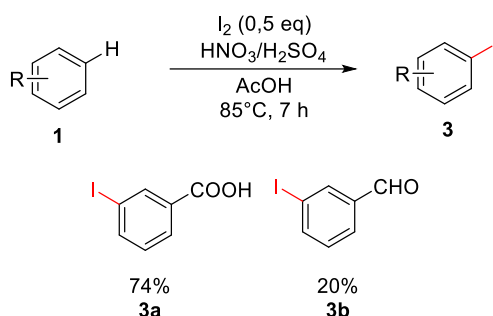
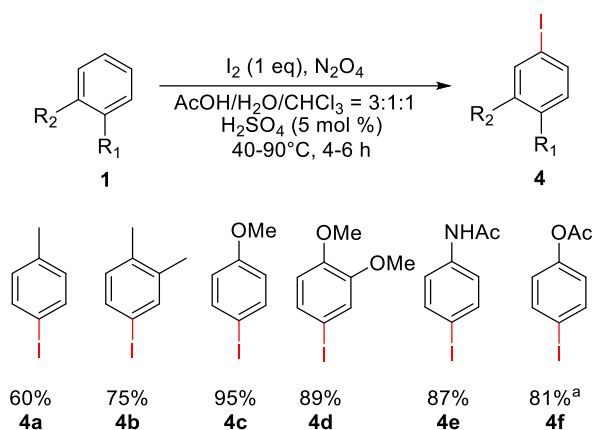


Schéma 6. Iodation d'arènes désactivés utilisant  $I_2$  dans  $HNO_3$  et  $AcOH$

<sup>93</sup> R. L. Datta, N. R. Chatterjee, *J. Am. Chem. Soc.*, **1917**, 39, 435-441.

<sup>94</sup> E. B. Merkushev, *Russ. Chem. Rev.* **1984**, 53, 343-350.

<sup>95</sup> Y. Noda, M. Kashima, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 6225-6228.



**Schéma 7.** Iodation d'arènes activés utilisant le diiode et  $N_2O_4$  <sup>(a)</sup> Réaction dans  $CHCl_3$  avec 5%  $H_3(PW_{12}O_{40})/SiO_2$ , sans  $H_2SO_4$ )

D'une manière générale, toutes ces méthodes requièrent des conditions drastiques : fortes températures et larges excès d'acides jouant le rôle de solvants. De plus, la formation de composés nitrés ou dinitrés est souvent observée. Généralement, le mécanisme d'iodation suit un processus classique de  $S_E$  : le diiode est oxydé par  $HNO_3$  ou  $N_2O_4$  générant une espèce  $I^+$  électrophile. Cette dernière est ensuite piégée par le noyau aromatique tout en respectant la régiosélectivité classique des  $S_E$ .

## 1.2 Iodation oxydante

Plus récemment, divers systèmes réactionnels ont été développés afin de réaliser des réactions plus sélectives en suivant des conditions beaucoup plus douces.

### 1.2.1 Iodation avec un système iodure/iode hypervalent.

Les iodates ou les réactifs à base d'iode hypervalent sont également des bons réactifs pour l'iodation électrophilique des composés aromatiques.<sup>96, 97, 98, 99, 100</sup> Les mécanismes de ces réactions restent complexes car beaucoup d'espèces dérivées de l'iode se forment pendant la réaction. Il est donc difficile d'identifier les espèces réactives formées en solution au cours de la réaction.

En 2005, le groupe de Skulski a réussi à effectuer l'iodation d'arènes désactivées en utilisant une combinaison de KI et de  $NaIO_4$  en présence de  $H_2SO_4$  concentré (Schéma 8).<sup>101</sup> Le grand avantage de cette méthode réside dans le fait que les réactions ont été réalisées à 25-30°C en seulement une ou deux heures en utilisant soit une méthode « directe » (le substrat est ajouté dans le mélange des réactifs) ou une méthode « inverse » (le mélange de réactifs d'iodation est ajouté goutte à goutte dans la suspension de substrats) pour donner des produits purs mono- ou di-iodés avec des rendements allant de 57-91%.

<sup>96</sup> K. Asadollah, M. Heravi, R. Hekmatshoar, S. Majedi, *Molecules* **2007**, *12*, 958-964.

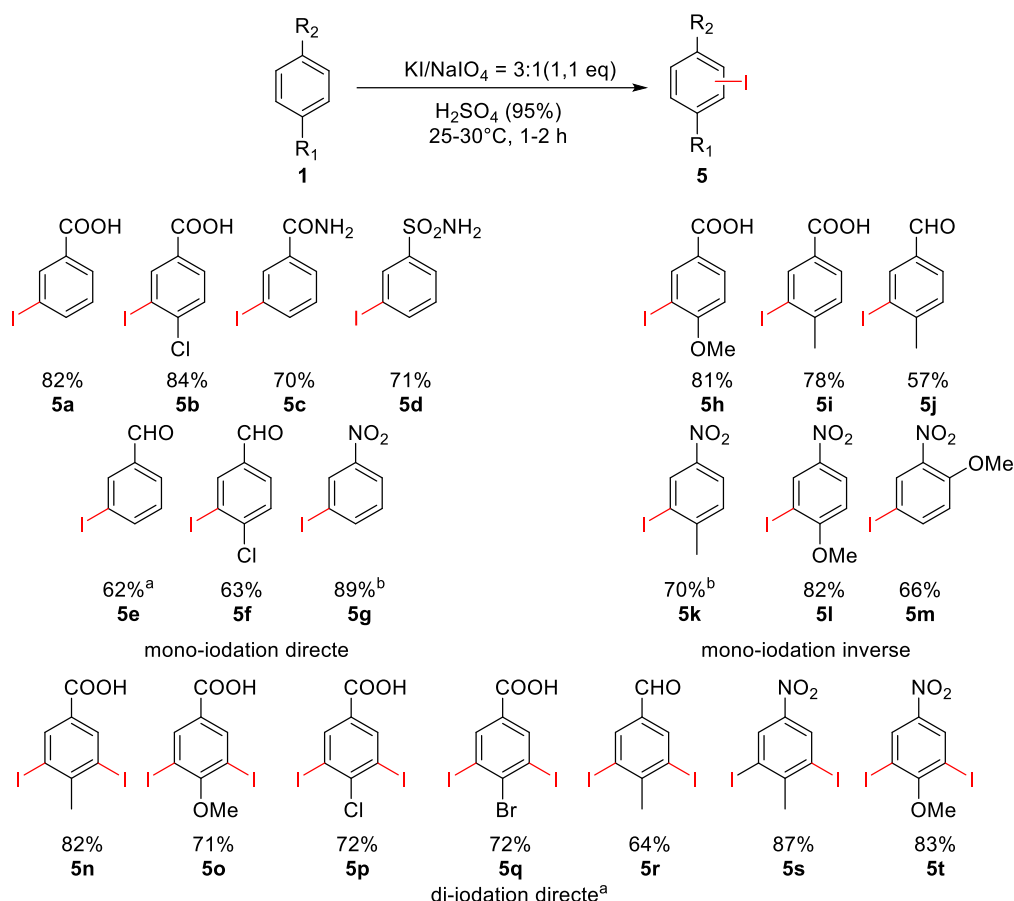
<sup>97</sup> S. Ganesamoorthy, K. Shanmugasundaram, R. Karvembu, *Catal. Commun.* **2009**, *10*, 1835-1838.

<sup>98</sup> S. Roth, C. B. W. Stark, *Chem. Commun.* **2008**, 6411-6413.

<sup>99</sup> M. A. Zolfigol, M. Bagherzadeh, S. Mallakpour, G. Chehardoli, A. Ghorbani-Choghamarani, N. Koukabi, M. Dehghanian, M. Doroudgar, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2007**, *270*, 219-224.

<sup>100</sup> A. Khazaei, M. A. Zolfigol, E. Kolvari, N. Koukabi, H. Soltani, F. Komaki, *Synthesis* **2009**, 3672-3676.

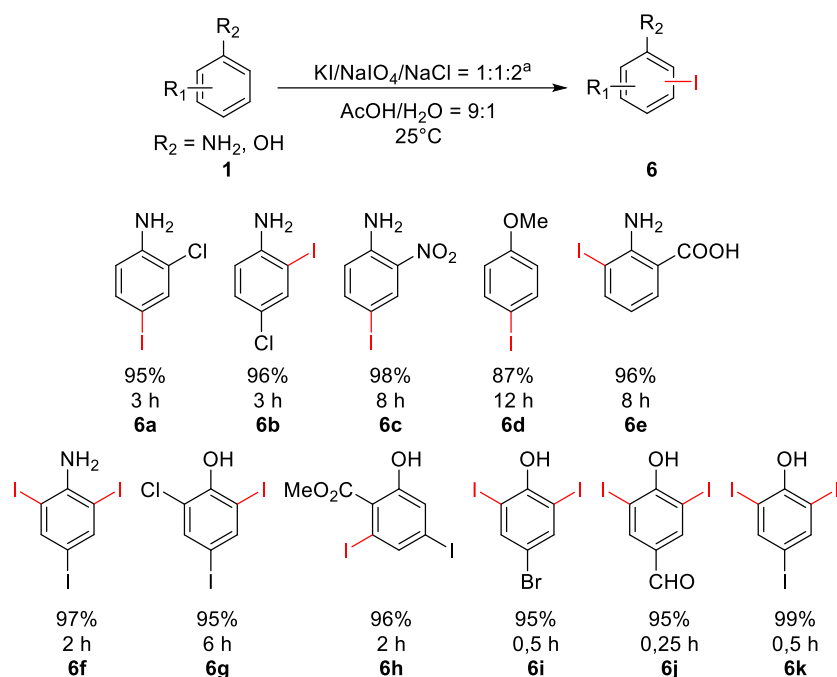
<sup>101</sup> L. Kraszkiewicz, M. Sosnowski, L. Skulski, *Synthesis* **2006**, 1195-1199.



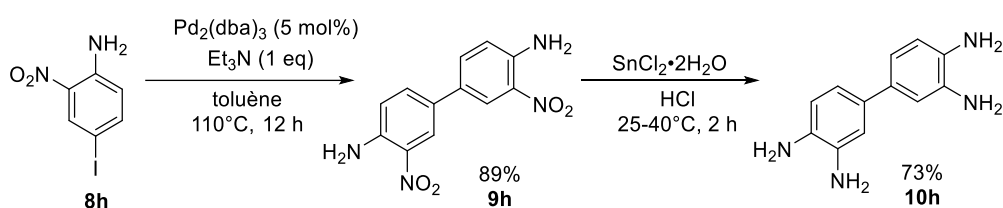
**Schéma 8.** Mono-iodation et di-iodation des aromatiques désactivés « directe » / « inverse » [ <sup>a</sup>) I<sup>+</sup> (1,5 eq), <sup>b</sup>) I<sup>+</sup> (2 eq)]

En 2006, le système KI, NaIO<sub>4</sub> et NaCl a été étudié avec succès sur des arènes activés grâce à la génération *in situ* de ICl par le groupe de Sudalai (Schéma 9).<sup>102</sup> Cette méthode tolère particulièrement bien les dérivés d'aniline qui sont des substrats acido-sensibles. La mono- ou la di-iodation peuvent être contrôlées en ajustant la quantité de KI mise en jeu. Par exemple, l'iodation d'aniline générant le produit mono-iodé **6b** et di-iodé **6f** en présence de différentes quantités de KI. Cette procédure d'iodation a été efficacement appliquée à la synthèse de la 3,3'-diaminobenzidine **10h** avec un rendement satisfaisant de 73% et une pureté exceptionnelle de 99,7% (Schéma 10). En effet, ce composé est un intermédiaire clé lors de la préparation des membranes de conduite de protons servant dans les piles à combustible.

<sup>102</sup> L. Emmanuvel, R. K. Shukla, A. Sudalai, S. Gurunath, S. Sivaram, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 4793-4796.



**Schéma 9.** Iodation d'arènes activés utilisant NaIO<sub>4</sub>/KI/NaCl (<sup>a</sup>) 1 eq pour **6a-6e**, 2 eq pour **6f-6j**, 3 eq pour **6k**)



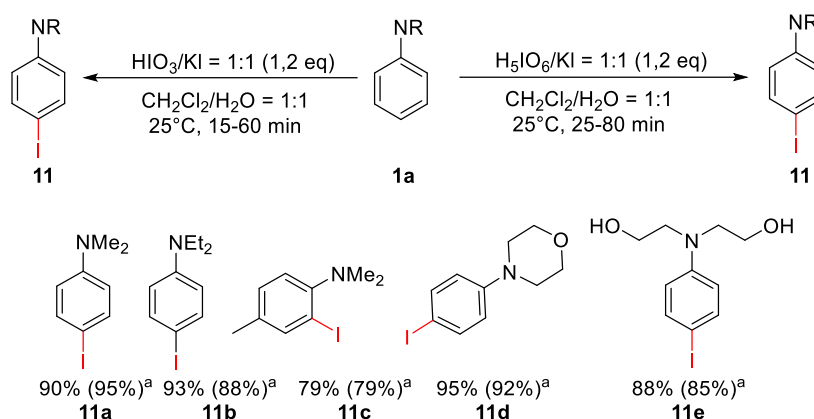
**Schéma 10.** Synthèse de la 3,3'-diaminobenzidine **10h**.

Plus récemment, des anilines iodées ont pu être isolées à partir de la génération *in situ* de I<sub>2</sub> (Schéma 11). Deux combinaisons réactives ont été évaluées : le système KI/HIO<sub>3</sub><sup>103</sup> et le système KI/H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub>.<sup>104</sup> La réaction est limitée aux anilines, car aucune iodation n'a été observée sur les autres types d'arènes. Ces réactions sont intéressantes car elles sont menées dans un système biphasique composé d'eau et de dichlorométhane permettant l'extraction et la purification rapide des produits.

<sup>103</sup> M. A. Zolfigol, A. Khazaei, E. Kolvari, N. Koukabi, H. Soltani, M. Behjunia, V. Khakyzadeha, *Arkivoc* **2009**, 200-210.

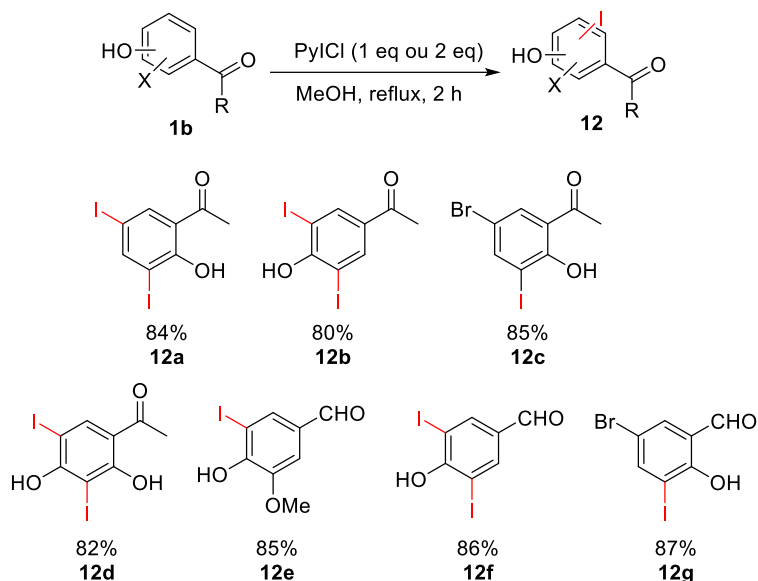
<sup>104</sup> M. A. Zolfigol, A. Khazaei, E. Kolvari, N. Koukabi, H. Soltani, M. Behjunia, *Helv. Chim. Acta* **2010**, 93, 587-594.





**Schéma 11.** Mono-iodation des amines aromatiques [<sup>a</sup>]  $\text{HIO}_3/\text{KI} = 1:1$  (1,2 eq) ]

Une autre approche a été développée par le groupe de Vibhute où l'iodochlorure de pyridinium ( $\text{PyICl}$ ) a été utilisé pour l'iodation électrophile aromatique directe sur des composés phénoliques (Schéma 12).<sup>105</sup> Les conditions réactionnelles tolèrent des fonctions chimiques sensibles telles que les carbonyles de cétones et d'aldéhydes avec de très bons rendements allant de 80% à 87%. Les produits sont isolés avec une régiosélectivité totale. En effet, la position en *meta*- des carbonyles est favorisée. Généralement, le produit majoritaire est le produit di-iodé en présence de 2 équivalents de  $\text{PyICl}$  mais si une des positions *meta*- est bloquée, le produit mono-iodé est uniquement observé (**12c**, **12e** et **12g**).



**Schéma 12.** Iodation de phénols.

Si les systèmes précédents étaient restreints aux noyaux aromatiques simples, le dichloroiodate de potassium ( $\text{KICl}_2$ ) a montré son efficacité pour l'iodation des substrats aromatiques et hétéroaromatiques dans les solvants aqueux à température ambiante bien que la durée de réaction soit relativement longue pour certains substrats comme **13c** et **13d** (Schéma 13).<sup>106</sup>

<sup>105</sup> S. V. Khansole, S. S. Mokle, M. A. Sayyed, Y. B. Vibhute, *J. Chin. Chem. Soc.* **2008**, 55, 871-874.

<sup>106</sup> S. J. Garden, J. C. Torres, S. C. D. Melo, A. S. Lima, A. C. Pinto, E. L. S. Lima, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 2089-2092.

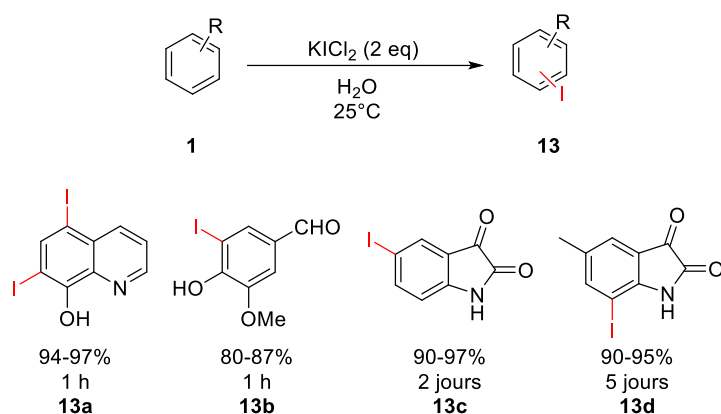


Schéma 13. Produits iodés obtenus en utilisant KICl<sub>2</sub>

Une autre méthode intéressante a été développée en 2002 par le groupe de Hajipour (Schéma 14).<sup>107</sup> Les auteurs ont montré que le dichloroiodate de tétraméthylammonium (TMADCl) est un réactif efficace pour ioder rapidement des composés aromatiques en suivant des conditions douces à température ambiante et sans solvant. De plus, cette méthode montre une bonne régiosélectivité pour les substrats activants et seuls les produits *para*-iodés sont observés (14a, 14c-14f).

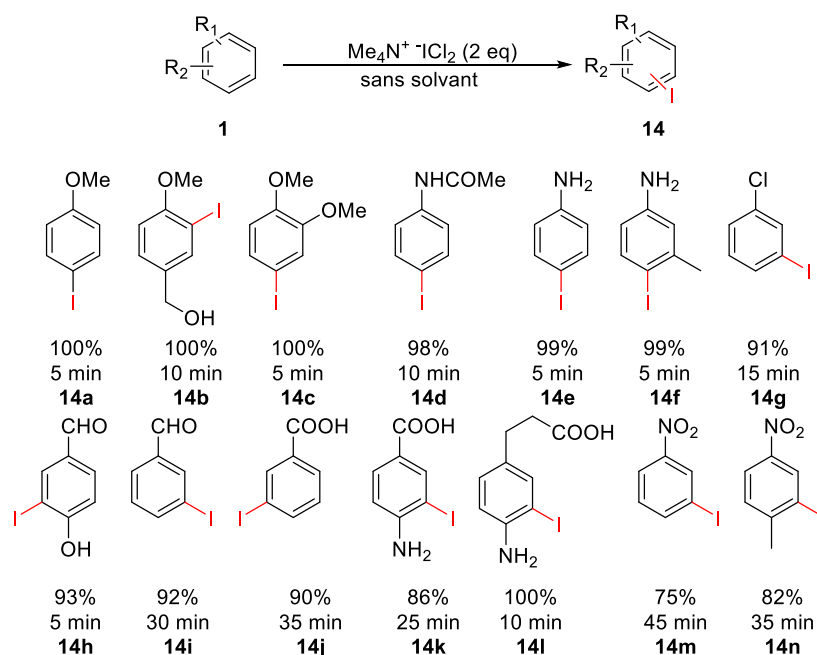


Schéma 14. Iodation aromatique sans solvant.

### 1.2.2 Iodations avec des sels de persulfates

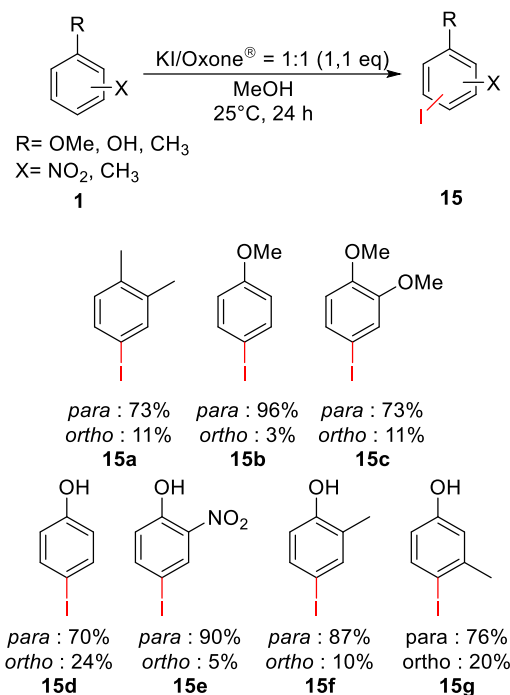
Les ions persulfates tels que le persulfate de sodium (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), le persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), le persulfate d'ammonium (NH<sub>4</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) et le peroxymonosulfate de potassium (KHSO<sub>5</sub>) (Oxone®) sont des oxydants forts qui ont également été mis à profit pour l'iodation oxydante d'arènes en présence de différentes sources de iodures.<sup>108</sup> Parmi ces derniers, l'Oxone® a été le plus étudié grâce à sa double fonction d'oxydant et

<sup>107</sup> A. R. Hajipour, M. Arbabian, A. E. Ruoho, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 8622-8624.

<sup>108</sup> N. C. Ganguly, S. K. Barik, S. Dutta, *Synthesis* **2010**, 1467-1472.

d'acide.

La première utilisation de l'Oxone<sup>®</sup> pour l'iodation électrophile des composés aromatiques en présence de KI a été rapportée par Narender et ses collègues en 2002 (Schéma 15).<sup>109</sup> Après un passage en revue de plusieurs oxydants tels que l'Oxone<sup>®</sup>, le *tert*-butylhydroperoxyde, le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène moléculaire, le premier s'est avéré être le plus performant. Les réactions sont effectuées à température ambiante, le champ d'application de la réaction se limite aux arènes activées. Plusieurs régioisomères sont isolés à chaque fois.

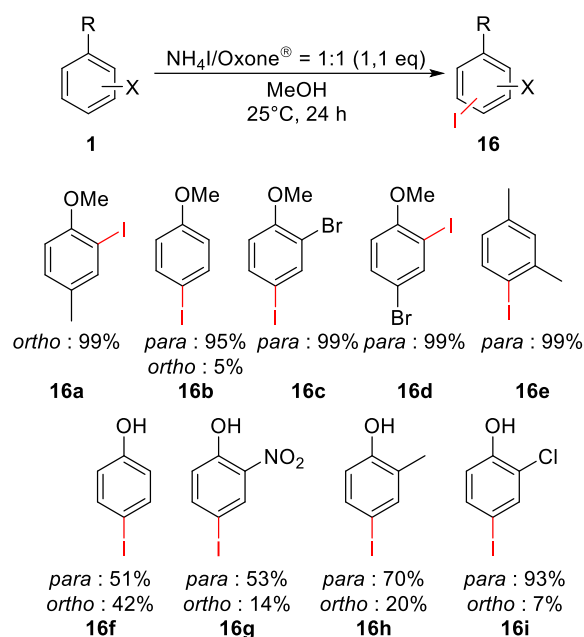


**Schéma 15.** Iodation non régiosélective utilisant KI et l'Oxone<sup>®</sup> (seul l'isomère majoritaire est représenté)

Par la suite, le même groupe a rapporté une seconde méthode toujours basée sur l'Oxone<sup>®</sup> mais utilisant cette fois NH<sub>4</sub>I comme source d'iode (Schéma 16).<sup>110</sup> Les rendements obtenus ont été considérablement augmentés.

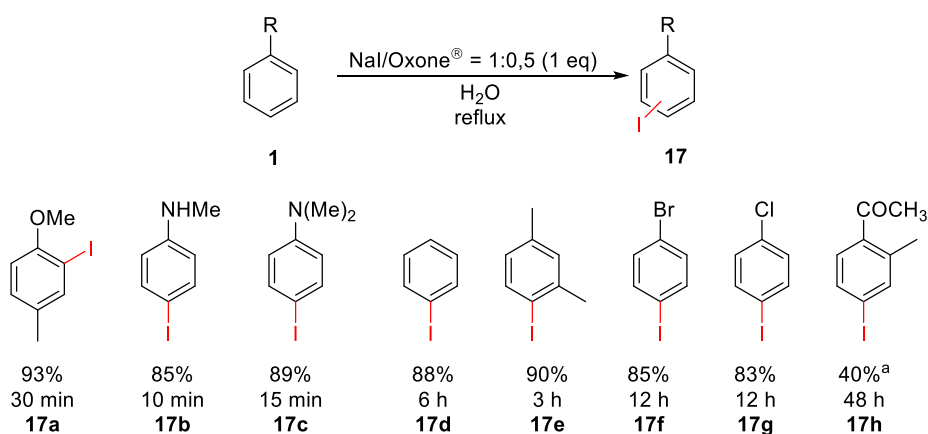
<sup>109</sup> N. Narender, P. Srinivasu, S. J. Kulkarni, K. V. Raghavan, *Synth. Commun.* **2002**, 32, 2319-2324.

<sup>110</sup> K. Mohan, M. N. Narender, S. J. Kulkarni, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 8015-8018.



**Schéma 16.** Iodation régiosélective utilisant NH<sub>4</sub>I et l'Oxone® (seul l'isomère majoritaire est représenté)

Étant donné que les risques pour la santé et que les préoccupations environnementales sont primordiaux de nos jours, le groupe de Firouzabadi a décidé d'étudier l'iodation directe de divers composés aromatiques dans l'eau.<sup>111</sup> Le système NaI/Oxone® a prouvé être le plus efficace, donnant les substrats souhaités avec de bons rendements (Schéma 17).



**Schéma 17.** Mono-iodation des aromatiques utilisant NaI/ Oxone®/H<sub>2</sub>O (<sup>a</sup>) 45% de conversion.)

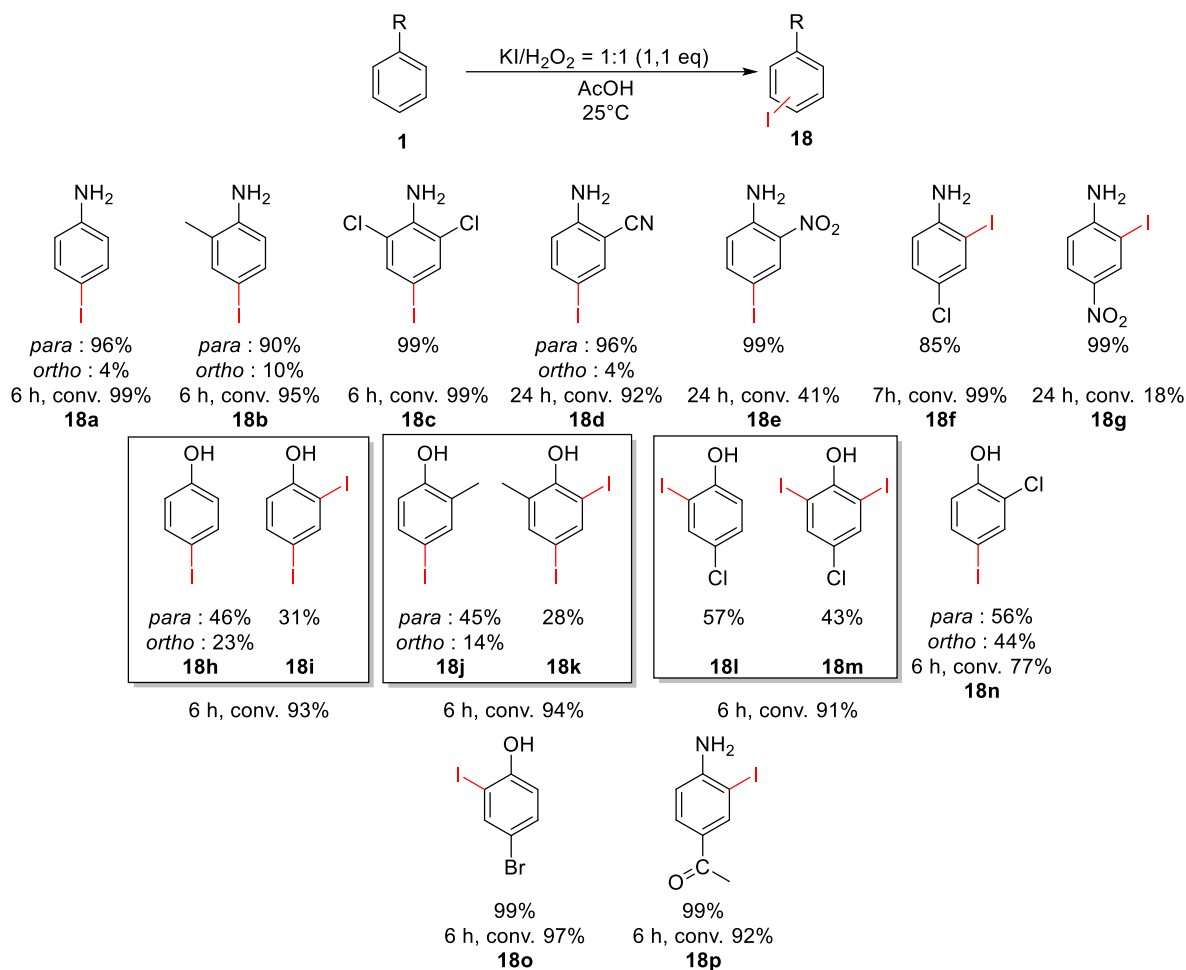
### 1.2.3 Iodations avec le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) est considéré comme un oxydant « vert » en raison de l'eau formée comme seul sous-produit d'oxydation. Ainsi, le peroxyde d'hydrogène a été élégamment utilisé pour l'iodation de composés organiques en présence de différentes sources d'iode.

Parmi les exemples les plus représentatifs, le groupe de Reddy a utilisé H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme oxydant dans l'iodation des arènes activés ou désactivés en présence de KI comme source d'iode et dans l'acide acétique

<sup>111</sup> H. Firouzabadi, N. Iranpoor, S. Kazemi, *Can. J. Chem.* **2009**, 87, 1675-1681.

comme solvant.<sup>112</sup> Un large panel d'aromatiques iodés a été isolé avec de bons rendements (Schéma 18). D'une manière générale, la régiosélectivité de la réaction est meilleure avec les anilines qu'avec les phénols. De plus, dans les cas de ces derniers, des produit di-iodés ont également été observés.

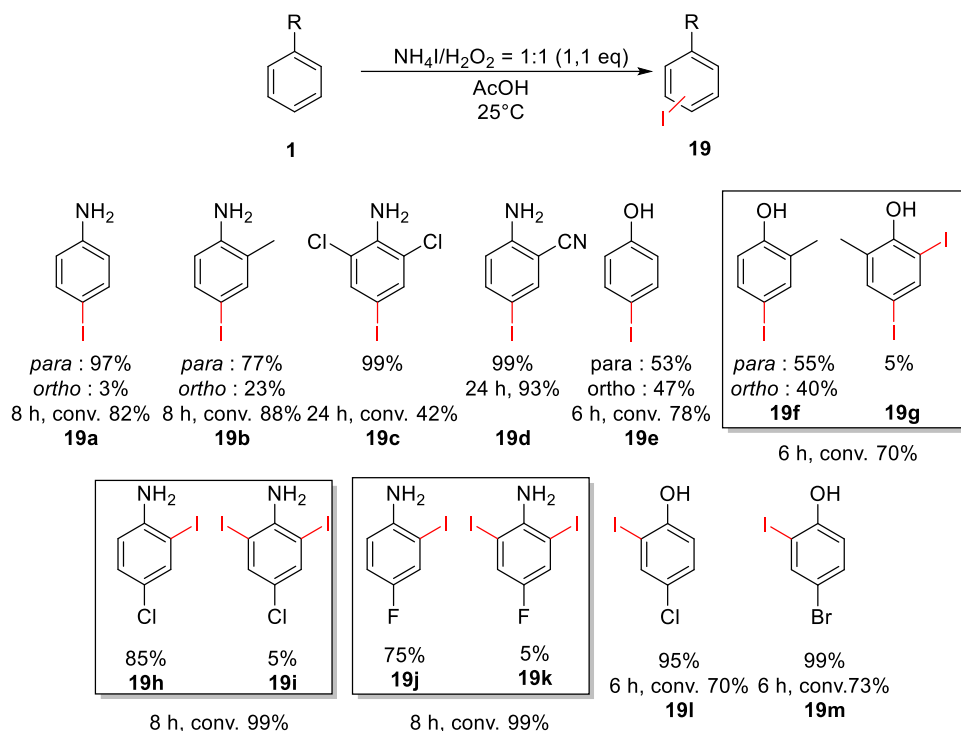


**Schéma 18.** Iodation utilisant KI/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans AcOH (seul l'isomère mono-iodé majoritaire est représenté)

Dans une même optique, la préparation d'arènes iodés a pu être également réalisée avec NH<sub>4</sub>I comme source d'iode et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> comme oxydant à température ambiante (Schéma 19). Comme lors de l'exemple précédent, cette méthode peut être appliquée à une large gamme de composés aromatiques avec une régiosélectivité modérée à élevée pour la *para*-iodation.<sup>113</sup> Plus en détails, l'iodation des anilines a été plus régiosélective que celle des phénols. Mais cette fois-ci, des arènes di-iodés ont été observés après l'iodation des anilines.

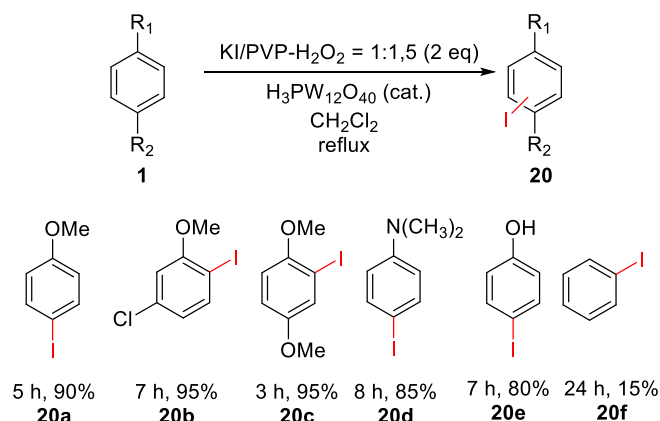
<sup>112</sup> K. S. K. Reddy, N. Narender, C. N. Rohitha, S. J. Kulkarni, *Synth. Commun.* **2008**, 38, 3894-3902.

<sup>113</sup> N. Narender, K. S. K. Reddy, K. Mohan, S. J. Kulkarni, *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 6124-6128.



**Schéma 19.** Iodation utilisant  $\text{NH}_4\text{I}/\text{H}_2\text{O}_2$  dans  $\text{AcOH}$  (seul l'isomère majoritaire est représenté)

Une autre méthode de préparation d'arènes iodés a été réalisée sur support solide. Lors de ce protocole,  $\text{H}_2\text{O}_2$  est supportée sur de la polyvinylpyrrolidone et ce polymère est ensuite mis en présence de  $\text{KI}$  ou  $\text{I}_2$  avec une quantité catalytique de  $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$  au reflux du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (Schéma 20).<sup>114</sup> Comme pour la majorité des réactions utilisant les supports solides, le résidu est facile à recycler et les produits à isoler. Cependant, comme lors des autres cas utilisant  $\text{H}_2\text{O}_2$ , le benzène **20f** et les arènes désactivées restent toujours très peu réactifs.



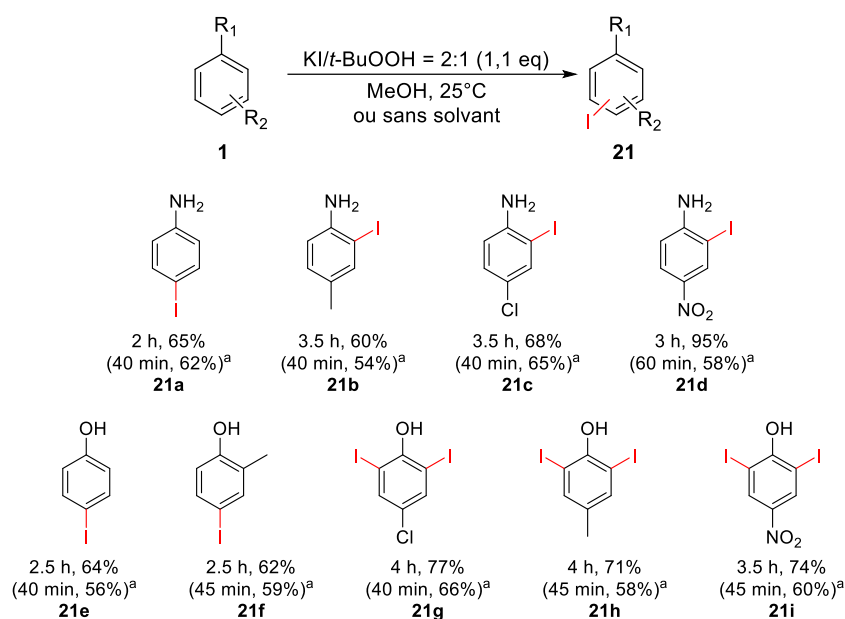
**Schéma 20.** Iodation sur support solide en présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{KI}$ .

En 2010, le groupe de Prakash a développé une méthode d'iodation oxydante de composés organiques en phase liquide ou sans solvant (Schéma 21).<sup>115</sup> Dans ce cas,  $\text{KI}$  est oxydé par des peroxydes tels que l'hydroperoxyde de *t*-butyle (*t*-BuOOH) en broyant les réactifs dans un mortier avec un pilon. Si des produits

<sup>114</sup> A. R. Pourali, M. Ghanei, *Chin. J. Chem.* **2006**, 24, 1077-1079.

<sup>115</sup> G. Venkateshwarlu, A. Premalatha, A. Chakradhar, K. C. Rajanna, P. K. S. Prakash, *Helv. Chim. Acta* **2010**, 93, 345-349.

mono-iodés ont été obtenus avec de bons rendements pour les anilines, les phénols ont donné majoritairement des produits di-iodés (**21g-21i**).



**Schéma 21.** Iodation d'anilines et de phénols utilisant <sup>t</sup>BuOOH et KI. (<sup>a</sup>)rendement sans solvant)

La préparation d'arènes iodés a pu également être réalisée en utilisant le chlorure de cérium hexahydraté en quantité catalytique. La méthode requiert l'utilisation d'iodure de sodium dans l'eau (Schéma 22).<sup>116</sup> Le rôle de cérium (III) trichlorure comme catalyseur dans les réactions organiques est bien documenté et il a été montré que le sel de cérium n'est pas un acide de Lewis ordinaire pour l'activation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Afin de démontrer que le sel de cérium n'agit pas comme un simple acide de Lewis usuel, l'iodation du 1,3-diméthoxybenzène comme substrat modèle a été étudiée en présence d'une quantité catalytique de divers acides de Lewis. L'amélioration drastique du rendement de la réaction catalysée par CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O en comparaison avec d'autres catalyseurs d'acide de Lewis suggère que les réactions conduites en présence de CeCl<sub>3</sub>·7H<sub>2</sub>O impliquent un processus de transfert d'électrons.

<sup>116</sup> H. Firouzabadi, N. Iranpoor, S. Kazemi, A. Ghaderi, A. Garzan, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, 351, 1925-1932.

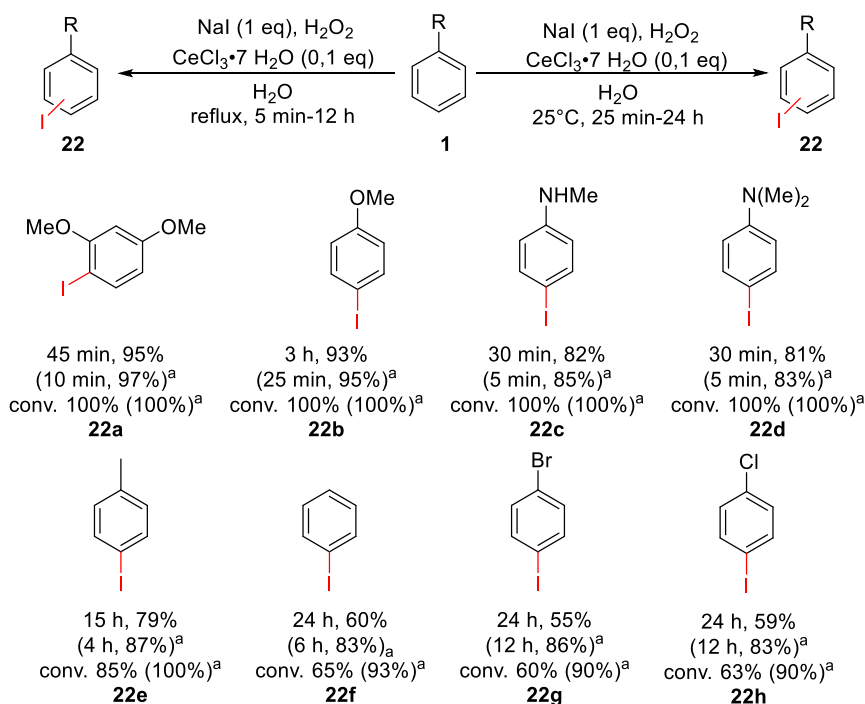


Schéma 22. Mono-iodation utilisant NaI et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> catalysé par CeCl<sub>3</sub>.7H<sub>2</sub>O (<sup>a</sup>)Rendement et conversion au reflux)

### 1.3 Iodations activées par les métaux de transition

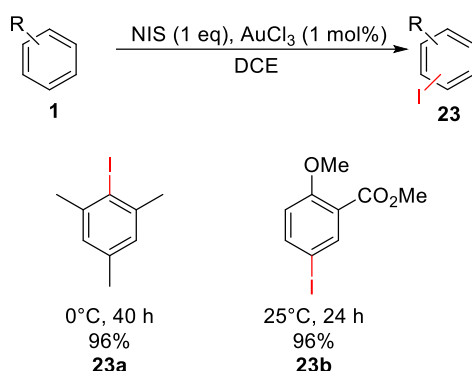
Les métaux de transition ont également été utilisés en tant qu'acides de Lewis pour l'iodation régiosélective d'arènes. Comme nous allons le voir ci-dessous, les méthodes décrites sont généralement limitées aux arènes activés et la formation de produits secondaires poly-iodés est souvent observée.

#### 1.3.1 Iodation catalysée par un dérivé d'acide de Lewis d'or.

Wang et ses collègues ont été parmi les pionniers dans l'exploration de la réactivité de sels d'or dans les *S<sub>E</sub>Ar* en présence d'halogènes (Schéma 23).<sup>117</sup> Ils ont montré que le chlorure d'or (III) pouvait être le catalyseur idéal pour la bromation efficace et régiosélective d'une gamme d'aromatiques riches en électrons en présence de NBS. Même si un petit nombre d'arènes iodés a pu être isolé, l'extension de leur méthodologie au NIS s'est montrée problématique à cause de la durée longue de la réaction. Au-delà de l'aspect synthétique, les auteurs ont prouvé que le catalyseur d'or (III) a un double rôle dans la réaction : il est capable de former une espèce d'or (III) aromatique ou d'agir comme un acide Lewis pour activer NIS.

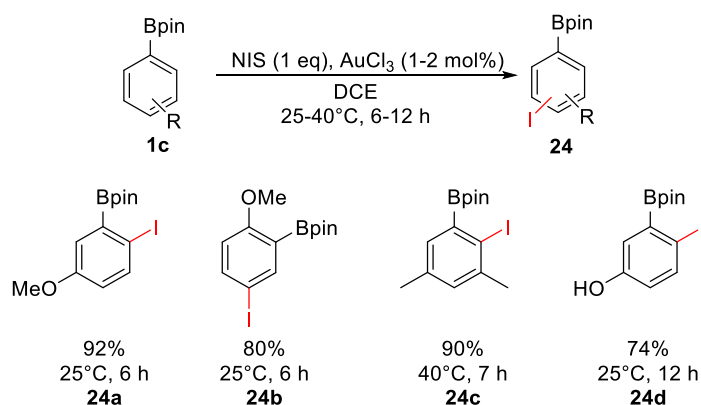
<sup>117</sup> F. Mo, J. M. Yan, D. Qiu, F. Li, Y. Zhang, J. Wang, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 2028-2032.





**Schéma 23.** Iodation d'arènes utilisant NIS et AuCl<sub>3</sub>

Suite à ce travail préliminaire, Wang a poursuivi l'étude des sels d'or dans la réaction de substitution aromatique électrophile en iodant des esters pinacoliques d'aryle boronique (Schéma 24).<sup>118</sup> Cette fois-ci, les produits désirés ont été obtenus avec des rendements élevés en suivant des conditions douces. Il est également remarquable de noter que, les réactions sont généralement fortement sélectives : l'iodation électrophile aromatique est totalement favorisée par rapport à la substitution *ipso* du boronate, démontrant que le groupe fonctionnel boronate est faiblement activant et *ortho/para* orienteur.

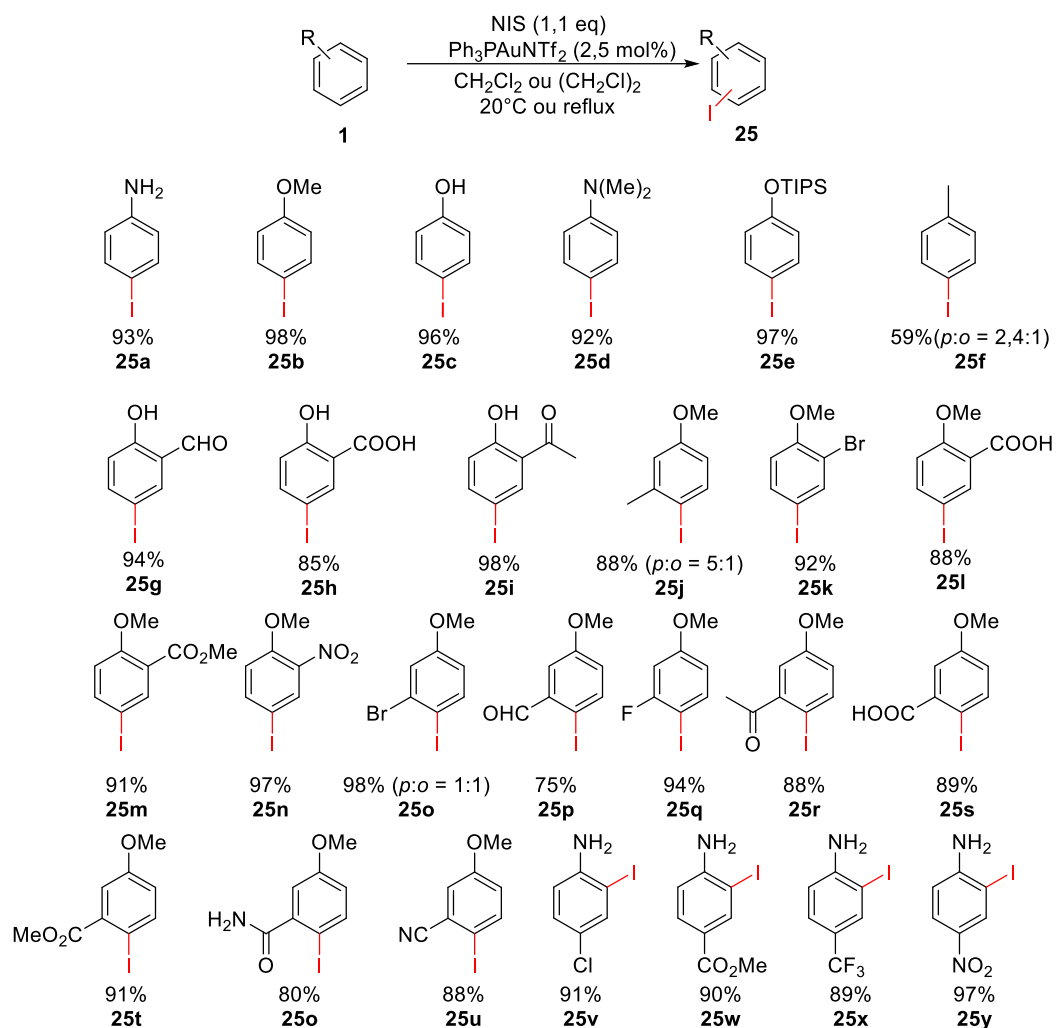


**Schéma 24.** Iodation de pinacol arylboronate catalysée par AuCl<sub>3</sub>

Enfin, le groupe de Frontier a développé une méthode plus générale pour l'iodation des dérivés aromatiques à l'aide d'un acide Lewis d'or (I) plus doux, le Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub> (Schéma 25).<sup>119</sup> Cette procédure a permis la synthèse d'une large gamme d'aromatiques iodés avec d'excellents rendements dans des conditions douces. Généralement, cette méthode aboutit à une bonne régiosélectivité sauf dans le cas des produits **25f**, **25j** et **25o** où des régioisomères sont observés. Une étude mécanistique a montré que les réactions suivent un mécanisme typique de Friedel-Crafts dans lequel l'espèce d'or(I) active le NIS.

<sup>118</sup> D. Qiu, F. Mo, Z. Zheng, Y. Zhang, J. Wang, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5474-5477.

<sup>119</sup> D. Leboeuf, J. Ciesielski, A. J. Frontier, *Synlett.* **2014**, *25*, 399-402.

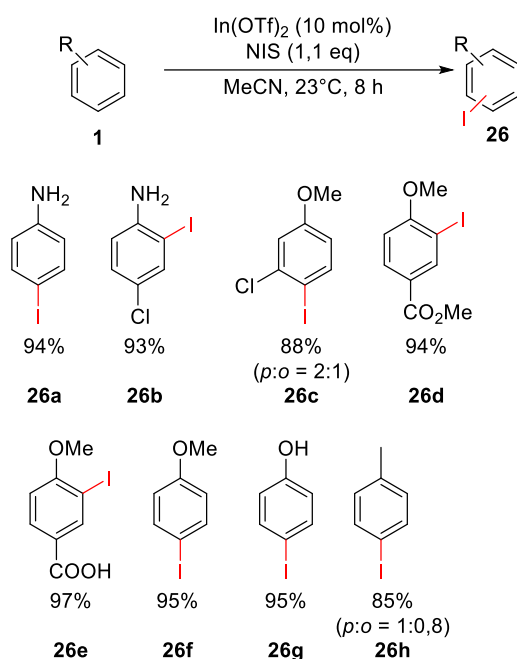


**Schéma 25.** Monoiodation d'arènes catalysée par Ph<sub>3</sub>PAuNTf<sub>2</sub>

### 1.3.2 Iodation catalysée par des autres acides de Lewis

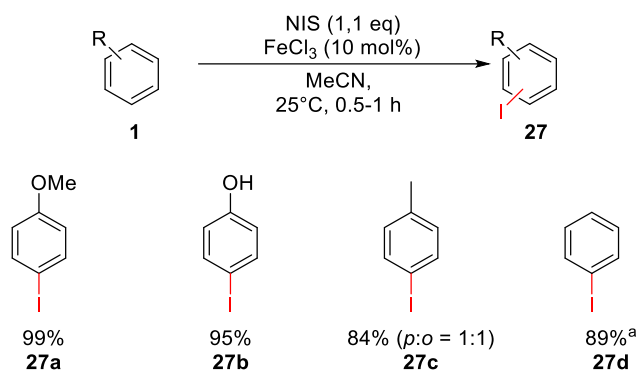
Une méthode générale d'iodation d'aryles et d'hétéroaryles, utilisant le triflate d'indium (III) comme acide de Lewis pour activer le NIS, a été développée par Romo et ses collègues (Schéma 26).<sup>120</sup> Même si le champ d'application de ce protocole est limité aux arènes riches en électrons, les rendements et les régiosélectivités des réactions sont élevés.

<sup>120</sup> C. Y. Zhou, J. Li, S. Peddibhotla, D. Romo, *Org. Lett.* **2010**, 12, 2104-2107.



**Schéma 26.** Mono-iodation des arènes catalysée par  $\text{In}(\text{OTf})_3$

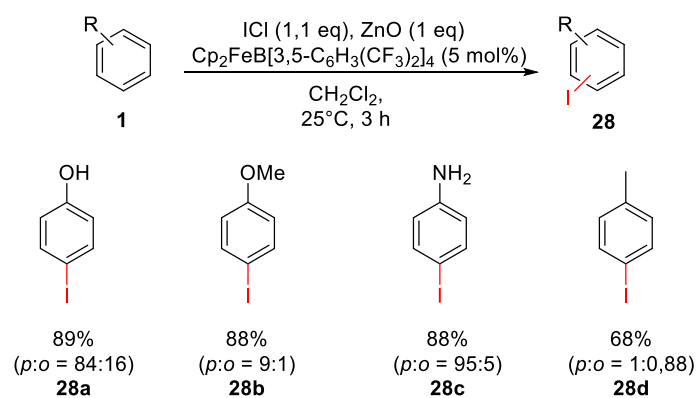
Le fer, métal abondant et peu cher, a également été étudié. Au cours d'une brève étude, le groupe de Tanemura a démontré que le trichlorure de fer (III) pouvait être employé pour activer le NIS dans l'iodation du benzène, de l'anisole, du toluène et de l'éther de diphenyle avec des rendements globaux élevés (Schéma 27).<sup>121</sup> Afin d'améliorer l'acidité de Lewis du fer, le groupe de Mukaiyama a utilisé comme un complexe du fer, faiblement coordonné par un anion de bore ( $\text{B}[3,5\text{-C}_6\text{H}_3(\text{CF}_3)_2]_4^-$ ) en présence d'oxyde de zinc et  $\text{ICl}$  pour l'iodation d'arènes activés (Schéma 28).<sup>122</sup> Malgré l'obtention des produits souhaités avec de bons rendements, les auteurs ont observé des mélanges de régioisomères durant cette transformation.



**Schéma 27.** Iodation d'arènes utilisant NIS et catalysée par  $\text{FeCl}_3$ . (a) Réaction effectuée à 100°C pendant 5 h

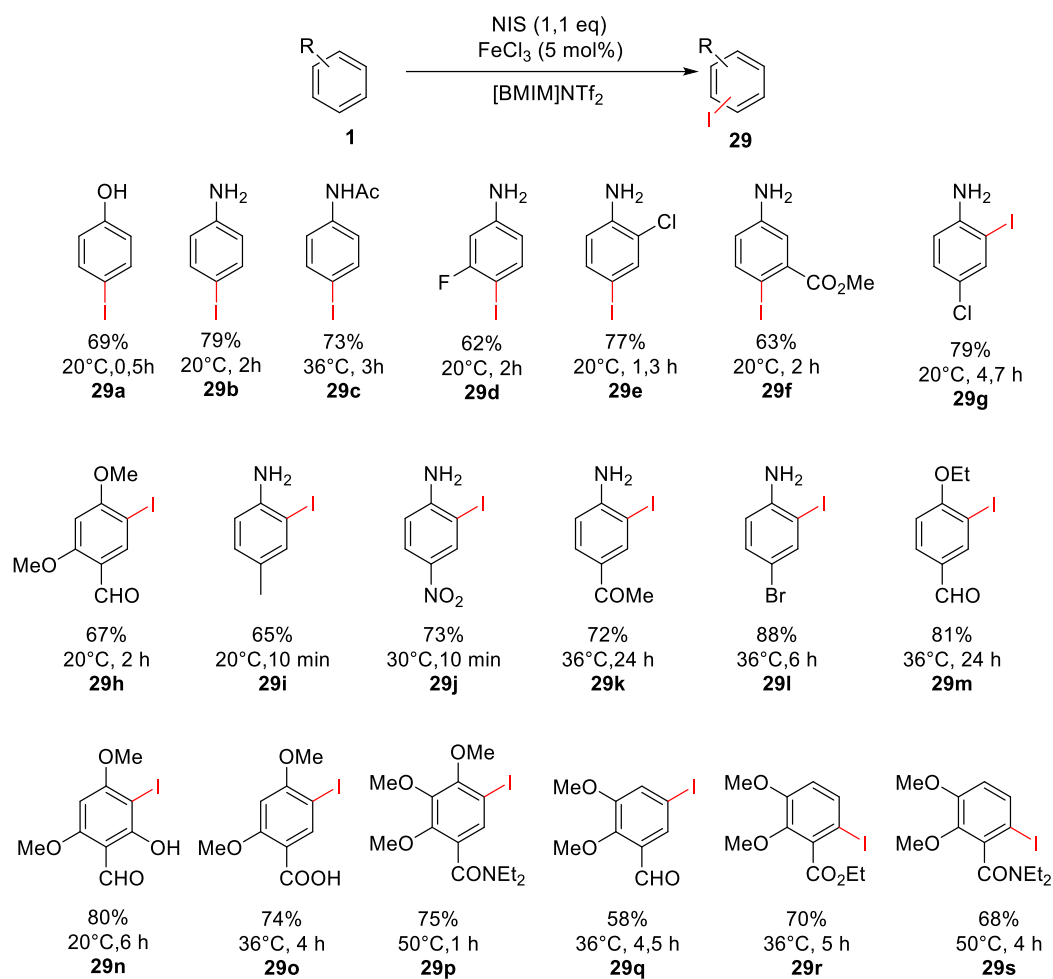
<sup>121</sup> K. Tanemura, T. Suzuki, Y. Nishida, K. Satsumabayashi, T. Horaguchi, *Chem. Lett.* **2003**, 32, 932-933.

<sup>122</sup> H. Kitagawa, T. Shibata, J. I. Matsuo, T. Mukaiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2002**, 75, 339-345.



**Schéma 28.** Iodation aromatique avec ICl.

Récemment, une méthode élégante ferro(III)-catalysée a été décrite par le groupe de Sutherland.<sup>123</sup> Cette dernière est non seulement plus générale que les précédentes mais également fortement régiosélective (Schéma 29). La réaction est particulièrement efficace pour l'iodation d'aryles portant des groupes désactivants. Le liquide ionique agit comme un activateur de fer (III), génère *in situ* l'espèce catalytique réactive et fournit une pression cohésive élevée pour accélérer la réaction. Par ailleurs, le liquide ionique est facile à recycler.



**Schéma 29.** Iodation d'arènes catalysée par FeCl<sub>3</sub> dans un solvant ionique.

Le grand problème de cette procédure est que les arènes fortement activés, tels que les phénols,

<sup>123</sup> D. T. Racys, C. E. Warrilow, S. L. Pimlott, A. Sutherland, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4782-4785.

produisent des petites quantités de produits di-iodés, donnant ainsi des composés mono-iodés avec de plus faibles rendements. Afin de surmonter cette limitation, l'activation du NIS par un acide de Lewis basé sur un métal moins chargé a été beaucoup étudiée. Particulièrement, le choix s'est porté vers le triflimide argent (I), un acide de Lewis plus doux grâce à la nature fortement délocalisée du contre-ion triflimide vis-à-vis du métal.<sup>124</sup> Le groupe de Sutherland a appliqué ce nouveau système catalytique sur l'iodation aromatique. Ce nouveau système s'est avéré être une solution générale pour l'iodation d'une large gamme d'arènes et cette fois-ci, les phénols fortement activés ont généré des composés mono-iodés avec les rendements élevés (Schéma 30).<sup>125</sup> De plus, une bonne régiosélectivité a également été observée pour les autres arènes activés.

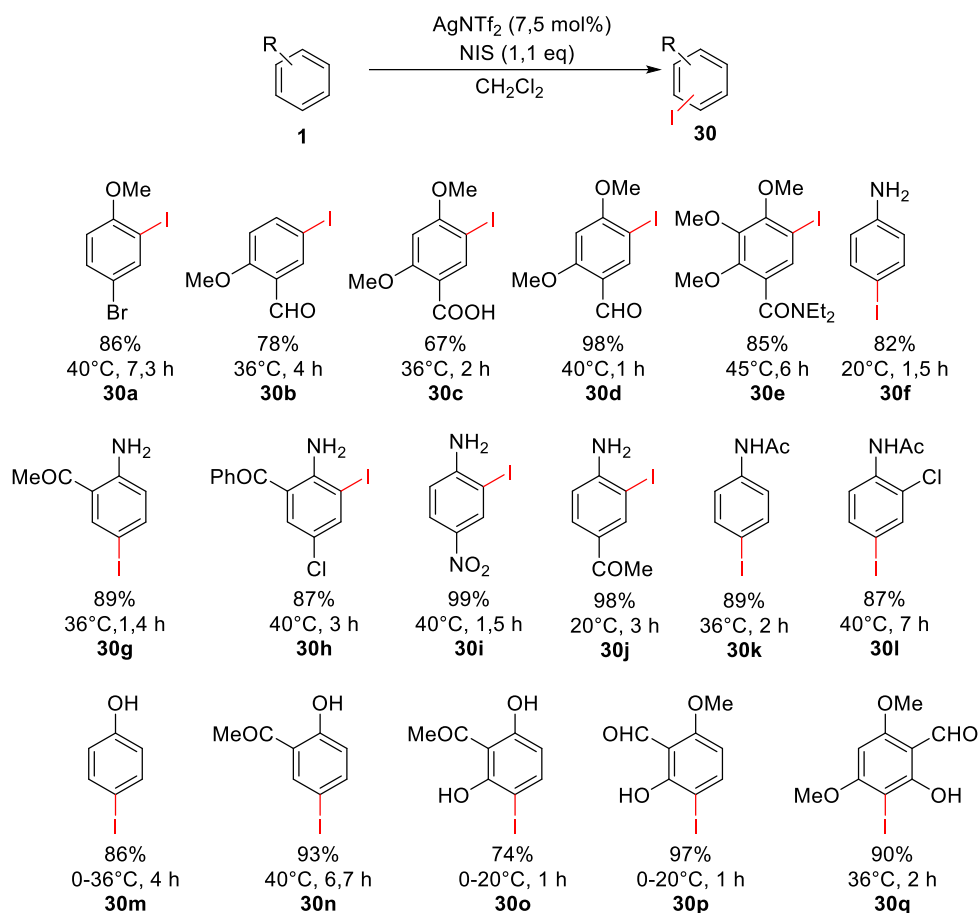


Schéma 30. Iodation d'arènes catalysée par Ag(NTf)<sub>2</sub>

#### 1.4 Iodation sans additif en présence de HFIP

Au cours de ces dernières années, il a été démontré que les alcools fluorés tels que le trifluoroéthanol (TFE) et l'hexafluoro-2-propanol (HFIP) possèdent des caractéristiques uniques en tant que solvants, co-solvants ou additifs en synthèse organique.<sup>126</sup> En effet, grâce à ses propriétés attractrices d'électrons puissantes, le groupe fonctionnel trifluorométhyle influe sur plusieurs paramètres clé des alcools : pouvoir d'ionisation élevé, donneur fort de liaison hydrogène (ou acidité de liaison H), acidité faible et faible nucléophilie.<sup>127</sup>

<sup>124</sup> S. Antoniotti, V. Dalla, E. Duñach, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 7860-7888.

<sup>125</sup> D. T. Racys, S. A. I. Sharif, S. L. Pimlott, A. Sutherland, *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 772-780.

<sup>126</sup> I. Colomer, A. E. Chamberlain, M. B. Haughey, T. J. Donohoe, *Nat. Rev. Chem.* **2017**, 1, 1-12.

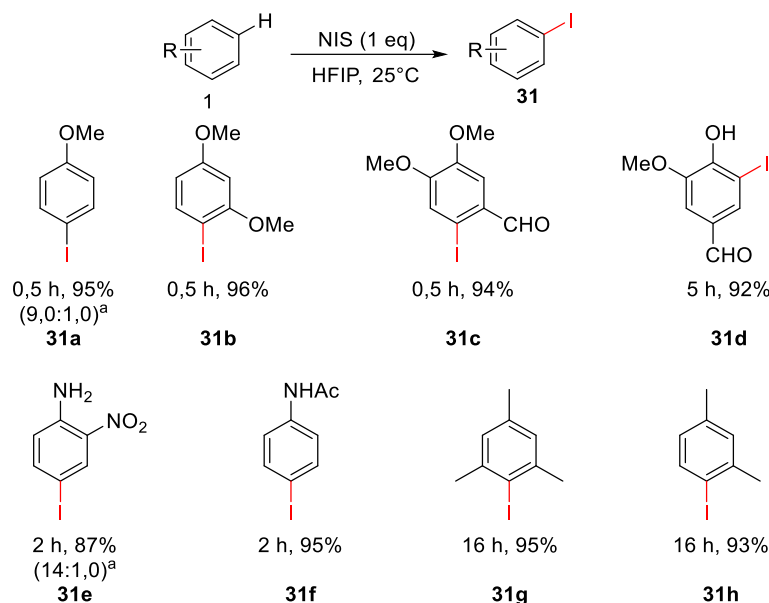
<sup>127</sup> Propriétés des solvants : (a) C. Laurence, J. Legros, A. Chantzis, A. L. Planchat, D. Jacquemin, *J. Phys. Chem. B* **2015**, 119, 3174-3184. (b) S. Gennen, M. Alves, R. Mereau, T. Tassaing, B. Gilbert, C. Detrembleur, C. Jerome, B. Grignard, *ChemSusChem* **2015**, 8, 1845-1849. (c) A. Berkessel,

(Tableau 2)

Solvant	T <sub>éb</sub> (°C)	T <sub>fus</sub> (°C)	pKa	Nucléophilie (N)	Polarité (E <sup>NT</sup> )	Pouvoir d'ionisation (Y)	HBD <sup>a</sup> (α)	HBA <sup>b</sup> (β)
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	39,6	-97	-	-	0,309	-	0,13	0,10
PhMe	110,6	-95	41	-	0,099	-	0	0,11
EtOH	78	-117	15,9	0	0,654	-1,75	0,83	0,77
TFE	73,8	-44	12,4	-2,78	0,898	1,8	1,51	0,18
<b>HFIP</b>	<b>58,6</b>	<b>-5</b>	<b>9,3</b>	<b>-4,23</b>	<b>1,068</b>	<b>3,82</b>	<b>1,96</b>	<b>0,03</b>

Tableau 2 Comparaison des propriétés des alcools fluorés et des solvants organiques classiques (<sup>a</sup> Pouvoir de liaison hydrogène donneur ; <sup>b</sup> Pourvoir de liaison hydrogène accepteur)

Récemment, le groupe de Crousse a développé une méthode pour l'iodation d'arènes riches en électrons et d'hétérocyles en utilisant HFIP comme solvant (Schéma 31).<sup>128</sup> Ce nouveau système réactionnel a permis d'effectuer une iodation en suivant des conditions douces sans ajout d'additif. Bien que la tolérance des substrats soit limitée aux arènes activées, la réaction est efficace avec une régiosélectivité classique de modérée à totale.



**Schéma 31.** Iodation d'arènes avec HFIP (<sup>a</sup>) le produit majoritaire est représenté sur le schéma, ratio produit majoritaire/régioisomère calculé par le RMN.)

J. A. Adrio, D. Huttenhain, J. M. Neudörfl, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 8421-8426.

<sup>128</sup> R. J. Tang, T. Milcent, B. Crousse, *J. Org. Chem.* **2018**, 83, 930-938.

## 2 Iodation par activation C-H

Au cours des deux dernières décennies, le développement de l'activation de simples liaisons C-H  $sp^2$  a révolutionné la chimie de synthèse.<sup>129</sup> Bien qu'une série importante de méthodologies efficaces aient été rapportées pour la création de liaisons carbone-hétéroatomes, les procédures permettant la formation de liaisons carbone-halogènes sont beaucoup plus rares. En effet, si l'addition oxydante du métal au niveau des halogénures d'aryle est un processus simple, la formation de liaison de carbone-halogène est, quant à elle, thermodynamiquement défavorisée à cause des possibilités de générer des réactions d'élimination réductrice.

Afin de faciliter et d'orienter la fonctionnalisation d'une liaison C-H, la stratégie la plus courante est d'utiliser sur le composé un groupe directeur contrôlant par un hétéroatome la position de la fonctionnalisation. Le dernier devient alors un ligand du métal par coordination. Le métal s'insère dans la liaison C-H de manière intramoléculaire, processus thermodynamiquement favorable et générant un métallacycle qui permet de contrôler la régiosélectivité de la réaction. Après un échange de ligand et une élimination réductrice, le produit fonctionnalisé est isolé et le catalyseur est régénéré sous sa forme active (Schéma 32).

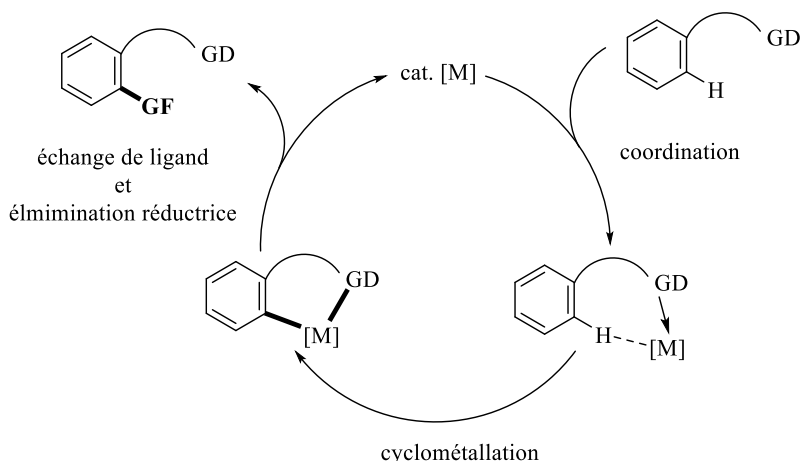


Schéma 32. Cycle catalytique général d'une fonctionnalisation par activation C-H

### 2.1 Iodation par activation C-H pallado-catalysée

Le groupe de Sanford a été le premier à montrer que l'*ortho*-iodation d'arènes catalysée par l'acétate de palladium (II) pouvait être réalisée à l'aide des groupes directeurs azotés tels que les pyridines et les isoxazolines.<sup>130, 131</sup> La réaction est assez générale et tolère une large gamme de groupes fonctionnels (Schéma 33), produisant des dérivés aromatiques iodés originaux. Des études mécanistiques ont montré que la réactivité de la réaction dépendait fortement du nombre de substituants présents sur le groupe chélatant et de leur densité électronique (Schéma 34).

<sup>129</sup> Revues récentes sur l'activation C-H: a) T. W. Lyons, M. S. Sanford, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1147-1169. b) J. Wencel-Delord, T. Dröge, F. Liu, F. Glorius, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4740-4761. c) S. Rej, N. Chatani, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 8304-8329.

<sup>130</sup> D. Kalyani, A. R. Dick, W. Q. Anani, M. S. Sanford, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 11483-11498.

<sup>131</sup> R. Giri, X. Chen, J. Q. Yu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2112-2115.



Schéma 33. Iodation via activation C-H pallado-catalysée

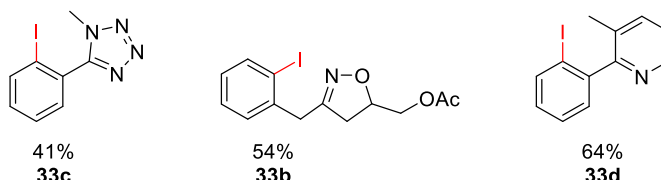


Schéma 34. Effet du groupe chélatant sur la réactivité de la réaction

Le groupe Yu a ensuite démontré que les acides benzoïques sont d'excellents substrats qui, engagés dans une réaction d'activation C-H, peuvent former sélectivement des produits di-iodés avec des rendements élevés (Schéma 35).<sup>132</sup> Les produits mono-iodés peuvent être, quant à eux, sélectivement isolés avec un ajout d'iodure de tétraalkylammonium (Schéma 36).<sup>133</sup> Les auteurs expliquent cette réactivité par la formation d'une paire d'ions carboxylate-ammonium. Cette espèce encombrée faciliterait la décomplexation de métal du produit mono-iodé et empêcherait la seconde complexation.

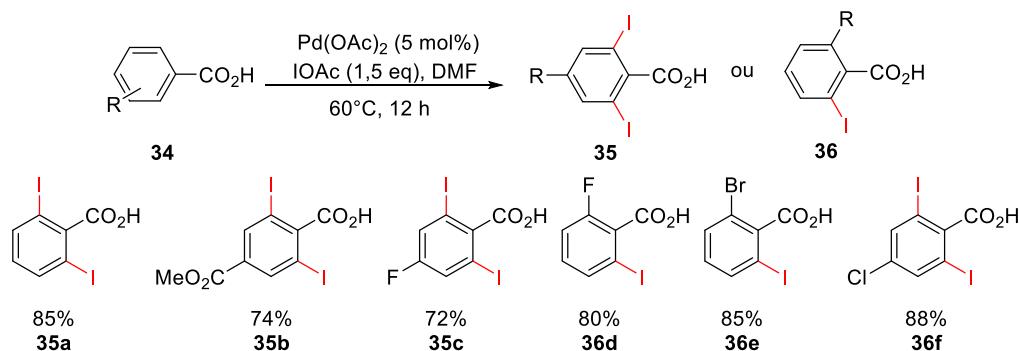


Schéma 35. Iodation d'acides benzoïques catalysée par du palladium

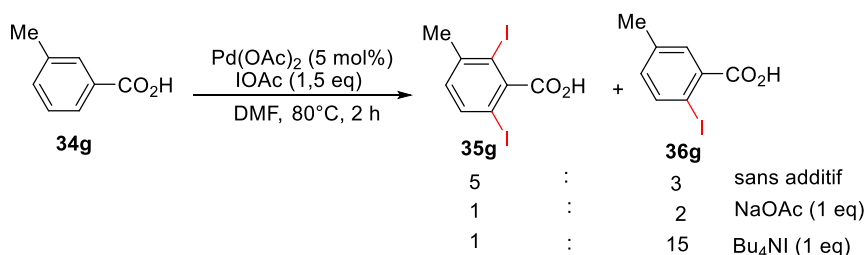


Schéma 36. Sélectivité envers la mono-iodation en présence d'additifs

Grâce aux études mécanistiques menées sur les réactions précédentes, plusieurs extensions ont été développées. Tout d'abord, des réactions tandem passant par des cycles catalytiques à 6 atomes ont conduit à

<sup>132</sup> T. S. Mei, D. H. Wang, J. Q. Yu, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3140-3143.

<sup>133</sup> T. S. Mei, R. Giri, N. Mangel, J. Q. Yu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5215-5219.



des indolines<sup>134</sup> (Schéma 37) et des tétrahydroisoquinolines<sup>135</sup> via une séquence activation C-H / amination intramoléculaire catalysée par du cuivre (I).

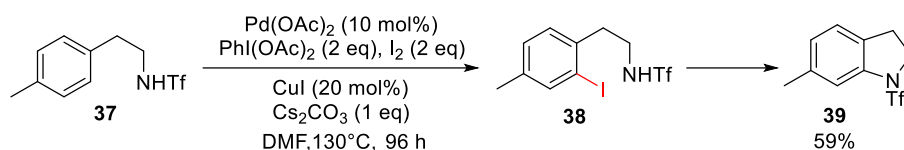


Schéma 37. Iodation et amination intramoléculaire monotopie

Par la suite, une large gamme d'activation C-H catalysée par le palladium a été développée avec différents groupes directeurs tels que les arénecarbonitriles,<sup>136</sup> les aminotétrazoles,<sup>137</sup> les oximes,<sup>138</sup> les *N*-oxydes,<sup>139</sup> les 2-pyridyldiisopropylsilyles ou les azos. Sachant que mon sujet de thèse porte sur la synthèse des azobenzènes, seul ce dernier exemple sera développé en détails.

Ainsi en 2013, le groupe de Tian a proposé une méthode catalysée par de l'acétate de palladium permettant la mono-iodation d'azo-arènes (Schéma 38).<sup>140</sup> Si le champ d'application de cette méthode se limite aux azo-arènes substitués par des groupements alkyles et des atomes de fluor, les conditions réactionnelles demeurent douces. Nous pouvons noter que lorsque la réaction est menée sur un azo dissymétrique substitué par un groupement désactivant, l'iodation est sélectivement réalisée sur le noyau le plus riche en électrons.

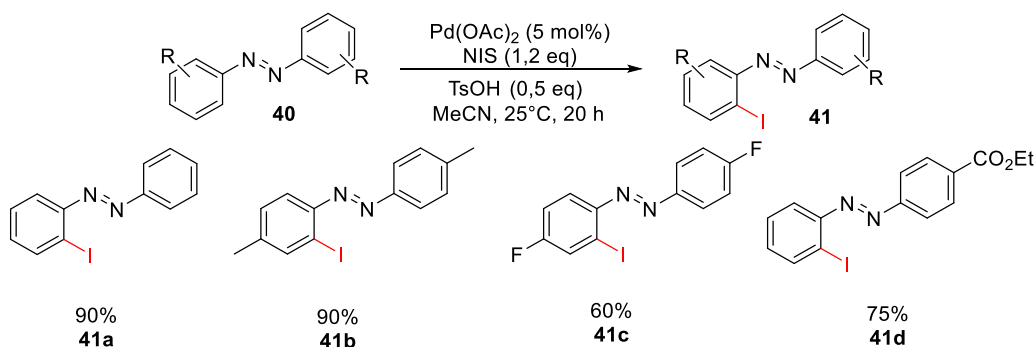


Schéma 38. Iodation pallado-catalysée d'azobenzènes.

## 2.2 Activation C-H catalysée par les autres métaux de transition

Au-delà du palladium qui a été le métal le plus étudié dans les réactions d'activation C-H, d'autres métaux ont également prouvé toute leur efficacité.

Ainsi, le groupe de Glorius a développé une méthode générale pour la mono *ortho*-iodation sélective de noyaux aromatiques porteurs d'une gamme variée de groupes directeurs. Ce processus est catalysé à l'aide d'un sel de rhodium (III) cationique.<sup>141</sup> Il est intéressant de noter que des groupes directeurs généralement peu efficaces dans ce type de réactions, comme les cétones par exemple, donnent de bons résultats. La réaction s'est avérée tolérer des arènes riches et pauvres en électrons (Schéma 39).

<sup>134</sup> J. J. Li, T. S. Mei, J. Q. Yu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6452-6455.

<sup>135</sup> W. A. Nack, G. He, S. Y. Zhang, C. Lu, G. Chen, *Org. Lett.* **2013**, *15*, 3440-3443.

<sup>136</sup> P. Sadhu, S. K. Alla, T. J. Punniyamurthy, *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 6104-6111.

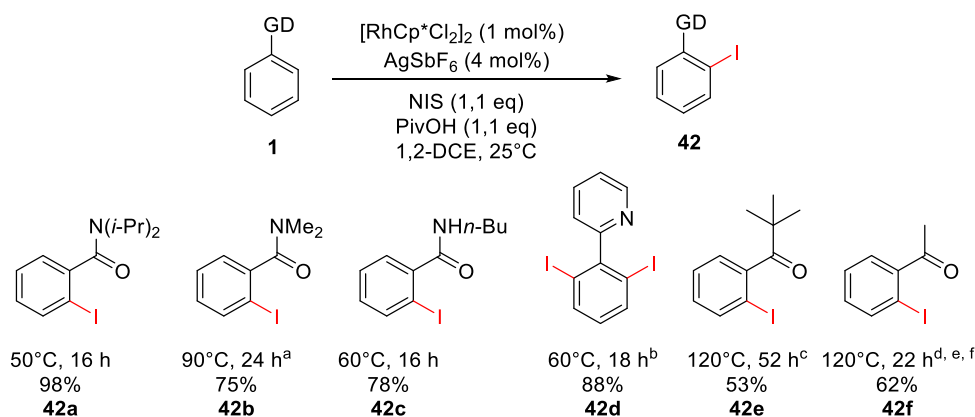
<sup>137</sup> Q. Tian, X. Chen, W. Liu, Z. Wang, S. Shi, C. Kuang, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 7830-7833.

<sup>138</sup> J. J. P. Kramer, C. Yildiz, M. Nieger, S. Bräse, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 1287-1295.

<sup>139</sup> D. W. Gao, Q. Gu, S. L. You, *ACS Catal.* **2014**, *4*, 2741-2745.

<sup>140</sup> X. T. Ma, S. K. Tian, *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 337-340.

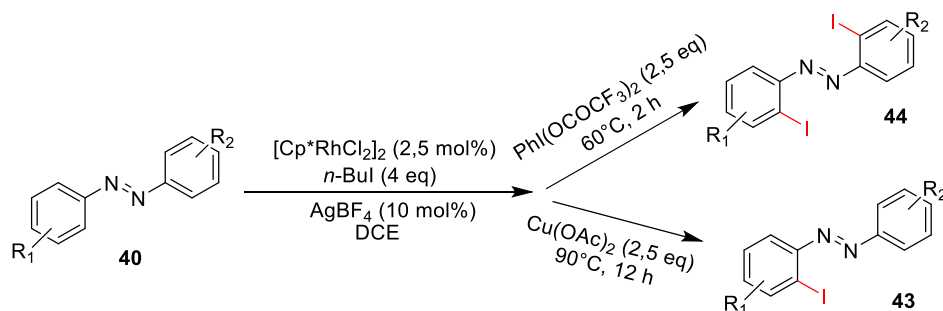
<sup>141</sup> N. Schröder, J. Wencel-Delord, F. Glorius, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 8298-8301.



**Schéma 39.** *Ortho*-iodation catalysée au Rh (III) par activation C-H [<sup>a</sup>] NIS (1,5 eq) ; <sup>b</sup>) NIS (2,2 eq) ; <sup>c</sup>) NIS (2,5 eq) ; <sup>d</sup>) [RhCp\*Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (2.5 mol%) et AgSbF<sub>6</sub> (10 mol%) ; <sup>e</sup>) Cu(OAc)<sub>2</sub> (2,2 eq) au lieu de PivOH ; <sup>f</sup>) NIS (2 eq)]

Par la suite, cette étude a été étendue par Glorius, Chang ou Ding qui ont décrit des protocoles de diiodation catalysée par le rhodium (III) appliqués aux hétérocycles riches en électrons,<sup>142</sup> aux quinolines *N*-oxydes,<sup>143</sup> ou aux 2-aryl-1,3-benzothiazoles,<sup>144</sup> respectivement. Dans une autre procédure générale utilisant le même catalyseur de rhodium (III), Wang et ses collègues ont rapporté que l'*ortho*-iodation d'arènes peut être réalisée en présence d'iodure de iodobenzène généré *in situ* à partir de l'iodure de sodium et du diacétate d'iodobenzène.<sup>145</sup>

Plus récemment, l'équipe de Jiang a réussi à contrôler la mono- ou la di-iodation d'azo-arènes en fonction de la nature des oxydants mis en jeu (Schéma 40).<sup>146</sup> Les auteurs ont montré que l'ajout de PIFA favorise la di-iodation tandis que l'ajout de Cu(OAc)<sub>2</sub> favorise la mono-iodation. Si les produits désirés sont généralement isolés avec de bons rendements, la tolérance fonctionnelle de ces réactions demeure limitée aux azo-arènes activés.



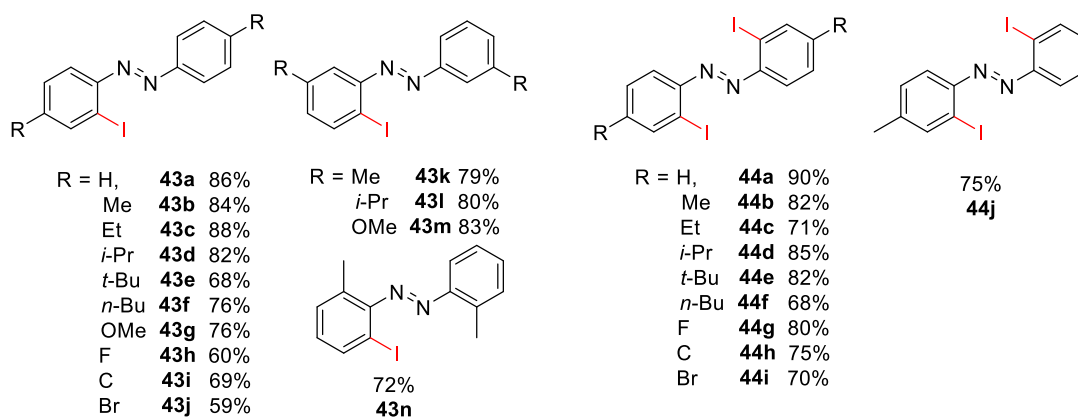
<sup>142</sup> N. Schröder, F. Lied, F. Glorius, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 1448-1453.

<sup>143</sup> H. Hwang, J. Kim, J. Jeong, S. Chang, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 10770-10776.

<sup>144</sup> Q. Ding, X. Zhou, S. Pu, B. Cao, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 2376-2381.

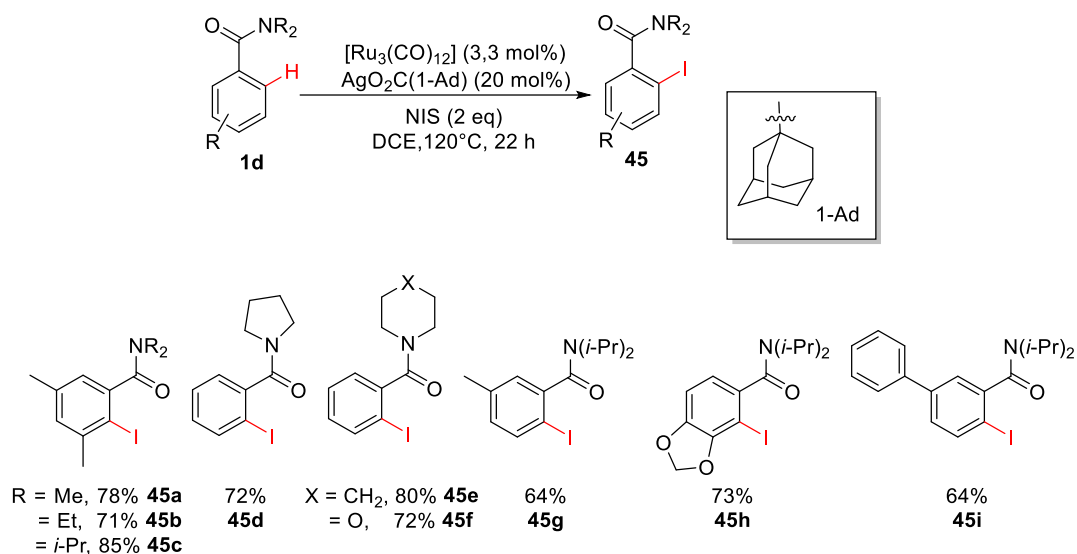
<sup>145</sup> P. Zhang, L. Hong, G. Li, R. Wang, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 345-349.

<sup>146</sup> J. Li, W. Cong, Z. Gao, J. L. Zhang, H. M. Yang, G. X. Jiang, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 3479-3486.



**Schéma 40.** Contrôle de la réaction selon l'oxydant

En 2013, Wang et Ackermann ont rapporté la première iodation via activation C-H de benzamides catalysée par du ruthénium en présence des sels d'argent comme additifs.<sup>147</sup> Le processus a permis d'isoler plusieurs substrats porteurs de divers groupes directeurs de type amides avec une sélectivité élevée et de bons rendements (Schéma 41). Une étude mécanistique basée sur l'évaluation des effets cinétiques isotopiques de la réaction a fourni a mis en évidence que l'étape d'insertion du métal dans la liaison C-H est un processus réversible.

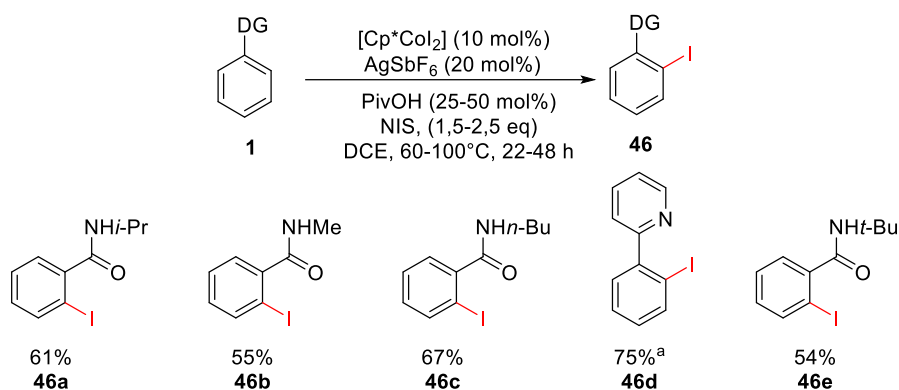


**Schéma 41.** Ortho-iodation par activation C-H catalysée par le Ru (III)

En 2014, un protocole d'iodation régio- et chimio-sélective *via* activation C-H catalysée par le cobalt a également été développé sur des benzamides et des aromatiques de types 2-pyridyl-substitués (Schéma 42).<sup>148</sup>

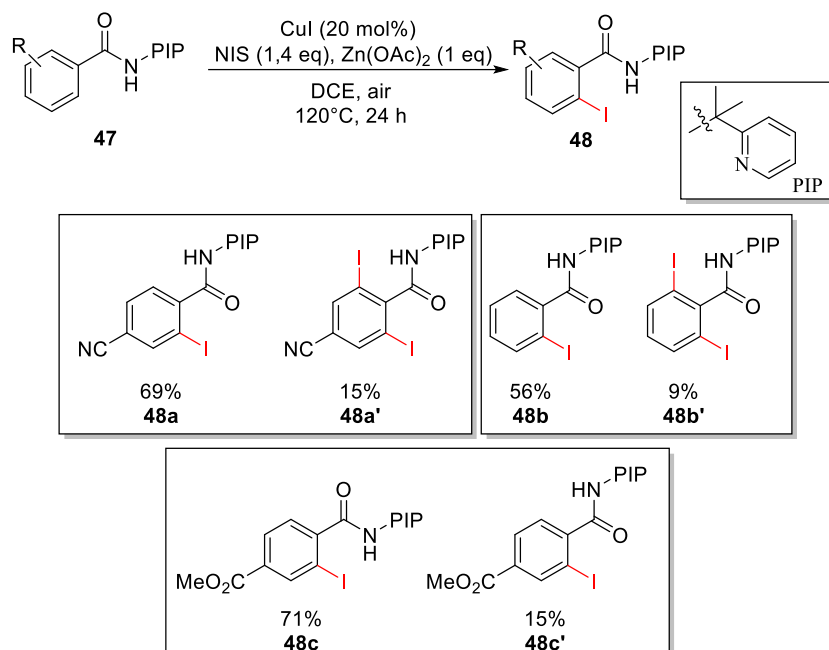
<sup>147</sup> L. Wang, L. Ackermann, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 1083-1085.

<sup>148</sup> D. G. Yu, T. Gensch, F. de Azambuja, S. Vásquez-Céspedes, F. Glorius, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 17722-17725.



**Schéma 42.** Iodation catalysée par le cobalt (III) [<sup>a</sup> NaOAc (20 mol%) au lieu de PivOH]

Par ailleurs, la réactivité du cuivre (I) a également été mise à profit par Shi dans l'*ortho*-iodation d'arènes et d'hétéroarènes à l'aide de la 2-(2-pyridyl) isopropylamine comme groupe directeur.<sup>149</sup> L'acétate de zinc s'est montré être essentiel dans cette réaction et les auteurs proposent qu'il joue le rôle d'acide de Lewis en activant NIS. La procédure est sélective vis-à-vis de la formation des composés mono-iodés avec de bons rendements (Schéma 43).



**Schéma 43.** *Ortho*-iodation catalysée par le cuivre (I)

Inspiré par l'étude précédente, le même groupe a finalement développé une méthode basée sur une catalyse au nickel (II) dans des conditions oxydantes (Schéma 44).<sup>150</sup> La réaction est efficace quel que soient les propriétés électroniques des substituants présents sur l'arène. Il est intéressant de noter que la formation du produit di-iodé **49**. C'est particulièrement compétitif par rapport à la formation de produit mono-iodé **49c** lorsque l'arène est dépourvu de substituant.

<sup>149</sup> B. Li, B. Liu, B. F. Shi, *Chem. Commun.* **2015**, 51, 5093-5096.

<sup>150</sup> B. B. Zhan, Y. H. Liu, F. Hu, B. F. Shi, *Chem. Commun.* **2016**, 52, 4934-4937.

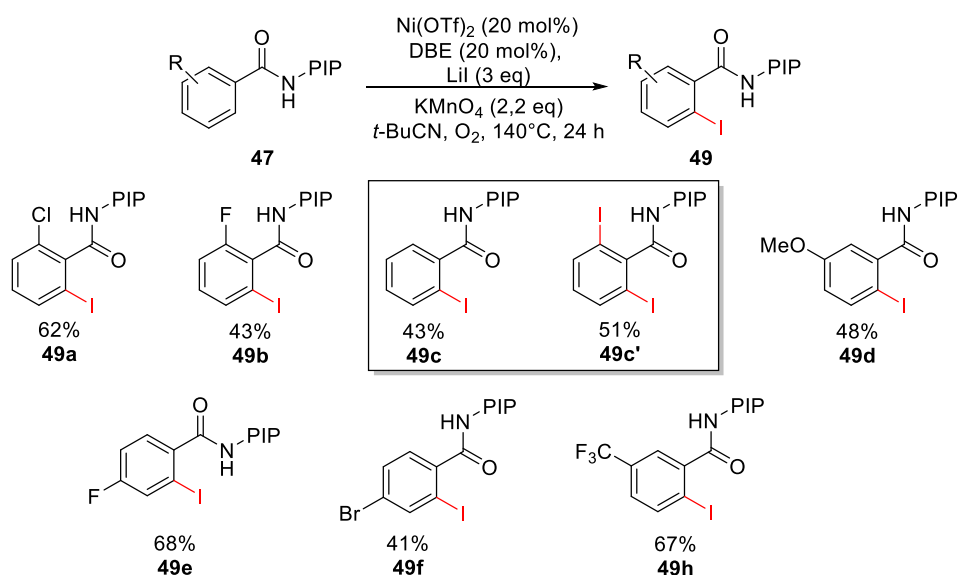


Schéma 44. Iodation catalysée par  $\text{Ni}(\text{OTf})_2$

Pour conclure, bien que l'iodation aromatique soit une réaction qui a beaucoup été étudiée, il y a finalement que très peu d'exemples traitant d'hétérocycles ou de systèmes appauvris en électrons ou encore de composés symétriques flexibles.

Dans le contexte de notre projet, seuls quelques azobenzènes ont pu être à ce jour iodés avec succès par activation C-H mais aucun exemple n'a été décrit concernant la substitution électrophile aromatique. La stratégie générale la plus efficace de synthèse des azos *ortho*-iodés demeure la réaction de Mills avec la condensation d'une aniline préalablement iodée sur un arène porteur d'une fonction nitroso ou inversement. (Schéma 45)

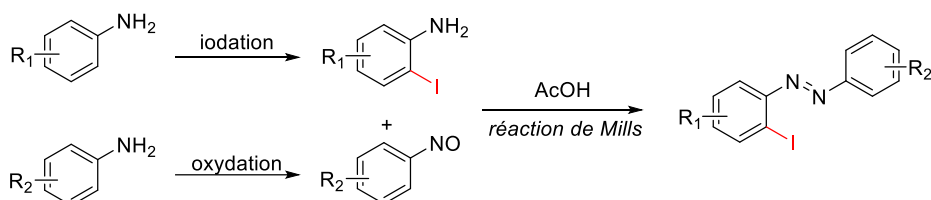


Schéma 45. Synthèse classique des azos *ortho*-iodés.

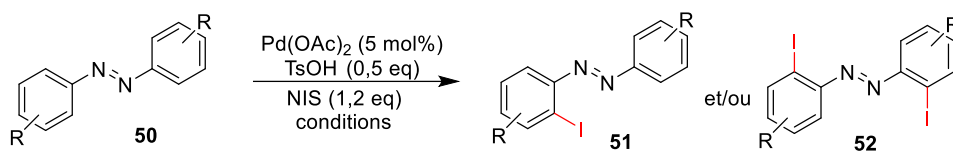
### 3 Résultats et discussion

#### 3.1 Iodation d'azobenzènes par activation C-H

Lors de nos premiers essais d'iodation par activation C-H et en se basant sur la littérature en utilisant un catalyseur au palladium,<sup>140</sup> l'azobenzène **50d** a été mis en solution dans l'acétonitrile en présence de 1,2 équivalent de NIS, de 0,5 équivalent de TsOH et d'une quantité catalytique d'acétate de palladium (5 mol%). (Entrée 4, Tableau 3). Ces conditions nous ont permis d'isoler l'azo monoiodé **51d** avec un rendement de 50%. Suite à ce résultat prometteur, nous avons tenté d'étendre le champ d'application de notre réaction à des azos porteurs de groupes fonctionnels appauvris en électrons. Le choix de solvants a dû être adapté en fonction de la solubilité des réactifs et des produits de la réaction. Si les composés **50a** et **50c** possédant des fonctions nitro et ester se sont révélés inefficace vis-à-vis de plusieurs conditions expérimentales (Entrées 1 et 3, Tableau 3), le substrat *para*-trifluorométhylé **50b** a montré une réactivité modérée et inattendue pour la di-iodation dans le DCE en chauffant à 60 °C (Entrée 2, Tableau 3). Il est intéressant de noter que cette poly-iodation est limitée à la di-iodation car aucun produit tri-iodé n'a été observé même en présence de 3 eq de NIS. Nous pouvons mentionner que cette réaction représente le tout premier exemple de di-iodation sur un azobenzène désactivé.

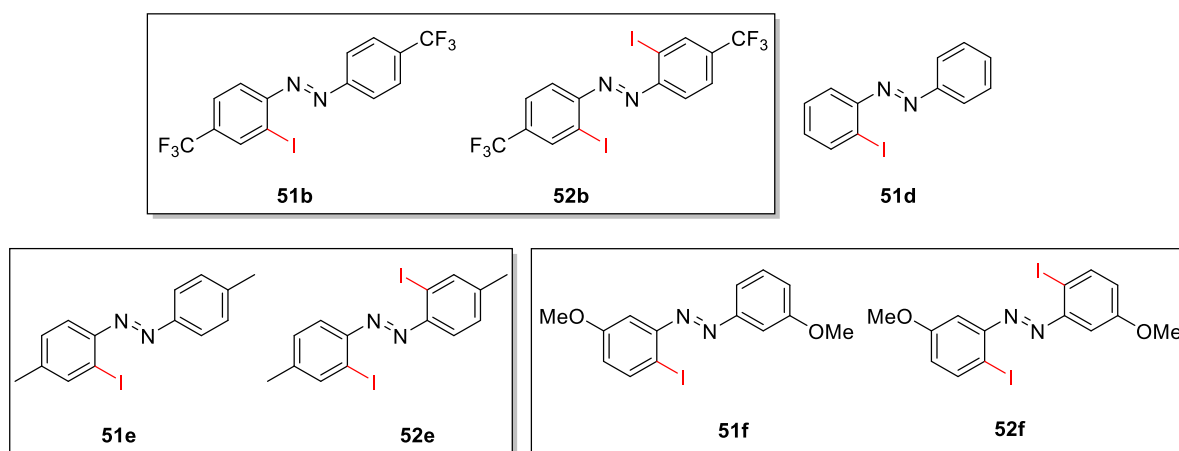
Nous nous sommes ensuite intéressés à explorer la réactivité d'azobenzènes activés. Premièrement, nos conditions réactionnelles classiques appliquées à l'azo **50e** conduisent à un mélange de produits mono et diiodés, **51e** et **52e** respectivement, avec un bon ratio de 7:1 en faveur de l'azo mono-iodé **51e** (Entrée 5, Tableau 3).

Ensuite, plusieurs substrats méthoxylés ont été testés dans la réaction d'iodation. Le substrat *mé*ta-méthoxylé **50f** a également permis d'isoler le produit di-diiodé **52f** (Entrée 6, Tableau 4). Bien que le produit mono-substitué soit majoritaire lors de l'analyse par RMN <sup>1</sup>H du mélange réactionnel, nous n'avons pu isoler que le produit pur di-iodé par précipitation dans un mélange DCM/cyclohexane.



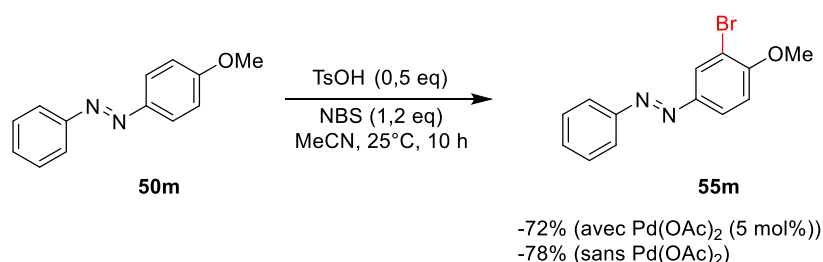
Entrée	R	Solvant/T	Durée	Rendement <sup>a</sup>
<b>1</b>	-NO <sub>2</sub> <b>50a</b>	DCE, 70°C	43 h	0%
		MeCN, 50°C	26 h	0%
<b>2</b>	-CF <sub>3</sub> <b>50b</b>	DCE, 50°C	18 h	<b>51b</b> : 7%
		DCE, 60°C	48 h	<b>52b</b> : 29%
		DCE, 60°C	24 h	<b>51b</b> : 23% <b>52b</b> : 22%
		DCE, 60 °C <sup>b</sup>	24 h	<b>52b</b> : 33%
<b>3</b>	-CO <sub>2</sub> Et <b>50c</b>	DCM, 50°C	24 h	0%
		DCE, 50°C	48 h	
		Nitrométhane, 25°C	24 h	
<b>4</b>	-H <b>50d</b>	MeCN, 25°C	25 h	<b>51d</b> : 50%
<b>5</b>	-CH <sub>3</sub> <b>50e</b>	MeCN, 25°C	24 h	<b>51e</b> : 72%
				<b>52e</b> : 10%
<b>6</b>	-3-OMe <b>50f</b>	MeCN, 50°C	24h	<b>52f</b> : 17%
				<b>51f:52f</b> = 3.5:1 <sup>c</sup>

**Tableau 3.** Optimisation des conditions et exploration des substrats (<sup>a</sup>)rendement de produit isolé ; <sup>b</sup> réaction avec 3 éq de NIS ; <sup>c</sup>ratio calculé par RMN)

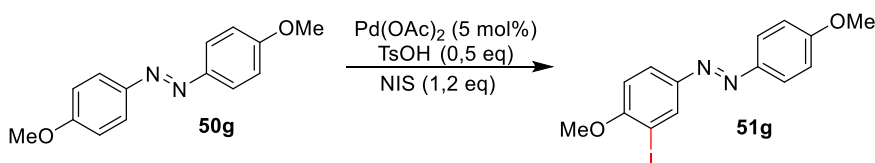


**Schéma 46.** Produits obtenus pour l'iodation des substrats **50b**, **50d**, **50e** et **50f**.

Plus intéressant encore, nous n'avons pas détecté la régiosélectivité habituelle dirigé par la double liaison N=N pour le substrat **50g** décoré de deux groupements méthoxy en positions *para* (Tableau 4) et le site de fonctionnalisation est en effet dirigé par le groupement méthoxy donnant le produit **51g**. Cette dernière observation suggère qu'une compétition probable entre la  $S_E$  aromatique et l'activation CH lors de la réaction. Après un examen de la littérature, une régiosélectivité similaire avait également été observée lors de la bromation du substrat méthoxylé **50m** (Schéma 47). En effet, il avait été prouvé que le site réactionnel du composé se trouvait en  $\alpha$  du -OMe indiquant clairement un mécanisme de  $S_EAr$  avec ou sans catalyseur.<sup>140</sup> Même si l'azo mono-iodé n'est isolé qu'avec un faible rendement à ce stade, nous avons également mis en évidence que la présence du catalyseur métallique n'est pas requise dans cette réaction (Entrée 4, Tableau 4) et qu'elle suit un mécanisme de  $S_E$  en présence d'APTS (Entrée 5, Tableau 4).



**Schéma 47.** Mono-bromation de l'azobenzène méthoxylé **55m**.



Entrée	Solvant	Température	Rendement <sup>a</sup>
<b>1</b>	MeCN	50°C	0%
<b>2</b>	DCM	25°C	15%
<b>3</b>	DCM	50°C	25%
<b>4<sup>b</sup></b>	DCM	50°C	24%
<b>5<sup>c</sup></b>	DCM	50°C	0%

**Tableau 4.** Iodation de substrats méthoxylés (<sup>a</sup>rendement en produit isolé, le produit **51g** est majoritaire par RMN, <sup>b</sup>réaction sans Pd(OAc)<sub>2</sub>, <sup>c</sup> réaction sans Pd(OAc)<sub>2</sub> ni APTS.)

### 3.2 Iodation d'azobenzènes par substitution électrophile aromatique en présence de HFIP

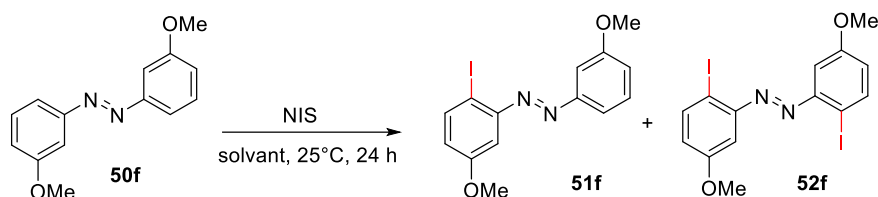
Suite aux résultats inattendus et obtenus au regard des iodations des azos méthoxylés par la substitution électrophile aromatique, nous avons choisi d'arrêter cette étude pour tester de développer une nouvelle méthode de fonctionnalisation des azobenzènes sans métal.

Comme nous l'avons vu en introduction, le HFIP a un excellent solvant dans de nombreuses réactions d'activation C-H et de fonctionnalisation de substrats variés. Par ailleurs, il a également été décrit que HFIP



était un solvant de choix pour la substitution électrophile d'arènes.<sup>151, 127, 152</sup>

Ainsi, inspirés par les travaux de Crousse,<sup>128</sup> nous avons étudié l'iodation d'azobenzènes substitués par des groupements activants en présence d'HFIP. L'optimisation des conditions réactionnelles a d'abord été réalisées (Tableau 5).



Entrée	Solvant	Quantité de NIS	Rendement de produit <b>52f</b> <sup>a</sup>
<b>1</b>	HFIP	1 eq	10%
<b>2</b>	HFIP	2,2 eq	57%
<b>3</b>	HFIP	3 eq	49%
<b>4</b>	HFIP:DCM = 2:1	2,2 eq	76%

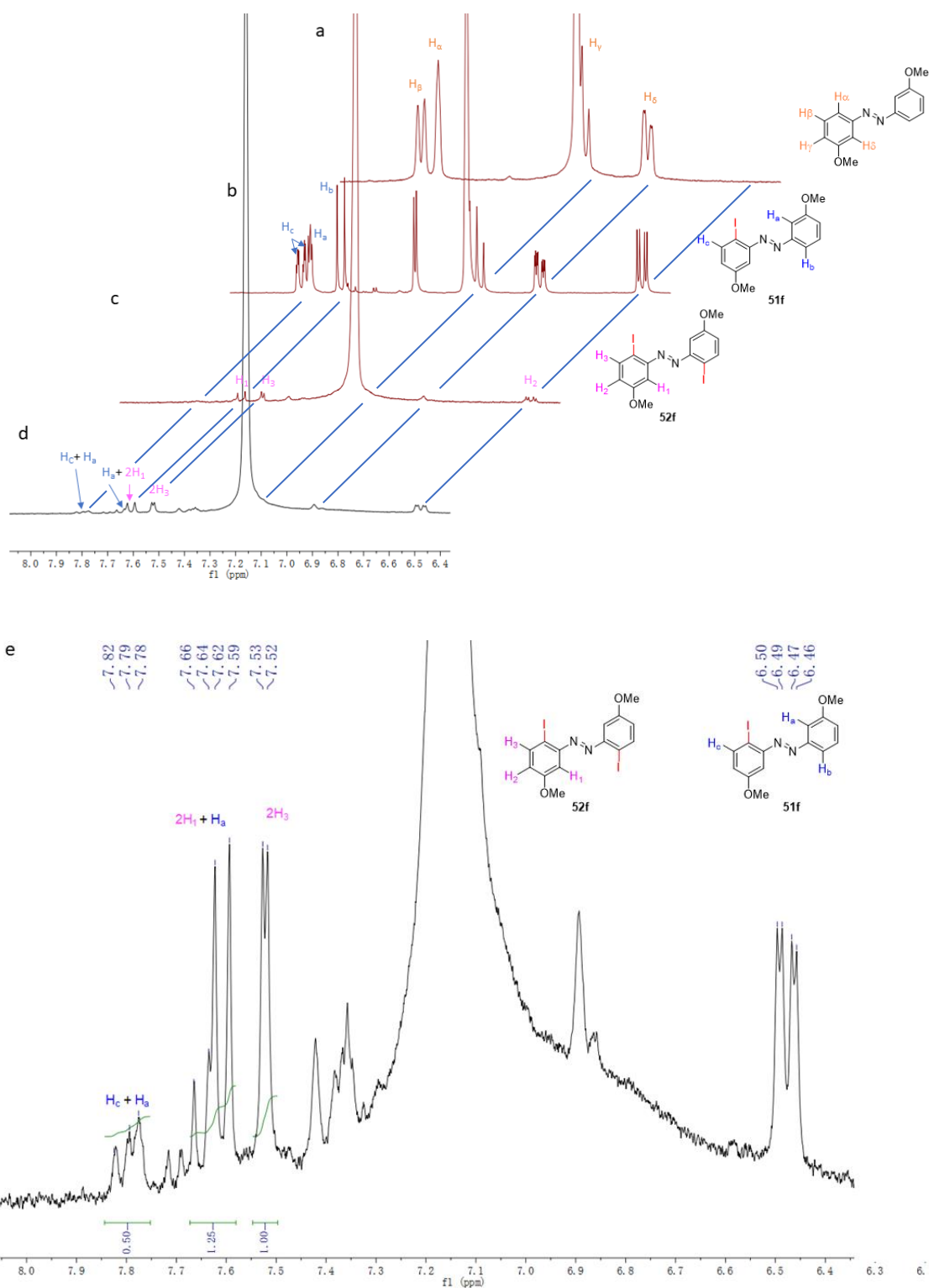
**Tableau 5.** Optimisation des conditions d'iodation électrophile dans HFIP (<sup>a</sup> rendement isolé)

Une variation de la quantité de NIS et l'utilisation de HFIP pur comme solvant ont permis d'obtenir le produit envisagé à hauteur de 57% (Entrées 1-3, Tableau 5). Il est également important de noter que la transformation est limitée à la di-iodation, le produit tri-iodé n'étant jamais observé, même en présence d'un large excès de NIS (Entrée 3, Tableau 5). Cette absence de réactivité est peut-être due à l'encombrement stérique autour de la liaison N=N. La réaction s'est montrée être efficace en donnant un accès en faveur du produit de di-iodation. Le meilleur rendement en produit di-iodé a été observé en utilisant le DCM comme co-solvant (HFIP:DCM = 2:1) et en présence de 2,2 eq de NIS (Entrée 4, Tableau 5). Ces conditions expérimentales sont robustes et le produit di-iodé a été isolé avec un rendement de 76%. Ce meilleur résultat peut s'expliquer par l'amélioration de la solubilité des réactifs.

Le ratio entre les produits **51f** et **52f** a été difficile à évaluer. En effet, lors des analyses des spectres RMN <sup>1</sup>H et les chromatogrammes HPLC des bruts réactionnels, le produit mono-iodé **51f** est toujours présent mais est difficile à estimer. De plus, les techniques de GC-MS ou l'HPLC-MS ne permettent pas de confirmer le ratio entre **51f** et **52f** en raison de la présence des diastéréomères *Z* et *E* pour chacun de produit. Seule la RMN a finalement permis de calculer la proportion de chaque produit selon les intégrations des pics correspondants en préparant les échantillons dans le benzène-*d*<sup>6</sup> et en évitant la lumière (Figure 18). En effet, sous l'effet de la lumière. Les produits peuvent se photo-isomériser, générant plusieurs isomères *E:Z* et rendant encore plus compliquées les analyses.

<sup>151</sup> S. K. Sinha, T. Bhattacharya, D. Maiti, *React. Chem. Eng.* **2019**, 4, 244-253.

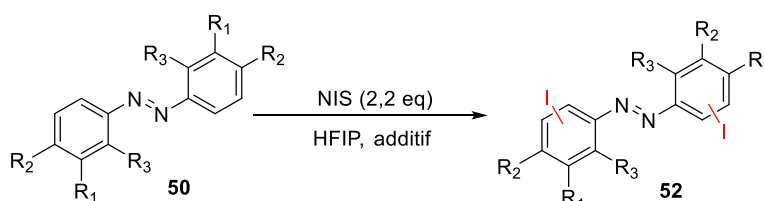
<sup>152</sup> La propriété de HFIP : a) L. Eberson, M. P. Hartshorn, O. Persson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1995**, 1735-1744. b) W. J. Middleton, R. V. Lindsey, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 4948-4952. c) C. Reichardt, *Chem. Rev.* **1994**, 94, 2319-2358.



**Figure 18.** Un exemple d'évaluation de la proportion **51f** : **52f** par RMN (dans benzène- $d_6$  à 25°C) : a) Spectre du produit de départ **50f** ; b) Spectre du produit mono-iodé **51f** ; c) Spectre du produit di-iodé **52f** ; d) Spectre de l'échantillon à la fin de la réaction, aucun pic du produits d départ n'est observé. Tous les pics du produit di-iodé peuvent être distingués tandis que certains pics du produit mono-iodé **51f** ne peuvent pas être observés. e) Evaluation des produits présents dans le mélange à la fin de la réaction.

Etant donné que la substitution électrophile aromatique est plus rapide que l'activation C-H en présence d'APTS pour les azobenzènes méthoxylés (Tableau 4), il est probable que l'acide joue le rôle de catalyseur.

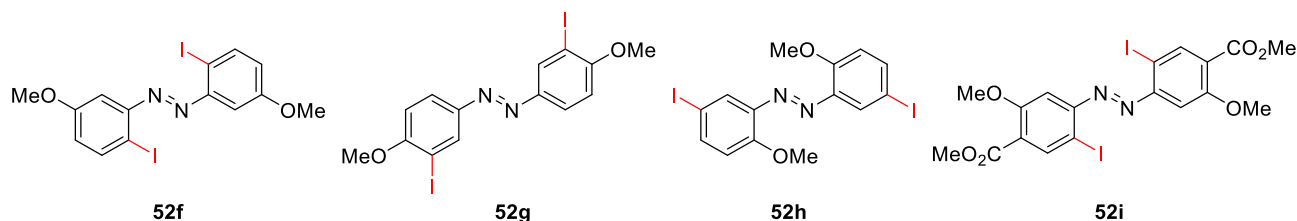
Nous avons alors étudié l'iodation par substitution électrophile aromatique en présence et en l'absence d'APTS et de HFIP sur plusieurs azobenzènes méthoxylés (Tableau 6 et Schéma 48). Dans ces cas, l'utilisation de co-solvant n'est plus nécessaire car l'ajout d'APTS permet aussi d'améliorer la solubilité des réactifs dans le solvant. Lors de notre étude, nous avons non seulement obtenu un petit panel d'azos di-iodés avec de bons rendements mais également mis en valeur l'apport et la nécessité de l'APTS dans la réaction. Tout d'abord, l'ajout d'APTS accélère drastiquement l'iodation du substrat **50f**, la réaction est terminée en 1 h avec une meilleure conversion en produit di-iodé **52f** (Entrée 1, Tableau 6). De plus, certains produits ne peuvent être en effet obtenus qu'en présence d'APTS. Plus en détails, l'azo di-iodé **52g** a pu être synthétisé avec un bon rendement de 53% grâce à l'APTS et à température ambiante (Entrée 2, Tableau 6). Néanmoins, un léger chauffage a été nécessaire avec l'azo *o,o'*-diméthoxylé **50h** lors de la synthèse de **52h** permettant l'obtention du composé **52h** avec le rendement de 82% en 1 h (Entrée 3, Tableau 6). Le rôle bénéfique de l'acide a également été mis en lumière sur le substrat tétrafonctionnalisé **50i**. En effet, le produit envisagé a pu être isolé avec un excellent rendement de 95% en seulement 1 h selon des conditions douces alors qu'un chauffage et des temps de réactions plus longs étaient auparavant indispensables (Entrée 4, Tableau 6). L'augmentation de la température permet d'améliorer la solubilité pendant la réaction ou d'éviter la précipitation du produit mono-iodé.



Entrée	Substituant (R=)	Additif	Température	Durée	Rendement
1	R <sub>1</sub> = OMe R <sub>2</sub> = R <sub>3</sub> = H <b>50f</b>	TsOH (0,5 eq)	25°C	1 h	<b>52f</b> : 76%
		/	25°C	24 h	<b>52g</b> : 0%
2	R <sub>2</sub> = OMe R <sub>1</sub> = R <sub>3</sub> = H <b>50g</b>	/	50°C	24 h	<b>52g</b> : 0%
		TsOH (0,5 eq)	25°C	22 h	<b>52g</b> : 53%
		/	25°C	24 h	<b>52h</b> : 0%
3	R <sub>3</sub> = OMe R <sub>1</sub> = R <sub>2</sub> = H <b>50h</b>	TsOH (0,5 eq)	25°C	18 h	<b>52h</b> : 0%
		TsOH (0,5 eq)	50°C	1 h	<b>52h</b> : 82%
4	R <sub>1</sub> = OMe	/	50°C	72 h	<b>52i</b> : 24%

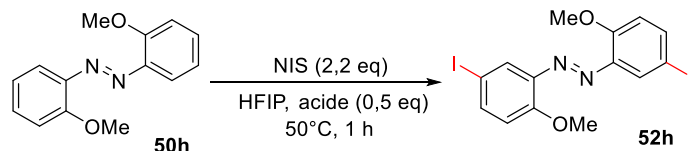
$R_2 = \text{CO}_2\text{Me}$		50°C	72 h	<b>52i</b> : 53%
$R_3 = \text{H}$	/	70°C	18 h	
<b>50i</b>	TsOH (0,5 eq)	25°C	1 h	<b>52i</b> : 95%

**Tableau 6.** Iodation catalysée par l'APTS



**Schéma 48.** Produits iodés obtenus pour les substrats **50f**, **50g**, **50h**, **50i**.

Afin de jauger l'effet de l'acide sur la cinétique de la réaction, nous avons choisi de passer en revue plusieurs acides et modifier leur quantité lors de la transformation de **50h** en **52h**. Cette dernière s'était révélée être la plus dépendante de la présence ou non de l'APTS.

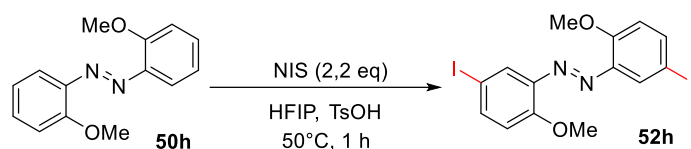


Entrée	Acide	$pK_a^a$	Rendement
1	TfOH	-14,7	54%
2	HB $\text{F}_4$	-4,8	38%
3	TsOH	-2,8	81%
4	TFA	0,23	53%
5	H $_3\text{PO}_4$	2,14 ( $pK_{a1}$ )	/(trace)

**Tableau 7.** Exploration de l'effet de l'acide <sup>(a)</sup> mesuré dans l'eau à 25 °C)

Lorsque nous avons utilisé un acide plus fort que l'APTS tel que l'acide triflique et acide tétrafluoroborique (Entrée 1-2, Tableau 7), la réaction a moins bien fonctionné. Lors de l'emploi d'acides plus doux, la réaction a également été moins efficace et d'une manière générale, le rendement est d'autant plus faible que le  $pK_a$  de l'acide est élevé (Entrées 4-5, Tableau 7). Au final, le TsOH a montré la meilleure réactivité grâce à la formation d'espèce d'iodation plus active (Schéma 49).

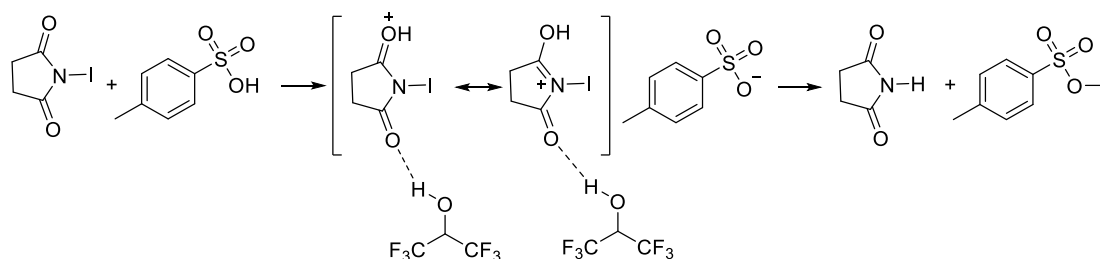
Nous avons ensuite évalué l'effet de la quantité de catalyseur sur la réaction (Tableau 8). La réaction a été plus lente avec 0,2 équivalent de TsOH et le meilleur rendement de produit a été observé en présence de 0,5 équivalent de TsOH (Entrées 1 et 2, Tableau 8). La réaction est inefficace lorsque plus de 1 équivalent de catalyseur est utilisé (Entrées 4 et 5, Tableau 8).



Entrée	Quantité d'APTS	Rendement isolé
1	0,2 eq	24%
2	0,5 eq	62%
3	1,0 eq	40%
4	1,5 eq	/
5	2,0 eq	/

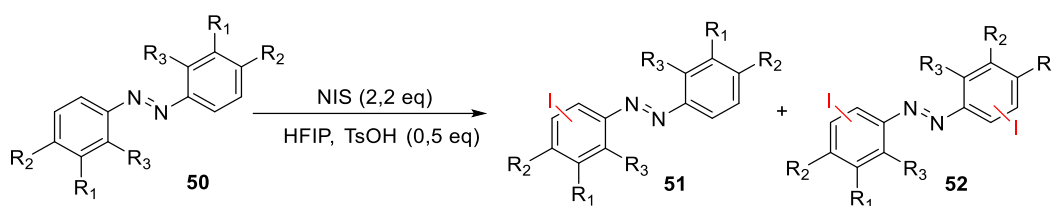
**Tableau 8.** Optimisation de la quantité de TsOH

Suite à cette optimisation, nous pouvons conclure que les meilleurs paramètres pour notre réaction sont les suivants : 0,5 eq de APTS et 2,2 eq de NIS. La formation de l'espèce active et représenté ci-dessous (Schéma 49). La présence de HFIP favorise la formation de l'espèce active grâce à ce fort pouvoir de formation de liaison hydrogène.



**Schéma 49.** Génération de l'espèce active

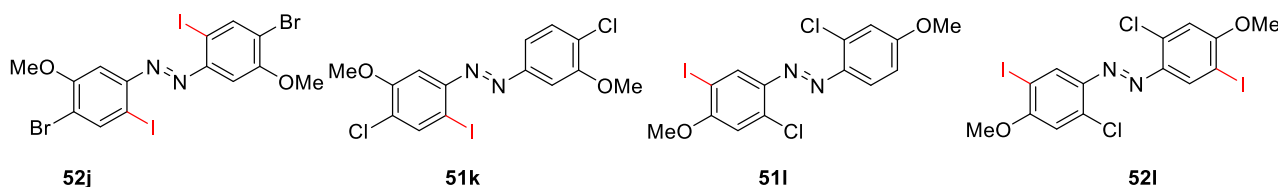
Nous avons ainsi poursuivi notre étude dans le but d'accéder à des azobenzènes multifonctionnalisés (Tableau 9 et Schéma 50).



Entrée	Substrat	Température	Temps de réaction	Rendement
1	R <sub>1</sub> = OMe, R <sub>2</sub> = Br, R <sub>3</sub> = H <b>50j</b>	25°C	40 h	<b>52j</b> : 45%
2	R <sub>1</sub> = OMe, R <sub>2</sub> = Cl, R <sub>3</sub> = H <b>50k</b>	25°C	4 h	<b>51k</b> : 92%
3	R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = OMe, R <sub>3</sub> = Cl <b>50l</b>	25°C	18 h	Conversion pas totale

			<b>51l et 52l</b>
	50°C	24 h	Voir tableau
			10

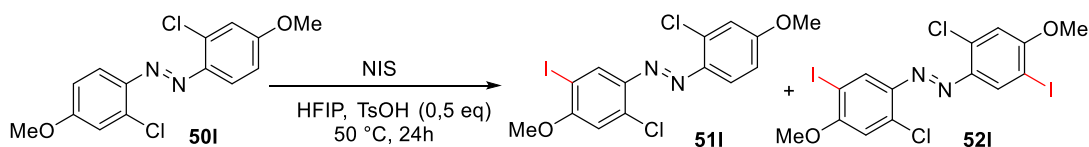
**Tableau 9.** Exploration des substrats selon les conditions optimisées



**Schéma 50.** Produits iodes obtenus pour les substrats **50j**, **50k**, **50l**.

Tout d'abord, afin de pouvoir faire de possibles post-fonctionnalisations chimiosélectives, deux substrats *para*-halogénés ont été testés. Si le produit di-bromé **50j** a pu être facilement di-iodé avec un rendement correct de 45% (Entrée 1, Tableau 9), la réaction s'est arrêtée au produit mono-iodé avec son analogue di-chloré **50k** (Entrée 2, Tableau 9). Le produit mono-iodé **51k** précipite très rapidement dans le milieu réactionnel et le produit di-iodé ne peut plus se former. Ceci confirme que l'hétérogénéité du milieu est un facteur limitant lors de la formation d'azobenzènes di-iodés et il est important de noter que l'adaptation des conditions réactionnelles (co-solvant, additif, température) est un facteur à évaluer à chaque réaction.

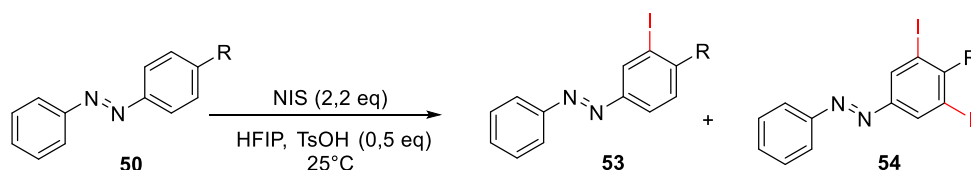
L'optimisation des conditions réactionnelles pour obtenir le composé di-iodé **52l** a été étudiée en augmentant la proportion du NIS dans le milieu réactionnel en partant du substrat **50l**. Malheureusement, il a été difficile et impossible de séparer proprement les produits formés. La proportion en produits mono- et di-iodés a donc été mesurée par RMN et a donné un ratio 2:1 en faveur du produit mono-iodé (Entrée 1, Tableau 10). Afin d'améliorer la sélectivité de la réaction, la quantité de NIS a été augmentée, favorisant la formation de produit di-iodé à hauteur de 1:2,5 (Entrée 2, Tableau 10). Pour contrebalancer les problèmes de solubilité et la précipitation du produit mono-iodé, nous avons testé l'influence des ultrasons. Ces dernières ont permis d'accroître le ratio entre **51l** : **52l** en faveur du produit di-iodé jusqu'à 1:10 (Entrée 3, Tableau 10). Cette meilleure sélectivité peut s'expliquer par une amélioration de la solubilité du produit mono-iodé. En conclusion, la meilleure conversion en produit di-iodé a été observée en utilisant les ultrasons en présence de 2,2 équivalents de NIS.



Entrée	Quantité de NIS	Ratio 12a :12b <sup>a</sup>
1	2,2 eq	1 : 0,5
2	3,3 eq	1 : 2,5
3 <sup>b</sup>	2,2 eq	1 : 10

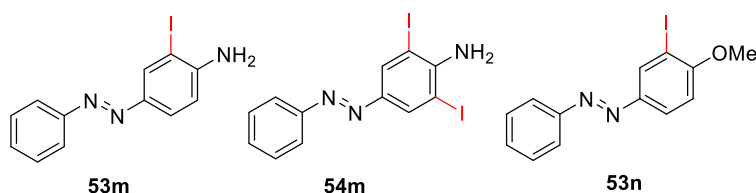
**Tableau 10.** Effet de la quantité de NIS et des ultrasons sur la sélectivité du substrat **50i** (<sup>a</sup>) Conversion est totale selon le RMN, (<sup>b</sup>) Réaction réalisée sous un bain d'ultrason à 35 kHz)

Finalement, nous avons souhaité étudier l'extension de la réaction aux substrats dissymétriques (Schéma 51). Le premier est un azobenzène porteur d'une fonction -NH<sub>2</sub> non protégée sur l'un des noyaux aromatiques (Entrées 1-4, Tableau 11). Tout comme lors de l'utilisation du groupement méthoxyle, la substitution électrophile aromatique a été dirigée en *ortho* du groupement activant -NH<sub>2</sub>. Un mélange de produits mono- et di-iodés a ainsi été isolé dont le ratio varie en fonction de la quantité de NIS et du temps de réaction. L'augmentation de la quantité de NIS ou de la durée de la réaction n'a pas permis d'accéder au dérivé diodé majoritaire. L'utilisation de 1,1 équivalent permet d'obtenir de NIS en 3 h de réaction le composé mono-iodé de manière quasi sélective (Entrée 4, Tableau 11). L'iodation a également été réalisée sur un autre azobenzène dissymétrique méthoxylé **50n** générant le produit mono-iodé avec un bon rendement de 78%.



Entrée	Substrat R =	Quantité de NIS	Temps de réaction	Rendement
1		2,2 eq	1 h	<b>53m</b> : 25% ; <b>54m</b> : 5%
2	NH <sub>2</sub>	2,2 eq	3 h	<b>53m</b> : 41% ; <b>54m</b> : 12%
3	<b>50m</b>	2,2 eq	18 h	<b>53m</b> : 49% ; <b>54m</b> : 20%
4		1,1 eq	3 h	<b>53m</b> : 42% ; <b>54m</b> : 5%
5	OMe <b>50n</b>	2,2 eq	16 h	<b>53n</b> : 78%

**Tableau 11.** Iodation des substrats dissymétriques



**Schéma 51.** Produits iode obtenus pour les substrats **50m** et **50n**.

## 4 Conclusions

Pour conclure, nous avons tenté de synthétiser des azobenzènes iodés par deux types de réactivité : l'activation C-H et la substitution électrophile aromatique. En définitive, l'activation C-H s'est révélée être globalement problématique même si elle demeure efficace pour la mono-iodation des substrats activés.

Lorsque nous avons passé en revue la réactivité de notre panel d'azobenzènes, nous avons détecté que la réaction était possible sans catalyseur sur des substrats activés par la fonction méthoxyle. Dans ce cas, la régiosélectivité habituelle induite par le groupement d'azo ( $N=N$ ) n'a pas été observée mais l'iodation en  $\alpha$  du groupement méthoxyle suggère clairement la présence d'un mécanisme du  $S_E$  aromatique. Il s'est avéré ensuite effectivement que le métallo-catalyseur n'était pas nécessaire à la réaction et que son absence ne modifiait en rien la régiosélectivité. Ces derniers confirment que les dérivés méthoxylés poursuivent la réaction en faveur du mécanisme  $S_E$  en présence de l'APTS.

Cette réactivité inattendue nous a alors conduite vers le développement d'une nouvelle réaction de substitution électrophile aromatique. Ainsi, en associant l'APTS comme organo-catalyseur et en présence de HFIP, une petite gamme d'azobenzènes iodés et diversement fonctionnalisés a pu être isolée. Généralement, nos conditions réactionnelles sont douces, favorisent la di-iodation et les produits sont isolés par simple précipitation. Cette réactivité a ensuite été étendue à un substrat porteur d'une fonction  $-NH_2$  libre. Il est important de relever que les réactions de poly-fonctionnalisations d'azobenzènes sont très rares, renforçant le potentiel synthétique de notre méthodologie.

Les azo-iodés obtenus lors de cette étude vont nous permettre de concevoir des azobenzènes thioglycosylés.



**CHAPITRE III**  
**CONCEPTION D'AZOBENZENES**  
**THIOGLYCOSYLES**

# 1 Introduction d'oligosides : amélioration de l'hydrosolubilité d'azobenzène

## 1.1 Stratégie d'amélioration de l'hydrosolubilité

Nous avons décrit dans l'introduction que les azobenzènes sont très peu solubles en milieu aqueux. Cette solubilité faible freine drastiquement leurs applications en chimie biologique et plus particulièrement dans la conception d'outils moléculaires. Afin de contourner cet inconvénient, nous avons souhaité introduire des groupements hydrophiles sur nos molécules et notre choix s'est orienté vers la chimie des thioglycosides. S'il est connu que les S-glycosides peuvent être introduits sur certains composés à partir des molécules iodées correspondantes grâce au couplage métallo-catalysé de Buchwald-Hartwig-Migita, cette chimie n'a jamais été développée sur les azobenzènes (Schéma 52).

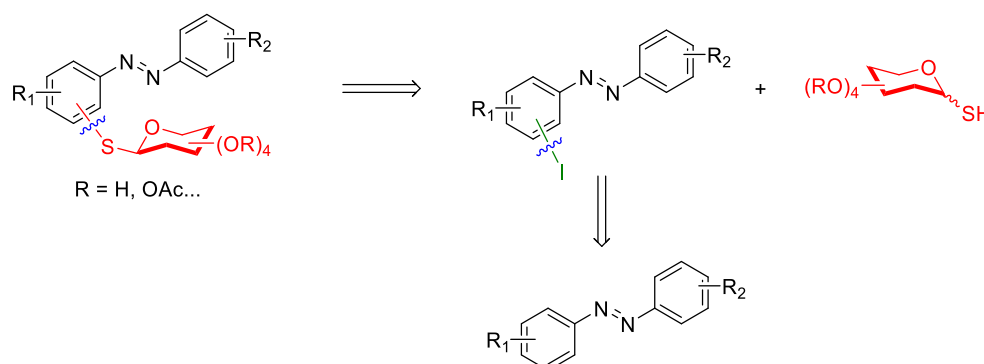


Schéma 52. Thioglycosylation d'azobenzènes

## 1.2 Exemples d'azobenzènes couplés à des oligosides.

S'il n'existe pas à ce jour d'exemples d'azobenzènes fonctionnalisés par des S-glycosides, certains analogues oxygénés sont décrits et possèdent des applications intéressantes.

Une preuve de concept permettant d'améliorer la solubilité des azobenzènes en « chemical biology » a récemment été rapportée avec la synthèse d'azobenzènes glycoconjugués permettant le contrôle de la conformation de peptides (Schéma 53).<sup>153</sup> Les auteurs ont mis à profit les oligosides afin d'accroître la solubilité de leurs produits. Même si ces dérivés se sont révélés être plus solubles que leurs analogues non glycosylés, toutes les réactions de bioconjugaison avec les protéines ont nécessité l'ajout de 10% de DMSO.

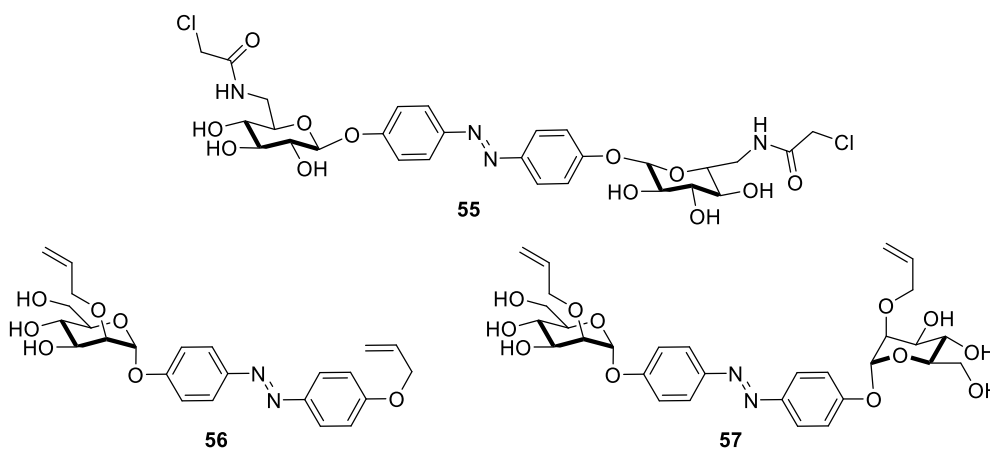
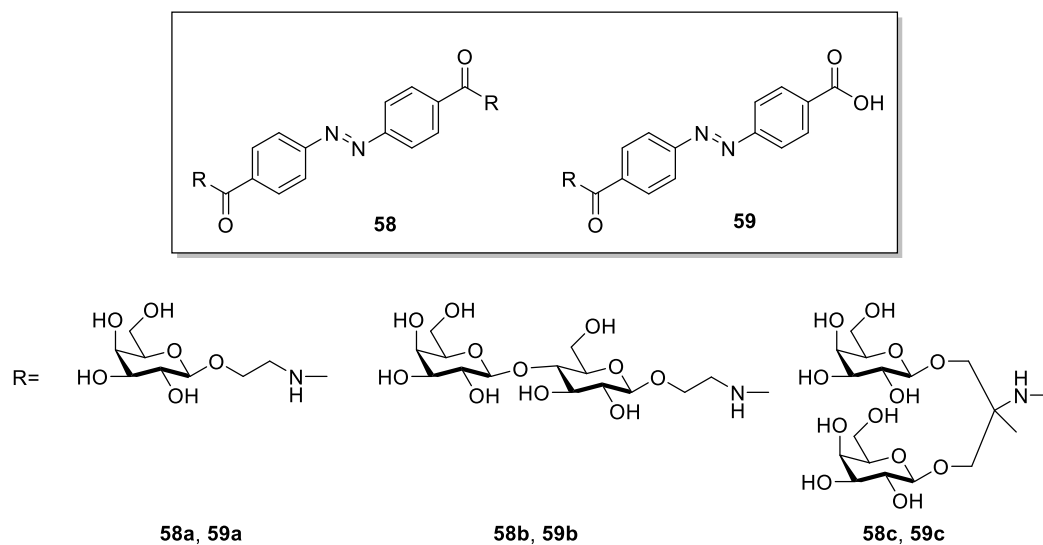


Schéma 53. Exemples de linkers photoisomérisables glycosylés

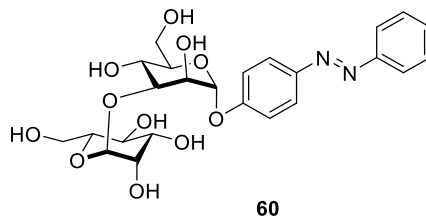
<sup>153</sup> A. Müller, H. Kobarg, V. Chandrasekaran, J. Gronow, F. D. Sönnichsen, T. K. Lindhorst, *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 13723-13731.

Outre l'exemple précédent et afin de mieux comprendre certains processus supramoléculaires, le groupe de Jayaraman a rapporté plusieurs azobenzènes substitués par des lactose et mannose et mesuré leurs affinités pour la lectine d'agglutinine d'arachide (PNA)<sup>154</sup> (Schéma 54) et la concanavaleine A (ConA).<sup>155</sup> En effet, si les interactions glucides-protéines sont essentielles pour une myriade de fonctions biologiques, leurs interaction lorsqu'un seul glucoside est fixé, sont généralement faibles dans l'eau ( $K_a < 10^{-3} \text{ M}^{-1}$ ).<sup>156</sup> Afin de les améliorer, plusieurs copies de ligands glucidiques sont souvent présentées au récepteur lors de la fixation, selon un phénomène dit d'« effet multivalent ». <sup>157</sup> L'irradiation UV entraîne un changement significatif de la géométrie moléculaire des lectines avec une amélioration concomitante de l'affinité de liaison par rapport à l'état photostationnaire *trans*.<sup>154</sup>



**Schéma 54.** Dérivés d'azobenzènes-glycopyranosides pour la fixation de PNA.

Le changement photoactivable de la conformation des glycanes a également été développé pour sonder l'effet de la conformation des glucides sur l'adhésion bactérienne. Le groupe de Lindhorst a étudié l'affinité des isomères *cis* et *trans*-azobenzène substitués par le mannobiose **60** sur la lectine de haute affinité de *E. coli*, FimH (Schéma 55).<sup>158</sup> Dans cet exemple, ces dernières sont insensibles aux changements conformationnels du glycanes et les isomères *cis* et *trans* affichent une puissance égale d'inhibition.



**Schéma 55.** Azobenzène substitué par le mannobiose.

Les glycolipides sont des produits naturels omniprésents comprenant une tête glucidique polaire et une

<sup>154</sup> N. M. Oruganti Srinivas, A. Surolia, N. Jayaraman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2124-2125.

<sup>155</sup> O. Srinivas, N. Mitra, A. Surolia, N. Jayaraman, *Glycobiology* **2005**, 15, 861-873.

<sup>156</sup> Y. Ogawa, C. Yoshiyama, T. Kitaoka, *Langmuir* **2012**, 28, 4404-4412.

<sup>157</sup> R. T. Lee and Y. C. Lee, *Glycoconjugate J.* **2000**, 17, 543-551.

<sup>158</sup> V. Chandrasekaran, K. Kolbe, F. Beiroth, T. K. Lindhorst, *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, 9, 223-233.

chaîne hydrophobe. Ils interviennent dans beaucoup de processus biologiques clés, notamment la formation de membranes, la régulation immunitaire et les infections microbiennes.<sup>159</sup> L'assemblage supramoléculaire et l'auto-organisation des amphiphiles glucidiques dans l'eau a donné naissance au développement de divers matériaux fonctionnels, tels que les hydrogels, les tensioactifs et les cristaux liquides.<sup>160</sup> Ainsi, le couplage de groupes glucidiques à des azobenzènes hydrophobes permet de développer des systèmes photo-réactifs pour moduler de manière réversible les propriétés colloïdales clés des systèmes tels que l'agrégation, la viscosité et la stabilité de phase. Le fragment azobenzène fournit une force motrice lors de l'agrégation des molécules **61** dans l'eau grâce à des attractions hydrophobes et des attractions hydrophobes et des interactions d'empilement  $\pi$ - $\pi$ , contrôlant ainsi l'amphiphilicité *via* l'isomérisation *trans-cis* (Schéma 56).<sup>161</sup>

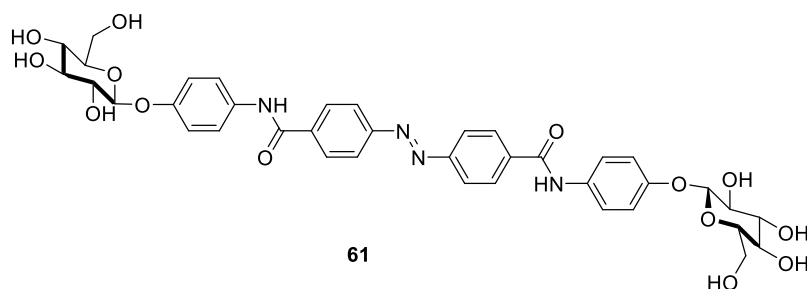


Schéma 56. Un « super » hydrogélateur photoisomérisable

Le groupe de Kitoaka a ensuite étudié l'autoassemblage d'un d'hydrogélateur basé sur un groupe de tête disaccharide lactone et couplé par un azobenzène et un espaceur de la glycine (Schéma 57).<sup>162</sup> Il a été démontré que les hydrogélateurs s'assemblent spontanément dans l'eau pour fournir des nanofibres hélicoïdales enchevêtrées, qui ont ensuite été utilisées comme un échafaudage biomimétique pour des études de fixation de lectine et d'adhésion cellulaire. Une photoisomérisation partielle a conduit à une transition gel-solide, entraînant une « coupure » des fibres longues pour donner des nanofibres courtes.

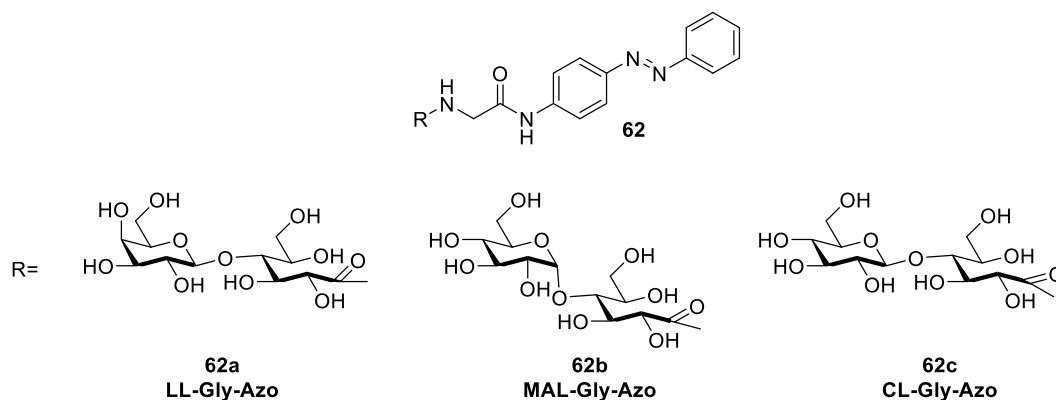


Schéma 57. Hydrogélateurs photoisomérisables basés sur des disaccharides.

Les tensioactifs à base de glucides synthétiques ou naturels sont des matériaux amphiphiles qui s'auto-assemblent dans les solvants aqueux et donnent naissance à des structures colloïdales, telles que des micelles,

<sup>159</sup> Y. Gu, R. LaBell, D. F. O'Brien, S. S. Saavedra, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2320-2322.

<sup>160</sup> M. Sano, M. Amaike, A. Kamino, S. Shinkai, *Langmuir* **2001**, 17, 4367-4371.

<sup>161</sup> H. Kobayashi, A. Friggeri, K. Koumoto, M. Amaike, S. Shinkai, D. N. Reinhoudt, *Org. Lett.* **2002**, 4, 1423-1426.

<sup>162</sup> Y. Ogawa, C. Yoshiyama, T. Kitaoka, *Langmuir*, **2012**, 28, 4404-4412.

des vésicules, des mousses ou des émulsions.<sup>163</sup> Le groupe de Len a récemment développé le premier tensioactif photoisomérisable à base de glucides comprenant un glucuronate de sodium couplé à un azobenzène *n*-butylé **63** (Schéma 58).<sup>164</sup> Dans cette étude, les auteurs ont démontré que l'autoassemblage de micelles activées par la lumière facilite la compartimentation et la solubilisation de molécules organiques hydrophobes dans l'eau.

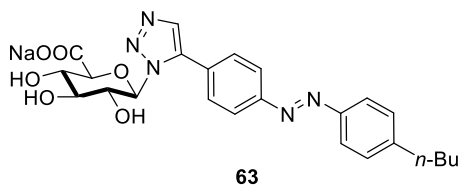


Schéma 58. Tensionactif photoisomérisable avec une tête glucuronate de sodium.

Enfin, le groupe de Xie a récemment isolé un macrocycle **64** constitué d'un azobenzène et d'un glycoside (Schéma 59).<sup>165</sup> La demi-vie *Z* du macrocycle a été évaluée à 51 jours, alors qu'elle n'était que de 19 jours pour le composé modèle acyclique. La cyclisation peut ainsi être une stratégie alternative pour augmenter la stabilité de l'isomère *Z* d'un azobenzène. Par ailleurs, un transfert de chiralité du oligoside vers la partie azobenzène a été observé. Le macrocycle a également formé des gels stables dans le cyclohexane et l'éthanol.

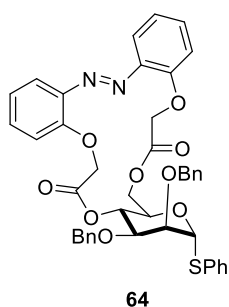


Schéma 59. Représentation de macrocycle I

## 2 Réaction de thioglycosylation de C<sub>Sp2</sub>

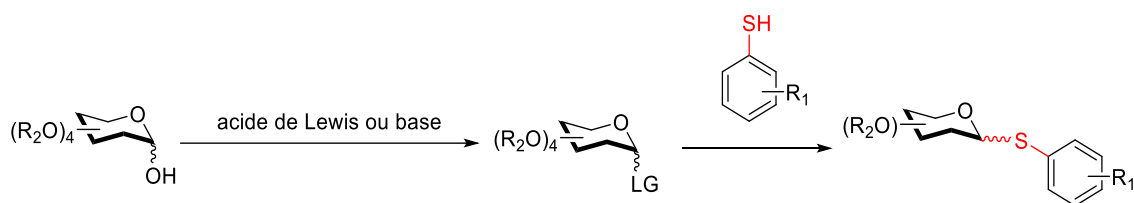
A l'origine, les thioglycosides étaient généralement arylés en 2 étapes à partir des précurseurs glycosylés. Ces derniers sont tout d'abord per-O-acétylés avant de réagir avec un thiophénol en présence d'un acide de Lewis ou d'une base. (Schéma 60) Ces procédures souffrent de l'utilisation d'un excès d'acides et d'additifs et sont généralement limitées aux substrats thiophénoliques simples. De plus, les réactions sont souvent longues et des mélanges d'anomères indésirables sont parfois observés.<sup>166</sup>

<sup>163</sup> S. Savic, S. Tamburic, M. M. Savic, *Exp. Opin. Drug Deliv.* **2010**, 7, 353-369.

<sup>164</sup> N. Drillaud, E. Banaszak-Léonard, I. Pezron, C. Len, *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 9553-9561.

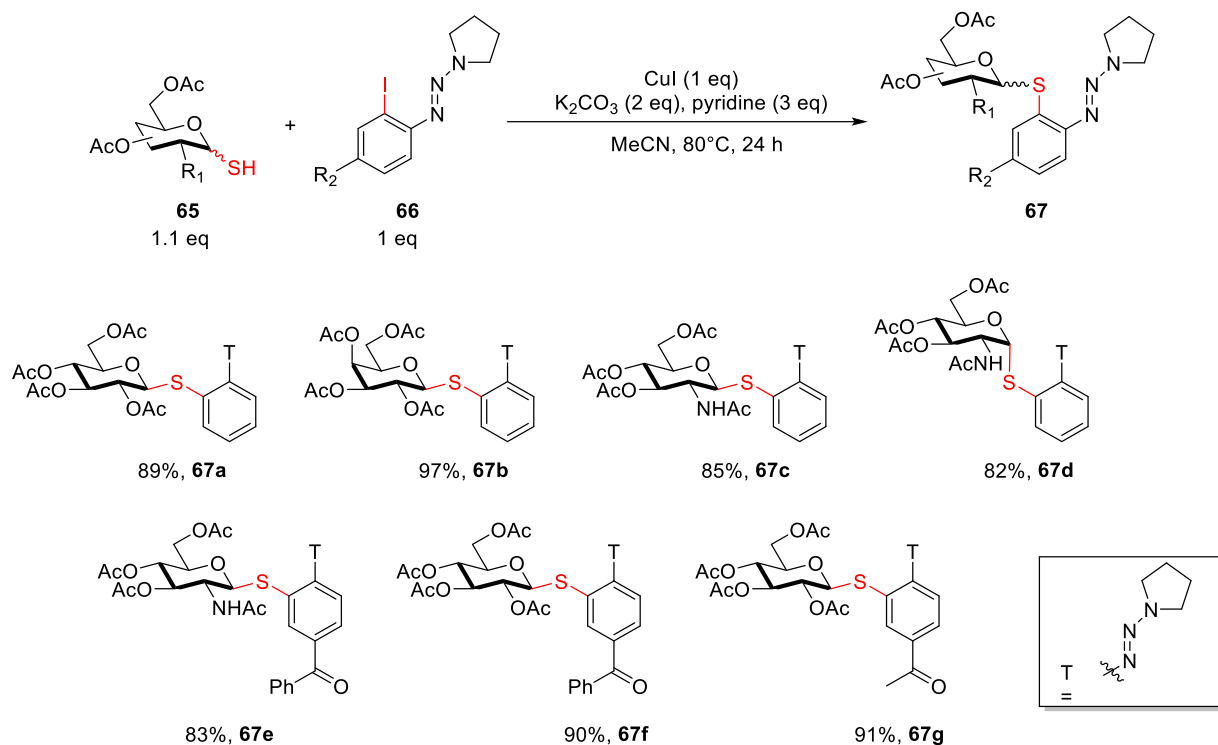
<sup>165</sup> C. Lin, S. Maisonneuve, R. Métivier, J. Xie, *Chem. Eur. J.*, **2017**, 23, 14996-15001.

<sup>166</sup> S.-S. Weng, Y.-D. Lin, C.-T. Chen, *Org. Lett.* **2006**, 8, 5633-5636.



**Schéma 60.** Méthode classique de thioglycosylation : par substitution nucléophile (S<sub>N</sub>2)

Récemment, les métaux de transition ont permis des avancées majeures. Nauš et ses collègues ont été les premiers à réaliser une réaction de thioglycosylation sur des aryles *ortho*-iodés porteurs d'un groupe directeur de type triazène. La réaction est médiée par le cuivre (I) et nécessite des thioglycosides protégés (Schéma 61).<sup>167</sup> Bien que la transformation montre une bonne tolérance fonctionnelle pour les oligosides et les arènes et que la configuration du thioglycoside est conservée après la thioglycosylation, la quantité de métal demeure relativement élevée et les conditions sont assez drastiques.

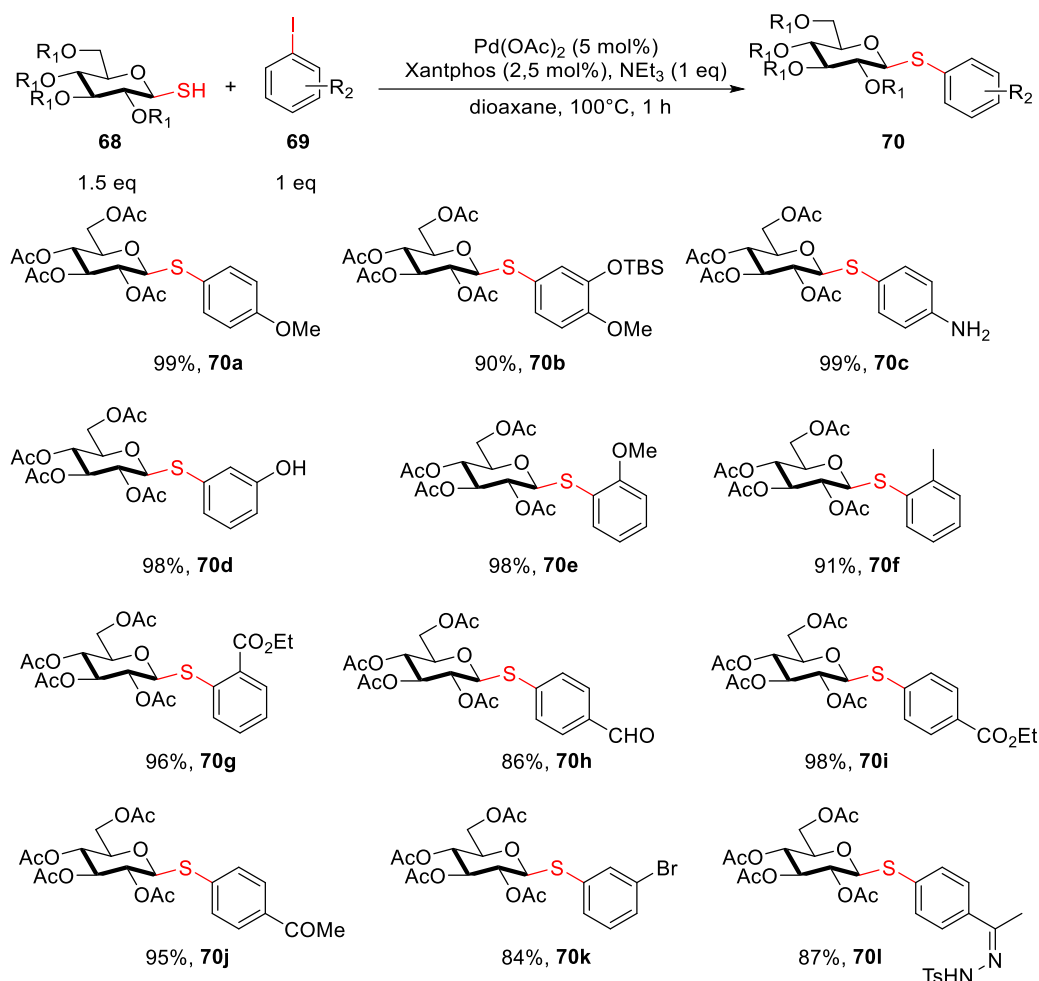


**Schéma 61.** Thioglycosylation d'arènes *ortho*-iodés en présence de CuI

Inspiré par ces travaux pionniers, le groupe de Messaoudi a depuis quelques années exploité avec élégance cette stratégie basée sur l'utilisation des métaux de transition. En 2013, une méthode pallado-catalysée a été développée à partir d'arènes iodés. La réaction est rapide, ne nécessite que 5 mol% de catalyseur mais requiert toujours un chauffage élevé (Schéma 62).<sup>168</sup> Tout un panel de produits a été isolé avec de bons rendements et nous pouvons noter que la transformation est sélective des atomes d'iode (**70k**).

<sup>167</sup> P. Nauš, L. Lesetický, S. Smrček, I. Tislerová, M. Sticha, *Synlett* **2003**, 14, 2117-2122.

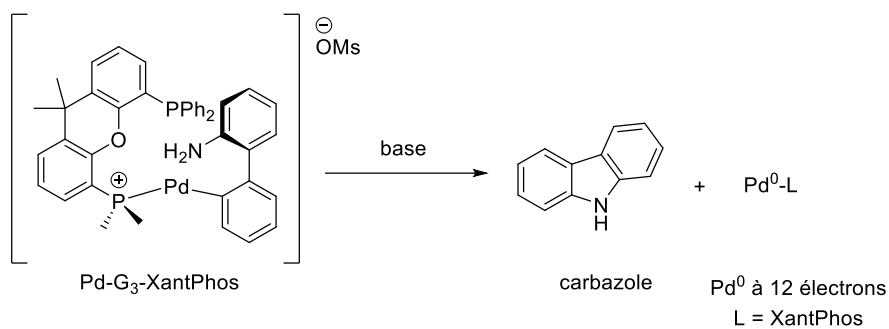
<sup>168</sup> E. Brachet, J.-D. Brion, S. Messaoudi, M. Alami, *Adv. Synth. Catal.* **2013**, 355, 477-490.



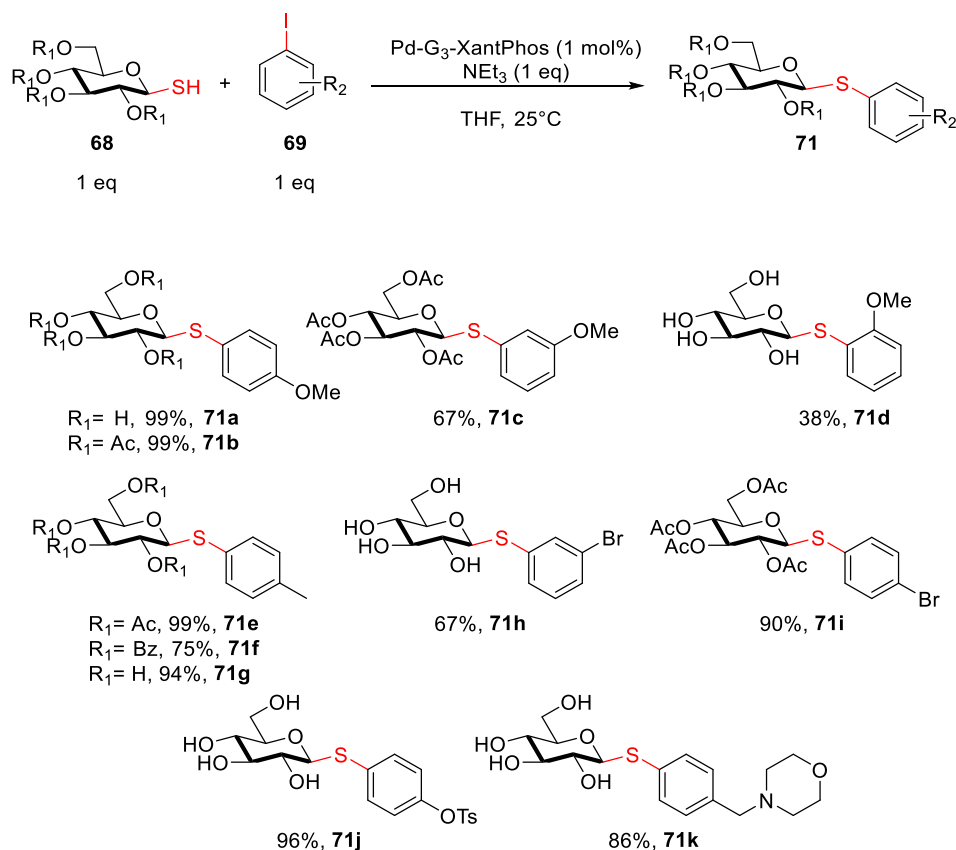
**Schéma 62.** Couplage pallado-catalysé de  $\beta$ -thioglucoses avec des arènes

Par la suite, en utilisant un système catalytique plus performant, Pd-G<sub>3</sub>-XantPhos, les thioglycosylations ont pu être réalisées sur les arènes iodés à température ambiante avec plus de diversité structurale sur le thioglycoside.<sup>169</sup> L'efficacité de cette réaction peut s'expliquer par la formation d'un complexe actif, Pd(0) à 12 électrons, après le traitement du précatalyseur par une base (Schéma 63). La réaction est hautement diastéréosélective et tolérante vis-à-vis de groupes fonctionnels variés avec des rendements allant de bons à excellents (Schéma 64). L'influence de l'effet stérique a été observé lors de la formation du produit *ortho*-substitué **71d** avec un rendement modeste de 38%. Cette méthode montre également une bonne sélectivité entre les liaisons C-I et C-Br, donnant les produits mono-couplés **71h** et **71i** porteurs d'une liaison C-Br et permettant une double fonctionnalisation ultérieure. Différents groupes protecteurs sont tolérés et cette fois-ci, même les thioglucosides non protégés sont compatibles avec les conditions utilisées, donnant les produits **80e**, **80f** et **80g** avec les rendements excellents.

<sup>169</sup> A. Bruneau, M. Roche, A. Hamze, J.-D. Brion, M. Alami, S. Messaoudi, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 8375-8379.



**Schéma 63.** Activation du pré-catalyseur Pd-G<sub>3</sub>-Xantphos par une base

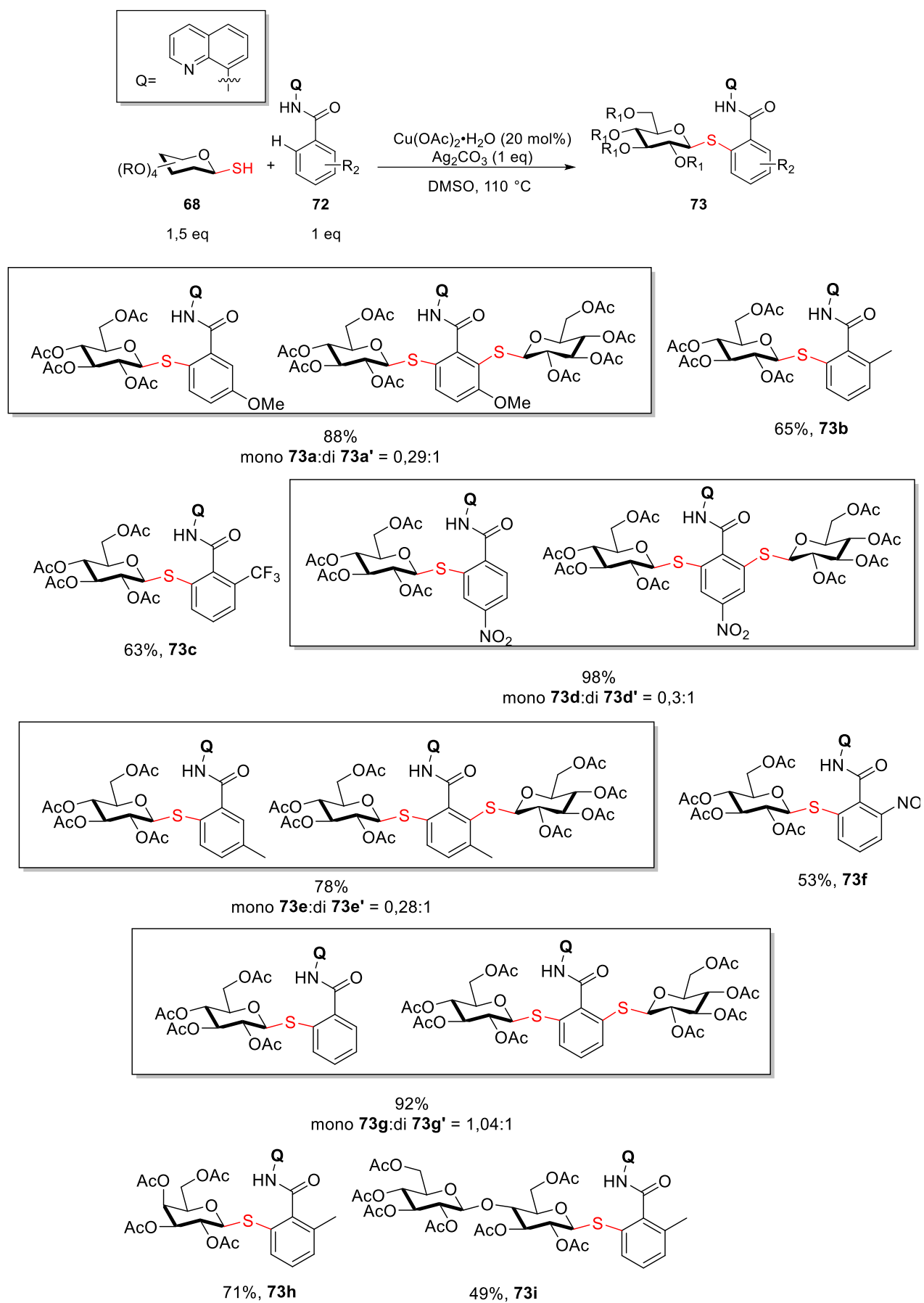


**Schéma 64.** Couplage de 1-thio-β-o-glucopyranoses avec des arènes iodées catalysé par le Pd-G<sub>3</sub>-Xantphos.

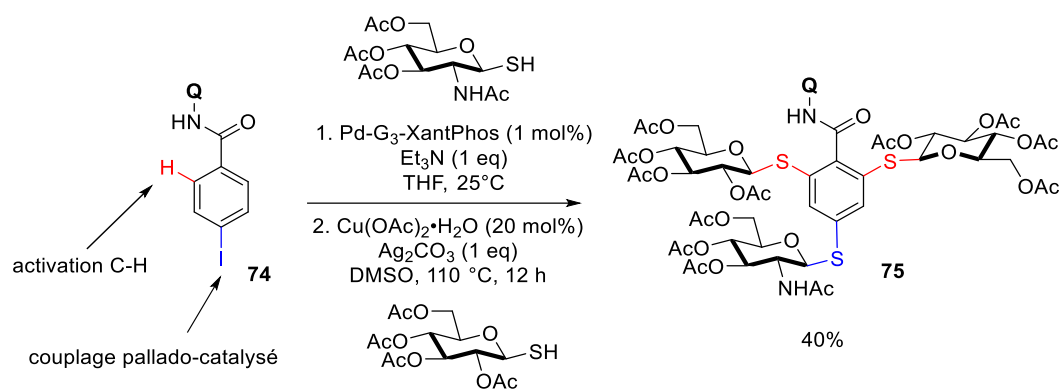
Cependant, des inconvénients persistent : l'utilisation d'un catalyseur cher et la nécessité de partir d'un substrat pré-activé par un atome d'iode. Ainsi, une méthode basée sur une simple activation C-H et un catalyseur économique Cu(OAc)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O a été développée afin de surmonter ces inconvénients (Schéma 65).<sup>170</sup> La réaction est tolérante vis-à-vis de beaucoup de benzamides et de glycosides avec des rendements allant de moyens à bons. Des mauvaises régiosélectivités ont été observées pour des benzamides *para*- et *meta*-substitués avec des mélanges de produits mono et di thioglycosylés (**73a**, **73d**, **73e** et **73g**). Une séquence élégante a été réalisée, en combinaison avec le couplage pallado-catalysé, permettant d'introduire une belle diversité sur le substrat **74** (Schéma 66).

<sup>170</sup> A. Chabrier, A. Bruneau, S. Benmahdjoub, B. Benmerad, S. Belaid, J. D. Brion, M. Alami, S. Messaoudi, *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 15006-15010.





**Schéma 65.** Thioglycosylation par activation C-H de benzamides avec des thiosaccharides



**Schéma 66.** Introduction de diversité moléculaire par couplage pallado-catalysé et activation C-H.séquentiels.

### 3 Résultats

#### 3.1 Synthèse d'azobenzènes thioglycosylés

Lors de notre étude, la thioglycosylation padallo-catalysée des substrats iodés a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Dr. Samir Messaoudi et plus particulièrement par Nejwa Bennai dans le cadre de sa thèse. Un large panel de produits thioglycosylés a ainsi été préparé en faisant varier la nature et position des thiosaccharides protégés ou non-protégés (Schéma 67).

Nous avons tout d'abord regardé la réactivité de l'azobenzène *para*-méthoxylé mono-iodé **50g** en présence d'une large bibliothèque de thioglucosides. Si tous les produits mono- thioglycosylés envisagés **76-82** ont été isolés, nous pouvons noter que les rendements sont plus faibles en présence des thiosaccharides non protégés. Par la suite, la nature des fonctions chimiques et leurs positions sur l'azo a été investigué, générant les azos **83-89**. Aucune tendance n'a pu se dégager, les produits ont généralement été isolés avec des rendements allant de bons à très bon. Enfin, des produits diversement methoxylés di-thioglycosylés **90-95** ont été préparés. La di-thioglycosylation est généralement moins efficace que mono-thioglycosylation en donnant les rendements légèrement plus modérés, excepté pour le produit **91**. Il est important de noter que la conformation du thiosaccharide a toujours été conservée après la réaction, nous n'avons jamais observé d'épimérisation.

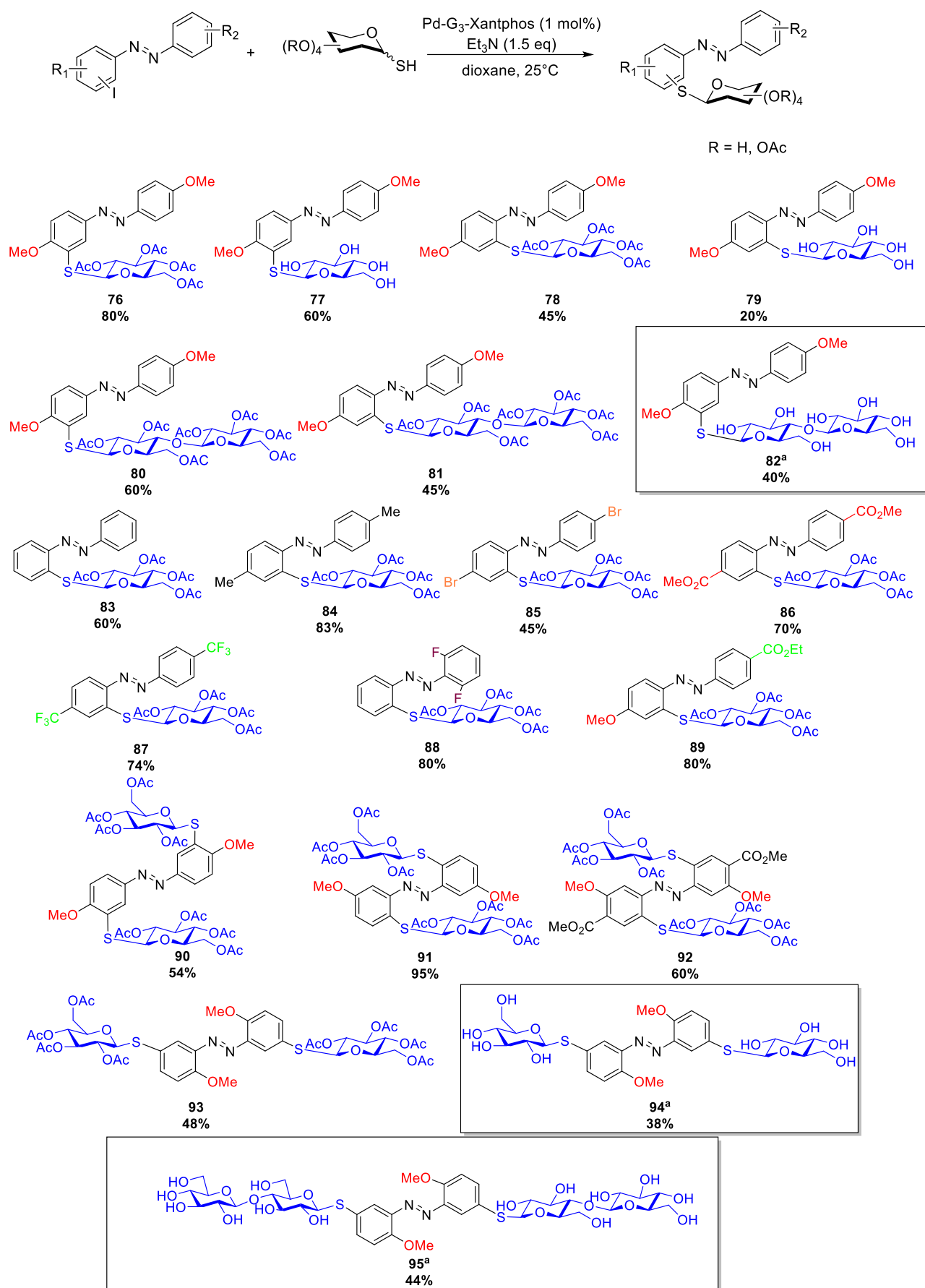


Schéma 67. Préparation d'azobenzènes thioglycosylés catalysés par le Pd-G3-Xantphos. (<sup>a</sup> Produits préparés par moi-même)

## 3.2 Caractérisations et analyses des azobenzènes thioglycosylés

Les produits obtenus ont ensuite été évalués au laboratoire PPSM de l'ENS Paris-Saclay dans l'équipe du Pr. J. Xie et du Dr. N. Bogliotti. Nous avons mesuré principalement leur spectre d'absorption UV-Vis, leur photo-stabilité et leur solubilité en milieu aqueux.

### 3.2.1 Azobenzènes *para*-méthoxylés mono-thioglycosylés

Nous avons commencé par l'étude des propriétés photochromiques des azobenzènes *para*-méthoxylés suivants porteurs d'un motif thioglucose en *ortho* ou *meta* de la double liaison -N=N- (Schéma 68) :

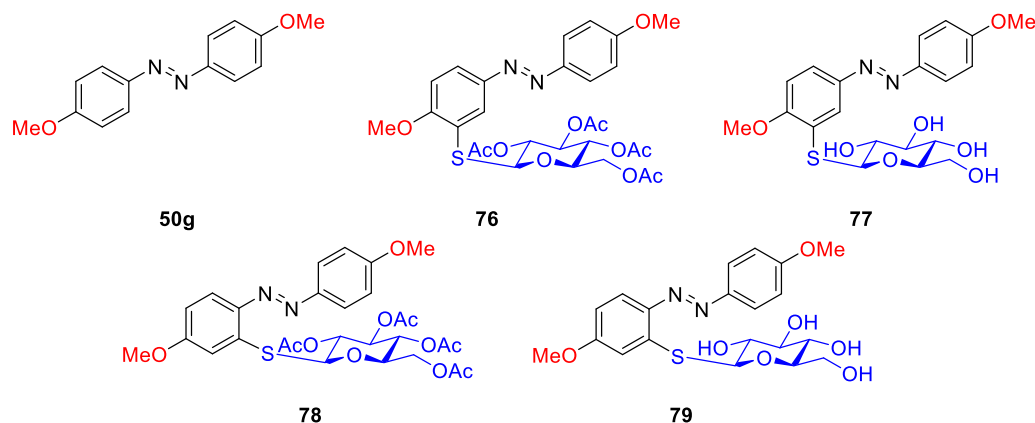


Schéma 68. Azobenzènes *para*-méthoxylés fonctionnalisés par des thiosaccharides

#### 3.2.1.1 Spectre d'absorption UV-Vis

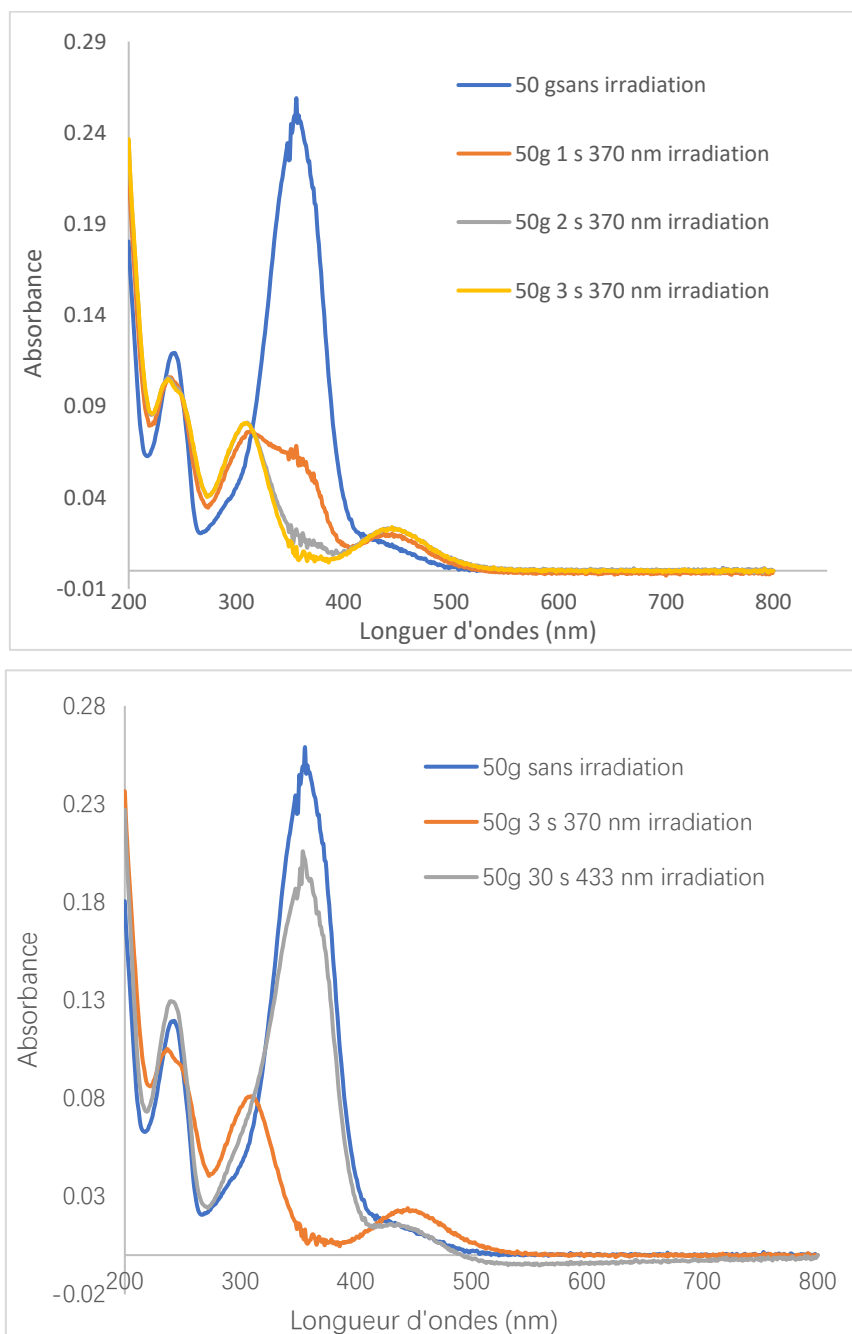
Les azobenzènes ont été soumis sous une irradiation à 370 nm dans le but de les isomériser de l'isomère *E* en isomère *Z*. L'état photostationnaire obtenu a ensuite été traité sous un rayonnement à 433 nm afin d'essayer de régénérer l'état initial de la molécule. Les résultats obtenus sont retranscrits dans le tableau ci-dessous (Tableau 12). Des cycles d'irradiations d'une durée d'une seconde ont été réalisées afin d'atteindre l'état photostationnaire.

Azobenzène	T <sub>irr</sub> ( <i>E</i> → <i>Z</i> ) à 370 nm)	T <sub>irr</sub> ( <i>Z</i> → <i>E</i> ) à 433 nm)	$\lambda_{\pi-\pi^*}$ (état initial)	$\lambda_{n-\pi^*}$ (état photostationnaire) <sup>a</sup>	Ratio <i>E</i> : <i>Z</i> <sup>a</sup> de l'état photostationnaire <sup>b</sup>
50g	3 s	30 s	359 nm	445 nm	0,06 : 1
76	10 s	20 s	368 nm	449 nm	0 : 1
77	10 s	10 s	368 nm	434 nm	0 : 1
78	10 s	40 s	379 nm	452 nm	0,08 : 1
79	10 s	10 s	388 nm	434 nm	0,18 : 1

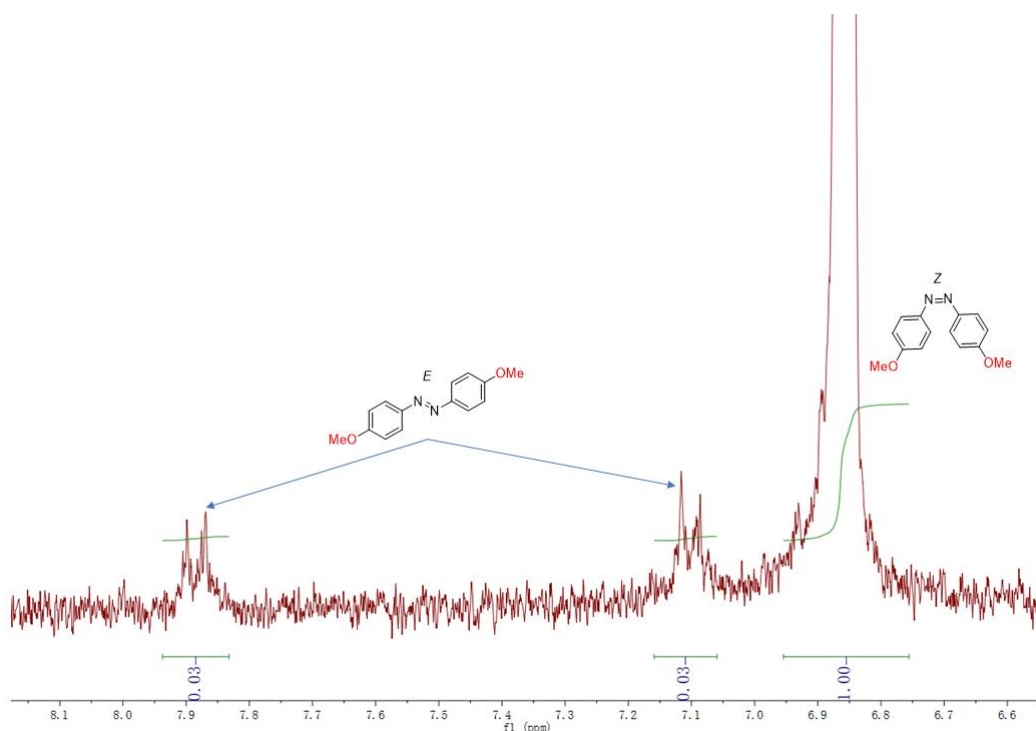
Tableau 12 . Propriétés principales des spectres d'absorption UV-Vis des azobenzènes *para*-méthoxylés. (<sup>a</sup>état photostationnaire obtenu après irradiation à 370 nm ; <sup>b</sup> ratio mesuré par <sup>1</sup>H RMN)

Tout d'abord, le spectre d'absorption UV-Vis de l'azobenzène **50g** a été effectué dans le MeCN et montre une bande maximale  $\pi-\pi^*$  à 359 nm (Figure 19). Une irradiation à 370 nm induit

l'isomérisation de l'isomère *E* vers l'isomère *Z* en 3 secondes avec des points isobestiques nets, conduisant à une diminution forte de la bande  $\pi$ - $\pi^*$ . Un état photostationnaire (PSS) possédant une bande  $n$ - $\pi^*$  à 445 nm a été également observé et a ensuite été analysé par  $^1\text{H}$  RMN (Figure 20). L'isomère *Z* est présent à hauteur de 94%. Par ailleurs, l'isomère *E* n'a pu être régénéré que partiellement après 30 s d'irradiation à 433 nm. La bande  $n$ - $\pi^*$  présente dans l'état photostationnaire est faible et ne permet pas d'isomériser efficacement l'isomère *Z*. Afin d'arriver l'isomérisation totale, l'utilisation d'un rayonnement plus puissant est essentielle.

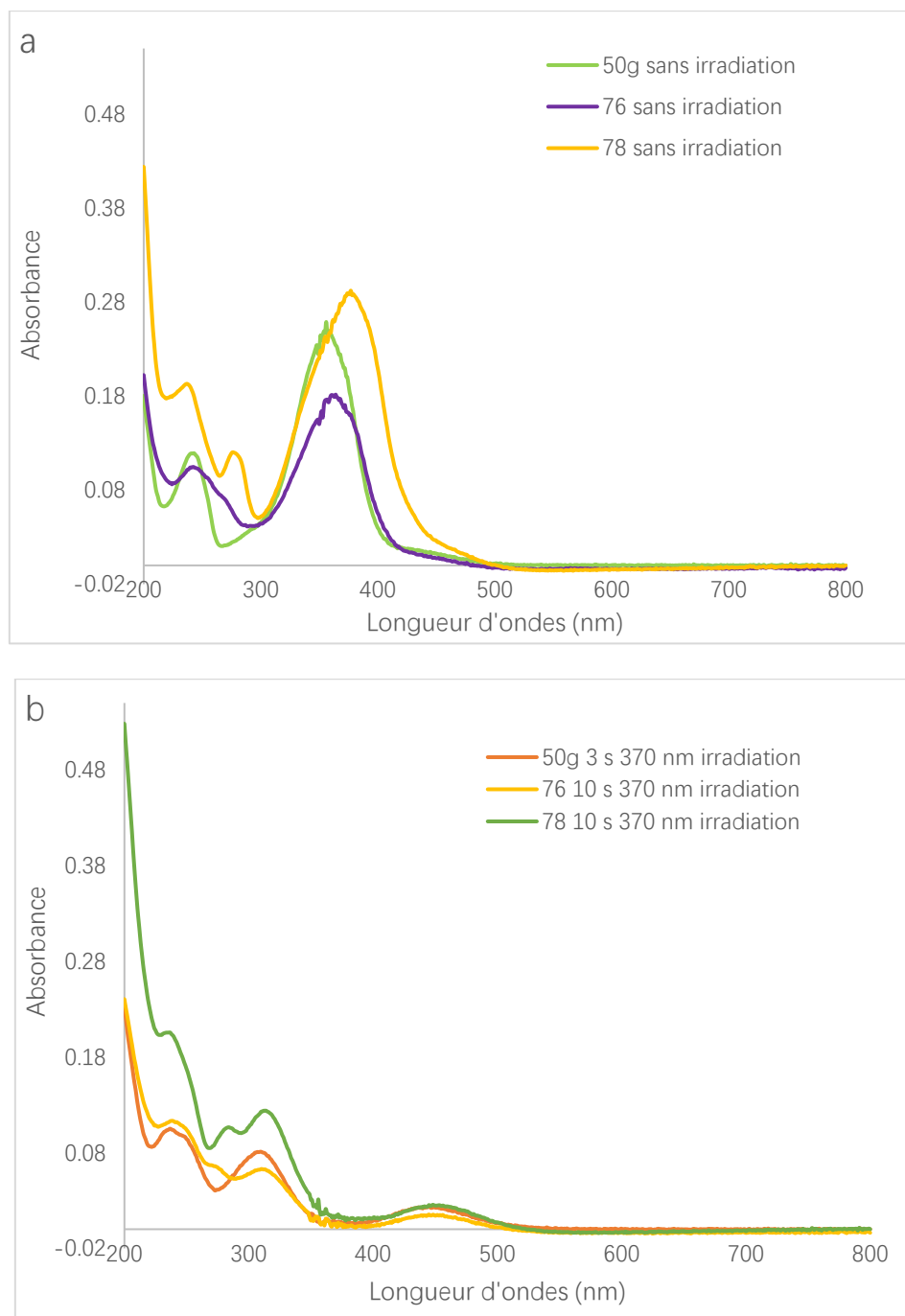


**Figure 19.** Spectre d'absorption UV-Vis de l'azobenzène *para*-méthoxylé **50g** : a) évaluation de l'isomérisation ; b) régénération de l'état initial.



**Figure 20.** Analyse par RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ) de l'état photostationnaire du composé **50g** après l'irradiation à 370 nm, les pics correspondants aux  $\text{H}_{\text{Ar}}$  sont représentés.

Les spectres d'absorption UV-Vis des composés **76** et **78** montrent que l'introduction du thioglucose conduit à des spectres légèrement décalés vers le rouge (Figure 21). Plus en détails, une transition  $\pi\text{-}\pi^*$  à 368 nm a été observée pour le composé **76** tandis qu'une transition  $\pi\text{-}\pi^*$  à 379 nm a été observée pour le composé **78**. Particulièrement, l'introduction du thiosaccharide en *ortho* de la double liaison  $\text{N}=\text{N}$  influence plus fortement la longueur d'onde d'absorption UV-Vis qui est décalée vers le rouge. De plus, après irradiation à 370 nm, des transitions  $\text{n-}\pi^*$  à 444 nm et à 452 nm ont été observées pour l'isomère *Z* des composés **76** et **78** respectivement. Par conséquent, l'introduction d'un thiosaccharide protégé a une influence faible sur les bandes  $\text{n-}\pi^*$  des isomères *Z*.



**Figure 21.** Comparaison des spectres d'absorption UV-Vis de **50g**, **76** et **78** a) état initial, b) état photostationnaire

L'introduction d'un thioglucose non protégé en *ortho* de la liaison diazo sur le composé **79** génère une transition  $\pi-\pi^*$  à 388 nm avec un gain de 9 nm par rapport au même thioglucose protégé **78**. Ce phénomène n'est pas présent avec le composé **77** qui possède la même transition  $\pi-\pi^*$  que le composé **76**. Les deux composés **77** et **79** ont également des transitions  $n-\pi^*$  moins décalées vers le rouge que les composés **76** et **78**.



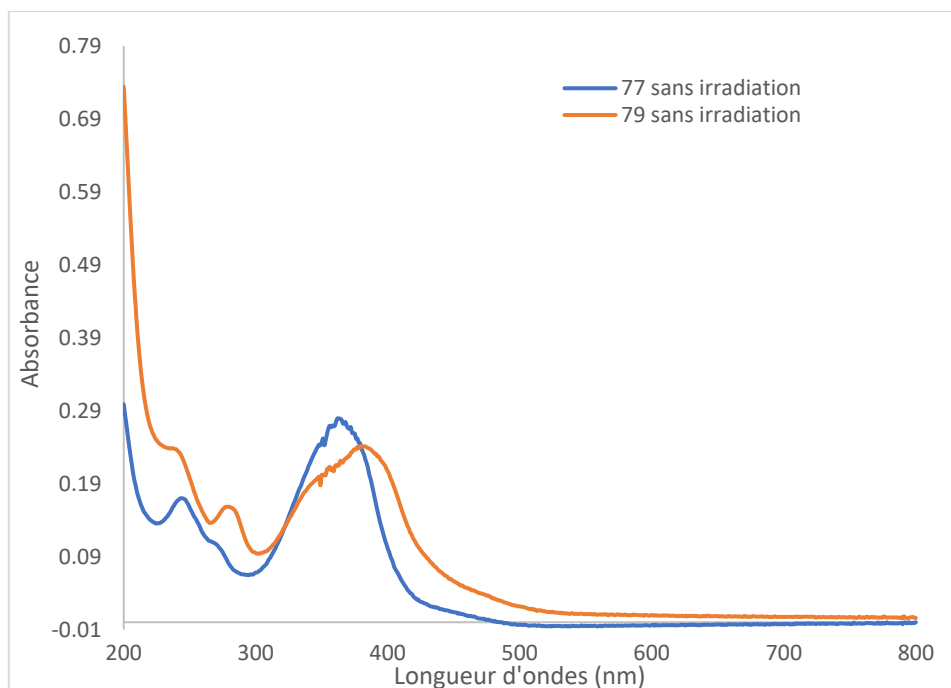


Figure 22. Comparaison des spectres d'absorption entre les composés **77** et **79**

Par contre, la présence d'un thioglucose en *ortho* de la liaison N=N empêche l'isomérisation complète de la molécule. Ainsi, après l'irradiation à 370 nm, le composé **78** donne 93% d'isomère *Z* tandis que le composé **79** donne 85% d'isomère *Z*. Par ailleurs, l'état initial des azobenzènes fonctionnalisés par des thioglucoses est difficile à régénérer après l'irradiation à 433nm. Ceci peut s'expliquer par la formation possible de complexes entre les thiosaccharides qui stabiliseraient l'isomère *Z*.

Dans le but d'augmenter la solubilité des azobenzènes en milieu aqueux, des groupements théoriquement hydrophiles, tels que des disaccharides, ont été introduit sur les azobenzènes en donnant les produits **80**, **81** et **82** (Schéma 69). Les données obtenues suite à l'enregistrement des spectres d'absorption absorption UV-Vis sont retranscrits ci-dessous (Tableau 13). Le ratio *E/Z* de l'état photostationnaire pour les composés **81** et **82** n'a pas pu être mesuré en raison de la fermeture de laboratoire lors du confinement.

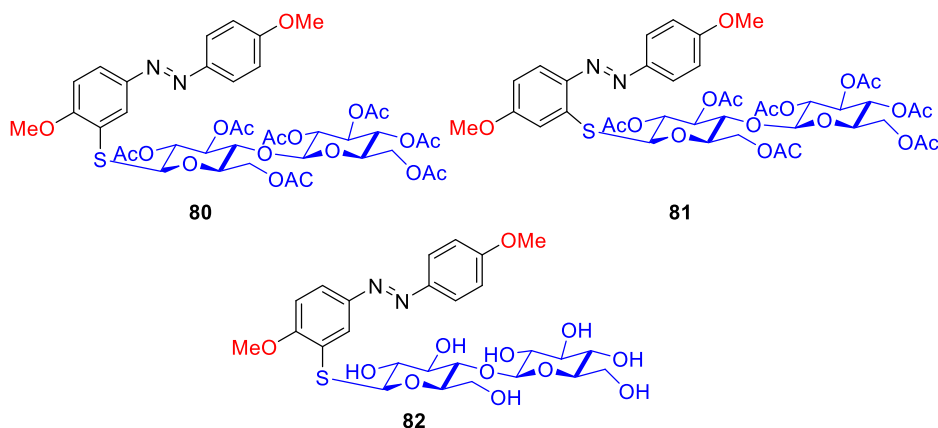
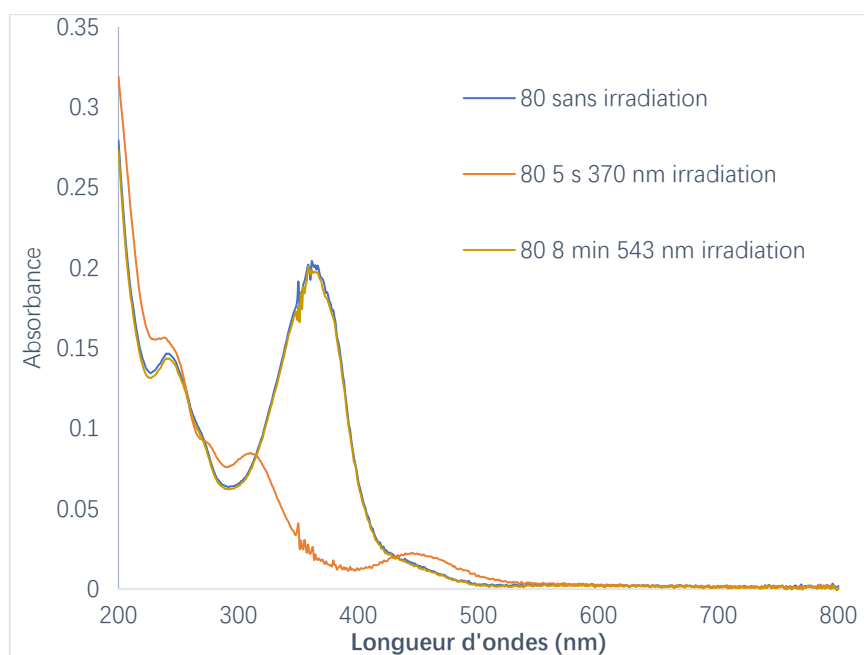


Schéma 69. Azobenzènes porteurs de disaccharides protégés ou non protégés.

Azobenzène	$T_{irr}$ ( $E \rightarrow Z$ à 370 nm)	$T_{irr}$ ( $Z \rightarrow E$ à 543 nm)	$\lambda_{\pi-\pi^*}$ (état initial)	$\lambda_{n-\pi^*}$ (état photostationnaire) <sup>b</sup>	Ratio $E:Z$ de l'état photostationnaire <sup>c</sup>
<b>80</b>	5 s	8 min	365 nm	459 nm	0 : 1
<b>81</b>	5 s	8 min	379 nm	455 nm	n.m
<b>82<sup>a</sup></b>	20 s	15 min	291 nm, 363 nm	444 nm	n.m

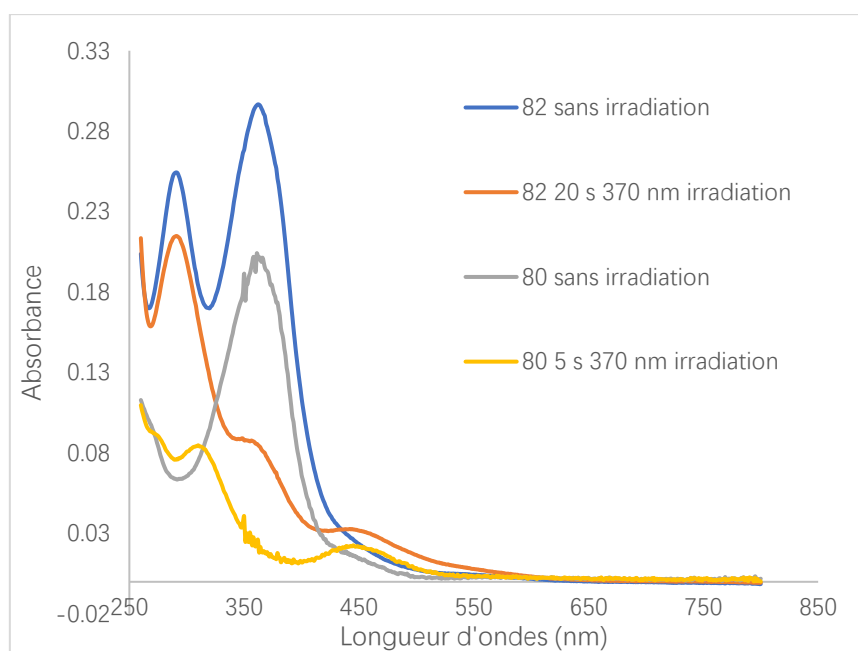
**Tableau 13.** Propriétés principales des spectres d'absorption UV-Vis des azobenzènes *p*-méthoxylés fonctionnalisés par des disaccharides (<sup>a</sup>) analyses effectuées dans 10% DMSO (MeCN) ; <sup>b</sup>) état photostationnaire obtenu après irradiation à 370 nm ; <sup>c</sup>) ratio mesuré par <sup>1</sup>H RMN)

La substitution des monosaccharides par des disaccharides n'influence pas les spectres d'absorption UV-Vis d'isomère *E*, la bande des transitions  $\pi-\pi^*$  a été observée pour le composé **80** à 365 nm et à 379 nm pour le composé **81** (Figure 23). Cependant l'utilisation d'un disaccharide en *ortho* du méthoxy sur le composé **80** induit un décalage de la bande  $n-\pi^*$  vers le rouge à 459 nm permettant une irradiation utilisant un rayonnement en théorie moins destructif.



**Figure 23.** Spectre d'absorption du composé **80**

Le composé **80** revient à son état initial après l'irradiation à 543 nm au lieu de 433 nm pendant 8 min. En utilisant ce rayonnement moins destructif, cette azobenzène permet d'entrevoir des applications potentielles en chimie biologique. En remplaçant le disaccharide protégé par un disaccharide non protégé sur le composé **82**, l'azobenzène obtenu conserve une transition  $\pi-\pi^*$  à 363 nm pour son isomère *E* et une transition  $n-\pi^*$  à 444 nm pour son isomère *Z*. En utilisant un même rayonnement à 543 nm, l'état photostationnaire obtenu du composé **82** ne peut pas totalement retourner à son état initial.



**Figure 24.** Comparaison entre les composés **80** et **82**

### 3.2.1.2 Propriétés physico-chimiques

Au cours de notre étude, nous avons également mesuré certaines propriétés physico-chimiques de nos azobenzènes. Parmi elles, la demi-vie d'un azobenzène décrit le temps qu'il faut pour que 50% de l'isomère *Z* se retourne sous forme *E* dans l'obscurité. Par ailleurs, plusieurs cycles d'irradiation ont été réalisés sur nos azobenzènes afin de confirmer ou non une possible dégradation lors de cette procédure. Enfin, la solubilité en milieu aqueux d'azobenzènes fonctionnalisés par des thioglycosides non-protégés a également été mesurée (Tableau 14).

Azobenzène	Demi-vie (h)	Solubilité (eau, pH = 7, 25 °C)	Photo-stabilité
<b>50g</b>	14	5,6 mg/L	++
<b>76</b>	16	/	++
<b>77</b>	18	3,24 g/L	++
<b>78</b>	5	/	++
<b>79</b>	8.5	0,56 g/L	++
<b>80</b>	20.5	/	++
<b>81</b>	5.5	/	++
<b>82</b>	25.5	3,65 g/L	++

**Tableau 14.** Propriétés physico-chimiques des azobenzènes *p*-methoxylés

#### 3.2.1.2.1 Demi-vie

Tout d'abord, la demi-vie de l'azobenzène de référence *para*-méthoxylé **50g** a été mesurée à 14 h. Comme nous pouvons le voir dans le tableau ci-dessus, l'introduction d'un thioglycoside influence la demi-vie de l'azobenzène en fonction de la position de la substitution et de la nature du thioglycoside. Plus en détails,

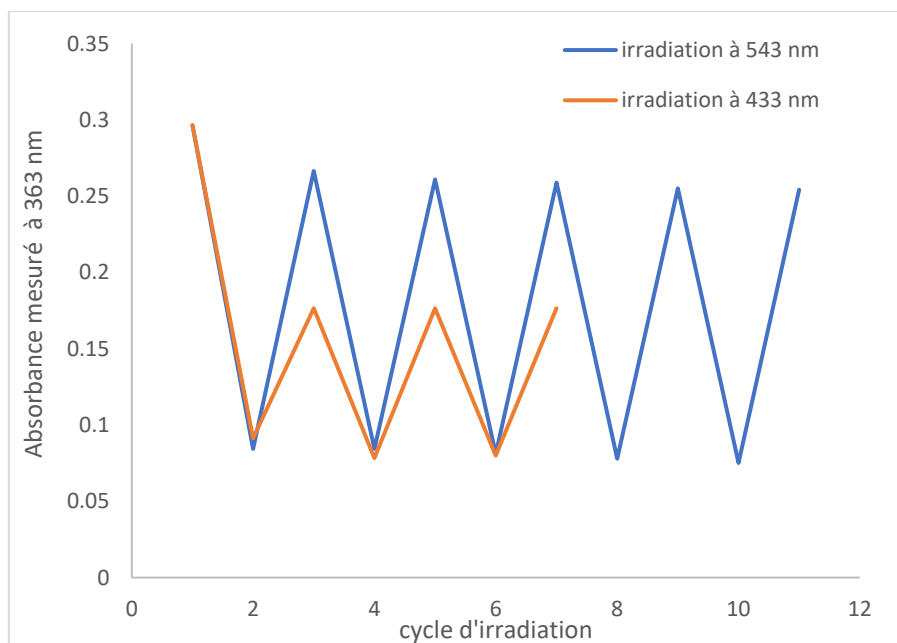
la présence des thiosaccharides en *ortho* du  $-N=N-$  réduisent le temps de demi-vie des composés par comparaison avec l'azobenzène non fonctionnalisé **50g**. Cependant, Les thiosaccharides situés en méta du  $-N=N-$  et les dithiosaccharides augmentent le temps de demi-vie. En effet, la substitution en *ortho* de la double liaison  $N=N$  réduit le temps de demi-vie de la molécule jusqu'à 5 h pour le composé **78**. Lorsque des thioglycosides non protégés remplacent leurs analogues protégés, les temps de demi-vie augmentent pour aller jusqu'à 18 h pour l'azobenzène **77**.

Concernant l'azobenzène porteur d'un motif de type disaccharide **81**, aucun effet n'a été observé par rapport au composé **78** monosaccharidique avec une demi-vie de 5,5 h. Par contre, lorsque le disaccharide est en *ortho* du groupement méthoxy comme pour les composés **80** et **82**, les temps de demi-vie de ces derniers augmentent significativement pour atteindre plus de 25,5 h pour le composé **82**.

### 3.2.1.2.2 Stabilité

Les azobenzènes mono-thioglycosylés ont montré une bonne photo-stabilité après plusieurs cycles d'irradiation (370 nm puis 433 nm). Cependant, le retour à l'état initial est généralement partiel et le ratio entre les isomères *E* et *Z* dépend de la position et de la nature du thiosaccharide sur l'azobenzène.

Les azobenzènes fonctionnalisés par des disaccharides ont pu être reconverti à leur état initial après des irradiations à 543nm. Bien que les temps d'irradiation soient relativement longs, le retour complet à l'état initial est toujours conservé pour les composés **80** et **81** après plusieurs cycles d'irradiation. L'isomère *Z* reste cependant toujours présent avec le composé **82** substitué par un disaccharide non protégé, et le pourcentage d'isomère *E* dans l'état photostationnaire est plus élevé que le composé irradié à 433 nm (Figure 25).



**Figure 25.** Photostabilité de l'azobenzène **82** mesuré à 363 nm, suite à deux rayonnements à 433 nm et 543 nm après l'antiradiation à 370 nm

### 3.2.1.2.3 Solubilité

Nous nous sommes ensuite intéressés à évaluer la solubilité de nos azobenzènes thioglycosylés. Nous pouvons observer que l'introduction d'un thiosaccharide améliore fortement la solubilité des azobenzènes en milieu aqueux. En effet, la solubilité de l'azobenzène *para*-méthoxylé **50g** de référence a été initialement mesurée à 5.6 mg/L (pH = 7,0, 25°C). Concernant nos produits, la solubilité du composé **77** (3.24 g/L, pH = 7,0, 25°C), du composé **79** (0.56 g/L, pH = 7.0, 25°C) et du composé **82** (3.65 g/L, pH 7.0, 25°C) sont beaucoup plus élevées. L'introduction d'un disaccharide a donc une grande influence au regard de la solubilité de nos substrats.

### 3.2.2 Azobenzène mono-thioglycosylé : l'effet de substituant

La nature des substituants présents sur les noyaux aromatiques des azobenzènes influence également les propriétés photochromiques des azobenzènes thioglycosylés. Ainsi, un panel d'azobenzènes *ortho*-thioglycosylés a été préparé (Schéma 70).

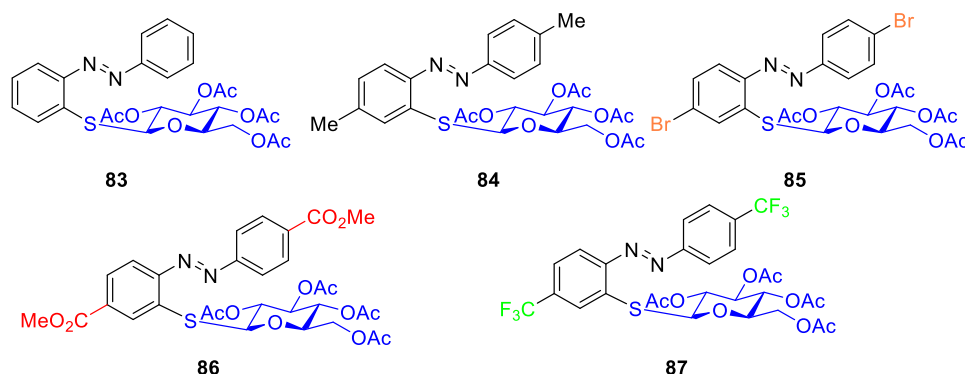


Schéma 70. Azobenzènes *ortho*-thioglycosylés en fonction des substituants en *para*.

#### 3.2.2.1 Spectre d'absorption UV-Vis

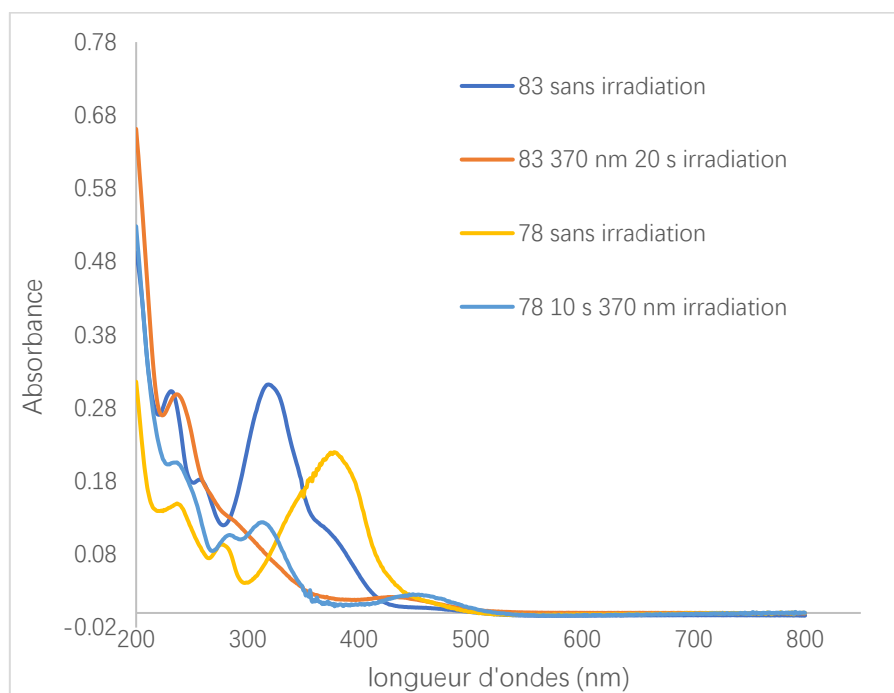
Comme pour les azobenzènes précédents *para*-methoxylés, les azobenzènes ont été soumis à une irradiation à 370 nm afin d'atteindre l'état photostationnaire. Les échantillons ont ensuite été irradiés à une longueur d'onde de 433 nm. Les résultats sont regroupés dans le tableau ci-dessous (Tableau 15).

Azobenzène	T <sub>irr</sub> ( <i>E</i> → <i>Z</i> à 370 nm)	T <sub>irr</sub> ( <i>Z</i> → <i>E</i> à 433 nm)	λ <sub>π-π*</sub> (état initial)	λ <sub>n-π*</sub> (état photostationnaire) <sup>a</sup>	Ratio <i>E</i> : <i>Z</i> <sup>a</sup> de l'état photostationnaire <sup>b</sup>
<b>78</b>	10 s	40 s	379 nm	452 nm	0,08 : 1
<b>83</b>	20 s	3 min	320 nm	436 nm	n.m
<b>84</b>	10 s	2 min	336 nm	442 nm	n.m
<b>85</b>	15 s	30 s	335 nm, 379 nm	443 nm	0 : 1
<b>86</b>	30 s	30 s	328 nm, 389 nm	328 nm, 389 nm	1 : 1
<b>87</b>	50 s	60 s	313 nm, 385 nm	313 nm, 385 nm	0,63 : 1 <sup>c</sup>

Tableau 15. Propriétés principales des spectres d'absorption UV-Vis des azobenzènes (<sup>a</sup>)état photostationnaire obtenu après irradiation à 370 nm ; <sup>b</sup>) ratio mesuré par <sup>1</sup>H RMN ; <sup>c</sup>) ratio mesuré par <sup>19</sup>F RMN)

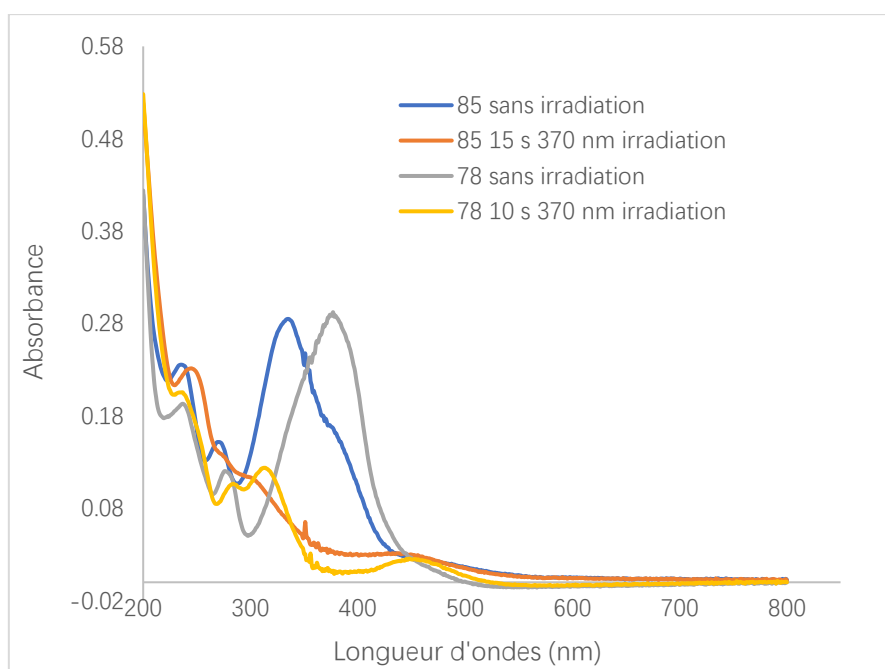
Le composé non substitué **83** possède une bande intense à 320 nm correspondant à la transition  $\pi-\pi^*$ , décalant très fortement le spectre vers la région UV (Figure 26). Après irradiation à 370 nm, une isomérisation de l'isomère *E* vers l'isomère *Z* a été observée et une nouvelle absorption maximale à 436 nm a été mesurée. Cette dernière est décalée vers la région UV par comparaison avec le spectre du composé **78**. L'introduction d'un groupement électrodonneur favorise le décalage vers le rouge du spectre d'absorption UV-Vis. De plus,

la présence d'une fonction méthyle, un groupement électrodonneur modéré, conduit également au décalage vers le rouge de la bande  $\pi-\pi^*$  de l'isomère *E* de l'azobenzène **84** pour atteindre 336 nm et de la bande  $n-\pi^*$  de l'isomère *Z* à 442 nm. Par comparaison avec le composé **78** possédant un groupement électrodonneur fort, le composé méthylé **84** possède une influence plus faible sur l'absorption UV-Vis de l'azobenzène.



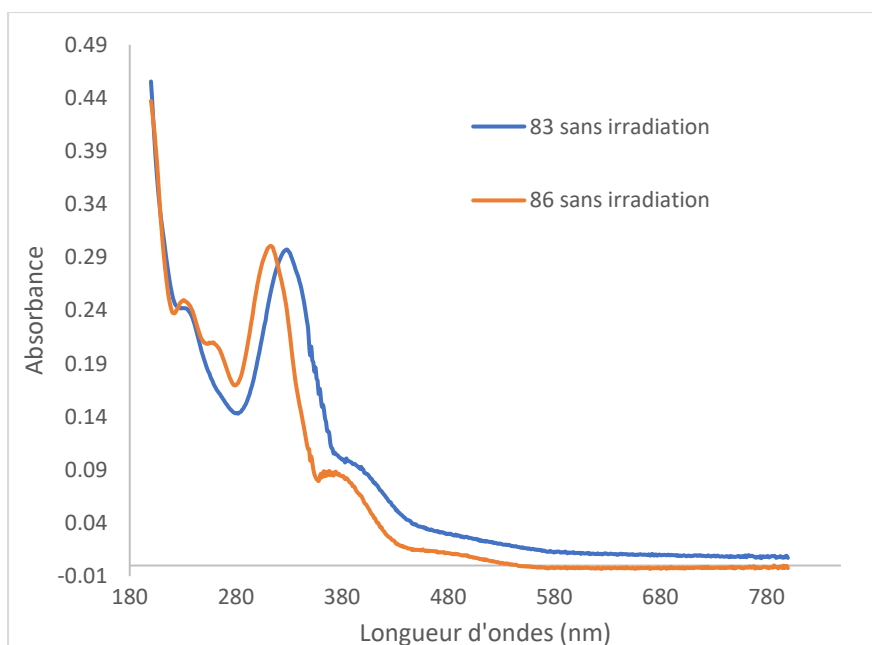
**Figure 26.** Comparaison de spectre d'absorption UV-Vis du composé **78** et **83**

Les situations sont plus compliquées pour les azobenzènes thio glycosylés substitués par les groupements électroattracteurs **85**, **86** et **87** (Figure 27). Le composé bromé **85**, montre deux bandes maximale  $\pi-\pi^*$  à 335 nm et à 379 nm sur le spectre d'absorption UV-Vis de l'isomère *E*. Après l'irradiation à 370 nm pendant 15 s, l'isomérisation vers la forme *Z* est totale et une bande  $n-\pi^*$  à 443 nm a été observée, décalant le spectre plus fortement vers le rouge par rapport à celui de composé **78** (méthoxylé). Comme avec le composé **78**, cette molécule ne peut pas retourner complètement à son état initial après l'irradiation à 433 nm pendant 30 s.



**Figure 27.** Comparaison de composé **78** (-OMe) et **85** (-Br)

L'introduction de groupements électroattracteurs, tels que  $\text{CO}_2\text{Me}$  et  $\text{CF}_3$  (**86** et **87**) contribue également à la formation de deux bandes  $\pi\text{-}\pi^*$  et la différence entre les deux bandes devient plus importante (Figure 28). Plus en détails, la première bande  $\pi\text{-}\pi^*$  de composé **86** décale le spectre un peu plus vers le rouge jusqu'à 328 nm par rapport au composé **83** (sans substituant). La bande  $n\text{-}\pi^*$  n'est pas observée après irradiation à 370 nm car l'isomérisation n'est pas complète et 50% de l'isomère *E* reste en solution.



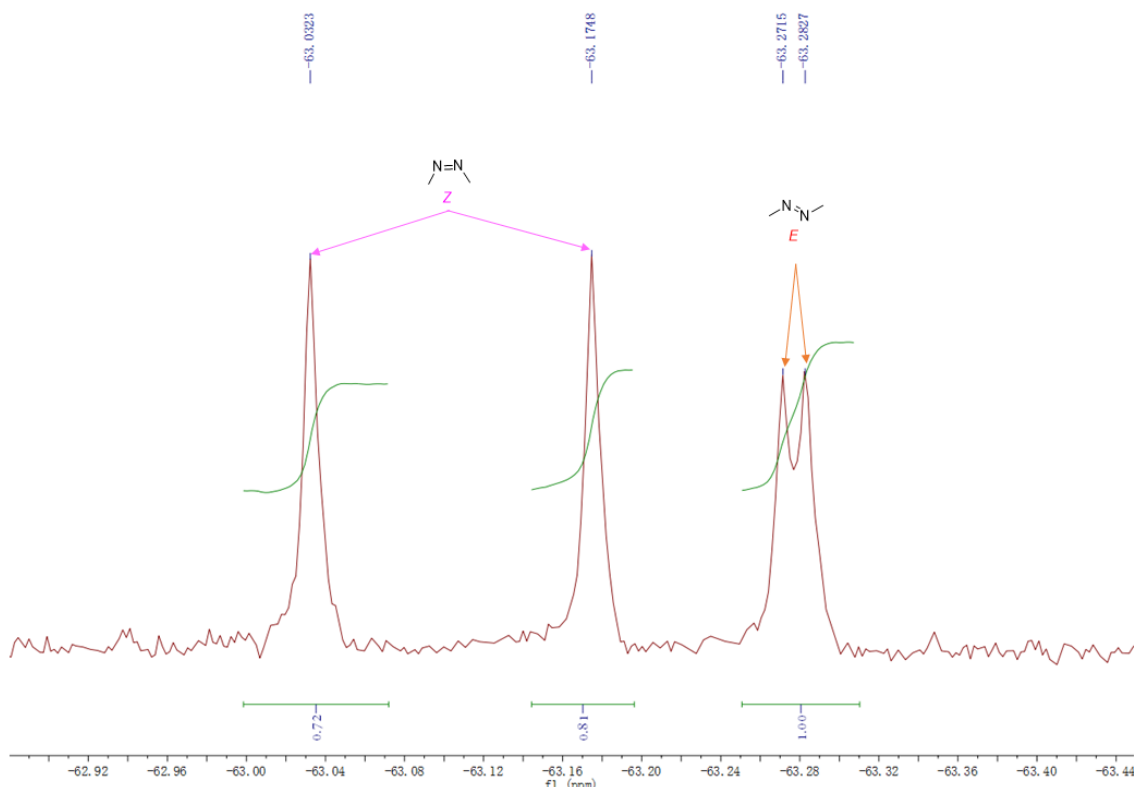
**Figure 28.** Comparaison de composé **83** et **86**

Un phénomène similaire a également été observé pour le composé **87**. Dans ce cas, la bande  $\pi\text{-}\pi^*$  se décale fortement vers la région UV pour atteindre 313 nm, longueur d'onde qui est émet plus dans le violet que celle du composé **86**. La bande  $n\text{-}\pi^*$  de son isomère *Z* n'est également pas observée car l'isomérisation est



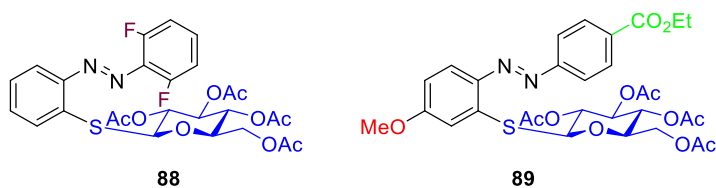
toujours partielle après l'irradiation à 370 nm pendant 50 s. Pour cet exemple, la ratio *E/Z* est difficile à confirmer à l'aide de RMN  $^1\text{H}$  car les pics des hydrogènes correspondant aux isomères *E* et *Z* sont difficile à interpréter. En possédant le groupement  $\text{CF}_3$ , ce composé peut également être caractérisé par le RMN  $^{19}\text{F}$  (Figure 29). Dans ce cas, le spectre de RMN  $^{19}\text{F}$  est beaucoup plus simple que celui de RMN  $^1\text{H}$ . Par ailleurs, le spectre de RMN  $^{19}\text{F}$  est également quantitatif et le ratio *E/Z* en l'état photostationnaire peut être facilement déterminé. Ainsi, le RMN  $^{19}\text{F}$  s'est avéré un outil efficace pour quantifier les isomères d'azobenzènes substitués par les groupements fluorés.

De plus, l'état photostationnaire des composé **86** et **87** n'a pas pu être restauré à l'état initial après l'irradiation à 433 nm.



**Figure 29.** RMN  $^{19}\text{F}$  (188MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ ) de l'état photostationnaire du composé **87** après irradiation à 370 nm

Deux azobenzènes non symétriques ont également été testés. Un premier composé **88** dont l'un des noyaux aromatiques est substitué par deux atomes de fluor et une seconde molécule **89** porteuse d'un système push-pull (Schéma 71). Leurs spectres d'absorption UV-Vis sont décrits ci-après (Tableau 16).

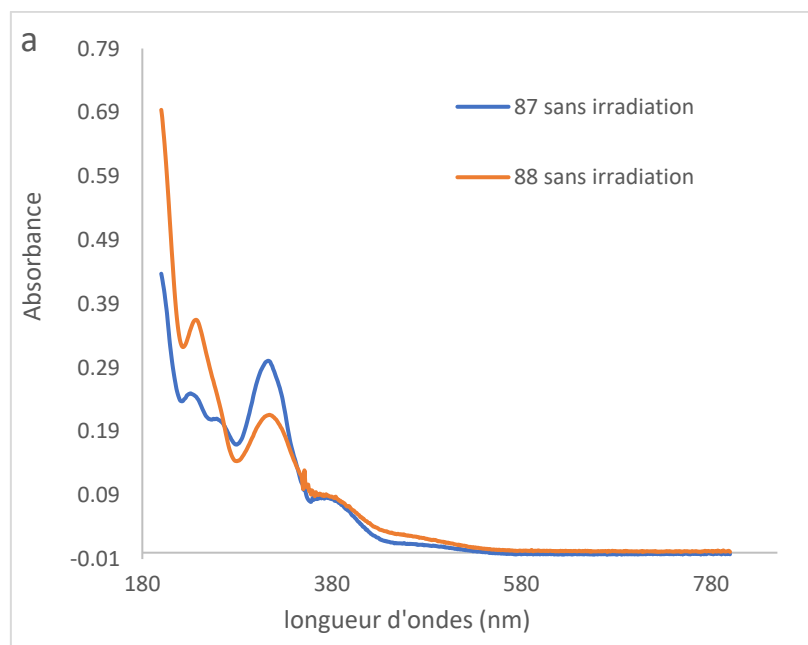


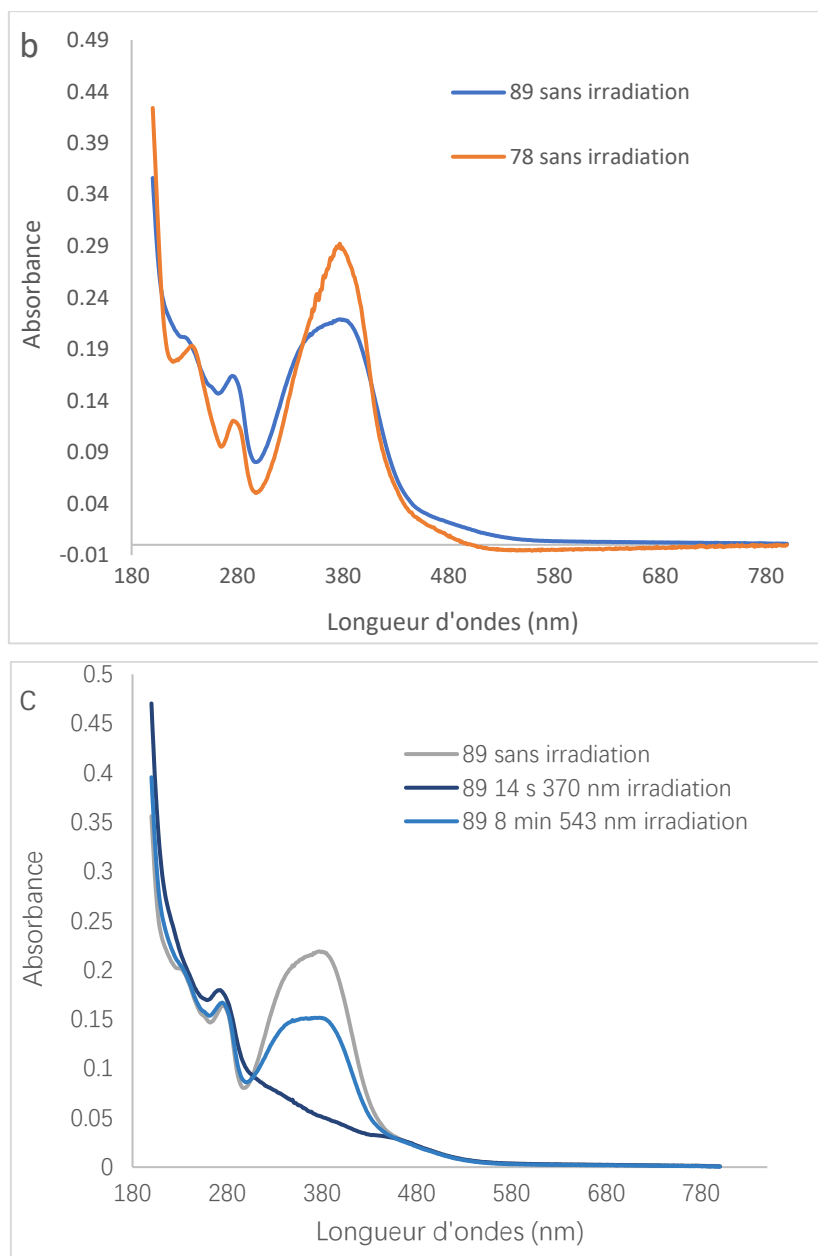
**Schéma 71.** Azobenzènes thioglycosylés avec des substituants non symétriques

Azobenzène	T <sub>irr</sub> (E→Z à 370 nm)	T <sub>irr</sub> (Z→E à 433 nm)	$\lambda_{\pi-\pi^*}$ (état initial)	$\lambda_{n-\pi^*}$ (état photostationnaire) <sup>a</sup>	Ratio E:Z de l'état photostationnaire <sup>b</sup>
<b>88</b>	15 s	30 s	313 nm, 385 nm	313 nm, 385 nm	0,33 : 1 (à partir de 1.45 : 1)
<b>89</b>	14 s	8 min	387 nm	Non observé	n.m

**Tableau 16.** Propriétés principales des spectres d'absorption UV-Vis des azobenzènes non symétriques. (<sup>a</sup>)état photostationnaire obtenu après irradiation à 370 nm ; <sup>b</sup>) ratio mesuré par <sup>19</sup>F RMN)

Le spectre d'absorption UV-Vis du composé **88** est similaire de celui du composé **87**. Les bandes  $\pi-\pi^*$  sont observées à 313 nm et à 385 nm (Figure 30). La proportion de l'isomère Z augmente jusqu'à 75% après irradiation à 370 nm pendant 15 s mais l'état initial, le mélange contenait déjà 59% d'isomère Z. Par conséquent, la bande  $n-\pi^*$  de l'isomère Z ne peut pas être clairement observée. Le retour complet à l'état initial a été obtenu après irradiation à 433 nm pendant 30 s. Les caractéristiques UV-Vis de l'isomère E du composé **89** ressemblent à celles du composé **78** (*para*-methoxylé). La bande  $\pi-\pi^*$  se situe à 387 nm et la bande  $n-\pi^*$  n'a pas été observées. Après irradiation à 370 nm pendant 14 s, l'état photostationnaire du composé **89** ne montre pas la bande  $n-\pi^*$ . Le composé ne peut pas retourner son état initial après l'irradiation à un rayonnement de 543 nm pendant plus de 8 min.





**Figure 30.** a) Comparaison entre **87** et **88** ; b) Comparaison entre les composés **78** et **89** ; c) Spectre du composé **89**

### 3.2.2.2 Propriétés physico-chimiques

Le temps de demi-vie de chaque azobenzène décrit dans cette partie a ensuite été évalué. (Tableau

17)

Azobenzène	Demi-vie (h)	Photo-stabilité
<b>78</b> (-OMe)	5	++
<b>83</b> (-H)	236	++
<b>84</b> (-CH <sub>3</sub> )	72	++
<b>85</b> (-Br)	28	++
<b>89</b> (-OMe, -COOEt)	15	++

**Tableau 17.** Demi-vie des azobenzène **83-85** et **89**.

Si l'on compare avec la demi-vie de 236 h observé pour l'azobenzène *ortho*-thioglycosylé sans

substituant **83**, l'introduction d'un groupement électro-donneur (par exemple, l'azobenzène *para*-méthoxylé **78**) diminue fortement le temps de demi-vie de l'azobenzène *ortho*-thioglycosylé. Une diminution similaire du temps de demi-vie a également été observée pour l'azobenzène méthylé **84** possédant un temps de demi-vie de 72 h tandis que celui de l'azobenzène bromé **85** est de 28 h. Ainsi, les effets électroniques des substituants influencent clairement le comportement des azobenzènes. De plus, la substitution d'une fonction méthoxy par une fonction ester augmente le temps de demi-vie du composé **89** par rapport au composé **78** en atteignant plus de 15 h. Du fait des isomérisations incomplètes obtenues pour les composés **86**, **87** et **88**, les temps de demi-vie n'ont pas été mesurés.

Même si la composition des états photostationnaires entre les isomères *E* : *Z* des composés **83**, **84** et **89** n'ont pas pu être obtenus, les azobenzènes se sont montrés photostables après plusieurs cycles d'irradiation. Par ailleurs, l'isomérisation partielle des composés **86** et **87** n'influence pas leur photo-stabilité et leur état photostationnaire ne peut pas retourner à leur état initial. Ceci n'est pas le cas du composé **88** qui peut retourner son état initial après une irradiation à 433 nm pendant 30 s.

### 3.2.3 Azobenzènes di-thioglycosylés

Nous avons également porté notre attention sur les propriétés photochromiques et physico-chimiques des azobenzènes di-thioglycosylés (Schéma 72).

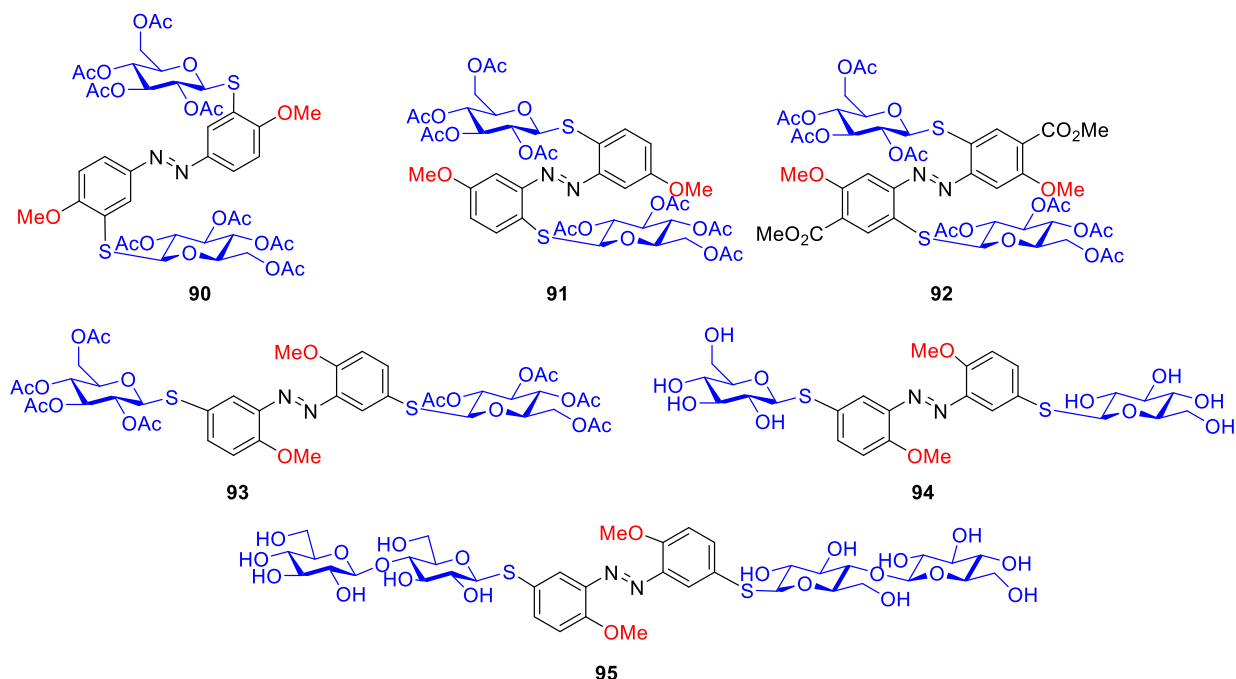


Schéma 72. Azobenzènes di-thioglycosylés

#### 3.2.3.1 Spectre UV-Vis

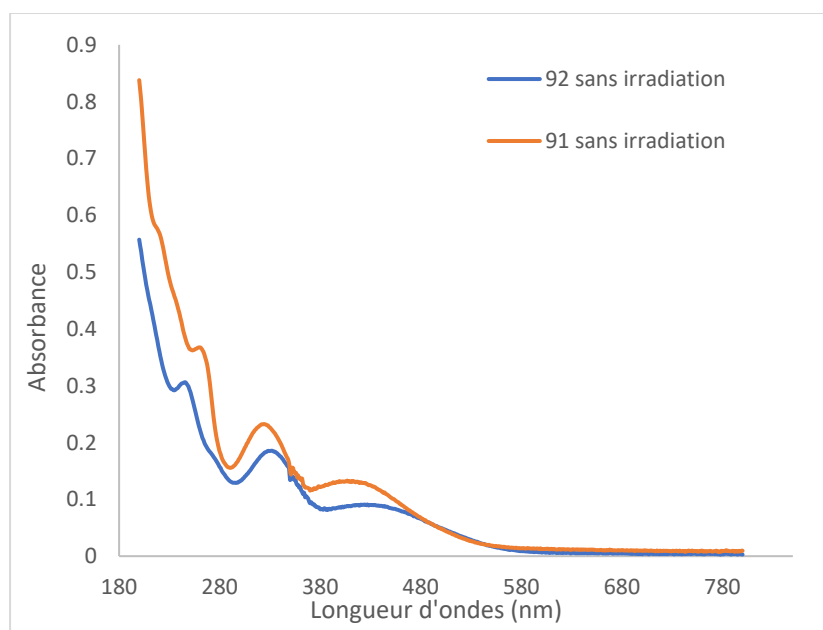
Les spectres d'absorption UV-Vis de l'état initial et de l'état photostationnaire de chaque azobenzène ont d'abord été mesurés (Tableau 18).

Azobenzène	$\lambda_{irr}$ et $T_{irr}$ ( $E \rightarrow Z$ )	$\lambda_{irr}$ et $T_{irr}$ ( $Z \rightarrow E$ )	$\lambda_{\pi-\pi^*}$ (état initial)	$\lambda_{n-\pi^*}$ (état photostationnaire) <sup>b</sup>	Ratio $E:Z$ de l'état photostationnaire <sup>c</sup>
<b>90</b>	370 nm, 5 s	433 nm, 15 s	371 nm	455 nm	0,04 : 1
<b>91</b>	370 nm, 30 s	433 nm, 15 s, 514 nm	325 nm, 416 nm	325 nm, 416 nm	n.m
<b>92</b>	370 nm, 2 min	433 nm, 2min	332 nm, 444 nm	332 nm, 444 nm	n.m
<b>93</b>	370 nm, 15 s	433 nm, 15 s	309 nm, 387 nm	309 nm, 387 nm	n.m
<b>94<sup>a</sup></b>	370 nm,	433 nm,	313 nm, 390 nm	313 nm, 390 nm	n.m

	30 s ; 2 min			
	543 nm,			
	13 min			
	370 nm,			
<b>95<sup>a</sup></b>	25 s ; 433 nm,	313 nm, 390 nm	313 nm, 390 nm	n.m
	543 nm, 2 min			
	6 min			

**Tableau 18.** Propriétés principales issues des spectres d'absorption UV-Vis des azobenzènes di-thioglycosylés. <sup>(a)</sup> analyses effectuées dans 10% DMSO (MeCN) ; <sup>b)</sup> état photostationnaire obtenu après irradiation à 370 nm ; <sup>c)</sup> ratio mesuré par <sup>1</sup>H RMN)

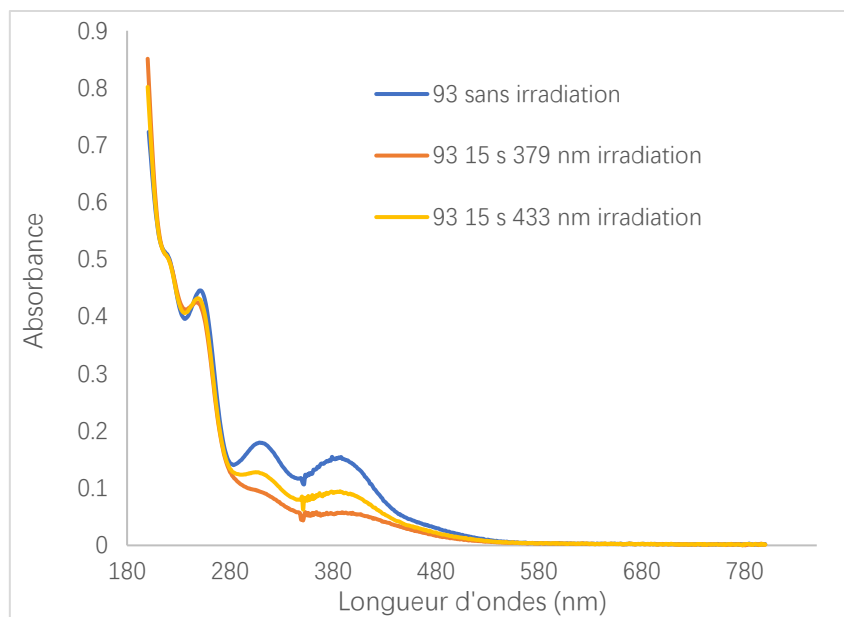
Lorsque nous comparons le composé **76** porteur d'un monosaccharide avec le composé **90** fonctionnalisé à deux reprises, nous observons que le spectre d'absorption UV-Vis du composé **90** n'évolue pas après irradiation en possédant une bande  $\pi$ - $\pi^*$  à 371 nm (Figure 31). En effet, après 5 s d'irradiation, 96% de l'isomère *Z* est présent à l'état photostationnaire avec une transition  $n$ - $\pi^*$  qui se décale vers le rouge pour atteindre 455 nm. Comme la plupart des azobenzènes thioglycosylés, le retour à l'état initial suite à une irradiation à 433 nm n'est que partiel. Le spectre d'absorption UV-Vis du composé **91** présente une transition  $\pi$ - $\pi^*$  à 325 nm et une transition  $n$ - $\pi^*$  à 416 nm. Après 30 s d'irradiation à 370 nm, aucune nouvelle bande d'absorption n'a été observée car l'isomérisation n'est pas complète. De plus, deux irradiations à des longueurs d'ondes de 433 nm et 514 nm ont été menées afin de revenir à l'état initial mais sans succès. L'introduction d'un groupement électroattracteur (CO<sub>2</sub>Et) induit un décalage vers le rouge du spectre d'absorption UV-Vis du composé **92** avec une transition  $\pi$ - $\pi^*$  à 332 nm et une transition  $n$ - $\pi^*$  à 444 nm. Cependant, l'isomérisation n'est toujours pas complète et l'isomère *Z* ne peut pas être à nouveau isomérisé en isomère *E* en utilisant un rayonnement à 433 nm.



**Figure 31.** Comparaison entre les composés **91** et **92**

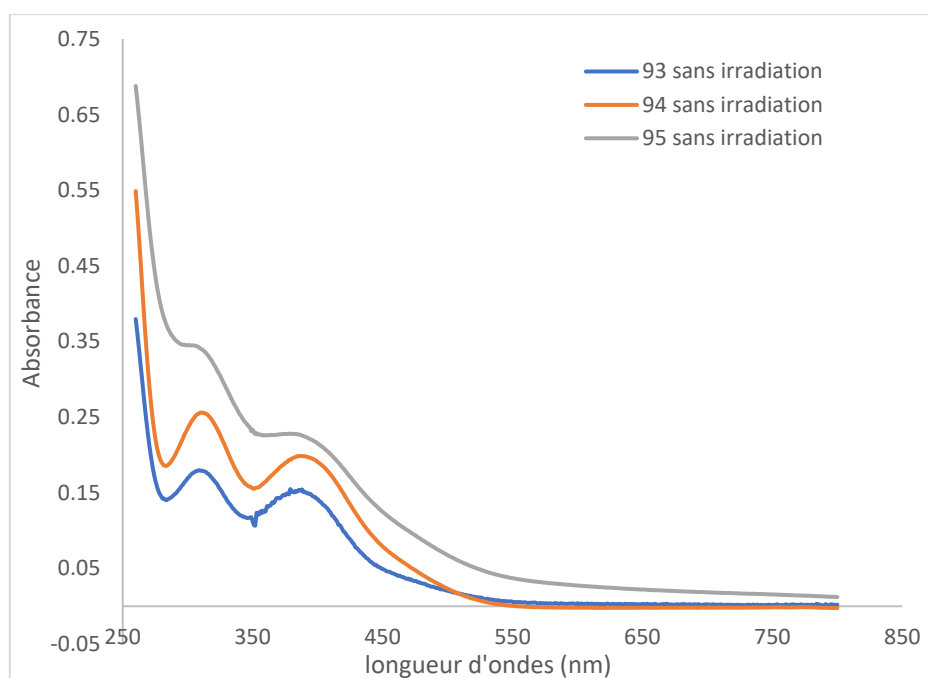
Deux bandes  $\pi$ - $\pi^*$  à 309 nm et à 387 nm ont été observées sur le spectre d'absorption UV-Vis

d'isomère *E* du composé **93** (Figure 32). Les deux bandes  $\pi\text{-}\pi^*$  sont conservées après irradiation à 370 nm pendant 15 s et la bande de  $n\text{-}\pi^*$  est difficile à mettre en évidence car l'isomérisation n'est pas complète. Le retour à l'état initial n'est que partiel en utilisant le rayonnement à 433 nm pendant 15 s.



**Figure 32.** Spectre d'absorption UV-Vis du composé **93**

L'emploi de thioglycosides protégés a peu d'effet sur le spectre d'absorption UV-Vis des isomères *E*. Les deux bandes  $\pi\text{-}\pi^*$  se décalent légèrement vers le rouge indépendamment de la nature des thioglycosides (Figure 33). Ainsi, les deux composés **94** et **95** possèdent les mêmes bandes  $\pi\text{-}\pi^*$  à 313 nm et à 390 nm. Remarquablement, les deux composés peuvent être isomérisés en utilisant un rayonnement émettant dans le rouge à 543 nm. Cependant, en comparaison avec les irradiations précédentes à 370 nm, l'isomérisation à 543 nm nécessite plus de temps. Malheureusement, les deux rayonnements utilisés ne peuvent pas produire l'isomérisation complète d'isomère *E* des deux composés. La présence d'un disaccharide (composé **95**) a un effet important sur l'isomérisation en augmentant la proportion d'isomère *E* lors de l'état photostationnaire. Les effets stériques du thioglycoside sont certainement à l'origine de ce phénomène. Comme avec les autres azobenzènes *ortho*-méthoxylés, le retour à l'état initial est toujours partiel après l'irradiation à 433 nm.



**Figure 33.** Comparaison des 3 azobenzènes *ortho*-méthoxylés **93**, **94** et **95**

### 3.2.3.2 Propriétés physico-chimiques

Il est important de noter que la demi-vie des azobenzènes décrits dans cette partie ne peut pas être précisée car l'état photostationnaire de la plupart des azobenzènes ne contient pas 100% d'isomère Z après l'irradiation à 370 nm. La solubilité de deux azobenzènes fonctionnalisés par les thioglycosides non protégés a également été étudiée. (Tableau 19). Particulièrement, la demi-vie et la photo-stabilité du composé **95** n'a pas pu être mesurée car la précipitation progressive a été observée lors de la mesure.

Azobenzène	Demi-vie	Solubilité (eau, pH 7, 25 °C)	Photo-stabilité
<b>76</b>	10 h	/	++
<b>90</b>	22 h	/	++
<b>91</b>	>56 h	/	++
<b>92</b>	>12 h	/	++
<b>93</b>	>35 h	/	++
<b>94</b>	>54 h	21,4 g/L	++
<b>95</b>	n.m	322 g/L	n.m

**Tableau 19.** Propriété physico-chimique des azobenzènes di-thioglycosylés

Par rapport à l'azobenzène monosaccharidique **76**, l'ajout d'un second saccharide augmente la demi-vie de l'azobenzène **90** pour atteindre 22 h. Les demi-vies de deux azobenzènes *mé*ta-méthoxylés sont difficiles à déterminer car l'isomérisation n'est pas complète. Selon les données obtenues, la demi-vie du composé **91** est de plus de 56,2 h et la demi-vie du composé **92** est de plus de 12 h. En suivant la même méthode, la demi-vie des deux azobenzènes *ortho*-méthoxylés **93** et **94** ne peut être que seulement estimée. Ainsi, la demi-vie de



composé **93** est de plus 35 h tandis que la demi-vie de composé **94** est plus de 54 h.

De plus, bien que le mélange obtenu (sauf pour le composé **90**) après irradiation à 370 nm ne peut pas retourner complètement à leur état initial en utilisant le rayonnement à 433 nm, les composés montrent bien une bonne photo-stabilité après plusieurs cycles d'irradiation.

La solubilité des azobenzènes *ortho*-méthoxylés fonctionnalisés par deux thioglucides non protégés **94** et **95** a été testée dans l'eau à pH = 7 et à 25°C. La solubilité de composé **94** est 21.4 g/L tandis que la solubilité de composé **104** atteint 322 g/L soit un résultat meilleur d'un rapport 1000 vis-à-vis du composé **77**.

## 4 Conclusion et perspectives

Les azobenzènes *para*-méthoxylés ont été choisis comme substrats de référence afin d'étudier les effets de la position et de la nature des thiosaccharides sur leurs propriétés photochromiques. Généralement, les azobenzènes peuvent être irradiés à 370 nm afin de transformer leur isomère *E* vers leur isomère *Z*. Cet isomère *Z* peut lui-même être irradié à 433 nm mais son isomérisation est souvent partielle. Cependant, lorsque les azobenzènes sont fonctionnalisés par un disaccharide, leurs retours à l'isomère *E* sont souvent efficaces si un rayonnement émettant vers le rouge à 534 nm est utilisé. Les substrats placés en *ortho* de la liaison -N=N- des azobenzènes influencent plus fortement les longueurs d'ondes de l'absorption UV-Vis et les demi-vies des produits. Plus en détail, l'introduction d'un thioglycoside génère un décalage vers le rouge de la bande  $\pi$ - $\pi^*$ , nous permettant l'utilisation de rayonnements moins destructifs. Malheureusement, cette position sur le noyau aromatique et cet encombrement diminuent le temps de demi-vie des azobenzènes. Un autre résultat intéressant a été mis en évidence avec les thioglycosides non-protégés qui ralentissent l'isomérisation et prolongent les temps de demi-vies de l'isomère *Z*. Enfin, l'utilisation de thioglucosides encombrés augment également le temps de demi-vie des molécules. Ainsi, le composé **82** possède un temps de demi-vie de 25,5 h, ce qui reste le résultat le plus élevé parmi les azobenzènes *para*-méthoxylés et mono-thioglycosylés. Nous avons également remarqué que la nature d'oligosides n'a que peu d'influence sur les spectres d'absorption UV-Vis des produits. Par ailleurs, deux bandes  $\pi$ - $\pi^*$  ont été observées pour les azobenzènes thioglycosylés et substitués par des groupements électro-attracteurs, indiquant la présence potentielle d'interactions intermoléculaires. Pour ces composés, l'utilisation d'un rayonnement à 370 nm est moins efficace et les temps d'irradiation sont très longs.

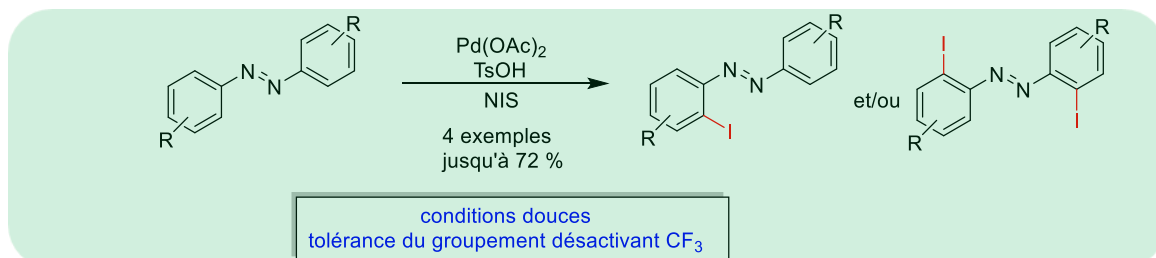
Enfin, l'introduction de disaccharides a un effet extrêmement bénéfique sur la solubilité de nos azobenzènes dans l'eau. Notre meilleur résultat a été obtenu pour le composé **95** substitués par deux disaccharides qui possède une solubilité de 322 g/L. Sachant que la solubilité de notre produit initial n'était que de 5,6 mg/L, un énorme palier a été franchi. L'utilisation de thioglycosides est donc une solution très intéressante pour rendre nos azobenzènes solubles en milieu physiologique.

# CHAPITRE IV

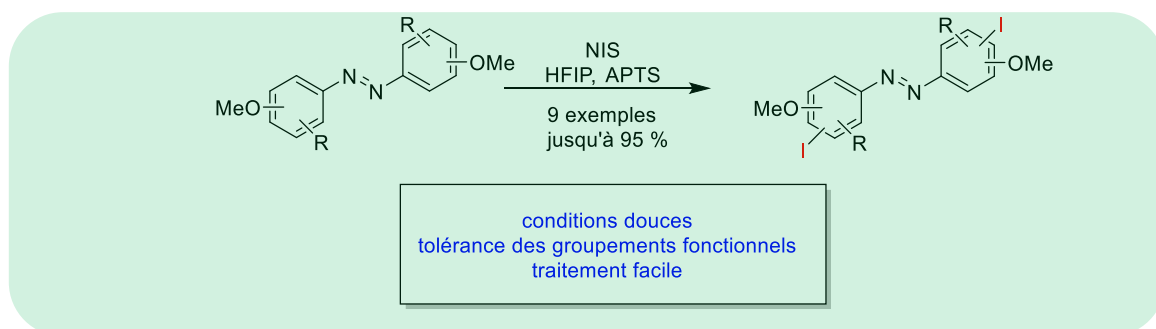
# CONCLUSION

Au cours de cette thèse, nous avons mené une étude méthodologique concernant la synthèse d'azobenzènes iodés en utilisant deux stratégies différentes : l'activation de simple liaison C-H et la substitution électrophile aromatique.

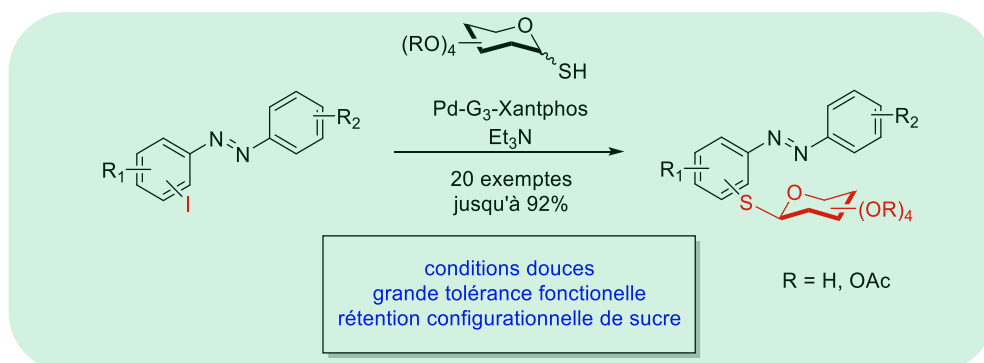
Les réactions métallo-catalysées ont donné des produits fonctionnalisés en *ortho* de la double liaison -N=N- en suivant un mécanisme réactionnel classique d'activation C-H grâce à l'utilisation de ce groupe directeur azoté. Un azobenzène porteur d'un groupement désactivant a ainsi été iodé pour la première fois.



La régiosélectivité de la réaction a ensuite été modifiée en présence de groupements -OMe. Il a été prouvé que la réaction était contrôlée par la substitution électrophile aromatique et que l'utilisation des métaux de transition était alors inutile. Notre travail a notamment permis de développer une nouvelle méthode de synthèse d'iodation d'azobenzènes méthoxylés en suivant des conditions douces et simples grâce à l'action conjointe de l'APTS et de l'HFIP. Un panel d'azobenzènes di-iodés a été isolé avec de bons rendements.

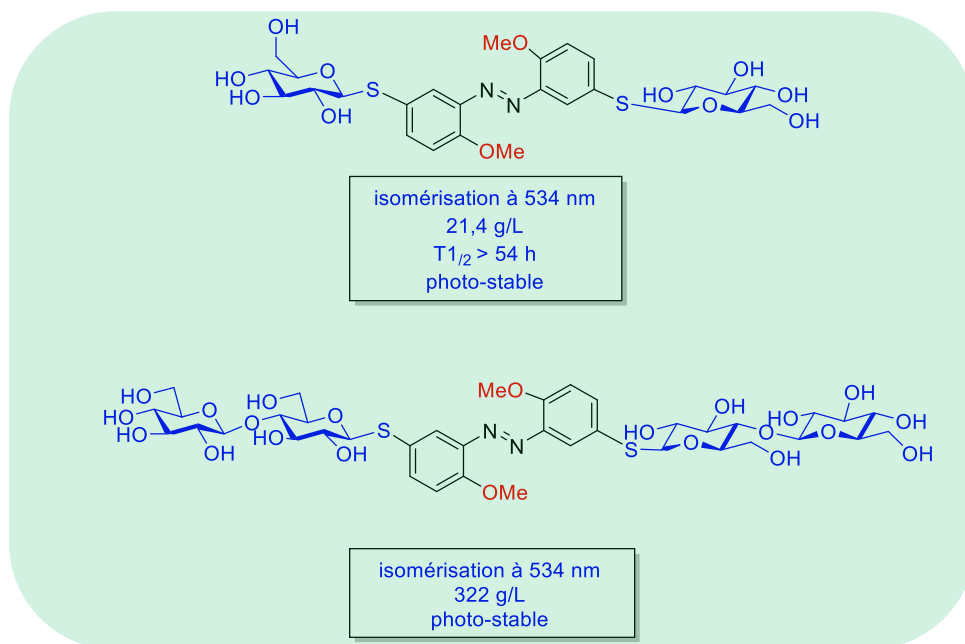


Tous ces produits iodés ont ensuite été fonctionnalisés par des thioglycosides grâce à un couplage métallo-catalysé de Buchwald-Hartwig-Migita. Ce travail, principalement mené par nos collaborateurs de l'équipe de S. Messaoudi, a permis de synthétiser une large bibliothèque d'azobenzènes poly- et diversement-thioglycosylés avec des rendements allant de bons à excellents. Il est important de noter que mêmes les thioglycosides non protégés sont compatibles avec ces conditions réactionnelles et que la rétention conformationnelle des oligosides est complète.



Enfin, nous avons mesuré les propriétés photochromiques et physico-chimiques de nos azobenzènes thioglycosylés. Les effets de la nature, du nombre et de la position des différents substituants et des thioglycosides sur les noyaux aromatiques des azobenzènes ont été évalués. Le spectre d'absorption UV-visible, l'état photostationnaire, le temps de demi-vie, la photostabilité et la solubilité furent les paramètres clés des produits que nous avons étudiés.

Certains azobenzènes di-fonctionnalisés par des thiosaccharides non protégés possèdent des propriétés intéressantes qui sont décrites sur le schéma ci-dessous :



Les travaux devront être poursuivis en augmentant la diversité structurale des azobenzènes grâce à d'autres méthodes de fonctionnalisation innovantes et en concevant de nouvelles structures de pinces à la fois potentiellement fixables sur GLIC et possédant des propriétés physicochimiques particulières.

# PARTIE EXPÉRIMENTAL<sup>171</sup>

---

<sup>171</sup> Cette partie est disponible sur demande, veuillez contacter M. Nicolas Gigant ([nicolas.gigant@universite-paris-saclay.fr](mailto:nicolas.gigant@universite-paris-saclay.fr))

**Titre :** Synthèse et fonctionnalisation d'azobenzènes : vers le développement de sondes photocommutables

**Mots clés :** azobenzène, isomérisation, halogénéation, thioglycoside

**Résumé :** Depuis quelques années, les azo-arènes jouissent d'un nouvel intérêt en raison de leur photochromisme. Isomérisables sous l'action de la lumière, ils sont à l'origine d'avancées scientifiques majeures en chimie biologique, en pharmacologie et en sciences des matériaux. Pour notre part, en lien avec notre projet basé sur l'étude des réarrangements allostériques des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine, nous avons proposé d'induire les transitions allostériques de protéines analogues par l'intermédiaire de pinces moléculaires photo-isomérisables de type azobenzène.

Au cours de notre travail, nous avons mené une étude méthodologique portant sur la synthèse d'azobenzènes iodés en utilisant deux stratégies différentes : l'activation de simple liaison C-H et la substitution électrophile aromatique dans un solvant fluoré. Les stratégies développées se sont avérées donner des régiosélectivités complémentaires selon les substrats mis en jeu et nous ont permis la iodation d'azobenzènes en suivant des conditions opératoires douces et simples. Une bonne tolérance fonctionnelle a été observée et les produits ont généralement été

isolés avec de bons rendements.

Afin d'améliorer leur solubilité en milieu aqueux, les produits iodés ont ensuite été fonctionnalisés par des thioglycosides grâce à un couplage métallo-catalysé de Buchwald-Hartwig-Migita. Ce travail, mené en collaboration avec l'équipe de S. Messaoudi, nous a permis de synthétiser une large bibliothèque d'azo poly- et diversement- thioglycosidés avec des rendements allant de bons à excellents.

En parallèle, les propriétés photochromiques et physico-chimiques de nos azobenzènes thioglycosylés ont été étudiées. Les effets de la nature, du nombre et de la position des différents substituants et des thioglycosides sur les noyaux aromatiques des azobenzènes ont été évalués grâce à des mesures de spectre d'absorption UV-visible, de l'état photostationnaire, de temps de demi-vie, de photostabilité et de solubilité en milieu aqueux. Il est apparu que les azobenzènes di-fonctionnalisés par des thioglycosides non protégés possédaient les meilleurs propriétés.

**Title :** Synthesis and functionalization of azobenzenes: towards the development of photo-switchable probes

**Keywords :** azobenzene, isomerization, halogenation, thioglycoside

**Abstract :** In recent years, the azo compounds aroused a great interest due to their photochromism. Isomerizable under the action of light, azo-compounds have inspired many scientific advances in chemical biological, pharmacology and materials science. As part of our continuous research on nAChR allosteric rearrangement, we proposed to induce allosteric transitions of analogous proteins via photo-isomerizable molecular clamps based on azobenzenes.

During our work, we carried out a methodology study relative to the synthesis of iodated azobenzenes by using two strategies: the activation of simple C-H bonds and the electrophilic aromatic substitution in a fluorinated solvent. These strategies gave us complementary regioselectivities depending on the azo involved. A range of iodated substrates were isolated under mild and simple conditions, and various functional groups were well tolerated in good yields.

In order to increase the azo solubility in aqueous media, thioglycosides were introduced on our iodobenzenes via a Buchwald-Hartwig-Migita cross-coupling. This work was carried out with our collaborator S. Messaoudi and allows us to isolate a wide range of poly- and various-thioglycosylated azos in good to excellent yields. Photochromic and physicochemical properties of our thioglycosylated azobenzenes were finally evaluated. The effects of the nature, the number and the position of substituents and thioglycosides on the aromatic rings of azobenzenes have been studied thank to UV-visible absorption spectrum, photostationary state, half-life time, photostability and solubility in aqueous media. It appears that di-unprotected thioglycosylated azobenzenes have the best properties.