



OPTIMISATION EN SYNTHÈSE PARALLÈLE SUR PHASE SOLIDE DE QUINAZOLINEDIONES INHIBITRICES DE S-FARNESYLTRANSFERASE ♦

Nathalie Kucharczyk², André Tizot¹, Goulven Merer²,
Alain Dhainaut², Gordon C. Tucker²,
Jean-Luc Fauchère[†], Solo Goldstein¹

¹*Institut de Recherches Servier, 11 rue des Moulineaux,
92150 Suresnes, France*

²*Institut de Recherches Servier, 125 chemin de Ronde,
78290 Croissy-Sur-Seine, France*

Abstract: The discovery of anti-cancer drugs based on the post translational modification of Ras protein has been thoroughly studied in the last years. The aim of the present study is to optimize the solid phase synthesis of quinazolinediones, compounds that present an inhibitory activity of the S-farnesyltransferase (FTase). Two strategies for obtaining a new FTase inhibitor, S35028, are presented.

Keywords: *quinazolinediones, FTase inhibitor, solid phase synthesis, anti-cancer drugs*

INTRODUCTION

La découverte de médicaments anticancéreux basée sur la modification post-traductionnelle de la protéine Ras a fait l'objet de nombreuses recherches ces dernières

♦ Paper presented at **COFrRoCA 2006: Quatrième Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée**, 28 June – 2 July, Clermont-Ferrand, France

années. Un effort particulier a été mené pour identifier des inhibiteurs ayant la S-farnésyltransférase (FTase) pour cible principale [1]. Certains inhibiteurs de FTase, peptidiques ou non-peptidiques, décrits dans la littérature, se sont révélés efficaces en bloquant la fonction de la protéine Ras et l'activité tumorale dans des modèles de culture cellulaire ou de tumeur chez l'animal ; plusieurs de ces candidats médicaments sont en phase de développement clinique [2].

STRATEGIE

Le criblage de collections de produits des laboratoires Servier, suivi d'une rapide optimisation nous a permis d'identifier le S 35028, un nouvel inhibiteur de FTase de puissance modérée : $IC_{50} = 22 \mu M$.

Le but de cette étude a été d'optimiser l'activité inhibitrice de cette touche par une approche de synthèse parallèle mettant en œuvre la chimie sur phase solide. Dans ce papier, nous présentons les deux stratégies qui ont conduit à l'obtention du S 37987, un puissant inhibiteur de FTase.

OPTIMISATION DU GROUPEMENT ARYLE

Une librairie de 34 analogues (Figure 1) a été préparée en remplaçant le noyau phényle du S 35028 par différents substituants alkyles ou aryles. Seuls les dérivés aryles ont montré une activité intéressante sur FTase. Les meilleurs composés sont présentés dans le tableau 1.

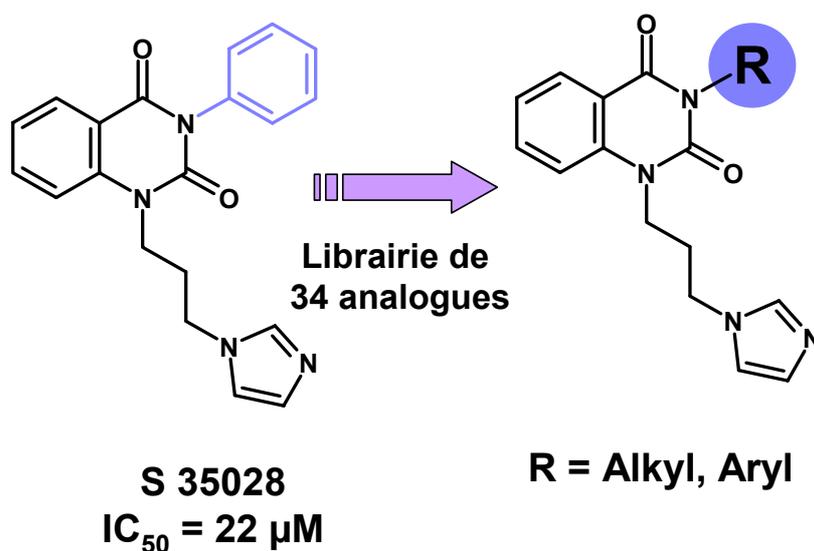
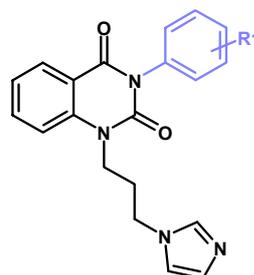


Figure 1. Préparation d'analogues du S 35028

Tableau 1. Puissance inhibitrice sur FTase purifiée de rat (SPA assay [3])

Composé	R ₁	IC ₅₀ (μM)
S 35913	2-OMe	8,1
S 35880	3-Br	2,7
S 35881	4-NH-Boc	1,5



Chimie : Synthèse sur phase solide en parallèle sur résine carbamate

Comme décrit par Martinez et al. [4], les quinazolinédiones simples peuvent être préparées par chimie sur phase solide à partir d'un acide anthranilique ancré via l'azote sur une résine carbamate. Une réaction de couplage permet d'introduire les différents substituants désirés et une étape unique de cyclisation/clivage, catalysée par une base, permet d'accéder aux composés attendus.

Cette stratégie a été mise en œuvre avec succès, en utilisant une résine de Merrifield para-nitro phenyl carbonate commerciale, pour préparer une librairie de 34 analogues du S 35028 (Schéma 1).

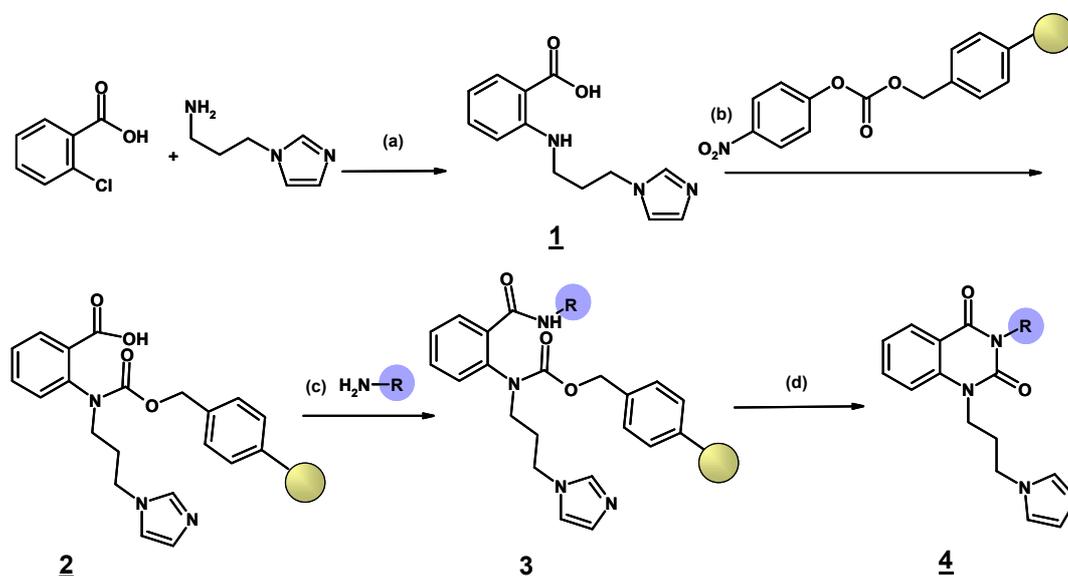


Schéma 1.

Conditions réactionnelles : (a) K_2CO_3 , CuBr, DMF, micro-ondes, 1h; (b) DIEA, HOAt, DMF, RT; (c) Répartition de la résine sur le synthétiseur Zymark puis RNH_2 , HATU, DIEA, DMF; (d) MeOH, NEt_3 , vortex, 70 °C

Les étapes de synthèse en parallèle ont été réalisées sur un robot de synthèse Zymark [5] (Figure 2), initialement dédié à la synthèse combinatoire de peptides selon la technique mélange et répartition (« mix-and-divide ») [6].

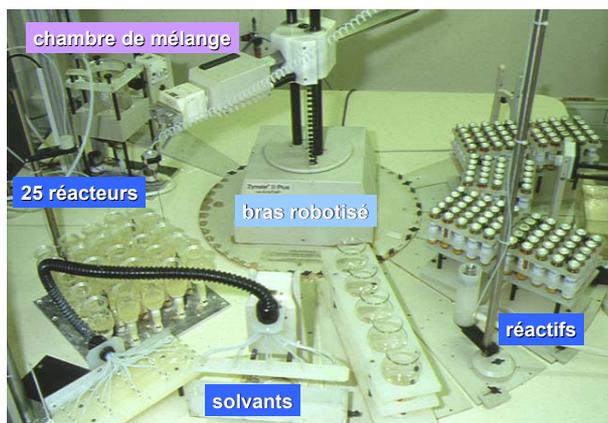


Figure 2. Robot de synthèse Zymark

OPTIMISATION PAR VARIATION CROISEE DES GROUPEMENTS ARYLE ET IMIDAZOLE

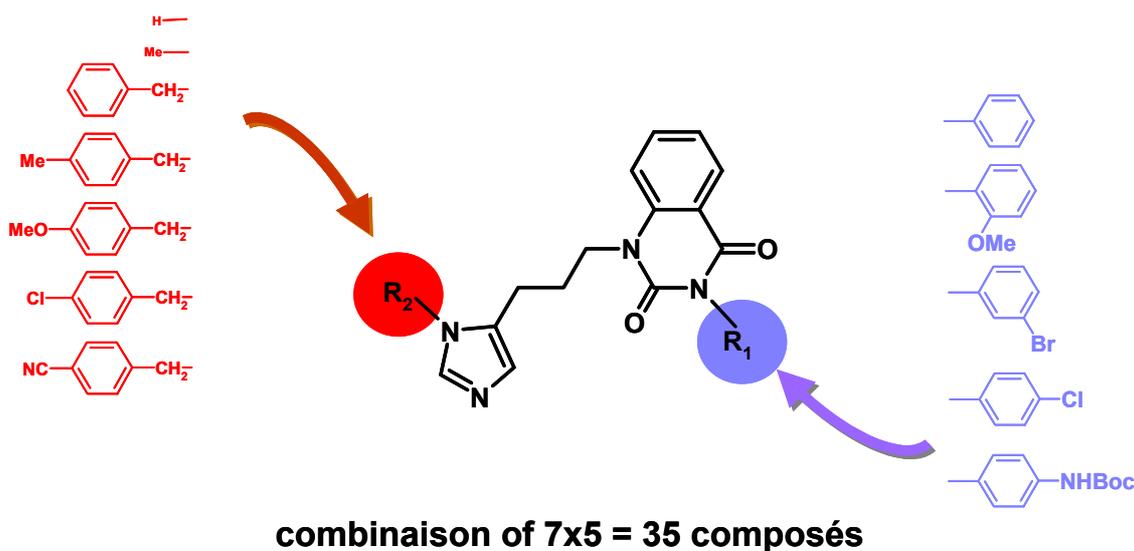


Figure 3. Optimisation par variation croisée des groupements aryle et imidazole

Chimie : Synthèse sur phase solide en parallèle sur résine chloro-trityle (schéma 2)

Le 3-(imidazolyl-4-yl)-propanoate de méthyle a été attaché avec succès sur une résine o-chloro-trityle en utilisant les conditions décrite par Barlos et al [7]. La résine 5 a été aisément convertie en 5 étapes en résine 10, qui a été ensuite couplée et cyclisée en présence de carbonyldiimidazole avec cinq anilines différentes pour obtenir cinq quinazolidinediones 11 supportées sur résine.

A l'exception du cas où R_1 est NHBoc, les résines 11 ont été clivées en présence d'acide trifluoroacétique dilué pour obtenir quatre composés 12. Ces mêmes résines 11 ont été

alternativement alkylées par cinq halogénures de benzyle ou l'iodure de méthyle, les imidazoliums 13 supportés sur résine ont finalement été clivés en milieu acide dilué pour obtenir les benzylimidazoles 14.

Lorsque R₁ est NHBoc, l'acide acétique a été utilisé à la place de l'acide trifluoroacétique pour libérer le composé 12 correspondant, et le clivage des imidazoliums a été réalisé par simple chauffage de la résine dans le méthanol.

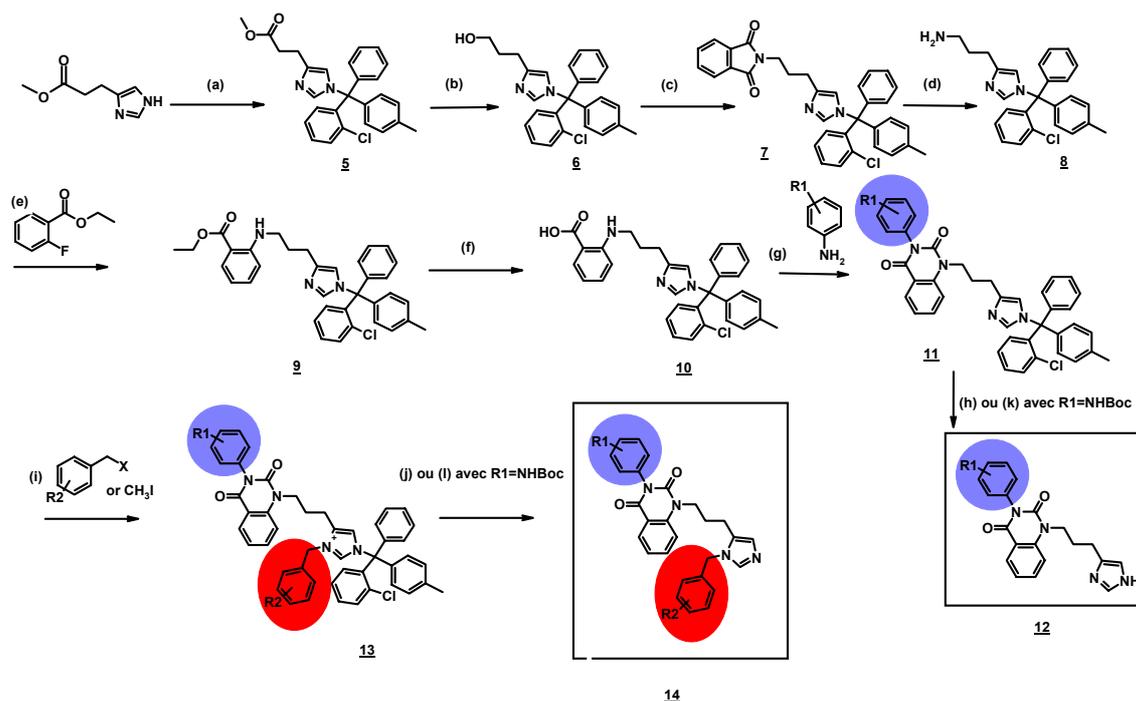


Schéma 2.

Conditions réactionnelles : (a) résine *o*-chlorotriptyl (polystyrène 1%DVB), DIEA, DCM; (b) LiBH₄, THF, 65°C, 24h; (c) phthalimide, PPh₃, DIAD, THF-DCM, 12h; (d) 2HN-NH₂, H₂O, MeOH, 12h; (e) K₂CO₃, NMP, micro-ondes, 20 min; (f) TMSOK, THF, 12h; (g) CDI, toluène, 100°C, 6h; (h) TFA, DCM, Et₃SiH, 1h; (i) DIEA, DMF (opt. KI avec X = Cl), 24h; (j) TFA, DCM, Et₃SiH, 1h; (k) ACOH, 50°C; (l) MeOH, reflux

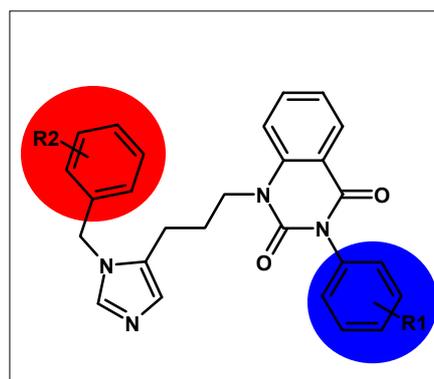
* pour analyse, des mini-clivages des résines 5 à 11 ont été réalisés selon les conditions (h)

RESULTATS

L'effet synergique optimal des substituants R₁ du groupement aryle et du substituant R₂ de l'imidazole est présenté dans le tableau 2.

Tableau 2. Activité sur S-farnésyltransférase purifiée de rat IC₅₀ (nM)

R1 \ R2	H	4-CN
H	S 36266 2 400	29
3-Br	69	S 37987 3



CONCLUSION

En partant du S 35028, un faible inhibiteur de S-farnésyltransférase (IC₅₀ = 22 μM), nous avons pu améliorer l'activité inhibitrice en modifiant le groupement aryle de cette molécule et en introduisant un substituant benzyle sur noyau imidazole. La combinaison du 4-cyanobenzyle et du 3-bromophényle réalisée avec le S 37987 s'est avérée optimale pour une puissante inhibition de la S-farnésyltransférase (IC₅₀ = 3nM),

REFERENCES

- Hill, B.T., Perrin D., Kruczynski, A.: Inhibition of Ras-targeted prenylation: protein farnesyl transferase inhibitors revisited. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2000**, 33, 7-23
- Gibbs, J.B.: Anticancer drug targets: growth factors and growth factor signaling. *J. Clin. Invest.* **2000**, 105, 9-13
- Le Diguarher, T., Ortuno, J.C., Dorey, G., Shanks, D., Guilbaud, N., Pierré, A., Fauchère, J.L., Hickman, J.A., Tucker, G.C., Casara, P.J.: Parallel liquid synthesis of N,N'-disubstituted 3-amino azepin-2-ones as potent and specific farnesyl transferase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 3193-3204
- Gouilleux, L., Fehrenz, J.A., Winternitz, F., Martinez, J.: Solid phase of chiral 3-substituted quinazoline-2,4-diones. *Tet. Lett.*, **1996**, 37 (39), 7031-7034
- Fauchère, J.L., Boutin, J.A.: Second-generation robotic synthesizer for peptide, pseudopeptide and non-peptide libraries. *Proceedings of the International Symposium on Automation and Robotics, Zymark* **1995**, 197-210
- Henlin, J.M., Boutin, J.A., Kucharczyk, N., Desmet-Beaufort, C., Loynel, A., Bertrand, M., Genton, A., Tucker, G.C., Atassi, G., Fauchère, J.L.: From peptide libraries to optimized nonpeptide ligands in the search for S-farnesyltransferase inhibitors. *J. Peptide Res.* **2001**, 57, 85-96
- Eleftheriou, S., Panagopoulos, A., Stathopoulos, S., Barlos, K.: Attachment of histidine, histamine and urocanic acid to resins of the trityl-type. *Tet. Lett.* **1999**, 40, 2825-2828.