

UNIVERSITE DE NANTES
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

**SYNTHESE ET EVALUATION PHARMACOLOGIQUE
DE COMPOSES INDOLIQUES ET PYRIDOPYRAZINIQUES
A VISEE ANTITUMORALE**

THESE DE DOCTORAT

Ecole doctorale : CHIMIE BIOLOGIQUE

Mention : Sciences de la Vie et de la Santé

Discipline : Pharmacie

Spécialité : Chimie Thérapeutique

Présentée et soutenue à huis-clos par

Maud ANTOINE

le 18 octobre 2005, devant le jury ci-dessous

Rapporteurs :

M. JARRY Christian, Professeur, Université de Bordeaux2
M. URIAC Philippe, Professeur, Université de Rennes 1

Examineurs :

M. CZECH Michael, Directeur de Recherche, Zentaris, Francfort
M. GUINGANT André, Directeur de Recherche CNRS, Université de Nantes

Directeur de thèse :

M. LE BAUT Guillaume, Professeur Emérite, Université de Nantes

Co-directeur de thèse

M. MARCHAND Pascal, MCU, Université de Nantes

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES.....	3
INTRODUCTION GENERALE.....	6
A. EPIDEMIOLOGIE DES CANCERS.....	6
1. Incidence des cancers en France en 2000	6
2. Mortalité des cancers en France en 2000.....	6
3. Conclusion	8
B. CANCER : QUELQUES GENERALITES.....	8
1. Définition	8
2. Causes des cancers	9
3. Types de cancer.....	9
4. Progression d'un cancer.....	9
5. Angiogenèse	10
6. Propriétés des cellules cancéreuses	10
7. Gènes impliqués dans la carcinogenèse : oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs	12
C. THERAPIE DES CANCERS.....	13
1. Chirurgie.....	13
2. Radiothérapie et curiethérapie.....	14
3. Chimiothérapie	14
4. Hormonothérapie.....	15
5. Immunothérapie	16
6. Thérapie génique	16
D. MEDICAMENTS ANTITUMORAUX.....	17
1. Médicaments induisant des modifications covalentes de l'ADN.....	17
2. Médicaments induisant ou stabilisant des coupures d'ADN.....	22
3. Antimétabolites.....	23
4. Principes actifs interférant avec la tubuline et les microtubules : poisons du fuseau ..26	
PARTIE I SYNTHÈSE DE COMPOSÉS INDOLIQUES INHIBITEURS DE LA POLYMERISATION DE LA TUBULINE.....	28
A. LE CYTOSQUELETTE ET SES CONSTITUANTS	32
1. Les microfilaments ou filaments d'actine ²	33
2. Les filaments intermédiaires ²	34
3. Les microtubules ²⁶	36
B. MICROTUBULES ET MITOSE.....	40
1. Mitose et fuseau mitotique.....	40
2. Rôle des centrosomes dans l'assemblage du fuseau mitotique.....	43
3. Régulation de la dynamique des microtubules lors de la division cellulaire ²⁶⁻³³	45
4. Organisation spatiale des microtubules et formation du fuseau mitotique ²⁶	48
C. POISONS DU FUSEAU ²⁶⁻³³	49
1. Composés qui déstabilisent les microtubules par action sur le site de la colchicine ^{26,27,29}	49
2. Composés qui déstabilisent les microtubules par action sur le site des vinca-alcaloïdes ²⁶⁻³⁰	52
3. Composés qui stabilisent les microtubules par action sur le site du paclitaxel ²⁶⁻³³	56
4. Autres agents antimitotiques	59
D. PHARMACOMODULATION ENVISAGÉE.....	61
SERIE A	64
PARTIE THÉORIQUE	66
PARTIE EXPÉRIMENTALE	78
SERIE B	100
PARTIE THÉORIQUE	102
PARTIE EXPÉRIMENTALE	111

SERIE C	125
PARTIE THEORIQUE	126
PARTIE EXPERIMENTALE	149
SERIE D	185
PARTIE THEORIQUE	187
PARTIE EXPERIMENTALE	197
SERIE E	205
PARTIE THEORIQUE	207
PARTIE EXPERIMENTALE	218
ETUDE PHARMACOLOGIQUE	233
A. PRESENTATION DES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX	235
B. RESULTATS	238
C. DISCUSSION	240
PARTIE II SYNTHÈSE DE COMPOSÉS PYRIDOPYRAZINIQUES INHIBITEURS DE PROTEINE-KINASES	241
INTRODUCTION	243
A. GENERALITES : LES PROTEINE-KINASES ET LES VOIES COMPLEXES DE SIGNALISATION	244
1. Les protéine-kinases	244
2. Les protéines adaptatrices	245
3. Voie des MAP kinases'	246
4. Récepteurs à activité tyrosine-kinase	247
B. CONTROLE DU CYCLE CELLULAIRE	250
1. Cycle cellulaire	250
2. Contrôle du cycle cellulaire ^{143,}	251
3. Régulation des CDKs	253
4. « Checkpoints » = Points de contrôle	254
C. INHIBITEURS DE KINASES DÉPENDANTES DES CYCLINES ^{143,}	256
1. 2,6-diaminopurines	256
2. 4-aminoquinazolines	257
3. Indoles et indolin-2-ones	258
4. Flavones	258
D. LES RECEPTEURS AU FACTEUR DE CROISSANCE ÉPITHÉLIAL (REGF) : UNE NOUVELLE CIBLE THÉRAPEUTIQUE ^{143,}	260
1. Inhibiteurs réversibles de l'EGFR	261
2. Inhibiteurs irréversibles de l'EGFR	263
SYNTHÈSE DES COMPOSÉS PYRIDOPYRAZINIQUES	267
A. APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE	269
B. APPLICATIONS À LA SYNTHÈSE DES COMPOSÉS PYRIDOPYRAZINIQUES	275
SERIE A SYNTHÈSE DES PYRIDO[3,4- <i>b</i>]PYRAZINES	277
PARTIE THEORIQUE	279
PARTIE EXPERIMENTALE	296
PARTIE THEORIQUE	352
PARTIE EXPERIMENTALE	360
CONCLUSION	380
REFERENCES	387

LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES

ADN : Acide désoxyribonucléique
AIBN : azo-bis-isobutyronitrile
Ala : alanine
AMM : autorisation de mise sur le marché
APC/C : « anaphase promoting complex/cyclosome »
Ar : aryle
ARN : Acide ribonucléique
ARP : « actin related proteins »
ATM : ataxia-télangiectasia mutée
ATP : adénosine triphosphate

Bub : « budding uninhibited by benomyl »

CAK : kinase activatrice des CDKs
cat : catalytique
CDI : *N,N'*-carbonyldiimidazole
CDK : « cyclin dependant kinase » ou kinase dépendante des cyclines
Chk : « checkpoint protein kinase »
CI₅₀ : concentration inhibitrice 50
CIP : « CDK interacting protein kinase »
CKI : « cyclin dependant kinase inhibitor »
CNMPI : iodure de 2-chloro-*N*-méthylpyridinium
CTACl : chlorure de cétylammonium

DCP : dichlorophosphate de phényle
DDQ : 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone
DHFR : dihydrofolate réductase
DMF : diméthylformamide
DMFDMA : diméthylacétal de diméthylformamide
DMSO : diméthylsulfoxyde
DMTMM : chlorure de 4-(4,6-diméthoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-méthylmorpholinium

EGF : facteur de croissance épithélial ou « epidermal growth factor »
EGFR : « epidermal growth factor receptor »
Eph : ephrine
éq : équivalent
ERK : « extracellular signal-regulated kinase »

F : point de fusion
FCS : « fetal calf serum »
FGF : « fibroblast growth factor »
FSH : «Follicule Stimulating Hormone»

G0 : phase de quiescence
G1 : « gap 1 »
G2 : « gap 2 »
GAP : « GTP dissociator inhibitor »
GDP : guanosine diphosphate
GEP : «guanine nucleotide exchanger proteins »

Gly : glycine

GTP : guanosine triphosphate

Her : « human epidermal receptor »

Het : hétérocycle

HGF : « hepatocyte growth factor »

HIV : « Human Immunodeficiency Virus » ou virus d'immunodéficience humaine

HMPA : hexaméthylphosphoramidate

IGF : « insulin-like growth factor »

IKK : I κ B kinase

IL : interleukine

Ile : isoleucine

INF : interféron

INK4 : « inhibitors of CDK4 »

IR : infra-rouge

IRAK : « IL-1RI-associated protein kinase »

KinI : « kinesin internal »

KIP : « kinase inhibitory protein »

JNK : « jun-N-terminal kinase »

LAK : lymphocytes « activated-killer »

LB : lymphocytes B

LHRH : « Luteinizing Hormone Releasing Hormone »

LiHMDS : hexaméthylidisilazide de lithium

LT : lymphocytes T

M : mitose

Mad : « mitotic arrest deficient »

MAP : « Microtubule Associated Protein »

MCAK : « Mitotic Centromere-Associated Kinesin »

MDR : « multi-drug resistant »

MP : moutardes phosphoramidate

MPF : « maturing promoting factor »

M_r : masse réduite ou masse molaire

MTIC : monométhyltriazène 5-(3-méthyltriazényl)imidazole-4-carboxamide)

MTOC : « microtubule organizing center » ou centre d'organisation des microtubules

MW : « microwave » ou micro-ondes

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

NBS : *N*-bromosucinimide

ND : non déterminé

NGF : facteur de croissance neuronal ou « nerve growth factor »

PCNA : « proliferating cell nuclear antigen »
PDC : dichromate de pyridinium
PDGF : « platelet derived growth factor »
Pgp : glycoprotéine P
Pi : orthophosphate
PI3K : « phosphodylinositol 3-kinase »
PKC : protéine kinase C
PLK : protéine kinase « polo-like »
PTB : « phospho tyrosine binding »
PyBOP : benzotriazol-1-yloxytri(pyrrolidino)phosphonium hexafluorophosphate

R_f : rapport de rétention sur silice
r_{fx} : reflux
RMN : résonance magnétique nucléaire
RMPI : milieu de culture liquide
RTK : récepteur à activité tyrosine kinase

S : synthèse
SH2 : « Src homology 2 »
SN₂ : substitution nucléophile d'ordre 2
Sos : « son of sevenless »

TBAF : fluorure de tétrabutylammonium
TEA : triéthylamine
TGF : « transforming growth factor »
THF : tétrahydrofurane
TIL : lymphocytes T infiltrant les tumeurs
TMSCN : cyanure de triméthylsilyle
TS : thymidylate synthase
TuRC : « tubulin ring complex »

VADS : voies aéro-digestives supérieures
VCR : vincristine
VEGF : « vascular endothelial growth factor »

INTRODUCTION GENERALE

A. EPIDEMIOLOGIE DES CANCERS¹

Aux cours des dernières décennies, les taux d'incidence et de mortalité des cancers n'ont cessé d'augmenter. De nos jours, en France, 150000 personnes meurent d'un cancer chaque année, 800000 personnes vivent avec un cancer et 2 millions de personnes ont eu un cancer. Le coût du cancer pour le système de santé peut être estimé à près de 15 milliards d'euros en 2002, ce qui fait du cancer un problème majeur de santé publique.

1. Incidence des cancers en France en 2000

En 1980, 170000 nouveaux cas étaient diagnostiqués ; en 2000, on dénombre 278000 nouveaux cas dont 58 % surviennent chez l'homme. Cependant, cette augmentation de 63 % (66 % chez l'homme et 60 % chez la femme) est en grande partie liée au vieillissement de la population. L'augmentation du risque de cancer est estimée à plus de 35 %. En terme d'incidence, genres confondus, quatre localisations sont responsables chacune de plus de 250000 cas en 2000 ; il s'agit du cancer du sein (42000 cas), du cancer de la prostate (40000 cas), des cancers colo-rectaux (36000 cas) et des cancers du poumon (28000 cas).

L'estimation d'incidence des cancers en 2000 dans la population masculine place en tête quatre localisations : prostate (40000 nouveaux cas), poumon (23000), colon-rectum (19000) et voies aéro-digestives supérieures VADS (17000). On note que chez les hommes, un peu plus de 50 % des cancers sont des cancers de la prostate, du poumon ou des cancers colo-rectaux et que ces cancers contribuent à 45 % de la mortalité masculine.

L'estimation d'incidence des cancers dans la population féminine en 2000 montre que trois localisations sont responsables de près de 65000 cas ; il s'agit du sein (42000), du colon-rectum (17000) et de l'utérus (5000). On note que chez la femme, 50 % des cancers sont des cancers du sein et des cancers colo-rectaux et que ces deux cancers ne représentent toutefois que le tiers de la mortalité féminine. La troisième cause de mortalité par cancer chez la femme est le cancer du poumon suivi par le cancer de l'ovaire. Avec ces quatre cancers, on obtient 47 % de la mortalité par cancer chez la femme.

2. Mortalité des cancers en France en 2000

Le cancer est la deuxième cause de mortalité en France, derrière les maladies cardiovasculaires, avec 148584 décès en 1999, soit environ 28 % des décès. Il est la première cause de mortalité chez les hommes (32 % des décès masculins) et la seconde cause chez les femmes (23 % des décès féminins). La différence au niveau de la mortalité entre les hommes et les femmes s'explique par le fait que les hommes sont particulièrement touchés par des cancers liés à l'alcool et au tabac (cancers des VADS, cancers du poumon et du colon-rectum), cancers dont le pronostic est mauvais. Alors que les quatre localisations les plus fréquentes chez l'homme (53 % des cancers) ont une survie globale de 29 %, les plus fréquentes chez la femme (55 % des cancers) ont une survie globale de 63 %. Le cancer est

¹ Rapport de la commission d'orientation sur le cancer, 16 janvier 2003.
<http://www.sante.gouv.fr/html/dossiers/cancer/rapport.htm>

de plus la première cause de décès prématurés (35 % chez l'homme, 42 % chez la femme), suivis des décès par causes externes (accidents 21 % et suicides 16 %). Les causes de décès les plus fréquentes en 2000 sont, par ordre décroissant, les cancers du poumon, de l'intestin, des VADS, du sein et de la prostate. En terme de mortalité, quatre localisations sont responsables chacune de plus de 10000 décès par an ; il s'agit des cancers du poumon (27000), des cancers colo-rectaux (16000), des cancers du sein (12000) et des cancers de la prostate (10000).

Le cancer était responsable de 125000 décès en 1980 ; en 2000, il est responsable de 150000 décès ce qui correspond à une augmentation de 19 % (22 % chez l'homme, 16 % chez la femme). Cependant, en prenant en compte le vieillissement de la population, cela correspond à une diminution du risque de décès estimée à environ 8 %, plus marquée chez la femme que chez l'homme.

Localisation du cancer	Incidence	Mortalité	Localisation du cancer	Incidence	Mortalité
Prostate	40209	10004	Sein	41845	11637
Poumon	23152	22649	Colon-rectum	16826	7468
Colon-rectum	19431	8505	Corps de l'utérus	5064	1809
Lèvres-bouche-pharynx	12990	4341	Poumon	4591	4515
Vessie	8986	3451	Ovaire	4488	3508
Lymphome malin non-hodgkinien	5527	2664	Lymphome malin non-hodgkinien	4381	2579
Rein	5306	2329	Mélanome de la peau	4165	704
Foie	5014	6287	Col de l'utérus	3387	1004
Estomac	4520	3131	Rein	2987	1278
Oesophage	4040	3724	Thyroïde	2890	283
Larynx	3865	1968	Leucémies	2634	2548
Leucémies	3609	2547	Estomac	2606	1938
Mélanomes de la peau	3066	704	Système nerveux central	2602	1444
Pancréas	2701	3728	Lèvre-bouche-pharynx	2395	749
Système nerveux central	2697	1724	Pancréas	2186	3453
Myélome multiple et maladies immuno-prolifératives	1942	1110	Vessie	1785	1107
Thyroïde	821	148	Myélome multiple et maladies immuno-prolifératives	1645	1144
Maladie de Hodgkin	736	131	Foie	962	1569
Mésothéliome	671	852	Oesophage	928	710
Total cancers	161025	92311	Maladie de Hodgkin	631	89
			Larynx	361	166
			Mésothéliome	200	305
			Total cancers	117228	57734

Figure 1 – Estimation chez l'homme et chez la femme de l'incidence et de la mortalité des cancers en France en 2000, par ordre de fréquence décroissante du nombre de cas incidents

3. Conclusion

Durant les deux dernières décennies, l'incidence des cancers est en augmentation régulière chez les hommes (+1.3 % par an) comme chez les femmes (+1.4 % par an) alors que la mortalité, qui était en augmentation régulière depuis 1950, est restée plutôt stable sur cette période (-0.34 % par an pour les hommes et -0.5 % par an pour les femmes). Le poids que représente le cancer pour la santé publique s'est considérablement modifié durant les 25 dernières années. Entre 1980 et 2000, le nombre de cas de cancer a augmenté d'environ 63 % alors que le nombre de décès n'augmentait que de 20 %. Le fait marquant de la tendance des 25 dernières années est la forte divergence entre l'évolution de l'incidence et celle de la mortalité. Les progrès thérapeutiques ne jouent qu'un rôle modeste dans cette évolution même si ces progrès sont bien réels pour certaines localisations du cancer. Les principales contributions à l'augmentation de l'incidence sont le cancer de la prostate chez l'homme et le cancer du sein chez la femme. Les autres augmentations importantes (plus de 5 cas pour 100000) chez l'homme sont le lymphome non hodgkinien, le cancer du foie, le cancer colo-rectal, le mélanome malin, le cancer du rein et le cancer du poumon. Chez la femme, les autres cancers augmentant substantiellement (de 4 à 5 cas pour 100000) sont le mélanome malin, le cancer du poumon, le cancer de la thyroïde et le lymphome malin non hodgkinien.

Dans le même temps, la mortalité par cancer de la prostate et celle liée au cancer du sein sont restées à peu près stables. La décroissance de la mortalité chez l'homme est essentiellement due à la décroissance des tumeurs des voies aérodigestives supérieures et de l'œsophage ainsi que des tumeurs de l'estomac dont les taux de mortalité ont diminué de plus de 6 cas pour 100000. La décroissance de la mortalité chez la femme est plus dispersée. Aucun cancer, excepté le cancer de l'estomac, ne diminue de plus de 3 cas pour 100000. Le cancer du colon-rectum et le cancer du col de l'utérus contribuent chacun pour 2.5 cas pour 100000 à la diminution globale du taux standardisé.

Ainsi, la raison essentielle de la divergence entre incidence et mortalité est le remplacement de cancers de pronostic médiocre par des cancers de bon à très bon pronostic. La recherche systématique des tumeurs (prostate et sein) ou leur découverte fortuite grâce à une utilisation de plus en plus fréquente de système d'imagerie sophistiqué (thyroïde) ont fortement contribué à cette évolution.

B. CANCER : QUELQUES GENERALITES²

1. Définition

Le cancer résulte d'un dérèglement des mécanismes qui régulent le comportement normal de la cellule. Il correspond à la multiplication anarchique de certaines cellules de l'organisme, qui échappent aux mécanismes normaux de différenciation et de régulation de leur multiplication. En outre, ces cellules sont capables d'envahir le tissu normal avoisinant, en le détruisant, puis de migrer à distance pour former des métastases. Une cellule cancéreuse, dite cellule tumorale, est donc caractérisée par la perte généralisée de son autorégulation mitotique.

² G.M. Cooper, La cellule : une approche moléculaire, Edition De Boeck.

2. Causes des cancers

Des substances responsables du cancer appelées substances cancérigènes ont été identifiées ; ce sont par exemple les rayonnements, certaines substances chimiques et également certains virus (virus de l'hépatite B, virus de papillomes, virus de l'herpès, rétrovirus).

a. Agents initiateurs

Les rayonnements et de nombreux cancérigènes chimiques agissent en endommageant l'ADN en y produisant des mutations. On pense que ce sont ces mutations dans des gènes cibles critiques qui sont responsables de l'apparition d'un cancer : c'est pourquoi on qualifie ces cancérigènes d'agents initiateurs. On peut citer parmi ces agents initiateurs, les rayons solaires, responsables des cancers de la peau, et les cancérigènes chimiques de la fumée du tabac.

b. Promoteurs tumoraux

D'autres cancérigènes contribuent à l'apparition d'un cancer en stimulant la prolifération cellulaire ; on les appelle des promoteurs tumoraux. On peut citer les hormones, notamment les œstrogènes, qui stimulent la prolifération des cellules de l'endomètre utérin. Une concentration excessive d'œstrogènes dans le sang d'une femme rend celle-ci plus susceptible de souffrir d'une tumeur de l'endomètre. Il existe également des virus, appelés virus tumorigènes, qui peuvent induire un cancer chez l'homme. Par exemple, les cancers du foie et du col utérin sont des cancers humains dus à des virus.

3. Types de cancer

Une tumeur correspond donc à une prolifération anarchique de cellules ; elle peut être bénigne, c'est à dire qu'elle reste confinée à son point d'origine sans s'étendre aux tissus voisins ou migrer à distance, ou elle peut être maligne, c'est à dire capable d'envahir les tissus voisins par les voies sanguines et lymphatiques. Seules les tumeurs malignes sont classées parmi les cancers car c'est leur pouvoir envahissant et migratoire qui les rend si dangereuses.

Les tumeurs sont classées selon le type de cellules dont elles proviennent. Les carcinomes sont composés de cellules épithéliales malignes ; ils représentent environ 90 % des tumeurs humaines. Les sarcomes sont des tumeurs solides des tissus conjonctifs tels le muscle, l'os, le cartilage et le tissu fibreux ; ils sont rares chez l'homme. Les leucémies et les lymphomes sont issus respectivement de cellules destinées au courant sanguin et de cellules du système immunitaire ; elles représentent environ 8 % des tumeurs humaines malignes.

4. Progression d'un cancer

Le développement d'un cancer est un processus graduel impliquant des mutations et une sélection de cellules qui augmentent petit à petit leur capacité de proliférer, de survivre, d'envahir d'autres tissus et de fonder des colonies métastatiques. Des études de carcinogénèse expérimentale chez l'animal ont permis de distinguer trois étapes dans l'induction d'une tumeur.

Le premier stade de ce processus est l'initiation, au cours de laquelle un carcinogène interagit avec l'ADN cellulaire pour produire une mutation qui consiste souvent en une simple substitution de base. Ces cellules pré-néoplasiques ne sont pas encore des cellules transformées et peuvent rester silencieuses toute leur vie.

La seconde étape est la promotion dans laquelle des promoteurs contribuent à la carcinogenèse par des mécanismes non génotoxiques. Ils favorisent la prolifération cellulaire et peuvent aboutir à la formation de lésions bénignes telles que des polypes ou des papillomes. La cellule peut alors acquérir des lésions génétiques supplémentaires responsables de la progression vers un néoplasme malin.

La dernière étape est la progression ; elle correspond à la transformation d'une cellule initiée en une cellule cancéreuse dont la croissance devient autonome. La progression tumorale se caractérise ensuite par la sélection progressive à la faveur de clones de plus en plus agressifs et qui possèdent des propriétés d'invasion locale et métastatique.

5. Angiogenèse

Pour survivre, la tumeur cancéreuse doit être capable de susciter la création de nouveaux vaisseaux sanguins, ce qu'on appelle l'angiogenèse.

A l'état cancéreux, une angiogenèse importante est couramment observée en cas de carcinomes, tumeurs solides qui représentent plus de 90 % des cas de cancer ; elle est impliquée dans la croissance tumorale et sa dissémination métastatique. Spécifique des carcinomes, elle constitue une cible thérapeutique anticancéreuse très importante.

Des études expérimentales et des observations cliniques ont révélé que la majorité des carcinomes se développaient initialement en l'absence de néovascularisation (tumeur primitive ou métastases « dormantes »). Dans une seconde étape, certaines cellules tumorales deviennent capables d'induire une angiogenèse au sein du tissu tumoral. La tumeur humaine entre alors dans une phase de prolifération cellulaire qui a pour conséquence :

- l'augmentation du volume de la tumeur primitive en favorisant l'apport de nutriments et d'oxygène aux cellules cancéreuses ainsi que l'élimination de leurs déchets potentiellement toxiques,
- l'intensification de sa capacité à envahir les tissus environnants par libération de facteurs de croissance et de cytokines (interleukines) et
- un accroissement de son potentiel métastatique.

6. Propriétés des cellules cancéreuses

Les cellules cancéreuses possèdent un certain nombre de propriétés qui permettent de les différencier des cellules normales. La transformation de cellules humaines normales en cellules cancéreuses met en jeu plusieurs altérations génétiques successives, qui aboutissent à la sélection progressive de cellules qui acquièrent des capacités de prolifération, d'adaptation à l'environnement et de survie caractéristiques du phénotype tumoral.

a. Immortalité

Les cellules tumorales ont la capacité de se diviser de façon illimitée et d'échapper à la mort par sénescence. Elles ne suivent pas leur programme de différenciation normal ; elles sont pour la plupart bloquées à un stade précoce de différenciation, ce qui concorde avec leur pouvoir de proliférer continuellement. En même temps qu'elles échouent dans leur différenciation normale, les cellules tumorales sont capables d'échapper à l'apoptose par sécrétion autocrine de facteurs de survie cellulaire (IGF1, IGF2, IL-3) et par inactivation d'activateurs physiologiques de l'apoptose ; l'inactivation de la protéine p53 (acteur important du déclenchement de l'apoptose) et l'hyperexpression d'inhibiteurs physiologiques de l'apoptose tels que bcl-2 (qui bloque le suicide cellulaire) confèrent aux cellules cancéreuses une résistance à l'apoptose. Cet échec du processus suicidaire favorise notablement le grossissement des tumeurs. De plus, le fait qu'elles échappent à l'apoptose accroît leur résistance à l'irradiation et aux médicaments cytostatiques.

Dans une population cellulaire normale, il existe un « compteur de cycles », situé au niveau des télomères des chromosomes, qui dénombre les divisions cellulaires et empêche ainsi la cellule de se diviser à l'infini (en général, la prolifération d'une cellule humaine normale n'excède pas 50 divisions). Contrairement aux cellules normales, les cellules cancéreuses restaurent à chaque tour de cycle leurs fragments d'ADN télomériques détruits, du fait de la présence d'une enzyme, la télomérase. Cette enzyme est présente dans la majorité des cellules cancéreuses alors qu'elle est absente dans la plupart des cellules normales. L'immortalité des cellules cancéreuses serait due en grande partie à la présence de cette enzyme.

b. Prolifération massive

Alors qu'une cellule normale subit une inhibition de prolifération par contact avec ses voisins (elle cesse alors de proliférer et se met au repos en stade G0 du cycle cellulaire), la prolifération de la plupart des cellules tumorales n'obéit pas à l'inhibition de contact et les cellules continuent de proliférer.

Ce qui distingue également une cellule normale d'une cellule tumorale est que cette dernière a souvent des besoins réduits en facteurs de croissance extracellulaires, d'où leur prolifération massive. Parfois, cette dépendance réduite envers les facteurs de croissance manifestée par certaines cellules tumorales est due à des anomalies des messageries cellulaires, par exemple d'une dérégulation des récepteurs des facteurs de croissance ou d'autres protéines (telles que Ras ou certaines protéines kinases). Une cellule tumorale peut même sécréter des facteurs de croissance qui stimulent sa propre prolifération.

c. Capacité d'invasion

L'adhérence à la matrice extracellulaire permet aux cellules normales de survivre et de proliférer. L'activité des protéines nucléaires gouvernant la croissance et la division cellulaire (notamment le complexe cycline E-CDK2) diminue lorsque les cellules ne disposent pas d'ancrage. L'adhérence des cellules tumorales est réduite par rapport aux cellules normales, souvent parce qu'elles portent en surface une moins grande quantité de molécules d'adhérence (Cadhérine-E). Dans les lignées cellulaires exprimant peu la Cadhérine-E, les cellules sont d'autant plus malignes que l'expression de cette protéine à la surface des cellules est faible. En fait, les cellules cancéreuses n'ont pas besoin d'être ancrées pour survivre et proliférer, leur complexe cycline E-CDK2 reste en effet continuellement actif, qu'elles soient ancrées ou non. Les cellules tumorales sont donc moins asservies aux interactions avec d'autres cellules ou avec la matrice extracellulaire, ce qui contribue à leur pouvoir envahissant et métastatique.

D'autre part, les cellules tumorales sécrètent des protéases qui, en détruisant les composants de la matrice extracellulaire, laissent celles-ci envahir les tissus voisins

normaux. La sécrétion tumorale de protéases joue donc un rôle décisif au cours des phases invasives de la progression cancéreuse. De plus, en sécrétant des facteurs de croissance qui stimulent la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (angiogenèse), la cellule tumorale favorise la croissance de la tumeur et également sa capacité à former des métastases.

7. Gènes impliqués dans la carcinogenèse : oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs

Deux types de gènes ont un rôle crucial dans le processus de transformation maligne ; il s'agit des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs.

Les proto-oncogènes sont des gènes qui participent à la transformation maligne quand ils sont activés de façon inappropriée. Cette activation exagérée, transformant par définition un proto-oncogène en oncogène, peut résulter d'une altération structurale directe du gène et/ou d'une expression exagérée de son produit. Les gènes impliqués dans la transduction des signaux mitogènes, par exemple EGFR (HER-1), c-erb-B2 (HER-2), c-ret, c-met, c-H-ras, c-N-ras, c-myc, en sont des exemples types. Les protéines codées par de nombreux proto-oncogènes servent à ajuster la prolifération normale des cellules ; si l'expression ou l'activité de la protéine oncogène est augmentée, la cellule va proliférer de façon démesurée et devenir cancéreuse. En outre, d'autres protéines oncogènes vont contribuer à d'autres aspects du comportement des cellules tumorales, notamment leur impuissance à se différencier et à exécuter leur programme de suicide cellulaire.

Cependant, l'apparition d'une tumeur n'est pas uniquement due à l'activation d'oncogènes cellulaires ; elle peut également être la conséquence de l'inactivation d'un gène suppresseur de tumeur.

En effet, les gènes suppresseurs de tumeurs, appelés également anti-oncogènes, sont des gènes dont l'inactivation est impliquée dans le processus de transformation maligne. Ils exercent un effet opposé à celui des oncogènes sur la prolifération cellulaire, en freinant le développement de la tumeur. Dans de nombreuses tumeurs, ils sont inactivés ce qui entraîne une prolifération massive qui n'est plus régulée et permet la formation de tumeurs. On peut citer par exemple les régulateurs négatifs du cycle cellulaire (Rb, p53) et les inhibiteurs de kinases dépendantes des cyclines.

Les altérations de la structure ou de l'expression des gènes impliqués dans la carcinogénèse peuvent être en rapport avec des agressions génotoxiques (carcinogènes exogènes ou endogènes, radiations ionisantes), avec des agressions virales ou des erreurs « spontanées » et non réparées de réplication de l'ADN. Les différents types d'altération du génome susceptibles d'aboutir, au cours de la cancérogenèse, à la modification structurale du gène ou à l'expression exagérée de son produit peuvent être des mutations, des amplifications, des translocations, la méthylation des séquences promotrices ou l'apport de matériel génétique exogène d'origine virale.

Ainsi, la genèse d'un cancer nécessite deux étapes critiques, responsables de l'amorçage et de la progression d'une tumeur, à savoir l'activation de certains oncogènes et l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs. Le cancer est donc le résultat d'une somme d'anomalies dans les produits des gènes qui régissent la prolifération, la différenciation et la survie cellulaires.

C. THERAPIE DES CANCERS

Afin de traiter un cancer, plusieurs approches sont possibles :

- le retrait physique de la tumeur par chirurgie,
- l'administration d'agents extérieurs physiques ou chimiques pour lutter contre le développement de la tumeur par radiothérapie et par chimiothérapie,
- l'inhibition de l'action des hormones naturelles favorisant la prolifération cellulaire par l'hormonothérapie,
- l'utilisation des défenses naturelles de l'organisme pour lutter contre la tumeur par immunothérapie,
- la réparation des altérations génétiques à l'origine des cancers par thérapie génique.

1. Chirurgie

La chirurgie est le plus ancien des traitements du cancer ; elle a pendant longtemps constitué l'unique modalité thérapeutique des cancers. Elle demeure de nos jours une méthode fréquemment utilisée (dans 80 % des cancers), en association avec d'autres thérapies (radiothérapie, hormonothérapie et chimiothérapie). On distingue plusieurs types de chirurgie.

La chirurgie d'exérèse a pour but le retrait ou exérèse de la tumeur primitive (tumorectomie) ainsi que d'une marge de tissus sains périphériques afin de ne laisser aucune cellule cancéreuse. Son ampleur varie selon l'organe considéré, la variété histologique et le stade tumoral. Cette marge de sécurité s'impose en raison des limites imprécises des tumeurs, de l'existence d'envahissements microscopiques péri-tumoraux, voire de l'existence de lésions néoplasiques débutantes périphériques. L'exérèse est suivie d'un curage ganglionnaire (lymphadénectomie) qui permet non seulement d'enlever l'ensemble des ganglions et des vaisseaux lymphatiques satellites de la tumeur mais aussi d'apprécier l'état d'envahissement ganglionnaire.

La chirurgie de réduction tumorale ou cytoréductrice a pour objectif de réduire au maximum le volume tumoral afin de rendre le résidu tumoral plus accessible au traitement adjuvant afin d'en améliorer l'efficacité ; elle est principalement utilisée pour les tumeurs solides chimiosensibles avancées (ovaire, testicule).

La chirurgie des métastases consiste en l'ablation de métastases pulmonaires, hépatiques ou cérébrales afin de stopper l'évolution de la maladie permettant pour un certain nombre de patients des survies prolongées. Cette méthode n'est utilisée qu'au niveau ultime de la maladie cancéreuse.

La chirurgie préventive consiste en l'ablation des lésions encore bénignes mais dont la transformation maligne est possible.

La chirurgie curative peut être employée suite à des complications telles que occlusions ou péritonites survenues lors de l'utilisation d'autres thérapeutiques anticancéreuses.

La chirurgie palliative a pour objectif de préserver une fonction vitale menacée par l'extension tumorale (occlusion), de soulager la douleur (fistule urinaire ou digestive) et de prolonger la vie du patient en lui assurant des conditions de vie convenables.

2. Radiothérapie et curiethérapie

a. Radiothérapie

En France, plus de 100000 malades sont traités chaque année par la radiothérapie et près d'un malade sur deux recevra une irradiation au cours de l'évolution de leur maladie. La radiothérapie participe au traitement curatif primaire chez 30 % des patients cancéreux. Il existe 3 types de traitements.

La radiothérapie curative a pour objectif de stériliser définitivement toutes les cellules néoplasiques contenues dans le volume irradié. Ce type d'irradiation représente environ la moitié des irradiations et peut être utilisée seule ou en association avec la chirurgie ou la chimiothérapie.

La radiothérapie palliative s'adresse à des lésions qui n'entraînent pas nécessairement des symptômes gênants, qui ne menacent pas forcément la vie dans un bref délai mais qui sont incurables tels que des tumeurs localement trop grosses pour être opérées ou stérilisées par radiothérapie.

La radiothérapie symptomatique a pour but de soulager un symptôme gênant généralement à un stade évolué du cancer.

La radiothérapie peut être exclusive soit à titre palliatif (métastase, cancer évolué), soit à titre curatif en présence de cancers radiosensibles, encore limités (cancers cutanés, cancer de la prostate...). Elle peut être également associée avec la chirurgie. La radiothérapie postopératoire est la chronologie la plus fréquente (cancers du sein, du poumon, de l'endomètre et tumeur intracrânienne) ; elle a pour but de diminuer les risques de rechute locale. Cependant, dans certains cas elle peut être préopératoire (par exemple pour rendre extirpable une tumeur volumineuse, initialement inopérable dans des cancers du rectum ou des cancers du sein) ou peropératoire (notamment dans des cancers de l'estomac, de l'utérus et du rectum afin de cibler sur la tumeur ou le lit tumoral, en évitant au mieux les organes à risque, notamment l'intestin dans l'abdomen et le pelvis). La radiothérapie peut également être associée à la chimiothérapie ; les associations radiochimiothérapiques sont indiquées dans les tumeurs à grand potentiel de dissémination et chimiosensibles. La chimiothérapie s'attaque à l'ensemble des cellules néoplasiques et l'irradiation réalise un appoint focalisé sur les masses tumorales les plus importantes.

b. Curiethérapie

Le principe de la curiethérapie est d'obtenir une irradiation intense au contact de la source radioactive, mais très localisée afin de ne pas toucher aux tissus sains avoisinants. Le but est donc de délivrer localement une dose élevée dans un volume adapté à la tumeur. Cette méthode nécessite donc que la tumeur soit accessible et que sa taille soit déterminée avec précision ; elle est utilisée par exemple dans les cancers du col utérin ou du corps utérin, ou dans les cancers de la langue. Elle consiste à introduire dans les tissus (lèvre, langue, peau) ou dans les cavités naturelles (vagin, utérus) des tubes de césium ou des fils d'iridium.

3. Chimiothérapie

Elle consiste à administrer au patient des substances chimiques afin de lutter contre le développement de la tumeur et tenter de la réduire. Elle permet d'enrayer l'évolution du cancer en supprimant les métastases qui échappent aux traitements locaux (chirurgie et radiothérapie). On distingue quatre types de chimiothérapie.

La chimiothérapie à visée curative est utilisée sur les cancers localisés à croissance rapide. Elle consiste à utiliser le meilleur protocole afin d'obtenir une rémission complète et durable, en administrant éventuellement de fortes doses qui peuvent entraîner une toxicité importante, avec nécessité de transfusions, voire d'hospitalisations en secteur protégé.

La chimiothérapie adjuvante est utilisée afin d'améliorer la survie du patient. Elle peut être prescrite avant ou après l'acte le plus essentiel (chirurgie ou radiothérapie).

La chimiothérapie néo-adjuvante a pour but de réduire la tumeur primaire et ainsi de réduire la chirurgie d'exérèse.

La chimiothérapie palliative permet de prolonger la vie des patients ou d'en améliorer le confort mais sans espoir de guérison.

L'efficacité de la chimiothérapie est limitée par les phénomènes de résistance. En effet, les cellules possèdent ou acquièrent la possibilité de contourner les mécanismes d'action des médicaments de chimiothérapie, rendant ces derniers inefficaces.

4. Hormonothérapie

Née il y a plus d'un siècle lorsqu'un chirurgien écossais a proposé la castration chez une femme de 33 ans atteinte d'un cancer du sein métastatique, l'hormonothérapie a bénéficié depuis du progrès des connaissances du mécanisme d'action des hormones, de leur point d'impact au niveau cellulaire et de la notion de récepteurs cellulaires. L'hormonothérapie anticancéreuse est principalement utilisée pour deux pathologies : les cancers du sein et de la prostate ; elle peut être utilisée seule ou comme adjuvant de la chimiothérapie.

L'objectif de l'hormonothérapie est d'inhiber l'action des hormones naturelles favorisant la prolifération cellulaire. En effet, il a été montré que de nombreuses hormones stéroïdiennes et peptidiques sont impliquées dans la croissance des cancers. Elles peuvent la favoriser de façon directe, soit en induisant l'expression des facteurs de croissance, soit en stimulant les mitoses des cellules cancéreuses pourvues de récepteurs spécifiques. Elles peuvent également intervenir indirectement sur la croissance tumorale ; c'est le cas par exemple des stimulines hypophysaires qui entraînent la synthèse et la libération des hormones stéroïdes et de facteurs de croissance.

Les cancers dans lesquels la croissance tumorale est due soit à des stéroïdes (estrogènes, androgènes), soit à des hormones polypeptidiques (FSH « Follicule Stimulating Hormone », somatostatine) sont appelés cancers hormono-dépendants ; ainsi, dans les cancers hormono-dépendants du sein et de la prostate, la prolifération cellulaire est stimulée respectivement par les oestrogènes et par les androgènes. L'objectif de l'hormonothérapie est de supprimer les effets des hormones physiologiques.

Pour aboutir à ce résultat, trois stratégies sont possibles :

- supprimer la production des stimulines hypothalamiques c'est à dire supprimer les glandes endocrines par castration. Ovariectomie, orchidectomie et surrénalectomie ont été remplacées aujourd'hui par un blocage surrénalien (aminogluthétimide) et par une castration pharmacologique (analogues de la LHRH « Luteinizing Hormone Releasing Hormone ») dont les effets sont réversibles après l'arrêt du traitement.
- inhiber la synthèse des hormones en cause au niveau des glandes endocrines. On peut soit inhiber la libération des stimulines hypophysaires, soit inhiber la synthèse des hormones stéroïdiennes.
- bloquer les récepteurs (après vérification biologique de l'existence de récepteurs fonctionnels au niveau des cellules tumorales) au niveau des cellules effectrices avec des antagonistes spécifiques et peu compétitifs.

5. Immunothérapie

Les modificateurs de la réponse immune sont apparus récemment dans l'arsenal thérapeutique et ont pour objectif de stimuler la réponse immune anticancéreuse ou d'augmenter sa spécificité. On distingue ainsi deux types d'immunothérapie : l'immunothérapie active et l'immunothérapie passive.

L'immunothérapie active consiste à stimuler la réponse immunitaire du patient. Elle comprend essentiellement l'interleukine II (IL-2, Proleukine) et l'interféron α (INF α).

L'immunothérapie passive consiste à administrer au patient des substances ayant des propriétés antitumorales directes comme des cellules immunocompétentes telles que les lymphocytes T infiltrant les tumeurs (TIL), les lymphocytes « activated-killer » (LAK) ou des anticorps monoclonaux, dirigés contre les antigènes spécifiques des cellules cancéreuses.

Cette méthode prometteuse présente cependant des effets secondaires très graves ou persistants, nécessitant l'arrêt du traitement. De plus, l'identification d'un antigène spécifique des cellules tumorales très répandu reste un problème majeur.

6. Thérapie génique

La thérapie génique consiste à introduire chez le patient un gène fonctionnel ou de régulation afin de corriger une anomalie génétique spécifique aux cellules tumorales ou de donner une nouvelle fonction à cette cellule. L'objectif est soit d'augmenter l'activité antitumorale des lymphocytes T, soit de favoriser l'arrêt de la croissance cellulaire, la différenciation ou l'apoptose afin de stopper le développement anarchique des cellules tumorales. Le gène peut être introduit grâce à un vecteur rétroviral ou grâce à des liposomes.

D. MEDICAMENTS ANTITUMORAUX³

1. Médicaments induisant des modifications covalentes de l'ADN

Les agents alkylants font partie des cytotoxiques les plus anciennement utilisés. Ces substances possèdent un ou plusieurs groupements électrophiles qui forment des liaisons covalentes avec les groupements nucléophiles des acides nucléiques, provoquant la formation de ponts inter et intra brins de l'ADN ou de liaisons entre acides nucléiques et protéines. Les pontages covalents modifient la flexibilité de l'ADN ce qui altère la progression des complexes de transcription et de réplication et aboutit indirectement à la mort cellulaire. Cependant, des enzymes de réparation sont susceptibles de procéder au remplacement des parties défectueuses de l'ADN et d'être à l'origine de résistances cellulaires.

Il existe deux types d'agents alkylants : les agents alkylants mono-fonctionnels qui créent un pont avec l'ADN et les agents alkylants bi-fonctionnels qui créent des ponts entre différents secteurs de l'ADN. La différence entre ces deux types d'agents est que pour les agents mono-alkylants, l'hélice de l'ADN n'est atteinte que sur l'un des deux brins ce qui empêche la division lors de la mitose. Pour les agents bi-alkylants, l'hélice est atteinte sur ses deux brins, généralement dans des régions voisines, ce qui rend les réparations très difficiles et la mitose devient alors impossible.

Les alkylants sont classés en trois groupes, selon leur activation. Ainsi, les moutardes à l'azote, les nitrosourées, et les complexes du platines appartiennent à la classe des alkylants directs. Les oxazophorines sont des alkylants actifs par bio-oxydation, la mitomycine C, un alkylant actif par bioréduction.

On distingue sept familles dans cette classe de cytotoxiques : les moutardes à l'azote, les aziridines (ou éthylène imines), les oxazophorines, les sulfonates d'alkyle ou sulfonylalcane, les nitrosourées, les triazènes et les complexes du platine.

a. Les moutardes à l'azote

Cette famille de composés doit son nom à l'ypérite communément appelé « gaz moutarde » qui était utilisé comme gaz de combat pendant la Première Guerre Mondiale pour ses effets vésicants sur la peau, les yeux et l'appareil respiratoire.

Les moutardes à l'azote (figure 2) sont des agents électrophiles bifonctionnels. La chlorméthine ou méchloroéthamine est l'une des premières moutardes à l'azote efficace en chimiothérapie ; elle est de nos jours encore utilisée. De nombreux autres dérivés ont été synthétisés à partir de cette structure de base. La plupart possède un motif bis(2-chloroéthyl)amino qui confère à ces molécules leur activité biologique mais peu d'entre eux se sont révélés compatibles avec une utilisation clinique.

Diverses modifications structurales à partir de la chlorméthine (Caryolysine®) ont donné naissance au melphalan (Alkéran®), au chlorambucil (Chloraminophène®), au pipobroman (Vercyte®), à la prednimustine (Stéréocyt®) et à l'estramustine (Estracyt®).

³ Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers, *Traité de Chimie Thérapeutique*, Volume 6, Tec & Doc, 2003.

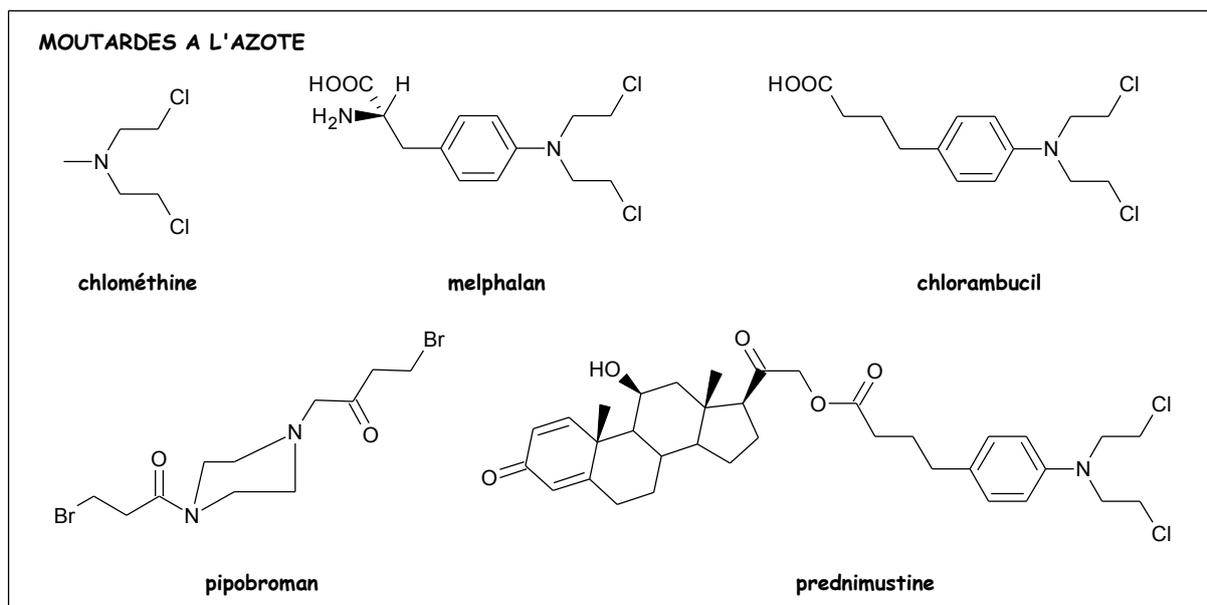


Figure 2 – Structures des moutardes à l'azote

b. Les éthylènes imines ou aziridines

Les éthylènes imines (figure 4) sont des médicaments antitumoraux caractérisés par la présence d'au moins un cycle aziridine. Deux catégories peuvent être distinguées : les polyaziridines et les dérivés de la mitomycine C dans lesquels sont généralement associés un ou deux cycles aziridines à un système quinone.

La mitomycine C (figure 3) est la molécule la plus active d'une famille d'antibiotiques à activité antitumorale extraits du milieu de fermentation de *Streptomyces caespitosus*. Elle est active uniquement après bio-activation par des enzymes réductrices qui sont en concentration plus importante dans les cellules tumorales que dans les cellules normales. La mitomycine C est active sur de nombreuses tumeurs mais sa toxicité à dose élevée limite l'usage.

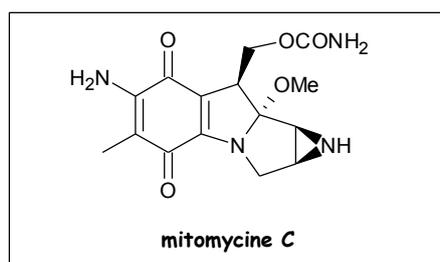


Figure 3 – Structure de la mytomycine C

Le principal représentant des polyaziridines est le thiotépa (thio-TEPA ou TPP ou TT), dont les propriétés antitumorales ont été mises en évidence en 1952 par les chercheurs d'American Cynamid Company. Son utilisation a été longtemps limitée par son effet myélodéresseur intense. Deux autres composés de cette catégorie sont utilisés en clinique : le triéthylèneamine (trétamine ou TEM) et l'altrétamine (hexaméthylèneamine ou HMM ou HXM), commercialisé sous le nom de Hexastat®.

Parmi les dérivés quinoniques, la diaziridinylquinone est bio-activée préférentiellement au voisinage de la tumeur par des oxydoréductases à NADPH, les DT-diaphorases (enzymes de détoxification fortement exprimées dans certaines tumeurs telles que dans les cancers du poumon non à petites cellules et les cancers du colon). Deux composés appartiennent à cette catégorie : la carboquone et la diaziquone.

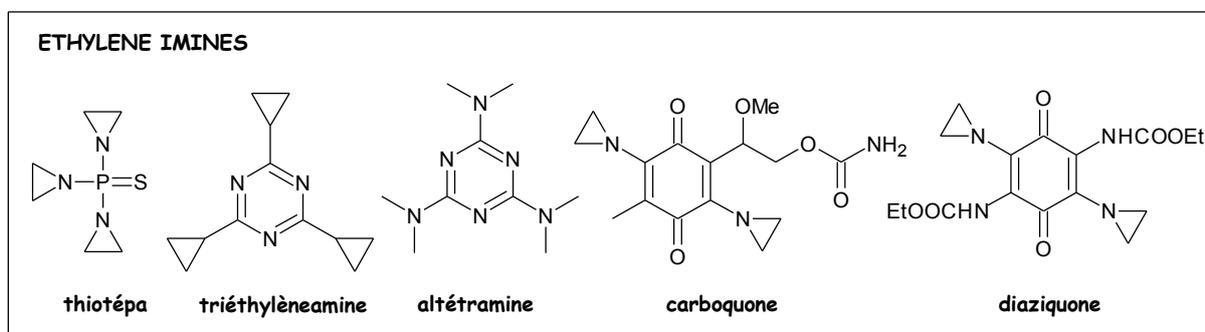


Figure 4 – Structures des éthylènes imines ou aziridines

c. Les oxazophorines : cyclophosphamide et analogues

Les oxazophorines (figure 5) sont des prodrogues des moutardes à l'azote obtenues par introduction d'une liaison P-N empêchant l'ionisation directe du groupe bis(2-chloroéthyle). Cette famille de composés libère des principes actifs alkylants après bio-activation par le foie. Les moutardes phosphoramide (MP) issues de l'activation métabolique du cyclophosphamide (Endoxan Asta®) et de l'ifosfamide (Holoxan®) sont capables de créer des coupures mono et bicaténares qui sont à l'origine de son activité cytotoxique.

Deux analogues des oxazophorines, le mafosfamide et le *N*³-méthylmafosfamide, prodrogue du mafosfamide chimiquement plus stable, ont été synthétisés. Ces dérivés sont substitués en position 4 par une chaîne 2-mercaptoéthane sulfonate dans le but d'obtenir une prodrogue capable de libérer le thiol contre les effets vésicants de l'acroléine.

On peut également citer le glufosfamide, qui est actuellement en phase III des essais cliniques en Allemagne.

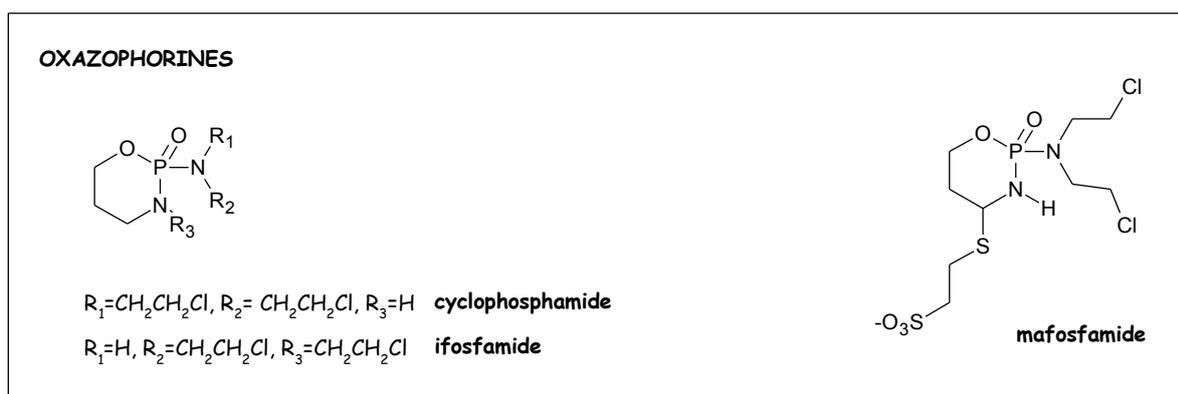


Figure 5 – Structures des oxazophosphorines

d. Les sulfonylalcane

Le représentant principal des sulfonylalcane (figure 6) est le busulfan (Myléran®, Busulfex®). De nombreux sulfonylalcane ont été synthétisés mais seuls trois dérivés du

busulfan présentent un intérêt thérapeutique : le tréosulfan (Ovostat[®], Médac[®]), l'improsulfan (Protectan[®]) et le mannosulfan. A l'heure actuelle, seul le busulfan a reçu une AMM.

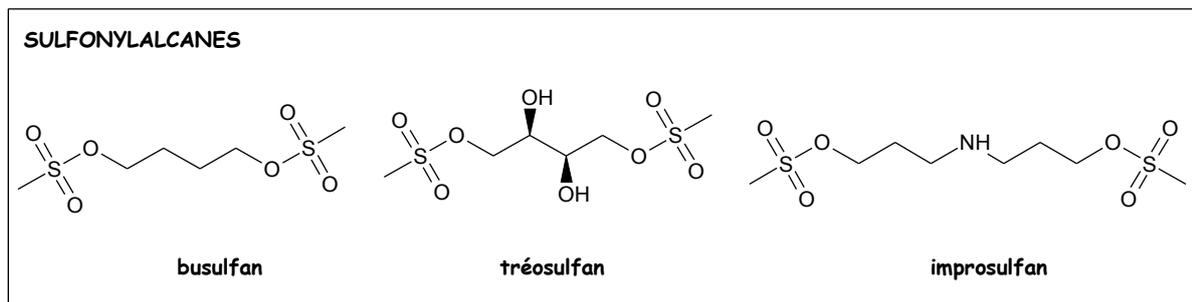


Figure 6 – Structures des sulfonylealcanes

e. Les nitrosurées

Les nitrosurées (figure 7) occupent une place particulière en raison de leur large spectre d'activité mais leur utilisation clinique est très limitée du fait de leur toxicité hématologique retardée et cumulative (thrombopénie et leucopénie). En 1956, dans le cadre d'un programme de recherche d'antitumoraux par criblage systématique par le National Cancer Institute, la

1-méthyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine s'avère active sur un certain nombre de lignées cellulaires tumorales. Différents analogues structuraux ont été synthétisés dont le 1,3-bis(2-chloroéthyl)-1-nitrosurées (BNCU), commercialisé depuis 1972 par les Laboratoires Bristol. Parallèlement, des nitrosurées aminoglycosylées telle que la chlorozotocine ont été développées après isolement de la streptozocine 4 de *Streptomyces achromogenes* dont l'action myélosuppressive est réduite par rapport à celle des autres dérivés. En France, seules quatre nitrosurées sont autorisées : la carmustine, la fotémustine, la streptozocine et la lomustine. La carmustine et la lomustine appartiennent à la famille des chloroéthylnitrosurées (CENU), la streptozocine et la chlorozotocine appartiennent quant à elles à la famille des nitrosurées aminoglycosylées.

Ces molécules sont instables en milieu aqueux ; les produits de décomposition obtenus, eux-mêmes hautement réactifs, induisent des anomalies, notamment sur l'ADN (cassures, pontages intra ou intercaténaire) qui sont à la base de l'effet cytotoxique. L'action carbamoylante intervient peu dans l'activité cytotoxique des nitrosurées mais elle semble cependant jouer un rôle en inactivant certaines enzymes impliquées dans les processus de réparation de l'ADN.

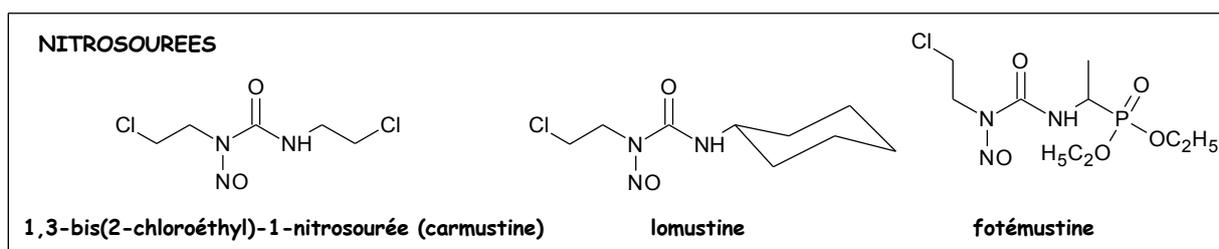


Figure 7 – Structures des nitrosurées

f. Les triazènes : dacarbazine et témozolomide

La dacarbazine (figure 8) se décompose après déméthylation par le foie en une espèce intermédiaire qui se transforme spontanément pour donner naissance à deux composés dont l'ion méthyldiazonium (en équilibre acido-basique avec le diazométhane) qui est capable de méthyler des sites nucléophiles de l'ADN et d'autres macromolécules. C'est donc après fixation transitoire à l'ADN puis bioactivation que la dacarbazine est un agent alkylant. Le principe actif est en fait le MTIC (monométhyltriazenè 5-(3-méthyltriazenyl)imidazole-4-carboxamide), générateur d'espèces chimiques méthylantes.

Le témozolomide (figure 8) semble se fixer transitoirement à l'ADN puis, après sa transformation en diazométhane via le MTIC, méthyler des restes guanine sur le grand sillon. Les coupures des brins d'ADN en résultant provoquent l'apoptose dans des lignées de cellules leucémiques. Cependant, il présente une myélotoxicité très grave et imprévisible, c'est la raison pour laquelle il a été abandonné.

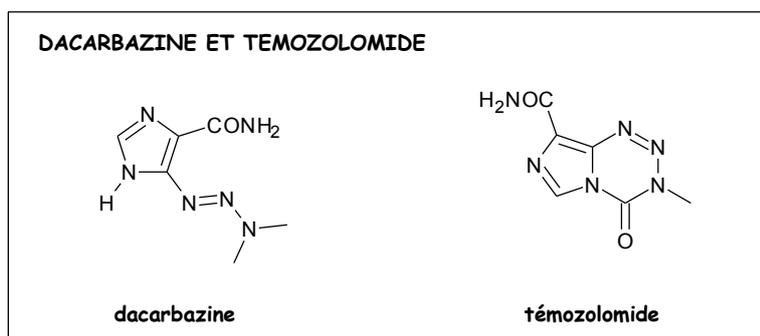


Figure 8 – Structures des triazènes

g. Les dérivés du platine

C'est en 1965 que les propriétés cytotoxiques des complexes du platine (figure 9) furent mises en évidence. L'un d'entre eux, le cis-diaminedichloroplatine ou cisplatine s'est révélé particulièrement actif sur divers modèles tumoraux chez le rat et la souris. Malgré son efficacité sur les tumeurs solides, l'utilisation du cisplatine en pratique courante se trouve limitée par de nombreux effets indésirables liés à une toxicité élevée à l'égard de divers tissus sains, et par une résistance (primaire ou acquise) fréquemment observée dans de multiples cancers. Parmi les milliers de composés synthétisés, seuls deux dérivés sont utilisés en thérapeutique, le carboplatine et l'oxaliplatine.

Les complexes du platine occupent une place de choix en chimiothérapie antitumorale depuis plus de 20 ans. Ils contribuent à un apport incontestable dans le traitement de tumeurs rénales ou pulmonaires, et pour l'oxaliplatine, dans le traitement de certains cancers des voies digestives. Des travaux sont en cours pour synthétiser des nouveaux composés aux mécanismes d'action originales afin d'améliorer leur biodisponibilité et pour lutter contre les phénomènes de résistance.

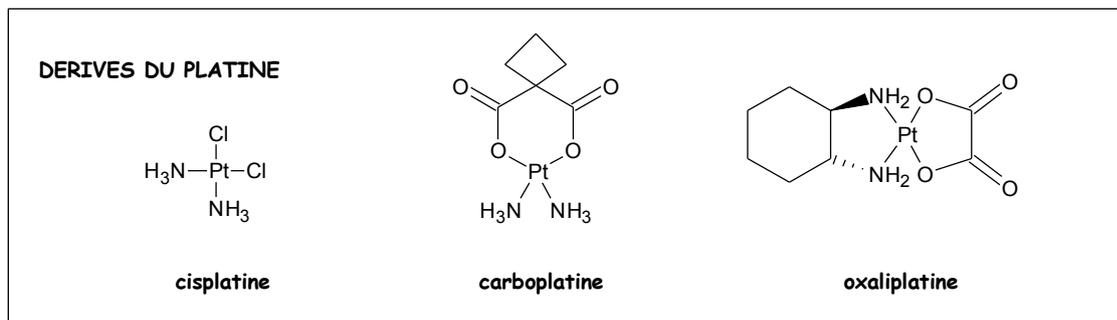


Figure 9 – Structures des dérivés du platine

2. Médicaments induisant ou stabilisant des coupures d'ADN

Les topoisomérases sont divisées en deux catégories : les topoisomérases de type I et de type II. Ce sont des enzymes nécessaires à la réplication, la transcription, l'assemblage de la chromatine, et à la recombinaison et la séparation des chromosomes. Elles permettent de relaxer les contraintes de torsion de l'ADN en créant une coupure (topoisomérase de type I) ou deux coupures (topoisomérase de type II) temporaires de la double hélice pour permettre de décroiser les brins.

On distingue plusieurs classes d'inhibiteurs de topoisomérases, selon leur mode d'action.

- les poisons sont des agents qui stabilisent l'intermédiaire enzyme-ADN ; ils forment alors un complexe ternaire, appelé complexe clivable ternaire ou de clivage empêchant la religation du ou des brins d'ADN (ex : camptothécine et doxorubicine),
- les inhibiteurs catalytiques ou supprimeurs sont des composés qui possèdent une affinité pour l'ADN ; ils inhibent l'activité catalytique des topoisomérases en empêchant l'accès à leur substrat,
- d'autres composés peuvent se lier directement à la topoisomérase de type II, empêchant l'évolution du cycle catalytique (ex : dexrazoxane),
- certains empêchent l'évolution du cycle catalytique en bloquant la fixation de l'ATP (ex : novobiocine et certaines coumarines).

Les composés actuellement utilisés en chimiothérapie anticancéreuse appartiennent au groupe des poisons (figure 10) ; il s'agit des anthracyclines (daunorubicine, idarubicine, doxorubicine, épirubicine), des épipodophyllotoxines (étoposide, téniposide), des anthracènediones, des aminoacridines (amsacrine) et des ellipticines pour les inhibiteurs de topoisomérase II et des dérivés de la camptothécine (irinotécan, topotécan) pour ceux de la topoisomérase I.

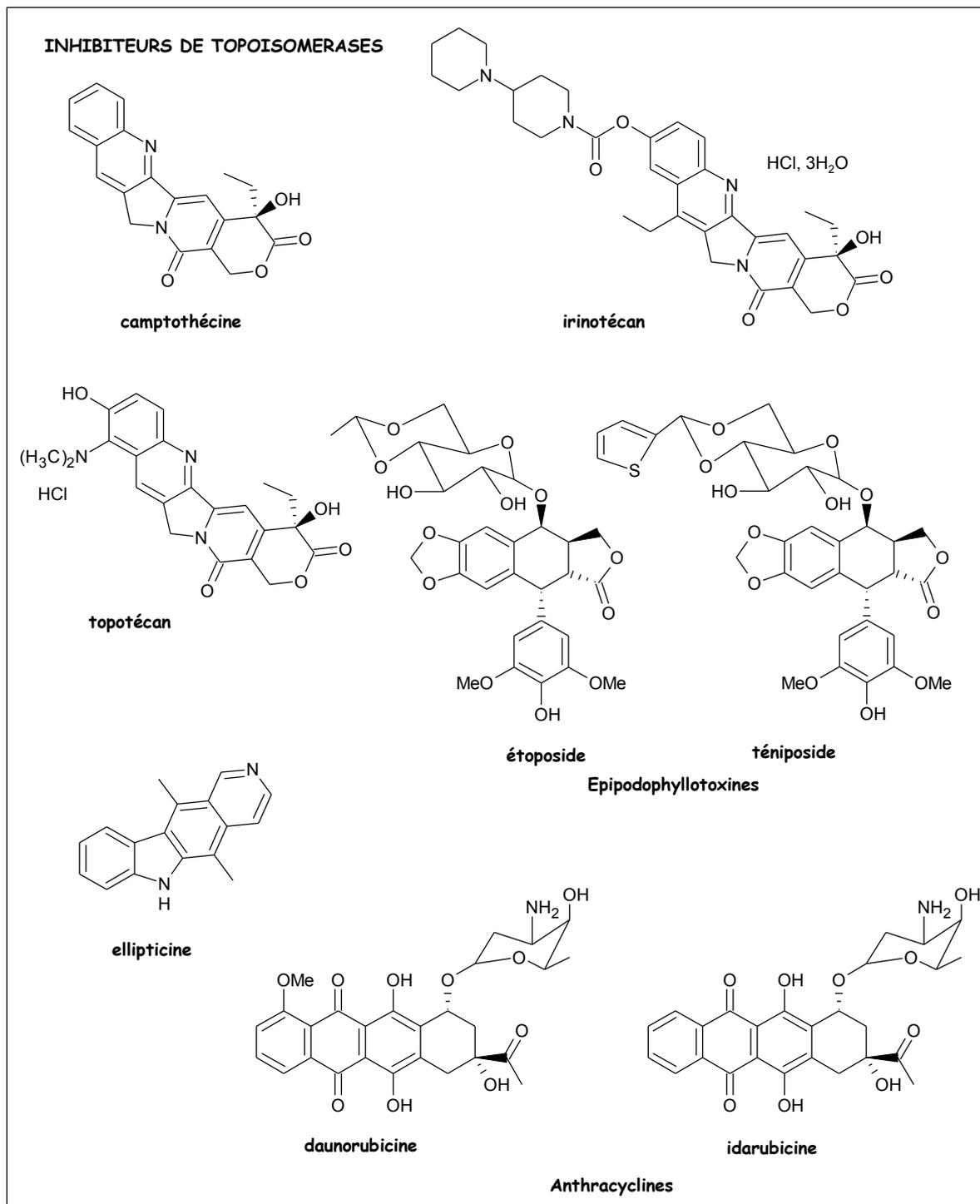


Figure 10 – Structures des inhibiteurs de topoisomérase

3. Antimétabolites

Les antimétabolites (figure 11) perturbent la synthèse de l'ADN en interférant avec la synthèse des acides nucléiques selon deux mécanismes : inhibition de la biosynthèse des nucléotides et des acides nucléiques conduisant à un blocage de la synthèse de l'ADN qui, s'il est suffisamment long, entraîne la mort cellulaire, incorporation dans les acides nucléiques.

Différents composés ont été synthétisés ; il s'agit généralement d'analogues des pyrimidines et des purines dont la modification porte sur la base (base libre ou nucléoside), et/ou sur l'entité osidique.

b.1. Antiprimidines

Le principal représentant de cette famille est le 5-fluorouracile (5-FU), analogue de l'uridine dans lequel l'hydrogène en 5 a été remplacé par un atome de fluor. Il est responsable de l'inhibition de la thymidylate synthétase (enzyme impliquée dans la méthylation de l'uracile pour conduire à la thymine) ce qui aboutit à une carence en thymine (absolument nécessaire à la synthèse de l'ADN). De plus, par son incorporation dans les acides nucléiques, le 5-fluorouracile affecte la transcription, la distribution intracellulaire et la traduction de l'ARN messager. Le 5-fluorouracile est utilisé en association avec d'autres agents cytotoxiques tels que le méthotrexate (augmentation de son efficacité clinique) ou en association avec des agents non cytotoxiques mais capables de moduler l'activité cytotoxique du 5-fluorouracile (acide folinique, lévamisole ou interféron α).

Un grand nombre de fluoropyrimidines ont fait l'objet d'études précliniques, notamment dans le but d'obtenir des composés actifs par voie orale, mais relativement peu sont passées en utilisation clinique courante.

Le cytarabine ou cytosine arabinose a été isolé d'éponges des Caraïbes ; c'est un analogue de la cytosine, dont la partie sucre est modifiée (remplacement du ribose par un arabinose).

D'autres analogues pyrimidiniques sont utilisés cliniquement. On peut citer la 5-azacytidine ou fazarabine, la 5-aza-2'-désoxycytidine ou décitabine, actuellement en cours d'évaluation et les dérivés de *N*-octadécyl de la cytosine (NOMC) ou de la cytarabine (NOAC), testés sur les leucémies et tumeurs résistantes à l'Ara-C (cytosine arabinose) ou devenues résistantes par un phénomène de MDR.

b.2. Antipurines

Différents analogues des purines ont été synthétisés et cinq d'entre eux sont utilisés en clinique. Il s'agit de la mercaptopurine et la thioguanine, obtenues par substitution en position 6 par un atome de soufre, la cladribine, obtenue par substitution en position 2 par un halogène, la pentostatine, obtenue par homologation de l'hétérocycle purique et la fludarabine, analogue de l'adénine et de la guanine dont la base et l'entité osidique ont été modifiées.

Les antipurines pénètrent facilement dans les cellules et toutes, sauf la pentostatine, sont transformées en métabolites actifs qui sont capables de leurrer l'organisme en s'intégrant à l'une ou l'autre des étapes de l'anabolisme des nucléotides à purine. Comme faux-substrats d'enzymes clés telle que la ribonucléotide réductase et diverses polymérases, ils bloquent la synthèse des nucléotides puriques. Comme faux-nucléotides, ils perturbent le système de récupération des bases et nucléosides susceptibles de régénérer les nucléotides. La pentostatine perturbe le catabolisme usuel de l'adénosine et de la désoxyadénosine dont elle est un analogue structural proche.

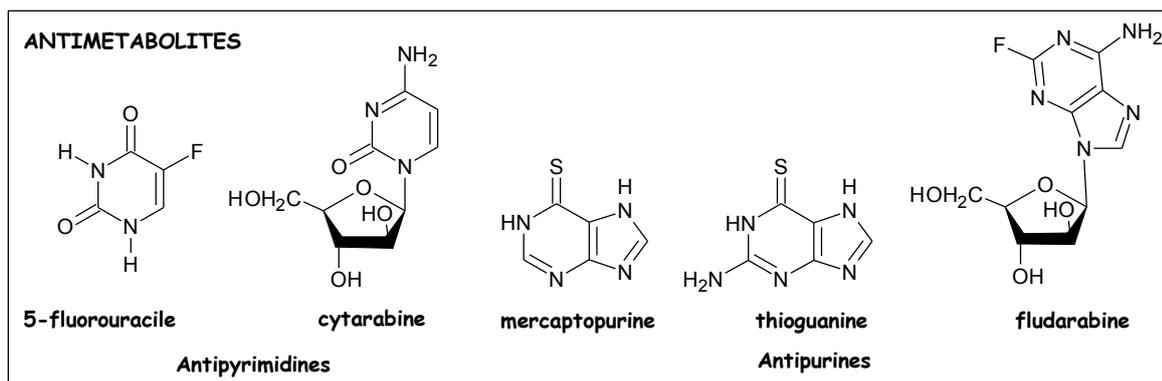


Figure 11 – Structures des antimétabolites (antiprimidines et antipurines)

b.3. Antifoliques

Le méthotrexate (figure 12) possède une structure proche de celle de l'acide folique. Son activité cytotoxique est liée à son pouvoir inhibiteur de la dihydrofolate réductase cellulaire (DHFR), enzyme qui assure la conversion de l'acide folique en folates réduits et qui est nécessaire à la synthèse d'ADN cellulaire. Le méthotrexate provoque, après pénétration dans la cellule, une accumulation d'acide dihydrofolique et bloque ou perturbe la biosynthèse des bases puriques et pyrimidiques.

Un analogue du méthotrexate, le raltitrexed, possède également une bonne affinité pour la DHFR. De nombreux analogues du méthotrexate sont en cours d'évaluation ; on peut citer notamment le lométrexol, le pemetrexed, l'édatrexate, le pyritrexim et le trimétrexate.

Le folinate de calcium est une source de folates pouvant être converti en N^5, N^{10} -méthylène tétrahydrofolate qui constitue le cofacteur de la thymidylate synthase (TS), enzyme clé de la biosynthèse de l'ADN. C'est un antagoniste naturel spécifique des agents antifoliques tels que le méthotrexate. Il corrige ainsi les accidents toxiques provoqués par ce principe actif lors de traitement de tumeurs malignes, dont les leucémies. Par ailleurs, il stabilise le complexe ternaire formé entre le 5-fluorouracile et la TS ce qui permet d'augmenter le taux de réponses favorables dans certaines indications thérapeutiques.

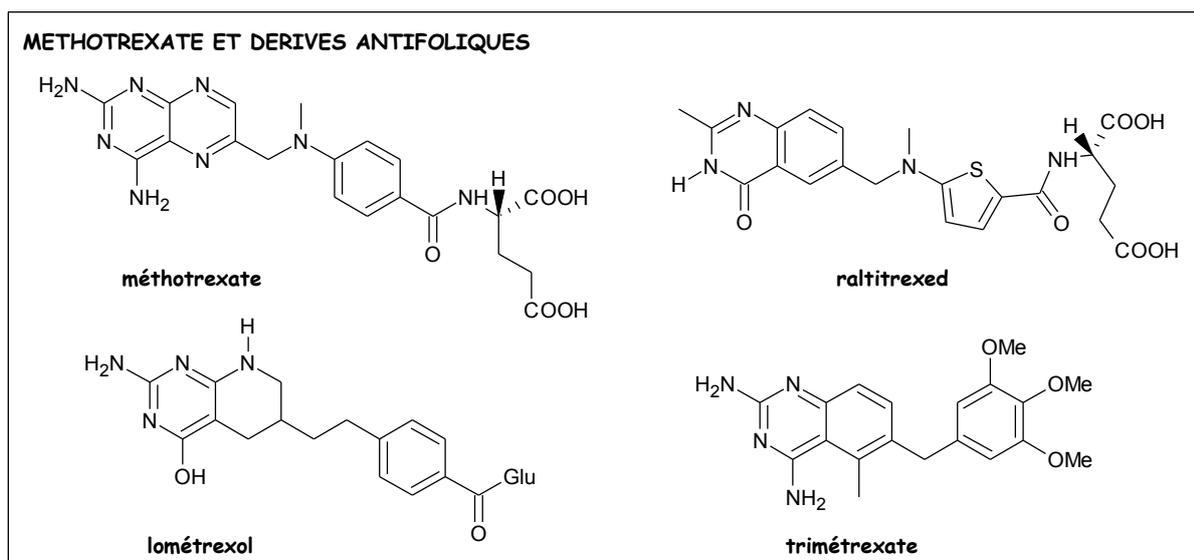


Figure 12 – Structures du méthotrexate et des dérivés antifoliques

b.4. Hydroxycarbamide et inhibiteurs de la ribonucléotide réductase

L'hydroxycarbamide (figure 13) est utilisée en chimiothérapie anticancéreuse depuis la fin des années 70. Elle inhibe la ribonucléotide réductase, enzyme clé de la biosynthèse de l'ADN. Depuis, de nombreuses études ont été menées concernant la structure, le fonctionnement et la régulation de la ribonucléotide réductase ; elles ont permis de développer de nouveaux inhibiteurs de cette enzyme. Actuellement, seul un nouveau inhibiteur de la ribonucléotide réductase est utilisé cliniquement, la gemcitabine, mais d'autres composés sont en cours d'étude.

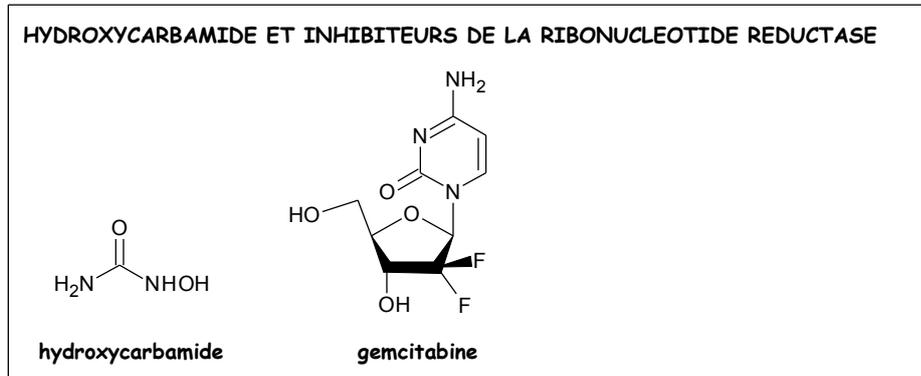


Figure 13 – Structures de l'hydroxycarbamide et des inhibiteurs de la ribonucléotide réductase

4. Principes actifs interférant avec la tubuline et les microtubules : poisons du fuseau

Les poisons du fuseau, également désignés sous le terme d'antimitotiques, bloquent la mitose cellulaire et provoquent l'apoptose des cellules traitées. Notre objectif étant notamment la synthèse de composés indoliques inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline, nous développerons cette partie ultérieurement, après avoir présenté le cytosquelette, ses constituants et l'implication des microtubules dans la formation du fuseau mitotique.

PARTIE I SYNTHÈSE DE COMPOSÉS INDOLIQUES INHIBITEURS DE LA
POLYMERISATION DE LA TUBULINE

INTRODUCTION

A. LE CYTOSQUELETTE ET SES CONSTITUANTS

Dans ce chapitre, nous nous focaliserons sur la structure du cytosquelette et ses nombreuses fonctions qui concernent entre autres la forme de la cellule et les divers mouvements cellulaires et intracellulaires.

Le cytosquelette (figure 1) est un réseau complexe de filaments et tubules protéiques qui s'étend dans tout le cytoplasme, de la surface jusqu'au noyau des cellules eucaryotes. La fonction de ces structures filamenteuses ou tubulaires est de maintenir la forme et la texture physique de la cellule, de servir de support structural à plusieurs fonctions cellulaires et de permettre le mouvement ou le déplacement de la cellule ainsi que le transport des organites et d'autres structures telles que les chromosomes mitotiques à travers le cytoplasme. Contrairement au squelette osseux qui est rigide, le cytosquelette cellulaire est une structure très dynamique qui se réorganise continuellement au cours du cycle cellulaire. Tous les éléments du cytosquelette sont des structures protéiques allongées résultant de la polymérisation d'éléments monomériques. On distingue trois constituants essentiels au cytosquelette : les microfilaments d'actine, les filaments intermédiaires et les microtubules.

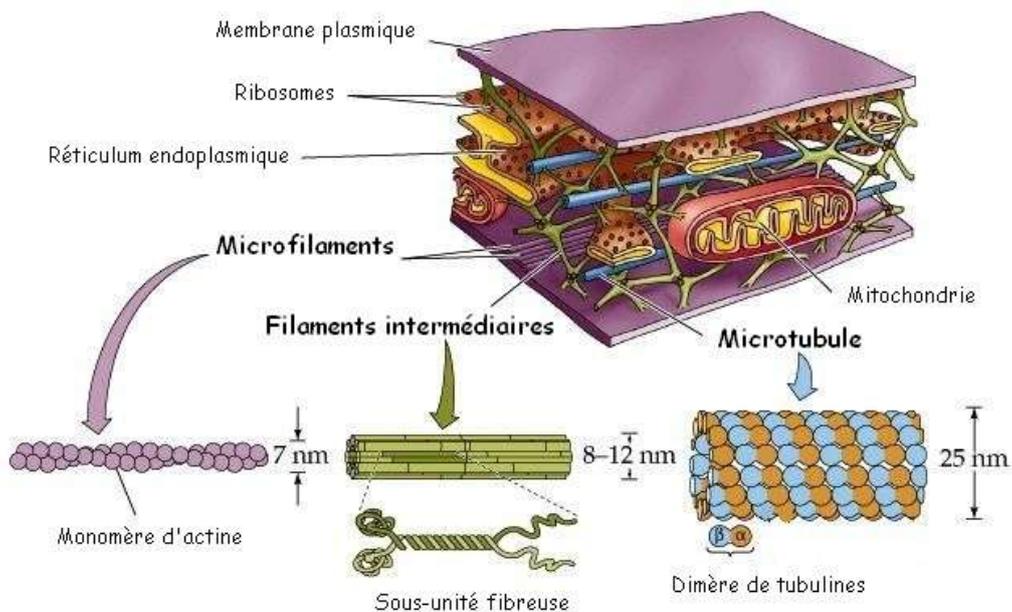
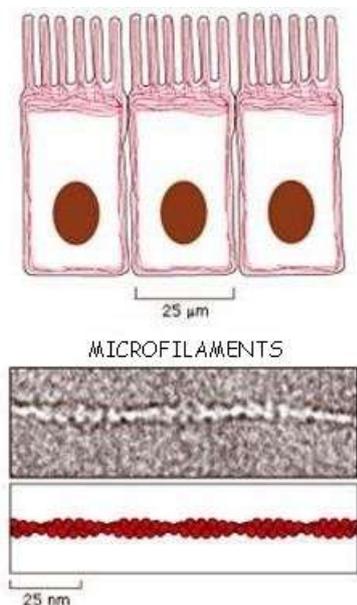


Figure 1 – Les constituants du cytosquelette

1. Les microfilaments ou filaments d'actine²

a. Structure des microfilaments



Les microfilaments ou filaments d'actine sont des filaments d'un diamètre de 7 à 9 nm, constitués d'un cœur d'actine (protéine intracellulaire prépondérante dans les cellules eucaryotes) associé à diverses protéines. Ils sont présents uniquement en périphérie de la cellule (figure 2). L'actine se polymérise en présence d'ATP en une hélice serrée de 7 à 9 nm de diamètre formant un filament flexible et polaire. Les microfilaments d'actine sont appelés parfois actine F et les protéines globulaires qui le constituent de l'actine G. *In vivo*, la polymérisation de l'actine est contrôlée par de nombreuses protéines : la profiline, qui aide à l'intégration de l'actine dans le polymère, la tropomoduline, qui évite la croissance lente, le complexe ARP2/3 (Actin Related Proteins 2 et 3) qui est impliqué dans l'initiation de la polymérisation, CapZ, qui évite la croissance rapide et la gelsoline, qui évite la repolymérisation rapide.

Figure 2 - Microfilaments

Par des exemples spécifiques, nous illustrons ci-dessous quelques fonctions des filaments d'actine.

b. Fonctions des microfilaments

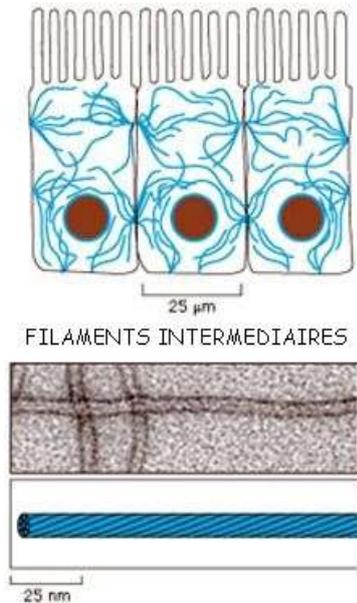
Les filaments d'actine sont impliqués dans la migration cellulaire. En effet, l'actine joue un rôle dans la formation des lamellipodes, extensions dynamiques des leucocytes qui leur permettent de se déplacer sur une surface pour gagner la source d'infection. Le réseau d'actine périphérique sous-membranaire sert d'appui à la polymérisation de nouveaux filaments qui repoussent la membrane (phénomène de protusion membranaire), formant ainsi progressivement le lamellipode. Les lamellipodes se forment et disparaissent en quelques secondes, témoignant de la dynamique rapide de la polymérisation et dépolymérisation de l'actine.

Les microfilaments sont également impliqués dans la traction de la matrice extracellulaire. Les faisceaux contractiles d'actine forment des fibres dites « de tension » dans les fibroblastes tissulaires (tissu conjonctif) les rendant capables de se contracter et d'exercer ainsi une traction sur la matrice extracellulaire qui les entoure. Ce processus est essentiel pour entamer la cicatrisation au cours de laquelle les deux lèvres de la blessure doivent progressivement être rapprochées.

Les microfilaments jouent aussi un rôle au niveau de la cytotérièse. En fin de mitose, après que les chromosomes se soient séparés, les filaments d'actine forment en périphérie de la cellule et perpendiculairement à l'axe du fuseau mitotique un faisceau contractile appelé anneau contractile. Quand l'anneau se contracte, il sépare la cellule mère en deux cellules filles : c'est la cytotérièse.

2. Les filaments intermédiaires²

a. Structure des filaments intermédiaires



Les filaments intermédiaires, présents dans le cytoplasme de la plupart des cellules, sont des fibres de 8 à 12 nm de diamètre en forme de corde. Ils sont appelés intermédiaires car leur diamètre apparent est compris entre celui des microfilaments et celui des microtubules. Dans la plupart des cellules un réseau extensif de filaments intermédiaires entoure le noyau et s'étend jusqu'à la périphérie cellulaire (figure 3). Contrairement aux protéines globulaires des microtubules et des microfilaments, les sous-unités protéiques des filaments intermédiaires sont des molécules étendues qui s'associent en polymères pour former des structures en forme de corde (la séquence en acides aminés des sous-unités protéiques favorise la formation de dimères superenroulés). Au cours de l'étape d'assemblage, deux des dimères superenroulés s'associent de manière antiparallèle pour former une sous-unité tétramérique, appelé protofilament. Le filament intermédiaire résulte de l'association de 8 protofilaments.

Figure 3 – Filaments intermédiaires

Alors que les microfilaments et les microtubules sont en équilibre constant entre les formes polymérisées et les formes libres de sous-unités, les filaments intermédiaires semblent avoir une dynamique d'association plus simple et apparaissent sous forme polymérisée. Cependant, l'assemblage ou au contraire la dissociation du filament peut s'effectuer mais il s'agit toujours d'un processus lent (plusieurs minutes alors que pour ce qui concerne l'actine et la tubuline, seules quelques secondes sont nécessaires).

Il existe 5 grandes classes de sous-unités protéiques (selon le type cellulaire) qui constituent les filaments intermédiaires : la vimentine (cellules mésenchymateuses telles que les fibroblastes et les cellules endothéliales de vaisseaux sanguins), la desmine (cellules musculaires), les neurofilaments (cellules nerveuses), les protéines fibrillaires acides (cellules gliales du système nerveux) et les cytokératines (cellules épithéliales). Bien que leur composition chimique varie, toutes les sous-unités protéiques des filaments intermédiaires partagent une structure moléculaire commune : un domaine N-terminal de dimension variable, un domaine bâton central de 40 nm et un domaine C-terminal de taille variable.

Les fonctions des filaments intermédiaires sont illustrées ci-dessous par quelques exemples.

b. Fonctions des filaments intermédiaires

Les filaments intermédiaires sont responsables du maintien de l'intégrité cellulaire et tissulaire de l'épithélium. Dans les cellules épithéliales, les filaments intermédiaires sont fortement impliqués dans deux types de jonctions d'ancrage : les desmosomes, jonctions entre deux cellules adossées, où ils sont liés avec les membres de la famille des cadhérines, et les héli-desmosomes, jonctions entre une cellule épithéliale et le tissu conjonctif sous-jacent, où ils sont liés aux intégrines. La désorganisation du réseau de filaments intermédiaires dans ces cellules épithéliales (par certaines mutations ponctuelles dans les gènes des kératines 5 et 14) rend les cellules sensibles aux forces mécaniques, si bien que la moindre pression peut rompre la cellule, induisant ainsi l'inflammation et la formation d'ampoules cutanées. Cette fragilité est à l'origine de la maladie appelée épidermolyse bulleuse.

D'autre part, les filaments intermédiaires assurent le soutien de l'enveloppe nucléaire. Un treillis de filaments intermédiaires, polymères de lamine, qui double la face interne de l'enveloppe nucléaire, forme la lamina nucléaire. Elle soutient l'enveloppe et donne au noyau sa forme généralement globulaire.

Les filaments intermédiaires sont également impliqués dans la formation des ongles, des cheveux et de la couche cornée de la peau. Les filaments de kératine sont formés en excès par les cellules épidermiques (kératinocytes) et les cellules de l'assise génératrice dans le follicule pileux. Cette expression excessive entraîne la mort des cellules qui restent assemblées (par des desmosomes) et qui forment progressivement la couche cornée, un ongle ou un poil (ou un cheveu). Les caractéristiques des filaments intermédiaires, à savoir la résistance aux tensions et aux détergents et l'insolubilité dans l'eau, sont donc essentielles pour une bonne défense contre les agressions physiques et chimiques dirigées contre l'organisme entier.

Contrairement aux filaments d'actine et aux microtubules, les filaments intermédiaires n'interviennent pas directement dans la motilité cellulaire mais semblent jouer un rôle structurel fondamental en constituant la trame résistante des cellules et des tissus.

3. Les microtubules^{4,5,6,7,8}

a. Structure des microtubules

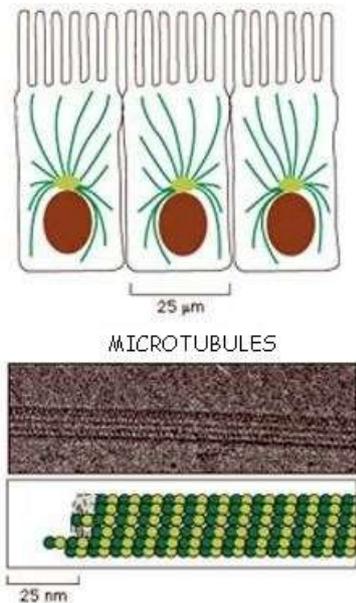


Figure 4 - Microtubules

Les microtubules sont très présents dans les cellules eucaryotes et particulièrement abondants dans les cellules nerveuses dans lesquelles ils représentent 10 à 20 % des protéines totales. Ils sont également des constituants importants des centrioles, des cils, des flagelles et de l'appareil mitotique. Les microtubules sont des polymères cylindriques, creux et rigides d'environ 25 nm de diamètre, de 5 nm d'épaisseur et pouvant atteindre plusieurs micromètres de long. Ils sont constitués de dimères de tubuline, protéine globulaire de 52 kDa. Chaque dimère résulte de l'association d' α - et de β -tubuline. Ces hétérodimères sont alignés avec une alternance $\alpha\beta$ pour former les protofilaments. La paroi du microtubule est constituée d'un arrangement ordonné en hélice de molécules d' α et de β -tubuline de telle manière qu'une molécule d' α -tubuline soit adjacente dans le plan longitudinal à une molécule de β -tubuline.

Il existe diverses formes de tubuline : 6 formes d' α -tubuline et 6 formes de β -tubuline. Il existe également des γ , δ et ε tubulines que l'on ne trouve pas dans les microtubules mais dans les structures centriolaires. Les α et β -tubulines lient le GTP (guanosine triphosphate). Le GTP de l' α -tubuline est enfoui à l'intérieur du cylindre et il est non échangeable, alors que le GTP de la β -tubuline est exposé en surface du microtubule et il est échangeable.

⁴ K.H. Downing et E. Nogales, Tubulin structure: insights into microtubule properties and functions, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1998**, 8, 785-791.

⁵ H.C. Joshi, Microtubule dynamics in living cells, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1998**, 10, 35-44.

⁶ R.H. Wayde et A.A. Hyman, Microtubule structure and dynamics, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1997**, 9, 12-17.

⁷ K.H. Downing et E. Nogales, Tubulin and microtubule structure, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1998**, 10, 16-22.

⁸ A. Desai et T.J. Mitchison, Microtubule polymerization dynamics, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **1997**, 13, 83-117.

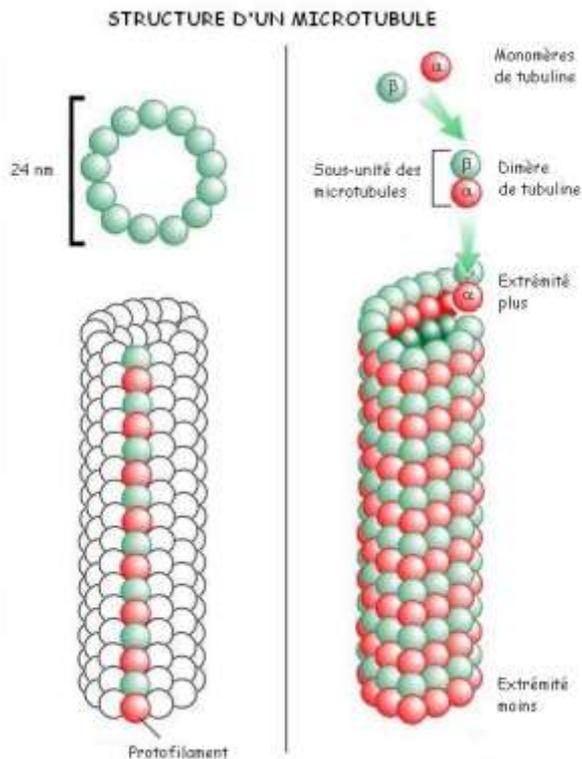


Figure 5 – Structure d'un microtubule catastrophe

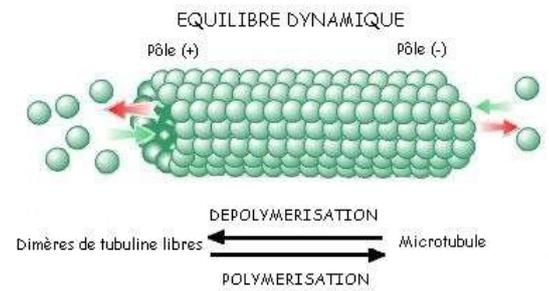


Figure 6 – Equilibre dynamique

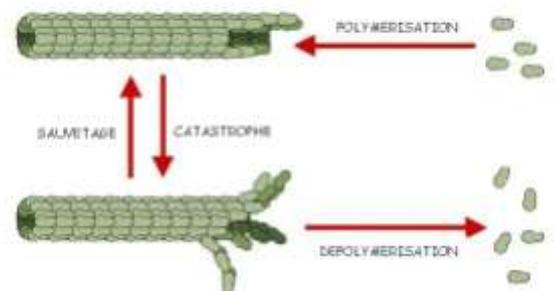


Figure 7 – Sauvetage et catastrophe

Les hétérodimères de tubuline sont arrangés en protofilaments parallèles, tous orientés dans la même direction, conférant au microtubule sa polarité. Ainsi, l'une des extrémités du microtubule est capable de croissance rapide (pôle plus), alors que l'autre extrémité se trouve le plus souvent enchâssée dans le centrosome et est peu dynamique (pôle moins). Les microtubules se forment dans la cellule par addition de molécules de tubuline sur des assemblages déjà présents dans la cellule ou à partir de centres de nucléation. Les centres de nucléation sont appelés MTOC (« microtubule-organizing center » ou centre d'organisation des microtubules) ; il s'agit des centrosomes et des corps basaux pour les axonèmes. Le centrosome est un complexe protéique organisé autour de deux structures appelées centrioles, situées normalement à proximité du centre de la cellule, juste à côté du noyau. C'est un centre de convergence d'un grand nombre de microtubules. Les centrioles sont faits de plusieurs formes de tubuline (α , β , γ , δ et ϵ). A la périphérie du centrosome on trouve la tubuline- γ faisant partie d'un complexe (« Tubulin Ring Complex », TuRC) dont la conformation sert de gabarit au microtubule en construction. A partir d'un centrosome, les dimères de tubuline (α et β) chargés en GTP sont ajoutés (α du côté pôle moins et β du côté pôle plus) et élaborent des protofilaments, qui s'assemblent latéralement entre eux, formant ainsi des feuillets. Les feuillets se replient progressivement sur eux-mêmes pour former le microtubule, cylindre creux et rigide. Généralement le microtubule est composé de 13 protofilaments (figure 5) mais il existe des microtubules qui sont le résultat de l'assemblage de 11 ou 16 protofilaments. Plusieurs centaines de microtubules poussent en permanence vers la périphérie.

Les microtubules subissent un cycle rapide de polymérisation/dépolymérisation, de l'ordre de quelques secondes ou quelques minutes (figures 6 et 7). Certains microtubules croissent alors que d'autres régressent, voire disparaissent. Ces propriétés structurales et dynamiques complexes des microtubules sont directement corrélées à leurs fonctions dans la cellule. On pense que l'hydrolyse du GTP est à la base de cette « instabilité dynamique » (figure 8). La tubuline existe sous deux états conformationnels : un état GDP instable constituant l'essentiel de la paroi du microtubule et un état GTP stable coiffant l'extrémité du microtubule et permettant la polymérisation par ajout de nouvelles sous-unités de tubuline. Quand un dimère de tubuline s'ajoute à l'extrémité d'un microtubule, la molécule de GTP liée à la β -tubuline peut être hydrolysée en GDP (guanosine diphosphate) et Pi (orthophosphate) pendant ou peu après l'arrimage du dimère de tubuline à l'extrémité du microtubule. L'hydrolyse du GTP change la conformation des sous-unités et affaiblit les liaisons entre les protofilaments. Ces derniers peuvent alors se séparer et les dimères de tubuline situés à leur extrémité peuvent se libérer. Par contre, si d'autres tubulines garnies de GTP s'ajoutent à cette extrémité avant l'hydrolyse du GTP lié (ou avant la dissociation de la tubuline au GDP), il y a alors élongation du microtubule. Ainsi, une concentration élevée de tubuline favorise la croissance alors qu'une faible concentration conduit à une « coiffe GDP » qui provoque la dépolymérisation. C'est donc la perte aléatoire de cette coiffe GTP qui entraînerait les catastrophes.

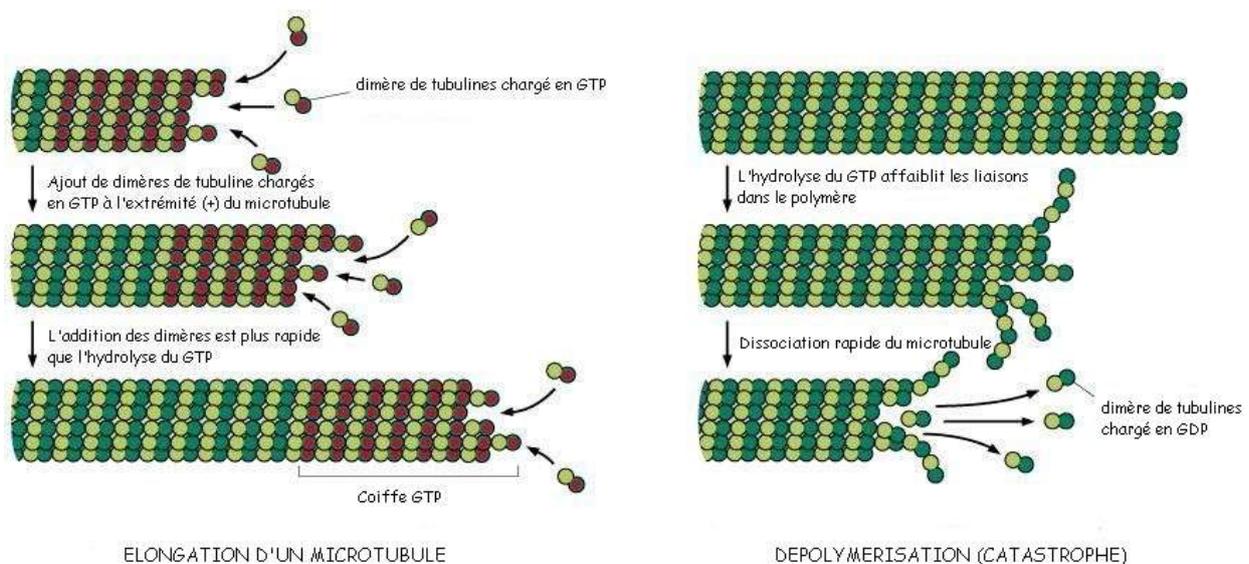


Figure 8 – Instabilité dynamique des microtubules

L'instabilité dynamique des microtubules entraîne le phénomène de catastrophe (transition entre polymérisation et dépolymérisation), dissociation rapide des dimères de tubuline pour conduire si la dissociation ne s'arrête pas, à la désagrégation complète du microtubule. Les cellules peuvent modifier cette instabilité dynamique par des protéines qui s'associent aux microtubules sur toute leur longueur : les "microtubule-associated proteins" ou protéines microtubulaires associées.

Deux familles de protéines « motrices » interagissent avec les microtubules (figure 9). Ce sont les kinésines (130 kDa) qui se déplacent vers l'extrémité plus du microtubule et les dynéines (540 kDa), qui se déplacent vers l'extrémité moins (en direction du centrosome). Ces protéines motrices sont toujours associées à d'autres protéines. La kinésine est associée à une chaîne protéique légère (de 64 kDa) qui lui permet de fixer les organites cellulaires à transporter. La dynéine est emballée dans un complexe protéique, constitué de six chaînes intermédiaires (de 53 à 80 kDa) et de six chaînes légères (de 8 à 22 kDa), qui est capable de fixer les organites. Les protéines motrices utilisent l'énergie dérivée de cycles répétés d'hydrolyse de l'ATP pour se déplacer le long du microtubule.

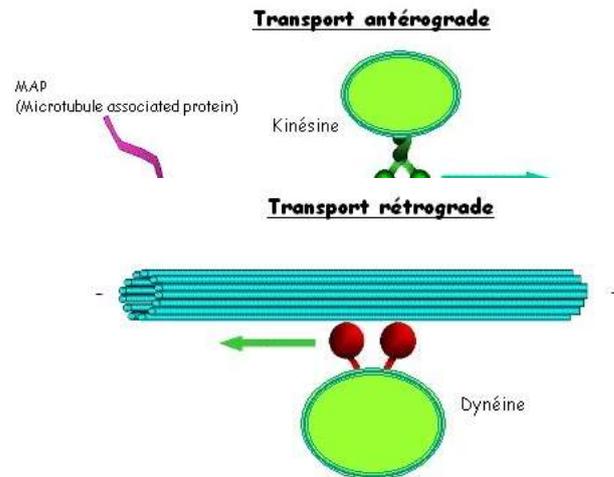


Figure 9 – Transport des organites cellulaires le long des microtubules

Par des exemples spécifiques nous illustrons ci-dessous quelques fonctions des microtubules.

b. Fonctions des microtubules

Le cytosquelette joue un rôle important pour l'endocytose et l'exocytose *via* le transport le long des microtubules des vésicules sécrétrices ou d'organites comme les lysosomes ou l'appareil de Golgi. Les dimères de dynéine et kinésine peuvent être attachés, par leur côté queue, à des structures intracellulaires telles que les neurofilaments, les filaments intermédiaires, le réticulum endoplasmique, le Golgi, la membrane cytoplasmique, les chromosomes (kinétochores) et les vésicules de sécrétion. En interagissant côté tête avec les microtubules, ils vont donc permettre le déplacement de ces structures cellulaires.

Les microtubules sont utilisés également pour élaborer des propulseurs qui permettent le mouvement de la cellule. Ils sont alors associés à d'autres protéines pour former des structures plus complexes, comme les cils et les flagelles. C'est par la flexion de leur faisceau de microtubules que les cils et flagelles peuvent se mouvoir. Leur motilité permet le déplacement de la cellule elle-même mais aussi le déplacement de substances autour de la cellule.

Les microtubules et leurs protéines motrices jouent un rôle essentiel dans l'élaboration du fuseau mitotique et la séparation des chromosomes pendant la mitose. Ce sujet est traité en détail dans la partie suivante.

B. MICROTUBULES ET MITOSE

1. Mitose et fuseau mitotique

Les microtubules sont essentiels à la division cellulaire au cours de laquelle ils forment une structure bipolaire, complexe et dynamique, appelée fuseau mitotique. Pendant la mitose, ce fuseau permet la ségrégation correcte des chromosomes et assure ainsi la formation de deux cellules filles identiques. Il résulte de la réorganisation complète du réseau microtubulaire lors de l'entrée en mitose, après duplication du matériel génétique et du centrosome. En début de mitose, la charpente de microtubules présents pendant l'interphase se désagrège et les protomères de tubulines libérés se réorganisent ; on parle de refonte du cytosquelette microtubulaire. Les microtubules deviennent dynamiques et leur taille réduite, le nombre de microtubules organisé par les centrosomes est décuplé. La stabilité des microtubules diffère donc selon que la cellule est en interphase ou en mitose. Alors qu'en interphase, les microtubules ont une demi-vie d'environ 15 minutes, en mitose, cette demi-vie diminue pour atteindre seulement 30 à 90 secondes.

Après condensation de la chromatine, rupture de l'enveloppe nucléaire et migration des centrosomes de part et d'autre du noyau pour former les pôles de l'appareil mitotique, les microtubules croissent préférentiellement vers la masse des chromosomes. Un fuseau bipolaire est mis en place (figure 10). Ce dernier est constitué de deux réseaux symétriques et antiparallèles de microtubules dont l'une des extrémités interagit avec les chromosomes et l'autre est ancrée aux pôles du fuseau. Il est constitué de microtubules kinétochoriens, ancrés aux chromosomes, de microtubules polaires qui se chevauchent au centre de la cellule et de courts microtubules astraux, qui rayonnent des centrosomes vers les bords de la cellule. Les microtubules kinétochoriens s'attachent aux chromosomes condensés au niveau de leur kinétochore, ce qui conduit à leur stabilisation. Ils jouent un rôle clé dans la séparation des chromosomes au moment de l'anaphase. Les microtubules polaires ne sont pas attachés aux chromosomes ; ils naissent des deux centrosomes et s'imbriquent les uns dans les autres au centre de la cellule. Les microtubules astraux rayonnent des centrosomes, avec leurs extrémités plus tournées vers la périphérie de la cellule. Ce sont les microtubules polaires et les microtubules astraux qui séparent simultanément les chromosomes en éloignant l'un de l'autre les pôles du fuseau.

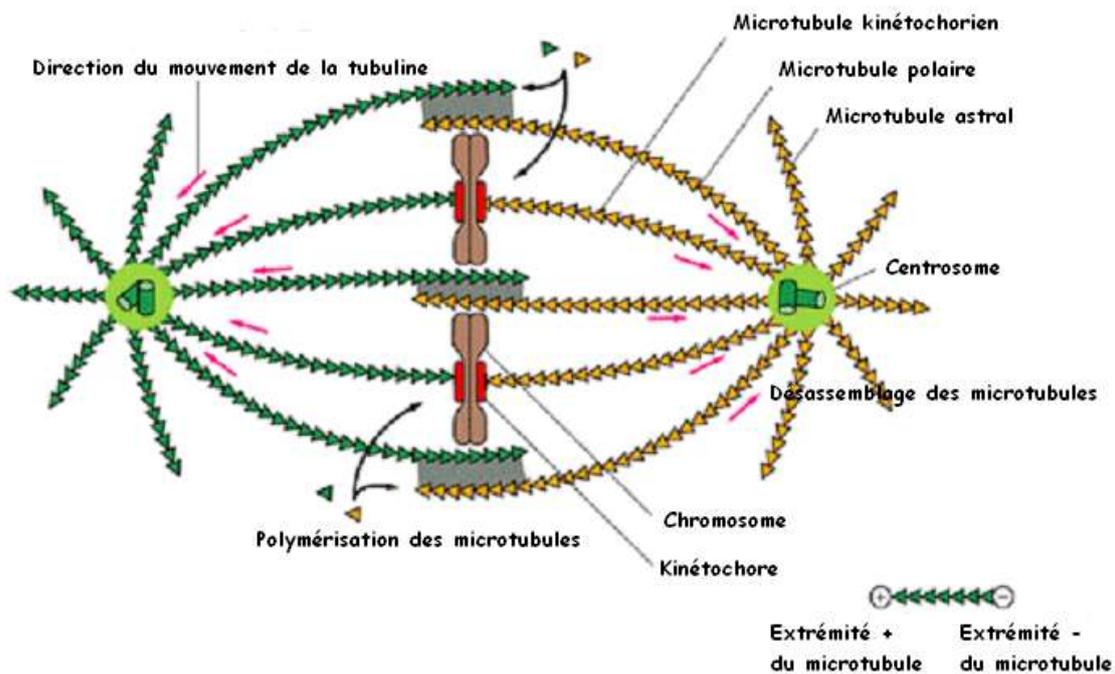
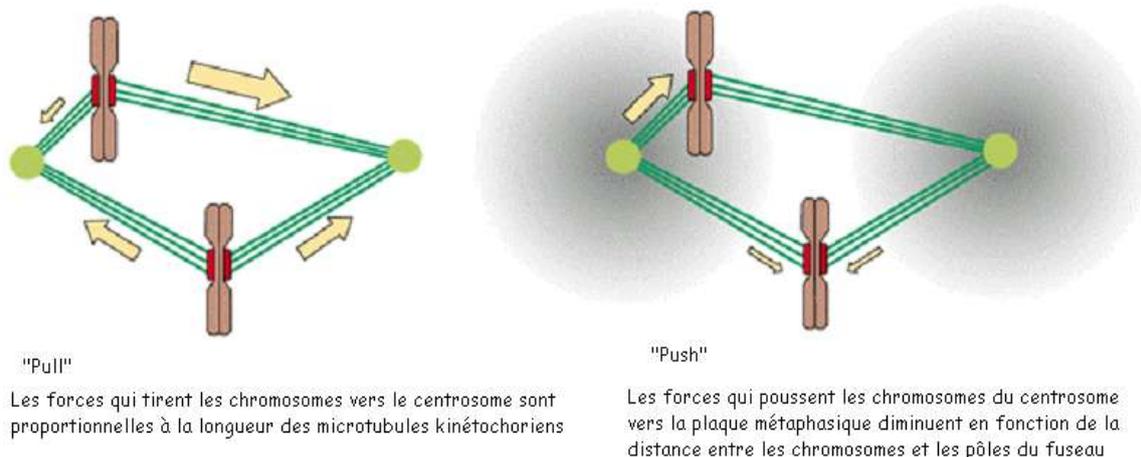


Figure 10 – Les microtubules dans le fuseau mitotique

Au niveau de ce fuseau mitotique, les chromosomes sont soumis à des forces antagonistes (« push » et « pull ») exercées par les microtubules sur leurs bras et leurs kinétochores (figure 11). Ces forces opposées conduisent à l'alignement des chromosomes sur la plaque équatoriale de la cellule en métaphase, appelée plaque métaphasique.



Alignement des chromosomes sur la plaque métaphasique

Figure 11 – Alignement des chromosomes pendant la métaphase

Cette étape précède la ségrégation des chromosomes en anaphase ; chaque copie des chromosomes dupliqués migre vers chacun des pôles avant que l'enveloppe nucléaire ne se reforme à nouveau et que débute la cytotéière. La séparation des deux chromatides soeurs se fait en deux phases, appelées anaphase A et anaphase B, qui mettent chacune en jeu leurs propres microtubules et moteurs moléculaires associés. L'anaphase A (figure 12) correspond au déplacement le long des microtubules kinétochoriens des chromosomes vers les pôles du fuseau. A mesure que les chromosomes se déplacent, les microtubules kinétochoriens se raccourcissent. Comme nous le verrons plus tard, ce glissement chromosomique le long des microtubules kinétochoriens est dû en partie à un moteur protéique fixé au kinétochore, qui pousse les chromosomes vers le pôle moins des microtubules du fuseau c'est-à-dire vers le centrosome. Ce processus est également favorisé par le raccourcissement des microtubules kinétochoriens et leur démembrement. Lors de la seconde phase, l'anaphase B, les pôles du fuseau s'éloignent ce qui s'accompagne d'un allongement des microtubules polaires. Deux forces qui mettent en jeu les microtubules polaires et les microtubules astraux s'exercent pour engendrer la séparation des pôles du fuseau. Les microtubules polaires se chevauchant peuvent glisser les uns sur les autres, en écartant les pôles, probablement sous l'action de moteurs moléculaires glissant vers l'extrémité plus des microtubules. D'autre part, les pôles sont écartés par les microtubules astraux. La force mise en jeu est due soit à un moteur moléculaire (dynéine) arrimé à une structure cytoplasmique telle que le cortex cellulaire, qui se déplace vers l'extrémité moins d'un microtubule astral engendrant l'écartement l'un par rapport à l'autre des pôles du fuseau vers les bords de la cellule, soit à un moteur ancré au pôle du fuseau qui glisse vers l'extrémité plus des microtubules astraux, ce qui revient à pousser les pôles du fuseau vers les bords de la cellule.

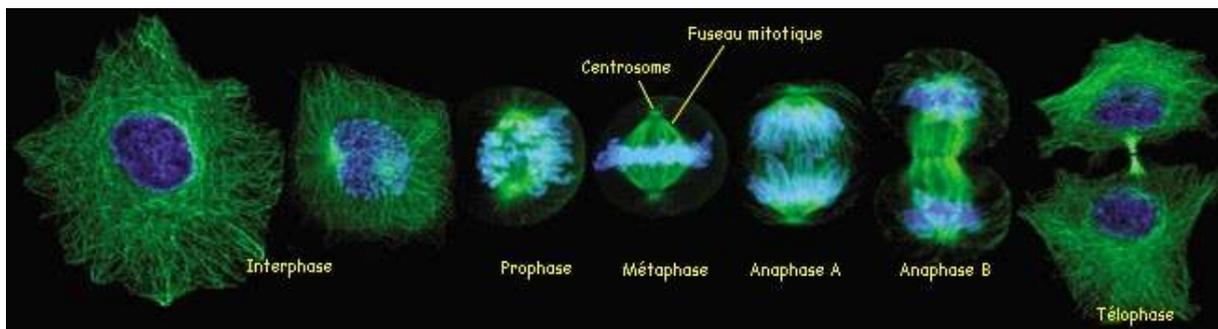


Figure 12 - Mitose

2. Rôle des centrosomes dans l'assemblage du fuseau mitotique⁹

Différentes observations ont permis très tôt d'affirmer que le centrosome était responsable de l'assemblage du fuseau mitotique. La première est que, pendant la mitose, les centrosomes sont situés aux pôles du fuseau mitotique et sont les centres à partir desquels s'organisent les microtubules (MTOC, « microtubule-organizing center »). La seconde est que lorsqu'une cellule possède un nombre anormal de centrosomes, il y a alors formation de fuseaux multipolaires ; le nombre de centrosomes définit donc le nombre de pôles du fuseau. D'après différentes études, les centrosomes dirigent la morphogenèse du fuseau en générant des microtubules astraux, qui « cherchent et capturent » les chromosomes. Les microtubules astraux capturent les chromosomes au niveau de leur kinétochore, ce qui les stabilisent, puis le fuseau mitotique se forme. Mais ce mécanisme de « recherche et capture » ne permet pas d'expliquer comment la mitose a lieu dans les cellules qui ne possèdent pas de centrosomes, telles que les cellules de plantes ou d'ovocytes. Différentes expériences ont montré que la chromatine jouait un rôle clé dans la formation du fuseau mitotique dans les cellules acentrosomales. L'existence d'une kinase associée à la chromatine, capable d'inactiver localement Op18 (« oncoprotéin 18 » ou stathmine), rend les microtubules mitotiques plus stables près de la chromatine. Lorsque les microtubules sont en contact avec de la chromatine, leur fréquence de catastrophe diminue alors que celle de sauvetage augmente. La chromatine inverse localement la déstabilisation des microtubules en phase M ; on parle alors d'effet chromatine. L'expérience réalisée avec des billes de chromatine (billes magnétiques recouvertes d'ADN non spécifique) montre que l'assemblage du fuseau autour de celles-ci dépend de la production de Ran-GTP par la chromatine. Cette protéine Ran pourrait ainsi être le principal activateur de l'effet chromatine dans ce type de fuseau. Mais Ran-GTP règle aussi l'assemblage de microtubules du centrosome. En effet, des expériences ont montré que Ran-GTP est nécessaire à l'assemblage d'un fuseau qui contient des centrosomes et des kinétochores. Ainsi, l'effet chromatine relayé par Ran est commun et nécessaire à la formation de fuseaux en présence ou en l'absence de sources prédéfinies de microtubules (centrosomes). La protéine Ran favorise la formation du fuseau en relarguant des facteurs stabilisant les microtubules et des moteurs protéiques tels que NuMA, TPX2 et XCTK2. Les différentes études réalisées montrent que le rôle du centrosome est de générer des microtubules astraux qui cherchent dans le cytoplasme différents composants du fuseau mitotique et pas seulement les kinétochores. En fait, deux mécanismes sont impliqués dans la formation du fuseau : un mécanisme centrosomal et un mécanisme acentrosomal. Ces deux mécanismes sont présentés sur la figure 13.

⁹ P. Wadsworth et A. Khodjakov, E pluribus unum: towards a universal mechanism for spindle assembly, *Trends Cell Biol.*, **2004**, 14 (8), 413-419.

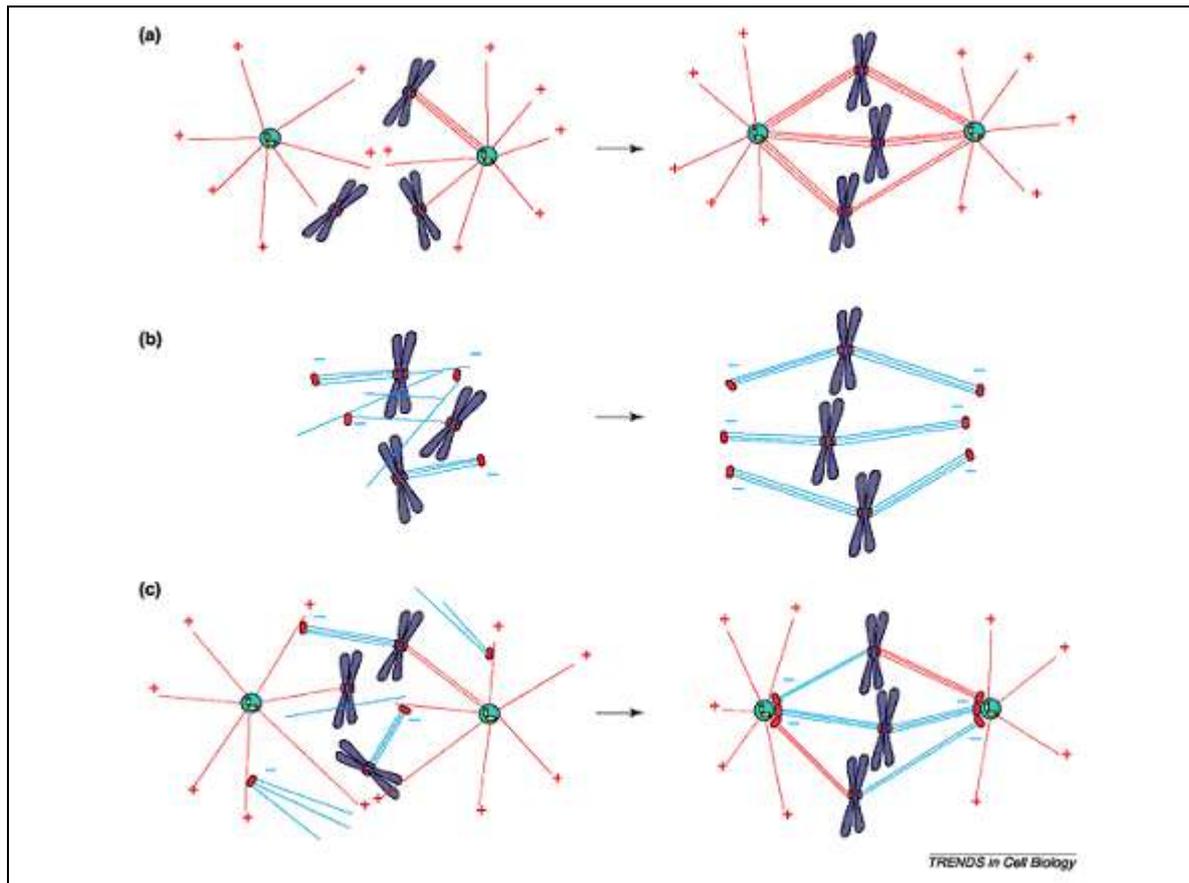


Figure 13 – Formation du fuseau mitotique

Les microtubules formés au niveau du centrosome sont représentés en rouge, les microtubules qui sont formés près de la chromatine sont représentés en bleu. La figure 13.a. représente la formation du fuseau mitotique selon le mécanisme de « recherche et capture » (« search and capture »). Les microtubules sont formés au niveau du centrosome. Ils cherchent les kinétochores des chromosomes puis les capturent pour former le fuseau mitotique. La figure 13.b. présente le mécanisme de formation du fuseau mitotique en l'absence de centrosomes. Les microtubules sont formés près de la chromatine ; ils sont ensuite transportés par différents moteurs moléculaires vers les pôles pour former le fuseau mitotique. La figure 13.c. présente le mécanisme retenu pour la formation du fuseau mitotique dans les cellules qui comportent des centrosomes. En fait, la formation du fuseau mitotique fait intervenir les deux mécanismes simultanément. Des microtubules sont formés au niveau du centrosome alors que d'autres sont formés près de la chromatine. Les microtubules formés par un mécanisme non-centrosomal (dont les microtubules kinétochoriens) sont « capturés » par les microtubules astraux formés au niveau du centrosome et sont transportés le long des microtubules astraux pour être incorporés dans le fuseau mitotique. Ce mécanisme permet de comprendre pourquoi le fuseau mitotique se forme même lorsque le centrosome a été extrait de la cellule.

3. Régulation de la dynamique des microtubules lors de la division cellulaire^{10,11,12,13,14,15,16,17,18}

La formation du fuseau mitotique résulte donc de la réorganisation des microtubules en début de mitose ; les microtubules deviennent plus longs et plus dynamiques que pendant l'interphase. Il existe deux types de protéines qui régulent la dynamique des microtubules : les MAPs (« microtubule-associated proteins »), qui se lient aux microtubules et modulent leurs propriétés dynamiques en les stabilisant et/ou en stimulant leur vitesse de polymérisation et également les facteurs de catastrophe, qui agissent comme déstabilisateur des microtubules.

a. Stabilisation des microtubules par les MAPs¹⁰⁻¹⁴

Le comportement dynamique des microtubules dépend de diverses MAPs qui varient selon le type de cellule. L'activité des MAPs est contrôlée par leur localisation intracellulaire et par des modifications post-traductionnelles dépendantes des régulateurs du cycle cellulaire. Diverses MAPs ont été identifiées et leurs interactions avec les microtubules afin de moduler les propriétés dynamiques de ces derniers peuvent être de différente nature. Les plus connues sont les MAPs neuronales MAP2 et Tau. MAP2 et Tau stabilisent les microtubules dans les axones et sont donc à la base du transport axonal ; ils se lient aux microtubules, favorisent leur nucléation et leur élongation et inhibent leur dépolymérisation.

La plus caractérisée des MAPs de cellules non-neuronales mammifères est la MAP4. Elle stabilise les microtubules en augmentant leur fréquence de sauvetage. XMAP230 (appelée aussi XMAP4 car elle possède 65 % de similarité au niveau de sa séquence et 30 % d'identité avec la MAP4) stabilise les microtubules en prévenant les catastrophes et en diminuant leur taux de raccourcissement. XMAP215¹³ (appelée XMAP à l'origine) favorise l'élongation des microtubules en interphase et pendant la mitose et génère la formation de microtubules longs et très dynamiques. Le mécanisme d'action de XMAP215 est différent de celui des autres MAPs. En effet, XMAP215 n'agit pas en stabilisant les microtubules par stimulation de la fréquence de sauvetage ou inhibition des catastrophes, mais elle favorise la croissance des microtubules à leur extrémité plus. XMAP215 est un régulateur clé de l'élongation des microtubules ; elle est la seule protéine stabilisatrice qui semble être indispensable pour la croissance des microtubules chez le xénope. Son homologue humain TOGp, est surexprimé dans différents types de tumeurs comme celles du foie et du colon.

b. Déstabilisation des microtubules par les facteurs de catastrophe¹²⁻¹⁸

S'opposant à l'activité stabilisatrice des MAPs, les facteurs de catastrophe déstabilisent les microtubules et permettent ainsi les modulations rapides au cours du cycle cellulaire. Deux

¹⁰ E. Mandelkow et E.-M. Mandelkow, Microtubules and microtubule-associated proteins, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1995**, 7, 72-81.

¹¹ F.J. McNally, Modulation of microtubule dynamics during the cell cycle, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1996**, 8, 23-29.

¹² L. Cassimeris, Accessory protein regulation of microtubule dynamics throughout the cell cycle, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1999**, 11, 134-141.

¹³ K. Kinoshita, B. Habermann et A.A. Hyman, XMAP215: a key component of the dynamic microtubule cytoskeleton, *Trends Cell Biol.*, **2002**, 12, 267-273.

¹⁴ S.S.L. Andersen, Spindle assembly and the art of regulating microtubule dynamics by MAPs and Stathmin/Op18, *Trends Cell Biol.*, **2000**, 10, 261-267.

¹⁵ A. Moore et L. Wordeman, The mechanism, function and regulation of depolymerizing kinesins during mitosis, *Trends Cell Biol.*, **2004**, 14 (10), 537-546.

¹⁶ L. Cassimeris, The oncoprotein 18/stathmin family of microtubule destabilizers, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2002**, 14, 18-24.

¹⁷ C.E. Walczak, Microtubule dynamics and tubulin interacting proteins, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2000**, 12, 52-56.

¹⁸ A. Desai, S. Verma, T.J. Mitchison et C.E. Walczak, Kin I kinesins are microtubule-destabilizing enzymes, *Cell*, **1999**, 96, 69-78.

facteurs de catastrophe ont été très étudiés ; il s'agit de Op18/Stathmine (« oncoprotein 18 ») et de XKCM1.

b.1. Stathmine Op18^{16,17}

La stathmine est une petite phosphoprotéine découverte au début des années 80. Elle est également connue sous le nom d'oncoprotéine 18 (Op18), nom qui vient du fait qu'elle est surexprimée dans 20 à 30 % des cancers du sein. La stathmine augmente la vitesse de base de l'hydrolyse du GTP par la tubuline mais surtout, la présence de stathmine augmente la fréquence des catastrophes ce qui fait de Op18 un régulateur clé de l'assemblage des microtubules. Cependant, le mécanisme d'action de Op18 est encore controversé de nos jours.

L'activité de Op18 est contrôlée par sa phosphorylation (sur 4 résidus sérine Ser16, Ser25, Ser38 et Ser63) par un ensemble complexe de protéine-kinases en réponse à différents stimuli. Par exemple, la phosphorylation de Op18 est absolument nécessaire pour l'entrée en mitose des cellules. A la transition G2/M, la phosphorylation des 4 résidus sérine a lieu ; Ser25 et Ser38 sont phosphorylées d'abord par CDK1, puis les deux autres résidus sérine sont également phosphorylés par d'autres kinases. Pendant la mitose, Op18 est hyperphosphorylée, donc plus active, au niveau de la chromatine ce qui favorise l'assemblage des microtubules près de celle-ci.

b.2. Famille des KinI (XKCM1)^{15,17,18}

Une deuxième classe de protéines déstabilisant les microtubules est la famille des kinésines KinI (« kinesin internal »). Cette famille comprend 10 kinésines ; 7 d'entre-elles ont été réparties en deux catégories, basées sur l'alignement de la séquence de leur domaine catalytique. La première catégorie regroupe MCAK/XKCM1, qui sont impliquées dans la division cellulaire. La seconde catégorie comprend mKIF2 (chez la souris), impliquée quant à elle dans le transport neuronal. Cependant, les deux catégories de la famille des KinI semblent posséder les mêmes propriétés, à savoir notamment la capacité à déstabiliser les microtubules. Les kinésines KinI sont différentes des autres kinésines ; leur activité n'est pas liée au transport le long des microtubules. Elles agissent en se liant aux extrémités moins des microtubules et provoquent leur dépolymérisation. En effet, des études ont montré que XKCM1 chez le xénope et son homologue mammifère MCAK (« mitotic centromere-associated kinesin ») sont capables de se fixer directement aux extrémités des microtubules ce qui entraîne un changement conformationnel de la structure du microtubule, engendrant sa dépolymérisation. En fait, ce changement conformationnel induit par XKCM1 mime le changement conformationnel induit par l'hydrolyse du GTP et déstabilise les microtubules ce qui favorise leur dépolymérisation. La dépolymérisation du microtubule par XKCM1 permet la libération de dimères de tubuline et de complexes dimères de tubuline-XKCM1, et c'est l'hydrolyse de l'ATP qui rend leur action catalytique puisqu'elle permet de dissocier le complexe formé entre les dimères de tubuline et XKCM1.

Plus récemment, des protéines qui déstabilisent les microtubules en les coupant ont été mises en évidence mais leur rôle dans la cellule n'est pas encore complètement élucidé.

b.3. Dynamique des microtubules pendant la division cellulaire : XMAP215 vs XKCM1¹⁴

La dynamique des microtubules semble être régulée par une balance entre au moins deux facteurs antagonistes, XMAP215 et XKCM1. En interphase, XMAP215 et XKCM1 sont toutes deux actives, mais l'effet stabilisateur de XMAP215 domine l'effet déstabilisateur de XKCM1, les microtubules sont longs et stables. En mitose, la phosphorylation de XMAP215 provoque une diminution de son activité stabilisatrice tandis que l'activité déstabilisatrice de

XKCM1 reste stable ; les microtubules deviennent plus instables et très dynamiques, donc plus courts.

Outre ces variations rapides de la dynamique des microtubules, le couplage d'une dépolymérisation nette à l'extrémité moins et d'une polymérisation nette à l'extrémité plus des microtubules du fuseau mitotique crée un flux de tubuline, appelé « tapis roulant » ou treadmilling. Ce phénomène semble être impliqué dans la séparation des chromosomes en anaphase (figure 14).

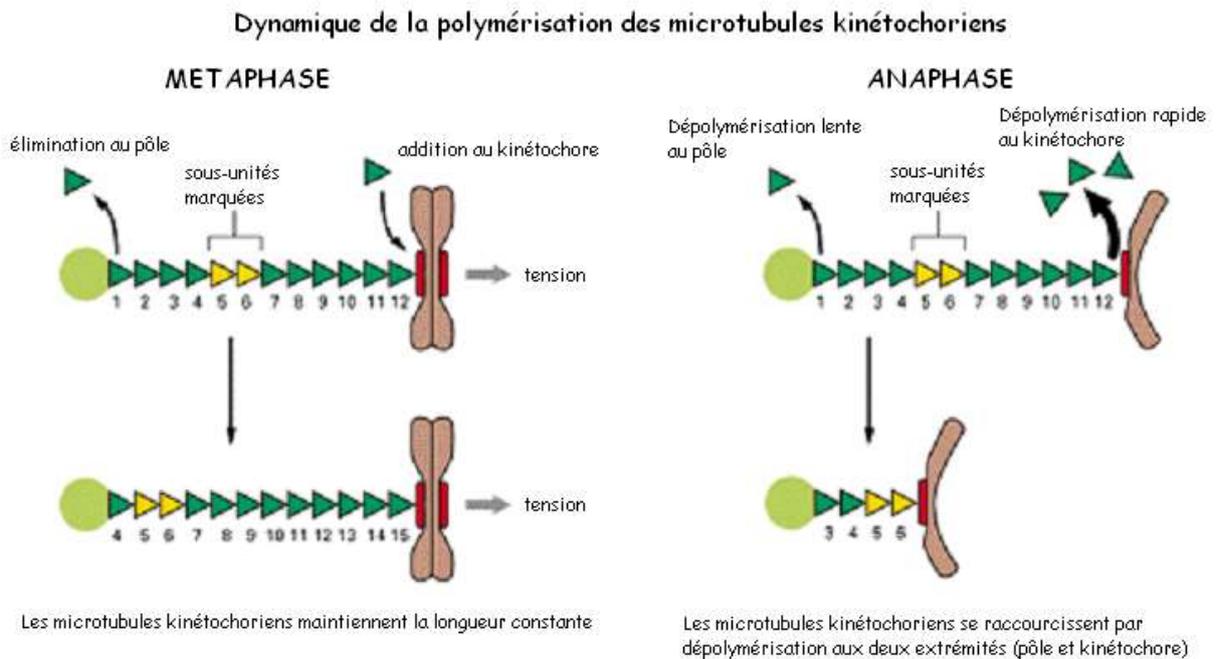


Figure 14 – Séparation des chromosomes en anaphase

4. Organisation spatiale des microtubules et formation du fuseau mitotique^{19,20,21,22,23,24,25}

La séparation des chromosomes et la formation du fuseau mitotique dépendent de divers types de mouvements, dus à l'action conjuguée de plusieurs types de microtubules et des moteurs moléculaires qui leur sont associés. Alors que MAPs et facteurs de catastrophe jouent un rôle clé dans les propriétés dynamiques des microtubules, conjointement, des moteurs moléculaires ou protéines motrices sont responsables de l'assemblage tridimensionnel du fuseau. Ces protéines sont à l'origine de la formation d'une structure bipolaire focalisée aux pôles et sont responsables du maintien de cette bipolarité. Elles facilitent en outre le déplacement et le positionnement des chromosomes sur cette structure stable.

Les protéines motrices associées aux microtubules utilisent l'énergie de l'hydrolyse de l'ATP pour se déplacer unidirectionnellement le long de ces polymères ; ils peuvent produire des forces suffisantes pour assembler le fuseau mitotique et pour entraîner le mouvement des chromosomes pendant les différentes phases de la mitose. Deux types de protéines motrices interviennent dans la formation du fuseau mitotique : les kinésines, moteurs à polarité plus (se déplacent vers l'extrémité plus) et les dynéines, moteurs à polarité moins. Elles sont classées en deux familles, les moteurs du fuseau et les moteurs des chromosomes.

Certains moteurs sont responsables de la séparation des centrosomes et de l'assemblage du fuseau bipolaire ; c'est le cas notamment des kinésines de la famille de bimC (bimC, cut7, Eg5, Klp61F) et de Xklp2. D'autres sont nécessaires à la formation des pôles du fuseau ; c'est le cas de la dynéine et de kinésines C-terminales (Ncd, XCTK2). D'autres moteurs sont nécessaires au maintien de la structure du fuseau ; c'est le cas de certains membres de la famille des kinésines bimC (bimC, Cin8, Kip1) et de certaines kinésines C-terminales (Kar3 et klpA). D'autres enfin sont nécessaires au positionnement des chromosomes sur la plaque métaphasique ; on peut citer CENP-E, la dynéine cytoplasmique et une chromokinésine, Xklp1.

Le fuseau mitotique résulte donc d'un assemblage complexe de microtubules qui met en jeu essentiellement deux aspects : leurs propriétés dynamiques, contrôlées par l'activité antagoniste de MAPs et de facteurs de catastrophe, et leur organisation spatiale, orchestrée par un ensemble de protéines motrices. Les microtubules sont donc une cible privilégiée dans le traitement des maladies associées à une prolifération cellulaire aberrante. Le fuseau mitotique constitue ainsi une cible majeure de la chimiothérapie anticancéreuse.

¹⁹ J.C. Waters et E.D. Salmon, Pathways of spindle assembly, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1997**, 9, 37-43.

²⁰ C.G. Pearson et K. Bloom, Dynamic microtubules lead the way for spindle positioning, *Nature*, **2004**, 5, 481-492.

²¹ C.E. Walczak, I. Vernos, T.J. Mitchison, E. Karsenti et R. Heald, A model for the proposed roles of different microtubule-based motor proteins in establishing spindle bipolarity, *Curr. Biol.*, **1998**, 8, 903-913.

²² I. Vernos et E. Karsenti, Motors involved in spindle assembly and chromosome, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1996**, 8, 4-9.

²³ R. Heald et C.E. Walczak, Microtubule-based motor function in mitosis, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1999**, 9, 268-274.

²⁴ D.J. Sharp, G.C. Rogers et J.M. Scholey, Microtubule motors in mitosis, *Nature*, **2000**, 407, 41-47.

²⁵ S.A. Endow, Microtubule motors in spindle assembly and chromosome motility, *Eur. J. Biochem.*, **1999**, 262, 12-18.

C. POISONS DU FUSEAU^{26,27,28,29,30,31,32,33,34}

Une des stratégies utilisées dans le traitement des cancers consiste à bloquer la division cellulaire en ciblant la machinerie nécessaire à la ségrégation des chromosomes lors de la mitose. De nombreuses molécules antimitotiques utilisées en thérapie anticancéreuse se lient spécifiquement à la tubuline ou aux microtubules et altèrent leur dynamique, ce qui entraîne un blocage de la division cellulaire. Ces composés appartiennent à la famille des poisons du fuseau, également appelés antimitotiques. On distingue généralement quatre classes d'antimitotiques.

- la première classe est composée de son représentant principal, la colchicine, et de tous les composés, naturels ou de synthèse, qui déstabilisent les microtubules en agissant sur le même site de liaison à la tubuline que la colchicine.
- la seconde classe est composée par les vinca-alcaloïdes et les composés dont le site d'action est identique à celui des vinca-alcaloïdes.
- la troisième classe comprend les taxanes et leurs analogues, ainsi que tous les composés qui stabilisent les microtubules.
- la quatrième classe comprend tous les composés qui agissent sur la formation du fuseau mitotique et dont le site d'action est différent de celui de la colchicine, de celui des vinca-alcaloïdes et de celui des taxanes.

1. Composés qui déstabilisent les microtubules par action sur le site de la colchicine^{26,27,29}

La colchicine (figure 1) est un des premiers agents interagissant avec la tubuline à avoir été étudié. Elle a été extraite de *Colchicum autumnale* qui était utilisé médicalement en Egypte ancienne, en Inde et en Grèce. Elle est dorénavant utilisée pour le traitement de la goutte, sa haute toxicité ne permettant pas de l'utiliser à d'autres fins thérapeutiques. La colchicine se lie sur l'hétérodimère de tubulines, engendrant un changement conformationnel qui gêne la formation des microtubules ; elle empêche ainsi la formation du fuseau mitotique ce qui engendre l'arrêt de la mitose en métaphase.

²⁶ M.A. Jordan, Mechanism of action of antitumor drugs that interact with microtubules and tubulin, *Curr. Med. Chem.*, Anticancer Agents, **2002**, 2, 1-17.

²⁷ T. Beckers et S. Mahboobi, Natural, semisynthetic and synthetic microtubule inhibitors for cancer therapy, *Drugs of the future*, **2003**, 28 (8), 767-785.

²⁸ M. Kavallaris, N.M. Verrills et B.T. Hill, Anticancer therapy with novel tubulin-interacting drugs, *Drug Resistance Updates*, **2001**, 4, 392-401.

²⁹ J.A. Hadfield, S. Ducki, N. Hirst et A.T. McGown, Tubulin and microtubules as targets for anticancer drugs, *Prog. Cell Cycle Research*, **2003**, 5, 309-325.

³⁰ G. Attard, A. Greiptoke, S. Kaye et J. De Bono, Update on tubulin-binding agents, *Pathologie Biologie*, **2005**, article in press.

³¹ K-H. Altmann, Microtubule-stabilizing agents: a growing class of important anticancer drugs, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2001**, 5, 424-431.

³² P.M. Checchi, J.H. Nettles, J. Zhou, J.P. Snyder et H.C. Joshi, Microtubule-interacting drugs for cancer treatment, *Trends in Pharm. Sciences*, **2003**, 24 (7), 361-365.

³³ L. He, G.A. Orr et S. Band Horwitz, Novel molecules that interact with microtubules and have functional activity similar to TaxolTM, *Drug discovery today*, **2001**, 6 (22), 1153-1164.

³⁴ G. Bacher, T. Beckers, P. Emig, T. Klenner, B. Kutscher et B. Nickel, New small molecule tubulin inhibitors, *Pure Appl. Chem.*, **2001**, 73 (9), 1459-1464.

Combretastatine A-4

La combretastatine A-4 a été isolée d'un saule d'Afrique de sud *Combretum caffrum*. Elle est très cytotoxique sur de nombreuses lignées cellulaires et montre une forte activité antiméiotique. Comme beaucoup d'autres composés interagissant avec la tubuline, elle détériore sélectivement la vascularisation tumorale. De nombreux dérivés de la combretastatine A-4 ont été synthétisés afin d'obtenir des produits plus solubles ; le sel de phosphate disodique de la combretastatine A-4 est actuellement en phase II des essais cliniques.

ZD6126

Le ZD6126 (ANG-45) est une prodrogue dérivée de *N*-acétylcolchicine, synthétisée en quatre étapes à partir de la colchicine. Elle se lie à la tubuline et la déstabilise, entraînant la mort de la cellule par nécrose. Elle possède une activité antitumorale lorsqu'elle est administrée seule mais elle permet surtout d'augmenter l'activité lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec le cisplatine. Elle est actuellement en phase I des essais cliniques.

Phenstatine

La cétone **1** possède une activité cytotoxique modérée sur de nombreuses lignées cellulaires. Le dérivé phénolique de la cétone, la phenstatine, a été obtenu à partir d'un dérivé de la combretastatine A-4 de manière inopinée. Le phosphate correspondant a été synthétisé afin d'obtenir une meilleure solubilité dans l'eau ; il a la capacité d'inhiber la formation des microtubules et de déplacer la colchicine de son site de liaison à la tubuline.

E7010

Le sulfonamide E7010 (ABT-751) possède un large spectre d'activité sur des lignées cellulaires tumorales chez l'homme et chez le rat. Il inhibe l'assemblage des microtubules et empêche la liaison de la colchicine à la tubuline. Il peut être administré par voie orale et les premiers résultats des essais cliniques en phase I montre une très bonne efficacité et une excellente tolérance. Il possède une bonne activité antitumorale *in vivo* contre les tumeurs chez les rongeurs et chez l'homme.

Chalcones

Les chalcones sont une classe de composés qui interagissent avec la tubuline sur le même site de liaison que la colchicine. Elles montrent une forte toxicité pour de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses. Le composé le plus actif est celui qui possède trois groupements méthoxy sur l'un des noyaux aryles.

Indanocine

L'indanocine (NSC-698666) possède une activité cytotoxique sur de nombreuses lignées cellulaires tumorales. De plus, contrairement aux autres agents antiméiotiques, elle conduit à la mort cellulaire par apoptose de cellules cancéreuses résistantes à d'autres agents anticancéreux. C'est la raison pour laquelle l'indanocine est considérée comme un leader dans la recherche de composés pour combattre la résistance MDR (« multidrug-resistant »).

T138067

Le T138067 inhibe l'assemblage des microtubules de manière irréversible en se liant à la cystéine 239 des isotopes βI , βII et βIV de la tubuline. Cette modification de la β -tubuline inhibe la polymérisation des hétérodimères de tubuline en microtubules ce qui conduit à un arrêt de cycle en phase G2/M, suivie par la mort de la cellule par apoptose. Il montre une cytotoxicité sur des lignées cellulaires tumorales pour lesquelles la vinblastine, le paclitaxel, la doxorubicine et l'actinomycine D n'ont pas d'activité. Il est également actif sur les lignées cellulaires MDR positives. Il est actuellement en phase II des essais cliniques.

Oxadiazolines

L'oxadiazoline A-204197 a été récemment décrite. Elle se lie à la tubuline et engendre la dépolymérisation des microtubules. A-204197 n'est pas un substrat de Pgp (glycoprotéine P) et il possède des propriétés antiprolifératives sur les cellules qui n'expriment pas ou qui surexpriment la Pgp. Comme d'autres agents antiméitotiques, A-204197 cause l'arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M. Il augmente la phosphorylation des protéines régulatrices de G2/M et de Bcl2 et induit l'apoptose. A-105972 se lie sur le même site que la colchicine mais est peu soluble. Dans ce groupe, des indolyloxadiazolines ont été identifiées. A-289099 est le composé le plus actif de cette catégorie contre de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses.

Oncocidine

L'oncocidine se lie au même site que la colchicine et peut prendre une structure tridimensionnelle identique à la combrestatine A-4. Elle est active par voie orale, possède une toxicité systémique faible chez la souris et peut induire l'apoptose dans des cancers du sein.

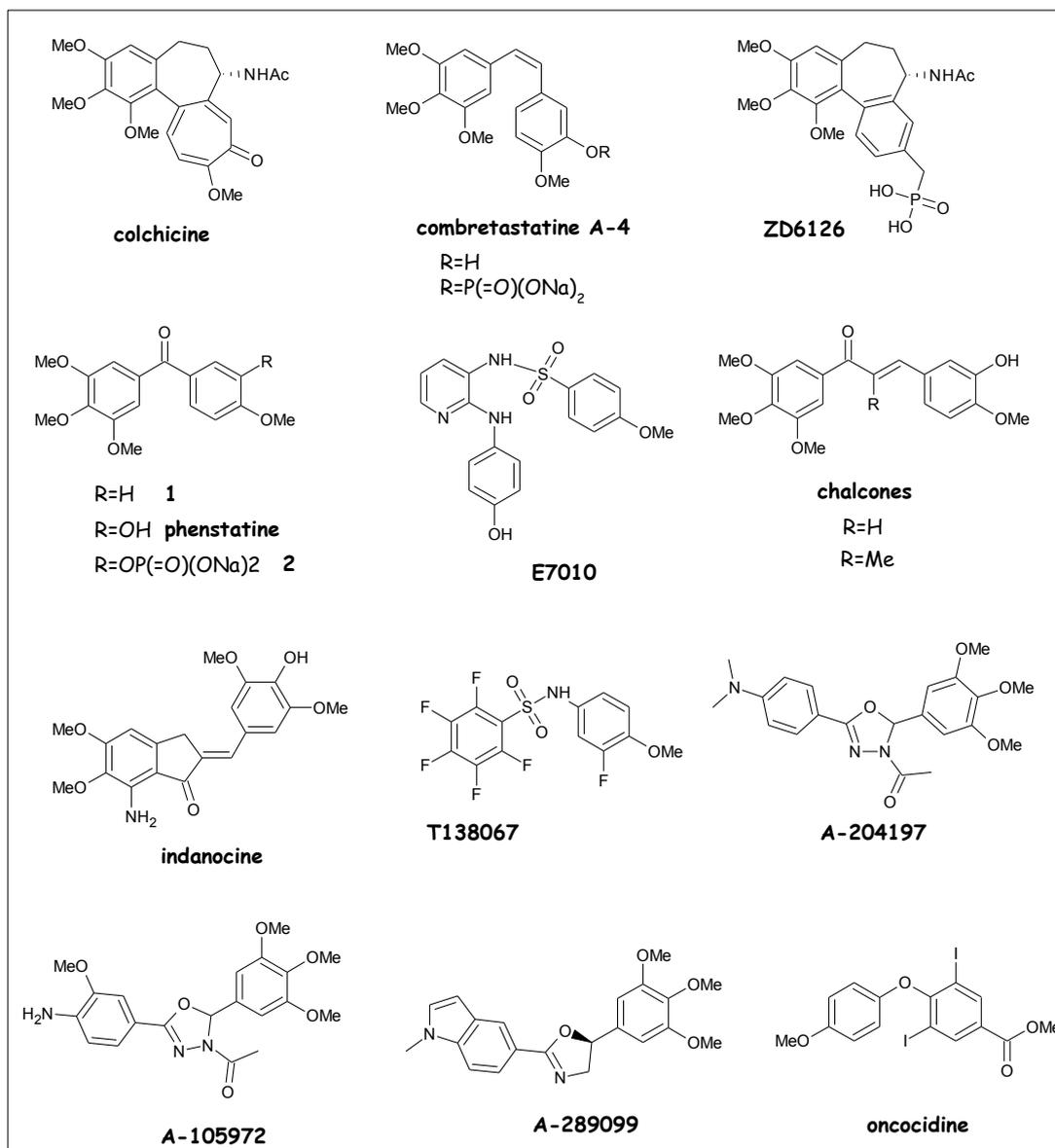


Figure 15 – Structures des composés qui se lient sur le site d'action de la colchicine

2. Composés qui déstabilisent les microtubules par action sur le site des vinca-alcaloïdes²⁶⁻³⁰

Les vinca-alcaloïdes ou alcaloïdes de la pervenche sont les premières drogues antimitotiques identifiées provoquant une malformation du fuseau mitotique. Ils sont utilisés depuis plus de trente ans en chimiothérapie anticancéreuse. Actuellement, cette classe comprend cinq composés : la vinblastine, la vincristine, la vinorelbine, la vindésine et la vinflunine. La vinblastine et la vincristine sont des produits naturels utilisés depuis de nombreuses années pour le traitement des cancers. La vinorelbine appartient à la seconde génération des vinca-alcaloïdes ; elle est utilisée seule ou en association avec d'autres thérapies dans les cancers du poumon, de l'ovaire et du sein. Plus récemment, un analogue bi-fluoré de la vinorelbine, la vinflunine (F-12158), a été synthétisée. D'une façon générale, ces composés provoquent l'arrêt de la mitose au stade de la métaphase ; le fuseau mitotique ne peut se former et les chromosomes restent dispersés dans le cytoplasme.

Les vinca-alcaloïdes agissent *in vitro* sur la tubuline selon des modalités différentes en fonction de la concentration. A une concentration faible (0.1 μM), ils provoquent une inhibition de la dynamique d'assemblage de la tubuline en microtubules alors qu'à une concentration plus élevée (40 à 100 μM), ils induisent l'autoassociation de la tubuline en filaments spiralés, formant secondairement des paracristsaux par empilement latéral. Les effets *in vivo* sur la division cellulaire sont également dépendants de la concentration ; à 6 nM, il y a inhibition de la constitution des filaments du fuseau alors qu'à 25 μM , la formation des microtubules kinétochoriens est bloquée.

La vinorelbine et la vinflunine forment une liaison avec le site vinca de la tubuline plus faible que celle formée par la vincristine et la vinblastine ; elles possèdent une neurotoxicité réduite. Leur mode d'action sur la dynamique des microtubules est différente de celle de la vinblastine. Des évaluations précliniques montrent que la vinflunine possède une meilleure activité antitumorale *in vivo*. La vinflunine est un agent prometteur. Elle est un substrat de la Pgp mais n'induit pas de phénomène de résistance ; elle est actuellement en phase II des essais cliniques. La vinorelbine quant à elle est en phase I des essais cliniques.

Halichondrines

L'halichondrine B est un macrolide isolé à partir d'éponges marines *Halichondria okadai*, *Axinela carteri*, *Phakellia carteri* et *Lissodendoryx* n.sp.1. Elle se lie à la tubuline, inhibe l'assemblage des microtubules et conduit à l'arrêt de la mitose en empêchant la formation du fuseau mitotique. C'est un inhibiteur non-compétitif du site de liaison entre la vinblastine et la tubuline.

L'isohomohalichondrine B a été isolé de l'éponge marine *Lissodendoryx* sp. Elle possède une activité cytotoxique sur de nombreuses tumeurs. Elle présente également une forte activité antiproliférative dans les cancers de la prostate. Elle est actuellement en évaluation préclinique.

Pironetine

La pironetine a été isolée de *Streptomyces* sp. Elle inhibe la polymérisation de la tubuline en se liant à celle-ci au niveau du site de liaison de la vincristine et favorise la liaison de la colchicine à la tubuline. Elle induit la dépolymérisation des microtubules de manière réversible et dose-dépendante. Elle induit également l'apoptose *via* la dépolymérisation des microtubules.

Spongistatine 1/Spiket 1

Les spongistatines sont des lactones macrocycliques isolées des éponges *Spirastrella spinispirulifera* et *Hyrtios erecta*. La spongistatine 1 n'a pas d'effet sur la liaison de la colchicine à la tubuline mais présente une forte inhibition de la liaison de la vinblastine et du GTP à la tubuline. Elle possède une forte activité sur de nombreuses lignées cellulaires de tumeurs solides dont les mélanomes, les cancers du poumon et les cancers du colon. Un synthon utilisé lors de la synthèse de la spongistatine 1, appelé Spiket 1, a montré aussi une forte activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses par dépolymérisation des microtubules et blocage de la formation du fuseau mitotique dans les cancers du sein. Il ouvre la voie à une seconde génération de composés de faible poids moléculaire.

Cryptophycines

Les cryptophycines sont des macrolactones antifongiques isolées de cyanobactéries du genre *Nostoc*. Elles inhibent la dynamique des microtubules et induisent l'apoptose. Elles se lient sur le site de liaison des vinca-alcaloïdes à la tubuline ou un site qui le recouvre. Les cryptophycines sont actives sur les cellules tumorales de l'ovaire et du sein qui surexpriment la Pgp. Elles sont utilisées seules ou en association avec le 5-fluorouracile, la doxorubicine, le paclitaxel ou l'irinotécan.

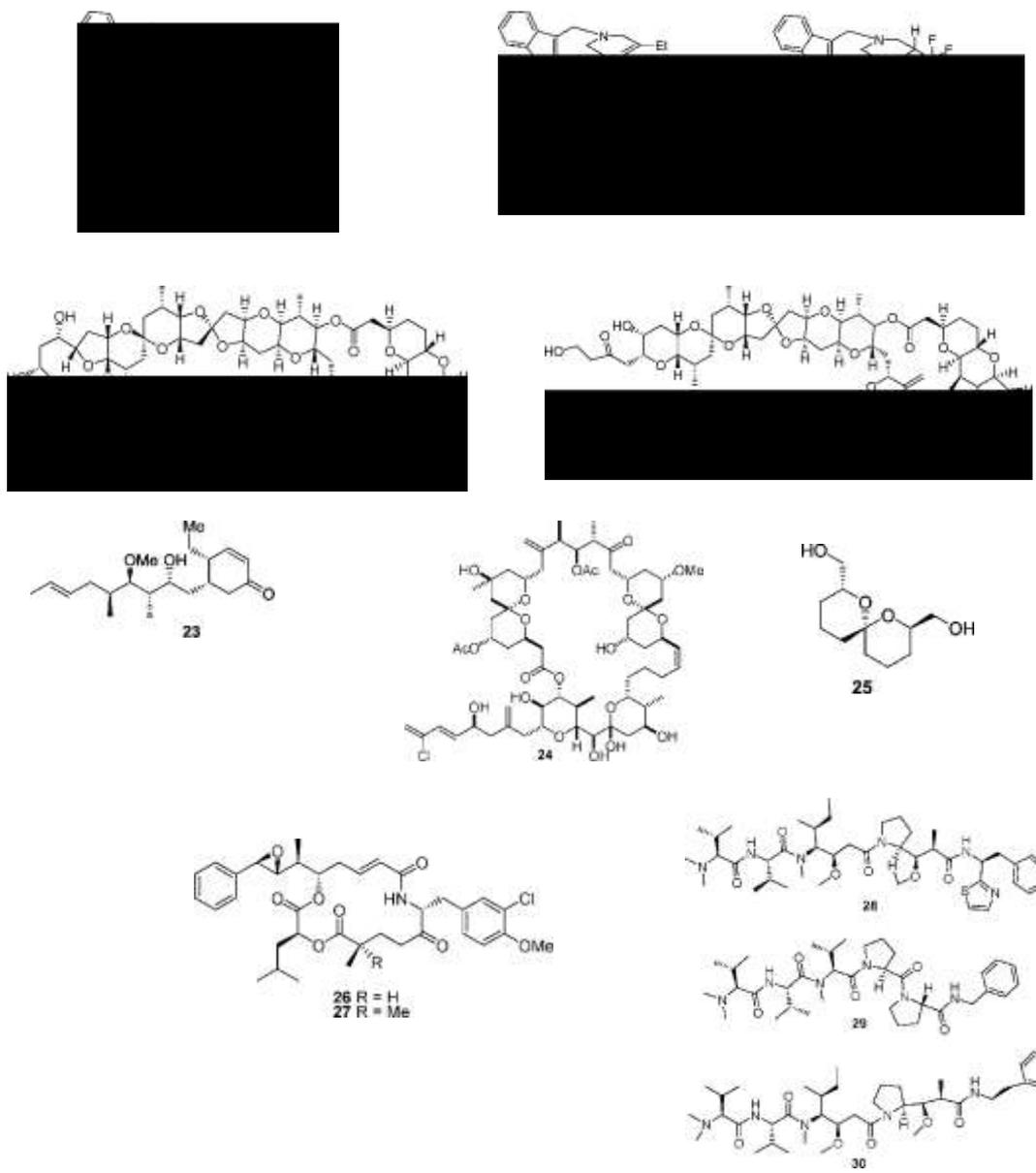
De nombreux dérivés de cette famille ont été synthétisés. L'un d'entre eux, la cryptophycine 52 (LY-355703), analogue de la cryptophycine A possède une très forte activité antiproliférative dans des lignées cellulaires résistantes. Son mécanisme d'action est plus complexe ; comme les vinca-alcaloïdes, elle agit sur la tubuline mais il semble surtout qu'elle favorise la phosphorylation de Bcl-2 (protéine qui joue un rôle anti-apoptique) avec arrêt du cycle cellulaire en phase G2/M. Elle est actuellement en phase II d'essais cliniques pour le traitement de tumeurs solides.

Dolastatines

Les dolastatines sont des pseudopeptides isolés en 1987 d'un mollusque de l'océan indien *Dolabella auricularia*. Ces composés inhibent la formation des microtubules en se liant sur la β -tubuline sur un site proche du domaine vinca de manière non-compétitive avec la vinblastine, et induit l'apoptose. Le composé leader, la dolastatine 10 (NSC 376128), est bien toléré mais les essais cliniques de phase II ont montré que son activité est insuffisante pour être utilisé seul. Cependant, la dolastatine 10 réduit l'expression de la protéine antiapoptique Bcl-2, augmente la phosphorylation de bcl-2 et induit l'apoptose. Elle possède une activité antiproliférative contre une variété de lignées cellulaires de leucémies humaines, de lymphomes et de tumeurs solides. La dolastatine 10 a été modifiée chimiquement pour aboutir à des produits plus simples ; parmi ceux-ci, la cématodine LU-103793 (analogue pentapeptidique de la dolastatine, soluble dans l'eau) est un inhibiteur de l'assemblage des microtubules. Il est actuellement en phase II des essais cliniques. Le ZTZ-1027 possède une activité similaire ou supérieure à celle de la vincristine et une meilleure activité *in vitro* et *in vivo* que la dolastatine 10 ; elle a de plus la capacité d'endommager la vascularisation tumorale et d'induire l'apoptose. Elle est actuellement en phase I des essais cliniques.

Rhizoxine

La rhizoxine (NSC-332598 ou FR-900216) est une macrolactone à 16 chaînons, isolée en 1984 de *Rhizopus chinensis* (activité antifongique). Elle interagit avec la tubuline sur le site des vinca-alcaloïdes et est actuellement en phase II des essais cliniques pour les cancers de l'ovaire, du colon-rectum et du sein, et les mélanomes. La rhizoxine est plus active que la vincristine et également moins toxique.



- | | | | |
|------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------|
| 16 : vincristine | 20 : halichondrine B | 25 : spiket | 29 : cématodine |
| 17 : vinblastine | 21 : isohalichondrine B | 26 : cryptophycine 1 | 30 : TZT-1027 |
| 18 : vinorelbine | 23 : pironetine | 27 : cryptophycine 52 | |
| 19 : vinflunine | 24 : spongistatine 1 | 28 : dolastatine 10 | |

Figure 17 – Structure des composés qui se lient sur le site d'action des vinca-alcaloïdes

3. Composés qui stabilisent les microtubules par action sur le site du paclitaxel²⁶⁻³³

Les composés de cette famille favorisent la polymérisation de la tubuline et sont capables de stabiliser les microtubules contre la dépolymérisation par Ca^{2+} ou induit par le froid. Tous ces composés agissent sur le même site que le paclitaxel ; certains des composés, dont les épothilones, la discodermolide et l'éleuthérobine sont en compétition dans l'inhibition de la liaison du paclitaxel avec la tubuline. De nombreux efforts ont été réalisés afin de synthétiser des nouveaux composés plus solubles dans l'eau, qui n'induisent pas de phénomène de résistance et également actifs par voie orale.

Le paclitaxel (Taxol®) a été isolé en 1966 à partir d'écorces séchées de l'if du Pacifique *Taxus brevifolia* ; cependant, sa structure n'a été élucidée qu'en 1971. La remarquable activité antitumorale de ce composé, constatée vis à vis de différentes tumeurs, ainsi que la découverte de son mécanisme d'action original, à savoir stabilisation des microtubules, ont conduit à une recherche plus approfondie. En 1992, le Taxol® a été approuvé par la FDA pour le traitement des cancers ovariens. L'appellation Taxol® a été déposée comme nom commercial par la société Bristol-Myers Squibb (BMS) et paclitaxel en est devenu la dénomination commune internationale. En 1994, il a été approuvé par la FDA pour le traitement du cancer du sein et encore plus récemment pour le traitement des cancers bronchiques non à petites cellules. Le paclitaxel est commercialisé aux Etats-Unis et au Canada depuis 1993 et en France depuis 1995.

Au cours des études sur l'hémisynthèse du paclitaxel, un intermédiaire, le docétaxel, s'est révélé plus puissant que le paclitaxel lui-même. Sa commercialisation sous le nom de Taxotère a commencé en 1995 au Canada et en Afrique du sud et en 1996 en Europe.

Le paclitaxel et le docétaxel forment la classe des taxanes. Leur mécanisme d'action est différent de celui des autres poisons du fuseau. En effet, à la différence des alcaloïdes de la pervenche, les taxanes favorisent l'assemblage des dimères de tubuline pour former des microtubules stables même en absence de facteurs de polymérisation tels que le GTP et les MAPs. Parallèlement, ils inhibent leur dépolymérisation conduisant à une diminution marquée de la tubuline libre. Le paclitaxel se lie à la sous-unité β des microtubules sur la boucle M et stabilise les contacts latéraux entre les protofilaments. Les microtubules ainsi formés sont rigides et non fonctionnels, ils ne peuvent plus se désassembler *in vitro* dans les conditions usuelles telles que l'action des ions Ca^{2+} ou du froid. L'organisation dynamique de la cellule lors de la mitose est interrompue en phase G2/M empêchant ainsi la prolifération cellulaire tumorale.

De nombreux dérivés du paclitaxel sont actuellement en développement par les différentes compagnies pharmaceutiques, notamment des composés qui ne sont pas substrats de la Pgp pour obtenir des composés dont le spectre d'activité est plus large et pour éviter le phénomène de résistance.

Deux autres analogues du Taxol® sont en cours de développement clinique par Aventis Pharma, TXD258 et RPR109881. TXD258 est un nouveau composé de la famille des taxanes, qui, comme le paclitaxel, favorise l'assemblage des microtubules *in vivo* et les stabilise. Il montre une excellente régression tumorale et une excellente survie à long terme dans les modèles de xénogreffes du pancréas, de la tête et du cou, et dans les cancers de la prostate.

TXD258 est cytotoxique dans les cellules qui expriment la P-glycoprotéine et dans le modèle de xénogreffe de tumeurs humaines résistantes au docétaxel. Il est actuellement en phase I/II des essais cliniques. Il est actif par administration orale dans les modèles de souris, ce

qui est classiquement l'une des limitations des taxanes. RPR109881 est un autre composé de la famille des taxanes qui possède le même mécanisme d'action que les taxanes d'origine naturelle ; il montre une forte activité antitumorale *in vitro* et *in vivo*. Il est actuellement en phase II des essais cliniques.

Trois autres analogues des taxanes, développés par Bristol-Myers Squibb, BMS184476, BMS185660 et BMS188797, possèdent une activité comparable à celle du paclitaxel et sont également en essais cliniques. BMS184476 possède une activité supérieure à celle du paclitaxel dans trois modèles de xénogreffes de tumeurs humaines et également une activité sur les tumeurs résistantes au paclitaxel. Il est administré par voie intraveineuse et est actuellement en phase I des essais cliniques. BMS184476 et BMS 188797 sont tous deux substrats de la Pgp et ne permettent pas de combler les lacunes du paclitaxel pour lutter contre les phénomènes de résistance. BMS185660, dérivé soluble dans l'eau du paclitaxel, est actif par voie orale et par voie intraveineuse sur les xénogreffes de tumeurs humaines ; il constitue un composé leader dans cette série.

IDN5109 est un autre composé de la famille des taxanes ; il ne présente pas de phénomène de résistance croisée dans les lignées cellulaires exprimant le phénotype MDR (il n'est pas substrat de la Pgp). Il est actif par voie orale ce qui fait de lui un composé très attractif. Il est actuellement en phase I des essais cliniques.

Epothilones

Les épothilones A et B ont été isolées en 1993 d'une mycobactérie *Sorangium cellulosum* comme agents antifongiques. Les épothilones A et B possèdent une forte activité sur de nombreuses lignées cellulaires. Elles possèdent un mécanisme d'action similaire à celui des taxanes (stabilisation des microtubules) mais avec une intensité supérieure et moins d'effets indésirables. Ce ne sont pas des substrats de la Pgp mais elles sont actives sur les cellules tumorales devenues résistantes par mutation de la β -tubuline. Généralement, l'épothilone B (EPO-906) est plus cytotoxique que l'épothilone A et que le paclitaxel. Contrairement au paclitaxel, ils inhibent la croissance des lignées cellulaires MDR résistantes. *In vivo*, EpoA et EpoB ont une activité antitumorale faible du fait de leur faible stabilité métabolique, de leur pharmacocinétique et de leur petite fenêtre thérapeutique. Cependant, l'EpoB est actuellement en phase II des essais cliniques. Deux autres analogues des épothilones sont en essais cliniques : le 12,13-désoxyépothilone B, dEpoB ou épothilone D (KOS-862) et le 21-OH-dEpoB (dEpoF). Les premiers essais précliniques de dEpoB montrent qu'il possède une meilleure activité antitumorale que EpoB et que le paclitaxel. Il est actuellement en phase II des essais cliniques.

Un aza analogue de l'EpoB, l'ixabépilone (BMS-247550), préparé par hémisynthèse, est actuellement en phase II des essais cliniques. Ce composé est actif sur des cancers humains qui ne sont pas sensibles au paclitaxel ou qui ont développés une résistance au paclitaxel, *in vitro* et *in vivo*.

Le discodermolide, les sarcodictyines et l'éléuthérobine présentent des mécanismes d'action voisins des épothilones.

Discodermolide

Le discodermolide est une lactone polyhydroxylée, isolée en 1990 à partir d'une éponge marine, *Discodermia dissoluta*. Initialement identifié comme agent immunosuppresseur, le discodermolide est également un agent qui stabilise les microtubules et son activité est meilleure que celle du paclitaxel. Il induit l'arrêt de la mitose en phase G2/M. Il se lie sur le même site que le paclitaxel mais avec une plus forte affinité. Comme les épothilones, il possède une très forte activité antiproliférative dans des lignées cellulaires résistantes MDR mais moins que les épothilones. Il est actuellement en phase I des essais cliniques. Des travaux semblent montrer que le discodermolide et le paclitaxel agissent en synergie dans quatre types de lignées cellulaires de cancer chez l'homme. Cette association paclitaxel/discodermolide constitue une utilisation clinique potentielle.

Sarcodictyines et Eleuthérobine

Isolés de corail issu de la mer Méditerranée *Sarcodictyon roseum*, les sarcodictyines A et B favorisent l'assemblage des microtubules. Leur cytotoxicité est plus faible que celle des taxanes. L'éléuthérobine, diterpène isolé de *Eleutherobia* sp., stabilise également les microtubules. L'activité biologique de l'éléuthérobine est similaire à celle du paclitaxel avec des effets comparables sur les microtubules. L'éléuthérobine n'a pas d'avantage par rapport au paclitaxel sur l'inhibition de la croissance des lignées cellulaires MDR et possède une activité réduite sur les lignées cellulaires sensibles au paclitaxel par rapport au paclitaxel lui-même. Les sarcodictyines et l'éléuthérobine sont toutes les deux substrats de la Pgp.

Les sarcodictyines, le discodermolide et l'éléuthérobine ont des activités généralement plus faibles que les autres agents qui stabilisent les microtubules.

Laulimalide

La laulimalide et l'isolaulimalide ont été isolés en 1988 d'une éponge du Pacifique, *Cacospongia mycofijiensis*. Comme les épothilones, la laulimalide possède une activité sur les lignées cellulaires cancéreuses résistantes.

GS-164

Le GS-164 est également un composé qui stabilise les microtubules. Son activité est plus faible que celle du paclitaxel mais la découverte de ce composé de structure très simplifiée par rapport à la structure des autres composés qui se lient à la tubuline sur le même site que le paclitaxel, a ouvert la voie à la synthèse de composés de faible poids moléculaire.

FR182877 (WS9885B)

Le FR182877 est un produit naturel découvert récemment ; il favorise l'assemblage des microtubules et conduit à l'arrêt de la mitose en phase G2/M. Il inhibe la croissance des cellules de carcinomes du colon chez l'homme. Les premiers résultats montrent une faible activité antitumorale *in vivo* mais le dosage n'a pas été optimisé.

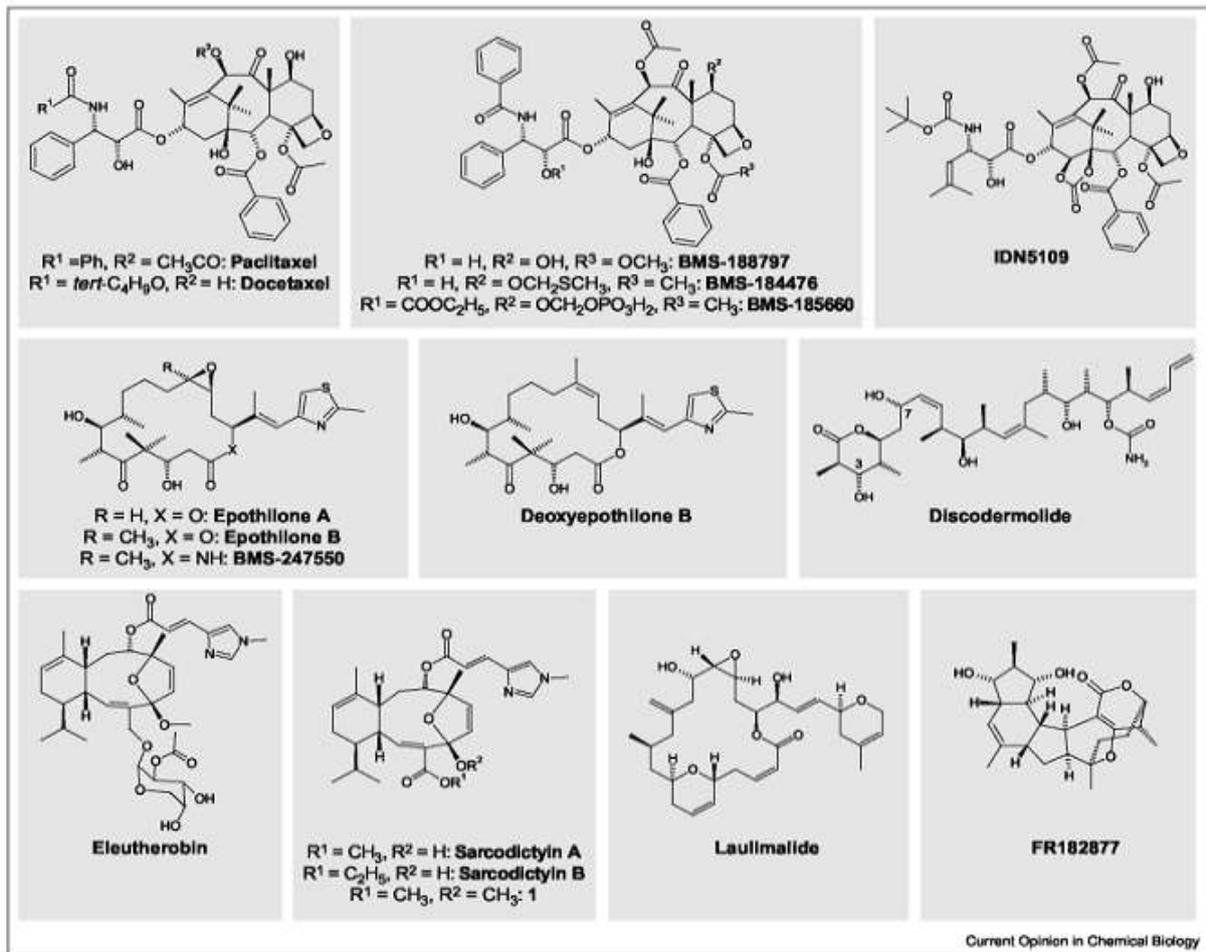


Figure 18 – Structures des composés stabilisant les microtubules

4. Autres agents antimitotiques

Cobras

Les cobras cobra-0 (WHI-261) et cobra-1 provoquent la désorganisation des microtubules en se liant à l' α -tubuline et induisent l'apoptose dans le traitement des cancers humains. Ce sont des dérivés de tétrahydrofurane dont la cible est un domaine riche en leucine de la tubuline.

Tryptostatines

Les tryptostatines A et B sont des indoles extraits de *Aspergillus fumigatus*. La tryptostatine A inhibe la polymérisation des microtubules et bloque la mitose en phase M. Elle interagit avec la fonction de MAP2 et de Tau dans l'assemblage des microtubules.

D-24851³⁴

Les agents antiméitotiques prometteurs sont ceux qui ont à la fois une bonne activité *in vivo*, qui éliminent les phénomènes de résistance multiple aux chimiothérapies et qui induisent une faible neurotoxicité. En effet, les composés interagissant avec la tubuline tels que les vinca-alcaloïdes et les taxanes causent très souvent une neuropathie périphérique à cause de leur interférence avec le transport neuronal de vésicules dans les axones. Un composé synthétique, décrit récemment par les laboratoires Zentaris et issu d'une collaboration avec notre laboratoire, le D-24851 possède ces propriétés. Le D-24851 est un agent déstabilisant les microtubules par interaction avec un site inconnu sur la tubuline, différent du site de la colchicine et du site de la vincristine. Il possède une forte cytotoxicité contre de nombreuses lignées cellulaires tumorales humaines dont ovariennes (SK-OV-3), glioblastiques (U-87) et protastatiques (PC-3). Il est également actif sur les lignées cellulaires tumorales exprimant les phénotypes de résistance Pgp et MRP. Il est actif par voie orale et ne semble pas présenter les effets neurotoxiques des taxanes et des alcaloïdes de la pervenche.

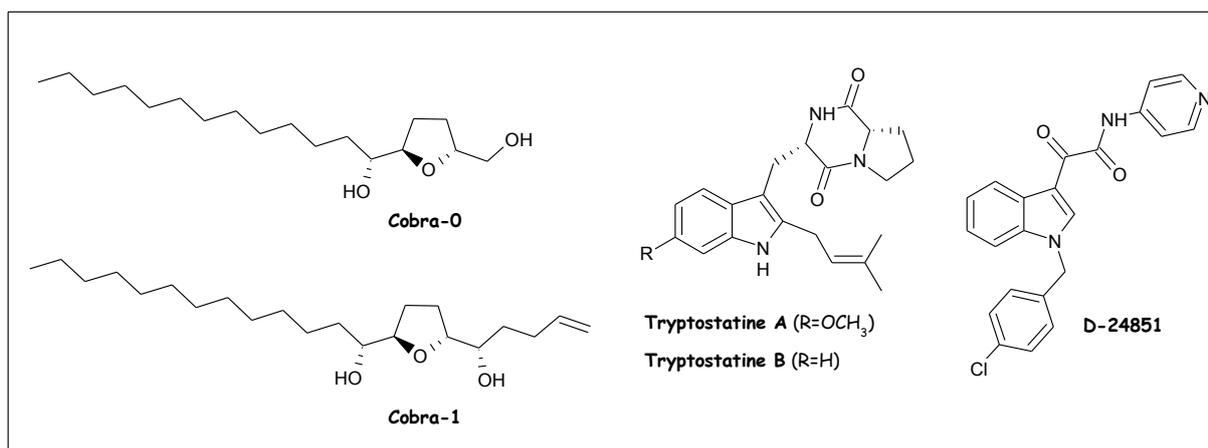


Figure 19 – Structures d'autres agents antiméitotiques

D. PHARMACOMODULATION ENVISAGEE

Le 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide **D-24851**^{34,35,36} (figure 20) inhibe le développement cellulaire de très nombreuses tumeurs d'origine humaine (ovaires, sein, prostate, poumon, colon, pancréas, cerveau) avec des CI_{50} de 0.017 à 0.030 $\mu\text{g/mL}$, soit 40 à 75 nM. Actif par voie orale, ce composé est actuellement en phase II des essais cliniques.

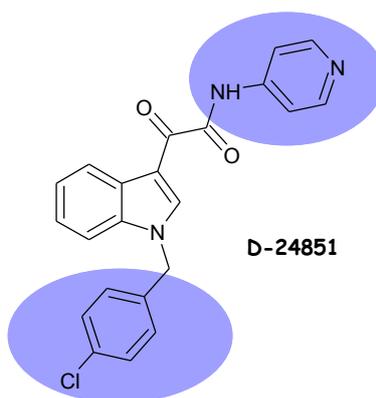


Figure 20

Nous basant sur les travaux préalablement réalisés au laboratoire et compte-tenu des résultats pharmacologiques qui ont montré l'importance de la structure du D-24851 dans l'activité antitubuline, l'objectif de notre travail est de synthétiser des analogues du D-24851, susceptibles de présenter une meilleure activité antitumorale. Des travaux antérieurs de pharmacomodulation du D-24851 ont montré que le groupement 4-chlorobenzyle et la 4-aminopyridine étaient indispensables à l'activité antitumorale ; nous avons donc choisi de conserver ce motif. Ainsi, la pharmacomodulation envisagée s'articulera autour de cinq séries (figure 21).

Dans la série A, divers substituants ont été introduits (OMe, NO₂, OH, NH₂) en position 2 ou 3 du groupement 4-chlorobenzyle.

Dans la série B, la chaîne glyoxamide est allongée par insertion d'un acide aminé (Gly, Ala, Ile) entre le carbonyle de la fonction amide et l'azote de la 4-aminopyridine.

Dans la série C, le but est de déplacer la chaîne glyoxamide du D-24851 en position 4 et 5 du noyau indolique.

Dans la série D, la chaîne glyoxamide est allongée par insertion d'un groupement acétyle entre le C-3 de l'indole et la chaîne glyoxamide pour former un 2,4-dioxobutyramide.

³⁵ G. Bacher, B. Nickel, P. Emig, U. Vanhoefer, S. Seeber, A. Shandra, T. Klenner et T. Beckers, D-24851, a novel synthetic microtubule inhibitor, exerts curative antitumoral activity in vivo, shows efficacy toward multidrug-resistant tumor cells, and lacks neurotoxicity, *Cancer Research*, **2001**, 61, 392-399.

³⁶ M. Knacck, P. Emig, J.W. Bats, M. Kiesel, A. Müller et E. Günther, Synthesis and characterization of the biologically active 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-pyridin-4-yl acetamide, *Eur. J. Org. Chem.*, **2001**, 3843-3847.

Enfin, la série E consiste à introduire une double liaison entre le C-3 de l'indole et la fonction glyoxamide.

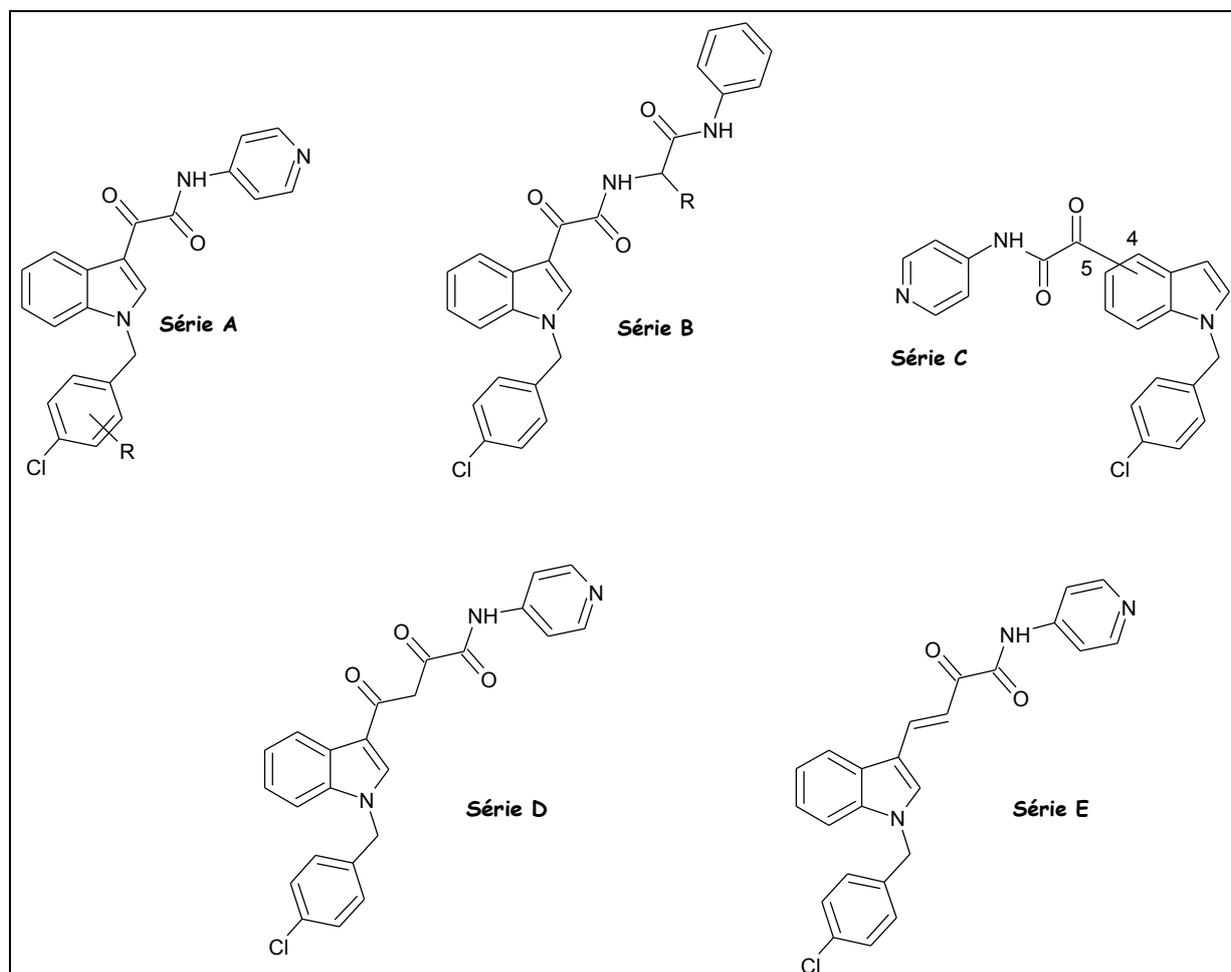


Figure 21

Le but de ce travail de synthèse est également d'améliorer le profil pharmacocinétique, notamment la solubilité, du D-24851.

SERIE A

PARTIE THEORIQUE

Nous décrivons dans le présent chapitre les travaux de synthèse mis en œuvre pour l'accès aux dérivés indoliques de structure générale **I** (figure 1).

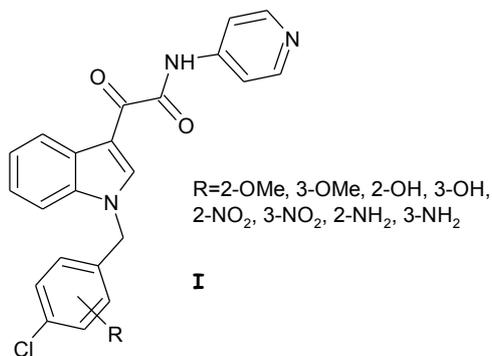


Figure 1

A. APERCU BIBLIOGRAPHIQUE ET ANALYSE RETROSYNTHETIQUE

L'accès aux (indol-3-yl)glyoxamides constitue une étape clé, fréquemment exploitée pour préparer les tryptamines^{37,38,39,40}. Le principe est de faire réagir une molécule d'indole avec le chlorure d'oxalyle puis d'ajouter l'amine en excès, pour conduire à la formation de l'amide, réductible en amine.

La synthèse des (1-benzylindol-3-yl)glyoxamides de structure générale **I** comporte deux étapes principales :

- la réaction de benzylation sur l'azote indolique,
- la réaction d'acylation par le chlorure d'oxalyle suivie de la formation du glyoxamide.

Deux voies de synthèse peuvent être envisagées : la voie A dans laquelle la réaction de benzylation de l'azote indolique est réalisée avant la formation du glyoxamide et la voie B dans laquelle l'ordre des réactions est inversé (schéma 1).

³⁷ F. Benington, R.D. Morin et L.C. Clark, Jr., Synthesis of some 5- and 6-chloro, 5-methyl, and 5,6,7-trimethyl derivatives of tryptamine, *J. Org. Chem.*, **1960**, 25, 1542-1547.

³⁸ C. Martini, T. Gervasio, A. Lucacchini, A. Da Settimo, G. Primofiore et A.M. Marini, Specific inhibition of benzodiazepine receptor binding by some N-(indol-3-ylglyoxylyl)amino acid derivatives, *J. Med. Chem.*, **1985**, 28, 506-509.

³⁹ G. Primofiore, A.M. Marini, F. Da Settimo, C. Martini, A. Bardellini, G. Giannaccini et A. Lucacchini, Specific inhibition of benzodiazepine receptor binding by some N-(indol-3-ylglyoxylyl)amino acid derivatives: stereoselective interactions, *J. Med. Chem.*, **1989**, 32, 2514-2518.

⁴⁰ J.E. Macor, R. Post et K. Ryan, A simple synthesis of 5-amino-3-(2-dimethylaminoethyl)indole, *Synth. Comm.*, **1993**, 23, 65-72.

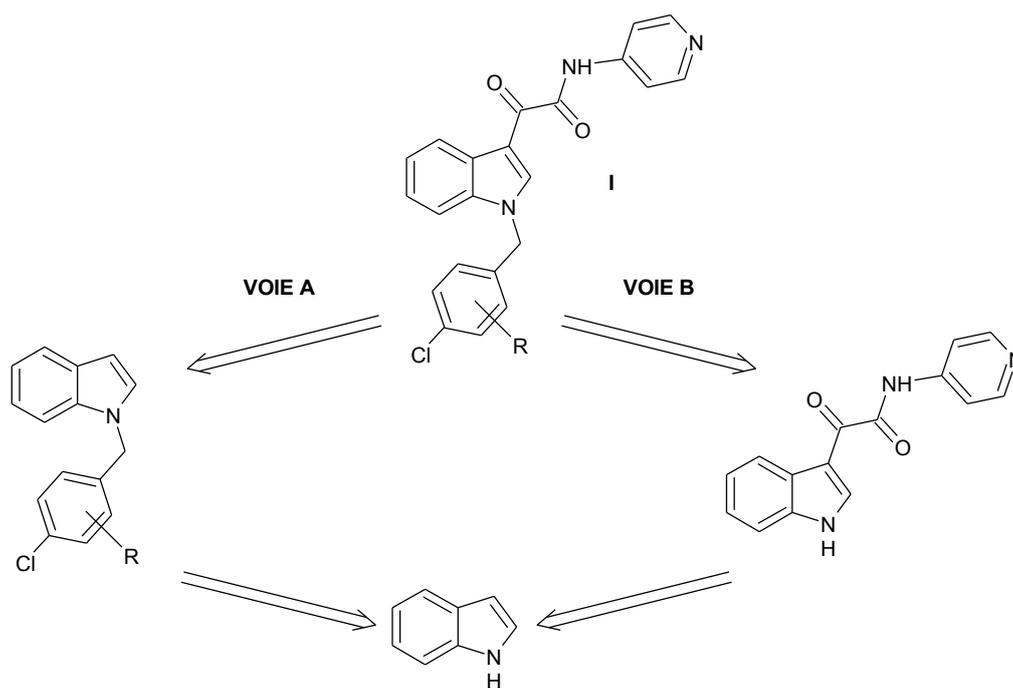


Schéma 1

B. TRAVAUX REALISES

1. Voie A : Benzilation puis introduction de la chaîne glyoxamide

L'analyse rétrosynthétique a montré que les composés de structure générale I peuvent être obtenus à partir de l'indole en deux étapes (schéma 2).

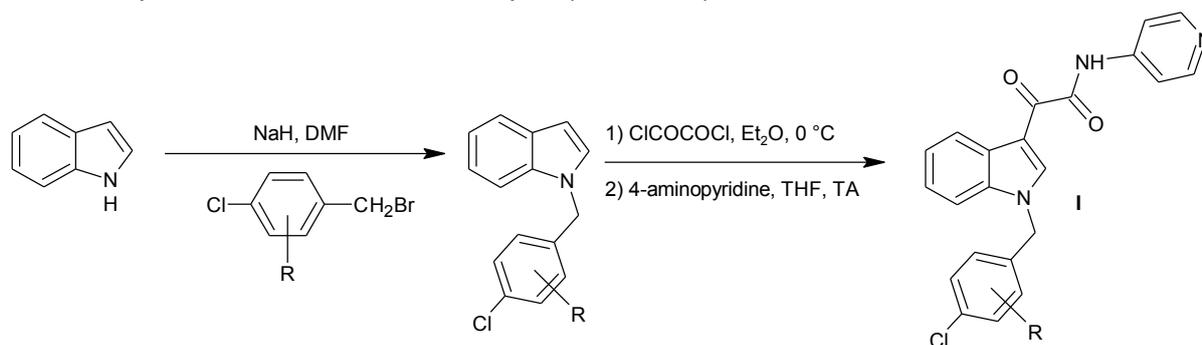


Schéma 2

La première étape est une N-benzilation de l'indole. Elle est réalisée par utilisation d'hydrure de sodium dans un solvant aprotique dipolaire (DMSO ou DMF). L'anion formé réagit alors avec un halogénure d'alkyle primaire, selon un mécanisme SN₂.

Concernant la régiosélectivité de la *N*- ou *C*-alkylation, les études de Cardillo *et al.*⁴¹ et plus récemment de Nunomoto *et al.*⁴² ont mis en évidence que la nature du cation métallique, la polarité du solvant, la dilution, le type de groupement partant de l'agent alkylant ainsi que la température de réaction jouent un rôle important. L'anion ambident **II** formé lors de la réaction d'alkylation peut conduire au mélange de produits *N*- ou *C*-alkylés **III**, **IV** et **V** résultant d'une attaque en 1 et/ou 3 (schéma 3).

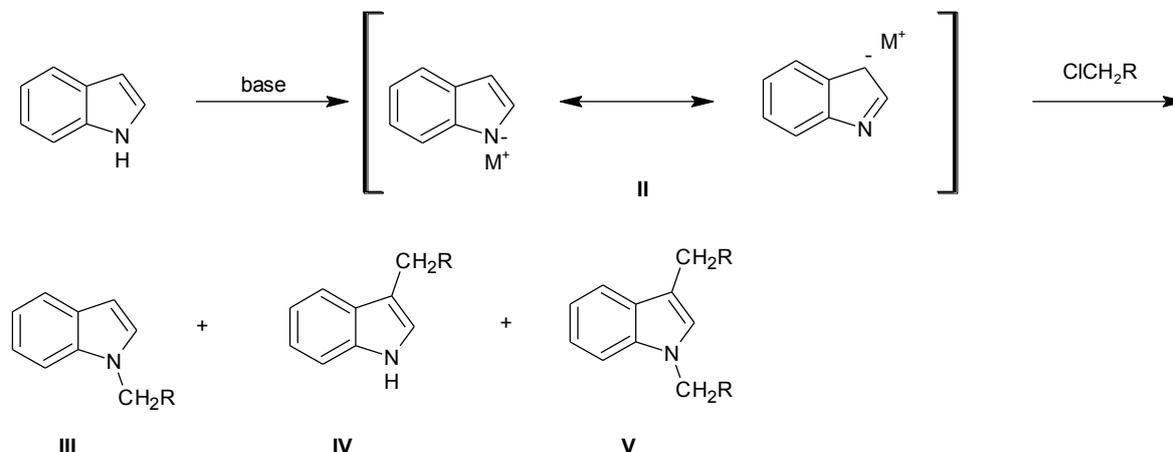


Schéma 3

La seconde étape a été décrite pour la synthèse des tryptamines³⁷⁻⁴⁰. Dans un premier temps l'indole est mis en réaction avec du chlorure d'oxalyle dans l'éther diéthylique pour conduire au chlorure d'indole-3-glyoxyle intermédiaire *via* une réaction de substitution électrophile. En effet, les travaux de Speeter et Anthony⁴³ ont montré que l'indole réagissait avec le chlorure d'oxalyle pour former le chlorure d'indole-3-glyoxyle. Le chlorure de glyoxyle réagit ensuite avec une amine, à savoir dans notre cas la 4-aminopyridine, pour former le glyoxamide correspondant. Afin de capter l'acide chlorhydrique formé, l'amine est utilisée en excès ; on peut également utiliser de la triéthylamine mais des travaux antérieurs réalisés au laboratoire⁴⁴ ont montré que les rendements sont bien souvent plus faibles qu'en utilisant l'amine en excès.

Pour accéder aux composés de structure générale **I**, il faut préalablement préparer les bromures de benzyle nécessaires pour la réaction de benzylation de l'azote indolique. Seuls les bromures de benzyle substitués par un groupement nitro ou méthoxy en position 2 ou 3 seront synthétisés. En effet, les composés de structure générale **I** pour lesquels R=NH₂ et R=OH pourront facilement être obtenus par la suite, par réduction du groupement nitro en groupement amino et par déméthylation du groupement méthoxy respectivement. Une analyse rétrosynthétique permet d'envisager deux voies différentes pour accéder aux bromures de benzyle (schéma 4).

⁴¹ B. Cardillo, G. Casnati, A. Pochini et A. Ricca, Alkylation of indole sodium salt as ambifunctional nucleophilic system, *Tetrahedron*, **1967**, 23, 3771-3783.

⁴² S. Nunomoto, Y. Kawakami, Y. Yamashita, H. Takeuchi et S. Eguchi, Regioselectivity control in alkylation reactions of indolyl ambident anion, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1990**, 111-114.

⁴³ M.E. Speeter et W.C. Anthony, The action of oxalyl chloride on indoles: a new approach to tryptamines, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, 76, 6208-6210.

⁴⁴ P. Marchand, Synthèse et évaluation pharmacologique de dérivés indoliques à activités immunosuppressive et antitumorale, *Thèse de doctorat*, Université de Nantes, **1999**.

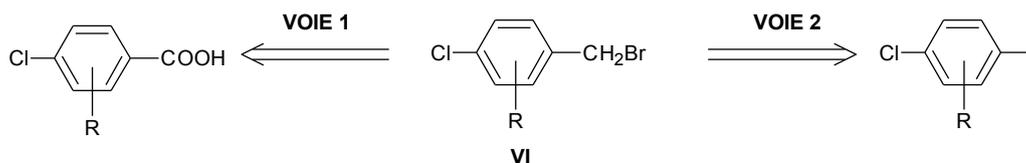


Schéma 4

La voie 1 permet d'accéder en deux étapes aux bromures de benzyle de structure générale **VI** à partir de l'acide 4-chlorobenzoylé substitué en 2 ou 3 ; la voie 2 permet d'accéder en une étape aux composés **VI** à partir du 4-chlorotoluène substitué en 2 ou 3. Pour R=3-NO₂ et R=2-OMe, la voie 1 a été employée ; pour R=2-NO₂ et R=3-OMe, la voie 2 a été utilisée pour des raisons de disponibilité des produits de départ commerciaux.

a. Voie 1 - Accès aux bromures de 4-chloro-2-méthoxybenzyle et 4-chloro-3-nitrobenzyle

La synthèse du bromure de 4-chloro-2-méthoxybenzyle **4** est réalisée en deux étapes à partir de l'acide 4-chloro-2-méthoxybenzoïque **1** (schéma 5) avec un bon rendement.

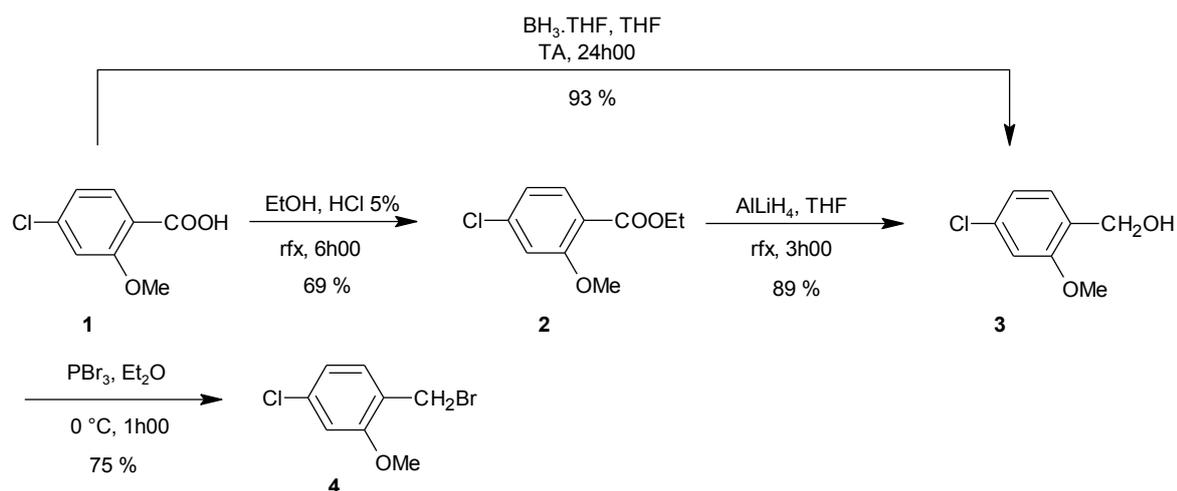


Schéma 5

La réduction de l'acide 4-chloro-2-méthoxybenzoïque **1** en alcool peut être réalisée soit en deux étapes par conversion de l'acide **1** en ester **2** puis réduction de l'ester en alcool par l'hydrure de lithium et d'aluminium dans le tétrahydrofurane avec un rendement global de 61 %, soit par réduction directe de l'acide **1** en alcool **3** par le complexe borane-tétrahydrofurane⁴⁵ avec un rendement de 93 %.

⁴⁵ N.M. Yoon et C.S. Pak, Selective reductions. XIX. The rapid reaction of carboxylic acids with borane-tetrahydrofuran. A remarkably convenient procedure for the selective conversion of carboxylic acids to the corresponding alcohols in the presence of other functional groups, *J. Org. Chem.*, **1973**, 38 (16), 2786-2792.

La méthode généralement employée pour la conversion d'un alcool en halogénure met en jeu des réactions avec différents halogénures d'éléments non métalliques ; le chlorure de thionyle⁴⁶, le trichlorure de phosphore⁴⁷ et le tribromure de phosphore⁴⁸ sont les exemples les plus courants.

Le mécanisme de la conversion d'un alcool en halogénure par le tribromure de phosphore est le suivant. La réaction initiale entre l'alcool et le tribromure de phosphore conduit, par substitutions successives de l'ion Br⁻, à un phosphite de trialkyle. Si le bromure d'hydrogène n'est pas neutralisé, le phosphite est protoné et l'attaque nucléophile de l'ion bromure sur le groupe alkyle conduit successivement à la formation de l'halogénure d'alkyle (schéma 6).

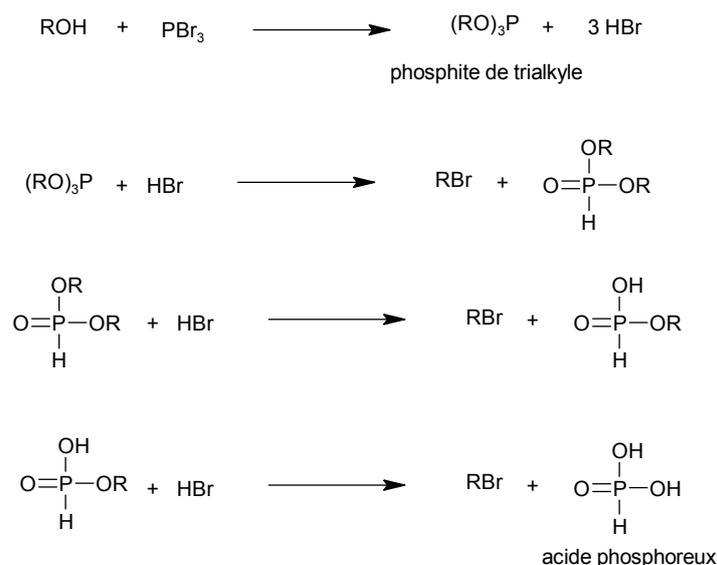


Schéma 6

La conversion de l'alcool **3** en bromure de benzyle **4** est réalisée par réaction avec du tribromure de phosphore dans l'éther diéthylique⁴⁸ à 0 °C avec un rendement de 75 %.

La même séquence réactionnelle est utilisée pour accéder au bromure de 4-chloro-3-nitrobenzyle **7** à partir de l'acide 4-chloro-3-nitrobenzoïque **5** (schéma 7).

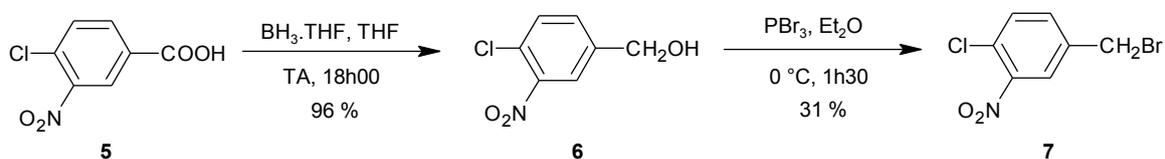


Schéma 7

La réduction de l'acide 4-chloro-3-nitrobenzoïque **5** par le complexe borane-tétrahydrofurane conduit à la formation de l'alcool **6** avec un rendement de 96 %. La deuxième étape conduit au composé **7** avec un rendement modeste. Dans le but de l'améliorer, une autre méthode a

⁴⁶ M.S. Newman, The synthesis of 4,5-dimethylchrysene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1940**, 62, 2295-2300.

⁴⁷ A.G. Anderson, Jr., N.E.T. Owen, F.J. Freenor et D. Erickson, The reaction of primary and secondary alcohols with phosphorus trichloride/dimethylformamide reagents, *Synthesis*, **1976**, 398-399.

⁴⁸ J. Cason et J.S. Correia, Investigation of methods for preparing pure secondary alkyl halides, *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 3645-3649.

été envisagée ; elle consiste à introduire dans un premier temps un bon groupement partant sur l'hydroxyle tel qu'un mésylate, puis de le faire réagir avec du bromure de lithium⁴⁹. Cependant cette réaction n'a pas donné de meilleurs résultats ; elle conduit dans notre cas à l'obtention de l'éther symétrique **8** (schéma 8).

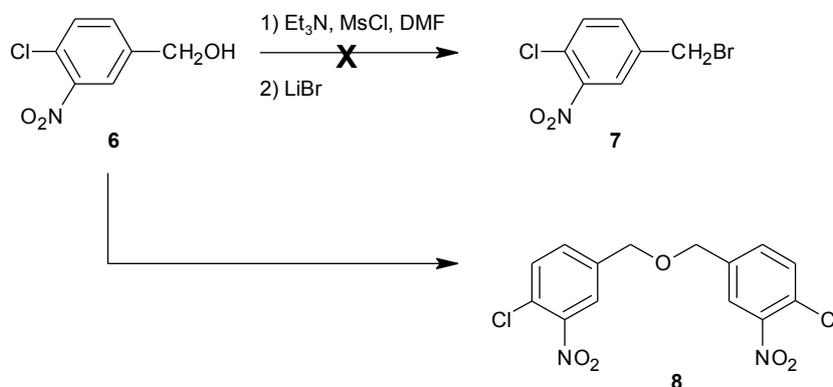


Schéma 8

b. Voie 2 – Accès aux bromures de 4-chloro-2-nitrobenzyle et 4-chloro-3-méthoxybenzyle

La voie 2 permet à partir de 4-chloro-2-nitrotoluène et de 2-chloro-5-méthoxyanisole d'accéder en une étape aux bromures de benzyle désirés ; cette voie d'accès met en jeu une réaction de bromation benzylique.

La bromation benzylique est très fréquemment réalisée par le *N*-bromosuccinimide (NBS) en suspension dans du tétrachlorure de carbone⁵⁰. Le NBS constitue une source continue de très petites quantités de brome formé par réaction avec des traces de bromure d'hydrogène (schéma 9).

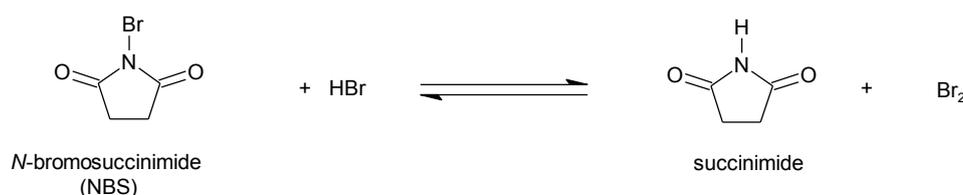


Schéma 9

Le brome réagit selon un mécanisme radicalaire en chaîne qui débute lorsque le brome est dissocié à la suite d'une irradiation⁵¹ ou de la présence d'initiateurs de radicaux tels que l'azo-bis-isobutyronitrile ou AIBN.

La synthèse du bromure de 4-chloro-2-nitrobenzyle **10** est réalisée en une seule étape à partir du 4-chloro-2-nitrotoluène **9** commercial par utilisation de NBS en présence d'AIBN au reflux du tétrachlorure de carbone⁵⁰ avec un rendement de 93 % (schéma 10).

⁴⁹ K. Tsubaki, T. Otsubo, T. Morimoto, H. Maruoka, M. Furukawa, Y. Momose, M. Shang et K. Fuji, Modification of the upper rim of homooxalix[3]arenes and complexation between a nitrohomooxalix[3]arene derivatives and *n*-hexylamine, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 8151-8156.

⁵⁰ C. Djerassi, Brominations with *N*-bromosuccinimide and related compounds, *Chem. Rev.*, **1947**, 43, 271-317.

⁵¹ L. Anzalone et J.A. Hirsch, Substituent effects on hydrogenation of aromatic rings: hydrogenation vs. hydrogenolysis in cyclic analogues of benzyl ethers, *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 2128-2133.

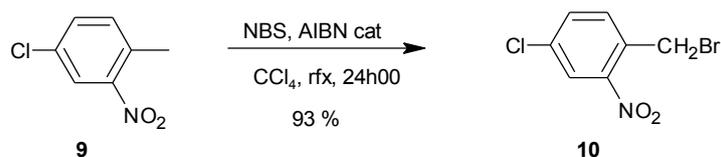


Schéma 10

La synthèse du bromure de 4-chloro-3-méthoxybenzyle **13** est réalisée en deux étapes à partir du 2-chloro-5-méthylphénol **11** commercial. La première étape est une méthylation de la fonction hydroxyle ; elle est accomplie en présence d'hydrure de sodium et d'iodométhane dans le diméthylformamide⁵². La seconde étape permet dans les mêmes conditions que précédemment d'accéder au dérivé bromé **13** avec un rendement de 82 % (schéma 11).

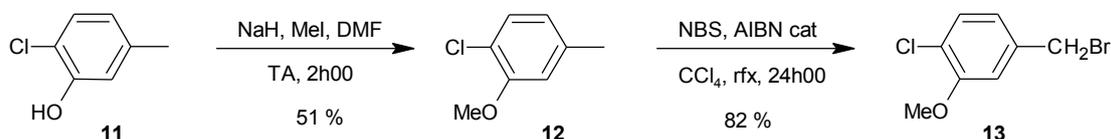
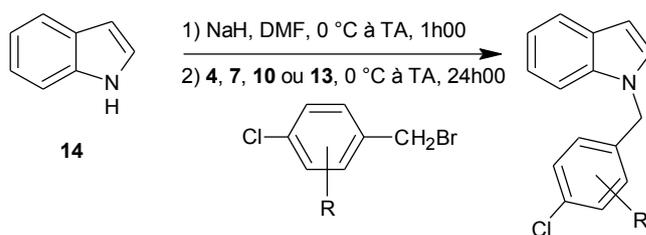


Schéma 11

c. Benzyltion de l'azote indolique

Les bromures de benzyle **4**, **7**, **10** et **13** ont été utilisés pour la benzyltion de l'azote indolique du composé **14** dans les conditions décrites précédemment, à savoir en présence d'hydrure de sodium dans le diméthylformamide. Les composés benzylés correspondants sont obtenus avec des rendements moyens sauf avec le bromure de 4-chloro-2-nitrobenzyle **10** pour lequel il y a dégradation du mélange réactionnel (schéma 12).



10	R=2-NO ₂	dégradation
7	R=3-NO ₂	59 %
4	R=2-OMe	48 %
13	R=3-OMe	55 %

⁵² A.B. Edsall, A.K. Mohanakrishnan, D. Yang, P.E. Fanwick, E. Hamel, A.D. Hanson, G.E. Agoston et M. Cushman, Effects of altering the electronics of 2-methoxyestradiol on cell proliferation, on cytotoxicity in human cancer cell cultures, and on tubulin polymerization, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 5126-5139.

Schéma 12

d. Introduction de la chaîne glyoxamide en position 3 de l'indole

A partir des composés **16**, **17** et **18**, des essais ont été mis en œuvre pour former le glyoxamide mais pour des raisons de mauvaise solubilité de **16** et **17** dans le solvant utilisé c'est à dire l'éther diéthylique, seule la réaction à partir de **18** a permis d'isoler le produit final **21** (schéma 13).

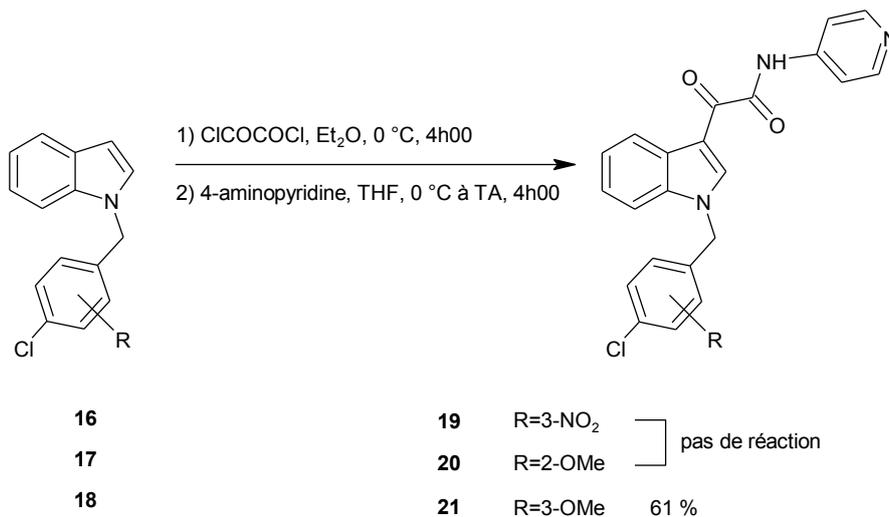


Schéma 13

Face aux échecs rencontrés pour accéder aux composés de structure générale **I** selon la voie A, celle-ci a été délaissée au profit de la voie B.

2. Voie B : Introduction de la chaîne glyoxamide puis benzylation

a. Introduction de la chaîne glyoxamide en position 3 de l'indole

La voie B consiste, dans un premier temps, à introduire la chaîne glyoxamide en position 3 de l'indole **14** et de réaliser ensuite la réaction de benzylation de l'azote indolique. Cette voie a pour avantage la possibilité d'utiliser le même synthon de départ pour synthétiser les différents composés de la série ; il s'agit du 2-(1*H*-indol-3-yl)-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide **22**, synthétisé en deux étapes à partir de l'indole **14** avec un rendement de 82 % (schéma 14).

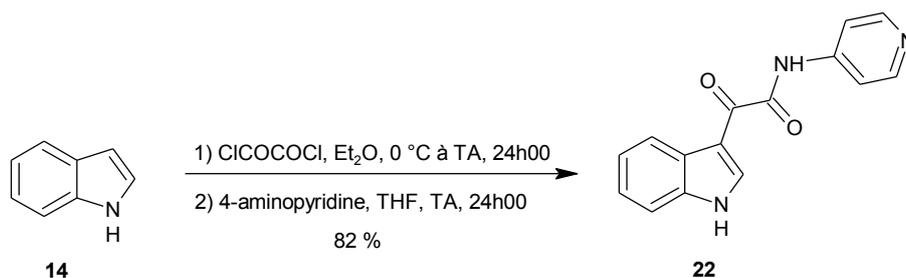


Schéma 14

b. Benzylation de l'azote indolique

Dans un premier temps, il a été envisagé de réaliser la réaction de benzylation de **22** dans des conditions douces (carbonate de césium dans l'acétonitrile au reflux⁴⁴) ; cependant, cette méthode n'a pas conduit aux composés désirés **21** et **23** respectivement à partir des bromures de benzyle **13** et **10** (schéma 15).

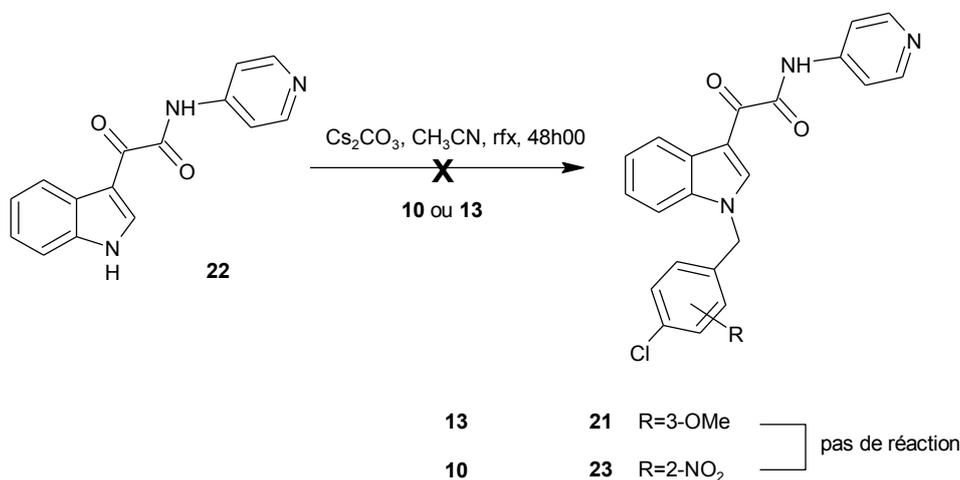


Schéma 15

La benzyltion a donc été mise en oeuvre dans les mêmes conditions que dans la voie A, c'est à dire par utilisation d'hydrure de sodium dans le DMF. Cependant, cette réaction ne permet pas la formation des produits benzylés lorsqu'elle est réalisée à la température ambiante. Le mélange réactionnel doit être chauffé à 65 °C lors de la première étape de déprotonation, puis refroidi à la température ambiante pour l'ajout des bromures de benzyle et enfin chauffé à nouveau à 65 °C pour donner les composés **19**, **20**, **21** et **23** avec des rendements de 46 à 72 % (schéma 16).

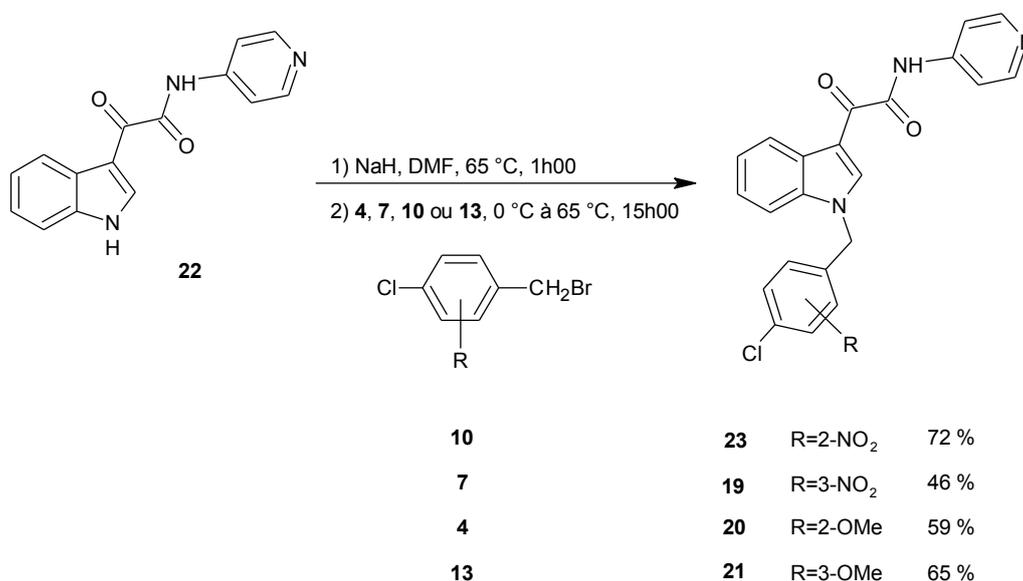
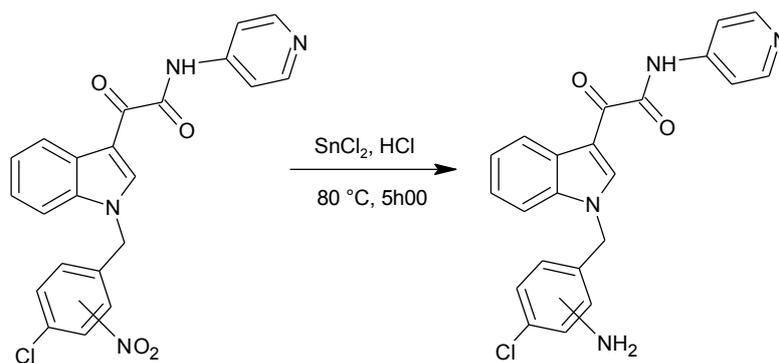


Schéma 16

3. Synthèse des dérivés aminés à partir des composés nitrés correspondants

Les composés **24** et **25** possédant un groupement amino sont obtenus par réduction des produits nitrés **23** et **19** correspondants en présence de chlorure stanneux dans l'acide chlorhydrique concentré⁵³ avec des rendements de 60 % et 47 %, respectivement (schéma 17).

⁵³ L.C. King, M. McWhirter et D.M. Barton, The reaction of acetophenols with iodine and pyridine and the preparation of hydroxybenzoic acids, *J. Am. Chem. Soc.*, **1945**, 67, 2089-2092.



23	R=2-NO ₂	24	R=2-NH ₂	60 %
19	R=3-NO ₂	25	R=3-NH ₂	47 %

Schéma 17

4. Synthèse des dérivés hydroxylés à partir des composés méthoxylés correspondants

Les composés possédant un groupement hydroxyle peuvent être quant à eux obtenus par déméthylation des dérivés méthoxylés **20** et **21**. Les réactifs les plus classiquement utilisés pour la déméthylation des méthoxyaryles⁵⁴ incluent des acides de Lewis tels que BBr₃⁵⁵, AlI₃⁵⁶ et aussi du iodure de triméthylsilyle⁵⁷, du L-selectride, du KF-alumine ou du chlorhydrate de pyridine^{58,59}. Le composé **27** est obtenu par réaction avec du tribromure de bore dans le dichlorométhane⁵⁵ avec un rendement de 56 %. Cependant, la déméthylation du composé **20** est restée infructueuse dans ces conditions (schéma 18).

⁵⁴ S.A. Weissman et D. Zewge, Recent advances in ether dealkylation, *Tetrahedron*, **2005**, 61, 7833-7863.

⁵⁵ F.L. Benton et T.E. Dillon, The cleavage of ethers with boron bromide. Some common ethers, *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, 64, 1128-1129.

⁵⁶ H.K.A.C. Coolen, J.A.M. Meeuwis, P.W.N.M. Van Leeuwen et R.J.M. Nolte, Substrate selective catalysis by rhodium metallohosts, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 11906-11913.

⁵⁷ M.E. Jung et M.A. Lyster, Quantitative dealkylation of alkyl ethers via treatment with trimethylsilyliodide. A new method for ether hydrolysis, *J. Org. Chem.*, **1977**, 42 (23), 3761-3764.

⁵⁸ G.M. Anstead, J.L. Ensign, C.S. Peterson et J.A. Katzenellenbogen, 2-arylidenes and 2-arylidinones: synthesis of probes to study the binding orientation of unsymmetrical nonsteroidal ligands to the estrogen receptor, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 1485-1491.

⁵⁹ P.P. Kulkarni, A.J. Kadam, R.B. Mane, U.V. Desai et P.P. Wadgaonkar, Demethylation of methyl aryl esters using pyridine hydrochloride in solvent-free conditions under microwave irradiation, *J. Chem. Res.*, **1999**, 394-395.

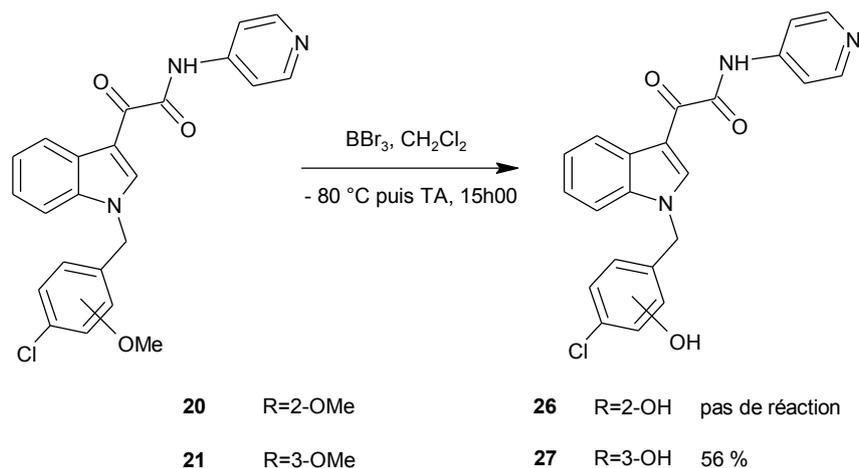


Schéma 18

D'autres essais ont été réalisés afin de démétayer le composé **20**. Le clivage en milieu acide acétique par de l'acide bromhydrique concentré⁶⁰ ainsi que la déméthylation par du chlorhydrate de pyridine ont tous les deux échoué (schéma 19).

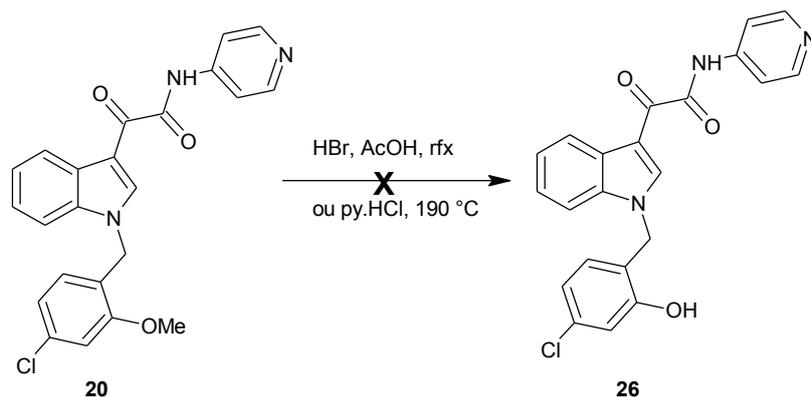


Schéma 19

En conclusion, sept composés finals ont été synthétisés en série A selon la voie B, c'est à dire par introduction de la chaîne glyoxamide en position 3 de l'indole suivie de l'étape de benzylation. Ces composés ont été testés afin d'évaluer leur activité cytotoxique en tant qu'inhibiteur de la polymérisation de la tubuline. Les résultats pharmacologiques seront présentés ultérieurement.

⁶⁰ D.T. Richter et T.D. Lash, Conjugated macrocycles related to the porphyrins. Part 18: synthesis and spectroscopic characterization of electron-rich benzi- and oxobenziporphirins: influence of steric and electronic factors on porphyrinoid aromaticity, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 3657-3671.

PARTIE EXPERIMENTALE

GENERALITES

SOLVANTS

L'éther diéthylique et le tétrahydrofurane sont distillés sur sodium/benzophénone extemporanément.

Le dichlorométhane et l'acétonitrile sont distillés sur chlorure de calcium et conservés sur tamis moléculaire 4 Å.

CHROMATOGRAPHIES

Chromatographie préparative

Pour les chromatographies en phase liquide sur colonne ouverte, la phase stationnaire utilisée est le gel de silice 60 (70-230 mesh ASTM) Merck.

Chromatographie analytique

Les réactions sont suivies par chromatographie sur couches minces (CCM) sur des plaques d'aluminium recouvertes de gel de silice 60F₂₅₄.

METHODES SPECTROSCOPIQUES

RMN ¹H et RMN ¹³C

Les spectres de ¹H RMN ont été réalisés sur un spectromètre Bruker AC (250 MHz), les spectres de ¹³C RMN sur un spectromètre Bruker AC (400 MHz). Les valeurs des déplacements chimiques sont exprimées en parties par million (ppm) avec le tétraméthylsilane comme référence interne. Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz.

Les abréviations suivantes sont utilisées pour préciser la multiplicité des signaux :

s=singulet ; sl= singulet large ; d=doublet ; t=triplet ; q=quadruplet ; dd=doublet de doublet ; td=triplet dédoublé ; qd=quadruplet dédoublé ; m=multiplet

Spectrographie infrarouge

Les spectres IR ont été enregistrés, après incorporation dans des pastilles de bromure de potassium pour les solides ou après dépôt entre deux lames de chlorure de sodium pour les liquides et les huiles, sur un spectromètre Paragon 1000PC Perkin Elmer.

Spectrométrie de masse

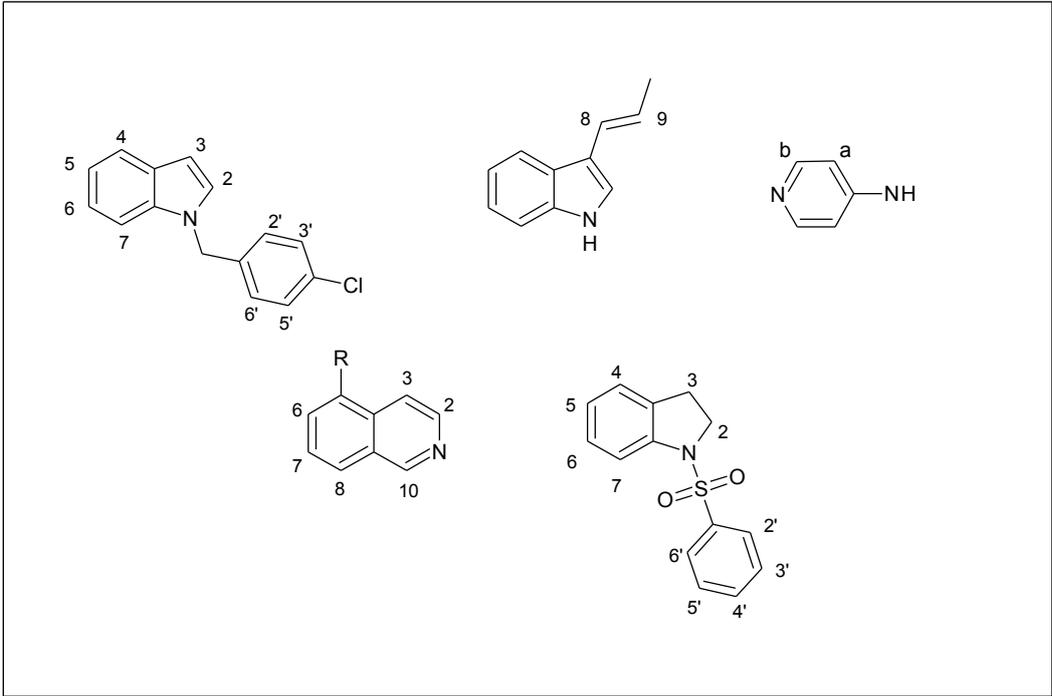
Les spectres de masse ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre H.P. 5889A quadripolaire en impact électronique sous 70 eV.

MESURES PHYSIQUES

Température de fusion

Les points de fusion sont déterminés en tube capillaire sur appareil Electrothermal IA9000.

Par souci de clarté et afin de faciliter la comparaison des spectres RMN, nous avons utilisé les numérotations suivantes.



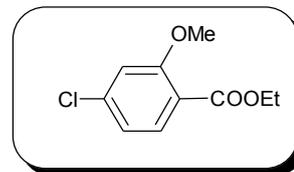
4-chloro-2-méthoxybenzoate d'éthyle (2)

huile jaune

$C_{10}H_{11}ClO_3$

$M_r = 214.65$

$R_f = 0.75$ (dichlorométhane/éthanol : 19/1)

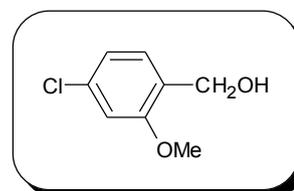


Mode opératoire : chauffer au reflux pendant 6h00 une solution de 5.0 g (26.8 mmol) d'acide 4-chloro-2-méthoxybenzoïque **1** dans 60 mL d'éthanol chlorhydrique à 5 % puis laisser revenir à température ambiante. Evaporer le solvant, reprendre le résidu au dichlorométhane puis laver la phase organique avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium, puis à l'eau, sécher sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant pour donner une huile jaune. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant par le mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 19/1 pour donner une huile jaune (4.0 g, $\eta=69$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.68 (d, 1H, H_6 , $^3J=8.3$ Hz), 7.28 (s, 1H, H_3), 7.12 (d, 1H, H_5 , $^3J=8.3$ Hz), 4.27 (q, 2H, CH_2 , $^3J=7.1$ Hz), 3.88 (s, 3H, OCH_3), 1.32 (t, 3H, CH_3 , $^3J=7.1$ Hz).

(4-chloro-2-méthoxyphényl)méthanol (3)

huile jaune



$C_8H_8ClO_2$
 $M_r = 172.61$
 $R_f = 0.45$ (dichlorométhane)

Mode opératoire 1 : sous atmosphère d'azote, à une solution de 5.0 g (26.8 mmol, 1 éq) d'acide 4-chloro-2-méthoxybenzoïque **1** dans 50 mL de tétrahydrofurane, ajouter 80.4 mL (80.4 mmol, 3 éq) du complexe borane-tétrahydrofurane (solution à 1M dans le tétrahydrofurane). Laisser sous agitation à température ambiante pendant 24h00. Evaporer le solvant. Dissoudre le produit dans du dichlorométhane, ajouter de la silice, agiter pendant 1h00 et filtrer. Concentrer le filtrat. Purifier sur colonne de gel de silice en éluant par le mélange dichlorométhane/éthanol : 9/1 pour obtenir une huile jaune (4.3 g, $\eta=93\%$).

Mode opératoire 2 : à une solution de 3.8 g (17.7 mmol, 1 éq) de 4-chloro-2-méthoxybenzoate d'éthyle **2** dans 30 mL de tétrahydrofurane, ajouter sous atmosphère d'azote 67 mg (17.7 mmol, 1 éq) d'hydruure de lithium et d'aluminium et chauffer au reflux pendant 3h00. Reprendre le mélange réactionnel à l'eau. Extraire à l'acétate d'éthyle. Laver plusieurs fois la phase organique à l'eau, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une huile orange. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 9/1 pour donner une huile jaune (2.6 g, $\eta=89\%$).

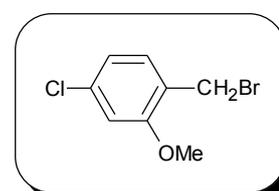
1H RMN (DMSO- d_6) : 7.41 (d, 1H, H_6 , $^3J=8.6$ Hz), 7.04-7.01 (m, 2H, H_3 , H_5), 5.11 (t, 1H, OH, $^3J=5.8$ Hz), 4.52 (d, 2H, CH_2 , $^3J=5.8$ Hz), 3.83 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 156.38 (C), 131.42 (C), 129.11 (C), 127.72 (CH), 119.47 (CH), 110.24 (CH), 57.10 (CH_2), 55.28 (CH_3).

IR (NaCl), cm^{-1} : 3219 ν OH, 1254 ν C-OMe.

bromure de 4-chloro-2-méthoxybenzyle (4)

poudre blanche
 C_8H_8BrClO
 $M_r = 235.51$
 $R_f = 0.76$ (dichlorométhane)
 $F = 47-48$ °C



Mode opératoire : à une solution de 1.0 g (5.8 mmol, 1 éq) de (4-chloro-2-méthoxyphényl)méthanol **3** dans 25 mL d'éther diéthylique, ajouter à 0 °C goutte à goutte 0.6 mL (5.8 mmol, 1 éq) de tribromure de phosphore. Laisser sous agitation à 0 °C pendant 1h00. Laver successivement la phase organique à l'eau, avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium puis à nouveau à l'eau. Sécher sur sulfate de sodium et filtrer. Evaporer sous pression réduite en chauffant légèrement pour donner une poudre blanche (1.0 g, η =75 %).

$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$: 7.46 (d, 1H, H₆, $^3\text{J}=7.9$ Hz), 7.16 (d, 1H, H₃, $^4\text{J}=2.1$ Hz), 7.04 (dd, 1H, H₅, $^3\text{J}=7.9$ Hz, $^4\text{J}=2.1$ Hz), 4.65 (s, 2H, CH₂), 3.92 (s, 3H, OCH₃).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-d}_6\text{)}$: 156.66 (C), 131.69 (C), 129.41 (C), 128.02 (CH), 119.77 (CH), 110.54 (CH), 57.35 (CH₂), 55.61 (CH₃).

IR (KBr), cm^{-1} : 1251 ν C-OMe.

(4-chloro-3-nitrophényl)méthanol (**6**)

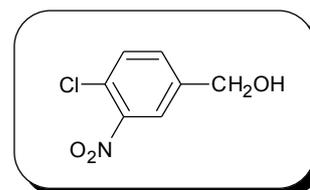
poudre jaune

$\text{C}_7\text{H}_6\text{ClO}_3$

$M_r = 187.59$

$R_f = 0.33$ (dichlorométhane)

F = 64-65 °C



Mode opératoire : le composé **6** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **3**, selon le mode opératoire 1 (η =96 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 8.01 (s, 1H, H₂), 7.77 (d, 1H, H₅, ³J=8.2 Hz), 7.68 (d, 1H, H₆, ³J=8.2 Hz), 5.60 (t, 1H, OH, ³J=5.8 Hz), 4.61 (d, 2H, CH₂OH, ³J=5.8 Hz).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 147.38 (C), 144.00 (C), 131.51 (CH), 131.26 (CH), 122.88 (CH), 122.73 (C), 61.17 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3219 νOH, 1521 et 1349 νNO₂.

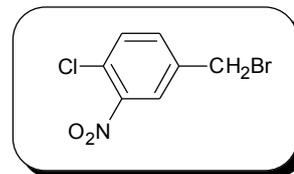
bromure de 4-chloro-3-nitrobenzyle (7)

huile jaune

$C_7H_5BrClNO_2$

$M_r = 250.48$

$R_f = 0.85$ (dichlorométhane)



Mode opératoire : le composé **7** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **4** ($\eta=31\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.24 (s, 1H, H₂), 7.83-7.82 (m, 2H, H₅, H₆), 4.82 (s, 2H, CH₂Br).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 147.58 (C), 144.26 (C), 131.79 (CH), 131.50 (CH), 123.15 (CH), 122.99 (C), 61.38 (CH₂).

IR (NaCl), cm^{-1} : 1536 et 1349 ν_{NO_2} .

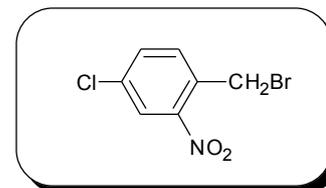
bromure de 4-chloro-2-nitrobenzyle (10)

huile jaune

$C_7H_5BrClNO_2$

$M_r = 250.48$

$R_f = 0.80$ (dichlorométhane)



Mode opératoire : chauffer au reflux pendant 24h00 une solution de 5.0 g (30 mmol, 1 éq) de 4-chloro-2-nitrotoluène 9, 5.8 g (33 mmol, 1.1 éq) de *N*-bromosuccinimide et 250 mg (1.5 mmol, 0.05 éq) d'azo-bis-isobutyronitrile dans 150 mL de tétrachlorure de carbone. Refroidir. Filtrer le précipité de succinimide formé et le laver au tétrachlorure de carbone. Concentrer le filtrat. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant par le mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle : 9/1 pour donner une huile jaune (7.0 g, $\eta=93\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.20 (d, 1H, H_3 , $^4J=2.2$ Hz), 7.90 (dd, 1H, H_5 , $^3J=8.2$ Hz, $^4J=2.2$ Hz), 7.83 (d, 1H, H_6 , $^3J=8.2$ Hz), 4.94 (s, 2H, CH_2Br).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 147.74 (C), 137.75 (C), 133.95 (CH), 132.21 (C), 130.65 (CH), 124.39 (CH), 59.88 (CH_2).

IR (NaCl), cm^{-1} : 1542 et 1321 ν_{NO_2} .

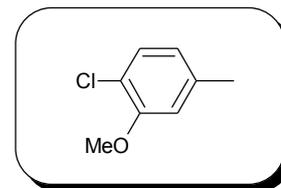
2-chloro-5-méthylanisole (12)

huile orange

C_8H_9ClO

$M_r = 156.61$

$R_f = 0.65$ (dichlorométhane)



Mode opératoire : sous atmosphère inerte, à une solution de 10.0 g (70 mmol, 1 éq) de 2-chloro-5-méthylphénol **11** dans 200 mL de diméthylformamide, ajouter progressivement 3.0 g (77 mmol, 1.1 éq) d'hydruure de sodium à 60 % et laisser sous agitation pendant 1h00. Ajouter goutte à goutte 4.8 mL (77 mmol, 1.1 éq) de iodure de méthyle. Laisser agiter sous atmosphère inerte pendant 1h00. Reprendre le mélange réactionnel au dichlorométhane. Laver plusieurs fois la phase organique à l'eau, sécher sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant pour donner une huile orange (5.6 g, $\eta=51$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.30 (d, 1H, H₃, $^3J=8.2$ Hz), 7.00 (d, 1H, H₆, $^4J=1.2$ Hz), 6.79 (dd, 1H, H₄, $^3J=8.2$ Hz, $^4J=1.2$ Hz), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 2.33 (s, 3H, CH₃).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 154.14 (C), 138.09 (C), 129.32 (CH), 121.80 (CH), 117.88 (C), 113.48 (CH), 55.80 (OCH₃), 20.83 (CH₃).

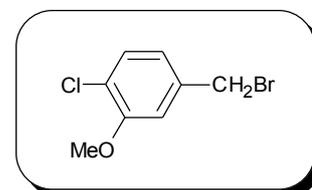
IR (KBr), cm^{-1} : 2937 ν CH aro, 1287 ν C-OMe, 646 ν C-Cl.

bromure de 4-chloro-3-méthoxybenzyle (13)

huile jaune

C_8H_8BrClO

$M_r = 235.52$



$R_f = 0.71$ (dichlorométhane/acétate d'éthyle : 1/1)

Mode opératoire : le composé **13** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **10** ($\eta=82\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 7.44 (d, 1H, H_5 , $^3J=8.2$ Hz), 7.29 (d, 1H, H_2 , $^4J=1.9$ Hz), 7.08 (dd, 1H, H_6 , $^3J=8.2$ Hz, $^4J=1.9$ Hz), 4.73 (s, 2H, CH_2), 3.90 (s, 3H, OCH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 154.44 (C), 143.55 (C), 129.55 (CH), 119.28 (CH), 119.12 (C), 110.88 (CH), 62.52 (CH_2), 56.10 (OCH_3).

IR (KBr), cm^{-1} : 2927 $\nu\text{CH aro}$, 1282 $\nu\text{C-OMe}$, 646 $\nu\text{C-Cl}$.

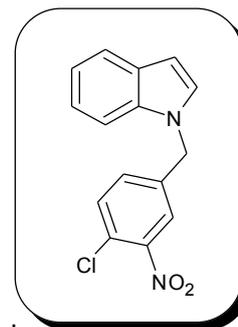
1-(4-chloro-3-nitrobenzyl)-1*H*-indole (16)

huile jaune

C₁₅H₁₁ClN₂O₂

M_r = 286.71

R_f = 0.67 (dichlorométhane/hexane : 1/1)



Mode opératoire : à une solution de 1.0 g (8.6 mmol, 1 éq) d'indole **14** dans 40 mL de diméthylformamide ajouter à 0 °C et sous atmosphère d'azote 376 mg (9.5 mmol, 1.1 éq) d'hydrure de sodium à 60 % et laisser sous agitation pendant 1h00. Ajouter ensuite à 0 °C une solution de 2.1 g (8.6 mmol, 1 éq) de bromure de 4-chloro-3-nitrobenzyle **7** dans 20 mL de diméthylformamide et laisser revenir doucement à température ambiante. Maintenir l'agitation pendant 24h00. Reprendre le mélange réactionnel au dichlorométhane. Laver plusieurs fois la phase organique à l'eau pour éliminer le diméthylformamide. Sécher sur sulfate de sodium et évaporer le solvant pour donner une huile jaune (1.5 g, η=59 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 8.01 (d, 1H, H₂, ⁴J=2.1 Hz), 7.75 (d, 1H, H₅, ³J=8.2 Hz), 7.63-7.58 (m, 2H, H₂, H₄), 7.53-7.49 (m, 1H, H₇), 7.44 (dd, 1H, H₆, ³J=8.2 Hz, ⁴J=2.1 Hz), 7.18-7.04 (m, 2H, H₅, H₆), 6.56 (d, 1H, H₃, ³J=3.4 Hz), 5.57 (s, 2H, CH₂Ph).

1-(4-chloro-2-méthoxybenzyl)-1*H*-indole (17)

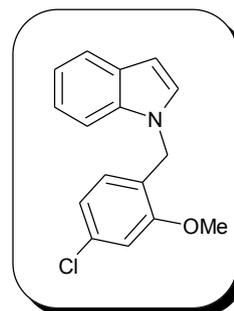
poudre rose

C₁₆H₁₄ClNO

M_r = 271.74

R_f = 0.82 (dichlorométhane)

F = 64-65 °C



Mode opératoire : le composé **17** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **16** ($\eta=48\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 7.63-7.57 (m, 1H, H₄), 7.45-7.41 (m, 2H, H₂, H₇), 7.15 (d, 1H, H₃, ⁴J=2.1 Hz), 7.13-7.01 (m, 2H, H₅, H₆), 6.93 (dd, 1H, H_{5'}, ³J=8.0 Hz, ⁴J=2.1 Hz), 6.75 (d, 1H, H_{6'}, ³J=8.0 Hz), 6.51 (dd, 1H, H₃, ³J=3.1 Hz, ⁴J=0.6 Hz), 5.36 (s, 2H, CH₂), 3.92 (s, 3H, OCH₃).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 157.30 (C), 135.74 (C), 132.95 (C), 129.20 (CH), 129.07 (CH), 128.11 (C), 124.94 (C), 121.14 (CH), 120.41 (CH), 120.11 (CH), 119.05 (CH), 111.42 (CH), 109.91 (CH), 100.88 (CH), 55.94 (OCH₃), 43.82 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1587 νC=C, 1234 νC-OMe.

1-(4-chloro-3-méthoxybenzyl)-1*H*-indole (18)

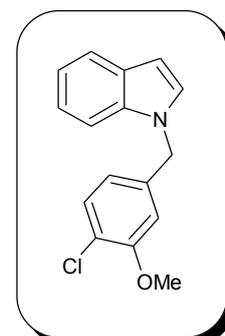
poudre rose pâle

C₁₆H₁₄ClNO

M_r = 271.74

R_f = 0.78 (dichlorométhane)

F = 138-139 °C



Mode opératoire : le composé **18** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **16** ($\eta=55\%$).

^1H RMN (DMSO- d_6) : 7.61-7.57 (m, 1H, H_4), 7.56 (d, 1H, H_2 , $^3\text{J}=3.3$ Hz), 7.51-7.47 (m, 1H, H_7), 7.35 (d, 1H, H_5 , $^3\text{J}=8.2$ Hz), 7.19 (d, 1H, H_2 , $^4\text{J}=1.8$ Hz), 7.11-7.02 (m, 2H, H_5 , H_6), 6.67 (dd, 1H, H_6 , $^3\text{J}=8.2$ Hz, $^4\text{J}=1.8$ Hz), 6.53 (dd, 1H, H_3 , $^3\text{J}=3.3$ Hz, $^4\text{J}=0.9$ Hz), 5.44 (s, 2H, CH_2), 3.38 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 154.39 (C), 138.85 (C), 135.66 (C), 129.81 (CH), 129.05 (CH), 128.26 (C), 121.17 (CH), 120.44 (CH), 119.82 (C), 119.71 (CH), 119.12 (CH), 111.76 (CH), 110.07 (CH), 101.06 (CH), 55.96 (OCH_3), 48.69 (CH_2).

IR (KBr), cm^{-1} : 1584 et 1460 $\nu\text{C}=\text{C}$ aro, 1253 $\nu\text{C}-\text{OMe}$.

2-(1*H*-indol-3-yl)-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide (22)

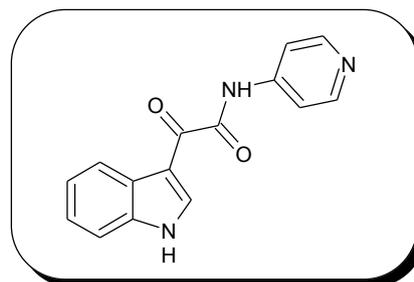
poudre jaune

C₁₅H₁₁N₂O₂

M_r = 265.27

R_f = 0.32 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F >250 °C



Mode opératoire : à une solution de 9.7 g (76.8 mmol, 1 éq) de chlorure d'oxalyde dans 150 mL d'éther diéthylique refroidie dans un bain de glace, ajouter goutte à goutte sous atmosphère d'azote une solution de 9.0 g (76.8 mmol, 1 éq) d'indole **14** dans 50 mL d'éther diéthylique. Laisser sous agitation pendant 24h00 puis évaporer le solvant sous vide.

Dissoudre 15.0 g (160 mmol, 2.1 éq) de 4-aminopyridine dans 300 mL de tétrahydrofurane. Ajouter goutte à goutte le chlorure de glyoxyle obtenu précédemment dissous dans 150 mL de tétrahydrofurane sous atmosphère d'azote. Maintenir sous agitation pendant 24h00 à température ambiante. Filtrer et laver le précipité à l'acétate d'éthyle. Evaporer le solvant. Triturer dans le méthanol. Filtrer le solide formé (16.7 g, η=82 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 12.44 (s, 1H, NH), 11.11 (s, 1H, NH), 8.79 (s, 1H, H₂), 8.56 (d, 2H, H_b, ³J=6.1 Hz), 8.34-8.30 (m, 1H, H₄), 7.89 (d, 2H, H_a, ³J=6.1 Hz), 7.63-7.59 (m, 1H, H₇), 7.37-7.32 (m, 2H, H₅, H₆).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 180.88 (C=O), 163.18 (C=O), 150.38 (2CH), 144.81 (C), 138.78 (CH), 136.42 (C), 126.10 (C), 123.66 (CH), 122.81 (CH), 121.17 (CH), 114.15 (2CH), 113.36 (C), 112.72 (CH).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3340 νNH, 1712 νC=O amide, 1626 νC=O cétone, 1604 et 1517 νC=C aro.

2-[1-(4-chloro-2-nitrobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide (23)

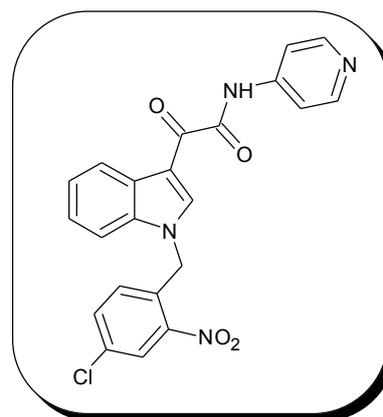
poudre beige

C₂₂H₁₅ClN₄O₄

M_r = 434.83

R_f = 0.24 (dichlorométhane)

F = 197-198 °C



Mode opératoire : à une solution de 370 mg (9.2 mmol, 1.1 éq) d'hydrure de sodium à 60 % dans 10 mL de diméthylformamide, ajouter goutte à goutte sous atmosphère d'azote 2.2 g (8.4 mmol, 1 éq) de 2-(1*H*-indol-3-yl)-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide **22** dissous dans 30 mL de diméthylformamide. Chauffer à 65 °C pendant 1h00. Refroidir dans un bain de glace. Ajouter goutte à goutte une solution de 2.3 g (9.2 mmol, 1.1 éq) de bromure de 4-chloro-2-nitrobenzyle **10** dans 20 mL de diméthylformamide. Chauffer à 65 °C pendant 15h00. Reprendre le mélange réactionnel au dichlorométhane. Laver plusieurs fois la phase organique à l'eau pour éliminer le diméthylformamide. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant (2.6 g, η=72 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 11.16 (s, 1H, NH), 9.02 (s, 1H, H₂), 8.55 (d, 2H, H_b, ³J=4.9 Hz), 8.39 (d, 1H, H₄, ³J=7.9 Hz), 8.33 (d, 1H, H₃, ⁴J=2.4 Hz), 7.88 (d, 2H, H_a, ³J=4.9 Hz), 7.75 (dd, 1H, H₅, ³J=8.5 Hz, ⁴J=2.4 Hz), 7.64 (d, 1H, H₇, ³J=7.3 Hz), 7.45-7.32 (m, 2H, H₅, H₆), 6.62 (d, 1H, H₆, ³J=8.5 Hz), 6.04 (s, 2H, CH₂Ph).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 180.78 (C=O), 162.81 (C=O), 150.35 (2CH), 147.73 (C), 144.77 (C), 142.03 (CH), 136.58 (C), 134.13 (CH), 132.81 (C), 131.70 (C), 129.31 (CH), 126.59 (C), 124.98 (CH), 124.19 (CH), 123.57 (CH), 121.56 (CH), 114.16 (2CH), 111.68 (C), 111.65 (CH), 47.23 (CH₂Ph).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3335 νNH, 1690 νC=O amide, 1634 νC=O cétone, 1579 et 1340 νNO₂.

SM (SI) : m/z = 435 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), m/z = 437 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

2-[1-(4-chloro-3-nitrobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide (19)

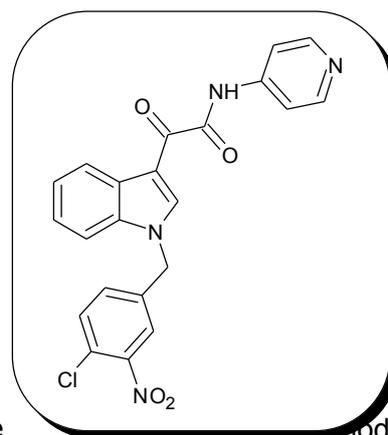
poudre jaune claire

C₂₂H₁₅ClN₄O₄

M_r = 434.83

R_f = 0.14 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 271-272 °C



Mode opératoire : le composé **19** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **23** ($\eta=46$ %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 11.15 (s, 1H, NH), 9.12 (s, 1H, H₂), 8.56 (d, 2H, H_b, ³J=5.8 Hz), 8.36-8.34 (m, 1H, H₄), 8.19 (d, 1H, H₂, ⁴J=2.0 Hz), 7.90 (d, 2H, H_a, ³J=5.8 Hz), 7.79 (d, 1H, H₅, ³J=8.5 Hz), 7.71-7.66 (m, 1H, H₇), 7.62 (dd, 1H, H₆, ³J=8.5 Hz, ⁴J=2.0 Hz), 7.39-7.36 (m, 2H, H₅, H₆), 5.77 (s, 2H, CH₂).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 180.79 (C=O), 162.92 (C=O), 150.41 (2CH), 147.52 (C), 144.77 (C), 141.62 (CH), 137.75 (C), 136.11 (C), 132.67 (CH), 132.06 (CH), 126.80 (C), 124.59 (CH), 124.36 (C), 124.07 (CH), 123.47 (CH), 121.56 (CH), 114.14 (2CH), 111.56 (CH), 111.37 (C), 48.44 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3341 νNH, 1702 νC=O amide, 1615 νC=O cétone, 1586 νC=C aro, 1510 et 1387 νNO₂.

SM (SI) : m/z = 435 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), m/z = 437 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

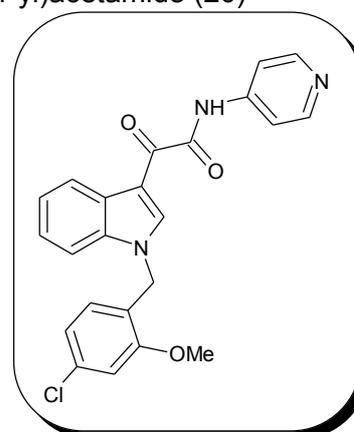
2-(1-[4-chloro-2-méthoxybenzyl]-1*H*-indol-3-yl)-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide (20)

poudre marron clair

C₂₃H₁₈ClN₃O₃

M_r = 419.86

R_f = 0.21 (dichlorométhane)



F = 180-181 °C

Mode opératoire : le composé **20** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **23** ($\eta=59\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 11.13 (s, 1H, NH), 8.92 (s, 1H, H₂), 8.55 (d, 2H, H_b, ³J=6.4 Hz), 8.35-8.34 (m, 1H, H₄), 7.89 (d, 2H, H_a, ³J=6.4 Hz), 7.67-7.65 (m, 1H, H₇), 7.39-7.34 (m, 2H, H₅, H₆), 7.20-7.16 (m, 2H, H₃, H_{6'}), 7.00 (dd, 1H, H₅, ³J=8.2 Hz, ⁴J=1.9 Hz), 5.55 (s, 2H, CH₂), 3.91 (s, 3H, OCH₃).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 180.46 (C=O), 162.96 (C=O), 157.75 (C), 150.40 (2CH), 144.74 (C), 141.84 (CH), 136.39 (C), 133.79 (C), 130.20 (CH), 126.64 (C), 123.83 (CH), 123.25 (CH), 123.05 (CH), 121.43 (C), 120.35 (CH), 114.15 (2CH), 111.83 (CH), 111.53 (CH), 110.85 (C), 56.05 (CH₂), 45.05 (OCH₃).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3339 ν C=O amide, 1589 ν C=O cétone, 1505 ν C=C aro.

SM (SI) : m/z = 420 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), m/z = 422 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

2-[1-(4-chloro-3-méthoxybenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-oxo-N-(pyridin-4-yl)acétamide (21)

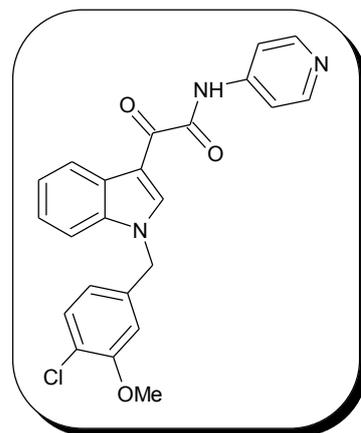
poudre jaune

C₂₃H₁₈ Cl N₃O₃

M_r = 419.86

R_f = 0.19 (dichlorométhane)

F = 207-208 °C



Mode opératoire 1 : à une solution de 3.5 g (12.9 mmol, 1 éq) de 1-(4-chloro-3-méthoxybenzyl)-1*H*-indole **18** dans 100 mL d'éther diéthylique, additionner goutte à goutte à 0 °C et sous atmosphère d'azote 1.1 mL (12.9 mmol, 1 éq) de chlorure d'oxalyle. Maintenir l'agitation à 0 °C et sous atmosphère inerte pendant 4h00. Evaporer l'éther diéthylique. Ajouter 100 mL de tétrahydrofurane et refroidir le mélange réactionnel à 0 °C. Ajouter goutte à goutte une solution de 2.5 g (24.8 mmol, 2 éq) de 4-aminopyridine dans 150 mL de tétrahydrofurane. Laisser revenir le mélange réactionnel à température ambiante et maintenir l'agitation pendant 6h00. Evaporer le tétrahydrofurane, reprendre le résidu au dichlorométhane. Laver deux fois à l'eau, sécher la phase organique sur sulfate de sodium puis évaporer le solvant. Triturer dans le méthanol et filtrer la poudre jaune obtenue (3.3 g, η =61 %).

Mode opératoire 2 : le composé **21** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **23** (η =65 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 11.15 (s, 1H, NH), 9.06 (s, 1H, H₂), 8.56 (d, 2H, H_b, ³J=6.0 Hz), 8.35-8.33 (m, 1H, H₄), 7.90 (d, 2H, H_a, ³J=6.0 Hz), 7.70-7.68 (m, 1H, H₇), 7.39-7.35 (m, 4H, H₅, H₆, H_{5'}, H_{6'}), 6.83-6.81 (m, 1H, H_{2'}), 5.64 (s, 2H, CH₂), 3.88 (s, 3H, OCH₃).

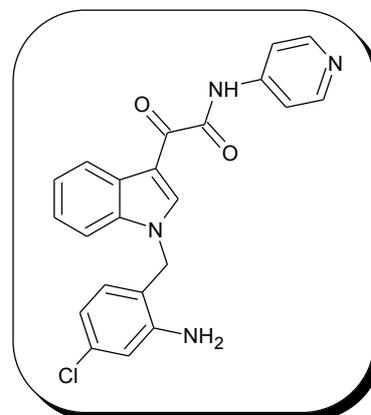
¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 181.19 (C=O), 163.52 (C=O), 155.02 (C), 150.92 (2CH), 145.28 (C), 141.98 (CH), 137.56 (C), 136.83 (C), 130.57 (CH), 127.31 (C), 124.42 (CH), 123.89 (CH), 121.99 (CH), 120.93 (C), 120.59 (CH), 114.66 (2CH), 112.87 (CH), 112.25 (CH), 111.61 (C), 56.60 (OCH₃), 50.08 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3343 vNH, 1700 vC=O amide, 1593 vC=O cétone.

SM (SI) : *m/z* = 420 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), *m/z* = 422 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

2-[1-(2-amino-4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide (**24**)

poudre jaune
 C₂₂H₁₇ClN₄O₂
 M_r = 404.85
 R_f = 0.21 (dichlorométhane)
 F = 258-259 °C



Mode opératoire : à une solution de 872 mg (4.6 mmol, 4 éq) de chlorure d'étain dans 10 mL d'acide chlorhydrique concentré, ajouter progressivement, à 0 °C, 500 mg (1.2 mmol, 1 éq) de 2-[1-(4-chloro-2-nitrobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide **23**. Chauffer à 80 °C pendant 5h00. Verser le mélange réactionnel dans un mélange glace/eau, neutraliser

par une solution d'hydroxyde de sodium. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant sous vide pour donner une poudre jaune (279 mg, η =60 %).

^1H RMN (DMSO- d_6) : 11.12 (s, 1H, NH), 8.91 (s, 1H, H₂), 8.55 (d, 2H, H_b, 3J =6.2 Hz), 8.35-8.33 (m, 1H, H₄), 7.88 (d, 2H, H_a, 3J =6.2 Hz), 7.66-7.64 (m, 1H, H₇), 7.39-7.35 (m, 2H, H₅, H₆), 6.86 (d, 1H, H₆, 3J =8.2 Hz), 6.79 (d, 1H, H₃, 4J =1.6 Hz), 6.54 (dd, 1H, H₅, 3J =8.2 Hz, 4J =1.6 Hz), 5.70 (s, 2H, NH₂), 5.45 (s, 2H, CH₂Ph).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 180.40 (C=O), 162.95 (C=O), 150.41 (2CH), 148.05 (C), 144.73 (C), 141.29 (CH), 136.49 (C), 133.10 (C), 130.53 (CH), 126.82 (C), 123.80 (CH), 123.30 (CH), 121.44 (CH), 117.59 (C), 115.70 (CH), 114.39 (CH), 114.14 (2CH), 111.69 (CH), 110.81 (C), 45.96 (CH₂).

IR (KBr), cm^{-1} : 3380, 3330 ν NH, 1698 ν C=O amide, 1579 ν C=O cétone, 1508 ν C=C aro.

SM (SI) : m/z = 405 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (isotope ^{35}Cl , intensité 1), m/z = 407 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (isotope ^{37}Cl , intensité 1/3).

2-[1-(3-amino-4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-oxo-N-(pyridin-4-yl)acétamide (**25**)

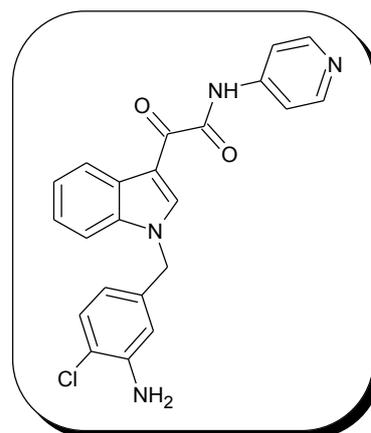
poudre blanche

C₂₂H₁₇ClN₄O₂

M_r = 404.85

R_f = 0.18 (dichlorométhane)

F = 252-253 °C



Mode opératoire : le composé **25** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **24** ($\eta=47\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 11.15 (s, 1H, NH), 8.99 (s, 1H, H₂), 8.56 (d, 2H, H_b, ³J=6.4 Hz), 8.36-8.34 (m, 1H, H₄), 7.90 (d, 2H, H_a, ³J=6.4 Hz), 7.61-7.58 (m, 1H, H₇), 7.38-7.34 (m, 2H, H₅, H₆), 7.19 (d, 1H, H₅, ³J=7.9 Hz), 6.68 (d, 1H, H₂, ⁴J=1.8 Hz), 6.53 (dd, 1H, H₆, ³J=7.9 Hz, ⁴J=1.8 Hz), 5.52 (s, 2H, NH₂), 5.43 (s, 2H, CH₂Ph).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 180.41 (C=O), 162.96 (C=O), 150.41 (2CH), 144.82 (C), 144.75 (C), 141.50 (CH), 136.38 (C), 136.15 (C), 129.24 (CH), 126.85 (C), 123.83 (CH), 123.29 (CH), 121.47 (CH), 116.42 (CH), 115.65 (C), 114.15 (2CH), 113.57 (CH), 111.74 (CH), 110.99 (C), 49.65 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3380, 3322 νNH, 1697 νC=O amide, 1588 νC=O cétone, 1503 C=C aro.

SM (SI) : m/z = 405 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), m/z = 407 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

2-[1-(4-chloro-3-hydroxybenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide (27)

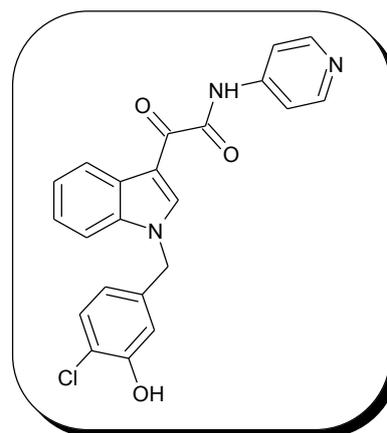
poudre marron

C₂₂H₁₆ClN₃O₃

M_r = 405.83

R_f = 0.16 (dichlorométhane)

F = 282-283 °C



Mode opératoire : à une solution de 200 mg (0.5 mmol, 1 éq) de 2-[1-(4-chloro-3-méthoxybenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide **20** dans 5 mL de dichlorométhane, additionner sous atmosphère d'azote et à -80 °C une solution de 1.2 mL (1.2 mmol, 2.4 éq) de tribromure de bore (solution 1M dans le dichlorométhane). Laisser à température ambiante pendant 15h00 sous agitation et atmosphère inerte. Refroidir à -10 °C. Neutraliser avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Evaporer le dichlorométhane. Reprendre le résidu à l'acétate d'éthyle. Laver à l'eau et sécher la phase organique sur sulfate de sodium. Evaporer le solvant. Purifier par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant par le mélange dichlorométhane/éthanol : 19/1 pour donner une poudre marron (114 mg, η=56 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 11.15 (s, 1H, NH), 10.24 (s, 1H, OH), 9.03 (s, 1H, H₂), 8.55 (d, 2H, H_b, ³J=6.1 Hz), 8.35-8.33 (m, 1H, H₄), 7.90 (d, 2H, H_a, ³J=6.1 Hz), 7.62-7.60 (m, 1H, H₇), 7.39-7.32 (m, 4H, H₅, H₆, H_{5'}, H_{6'}), 6.84-6.83 (m, 1H, H₂), 5.60 (s, 2H, CH₂).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 180.56 (C=O), 162.98 (C=O), 153.16 (C), 150.36 (2CH), 144.80 (C), 141.50 (CH), 136.76 (C), 136.33 (C), 130.06 (CH), 126.81 (C), 123.91 (CH), 123.35 (CH), 121.49 (CH), 119.10 (C), 118.92 (CH), 115.03 (CH), 114.17 (2CH), 111.70 (CH), 111.07 (C), 49.28 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3430, 3347 νNH et νOH, 1709 νC=O amide, 1634 νC=O cétone.

SM (SI) : m/z = 406 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), m/z = 408 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

SERIE B

PARTIE THEORIQUE

A. ANALYSE RETROSYNTHETIQUE

Ce chapitre concerne les travaux de synthèse mis en œuvre pour l'accès aux dérivés indoliques de structure générale **I** (figure 1).

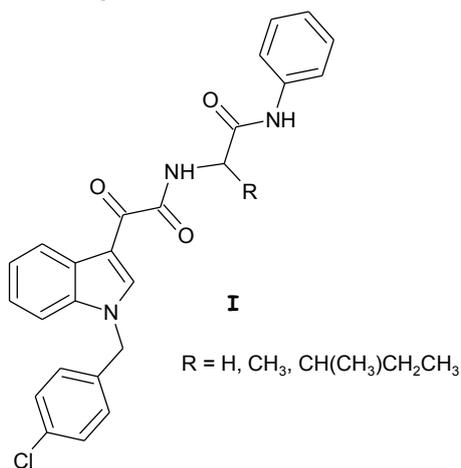


Figure 1

Une analyse rétrosynthétique (schéma 1) permet d'envisager l'accès aux composés **I** par l'intermédiaire du chlorure d'indole-3-glyoxyle précédemment décrit. Deux voies peuvent être envisagées : la voie A, dite directe et la voie B, dite convergente.

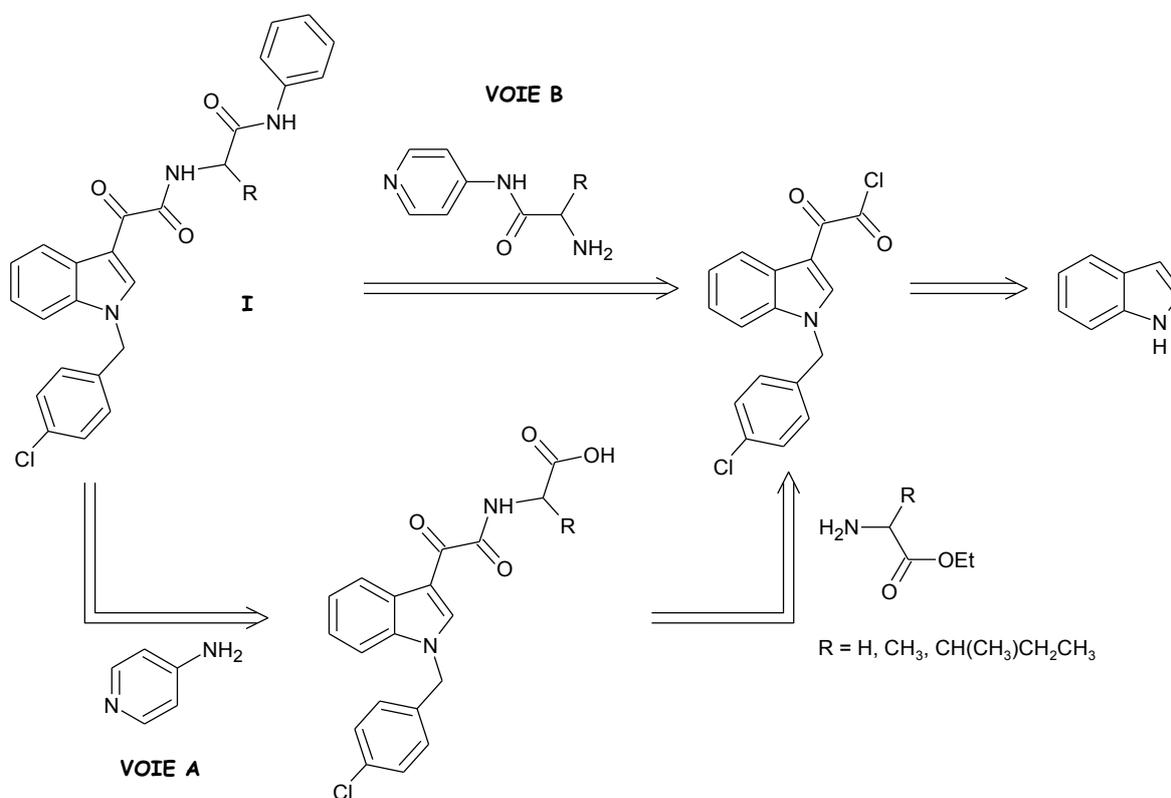


Schéma 1

B. TRAVAUX REALISES

1. Synthèse de l'intermédiaire clé 29

La synthèse de l'intermédiaire clé commun aux voies A et B, le chlorure d'indole-3-glyoxyle benzylé sur l'azote indolique par un motif 4-chlorobenzyle, est effectuée en deux étapes à partir de l'indole **14** (schéma 2).

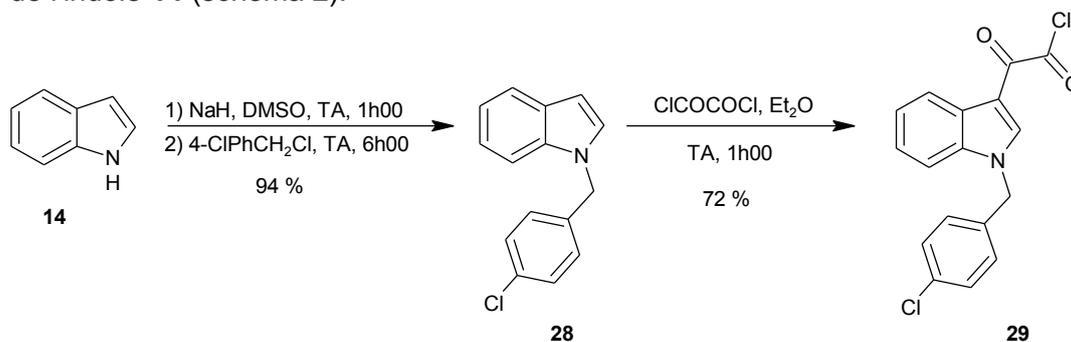


Schéma 2

La benzylation de l'indole, réalisée après métallation par l'hydrure de sodium dans le diméthylsulfoxyde à température ambiante pendant 6h00, conduit exclusivement au composé *N*-benzylé **28** avec un rendement de 94 %. Le composé **28** est mis en réaction avec du chlorure d'oxalyle dans l'éther diéthylique pour conduire à l'intermédiaire clé **29** via une réaction de substitution électrophile avec un rendement de 72 %.

2. Voie

e A – Synthèse directe

a. Couplage entre l'intermédiaire clé **29** et l'acide aminé

Dans la voie A, l'intermédiaire clé **29** est d'abord couplé avec un acide aminé protégé sous forme d'ester⁶¹ (schéma 3) puis le motif 4-aminopyridine est introduit en bout de chaîne, soit par aminolyse de l'ester **30**, soit par amidification de l'acide carboxylique correspondant. Cette voie a été utilisée uniquement pour la glycine.

⁶¹ M.S. Reddy et J.M. Cook, The synthesis of roeharmine and (-)-1,2,3,4-tetrahydroerharmine, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 5413-5416.

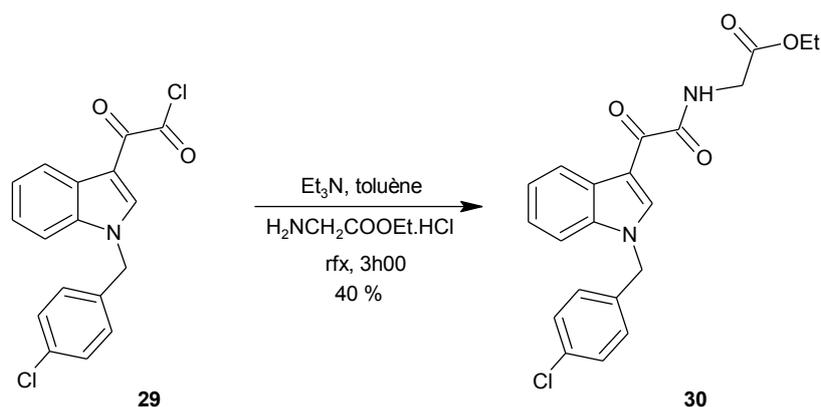


Schéma 3

Le composé **29** réagit avec le chlorhydrate du glycinate d'éthyle, en présence de triéthylamine dans le toluène pour donner l'ester correspondant **30** avec un rendement de 40 %.

b. Aminolyse de l'ester **30**

L'aminolyse de l'ester **30**, catalysée par la 2-hydroxypyridine⁶², en présence de 4-aminopyridine au reflux du toluène ne conduit pas à la formation de l'amide **31** (schéma 4).

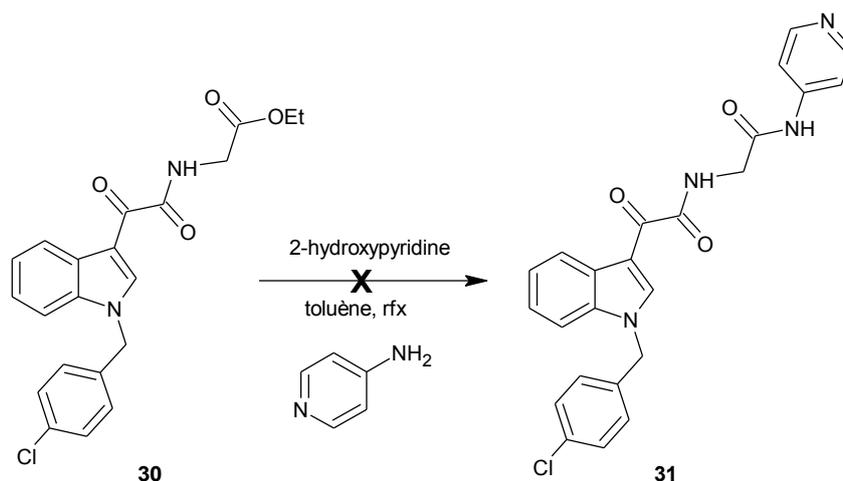


Schéma 4

Des essais d'aminolyse du composé **30** ont également été réalisés sous irradiation micro-ondes, soit en l'absence de base, soit en présence de *tert*-butylate de potassium, à une température supérieure à 150 °C et sans solvant^{63,64} (schéma 5).

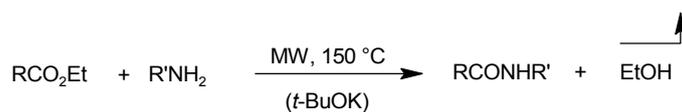


Schéma 5

⁶² H.T. Openshaw et N. Whittaker, The synthesis of emetine and related compounds. Part VII. The utility of bi-functional catalysts in amine-ester interactions, *J. Chem. Soc.*, **1969**, C, 89-91.

⁶³ L. Perreux, A. Loupy et M. Delmotte, Microwave effects in solvent-free esters aminolysis, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 2185-2189.

⁶⁴ L. Perreux, A. Loupy et F. Volatron, Solvent-free preparation of amides from acids and primary amines under microwave irradiation, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 2155-2162.

La réaction est réalisée à une température relativement élevée (150 °C) afin de déplacer la réaction par dégagement d'éthanol.

L'ajout d'une base, à savoir le *tert*-butylate de potassium permet de favoriser la formation de l'amide par élimination de *tert*-butanol (schéma 6).

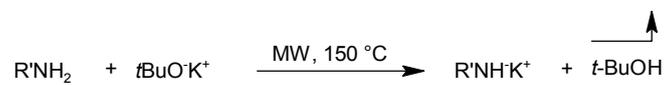


Schéma 6

Dans notre cas, les différentes tentatives d'aminolyse sur l'ester **30** avec la 4-aminopyridine, en présence ou non de *tert*-butylate de potassium sont restées infructueuses. Il apparaît donc nécessaire d'hydrolyser l'ester **30** afin d'obtenir l'acide carboxylique intermédiaire **32** à partir duquel on peut accéder au composé désiré **31** par une réaction d'amidification (schéma 7).

c. Hydrolyse de l'ester **30** puis amidification de l'acide correspondant **32**

L'ester **30** est hydrolysé par l'hydroxyde de sodium dans l'éthanol au reflux avec un rendement de 75 % pour donner le composé **32**.

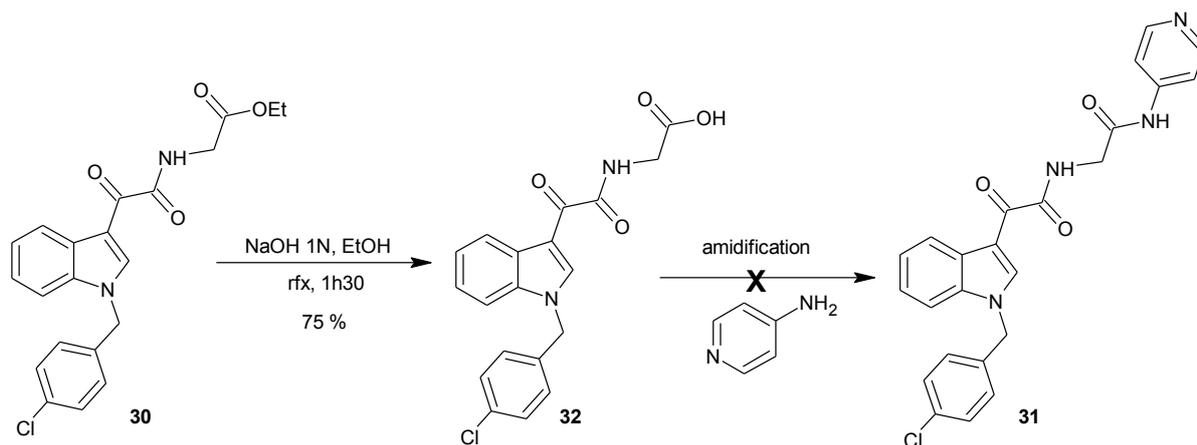


Schéma 7

Différentes méthodes d'amidification ont été mises en œuvre pour obtenir le composé **31** par couplage entre l'acide carboxylique **32** et la 4-aminopyridine.

L'activation de l'acide **32** par formation d'un sel d'acyloxyypyridinium, en utilisant de l'iodure de 2-chloro-1-méthylpyridinium (CNMPI) comme agent de couplage⁶⁵, dans le dichlorométhane au reflux en présence de triéthylamine, ne conduit pas à la formation de l'amide **31**.

L'activation sous forme d'imidazolide, par utilisation de *N,N'*-carbonyldiimidazole (CDI) dans le tétrahydrofurane⁶⁶ à température ambiante est restée également infructueuse.

D'autres agents de couplage ont été testés pour accéder à l'amide **31** notamment le dichlorophosphate de phényle (DCP)⁶⁷, le benzotriazol-1-yloxytri(pyrrolidino)phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP)⁶⁸ et le chlorure de 4-(4,6-diméthoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-méthylmorpholinium (DMTMM)⁶⁹ mais les différents essais mis en oeuvre ont également conduit à des échecs.

⁶⁵ E. Bald, K. Saigo et T. Mukaiyama, A facile synthesis of carboxamides by using 1-methyl-2-halopyridinium iodides as coupling reagents, *Chem. Lett.*, **1975**, 1163-1166.

⁶⁶ R. Paul et G.W. Anderson, *N,N'*-carbonyldiimidazole, a new peptide forming reagent, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, **82**, 4596-4600.

⁶⁷ A. Arrieta, F.P. Cossio et C. Palomo, Synthesis of β -lactams from acetic acids and imines induced by phenyl dichlorophosphate, *Tetrahedron*, **1985**, **41**, 1703-1712.

⁶⁸ P. Li et J.-C. Xu, New and highly efficient immonium type peptide coupling reagents: synthesis, mechanism and applications, *Tetrahedron*, **2000**, **56**, 4437-4445.

⁶⁹ M. Kunishima, C. Kawachi, J. Morita, K. Terao, F. Iwasaki et S. Tani, 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride: an efficient condensing agent leading to the formation of amides and esters, *Tetrahedron*, **1999**, **55**, 13159-13170.

L'amidification peut également être réalisée par activation de l'acide sous forme d'un chlorure d'acide. Les agents de chloration les plus utilisés sont le trichlorure de phosphore⁷⁰ ou le chlorure de thionyle⁷¹. Ce dernier peut être employé seul, et faire office à la fois de réactif et de solvant, ou en solution dans un solvant inerte (benzène, dioxane, 1,2-dichloroéthane). La réaction peut être accélérée par addition d'une quantité catalytique de diméthylformamide dans le milieu réactionnel. L'agent chlorant est alors le chlorure de *N*-diméthylchlorométhylène iminium encore appelé réactif de Vilsmeier, espèce très réactive (schéma 8).

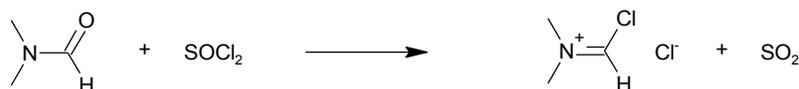


Schéma 8

L'utilisation du chlorure de thionyle en excès sur le composé **32**, en présence d'une quantité catalytique de DMF, a conduit à la dégradation du mélange réactionnel.

Une méthode plus douce, utilisée pour former des chlorures d'acides dans le cas de molécules fragiles, a été mise en œuvre par réaction avec du chlorure d'oxalyle dans le toluène⁷² ; cependant, cette méthode est restée infructueuse sur l'acide **32** (schéma 9).

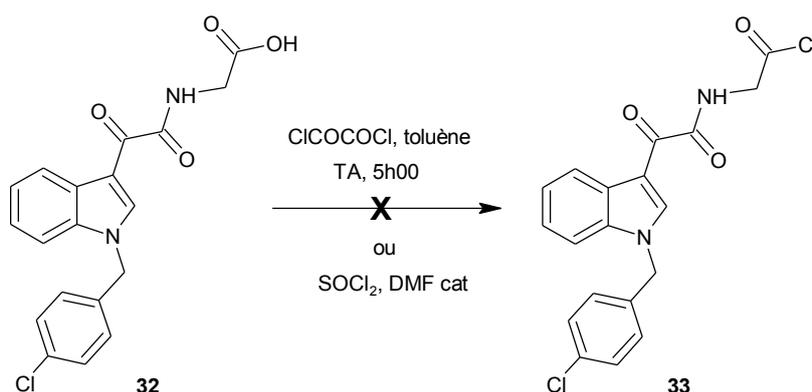


Schéma 9

L'accès à l'amide **31** par la voie A n'ayant conduit qu'à des échecs, la voie B a donc été développée.

3. Voie B – Synthèse convergente

La voie B nécessite la préparation des synthons **II**, qui seront ensuite couplés au composé **29** afin d'obtenir les analogues de structure générale **I** (schéma 10).

⁷⁰ C.F.H. Allen et W.E. Backer, *Org. Syn. Coll.*, John Wiley & sons, **1943**, 2, 156.

⁷¹ A.I. Vogel, *Textbook of practical organic chemistry*, Longman scientific and technical, **1989**, 720.

⁷² R. Adams et L.H. Ulich, The use of oxalyl chloride and bromide for producing acid chlorides, acid bromides or acid anhydrides, *J. Am. Chem. Soc.*, **1920**, 42, 599-611.

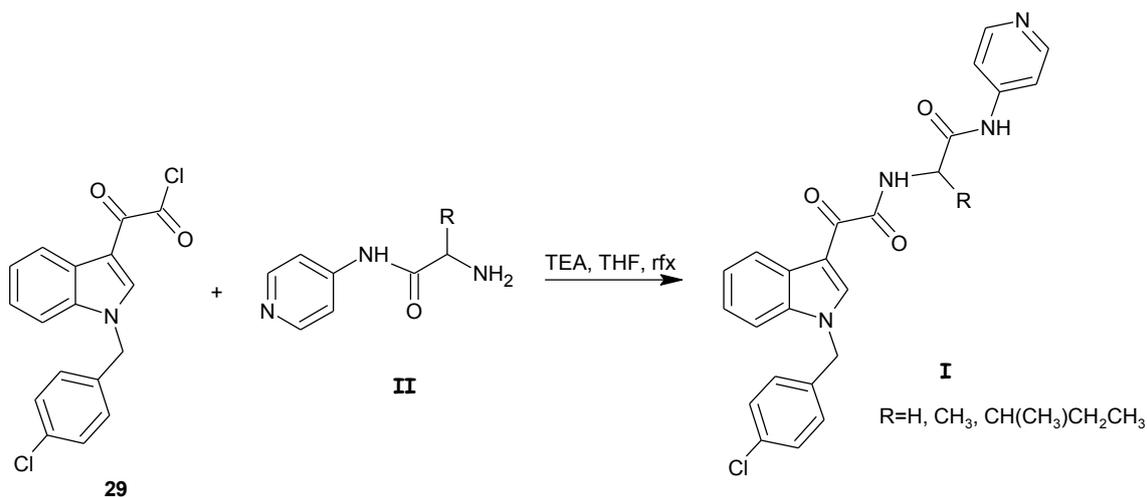


Schéma 10

a. Préparation des synthons de formule générale II

Les synthons de formule générale II ont été synthétisés à partir de trois acides aminés : la glycine (R=H), l'alanine (R=CH₃) et l'isoleucine (R=CH(CH₃)CH₂CH₃). Ils sont obtenus à partir des acides aminés protégés par un groupement benzyloxycarbonyle (Cbz) sur leur fonction amine (Cbz-Gly **34**, Cbz-Ala **35** et Cbz-Ile **36** commerciaux) en deux étapes. La première étape est le couplage de l'acide aminé avec la 4-aminopyridine, la seconde étape est le clivage du carbamate de benzyle⁷³ (schéma 11).

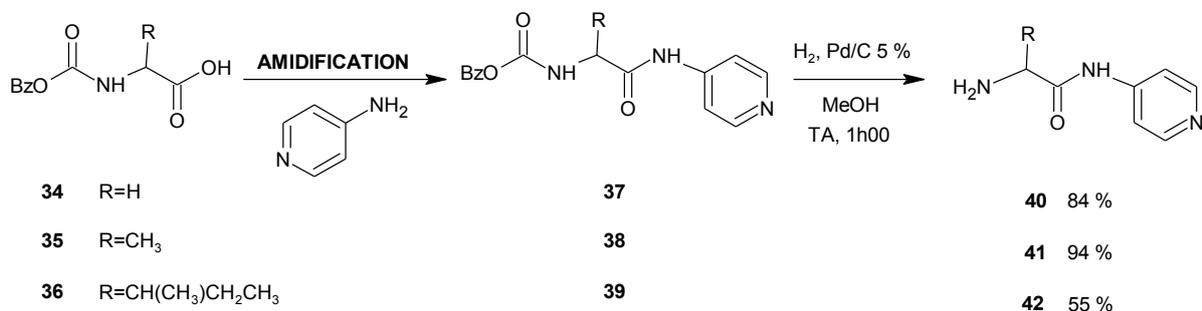


Schéma 11

Différentes méthodes, précédemment utilisées, ont été mises en œuvre pour la première étape c'est à dire la réaction d'amidification de l'acide aminé par la 4-aminopyridine. Les résultats obtenus pour chaque acide aminé sont reportés dans le tableau 1.

conditions d'amidification	N° des composés obtenus		
	37	38	39
CDI, THF, TA, 16h00	0	7 %	0

⁷³ T.W. Greene, *Protective groups in organic synthesis*, Wiley interscience, **1981**.

DCP, TEA, CH ₂ Cl ₂ , TA, 48h00	23 %	37 %	9 %
CNMPI, TEA, CH ₂ Cl ₂ , rfx, 5h00	0	32 %	98 %

Tableau 1 : rendements des réactions d'amidification des acides aminés *N*-protégés

Les composés **37** à **39** sont obtenus avec des rendements généralement faibles, sauf dans un des cas. Pour la glycine, l'unique résultat positif a été obtenu par utilisation du DCP, en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane. Pour l'alanine, l'emploi du DCP ou du CNMPI semble le plus approprié mais le rendement reste limité. Pour l'isoleucine, seul le CNMPI est efficace avec un rendement quasi-quantitatif en présence de triéthylamine au reflux du dichlorométhane.

Le clivage du carbamate de benzyle a été réalisé par hydrogénation catalytique⁷⁴ avec du palladium sur charbon à 5 % dans le méthanol pour accéder aux composés **40** à **42** avec des bons rendements (schéma 11).

b. Couplage entre l'intermédiaire clé **29** et les synthons **40-42**

La dernière étape, à savoir le couplage entre le chlorure d'indole-3-glyoxyle **29** et les synthons **40** à **42**, a été mise en oeuvre en présence de triéthylamine⁴⁴ (afin de capter l'acide chlorhydrique formé) au reflux du tétrahydrofurane pour conduire aux composés **31**, **43** et **44** avec des rendements de 25 à 55 % (schéma 12).

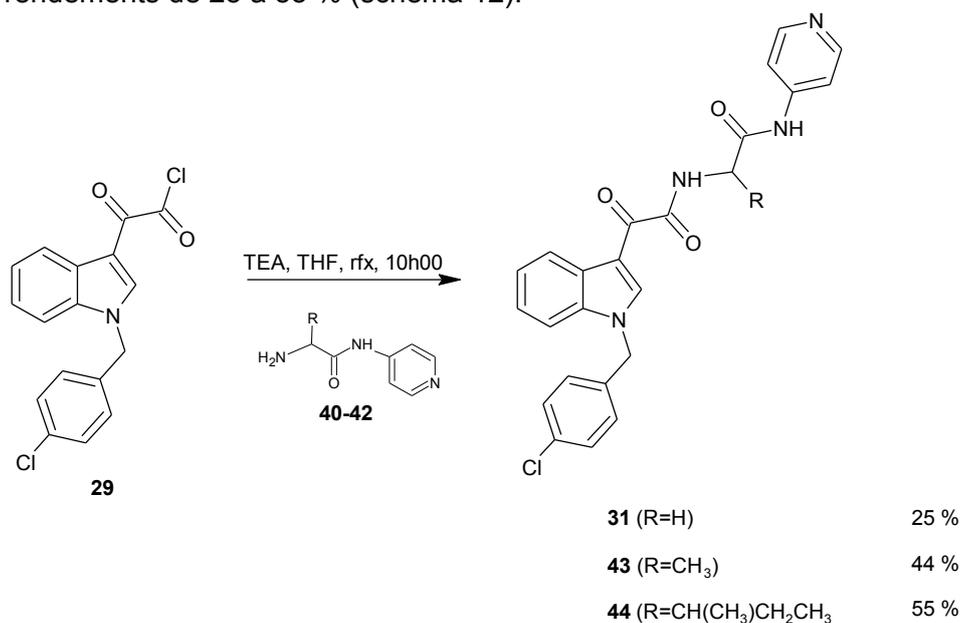


Schéma 12

En conclusion, les composés indol-3-glyoxamides dérivés d'acides aminés, de structure générale **I**, ont donc été obtenus selon la voie B, c'est à dire par synthèse convergente, en cinq étapes avec des rendements faibles (3 % pour la glycine, 10 % pour l'alanine et 21 % pour l'isoleucine). Les résultats pharmacologiques de ces composés seront présentés ultérieurement.

⁷⁴ C.G. Skinner, T.J. Mc Cord, J.M. Ravel et W. Shive, *O*-carbamyl-*L*-serine, an inhibitory analogs of *L*-glutamine, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, 78, 2412-2414.

PARTIE EXPERIMENTALE

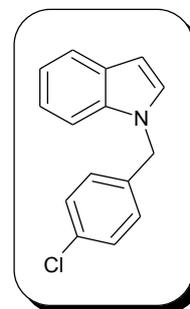
1-(4-chlorobenzyl)-1H-indole (28)

liquide orange

C₁₅H₁₂ClN

M_r = 241.72

R_f = 0.90 (dichlorométhane)



Mode opératoire : à une solution de 1.5 g (37.6 mmol, 1.1 éq) d'hydru de sodium à 60 % dans 50 mL de diméthylsulfoxyde, ajouter goutte à goutte sous atmosphère d'azote une solution de 4.0 g (34.1 mmol, 1 éq) d'indole **14** dans 15 mL de diméthylsulfoxyde. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 1h00 puis ajouter 6.1 g (37.6 mmol, 1.1 éq) de chlorure de 4-chlorobenzyle dissous dans 10 mL de diméthylsulfoxyde. Laisser le mélange réactionnel sous agitation pendant 6h00. Reprendre le mélange réactionnel par de l'eau. Extraire au dichlorométhane. Laver plusieurs fois la phase organique à l'eau pour éliminer le diméthylsulfoxyde. Sécher sur sulfate de sodium, puis évaporer le solvant afin d'obtenir un liquide orange (7.7 g, η =94 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 7.60 (dd, 1H, H₄, ³J=8.2 Hz, ⁴J=1.0 Hz), 7.53 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 7.43 (dd, 1H, H₇, ³J=8.2 Hz, ⁴J=1.0 Hz), 7.39 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.6 Hz), 7.23 (d, 2H, H₂, H₆, ³J=8.6 Hz), 7.14 (td, 1H, H₆, ³J=7.0 Hz, ⁴J=1.2 Hz), 7.05 (td, 1H, H₅, ³J=7.0 Hz, ⁴J=1.2 Hz), 6.53 (dd, 1H, H₃, ³J=3.1 Hz, ⁴J=1.0 Hz), 5.46 (s, 2H, CH₂Ph).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 138.05 (C), 136.64 (C), 133.00 (C), 131.50 (C), 129.84 (CH), 129.62 (2CH), 129.36 (2CH), 122.22 (CH), 121.50 (CH), 120.16 (CH), 110.93 (CH), 102.16 (CH), 49.37 (CH₂).

IR (NaCl), cm⁻¹ : 3100-3000 vCHaro, 1475, 1450 v CH₂, CH₃.

chlorure de [1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl](oxo)acétyle (29)

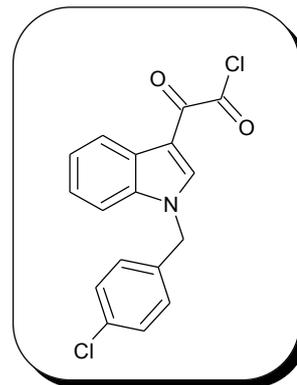
poudre jaune

C₁₇H₁₁Cl₂NO₂

M_r = 332.18

R_f = 0.75 (dichlorométhane/éthanol : 8/2)

F = 131-132 °C



Mode opératoire : à une solution de 1.1 mL (12.5 mmol, 1 éq) de chlorure d'oxalyle dans 50 mL d'éther diéthylique, ajouter à 0 °C goutte à goutte sous atmosphère d'azote une solution de 3.0 g (12.5 mmol, 1 éq) de 1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indole **28** dans 100 mL d'éther diéthylique. Laisser revenir à température ambiante puis maintenir l'agitation pendant 1h00. Evaporer le solvant sous vide, triturer le solide jaune obtenu dans l'éther diéthylique puis le filtrer pour donner une poudre jaune (2.9 g, η=72 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 8.76 (s, 1H, H₂), 8.26 (dd, 1H, H₄, ³J= 6.3 Hz, ⁴J= 1.0 Hz), 7.61 (dd, 1H, H₇, ³J=6.3 Hz, ⁴J=1.0 Hz), 7.45-7.30 (m, 6H, H₂, H₃, H₅, H₆, H₅, H₆), 5.64 (s, 2H, CH₂Ph).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 180.18 (C=O), 164.76 (C=O), 140.65 (CH), 136.42 (C), 135.55 (C), 132.46 (C), 129.10 (2CH), 128.64 (2CH), 126.32 (C), 123.84 (CH), 123.14 (CH), 121.47 (CH), 111.81 (CH), 111.52 (C), 49.12 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1766 νC=O, 1655 νC=O .

{[[[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]](oxo)acétyl]amino}acétate d'éthyle (30)

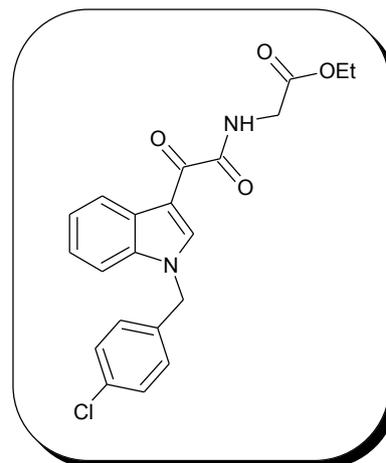
poudre jaune moutarde

C₂₁H₁₉ClN₂O₄

M_r = 398.84

R_f = 0.32 (dichlorométhane)

F = 145-146 °C



Mode opératoire : à une solution de 500 mg (1.5 mmol, 1 éq) de chlorure de [1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]](oxo)acétyl **29** dans 10 mL de toluène, ajouter 0.5 mL (3.4 mmol, 2.2 éq) de triéthylamine puis une solution de 2.4 g (17.1 mmol, 11 éq) de chlorhydrate de glycinate d'éthyle dans 15 mL de toluène. Chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 3h00. Laver la solution résultante successivement avec une solution d'acide chlorhydrique dilué, une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium à 10% puis avec de l'eau. Extraire au dichlorométhane. Sécher sur sulfate de sodium, puis évaporer le solvant sous vide pour donner un solide rouge. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/hexane : 1/1 puis 4/1 puis dichlorométhane/acétate d'éthyle : 10/0 puis 9/1 pour donner un solide jaune moutarde (240 mg, η=40 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 9.16 (t, 1H, NH, ³J=6.0 Hz), 9.04 (s, 1H, H₂), 8.32-8.29 (m, 1H, H₄), 7.63-7.61 (m, 1H, H₇), 7.47-7.31 (m, 6H, H₂, H₃, H₅, H₆, H₅, H₆), 5.65 (s, 2H, CH₂Ph), 4.17 (q, 2H, COOCH₂CH₃, ³J=7.1 Hz), 4.01 (d, 2H, NHCH₂COOEt, ³J=6.0 Hz), 1.25 (t, 3H, COOCH₂CH₃, ³J=7.1 Hz).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 179.25 (C=O), 167.64 (C=O), 161.90 (C=O), 139.75 (CH), 134.59 (C), 134.10 (C), 130.91 (C), 127.68 (2CH), 127.18 (2CH), 125.35 (C), 122.19 (CH), 121.60 (CH), 120.09 (CH), 109.99 (C), 109.95 (CH), 59.06 (CH₂Ph), 47.51 (CH₂), 39.20 (CH₂), 12.50 (CH₃).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3369 νNH, 1744 νC=O , 1686 νC=O.

acide {[[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl](oxo)acétyl]amino}acétique (32)

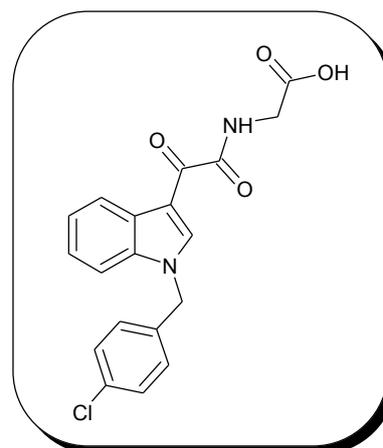
poudre jaune

$C_{19}H_{15}ClN_2O_4$

$M_r = 370.78$

$R_f = 0.28$ (dichlorométhane/éthanol : 8/2)

$F = 175-176\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire: à une solution de 1.0 g (2.51 mmol) de {[[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl](oxo)acétyl]amino}acétate d'éthyle **30** dans 50 mL d'éthanol absolu ajouter 3.8 mL (3.8 mmol, 1.5 éq) d'une solution d'hydroxyde de sodium à 1M. Chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 1h30 puis laisser revenir à température ambiante. Ajouter de l'eau puis acidifier par une solution d'acide chlorhydrique. Filtrer le précipité formé, le laver à l'éthanol, puis à l'eau pour donner un solide jaune (698 mg, $\eta=75\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.07 (s, 1H, H_2), 9.03 (t, 1H, NH, $^3J=6.5$ Hz), 8.33-8.29 (m, 1H, H_4), 7.65-7.60 (m, 1H, H_7), 7.47-7.31 (m, 6H, H_2' , H_3' , H_5' , H_6' , H_5 , H_6), 5.65 (s, 2H, CH_2Ph), 3.94 (d, 2H, NHCH_2COOH , $^3J=6.5$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 180.92 (C=O), 170.59 (C=O), 163.26 (C=O), 141.30 (CH), 136.09 (C), 135.69 (C), 132.41 (C), 129.23 (2CH), 128.73 (2CH), 126.89 (C), 123.71 (CH), 123.12 (CH), 121.61 (CH), 111.52 (CH), 111.46 (C), 49.02 (CH_2), 40.62 (CH_2).

IR (KBr), cm^{-1} : 3332 νNH , 1755 $\nu\text{C=O}$, 1608 $\nu\text{C=O}$.

2-oxo-2-(pyridin-4-ylamino)éthylcarbamate de benzyle (37)

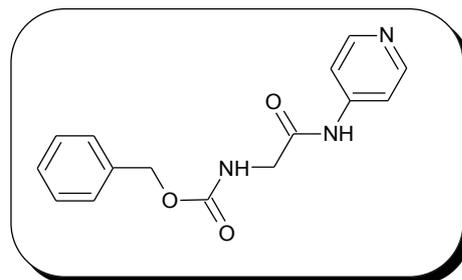
poudre jaune

$C_{15}H_{15}N_3O_3$

$M_r = 285.30$

$R_f = 0.53$ (dichlorométhane/éthanol : 8/2)

$F = 146-147\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire (au DCP) : à une solution de 1.0 g (4.8 mmol, 1 éq) de benzyloxycarbonylglycine dans 30 mL de dichlorométhane anhydre, ajouter 2.0 mL de triéthylamine (14.3 mmol, 3 éq) et 450 mg (4.8 mmol, 1 éq) de 4-aminopyridine. Refroidir le mélange réactionnel dans un bain de glace puis ajouter 0.7 mL (4.8 mmol, 1 éq) de dichlorophosphate de phényle (DCP). Maintenir l'agitation à température ambiante pendant 48h00. Laver la phase organique par une solution saturée en hydrogénocarbonate de sodium, puis à l'eau. Extraire au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium puis filtrer. Evaporer le solvant. Purifier le résidu obtenu par chromatographie sur gel de silice en éluant par le mélange dichlorométhane/éthanol : 99/1 puis 9/1 pour donner une poudre jaune (315 mg, $\eta=23\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 10.47 (s, 1H, NH), 8.47 (d, 2H, H_b , $^3J=5.8$ Hz), 7.69 (t, 1H, NH, $^3J=6.1$ Hz), 7.61 (d, 2H, H_a , $^3J=5.8$ Hz), 7.40-7.26 (m, 5H, OCH_2Ph), 5.10 (s, 2H, CH_2Ph), 3.90 (d, 2H, NHCH_2CO , $^3J=6.1$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 169.21 (C=O), 156.57 (C=O), 150.38 (2CH), 145.36 (C), 136.94 (C), 128.33 (2CH), 127.79 (CH), 127.71 (2CH), 113.08 (2CH), 65.51 (CH_2), 44.18 (CH_2).

IR (KBr), cm^{-1} : 3450 νNH , 1655 $\nu\text{C=O}$.

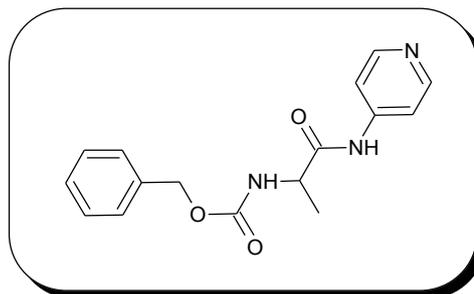
1-méthyl-2-oxo-2-(pyridin-4-ylamino)éthylcarbamate de benzyle (38)

huile jaune

$C_{16}H_{17}N_3O_3$

$M_r = 299.32$

$R_f = 0.61$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)



Mode opératoire (au DCP) : le composé **38** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **37** avec comme agent de couplage le dichlorophosphate de phényle ($\eta=37\%$).

Mode opératoire (au CNMPI) : à une solution de 1.0 g (4.5 mmol, 1 éq) de benzyloxycarbonylalanine dans 40 mL de dichlorométhane anhydre, ajouter 1.1 g (4.5 mmol, 1 éq) d'iodure de 2-chloro-*N*-méthylpyridinium, 1.6 mL (11.2 mmol, 2.5 éq) de triéthylamine puis 421 mg (4.5 mmol, 1 éq) de 4-aminopyridine. Chauffer au reflux le mélange réactionnel pendant 5h00 puis laisser revenir à température ambiante. Laver la phase organique avec une solution saturée en chlorure de sodium, extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium puis évaporer le solvant pour donner une huile jaune (431 mg, $\eta=32\%$).

Mode opératoire (au CDI) : à une solution de 1.0 g (4.5 mmol, 1 éq) de benzyloxycarbonylalanine dans 40 mL de tétrahydrofurane, ajouter 724 mg (4.5 mmol, 1 éq) de *N,N'*-carbonyldiimidazole. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 3h00 puis ajouter 421 mg (4.5 mmol, 1 éq) de 4-aminopyridine et maintenir l'agitation pendant 12h00. Evaporer le solvant sous vide pour donner une huile jaune (94 mg, $\eta=7\%$).

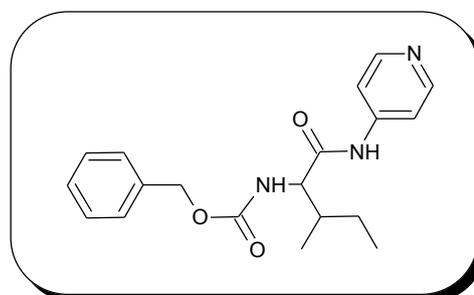
1H RMN (DMSO- d_6) : 10.44 (s, 1H, NH), 8.46 (d, 2H, H_b , $^3J=6.4$ Hz), 7.74 (d, 1H, NH, $^3J=7.0$ Hz), 7.61 (d, 2H, H_a , $^3J=6.4$ Hz), 7.40-7.38 (s, 5H, Ph), 5.06 (s, 2H, CH_2Ph), 4.26-4.20 (m, 1H, CH), 1.33 (d, 3H, CH_3 , $^3J=7.0$ Hz).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 172.85 (C=O), 155.81 (C=O), 150.24 (2CH), 145.61 (C), 136.89 (C), 128.30 (2CH), 127.78 (CH), 127.73 (2CH), 113.22 (2CH), 65.43 (CH_2), 50.94 (CH), 17.61 (CH_3).

IR (NaCl), cm^{-1} : 3287 νNH , 1702 $\nu C=O$, 1682 $\nu C=O$.

2-méthyl-1-[(pyridin-4-ylamino)carbonyl]butylcarbamate de benzyle (39)

poudre jaune



$C_{19}H_{23}N_3O_3$
 $M_r = 341.40$
 $R_f = 0.56$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)
 $F = 140-141$ °C

Mode opératoire (au CNMPI): le composé **39** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **38** avec comme agent de couplage l'iodure de 2-chloro-*N*-méthylpyridinium. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 9/1 pour donner une poudre jaune ($\eta=98$ %).

Mode opératoire (au DCP) : le composé **39** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **37** avec comme agent de couplage le dichlorophosphate de phényle ($\eta=9$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 10.52 (s, 1H, NH), 8.47 (d, 2H, H_b , $^3J=6.4$ Hz), 7.69 (d, 1H, NH, $^3J=8.2$ Hz), 7.62 (d, 2H, H_a , $^3J=6.4$ Hz), 7.46-7.39 (m, 5H, OCH_2Ph), 5.07 (s, 2H, CH_2Ph), 4.07 (t, 1H, CH, $^3J=8.2$ Hz), 1.26 (m, 1H, CH), 0.83-0.91 (m, 8H, CH_2CH_3 , CH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 172.02 (C=O), 156.21 (C=O), 150.37 (2CH), 145.22 (C), 136.90 (C), 128.11 (2CH), 127.76 (CH), 127.68 (2CH), 113.23 (2CH), 65.49 (CH_2), 59.97 (CH), 36.66 (CH), 24.45 (CH_2), 15.23 (CH_3), 10.62 (CH_3).

IR (KBr), cm^{-1} : 3279 ν_{NH} , 1698 $\nu_{C=O}$, 1674 $\nu_{C=O}$.

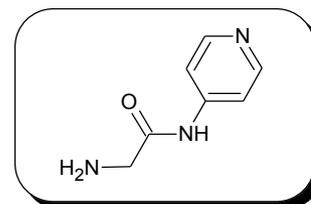
2-amino-N-(pyridin-4-yl)acétamide (40)

huile jaune

$C_7H_9N_3O$

$M_r = 151.17$

$R_f = 0.37$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)



Mode opératoire : à une solution de 600 mg (2.1 mmol) de 2-oxo-2-(pyridin-4-ylamino)éthylcarbamate de benzyle **37** dans 30 mL de méthanol, ajouter en quantité catalytique du palladium sur charbon à 5 %. Placer le mélange sous 1 bar d'hydrogène pendant 1h00. Filtrer la solution résultante sur célite, laver au méthanol, puis évaporer le solvant sous pression réduite pour donner une huile jaune (267 mg, $\eta=84\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.45 (d, 2H, H_b , $^3J=6.4$ Hz), 7.66 (d, 2H, H_a , $^3J=6.4$ Hz), 3.37 (s, 2H, NH_2), 3.34 (s, 2H, CH_2).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 173.46 (C=O), 150.29 (2CH), 145.34 (C), 113.07 (2CH), 45.69 (CH_2).

IR (NaCl), cm^{-1} : 3290 ν_{NH} , 1642 $\nu_{C=O}$.

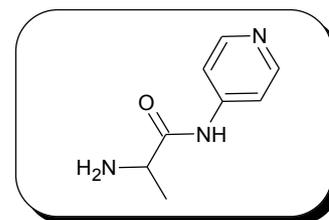
2-amino-*N*-(pyridin-4-yl)propanamide (41)

huile jaune

$C_8H_{11}N_3O$

$M_r = 165.19$

$R_f = 0.42$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)



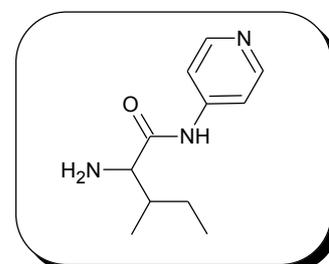
Mode opératoire : le composé **41** est obtenu par hydrogénation catalytique suivant le même mode opératoire que le dérivé **40** pour donner une huile jaune ($\eta=94\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.42 (d, 2H, H_b , $^3J=6.3$ Hz), 7.63 (d, 2H, H_a , $^3J=6.3$ Hz), 3.48 (q, 1H, CH, $^3J=6.4$ Hz), 1.22 (d, 3H, CH_3 , $^3J=6.4$ Hz).

IR (NaCl), cm^{-1} : 3223 ν NH, 1672 ν C=O.

2-amino-3-méthyl-*N*-(pyridin-4-yl)pentanamide (42)

huile jaune



$C_{11}H_{17}N_3O$

$M_r = 207.27$

$R_f = 0.40$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)

Mode opératoire : le composé **42** est obtenu par hydrogénation catalytique suivant le même mode opératoire que le dérivé **40**. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éthanol : 9/1 puis 4/1 pour donner une huile jaune ($\eta=55\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.45 (d, 2H, H_b , $^3J=6.1$ Hz), 7.67 (d, 2H, H_a , $^3J=6.1$ Hz), 3.27 (s, 2H, NH_2), 3.20 (d, 1H, $CHNH_2$, $^3J=5.8$ Hz), 1.76-1.40 (m, 2H, CH_2), 1.26-1.08 (m, 1H, $CH(CH_3)CH_2CH_3$), 0.94-0.83 (m, 6H, 2 CH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 175.41 (C=O), 150.29 (2CH), 145.34 (C), 113.19 (2CH), 60.23 (NH_2CHCO), 38.33 (CH), 23.74 (CH_2), 15.82 (CH_3), 11.32 (CH_3).

IR (NaCl), cm^{-1} : 3277 νNH , 1671 $\nu C=O$.

2-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-oxo-N-{2-oxo-2-[(pyridin-4-yl)amino]éthyl}acétamide (31)

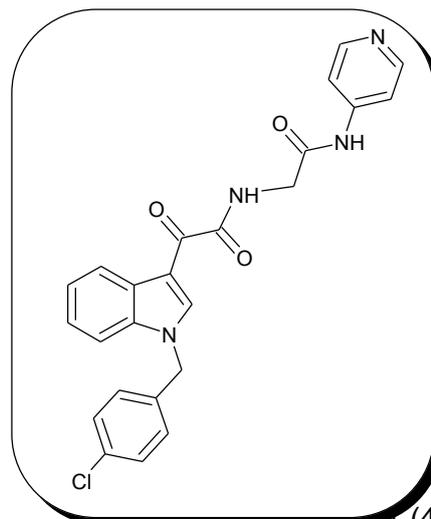
poudre orange

C₂₄H₁₉ClN₄O₃

M_r = 446.88

R_f = 0.59 (dichlorométhane/éthanol : 4/1)

F = 121-122 °C



Mode opératoire : à une solution de 352 mg (1.1 mmol, 1 éq) de 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl](oxo)acétylène **29** dans 5 mL de tétrahydrofurane, ajouter 150 µL (1.1 mmol, 1 éq) de triéthylamine. Refroidir la solution résultante à 0 °C, puis additionner goutte à goutte une solution de 160 mg (1.1 mmol, 1 éq) de 2-amino-N-(pyridin-4-yl)acétamide **40** dans 2 mL de tétrahydrofurane. Chauffer au reflux pendant 9h00 puis laisser revenir à température ambiante. Filtrer la solution résultante puis évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans l'acétate d'éthyle puis laver à l'eau. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis concentrer sous vide pour donner une poudre orange. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éthanol : 9/1 pour donner une poudre orange (123 mg, η=25%).

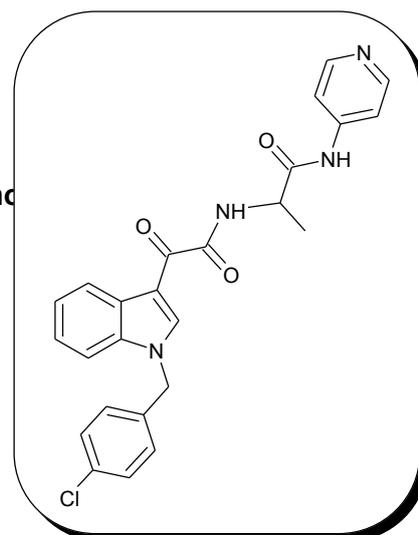
¹H RMN (DMSO-d₆) : 10.51 (s, 1H, NH), 9.08 (s, 1H, H₂), 9.05 (t, 1H, NH, ³J=5.8 Hz), 8.48 (d, 2H, H_b, ³J=6.2 Hz), 8.33 (dd, 1H, H₄, ³J=9.1 Hz, ⁴J=4.2 Hz), 7.65-7.59 (m, 3H, H₃, H₅, H₇), 7.40 (dd, 2H, H₂, H₆, ³J=8.2 Hz), 7.37-7.32 (m, 4H, H_a, H₅, H₆), 5.65 (s, 2H, CH₂Ph), 4.12 (d, 2H, NHCH₂CO, ³J=5.8 Hz).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 180.79 (C=O), 168.22 (C=O), 163.37 (C=O), 150.36 (2CH), 145.38 (C), 141.33 (CH), 136.09 (C), 135.66 (C), 132.42 (C), 129.23 (2CH), 128.71 (2CH), 126.93 (C), 123.70 (CH), 123.11 (CH), 121.63 (CH), 113.16 (2CH), 111.56 (C), 111.48 (CH), 49.02 (CH₂), 42.79 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3386 νNH, 1679 νC=O, 1623 νC=O, 1599, 1499 νC=C aro.

SM (SI) : m/z = 447 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), m/z = 449 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

2-[[2-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-oxoacétyl]amino]propanamide (pyridin-4-yl) (43)



poudre jaune
 $C_{25}H_{21}ClN_4O_3$
 $M_r = 460.91$
 $R_f = 0.61$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)
 $F = 107-108\text{ }^\circ\text{C}$

Mode opératoire : le composé **43** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **31**. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 19/1 pour donner une poudre jaune ($\eta=44\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 10.52 (s, 1H, NH), 9.02 (s, 1H, H₂), 8.97 (d, 1H, NH, $^3J=6.7\text{ Hz}$), 8.48 (d, 2H, H_b, $^3J=5.2\text{ Hz}$), 8.33-8.28 (m, 1H, H₄), 7.65-7.61 (m, 3H, H_a, H₇), 7.47-7.29 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{5'}, H_{6'}, H₅, H₆), 5.64 (s, 2H, CH₂Ph), 4.57 (qd, 1H, NHCHCO, $^3J=7.0\text{ Hz}$, $^3J'=6.7\text{ Hz}$), 1.49 (d, 3H, CH₃, $^3J=7.0\text{ Hz}$).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 181.06 (C=O), 171.80 (C=O), 163.07 (C=O), 150.36 (2CH), 145.50 (C), 141.22 (CH), 136.13 (C), 135.68 (C), 132.44 (C), 129.13 (2CH), 128.72 (2CH), 126.88 (C), 123.72 (CH), 123.13 (CH), 121.60 (CH), 113.34 (2CH), 111.59 (CH), 111.50 (C), 49.49 (CH), 49.04 (CH₂), 17.55 (CH₃).

IR (KBr), cm^{-1} : **3319 vNH**, **1681 vC=O**, **1638 vC=O**, **1591**, **1491 vC=C aro.**

SM (SI) : $m/z = 461$ [M+H]⁺ (isotope ^{35}Cl , intensité 1), $m/z = 463$ [M+H]⁺ (isotope ^{37}Cl , intensité 1/3).

2-([2-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-oxoacétyl]amino)-3-méthyl-N-(pyridin-4-yl)pentanamide (44)

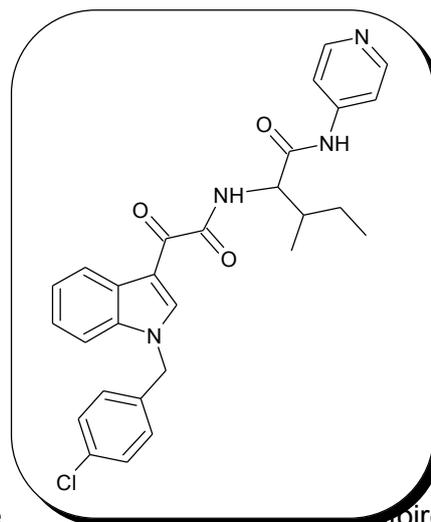
poudre jaune pâle

$C_{28}H_{27}ClN_4O_3$

$M_r = 502.99$

$R_f = 0.57$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)

$F = 101-102\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **44** est obtenu suivant le mode opératoire que le dérivé **31**. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 19/1 pour donner une poudre jaune clair ($\eta=55\%$).

^1H RMN (DMSO- d_6) : 10.63 (s, 1H, NH), 8.94 (s, 1H, H_2), 8.75 (d, 1H, NH, $^3J=8.5$ Hz), 8.49 (d, 2H, H_b , $^3J=6.1$ Hz), 8.30 (m, 1H, H_4), 7.66-7.60 (m, 3H, H_a , H_7), 7.46-7.31 (m, 6H, H_2 , H_6 , H_3 , H_5 , H_5 , H_6), 5.64 (s, 2H, CH_2Ph), 4.48-4.37 (m, 1H, NHCHCO), 1.23-1.21 (m, 1H, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}_2\text{H}_5$), 0.98-0.87 (m, 8H, CH_3 , CH_2CH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 181.13 (C=O), 170.80 (C=O), 163.37 (C=O), 150.44 (2CH), 145.11 (C), 141.05 (CH), 136.18 (C), 135.61 (C), 132.43 (C), 129.25 (2CH), 128.70 (2CH), 126.78 (C), 123.74 (CH), 123.15 (CH), 121.53 (CH), 113.32 (2CH), 111.56 (CH), 111.52 (C), 58.14 (CH), 49.02 (CH_2), 36.24 (CH), 24.56 (CH_2), 15.30 (CH_3), 10.67 (CH_3).

IR (KBr), cm^{-1} : 3255 νNH , 1698 $\nu\text{C=O}$, 1634 $\nu\text{C=O}$, 1599, 1499 $\nu\text{C=C aro}$.

SM (SI) : $m/z = 504$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (isotope ^{35}Cl , intensité 1), $m/z = 506$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ (isotope ^{37}Cl , intensité 1/3).

SERIE C

PARTIE THEORIQUE

A. APERCU BIBLIOGRAPHIQUE

Afin de synthétiser les analogues du D-24851 en position 4 et 5 du noyau indolique, il faut dans un premier temps préparer les acides glyoxyliques correspondants ou éventuellement les chlorures d'oxoacétyle correspondants à partir desquels les amides peuvent être obtenus par amidification et par réaction avec la 4-aminopyridine respectivement.

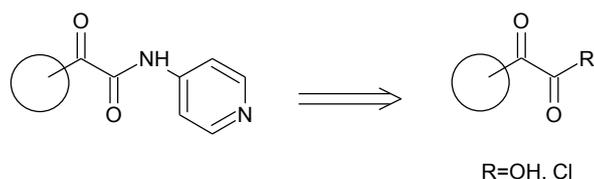


Schéma 1

Une recherche bibliographique montre que cinq méthodes d'accès aux acides glyoxyliques^{75,76} décrites dans la littérature peuvent être appliquées à la synthèse des analogues du D-24851 en position 4 et 5 de l'indole.

1. A partir d'un halogénaryle, par formation d'un ester intermédiaire

R.E. Bolton *et al.*^{77,78} ont décrit en 1988 la synthèse de l'antibiotique à activité antitumorale CC-1065. Dans leurs travaux, ils ont synthétisé, à partir du 7-(benzyloxy)-4-bromo-3-méthyl-1-(phénylesulfonyl)-1H-indole, par réaction avec de l'oxalate de diéthyle après échange halogène-métal par le *n*-butyllithium, le [7-(benzyloxy)-3-méthyl-1-(phénylesulfonyl)-1H-indol-4-yl]oxoacétate d'éthyle avec un rendement de 79 % (schéma 2).

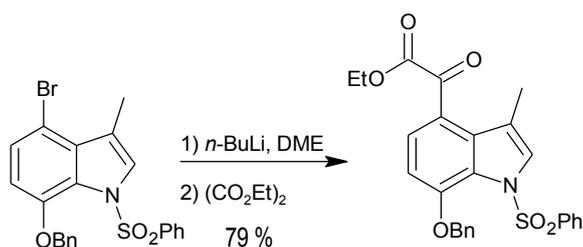


Schéma 2

⁷⁵ A.J.L. Cooper, J.Z. Ginos et A. Meister, Synthesis of the α -keto acids, *Chem. Rev.*, **1983**, 83, 321-358.

⁷⁶ K.L. Waters, The α -keto acids, *Chem. Rev.*, **1947**, 41, 585-598.

⁷⁷ R.E. Bolton, C.J. Moody, M. Pass, C.W. Rees et G. Tojo, Formal synthesis of the antitumour antibiotic CC-1065, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, **1988**, 8, 2491-2499.

⁷⁸ C.J. Moody, M.Pass, C.W. Rees et G. Tojo, Synthesis of the left-hand unit of the antitumour agent CC-1065, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1986**, 14, 1062-1063.

2. A partir d'un α -cétonitrile, par hydrolyse

Différentes méthodes de synthèse d' α -cétonitriles ont été décrites dans la littérature ; deux d'entre-elles nous ont semblé intéressantes. La première méthode fait appel à un chlorure d'acide intermédiaire, accessible à partir d'un ester ; la seconde méthode fait appel à une cyanhydrine intermédiaire, synthétisée à partir d'un aldéhyde.

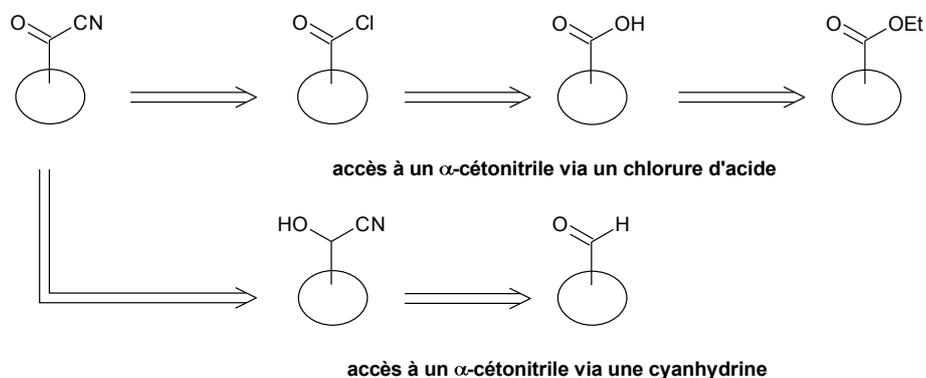


Schéma 3

a. A partir d'un ester *via* un chlorure d'acide

Les α -cétonitriles peuvent être synthétisés par réaction entre un chlorure d'acide et du cyanure cuivrique au reflux de l'acétonitrile⁷⁹.

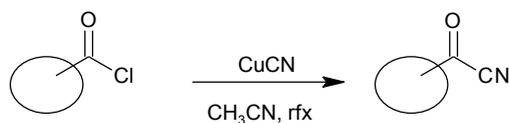
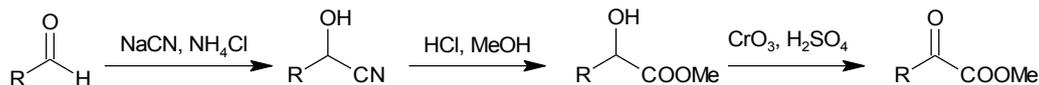


Schéma 4

b. A partir d'un aldéhyde *via* une cyanhydrine

Une autre méthode d'accès aux acides glyoxyliques à partir d'aldéhydes a été développée en 1999 par M. Seiler *et al.*⁸⁰ pour la synthèse de dihydroindolinols par photocyclisation diastérosélective. L'aldéhyde est converti en cyanhydrine par réaction avec du cyanure de sodium (schéma 5). La fonction cyano est ensuite hydrolysée par une solution d'acide chlorhydrique dans le méthanol pour conduire à l' α -hydroxyester correspondant. La fonction alcool est ensuite oxydée dans les conditions de Jones pour conduire au glyoxylate de méthyle, qui par hydrolyse permet la formation de l'acide glyoxylique correspondant.



⁷⁹ A.J. Muller, K. Nishiyama, G.W. Griffin, K. Ishiwaka et D.M. Gibson, Reductive condensation of methyl arylglyoxylates. Direct synthesis of 2,3-bis(carbomethoxy)stilbene oxides and related systems, *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2342-2352.

⁸⁰ M. Seiler, A. Schumacher, U. Lindemann, F. Barbosa et B. Giese, Diastereoselective photocyclisation to dihydroindolinols, *Synlett*, **1999**, 1588-1590.

Schéma 5

3. A partir d'un nitroaldol

M.D. Nikalje *et al.*⁸¹ ont rapporté en 2000 une nouvelle méthode de synthèse d' α -cétoacides en une étape à partir d'une large variété de nitroaldols aryliques, préparés par réaction de Henry.

La réaction de Henry⁸² est une réaction classiquement utilisée afin de former une liaison C-C. Elle a été très largement utilisée et de nombreuses conditions ont été développées (bases organiques, bases inorganiques, sels d'ammonium quaternaire dans des solvants protiques ou aprotiques, ou même sans solvant). Cependant, lorsque la réaction est réalisée en milieu basique à partir d'un aldéhyde, il y a compétition entre la condensation aldolique et la réaction de Cannizzaro et il faut utiliser des conditions opératoires spécifiques pour empêcher cette compétition et la formation d'un alcène par déshydratation (schéma 6).

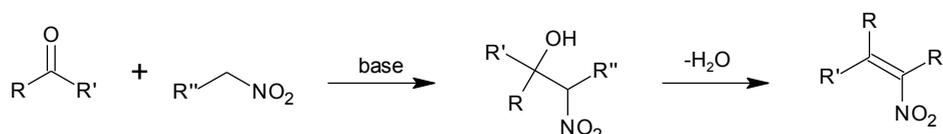


Schéma 6

Les travaux de R. Ballini et G. Bosica⁸³ ont montré que la réaction de Henry pouvait être réalisée en milieu aqueux, en utilisant des quantités stoechiométriques de nitroalcane et de l'aldéhyde, dans de la soude à 0,025 M en présence de chlorure de cétyltriméthylammonium (CTACI) comme surfactant cationique (schéma 7).

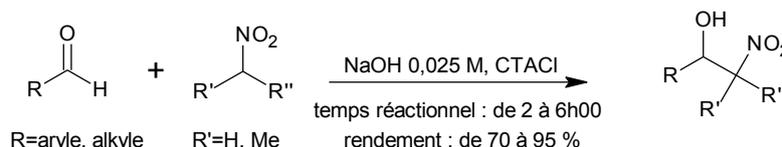


Schéma 7

Plus récemment, Bulbule *et al.*⁸⁴ ont présenté une nouvelle méthode pour obtenir un nitroaldol par la réaction de Henry (schéma 8). Celle-ci met en jeu un léger excès de nitroalcane par rapport à l'aldéhyde ; la réaction est réalisée dans de l'eau contenant quelques gouttes de tétrahydrofurane et le catalyseur utilisé est l'hydroxyde de benzyltriméthylammonium. Elle a été appliquée sur des nitroaldols aryliques et également aliphatiques ; les rendements sont bons, entre 78 et 92 % et les temps de réaction sont très courts, de l'ordre de quelques minutes (8 à 15 min). En utilisant un large excès de

⁸¹ M.D. Nikalje, I.S. Ali, G.K. Dewkar et A. Sudalai, Synthesis of aryl α -ketoacids via the Cu-catalyzed conversion of aryl nitroaldol products, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 959-961.

⁸² F.A. Luzzio, The Henry reaction: recent examples, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 915-945.

⁸³ R. Ballini et G. Bosica, Nitroaldol reaction in aqueous media: an important improvement of the Henry reaction, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 425-427.

⁸⁴ V.J. Bulbule, G.K. Jnaneshwara, R.R. Deshmukh, H.B. Borate et V.H. Deshpande, Benzyltrimethylammonium hydroxyde catalysed nitroaldol condensation, *Synth. Comm.*, **2001**, 31, 3623-3626.

nitroalcane, la réaction peut être réalisée sans solvant ; les rendements sont alors meilleurs, entre 80 et 98 %, et les temps de réaction plus courts (4 à 10 min).

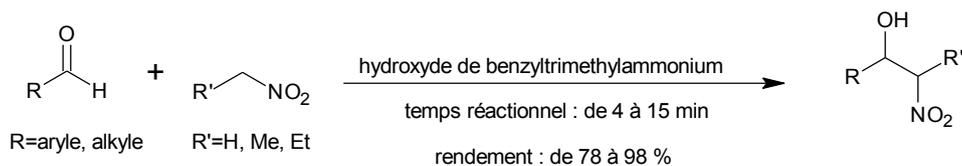


Schéma 8

La conversion du nitroaldol en α -cétoacide est réalisée par oxydation à l'air en présence de sels de cuivre ($\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ou $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dans un mélange AcOH/MeOH : 1/1, les meilleurs résultats étant obtenus avec $\text{Cu}(\text{OAc})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (schéma 9). Dans certains cas, la réaction stoppe au niveau de l' α -cétoaldéhyde.

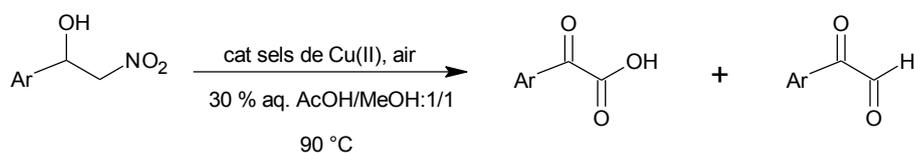


Schéma 9

4. A partir d'un α -iminonitrile

En 2002, B.S. Jursic *et al.*⁸⁵ ont présenté une nouvelle méthode d'accès aux acides glyoxyliques à partir d'aldéhydes hétérocycliques (schéma 10). Cette méthode comprend trois étapes. La première est la réaction entre l'aldéhyde et le *para*-aminophénol dans le méthanol au reflux pour former une imine. Celle-ci est ensuite convertie en α -iminonitrile par réaction avec du cyanure de sodium dans le diméthylsulfoxyde. La dernière étape est l'hydrolyse en milieu acide de l' α -iminonitrile en α -cétoacide

:

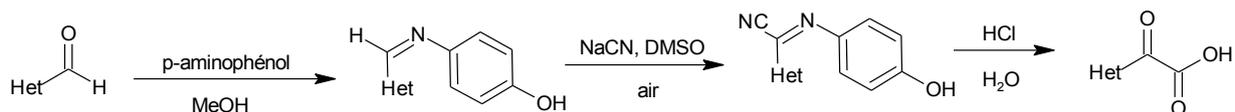


Schéma 10

5. A partir d'un α -oxotrithioorthoester

Les travaux de F. Zouhiri *et al.*⁸⁶ sur la synthèse de nouveaux inhibiteurs de la réplication du HIV-1 appartenant à la classe des styrylquinolines, publiés en 2001, présentent une voie d'accès originale aux α -cétoacides à partir d'un ester. L'ester réagit avec du

⁸⁵ B.S. Jursic, F. Douelle, K. Bowdy et E.D. Stevens, A new facile method for preparation of heterocyclic α -iminonitriles and α -oxoacetic acids from heterocyclic aldehydes, *p*-aminophenol, and sodium cyanide, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 5361-5365.

⁸⁶ F. Zouhiri, D. Desmaële, J. d'Angelo, M. Ourevitch, J-F. Mouscadet, H. Leh et M. Le Bret, HIV-1 replication inhibitors of the styrylquinone class: incorporation of a masked diketo acid pharmacophore, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 8189-8192.

tris(méthylthio)méthyllithium pour former, soit directement, soit *via* un diméthyl α -oxodithioacétal, un triméthyl α -oxotrithioorthoester^{87,88} (schéma 11).

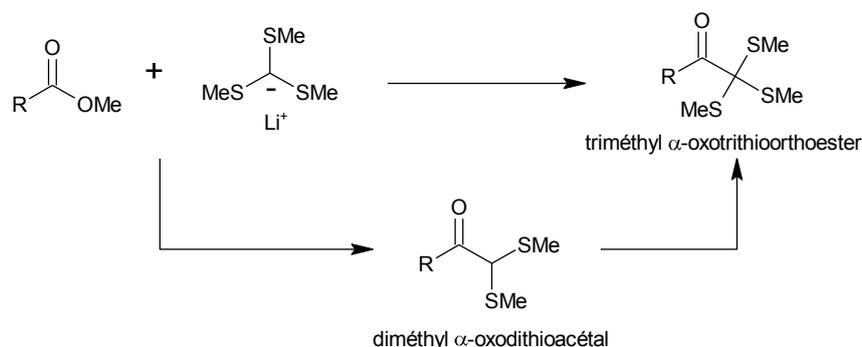


Schéma 11

L'étape suivante de la synthèse est la conversion du triméthyl α -oxotrithioorthoester en α -oxothioester. Plusieurs méthodes ont été décrites pour réaliser cette réaction : par utilisation d'iode et d'hydrogénocarbonate de sodium dans un mélange éther diéthylique/eau, par hydrolyse oxydante par du périodate de sodium dans l'acide acétique, par hydrolyse avec du *N*-bromosuccinimide dans du tétrahydrofurane ou par utilisation d'une solution d'oxyde de mercure à 35 % dans l'acide tétrafluoroborique (schéma 12).

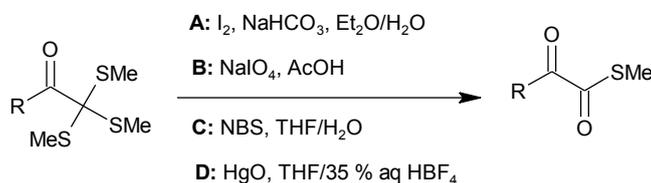


Schéma 12

La dernière étape est la conversion de la fonction thioester en acide carboxylique par hydrolyse par de l'acide bromhydrique dans l'acide acétique (schéma 13).

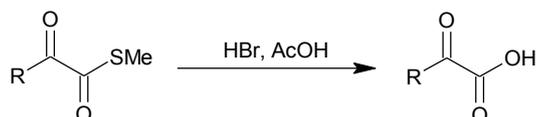


Schéma 13

⁸⁷ M. Barbero, S. Cadamuro, I. Degani, S. Dughera et R. Fochi, Synthesis of trimethyl α -keto trithioorthoesters and dimethyl α -keto dithioacetals by reaction of esters with tris(methylthio)methylithium, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 6017-6024.

⁸⁸ I. Degani, S. Dughera, R. Fochi et A. Gatti, A simple and high yield general route to methyl α -oxothioacarboxylates, *Synthesis*, **1996**, 467-469.

B. ANALYSES RETROSYNTHETIQUES

1. Analogue en position 4 de l'indole

Cette partie concerne l'accès au 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-4-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide de structure **I** (figure 1).

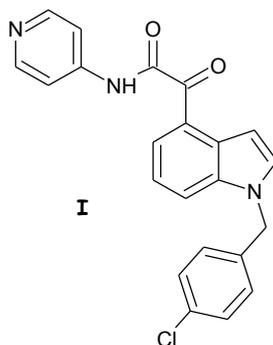


Figure 1

Une analyse rétrosynthétique (schéma 14) permet d'envisager l'accès au composé **I** à partir de l'acide glyoxylique **II** correspondant, par amidification avec la 4-aminopyridine. Différentes voies de synthèse décrites dans la littérature ont été mises en œuvre afin d'obtenir l'acide glyoxylique **II**.

La première voie de synthèse met en jeu le 4-bromoindole qui après un échange halogène-métal réalisé avec le butyllithium, réagit avec l'oxalate de diéthyle⁷⁷⁻⁷⁸ pour former le glyoxylate d'éthyle correspondant. Une hydrolyse ultérieure conduit à l'acide glyoxylique **II** (**voie A**).

Une autre voie d'accès aux acides glyoxyliques est le passage par les α -cétonitriles ; dans notre cas, l' α -cétonitrile **III** peut être obtenu à partir du chlorure d'acide correspondant⁷⁹, par réaction avec du cyanure de cuivre (**voie B**), ou à partir de la cyanhydrine correspondante⁸⁰, synthétisée *via* le 4-formylindole (**voie C**).

Nikalje *et al.*⁸¹ ont également décrit l'accès aux acides glyoxyliques par action de sels de cuivre sur un nitroaldol. Le nitroaldol désiré peut être obtenu par réaction de Henry⁸² sur le 4-formylindole (**voie D**).

Deux autres voies moins classiques peuvent également être utilisées. La première consiste à former un α -iminonitrile⁸⁵, qui par hydrolyse acide, permet l'obtention de l'acide glyoxylique **II** (**voie E**). La seconde voie consiste à former un α -oxotrithioorthoester⁸⁶⁻⁸⁸ intermédiaire puis de le convertir en α -oxothioester (**voie F**).

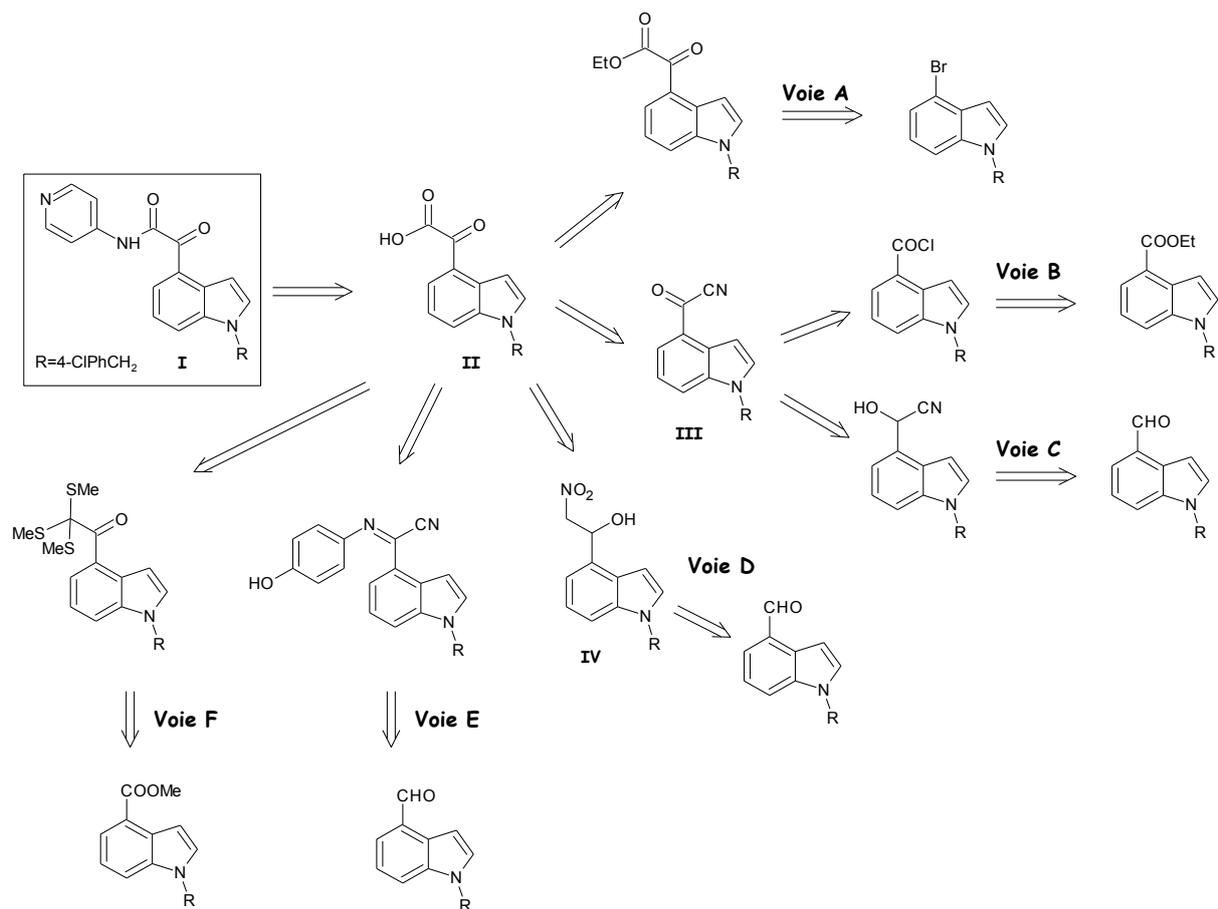


Schéma 14

2. Analogue en position 5 de l'indole

Cette partie concerne l'accès au 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-5-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide de structure **V** (figure 2).

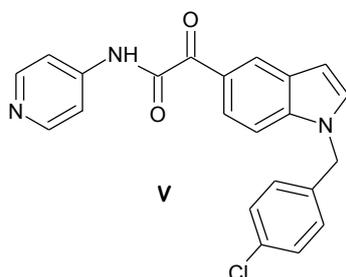


Figure 2

Toutes les voies d'accès décrites pour accéder à l'analogue en position 4 précédemment peuvent également être mises en œuvre pour accéder à l'analogue en position 5. Cependant, face aux échecs rencontrés pour synthétiser l'analogue en position 4, seules certaines voies ont également été mises en œuvre pour accéder à l'analogue en position 5 (schéma 15).

La première voie de synthèse met en jeu le 5-bromoindole commercial et l'oxalate de diéthyle^{77,78} (**voie A'**). La seconde voie met en jeu le nitroaldol **VI**, accessible *via* une réaction de Henry à partir du 5-formylindole (**voie D'**). La troisième voie d'accès mise en œuvre est particulière aux indoles substitués en position 5. En effet, divers indoles substitués en position 5 ont été synthétisés à partir de l'indoline, dont la particularité est de réagir avec divers électrophiles dans les conditions de Friedel Crafts pour conduire à une indoline substituée en position 5, qui après oxydation par exemple par du dioxyde manganèse permet l'obtention d'un indole substitué en position 5 (**voie G**).

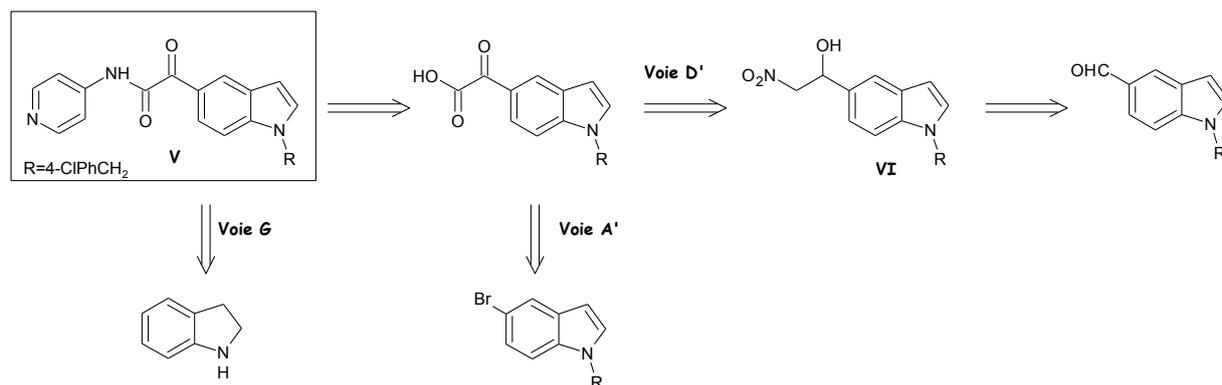


Schéma 15

C. TRAVAUX REALISES

1. Préparation des synthons

Différentes voies de synthèses peuvent être appliquées afin d'accéder au 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-4-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide de structure **I** et au 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-5-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide de structure **V**. Les voies A et A' mettent en jeu respectivement le 4-bromoindole et le 5-bromoindole. Seul le 5-bromoindole est commercial, il conviendra donc tout d'abord de synthétiser le 4-bromoindole. Les autres voies, sauf la voie G, font appel soit au 4- ou 5-méthoxycarbonylindole, soit au 4- ou 5-formylindole ; la synthèse de ces composés sera décrite ultérieurement.

a. Synthèse du 4-bromoindole

Une méthode classique pour synthétiser des indoles substitués en position 4, 5, 6 et/ou 7 est la cyclisation indolique de Leimgruber-Batcho⁸⁹. En effet, Leimgruber et Batcho ont introduit en 1971 une nouvelle méthode de synthèse du noyau indolique, basée sur la condensation d'un

o-nitrotoluène avec du diméthylacétal de diméthylformamide (DMFDMA) suivie d'une réduction cyclisante du *trans*- β -diméthylamino-2-nitrostyrène résultant. Pour la première étape, à savoir la formation du *trans*- β -diméthylamino-2-nitrostyrène, il a été montré que dans certains cas, l'ajout d'une amine telle que la pyrrolidine favorisait la formation de l'énamine. Pour la seconde étape de réduction cyclisante, de nombreuses méthodes ont été utilisées. L'hydrogénation avec du palladium sur charbon ou du nickel de Raney dans le benzène a souvent été décrite comme la méthode de choix bien qu'elle entraîne également la réduction de la double liaison de l'énamine (< 10%). Cependant, d'autres méthodes ont également donné de bons résultats pour réaliser cette réduction cyclisante ; la réduction avec de l'hydrazine en présence de nickel de Raney, la réduction par du chlorure de titane ou la réduction par du fer ou du zinc en présence d'acide acétique dans l'éthanol en sont des exemples.

Le 4-bromoindole est accessible en deux étapes, soit via une réaction pallado-catalysée⁹⁰, soit par la réaction de Leimgruber-Batcho⁹¹, à partir du 2-bromo-6-nitrotoluène **45**. La condensation du diméthylacétal de diméthylformamide avec le composé **45** au reflux du diméthylformamide en présence de pyrrolidine conduit à la formation de l'énamine **46**. La réduction cyclisante de **46** a été réalisée avec du zinc dans l'acide acétique ; elle permet l'accès au 4-bromoindole **47** avec un rendement de 41 % sur les deux étapes (schéma 16).

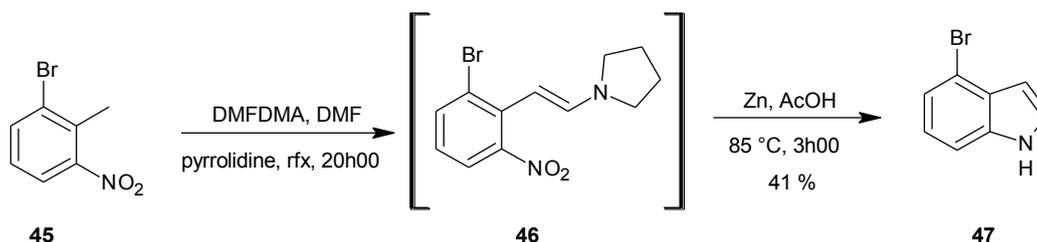


Schéma 16

⁸⁹ R.D. Clark et D.B. Repke, The Leimgruber-Batcho indole synthesis, *Heterocycles*, **1984**, 22 (1), 195-221.

⁹⁰ P.J. Harrington et L.S. Hegedus, Palladium catalyzed reactions in the synthesis of 3- and 4-substituted indoles. Approaches to ergot alkaloids, *J. Org. Chem.*, **1984**, 49 (15), 2657-2662.

⁹¹ M.P. Moyer, J.F. Shiurba et H. Rapoport, Metal-halogen exchange of bromoindoles. A route to substituted indoles, *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 5106-5110.

b. Synthèse des 4- et 5-méthoxycarbonylindoles

Le 5-méthoxycarbonylindole a été synthétisé dans les mêmes conditions que celles décrites pour la synthèse du 4-méthoxycarbonylindole⁹². L'estérification des acides 2-méthyl-3-nitrobenzoïque **48** et 3-méthyl-4-nitrobenzoïque **49** commerciaux, réalisée dans des conditions classiques de catalyse acide⁹³, permet l'obtention des esters **50** et **51** avec un rendement de 96 % et 98 %, respectivement (schéma 17).

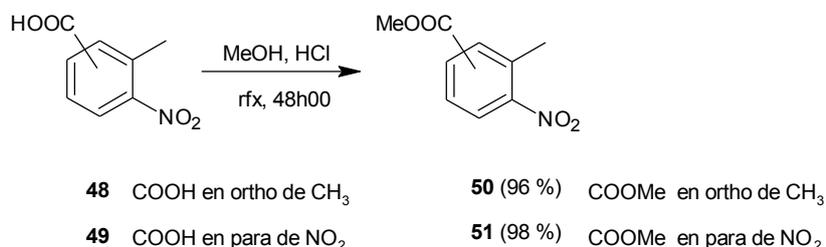


Schéma 17

La première étape de la réaction de Leimgruber-Batcho, à savoir la condensation avec le DMFDMA au reflux du diméthylformamide aboutit à la formation des énamines intermédiaires **52** et **53** (schéma 18). Pour la seconde étape, c'est à dire la réduction cyclisante, différentes méthodes ont été utilisées à partir de **52**. L'hydrogénation en présence de palladium sur charbon à 5 % conduit au composé cyclisé avec un rendement de 85 % pour des petites quantités de produit de départ mais pour de plus grosses quantités, le temps de réaction est plus long et il y a alors dégradation du mélange réactionnel. Par contre, l'hydrogénation en présence de palladium sur charbon à 10 % donne de meilleurs résultats pour des quantités de produit de départ plus importantes ($\eta=80\%$). La réduction avec de l'hydrazine en présence de nickel de Raney, dans un mélange tétrahydrofurane/méthanol ($\eta=32\%$) et la réduction avec du chlorure de titane dans une solution d'acide chlorhydrique à 20-30 % ($\eta=33\%$) ont entraîné une diminution importante des rendements. La réduction cyclisante de **53** par hydrogénation en présence de palladium sur charbon à 5 % conduit à la formation du 1*H*-indole-5-carboxylate de méthyle **55** avec 73 % de rendement.

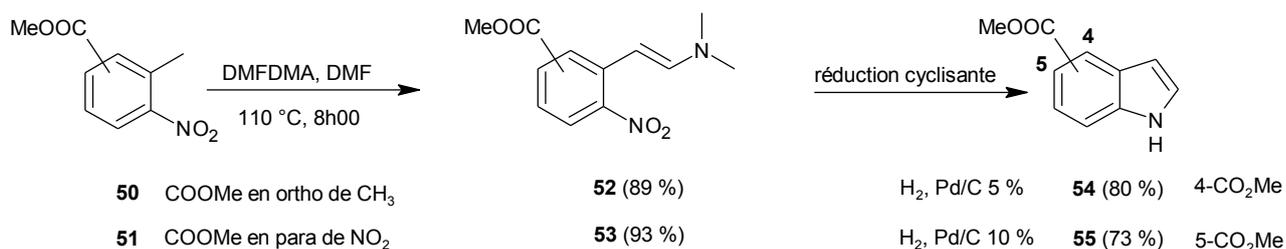


Schéma 18

⁹² A.P. Kozikowski, H. Ishida et Y.Y. Chen, New synthesis and some selected reactions of the potential ergot alkaloid precursor indole-4-carboxaldehyde, *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 3350-3352.

⁹³ G.S. Ponticello et J.J. Baldwin, Useful synthesis of 4-substituted indoles, *J. Org. Chem.*, **1979**, 44 (22), 4003-4005.

c. Synthèse des 4- et 5-formylindoles

Deux voies de synthèse ont été exploitées afin de synthétiser le 4-formylindole. La première voie consiste en la réduction de l'ester méthylique en alcool, puis à la réoxydation de l'alcool en aldéhyde⁹³. C'est d'ailleurs également cette voie qui est utilisée pour accéder au 5-formylindole. La seconde voie permet à partir d'un sel de 5-aminoisoquinoléinium d'accéder par hydrolyse basique au 4-formylindole.

c.1. Accès aux 4- et 5-formylindoles par réduction de l'ester en alcool puis réoxydation en aldéhyde

Les 4- et le 5-formylindoles peuvent être synthétisés en trois étapes à partir des composés **54** et **55** respectivement (schéma 19). La réduction des esters méthylques **54** et **55** est réalisée par de l'hydrure de lithium et d'aluminium dans le tétrahydrofur pour conduire aux alcools correspondants **56** et **57** avec respectivement un rendement de 25 % et 76 %. L'oxydation de l'alcool **56** par du dioxyde de manganèse dans le dichlorométhane mène à l'aldéhyde **58** avec un rendement de 49 % alors que l'oxydation de **57** donne le composé **59** avec un rendement de 23 %. La benzyltion de l'azote indolique de **58** est réalisée en présence de carbonate de césium au reflux de l'acétonitrile pour conduire au composé **60** avec un rendement de 90 % alors qu'elle est réalisée à partir de **59**, par utilisation d'hydrure de sodium dans le diméthylsulfoxyde pour conduire au composé **61** avec un rendement de 94 %.

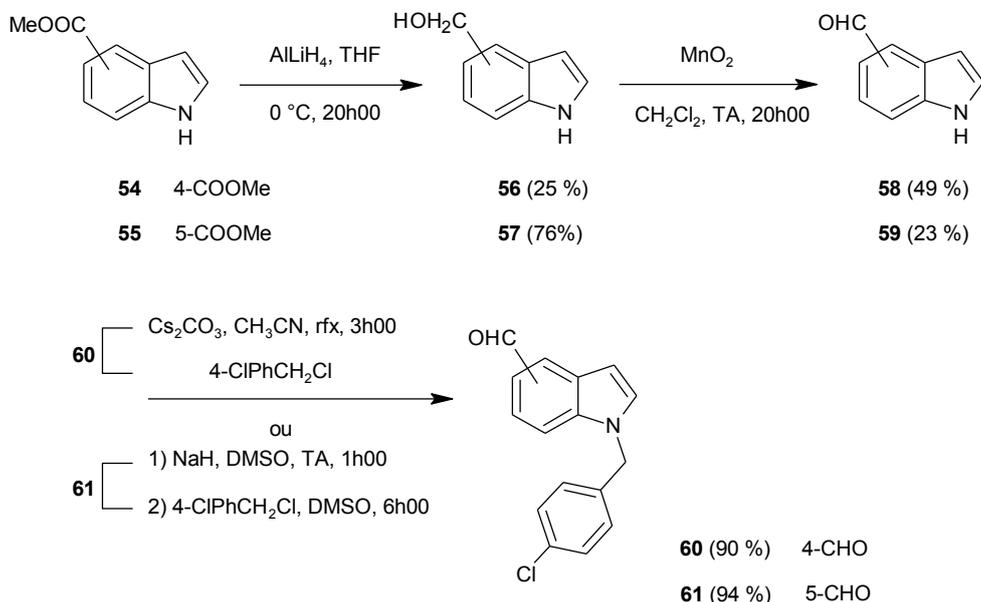


Schéma 19

Une benzyltion préalable du composé **54**, dans les mêmes conditions que précédemment conduit à la formation du composé **62** avec un rendement de 90 %. Lorsque l'azote indolique est substitué, la réduction de l'ester **62** par l'hydrure de

lithium et d'aluminium dans le tétrahydrofur permet l'accès à l'alcool **63** avec un rendement de 92 %. L'alcool **63** est ensuite oxydé par du dichromate de pyridinium (PDC) dans le dichlorométhane pour donner le 4-formylindole **60** avec un rendement de 71 % (schéma 20).

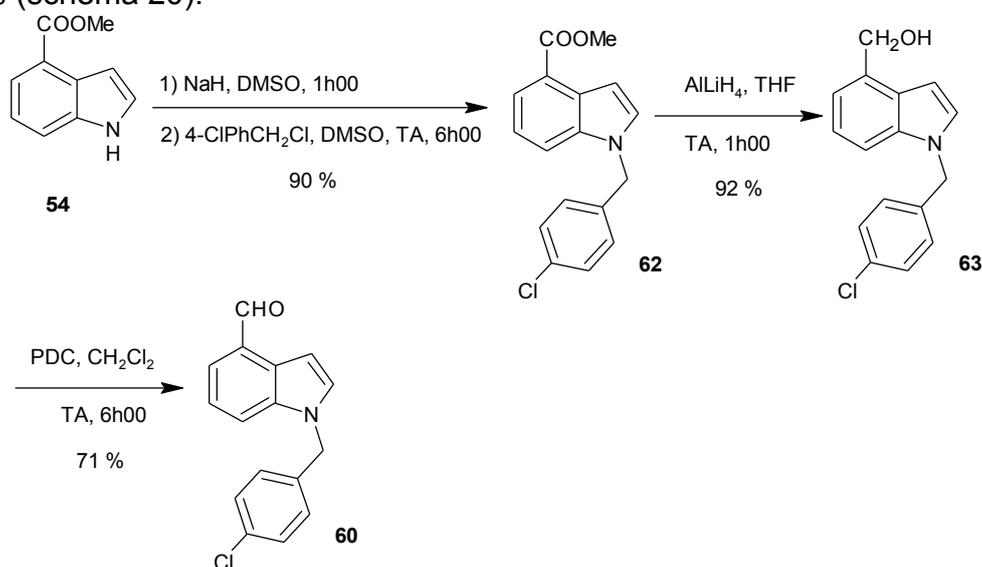
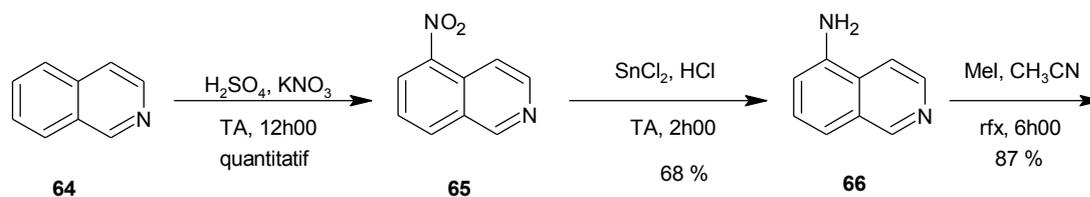


Schéma 20

Il apparaît donc clairement que l'étape préliminaire de benzyltion a une incidence favorable sur le rendement global du composé **60** (59 % pour les trois étapes contre 11 % précédemment).

c.2. Accès au 4-formylindole *via* un sel de 5-aminoisoquinoléinium

L'autre voie d'accès utilisée pour accéder au 4-formylindole en quatre étapes à partir de l'isoquinoléine a été décrite en 2000 par Muchowski⁹⁴ (schéma 21).



⁹⁴ J.M. Muchowski, Synthesis of indole-4-carboxaldehydes and 4-acetylindole from *N*-alkyl-5-aminoisoquinolinium salts, *J. Heterocyclic Chem.*, **2000**, 37, 1293-1297.

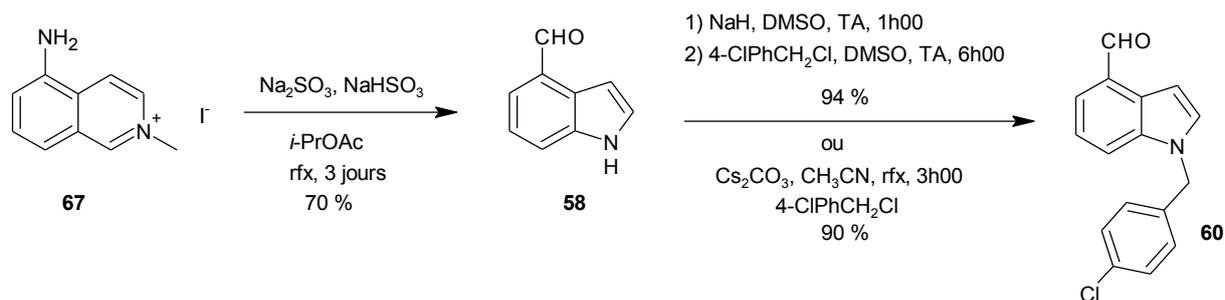


Schéma 21

La nitration de l'isoquinoléine **64** par du nitrate de potassium^{95,96,97} dans l'acide sulfurique conduit à la 5-nitroisoquinoléine **65** avec un rendement quantitatif. La réduction du groupement nitro par du chlorure d'étain dans l'acide chlorhydrique concentré⁵³ permet d'accéder à la 5-aminoisoquinoléine **66** avec un rendement de 68 %. La formation du sel de 5-aminoisoquinoléinium **67** est réalisée en présence de l'iodure de méthyle dans l'acétonitrile avec 87 % de rendement. La réaction du composé **67** avec du sulfite de sodium et de l'hydrogénosulfite de sodium dans l'acétate d'isopropyle conduit à la formation du 4-formylindole **58** avec un rendement de 70 % par un mécanisme de clivage-recyclisation. La benzyltion, réalisée dans les mêmes conditions que précédemment, permet l'obtention du composé **60** avec un rendement de 94 %.

2. Synthèse du 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-4-yl]-2-oxo-N-(pyridin-4-yl)acétamide

a. Voie A – A partir du 4-bromoindole

La réaction de benzyltion de l'azote indolique du 4-bromoindole **47** est d'abord mise en œuvre évitant ainsi toute déprotonation lors de la réaction du *n*-butyllithium dans la seconde étape. Elle est réalisée en présence d'hydrure de sodium dans le diméthylsulfoxyde pour donner le composé **68** avec un rendement de 83 %. L'échange halogène-métal sur le 4-bromoindole **68** à l'aide du *n*-butyllithium dans le tétrahydrofurane, suivie de l'attaque électrophile de l'oxalate de diéthyle⁷⁷⁻⁷⁸ ne conduit pas à la formation du glyoxylate d'éthyle **69**. Une tentative de déplacement du brome en présence de *tert*-butyllithium s'est également soldée par un échec ; dans les deux cas, le produit de départ est récupéré (schéma 22).

⁹⁵ K.T. Potts, D. Bhattacharjee et E.B. Walsh, Cycloaddition routes to azaanthraquinone derivatives. Use of azadienophiles, *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 2011-2021.

⁹⁶ S.K. Srivastava, P.M.S. Chauhan, S.K. Agarwal, A.P. Bhaduri, S.N. Singh, N. Fatma, R.K. Chatterjee, C. Bose et V.M.L. Srivastava, Syntheses and antifilarial profile of 5-amino and 5,8-diaminoisoquinoline derivatives: a new class of antifilarial agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6 (22), 2623-2628.

⁹⁷ J.J. Craig et W.E. Cass, Derivatives of aminoisoquinoline, *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, 64, 783-784.

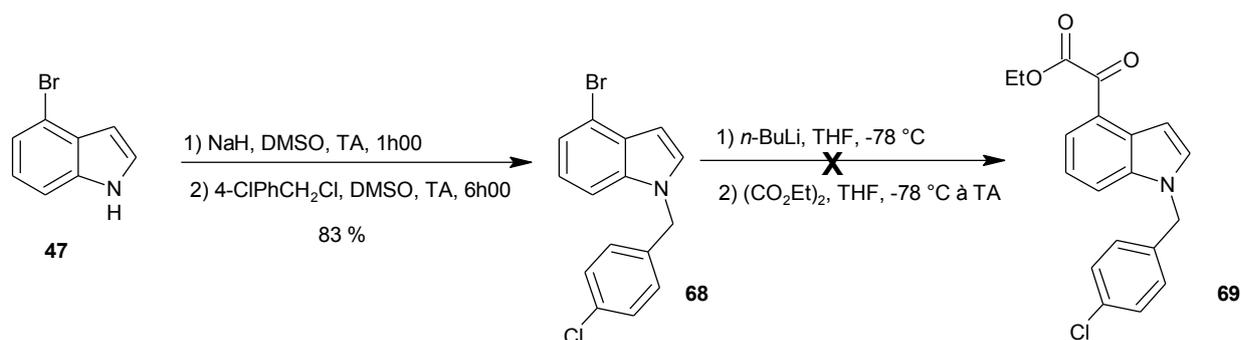


Schéma 22

b. Voie B – Via un α -cétonitrile, obtenu à partir du chlorure d'acide correspondant

Une analyse rétrosynthétique a permis d'envisager l'accès à l'acide glyoxylique **II** à partir d'un α -cétonitrile, par hydrolyse de la fonction nitrile en acide carboxylique. L' α -cétonitrile peut être obtenu à partir du chlorure d'acide correspondant, par réaction avec du cyanure de cuivre⁷⁹.

Afin d'accéder au chlorure d'acide, l'ester **62** est hydrolysé par une solution de soude dans l'éthanol pour donner l'acide carboxylique **70** avec un rendement de 98 %. Différents essais ont été réalisés (dans des conditions douces avec du chlorure d'oxalyle dans le toluène⁷², le produit de départ est récupéré et dans des conditions plus drastiques avec du chlorure de thionyle en présence d'une quantité catalytique de diméthylformamide⁷¹, il y a dégradation du mélange réactionnel) pour obtenir le chlorure d'acide correspondant **71** mais tous sont restés infructueux (schéma 23).

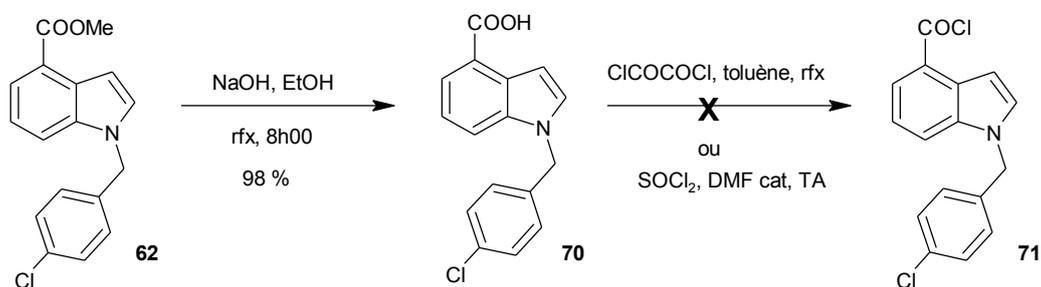


Schéma 23

c. Voie C – Via un α -cétonitrile, obtenu à partir de la cyanhydrine correspondante

L' α -cétonitrile peut également être obtenu à partir d'une cyanhydrine⁸⁰ par oxydation de la fonction alcool en cétone, puis hydrolyse de la fonction nitrile en acide carboxylique (schéma 24).

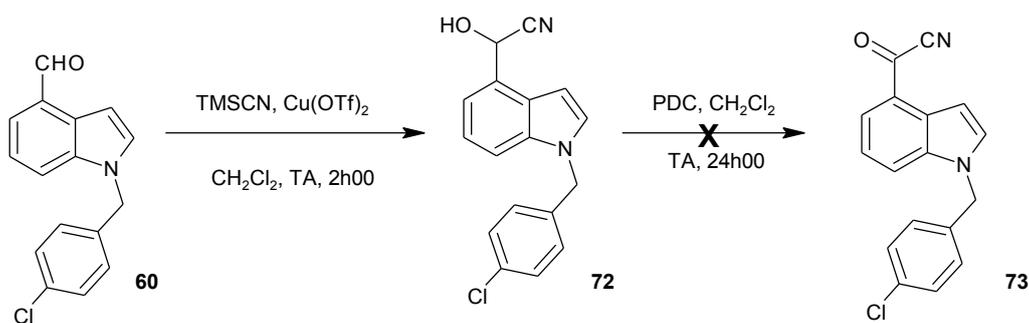


Schéma 24

La cyanhydrine **72** est synthétisée à partir de l'aldéhyde **60** par réaction avec du cyanure de triméthylsilyle en présence de triflate de cuivre dans le dichlorométhane⁹⁸. Cependant, pour des raisons d'instabilité, la cyanhydrine **72** n'a pu être purifiée. L'oxydation par du dichromate de pyridinium dans le dichlorométhane⁹⁹ du composé **72** conduit à la dégradation du mélange réactionnel. L' α -cétonitrile **73** n'a donc pas pu être isolé par cette seconde voie.

⁹⁸ P. Saravanan, R.V. Anand et V.K. Singh, Cu(OTf)₂ catalyzed trimethylsilyl cyanide addition to carbonyl compounds, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 3823-3824.

⁹⁹ E.J. Corey et G. Schmidt, Useful procedures for the oxidation of alcohols involving pyridinium dichromate in aprotic media, *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 5, 399-402.

d. Voie D – Via un nitroaldol

Une autre voie d'accès aux acides glyoxyliques *via* un nitroaldol a été également envisagée. Le nitroaldol peut être obtenu à partir d'un aldéhyde par une réaction de Henry ; la conversion en acide glyoxylique est conduite par oxydation en présence de sels de cuivre à l'air.

Quatre essais ont été réalisés pour former le nitroaldol à partir des aldéhydes **58** et **60** par réaction avec le cétyltriméthylammonium en milieu basique dans le nitrométhane⁸³ et avec l'hydroxyde de benzyltriméthylammonium⁸⁴ mais tous sont restés sans succès (schéma 25).

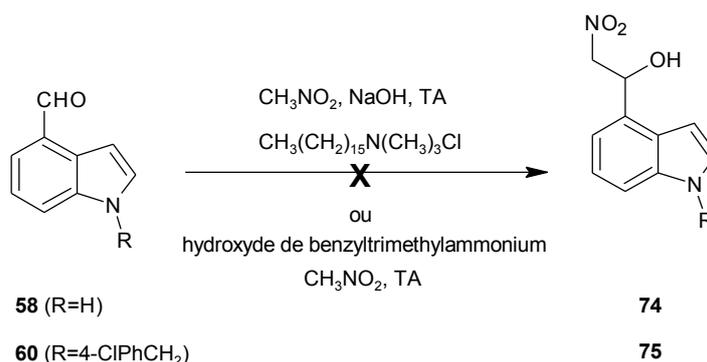


Schéma 25

e. Voie E – Via un α -iminonitrile

Une méthode simple d'accès aux acides glyoxyliques a été développée récemment par Jursic *et al.*⁸⁵. L'aldéhyde **60** est dans un premier temps converti en imine **76** par réaction avec du *p*-aminophénol dans le méthanol. Cette imine réagit ensuite avec du cyanure de sodium dans le diméthylsulfoxyde pour conduire, après oxydation à l'air, à un α -iminonitrile **78**, dont l'hydrolyse en milieu acide doit permettre la formation de l'acide glyoxylique **79**. Cependant, dans notre cas, le composé **78** s'est avéré très stable dans ces conditions et l'acide glyoxylique **79** n'a pu être isolé (schéma 26).

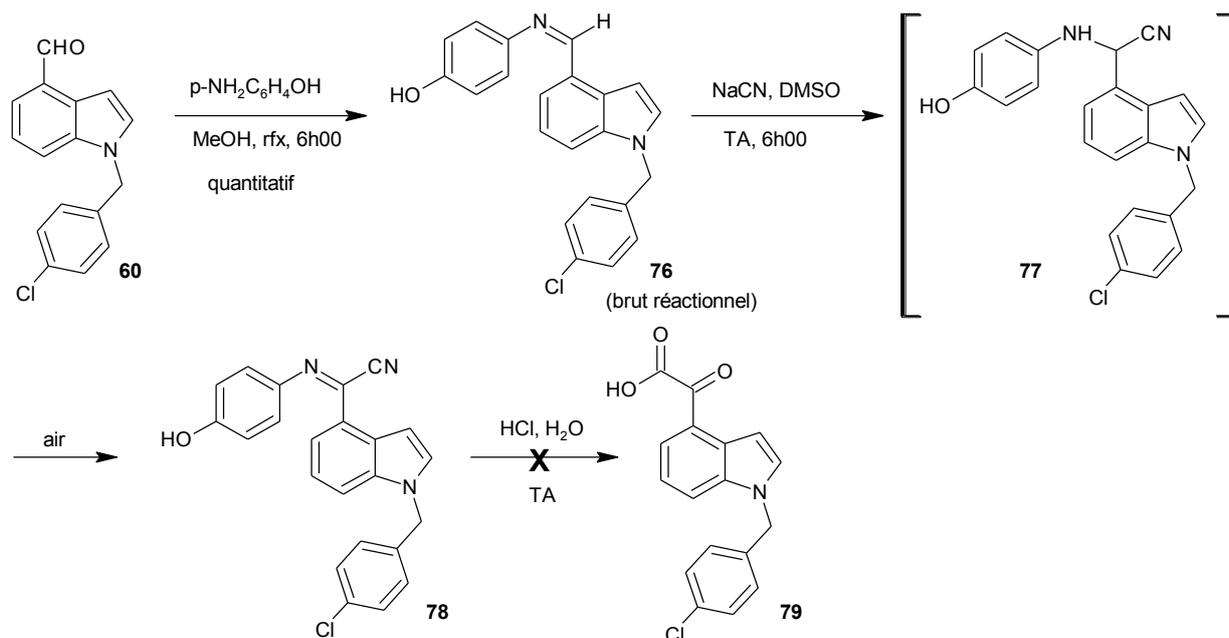


Schéma 26

f. Voie F – Via un α -oxotrithioorthoester

Une voie originale d'accès aux acides glyoxyliques a été utilisée en 2001 par Zouhri *et al.*⁸⁶ pour la synthèse d'inhibiteurs de la réplication du HIV-1. Elle permet l'obtention d'un acide glyoxylique en trois étapes à partir d'un ester méthylique. La condensation d'un ester méthylique avec du tris(méthylthio)méthyllithium conduit à la formation d'un α -oxotrithioorthoester, qui par traitement avec du *N*-bromosuccinimide donne un α -oxothioester. La dernière étape de la synthèse est une hydrolyse du thioester en acide carboxylique par de l'acide bromhydrique.

Dans notre cas, la condensation entre l'ester **62** et le tris(méthylthio)méthyllithium ne conduit pas à la formation de l' α -oxotrithioorthoester **80** ; le produit de départ est récupéré (schéma 27).

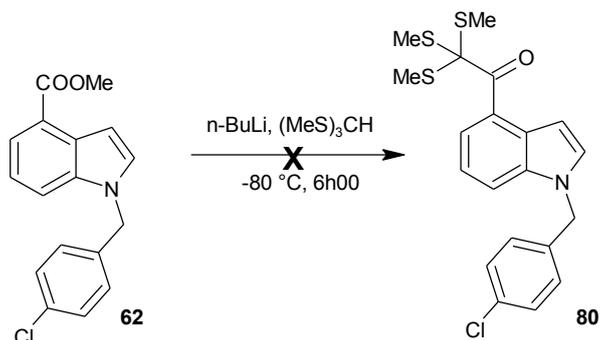


Schéma 27

En conclusion, malgré les nombreuses voies de synthèse préconisées, l'analogue en position 4 du D-24851 n'a pu être obtenu. La principale difficulté rencontrée est la formation de l'acide glyoxylique en position 4 de l'indole à partir de l'aldéhyde **60** ou de l'ester **62**.

3. Synthèse du 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-5-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide

a. Voie A' – A partir du 5-bromoindole

Le 5-bromoindole **81** réagit en présence d'hydruure de sodium dans le diméthylsulfoxyde avec le chlorure de 4-chlorobenzyle pour accéder au composé **82** avec un rendement de 62 %. Le composé **82**, mis en réaction après échange halogène-métal avec le *n*-butyllithium dans le tétrahydrofurane ou dans le diméthylformamide avec l'oxalate de diéthyle⁷⁷⁻⁷⁸ ne conduit pas à la formation du glyoxylate d'éthyle **83** (schéma 28).

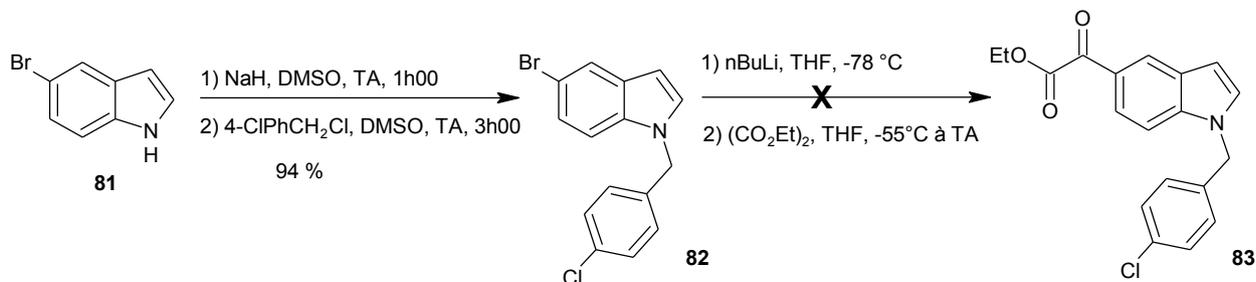


Schéma 28

b. Voie D' - Via un nitroaldol

La réaction de Henry⁸³ sur le composé **61** ne permet pas l'obtention du nitroaldol correspondant, qui par action de sels de cuivre permet l'accès à l'acide glyoxylique en position 5 (schéma 29).

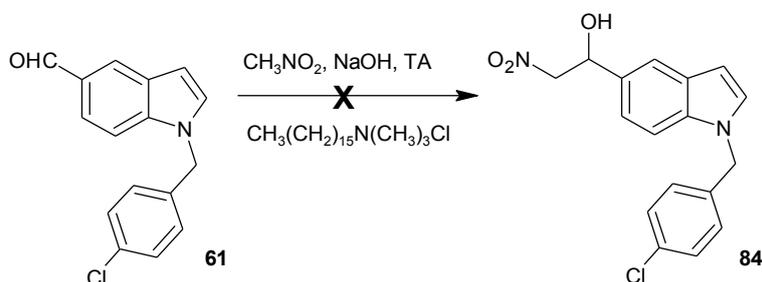


Schéma 29

Face à cet échec pour synthétiser le nitroaldol *via* la réaction de Henry sur le 5-formylindole **61** (échec également rencontré sur les 4-formylindoles **58** et **60** pour accéder à l'analogue en position 4), il a été envisagé d'obtenir d'abord l'acide glyoxylique par cette méthode sur un noyau phényle correctement substitué et ensuite de réaliser la cyclisation indolique. Pour cette dernière, la stratégie adoptée serait la synthèse indolique décrite par Yamanaka-Sakamoto¹⁰⁰ basée sur le couplage pallado-catalysé d'un acétylénique vrai avec une *ortho*-haloaniline. L'*ortho*-éthynylaniline se cyclise ensuite pour accéder au noyau indolique soit spontanément, soit sous l'effet d'un catalyseur palladié ou d'ions fluorures. Il convient donc pour cela de synthétiser dans un premier temps le 4-amino-3-iodobenzaldéhyde (schéma 30).

¹⁰⁰ T. Sakamoto, Y. Kondo et H. Yamanaka, Synthesis of condensed heteroaromatic compounds using palladium-catalyzed reactions, *Heterocycles*, **1988**, 27, 2225-2249.

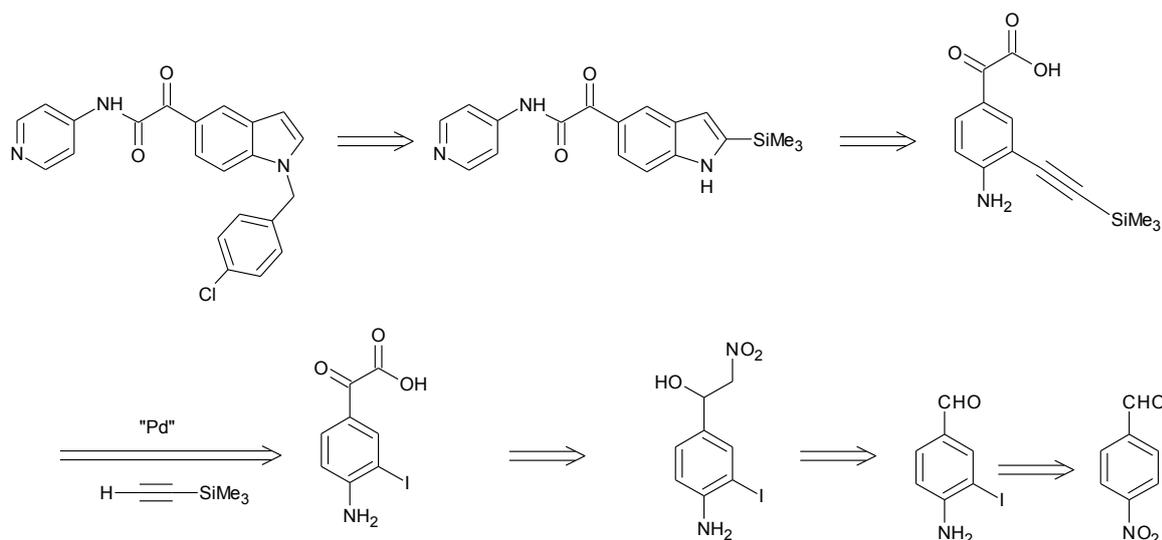


Schéma 30

A partir du 4-nitrobenzaldéhyde **85**, la première étape de la synthèse consiste en la réduction du groupement nitro en amine ; elle est réalisée par du chlorure stanneux dans l'acide chlorhydrique concentré⁵³ pour donner l'amine **86** avec 62 % de rendement. La iodation sélective en position 3 du noyau benzaldéhyde est ensuite réalisée en présence de chlorure d'iode et de carbonate de calcium¹⁰¹ dans un mélange méthanol/eau à 0 °C pour obtenir le composé **87** avec 85 % de rendement. La réaction procède selon un mécanisme de substitution électrophile et le carbonate de calcium présent capte l'acide chlorhydrique dégagé. L'étape suivante, à savoir la formation du nitroaldol **88** *via* la réaction de Henry⁸³ décrite précédemment est de nouveau restée infructueuse (schéma 31).

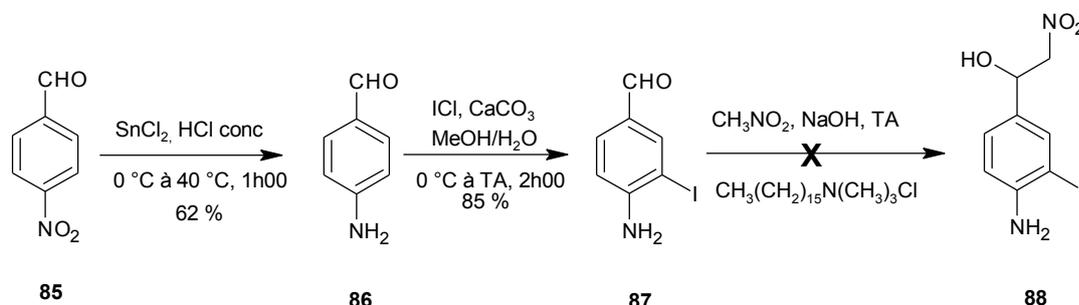


Schéma 31

c. Voie G – A partir de l'indoline

Cette dernière voie fait appel à une réaction d'acylation de Friedel Crafts, méthode la plus couramment utilisée pour introduire des chaînes carbonées sur des cycles aromatiques ; elle met souvent en jeu un halogénure d'acide et un acide de Lewis tel que AlCl_3 ¹⁰², BF_3 ¹⁰³ ou

¹⁰¹ F. Sternfeld, A.R. Guiblin, R.A. Jelley, V.G. Matassa, A.J. Reeve, P.A. Hunt, M.S. Beer, A. Heald, J.A. Stanton, B. Sohal, A.P. Watt et L.J. Street, Synthesis and serotonergic activity of 3-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl]indoles: potent antagonists for the h5-HT_{1B} receptor with high selectivity over the h5-HT_{1B} receptor, *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 677-690.

¹⁰² D.M. Ketcha, B.A. Lieurance et D.F.J. Homan, Synthesis of alkyl-substituted *N*-protected indoles *via* acylation and reductive deoxygenation, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 4350-4356.

¹⁰³ G.A Olah et S.J. Kuhn, Formylation with formyl fluoride: a new aldehyde synthesis and formylation method, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 2380-2382.

SbF₅¹⁰⁴. Cette réaction est réalisée sur l'indoline **89**, dont la fonction amine doit être préalablement protégée par un groupement benzènesulfonyle afin d'orienter la réaction sur la position 5. Le groupement protecteur est introduit par utilisation de triéthylamine et de chlorure de benzènesulfonyle dans le dichloroéthane¹⁰⁵ pour donner le composé **90** avec un rendement de 97 %. L'acylation est mise en oeuvre sur le composé **90** avec pour électrophile le chloro(oxo)acétate d'éthyle en présence de trichlorure d'aluminium dans le dichlorométhane ; elle conduit à la formation du glyoxylate d'éthyle **91** avec un rendement de 97 % (schéma 32).

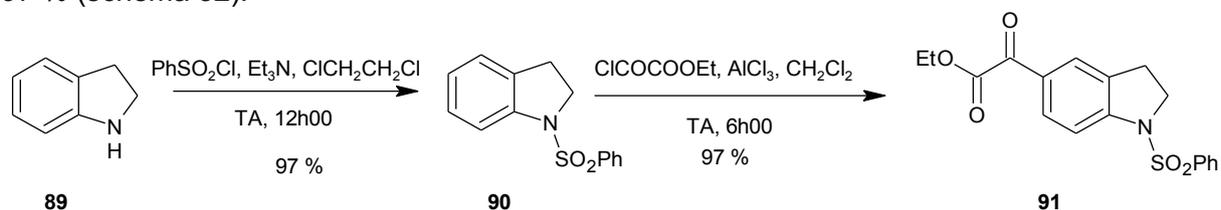


Schéma 32

L'oxydation de l'indoline **91** par la 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone (DDQ) dans le xylène¹⁰⁶, contrairement à ce qui a été décrit dans la littérature, ne permet pas l'obtention de l'indole **92** (schéma 33).

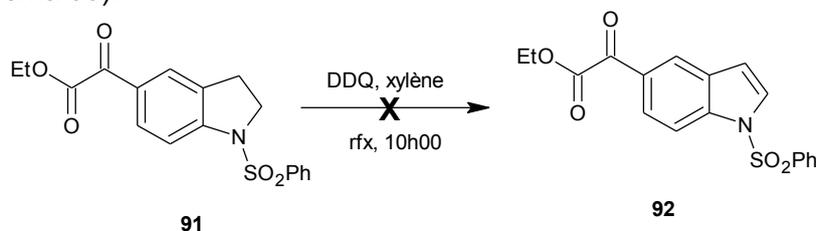


Schéma 33

Cet échec pourrait être dû à la présence du groupement benzènesulfonyle. En effet, l'oxydation de l'indoline en indole se fait classiquement sur un noyau non protégé ; il a donc été envisagé de cliver le sulfonamide avant de réaliser l'oxydation de l'indoline en indole. Le clivage est réalisé en milieu acide sulfurique concentré¹⁰⁷, ce qui conduit parallèlement à l'hydrolyse de l'ester éthylique en acide carboxylique pour donner le composé **93** avec un rendement de 47 %. L'oxydation de l'indoline par le DDQ au reflux du xylène¹⁰⁶ conduit à la formation de l'acide (indol-5-yl)glyoxylique **94** avec un rendement de 87 % (schéma 34).

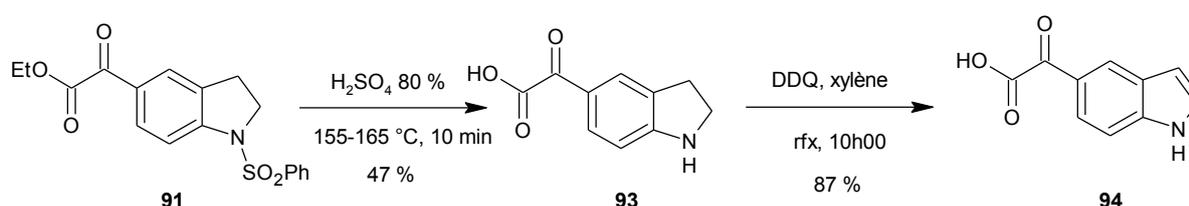


Schéma 34

¹⁰⁴ Y. Sato, M. Yato, T. Ohwada, S. Saito et K. Shudo, Involvement of dicationic species as the reactive intermediates in Gattermann, Houben-Hoesch, and Friedel-Crafts reactions of unactivated benzenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 3037-3043.

¹⁰⁵ C.-W. Wen Ko et T. Chou, Preparation and reactions of benzofurano-, indolo-, and benzothieno-3-sulfonenes, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 4645-4653.

¹⁰⁶ E. Walton, F.W. Holly et S.R. Jenkins, Indole and 4-aminoindole nucleosides, *J. Org. Chem.*, **1968**, 33, 192-197.

¹⁰⁷ A.I. Vogel, *Textbook of practical organic chemistry*, Longman scientific and technical, **1989**, 1228.

Différentes conditions d'amidification de l'acide glyoxylique **94** ont été mises en œuvre (CNMPI dans le dichlorométhane, en présence de triéthylamine⁶⁵, CDI dans le tétrahydrofurane⁶⁶ et DCP dans le dichlorométhane⁶⁷) mais toutes les réactions ont échouées (schéma 35).

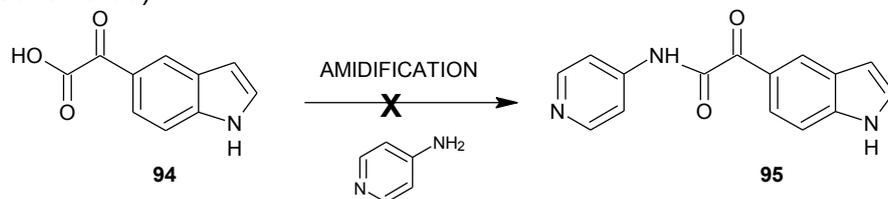


Schéma 35

En revanche, la formation de l'amide a pu être réalisée sur l'indoline **93** par utilisation de CNMPI⁶⁵, en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane avec un bon rendement. Cependant, l'oxydation de l'indoline **96** par le DDQ¹⁰⁶ n'a pas conduit à l'obtention du produit désiré **95** (schéma 36).

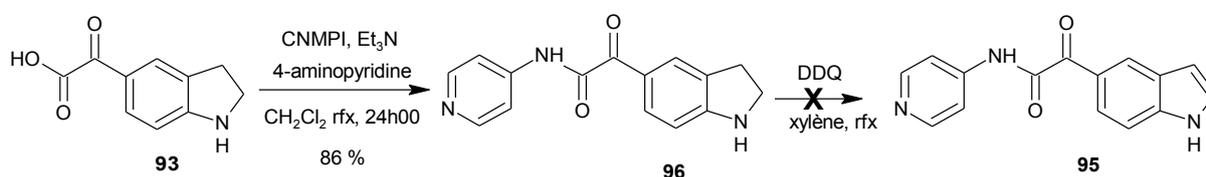


Schéma 36

Le clivage du groupement benzènesulfonyle doit donc être effectué sans qu'il y ait parallèlement hydrolyse de l'ester éthylique en acide carboxylique. Des essais ont donc été réalisés avec le fluorure de tétrabutylammonium¹⁰⁸ (TBAF) au reflux du tétrahydrofurane mais cela ne conduit pas au clivage du groupement benzènesulfonyle, seul le produit de départ est récupéré.

Le clivage a donc finalement été réalisé par du magnésium dans le méthanol¹⁰⁹ pour donner le composé **97** avec un rendement de 90 % ; cependant, cette réaction présente l'inconvénient de la réduction simultanée du carbonyle en alcool et d'une transestérification. La réoxydation de l'alcool en carbonyle par le dioxyde de manganèse dans le toluène¹¹⁰ conduit à l'oxydation simultanée de l'indoline en indole permettant de synthétiser le composé souhaité **98** avec un rendement de 88 % (schéma 37).

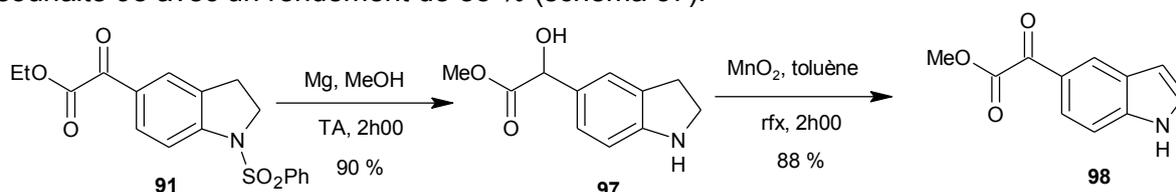


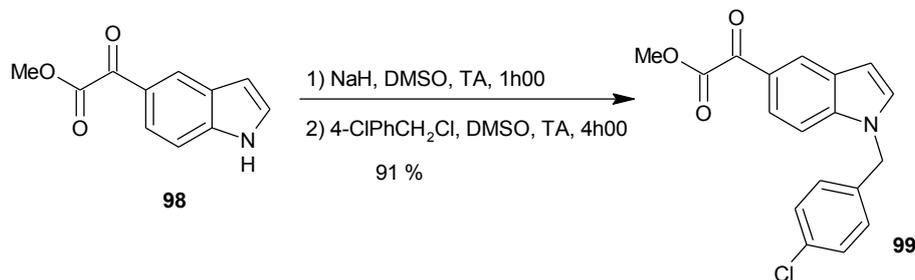
Schéma 37

¹⁰⁸ A. Yasuhara et T. Sakamoto, Deprotection of *N*-sulfonyl nitrogen-heteroaromatics with tetrabutylammonium fluoride, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 595-596.

¹⁰⁹ H. Muratake et M. Natsume, Preparation of alkyl-substituted indoles in the benzene portion, *Heterocycles*, **1989**, 29 (4), 783-794.

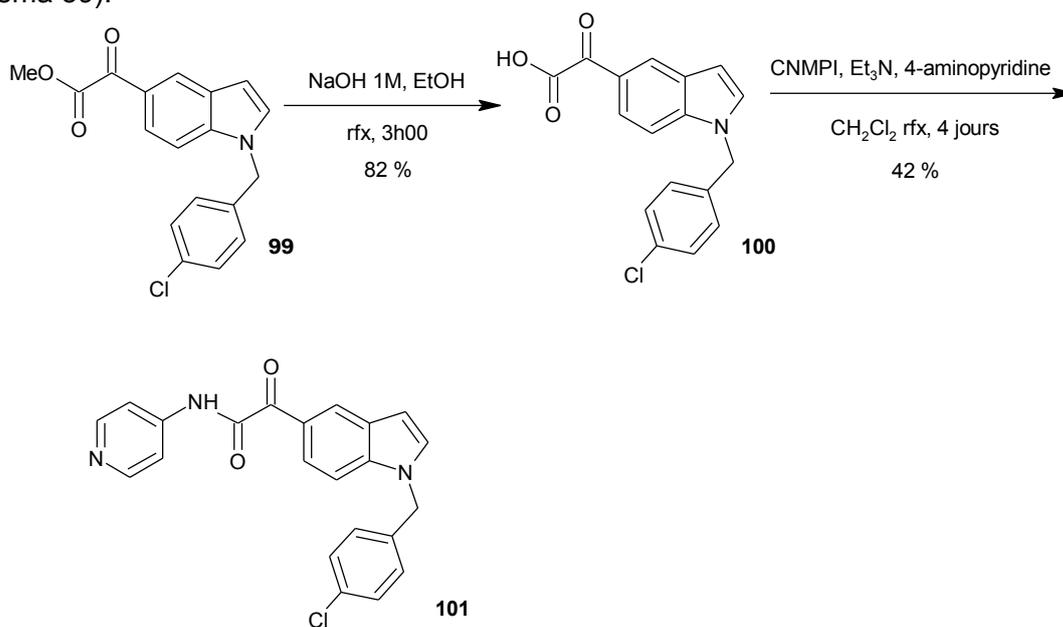
¹¹⁰ H. Takami, H. Koshimura, N. Kishibayashi, A. Ishii, H. Nonaka, S. Aoyama, H. Kase et T. Kumazawa, Indole derivatives as a new class of steroid 5 α -reductase inhibitors, *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 5047-5052.

Le groupement 4-chlorobenzyle est ensuite introduit sur l'azote indolique dans les conditions précédemment décrites fournissant le composé **99** avec un rendement de 91 % (schéma 38).



Des essais d'aminolyse de l'ester méthylique **99** ont été effectués (2-hydroxypyridine au reflux du toluène⁶² et sous irradiation micro-ondes, en présence ou non de *tert*-butylate de potassium^{63,64}) mais tous sont restés infructueux. Le passage par l'acide carboxylique s'avère donc nécessaire pour obtenir l'amide. L'hydrolyse de l'ester par une solution de soude 1M dans l'éthanol au reflux permet d'accéder au composé **100** avec un rendement de 82 %.

L'amidification par la 4-aminopyridine, en présence de CNMPI⁶⁵ et de triéthylamine au reflux du dichlorométhane permet l'obtention du composé **101** désiré avec un rendement de 42 % (schéma 39).



L'analogue **101** en position 5 du D-24851 a donc été synthétisé en 7 étapes à partir de l'indoline **89** avec un rendement global de 19 %. Il a été testé sur l'inhibition de la polymérisation de la tubuline.

Il conviendrait, en perspective, de transposer ce schéma réactionnel pour obtenir l'analogue en position 4. L'étape clé consistera à synthétiser l'analogue glyoxylate d'éthyle du composé **98** en position 4 du noyau indolinique. Une des possibilités est le passage par un organolithien à partir d'une indoline bromée en position 4 et avec l'oxalate de diéthyle comme électrophile (schéma 40).

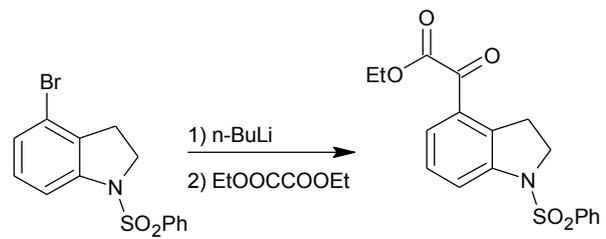


Schéma 40

PARTIE EXPERIMENTALE

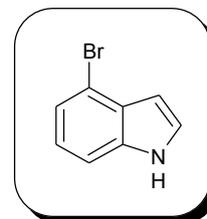
4-bromo-1H-indole (47)

huile marron

C_8H_6BrN

$M_r = 196.04$

$R_f = 0.57$ (dichlorométhane)



Mode opératoire : à une solution de 3.0 g (13.9 mmol, 1 éq) de 2-bromo-6-nitrotoluène **45** dans 30 mL de diméthylformamide ajouter 5.5 mL (41.6 mmol, 3 éq) de diméthylacétal de diméthylformamide et 1.1 mL (13.9 mmol, 1 éq) de pyrrolidine. Chauffer au reflux le mélange réactionnel pendant 20h00. Refroidir la solution, ajouter 100 mL d'éther diéthylique. Laver la phase organique à l'eau, extraire à l'éther diéthylique, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une huile rouge.

Dissoudre l'énamine dans 100 mL d'acide acétique glacial et chauffer la solution à 75 °C. Ajouter 7.3 g (111.2 mmol, 8 éq) de zinc par petites portions en 1h00. Chauffer ensuite le mélange réactionnel à 85 °C pendant 3h00. Refroidir puis filtrer. Laver à l'eau puis avec une solution aqueuse d'hydrogénocarbonate de sodium, extraire à l'éther diéthylique, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer les solvants sous vide pour donner une huile verte. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/hexane : 1/1 pour donner une huile marron (1.1 g, $\eta = 41\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.72 (s, 1H, NH), 7.99-7.95 (m, 2H, H₅, H₆), 7.90 (t, 1H, H₂, $^3J=2.8$ Hz), 7.79-7.66 (m, 1H, H₇), 7.26 (sl, 1H, H₃).

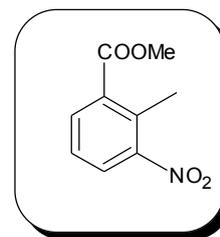
2-méthyl-3-nitrobenzoate de méthyle (50)

poudre jaune clair

$C_9H_9NO_4$

$M_r = 195.18$

F = 35-36 °C



Mode opératoire : à 10 g (55.2 mmol, 1 éq) d'acide 2-méthyl-3-nitrobenzoïque **48** ajouter 100 mL d'une solution de méthanol à 0.5 % d'acide chlorhydrique gazeux puis chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 48h00. Evaporer le solvant puis reprendre le résidu au dichlorométhane. Laver la phase organique avec une solution d'hydrogencarbonate de sodium puis une solution de chlorure de sodium saturée. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium puis évaporer le solvant sous vide pour obtenir une poudre jaune (10.3 g, $\eta=96$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.10 (dd, 1H, H_4 , $^3J=7.9$ Hz, $^4J=1.2$ Hz), 8.06 (dd, 1H, H_6 , $^3J=7.9$ Hz, $^4J=1.2$ Hz), 7.62 (t, 1H, H_5 , $^3J=7.9$ Hz), 3.94 (s, 3H, COOCH₃), 2.53 (s, 3H, CH₃).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 166.40 (C=O), 151.43 (C), 133.24 (C), 133.11 (CH), 131.11 (C), 127.27 (CH), 126.64 (CH), 52.60 (COOCH₃), 15.46 (CH₃).

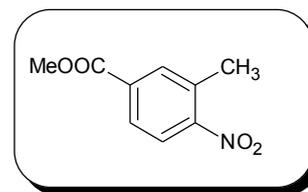
IR (KBr), cm^{-1} : 1725 ν C=O ester, 1526 et 1364 ν NO₂.

3-méthyl-4-nitrobenzoate de méthyle (51)

poudre blanche

$C_9H_9NO_4$

$M_r = 195.17$

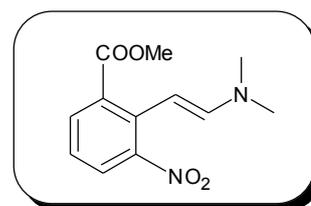


Mode opératoire : le composé **51** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **50** ($\eta=98\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.13-8.09 (m, 2H), 8.02-7.98 (m, 1H), 3.94 (s, 3H, COOCH₃).

2-[(E)-2-(diméthylamino)vinyl]-3-nitrobenzoate de méthyle (52)

huile rouge
 $C_{12}H_{14}N_2O_4$
 $M_r = 250.26$



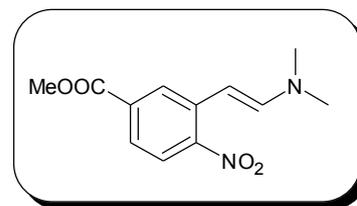
Mode opératoire : à une solution de 5.0 g (23.9 mmol, 1 éq) de 2-méthyl-3-nitrobenzoate de méthyle **50** dans 20 mL de diméthylformamide ajouter 7 mL de diméthylacétal de diméthylformamide. Chauffer la solution résultante à 110°C pendant 8h00 puis laisser revenir à température ambiante. Ajouter de l'éther diéthylique, puis laver plusieurs fois la phase organique à l'eau. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner une huile rouge foncé (5.2 g, $\eta=89\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.86 (dd, 1H, H_4 , $^3J=7.9$ Hz, $^4J=0.8$ Hz), 7.75 (dd, 1H, H_6 , $^3J=7.9$ Hz, $^4J=0.8$ Hz), 7.23 (t, 1H, H_5 , $^3J=7.9$ Hz), 6.40 (d, 1H, H_2 , $^3J=13.4$ Hz), 5.41 (d, 1H, H_1 , $^3J=13.4$ Hz), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 2.81 (s, 6H, $N(CH_3)_2$).

IR (NaCl), cm^{-1} : 3100-2850 ν_{CH} , 1730 $\nu_{C=O}$ ester, 1529 et 1332 ν_{NO_2} .

3-[(E)-2-(diméthylamino)vinyl]-4-nitrobenzoate de méthyle (53)

huile rouge
 $C_{12}H_{14}N_2O_4$
 $M_r = 250.26$



Mode opératoire : le composé **53** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **52** ($\eta=93\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.19 (d, 1H, H_2 , $^4J=1.5$ Hz), 7.87 (d, 1H, H_5 , $^3J=8.5$ Hz), 7.55 (d, 1H, H_1 , $^3J=13.1$ Hz), 7.47 (dd, 1H, H_6 , $^3J=8.5$ Hz, $^4J=1.5$ Hz), 5.55 (d, 1H, H_2' , $^3J=13.1$ Hz), 2.95 (s, 3H, COOCH_3).

1H-indole-4-carboxylate de méthyle (54)

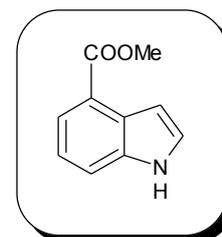
poudre jaune

$C_{10}H_9NO_2$

$M_r = 175.19$

$R_f = 0.75$ (dichlorométhane/éthanol : 8/2)

$F = 68-69^\circ C$



Mode opératoire 1 (avec du palladium sur charbon à 5 %) : à une solution de 1.0 g (4.0 mmol, 1 éq) de 2-[(E)-2-(diméthylamino)vinyl]-3-nitrobenzoate de méthyle **52** dans 20 mL de benzène ajouter en quantité catalytique du palladium sur charbon à 5 % et placer à l'hydrogénéateur pendant 6h00 sous 1 bar d'hydrogène. Filtrer sur célite, évaporer le solvant. Purifier le résidu obtenu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant du dichlorométhane pour donner un solide jaune clair (596 mg, $\eta=85\%$).

Mode opératoire 2 (avec du palladium sur charbon à 10 %) : le composé **54** est obtenu par hydrogénation catalytique avec du palladium sur charbon à 10 % dans les mêmes conditions qu'avec du palladium sur charbon à 5 % pour donner une poudre jaune ($\eta=80\%$).

Mode opératoire 3 (avec du nickel de Raney) : chauffer à 30 °C une solution de 8.0 g (32 mmol, 1 éq) de 2-[(E)-2-(diméthylamino)vinyl]-3-nitrobenzoate de méthyle **52** dans 150 mL d'un mélange tétrahydrofurane/méthanol : 1/1 puis ajouter du nickel de Raney en quantité catalytique et 2.5 mL (48 mmol, 1.5 éq) d'hydrazine monohydratée. Chauffer la solution résultante à 50 °C pendant 4h00 en ajoutant après 1h00 de chauffage, 2 mL d'hydrazine puis à nouveau 2 mL supplémentaire après 2h00. Filtrer sur célite et évaporer le filtrat. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant avec du dichlorométhane pour donner une poudre jaune (1.8 g, $\eta=32\%$).

Mode opératoire 4 (avec du chlorure de titane^{IV}) : à une solution de 1.0 g (4 mmol, 1 éq) de 2-[(E)-2-(diméthylamino)vinyl]-3-nitrobenzoate de méthyle **52** ajouter 34 mL de chlorure de titane^{IV} à 10 % dans une solution d'acide chlorhydrique à 20-30 %. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 4h00. Reprendre le mélange réactionnel à l'acétate d'éthyle. Laver la phase organique avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant sous vide. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant au dichlorométhane pour donner une poudre jaune (231 mg, $\eta=33\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 11.50 (s, 1H, NH), 7.77 (dd, 1H, H_7 , $^3J=7.8$ Hz, $^4J=0.9$ Hz), 7.75 (dd, 1H, H_5 , $^3J=7.8$ Hz, $^4J=0.9$ Hz), 7.58 (d, 1H, H_2 , $^3J=2.7$ Hz), 7.23 (t, 1H, H_6 , $^3J=7.8$ Hz), 6.98 (s, 1H, H_3), 3.93 (s, 3H, COOCH₃).

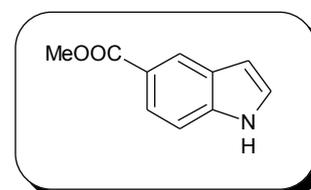
^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 167.06 (C=O), 136.71 (C), 127.75 (CH), 125.71 (C), 122.14 (CH), 120.16 (CH), 116.64 (CH), 102.06 (CH), 51.53 (CH₃).

IR (KBr), cm^{-1} : 3338 ν NH, 1696 ν C=O ester.

1H-indole-5-carboxylate de méthyle (55)

poudre beige

$C_{10}H_9NO_2$



$M_r = 175.18$

Mode opératoire : le composé **55** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **54** par hydrogénation catalytique avec du palladium sur charbon à 5 % dans le benzène ($\eta=73$ %).

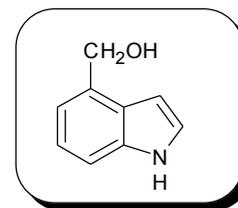
^1H RMN (DMSO- d_6) : 11.36 (s, 1H, NH), 8.31 (d, 1H, H₄, $^4J=0.9$ Hz), 7.80 (dd, 1H, H₇, $^3J=8.5$ Hz, $^4J=1.5$ Hz), 7.54-7.50 (m, 2H, H₆, H₃), 6.66-6.63 (m, 1H, H₂), 3.88 (s, 3H, COOCH₃).

(1*H*-indol-4-yl)méthanol (56)

huile orange

C₉H₉NO

M_r = 147.17



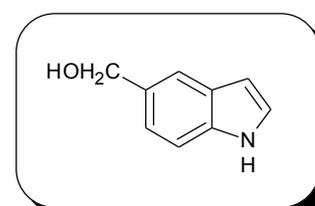
Mode opératoire : à une solution de 428 mg (11.4 mmol, 1 éq) d'hydrure de lithium et d'aluminium dans 60 mL de tétrahydrofurane ajouter à 0 °C et sous atmosphère d'azote 2.0 g (11.4 mmol, 1 éq) de 1*H*-indole-4-carboxylate de méthyle **54**. Laisser le mélange réactionnel sous agitation à 0 C° pendant 20h00 puis hydrolyser le mélange réactionnel. Filtrer sur célite. Laver le filtrat à l'eau, extraire la phase aqueuse à l'acétate d'éthyle, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une huile orange (419 mg, η=25 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 11.12 (s, 1H, NH), 7.36-7.34 (m, 1H, H₂), 7.33 (d, 1H, H₅, ³J=7.3 Hz), 7.10 (t, 1H, H₆, ³J=7.1 Hz), 7.05 (d, 1H, H₇, ³J=7.2 Hz), 6.55-6.53 (m, 1H, H₃), 5.12 (t, 1H, OH, ³J=5.6 Hz), 4.80 (d, 2H, CH₂, ³J=5.6 Hz).

(1*H*-indol-5-yl)méthanol (57)

huile orange

C₉H₉NO



$M_r = 147.17$

Mode opératoire : le composé **57** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **56** par réduction de l'aldéhyde **55** ($\eta=76\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 11.12 (s, 1H, NH), 7.54 (s, 1H, H₄), 7.52 (d, 1H, H₂, $^3J=3.3$ Hz), 7.40-7.38 (m, 1H, H₇), 7.11 (d, 1H, H₆, $^3J=8.4$ Hz), 6.51 (d, 1H, H₃, $^3J=2.7$ Hz), 5.05 (t, 1H, OH, $^3J=5.7$ Hz), 4.58 (d, 2H, CH₂, $^3J=5.7$ Hz).

4-formyl-1H-indole (58)

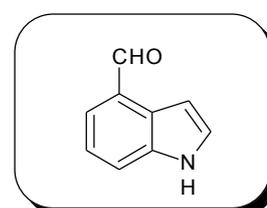
poudre marron

$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$

$M_r = 145.15$

$R_f = 0.24$ (dichlorométhane)

$F = 118-119\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 540 mg (3.7 mmol, 1 éq) de (1*H*-indol-4-yl)méthanol **56** dans 20 mL de dichlorométhane, ajouter 1.8 g (21.1 mmol, 5.7 éq) de dioxyde de manganèse. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 20h00. Filtrer sur célite, laver à l'éthanol et évaporer le filtrat sous vide pour donner une poudre marron (260 mg, $\eta=49\%$).

Mode opératoire : à une solution de 18.8 g (335.5 mmol, 20 éq) d'hydrogénosulfite de sodium et 13.1 g (167.8 mmol, 10 éq) de sulfite de sodium dans 10 mL d'eau, ajouter 4.8 g (16.8 mmol, 1 éq) d'iodure de *N*-méthyl-5-aminoisoquinoléinium **67** puis 30 mL d'acétate d'isopropyle. Chauffer au reflux pendant 3 jours. Laver la phase organique successivement avec une solution d'acide chlorhydrique à 10 %, une solution de bicarbonate de sodium à 10 %, de l'eau et une solution saturée en chlorure de sodium. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant sous vide. Chauffer au reflux la phase aqueuse pendant 3 jours supplémentaires, extraire le résidu dans les mêmes conditions que précédemment pour donner une poudre beige, après recristallisation dans le toluène (1.7 g, $\eta=70\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 11.65 (s, 1H, NH), 10.23 (s, 1H, CHO), 7.81 (d, 1H, H₅, $^3J=8.0$ Hz), 7.70 (d, 1H, H₇, $^3J=7.2$ Hz), 7.69 (d, 1H, H₂, $^3J=3.2$ Hz), 7.36 (t, 1H, H₆, $^3J=7.6$ Hz), 7.13 (d, 1H, H₃, $^3J=3.2$ Hz).

IR (KBr), cm^{-1} : 1666 $\nu\text{C=O}$.

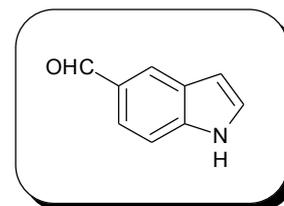
5-formyl-1*H*-indole (**59**)

huile rouge

$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$

$M_r = 145.15$

$R_f = 0.39$ (dichlorométhane)



Mode opératoire : le composé **59** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **58** par oxydation de l'alcool **57** ($\eta=23\%$).

^1H RMN (DMSO- d_6) : 11.66 (s, 1H, NH), 10.00 (s, 1H, CHO), 8.22 (s, 1H, H₄), 7.67 (d, 1H, H₆, $^3J=7.9$ Hz), 7.60 (sl, 1H, H₂), 7.57 (d, 1H, H₇, $^3J=7.6$ Hz), 6.70 (sl, 1H, H₃).

IR (KBr), cm^{-1} : 1670 $\nu\text{C}=\text{O}$.

1-(4-chlorobenzyl)-1H-indole-4-carbaldéhyde (60)

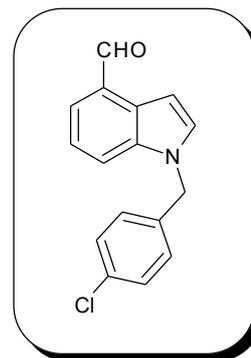
poudre jaune

C₁₆H₁₂ClNO

M_r = 269.72

R_f = 0.91 (dichlorométhane)

F = 80-81 °C



Mode opératoire 1 : à une solution de 2.0 g (13.8 mmol, 1 éq) de 4-formyl-1H-indole **58** dans 60 ml d'acétonitrile ajouter 9.0 g (27.6 mmol, 2 éq) de carbonate de césium. Chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 1h00 puis ajouter 2.2 g (13.8 mmol, 1 éq) de chlorure de 4-chlorobenzyle. Maintenir l'agitation au reflux pendant 2h00 Laisser revenir à température ambiante, filtrer sur célite puis évaporer le filtrat pour donner une poudre jaune (3.4 g, η= 90 %).

Mode opératoire 2 : à une solution de 380 mg (1.4 mmol, 1 éq) de [1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-4-yl]méthanol **63** dans 10 mL de dichlorométhane anhydre, ajouter par petites portions 527 mg (1.4 mmol, 1 éq) de dichromate de pyridinium et laisser le mélange réactionnel sous agitation à température ambiante pendant 6h00. Filtrer la solution résultante sur célite, laver au dichlorométhane. Laver le filtrat avec une solution d'acide chlorhydrique 1M. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant sous pression réduite pour donner une huile orange. Purifier sur colonne de gel de silice en éluant au dichlorométhane pour donner une poudre jaune (270 mg, η=71 %).

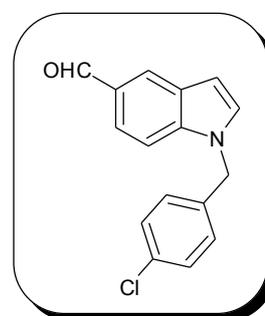
¹H RMN (DMSO-d₆) : 10.23 (s, 1H, CHO), 7.90 (d, 1H, H₅, ³J=7.9 Hz), 7.83 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 7.73 (d, 1H, H₇, ³J=7.9 Hz), 7.41 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.7 Hz), 7.38 (t, 1H, H₆, ³J=7.9 Hz), 7.25 (d, 2H, H₂, H₆, ³J=8.7 Hz), 7.19 (d, 1H, H₃, ³J=3.1 Hz), 5.58 (s, 2H, CH₂Ph).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 193.32 (CHO), 136.98 (C), 136.33 (C), 132.75 (CH), 132.10 (C), 128.84 (2CH), 128.60 (2CH), 127.90 (C), 127.15 (CH), 125.74 (C), 120.92 (CH), 116.80 (CH), 101.16 (CH), 48.46 (CH₂Ph).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1671 νC=O.

1-(4-chlorobenzyl)-1H-indole-5-carbaldéhyde (61)

poudre beige



C₁₆H₁₂ClNO
M_r = 269.73
R_f = 0.70 (dichlorométhane)
F = 86-87 °C

Mode opératoire : à une solution de 2.0 g (13.8 mmol, 1 éq) de 5-formyl-1*H*-indole **59** dans 60 mL de diméthylsulfoxyde, ajouter sous atmosphère d'azote 607 mg (15.2 mmol, 1.1 éq) d'hydrure de sodium à 60 % et laisser sous agitation à température ambiante pendant 1h00. Ajouter ensuite 2.2 g (13.8 mmol, 1 éq) de chlorure de 4-chlorobenzyle et maintenir l'agitation à température ambiante pendant 6h00. Reprendre au dichlorométhane, laver plusieurs fois la phase organique à l'eau pour éliminer le diméthylsulfoxyde, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner une poudre beige (3.5 g, η=94 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 10.01 (s, 1H, CHO), 8.24 (s, 1H, H₄), 7.70 (m, 1H, H₆), 7.68 (m, 1H, H₂), 7.42 (d, 2H, H_b, ³J=8.4 Hz), 7.33 (d, 1H, H₇, ³J=7.2 Hz), 7.26 (d, 2H, H_a, ³J=8.4 Hz), 6.78 (d, 1H, H₃, ³J=3.0 Hz), 5.55 (s, 2H, CH₂Ph).

1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indole-4-carboxylate de méthyle (62)

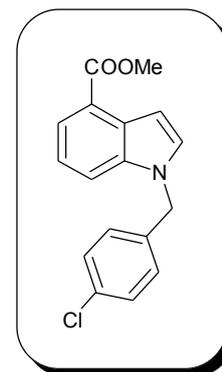
poudre jaune

C₁₇H₁₄ClNO₂

M_r = 299.76

R_f = 0.85 (dichlorométhane)

F = 65-66°C



Mode opératoire : le composé **62** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **61** ($\eta=90\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 7.82-7.79 (m, 2H, H₅, H₇), 7.75 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 7.40 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.6 Hz), 7.25 (t, 1H, H₆, ³J=8.0 Hz), 7.23 (d, 2H, H₂, H₆, ³J=8.6 Hz), 7.05 (d, 1H, H₃, ³J=3.1 Hz), 5.54 (s, 2H, CH₂Ph), 3.93 (s, 3H, COOCH₃).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 167.05 (C=O), 137.00 (C), 136.47 (CH), 132.06 (C), 131.52 (C), 128.80 (2CH), 128.56 (2CH), 127.60 (C), 122.54 (CH), 120.78 (C), 120.63 (CH), 115.36 (CH), 102.18 (CH), 51.66 (CH₂Ph), 48.47 (COOCH₃).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1702 νC=O ester.

[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-4-yl]méthanol (63)

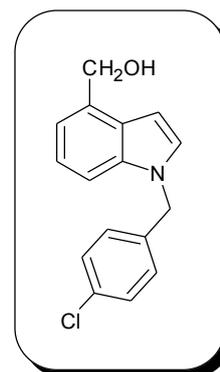
poudre jaune

C₁₆H₁₄ClNO

M_r = 271.74

R_f = 0.52 (dichlorométhane)

F = 62-63 °C



Mode opératoire : à une solution de 500 mg (1.7 mmol, 1 éq) de 1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indole-4-carboxylate de méthyle **62** dans 5 mL de tétrahydrofurane anhydre, ajouter 95 mg (2.5 mmol, 1.5 éq) d'hydrure de lithium et d'aluminium et laisser sous agitation pendant 1h00. Extraire au dichlorométhane. Laver la phase organique à l'eau, sécher sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer les solvants sous vide pour donner un solide jaune (410 mg, η=92 %).

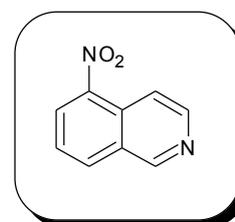
¹H RMN (DMSO-d₆) : 7.52 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 7.40 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.4 Hz), 7.33 (dd, 1H, H₇, ³J=6.1 Hz, ⁴J=1.9 Hz), 7.21 (d, 2H, H₂, H₆, ³J=8.4 Hz), 7.13-7.05 (m, 2H, H₅, H₆), 6.60 (d, 1H, H₃, ³J=3.1 Hz), 5.46 (s, 2H, CH₂Ph), 5.14 (t, 1H, CH₂OH, ³J=5.5 Hz), 4.78 (d, 2H, CH₂OH, ³J=5.5 Hz).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 137.46 (C), 135.56 (C), 134.21 (C), 131.87 (C), 128.75 (2CH), 128.59 (CH), 128.48 (2CH), 126.30 (C), 121.09 (CH), 116.90 (CH), 108.84 (CH), 99.61 (CH), 61.40 (CH₂OH), 48.42 (CH₂Ph).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3287 νOH.

5-nitroisoquinoléine (65)

poudre verte



$C_9H_6N_2O_2$
 $M_r = 174.16$
 $R_f = 0.33$ (dichlorométhane)
 $F = 104-105\text{ }^\circ\text{C}$

Mode opératoire : à une solution de 4.0 g (30.9 mmol, 1 éq) d'isoquinoléine **64** dans 20 mL d'acide sulfurique concentré, ajouter à 0 °C 3.5 g (34.1 mmol, 1.1 éq) de nitrate de potassium dissous dans 20 mL d'acide sulfurique concentré. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 12h00 puis verser le mélange réactionnel dans un mélange eau/glace, neutraliser par une solution d'ammoniaque. Filtrer le solide vert obtenu (5.4 g, $\eta=100\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.58 (s, 1H, H_{10}), 8.79 (d, 1H, H_2 , $^3J=6.1$ Hz), 8.70 (d, 1H, H_6 , $^3J=7.9$ Hz), 8.63 (d, 1H, H_8 , $^3J=7.9$ Hz), 8.36 (d, 1H, H_3 , $^3J=6.1$ Hz), 7.93 (t, 1H, H_7 , $^3J=7.9$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 153.52 (CH), 146.42 (CH), 144.13 (C), 135.65 (CH), 129.12 (CH), 128.77 (C), 127.32 (C), 126.83 (CH), 115.35 (CH).

IR (KBr), cm^{-1} : 1512, 1328 νNO_2 .

5-aminoisoquinoléine (66)

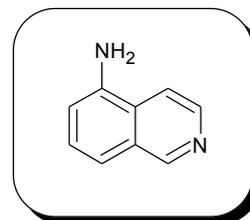
poudre beige

$C_9H_8N_2$

$M_r = 144.17$

$R_f = 0.18$ (dichlorométhane)

$F = 110-111\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 2.2 g (11.5 mmol, 4 éq) de chlorure stanneux dans 20 mL d'acide chlorhydrique concentré ajouter à 0 °C 500 mg (2.9 mmol, 1 éq) de 5-nitroisoquinoléine **65** et laisser sous agitation à température ambiante pendant 2h00. Verser la solution résultante dans un mélange eau/glace, basifier par une solution d'hydroxyde de sodium. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner une poudre beige (280 mg, $\eta=68\%$).

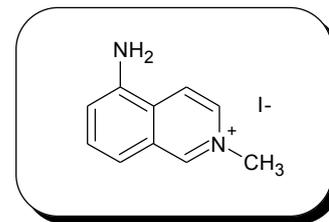
$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.14 (s, 1H, H₁₀), 8.38 (d, 1H, H₂, $^3J=6.1$ Hz), 7.99 (d, 1H, H₃, $^3J=6.1$ Hz), 7.41 (t, 1H, H₇, $^3J=7.9$ Hz), 7.27 (dd, 1H, H₈, $^3J=7.9$ Hz, $^4J=1.1$ Hz), 6.91 (dd, 1H, H₆, $^3J=7.9$ Hz, $^4J=1.1$ Hz), 6.00 (s, 2H, NH₂).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 152.62 (CH), 144.46 (C), 141.26 (CH), 129.77 (C), 128.70 (CH), 125.22 (C), 115.90 (CH), 114.66 (CH), 111.09 (CH).

IR (KBr), cm^{-1} : 3163 νNH_2 .

iodure de *N*-méthyl-5-aminoisoquinoléinium (67)

poudre marron
 $C_{10}H_{11}N_2I$
 $M_r = 286.12$
 $F = 218-219\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 182 mg (1.3 mmol, 1 éq) de 5-aminoisoquinoléine **66** dans 5 mL d'acétonitrile anhydre ajouter goutte à goutte 78 μL (1.3 mmol, 1 éq) d'iodure de méthyle. Chauffer au reflux le mélange réactionnel pendant 6h00 puis évaporer le solvant sous vide pour donner un solide marron. Reprendre le résidu dans 5 mL de dichlorométhane et filtrer sur fritté pour donner une poudre marron (314 mg, $\eta=87\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.78 (s, 1H, H_{10}), 8.59-8.54 (m, 2H, H_2, H_3), 7.78 (t, 1H, H_7 , $^3J=7.9\text{ Hz}$), 7.57 (d, 1H, H_8 , $^3J=8.2\text{ Hz}$), 7.29 (dd, 1H, H_6 , $^3J=7.8\text{ Hz}$, $^4J=0.8\text{ Hz}$), 6.66 (s, 2H, NH_2), 4.42 (s, 3H, CH_3).

IR (KBr), cm^{-1} : 3184 νNH_2 .

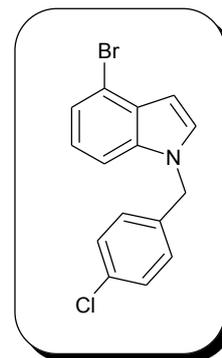
4-bromo-1-(4-chlorobenzyl)-1H-indole (68)

poudre orange

C₁₅H₁₁BrClN

M_r = 320.61

R_f = 0.82 (dichlorométhane)



Mode opératoire : le composé **68** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **61** (η = 83 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 7.69 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 7.53 (d, 1H, H₇, ³J=8.0 Hz), 7.41 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.6 Hz), 7.28 (dd, 1H, H₅, ³J=8.0 Hz, ⁴J=0.6 Hz), 7.24 (d, 2H, H₂, H₆, ³J=8.6 Hz), 7.08 (t, 1H, H₆, ³J=8.0 Hz), 5.49 (s, 2H, CH₂Ph).

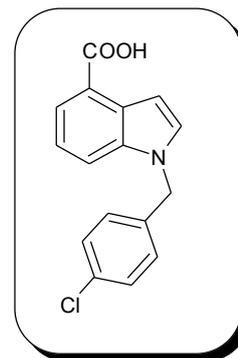
acide 1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indole-4-carboxylique (70)

poudre beige

$C_{16}H_{12}ClNO_2$

$M_r = 285.73$

F = 91-92 °C



Mode opératoire : à une solution de 500 mg (1.7 mmol, 1 éq) de 1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indole-4-carboxylate de méthyle **62** dans 15 mL d'éthanol absolu ajouter 0.5 mL (2.5 mmol, 2 éq) d'une solution de soude 5 M. Chauffer au reflux la solution résultante pendant 8h00 puis laisser revenir à température ambiante. Ajouter 15 mL d'eau et acidifier avec une solution d'acide chlorhydrique concentrée. Extraire à l'acétate d'éthyle, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner une poudre beige (480 mg, $\eta=98\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.78-7.74 (m, 2H, H₅, H₇), 7.71 (d, 1H, H₂, $^3J=3.1$ Hz), 7.40 (d, 2H, H₃, H₅, $^3J=8.1$ Hz), 7.24 (d, 2H, H₂, H₆, $^3J=8.1$ Hz), 7.22 (t, 1H, H₆, $^3J=7.3$ Hz), 7.05 (d, 1H, H₃, $^3J=3.1$ Hz), 5.53 (s, 2H, CH₂).

IR (KBr), cm^{-1} : 3100-2800 ν_{OH} , 1678 $\nu_{C=O}$.

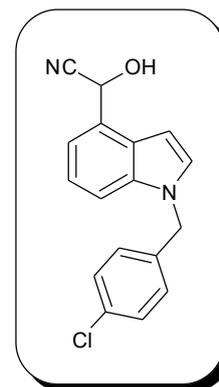
[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-4-yl](hydroxy)acétonitrile (72)

poudre marron

C₁₇H₁₃ClN₂O

M_r = 296.75

F = 73-74 °C

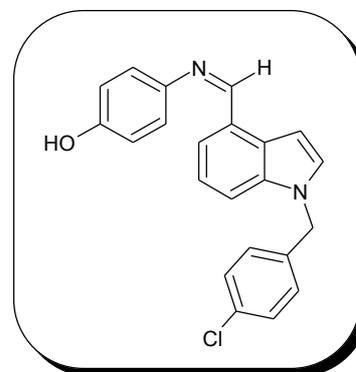


Mode opératoire : à une solution de 209 mg (0.8 mmol, 1 éq) de 1-(4-chlorobenzyl)-1H-indole-4-carbaldéhyde **60** dans 4 mL de dichlorométhane ajouter 14 mg ($3.9 \cdot 10^{-5}$ mol, 5 % / éq) de triflate de cuivre et 134 μ L (1 mmol, 1.3 éq) de cyanure de triméthylsilyle. Laisser le mélange réactionnel à température ambiante pendant 2h00 puis évaporer le solvant sous vide. Reprendre le résidu dans 3 mL d'acétonitrile, ajouter 3 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à 1N à 0 °C et maintenir l'agitation à 0 °C pendant 15 min. Laver la phase organique à l'eau puis avec une solution de chlorure de sodium, extraire au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner une poudre marron.

¹H RMN (DMSO-d₆) : 7.64 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 7.56-7.52 (m, 1H, H₇), 7.40 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.0 Hz), 7.37-7.15 (m, 4H, H₂, H₆, H₅, H₆), 7.00 (d, 1H, OH, ³J=6.0 Hz), 6.73 (d, 1H, H₃, ³J=3.1 Hz), 6.03 (d, 1H, CH(OH)CN, ³J=6.0 Hz), 5.50 (s, 2H, CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3411 vOH, 2360 vCN, 1487, 1435 vCHaro.

4-((1Z)[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-4-yl]méthylène)amino)phénol (76)



poudre jaune
C₂₂H₁₇ClN₂O
M_r = 360.84
R_f = 0.31 (dichlorométhane)
F = 144-145 °C

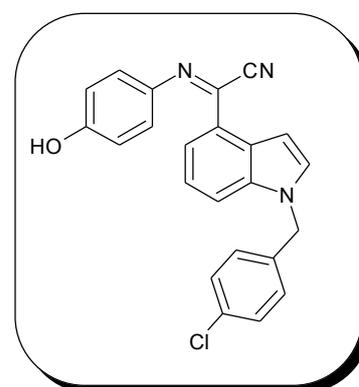
Mode opératoire : à une solution de 210 mg (0.8 mmol, 1 éq) de 1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indole-4-carbaldéhyde **60** dans 5 mL de méthanol ajouter 85 mg (0.8 mmol, 1 éq) de 4-aminophénol. Chauffer au reflux le mélange réactionnel pendant 6h00 puis évaporer le solvant pour donner une poudre jaune (280 mg, η=100 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 9.50 (s, 1H, OH), 8.88 (s, 1H, CH=N), 7.70 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 7.63 (d, 1H, H₅, ³J=7.9 Hz), 7.57 (d, 1H, H₇, ³J=7.3 Hz), 7.43-7.38 (m, 3H, H₃, H₅, H₆), 7.30-7.21 (m, 5H, H₂, H₆, H₂'',₆'', H₃), 6.85 (d, 2H, H₃'',₅'', ³J=8.8 Hz), 5.55 (s, 2H, CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1615 uC=N imine, 1579, 1497 uC=C aro.

(2*E*)[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-4-yl][(4-hydroxyphenyl)imino]acétonitrile (**78**)

poudre rouge foncé
C₂₃H₁₆ClN₃O
M_r = 385.85
F = 171-172 °C



Mode opératoire : à une solution de 280 mg (0.78 mmol, 1 éq) de 4-((1Z)[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-4-yl]méthylène)amino)phénol **73** dans 15 mL de diméthylsulfoxyde ajouter 38 mg (0.78 mmol, 1 éq) de cyanure de sodium. Laisser le mélange réactionnel sous agitation pendant 6h00 puis évaporer le solvant. Reprendre le résidu dans le tétrahydrofurane puis filtrer sur colonne de gel de silice. Evaporer le solvant et reprendre le résidu dans du méthanol. Chauffer à 60 °C pendant 15 min puis refroidir dans un bain de glace. Filtrer sur fritté puis évaporer le solvant pour donner une poudre rouge foncé.

5-bromo-1-(4-chlorobenzyl)-1H-indole (82)

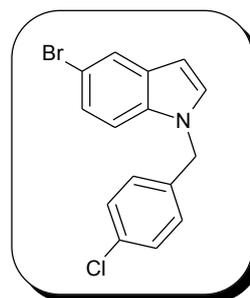
poudre orange

C₁₅H₁₁BrClN

M_r = 320.61

R_f = 0.70 (dichlorométhane)

F = 65-66 °C



Mode opératoire : le composé **82** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **61** (η =94 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 7.79 (d, 1H, H₄, ⁴J=1.5 Hz), 7.60 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 7.47-7.37 (m, 3H, H₃, H₅, H₇), 7.27-7.20 (m, 3H, H₂, H₆, H₆), 6.53 (d, 1H, H₃, ³J=3.1 Hz), 5.46 (s, 2H, CH₂).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 137.11 (C), 134.57 (C), 132.23 (C), 130.80 (CH), 130.35 (C), 128.97 (2CH), 128.71 (2CH), 123.90 (CH), 122.90 (CH), 112.32 (CH), 112.12 (C), 101.09 (CH), 48.66 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 743 vC-Cl, 702 vC-Br.

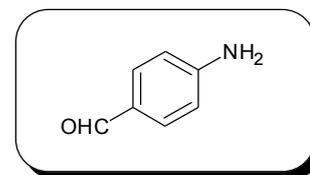
4-aminobenzaldéhyde (86)

poudre jaune

C_7H_7NO

$M_r = 121.14$

F > 250 °C



Mode opératoire : à une solution de 5.0 g (26.5 mmol, 4 éq) de chlorure stanneux dans 25 mL d'acide chlorhydrique concentré refroidie dans un bain de glace ajouter 1.0 g (6.6 mmol, 1 éq) de 4-nitrobenzaldéhyde **85**. Chauffer à 40 °C pendant 1h00 puis verser le mélange réactionnel dans un mélange eau/glace. Neutraliser par une solution d'hydroxyde de sodium, extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner une poudre jaune (500 mg, $\eta=62\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 9.61 (s, 1H, CHO), 7.59 (d, 2H, H₂, H₆, $^3J=8.5$ Hz), 6.66 (d, 2H, H₃, H₅, $^3J=8.5$ Hz), 6.34 (s, 2H, NH₂).

IR (KBr), cm^{-1} : 3414 ν NH, 1625 ν C=O.

4-amino-3-iodobenzaldéhyde (87)

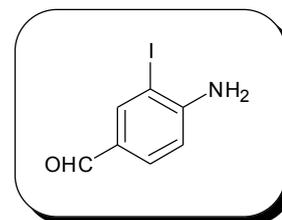
poudre marron

C_7H_6INO

$M_r = 247.03$

$R_f = 0.57$ (dichlorométhane)

$F > 250\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 350 mg (2.9 mmol, 1 éq) de 4-aminobenzaldéhyde **86** dans un mélange méthanol/eau : 5/1, ajouter 434 mg (4.3 mmol, 1.5 éq) de carbonate de calcium puis à 0 °C ajouter une solution de 469 mg (2.9 mmol, 1 éq) de chlorure d'iode dans 5 mL de méthanol. Laisser sous agitation pendant 2h00 en laissant revenir à température ambiante lentement. Laver la phase organique à l'eau, extraire au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une poudre marron (610 mg, $\eta=85\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.60 (s, 1H, CHO), 8.11 (d, 1H, H₂, $^4J=1.8$ Hz), 7.63 (dd, 1H, H₆, $^3J=8.5$ Hz, $^4J=1.8$ Hz), 6.83 (d, 1H, H₅, $^3J=8.5$ Hz), 6.39 (s, 2H, NH₂).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 188.91 (C=O), 154.18 (C), 142.04 (CH), 130.47 (CH), 126.95 (C), 113.24 (CH), 81.33 (C).

IR (KBr), cm^{-1} : 3412 νNH , 1666 $\nu\text{C=O}$.

1-(benzènesulfonyl)indoline (90)

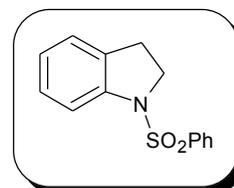
poudre blanche

$C_{14}H_{13}NO_2S$

$M_r = 259.33$

$R_f = 0.48$ (dichlorométhane)

$F = 132-133$ °C



Mode opératoire : à une solution de 20.0 g (168 mmol, 1 éq) d'indoline **89** dans 200 mL de dichloroéthane, ajouter goutte à goutte 26 mL (168 mmol, 1.1 éq) de triéthylamine puis une solution de 29.6 g (168 mmol, 1 éq) de chlorure de benzènesulfonyle dans 100 mL de dichloroéthane. Laisser sous agitation pendant 12h00, puis évaporer le solvant à sec. Reprendre le résidu par du dichlorométhane et laver plusieurs fois à l'eau. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant sous vide. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice au dichlorométhane pour donner une poudre blanche (42.1 g, $\eta=97$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.86-7.82 (m, 2H, H_2, H_6), 7.71-7.67 (m, 1H, H_4), 7.63-7.59 (m, 2H, H_3, H_5), 7.52 (d, 1H, H_4 , $^3J=8.3$ Hz), 7.23 (t, 1H, H_6 , $^3J=7.3$ Hz), 7.19 (d, 1H, H_7 , $^3J=8.3$ Hz), 7.01 (dt, 1H, H_5 , $^3J=7.3$ Hz, $^4J=0.9$ Hz), 3.95 (t, 2H, H_2 , $^3J=8.4$ Hz), 2.92 (t, 2H, H_3 , $^3J=8.4$ Hz).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 141.19 (C), 136.07 (C), 133.69 (CH), 132.09 (C), 129.41 (2CH), 127.47 (CH), 127.06 (2CH), 125.43 (CH), 123.78 (CH), 114.14 (CH), 49.92 (CH $_2$), 27.16 (CH $_2$).

IR (KBr), cm^{-1} : 1351 et 1167 ν_{SO_2} .

2-[1-(benzènesulfonyl)indolin-5-yl]-2-oxoacétate d'éthyle (91)

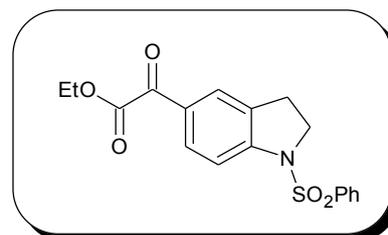
poudre beige

$C_{18}H_{17}NO_5S$

$M_r = 359.40$

$R_f = 0.35$ (dichlorométhane)

$F = 85-86$ °C



Mode opératoire : à une solution de 4.2 g (31.5 mmol, 1.6 éq) de chlorure d'aluminium dans 100 mL de dichlorométhane anhydre, ajouter 3.5 mL (31.5 mmol, 1.6 éq) de chloro(oxo)acétate d'éthyle et laisser sous agitation à température ambiante pendant 1h00. Ajouter ensuite 5.1 g (19.7 mmol, 1 éq) de 1-(benzènesulfonyl)indoline **90** et maintenir l'agitation à température ambiante pendant 5h00. Reprendre le mélange réactionnel au dichlorométhane, laver le successivement par une solution saturée de chlorure de sodium, d'hydrogénocarbonate de sodium, puis à nouveau de chlorure de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis concentrer sous vide pour donner une poudre beige (6.8 g, $\eta=97$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.97-7.94 (m, 2H, H_7 , H_4), 7.87 (dd, 1H, H_6 , $^3J=8.5$ Hz, $^4J=1.8$ Hz), 7.78-7.76 (m, 2H, H_2 , H_6'), 7.66-7.62 (m, 3H, H_3 , H_5 , H_4'), 4.42 (q, 2H, CH_2 , $^3J=7.1$ Hz), 4.05 (t, 2H, H_2 , $^3J=8.4$ Hz), 3.13 (t, 2H, H_3 , $^3J=8.4$ Hz), 1.34 (t, 3H, CH_3 , $^3J=7.1$ Hz).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 185.16 (C=O), 164.00 (C=O), 147.34 (C), 135.90 (C), 134.22 (CH), 133.22 (C), 131.23 (CH), 129.71 (2CH), 127.03 (2CH), 126.86 (CH), 126.76 (C), 113.04 (CH), 62.17 (COOCH $_2$ CH $_3$), 50.48 (CH $_2$), 26.44 (CH $_2$), 13.80 (COOCH $_2$ CH $_3$).

IR (KBr), cm^{-1} : 1740 ν C=O ester, 1671 ν C=O cétone, 1363 et 1178 ν SO $_2$.

acide (indolin-5-yl)glyoxylique (**93**)

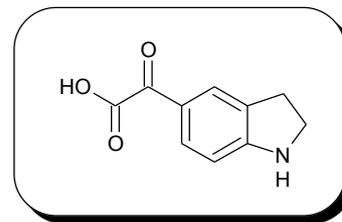
poudre marron

$C_{10}H_9NO_3$

$M_r = 191.19$

$R_f = 0.82$ (dichlorométhane)

$F = 150-151\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : chauffer à 155-165 °C une solution de 5.0 g (13.9 mmol) de 2-[1-(benzènesulfonyl)indolin-5-yl]-2-oxoacétate d'éthyle **91** dans 10 mL d'acide sulfurique à 80 %. Après 10 min de chauffage, laisser le mélange réactionnel revenir à température ambiante, ajouter de l'eau puis une solution d'hydroxyde de sodium à 10 M jusqu'à pH=6-7. Extraire à l'acétate d'éthyle, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner un solide marron (1.3 g, $\eta=47\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 11.99 (s, 1H, OH), 7.60-7.58 (m, 2H, H_4, H_6), 6.46 (d, 1H, $H_7, ^3J=8.8$ Hz), 6.32 (s, 1H, NH), 3.55 (t, 2H, $H_2, ^3J=8.7$ Hz), 2.97 (t, 2H, $H_3, ^3J=8.7$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 166.80 (C=O), 155.76 (C=O), 129.70 (CH), 127.69 (C), 124.82 (CH), 117.36 (C), 105.69 (CH), 45.54 (CH_2), 27.42 (CH_2).

IR (KBr), cm^{-1} : 3394 νNH , 3100-2800 νOH , 1656 $\nu\text{C=O}$ acide, 1607 $\nu\text{C=O}$ cétone.

acide (indol-5-yl)glyoxylique (94)

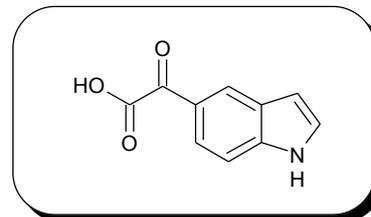
poudre marron

$C_{10}H_7NO_3$

$M_r = 189.17$

$R_f = 0.82$ (dichlorométhane/éthanol : 1/1)

$F = 240-241\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 700 mg (3.7 mmol, 1 éq) de l'acide (indolin-5-yl)glyoxylique **93** dans 30 mL de xylène, ajouter 831 mg (3.7 mmol, 1 éq) de 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone. Chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 10h00. Evaporer le xylène puis reprendre le résidu au dichlorométhane. Basifier par une solution d'hydroxyde de sodium à 1 M. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, la filtrer puis évaporer le solvant pour donner une poudre marron (600 mg, $\eta=87\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 11.47 (s, 1H, NH), 8.27 (s, 1H, H_4), 7.74 (d, 1H, H_7 , $^3J=8.5$ Hz), 7.49-7.45 (m, 2H, H_2 , H_6), 6.60 (s, 1H, H_3).

IR (KBr), cm^{-1} : 3217 νNH , 3100-2800 νOH , 1674 $\nu\text{C=O}$ acide, 1613 $\nu\text{C=O}$ cétone.

N-(pyridin-4-yl)-2-(indolin-5-yl)-2-oxoacétamide (96)

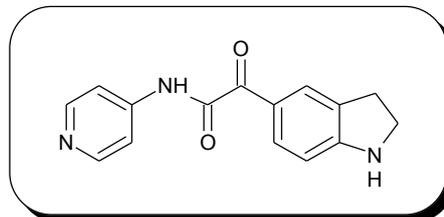
poudre marron

$C_{15}H_{13}N_3O_2$

$M_r = 267.29$

$R_f = 0.79$ (dichlorométhane)

$F = 131-132$ °C



Mode opératoire : à une solution de 190 mg (1.0 mmol, 1 éq) de l'acide (indolin-5-yl)glyoxylique **93** dans 30 mL de dichlorométhane anhydre, ajouter 254 mg (1.0 mmol, 1 éq) d'iodure de 2-chloro-*N*-méthylpyridinium, 94 mg (1.0 mmol, 1 éq) de 4-aminopyridine et 350 μ L (2.5 mmol, 2.5 éq) de triéthylamine. Chauffer la solution résultante au reflux pendant 24h00. Reprendre le résidu au dichlorométhane, laver la phase organique successivement par une solution d'hydrogénocarbonate de sodium puis par une solution de chlorure de sodium saturée, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner un solide marron (230 mg, $\eta=86$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 10.14 (s, 1H, NH), 8.45 (d, 2H, H_b , $^3J=6.1$ Hz), 7.80 (d, 2H, H_a , $^3J=6.1$ Hz), 7.71-7.67 (m, 2H, H_4 , H_6), 6.54 (d, 1H, H_7 , $^3J=8.3$ Hz), 6.34 (s, 1H, NH), 3.58 (t, 2H, H_2 , $^3J=8.8$ Hz), 3.04 (t, 2H, H_3 , $^3J=8.8$ Hz).

IR (KBr), cm^{-1} : 3347 ν NH, 1698 ν C=O amide, 1656 ν C=O cétone.

2-hydroxy-2-(indolin-5-yl)acétate de méthyle (97)

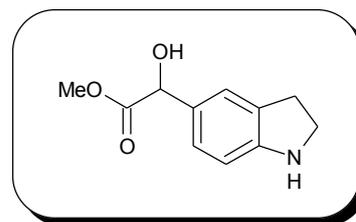
poudre beige

$C_{11}H_{13}NO_3$

$M_r = 207.23$

$R_f = 0.60$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)

$F = 95-96\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 4.0 g (11.3 mmol, 1 éq) de 2-[1-(benzènesulfonyl)indolin-5-yl]-2-oxoacétate d'éthyle **91** dans 100 mL de méthanol, ajouter 4.1 g (0.2 mol, 15 éq) de magnésium. Laisser sous agitation pendant 2h00. Reprendre le mélange réactionnel au dichlorométhane, laver la phase organique avec une solution saturée en chlorure de sodium. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide. Obtention d'une poudre beige (2.0 g, $\eta=90\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 7.06 (s, 1H, H_4), 6.94 (d, 1H, H_6 , $^3J=7.8$ Hz), 6.46 (d, 1H, H_7 , $^3J=7.8$ Hz), 5.74 (d, 1H, OH, $^3J=5.2$ Hz), 5.55 (s, 1H, NH), 4.96 (d, 1H, **CHOH**, $^3J=5.2$ Hz), 3.61 (s, 3H, OCH_3), 3.43 (t, 2H, H_2 , $^3J=8.5$ Hz), 2.91 (t, 2H, H_3 , $^3J=8.5$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 173.62 (C=O), 152.36 (C), 128.79 (C), 128.06 (C), 125.95 (CH), 122.82 (CH), 107.65 (CH), 72.50 (CH), 51.44 (CH_3), 46.52 (CH_2), 29.03 (CH_2).

IR (KBr), cm^{-1} : 3328 ν_{NH} , 3148 ν_{OH} , 1742 $\nu_{C=O}$ ester.

2-(indol-5-yl)-2-oxoacétate de méthyle (98)

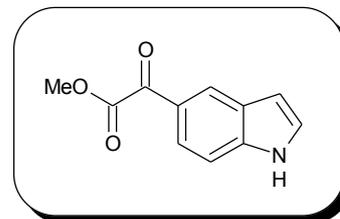
poudre beige

$C_{11}H_9NO_3$

$M_r = 203.20$

$R_f = 0.22$ (dichlorométhane)

$F = 90-91\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 1.2 g (5.9 mmol, 1 éq) de 2-hydroxy-2-(indol-5-yl)acétate de méthyle **97** dans 50 mL de toluène, ajouter 10.2 g (0.1 mol, 20 éq) de dioxyde de manganèse puis laisser sous agitation pendant 2h00. Filtrer sur célite puis concentrer le filtrat pour donner une poudre beige (1.1 g, $\eta=88\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 11.79 (s, 1H, NH), 8.27 (s, 1H, H₄), 7.77-7.74 (m, 1H, H₇, H₂), 7.61 (d, 1H, H₆, $^3J=8.7$ Hz), 6.72 (s, 1H, H₃), 5.74 (s, 1H, H₂), 4.00 (s, 3H, COOCH₃).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 186.89 (C=O), 165.60 (C=O), 139.64 (C), 128.13 (CH), 127.38 (C), 125.16 (CH), 123.15 (C), 121.57 (CH), 112.39 (CH), 103.52 (CH), 52.65 (CH₃).

IR (KBr), cm^{-1} : 3387 νNH , 1722 $\nu\text{C=O}$ ester, 1664 $\nu\text{C=O}$ cétone.

2-[1-(4-chlorobenzyl)indol-5-yl]-2-oxoacétate de méthyle (99)

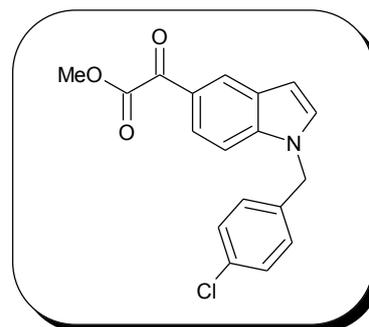
poudre jaune clair

$C_{18}H_{14}ClNO_3$

$M_r = 327.76$

$R_f = 0.35$ (dichlorométhane)

$F = 67-68\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 170 mg (0.9 mmol, 1 éq) de 2-(indol-5-yl)-2-oxoacétate de méthyle **98** dans 8 mL de diméthylsulfoxyde, ajouter 40 mg (1 mmol, 1.1 éq) d'hydruide de sodium à 60 %. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 1h00 puis ajouter une solution de 145 mg (0.9 mmol, 1 éq) de chlorure de 4-chlorobenzyle dans 4 mL de diméthylsulfoxyde. Maintenir l'agitation à température ambiante pendant 4h00. Reprendre le mélange réactionnel au dichlorométhane, laver plusieurs fois la phase organique à l'eau pour éliminer le diméthylsulfoxyde, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une poudre jaune ($270\text{ mg}, \eta=91\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.30 (d, 1H, H_4 , $^4J=1.5\text{ Hz}$), 7.78-7.71 (m, 3H, H_2, H_6, H_7), 7.41 (d, 2H, H_3, H_5 , $^3J=8.3\text{ Hz}$), 7.26 (d, 2H, H_2', H_6' , $^3J=8.3\text{ Hz}$), 6.81 (d, 1H, H_3 , $^3J=3.1\text{ Hz}$), 5.51 (s, 2H, CH_2Ph), 3.93 (s, 3H, COOCH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 186.72 (C=O), 165.37 (C=O), 139.18 (C), 136.57 (C), 132.16 (C), 131.84 (CH), 128.89 (2CH), 128.61 (2CH), 128.00 (C), 125.44 (CH), 123.49 (C), 121.87 (CH), 111.14 (CH), 103.88 (CH), 52.72 (CH_3), 48.54 (CH_2).

IR (KBr), cm^{-1} : 1743 $\nu\text{C=O}$ ester, 1666 $\nu\text{C=O}$ cétone.

acide [1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-5-yl]oxoacétique (100)

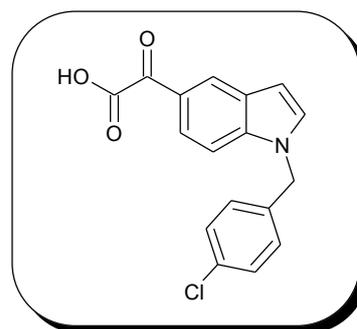
poudre rouge

$C_{17}H_{12}ClNO_3$

$M_r = 313.73$

$R_f = 0.38$ (dichlorométhane/éthanol : 1/1)

$F = 120-121\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 1.5 g de 2-[1-(4-chlorobenzyl)indol-5-yl]-2-oxoacétate de méthyle **99** dans 5 mL d'éthanol, ajouter 0.6 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium à 1M. Chauffer au reflux le mélange résultant pendant 3h00. Refroidir dans un bain de glace et acidifier la solution par une solution d'acide chlorhydrique. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer les solvants sous pression réduite pour donner une poudre rouge (1.2 g, $\eta = 82\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.25 (s, 1H, H_4), 7.75-7.70 (m, 3H, H_2, H_6, H_7), 7.42 (d, 2H, H_3, H_5 , $^3J = 8.6$ Hz), 7.26 (d, 2H, H_2, H_6 , $^3J = 8.6$ Hz), 6.81 (d, 1H, H_3 , $^3J = 3.1$ Hz), 5.55 (s, 2H, CH_2Ph).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 189.55 (C=O), 167.84 (C=O), 139.45 (C), 137.14 (C), 132.65 (C), 132.12 (CH), 129.38 (2CH), 129.11 (2CH), 128.49 (C), 125.35 (CH), 124.35 (C), 122.26 (CH), 111.47 (CH), 104.26 (CH), 49.03 (CH_2).

IR (KBr), cm^{-1} : 1697 $\nu\text{C=O}$ cétone, 1666 $\nu\text{C=O}$ acide, 1605 et 1487 $\nu\text{C=C}$ aro.

2-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-5-yl]-2-oxo-N-pyridin-4-ylacétamide (101)

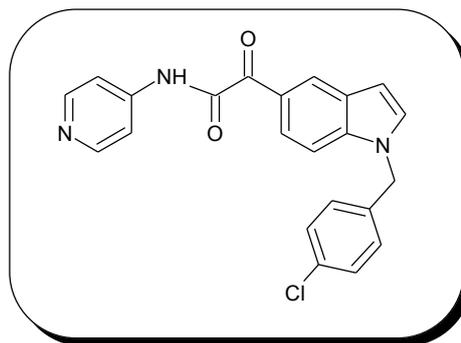
poudre jaune clair

$C_{22}H_{16}ClN_3O_2$

$M_r = 389.83$

$R_f = 0.57$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)

$F = 167-168$ °C



Mode opératoire : à une solution de 1.0 g (3.2 mmol, 1 éq) de l'acide [1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-5-yl]oxoacétique **100** dans 80 mL de dichlorométhane, ajouter 798 mg (3.2 mmol, 1 éq) d'iodure de 2-chloro-N-méthylpyridinium, 1.1 mL (8.0 mmol, 2.5 éq) de triéthylamine et 300 mg (3.2 mmol, 1 éq) de 4-aminopyridine. Chauffer au reflux la solution résultante pendant 4 jours. Extraire au dichlorométhane. Laver la phase organique à l'eau et la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 95/5 pour donner une poudre jaune (520 mg, $\eta=42$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 11.33 (s, 1H, NH), 8.57 (d, 2H, H_b , $^3J=6.4$ Hz), 8.40 (d, 1H, H_4 , $^4J=1.5$ Hz), 7.83 (dd, 1H, H_6 , $^3J=7.0$ Hz, $^4J=1.5$ Hz), 7.76 (d, 2H, H_a , $^3J=6.4$ Hz), 7.75-7.69 (m, 2H, H_2 , H_7), 7.43 (d, 2H, H_3 , H_5 , $^3J=8.5$ Hz), 7.24 (d, 2H, H_2 , H_6 , $^3J=8.5$ Hz), 6.81 (d, 1H, H_3 , $^3J=2.7$ Hz), 5.56 (s, 2H, CH_2Ph).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 188.67 (C=O), 165.33 (C=O), 150.49 (2CH), 144.67 (C), 138.99 (C), 136.63 (C), 132.15 (C), 131.61 (CH), 128.83 (2CH), 128.60 (2CH), 127.98 (C), 125.66 (CH), 123.99 (C), 122.32 (CH), 113.99 (2CH), 110.95 (CH), 103.90 (CH), 48.53 (CH_2).

IR (KBr), cm^{-1} : 3346 ν_{NH} , 1654 $\nu_{C=O}$ amide, 1587 $\nu_{C=O}$ cétone, 1511 $\nu_{C=C}$ aro.

SM (SI) : $m/z = 390$ $[M+H]^+$ (isotope ^{35}Cl , intensité 1), $m/z = 392$ $[M+H]^+$ (isotope ^{37}Cl , intensité 1/3).

SERIE D

PARTIE THEORIQUE

A. APERCU BIBLIOGRAPHIQUE ET ANALYSE RETROSYNTHETIQUE

Nous décrivons dans le présent chapitre les travaux de synthèse mis en œuvre pour l'accès au dérivé indolique de structure **I** (figure 1).

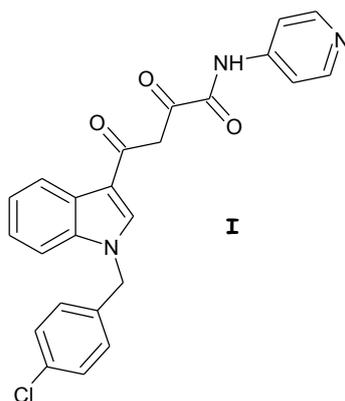


Figure 1

Une analyse rétrosynthétique (schéma 1) permet d'envisager l'accès au composé **I** à partir du 3-acétylindole benzylé sur l'azote indolique **II**.

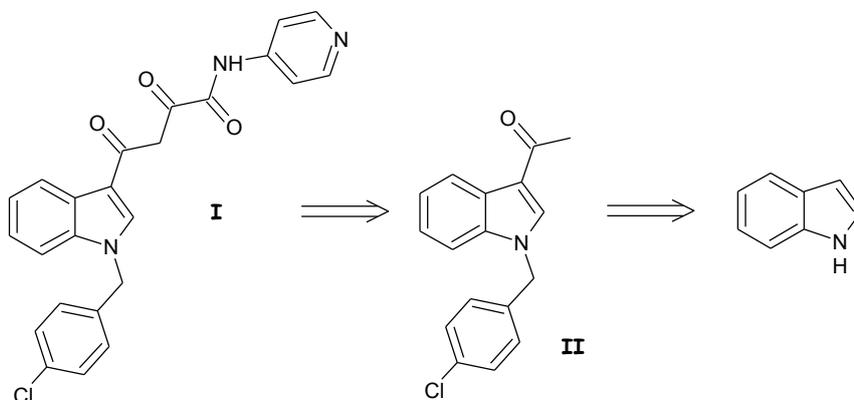


Schéma 1

Différentes méthodes d'accès au composé **I** à partir du 3-acétylindole sont envisageables (schéma 2). Une première voie de synthèse fait appel à une réaction aldolique entre le 3-acétylindole **II** et l'acide glyoxylique, catalysée par du chlorure d'indium sous ultrasons (**voie A**). La seconde voie de synthèse met en jeu le 3-acétylindole **II** et l'oxo[(pyridin-4-yl)amino]acétate d'éthyle (**voie B**). La dernière voie fait appel à une réaction entre le 3-acétylindole **II** et l'oxalate de diéthyle (**voie C**). Il convient donc dans un premier temps de synthétiser le 3-acétylindole et ensuite de faire réagir un électrophile adéquat sur le méthyle pour conduire à l'enchaînement 2,4-dioxobutamide.

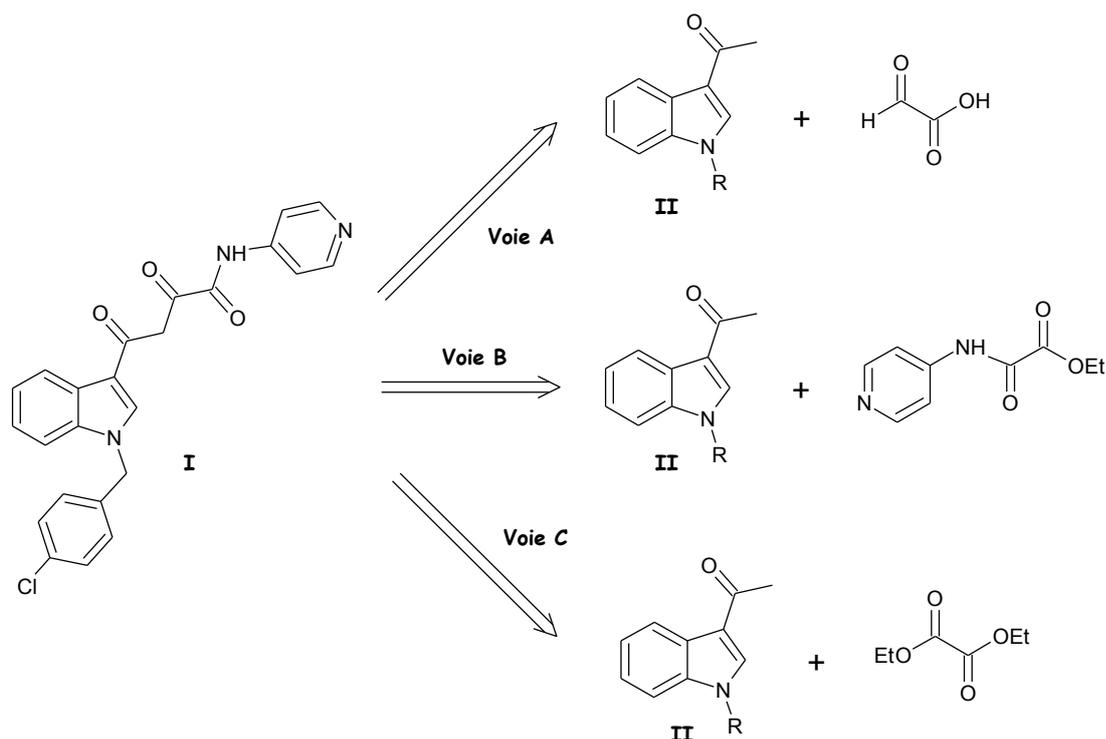


Schéma 2

1. Synthèse du 3-acétylindole

Le 3-acétylindole est classiquement synthétisé selon une réaction d'acylation de Friedel-Crafts en présence de chlorure d'aluminium¹¹¹ (AlCl_3). Cependant, cette réaction nécessite l'introduction préalable d'un groupement protecteur sur l'azote indolique, tel qu'un groupement benzènesulfonyl, afin d'éviter la *N*-substitution. Ainsi, le 3-acétylindole peut être synthétisé en trois étapes, à savoir protection de l'azote indolique par un groupement benzènesulfonyl, puis réaction d'acylation de Friedel-Crafts avec du chlorure d'acétyle ou de l'anhydride acétique en présence d'un acide de Lewis tel que le chlorure d'aluminium (AlCl_3), et enfin clivage du groupement benzènesulfonyl (par exemple par du carbonate de potassium dans le méthanol, par de l'acide sulfurique ou par l'utilisation d'ions fluorures avec le fluorure de tétrabutylammonium TBAF).

Cependant, d'autres méthodes ont été décrites par la suite et font appel à d'autres acides de Lewis tels que le chlorure d'étain (SnCl_4), le bromure d'indium (InBr_3) ou le triflate d'indium ($\text{In}(\text{OTf})_3$). L'avantage est alors qu'il n'est pas nécessaire d'introduire un groupement protecteur sur l'azote indolique. Ainsi, O. Ottoni *et al.*¹¹² ont présenté en 2001 une méthode d'acylation dans les conditions de Friedel-Crafts qui permet d'obtenir régiosélectivement le 3-acétylindole. En effet, leurs travaux ont montré que l'ordre d'ajout des réactifs était important ; ainsi, lorsque l'indole non protégé est ajouté à une solution contenant l'acide de Lewis (AlCl_3 , SnCl_4 ou le chlorure de titane^{III} TiCl_3) et l'agent acylant (anhydride acétique ou chlorure d'acétyle), on obtient alors un mélange de produits dont un trimère d'indole, un trimère d'indole monoacétylé et seulement une faible quantité de 3-acétylindole. En changeant l'ordre d'ajout des réactifs, à savoir en ajoutant l'agent acylant

¹¹¹ D.M. Ketcha et G.W. Gribble, A convenient synthesis of 3-acylindoles *via* Friedel-Crafts acylation of 1-(phenylsulfonyl)indole. A new route to pyridocarbazole-5,11-quinones and ellipticine, *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 5451-5457.

¹¹² O. Ottoni, A. De V.F. Neder, A.K. Dias, R.P.A. Cruz et L.B. Aquino, Acylation of indole under Friedel-Crafts conditions-an improved method to obtain 3-acylindoles regioselectively, *Org. Lett.*, **2001**, 3, 1005-1007.

à une solution contenant l'indole non protégé et l'acide de Lewis à 0 °C, et en additionnant ensuite du nitrométhane comme co-solvant, seul le 3-acétylindole est isolé sans les produits secondaires observés dans les conditions classiques (oligomères d'indole, *N*-acyl et 1,3-diacétylindoles). L'ajout de nitrométhane permet d'accélérer la réaction et d'augmenter le rendement car il améliore la solubilité du complexe indole-acide de Lewis dans le milieu réactionnel. Les meilleurs résultats sont obtenus avec SnCl₄ comme acide de Lewis et comme agent acylant de l'acétonitrile.

Des études complémentaires sont en cours afin de comprendre cette régiosélectivité. Il est probable que l'acide de Lewis réagisse au niveau du site le plus réactif pour les attaques électrophiles, à savoir en position 3 du noyau indolique pour former un complexe **III** très polaire et insoluble dans les solvants organiques (schéma 3). Cet intermédiaire subit ensuite une attaque électrophile par un chlorure d'acide pour former le 3-acétylindole. La formation de l'intermédiaire **IV** permet d'empêcher les réactions d'autocondensation de l'indole sur lui-même, évitant ainsi la formation de polymères.

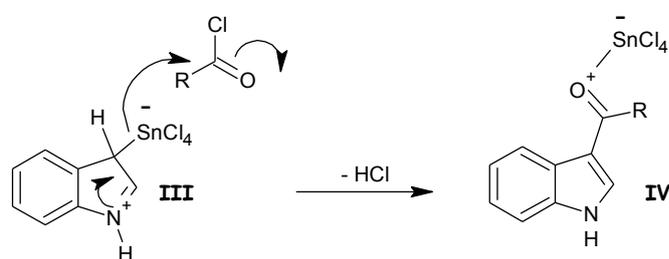


Schéma 3

2. Elaboration de l'enchaînement 2,4-dioxobutyramide

Les travaux de Pais *et al.*¹¹³ en 2002 concernant la synthèse d'inhibiteurs d'intégrase ont conduit à la synthèse de composés comprenant le motif 3-aryl-1,3-dicétone. Deux types de réaction ont été utilisés pour accéder aux composés. La première met en jeu une réaction entre diverses cétones aryliques et l'oxalate de diéthyle en présence d'éthanolate de sodium dans le tétrahydrofurane (schéma 4). La seconde met en jeu une réaction entre diverses cétones aryliques et un ester, en présence d'hexaméthylidisilylazide de lithuim (LiHMDS) dans le tétrahydrofurane (schéma 5).

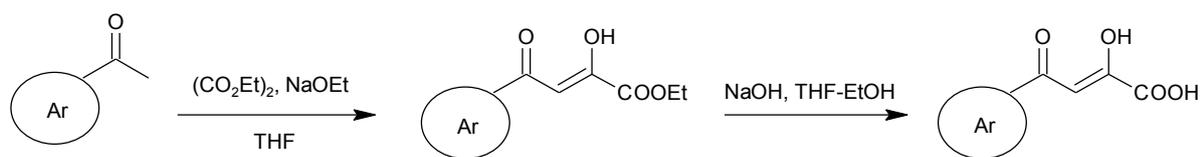


Schéma 4

¹¹³ G.C.G. Pais, X. Zhang, C. Marchand, N. Neamati, K. Cowansage, E.S. Svarovskaia, V.K. Pathak, Y. Tang, M. Nicklaus, Y. Pommier et T.R. Burke, Jr., Structure activity of 3-aryl-1,3-diketo-containing compounds as HIV-1 integrase inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3184-3194.

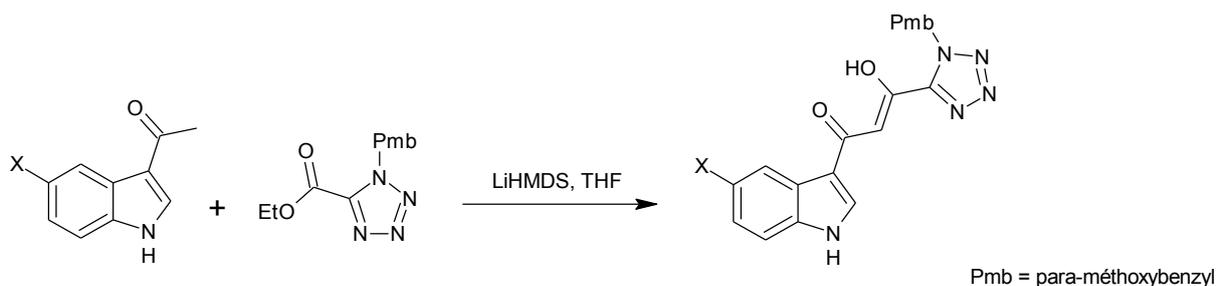


Schéma 5

B. TRAVAUX REALISES

1. Synthèse du 3-acétylindole

Chacune des voies de synthèse nécessite au préalable l'obtention d'un dérivé 3-acétylindole. La première voie utilisée est la voie classique avec protection de l'azote indolique par un groupement tosyle, introduit par utilisation d'hydruure de sodium dans le diméthylsulfoxyde avec un rendement de 90 % (schéma 6). L'acylation est ensuite réalisée avec pour agent acylant de l'anhydride acétique et pour acide de Lewis le chlorure d'indium InCl_3 ¹¹⁴, ce qui conduit au composé **103** avec un rendement de 70 %. Le clivage du tosyle est réalisé en présence du fluorure de tétrabutylammonium (TBAF) dans le tétrahydrofurane¹⁰⁸ avec un rendement quantitatif.

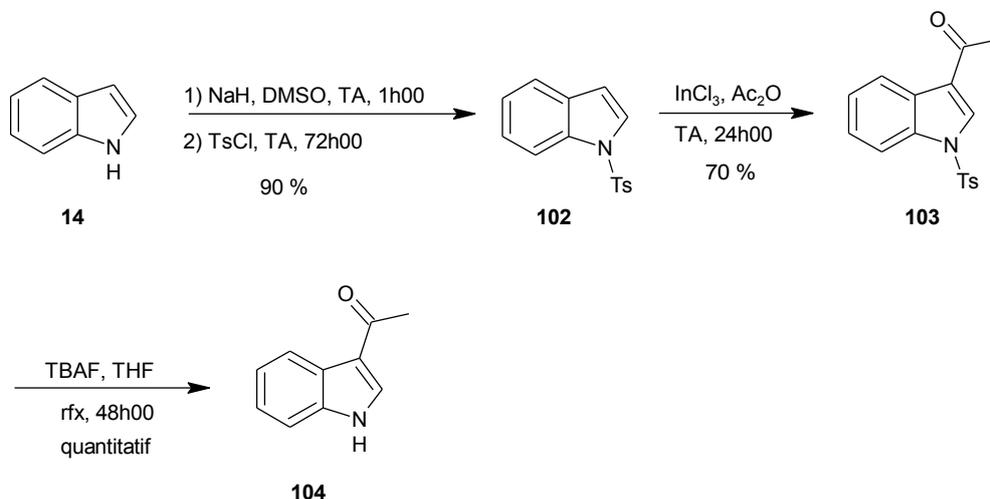


Schéma 6

¹¹⁴ R. Nagarajan et P.T. Perumal, InCl_3 and $\text{In}(\text{OTf})_3$ catalyzed reactions: synthesis of 3-acetylindoles, bis-indolylmethane and indolylquinone derivatives, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 1229-1232.

La seconde voie de synthèse mise en œuvre pour accéder au 3-acétylindole **104** consiste en l'acylation de l'indole non protégé **14** ; elle est réalisée par utilisation de SnCl₄ et de chlorure d'acétyle dans le dichlorométhane avec comme co-solvant le nitrométhane¹²⁹ pour conduire au 3-acétylindole **104** avec un rendement variable de 20 à 70 % à cause de problème de reproductibilité (schéma 7).

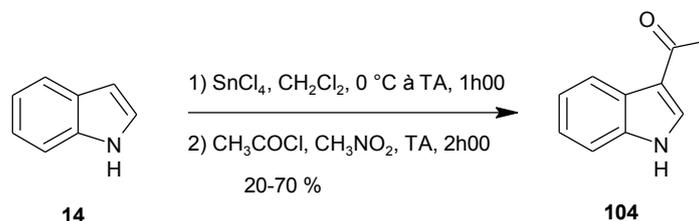


Schéma 7

Le 3-acétylindole **104** est ensuite benzylé, soit en présence d'hydrure de sodium dans le diméthylsulfoxyde à la température ambiante, soit en présence de carbonate de césium dans l'acétonitrile au reflux⁴⁴, pour donner le composé **105** avec un rendement de 90 % et 86 % respectivement (schéma 8).

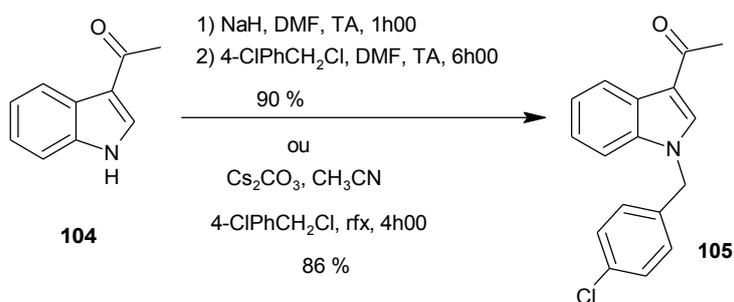


Schéma 8

2. Elaboration de l'enchaînement 2,4-dioxobutyramide

a. Voie A : Via une réaction aldolique catalysée par InCl₃

T.-P. Loh *et al.*¹¹⁵ ont montré en 2001 que le chlorure d'indium (InCl₃) pouvait catalyser la réaction aldolique entre l'acide glyoxylique et différentes cétones aliphatiques et aromatiques sans solvant et sous ultrasons. Dans notre cas, la réaction ne peut être réalisée sans solvant puisque tous les réactifs sont sous forme solide et la réaction se déroule à température ambiante ; la réaction a donc été mise en oeuvre dans le dichlorométhane. Cependant, la réaction entre le composé **105** et l'acide glyoxylique en présence d'une quantité catalytique de InCl₃ n'a pas permis d'accéder au composé **106** (schéma 9). Un chauffage ultérieur n'a pas entraîné d'amélioration.

¹¹⁵ T.-P. Loh, L.-C. Feng et L.-L. Wei, InCl₃-catalyzed direct aldol reactions of glyoxylic acid monohydrate and glyoxylates with various ketones: scope and limitations, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 4231-4236.

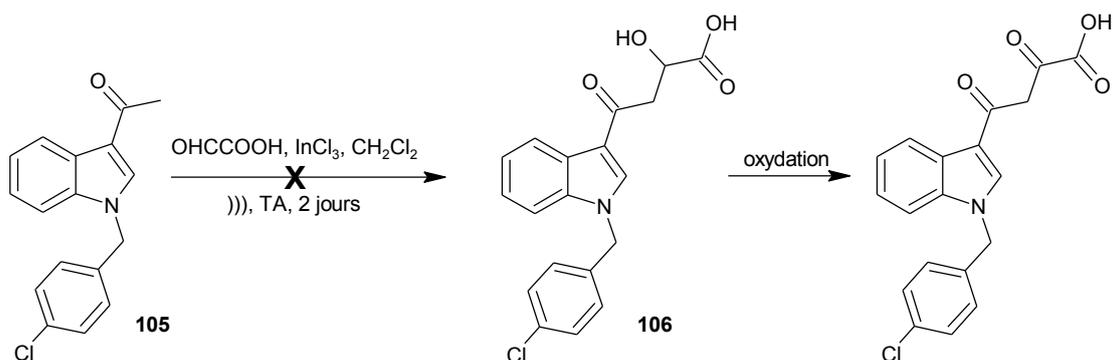


Schéma 9

b. Voie B : *Via* une réaction avec l'oxo[(pyridin-4-yl)amino]acétate d'éthyle

La voie B fait appel à l'oxo[(pyridin-4-yl)amino]acétate d'éthyle **108** ; celui-ci a été synthétisé à partir de la 4-aminopyridine **107**, par réaction avec le chloro(oxo)acétate d'éthyle dans le tétrahydrofurane au reflux avec un rendement de 82 % (schéma 10).

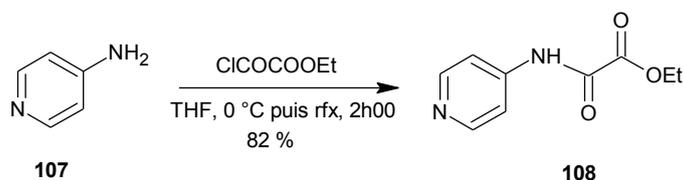


Schéma 10

G.C.G. Pais *et al.*¹³⁰ ont, en 2002, présenté la synthèse de composés indoliques dont les structures sont apparentées à celle du composé I. Un essai a été réalisé pour coupler les composés **105** et **108** avec l'hexaméthylidisilazide de lithium (LiHMDS) dans le tétrahydrofurane mais celui-ci a été inopérant. D'autres essais ont été réalisés avec d'autres bases (potasse dans le diméthylsulfoxyde ou éthanolate de sodium dans l'éthanol) mais tous ont échoué, peut-être à cause de la faible solubilité de **108** dans les solvants employés (schéma 11).

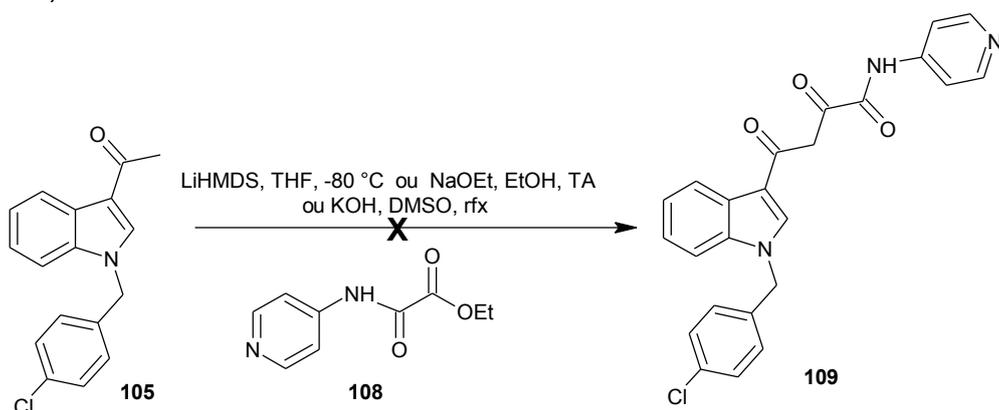


Schéma 11

c. Voie C : *Via* une réaction avec de l'oxalate de diéthyle

Face aux échecs rencontrés dans la voie B, il a donc été envisagé de synthétiser le (2Z)-4-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-hydroxy-4-oxobut-2-énoate d'éthyle **110** par réaction entre le composé **105** et l'oxalate de diéthyle^{116,117}. Divers solvants peuvent être utilisés pour ce couplage : tétrahydrofurane, éthanol ou méthanol ; dans notre cas, nous avons choisi d'utiliser l'éthanol. La réaction est donc réalisée avec de l'éthanoate de sodium, dans l'éthanol pour conduire à l'ester **110** avec un rendement de 90 % (schéma 12). En fait, le composé attendu à savoir le 2,4-dioxobutanoate d'éthyle **110** est isolé sous sa forme énolique, plus stable du fait de l'existence d'une liaison hydrogène entre l'hydroxyle et le carbonyle de **110'** comme l'ont montré auparavant les travaux de L. Zhuang *et al.*¹³³

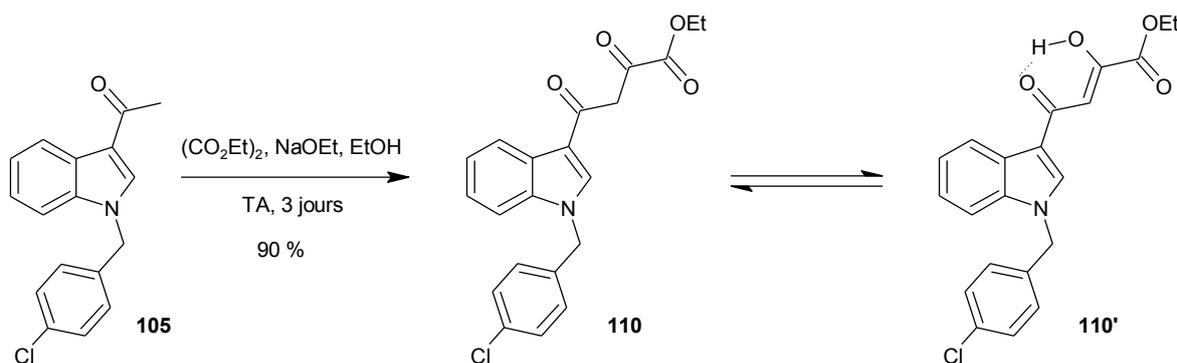


Schéma 12

Des essais d'aminolyse du composé **110** avec la 4-aminopyridine **107**, en présence soit de 2-hydroxypyridine dans le diméthylsulfoxyde⁶², soit de triméthylaluminium AlMe₃ dans le toluène¹¹⁸, soit de tribromure de bore BBr₃ dans le dichlorométhane¹¹⁹, soit de l'oxychlorure de phosphore POCl₃ dans la pyridine¹²⁰, ont alors été réalisés pour obtenir le composé **109** mais tous sont restés infructueux (schéma 13).

¹¹⁶ J.S. Wai, M.S. Egbertson, L.S. Payne, T.E. Fisher, M.W. Embrey, L.O. Tran, J.Y. Melamed, H.M. Langford, J.P. Guare, Jr., L. Zhuang, V.E. Grey, J.P. Vacca, M.K. Holloway, A.M. Naylor-Olsen, D.J. Hazuda, P.J. Felock, A.L. Wolfe, K.A. Stillmock, W.A. Schleif, L.J. Gabryelski et S.D. Young, 4-Aryl-2,4-dioxobutanoic acid inhibitors of HIV-1 integrase and viral replication in cells, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 4923-4926.

¹¹⁷ L. Zhuang, J.S. Wai, M.W. Embrey, T.E. Fisher, M.S. Egbertson, L.S. Payne, J.P. Guare, Jr., J.P. Vacca, D.J. Hazuda, P.J. Felock, A.L. Wolfe, K.A. Stillmock, M.V. Witmer, G. Moyer, W.A. Schleif, L.J. Gabryelski, Y.M. Leonard, J.J. Lynch, Jr., S.R. Michelson et S.D. Young, Design and synthesis of 8-hydroxy-[1,6]naphthyridines as novel inhibitors of HIV-1 integrase *in vitro* and in infected cell, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 453-456.

¹¹⁸ P.W. Manley, P. Furet, G. Boldi, J. Brügger, J. Mestan, T. Meyer, C.R. Schnell et J. Wood, Anthranilic acid amids : a novel class of antiangiogenic VEGF receptor kinase inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 5687-5693.

¹¹⁹ H. Yazawa, K. Tanaka et K. Kariyone, The reaction of carboxylic esters with boron tribromide a convenient method for the synthesis of amides and transesterification, *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 15 (45), 3995-3997.

¹²⁰ D.T.S. Rijkers, H.P.H.M. Adams, H.C. Hemker et G.I. Tesser, A convenient synthesis of amino acid *p*-nitroanilides; synthons in the synthesis of protease substrates, *Tetrahedron*, **1995**, 51 (41), 11235-11250.

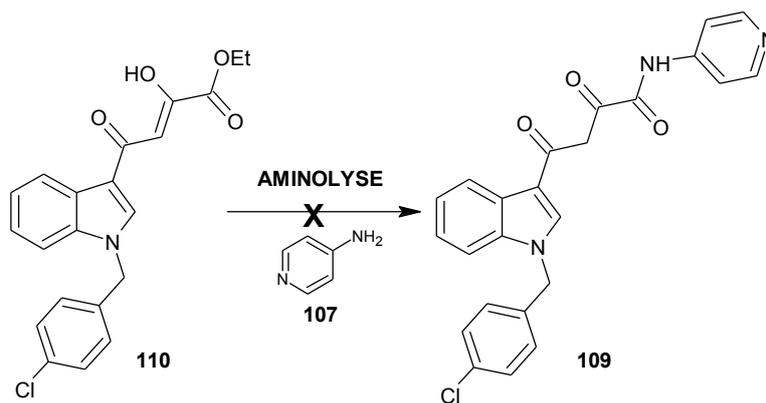


Schéma 13

Une autre alternative consiste à hydrolyser l'ester **110** afin d'obtenir l'acide carboxylique **111**. Elle est réalisée par utilisation d'hydroxyde de sodium au reflux de l'éthanol pour donner l'acide carboxylique **111** avec un rendement de 79 % (schéma 14).

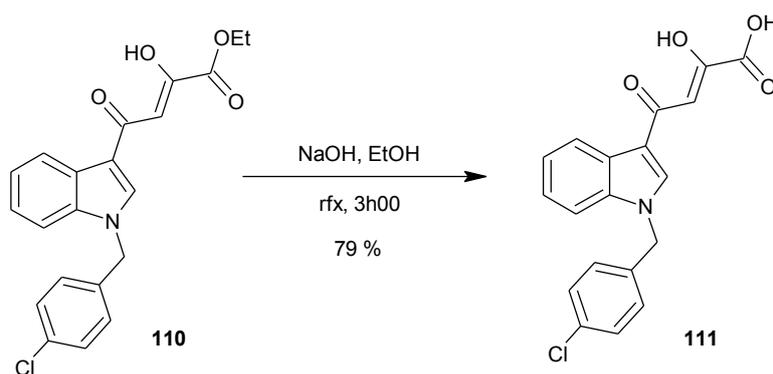


Schéma 14

Pour accéder à l'amide final **109**, il convient donc alors d'amidifier l'acide carboxylique **111** avec la 4-aminopyridine **107**. Différents essais ont été réalisés (CNMPI en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane⁶⁵, ou CDI dans le tétrahydrofurane⁶⁶ ou DCP en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane⁶⁷) mais tous ont échoué et la synthèse de l'analogue désiré **109** n'a pu aboutir (schéma 15).

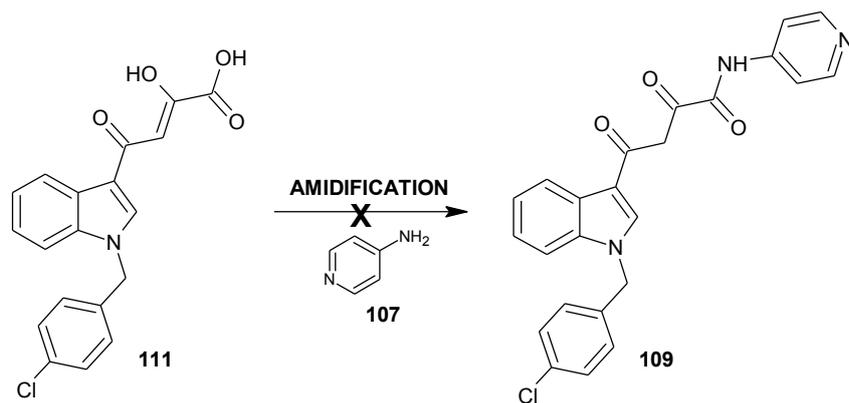


Schéma 15

En conclusion, le composé indolique de structure I n'a pas été isolé malgré les différentes méthodes d'aminolyse de l'ester **110** et d'amidification de l'acide carboxylique **111** tentées.

PARTIE EXPERIMENTALE

1-tosyl-1H-indole (102)

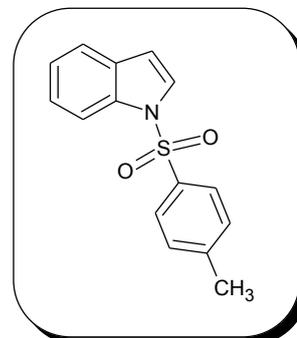
poudre blanche

$C_{15}H_{13}NO_2S$

$M_r = 271.34$

$R_f = 0.87$ (dichlorométhane)

$F = 68-69\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 3.8 g (93.9 mmol, 1.1 éq) d'hydrure de sodium à 60 % dans 80 mL de diméthylsulfoxyde ajouter 10.0 g (85.4 mmol, 1 éq) d'indole **14** puis laisser sous agitation à température ambiante pendant 1h00. Ajouter par portions 17.9 g (93.9 mmol, 1.1 éq) de chlorure de tosyle et maintenir l'agitation pendant 72h00. Laver plusieurs fois la phase organique à l'eau afin d'éliminer le diméthylsulfoxyde, extraire la phase organique au dichlorométhane, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide. Triturer dans un mélange éther de pétrole/éther diéthylique puis filtrer la poudre blanche obtenue sur fritté (21.3 g, $\eta=90\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 7.98 (d, 1H, H_7 , $^3J=8.3$ Hz), 7.88 (d, 2H, H_2 , H_6 , $^3J=8.0$ Hz), 7.83 (d, 1H, H_2 , $^3J=3.6$ Hz), 7.63 (d, 1H, H_4 , $^3J=8.3$ Hz), 7.39 (d, 2H, H_3 , H_5 , $^3J=8.0$ Hz), 7.43-7.22 (m, 2H, H_5 , H_6), 6.87 (d, 1H, H_3 , $^3J=3.6$ Hz), 2.32 (s, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 145.58 (C), 134.36 (C), 134.29 (C), 130.64 (C), 130.35 (2CH), 127.08 (CH), 126.84 (2CH), 124.80 (CH), 123.59 (CH), 121.76 (CH), 113.25 (CH), 109.56 (CH), 21.13 (CH_3).

IR (KBr), cm^{-1} : 1364 ν SO_2 .

1-(1-tosyl-1*H*-indol-3-yl)éthanone (103)

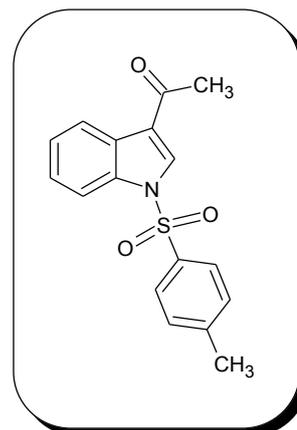
poudre blanche

C₁₇H₁₅NO₃S

M_r = 313.37

R_f = 0.68 (dichlorométhane)

F = 147-148 °C



Mode opératoire : à une solution de 5.0 g (18.5 mmol, 1 éq) de 1-tosyl-1*H*-indole **102** dans 20 mL d'anhydride acétique ajouter 815 mg (3.7 mmol, 0.2 éq) de chlorure d'indium. Laisser sous agitation pendant 24h00. Ajouter 150 mL d'une solution d'hydrogénocarbonate de sodium puis extraire la phase organique au dichlorométhane. Laver la phase organique successivement avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium puis une solution saturée de chlorure de sodium. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange éther de pétrole/acétate d'éthyle : 7/3 pour donner une poudre blanche (4.0 g, η=70 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 8.83 (s, 1H, H₂), 8.23 (d, 1H, H₇, ³J=7.2 Hz), 8.07 (d, 2H, H_{2'}, H_{6'}, ³J=8.3 Hz), 7.97 (d, 1H, H₄, ³J=7.2 Hz), 7.47 (d, 2H, H_{3'}, H_{5'}, ³J=8.3 Hz), 7.49-7.39 (m, 2H, H₅, H₆), 2.63 (s, 3H, COCH₃), 2.37 (s, 3H, CH₃).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 194.10 (C=O), 146.48 (C), 134.39 (CH), 134.28 (C), 133.73 (C), 130.69 (2CH), 127.42 (2CH), 127.20 (C), 125.88 (CH), 124.98 (CH), 122.52 (CH), 120.90 (C), 113.18 (CH), 28.03 (COCH₃), 21.25 (CH₃).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1666 νC=O, 1364 νSO₂.

1-(1*H*-indol-3-yl)éthanone ou 3-acétylindole (104)

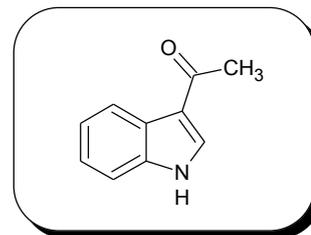
poudre beige

C₁₀H₉NO

M_r = 159.19

R_f = 0.13 (dichlorométhane)

F = 179-180 °C



Mode opératoire 1 : à une solution de 3.0 g (9.6 mmol, 1 éq) de 1-(1-tosyl-1*H*-indol-3-yl)éthanone **103** dans 120 mL de tétrahydrofurane ajouter sous atmosphère d'azote 9.6 mL (9.6 mmol, 1 éq) de fluorure de tétrabutylammonium (solution 1M dans le tétrahydrofurane). Chauffer au reflux pendant 48h00 puis évaporer le solvant. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 9/1 pour donner une poudre beige (1.5 g, η=100 %).

Mode opératoire 2 : à une solution de 2.0 g (17.1 mmol, 1 éq) d'indole **14** dans 40 mL de dichlorométhane ajouter à 0 °C sous atmosphère d'azote 20.5 mL (20.5 mmol, 1.2 éq) de chlorure d'étain^{IV} (solution 1M dans le dichlorométhane). Laisser revenir à température ambiante puis laisser sous agitation pendant 1h00. Ajouter progressivement 1.2 mL (17.1 mmol, 1 éq) de chlorure d'acétyle puis 30 mL de nitrométhane. Maintenir l'agitation du mélange réactionnel pendant 2h00. Hydrolyser par ajout d'un mélange glace/eau puis filtrer le précipité inorganique. Extraire la phase organique à l'acétate d'éthyle, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange hexane/acétate d'éthyle : 4/1 puis 1/1 pour donner une poudre beige (η=20 à 70 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 11.96 (s, 1H, NH), 8.34 (d, 1H, H₂, ³J=3.1 Hz), 8.21 (dd, 1H, H₄, ³J=6.3 Hz, ⁴J=2.5 Hz), 7.53-7.48 (m, 1H, H₇), 7.27-7.17 (m, 2H, H₅, H₆), 2.48 (s, 3H, COCH₃).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 192.83 (C=O), 136.83 (C), 134.55 (CH), 125.47 (C), 122.89 (CH), 121.82 (CH), 121.50 (CH), 116.98 (CH), 112.25 (C), 27.43 (CH₃).

IR (KBr), cm⁻¹ : 3153 νNH, 1615 νC=O.

1-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]éthanone (105)

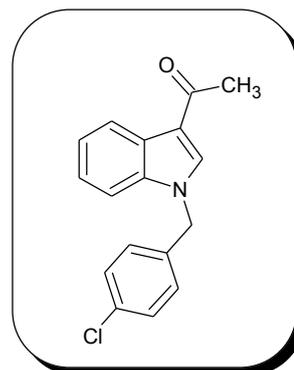
poudre beige

C₁₇H₁₄ClNO

M_r = 283.75

R_f = 0.42 (dichlorométhane)

F = 164-165 °C



Mode opératoire 1 : à une solution de 1.2 g (7.1 mmol, 1 éq) de 1-(1*H*-indol-3-yl)éthanone **104** dans 15 mL de diméthylsulfoxyde anhydre ajouter à 0 °C et sous atmosphère d'azote 314 mg (7.9 mmol, 1.1 éq) d'hydrure de sodium à 60 % puis laisser sous agitation pendant 1h00. Ajouter ensuite 1.2 g (7.1 mmol, 1 éq) de chlorure de 4-chlorobenzyle dans 5 mL de diméthylsulfoxyde. Maintenir l'agitation à température ambiante pendant 6h00, reprendre le résidu au dichlorométhane puis laver plusieurs fois la phase organique à l'eau, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer les solvants sous vide pour donner un solide beige (2.0 g, η=90 %).

Mode opératoire 2 : à une solution de 1.2 g (7.6 mmol, 1 éq) de 1-(1*H*-indol-3-yl)éthanone **104** dans 20 mL d'acétonitrile ajouter 4.9 g (15.1 mmol, 2 éq) de carbonate de césium. Chauffer au reflux pendant 1h00. Laisser revenir à température ambiante puis ajouter une solution de 1.2 g (7.6 mmol, 1 éq) de chlorure de 4-chlorobenzyle dans 15 mL d'acétonitrile. Chauffer au reflux pendant 4h00. Laisser revenir à température ambiante, filtrer sur fritté et rincer à l'acétonitrile. Evaporer le filtrat puis reprendre le résidu au dichlorométhane. Laver plusieurs fois la phase organique à l'eau, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis concentrer la sous vide pour donner un solide beige (1.8 g, η=86 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 8.59 (s, 1H, H₂), 8.25-8.21 (m, 1H, H₄), 7.57-7.53 (m, 1H, H₇), 7.44 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.8 Hz), 7.35 (d, 2H, H₂, H₆, ³J=8.8 Hz), 7.27-7.22 (m, 2H, H₅, H₆), 5.55 (s, 2H, CH₂Ph), 2.50 (s, 3H, COCH₃).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 192.49 (C=O), 137.65 (C), 136.60 (C), 136.28 (CH), 132.51 (C), 130.91 (C), 129.29 (2CH), 128.85 (2CH), 126.13 (C), 123.17 (CH), 122.33 (CH), 121.82 (CH), 116.43 (CH), 111.16 (C), 49.12 (CH₂), 27.50 (CH₃).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1630 νC=O, 738 νC-Cl.

oxo[(pyridin-4-yl)amino]acétate d'éthyle (108)

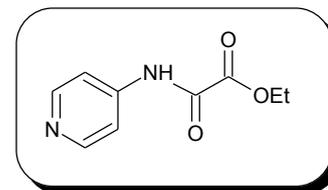
poudre blanche

$C_9H_{10}N_2O_3$

$M_r = 194.19$

$R_f = 0.52$ (dichlorométhane/éthanol : 1/1)

$F = 92-93\text{ }^\circ\text{C}$



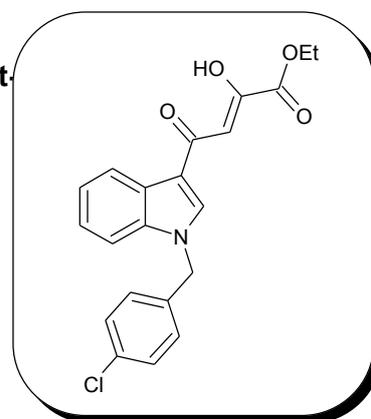
Mode opératoire : à une solution de 4.0 g (29.4 mmol, 1 éq) de chloro(oxo)acétate d'éthyle dans 20 mL de tétrahydrofurane ajouter à 0 °C goutte à goutte une solution de 2.8 g (29.4 mmol, 1 éq) de 4-aminopyridine **107** dans 50 mL de tétrahydrofurane. Chauffer au reflux pendant 2h00, laisser revenir à température ambiante puis filtrer. Concentrer sous vide le filtrat, puis triturer le solide obtenu dans de l'éther diisopropylique et filtrer le solide blanc (4.7 g, $\eta=82\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 11.21 (s, 1H, NH), 8.54 (d, 2H, H_a , $^3J=6.4$ Hz), 7.81 (d, 2H, H_b , $^3J=6.4$ Hz), 4.36 (q, 2H, CH_2 , $^3J=7.0$ Hz), 1.35 (t, 3H, CH_3 , $^3J=7.0$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 159.81 (C=O), 156.25 (C=O), 150.19 (2CH), 144.58 (C), 114.26 (2CH), 62.62 (CH_2), 13.76 (CH_3).

IR (KBr), cm^{-1} : 3339 ν_{NH} , 1717 $\nu_{C=O}$.

(2Z)-4-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-hydroxy-4-oxobut-3-énoate d'éthyle (110)



poudre jaune
 $C_{21}H_{18}ClNO_4$
 $M_r = 383.83$
 $R_f = 0.61$ (dichlorométhane)
 $F = 169-170$ °C

Mode opératoire : à une solution d'éthanolate de sodium (préparé par dissolution de 486 mg de sodium dans 12 mL d'éthanol sec) ajouter 2.9 mL (21.1 mmol, 5 équ) d'oxalate de diéthyle et laisser sous agitation à température ambiante pendant 1h30. Ajouter ensuite 1.2 g (4.2 mmol, 1 équ) de 1-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]éthanone **105** puis maintenir l'agitation pendant 3 jours. Hydrolyser le mélange réactionnel par ajout de 50 mL d'une solution d'acide chlorhydrique à 2.5 N puis extraire la phase organique au dichlorométhane, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant. Triturer le produit obtenu dans un mélange éther de pétrole/éther diéthylique puis filtrer la poudre jaune obtenue (1.2 g, $\eta=90$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 9.04 (s, 1H, H₂), 8.28 (dd, 1H, H₄, $^3J=6.4$ Hz, $^4J=2.4$ Hz), 7.64 (dd, 1H, H₇, $^3J=6.4$ Hz, $^4J=2.4$ Hz), 7.44-7.41 (m, 4H, H_{2'}, H_{3'}, H_{5'}, H_{6'}), 7.35-7.30 (m, 2H, H₅, H₆), 7.04 (s, 1H, CO-CH=C(OH)COOEt), 5.58 (s, 2H, CH₂Ph), 4.35 (q, 2H, COOCH₂CH₃, $^3J=7.0$ Hz), 1.36 (t, 3H, COOCH₂CH₃, $^3J=7.0$ Hz).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 188.99 (C=O), 162.39 (C), 162.06 (C), 139.00 (CH), 137.07 (C), 135.80 (C), 132.68 (C), 129.47 (2CH), 128.90 (2CH), 125.98 (C), 123.99 (CH), 123.24 (CH), 122.03 (CH), 114.40 (C), 111.82 (CH), 100.76 (CH), 62.02 (CH₂), 49.48 (CH₂Ph), 14.15 (CH₃).

IR (KBr), cm^{-1} : 3421 ν OH, 1733 ν C=O, 1605 ν C=O.

acide (2Z)-4-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-hydroxy-4-oxobut-2-énoïque (111)

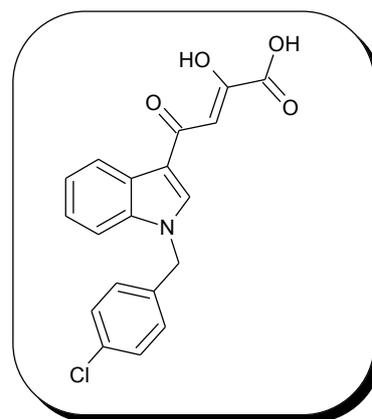
poudre orange

$C_{19}H_{14}ClNO_4$

$M_r = 355.77$

$R_f = 0.35$ (dichlorométhane)

$F = 140-141\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 500 mg (1.3 mmol) de (2Z)-4-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]-2-hydroxy-4-oxobut-2-énoate d'éthyle **110** dans 7 mL d'éthanol ajouter 2 mL d'une solution d'hydroxyde de sodium à 1 M. Chauffer au reflux pendant 3h00 puis ajouter de l'eau, acidifier par ajout d'une solution d'acide chlorhydrique concentré et filtrer la poudre orange obtenue (365 mg, $\eta=79\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.04 (s, 1H, H₂), 8.58 (s, 1H, CH=COH), 8.30-8.25 (m, 1H, H₄), 7.65-7.60 (m, 1H, H₇), 7.44-7.22 (m, 6H, H_{2'}, H_{3'}, H_{5'}, H_{6'}, H₅, H₆), 7.04 (s, 1H, CH=C(OH)R), 5.56 (s, 2H, CH₂Ph).

IR (KBr), cm^{-1} : 3102 νOH , 1712 $\nu\text{C=O}$, 1630 $\nu\text{C=O}$.

SERIE E

PARTIE THEORIQUE

A. APERCU BIBLIOGRAPHIQUE ET ANALYSE RETROSYNTHETIQUE

Dans ce chapitre, nous décrivons les différentes voies de synthèse mises en œuvre afin d'accéder à l'analogue du D-24851 en série vinylogue, de structure **I** (figure 1).

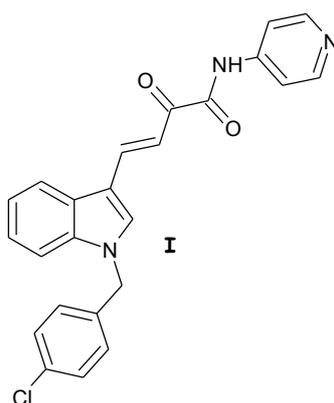


Figure 1

Une analyse rétrosynthétique (schéma 1) nous permet de mettre en exergue cinq voies pour accéder au composé **I**. La première voie fait appel à une réaction aldolique entre le 3-formylindole benzylé par un groupement 4-chlorobenzyle et l'acide 2-oxopropanoïque (**voie A**). La seconde voie fait appel soit à une réaction de Horner-Emmons, soit à une réaction de Wittig (**voie B**). La troisième voie permet, à partir d'un α -cétonitrile, l'obtention de l'acide glyoxylique **II** (**voie C**). L' α -cétonitrile **III** peut être synthétisé, soit à partir du chlorure d'acide correspondant (**voie C1**), soit à partir de la cyanhydrine correspondante (**voie C2**). La cyanhydrine est accessible à partir de l'aldéhyde **IV**, dont plusieurs voies d'accès seront présentées. Enfin, une voie originale mettant en jeu une benzoxazinone intermédiaire sera mise en œuvre afin d'accéder au composé **I** (**voie D**).

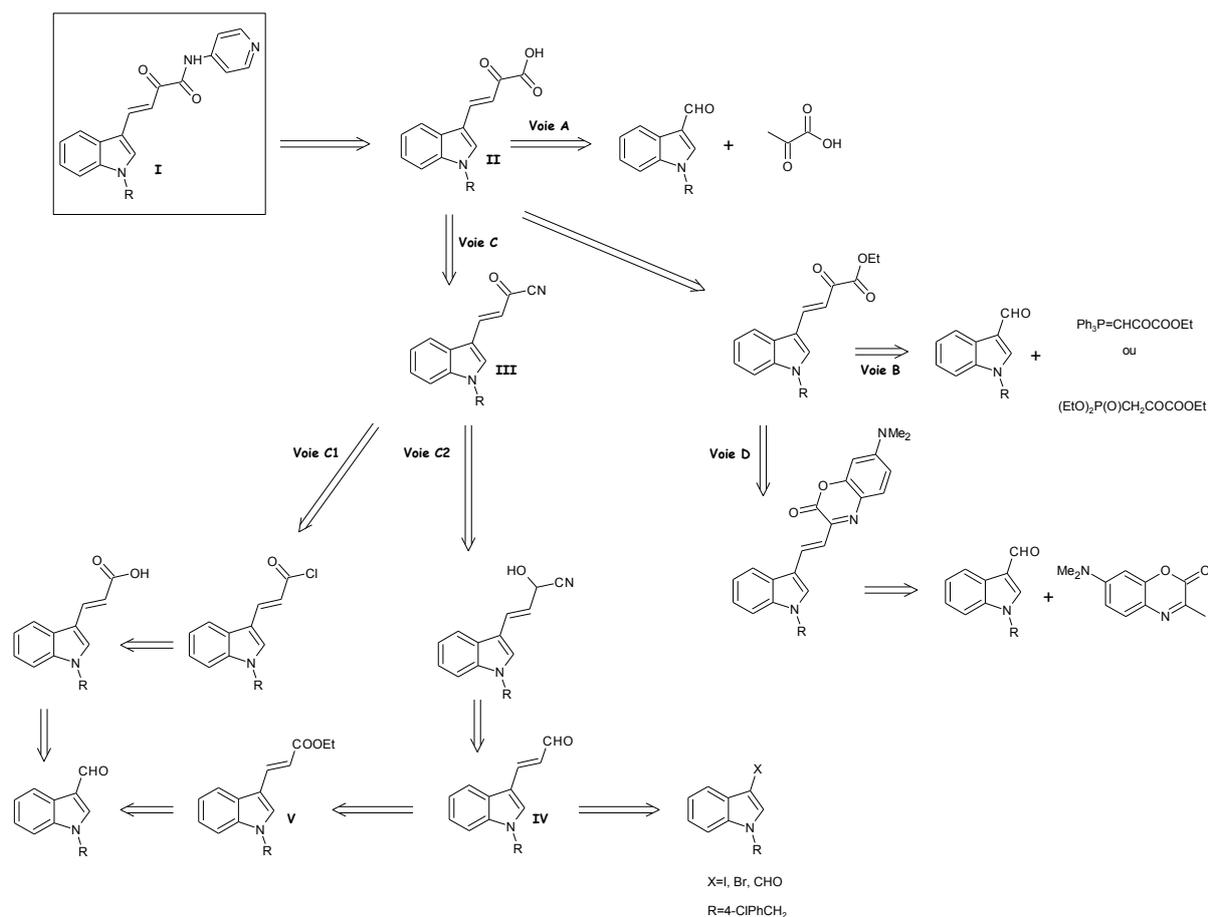


Schéma 1

B. TRAVAUX REALISES

1. Voie A – Via une réaction d'aldolisation

Les voies A et B sont les voies les plus intéressantes puisqu'elles permettent d'introduire l'enchaînement acide glyoxylique en une seule étape à partir du 3-formylindole. Le groupement 4-chlorobenzyle est introduit sur l'azote indolique du 3-formylindole **112** par utilisation de carbonate de césium au reflux de l'acétonitrile⁴⁴ avec 97 % de rendement (schéma 2). La réaction entre le composé **113** et l'acide 2-oxopropanoïque en présence de potasse dans le méthanol au reflux ne conduit pas à la formation de l'acide glyoxylique **114**, seul le produit de départ est récupéré.

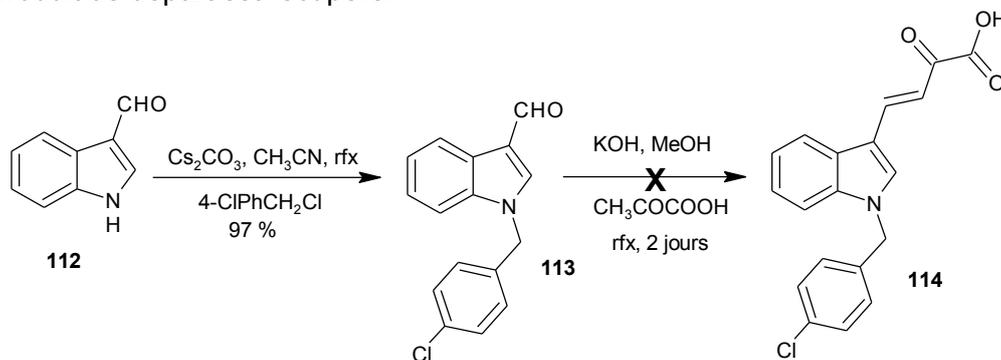


Schéma 2

2. Voie B – Via une réaction de Wittig ou d'Horner-Emmons

Une autre voie d'accès directe à l'enchaînement glyoxylique met en jeu soit une réaction de Wittig avec le 2-oxo-3-(triphenylphosphoranylidène)propanoate d'éthyle **116**, soit une réaction d'Horner-Emmons avec le 3-(diéthoxyphosphoryl)-2-oxopropanoate d'éthyle **119**.

Le 2-oxo-3-(triphenylphosphoranylidène)propanoate d'éthyle **116** est synthétisé à partir du 3-bromo-2-oxopropanoate d'éthyle **115** par réaction avec la triphénylphosphine¹²¹ dans le tétrachlorure de carbone avec un rendement de 75 % (schéma 3).

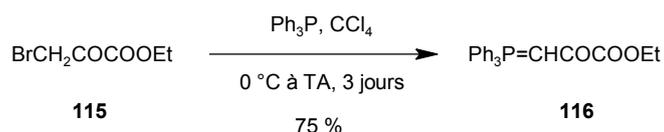


Schéma 3

Le 3-(diéthoxyphosphoryl)-2-oxopropanoate d'éthyle **119** est accessible en deux étapes¹²² à partir de l'acide (diéthoxyphosphoryl)acétique **117** avec un rendement variable, de 20 à 50 % (schéma 4).



Schéma 4

La réaction de Horner-Emmons avec le 3-(diéthoxyphosphoryl)-2-oxopropanoate d'éthyle **119** sur les aldéhydes **112** et **113** (schéma 5) en présence d'hydrure de sodium dans le tétrahydrofurane¹²³ n'a pas permis d'isoler les composés **120** et **121** (dans tous les cas, il n'y a pas de réaction, le produit de départ est récupéré). Cette même réaction, réalisée en présence de *n*-butyllithium dans le diméthoxyéthane¹²⁴ est également restée infructueuse.

¹²¹ L.H.P. Meijer et U.K. Pandit, NAD(P)H models 20, Chemioselektive metal ion catalyzed reduction of α -keto- β,γ -unsaturated esters by 1,4-dihydropyridine derivatives, *Tetrahedron*, **1985**, 41 (2), 467-472.

¹²² D.Y. Kim, M.S. Kong et K. Lee, Acylation of *in situ* generated trimethylsilyl diethylphosphonoacetate using magnesium chloride-triethylamine: a practical synthesis of β -keto phosphonates, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 1361-1363.

¹²³ C. Grison, C. Comoy, D. Chatenet et P. Coutrot, Synthesis of P-chiral enophosphonic acid derivatives, *J. Organometallic Chem.*, **2002**, 662, 83-97.

¹²⁴ Y. Hayashi, J. Yamaguchi et M. Shoji, The diastereoselective asymmetric total synthesis of NG-391, a neuronal cell-protecting molecule, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 9839-9846.

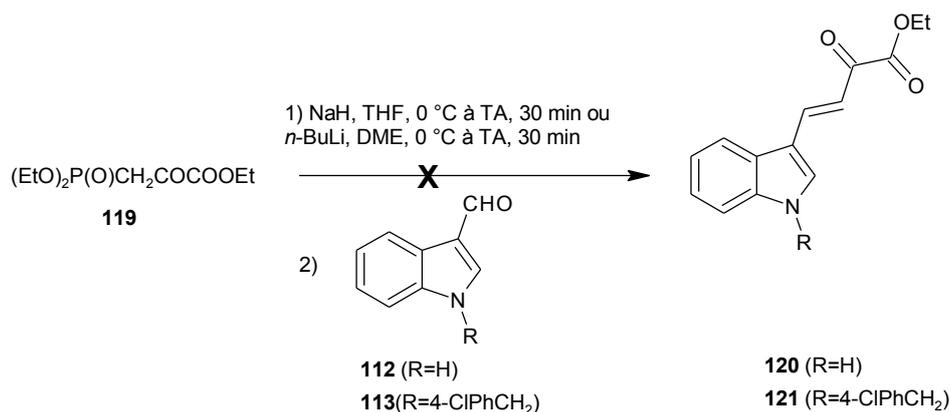


Schéma 5

Différentes conditions ont également été appliquées à la réaction de Wittig entre les aldéhydes **112** et **113** et le 2-oxo-3-(triphenylphosphoranylidène)propanoate d'éthyle **116** (au reflux du xylène¹²⁵ ou sous irradiations micro-ondes dans le diméthylsulfoxyde¹²⁶ à 180 °C) mais, comme pour la réaction de Horner-Emmons, le produit de départ reste inchangé (schéma 6).

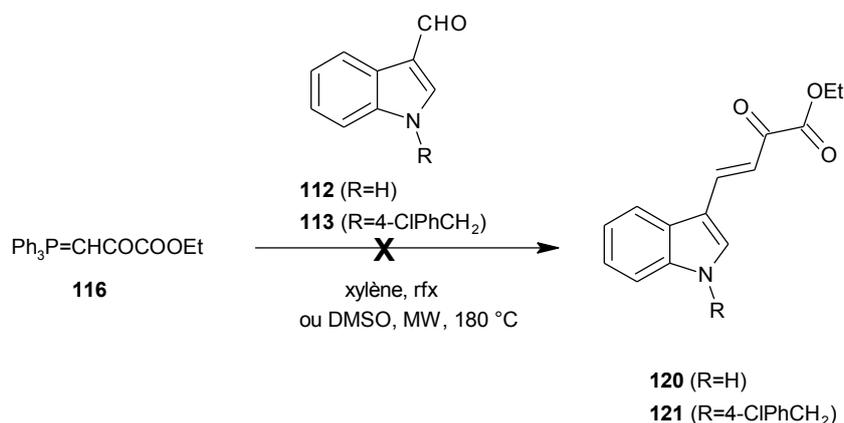


Schéma 6

3. Voie C – Via un α -cétonitrile

La voie C fait appel à un intermédiaire clé, l' α -cétonitrile ; il peut être synthétisé *via* le chlorure d'acide correspondant (**voie C1**) ou *via* la cyanhydrine correspondante (**voie C2**).

a. Voie C1

La réaction entre l'aldéhyde **113** et l'acide malonique en présence de pipéridine au reflux de la pyridine¹²⁷ conduit à l'acide carboxylique **122** avec un rendement de 14 %. La formation du chlorure d'acide **123** correspondant est réalisée par réaction avec le chlorure d'oxalyle dans le toluène⁷². Le composé **123** est directement mis en réaction avec du cyanure de cuivre dans l'acétonitrile⁷⁹ ; cependant, l' α -cétonitrile **124** n'a pu être isolé.

¹²⁵ M.K. Eberle, M.J. Shapiro et R. Stucki, Intramolecular Diels-Alder reactions of indole-3-acrylates, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 4661-4665.

¹²⁶ S. Frattini, M. Quai et E. Cereda, Kinetic study of microwave-assisted Wittig reaction of stabilised ylides with aromatic aldehydes, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 6827-6829.

¹²⁷ K. Kuramochi, Y. Osada et T. Kitahara, Synthetic study on indolic enamides, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 9447-9454.

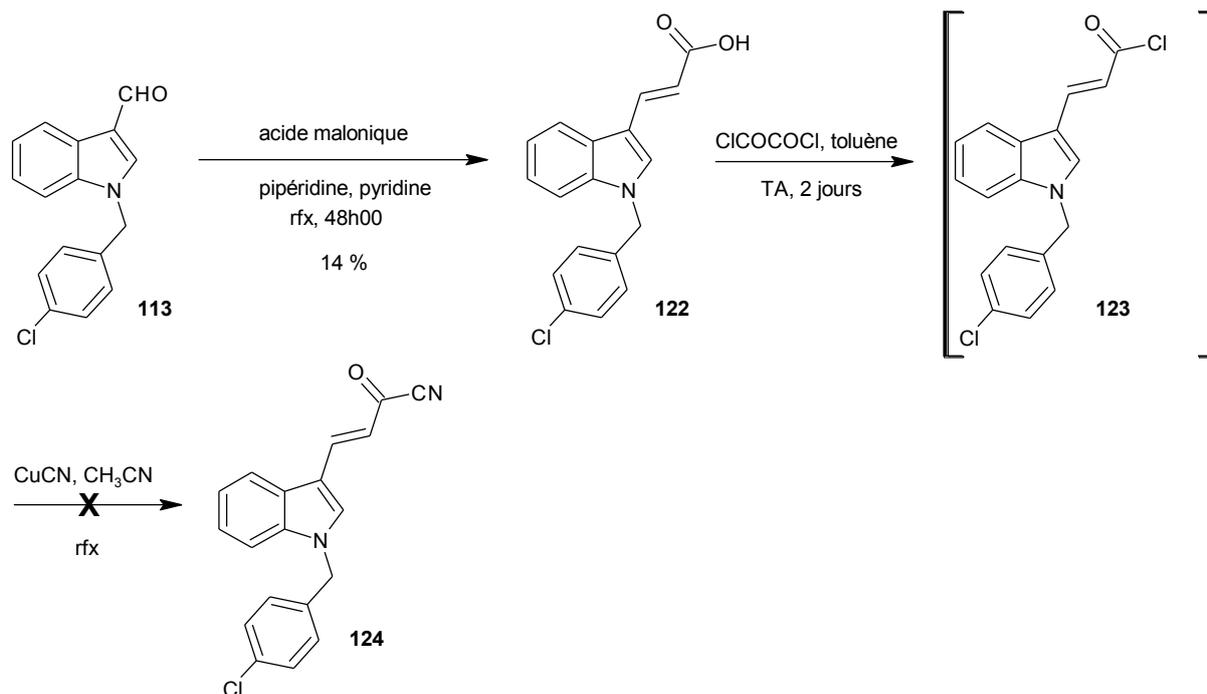


Schéma 6

b. Voie C2

b.1. Accès à l'aldéhyde IV

b.1.1. Via une réaction de Heck

Une méthode envisagée pour synthétiser l'aldéhyde **IV** (schéma 1) est la réaction pallado-catalysée de Heck entre un 3-halogénoindole et l'acroléine. La iodation sélective en position 3 de l'indole **14** est réalisée en présence d'iode et de potasse dans le diméthylformamide¹²⁸ pour donner le 3-iodoindole **125** (schéma 7). Comme le 3-iodoindole n'est pas stable, le groupement 4-chlorobenzyle a été directement introduit sur l'azote indolique ; on obtient ainsi le composé **126** avec un rendement de 76 % sur les deux étapes. Un couplage de type Heck a ensuite été tenté avec l'acroléine¹²⁹ ; cependant, il ne conduit pas à la formation du composé désiré **127**.

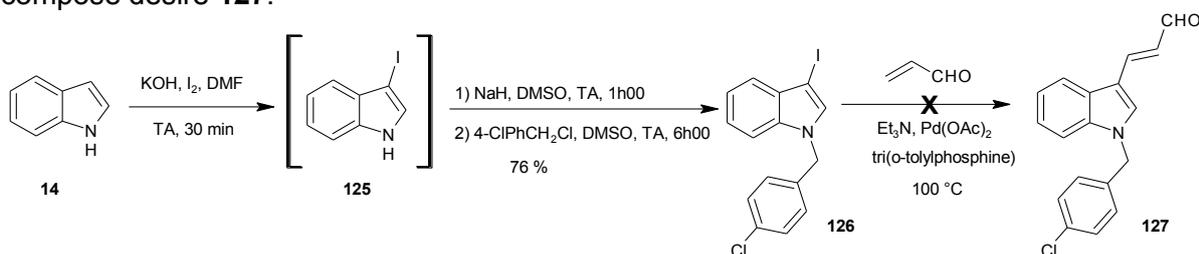
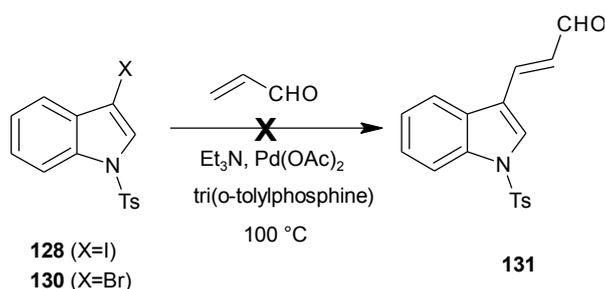
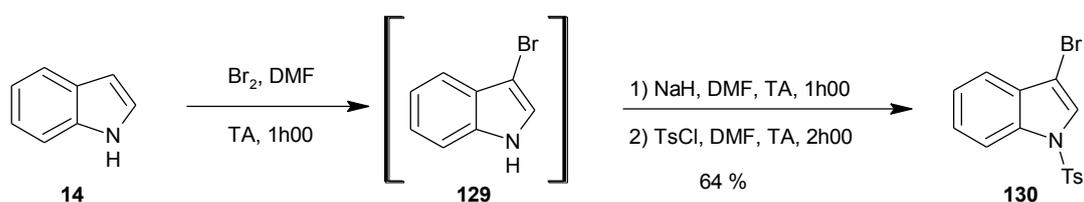
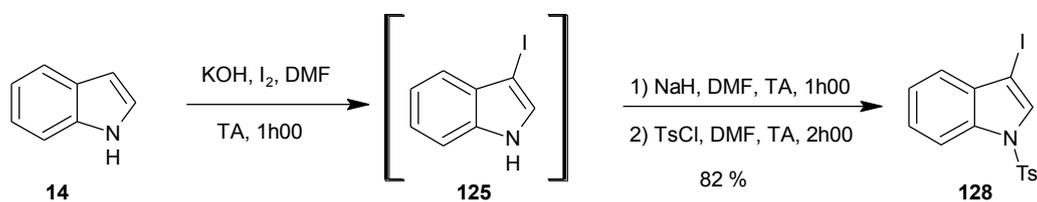


Schéma 7

¹²⁸ T. Sakamoto, T. Nagano, Y. Kondo et H. Yamanaka, Palladium-catalyzed reaction of 3-iodoindoles and 3-iodobenzob[b]thiophene with terminal acetylenes, *Chem. Pharm. Bull.*, **1988**, 36 (6), 2248-2252.

¹²⁹ P.D. Greenspan, R.A. Fujimoto, P.J. Marshall, A. Raychaudhuri, K.E. Lipson, H. Zhou, R.A. Doti, D.E. Coppa, L. Zhu, R. Pelletier, S. Uziel-Fusi, R.H. Jackson, M.H. Chin, B.L. Kotyuk et J.J. Fitt, Carboxy-substituted cinnamides: a novel series of potent, orally active LTB4 receptor antagonists, *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 164-172.

Cette réaction a été également tenté sur le 3-iodo-1-tosyl-1*H*-indole **128**, synthétisé en deux étapes *via* le 4-iodoindole **125** avec 82 % de rendement (schéma 8) et sur le 3-bromo-1-tosyl-1*H*-indole **130**, synthétisé *via* le 3-bromoindole¹³⁰ **129** (schéma 9) mais l'aldéhyde désiré **131** n'a pas été isolé dans les deux cas (schéma 10).



b.1.2. *Via* une réaction de Wittig

Le composé **127** peut également être synthétisé *via* une réaction de Wittig entre le 3-formylindole et le (triphénylphosphoranylidène)acétaldéhyde commercial. Cette réaction réalisée sur le composé **113** ne permet pas à l'accès au produit désiré **127**, seul le produit de départ est isolé ; un autre essai a été réalisé sur le 3-formylindole **112** mais il est également resté sans succès (schéma 11).

¹³⁰ V. Bocchi et G. Palla, High yield selective bromination and iodination of indoles in *N,N*-dimethylformamide, *Synthesis*, **1982**, 1096-1097.

b.1.3. Via la réduction de l'acide carboxylique **122**

Le composé **127** peut être synthétisé en deux étapes à partir de l'acide carboxylique **122**, par réduction de l'acide carboxylique en alcool, puis oxydation de l'alcool en aldéhyde. Cependant, la réduction de l'acide carboxylique **122** par l'hydrure de lithium et d'aluminium dans le tétrahydrofur conduit à la dégradation du mélange réactionnel (schéma 14).

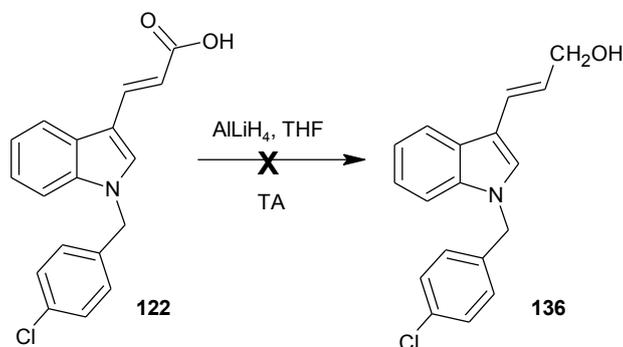


Schéma 14

b.1.4. Via l'ester **137**

L'estérification de l'acide carboxylique **122** dans les conditions classiques de catalyse acide ne conduit pas à l'ester **137** (schéma 15).

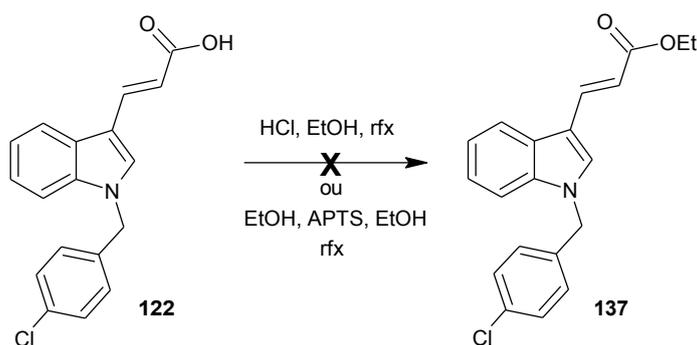


Schéma 15

En revanche, la réaction de Heck entre le 3-iodoindole **126** et l'acrylate d'éthyle¹¹⁹ dans les conditions décrites précédemment conduit à la formation de l'ester **137** avec 26 % de rendement (schéma 16).

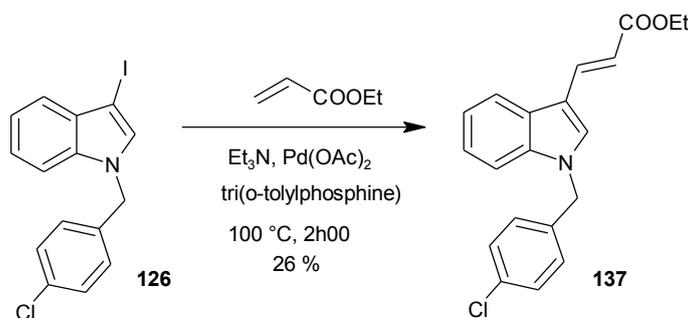


Schéma 16

L'ester **137** est également accessible *via* une réaction de type Knoevenagel entre l'aldéhyde **113** et le malonate d'éthyle **139**, synthétisé à partir du malonate de diéthyle **138**¹³² avec un rendement de 52 % (schéma 17).

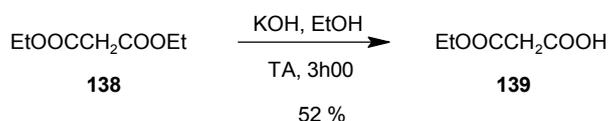


Schéma 17

La réaction entre le 3-formylindole **113** et le malonate d'éthyle **139** en présence de pipéridine au reflux de la pyridine¹¹⁷ conduit au composé **137** avec un rendement de 63 % (schéma 18). La création de la double liaison est également possible *via* une réaction de Horner-Emmons. En effet, l'aldéhyde **113** réagit avec le (diéthoxyphosphoryl)acétate d'éthyle commercial en présence d'hydrure de sodium dans le tétrahydrofurane pour donner l'ester **137** avec un rendement de 78 % (schéma 18).

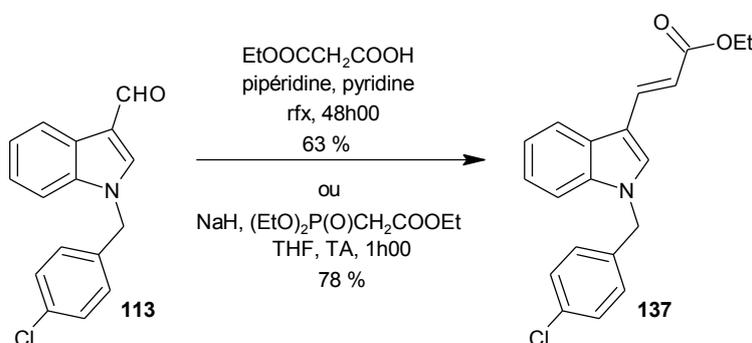


Schéma 18

L'aldéhyde **127** est accessible à partir de l'ester **137** en deux étapes. La première étape est la réduction de l'ester **137** par l'hydrure de lithium et d'aluminium dans le tétrahydrofurane pour conduire à l'alcool **136** avec 97 % de rendement. Différentes méthodes ont ensuite été mises en œuvre pour oxyder l'alcool **136** en aldéhyde **127**. Avec du dichromate de pyridinium⁹⁹ dans le dichlorométhane, l'aldéhyde est très minoritaire par rapport aux produits de dégradation. Avec du dioxyde de manganèse, l'aldéhyde est majoritaire mais sa purification par chromatographie sur colonne de gel de silice a conduit à sa dégradation. La réaction d'oxydation par Magtrieve®¹³³ sous irradiation micro-ondes conduit à la dégradation du mélange réactionnel. Finalement, l'aldéhyde **127** est obtenu par oxydation de l'alcool **136** avec du DDQ dans le dioxane¹³⁴ avec un rendement de 62 % (schéma 19).

¹³² P.C.B. Page, J.P.G. Moore, I. Mansfield, M.J. McKenzie, W.B. Bowler et J.A. Gallagher, Synthesis of bone-targeted oestrogenic compounds for the inhibition of bone resorption, *Tetrahedron*, **2001**, 1837-1847.

¹³³ D. Bogdal, M. Cerkasiewicz, J. Pielichowski, A. Miciak et Sz. Bednary, Microwave-assisted oxidation of alcohols using Magtrieve, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 649-653.

¹³⁴ H.-D. Becker, A. Björk et E. Adler, Quinone dehydrogenation. Oxidation of benzylic alcohols with 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone, *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 1596-1600.

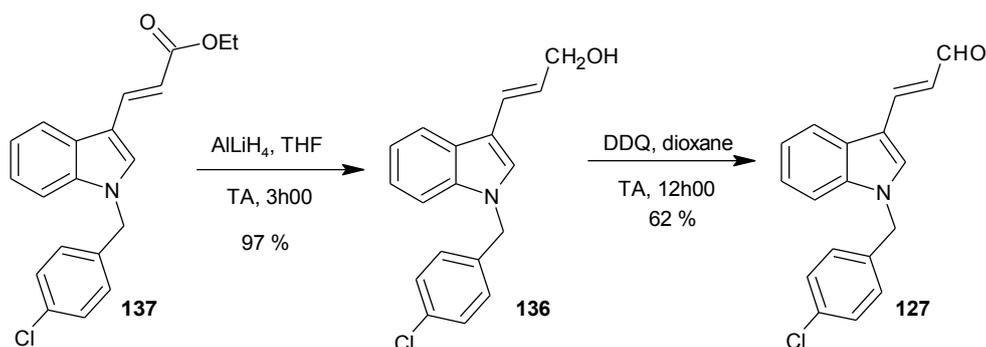


Schéma 19

b.2. Accès à la cyanhydrine

Différents essais ont été mis en œuvre afin d'accéder à l' α -cétonitrile **III** (schéma 1) via la cyanhydrine correspondante.

La formation de la cyanhydrine dans les conditions précédemment décrites, à savoir par réaction avec du cyanure de triméthylsilyle en présence de triflate de cuivre dans le dichlorométhane⁹⁸ ne permet pas d'isoler la cyanhydrine **140** (schéma 20).

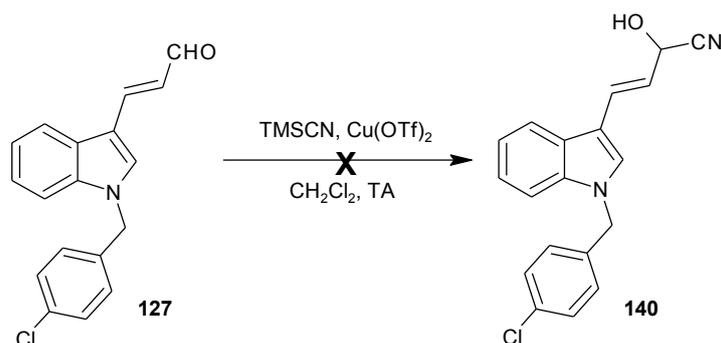
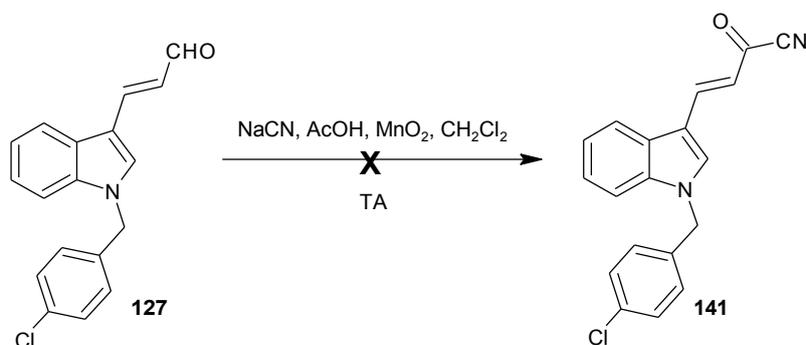


Schéma 20

Comme les cyanhydrines sont souvent instables, une autre méthode d'accès aux α -cétonitriles à partir d'aldéhydes a été décrite dans la littérature. Cette méthode permet la formation de la cyanhydrine par réaction avec du cyanure de sodium et son oxydation directe par le dioxyde de manganèse en α -cétonitrile¹³⁵. Cependant, dans notre cas, le produit de départ ne réagit pas (schéma 21).



¹³⁵ E.J. Corey, N.W. Gilman et B.E. Ganem, New methods for the oxidation of aldehydes to carboxylic acids and esters, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 5616-5617.

Schéma 21

Une autre méthode décrite pour pallier au problème d'instabilité des cyanhydrines met en jeu du cyanure de sodium et du chloro(oxo)acétate d'éthyle¹³⁶ afin de protéger temporairement la fonction alcool de la cyanhydrine. Cependant, cette réaction ne nous permet pas d'isoler le composé **142** (schéma 22).

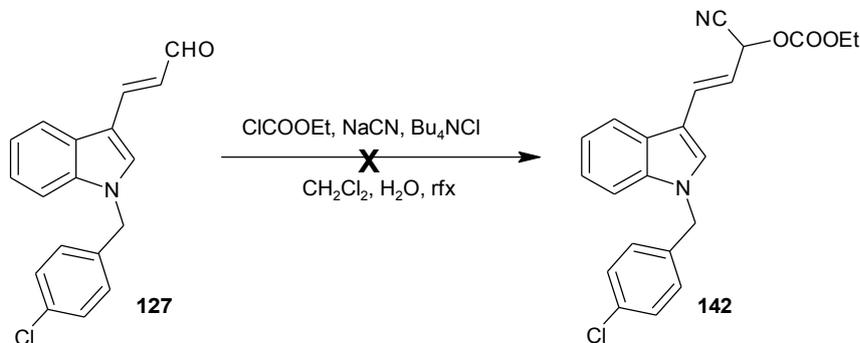


Schéma 22

4. Voie D - Via une benzoxazinone

Une méthode originale d'accès à des composés de structure proche de l'ester **121** via un précurseur benzoxazinone a été décrite en 1985 par M.-T. Le Bris¹³⁷. La réaction entre le 3-formylindole et la 7-(diméthylamino)-3-méthyl-2H-1,4-benzoxazin-2-one conduit à l'intermédiaire **VI**, dont l'hydrolyse par de l'acide chlorhydrique dans l'éthanol conduit à la formation de l'ester **VII** (schéma 23).

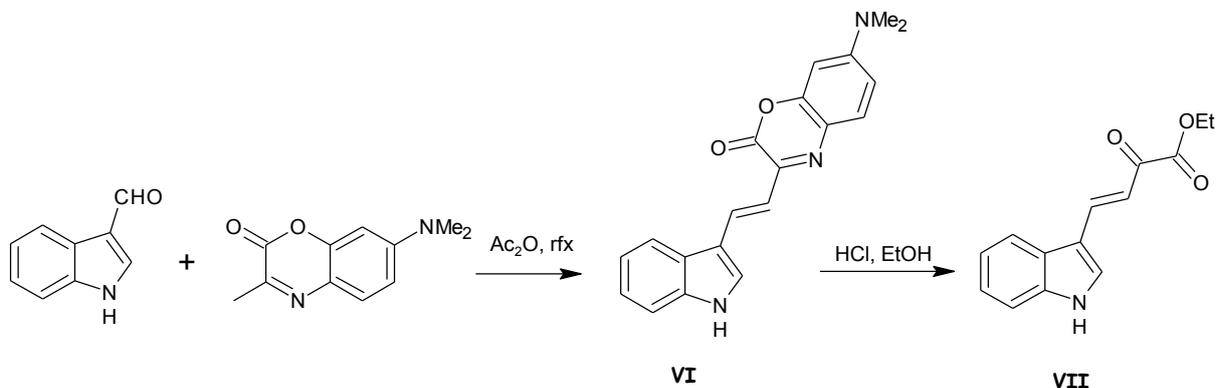


Schéma 23

Il convient dans un premier temps de synthétiser la 7-(diméthylamino)-3-méthyl-2H-1,4-benzoxazin-2-one **147**. Le 3-(diméthylamino)phénol **144** est nitré en position 6 par réaction avec du nitrate de sodium dans l'acide chlorhydrique avec un rendement de 68 % pour donner le composé **145** (schéma 24). La réduction du groupement nitro par hydrogénation en présence de nickel de Raney dans l'éthanol, suivie de la réaction avec du pyruvate

¹³⁶ S.P. Kolis, M.T. Clayton, J.L. Grutsch et M.M. Faul, Synthesis of 7-cyano- and 7-acetamido-indoles via cyanocarbonation/hydrogenation of 7-formylindole, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 5707-5710.

¹³⁷ M.-T. Le Bris, Synthesis and properties of some 7-dimethylamino-1,4-benzoxazin-2-ones, *J. Heterocyclic Chem.*, **1984**, 22, 1275-1280.

d'éthyle conduit à la formation de la 7-(diméthylamino)-3-méthyl-2*H*-1,4-benzoxazin-2-one **147** avec un rendement de 41 % sur les deux étapes.

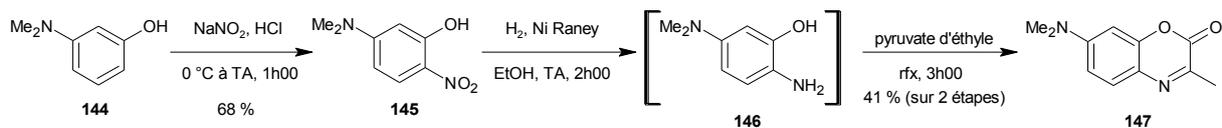


Schéma 24

Le couplage entre le 3-formylindole et le composé **147** est réalisé au reflux de l'anhydride acétique. Cependant, quelque soit le composé de départ mis en jeu (**112**, **113** ou **134**), aucune réaction n'est observée et il semble qu'il y ait dégradation du composé **147** au cours du temps (schéma 25).

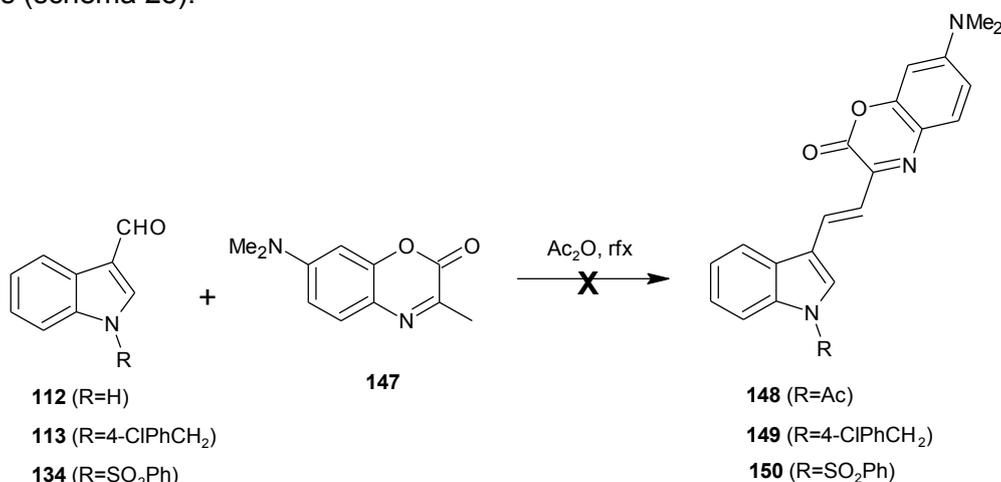


Schéma 25

En conclusion, malgré les différentes voies envisagées, le composé final de structure **I** n'a pu être synthétisé.

PARTIE EXPERIMENTALE

1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indole-3-carbaldéhyde (**113**)

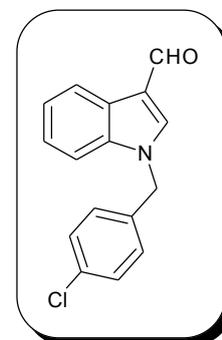
poudre beige

$C_{16}H_{12}ClO$

$M_r = 269.73$

$R_f = 0.35$ (dichlorométhane)

$F = 119-120\text{ °C}$



Mode opératoire : à une solution de 3.5 g (24.1 mmol, 1 éq) de 3-formylindole **112** dans 10 mL d'acétonitrile ajouter 15.7 g (48.2 mmol, 2 éq) de carbonate de césium. Chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 1h00 puis ajouter à température ambiante une solution de 3.9 g (24.1 mmol, 1 éq) de chlorure de 4-chlorobenzyle dissous dans 10 mL d'acétonitrile. Chauffer au reflux pendant 1h30. Filtrer la solution résultante sur fritté, rincer

avec de l'acétonitrile. Evaporer le solvant sous vide. Reprendre le résidu au dichlorométhane, laver à l'eau puis extraire la phase organique, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer et concentrer sous vide pour donner un solide beige (6.3 g, η =97%).

^1H RMN (DMSO- d_6) : 9.99 (s, 1H, CHO), 8.52 (s, 1H, H₂), 8.18-8.13 (m, 1H, H₄), 7.47-7.44 (m, 1H, H₇), 7.39-7.26 (m, 6H, H₂, H₆, H₃, H₅, H₅, H₆), 5.60 (s, 2H, CH₂Ph).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 184.96 (CHO), 141.14 (CH), 137.07 (C), 135.98 (C), 132.67 (C), 129.45 (2CH), 128.93 (2CH), 125.03 (C), 123.91 (CH), 122.84 (CH), 121.33 (CH), 117.72 (C), 111.54 (CH), 49.28 (CH₂).

IR (KBr), cm^{-1} : 1651 $\nu\text{C}=\text{O}$, 743 $\nu\text{C}-\text{Cl}$.

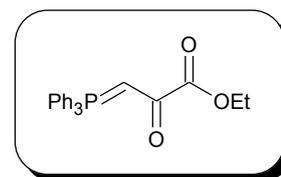
2-oxo-3-(triphénylphosphoranylidène)propanoate d'éthyle (116)

poudre blanche

$C_{23}H_{21}O_3P$

$M_r = 376.38$

F = 158-159 °C



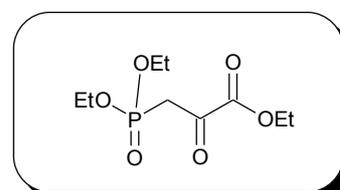
Mode opératoire : à une solution de 5 mL (39.8 mmol, 1 éq) de bromopyruvate d'éthyle **115** dans 15 mL de tétrachlorure de carbone ajouter à 0 °C en 30 min une solution de 10.4 g (39.8 mmol, 1 éq) de triphénylphosphine dans 100 mL de tétrachlorure de carbone. Laisser sous agitation le mélange réactionnel pendant 3 jours. Filtrer sur fritté puis laver à l'éther diéthylique. Dissoudre le solide obtenu dans 100 mL de méthanol et refroidir la solution dans un bain de glace. Ajuster le pH à 10 par ajout d'une solution de bicarbonate de sodium à 10 % puis ajouter 50 mL d'eau. Laisser sous agitation la solution résultante à 0 °C pendant 1h00. Collecter le précipité jaune formé et laver le à l'eau glacée pour donner une poudre blanche (10.4 g, $\eta=75\%$).

1H RMN ($CDCl_3-d_6$) : 7.72-7.43 (m, 15H, Haro), 4.84 (d, 1H, $CHCOCOOEt$, $^3J=23.2$ Hz), 4.25 (q, 2H, $COOCH_2CH_3$), 1.34 (t, 3H, $COOCH_2CH_3$).

IR (KBr), cm^{-1} : 1702 $\nu_{C=O}$.

3-(diéthoxyphosphoryl)-2-oxopropanoate d'éthyle (119)

huile orange



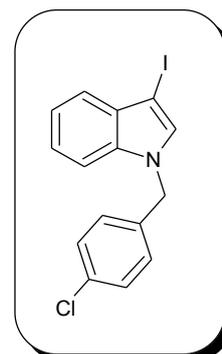
$C_9H_{17}O_6P$
 $M_r = 252.20$

Mode opératoire : à une solution de 5 mL (31.1 mmol, 1 éq) d'acide diéthylphosphonoacétique **117** dans 50 mL de toluène ajouter à 0 °C 17.3 mL (124.4 mmol, 4 éq) de triéthylamine et 6.0 mL (46.6 mmol, 1.5 éq) de chlorure de triméthylsilyle. Après agitation à température ambiante pendant 1h00, le mélange est traité avec du chlorure de magnésium (2.96 g, 31.1 mmol, 1 éq) puis l'agitation est maintenue pendant 1h00 supplémentaire. Ajouter ensuite goutte à goutte 4.2 mL (37.3 mmol, 1.2 éq) de chloro(oxo)acétate d'éthyle puis maintenir l'agitation pendant 6h00. Hydrolyser par une solution aqueuse saturée en chlorure d'ammonium, puis extraire la phase organique à l'éther diéthylique, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner un liquide orange ($\eta=20$ à 50 %).

1H RMN ($CDCl_3-d_6$) : 4.09-4.25 (m, 6H, OCH_2CH_3), 2.96 (d, 2H, CH_2 , $^3J=21.4$ Hz), 1.37-1.24 (m, 9H, OCH_2CH_3).

1-(4-chlorobenzyl)-3-iodo-1*H*-indole (126)

solide marron
 $C_{15}H_{11}ClIN$
 $M_r = 367.61$



Mode opératoire : à une solution de 6.8 g (121.4 mmol, 3.5 éq) de potasse en poudre dans 80 mL de diméthylformamide ajouter 4.0 g (34.1 mmol, 1 éq) d'indole **14**. Laisser sous agitation la solution résultante pendant 15 min. Ajouter ensuite 8.7 g (34.1 mmol, 1 éq) d'iode et maintenir l'agitation pendant 15 min. Verser ce mélange dans une solution de 3.4 g d'hydrogencarbonate de sodium et 30 mL d'ammoniaque dans 500 mL d'eau. Filtrer le précipité formé, le sécher puis le dissoudre dans 70 mL de diméthylsulfoxyde. A 0 °C, ajouter 1.7 g (34.1 mmol, 1 éq) d'hydrure de sodium à 60 % et laisser sous agitation à température ambiante pendant 1h00. Ajouter une solution de 5.5 g (34.1 mmol, 1 éq) de chlorure de 4-chlorobenzyle dans 20 mL de diméthylsulfoxyde. Maintenir le mélange réactionnel sous agitation pendant 6h00. La phase organique est lavée plusieurs fois à l'eau, puis extraite au dichlorométhane, sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis concentrer sous vide pour donner un solide marron (9.5 g, η =76 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 7.79 (s, 1H, H₂), 7.53 (dd, 1H, H₄, ³J=6.8 Hz, ⁴J=1.0 Hz), 7.41 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.6 Hz), 7.34 (dd, 1H, H₇, ³J=7.0 Hz, ⁴J=1.0 Hz), 7.28 (d, 2H, H₂, H₆, ³J=8.6 Hz), 7.24-7.13 (m, 2H, H₅, H₆), 5.48 (s, 2H, CH₂Ph).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 136.77 (C), 135.77 (C), 132.83 (CH), 132.09 (C), 130.01 (C), 128.97 (2CH), 128.54 (2CH), 122.45 (CH), 120.32 (CH), 120.26 (CH), 110.56 (CH), 70.58 (C), 48.56 (CH₂).

3-iodo-1-tosyl-1H-indole (128)

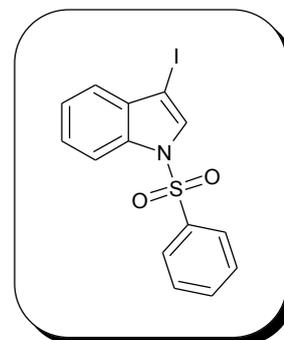
poudre marron clair

C₁₅H₁₂INO₂S

M_r = 397.23

R_f = 0.80 (dichlorométhane)

F = 122-123 °C



Mode opératoire : à une solution de 3.0 g (25.6 mmol, 1 éq) d'indole **14** dans 50 mL de diméthylformamide ajouter 5.5 g (97.3 mmol, 3.8 éq) de potasse. Après 5 min d'agitation, ajouter 6.5 g (25.6 mmol, 1 éq) d'iode dans 50 mL de diméthylformamide. Laisser sous

agitation la solution résultante pendant 1h00 puis la verser dans 200 mL d'un mélange eau/glacé contenant 20 mL d'ammoniaque et 2.0 g de sulfite de sodium. Filtrer le précipité formé puis le laver à l'eau glacée et sécher. Dissoudre ce composé dans 80 mL de diméthylformamide et ajouter 1.0 g (25.6 mmol, 1 éq) d'hydrure de sodium à 60 % puis laisser sous agitation pendant 1h00. Ajouter 4.9 g (25.6 mmol, 1 éq) de chlorure de tosyl et maintenir l'agitation pendant 2h00. Laver la phase organique à l'eau puis l'extraire au dichlorométhane, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis concentrer sous vide pour donner une poudre marron clair (8.4 g, η =82 %).

$^1\text{H RMN (DMSO-d}_6\text{)}$: 8.10 (s, 1H, H₂), 7.98 (d, 1H, H₄, $^3\text{J}=8.2$ Hz), 7.94 (d, 2H, H_{2'}, H_{6'}, $^3\text{J}=8.2$ Hz), 7.53-7.37 (m, 5H, H₅, H₆, H₇, H₃, H_{5'}), 2.34 (s, 3H, CH₃).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-d}_6\text{)}$: 145.80 (C), 133.76 (C), 133.66 (C), 132.11 (C), 130.32 (2CH), 130.12 (CH), 126.84 (2CH), 125.81 (CH), 124.18 (CH), 121.65 (CH), 113.12 (CH), 68.44 (C), 21.00 (CH₃).

IR (KBr), cm^{-1} : 1364 νSO_2 .

3-bromo-1-tosyl-1H-indole (130)

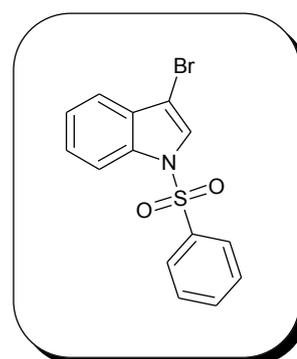
poudre blanche

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{BrNO}_2\text{S}$

$M_r = 350.23$

$R_f = 0.81$ (dichlorométhane)

$F = 112-113$ °C



Mode opératoire : à une solution de 3.0 g (25.6 mmol, 1 éq) d'indole **14** dans 50 mL de diméthylformamide ajouter 1.3 mL (25.9 mmol, 1.01 éq) de brome dans 50 mL de diméthylformamide. Laisser sous agitation la solution résultante pendant 1h00 puis verser la dans 200 mL d'un mélange eau/glacé contenant 20 mL d'ammoniaque et 2.0 g de sulfite de sodium. Filtrer le précipité formé puis le laver à l'eau glacée et sécher. Dissoudre ce composé dans 80 mL de diméthylformamide et ajouter 1.0 g (25.6 mmol, 1 éq) d'hydrure de sodium à 60 % puis laisser sous agitation pendant 1h00. Ajouter 4.9 g (25.6 mmol, 1 éq) de chlorure de tosyl et maintenir l'agitation pendant 2h00. Laver la phase organique à l'eau

puis l'extraire au dichlorométhane, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis concentrer sous vide pour donner une poudre blanche (5.8 g, $\eta=64\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.17 (s, 1H, H₂), 8.03 (d, 1H, H₄, $^3J=8.2$ Hz), 7.96 (d, 2H, H_{2'}, H_{6'}, $^3J=8.2$ Hz), 7.53-7.37 (m, 5H, H₅, H₆, H₇, H_{3'}, H_{5'}), 2.34 (s, 3H, CH₃).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 145.84 (C), 133.64 (C), 133.49 (C), 130.30 (2CH), 129.01 (C), 128.64 (2CH), 126.04 (CH), 125.61 (CH), 124.25 (CH), 119.59 (CH), 113.37 (CH), 98.75 (C), 20.97 (CH₃).

IR (KBr), cm^{-1} : 1369 νSO_2 , 651 $\nu\text{C-Br}$.

acide (2E)-3-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]acrylique (122)

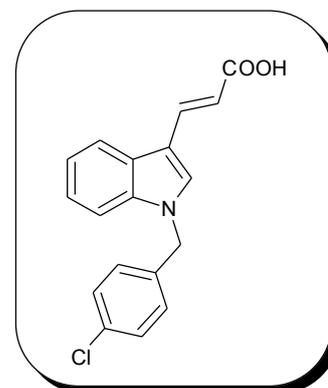
poudre orange

$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClNO}_2$

$M_r = 311.76$

$R_f = 0.64$ (dichlorométhane)

$F = 155-156\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 1.0 g (3.7 mmol, 1 éq) de 1-(4-chlorobenzyl)-1H-indole-3-carbaldéhyde **113** dans 20 mL de pyridine ajouter 1.4 g (13 mmol, 3.5 éq) d'acide malonique et quelques gouttes de pipéridine. Chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 48h00 puis laisser revenir à température ambiante. Hydrolyser le mélange réactionnel puis extraire à l'acétate d'éthyle, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer et évaporer le solvant sous vide pour donner une huile marron. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant du dichlorométhane pour conduire à une poudre orange (162 mg, $\eta=14\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 8.08 (s, 1H, H₂), 8.00-7.97 (m, 1H, H₄), 7.78 (d, 1H, H₈, ³J=16.8 Hz), 7.60-7.57 (m, 1H, H₇), 7.43 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.6 Hz), 7.32-7.22 (m, 4H, H₅, H₆, H₂, H₆), 6.12 (d, 1H, H₉, ³J=16.8 Hz), 5.52 (s, 2H, CH₂).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 143.63 (CH), 136.92 (C), 136.15 (C), 133.99 (CH), 132.26 (C), 129.03 (2CH), 128.64 (2CH), 125.19 (C), 122.98 (CH), 121.48 (CH), 120.36 (C), 120.22 (CH), 111.71 (C), 111.16 (CH), 89.31 (CH), 48.61 (CH₂).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1610 νC=O, 743 νC-Cl.

(2E)-3-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]acrylate d'éthyle (137)

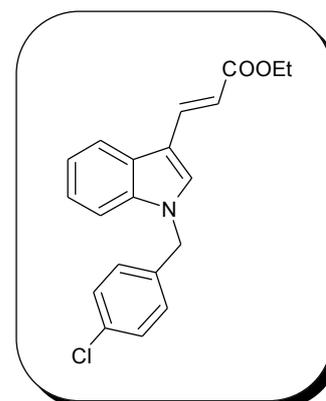
poudre beige

C₂₀H₁₈ClNO₂

M_r = 339.81

R_f = 0.58 (dichlorométhane)

F = 116-117 °C



Mode opératoire 1 : à 600 mg (1.6 mmol, 1 éq) de 1-(4-chlorobenzyl)-3-iodo-1H-indole **126** dans un tube scellé ajouter 0.22 mL (2.0 mmol, 1.25 éq) d'acrylate d'éthyle, 0.28 mL (2.0 mmol, 1.25 éq) de triéthylamine, 19 mg (0.08 mmol, 0.05 éq) d'acétate de palladium et 100 mg (0.3mmol, 0.2 éq) de tri(o-tolyl)phosphine. Chauffer à 100 °C pendant 2h00 puis reprendre le résidu au dichlorométhane, laver la phase organique à l'eau, la sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner une huile orange. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant au dichlorométhane puis avec un mélange dichlorométhane/éthanol : 9/1 pour donner un solide beige (140 mg, η=26 %).

Mode opératoire 2 : le composé **137** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **122** par réaction avec le malonate d'éthyle **139** (η=63 %).

Mode opératoire 3 : à une solution de 1.1 g (44.5 mmol, 1.5 éq) d'hydrure de sodium à 60 % dans 100 mL de tétrahydrofurane ajouter 8.3 mL (44.5 mmol, 1 éq) de diéthylphosphonate d'éthyle. Laisser sous agitation pendant 1h00 puis ajouter 8.0 g (29.7 mmol, 1 éq) de 1-(4-chlorobenzyl)-1H-indole-3-carbaldehyde **113** dans 100 mL de tétrahydrofurane. Maintenir l'agitation pendant 3 jours. Evaporer le solvant sous pression réduite, reprendre le résidu au dichlorométhane, laver la phase organique à l'eau, sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis concentrer sous vide pour donner une poudre beige (7.7 g, η=78 %).

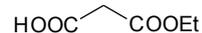
¹H RMN (DMSO-d₆) : 8.17 (s, 1H, H₂), 7.96-7.91 (m, 1H, H₄), 7.88 (d, 1H, H₈, ³J=16.2 Hz), 7.59-7.56 (m, 1H, H₇), 7.43 (dd, 2H, H_b, ³J=6.5 Hz, ⁴J=1.9 Hz), 7.28 (dd, 2H, H_a, ³J=6.5 Hz, ⁴J=1.9 Hz), 7.26-7.22 (m, 2H, H₅, H₆), 6.43 (d, 1H, H₉, ³J=16.2 Hz), 5.05 (s, 2H, CH₂), 4.21 (q, 2H, COOCH₂CH₃, ³J=7.3 Hz), 1.30 (t, 3H, COOCH₂CH₃, ³J=7.3 Hz).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 167.10 (C=O), 138.00 (CH), 136.99 (C), 136.24 (C), 134.44 (CH), 132.21 (C), 129.03 (2CH), 128.61 (2CH), 125.64 (C), 122.76 (CH), 121.34 (CH), 120.16 (CH), 111.71 (CH), 111.37 (C), 111.09 (CH), 59.41 (COOCH₂CH₃), 48.62 (CH₂), 14.31 (COOCH₂CH₃).

IR (KBr), cm⁻¹ : 1692 νC=O, 1620 νC=C, 743 νC-Cl.

acide 3-éthoxy-3-oxopropanoïque (139)

liquide jaune
 $C_5H_8O_4$
 $M_r = 132.11$



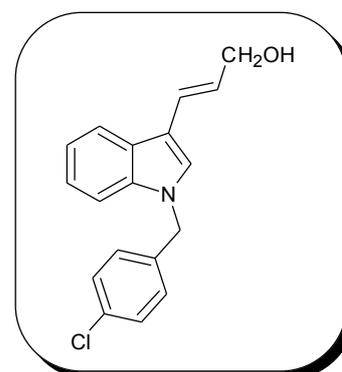
Mode opératoire : à une solution de 10.0 g (62.4 mmol, 1 éq) de malonate de diéthyle **138** dans 40 mL d'éthanol absolu ajouter en 1h00 une solution de 3.5 g (62.4 mmol, 1 éq) de potasse dans 40 mL d'éthanol absolu. Laisser sous agitation pendant 2h00 puis laisser reposer pendant 12h00. Recristalliser le solide dans la solution mère puis laver à l'éther diéthylique. Dissoudre le sel potassique dans 5 mL d'eau puis ajouter 2.5 mL d'acide chlorhydrique concentré en maintenant la température inférieure à 10 °C. Filtrer le mélange réactionnel, puis laver le résidu à l'éther diéthylique. Extraire la phase organique à l'éther diéthylique, la sécher sur sulfate de sodium puis évaporer le solvant pour donner un liquide jaune (4.3 g, $\eta=52\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 4.13 (q, 2H, $COOCH_2CH_3$, $^3J=7.0$ Hz), 3.39 (s, 2H, CH_2), 1.22 (t, 3H, $COOCH_2CH_3$, $^3J=7.0$ Hz).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 167.98 (C=O), 166.77 (C=O), 60.55 (CH_2), 41.37 (CH_2), 13.66 (CH_3).

(2E)-3-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]prop-2-èn-1-ol (136)

huile jaune
 $C_{18}H_{16}ClNO$
 $M_r = 297.78$

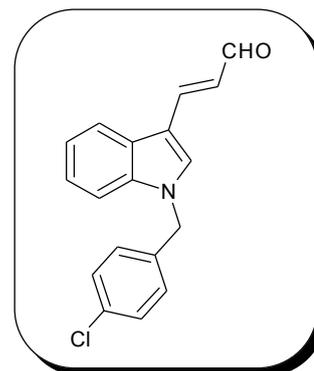


Mode opératoire : à une solution de 200 mg (0.6 mmol, 1 éq) de (2*E*)-3-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]acrylate d'éthyle **137** dans 5 mL de tétrahydrofurane ajouter 22 mg (0.6 mmol, 1 éq) d'hydrure de lithium et d'aluminium et laisser sous agitation à température ambiante pendant 3h00. Hydrolyser le mélange réactionnel, puis extraire la phase aqueuse au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis concentrer sous vide pour donner une huile jaune (175 mg, η =97 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 7.83-7.78 (m, 1H, H₄), 7.66 (s, 1H, H₂), 7.51-7.45 (m, 1H, H₇), 7.41 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=5.8 Hz), 7.29 (d, 2H, H₂, H₅, ³J=5.8 Hz), 7.25-7.05 (m, 2H, H₅, H₆), 6.72 (d, 1H, H₈, ³J=16.0 Hz), 6.27 (td, 1H, H₉, ³J=16.0 Hz, ³J'=5.6 Hz), 5.44 (s, 2H, CH₂Ph), 4.77 (t, 1H, CH₂OH, ³J=5.5 Hz), 4.15 (dd, 2H, CH₂OH, ³J=5.5 Hz, ³J'=5.6 Hz).

(2E)-3-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]acroléine (127)

poudre jaune
C₁₈H₁₄ClNO
M_r = 295.76



Mode opératoire : à une solution de 200 mg (0.7 mmol, 1 éq) de (2E)-3-[1-(4-chlorobenzyl)-1H-indol-3-yl]prop-2-èn-1-ol **136** dans 4 mL de dioxane ajouter 153 mg (0.7 mmol, 1 éq) de 2,6-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 12h00 puis évaporer le dioxane. Reprendre le résidu au dichlorométhane, filtrer puis concentrer le filtrat. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant le mélange dichlorométhane/éther de pétrole : 7/3 pour donner un solide jaune (123 mg, η=62 %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 9.60 (d, 1H, CHO, ³J=7.9 Hz), 8.27 (s, 1H, H₂), 8.00-7.96 (m, 1H, H₄), 7.95 (d, 1H, H₈, ³J=15.6 Hz), 7.44 (d, 2H, H₃, H₅, ³J=8.2 Hz), 7.33 (d, 2H, H₂, H₆, ³J=8.2 Hz), 7.31-7.25 (m, 2H, H₅, H₆), 6.72 (dd, 1H, H₉, ³J=15.6 Hz, ³J'=8.0 Hz), 5.55 (s, 2H, CH₂Ph).

5-(*N,N*-diméthylamino)-2-nitrophéno1 (145)

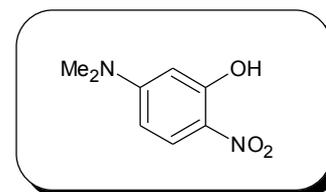
poudre rouge

$C_8H_{10}N_2O_3$

$M_r = 182.18$

$R_f = 0.84$ (dichlorométhane/éthanol : 4/1)

$F = 167-168\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 5.0 g (36.4 mmol, 1 éq) de 3-(*N,N*-diméthylamino)phéno1 **144** dans 20 mL d'acide chlorhydrique concentré ajouter à 0 °C une solution de 2.6 g (37.9 mmol, 1.05 éq) de nitrate de sodium dans 5 mL d'eau en maintenant la température inférieure à 8 °C. Après l'ajout, stopper l'agitation pendant 1h00 puis filtrer. Laver le précipité à l'éthanol. Dissoudre cette poudre dans 20 mL d'eau et ajouter une solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à pH basique. Filtrer. Recristalliser dans l'acétone pour donner une poudre rouge ($\eta = 68\%$).

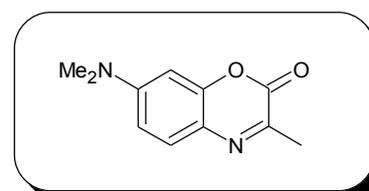
$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 7.34 (d, 1H, H_3 , $^3J=9.8\text{ Hz}$), 6.95 (dd, 1H, H_4 , $^3J=9.8\text{ Hz}$, $^4J=2.0\text{ Hz}$), 5.75 (d, 1H, H_5 , $^4J=2.0\text{ Hz}$), 3.27 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2$).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 168.64 (C), 158.85 (C), 149.53 (C), 134.31 (CH), 115.59 (CH), 95.78 (CH), 41.03 (2 CH_3).

IR (KBr), cm^{-1} : 3256 νOH , NH_2 .

7-(*N,N*-diméthylamino)-3-méthyl-2*H*-1,4-benzoxazin-2-one (147)

poudre jaune



$C_{11}H_{12}N_2O_2$
 $M_r = 204.23$
 $R_f = 0.42$ (dichlorométhane)
 $F = 124-125$ °C

Mode opératoire : à une solution de 2.0 g (5.5 mmol, 1 éq) de 5-(*N,N*-diméthylamino)-2-nitrophénol **145** dans 40 mL d'éthanol absolu ajouter du nickel de Raney en quantité catalytique et placer à l'hydrogénateur sous 1 bar d'hydrogène pendant 2h00 à température ambiante. Verser la solution résultante dans un ballon puis ajouter 0.98 mL (8.8 mmol, 1.6 éq) de pyruvate d'éthyle et chauffer au reflux pendant 3h00. Filtrer sur célite, concentrer le filtrat sous pression réduite pour donner une huile marron. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant du dichlorométhane pour conduire à une poudre jaune (542 mg, $\eta=41$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.49 (d, 1H, H_5 , $^3J=9.0$ Hz), 6.76 (dd, 1H, H_6 , $^3J=9.0$ Hz, $^4J=2.8$ Hz), 6.57 (d, 1H, H_8 , $^4J=2.8$ Hz), 3.05 (s, 6H, $(CH_3)_2$), 2.35 (s, 3H, CH_3).

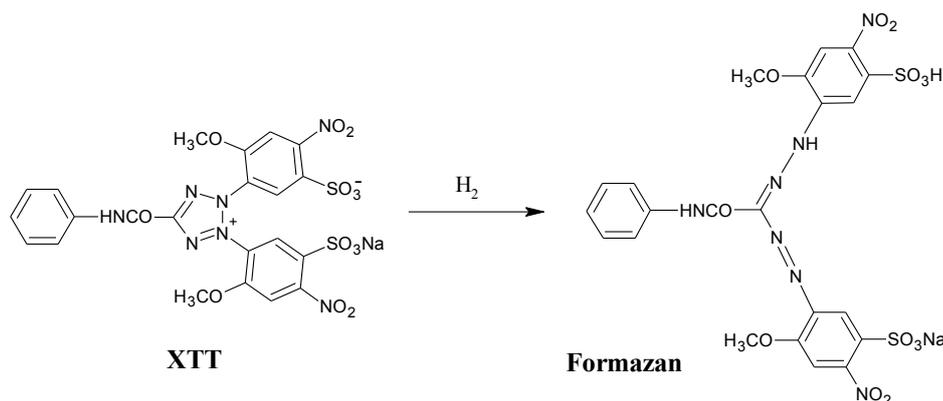
IR (KBr), cm^{-1} : 1717 $\nu_{C=O}$.

ETUDE PHARMACOLOGIQUE

A. PRESENTATION DES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

1. Principe du test XTT

Le nombre de cellules se détermine indirectement par estimation de l'activité mitochondriale. Ces essais colorimétriques non radioactifs ont été décrits pour la première fois par Scudiero et al.¹³⁸ Le test XTT est basé sur l'hydrogénation par les déshydrogénases mitochondriales du jaune de tétrazolium sodique XTT (l'acide 5,5'-(5-phénylaminocarbonyl-2,3-tétrazolio)-bis(4-méthoxy-2-nitrobenzènesulfonique sous forme d'hydrate du sel sodique) en un colorant orangé, le formazan.



L'hydrogénation a lieu dans les mitochondries actives et est donc corrélée avec le nombre de cellules vivantes. Etant donné que les spectres UV du XTT et du formazan sont différents, on peut mesurer la quantité de formazan par spectrophotométrie à 490 nm.

La métabolisation du XTT en formazan dépend, d'une part, du nombre de cellules et d'autre part, du temps de réaction ; plus le temps d'incubation des cellules avec le XTT est long, plus grande est la quantité de formazan formée. De ce fait, il est nécessaire d'opérer avec un temps d'incubation identique dans les essais contrôle et test.

Sur chaque plaque de microtitration, les contrôles correspondants sont réalisés ; le contenu de chaque plaque peut être traité simultanément.

Cependant, il est plus difficile de suivre la croissance d'une culture au cours du temps (ex : 24 h., 48 h., 72 h. d'incubation). Dans ce cas, les temps d'incubation avec le XTT doivent être rigoureusement respectés. On peut alors introduire la valeur du blanc comme référence.

2. Matériel et méthodes

• Cellules

Les cellules sont repiquées et cultivées dans leur milieu d'origine. *Au jour 1 de l'essai*, les cellules sont centrifugées et mises en suspension dans le milieu RPMI-1640 / 10% FCS ; la suspension de cellules est déposée sur des plaques à microtitration à 96 puits. Puis les microplaques sont mises à incuber pendant une nuit dans une étuve à 37 °C, à 5% de CO₂ et à 95% d'humidité atmosphérique.

¹³⁸ D.A. Scudiero, R.H. Shoemaker, K.D. Paull, A. Monks, S. Tierney, T.H. Nofziger, M.J. Currens, D. Seniff et M.R. Boyd, Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines, *Cancer Res.*, **1988**, 48, 4827-4833.

- *Substances tests*

La solution initiale des substances tests (10 mg/mL) est effectuée dans le DMSO. Les dilutions initiales de ces solutions sont réparties en aliquotes dans de petits tubes en polypropylène et stockées à -20 °C.

Au jour 2 de l'essai, les substances sont décongelées et diluées avec le Biomek-Automate 2000 dans les microplaques à 96 puits. Le milieu de dilution est le RPMI-1640 / 10% FCS. Pour chaque substance, on prépare 5 concentrations. Pour les tests de screening, les concentrations finales sont essayées selon la règle suivante ($\mu\text{g/mL}$) : 0,003, 0,032, 0,316 et 31,6. Ensuite, le Biomek-Automate 2000 transporte les substances concentrées 3 fois et les milieux de contrôle respectifs dans les microplaques préparées le jour 1 de l'essai. Les microplaques sont placées dans une étuve à 37 °C, à 5% de CO₂ et à 95% d'humidité atmosphérique, pendant une période de 21 à 45 h..

- *Essai XTT*

1 mg/mL de XTT (Sigma) est dissous dans le RPMI-1640 (sans rouge de phénol). La solution de XTT est congelée à -20 °C. Parallèlement, une solution (0,383 mg/mL) de PMS (métisulfate de *N*-méthyldibenzopyrazine, Sigma) en tampon phosphate est préparée, répartie en aliquotes et congelée à -20 °C.

Au jour 3 de l'essai (après 21 h. d'incubation) et *au jour 4 de l'essai* (après 45 h. d'incubation), 75 μL / puits de mélange XTT-PMS sont déposés sur les microplaques incubées pendant 21 à 45 h. en présence de la substance test, au moyen du Biomek-Automate 2000. Peu de temps avant son emploi, la solution de XTT est mélangée avec la solution de PMS dans le rapport 50 / 1 (v / v). Ensuite, les microplaques sont placées dans l'incubateur Biomek-Automate et sont incubées à 37 °C et à 100% d'humidité atmosphérique. Après 3 h., le Biomek-Automate place les microplaques dans le photomètre afin de mesurer la densité optique à 490 nm.

- *Dépouillement des résultats*

Le Log-File du Biomek-Software (Bioworks) a été chargé dans le logiciel Excel. Un ExcelMakro scanne automatiquement le Log-File d'après les données du photomètre, fait la moyenne des mesures correspondantes et donne les écarts-type, calcule l'inhibition (par rapport au contrôle) de chaque substance en fonction de la concentration et établit un résultat de screening à partir duquel les données brutes, les moyennes, les écarts-type et les courbes concentration / activité sont fournies pour une substance donnée vis-à-vis de la lignée cellulaire étudiée.

- *Protocole du test XTT pour les lignées cellulaires spéciales*

Pour la mise en œuvre du test-XTT sur le Biomek-Automate, il était nécessaire, pour chaque lignée cellulaire en cause, de fixer les paramètres suivants :

1. Détermination du nombre de cellules à utiliser
2. Mise en évidence de la prolifération
3. Adaptation au standard RPMI-1640
4. Détermination de la concentration maximale des solutions
5. Caractérisation au moyen de substances de référence.

1. On utilise des nombres différents de cellules / puits et on choisit le nombre de cellules qui se situe dans le segment moyen de la courbe de corrélation linéaire : nombre de cellules / extinction du XTT.

2. Pour la mise en évidence de la prolifération, on doit détecter que les cellules, après 48 h. d'incubation, provoquent une extinction supérieure à celle correspondant à 24 h. d'incubation.

3. Dans un but de simplification, toutes les lignées cellulaires utilisées sont adaptées au standard RPMI-1640 / 10% FCS. Pour cette raison, on effectue sur chaque lignée des essais comparatifs, dans lesquels on devra mettre en évidence que, dans le RPMI-1640, il existe une linéarité de l'extinction du XTT en fonction du nombre de cellules utilisées (cf.1), et que les cellules prolifèrent encore (cf.2).

4. Pour chaque lignée, on contrôlera la sensibilité individuelle vis-à-vis du DMSO, solvant standard, c'est-à-dire que l'on déterminera la concentration maximum en DMSO qui n'exerce aucune influence sur le comportement de la prolifération.

5. Chaque lignée est caractérisée pharmacologiquement par des tests au moyen d'une substance de référence : la **vincristine**.

3. Essai d'activité

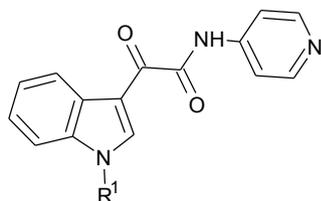
Le screening des substances par le test XTT a été effectué sur quatre lignées cellulaires différentes :

Lignée cellulaire	Type de tumeur	Espèce	Composé de référence vincristine CI ₅₀ µg/mL
KB	Epiderme	humaine	0,001
SK-OV-3	Ovaires	humaine	0,004
NCL-H460	Poumons	humaine	0,027
SF-268	Système nerveux central	humaine	0,006

B. RESULTATS

1. Série A : (indol-3-yl)glyoxamides substitués sur le groupement 4-chlorobenzyle

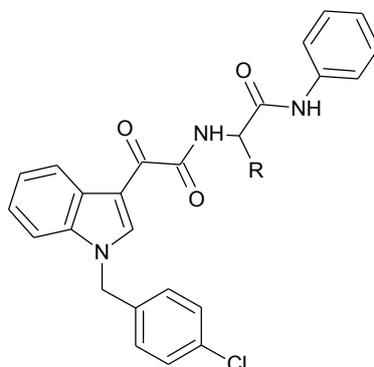
Tableau 1 : Activité antitumorale des composés de la série A



N°	R ¹	Cellules tumorales			
		KB Cl ₅₀ (μg/mL)	SK-OV-3 Cl ₅₀ (μg/mL)	NCL-H460 Cl ₅₀ (μg/mL)	SF-268 Cl ₅₀ (μg/mL)
D-24851		0,017	0,030	0,064	0,077
19		0,017	0,005	0,007	2,858
20		1,689	2,242	1,273	0,895
21		1,315	1,029	1,413	2,282
23		519,3	157,0	ND	0,042
24		0,187	0,137	0,096	0,138
25		0,284	0,491	0,228	0,223
27		0,296	2,480	0,291	0,319

2. Série B : (indol-3-yl)glyoxamides avec insertion d'un acide aminé

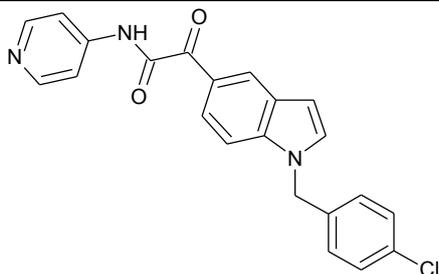
Tableau 2 : Activité antitumorale des composés de la série B



N°	R	Cellules tumorales			
		KB Cl ₅₀ (µg/mL)	SK-OV-3 Cl ₅₀ (µg/mL)	NCL-H460 Cl ₅₀ (µg/mL)	SF-268 Cl ₅₀ (µg/mL)
31	H	0,216	0,017	0,136	0,015
43	CH ₃	6,44	8,07	1,49	2,15
44	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	270,8	0,224	1,11	0,004

c. Série C : 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-5-yl]-2-oxo-*N*-(pyridin-4-yl)acétamide 101

Tableau 3 : Activité antitumorale du composé de la série C

	Cellules tumorales			
	KB Cl ₅₀ (µg/mL)	SK-OV-3 Cl ₅₀ (µg/mL)	NCL-H460 Cl ₅₀ (µg/mL)	SF-268 Cl ₅₀ (µg/mL)
	ND	18,49	0,331	67,0

C. DISCUSSION

Parmi les 10 molécules testées, seuls les composés **19**, possédant un groupement nitro en position 3 du 4-chlorobenzyle, et **31**, intercalant un motif glycine au niveau de la fonction glyoxamide, affichent les niveaux d'activité du D-24851 sur trois types de lignées cellulaires (KB, SK-OV-3, NCL-H460) et deux types de lignées cellulaires (SK-OV-3, SF-268), respectivement (Tableau 1 à 3).

Cependant, aucune pharmacomodulation ne permet d'améliorer le profil pharmacologique des composés de référence, le D-24851 et la vincristine.

Dans la série A, l'introduction d'un substituant en position 2 ou 3 du 4-chlorobenzyle entraîne une diminution générale de l'activité antitumorale, montrant l'importance de ce motif monosubstitué par un chlore en position 4.

Pour le composé **101**, il est également très clair que la position 3 de l'enchaînement *N*-(pyridin-4-yl)glyoxamide sur le noyau indolique est primordiale pour l'activité pharmacologique. En effet, son déplacement en position 5 de l'hétérocycle azoté rend le composé très peu actif.

Enfin, en série B l'intercalation d'un acide aminé alanine ou isoleucine entre le carbonyle et la 4-aminopyridine de la fonction glyoxamide diminue l'activité, montrant l'intérêt de l'enchaînement direct des deux carbonyles et de la 4-aminopyridine.

PARTIE II SYNTHÈSE DE COMPOSÉS PYRIDOPYRAZINIQUES
INHIBITEURS DE PROTÉINE-KINASES

INTRODUCTION

Les protéine-kinases sont des enzymes clés des voies de signalisation cellulaire ; elles jouent notamment un rôle majeur dans de nombreux processus de régulation cellulaire, tels que la mitose, la différenciation, la croissance, l'oncogenèse, l'angiogenèse, la survie cellulaire ou l'apoptose. Elles interviennent également dans les modifications de la forme cellulaire, les mécanismes d'adhésion, de contrôle du cycle cellulaire, d'activation des cellules immunitaires LB et LT (lymphocytes B et T), de réponses aux stimuli externes, d'activation plaquettaire, de contrôle de la transcription ainsi que dans l'assimilation du glucose. Des perturbations fonctionnelles de ces enzymes entraînent différentes pathologies comme le diabète, l'athérosclérose et le cancer. Dans de nombreux cas de tumeurs humaines, des récepteurs à activité tyrosine-kinase sont surexprimés ; ainsi, l'inhibition de protéine-kinases représente un traitement thérapeutique prometteur en chimiothérapie anticancéreuse d'autant qu'elle permet de préserver la majorité des cellules saines et ainsi de diminuer les effets néfastes d'un traitement.

A. GENERALITES : LES PROTEINE-KINASES ET LES VOIES COMPLEXES DE SIGNALISATION¹³⁹

Le fonctionnement des cellules de notre organisme est gouverné par des molécules signalisatrices telles que les neuromédiateurs (acétylcholine, dopamine, adrénaline, sérotonine...), les hormones peptidiques (insuline, glucagon et hormones hypophysaires) et les facteurs de croissance (facteur de croissance neuronal NGF, facteur de croissance épithélial EGF) ; elles sont sécrétées ou exprimées à la surface des cellules, puis captées par des récepteurs exprimés à la surface d'une autre cellule. L'arrivée de la plupart des molécules signalisatrices sur leur récepteur enclenche une série de réactions intracellulaires qui sont responsables du comportement de la cellule, entre autre de sa prolifération et de sa différenciation.

1. Les protéine-kinases

L'action des kinases consiste en la catalyse du transfert du γ -phosphate de l'ATP vers le groupement hydroxyle de résidus tyrosyls (protéine-tyrosyl-kinases, tyrosyl-kinases ou tyrosine-kinases) ou sur des résidus séryls et thréonyls de protéines substrats (protéine-séryl/thréonyl-kinases, sérine/thréonine-kinases ou simplement protéine-kinases). Toute protéine phosphorylée par une kinase peut être déphosphorylée par une phosphatase. Cette phosphorylation sert d'interrupteur et de connecteur moléculaire puisqu'elle active ou désactive des enzymes et permet la reconnaissance spécifique du résidu phosphorylé par les effecteurs et/ou transducteurs du signal. Elle est une des voies majeures de la signalisation cellulaire, qui existe chez l'ensemble du règne eucaryote. En effet, la phosphorylation des tyrosines permet la transmission des signaux qui régulent de nombreux processus cellulaires dont la mitose, la progression du cycle cellulaire et la différenciation. Le rôle de certaines protéine-kinases dans la tumorigenèse est évident, du fait de leur capacité à transformer des cellules saines en cellules tumorales notamment lorsque ces protéines kinases sont mutées, lorsqu'elles ne sont plus régulées ou lorsqu'elles sont surexprimées. Le rôle des protéines kinases dans la genèse d'un cancer en fait donc une cible thérapeutique d'intérêt.

¹³⁹ K.S. Kolibaba et B.J. Druker, Protein tyrosine kinases and cancer, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1997**, 1333, F217-F248.

L'activation des protéine-kinases requiert différents processus :

- la liaison d'un messenger intracellulaire ; c'est le cas des séryl/thréonyl kinases telles que les CaM-kinases qui sont activées par la calmoduline et le calcium ou les PKC (protéine-kinase C), activées par le diacylglycérol,
- la liaison d'un médiateur ; c'est le cas de nombreux récepteurs à activité tyrosine-kinase et de quelques récepteurs à activité sérine/thréonine-kinase,
- l'interaction protéine-protéine ; c'est le cas des tyrosines kinases cytosoliques associées à un récepteur et de quelques sérine/thréonine kinases cytosoliques particulières comme l'IRAK (« IL-1R1-associated protein kinase ») et l'IKK (« I κ B kinase »). L'interaction de protéine kinases avec un récepteur peut aussi faire intervenir des protéines adaptatrices avec plusieurs processus d'interaction protéine-protéine successifs, par exemple les MAP-kinase-kinase-kinases (MAP= « Mitogen-activated protein »),
- la phosphorylation par une autre protéine kinase (voie des MAP kinases).

2. Les protéines adaptatrices

Les protéines adaptatrices sont constituées essentiellement des petites protéines G (il existe cependant d'autres protéines adaptatrices telles que les protéines à domaine SH2 ou « Src homology 2 », les protéines adaptatrices GEP « guanine nucleotide exchange proteins », les petites protéines G Ras, les protéines GAP « GTPase-activating proteins »...). Elles sont des intermédiaires indispensables dans de nombreuses voies de signalisation impliquant des protéine-kinases.

Les petites protéines G possèdent une activité GTPasique intrinsèque. Elles sont regroupées sous le terme générique de GTPases de la superfamille Ras et on les regroupe en cinq familles selon des analogies de structure et de fonction :

- la famille Ras dont les membres (Ha-Ras, Ki-Ras, N-Ras...) régulent principalement la transcription des gènes en mettant en jeu les MAP-kinases,
- la famille Rho/Rac/Cdc42 dont les membres (RhoA à E, RhoG, Cdc42...) sont impliqués principalement dans la transcription des gènes en mettant en jeu les MAP-kinases et dans l'organisation du cytosquelette en mettant en jeu de multiples effecteurs, diverses séryl/thréonyl-kinases,
- la famille Rab (Rab1A et B, Rab2...) dont les membres sont impliqués dans le trafic des vésicules intracellulaires et participent au contrôle des phénomènes de fusion membranaire caractéristiques des processus d'endocytose et d'exocytose,
- la famille Arf/Sar1 (Arf1 à 6, Arl1 à 7, Sar1a et b...) est impliquée également dans le trafic des vésicules intracellulaires et les fusions membranaires,
- la famille Ran (un seul membre connu, Ran) est impliquée dans la régulation du transport nucléocytoplasmique au cours des phases G1 et G2 du cycle cellulaire et dans l'organisation des microtubules pendant la phase M.

Les petites protéines G existent sous deux formes : la forme inactive liant le GDP et la forme active liant le GTP. Leur activation par des signaux en amont de la voie de signalisation entraîne une perte d'affinité pour le GDP, qui est libéré dans le cytoplasme. Elles se lient au GTP, engendrant un changement de conformation favorable à l'interaction de la protéine G avec une protéine effectrice, par exemple la MAP-kinase Raf dans le cas des protéines Ras. Le signal est ensuite propagé par la petite protéine G.

Plusieurs protéines régulatrices sont associées aux petites protéines G. On peut notamment citer les protéines activatrices GEP (« guanine nucleotide exchange proteins ») qui augmentent l'échange GDP/GTP, les protéines inhibitrices GDI (« GDP dissociator

inhibitor ») dont l'activité s'oppose à celle des GEP et les protéines GAP (« GTPase-activating proteins ») qui activent l'activité GTPasique.

3. Voie des MAP kinases^{140,141}

Les MAP kinases (« Mitogen-activated protein kinases ») font partie des systèmes de transduction du signal les plus étudiés. Ces protéine-kinases sont activées en cascade par des signaux aussi divers que des facteurs de croissance, des mitogènes, des hormones ou des cytokines. La voie des MAP kinases est impliquée dans de nombreux processus physiologiques cellulaires comme le développement, la différenciation, la division, la motilité et l'apoptose. Les MAP kinases sont constituées de modules de signalisation qui transmettent des signaux extracellulaires de la membrane au noyau. Ces modules sont formés de trois protéine-kinases qui s'activent l'une l'autre par des phosphorylations successives (figure 1). Les MAPKKK, MAP-kinase-kinase-kinases sont des sérine/thréonine kinases qui phosphorylent des MAP-kinase-kinases ; elles sont activées par phosphorylation ou par interaction avec des petites protéines G. Les MAPKK, MAP-kinase-kinases sont des protéine-kinases mixtes qui phosphorylent des résidus tyrosyls et thréonyls des MAP-kinases. Les MAPK, MAP-kinases sont des sérine/thréonine-kinases qui phosphorylent des facteurs de transcription et diverses sérine/thréonine-kinases. La voie des MAP kinases est divisée en trois sous-groupes : la voie de ERK (« Extracellular regulated kinase ») est activée en réponse à des facteurs de croissance et des mitogènes, et joue un rôle clé dans la prolifération cellulaire, la survie et la différenciation ; la voie de JNK (« jun-N-terminal kinase ») et de p38 sont activées en réponse au stress et à des cytokines.

L'activation de la cascade Ras/Raf/MEK/ERK est impliquée dans de nombreuses fonctions cellulaires telles que la prolifération cellulaire, l'arrêt du cycle cellulaire, la différenciation et l'apoptose.

Tous les récepteurs à activité tyrosine-kinase et de nombreux autres récepteurs de la surface cellulaire stimulent l'échange GTP/GDP de la petite protéine G Ras, activée par le facteur d'échange du nucléotide guanine, Sos (« son of sevenless »). Sous sa forme active liée au GTP, Ras interagit avec des protéines effectrices telles que Raf (MAPKKK) et PI-3 kinase (« phosphatidylinositol 3-kinase ») afin de stimuler de nombreux événements cellulaires. L'activation de Raf engendre la stimulation de la MAPKK (MEK1 et MEK2, aussi appelées MKK1 et MKK2) par phosphorylation d'un résidu sérine de la boucle d'activation. MAPKK phosphoryle ensuite la MAPK (ERK1 et ERK2 également appelées p44 et p42MAPK) sur des résidus tyrosine et thréonine de la boucle d'activation. La MAPK activée phosphoryle à son tour une variété de substrats de liaison du cytoplasme et de la membrane plasmique (EGFR, Sos). De plus, la MAPK est rapidement transloquée dans le noyau où elle phosphoryle et active des facteurs de transcription qui régulent entre autre l'entrée des cellules dans le cycle cellulaire et la différenciation cellulaire.

La protéine Ras est activée par des mutations dans environ 30 % des cancers chez l'homme. La mutation de Ras est notamment rencontrée dans les cancers du pancréas, de la thyroïde, du poumon et les cancers colorectaux. La protéine Ras constitue donc une cible privilégiée dans le traitement des cancers. De même, la protéine Raf constitue elle aussi une cible potentielle dans le traitement des cancers. En effet, des expériences ont montré que la kinase Raf-1 joue un rôle dans le développement tumorale. Il est donc évident que la

¹⁴⁰ C. Peyssonnaud et A. Eychène, The Raf/MEK/ERK pathway: new concepts of activation, *Biology of the Cell*, **2001**, 93, 53-62.

¹⁴¹ R.A. Hilger, M.E. Scheulen et D. Strumberg, The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of cancer, *Onkologie*, **2002**, 25, 511-518.

cascade Ras/Raf/ERK/MEK est très importante dans la cancérogenèse et elle constitue ainsi une cible intéressante en thérapie anticancéreuse.

EGFR Receptor Family Signal Transduction

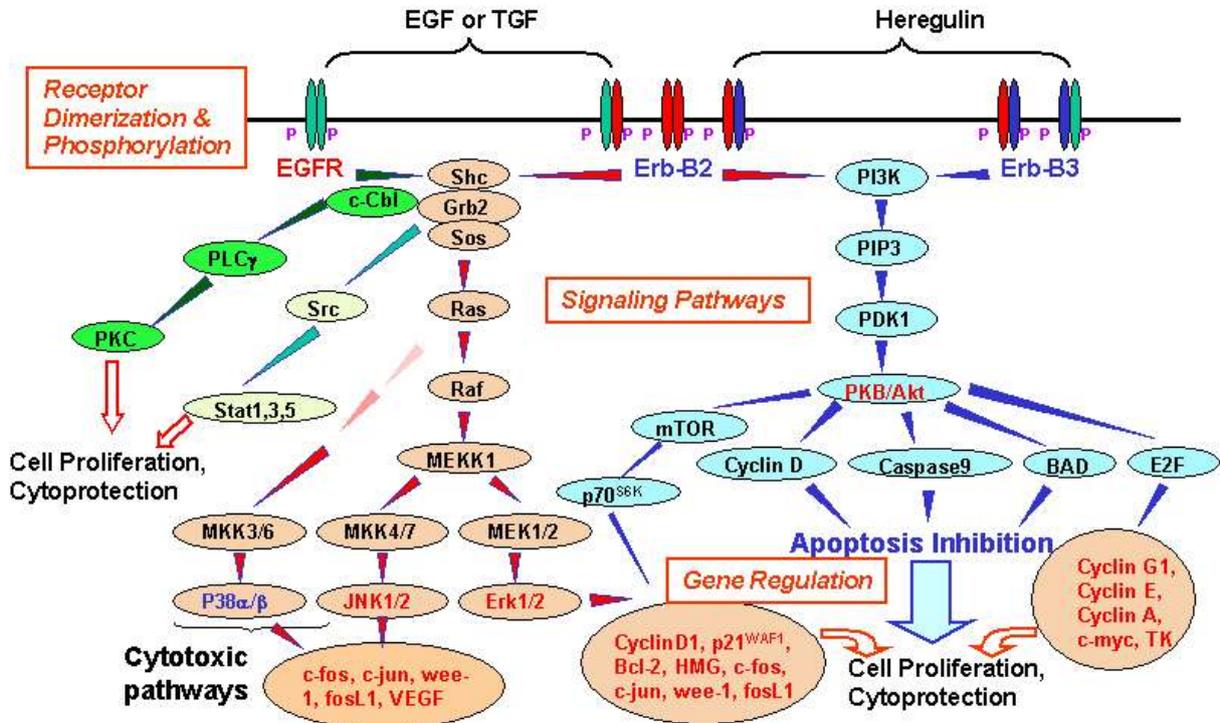


Figure 1 – Voie des MAP kinases

4. Récepteurs à activité tyrosine-kinase¹⁴²

a. Généralités

Les protéines les plus souvent surexprimées dans les cellules tumorales sont celles de la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase (RTKs). Parmi les récepteurs à activité tyrosine-kinase, on peut citer plusieurs familles, regroupées en fonction d'analogies de structure de leur extrémité extracellulaire : la famille du récepteur de l'EGF (« epidermal growth factor »), la famille des récepteurs de l'insuline et de l'IGF (« insulin-like growth factor »), la famille du récepteur du PDGF (« platelet derived growth factor »), la famille des récepteurs du VEGF (« vascular endothelial growth factor »), la famille des récepteurs du FGF (« fibroblast growth factor »), la famille des récepteurs du NGF (« nerve growth factor »), la famille du récepteur HGF (« hepatocyte growth factor ») et la famille des récepteurs Eph (ephrine).

Ces récepteurs ont tous en commun un domaine C-terminal extracellulaire qui fixe le ligand, une unique hélice α transmembranaire et un domaine C-terminal cytosolique possédant l'activité de protéine tyrosine-kinase (figure 2). Lorsqu'un ligand, tel qu'un facteur de

¹⁴² T. Rajkumar, Growth factors and growth factor receptors in cancer, *Current Science*, 2001, 81 (5), 535-541.

croissance, atteint le domaine extracellulaire des récepteurs à activité tyrosine-kinase, l'activité kinasique de leur domaine C-terminal est activée, engendrant l'autophosphorylation du récepteur et la phosphorylation des protéines cibles intracellulaires qui vont propager le signal amorcé par la fixation du facteur de croissance. Tous les récepteurs à activité tyrosine-kinase sont activés par une dimérisation (sauf la famille des récepteurs à l'insuline).



Figure 2 – Récepteur de l'EGF

En plus du rôle central dans le contrôle de l'activité des protéines tyrosine-kinases, l'autophosphorylation des tyrosines des récepteurs à activité tyrosine-kinase est déterminante pour le recrutement et l'activation d'une variété de protéines de signalisation. La plupart des sites d'autophosphorylation des tyrosines sont localisés dans la région non catalytique de la molécule réceptrice. Ces sites correspondent aux sites de liaison des domaines SH2 ou PTB (« Phospho tyrosine binding ») des protéines de signalisation en aval du récepteur. En effet, les protéines de signalisation contiennent des domaines SH2 et PTB dont les formes sont variables. Ces domaines modulaires lient spécifiquement et avec une grande affinité les tyrosines phosphorylées des récepteurs et assurent ainsi, la première étape de transduction du signal depuis les récepteurs vers les protéines de signalisation. Le recrutement à la membrane des protéines de signalisation stimulées par la phosphorylation de tyrosine est également assuré par une famille de protéines, les protéines d'ancrage ou « docking » protéines. Elles contiennent toutes à leur extrémité N-terminale un signal ciblant la membrane et à leur extrémité C-terminale une large région contenant de multiples sites de liaison pour les domaines SH2 des protéines de signalisation.

b. Récepteur de l'EGF^{143,144}

Parmi les récepteurs à activité tyrosine-kinase, le plus étudié est celui de l'EGF car il est surexprimé dans beaucoup de tumeurs solides dont celles des cancers du poumon non à petites cellules, de la tête, du cou et des ovaires. Différentes études ont montré que le récepteur de l'EGF n'est pas uniquement impliqué dans la prolifération cellulaire, mais également dans de nombreux processus essentiels pour la progression tumorale, tels que la motilité cellulaire, l'adhésion cellulaire, l'invasion, la survie cellulaire et l'angiogénèse (figure 3).

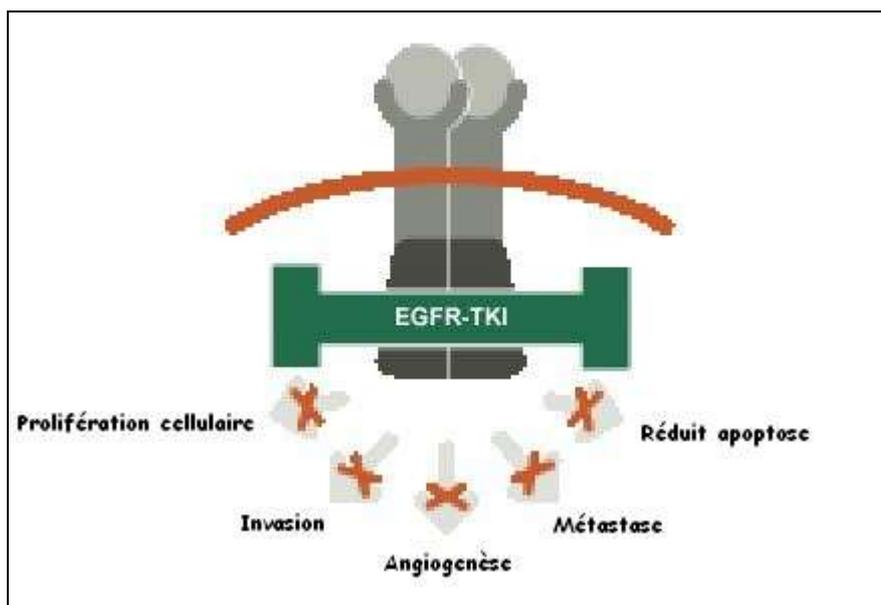


Figure 3 – Inhibition du récepteur de l'EGF

b.1. EGFR et angiogénèse

La production de nouveaux réseaux de vascularisation est un processus clé dans le développement tumoral. De nombreux oncogènes, dont les facteurs de croissance et leurs récepteurs respectifs, jouent un rôle important dans ce processus. Le VEGF et ses récepteurs associés en sont les exemples les plus remarquables. Mais le rôle de EGFR et de ses ligands est également essentiel à ce processus. Ainsi, la co-expression de EGFR et de TGF- α est corrélée avec une forte densité de microvaisseaux dans les cancers du poumon invasifs.

b.2. EGFR et apoptose

Il a été clairement démontré que l'EGF est un anti-apoptique dans les cellules surexprimant EGFR telles que dans les tumeurs solides. De plus, l'inhibiteur de l'EGFR, CP-358,774, augmente l'apoptose des cellules de carcinomes HN5. Ainsi, le récepteur à EGF est impliqué dans la prolifération et dans la survie cellulaires. D'autres agents, tels que le PD153035 ou l'anticorps C225, induisent également l'apoptose des cellules tumorales.

¹⁴³ D. Fabbro, S. Ruetz, E. Buchdunger, S.W. Cowan-Jacob, G. Fendrich, J. Liebetanz, J. Mestan, T. O'Reilly, P. Traxler, B. Chaudhuri, H. Fretz, J. Zimmermann, T. Meyer, G. Caravatti, P. Furet et P.W. Manley, Protein kinase as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs, *Pharmacology & Therapeutics*, **2002**, 93, 79-98.

¹⁴⁴ J.R. Grandis et J.C. Sok, Signaling through the epidermal growth factor receptor during the development of malignancy, *Pharmacology & Therapeutics*, **2004**, 102, 37-46.

b.3. EGFR et le cycle cellulaire

Il a été également montré que EGF induit la cycline D, protéine requise pour la progression cellulaire en phase G1, dans des lignées cellulaires de cancers de la prostate chez l'homme. Ainsi, l'inhibiteur de l'EGFR, CP-358,774 inhibe la prolifération cellulaire *in vitro* dans des tumeurs du colon chez l'homme, et bloque également la progression du cycle cellulaire en G1. De même, l'anticorps C225 induit l'arrêt en G1 dans les cellules de cancers de la prostate chez l'homme.

b.4. EGFR et motilité, invasion et métastases

Les ligands de la famille de l'EGF augmentent la motilité, l'adhésion et l'invasion des cellules tumorales, expliquant le pronostic défavorable pour les patients atteints d'un cancer surexprimant EGFR.

B. CONTROLE DU CYCLE CELLULAIRE

1. Cycle cellulaire

Tous les organismes sont constitués de cellules qui se multiplient par division cellulaire. Un adulte humain a environ 100.000 milliards de cellules, toutes originaires d'une même cellule, la cellule œuf fertilisée. Chez un adulte, les cellules sont en division continue afin de remplacer celles qui disparaissent. Avant qu'une cellule puisse se diviser, il faut qu'elle grandisse jusqu'à une certaine taille, qu'elle duplique ses chromosomes puis que les deux jeux de chromosomes soient correctement séparés pour donner deux cellules filles identiques. Tous ces processus sont coordonnés durant le cycle cellulaire.

Le cycle de division cellulaire comporte dans la plupart des cellules des eucaryotes quatre phases distinctes : M, G1, S et G2. La phase M ou mitose ou division nucléaire correspond à la séparation des chromosomes ; elle est habituellement suivie de la cytodierèse (division de la cellule en deux cellules filles). Les phases G1, S et G2 constituent l'interphase, phase pendant laquelle la croissance cellulaire et la réplication de l'ADN s'effectuent de manière coordonnée en vue de la mitose. La phase G1 (gap 1) correspond à l'intervalle séparant la mitose du début de la réplication de l'ADN. Elle est suivie de la phase S (synthèse) pendant laquelle a lieu la réplication de l'ADN. La phase G2 débute lorsque la phase S est terminée ; pendant cette phase, la cellule poursuit sa croissance et synthétise des protéines en vue de la mitose. Certaines cellules de l'animal adulte tel que les neurones cessent de se diviser, d'autres cellules tels que les fibroblastes cutanés et les cellules d'organes comme le foie, le rein et le poumon, ne se divisent que ponctuellement pour remplacer des cellules perdues par agression ou suicide cellulaire. Ces cellules sont dites en quiescence ; elles quittent la phase G1 pour rentrer en G0, où elles restent métaboliquement compétentes et ne se divisent que quand elles seront sollicitées par les signaux extracellulaires appropriés.

La croissance, la réplication de l'ADN et la mitose exigent une coordination tout au long du déroulement du cycle. Afin de coordonner les divers événements qui ont lieu à chaque phase du cycle cellulaire, il existe un système de boucles de régulation et de points de contrôle (« checkpoints ») qui empêchent la cellule de passer à une phase du cycle avant d'avoir complété les événements de la phase précédente.

2. Contrôle du cycle cellulaire^{143,145,146}

Le cycle cellulaire est contrôlé par des facteurs extracellulaires, dont les facteurs de croissance, et par des facteurs intracellulaires, les points de contrôle (« checkpoints ») ainsi qu'une famille de sérine/thréonine-kinases constituées de complexes entre une cycline, sous-unité régulatrice, et une kinase dépendante des cyclines (CDKs), sous-unité enzymatique. Les cyclines sont des protéines présentes à des taux variables dans le cytoplasme des cellules selon les étapes du cycle cellulaire ; en effet, elles sont synthétisées à des moments différents du cycle cellulaire, se lient à des kinases spécifiques et permettent ainsi la progression du cycle. Elles sont ensuite dégradées de façon abrupte lors de la fin de leur activité par le système de l'ubiquitine. D'après le séquençage du génome humain, il existe treize CDKs et vingt-cinq cyclines. Certaines CDKs sont impliquées dans des fonctions autres que la régulation cellulaire ; par exemple, CDK5 et CDK11 ont des fonctions neuronales et CDK7, CDK8 et CDK9 jouent un rôle dans la transcription.

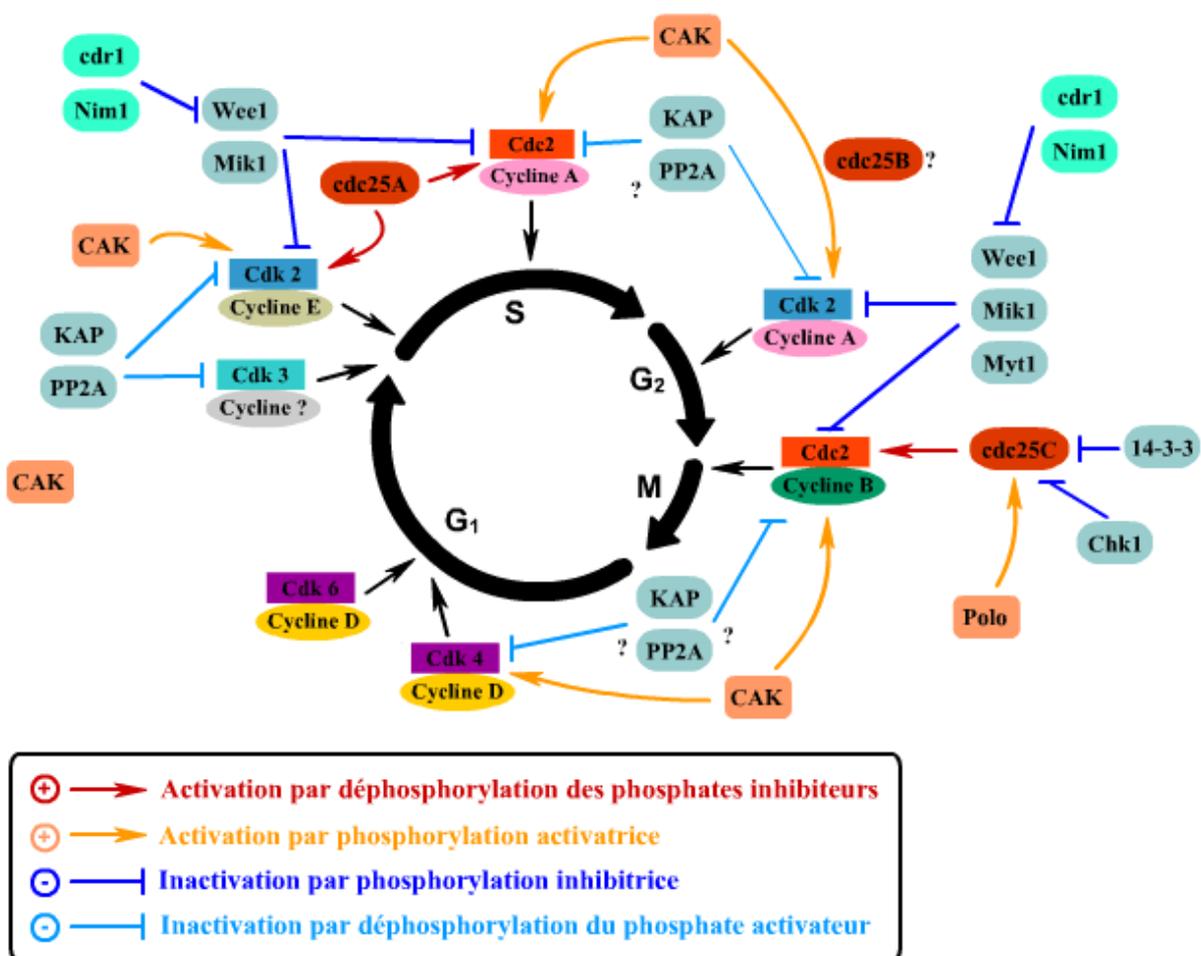


Figure 4 – Contrôle du cycle cellulaire par les kinases dépendantes des cyclines
Lorsque les cellules entrent dans le cycle cellulaire, la cycline D se complexe avec les CDK4 ou 6 (figure 4) ; ces complexes sont ensuite activés par phosphorylation des CDKs sur un résidu thréonine par la kinase activatrice des CDKs (CAK), permettant alors à la cellule de progresser en phase G₁. Le principal but des cyclines de la phase G₁ est d'inactiver les membres de la famille de protéines liées au facteur de transcription E2F, les « pocket-

¹⁴⁵ M.D. Garrett, Cell cycle control and cancer, *Curr. Science*, **2001**, 81 (5), 515-522.

¹⁴⁶ J. Pines, Cyclins, CDKs and cancer, *Seminars in Cancer Biology*, **1995**, 6, 63-72.

proteïn » (Rb110, p107 et p130) pour initier la phase S. Les facteurs de la famille « pocket » régulent la transcription des gènes impliqués dans la réplication de l'ADN et dans l'induction de l'expression des histones 2A et 2B, indispensables pour l'assemblage de l'ADN dans les nucléosomes ; ils sont donc essentiels pour l'initiation et la progression de la phase S. Les complexes cycline E/CDK2 et cycline A/Cdc2 (Cdc2=CDK1) contrôlent ensuite la progression des cellules de la phase G1 à la phase S. A la fin de la phase G1, après le point de restriction, la cellule peut entrer en phase S ; les complexes cyclines D/CDK sont inactivés alors que la cycline A se lie à Cdc2 pour permettre la transition G1/S.

Pendant la phase S, le complexe cycline A/CDK2 agit avec les membres de la famille E2F et en parallèle avec les cyclines E/CDK2 pour réguler l'expression des gènes nécessaires pour la réplication de l'ADN. Il joue ainsi un rôle dans l'induction des composants de la machinerie nécessaire pour la réplication mais il semble aussi qu'il joue un rôle dans l'activation par phosphorylation.

Les cyclines B entrent en jeu pour la phase G2. Le complexe cycline B/CDK1 (appelé « maturing promoting factor », MPF) permet l'avancement du cycle cellulaire en G2 et prépare la cellule pour la mitose. Le passage en G2 est strictement contrôlé par l'activité de CDK1, qui est elle-même régulée par deux protéines kinases et une phosphatase. Tout d'abord CDK1 est phosphorylée sur Thr-161 par CAK ce qui, dans un complexe avec cycline B, rend la kinase inactive. La phosphorylation suivante sur un résidu Thr-14 par la kinase Myt1 et sur Tyr-15 par la kinase Wee1 provoque l'inactivation, qui peut être annulée par l'activité d'une phosphatase, le cdc25 (figure 5). Au cours de la progression de G2 à M, l'activité de cdc25 est majoritaire, ce qui maintient CDK1 dans son état actif. Vers la fin de la mitose, à l'anaphase, Wee1 domine et le complexe est inactivé.

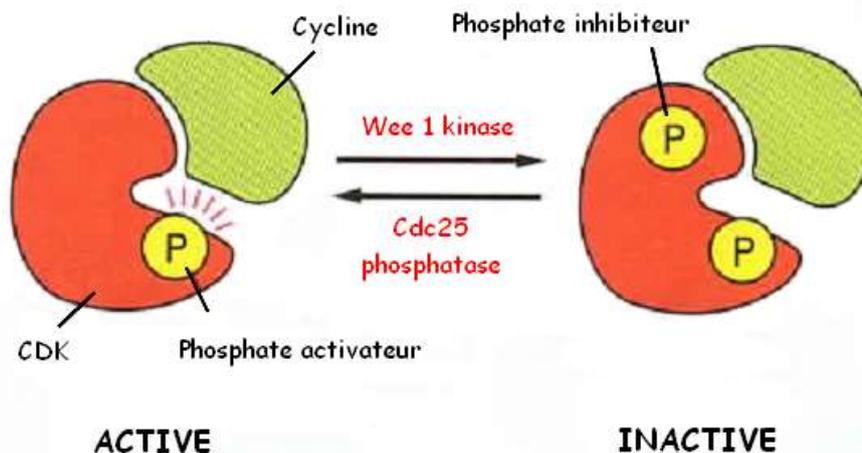


Figure 5 – Phosphorylation et déphosphorylation de CDK1

La phase M inclut différentes étapes de la division nucléaire (mitose) et de la division cytoplasmique (cytodiérèse). L'activité de cycline B/CDK1 permet la condensation de l'ADN (par action sur les histones H1 et H3 et sur la nucléoline), le désassemblage de l'enveloppe nucléaire (par action sur la lamine) et le réarrangement du cytosquelette pour former le fuseau mitotique et permettre la cytodiérèse (par action sur HsEg5, protéine « kinesin-related motor » associée aux centrosomes). A l'anaphase, les protéines Wee1 et Myt1 dominent et le complexe cycline B/CDK1 est inactivé. Cette inactivation permet la ségrégation des chromatides et la formation d'un anneau contractile d'actine, nécessaire à la cytodiérèse. La phase mitotique se termine avec la disparition de la cycline B par dégradation protéolytique contrôlé par l'ubiquitine ligase APC/C (« anaphase promoting complex/cyclosome »).

L'activité d'APC/C est augmentée par phosphorylation par la cycline B/CDK1, un effet rétroactif qui contrôle la sortie de la mitose. Si l'intensité du signal est insuffisante, les cellules commencent alors un nouveau cycle qui commence avec l'activation du complexe cycline D/CDK4 (ou 6).

3. Régulation des CDKs

Les CDKs sont régulées par des mécanismes d'activation et d'inhibition. Les mécanismes d'activation des CDKs comprennent d'une part, la liaison de la kinase à la cycline et, d'autre part, la phosphorylation du résidu activateur des CDKs (par exemple, Thr161 pour CDK2). Les mécanismes inhibiteurs interviennent à des degrés divers selon les CDKs. Il peut s'agir de phosphorylation de résidus inhibiteurs (par exemple, Thr14 et Tyr15 pour CDK2) ou encore d'interaction entre les complexes CDK/cycline et les CKI (« Cyclin dependant kinase inhibitor »).

a. Régulation des CDKs par les cyclines

L'activité des CDKs est régulée de façon post-transcriptionnelle par leur liaison aux cyclines. Cette liaison engendre des changements conformationnels de la CDK, permettant l'accès au site catalytique et rendant possible les phosphorylations activatrices et inhibitrices.

Les cyclines (sauf la cycline D) sont caractérisées par leurs taux variables selon les étapes du cycle cellulaire. Des mécanismes de dégradation des cyclines sont mis en place afin d'assurer la progression de la cellule dans le cycle. La protéolyse d'une cycline est indispensable à l'inactivation de la CDK qui lui est associée. Deux voies de dégradation sont impliquées dans la progression du cycle cellulaire : l'une impliquant cdc34 en G1/S, l'autre impliquant le complexe APC («Anaphase promoting complex») à la sortie de la mitose. Grâce à ces deux enzymes, les molécules d'ubiquitine se fixent au substrat, qui est alors reconnu par le protéasome 26S, ce qui entraîne la dégradation de la cycline et l'inactivation de la CDK. Ainsi, l'activité des CDKs est contrôlée par un cycle de synthèse/dégradation de leur cycline associée, tout au long du cycle cellulaire.

b. Régulation par phosphorylation

Chacune des deux sous-unités du complexe cycline/CDK est régulée par des phosphorylations et déphosphorylations successives. Cependant, la régulation de la phosphorylation des cyclines est de nos jours encore mal comprise.

L'activité des CDKs est régulée par les phosphorylations activatrices (sur des résidus Thr ou Ser selon les CDKs) et les phosphorylations inhibitrices (sur des résidus Tyr ou Thr). Il existe en fait deux niveaux de régulation par phosphorylation des complexes cycline/CDK : une phosphorylation inhibitrice ou activatrice (ou une déphosphorylation) directe sur les CDKs, ou une régulation indirecte *via* la phosphorylation inhibitrice ou activatrice des complexes régulateurs. Il existe donc des protéines déphosphorylant (Cdc25) ou phosphorylant (CAK, Wee-1) les CDKs, qui permettent également de contrôler l'activité des CDKs.

c. Régulation par les inhibiteurs de CDKs (CKIs)

L'activité des kinases dépendantes des cyclines est réglée non seulement par le niveau d'expression des cyclines et par phosphorylation, mais aussi par la présence d'inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines, les CKIs. Dans les cellules mammifères, deux classes de CKIs, les familles CIP/KIP («CDK interacting protein kinase/kinase inhibitory protein») et INK4 (« inhibitors of CDK4 »), ayant des spécificités tissulaires différentes, permettent le contrôle du cycle cellulaire en réponse à des signaux intra ou extracellulaires.

c.1. La famille INK4

Les membres de la famille INK4 ($p15^{INK4B}$, $p16^{INK4A}$, $p18^{INK4C}$ et $p19^{INK4D}$) sont des protéines qui se lient à CDK4 et CDK6, empêchant ainsi leur association avec la cycline D. Par inhibition de CDK4 et CDK6, ils empêchent la phosphorylation d'une protéine Rb fonctionnelle (Rb110) et bloquent ainsi la progression dans le cycle cellulaire. Les inhibiteurs INK4 sont des suppresseurs de tumeurs ; $p16^{INK4A}$ est fréquemment muté ou délété dans de nombreux cancers.

c.2. La famille CIP/KIP

Les inhibiteurs CIP/KIP ($p21^{CIP1}$, $p27^{KIP1}$ et $p57^{KIP2}$) fonctionnent comme des complexes hétérodimériques avec CDKs et cyclines (figure 6). Ils se lient et inhibent l'activité de la plupart des complexes cyclines/CDKs (dont CDK4, CDK6, CDK2 et CDK1) mais c'est pour le complexe cycline E/CDK qu'elles ont la plus grande affinité. Pour les complexes cyclines D/CDK4 et E/CDK2, la liaison de $p27^{KIP1}$ empêche la phosphorylation des résidus thréonine, inhibant ainsi l'activation de la kinase dépendante des cyclines. $P21^{CIP1/WAF1}$ interagit également avec la machinerie transcriptionnelle en se liant à PCNA, une ADN polymérase impliquée dans la réplication de l'ADN et de sa réparation. Du fait de son interaction avec toutes les CDKs et de sa capacité à arrêter la réplication de l'ADN, cet inhibiteur particulier peut arrêter ou ralentir le cycle cellulaire en G1, S, ou G2. Alors que les mutations dans $p21^{WAF/CIP}$ ne sont pas associées avec des cancers humains, des taux de $p27^{KIP1}$ anormalement bas le sont.

Les membres des familles INK4 et KIP/CIP entrent en compétition entre eux pour se lier aux kinases dépendantes des cyclines. Ainsi, la quantité totale de kinases couplées à une cycline moins la quantité de kinases couplées à un inhibiteur détermine le taux de progression à travers le cycle cellulaire.

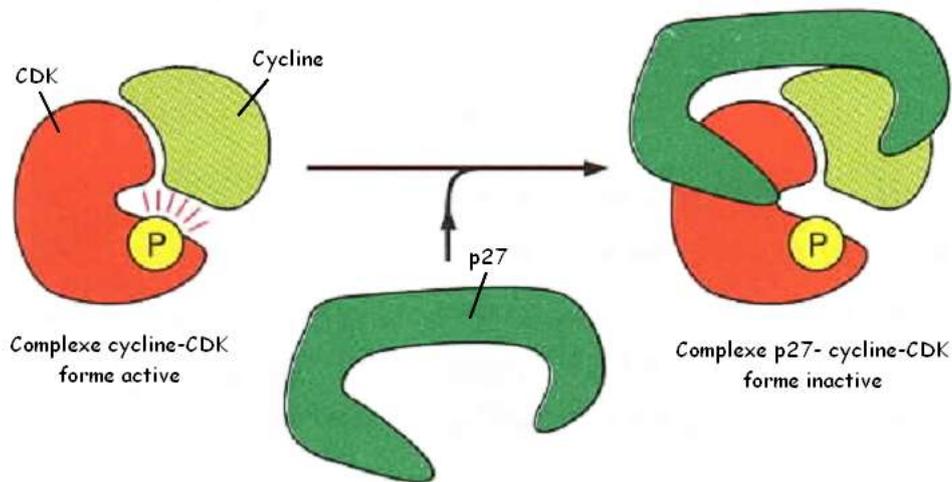


Figure 6 – Inhibiteurs CIP/KIP

4. « Checkpoints » = Points de contrôle

Le cycle cellulaire comporte trois « checkpoints », en G1 (départ), à la frontière S/G2 et durant la métaphase (figure 7).

Le premier point de décision se situe à la fin de G1 et régit le passage de G1 à S. Dans les cellules animales, ce point est appelé point de restriction. En présence de facteurs de croissance appropriés, la cellule franchit le point de restriction et débute sa phase S. Si le milieu est dépourvu des facteurs de croissance appropriés quand la cellule est en G1, la cellule ne dépasse pas le point de restriction ; elle s'engage alors dans l'état de quiescence G0. Ainsi, ce sont les facteurs de croissance qui sont responsables de l'initiation du cycle cellulaire. Mais tous les facteurs de croissance ne sont pas des stimulants de la croissance ; un en particulier, le TGF- β (« transforming growth factor bêta ») exerce un effet inhibiteur sur la prolifération des cellules épithéliales et endothéliales. Il ne bloque pas complètement la prolifération mais ralentit la progression en G1 en induisant l'expression d'un certain nombre d'inhibiteurs des CDKs (les CKIs) tels que p15^{INK4B}, p21^{WAF/CIP} et p27^{KIP1}. Le point de contrôle situé en G1 suspend le cycle cellulaire lorsque l'ADN est endommagé. Il y a dégradation de Cdc25A, ce qui arrête le cycle puisque les complexes cycline D/CDK4 et cyclines E, A/CDK2 ne peuvent plus être activés par Cdc25A. D'autre part, il y a accumulation dans la cellule de p53 qui induit l'expression de p21, inhibiteur des complexes cyclines E,A/CDK2. La p53 induit également la transcription d'enzymes de réparation de l'ADN (p53 est quelquefois appelé « gardien du génome »).

Deux autres points de contrôle ont pour rôle de s'assurer que les chromosomes incomplets ou endommagés ne se répliquent et ne soient légués aux cellules filles. C'est le cas du point de contrôle situé en G2, qui empêche que la mitose ne démarre avant la réplication complète de l'ADN. La cellule se met alors au repos afin de répliquer son génome en entier avant de reprendre le cycle en entamant sa mitose. Cette interruption a également lieu lorsque l'ADN a été endommagé, notamment par irradiation ; elle permet la réparation du dommage survenu dans l'ADN. L'autre point de contrôle majeur dont dépend l'intégrité du génome se situe vers la fin de la mitose ; il empêche que la répartition des chromosomes ne s'opère tant que le jeu de chromosomes destiné à chaque cellule fille n'est pas complet.

En phase G2, la protéine Rad9 est chargée de réparer les dommages de l'ADN. Elle forme un grand complexe de protéines qui s'associe à l'ADN et possède une activité exonucléase (enzyme capable de réparer l'ADN). L'activation de Rad9 active une lipide kinase ATM (ataxia-télangiectasia mutée, dénomination qui provient d'une maladie rare, se manifestant par une immunodéficience et une pré-disposition au développement des cancers) qui phosphoryle et active les points de contrôle Chk1 et Chk2 (« checkpoint protein kinase »). A partir de là, deux voies de signalisation suivent : l'activation de Chk1 résulte en l'inactivation de Cdc25 ; en conséquence, CDK1 est phosphorylée sur la tyrosine-15 par Wee1, elle devient alors inactive ce qui provoque un blocage en G2. L'activation de Chk2 a deux conséquences : elle provoque également l'activation de CDK1 par le même mécanisme que Chk1, entraînant l'arrêt en G2 et elle inactive également une protéine kinase « polo-like » (PLK1), protéine impliquée dans la formation des centrosomes, empêchant ainsi la ségrégation des chromosomes. De plus, l'inactivation de PLK1 provoque également l'inhibition de l'enzyme APC responsable de la dégradation des protéines médiée par l'ubiquitine ; les chromosomes ne se séparent pas et la cycline B n'est pas détruite, provoquant le blocage en mitose.

Il existe aussi un point de surveillance de l'attachement correct des chromosomes sur le fuseau mitotique, qui contrôle la transition entre métaphase et anaphase. En phase M, la protéine Mad2 (« Mitotic arrest deficient ») contrôle la ségrégation correcte des chromosomes en anaphase. Si une chromatide ne participe pas à la ségrégation, Mad2 se détache de son complexe (Mad1, Bub1= « budding uninhibited by benomyl », Bub2 et Mad2) et se lie à CDC20/APC, conduisant à son inactivation. Par conséquent, la protéine inhibitrice PDS1 n'est pas dégradée et les deux chromatides sœurs restent fermement attachées, les cellules sont alors bloquées en métaphase.

POINTS DE CONTROLE DU CYCLE CELLULAIRE = "CHECKPOINTS"

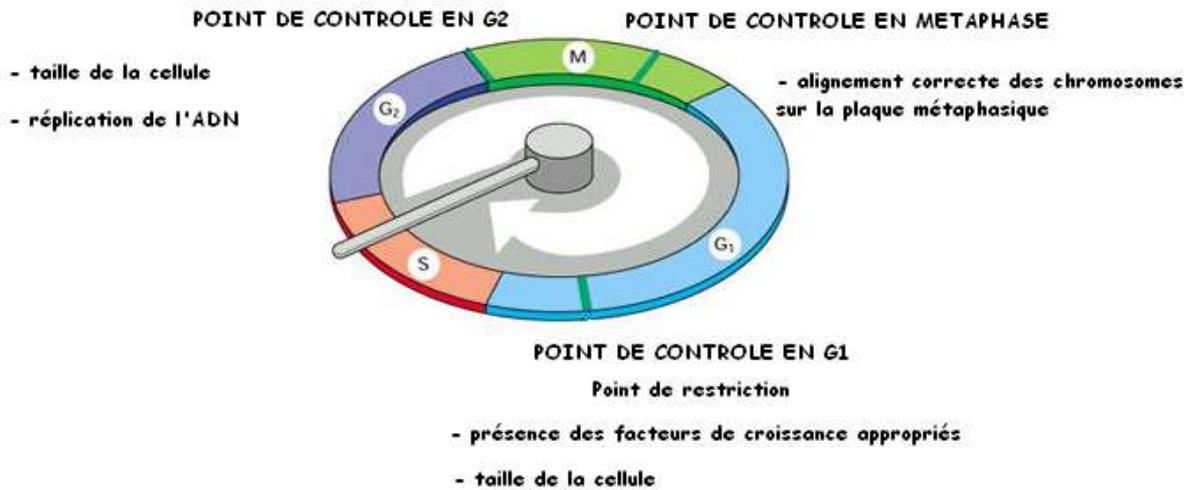


Figure 7 – Points de contrôle du cycle cellulaire

C. INHIBITEURS DE KINASES DEPENDANTES DES CYCLINES^{147,148,149,150,151,152}

Les inhibiteurs chimiques des CDKs sont susceptibles d'agir sur leurs cibles en interférant avec la liaison aux substrats ou à l'ATP, en interagissant avec les sites activateurs des CDKs, en empêchant l'activation par les cyclines, en mimant l'activation des CKI, en agissant sur le mécanisme de destruction des cyclines ou en intervenant dans la localisation cellulaire du complexe. Le plus souvent, ils agissent en se fixant sur le site de l'ATP, de manière compétitive ; ils bloquent la prolifération cellulaire par inactivation des complexes CDK/cyclines.

1. 2,6-diaminopurines

Cette famille de composés (figure 8) a été développée après la découverte de l'olomoucine, connue notamment pour son activité inhibitrice CDK1 et CDK2, en interférant avec le site de liaison de l'ATP. Divers analogues ont été synthétisés ; parmi-eux, la (R)-roscovitine, dont le développement clinique est le plus avancé. Ce sont généralement des inhibiteurs peu puissants (CI₅₀ de l'ordre du micromolaire sur CDK4 et CDK6). Deux dérivés obtenus par modélisation moléculaire et criblage de bibliothèques combinatoires, le CVT-313 et le purvalanol-A sont plus actifs et plus sélectifs (spécificité CDK1>CDK4).

¹⁴⁷ N. Kong, N. Fotouhi, P.M. Wovkulich et J. Roberts, Cell cycle inhibitors for the treatment of cancer, *Drugs Fut.*, **2003**, 28 (9), 881-896.

¹⁴⁸ Y. Dai et S. Grant, Cyclin-dependent kinase inhibitors, *Curr. Opin. in Pharmacology*, **2003**, 3, 362-370.

¹⁴⁹ T.M. Sielecki, J.F. Boylan, P.A. Benfield et G.L. Trainor, Cyclin-dependent kinase inhibitors: useful targets in cell cycle regulation, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43 (1), 1-18.

¹⁵⁰ P.M. Fischer et D.P. Lane, Inhibitors of cyclin-dependent kinases as anti-cancer therapeutics, *Curr. Med. Chem.*, **2000**, 7, 1213-1245.

¹⁵¹ M.D. Garrett et A. Fattaey, CDK inhibition and cancer therapy, *Curr. Opin. in Genetics and Development*, **1999**, 9, 104-111.

¹⁵² L. Meijer, Cyclin-dependent kinases inhibitors as potential anticancer, antineurodegenerative, antiviral and antiparasitic agents, *Drug Resistance Updates*, **2000**, 3, 83-88.

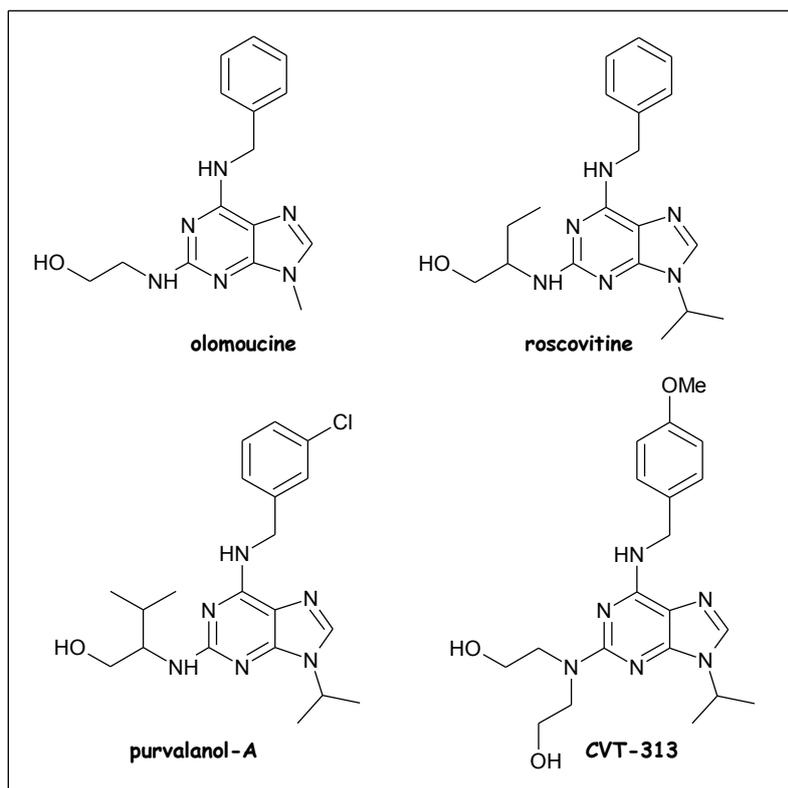


Figure 8 – Structures des 2,6-diaminopyridines

2. 4-aminoquinazolines

La quinozoline constitue un chassis moléculaire intéressant puisqu'il peut s'adapter dans la poche de liaison de l'ATP. On peut citer trois exemples, dont PD153035 (figure 9) qui constitue une molécule de référence couramment utilisée dans les mesures d'inhibition de l'activité tyrosine-kinases de l'EGFR.

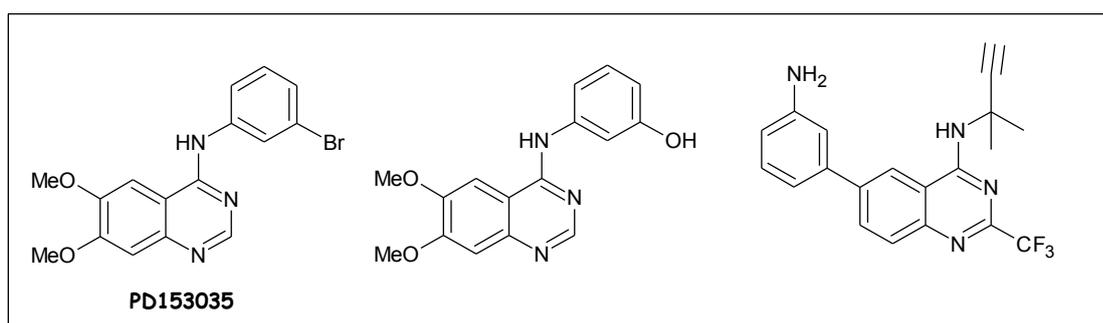


Figure 9 – Structures des 4-aminoquinazolines

3. Indoles et indolin-2-ones

Le représentant principal de cette série est la staurosporine (figure 10), isolée d'une souche de *Streptomyces* sp., et qui inhibe la protéine kinase C (PKC). La 7-hydroxystaurosporine (UCN-01) est également un inhibiteur de la PKC ; elle est actuellement en phase II/III des essais cliniques.

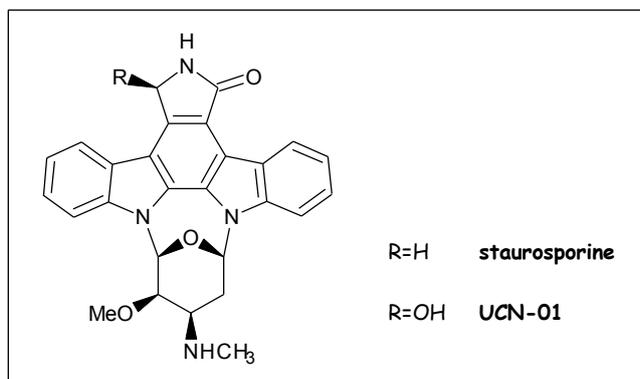


Figure 10 – Structures de la staurosporine et de la 7-hydroxystaurosporine

L'indolinone SU5416 (figure 11) est actuellement en phase III des études cliniques.

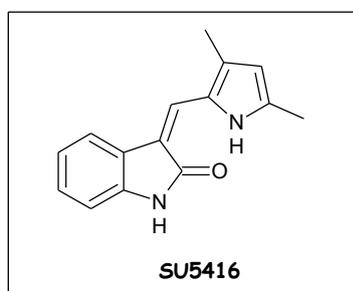


Figure 11 – Structure de SU5416

4. Flavones

Dans cette série, le flavopiridol (figure 12) s'est révélé efficace sur CDK2, CDK4 et CAK ; il ne manifeste qu'une action modeste vis-à-vis de l'activité tyrosine-kinase du récepteur de l'EGF. Il fait l'objet d'études cliniques de phase II, notamment dans le traitement des formes évoluées du cancer de l'estomac, les lymphomes et les myélomes.

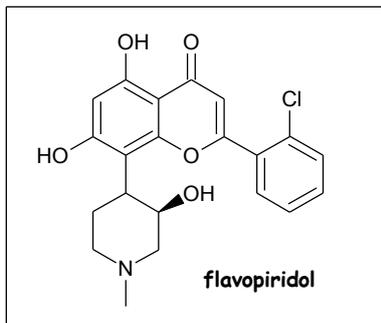


Figure 12 – Structure du flavopiridol

Le succès remarquable de l'inhibiteur de tyrosine-kinase Abl, STI571 ou imatinib ou Glivec® (figure 13) dans le traitement de patients atteints de leucémies myéloïdes chroniques et le traitement des tumeurs stromales gastro-intestinales a ouvert la voie à la synthèse de nouveaux composés, inhibiteurs de tyrosine-kinases, et notamment des inhibiteurs du récepteur de l'EGF. C'est le premier agent chimique non cytotoxique ayant obtenu une AMM.

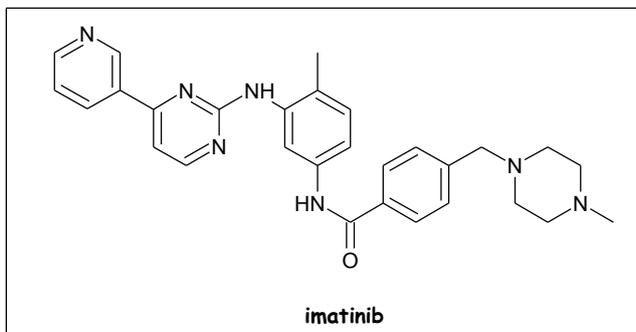


Figure 13 – Structure de l'imatinib ou Glivec®

D. LES RECEPTEURS AU FACTEUR DE CROISSANCE EPITHELIAL (REGF) : UNE NOUVELLE CIBLE THERAPEUTIQUE^{143,153,154,155,156,157,158}

Le récepteur à EGF est présent sur toutes les cellules de l'organisme, sauf au niveau des cellules hématopoïétiques ; on trouve entre 20000 et 200000 récepteurs à l'EGF par cellule. Les récepteurs à l'EGF sont surexprimés dans environ 1/3 des cancers épithéliaux ; ils jouent un rôle clé dans la croissance tumorale et leur surexpression est un facteur de pronostic défavorable. En effet, des études cliniques et précliniques sur l'EGFR et sur des membres de sa famille (erbB2, erbB3 et erbB4) ont montré qu'ils sont impliqués dans le développement et la progression de certains cancers chez l'homme. De plus, certains membres de la famille du récepteur de l'EGF sont surexprimés dans des tumeurs isolées de patients atteints de cancers du poumon et de l'ovaire. Dans de nombreuses études, on a également noté une corrélation entre la surexpression de EGFR ou de erbB2 et une faible survie des patients. Ils constituent donc une cible potentielle des traitements anticancéreux. De plus, contrairement aux chimiothérapies habituellement utilisées, l'interaction n'aboutit pas forcément à la mort cellulaire, mais elle inhibe un mécanisme clé de la croissance tumorale.

La recherche de composés inhibiteurs de l'EGFR a débuté il y a environ vingt ans. De nombreux dérivés ont été synthétisés ou obtenus par fermentation durant cette période, mais peu d'entre eux ont montré une activité antitumorale intéressante, et d'autre part, la plupart ne sont pas spécifiques. En revanche, durant les dix dernières années, de nombreux progrès ont été réalisés dans le domaine des inhibiteurs de l'EGFR et de nouvelles classes de composés ont émergé, présentant de très bonnes activités *in vivo* et *in vitro*, et possédant également une spécificité. On les regroupe en deux catégories : les inhibiteurs réversibles et les inhibiteurs irréversibles.

Deux types d'inhibiteurs de l'EGF sont en cours de développement clinique : des anticorps monoclonaux et des composés chimiques, généralement des petites molécules. Des anticorps spécifiques de récepteurs membranaires ont prouvé une bonne efficacité clinique et ont reçu une AMM ; il s'agit de l'anticorps anti-CD21, le Mabthera® dans le traitement de patients atteints de lymphome malin et de l'anticorps anti-Her2 (Human epidermal receptor 2), l'Herceptine® dans le traitement des patientes atteintes d'un cancer du sein. Des petites molécules appelées inhibiteurs de tyrosine-kinase ont également été développées. La plupart des composés interagissent en compétition avec le site de liaison de l'ATP et sont des inhibiteurs réversibles. Ils inhibent l'activité tyrosine-kinase du récepteur au niveau de sa partie interne, empêchant ainsi la transphosphorylation du récepteur et l'initiation de la cascade d'événements intracellulaires menant à la prolifération cellulaire. Les premières molécules de cette famille sont le ZD1839 (Iressa®) et l'OSI-774 (Tarceva®), qui sont actuellement en phase III des essais cliniques. Des expériences *in vivo* ont montré que le ZD1839 possède une excellente biodisponibilité orale, avec une faible toxicité sur des souris traitées pendant quatre mois. Il montre de plus une bonne activité *in vivo* sur de nombreux modèles de xénogreffes de tumeurs humaines dont les cancers du poumon, du colon et de

¹⁵³ D.W. Fry, Inhibition of the epidermal growth factor receptor family of tyrosine kinases as an approach to cancer chemotherapy: progression from reversible to irreversible inhibitors, *Pharmacol. Ther.*, **1999**, 82 (2-3), 207-218.

¹⁵⁴ J.R. Woodburn, The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy, *Pharmacol. Ther.*, **1999**, 82 (2-3), 241-250.

¹⁵⁵ A.E. Wakeling, Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, *Curr. Opin. Pharmacology*, **2002**, 2, 382-387.

¹⁵⁶ G. Speake, B. Holloway et G. Costello, Recent developments to the EGFR as a target for cancer chemotherapy, *Curr. Opin. Pharmacology*, **2005**, 5, 343-349.

¹⁵⁷ S.M. Thomas et J.R. Grandis, Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of EGFR inhibitors under clinical investigation, *Cancer Treatment reviews*, **2004**, 30, 255-268.

¹⁵⁸ V. Grünwald et M. Hidalgo, Developing inhibitors of the epidermal growth factor receptor for cancer treatment, *J. National Cancer Institute*, **2003**, 95 (12), 851-867.

la prostate. OSI-774 est actif par voie orale ; il inhibe de manière sélective l'activité tyrosine-kinase de l'EGFR. Des études précliniques ont montré que OSI-774 était un inhibiteur sélectif de l'autophosphorylation de l'activité tyrosine-kinase des récepteurs à l'EGF et de la prolifération cellulaire, dans les modèles *in vitro* et de xénogreffes chez la souris. Une pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine PKI-166 (inhibiteur mixte de EGFR et de erbB2) et un dérivé de quinazoline CI-1033 (inhibiteur de pan-erbB) sont en cours de développement clinique.

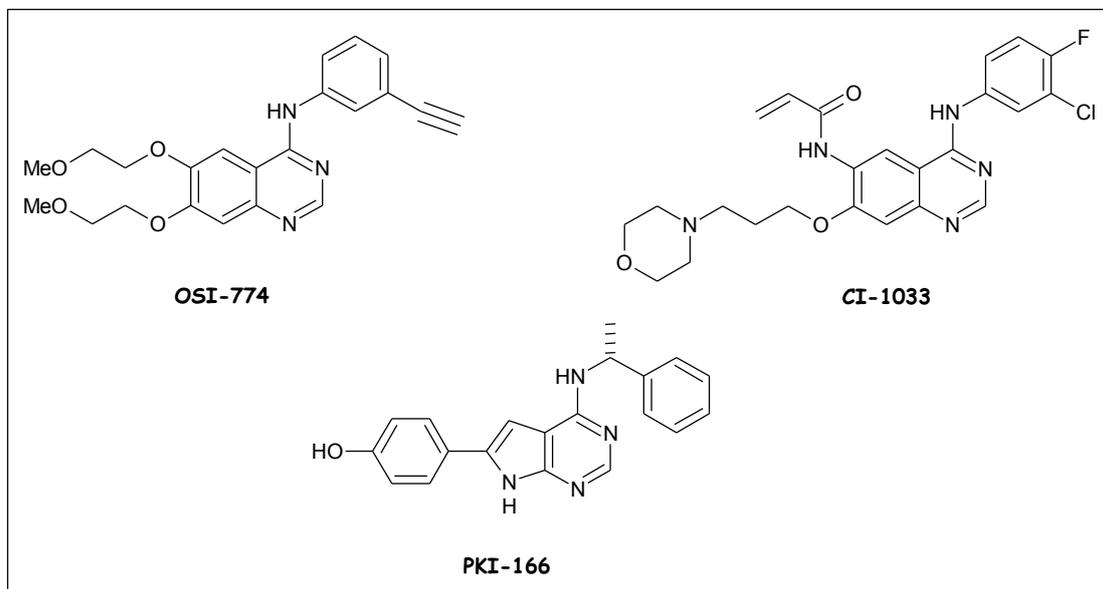


Figure 14 – Structures des premières molécules en développement clinique

1. Inhibiteurs réversibles de l'EGFR

Les inhibiteurs réversibles comprennent trois séries chimiques principales : des 4-anilinoquinazolines, des 4-aryl ou 4-alkylaminopyridopyrimidines et des 4-phénylaminopyrrolopyrimidines.

a. Quinazolines

Cette famille comprend des 4-anilinoquinazolines et également des dérivés tricycliques tels que des imidazoquinazolines, des pyrroloquinazolines et des pyrazoloquinazolines. Une étude de relation structure-activité a notamment montré que le chromophore bicyclique ou tricyclique se lie à une poche hydrophobe qui correspond au site de liaison de l'ATP. Deux quinazolines ont été sélectionnées pour des tests cliniques. Il s'agit de ZD1839 (figure 15), découvert en 1996, et qui présente une CI_{50} de 23 nM sur l'inhibition de l'EGFR. Il inhibe de façon hautement spécifique l'activité tyrosine-kinase de l'EGFR, par compétition avec le site de fixation de l'ATP et également l'autophosphorylation et la transphosphorylation d'EGFR. L'autre quinazoline développée cliniquement est le CP-358,774 (figure 15), inhibiteur compétitif de l'EGFR avec une CI_{50} de 2 nM.

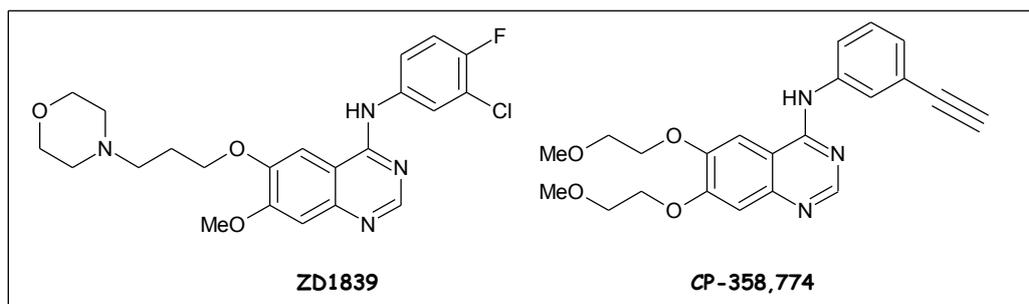


Figure 15 – Structure des quinazolines

b. Pyridopyrimidines

Les pyridopyrimidines constituent une classe structurale intéressante d'inhibiteurs de l'EGFR. De nombreux dérivés ont été synthétisés à partir de la structure clé de PD 158780 (figure 16), inhibiteur de l'EGFR avec une IC_{50} de 8 pM afin d'obtenir des analogues plus solubles, en introduisant notamment des chaînes latérales en position 6 ou 7 telles que des groupements morpholino, imidazole ou diméthylamino. Parmi ces composés, on peut citer PD 165557.

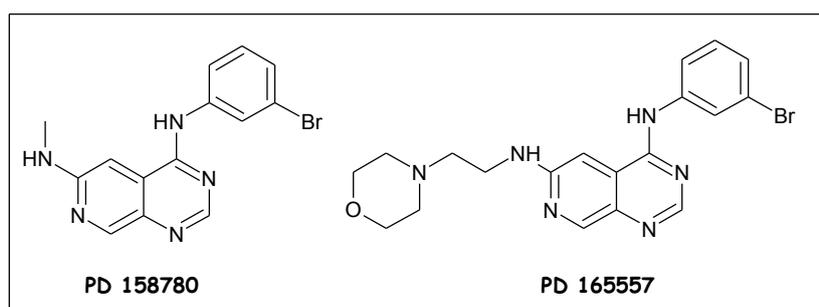


Figure 16 – Structure des pyridopyrimidines

c. Pyrrolopyrimidines

Plusieurs 4-(phénylamino)pyrrolopyrimidines sont des inhibiteurs sélectifs de l'EGFR. Un composé de cette famille, le CPG 59326 (figure 17) possède une bonne activité et fait l'objet d'études cliniques.

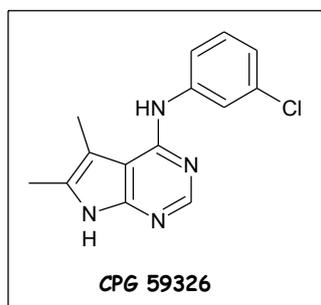


Figure 17 – Structure de CPG 59326

2. Inhibiteurs irréversibles de l'EGFR

Afin d'obtenir des inhibiteurs irréversibles de l'EGFR, des études de modélisation moléculaire ont montré que les composés doivent posséder un groupement alkylant ou un accepteur de Michael afin de se lier de manière irréversible dans la poche de l'ATP. Des modifications structurales ont été réalisées sur les quinozalines et les pyridopyrimidines, notamment par introduction d'accepteurs de Michael. PD 168393 et le composé 9 en sont des exemples (figure 18) ; ils inactivent le domaine catalytique de l'EGFR et de erbB2. Or, les études précliniques et cliniques montrent que les tumeurs les plus évolutives et les plus agressives expriment ces deux récepteurs ; ainsi, l'inactivation de ces deux récepteurs constitue un traitement de choix pour de nombreuses tumeurs.

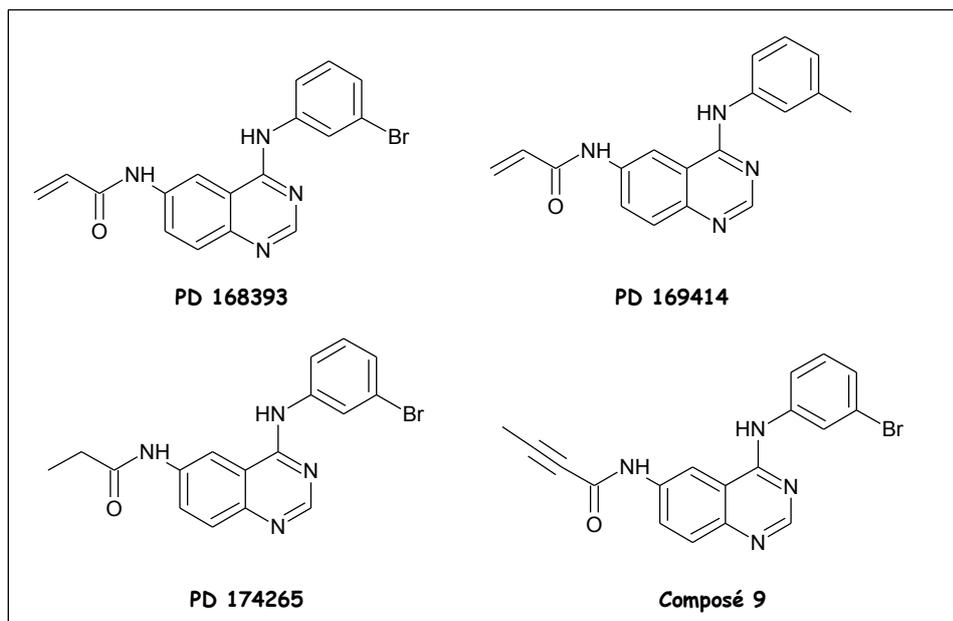


Figure 18 – Structures des inhibiteurs irréversibles de l'EGFR

En 2005, G. Speake *et al.* ont présenté des molécules inhibitrices de EGFR et de EGFR/ErbB2. Trois molécules inhibant l'EGFR sont actuellement en cours de développement clinique ; il s'agit du gefitinibe, de l'erlotinibe et de EKB-569 (figure 19).

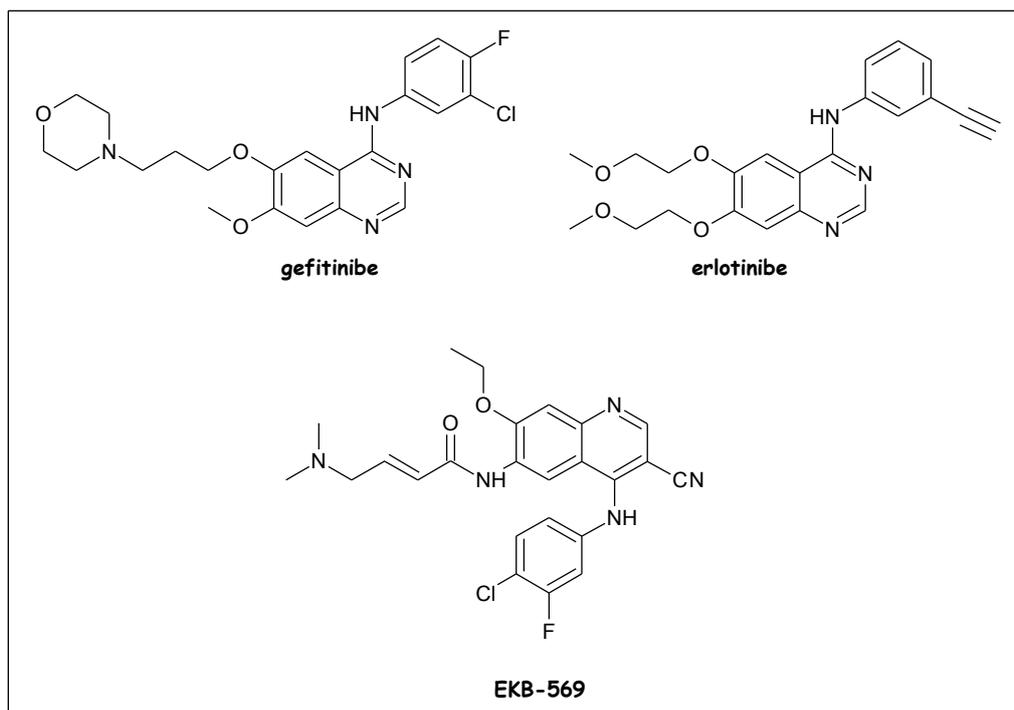


Figure 19 – Structures des composés inhibiteurs de EGFR en développement clinique

Deux inhibiteurs mixtes de l'EGFR et de ErbB2 sont également en cours d'évaluation clinique ; il s'agit de PKI-166 et du lapatinibe (figure 20).

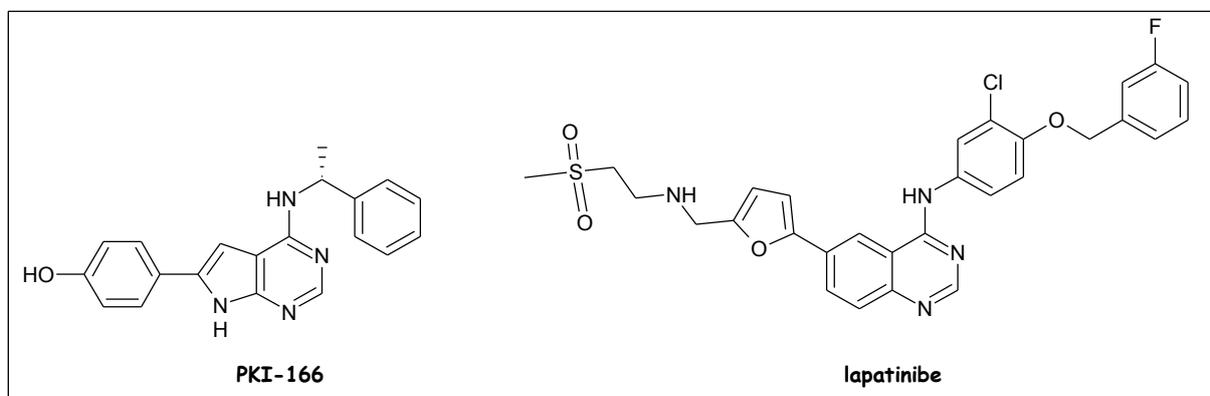


Figure 20 – Structure des inhibiteurs mixtes de EGFR et ErbB2 en cours d'évaluation clinique

E. PHARMACOMODULATION ENVISAGEE

Des pyrido[2,3-*b*]pyrazines développées par le Laboratoire Zentaris ont montré de bons résultats sur l'inhibition de la cascade Raf/Mek/Erk, notamment les composés substitués en position 6 par des urées et des thiourées tels que les composés D-83337, D-82307, D-51419 et D-83336 avec des CI_{50} de 0.40 μ M, 0.50 μ M, 4.4 μ M et 0.9 μ M respectivement (figure 21).

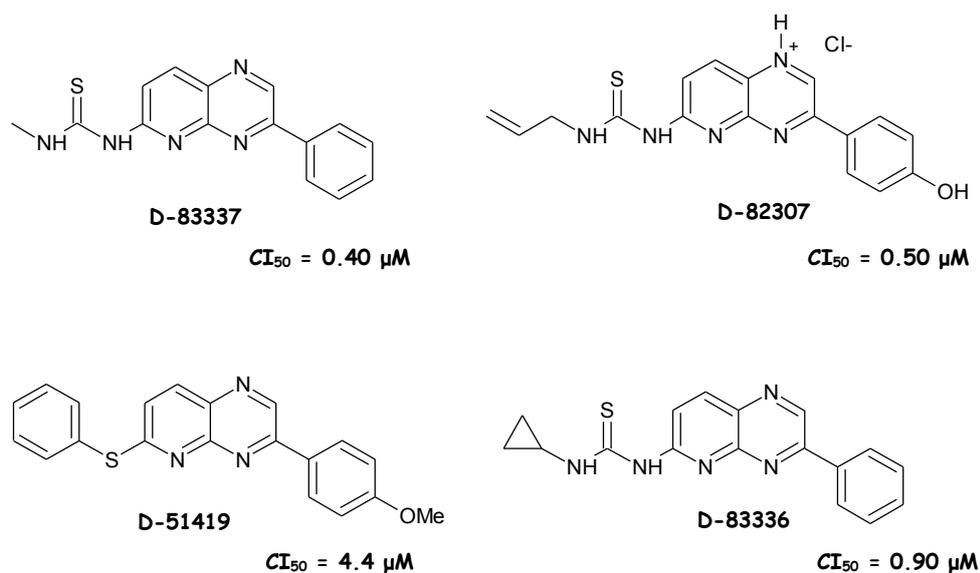


Figure 21

Nous avons donc décidé d'entreprendre la synthèse de composés de structure pyridopyrazinique. Deux types de composés seront étudiés ; des pyrido[2,3-*b*]pyrazines ainsi que des pyrido[3,4-*b*]pyrazines, substituées en position 8 par des urées, des thiourées et des amides. Dans chaque série, deux sous-classes de composés devront être synthétisées : les pyridopyrazines en série biaryle et en série monoaryle (figure 22). Deux types de composés seront étudiés ; les composés pour lesquels R est un phényle et un 4-méthoxyphényle. En position 8, le groupement R' pourra être un phényle, un 3-méthoxyphényle, un 2-méthoxyphényle, un 3-chlorophényle, un 4-chloro-3-(trifluorométhyl)phényle, un éthyle, un allyle ou un cyclohexyle en série urée et thiourée.

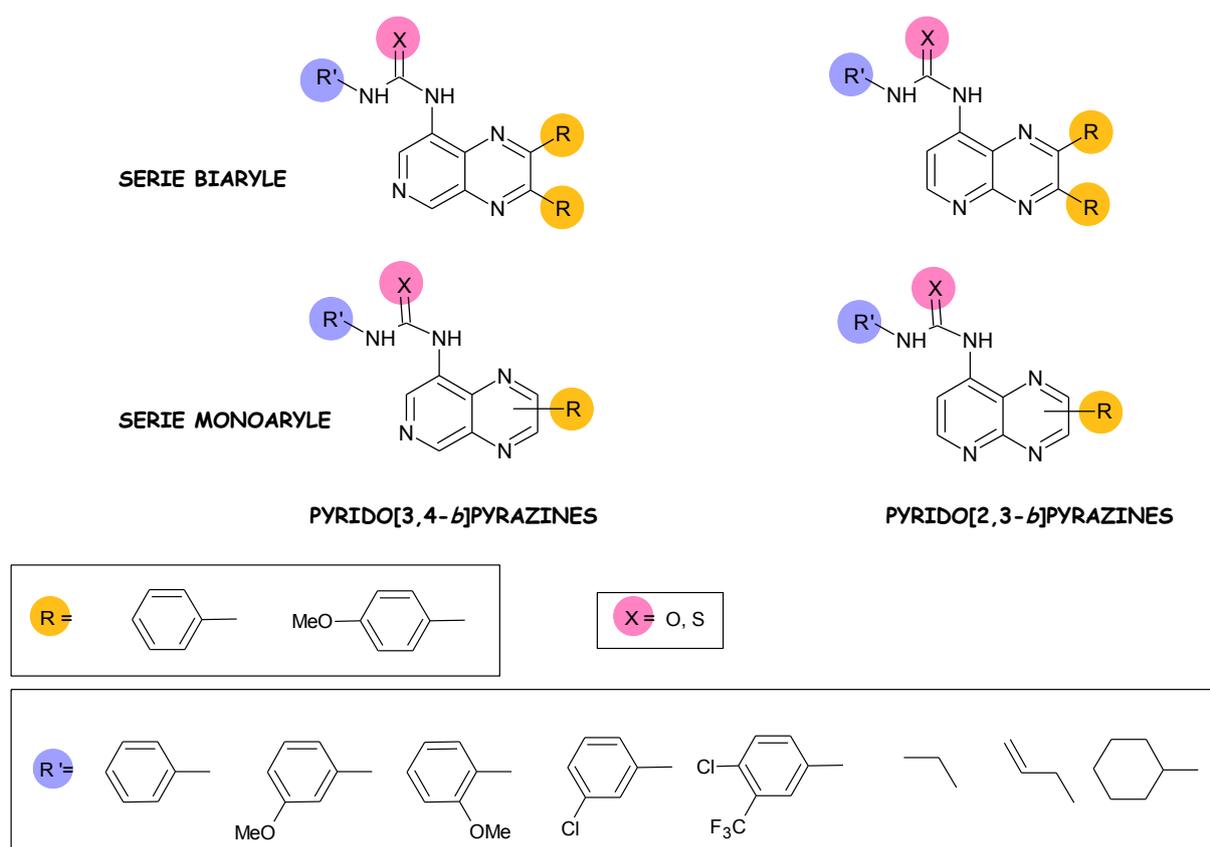


Figure 22

Quelques exemples en série amide seront également présentés (figure 23).

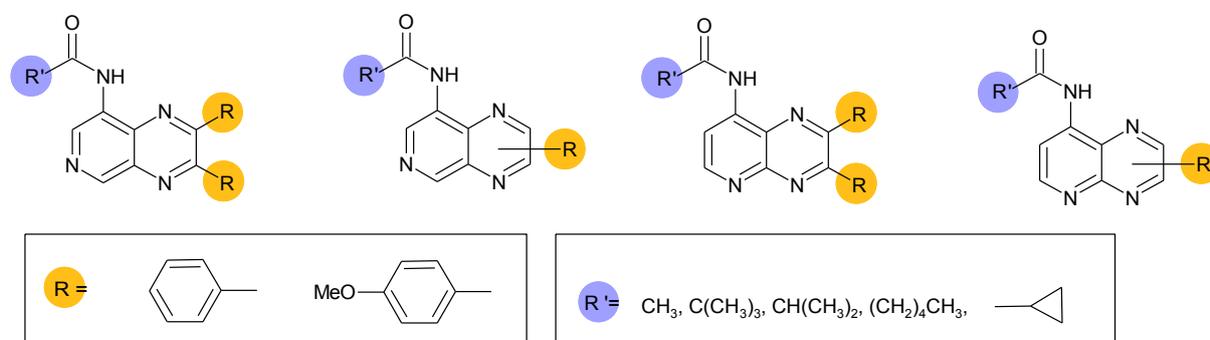


Figure 23

SYNTHESE DES COMPOSES PYRIDOPYRAZINIQUES

A. APERCU BIBLIOGRAPHIQUE¹⁵⁹

1. Synthèse des pyrido[3,4-*b*]pyrazines

Une étude bibliographique a montré que les pyrido[3,4-*b*]pyrazines et les pyrido[2,3-*b*]pyrazines peuvent être synthétisées soit à partir de pyridines, soit à partir de pyrazines.

a. A partir de pyridines

La réduction par hydrogénation en présence de nickel de Raney de 2-[(3-nitropyridin-4-yl)amino]alcanoates d'alkyle dans l'éthanol conduit à des pyrido[3,4-*b*]pyrazines *via* la formation de 1,2-dihydropyrido[3,4-*b*]pyrazin-3(4*H*)-ones (schéma 1).

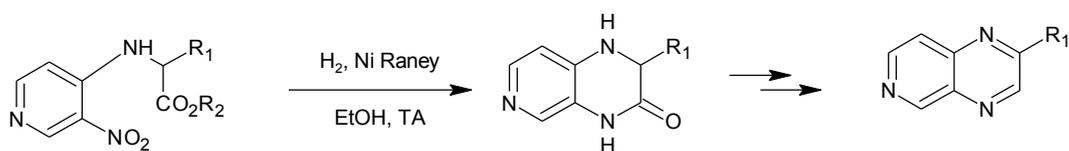


Schéma 1

La cyclisation de (1*E*)-*N,N*-dialkyl-*N'*-(3-nitropyridin-4-yl)-2-phényléthanimidamides en présence d'éthanoate de sodium au reflux de l'éthanol mène à des *N,N*-dialkyl-2-amino-3-phénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine-4-oxyde, précurseurs de pyrido[3,4-*b*]pyrazines par traitement par du trichlorure de phosphore (schéma 2).

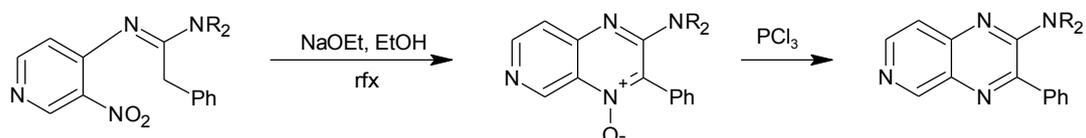


Schéma 2

La méthode la plus simple d'accès aux pyrido[3,4-*b*]pyrazines est la condensation entre une 3,4-diaminopyridine, substituée ou non, et une dicétone symétrique ou non (schéma 3).

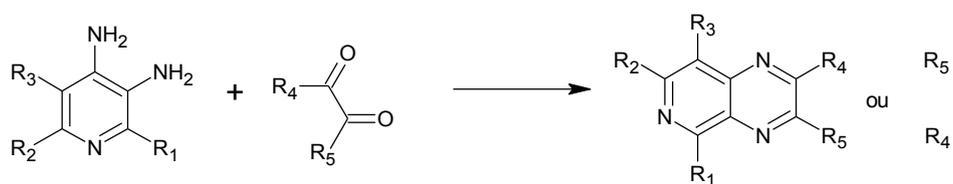


Schéma 3

¹⁵⁹ E. Schaumann, Heterarenes IV – Six-membered and larger heterorings with maximum unsaturation, Volume E 9c, Pyridopyrazines, **1998**, 227-269.

Différentes conditions ont été mises en oeuvre pour réaliser cette réaction de condensation. Dans certains cas, elle est réalisée à température ambiante dans l'éthanol ou le méthanol ; elle peut également être mise en oeuvre dans un mélange acétone/eau, en présence de méthanolate de sodium. La réaction de condensation est parfois conduite dans l'acide sulfurique dilué ou l'acide chlorhydrique dilué. Dans certains cas, il est nécessaire de chauffer le mélange réactionnel à 60-100 °C ; la réaction est alors réalisée dans l'eau, dans l'acide acétique, dans un mélange acide acétique/éthanol ou dans l'éthanol. Cette réaction de condensation a été employée principalement pour synthétiser des composés pour lesquels $R_4=R_5$.

b. A partir de pyrazines

Peu d'exemples de synthèse des pyrido[3,4-*b*]pyrazines à partir de pyrazines ont été décrits dans la littérature.

L'aromatization de 3-méthyl-1,2,3,4-tétrahydropyrido[3,4-*b*]pyrazine avec du palladium sur charbon à 180-190 °C aboutit à la formation de 3-méthylpyrido[3,4-*b*]pyrazine (schéma 4).

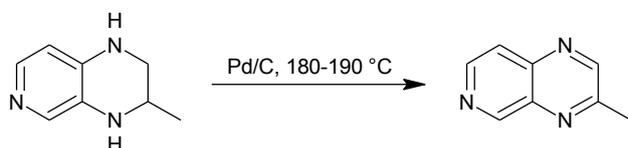


Schéma 4

c. Synthèse des pyridopyrazines en série monoaryle

Une méthode d'accès à des pyrido[3,4-*b*]pyrazines monosubstituées a été décrite en 1982 par S. Kano et Y. Yuasa¹⁶⁰ ; elle fait appel à une réaction de condensation entre la 3,4-diaminopyridine et des β -cétosulfoxydes en présence d'acide acétique au reflux du benzène (schéma 5).

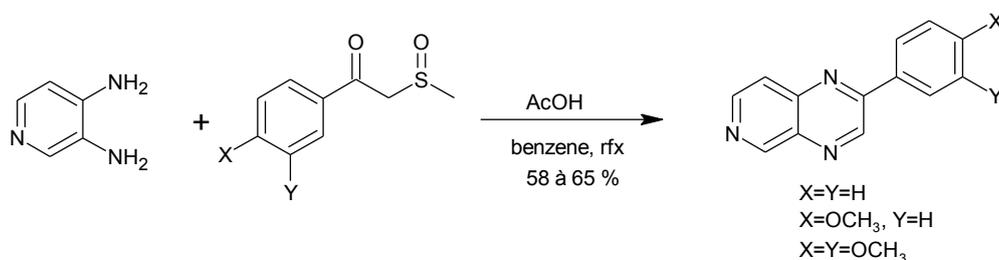


Schéma 5

Une étude bibliographique a montré que les β -cétosulfoxydes et certains de leurs dérivés dont les hémithioacétals ont été utilisés notamment pour la synthèse de ptéridines substituées en position 6 ou 7, et pour la synthèse de dérivés de quinoxaline. Dans un premier temps, nous présenterons deux voies d'accès aux β -cétosulfoxydes ainsi que l'accès aux hémithioacétals correspondants, puis nous présenterons quelques voies de synthèse dans lesquelles ils ont été utilisés.

De nombreuses voies de synthèse des β -cétosulfoxydes ont été décrites ; deux d'entre-elles nous ont semblé intéressantes. La première méthode a été décrite par C.A. Ibarra *et al.*¹⁶¹ en

¹⁶⁰ S. Kano et Y. Yuasa, Synthesis of 2-arylpyrido[3,4-*b*]pyrazine derivatives through condensation of 3,4-diaminopyridine with β -keto sulfoxides, *Synthesis*, **1983**, 769-770.

¹⁶¹ C.A. Ibarra, R.C. Rodriguez, M.C.F. Monreal, F.J.G. Navarro et J.M. Tesorero, One-pot synthesis of β -keto sulfones and β -keto sulfoxides from carboxylic acids, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 5620-5623.

1989. L'acide carboxylique est activée sous forme d'un 1-acylimidazole, par réaction avec le 1,1'-carbonyldiimidazole dans le tétrahydrofurane ; il est ensuite ajouté à une solution de diméthylsulfoxyde et de méthyllithium dans un mélange tétrahydrofurane/éther diéthylique pour conduire au β -cétosulfoxyde avec des rendements entre 65 et 88 % (schéma 6).

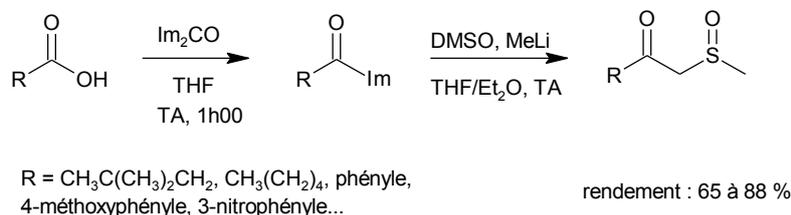


Schéma 6

L'autre méthode d'accès aux β -cétosulfoxydes a été décrite par Corey et Chaykovsky¹⁶² en 1964. Leurs travaux ont montré que la réaction d'esters aromatiques ou aliphatiques avec le carbanion méthylsulfinyle donne, après hydrolyse en milieu acide, les β -cétosulfoxydes correspondants (schéma 7).

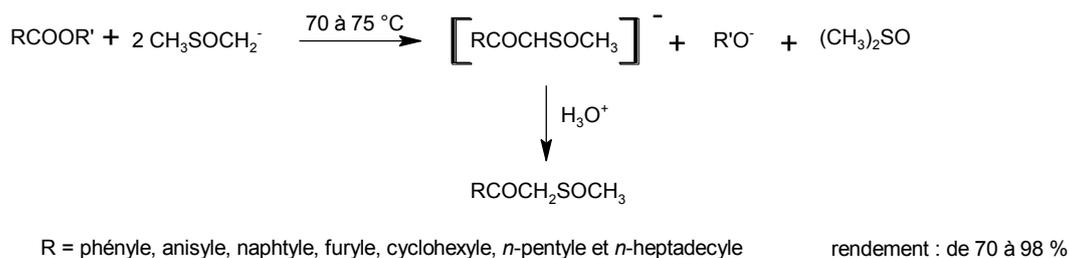
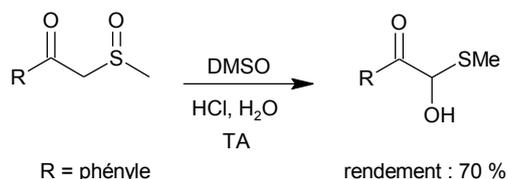


Schéma 7

Le carbanion est formé par réaction entre le diméthylsulfoxyde et l'hydruide de sodium à 70-75 °C, en veillant à ce que la température n'atteigne pas 80 °C, température à laquelle il y a décomposition du carbanion.

Les hémithioacétals sont obtenus par hydrolyse acide dans le tétrahydrofurane des β -cétosulfoxydes¹⁶³ avec des rendements corrects (schéma 8).



¹⁶² E.J. Corey et M. Chaykovsky, Methylsulfinyl carbanion ($\text{CH}_3\text{-SO-CH}_2^-$). Formation and applications to organic synthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87 (6), 1345-1353.

¹⁶³ A. Rosowsky et K.K.N. Chen, Pteridines. I. β -keto sulfoxides and α -keto aldehyde hemithioacetals as pteridine precursors. A new selective synthesis of 6- and 7-substituted pteridines, *J. Org. Chem.*, **1973**, 38 (11), 2073-2077.

Schéma 8

Les β -cétosulfoxydes ont été notamment utilisés pour synthétiser des ptéridines par A. Rosowsky et K.K.N. Chen¹⁶³ en 1973. Leurs travaux montrent que la réaction entre un β -cétosulfoxyde et une pyrimidine dans l'acide acétique glacial en présence d'acétate de sodium conduit, dans un premier temps, à la formation d'une base de Schiff intermédiaire, qui, par chauffage au reflux de l'acide acétique, conduit, par un réarrangement de type Pummerer et par une cyclisation concomitante, à la formation d'une ptéridine substituée en position 6 (schéma 9).

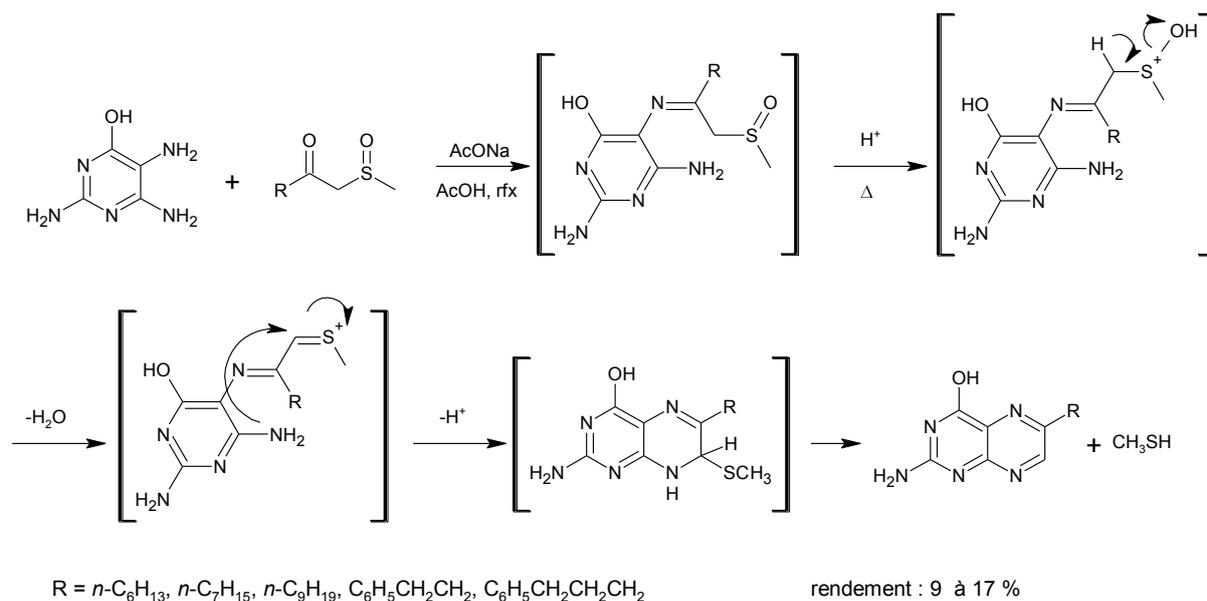


Schéma 9

Cette même réaction, réalisée avec l'hémithioacétal obtenu par hydrolyse en milieu acide du β -cétosulfoxyde, conduit cette fois à l'obtention d'une ptéridine substituée en position 7 selon le mécanisme suivant (schéma 10).

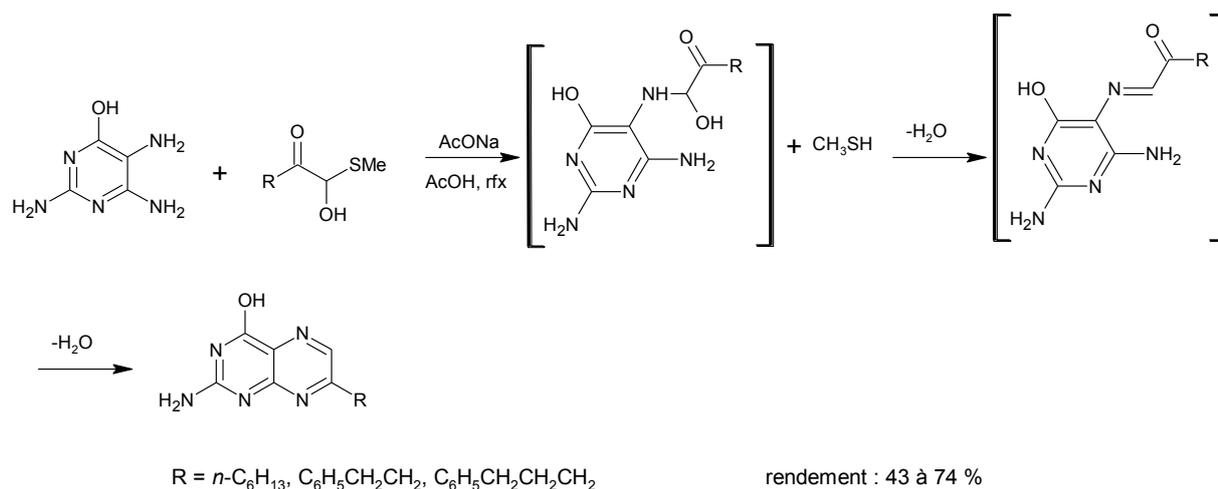


Schéma 10

Cette réaction est possible du fait de la facilité de rupture de la liaison C-S par libération de méthylmercaptan. Le rendement de la formation des ptéridines substituées en position 7 est meilleur, probablement parce que l'hémithioacétal est moins susceptible de subir des réactions secondaires que le β -cétosulfoxyde.

Les β -cétosulfoxydes ont ensuite été utilisés pour la synthèse de dérivés de quinoxaline par S. Kano *et al.*¹⁶⁴ en 1980. Selon cette équipe, le mécanisme proposé par Rosowsky *et al.*¹⁶³ via la base de Schiff est inexact. En effet, la condensation entre le 3,4-diaminobenzène et la 2-(méthylsulfinyl)-1-phényléthanone conduit à la formation de la 7-méthoxy-2-phénylquinoxaline (schéma 11) alors que selon le mécanisme de Rosowsky, c'est la 6-méthoxy-2-phénylquinoxaline que l'on obtiendrait. Ainsi, le mécanisme proposé par Rosowsky semble peu probable ; c'est en fait l'amine la plus nucléophile qui réagit sur le carbone en α du β -cétosulfoxyde, selon le mécanisme suivant (schéma 11).

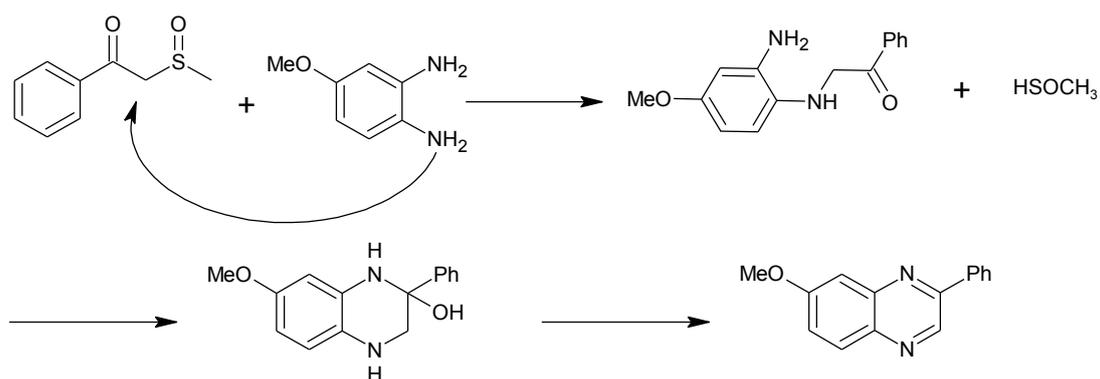


Schéma 11

¹⁶⁴ S. Kano, S. Shibuya et Y. Yuasa, Synthesis of quinoxaline derivatives through condensation of 1,2-diaminobenzenes with β -keto sulfoxides, *J. Heterocyclic Chem.*, **1980**, 17, 1559-1561.

2. Synthèse des pyrido[2,3-*b*]pyrazines¹⁵⁹

a. A partir de pyridines

La plupart des voies de synthèse des pyrido[2,3-*b*]pyrazines décrites dans la littérature font appel à des pyridines convenablement substituées en position 2 et 3. Par exemple, les 3-nitropyridines possédant un enchaînement N-C-C en position 2, par réduction du groupement nitro en amine, se cyclisent pour donner des 1,3-dihydropyrido[2,3-*b*]pyrazin-2(4*H*)-ones et des 3,4-dihydropyrido[2,3-*b*]pyrazines, qui par oxydation successive, conduisent à des pyrido[2,3-*b*]pyrazines (schémas 12 et 13).

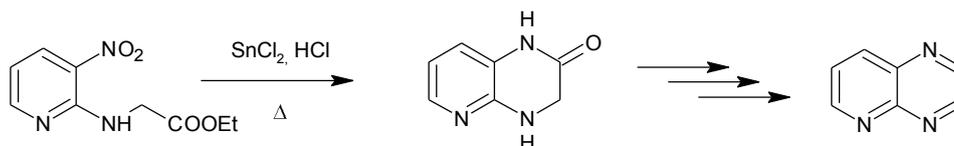


Schéma 12

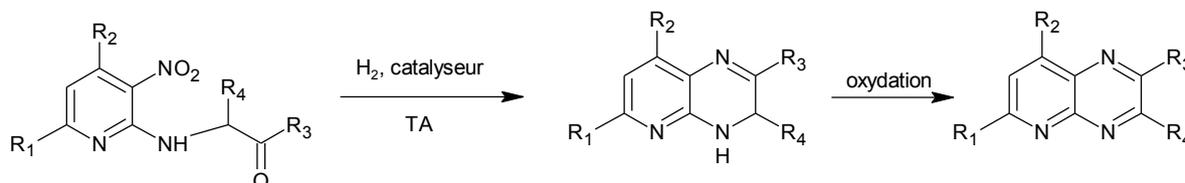


Schéma 13

Des pyridines possédant un groupement nitroso en position 3 et un groupement amino en position 2 ont été condensées avec des composés à méthylène activé tels que des esters maloniques, des β-céto-esters, des β-dicétones ou des dinitriles en présence d'éthanolate de sodium au reflux de l'éthanol (schéma 14).

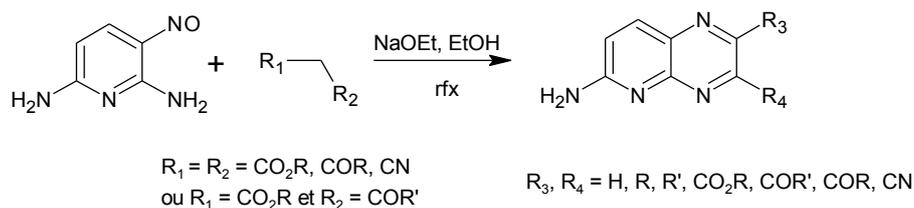


Schéma 14

La condensation entre la *N*²-méthyl-2,3-diaminopyridine et le diéthylmésoxalate au reflux de l'éthanol donne le 4-méthyl-3-oxopyrido[2,3-*b*]pyrazine-2-carboxylate d'éthyle (schéma 15).

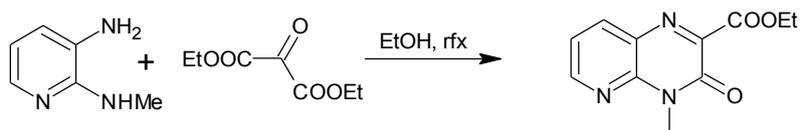


Schéma 15

De même, la condensation entre la *N*²-méthyl-2,3-diaminopyridine et le chlorure d'oxalyle conduit à la 4-méthylpyrido[2,3-*b*]pyrazin-2,3(1*H*,4*H*)dione (schéma 16).

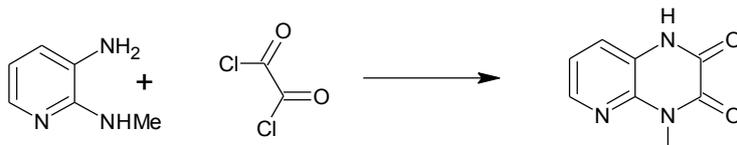


Schéma 16

La méthode la plus couramment utilisée afin de synthétiser des pyrido[2,3-*b*]pyrazines consiste en la condensation entre des 2,3-diaminopyridines, substituées ou non, et des dicétones symétriques ou non, dans les mêmes conditions que celles présentées précédemment pour l'accès aux pyrido[3,4-*b*]pyrazines (schéma 17).

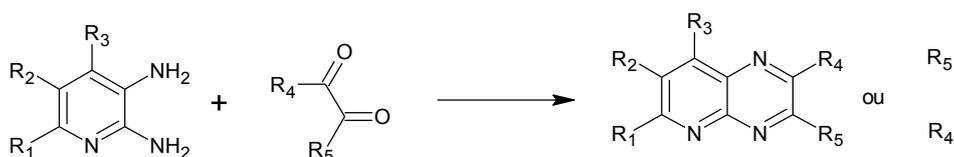


Schéma 17

La réaction est le plus souvent réalisée dans le méthanol anhydre ; elle conduit à la formation d'un mélange de produits lorsque la dicéteone n'est pas symétrique et les produits sont alors difficilement séparables. C'est pourquoi, cette réaction a été dans la plupart des cas employée pour obtenir des produits pour lesquels $R_4=R_5$.

b. A partir de pyrazines

La réaction de Gould-Jacobs permet, à partir de [(pyrazin-2-ylamino)méthylène]malonate de diéthyle, l'accès à des pyrido[2,3-*b*]pyrazines *via* des 8-oxo-5,8-dihydropyrido[2,3-*b*]pyrazine-7-carboxylates d'éthyle (schéma 18), par chauffage dans du Downtherm A (mélange biphenyle/oxyde de biphenyle : 1/1).

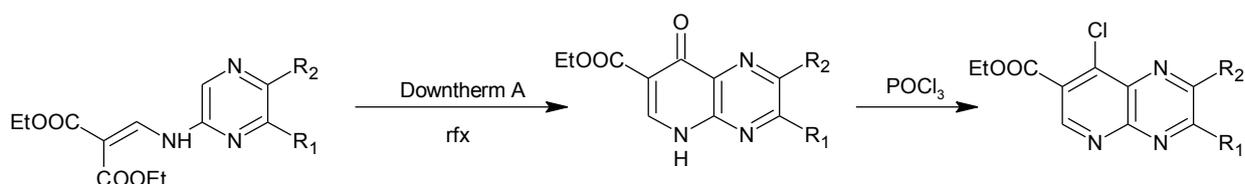


Schéma 18

B. APPLICATIONS A LA SYNTHÈSE DES COMPOSÉS PYRIDOPYRAZINIQUES

La pharmacomodulation envisagée consiste, comme nous l'avons montré précédemment, à synthétiser des pyrido[2,3-*b*]pyrazines et des pyrido[3,4-*b*]pyrazines, substituées en position 8 par des urées, des thiourées et des amides. L'accès à deux séries différentes, la série monoaryle et la série biaryle, sera étudié.

En ce qui concerne la série biaryle, l'aperçu bibliographique nous a permis de mettre en exergue une réaction classiquement utilisée afin d'accéder à des composés de ce type ; il s'agit de la réaction de condensation entre une diaminopyridine et des dicétones symétriques. Cette réaction sera donc mise en œuvre afin de synthétiser les pyrido[2,3-*b*]pyrazines et les pyrido[3,4-*b*]pyrazines en série biaryle.

En revanche, concernant la synthèse des pyridopyrazines en série monoaryle, l'aperçu bibliographique nous a permis de mettre en évidence le manque de méthodes d'accès à ce type de composés. En effet, seuls quelques composés ont été synthétisés, et uniquement en série pyrido[3,4-*b*]pyrazine.

Dans cette série, deux voies de synthèse pourront être mises en œuvre à partir d'une 3,4-diaminopyridine. La première voie met en jeu, soit un β -cétosulfoxyde qui, d'après les travaux de A. Rosowsky et K.K.N. Chen¹⁶³ sur la synthèse des ptéridines, devrait nous permettre d'obtenir les composés arylés en position 3, soit un hémithioacétal qui, d'après ces mêmes travaux, devrait nous permettre d'accéder aux composés arylés en position 2.

Si on retient les conclusions des travaux de S. Kano et Y. Yuasa¹⁶⁴ nous synthétiserons un azahétérocycle arylé en position 2 quelque soit l'intermédiaire (β -cétosulfoxyde ou hémithioacétal) utilisé.

La seconde voie de synthèse met en jeu un arylglyoxal qui sera condensé avec une diaminopyridine et est susceptible d'aboutir soit à un mélange de composés arylés en position 2 et 3, soit à un seul régioisomère.

SERIE A SYNTHÈSE DES PYRIDO[3,4-*B*]PYRAZINES

PARTIE THEORIQUE

A. PYRIDO[3,4-*b*]PYRAZINES EN SERIE BIARYLE

Comme nous l'avons vu en première partie, les pyrido[3,4-*b*]pyrazines **III** en série biaryle peuvent être synthétisées par condensation entre la 3,4-diaminopyridine **IV** et une dicétone symétrique **V**. Le but de notre travail est de synthétiser des pyrido[3,4-*b*]pyrazines substituées en position 8 par des urées, des thiourées et des amides ; il convient donc dans un premier temps de synthétiser des 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines **I**. Deux types de synthon peuvent être utilisés afin d'accéder à ces dernières ; il s'agit de la 3,4-diaminopyridine **IV** commerciale (voie A) et de la 3,4-diamino-5-bromopyridine **VI** (voie B) (schéma 1).

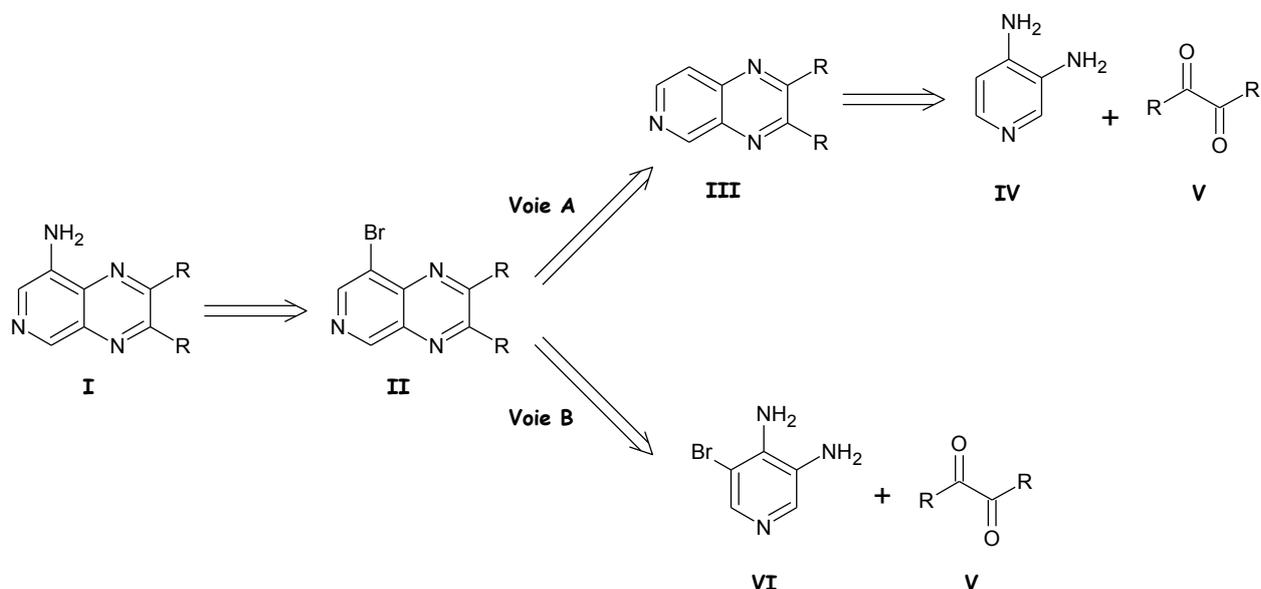


Schéma 1

Dans la voie A, le couplage entre la 3,4-diaminopyridine **IV** et une dicétone symétrique **V** conduit à la formation d'une pyrido[3,4-*b*]pyrazine **III**, qui doit ensuite être bromée en position 8. En revanche, la voie B permet l'accès direct à la 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazine, par couplage entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **VI** et une dicétone symétrique **V**.

1. Voie A – Condensation entre la 3,4-diaminopyridine **151** et des dicétones symétriques puis bromation en position 8

La réaction de la 3,4-diaminopyridine **151** commerciale avec le benzile **152** et avec le 4,4'-diméthoxybenzile **153** au reflux du dioxane¹⁶⁵ conduit à la formation des pyrido[3,4-*b*]pyrazines **154** et **155** avec des rendements de 82 % et 75 % respectivement (schéma 2).

¹⁶⁵ H. Kropp, Synthese von substituierten pyridopyrazinen als potentielle kinase-inhibitoren, Thèse soutenue à Wiesbaden, **2000**.

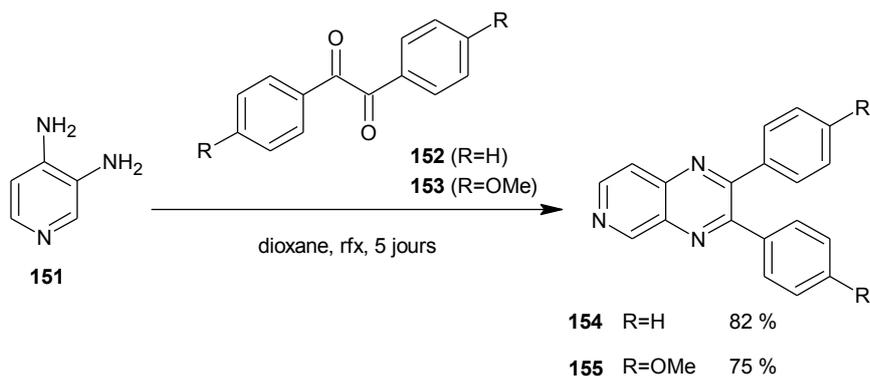


Schéma 2

La bromation de **154** par l'acide bromhydrique à 48 % dans de l'eau oxygénée à 35 %¹⁶⁵ conduit à la formation de la 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazine **156** correspondant avec 98 % de rendement (schéma 3). Cependant, cette réaction sur le composé **155** conduit à l'obtention d'un mélange de produits polybromés et la 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazine **157** désirée n'a pas pu être isolée.

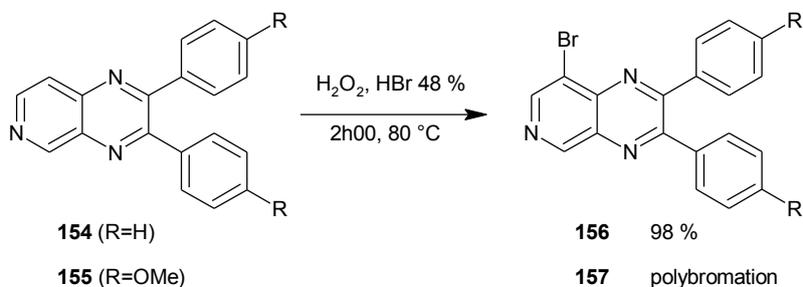


Schéma 3

Cette méthode ne constitue donc pas une méthode de choix pour synthétiser les 8-bromo-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazines diversement substituées ; en effet, la bromation ne peut être réalisée sélectivement en position 8 que pour certains composés tels que la 2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **154**.

2. Voie B

– Condensation entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et des dicétones symétriques

a. Synthèse de la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158**

Un premier essai a été réalisé à partir de la 3,4-diaminopyridine **151** commerciale ; cependant, la bromation par l'acide bromhydrique dans l'eau oxygénée ne conduit pas à la formation de la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** (schéma 4).

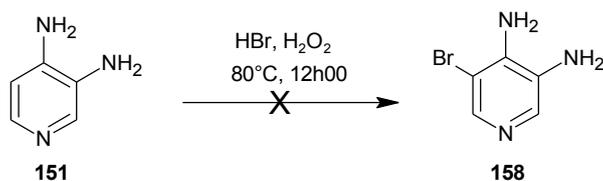


Schéma 4

La synthèse de la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** a été décrite en 1995 par L. Brzozka *et al.*¹⁶⁶ Elle fait intervenir une réaction décrite en 1979¹⁶⁷ et en 1982¹⁶⁸ par L.W. Deady *et al.*, à savoir le réarrangement des nitroaminopyridines. Ces travaux ont montré que la 4-aminopyridine réagit avec de l'acide nitrique fumant dans l'acide sulfurique concentré pour conduire à la 4-nitroaminopyridine, qui par chauffage dans l'acide sulfurique concentré se réarrange pour donner la 4-amino-3-nitropyridine. Le mécanisme de cette réaction est encore controversé ; cependant, un mécanisme probable a été décrit par L. W. Deady *et al.*¹⁶⁷.

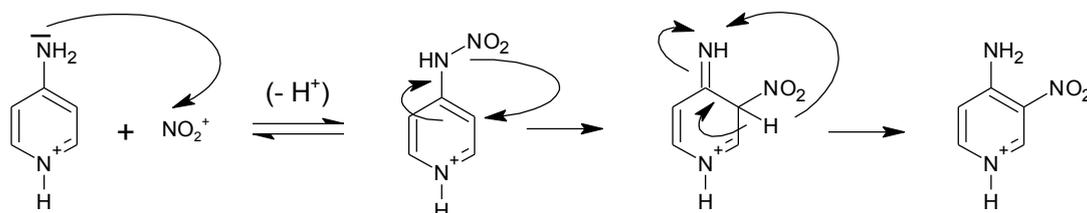


Schéma 5

Ainsi, la 4-amino-3-nitropyridine **160** est obtenue à partir de la 4-aminopyridine **107** selon la procédure de Koenigs modifiée¹⁶⁹ avec un rendement de 47 % sur les deux étapes. La bromation est ensuite réalisée avec du brome dans l'acide acétique glacial en présence d'acétate de potassium pour conduire à la 4-amino-3-bromo-5-nitropyridine **161** avec un rendement de 37 % (schéma 6).

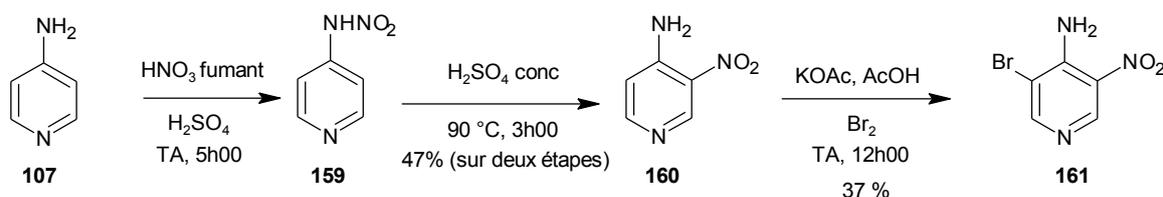


Schéma 6

Différentes méthodes ont été appliquées afin de réduire le groupement nitro de la 4-amino-3-bromo-5-nitropyridine **161** (tableau 1).

La réduction par hydrogénation avec du palladium sur charbon à 5 %¹⁷⁰ conduit à la formation d'un mélange de produits ; on observe notamment la débromation de la 4-amino-3-bromo-5-nitropyridine avec sa réduction simultanée pour donner la 3,4-diaminopyridine **151**.

La réduction par le chlorure d'étain dans l'acide chlorhydrique concentré conduit à la formation de deux produits, la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** désirée minoritairement et la

¹⁶⁶ L. Brzozka, W. Baran, W. Kraus et P. Tomasik, Syntheses with aromatic nitramines. IX. Halogenation of 2- and 4-nitraminopyridines, *Polish. J. Chem.*, **1995**, 69, 605-611.

¹⁶⁷ L.W. Deady, M.R. Grimmet et C.H. Potts, Studies on the mechanism of the nitroaminopyridine rearrangement, *Tetrahedron*, **1979**, 35, 2895-2900.

¹⁶⁸ L.W. Deady, O.L. Korytsky et J.E. Rowe, Substituent effects on the isomer ratios in the rearrangement of some 2- and 4-nitraminopyridines, *Aust. J. Chem.*, **1982**, 35, 2025-2034.

¹⁶⁹ M.G. Harris et R. Stewart, Amino group acidity in aminopyridines and aminopyrimidines, *Can. J. Chem.*, **1977**, 55, 3800-3806.

¹⁷⁰ S.X. Cai, J.-C. Huang, S.A. Espitia, M. Tran, V.I. Ilyin, J.E. Hawkinson, R.M. Woodward, E. Weber et J.F.W. Keana, 5-(*N*-oxyaza)-7-substituted-1,4-dihydroquinaxoline-2,3-diones: novel, systemically active and broad spectrum antagonists for NMDA/glycine, AMPA, and kainate receptors, *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 3679-3686.

3,4-diamino-5-bromo-2-chloropyridine **162** majoritairement. Cette réaction secondaire a également été rencontrée par d'autres auteurs, lors de la réduction de la 2-amino-3-nitro-5-chloropyridine ; en effet, elle conduit à l'obtention de la 5,6-dichloro-2,3-diaminopyridine lorsqu'elle est réalisée avec du chlorure stanneux dans l'acide chlorhydrique concentré¹⁷¹.

La réduction par le fer dans l'acide acétique glacial permet d'aboutir à la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** ; cependant, des soucis d'extraction et de purification nous ont fait abandonner cette méthode.

La réduction de la 4-amino-3-bromo-5-nitropyridine **161** a finalement été réalisée par utilisation de chlorure d'étain dans un mélange éthanol/eau¹⁷² avec un rendement correct.

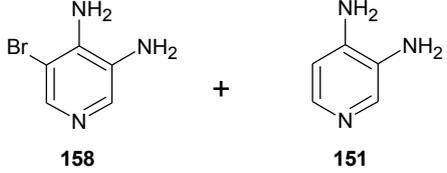
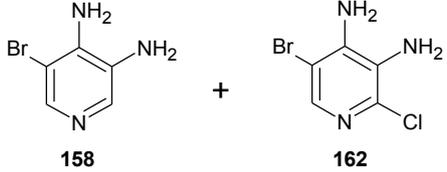
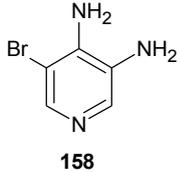
conditions	produits obtenus	rendement
H ₂ , Pd/C 5%, EtOH, TA	 158 + 151	10 % / 40 %
SnCl ₂ , HCl _{conc.} , TA	 158 + 162	15 % / 50 %
Fe, AcOH, TA	 158	35 %
SnCl ₂ , EtOH/H ₂ O, rfx	 158	67 %

Tableau 1 – Réduction de la 4-amino-3-bromo-5-nitropyridine 161

¹⁷¹ M. Israel et A.R. Day, Preparation of pyrido[2,3-*b*]pyrazines, pyrido[3,4-*b*]pyrazines et imidazo[*b*]pyridines, *J. Org. Chem.*, **1959**, 24, 1455-1460.

¹⁷² M.H. Norman, N. Chen, Z. Chen, C. Fotsch, C. Hale, N. Han, R. Hurt, T. Jenkins, J. Kincaid, L. Liu, Y. Lu, O. Moreno, V.J. Santora, J.D. Sonnenberg et W. Karbon, Structure-activity relationships of a series of pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine derivatives and related compounds as neuropeptide Y5 receptor antagonists, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 4288-4312.

b. Condensation entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et des dicétones symétriques

La 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** a été condensée avec le benzile **152** et avec le 4,4'-diméthoxybenzile **153** dans les conditions classiques, au reflux du dioxane¹⁶⁵, pour conduire à la formation des 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines **156** et **157** avec des bons rendements (schéma 7).

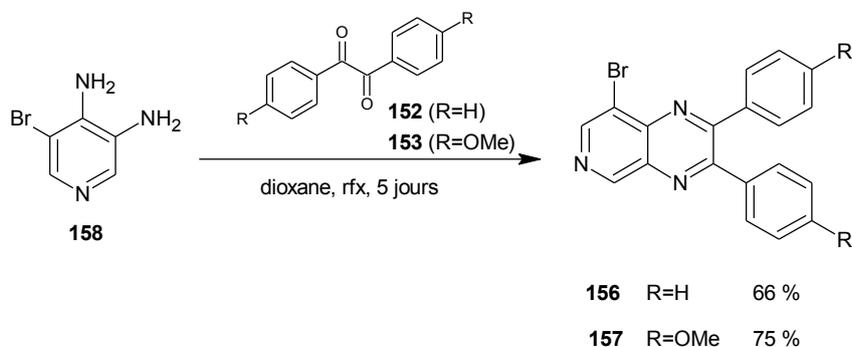


Schéma 7

3. Synthèse des 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines

a. Par amination directe

Différentes conditions ont été appliquées afin d'accéder aux 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines par amination directe des composés **156** et **157**. La réaction avec l'ammoniaque, en présence de carbonate de potassium dans un mélange acétonitrile/diméthylsulfoxyde ne conduit pas à l'obtention des amines **163** et **164**. De même, la réaction avec l'ammoniaque, en présence de sulfate cuivrique réalisée par chauffage à 165-170 °C dans un tube scellé, est restée infructueuse (schéma 8).

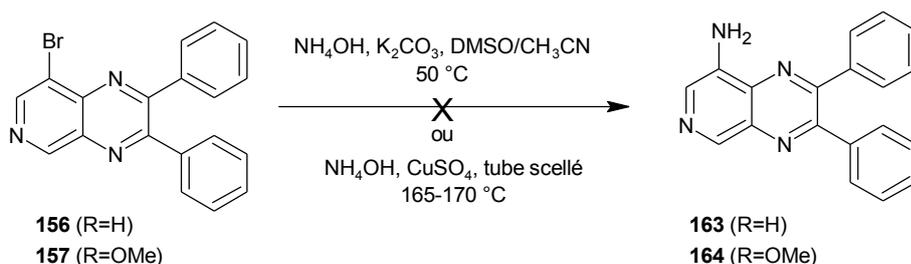


Schéma 8

b. Par nitration puis réduction en amine

Un halogénoaryle peut être converti en aminoaryle en deux étapes, par substitution de l'halogène par du nitrite de sodium¹⁷³ puis réduction du groupement nitro en amine.

La réaction entre la 8-bromo-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **156** et le nitrite de sodium, en présence de chlorure de tétrabutylammonium dans un mélange dichlorométhane/eau ne permet pas l'accès à la 8-nitro-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **165** (le produit de départ est récupéré) à partir de laquelle par réduction du groupement nitro, on peut obtenir la 8-amino-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **163** (schéma 9).

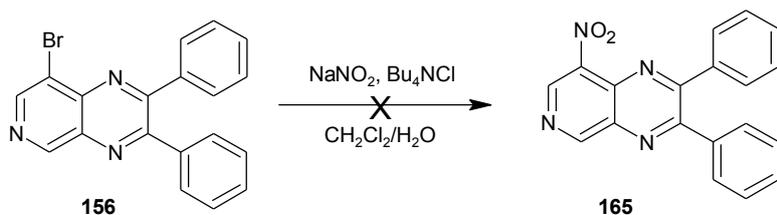


Schéma 9

c. Par formation d'un azoture puis réduction en amine

La synthèse d'un aminoaryle à partir d'un halogénoaryle peut être réalisée *via* un azoture^{174,175}, formé par substitution avec de l'azidure de sodium, qui peut ensuite être réduit en amine par différentes méthodes dont l'hydruire de lithium et d'aluminium dans le tétrahydrofurane ou la triphénylphosphine dans un mélange tétrahydrofurane/eau.

Cependant, la réaction de la 8-bromo-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **156** avec l'azidure de sodium dans le diméthylsulfoxyde au reflux ne permet pas l'obtention de l'azoture correspondant **166** (schéma 10).

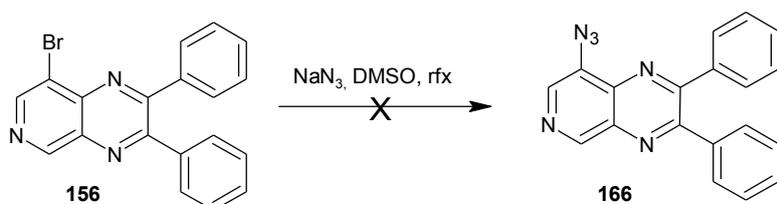


Schéma 10

¹⁷³ E. Delfourne, F. Darro, N. Bontemps-Subielos, C. Decaestecker, J. Bastide, A. Frydman et R. Kiss, Synthesis and characterization of the antitumor activities of analogues of meridine, a marine pyridoacridine alkaloid, *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 3275-3282.

¹⁷⁴ E.F.V. Scriven et K. Turnbull, Azides: their preparation and synthetic uses, *Chem. Rev.*, **1988**, 22 (2), 297-368.

¹⁷⁵ P. Molina, P.M. Frsneda et M.A. Sanz, A new method for the formation of the imidazo[4', 5'; 3,4]pyrido[2,3-*b*]indole ring: formal synthesis of the alkaloids from marine grossularines -1 and 2, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38 (39), 6909-6912.

d. Par formation d'une benzophénone imine puis clivage en amine

Les travaux de Yang et Buchwald¹⁷⁶ ont montré que la benzophénone imine pouvait être utilisée afin d'obtenir un aminoaryle à partir d'un halogénoaryle. Dans une première étape, l'halogénoaryle est converti en imine *via* une réaction pallado-catalysée. Diverses conditions ont été utilisées pour le couplage entre l'halogénoaryle et la benzophénone imine ; les meilleurs résultats sont obtenus avec du tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$), du 2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle (BINAP), en présence de *tert*-butanolate de sodium dans le toluène^{177,178}. L'imine est ensuite clivée pour conduire à l'amine correspondante. Différentes conditions de clivage de l'imine peuvent être employées¹⁷⁹ : l'hydrogénation catalytique, la transamination avec l'hydroxylamine ou l'hydrolyse par de l'acide chlorhydrique dans le tétrahydrofurane.

La réaction pallado-catalysée entre les 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines **156** et **157** et la benzophénone imine conduit à la formation des composés **167** et **168** avec des rendements acceptables (schéma 11).

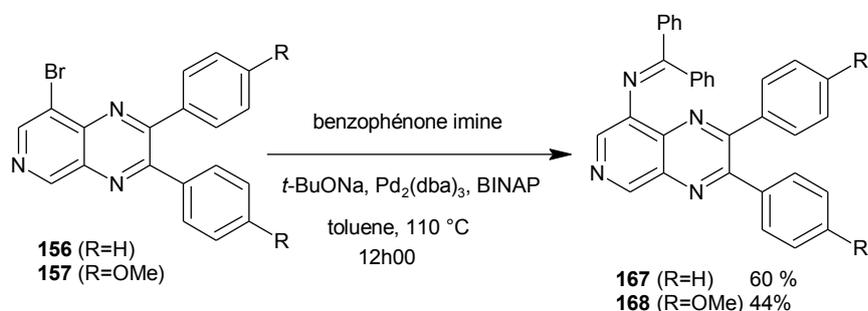
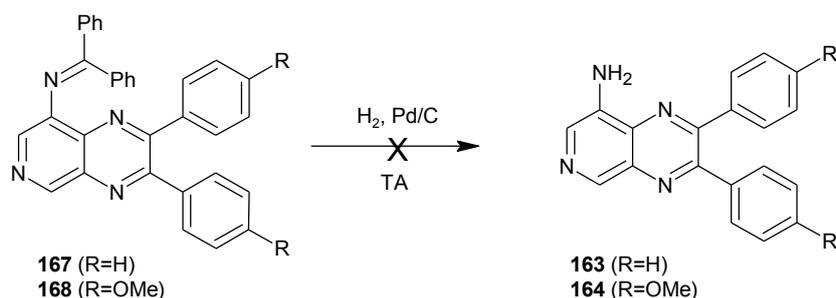


Schéma 11

Les différentes méthodes de clivage de l'imine ont été testées afin d'obtenir les amines correspondantes. L'hydrogénation avec du palladium sur charbon à 5 % conduit à la dégradation du mélange réactionnel (schéma 12).



¹⁷⁶ B.H. Yang et S.L. Buchwald, Palladium-catalyzed amination of aryl halides and sulfonates, *J. Organometallic Chem.*, **1999**, 576, 125-146.

¹⁷⁷ M. Prashad, B. Hu, Y. Lu, R. Draper, D. Har, O. Repic et T.J. Blacklock, β -Hydrogen-containing sodium alkoxides as suitable bases in palladium-catalyzed aminations of aryl halides, *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 2612-2614.

¹⁷⁸ H. Li, Y. Wang, L. Yan, R.M. Campbell, B.D. Anderson, J.R. Wagner et J.M. Yingling, Novel and potent transforming growth factor beta type I receptor kinase domain inhibitor: 7-amino-4-[2-(pyridin-2-yl)-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-*b*]pyrazol-3-yl]quinolines, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 3585-3588.

¹⁷⁹ J.P. Wolfe, J. Ahman, J.P. Sadighi, R.A. Singer et S.L. Buchwald, An ammonia equivalent for the palladium-catalyzed amination of aryl halides and triflates, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38 (36), 6367-6370.

Schéma 12

Par contre, l'hydrolyse par de l'acide chlorhydrique dans le tétrahydrofurane conduit à la formation de l'amine chlorhydratée correspondante avec de très bons rendements (schéma 13).

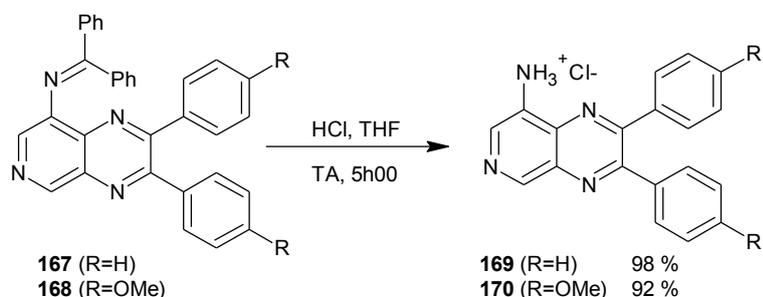


Schéma 13

La transamination par utilisation d'hydroxylamine en présence d'acétate de sodium dans le méthanol permet l'accès aux 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines **163** et **164** avec des rendements de 98 % et 87 % respectivement (schéma 14).

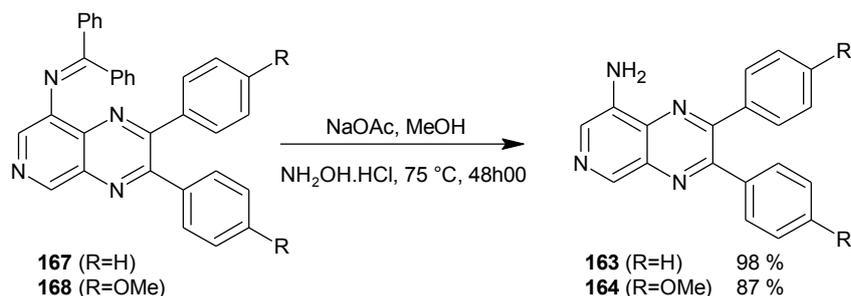


Schéma 14

Dans la série pyrido[3,4-*b*]pyrazine, l'accès aux amines **163** et **164** peut également être réalisé directement par couplage entre la 3,4,5-triaminopyridine et le benzile **152** ou le 4,4'-diméthoxybenzile **153**.

4. Voie C – Par condensation entre la 3,4,5-triaminopyridine 172 et des dicétones symétriques

a. Synthèse de la 3,4,5-triaminopyridine 172

La 3,4,5-triaminopyridine^{180,181} **172** est synthétisée en deux étapes à partir de la 4-aminopyridine **107**. La première étape permet à partir de la 4-aminopyridine **107**, par réaction avec l'acide nitrique fumant dans l'acide sulfurique concentré, l'obtention de la 4-amino-3,5-dinitropyridine **171** avec un rendement de 26 %. La réduction a été réalisée par utilisation de chlorure stanneux dans l'éthanol pour donner la 3,4,5-triaminopyridine **172** avec un rendement de 70 % (schéma 15).

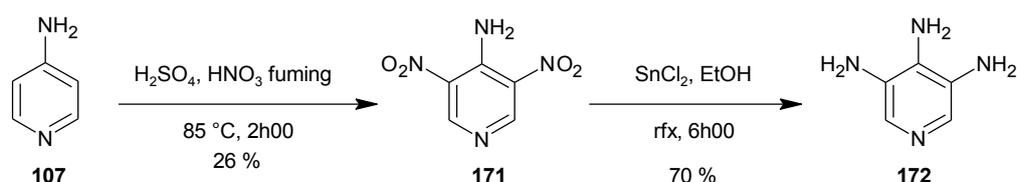


Schéma 15

b. Condensation entre la 3,4,5-triaminopyridine 172 et une dicétone symétrique

La condensation entre la 3,4,5-triaminopyridine **172** et le benzile **152**, en présence de bicarbonate de sodium dans un mélange éthanol/eau :1/1 au reflux, conduit à la 8-amino-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **163** avec un rendement de 23 % (schéma 16).

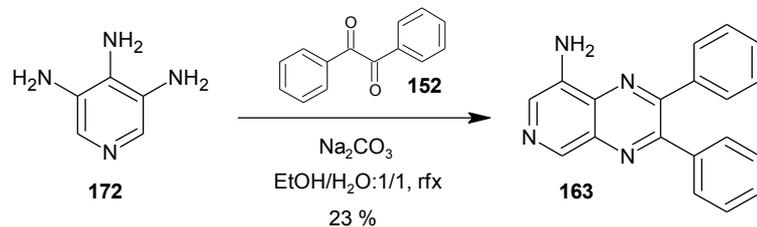


Schéma 16

5. Formation des urées, des thiourées et des amides

Les urées et les thiourées sont accessibles *via* une réaction entre les 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines **163** et **164** et un isocyanate ou un isothiocyanate respectivement. Deux méthodes sont classiquement utilisées pour synthétiser des urées ou des thiourées. La première méthode consiste à placer l'amine et l'isocyanate ou l'isothiocyanate au reflux de la pyridine, qui sert alors à la fois de base et de solvant (méthode A). La deuxième méthode consiste à déprotoner dans un premier temps l'amine par l'hydrure de sodium dans le diméthylformamide, puis l'ajout de l'isocyanate ou de l'isothiocyanate permet l'obtention des urées ou des thiourées correspondantes (méthode B) (tableau 2).

¹⁸⁰ H. Graboyes et A.R. Day, Metabolite analogs. VIII. Syntheses of some imidazopyridines and pyridotriazoles, *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 6421-6426.

¹⁸¹ C. Temple, Jr., A.G. Laseter, J.D. Rose et J.A. Montgomery, Synthesis of potential antimalarial agents. VII. Azaquinolines. I. The preparation of some pteridines and pyrido[3,4-*b*]pyrazines, *J. Heterocyclic Chem.*, **1970**, 7 (5), 1195-1202.

Généralement, la méthode A (schéma 17) a été utilisée pour synthétiser les urées et thiourées encombrées (phényle diversement substitué) et la méthode B (schéma 18) a été utilisée pour accéder aux urées et thiourées peu encombrées (chaîne alkyle ou cyclohexyle) (tableau 2).

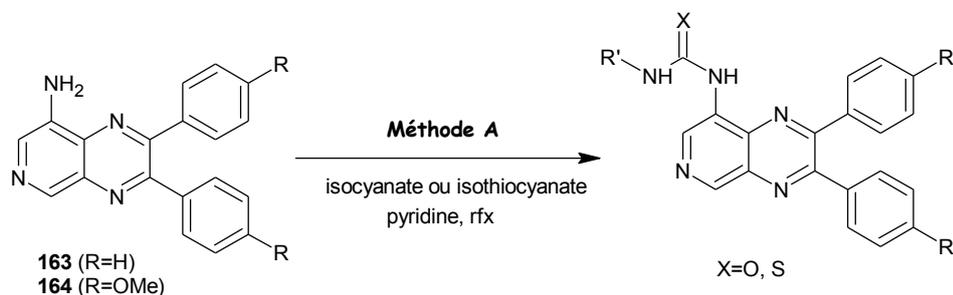


Schéma 17

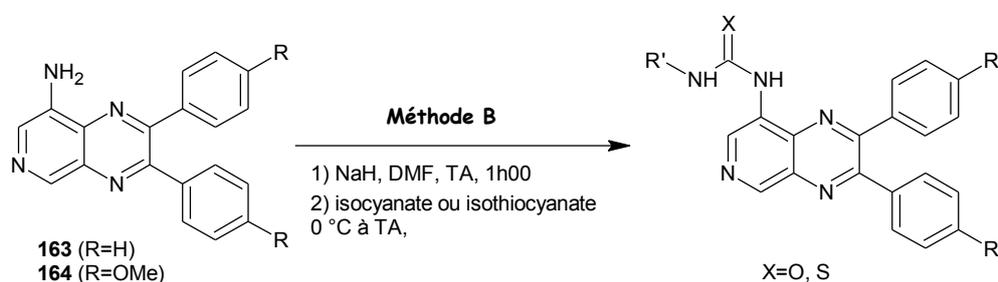


Schéma 18

La réaction entre la 8-amino-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **163** et l'éthylisocyanate par la méthode B conduit uniquement à la formation d'un produit secondaire comportant deux chaînes éthyles, même lorsqu'un seul équivalent d'hydruire de sodium est utilisé (schéma 19).

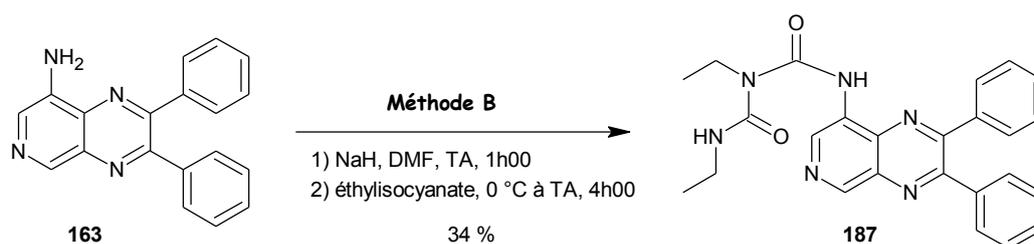


Schéma 19

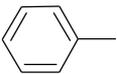
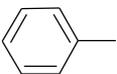
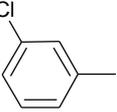
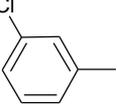
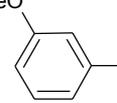
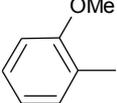
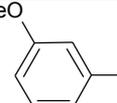
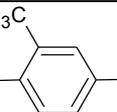
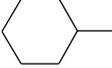
N°	Méthode	R	R'	X	Rendement
173	A	H		O	27
174	B	OMe		O	48
175	A	H		O	18
176	B	OMe		O	41
177	B	H		O	52
178	B	H		S	41
179	B	OMe		O	39
180	A	H		O	52
181	A	H		O	34
182	A	H		S	53
183	A	H		O	49
184	A	OMe		S	75
185	A	H		S	53
186	B	H		S	24

Tableau 2 – Urées et thiourées synthétisées en série pyrido[3,4-*b*]pyrazines symétriques

La structure du composé **187** a été vérifiée par HSQC. En effet, d'après la masse et la RMN du proton deux chaînes éthyles ont été introduites lors de cette réaction. Deux structures sont alors envisageables, les structures A et B. D'après la RMN du proton, c'est le produit de structure B qui a été obtenu puisque l'on observe un singulet et un multiplet pour les deux NH alors que pour le produit de structure A, on devrait observer deux triplets. Toutefois, afin de vérifier cette hypothèse, nous avons utilisé la RMN C-H longue distance (HSQC) ; en effet, si l'on observe une corrélation entre l'hydrogène de l'amide en position 8 et le carbone 7, le produit formé est celui de structure B alors que s'il n'y a pas de corrélation, le produit formé est celui de structure A (schéma 20).

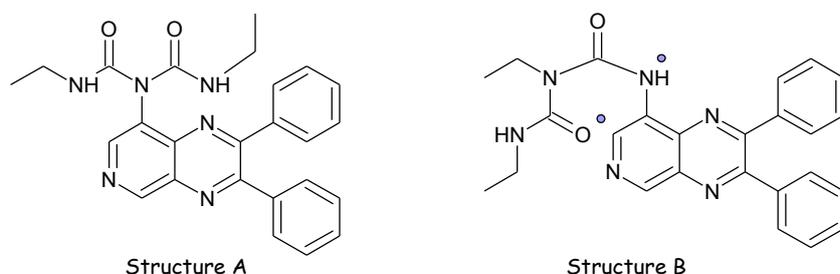


Schéma 20

Une tâche de corrélation est observée entre l'hydrogène de l'amide en position 8 et le carbone 7 ce qui confirme que le composé formé par la méthode B est celui de structure B.

La réaction entre la 8-amino-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **163** et l'allylisocyanate par la méthode B conduit à la dégradation du mélange réactionnel (schéma 21).

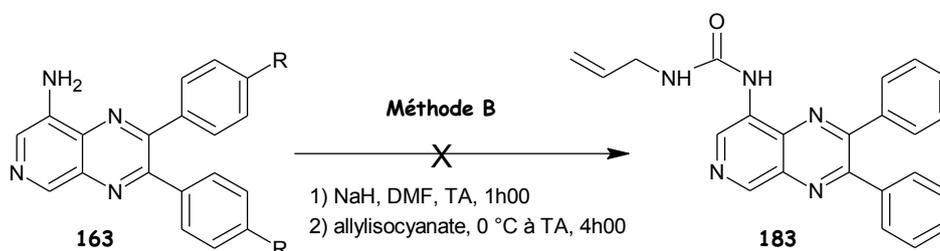


Schéma 21

En conséquence, il semble que la méthode B n'est pas appropriée pour synthétiser les urées et thiourées peu encombrées, c'est la raison pour laquelle nous avons décidé d'utiliser préférentiellement la méthode A pour accéder aux urées et thiourées avec les alkylisocyanates et isothiocyanates ainsi que le cyclohexylisocyanate et isothiocyanate. En revanche, nous avons préféré utiliser la méthode B pour les urées et thiourées plus encombrées (pour lesquelles il n'y a pas de réaction secondaire) car les temps de réaction sont généralement plus courts et le traitement plus aisé.

Un premier essai a été réalisé afin de synthétiser l'acétamide **188** par réaction du composé **163** avec de l'anhydride acétique en présence de diméthylaminopyridine DMAP (schéma 22).

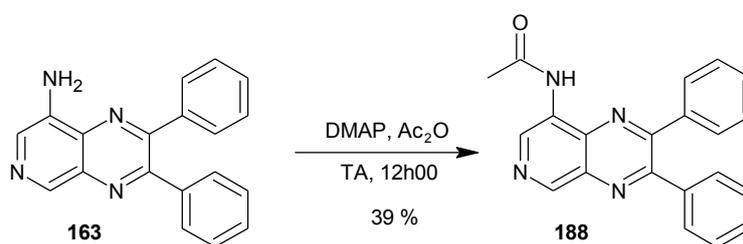


Schéma 22

L'acétamide **188** est obtenu avec un rendement relativement faible, c'est pourquoi les amides ont été synthétisés par réaction entre les 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines **163** et **164** et divers chlorures d'acide en présence de carbonate de potassium au reflux de l'acétonitrile (schéma 23).

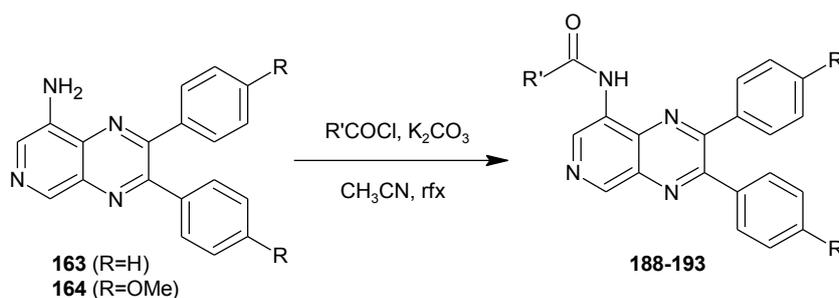


Schéma 23

N°	R	R'	Rendement
188	H	CH ₃	39
189	OMe	CH ₃	87
190	OMe	(CH ₃) ₂ CH	71
191	OMe	CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂	62
192	OMe	(CH ₃) ₃ C	87
193	OMe		68

Tableau 3 – Amides synthétisés en série pyrido[3,4-*b*]pyrazines symétriques

B. PYRIDO[3,4-*b*]PYRAZINES EN SERIE MONOARYLE

1. Voie des β -cétosulfoxydes et des hémithioacétals

Des pyrido[3,4-*b*]pyrazines substituées en position 2 ont été synthétisées par condensation entre la 3,4-diaminopyridine et des β -cétosulfoxydes en présence d'acide acétique au reflux du benzène¹⁶⁰. Il a donc été envisagé de réaliser cette réaction avec la 5-bromo-3,4-diaminopyridine **158** et divers β -cétosulfoxydes.

Dans un premier temps, nous avons synthétiser les β -cétosulfoxydes **196** et **197**, ainsi que les hémithioacétals correspondants **198** et **199**. Les β -cétosulfoxydes ont été obtenus suivant la méthode de Corey et Chaykosky¹⁶². Le diméthylsulfoxyde est déprotoné par l'hydrure de sodium pour former un carbanion méthylsulfinyl $\text{CH}_3\text{SOCH}_2^-$ qui réagit ensuite avec un ester pour former le β -cétosulfoxyde correspondant. Les hémithioacétals **198** et **199** ont été obtenus par hydrolyse acide dans le diméthylsulfoxyde des β -cétosulfoxydes¹⁶³ avec un rendement de 70 et 75 % respectivement (schéma 24).

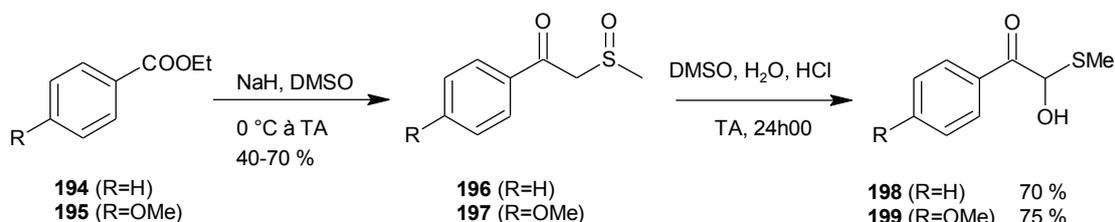


Schéma 24

La condensation entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et le β -cétosulfoxyde **196** en présence d'acide acétique au reflux du benzène¹⁶⁰ conduit à l'obtention d'un mélange des régioisomères **200** et **201** en proportions 7/3 avec un rendement de 55 % (schéma 25). Ces résultats ne permettent pas de privilégier, a priori, l'un ou l'autre des mécanismes proposés précédemment puisqu'on a un mélange. Il est clair que le type de diaminopyridine et donc la nucléophilie relative de chacune des amines jouent un grand rôle dans la régiosélectivité de cette réaction qu'il est difficile de prévoir.

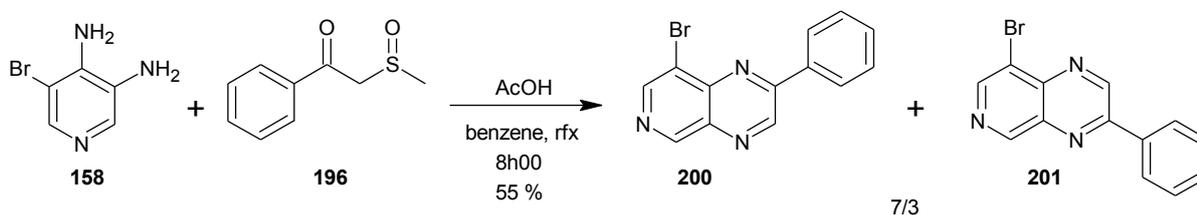


Schéma 25

La proportion de chacun des régioisomères dans le mélange a été déterminée ultérieurement, après avoir isolé le composé **200**, dont la structure a été établie par RMN ¹³C-¹⁵N.

Par contre, la condensation entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et le β -cétosulfoxyde **196** au reflux de l'éthanol ne permet pas l'accès aux pyridopyrazines ; seul le produit de départ est récupéré (schéma 26).

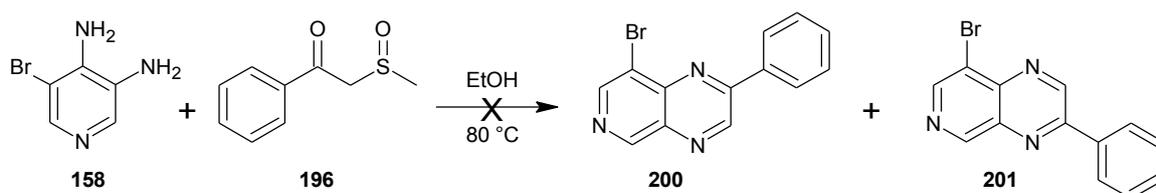


Schéma 26

En revanche, la réaction entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et les hémithioacétals **198** et **199** en présence d'acétate de sodium au reflux de l'acide acétique¹⁶³ conduit à l'obtention d'un seul régioisomère (phényle en 2), les composés **200** et **202** avec des rendements de 52 % et 55 % respectivement (schéma 27), comme prévu par la littérature^{163,164}.

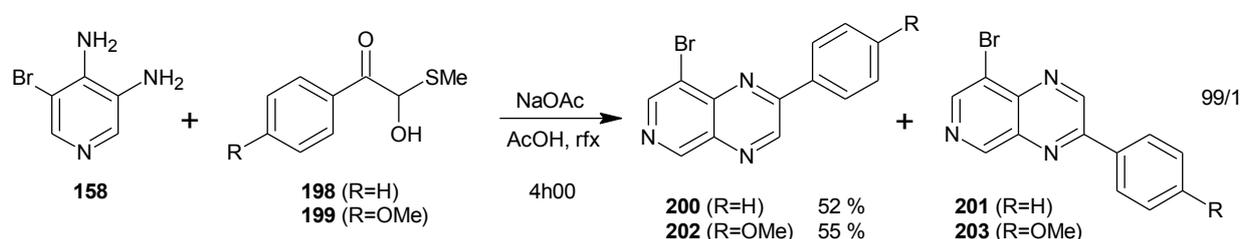


Schéma 27

A partir des composés **200** et **202**, la synthèse est la même qu'en série symétrique, à savoir formation de la benzophénone imine intermédiaire puis clivage de celle-ci pour accéder aux amines correspondantes. La réaction pallado-catalysée entre les composés **200** et **202** et la benzophénone imine conduit à la formation des composés **204** et **205** avec des rendements de 70 % et 62 % respectivement. Le clivage de l'imine est ensuite réalisé par utilisation d'hydroxylamine, en présence d'acétate de sodium au reflux du méthanol pour conduire aux composés **206** et **207** avec des rendements excellents (schéma 28).

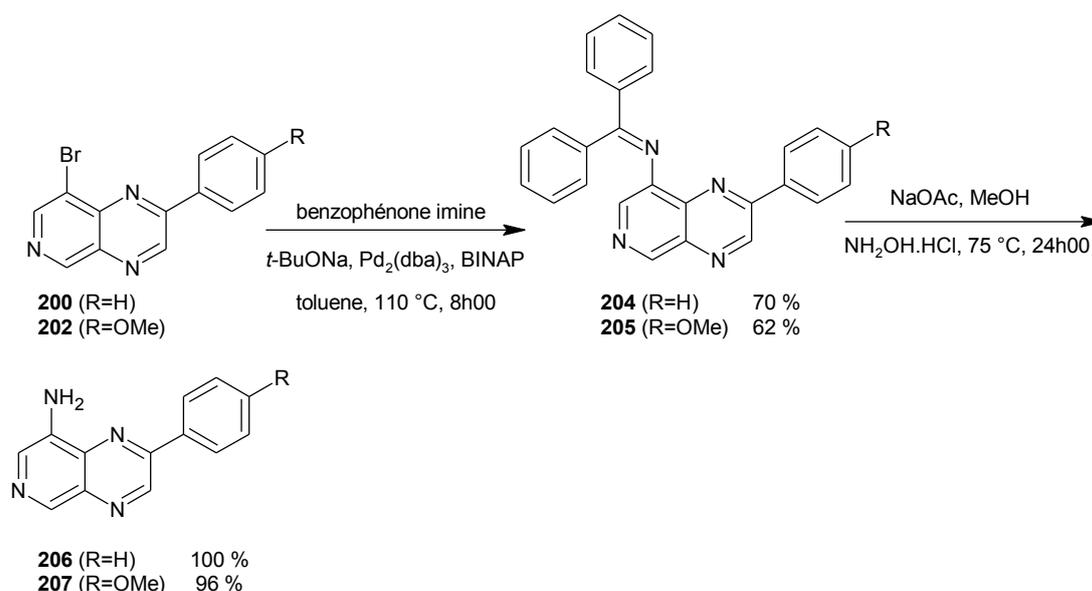
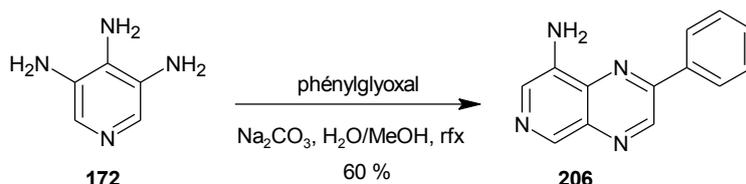


Schéma 28

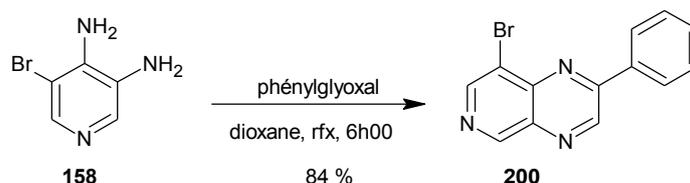
Il a également été envisagé d'obtenir les pyrido[3,4-*b*]pyrazines non symétriques par réaction directe entre la 3,4,5-triaminopyridine **172** et le phénylgyoxal, méthode qui nous a permis auparavant de synthétiser les pyrido[3,4-*b*]pyrazines symétriques.

2. Voie des glyoxals

La réaction entre la 3,4,5-triaminopyridine **172** et le phénylgyoxal en présence de carbonate de sodium dans un mélange méthanol/eau¹⁸¹ conduit à la formation du composé **206** avec un rendement de 60 % (schéma 29).

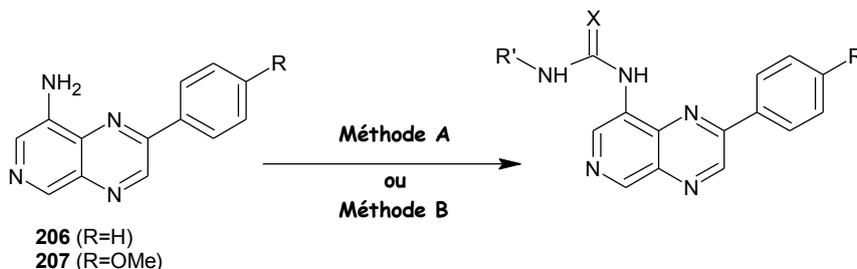


La réaction entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et le phénylgyoxal au reflux du dioxane¹⁸¹ conduit à la formation d'un seul régioisomère, le composé **200** avec un rendement de 84 % (schéma 30).



3. Formation des urées, des thiourées et des amides

Afin de synthétiser les urées et les thiourées, les mêmes méthodes que dans la série des pyrido[3,4-*b*]pyrazines symétriques ont été employées, à savoir la méthode A (pyridine au reflux) pour les urées et thiourées peu encombrées et la méthode B (hydrure de sodium dans le diméthylformamide) pour les urées et thiourées plus encombrées (schéma 31).



N°	Méthode	R	R'	X	Rendement
----	---------	---	----	---	-----------

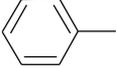
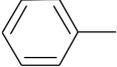
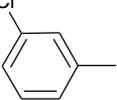
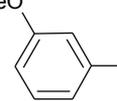
208	B	H		O	47
209	B	H		S	35
210	B	H		O	47
211	B	H		O	17
212	B	H		S	53
213	A	OMe		O	61
214	A	OMe		S	42

Tableau 4 - Urées et thiourées synthétisées en série pyrido[3,4-*b*]pyrazines non symétriques

Seul l'acétamide **215** a été synthétisé, par réaction du composé **206** avec de l'anhydride acétique en présence de diméthylaminopyridine avec un rendement de 36 % (schéma 32).

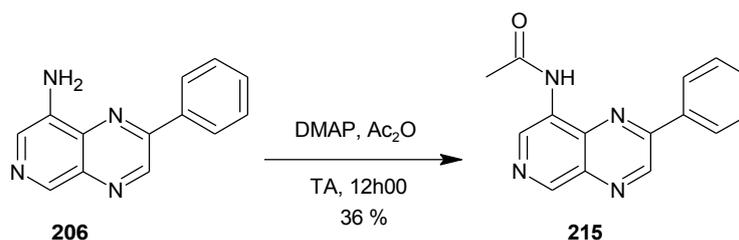


Schéma 32

Comme dans la série biaryle, la réaction entre le composé **206** et l'éthylisocyanate selon la méthode B (hydrure de sodium dans le diméthylformamide) conduit à la formation d'un composé comportant deux chaînes alkyles (schéma 33).

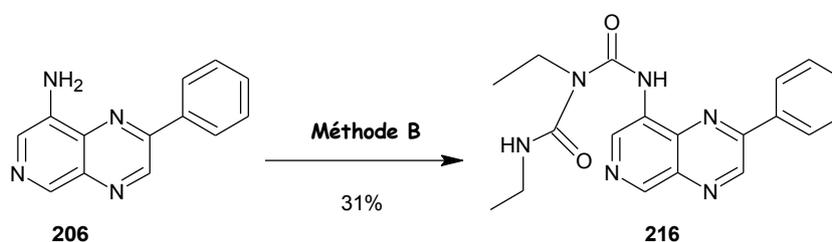


Schéma 33

PARTIE EXPERIMENTALE

2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine (154)

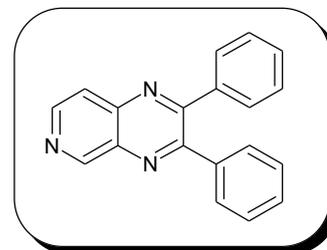
poudre jaune moutarde

$C_{19}H_{13}N_3$

$M_r = 283.33$

$R_f = 0.75$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 173-174\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : chauffer au reflux pendant 5 jours une solution de 3.0 g (27.5 mmol, 1 éq) de 3,4-diaminopyridine **151** commerciale et de 5.8 g (27.5 mmol, 1 éq) de benzile dans 80 mL de dioxane. Laisser revenir à température ambiante, puis évaporer le solvant sous vide pour donner une poudre jaune (6.4 g, $\eta=82\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.60 (s, 1H, H_5), 8.91 (d, 1H, H_7 , $^3J=5.8$ Hz), 8.13 (d, 1H, H_8 , $^3J=5.8$ Hz), 7.57-7.39 (m, 10H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 157.66 (C), 155.09 (C), 153.74 (CH), 147.37 (CH), 142.83 (C), 138.15 (C), 138.10 (C), 135.59 (C), 129.75 (CH), 129.67 (CH), 129.45 (CH), 129.18 (CH), 128.10 (CH), 121.09 (CH).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1579 et 1543 $\nu\text{C=C aro}$.

2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-b]pyrazine (155)

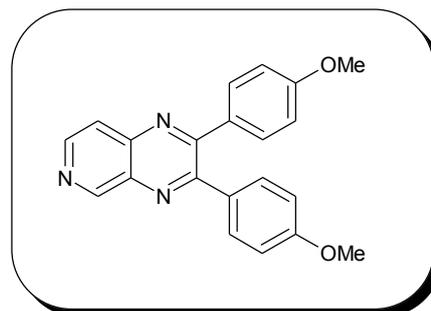
poudre jaune moutarde

$C_{21}H_{17}N_3O_2$

$M_r = 343.38$

$R_f = 0.77$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 147-148$ °C



Mode opératoire : le composé 155 est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé 154 ($\eta=75$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 9.51 (s, 1H, H_5), 8.83 (d, 1H, H_7 , $^3J=5.8$ Hz), 8.03 (d, 1H, H_8 , $^3J=5.8$ Hz), 7.55-7.50 (m, 4H, Haro), 6.99 (d, 4H, Haro, $^3J=8.5$ Hz), 3.83 (s, 6H, OCH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 160.84 (C), 160.57 (C), 157.57 (C), 155.07 (C), 153.92 (CH), 147.50 (CH), 143.19 (C), 135.98 (C), 131.86 (CH), 131.66 (CH), 131.12 (C), 130.98 (C), 121.43 (CH), 114.16 (CH).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1600 et 1507 $\nu_{C=C}$ aro, 1241 ν_{C-OMe} .

8-bromo-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine (156)

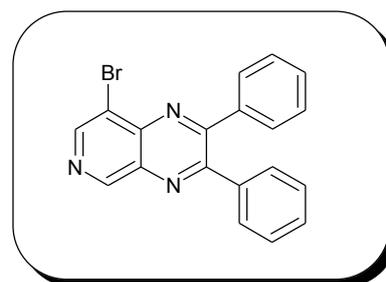
poudre beige

$C_{19}H_{12}BrN_3$

$M_r = 362.22$

$R_f = 0.89$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 200-201\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : chauffer une solution de 150 mg (0.5 mmol, 1 éq) de 2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **154** dans 0.35 mL d'acide bromhydrique. Ajouter à 80 °C 1 mL de H₂O₂ à 35% en maintenant la température inférieure à 83 °C. Laisser sous agitation pendant 1h00 puis hydrolyser par une solution de chlorure de sodium. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide (188 mg, $\eta=98\%$).

Mode opératoire : chauffer au reflux une solution de 500 mg de 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** (2.7 mmol, 1 éq) et 559 mg (2.7 mmol, 1 éq) de benzile **152** dans 15 mL de dioxane. Evaporer le solvant. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant du dichlorométhane pour donner une poudre beige (636 mg, $\eta=66\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.56 (s, 1H, H₅), 9.17 (s, 1H, H₇), 7.62-7.54 (m, 4H, Haro), 7.52-7.40 (m, 6H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 158.13 (C), 155.95 (C), 153.13 (CH), 148.30 (CH), 140.83 (C), 137.69 (C), 136.64 (C), 129.93 (CH), 129.82 (CH), 129.74 (CH), 129.47 (CH), 128.17 (CH), 119.34 (C).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1569 et 1538 $\nu\text{C=C aro}$.

4-nitraminopyridine (159)

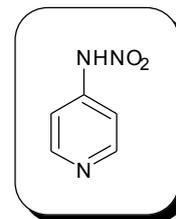
poudre jaune moutarde

$C_5H_5N_3O_2$

$M_r = 139.11$

$R_f = 0.45$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 194-195 °C



Mode opératoire : à une solution de 5.0 g (53.2 mmol, 1 éq) de 4-aminopyridine **107** dans 20 mL d'acide sulfurique concentré ajouter 2.5 mL (55.3 mmol, 1.04 éq) d'acide nitrique fumant en 30 minutes en maintenant la température inférieure à 10°C. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 5h00 puis verser la solution résultante dans la glace et laisser au réfrigérateur pendant 1 nuit puis filtrer le précipité formé. Ajouter une solution aqueuse d'ammoniaque jusqu'à formation d'un précipité. Filtrer le précipité jaune formé.

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.27 (d, 2H, $H_{2,6}$, $^3J=7.0$ Hz), 7.51 (d, 2H, $H_{3,4}$, $^3J=7.0$ Hz).

4-amino-3-nitropyridine (160)

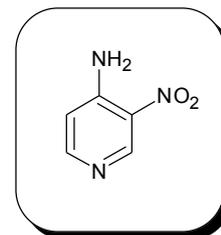
poudre jaune

$C_5H_5N_3O_2$

$M_r = 139.11$

$R_f = 0.47$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 225-226\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : dissoudre la 4-nitraminopyridine **159** dans 10 mL d'acide sulfurique concentré et chauffer la solution résultante à $90\text{ }^\circ\text{C}$ pendant 3h00, puis maintenir l'agitation à température ambiante pendant 1 nuit. Verser cette solution dans la glace et ajouter une solution aqueuse d'ammoniaque jusqu'à formation d'un précipité jaune puis filtrer sur fritté (3.5 g, $\eta=47\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.00 (s, 1H, H₂), 8.16 (d, 1H, H₆, $^3J=6.0\text{ Hz}$), 7.97 (sl, 2H, NH₂), 6.92 (d, 1H, H₅, $^3J=6.0\text{ Hz}$).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 151.67 (CH), 149.44 (C), 148.01 (CH), 128.69 (C), 112.69 (CH).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1635 et 1548 ν pyridine, 1464 et 1353 ν NO₂.

4-amino-3-bromo-5-nitropyridine (161)

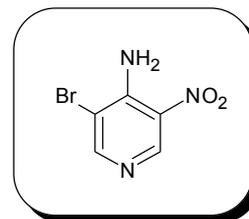
poudre jaune pâle

$C_5H_4BrN_3O_2$

$M_r = 218.00$

$R_f = 0.79$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 174-175\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 500 mg (3.6 mmol, 1 éq) de 4-amino-3-nitropyridine **160** dans 5 mL d'acide acétique glacial ajouter 353 mg (3.6 mmol, 1 éq) d'acétate de potassium et laisser sous agitation pendant 1h00. Ajouter ensuite 180 μL (3.6 mmol, 1 éq) de brome goutte à goutte et maintenir l'agitation pendant 12h00. Filtrer le précipité orange formé. Purifier le résidu obtenu par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant par le mélange dichlorométhane/éthanol : 9/1 pour donner une poudre jaune (289 mg, $\eta=37\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.01 (s, 1H, H₆), 8.59 (s, 1H, H₂), 7.85 (sl, 2H, NH₂).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 153.50 (CH), 146.94 (CH), 146.46 (C), 129.76 (C), 108.74 (C).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1630 et 1584 ν pyridine, 1456 et 1348 νNO_2 .

3,4-diamino-5-bromopyridine (158)

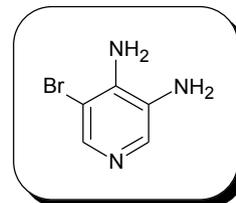
poudre beige

$C_5H_6BrN_3$

$M_r = 188.03$

$R_f = 0.17$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 121-122 °C



Mode opératoire : à une solution de 200 mg (0.9 mmol, 1 éq) de 4-amino-3-bromo-5-nitropyridine **161** dans 6 mL d'un mélange éthanol/eau : 5/1 ajouter 872 mg (4.6 mmol, 5 éq) de chlorure stanneux. Chauffer au reflux pendant 2h00. Laisser refroidir puis ajouter une solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à pH basique. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une poudre beige (111 mg, $\eta=67\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.69 (s, 1H, H₆), 7.62 (s, 1H, H₂), 5.57 (s, 2H, NH₂), 4.94 (s, 2H, NH₂).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 139.64 (CH), 138.27 (C), 133.08 (CH), 131.84 (C), 105.04 (C).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1624 ν NH₂.

8-bromo-2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazine (157)

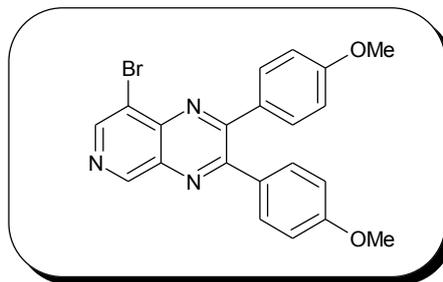
poudre jaune

$C_{21}H_{16}BrN_3O_2$

$M_r = 422.28$

$R_f = 0.86$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 119-120\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **157** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **156** par condensation entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et le 4,4'-diméthoxybenzile **153** ($\eta=75\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.46 (s, 1H, H_5), 9.09 (s, 1H, H_7), 7.90 (m, 4H, Haro), 7.06-7.00 (m, 4H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 160.72 (C), 160.31 (C), 157.39 (C), 155.30 (C), 152.72 (CH), 147.86 (CH), 140.58 (C), 136.42 (C), 131.58 (2CH), 131.25 (2CH), 130.09 (C), 130.00 (C), 119.14 (C), 113.77 (2CH), 113.74 (2CH), 55.30 (OCH_3), 55.24 (OCH_3).

***N*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)benzophénone imine (167)**

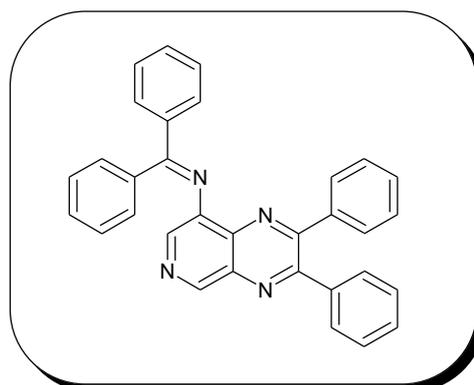
poudre jaune

$C_{32}H_{22}N_4$

$M_r = 462.54$

$R_f = 0.86$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 88-89\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 1.2 g (3.3 mmol, 1 éq) de 8-bromo-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **156** dans 40 mL de toluène, ajouter sous flux d'argon, 667 μL (4.0 mmol, 1.2 éq) de benzophénone imine, 10 mg ($2.5 \cdot 10^{-5}$ mol, 0.0075 éq) de tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium, 4 mg ($8.3 \cdot 10^{-6}$ mol, 0.0025 éq) de 2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphtyle et 446 mg (4.6 mmol, 1.4 éq) de *tert*-butanolate de sodium. Chauffer le mélange réactionnel à 100 $^\circ\text{C}$ pendant 12h00 puis laisser revenir à température ambiante. Reprendre à l'acétate d'éthyle, laver plusieurs fois la phase organique à l'eau. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant un mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 9/1 pour donner une poudre jaune (780 mg, $\eta=60\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.15 (s, 1H, H_5), 8.28 (s, 1H, H_7), 7.82-7.21 (m, 20H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 171.18 (C), 156.39 (C), 154.89 (C), 147.96 (CH), 143.15 (C), 138.46 (C), 138.26 (C), 136.88 (CH), 135.52 (C), 135.29 (C), 129.86 (CH), 129.80 (CH), 129.56 (CH), 129.46 (CH), 129.24 (CH), 128.79 (CH), 128.53 (CH), 128.40 (CH), 128.33 (CH), 128.17 (CH).

$\text{IR (KBr, cm}^{-1})$: 1619 $\nu\text{C=N}$.

***N*-[2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl]benzophénone imine (168)**

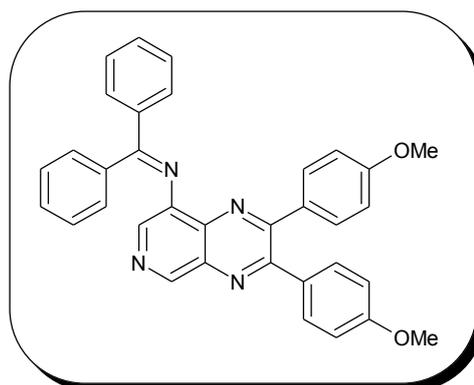
poudre jaune

$C_{34}H_{26}N_4O_2$

$M_r = 522.60$

$R_f = 0.85$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 94-95\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **168** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **167** ($\eta=44\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.06 (s, 1H, H_5), 8.22 (s, 1H, H_7), 7.49-7.42 (m, 9H, Haro), 6.99-6.95 (m, 9H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 170.70 (C), 160.17 (C), 160.02 (C), 155.42 (C), 153.97 (C), 147.39 (CH), 142.71 (C), 136.27 (CH), 135.09 (C), 134.71 (C), 131.48 (CH), 131.33 (CH), 131.05 (CH), 130.95 (C), 130.55 (C), 130.42 (C), 129.16 (CH), 128.89 (CH), 128.50 (CH), 128.20 (CH), 127.84 (CH), 113.68 (CH), 113.59 (CH), 55.14 (OCH₃), 55.11 (OCH₃).

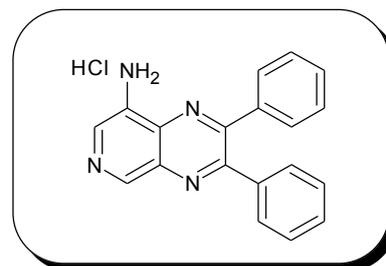
IR (KBr, cm^{-1}) : 1606 $\nu\text{C=N}$, 1252 $\nu\text{C-OMe}$.

chlorhydrate de 8-amino-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine (169)

poudre orange

$C_{19}H_{15}ClN_4$

$M_r = 334.80$



Mode opératoire : à une solution de 200 mg (0.4 mmol) de *N*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)benzophénone imine **167** dans 3 mL de tétrahydrofurane, ajouter 0.4 mL d'acide chlorhydrique 2M et laisser sous agitation à température ambiante pendant 5h00. Filtrer le chlorhydrate formé. Obtention d'une poudre orange (140 mg, $\eta=98\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.02 (s, 1H, H₅), 8.14 (s, 1H, H₇), 7.70-7.43 (m, 10H, Haro).

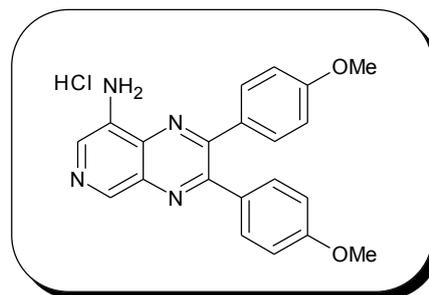
$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 157.48 (C), 156.67 (C), 144.88 (C), 137.86 (C), 137.52 (C), 136.44 (C), 134.27 (C), 132.90 (CH), 131.28 (CH), 130.44 (CH), 130.29 (CH), 129.97 (CH), 129.84 (CH), 129.79 (CH), 128.78 (CH), 128.49 (CH), 128.36 (CH), 119.58 (CH).

chlorhydrate de 8-amino-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine (170)

poudre orange

$C_{21}H_{19}ClN_4O_2$

$M_r = 394.84$



Mode opératoire : le composé **170** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **169** ($\eta=92\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.96 (s, 1H, H₅), 8.06 (s, 1H, H₇), 7.72 (d, 2H, Haro, $^3J=8.8$ Hz), 7.57 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 7.04 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 7.01 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 3.84 (s, 6H, 2OCH₃).

8-amino-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine (163)

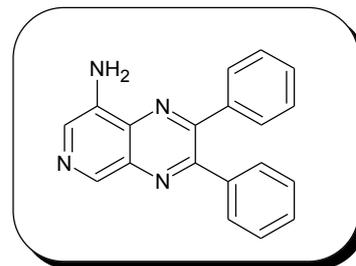
poudre orange

C₁₉H₁₄N₄

M_r = 298.34

R_f = 0.76 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 192-193 °C



Mode opératoire : à une solution de 200 mg (0.4 mmol, 1 éq) de *N*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)benzophénone imine **167** dans 5 mL de méthanol, ajouter 85 mg (1.04 mmol, 2.4 éq) d'acétate de sodium et 54 mg (0.8 mmol, 1.8 éq) de chlorhydrate d'hydroxylamine. Chauffer à 75 °C la solution résultante pendant 48h00. Basifier par une solution d'hydroxyde de sodium, extraire au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide pour donner une poudre orange (128 mg, η=98 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 8.69 (s, 1H, H₅), 8.23 (s, 1H, H₇), 7.61-7.29 (m, 10H, Haro), 6.30 (s, 2H, NH₂).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 154.77 (C), 153.74 (C), 140.50 (C), 138.76 (C), 138.49 (C), 138.41 (CH), 135.72 (C), 132.00 (C), 130.10 (CH), 129.79 (CH), 129.49 (CH), 129.30 (CH), 129.18 (CH), 128.29 (CH), 128.20 (CH).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3220 νNH₂, 1614 νC=C aro.

8-amino-2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-b]pyrazine (164)

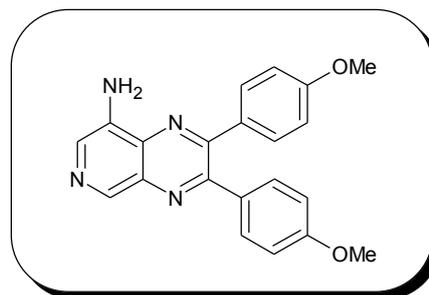
poudre orange

$C_{21}H_{18}N_4O_2$

$M_r = 358.39$

$R_f = 0.78$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 146-147\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **164** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **163** ($\eta=87\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.63 (s, 1H, H_5), 8.17 (s, 1H, H_7), 7.58 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 7.50 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 6.98 (dd, 4H, Haro, $^3J=8.9$ Hz, $^4J=3.4$ Hz), 6.22 (s, 2H, NH_2), 3.83 (s, 6H, $2OCH_3$).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 160.28 (C), 160.09 (C), 154.20 (C), 153.21 (C), 140.29 (C), 138.36 (CH), 135.55 (C), 131.84 (C), 131.60 (CH), 131.22 (CH), 130.93 (C), 129.19 (CH), 113.83 (CH), 113.75 (CH), 55.21 (OCH_3), 55.18 (OCH_3).

$\text{IR (KBr, cm}^{-1})$: 3150 νNH_2 , 1608 $\nu C=C$ aro, 1247 $\nu C-OMe$.

4-amino-3,5-dinitropyridine (171)

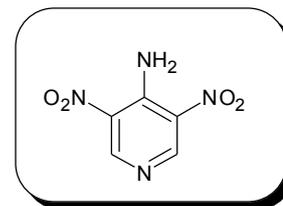
flocons jaunes

$C_5H_4N_4O_4$

$M_r = 184.11$

$R_f = 0.68$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 167-168 °C



Mode opératoire : à une solution de 23.5 g (0.25 mol) de 4-aminopyridine **107** dans 100 mL d'acide sulfurique concentré refroidie dans un bain de glace ajouter 13.5 mL d'acide nitrique fumant goutte à goutte en 30 minutes, en maintenant la température inférieure à 10 °C. Laisser la solution revenir à température ambiante puis chauffer à 85 °C. Lorsque la température atteint 85 °C, refroidir rapidement la solution dans un bain de glace. Ajouter ensuite 13.5 mL d'acide nitrique fumant puis chauffer la solution résultante à 85 °C pendant 1h00. Laisser revenir à température ambiante puis verser le mélange réactionnel dans la glace et ajouter une solution de soude. Filtrer le précipité jaune. Ajouter au filtrat une solution d'ammoniaque et filtrer à nouveau le précipité formé. Dissoudre le résidu dans du dichlorométhane puis filtrer sur fritté. Faire de nombreux lavages successifs au dichlorométhane puis évaporer le filtrat pour donner des flocons jaunes (12.3 g, $\eta=26\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 9.26 (s, 2H, $H_{2,6}$), 8.77 (sl, 2H, NH_2).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 151.88 (2CH), 143.61 (2C), 132.18 (C).

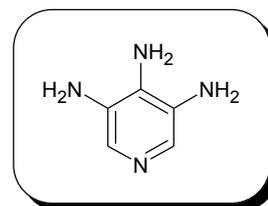
3,4,5-triaminopyridine (172)

poudre marron

$C_5H_8N_4$

$M_r = 124.14$

F = 250-251°C



Mode opératoire : à une solution de 4.0 g (2.2 mmol, 1 éq) de 4-amino-3,5-dinitropyridine **171** dans 200 ml d'éthanol ajouter 20 g (10.8 mmol, 5 éq) de chlorure d'étain. Chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 6h00 puis laisser revenir à température ambiante. Acidifier par ajout d'acide chlorhydrique. Filtrer le précipité obtenu (1.9 g, $\eta=70\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 7.51 (s, 2H, H_{2,6}).

N-phényl-N'-(2,3-diphénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)urée (173)

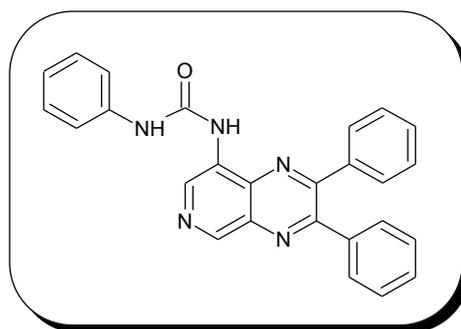
poudre jaune

C₂₆H₁₉N₅O

M_r = 417.46

R_f = 0.81 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 284-285 °C



Mode opératoire (méthode A) : à une solution de 250 mg (0.8 mmol, 1 éq) de 8-amino-2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine **163** dans 20 mL de pyridine, ajouter 87 µL (0.8 mmol, 1 éq) d'isocyanate de phényle puis chauffer le mélange réactionnel jusqu'à ce que la réaction soit totale. Evaporer le solvant puis purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/éthanol (90 mg, η=27 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 10.38 (s, 1H, NH), 9.73 (s, 1H, NH), 9.68 (s, 1H, H₅), 9.41 (s, 1H, H₇), 7.76-7.08 (m, 15 H, Haro).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3254 νNH, 1703 νC=O, 1603 νC=C aro.

SM (SI) : m/z = 418 [M+H]⁺.

***N*-(2,3-bis(4-méthoxyphényl)-*N'*-phénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)urée (174)**

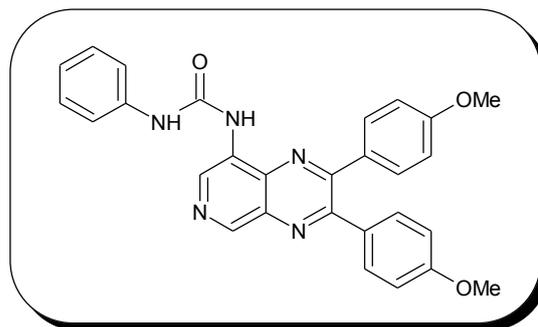
poudre jaune

$C_{28}H_{23}N_5O_3$

$M_r = 477.51$

$R_f = 0.76$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 225-226\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire (méthode B) : à une solution de 250 mg (0.5 mmol, 1 éq) de 8-amino-2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazine 164 dans 15 mL de diméthylformamide, ajouter 42 mg (1.0 mmol, 2 éq) d'hydrure de sodium à 60 %. Laisser sous agitation pendant 30 minutes puis ajouter 54 μL (0.5 mmol, 1 éq) d'isocyanate de phényle. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice en éluant avec un mélange dichlorométhane/éthanol (115 mg, $\eta=48\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.99 (s, 1H, NH), 9.65 (s, 1H, H₅), 9.31 (s, 1H, NH), 9.12 (s, 1H, H₇), 7.65-7.50 (m, 6H, Haro), 7.37 (t, 2H, Haro, $^3J=7.9\text{ Hz}$), 7.09-6.98 (m, 5H, Haro), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 160.33 (C), 159.99 (C), 154.89 (C), 154.69 (C), 151.93 (C), 144.65 (CH), 139.25 (C), 134.79 (C), 133.44 (CH), 132.87 (C), 131.61 (CH), 131.13 (CH), 130.96 (C), 130.50 (C), 130.26 (C), 128.84 (CH), 122.23 (CH), 118.31 (CH), 113.63 (CH), 113.58 (CH), 55.25 (OCH₃), 55.15 (OCH₃).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3336 νNH , 1689 $\nu\text{C=O}$, 1606 $\nu\text{C=C aro}$, 1248 $\nu\text{C-OMe}$.

SM (SI) : $m/z = 478$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

N-(3-chlorophényl)-N'-(2,3-diphénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)urée (175)

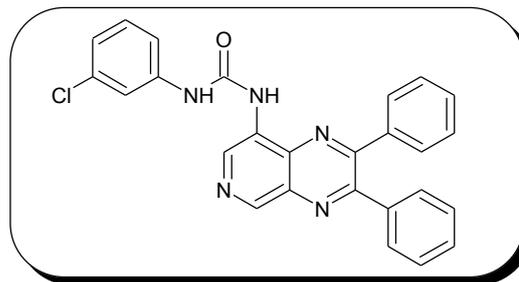
poudre jaune

$C_{26}H_{18}ClN_5O$

$M_r = 451.91$

$R_f = 0.79$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 238-239$ °C



Mode opératoire : le composé **175** est obtenu selon la méthode A ($\eta=18$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 9.70 (s, 1H, H_5), 9.22 (s, 1H, H_7), 7.86 (s, 1H, Haro), 7.66-7.62 (m, 2H, Haro), 7.56-7.36 (m, 10H, Haro), 7.14-7.10 (m, 1H, Haro).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3228 ν NH, 1687 ν C=O urée, 1595 et 1539 ν C=C aro.

SM (SI) : $m/z = 452$ $[M+H]^+$ (isotope ^{35}Cl , intensité 1), $m/z = 454$ $[M+H]^+$ (isotope ^{37}Cl , intensité 1/3).

***N*-(3-chlorophényl)-*N'*-(2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)urée (176)**

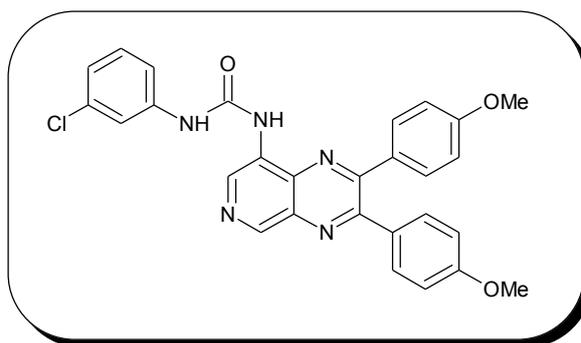
poudre jaune

$C_{28}H_{22}ClN_5O_3$

$M_r = 511.96$

$R_f = 0.81$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 215-216$ °C



Mode opératoire : le composé 176 est obtenu selon la méthode B ($\eta=41$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 10.19 (s, 1H, NH), 9.62 (s, 1H, H₅), 9.31 (s, 1H, NH), 9.11 (s, 1H, H₇), 7.85 (d, 1H, Haro, $^4J=1.8$ Hz), 7.62 (dd, 2H, Haro, $^3J=8.0$ Hz, $^4J=1.8$ Hz), 7.50 (dd, 2H, Haro, $^3J=8.0$ Hz, $^4J=1.8$ Hz), 7.39-7.35 (m, 2H, Haro), 7.13-7.08 (m, 1H, Haro), 7.03 (d, 2H, Haro, $^3J=8.6$ Hz), 6.99 (d, 2H, Haro, $^3J=8.6$ Hz), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 160.34 (C), 160.00 (C), 154.97 (C), 154.74 (C), 151.78 (C), 144.96 (CH), 140.79 (C), 134.78 (C), 133.49 (CH), 133.24 (C), 132.89 (C), 131.60 (CH), 131.14 (CH), 130.66 (C), 130.46 (CH), 130.24 (C), 121.84 (CH), 117.61 (CH), 116.63 (CH), 113.63 (CH), 113.57 (CH), 55.25 (OCH₃), 55.14 (OCH₃).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1605 $\nu_{C=O}$, 1253 ν_{C-OMe} , 684 ν_{C-Cl} .

SM (SI) : $m/z = 512$ [M+H]⁺ (isotope ^{35}Cl , intensité 1), $m/z = 514$ [M+H]⁺ (isotope ^{37}Cl , intensité 1/3).

***N*-(3-méthoxyphényl)-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)urée (177)**

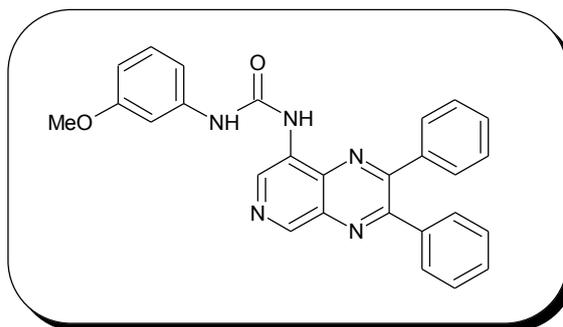
poudre jaune

$C_{27}H_{21}N_5O_2$

$M_r = 447.49$

$R_f = 0.75$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 219-220$ °C



Mode opératoire : le composé 177 est obtenu selon la méthode B ($\eta=52$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 10.15 (s, 1H, NH), 9.71 (s, 1H, NH), 9.45 (s, 1H, H₅), 9.23 (s, 1H, H₇), 7.69-7.08 (m, 14 H, Haro).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3282 ν NH, 1706 ν C=O, 1605 ν C=C aro.

SM (SI) : $m/z = 448$ [M+H] $^+$.

***N*-(2-méthoxyphényl)-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)urée (178)**

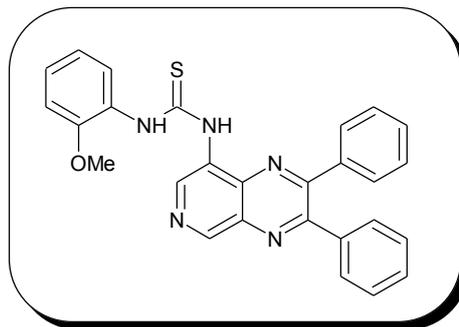
poudre jaune

C₂₇H₂₁N₅OS

M_r = 463.56

R_f = 0.84 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 111-112 °C



Mode opératoire : le composé **178** est obtenu selon la méthode B ($\eta=41\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 9.95 (s, 1H, NH), 9.67 (s, 1H, H₅), 9.48 (s, 1H, NH), 9.19 (s, 1H, H₇), 8.15 (d, 1H, Haro, ³J=6.7 Hz), 7.66-7.36 (m, 11H, Haro), 7.09-6.98 (m, 2H, Haro), 3.91 (s, 3H, OCH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3285 ν NH, 1520 ν C=C aro, 1237 ν C=S thiourée, 1202 ν C-OMe.

SM (SI) : m/z = 464 [M+H]⁺.

***N*-(3-méthoxyphenyl)-*N'*-(2,3-bis(4-méthoxyphenyl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)urée (179)**

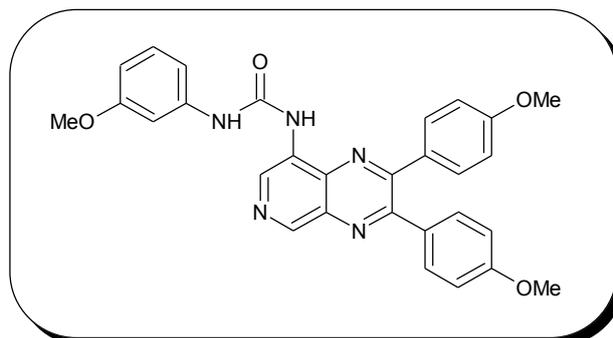
poudre jaune

$C_{29}H_{25}N_5O_4$

$M_r = 507.54$

$R_f = 0.77$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 195-196\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé 179 est obtenu selon la méthode B ($\eta=39\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.99 (s, 1H, NH), 9.63 (s, 1H, H₅), 9.27 (s, 1H, NH), 9.08 (s, 1H, H₇), 7.62 (dd, 2H, Haro, $^3J=7.0\text{ Hz}$, $^4J=1.8\text{ Hz}$), 7.50 (dd, 2H, Haro, $^3J=7.0\text{ Hz}$, $^4J=1.8\text{ Hz}$), 7.30-7.22 (m, 2H, Haro), 7.10-6.96 (m, 5H, Haro), 6.64 (dd, 1H, Haro, $^3J=7.8\text{ Hz}$, $^4J=2.2\text{ Hz}$), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 160.32 (C), 159.99 (C), 159.66 (C), 154.87 (C), 154.66 (C), 151.85 (C), 144.68 (CH), 140.48 (C), 134.78 (C), 133.41 (CH), 132.85 (C), 131.61 (CH), 131.14 (CH), 130.89 (C), 130.49 (C), 130.26 (C), 129.61 (CH), 113.63 (CH), 113.56 (CH), 110.59 (CH), 107.71 (CH), 104.00 (CH), 55.24 (OCH₃), 55.14 (OCH₃), 54.89 (OCH₃).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1688 $\nu\text{C=O}$ urée, 1245 $\nu\text{C-OMe}$.

SM (SI) : $m/z = 508$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

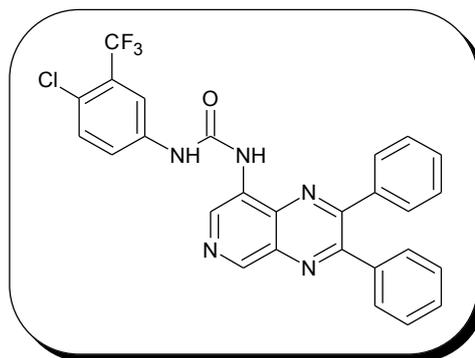
***N*-(4-chloro-3-trifluorométhylphényl)-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)urée (180)**

poudre jaune

C₂₇H₁₇ClF₃N₅O

M_r = 519.91

R_f = 0.71 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)



Mode opératoire : le composé **180** est obtenu selon la méthode A (η = 52 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 10.45 (s, 1H, NH), 9.69 (s, 1H, H5), 9.42 (s, 1H, NH), 9.23 (s, 1H, H7), 8.17 (d, 1H, H2', 4J=1.9 Hz), 7.79-7.42 (m, 12H, Haro).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 161.44 (C), 154.87 (C), 154.58 (C), 150.99 (C), 144.65 (CH), 138.03 (C), 137.20 (C), 137.09 (C), 134.17 (C), 133.03 (C), 132.33 (CH), 131.34 (CH), 129.86 (C), 129.18 (CH), 128.87 (CH), 128.66 (CH), 128.38 (CH), 127.33 (CH), 127.25 (CH), 122.15 (CH), 118.37 (C).

SM (SI) : $m/z = 520$ [M+H]⁺.

N-éthyl-N'-(2,3-diphénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)urée (181)

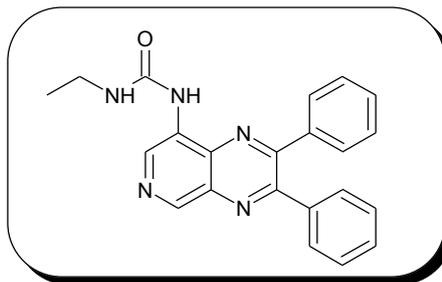
poudre beige

C₂₂H₁₉N₅O

M_r = 369.42

R_f = 0.60 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 246-247 °C



Mode opératoire : le composé **181** est obtenu selon la méthode A ($\eta=34\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 9.66 (s, 1H, NH), 9.11 (s, 1H, H₅), 9.00 (s, 1H, H₇), 7.64-7.41 (m, 11H, Haro), 3.29-3.21 (m, 2H, CH₂), 1.18-1.08 (m, 3H, CH₃).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 158.27 (C=O), 155.51 (C), 155.40 (C), 154.76 (C), 144.29 (CH), 138.48 (C), 138.22 (C), 135.24 (C), 133.62 (C), 133.14 (C), 132.15 (C), 130.36 (CH), 129.98 (CH), 129.75 (CH), 129.48 (CH), 128.41 (CH), 34.32 (CH₂), 15.53 (CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3268 ν NH, 1682 ν C=O urée, 1545 ν C=C aro.

SM (SI) : m/z = 370 [M+H]⁺.

N-éthyl-N'-(2,3-diphénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)thiourée (182)

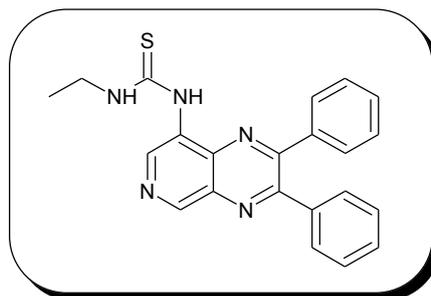
poudre jaune

C₂₂H₁₉N₅S

M_r = 385.49

R_f = 0.70 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 176-177 °C



Mode opératoire : le composé **182** est obtenu selon la méthode A ($\eta=53\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 9.90 (s, 1H, NH), 9.87 (s, 1H, H₅), 9.30 (s, 1H, H₇), 8.95 (m, 1H, NH), 7.63-7.42 (m, 10H, Haro), 3.54-3.59 (m, 2H, CH₂), 1.21 (t, 3H, ³J=7.0 Hz, CH₃).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 180.24 (C=S), 156.14 (C), 155.47 (C), 146.96 (CH), 138.55 (CH), 138.31 (C), 138.13 (C), 135.69 (C), 135.41 (C), 131.38 (C), 130.29 (CH), 130.02 (CH), 129.91 (CH), 129.82 (CH), 129.51 (CH), 128.38 (CH), 128.35 (CH), 55.10 (CH₂), 14.02 (CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3267 νNH, 1544 νC=C aro, 1236 νC=S thiourée.

SM (SI) : m/z = 386 [M+H]⁺.

N-éthyl-N'-(2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)thiourée (184)

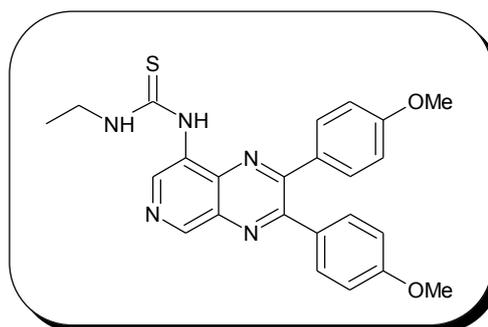
poudre jaune

$C_{24}H_{23}N_5O_2S$

$M_r = 445.54$

$R_f = 0.67$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 124-125\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé 184 est obtenu selon la méthode A ($\eta=75\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.81 (s, 2H, NH, H_5), 9.21 (s, 1H, H_7), 8.91 (m, 1H, NH), 7.61 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 7.52 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 6.98-7.04 (m, 4H, Haro), 3.84 (s, 3H, OMe), 3.83 (s, 3H, OMe), 3.61-3.56 (m, 2H, CH_2), 1.21 (t, 3H, CH_3 , $^3J=7.3$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 180.23 (C=S), 160.69 (C), 160.31 (C), 155.38 (C), 154.76 (C), 146.98 (CH), 138.64 (CH), 135.42 (C), 135.20 (C), 131.86 (CH), 131.36 (CH), 130.96 (C), 130.74 (C), 130.49 (C), 113.90 (CH), 55.51 (OCH₃), 55.43 (OCH₃), 39.08 (CH₂), 14.08 (CH₃).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3270 νNH , 1514 $\nu\text{C=C aro}$, 1248 $\nu\text{C=S thiourée}$.

SM (SI) : $m/z = 446$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

***N*-allyl-*N'*-(2,3-diphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)thiourée (185)**

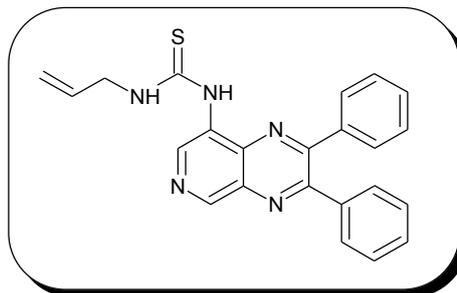
poudre jaune

C₂₃H₁₉N₅S

M_r = 397.50

R_f = 0.70 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 190-191 °C



Mode opératoire : le composé **185** est obtenu selon la méthode A (η = 53 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 9.99 (s, 1H, NH), 9.87 (s, 1H, H₅), 9.31 (s, 1H, H₇), 9.05 (m, 1H, NH), 7.63-7.38 (m, 10H, Harom.), 6.03-5.92 (m, 1H, H_{2'}), 5.28 (dd, 1H, H_{4'}, ³J_{trans}=17.1 Hz, ²J_{gem}=1.5 Hz) ; 5.18 (dd, 1H, H_{3'}, ³J_{cis}=10.4 Hz, ²J_{gem}=1.5 Hz), 4.26 (m, 2H, H_{1'}).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 180.78 (C=S), 156.10 (C), 155.38 (C), 147.54 (CH), 139.29 (CH), 138.32 (C), 138.14 (C), 135.83 (C), 135.39 (C), 134.45 (CH), 131.12 (C), 130.29 (CH), 129.91 (CH), 129.79 (CH), 129.48 (CH), 128.37 (CH), 128.33 (CH), 116.66 (CH), 46.58 (CH₂).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3205 νNH, 1570 νC=C aro, 1225 νC=S thiourée.

SM (SI) : m/z = 398 [M+H]⁺.

***N*-cyclohexyl-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)thiourée (186)**

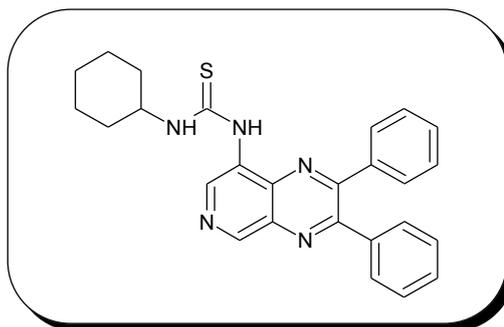
poudre beige

$C_{26}H_{25}N_5S$

$M_r = 439.58$

$R_f = 0.74$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 165-166\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **186** est obtenu selon la méthode B ($\eta=24\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.97 (s, 1H, NH), 9.81 (s, 1H, H₅), 9.28 (m, 1H, NH), 8.91 (s, 1H, H₇), 7.63-7.42 (m, 10H, Haro), 2.05-1.27 (m, 11 H, Hcyh).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3236 ν NH, 1538 ν C=C aro, 1226 ν C=S thiourée.

SM (SI) : $m/z = 440$ $[M+H]^+$.

***N,N*-diéthyl-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)dicarbonimidique diamide (187)**

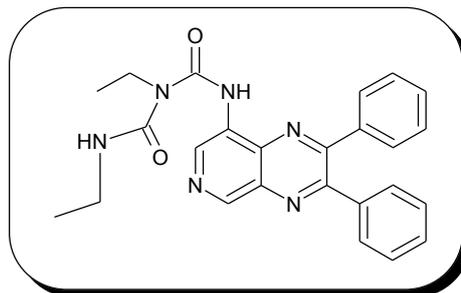
poudre jaune

$C_{25}H_{24}N_6O_2$

Mr = 440.50

R_f = 0.77 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 214-215 °C



Mode opératoire : le composé **187** est obtenu selon la méthode A ($\eta=34\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 13.31 (s, 1H, NH), 9.69 (s, 1H, H₅), 9.23 (s, 1H, H₇), 7.98-7.75 (m, 11H, Haro, NH), 3.34-3.27 (m, 4H, 2CH₂), 1.26-1.18 (m, 6H, 2CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3240 νNH, 1697 νC=O.

SM (SI) : $m/z = 441 [M+H]^+$.

***N*-(2,3-diphénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)acétamide (188)**

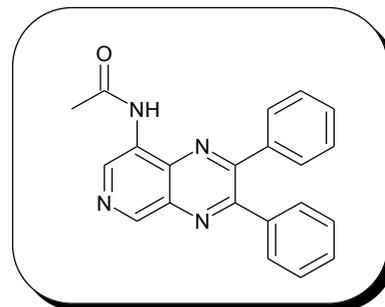
poudre beige

C₂₁H₁₆N₄O

M_r = 340.38

R_f = 0.69 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 230-231 °C



Mode opératoire : à une solution de 250 mg (0.8 mmol, 1 éq) de **163** dans 5 mL d'anhydride acétique ajouter 41 mg (0.3 mmol, 0.4 éq) de diméthylaminopyridine et laisser sous agitation à température ambiante pendant 12h00. Reprendre le mélange réactionnel au dichlorométhane, laver la phase organique avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium. Sécher sur sulfate de sodium, évaporer le solvant pour donner une poudre beige (113 mg, η= 39 %).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 10.14 (s, 1H, NH), 9.62 (s, 1H, H₅), 9.30 (s, 1H, H₇), 7.70-7.66 (m, 2H, Haro), 7.57-7.53 (m, 2H, Haro), 7.50-7.40 (m, 6H, Haro), 2.35 (s, 3H, COCH₃).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 169.34 (C=O), 155.81 (C), 155.14 (C), 147.31 (CH), 138.10 (C), 137.79 (C), 136.94 (CH), 134.99 (C), 134.26 (C), 130.18 (CH), 129.95 (C), 129.66 (CH), 129.56 (CH), 129.25 (CH), 128.13 (CH), 128.06 (CH), 24.02 (CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1687 νC=O amide, 1518 δNH amide.

SM (SI) : m/z = 341 [M+H]⁺.

N-[2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl]acétamide (189)

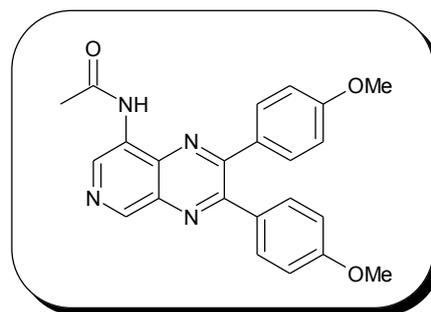
poudre jaune

$C_{23}H_{20}N_4O_3$

$M_r = 400.43$

$R_f = 0.63$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 161-162\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 300 mg (0.8 mmol, 1 éq) de 8-amino-2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[2,3-*b*]pyrazine **227** dans 20 mL d'acétonitrile, ajouter 72 mg (0.9 mmol, 1.1 éq) de chlorure d'acétyle puis chauffer le mélange réactionnel pendant 24h00. Filtrer puis évaporer le solvant. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant du dichlorométhane puis un mélange dichlorométhane/éthanol : 95/5 pour donner une poudre jaune (279 mg, $\eta=87\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 10.06 (s, 1H, NH), 9.56 (s, 1H, H₅), 9.22 (s, 1H, H₇), 7.69 (d, 2H, H_{2'} ou H_{2''}, $^3J=8.6$ Hz), 7.53 (d, 2H, H_{2'} ou H_{2''}, $^3J=8.6$ Hz), 7.02 (d, 4H, H_{3'}, H_{3''}, $^3J=8.9$ Hz), 3.85 (s, 6H, 2OCH₃), 2.34 (s, 3H, COCH₃).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3329 ν NH, 1692 ν C=O amide, 1246 ν C-OMe.

SM (SI) : $m/z = 401$ [M+H]⁺.

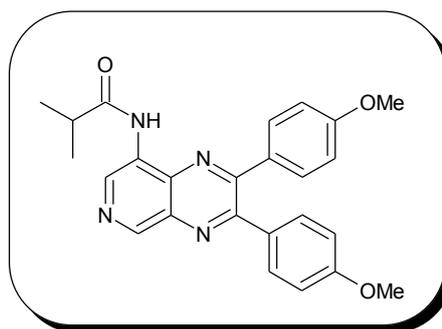
***N*-[2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl]-2-méthylpropanamide (190)**

huile jaune

$C_{25}H_{24}N_4O_3$

$M_r = 428.48$

$R_f = 0.62$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)



Mode opératoire : le composé **190** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé 189 ($\eta = 71\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 9.93 (s, 1H, NH), 9.52 (s, 1H, H₅), 9.22 (s, 1H, H₇), 7.68 (d, 2H, H_{2'} ou H_{2''}, $^3J = 8.6$ Hz), 7.53 (d, 2H, H_{2'} ou H_{2''}, $^3J = 8.6$ Hz), 7.01 (d, 4H, H_{3'}, H_{3''}, $^3J = 8.8$ Hz), 3.84 (s, 6H, 2OCH₃), 1.25-1.23 (m, 2H, CH), 1.10-1.07 (m, 6H, 2CH₃).

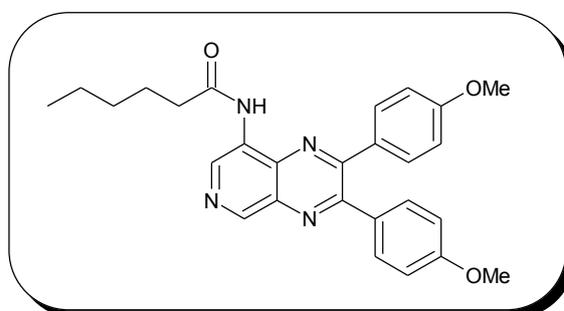
IR (KBr, cm^{-1}) : 3320 ν NH, 1686 ν C=O amide, 1251 ν C-OMe.

SM (SI) : $m/z = 429$ [M+H] $^+$.

***N*-[2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl]hexanamide (191)**

huile orange

328



$C_{27}H_{28}N_4O_3$

$M_r = 456.54$

$R_f = 0.67$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

Mode opératoire : le composé **191** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé 189 ($\eta = 62\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 9.95 (s, 1H, NH), 9.53 (s, 1H, H_5), 9.21 (s, 1H, H_7), 7.67 (d, 2H, $H_{2'}$ ou $H_{2''}$, $^3J=8.8$ Hz), 7.52 (d, 2H, $H_{2'}$ ou $H_{2''}$, $^3J=8.8$ Hz), 7.00 (d, 4H, $H_{3'}$, $H_{3''}$, $^3J=8.6$ Hz), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 2.64 (t, 2H, H_a , $^3J=7.6$ Hz), 1.74-1.69 (m, 2H, H_b), 1.39-1.35 (m, 4H, H_c , H_d), 0.94-0.89 (m, 3H, H_e).

SM (SI) : $m/z = 457$ $[M+H]^+$.

N-[2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl]-2,2-diméthylpropanamide (192)

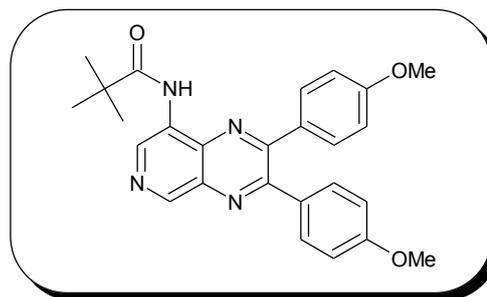
poudre jaune

$C_{26}H_{26}N_4O_3$

$M_r = 442.51$

$R_f = 0.63$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 222-223\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **192** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé 189 ($\eta=87\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.66 (s, 1H, NH), 9.51 (s, 1H, H₅), 9.25 (s, 1H, H₇), 7.63 (d, 2H, H_{2'} ou H_{2''}, $^3J=8.7$ Hz), 7.53 (d, 2H, H_{2'} ou H_{2''}, $^3J=8.7$ Hz), 7.03 (d, 4H, H_{3'}, H_{3''}, $^3J=7.0$ Hz), 3.85 (s, 6H, 2OCH₃), 1.39 (s, 9H, 3CH₃).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3380 ν NH, 1682 ν C=O amide, 1251 ν C-OMe.

SM (SI) : $m/z = 443$ [M+H]⁺.

N-[2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl]cyclopropanecarboxamide (193)

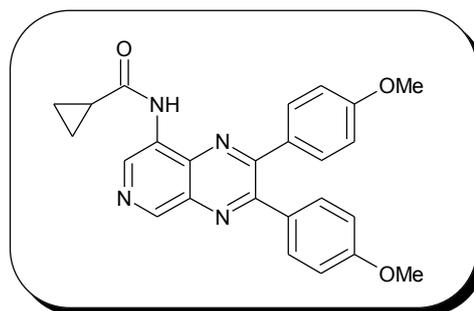
poudre jaune

$C_{25}H_{22}N_4O_3$

$M_r = 426.47$

$R_f = 0.60$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 165-166\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **193** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé 189 ($\eta=68\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 10.35 (s, 1H, NH), 9.54 (s, 1H, H_5), 9.22 (s, 1H, H_7), 7.72 (d, 2H, H_2 ou H_2' , $^3J=8.9$ Hz), 7.55 (d, 2H, H_2' ou H_2 , $^3J=8.9$ Hz), 7.02 (d, 4H, H_3 , H_3' , $^3J=8.9$ Hz), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 2.53-2.51 (m, 1H, H_a), 0.96-0.92 (m, 4H, H_b , H_c).

$\text{IR (KBr, cm}^{-1})$: 3359 ν NH, 1682 ν C=O amide, 1246 ν C-OMe.

SM (SI) : $m/z = 427$ $[M+H]^+$.

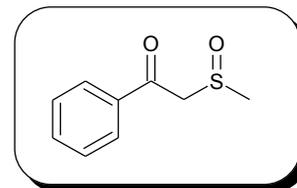
2-(méthylsulfinyl)-1-phényléthanone (196)

poudre jaune

$C_9H_{10}O_2S$

$M_r = 182.24$

F = 62-63 °C



Mode opératoire : chauffer pendant 1h00 à 70 °C une solution de 2.0 g d'hydrure de sodium à 60% dans 30 mL de diméthylsulfoxyde. Refroidir la solution résultante dans un bain d'eau glacée puis ajouter goutte à goutte du benzoate d'éthyle **194** jusqu'à ce que la température cesse d'augmenter lors de l'addition. Laisser sous agitation à température ambiante pendant la nuit. Hydrolyser le mélange réactionnel puis ajuster le pH à 1 par ajout d'acide chlorhydrique concentré. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une poudre jaune ($\eta=40$ à 60 %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.09-7.96 (m, 1H, Haro), 7.78-7.51 (m, 3H, Haro), 4.72 (d, 1H, CH_2 , $^3J=14.9$ Hz), 4.63 (d, 1H, CH_2 , $^3J=14.9$ Hz), 2.74 (s, 3H, CH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 193.65 (C=O), 136.26 (C), 134.23 (CH), 129.01 (2CH), 128.91 (2CH), 61.98 (CH_2), 38.79 (CH_3).

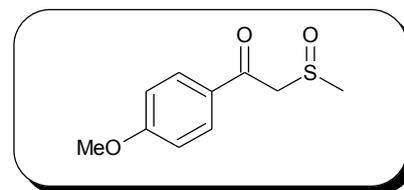
1-(4-méthoxyphényl)-2-(méthylsulfinyl)éthanone (197)

poudre blanche

$C_{10}H_{12}O_3S$

$M_r = 212.27$

$F = 78-79\text{ }^\circ\text{C}$



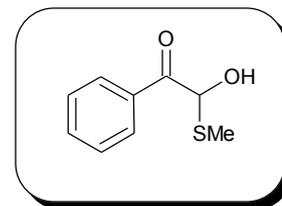
Mode opératoire : le composé **197** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **196** ($\eta=40$ à 70%).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.04 (d, 2H, H_a , $^3J=8.8$ Hz), 7.12 (d, 2H, H_b , $^3J=8.8$ Hz), 4.63 (d, 1H, CH_2 , $^3J=14.6$ Hz), 4.56 (d, 1H, CH_2 , $^3J=14.6$ Hz), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 2.72 (s, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 191.71 (C=O), 164.01 (C), 131.42 (CH), 129.34 (C), 114.22 (CH), 61.75 (CH_2), 55.85 (OCH_3), 38.77 (CH_3).

2-hydroxy-2-(méthylthio)-1-phényléthanone (198)

poudre beige
 $C_9H_{10}O_2S$
 $M_r = 182.24$
 $F = 102-103\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 1.0 g (5.5 mmol, 1 éq) de 2-(méthylsulfinyl)-1-phényléthanone **196** dans un mélange d'eau (16 mL) et de diméthylsulfoxyde (2.1 mL) ajouter 2.1 mL d'acide chlorhydrique concentré et laisser sous agitation à température ambiante pendant 24h00. Extraire à l'éther diéthylique, laver la phase organique avec une solution d'hydrogénocarbonate de sodium puis à l'eau. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer les solvants pour donner une poudre verte (700 mg, $\eta=70\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.06 (d, 2H, Haro, $^3J=7.3$ Hz), 7.67 (t, 1H, Haro, $^3J=7.3$ Hz), 7.58-7.51 (m, 2H, Haro), 6.51 (d, 1H, OH, $^3J=8.1$ Hz), 6.40 (d, 1H, CH, $^3J=8.1$ Hz), 1.98 (s, 3H, SCH_3).

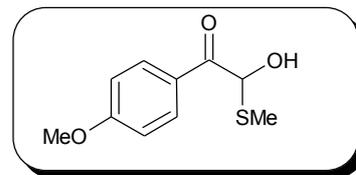
2-hydroxy-2-(méthylthio)-1-phényléthanone (199)

poudre beige

$C_{10}H_{12}O_3S$

$M_r = 212.27$

F = 78-79 °C



Mode opératoire : le composé **199** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé 198 ($\eta=75\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.05 (d, 2H, H, $^3J=8.9$ Hz), 7.07 (d, 2H, H, $^3J=8.9$ Hz), 6.36 (d, 1H, OH, $^3J=8.5$ Hz), 6.33 (d, 1H, CH, $^3J=8.5$ Hz), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 1.98 (s, 3H, SCH₃).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 193.29 (C=O), 164.86 (C), 132.48 (2CH), 127.93 (C), 115.40 (2CH), 76.53 (CH), 57.10 (OCH₃), 12.00 (SCH₃).

8-bromo-2-phénylpyrido[3,4-*b*]pyrazine (200)

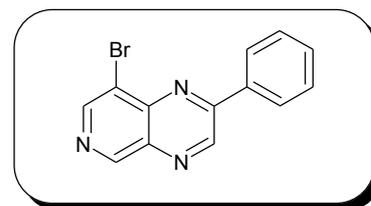
poudre beige

$C_{13}H_8BrN_3$

$M_r = 286.13$

$R_f = 0.66$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 142-143\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire 1 : à une solution de 200 mg (1.1 mmol, 1 éq) de 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** dans 6 mL d'acide acétique glacial, ajouter 174 mg (2.1 mmol, 2 éq) d'acétate de sodium et 194 mg (1.1 mmol, 1 éq) de 2-hydroxy-2-(méthylthio)-1-phényléthanone **196**. Laisser sous agitation à température ambiante pendant 30 min puis chauffer au reflux pendant 4h00 (le dégagement de methylmercaptan est piégé dans une solution d'hydroxyde de sodium). Laisser revenir à température ambiante puis refroidir la solution dans un bain de glace. Filtrer le précipité puis le laver avec de l'éther diisopropylique pour donner une poudre beige (158 mg, $\eta=52\%$).

Mode opératoire 2 : chauffer au reflux une solution de 200 mg (1.1 mmol, 1 éq) de 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et de 167 mg (1.1 mmol, 1 éq) de phénylglyoxal dans 10 mL de dioxane pendant 6h00. Laisser revenir à température ambiante, laver la phase organique à l'eau, extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer les solvants sous vide. Triturer dans l'éther diisopropylique, filtrer pour donner une poudre beige (264 mg, $\eta=84\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.87 (s, 1H, H_3), 9.51 (s, 1H, H_5), 9.16 (s, 1H, H_7), 8.52-8.50 (m, 2H, Haro), 7.73-7.70 (m, 3H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 154.55 (C), 152.17 (CH), 147.84 (CH), 145.78 (CH), 141.12 (C), 136.45 (C), 133.97 (C), 131.03 (CH), 128.48 (2CH), 127.43 (2CH), 118.86 (C).

8-bromo-2-(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazine (202)

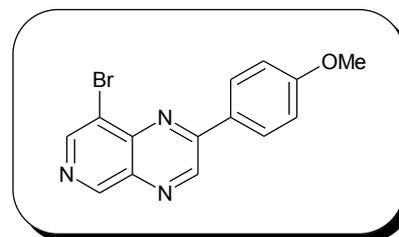
poudre beige

C₁₄H₁₀BrN₃O

M_r = 316.15

R_f = 0.68 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 168-169 °C



Mode opératoire : le composé **202** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **200** avec la 2-hydroxy-2-(méthylthio)-1-phényléthanone **199**. Filtrer le précipité puis le laver avec de l'éther diisopropylique pour donner une poudre beige ($\eta=55\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 9.81 (s, 1H, H₃), 9.44 (s, 1H, H₅), 9.11 (s, 1H, H₇), 8.52 (d, 2H, H_a, ³J=9.2 Hz), 7.25 (d, 2H, H_b, ³J=9.2 Hz), 3.93 (s, 3H, OCH₃).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 162.09 (C), 154.54 (C), 152.37 (CH), 148.23 (CH), 145.91 (CH), 141.68 (C), 136.53 (C), 129.70 (2CH), 126.74 (C), 119.10 (C), 114.46 (2CH), 55.15 (OCH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1257 νC-OMe, 539 νC-Br.

N-(2-phénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)benzophénone imine (204)

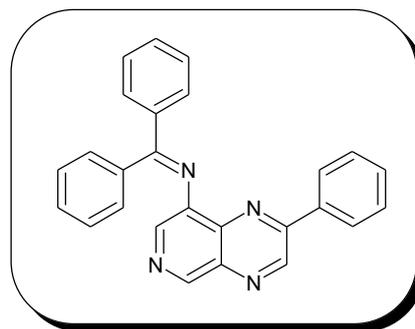
poudre jaune

$C_{26}H_{18}N_4$

$M_r = 386.45$

$R_f = 0.63$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 179-180\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **204** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **167** ($\eta=70\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.69 (s, 1H, H_3), 9.10 (s, 1H, H_5), 8.33 (s, 1H, H_7), 7.90-7.20 (m, 15H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 171.31 (C), 153.73 (C), 147.85 (CH), 145.75 (CH), 143.47 (C), 137.38 (CH), 136.17 (C), 136.07 (C), 135.50 (C), 132.20 (CH), 131.79 (CH), 131.53 (CH), 129.51 (CH), 129.18 (CH), 128.86 (CH), 128.33 (CH), 128.23 (CH), 128.10 (CH), 127.99 (CH)

IR (KBr, cm^{-1}) : 1605 $\nu\text{C=N}$.

N-(2-(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)benzophénone imine (205)

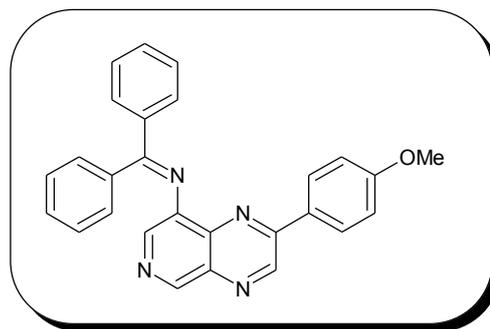
poudre jaune

$C_{27}H_{20}N_4O$

Mr = 416.47

R_f = 0.62 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 77-78 °C



Mode opératoire : le composé **205** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **167** ($\eta=62\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.65 (s, 1H, H₃), 9.04 (s, 1H, H₅), 8.33 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 8.31 (s, 1H, H₇), 7.84-7.17 (m, 12H, Haro), 3.88 (s, 3H, OCH₃).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 170.91 (C), 161.91 (C), 152.93 (C), 147.40 (CH), 145.05 (CH), 143.00 (C), 138.04 (C), 137.09 (CH), 135.83 (C), 135.47 (C), 131.49 (CH), 129.38 (CH), 129.14 (CH), 128.84 (C), 128.55 (CH), 128.00 (CH), 127.77 (CH), 127.53 (C), 114.73 (CH), 55.36 (OCH₃).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1610 $\nu\text{C=N}$, 1256 $\nu\text{C-OMe}$.

8-amino-2-phénylpyrido[3,4-b]pyrazine (206)

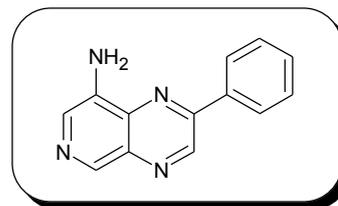
poudre marron

$C_{13}H_{10}N_4$

$M_r = 222.24$

$R_f = 0.39$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 172-173\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire 1 : le composé **206** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **163** ($\eta=100\%$).

Mode opératoire 2 : à une solution de 500 mg (3.2 mmol, 1 éq) de 3,4,5-triaminopyridine 172 dans 6 mL d'eau, ajouter 338 mg (3.2 mmol, 1 éq) de bicarbonate de sodium, puis une solution de 485 mg (3.2 mmol, 1 éq) de phénylglyoxal dans 3 mL de dioxane. Chauffer le mélange réactionnel au reflux pendant 6h00 puis laisser revenir à température ambiante. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une poudre marron (384 mg, $\eta=54\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.70 (s, 1H, H_3), 8.64 (s, 1H, H_5), 8.58-8.53 (m, 2H, Haro), 8.21 (s, 1H, H_7), 7.66-7.63 (m, 3H, Haro), 6.41 (s, 2H, NH_2).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 151.00 (C), 145.01 (CH), 140.60 (C), 138.02 (CH), 136.08 (C), 135.41 (C), 133.10 (CH), 132.72 (C), 130.81 (CH), 129.37 (CH), 128.99 (CH), 128.64 (CH), 127.80 (CH), 127.75 (CH).

$\text{IR (KBr, cm}^{-1})$: 1615 δNH_2 .

8-amino-2-(4-méthoxyphényl)pyrido[3,4-*b*]pyrazine (207)

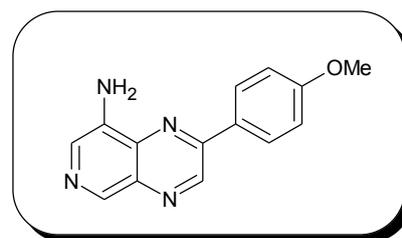
poudre orange

$C_{14}H_{12}N_4O$

$M_r = 252.27$

$R_f = 0.36$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 178-179\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **207** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé 163 ($\eta=96\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.64 (s, 1H, H_3), 8.60 (s, 1H, H_5), 8.53 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 8.18 (s, 1H, H_7), 7.17 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 6.34 (s, 2H, NH_2), 3.92 (s, 3H, OCH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 151.00 (C), 145.01 (CH), 140.60 (C), 138.02 (CH), 136.08 (C), 135.41 (C), 133.10 (CH), 132.72 (C), 130.81 (CH), 129.37 (CH), 128.99 (CH), 128.64 (CH), 127.80 (CH), 127.75 (CH).

$\text{IR (KBr, cm}^{-1})$: 1610 δNH_2 , 1242 $\nu C-OMe$.

N-phényl-N'-(2-phénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)urée (208)

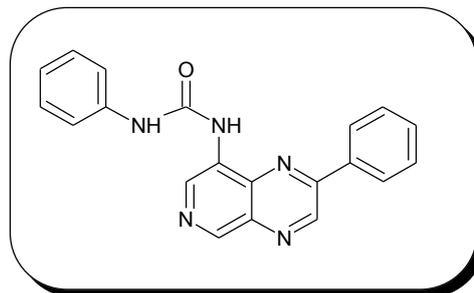
poudre orange

C₂₀H₁₅N₅O

M_r = 341.37

R_f = 0.62 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 214-215 °C



Mode opératoire : le composé **208** est obtenu selon la méthode B ($\eta=47\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 10.01 (s, 1H, NH), 9.85 (s, 1H, H₃), 9.71 (s, 1H, H₅), 9.41 (s, 1H, NH), 9.15 (s, 1H, H₇), 8.66-8.62 (m, 2H, Haro), 7.76-7.71 (m, 3H, Haro), 7.62 (dd, 2H, Haro, ³J=8.6 Hz, ⁴J=1.2 Hz), 7.39 (m, 2H, Haro), 7.10 (t, 1H, Haro, ³J=7.5 Hz).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 152.76 (C), 151.91 (C), 145.84 (CH), 144.82 (CH), 139.16 (C), 135.45 (C), 134.96 (C), 134.14 (C), 134.06 (CH), 131.49 (CH), 131.32 (C), 129.16 (CH), 128.88 (CH), 128.32 (CH), 122.34 (CH), 118.44 (CH).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1651 ν C=O urée.

SM (SI) : m/z = 342 [M+H]⁺.

N-phényl-N'-(2-phénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)thiourée (209)

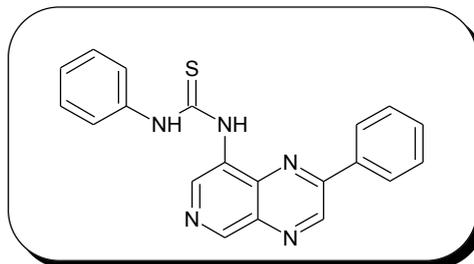
poudre jaune

$C_{20}H_{15}N_5S$

Mr = 357.43

R_f = 0.71 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 204-205 °C



Mode opératoire : le composé **209** est obtenu selon la méthode B ($\eta=35\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 10.74 (s, 1H, NH), 10.17 (s, 1H, NH), 10.02 (s, 1H, H₃), 9.85 (s, 1H, H₅), 9.30 (s, 1H, H₇), 8.43-8.39 (m, 2H, Haro), 7.70-7.60 (m, 5H, Haro), 7.49 (t, 2H, Haro, ³J=7.6 Hz), 7.34 (t, 1H, Haro, ³J=7.8 Hz).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 178.64 (C=S), 153.14 (C), 147.76 (CH), 145.93 (CH), 138.84 (C), 138.28 (C), 135.65 (C), 134.79 (C), 131.66 (CH), 130.75 (C), 129.20 (CH), 129.02 (CH), 128.24 (CH), 125.74 (CH), 124.72 (CH), 124.59 (CH).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1236 ν C=S thiourée.

SM (SI) : m/z = 358 [M+H]⁺.

N-(3-chlorophényl)-N'-(2-phénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)urée (210)

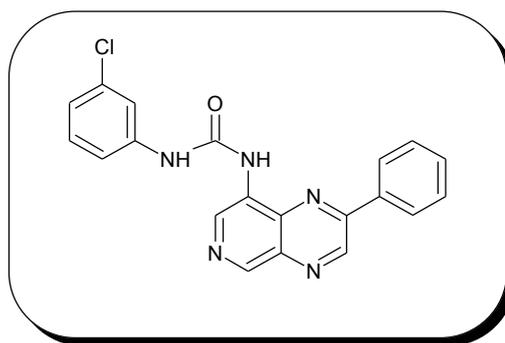
poudre jaune

C₂₀H₁₄ClN₅O

M_r = 375.81

R_f = 0.65 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 245-246 °C



Mode opératoire : le composé **210** est obtenu selon la méthode B ($\eta=47$ %).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 10.21 (s, 1H, NH), 9.85 (s, 1H, H₃), 9.69 (s, 1H, H₅), 9.44 (s, 1H, NH), 9.17 (s, 1H, H₇), 8.64-8.62 (m, 2H, Haro), 7.88 (s, 1H, Haro), 7.74-7.71 (m, 3H, Haro), 7.40-7.39 (m, 2H, Haro), 7.13-7.12 (m, 1H, Haro).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 152.84 (C), 151.78 (C), 145.91 (CH), 145.14 (CH), 140.71 (C), 135.44 (C), 134.93 (C), 134.18 (CH), 133.26 (C), 131.52 (CH), 131.03 (C), 130.51 (CH), 129.17 (CH), 128.33 (CH), 121.95 (CH), 117.72 (CH), 116.75 (CH).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1651 ν C=O urée, 759 ν C-Cl.

SM (SI) : m/z = 376 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), m/z = 378 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

***N*-(3-méthoxyphényl)-*N'*-(2-phénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)urée (211)**

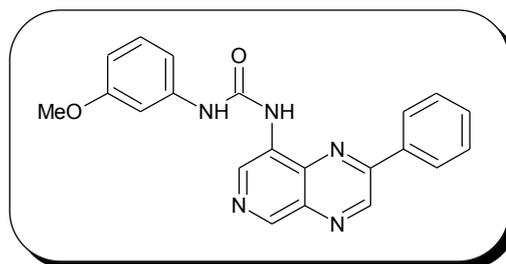
poudre orange

C₂₁H₁₇N₅O₃

M_r = 371.39

R_f = 0.60 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 195-196 °C



Mode opératoire : le composé **211** est obtenu selon la méthode B ($\eta=17\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 10.02 (s, 1H, NH), 9.85 (s, 1H, H₃), 9.70 (s, 1H, H₅), 9.40 (s, 1H, NH), 9.15 (s, 1H, H₇), 8.66-8.62 (m, 2H, Haro), 7.76-7.71 (m, 3H, Haro), 7.32-7.25 (m, 2H, Haro), 7.11 (dd, 1H, Haro, ³J=8.1 Hz, ⁴J=1.1 Hz), 6.66 (dd, 1H, Haro, ³J=7.8 Hz, ⁴J=1.6 Hz), 3.81 (s, 3H, OCH₃).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 159.74 (C), 152.83 (C), 151.89 (C), 145.90 (CH), 144.92 (CH), 140.45 (C), 135.50 (C), 135.01 (C), 134.20 (C), 134.13 (CH), 131.54 (CH), 131.31 (C), 129.71 (CH), 129.22 (CH), 128.37 (CH), 110.75 (CH), 107.90 (CH), 104.16 (CH), 54.97 (OCH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1661 ν C=O urée, 1215 ν C-OMe.

SM (SI) : m/z = 372 [M+H]⁺.

N-éthyl-N'-(2-phénylpyrido[3,4-b]pyrazin-8-yl)thiourée (212)

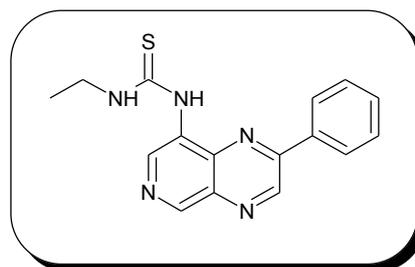
poudre jaune

C₁₆H₁₅N₅S

Mr = 309.39

R_f = 0.62 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 176-177 °C



Mode opératoire : le composé **212** est obtenu selon la méthode B ($\eta=53\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 9.92-9.84 (m, 3H, NH, H₃, H₅), 9.24 (s, 1H, H₇), 8.97 (m, 1H, NHCH₂), 8.60-8.58 (m, 2H, Haro), 7.72-7.69 (m, 3H, Haro), 3.63-3.57 (m, 2H, CH₂), 1.23 (t, 3H, CH₃, ³J=7.0 Hz).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 179.96 (C=S), 153.07 (C), 146.90 (CH), 145.75 (CH), 138.86 (CH), 136.38 (C), 135.68 (C), 134.98 (C), 131.57 (CH), 131.10 (C), 129.18 (CH), 128.32 (CH), 115.69 (CH), 30.65 (CH₂), 13.86 (CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3211 ν NH, 2983 ν CH, 1564 ν C=C aro, 1244 ν C=S thiourée.

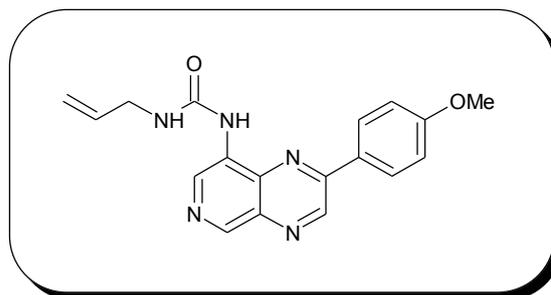
SM (SI) : m/z = 310 [M+H]⁺.

***N*-allyl-*N'*-[2-(4-méthoxyphenyl)pyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl]urée (213)**

poudre jaune

$C_{18}H_{17}N_5O_2$

$M_r = 335.36$



Mode opératoire : le composé **213** est obtenu selon la méthode A ($\eta=61\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 9.79 (s, 1H, H₅), 9.62 (s, 1H, H₇), 9.11 (s, 1H, NH), 9.03 (s, 1H, NH), 8.62 (d, 2H, H_a, $^3J=8.9$ Hz), 7.81 (t, 1H, NH, $^3J=5.5$ Hz), 7.23 (d, 2H, H_b, $^3J=8.9$ Hz), 6.04-5.93 (m, 1H, CH), 5.34-5.16 (m, 2H, CH₂), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 3.93-3.90 (m, 2H, NHCH₂).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 162.10 (C=O), 154.39 (C), 152.16 (C), 145.32 (CH), 144.01 (CH), 135.85 (CH), 135.09 (C), 133.90 (C), 133.63 (CH), 131.73 (C), 130.07 (CH), 127.40 (C), 115.32 (CH), 114.60 (CH), 55.50 (OCH₃), 41.53 (CH₂).

SM (SI) : $m/z = 336$ [M+H]⁺.

***N*-(2-phénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)acétamide (215)**

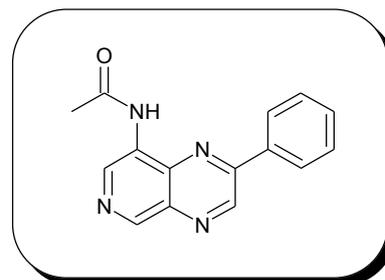
poudre beige

C₁₅H₁₂N₄O

M_r = 264.28

R_f = 0.58 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 210-211 °C



Mode opératoire : le composé **215** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **188** ($\eta=36\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 10.21 (s, 1H, NH), 9.85 (s, 1H, H₃), 9.65 (s, 1H, H₅), 9.25 (s, 1H, H₇), 8.69-8.64 (m, 2H, Haro), 7.72-7.68 (m, 3H, Haro), 2.39 (s, 3H, COCH₃).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 168.12 (C=O), 152.03 (C), 145.90 (CH), 144.59 (CH), 135.81 (CH), 134.30 (C), 133.99 (C), 133.74 (C), 130.31 (CH), 128.96 (C), 127.87 (CH), 127.31 (CH), 24.11 (CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1661 ν C=O, 1523 ν NH amide.

SM (SI) : $m/z = 365$ [M+H]⁺.

***N,N*-diéthyl-*N'*-(2-phénylpyrido[3,4-*b*]pyrazin-8-yl)dicarbonimidique diamide (216)**

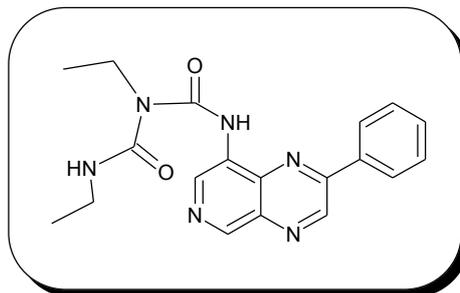
poudre jaune

$C_{19}H_{20}N_6O_2$

Mr = 364.40

R_f = 0.87 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 197-198 °C



Mode opératoire : le composé **216** est obtenu selon la méthode B ($\eta=31\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 13.50 (s, 1H, NH), 9.87 (s, 1H, H₃), 9.59 (s, 1H, H₅), 9.16 (s, 1H, H₇), 8.74-8.70 (m, 2H, Haro), 7.78 (t, 1H, NH, ³J=5.2 Hz), 7.67-7.61 (m, 3H, Haro), 3.95-3.86 (m, 2H, CH₂), 3.40-3.32 (m, 2H, CH₂), 1.28-1.18 (m, 6H, CH₃).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 156.58 (C), 152.72 (C), 152.37 (C), 146.00 (CH), 145.74 (CH), 135.82 (C), 135.01 (C), 134.95 (C), 134.52 (CH), 131.96 (CH), 131.37 (C), 129.39 (CH), 128.39 (CH), 37.54 (CH₂), 35.63 (CH₂), 14.98 (CH₃), 14.17 (CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 1702 ν C=O, 1646 ν C=O.

SM (SI) : m/z = 365 [M+H]⁺.

SERIE B SYNTHÈSE DES PYRIDO[2,3-*b*]PYRAZINES

PARTIE THEORIQUE

A. PYRIDO[2,3-*b*]PYRAZINES EN SERIE BIARYLE

Les pyrido[2,3-*b*]pyrazines symétriques peuvent être synthétisées par condensation entre la 2,3-diaminopyridine et des dicétones symétriques. Dans notre cas, afin d'obtenir les 8-bromopyrido[2,3-*b*]pyrazines **I**, il convient dans un premier temps de synthétiser la 2,3-diamino-4-bromopyridine **II**, qui sera ensuite condensée avec le benzyle **152** et le 4,4'-diméthoxybenzyle **153** (schéma 1).

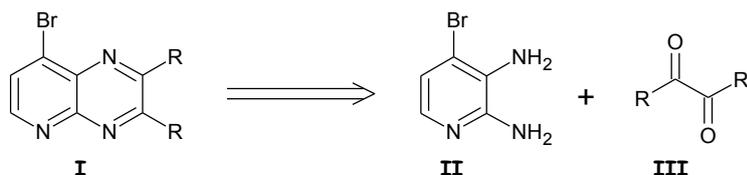


Schéma 1

1. Synthèse de la 2,3-diamino-4-bromopyridine 218

La bromation de la 3-amino-2-nitropyridine **216** par le brome en présence d'acétate de potassium dans l'acide acétique conduit à la formation de la 3-amino-4-bromo-2-nitropyridine **217** avec un rendement de 95 %. La réduction du groupement nitro a été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment, par du chlorure stanneux dans un mélange éthanol/eau¹⁷² pour conduire au composé **218** avec un rendement de 67 % (schéma 2).



Schéma 2

D'autres essais de réduction ont été testés (H₂, PtO₂, EtOH afin d'éviter la débromation et SnCl₂, HCl) mais aucune d'entre elles n'a donné de résultats satisfaisants.

2. Condensation de la 2,3-diamino-4-bromopyridine 218 avec des dicétones symétriques

La réaction de condensation entre la 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** et le benzyle **152** ou le 4,4'-diméthoxybenzyle **153** est réalisée dans les conditions classiques, au reflux du dioxane¹⁶⁵ (schéma 3). Cette réaction donne de bons résultats lorsque les quantités de produit de départ mises en jeu sont faibles ; en revanche, sur des quantités plus importantes, la réaction conduit uniquement à la formation de produits de dégradation dont la structure n'a pu être élucidée à cause de leur insolubilité.

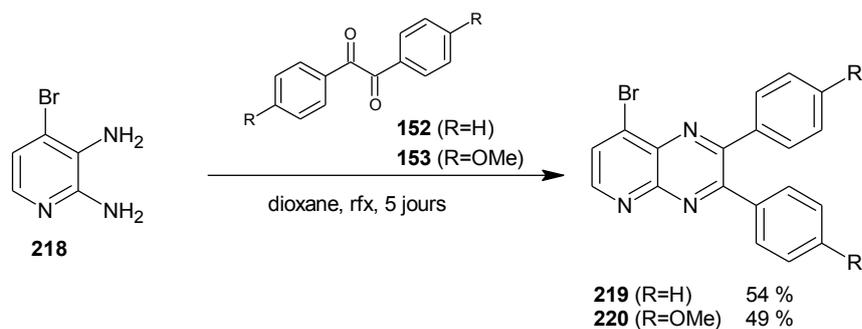


Schéma 3

La condensation de la 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** avec le benzile **152** et le 4,4'-diméthoxybenzile **153** a été réalisée par irradiations micro-ondes, à 45 W et 75 °C dans un mélange méthanol/acide acétique¹⁸² afin de diminuer le temps réactionnel (schéma 4). De plus, les rendements sont alors meilleurs que dans les conditions classiques et la réaction peut être réalisée sur des quantités de l'ordre de quelques grammes.

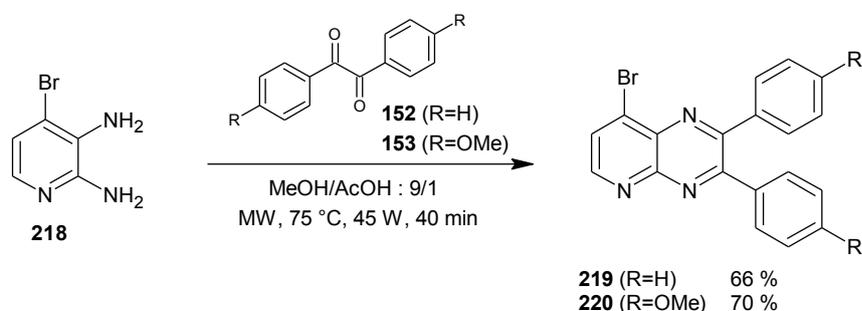


Schéma 4

3. Synthèse des 8-aminopyrido[2,3-*b*]pyrazines

a. Par amination directe

L'amination directe du composé **219** en présence d'ammoniaque dans un mélange acétonitrile/diméthylsulfoxyde ne conduit pas à l'obtention directe de l'amine, seul le produit de départ est récupéré (schéma 5)

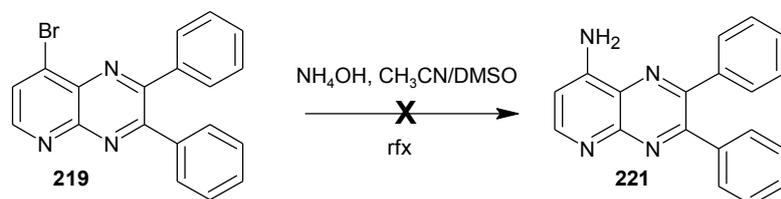


Schéma 5

¹⁸² Z. Zhao, .D.D. Wisnoski, S.E. Wolkenberg, W.H. Leister, Y. Wang et C.W. Lindsley, General microwave-assisted protocols for the expedient synthesis of quinoxalines and heterocyclic pyrazines, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 4873-4876.

b. Par formation d'une benzophénone imine puis clivage en amine

La réaction pallado-catalysée entre la 8-bromo-2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazine **219** et la benzophénone imine dans les mêmes conditions que précédemment^{177,178} ne permet pas l'accès au composé **222** (schéma 6).

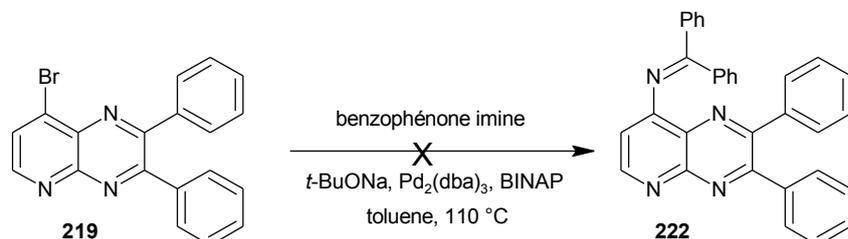


Schéma 6

c. Par nitration puis réduction en amine

La réaction entre la 8-bromo-2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazine **219** et le nitrite de sodium, en présence de chlorure de tétrabutylammonium dans un mélange dichlorométhane/eau¹⁷³ ne conduit pas à la formation de la 8-nitro-2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazine **223** (schéma 7).

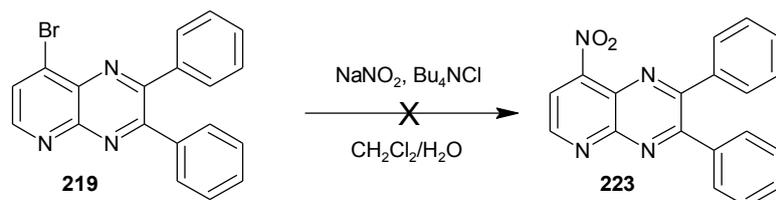


Schéma 7

d. Par formation d'un azoture puis réduction en amine

La réaction entre les 8-bromopyrido[2,3-*b*]pyrazines **219** et **220** et l'azidure de sodium au reflux du diméthylsulfoxyde^{174,175} mène aux composés **224** et **225** avec de très bons rendements (schéma 8).

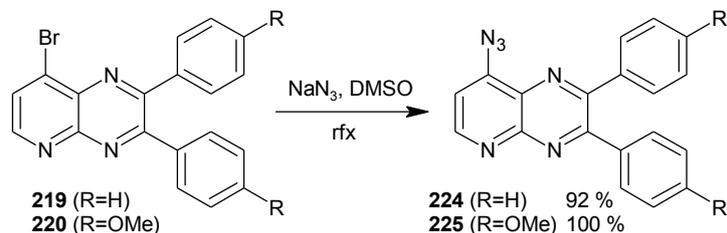


Schéma 8

La réduction du groupement azoture en amine a été très étudiée. La méthode la plus couramment utilisée est la réduction par l'hydru de lithium et d'aluminium¹⁷⁴ mais dans notre cas, cette méthode n'a pas abouti (schéma 9).

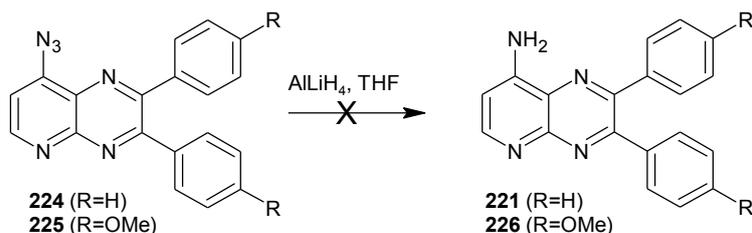


Schéma 9

Un autre essai a été réalisé *via* une réaction de Staudinger qui met en jeu la triphénylphosphine dans un mélange tétrahydrofurane/eau¹⁷⁴. Alors que dans différentes publications, la réaction entre l'azoture d'aryle et la triphénylphosphine dans le mélange tétrahydrofurane/eau conduit à la formation directe de l'amine, dans notre cas un iminophosphorane a été isolé.

La triphénylphosphine réagit avec l'azoture pour générer un phosphazoture, qui par perte de N₂, conduit à un iminophosphorane. Le traitement successif permet d'obtenir l'amine et l'oxyde de triphénylphosphine (schéma 10).

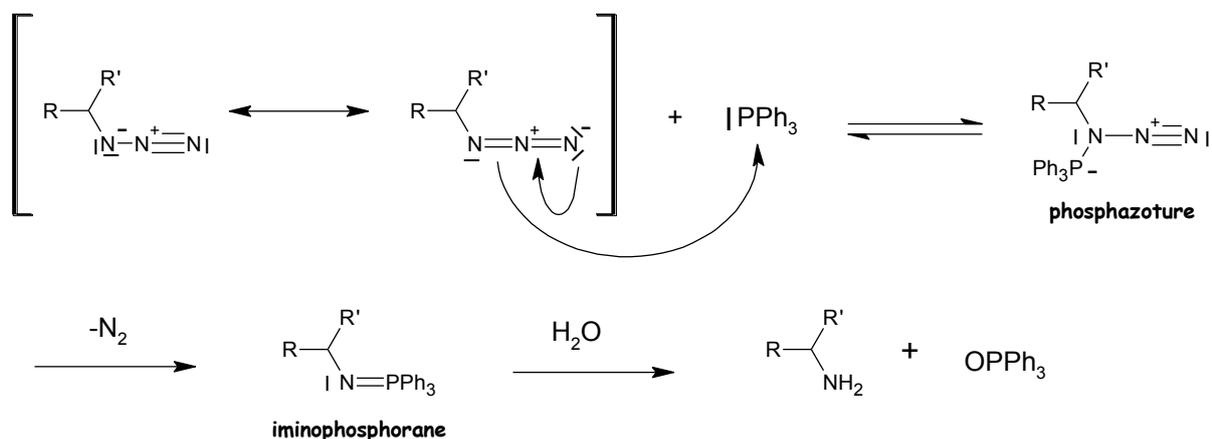


Schéma 10

L'imino-phosphorane a pu être clivé par hydrolyse acide dans le tétrahydrofurane pour conduire à la formation des amines **221** et **226** avec des rendements de 72 % et 65 % respectivement (schéma 11).

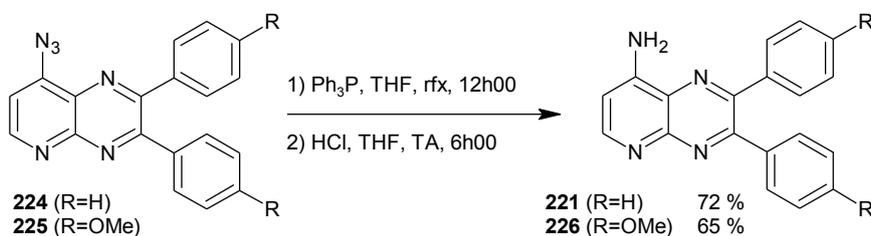


Schéma 11

4. Formation des urées et des thiourées

Les mêmes méthodes que celles utilisées dans la série pyrido[3,4-*b*]pyrazines ont été employées, à savoir la méthode A (isocyanate ou isothiocyanate, pyridine, reflux) pour les éthylurées, les éthylthiourées, les allylurées et les allylthiourées et la méthode B (isocyanate ou isothiocyanate, hydrure de sodium, diméthylformamide) pour les autres urées et thiourées (schéma 12).

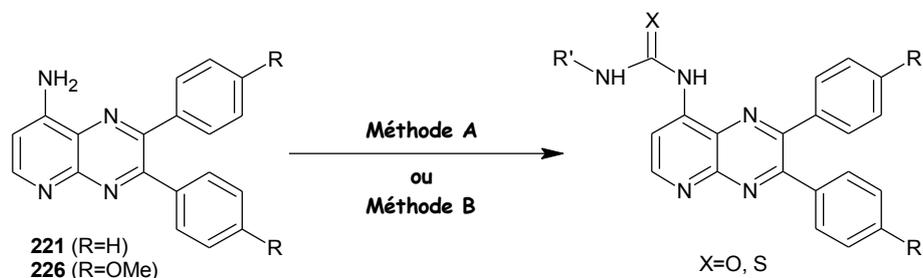


Schéma 12

N°	Méthode	R	R'	X	Rendement
227	B	H		O	55
228	B	H		S	48
229	B	OMe		O	51
230	B	OMe		S	52
231	B	H		O	53
232	A	H		O	82
233	A	H		S	55
234	A	OMe		O	50
235	A	H		O	83
236	A	H		S	53
237	A	OMe		O	55

Tableau 5 - Urées et thiourées synthétisées en série pyrido[2,3-*b*]pyrazines symétriques

B. PYRIDO[2,3-*b*]PYRAZINES EN SERIE MONOARYLE

1. Voie des β -cétosulfoxydes et des hémithioacétals

La réaction entre la 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** et le β -cétosulfoxyde **196** en présence d'acide acétique au reflux du benzène¹⁶⁰ aboutit à l'obtention d'un mélange des deux régioisomères **238** et **239** en proportion 1/1 avec un rendement de 45 % (schéma 13).

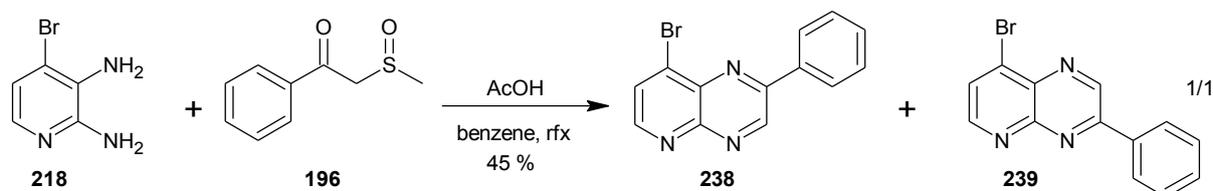


Schéma 13

Contrairement à la série pyrido[3,4-*b*]pyrazines, la réaction entre la 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** et les hémithioacétals **198** et **199** en présence d'acétate de sodium dans l'acide acétique au reflux¹⁶³ ne conduit pas à l'obtention d'un seul régioisomère mais également à un mélange des deux. Ceci montre de nouveau que la régiosélectivité de la réaction dépend beaucoup de la diaminopyridine mise en jeu.

En effet, la réaction entre la 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** et l'hémithioacétal **198** conduit à un mélange des deux régioisomères **238** et **239** dans des proportions 1/5 avec un rendement de 69 % (schéma 14).

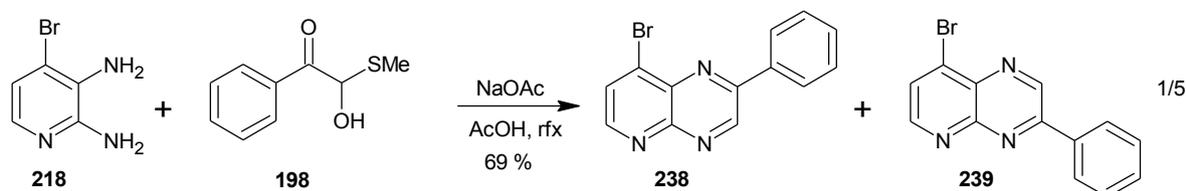


Schéma 14

De même, la réaction entre la 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** et l'hémithioacétal **199** conduit à un mélange des deux régioisomères **240** et **241** dans des proportions 1/1 avec un rendement de 96 % (schéma 15).

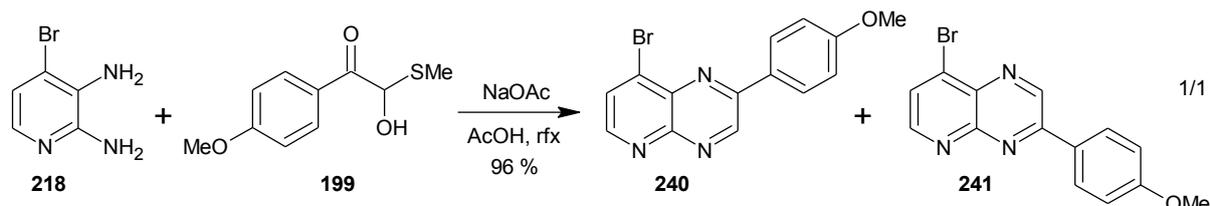


Schéma 15

2. Voie des glyoxals

La réaction entre la 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** et le phénylglyoxal dans les mêmes conditions¹⁸¹ que précédemment conduit à un mélange des régioisomères **238** et **239** dans des proportions 1/5 (schéma 16).

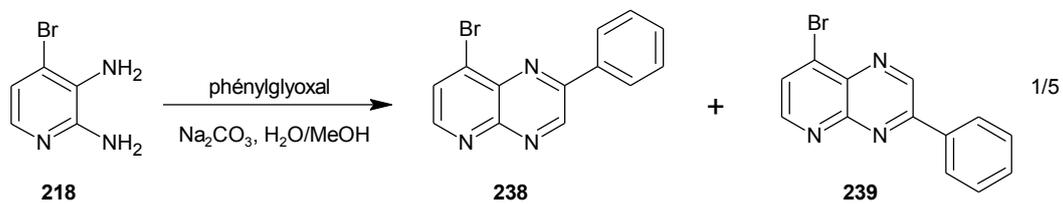


Schéma 16

PARTIE EXPERIMENTALE

3-amino-4-bromo-2-nitropyridine (217)

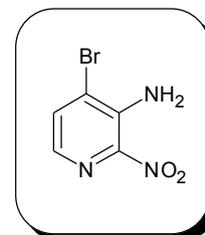
poudre jaune

$C_5H_4BrN_3O_2$

$M_r = 218.01$

$R_f = 0.70$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 217-218\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 500 mg (3.6 mmol, 1 éq) de 3-amino-2-nitropyridine **216** dans 5 mL d'acide acétique glacial ajouter 353 mg (3.6 mmol, 1 éq) d'acétate de potassium. Laisser sous agitation pendant 1h00 à température ambiante. Ajouter 180 μL (3.6 mmol, 1 éq) de brome puis maintenir l'agitation pendant 12h00. Filtrer sur fritté le précipité orange formé (422 mg, $\eta=95\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 7.69 (d, 1H, H_6 , $^3J=8.8$ Hz), 7.62 (s, 2H, NH_2), 7.52 (d, 1H, H_5 , $^3J=8.8$ Hz).

2,3-diamino-4-bromopyridine (218)

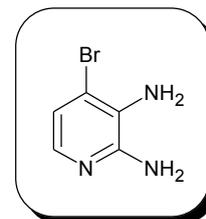
poudre marron

$C_5H_6BrN_3$

$M_r = 188.03$

$R_f = 0.48$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 154-155 °C



Mode opératoire : à une solution de 200 mg (0.9 mmol, 1 éq) de 3-amino-4-bromo-2-nitropyridine **217** dans 6 mL d'un mélange éthanol/eau : 5/1 ajouter 872 mg (4.6 mmol, 5 éq) de chlorure stanneux. Chauffer au reflux pendant 2h00. Laisser refroidir puis ajouter une solution d'hydroxyde de sodium jusqu'à pH basique. Extraire au dichlorométhane, sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une poudre marron (113 mg, $\eta=67\%$).

1H RMN (DMSO- d_6) : 6.65 (d, 1H, H_6 , $^3J=7.6$ Hz), 6.51 (d, 1H, H_5 , $^3J=7.6$ Hz), 5.84 (s, 2H, NH_2).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 148.76 (C), 129.27 (C), 123.79 (C), 120.71 (CH), 114.84 (CH).

8-bromo-2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazine (219)

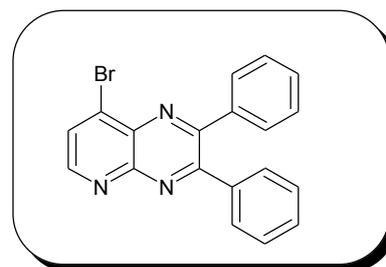
poudre beige

$C_{19}H_{12}BrN_3$

$M_r = 362.22$

$R_f = 0.83$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 164-165\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : chauffer au micro-ondes à $75\text{ }^\circ\text{C}$ sous 45 W pendant 40 min une solution de 500 mg (2.7 mmol, 1 éq) de 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** et 559 mg (2.7 mmol, 1 éq) de benzile **152** dans 30 mL d'un mélange méthanol/acide acétique : 9/1. Evaporer le solvant. Reprendre le résidu au dichlorométhane, laver la phase organique à l'eau. Sécher sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant sous vide. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant du dichlorométhane pour donner une poudre beige (645 mg, $\eta=66\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.58 (d, 1H, H_5 , $^3J=8.9$ Hz), 8.12 (d, 1H, H_6 , $^3J=8.9$ Hz), 7.55-7.38 (m, 10H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 156.59 (C), 154.74 (C), 149.12 (C), 144.82 (C), 140.88 (CH), 138.17 (C), 138.01 (C), 135.36 (C), 130.80 (CH), 130.02 (CH), 129.90 (CH), 129.77 (CH), 129.70 (CH), 129.46 (CH), 128.35 (CH).

$\text{IR (KBr, cm}^{-1})$: 1592 $\nu\text{C=C}$, 815 $\nu\text{C-Br}$.

8-bromo-2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[2,3-b]pyrazine (220)

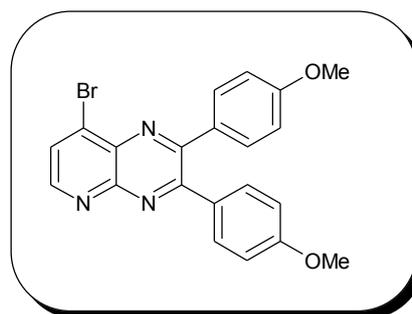
poudre jaune

$C_{21}H_{16}BrN_3O_2$

$M_r = 422.27$

$R_f = 0.85$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 221-222$ °C



Mode opératoire : le composé **220** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **219**, sous irradiation micro-ondes. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant du dichlorométhane pour donner une poudre beige ($\eta=70$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 8.50 (d, 1H, H_5 , $^3J=8.6$ Hz), 8.05 (d, 1H, H_6 , $^3J=8.6$ Hz), 7.53 (t, 4H, Haro, $^3J=8.8$ Hz), 7.00 (dd, 4H, Haro, $^3J=8.8$ Hz, $^4J=1.8$ Hz), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 3.83 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 160.60 (C), 160.36 (C), 156.09 (C), 154.25 (C), 144.16 (C), 140.65 (CH), 131.63 (CH), 131.41 (CH), 130.63 (C), 130.42 (C), 130.27 (CH), 113.94 (CH), 55.48 (OCH_3).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1600 $\nu_{C=C}$, 830 ν_{C-Br} .

8-azido-2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazine (224)

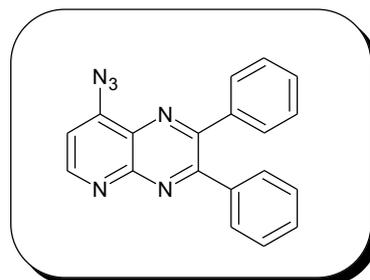
poudre jaune

$C_{19}H_{12}N_6$

$M_r = 324.34$

$R_f = 0.73$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 188-189 °C



Mode opératoire : chauffer au reflux pendant 1h00 une solution de 1.8 g (5.0 mmol, 1 éq) de 8-bromo-2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazine 219 et de 840 mg (12.9 mmol, 2.6 éq) d'azidure de sodium dans 50 mL de diméthylsulfoxyde. Laisser revenir à température ambiante, reprendre le mélange réactionnel à l'acétate d'éthyle. Laver la phase organique à l'eau, sécher sur sulfate de sodium puis évaporer les solvants pour donner une poudre jaune (1.5 g, $\eta=92\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.52 (d, 1H, H_6 , $^3J=9.4$ Hz), 8.47 (d, 1H, H_7 , $^3J=9.4$ Hz), 7.65-7.46 (m, 10H, Haro).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 154.68 (C), 153.31 (C), 149.76 (C), 138.39 (C), 137.85 (C), 137.10 (C), 135.16 (C), 134.82 (CH), 130.79 (2CH), 130.64 (2CH), 130.55 (CH), 130.18 (CH), 129.26 (2CH), 129.20 (2CH), 118.22 (CH).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1594 $\nu\text{C}=\text{C}$ aro, 1354 νN_3 .

8-azido-2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[2,3-*b*]pyrazine (225)

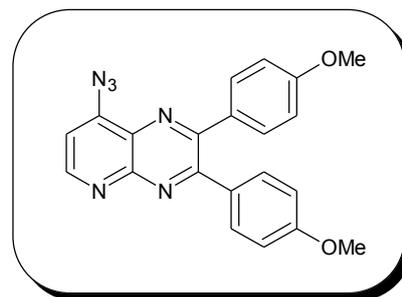
poudre jaune

$C_{21}H_{16}N_6O_2$

$M_r = 384.39$

$R_f = 0.69$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 191-192\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **225** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **224** ($\eta=100\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.44 (d, 1H, H_5 , $^3J=9.4$ Hz), 8.40 (d, 1H, H_6 , $^3J=9.4$ Hz), 7.62 (d, 2H, Haro, $^3J=8.8$ Hz), 7.55 (d, 2H, Haro, $^3J=8.8$ Hz), 7.08-7.02 (m, 4H, Haro), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 160.58 (C), 160.12 (C), 153.32 (C), 151.97 (C), 148.81 (C), 135.93 (C), 133.63 (C), 131.53 (CH), 131.11 (CH), 130.01 (C), 129.36 (C), 116.65 (CH), 113.99 (CH), 113.91 (CH), 55.31 (OCH_3), 55.24 (OCH_3).

$\text{IR (KBr, cm}^{-1})$: 1246 $\nu\text{C-O Me}$, 1174 νN_3 .

8-amino-2,3-diphénylpyrido[2,3-b]pyrazine (221)

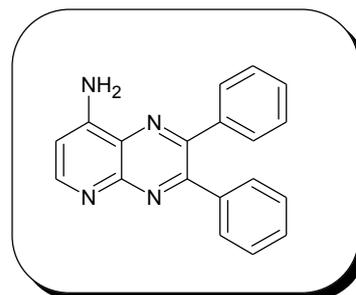
poudre jaune

$C_{19}H_{14}N_4$

$M_r = 298.34$

$R_f = 0.50$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 265-266\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : chauffer au reflux pendant 24h00 une solution de 1.3 g (4.4 mmol, 1 éq) de 8-azido-2,3-diphénylpyrido[2,3-b]pyrazine **224** et 1.2 g (4.8 mmol, 1.1 éq) de triphénylphosphine dans 50 mL de tétrahydrofurane. Laisser revenir à température ambiante puis laver la phase organique à l'eau. Extraire au dichlorométhane. Sécher la phase organique sur sulfate de sodium, filtrer puis évaporer le solvant pour donner une huile orange.

Dissoudre le résidu dans 30 mL de tétrahydrofurane puis ajouter 8 mL d'acide chlorhydrique concentré et laisser sous agitation à température ambiante pendant 12h00. Reprendre le mélange réactionnel au dichlorométhane. Laver la phase organique à l'eau. Sécher sur sulfate de sodium puis évaporer le solvant pour donner une poudre orange. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant un mélange dichlorométhane/éthanol : 100/0 puis 95/5 pour donner une poudre jaune (947 mg, $\eta=72\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.10 (d, 1H, H_6 , $^3J=9.2$ Hz), 7.48-7.32 (m, 10 H, Haro), 7.26 (s, 2H, NH_2), 7.14 (d, 1H, H_7 , $^3J=9.2$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 161.16 (C), 157.73 (C), 150.50 (C), 147.50 (C), 139.26 (C), 138.18 (CH), 132.47 (C), 129.89 (CH), 129.76 (CH), 128.79 (CH), 128.23 (CH), 128.20 (CH).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3287 ν_{NH_2} , 1630 δ_{NH} et $\nu_{C=C}$ aro.

8-amino-2,3-bis(4-methoxyphenyl)pyrido[2,3-*b*]pyrazine (226)

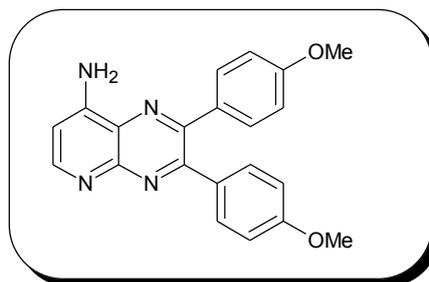
poudre jaune

$C_{21}H_{18}N_4O_2$

$M_r = 358.39$

$R_f = 0.50$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 260-261\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **226** est obtenu suivant le même mode opératoire que le dérivé **221**. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant un mélange dichlorométhane/éthanol : 10/0 puis 95/5 pour donner une poudre jaune ($\eta=65\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 8.04 (d, 1H, H_6 , $^3J=9.0$ Hz), 7.43 (d, 2H, Haro, $^3J=8.8$ Hz), 7.38 (d, 2H, Haro, $^3J=8.8$ Hz), 7.15 (s, 2H, NH_2), 7.07-7.49 (d, 1H, H_7 , $^3J=9.0$ Hz), 6.93 (dd, 4H, Haro, $^3J=8.8$ Hz, $^4J=2.2$ Hz), 3.81 (s, 3H, OCH_3), 3.80 (s, 3H, OCH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 159.06 (C), 157.79 (C), 157.31 (C), 151.21 (C), 148.51 (C), 145.12 (C), 135.96 (CH), 130.08 (C), 129.84 (C), 129.73 (C), 129.33 (CH), 129.02 (CH), 115.45 (CH), 111.72 (CH), 53.38 (OCH_3), 53.34 (OCH_3).

IR (KBr, cm^{-1}) : 1625 δNH_2 , 1246 $\nu\text{C-O Me}$.

***N*-phényl-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazin-8-yl)urée (227)**

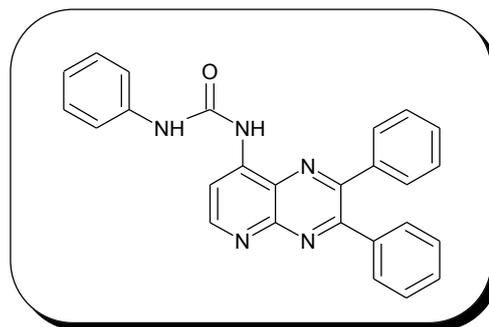
poudre beige

C₂₆H₁₉N₅O

M_r = 417.46

R_f = 0.61 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 255-256 °C



Mode opératoire : le composé **227** est obtenu selon la méthode B ($\eta=55\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 11.54 (s, 1H, NH), 10.48 (s, 1H, NH), 8.55 (d, 1H, H₆, ³J=9.2 Hz), 7.89 (d, 1H, H₇, ³J=9.2 Hz), 7.72-7.39 (m, 14H, Haro), 7.13 (t, 1H, Haro, ³J=7.4 Hz).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3234 νNH, 3040 νCH, 1682 νC=O urée, 1600 et 1558 νC=C aro.

SM (SI) : m/z = 418 [M+H]⁺.

***N*-phényl-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazin-8-yl)thiourée (228)**

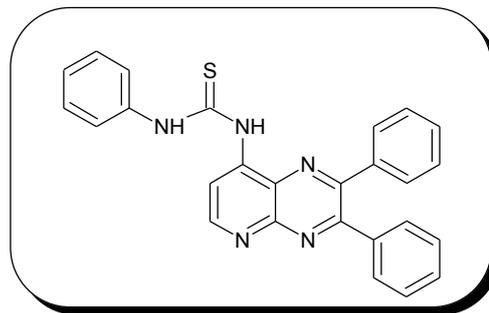
poudre beige

C₂₆H₁₉N₅S

M_r = 433.53

R_f = 0.73 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 217-218 °C



Mode opératoire : le composé **228** est obtenu selon la méthode B ($\eta=48\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 14.36 (s, 1H, NH), 11.66 (s, 1H, NH), 8.62 (d, 1H, H₆, ³J=9.2 Hz), 7.84-7.75 (m, 3H, Haro), 7.54-7.32 (m, 13H, Haro).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 178.71 (C=S), 155.74 (C), 155.09 (C), 152.16 (C), 146.90 (C), 140.66 (CH), 138.60 (C), 138.44 (C), 138.40 (C), 133.46 (C), 129.95 (CH), 129.87 (CH), 129.34 (CH), 129.03 (CH), 128.37 (CH), 128.30 (CH), 126.32 (CH), 124.56 (CH).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3227 ν NH, 1569 ν C=C aro, 1158 ν C=S thiourée.

SM (SI) : m/z = 434 [M+H]⁺.

***N*-(2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[2,3-*b*]pyrazin-8-yl)-*N'*-phénylurée (229)**

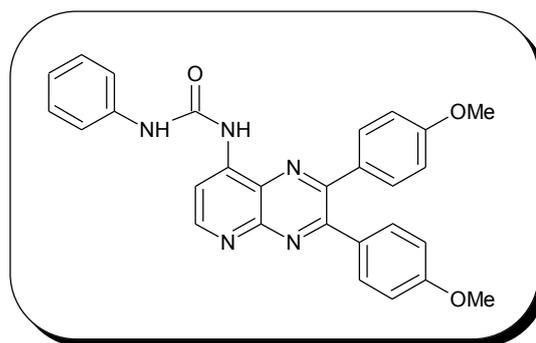
poudre jaune

$C_{28}H_{23}N_5O_3$

$M_r = 477.51$

$R_f = 0.61$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 244-245\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **229** est obtenu selon la méthode B ($\eta=51\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 11.59 (s, 1H, NH), 10.42 (s, 1H, NH), 8.49 (d, 1H, H_6 , $^3J=9.2$ Hz), 7.83 (d, 1H, H_7 , $^3J=9.2$ Hz), 7.65-7.39 (m, 8H, Haro), 7.14 (t, 1H, Haro, $^3J=7.3$ Hz), 7.01 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 6.98 (d, 2H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 160.21 (C=O), 159.84 (C), 154.97 (C), 152.05 (C), 151.12 (C), 147.58 (C), 139.97 (CH), 138.70 (C), 133.00 (C), 131.48 (CH), 131.24 (CH), 131.03 (CH), 129.30 (CH), 123.42 (CH), 119.48 (CH), 117.98 (CH), 113.92 (CH), 113.84 (CH), 55.44 (OCH_3), 55.40 (OCH_3).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3210 ν NH, 3045 ν CH, 1687 ν C=O urée, 1600 et 1559 ν C=C aro.

SM (SI) : $m/z = 478$ $[\text{M}+\text{H}]^+$.

***N*-(2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[2,3-*b*]pyrazin-8-yl)-*N'*-phénylurée (230)**

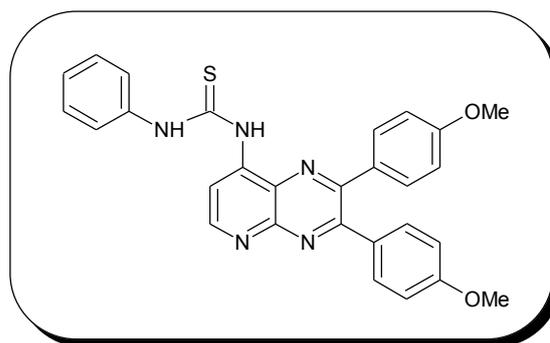
poudre jaune

$C_{28}H_{23}N_5O_2S$

$M_r = 493.58$

$R_f = 0.70$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 193-194\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **230** est obtenu selon la méthode B ($\eta = 52\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 14.40 (s, 1H, NH), 11.60 (s, 1H, NH), 8.55 (d, 1H, H_6 , $^3J=9.2$ Hz), 7.79-7.74 (m, 3H, Haro, H_7), 7.54-7.45 (m, 6H, Haro), 7.33 (t, 1H, Haro, $^3J=7.3$ Hz), 6.97 (d, 4H, Haro, $^3J=8.9$ Hz), 3.82 (s, 3H, OCH_3), 3.81 (s, 3H, OCH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 178.66 (C=S), 160.26 (C), 159.94 (C), 155.18 (C), 154.77 (C), 151.69 (C), 146.67 (C), 140.42 (CH), 138.68 (C), 133.02 (C), 131.47 (CH), 131.26 (CH), 130.87 (C), 130.76 (C), 129.01 (CH), 128.40 (CH), 126.26 (CH), 124.53 (CH), 119.89 (CH), 118.62 (CH), 113.89 (CH), 113.83 (CH), 55.41 (OCH_3), 55.40 (OCH_3).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3184 ν NH, 1605 et 1569 ν C=C aro, 1246 ν C=S thiourée, 1164 ν C-OMe.

SM (SI) : $m/z = 494$ $[M+H]^+$.

***N*-(3-chlorophényl)-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazin-8-yl)urée (231)**

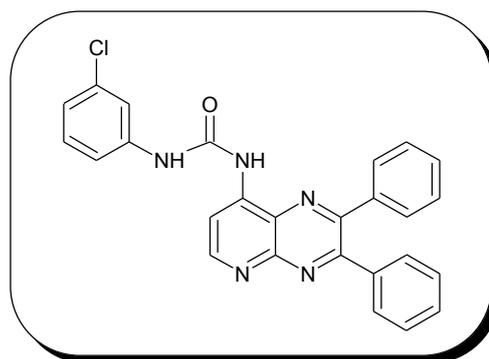
poudre beige

C₂₆H₁₈ClN₅O

M_r = 451.91

R_f = 0.64 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 243-244 °C



Mode opératoire : le composé **231** est obtenu selon la méthode B ($\eta=53\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 11.63 (s, 1H, NH), 10.55 (s, 1H, NH), 8.56 (d, 1H, H₆, ³J=9.2 Hz), 7.99-7.89 (m, 3H, Haro), 7.57-7.17 (m, 12H, Haro).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 155.54 (C), 155.15 (C), 151.97 (C), 151.65 (C), 147.71 (C), 140.25 (CH), 140.15 (C), 138.61 (C), 138.58 (C), 133.59 (C), 133.44 (C), 130.94 (CH), 129.96 (2CH), 129.86 (2CH), 129.29 (CH), 128.91 (CH), 128.36 (2CH), 128.28 (2CH), 123.08 (CH), 118.84 (CH), 118.47 (CH), 117.84 (CH).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3222 ν NH, 1692 ν C=O urée, 1595 et 1549 ν C=C aro.

SM (SI) : m/z = 452 [M+H]⁺ (isotope ³⁵Cl, intensité 1), m/z = 454 [M+H]⁺ (isotope ³⁷Cl, intensité 1/3).

N-éthyl-N'-(2,3-diphénylpyrido[2,3-b]pyrazin-8-yl)urée (232)

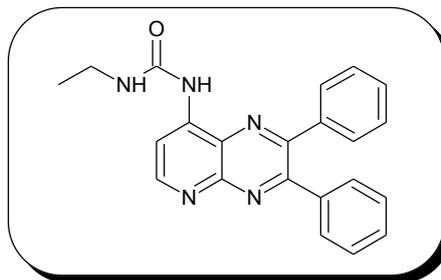
poudre jaune

C₂₂H₁₉N₅O

M_r = 369.42

R_f = 0.61 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 257-258 °C



Mode opératoire : le composé **232** est obtenu selon la méthode A ($\eta=82\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 10.19 (s, 1H, NH), 9.14 (m, 1H, NH), 8.46 (d, 1H, H₆, ³J=9.1 Hz), 7.75 (d, 1H, H₇, ³J=9.1 Hz), 7.53-7.38 (m, 10H, Haro), 3.40 (m, 1H, CH₂), 1.21 (t, 3H, CH₃, ³J=7.3 Hz).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 155.75 (C=O), 155.17 (C), 154.29 (C), 147.97 (C), 139.64 (CH), 138.68 (C), 138.63 (C), 133.22 (C), 129.91 (CH), 129.83 (CH), 129.13 (CH), 128.77 (CH), 128.29 (CH), 128.23 (CH), 118.59 (CH), 34.23 (CH₂), 15.51 (CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3415, 3205 νNH, 1683 νC=O urée, 1618 et 1561 νC=C aro.

SM (SI) : m/z = 370 [M+H]⁺.

***N*-éthyl-*N'*-(2,3-diphénylpyrido[2,3-*b*]pyrazin-8-yl)thiourée (233)**

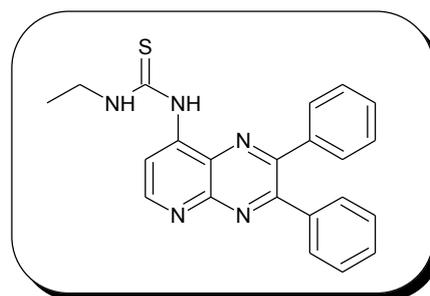
poudre jaune

C₂₂H₁₉N₅S

M_r = 385.49

R_f = 0.77 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 233-234 °C



Mode opératoire : le composé **233** est obtenu selon la méthode A ($\eta=55\%$).

¹H RMN (DMSO-*d*₆) : 12.23 (m, 1H, NH), 11,31 (s, 1H, NH), 8.54 (d, 1H, H₆, ³J=8.9 Hz), 7.72 (d, 1H, H₇, ³J=8.9 Hz), 7.74-7.30 (m, 10H, Harom.), 3.77 (m, 1H, CH₂), 1.32 (t, 3H, CH₃, ³J=7.3 Hz).

¹³C RMN (DMSO-*d*₆) : 179.70 (C=S), 155.56 (C), 155.34 (C), 151.82 (C), 147.24 (C), 140.26 (CH), 138.56 (C), 133.41 (C), 129.99 (CH), 129.91 (CH), 129.32 (CH), 128.99 (CH), 128.39 (CH), 128.33 (CH), 119.18 (CH), 55.15 (CH₂), 14.09 (CH₃).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3412, 3194 νNH, 1566 et 1524 νC=C aro, 1232 νC=S thiourée.

SM (SI) : m/z = 386 [M+H]⁺.

***N*-éthyl-*N'*-(2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[2,3-*b*]pyrazin-8-yl)urée (234)**

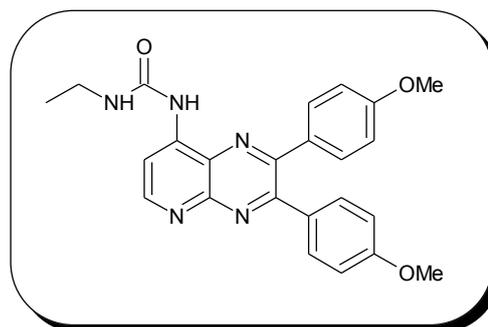
poudre jaune

$C_{24}H_{23}N_5O_3$

$M_r = 429.47$

$R_f = 0.64$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 242-243$ °C



Mode opératoire : le composé **234** est obtenu selon la méthode A ($\eta=50$ %).

1H RMN (DMSO- d_6) : 10.12 (s, 1H, NH), 9.16 (m, 1H, NH), 8.40 (d, 1H, H_6 , $^3J=9.0$ Hz), 7.68 (d, 1H, H_7 , $^3J=9.0$ Hz), 7.51-7.47 (m, 4H, Haro), 7.00-6.94 (m, 4H, Haro), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3).

^{13}C RMN (DMSO- d_6) : 160.12 (C), 159.77 (C), 155.43 (C), 154.68 (C), 154.40 (C), 150.62 (C), 147.80 (C), 139.50 (CH), 132.84 (C), 131.43 (CH), 131.21 (CH), 131.12 (C), 131.08 (C), 118.05 (CH), 113.86 (CH), 113.81 (CH), 55.43 (OCH_3), 55.38 (OCH_3), 34.24 (CH_2), 15.54 (CH_3).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3215 ν NH, 1689 ν C=O urée, 1609 et 1561 ν C=C aro.

SM (SI) : $m/z = 430$ $[M+H]^+$.

N-allyl-N'-(2,3-diphénylpyrido[2,3-b]pyrazin-8-yl)urée (235)

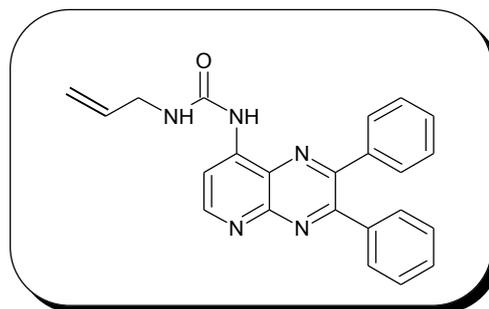
poudre jaune

C₂₃H₁₉N₅O

M_r = 381.43

R_f = 0.66 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 240-241 °C



Mode opératoire : le composé **235** est obtenu selon la méthode A ($\eta=83\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 10.30 (s, 1H, NH), 9.41 (m, 1H, NH), 8.48 (d, 1H, H₆, ³J=8.9 Hz), 7.74 (d, 1H, H₇, ³J=8.9 Hz), 7.53-7.38 (m, 10H, Haro), 6.16-5.96 (m, 1H, H₂), 5.34 (dd, 1H, H₄, ³J_{trans}=17.1 Hz, ²J_{gem}=1.5 Hz), 5.18 (dd, 1H, H₃, ³J_{cis}=10.4 Hz, ²J_{gem}=1.5 Hz), 4.01 (m, 2H, H_{1'}).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 155.22 (C), 154.34 (C), 147.91 (C), 139.77 (CH), 138.65 (C), 135.62 (CH), 129.91 (CH), 129.84 (CH), 129.17 (CH), 128.81 (CH), 128.30 (CH), 128.25 (CH), 118.60 (CH), 115.08 (CH), 41.67 (CH₂).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3205 νNH, 1686 νC=O urée, 1618, 1562 νC=C aro.

SM (SI) : m/z = 382 [M+H]⁺.

N-allyl-N'-(2,3-diphénylpyrido[2,3-b]pyrazin-8-yl)thiourée (236)

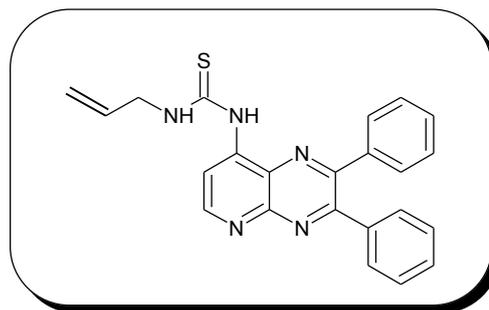
poudre jaune

C₂₃H₁₉N₅S

M_r = 397.50

R_f = 0.78 (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

F = 237-238 °C



Mode opératoire : le composé **236** est obtenu selon la méthode A ($\eta=53\%$).

¹H RMN (DMSO-d₆) : 12.47 (m, 1H, NH), 11.45 (s, 1H, NH), 8.56 (d, 1H, H₆, ³J=9.1 Hz), 7.74 (d, 1H, H₇, ³J=9.1 Hz), 7.53-7.41 (m, 10H, Harom.), 6.15-6.06 (m, 1H, H_{2'}), 5.51 (d, 1H, H_{4'}, ³J_{trans}=18.6 Hz), 5.28 (d, 1H, H_{3'}, ³J_{cis}=10.4 Hz), 4.45 (m, 2H, H_{1'}).

¹³C RMN (DMSO-d₆) : 179.65 (C=S), 155.08 (C), 154.82 (C), 151.45 (C), 146.70 (C), 139.88 (CH), 138.07 (C), 138.02 (C), 133.24 (CH), 132.94 (C), 129.49 (CH), 129.42 (CH), 128.88 (CH), 128.53 (CH), 127.90 (CH), 127.85 (CH), 118.64 (CH), 115.42 (CH), 46.69 (CH₂).

IR (KBr, cm⁻¹) : 3425, 3205 νNH, 1564 νC=C aro, 1231 νC=S thiourée.

SM (SI) : m/z = 398 [M+H]⁺.

***N*-allyl-*N'*-(2,3-bis(4-méthoxyphényl)pyrido[2,3-*b*]pyrazin-8-yl)urée (237)**

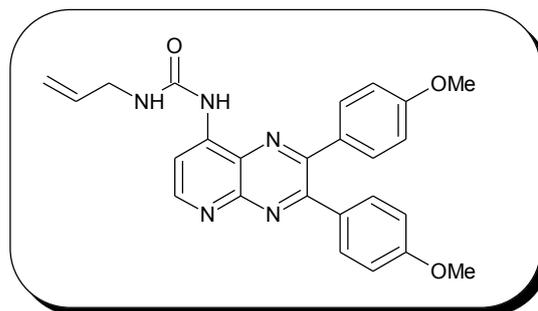
poudre jaune

$C_{25}H_{23}N_5O_3$

$M_r = 441.48$

$R_f = 0.65$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 250-251\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : le composé **237** est obtenu selon la méthode A ($\eta=55\%$).

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 10.24 (s, 1H, NH), 9.44 (m, 1H, NH), 8.42 (d, 1H, H_6 , $^3J=8.9$ Hz), 7.68 (d, 1H, H_7 , $^3J=8.9$ Hz), 7.50-7.43 (m, 4H, Haro), 7.00-6.95 (m, 4H, Haro), 6.00-5.96 (m, 1H, $H_{2'}$), 5.35 (d, 1H, $H_{4'}$, $^3J_{\text{trans}}=17.8$ Hz), 5.19 (d, 1H, $H_{3'}$, $^3J_{\text{cis}}=9.8$ Hz), 4.01 (m, 2H, $H_{1'}$), 3.83 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 160.12 (C), 159.77 (C), 155.43 (C), 154.68 (C), 154.40 (C), 150.62 (C), 147.80 (C), 139.50 (CH), 132.84 (C), 131.43 (CH), 131.21 (CH), 131.12 (C), 131.08 (C), 118.05 (CH), 113.86 (CH), 113.81 (CH), 55.43 (CH_3), 55.38 (CH_3), 34.24 (CH_2), 15.54 (CH_3).

IR (KBr, cm^{-1}) : 3215 νNH , 1692 $\nu\text{C=O}$ urée, 1609 et 1561 $\nu\text{C=C}$ aro.

SM (SI) : $m/z = 442$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

8-bromo-2-phénylpyrido[2,3-*b*]pyrazine (238)

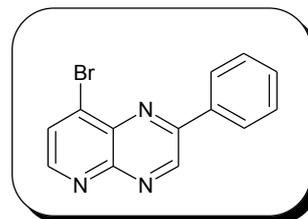
poudre marron

$C_{13}H_8BrN_3$

$M_r = 286.13$

$R_f = 0.66$ (dichlorométhane/éthanol : 9/1)

$F = 307-308\text{ }^\circ\text{C}$



Mode opératoire : à une solution de 300 mg (2.3 mmol, 1 éq) de 2,3-diamino-4-bromopyridine **218** dans 5 mL de dioxane, ajouter 356 mg (2.3 mmol, 1 éq) de phénylglyoxal puis chauffer le mélange réactionnel pendant 8h00. Evaporer le solvant. Purifier le résidu par chromatographie sur colonne de gel de silice avec pour éluant du dichlorométhane puis un mélange dichlorométhane/éthanol : 99/1.

$^1\text{H RMN (DMSO-}d_6)$: 9.20 (s, 1H, H_3), 8.29-8.24 (m, 2H, Haro), 8.04 (d, 1H, H_7 , $^3J=9.8$ Hz), 7.64-7.60 (m, 3H, Haro), 6.86 (dd, 1H, H_6 , $^3J=9.8$ Hz, $^4J=1.5$ Hz).

$^{13}\text{C RMN (DMSO-}d_6)$: 162.37 (C), 150.59 (C), 145.41 (C), 139.53 (CH), 137.08 (CH), 135.14 (C), 131.41 (C), 130.53 (CH), 129.01 (2CH), 127.18 (2CH), 126.82 (CH).

CONCLUSION

Nous avons synthétisé trente-huit produits finals, dont treize urées, huit thiourées et six amides en série pyrido[3,4-*b*]pyrazines (en série monoaryle et biaryle) et, sept urées et quatre thiourées en série pyrido[2,3-*b*]pyrazines (en série biaryle uniquement). Actuellement, neuf produits ont été testés sur l'inhibition de la cascade Ras/Raf/ERK ; les premiers résultats montrent une faible activité, de l'ordre de 1.4 à 100 μ M. Tous les composés synthétisés seront testés ultérieurement sur une batterie de trente-cinq kinases, afin de vérifier l'activité et la sélectivité des produits.

En conclusion, nous avons développé une voie d'accès à des 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines, substituées en position 2 et 3 par des groupements identiques. La présence du brome en position 8 peut permettre l'introduction de différents pharmacomorphes. Dans notre cas, nous avons remplacé le brome par un groupement amino en deux étapes, *via* la formation d'une benzophénone imine intermédiaire, afin d'accéder à des urées, des thiourées et des amides en position 8 des pyrido[3,4-*b*]pyrazines, mais d'autres pharmacomodulations sont également envisageables, telles que l'introduction de divers substituants par couplage pallado-catalysé.

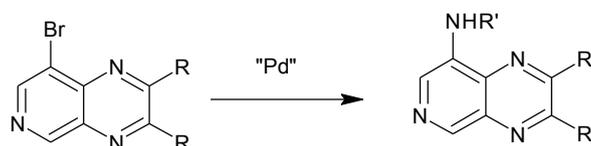


Figure 1

Nous avons d'autre part développé des voies d'accès à des 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines monosubstituées en position 2. La première met en jeu un hémithioacétal, qui par réaction avec la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** en présence d'acétate de sodium au reflux de l'acide acétique permet d'accéder aux 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines substituées en position 2. La seconde voie met en jeu une réaction entre la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158** et le phénylglyoxal au reflux du dioxane. Dans cette série, nous avons synthétisé des homologues de la série précédente par la même méthode.

Une autre voie d'accès à des 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines a été développée. En effet, la réaction entre la 3,4,5-triaminopyridine **172** et le phénylglyoxal conduit aux 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines substituées en position 2. Cette voie de synthèse est plus courte que les deux autres voies de synthèse présentées précédemment et permet d'accéder aux 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines avec un meilleur rendement. Cependant, les deux premières voies présentées sont plus intéressantes pour une pharmacomodulation variée (par exemple, l'introduction *via* une réaction pallado-catalysée d'anilines en position 8).

En revanche, les 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines substituées en position 3 n'ont pu être isolées, par réaction entre la 2,3-diamino-5-bromopyridine **158** et des β -cétosulfoxydes en présence d'acide acétique au reflux du benzène, qu'en mélange avec le régioisomère en position 2. La séparation des deux régioisomères par chromatographie sur colonne de gel de silice n'a pas été efficace et il serait de toute façon préférable de développer une méthode d'accès permettant d'obtenir régiosélectivement des 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines substituées en position 3.

Il pourrait être intéressant de synthétiser des aryl(oxo)acétates d'éthyle de formule générale **I** qui devrait réagir soit avec la 3,4-diamino-5-bromopyridine **158**, soit la 3,4,5-triaminopyridine

172 pour conduire aux 8-bromo et 8-aminopyrido[3,4-*b*]pyrazines substituées en position 3 (figure 2).

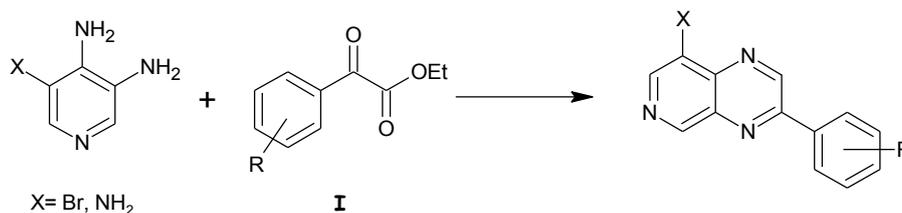


Figure 2

En série B, nous avons également développé une méthode d'accès à des 8-bromopyrido[2,3-*b*]pyrazines substituées en position 2 et 3 par des groupements identiques. L'accès aux 8-aminopyrido[2,3-*b*]pyrazines est réalisé dans cette série à partir des 8-bromopyrido[2,3-*b*]pyrazines en deux étapes par substitution du brome *via* les azotures correspondants.

En revanche, l'accès aux pyrido[2,3-*b*]pyrazines monosubstituées en position 2 ou 3 n'a pas abouti. En effet, les deux régioisomères ont toujours été obtenus en mélange (selon les mêmes méthodes que celles décrites précédemment pour la série A) et ils n'ont pu être séparés par chromatographie sur colonne de gel de silice.

Afin d'inhiber le récepteur de l'EGF, il pourrait être intéressant d'apporter les modifications structurales suivantes :

- synthétiser des 8-anilinopyridopyrazines telles que celles présentées sur la figure 3, *via* une réaction pallado-catalysée à partir des 8-bromopyrido[3,4-*b*]pyrazines et 8-bromo[2,3-*b*]pyrazines, afin d'obtenir des composés dont les structures sont proches de celles de certains inhibiteurs de l'EGFR en cours de développement clinique, tels que PD158780 et PD165557 (figure 4),

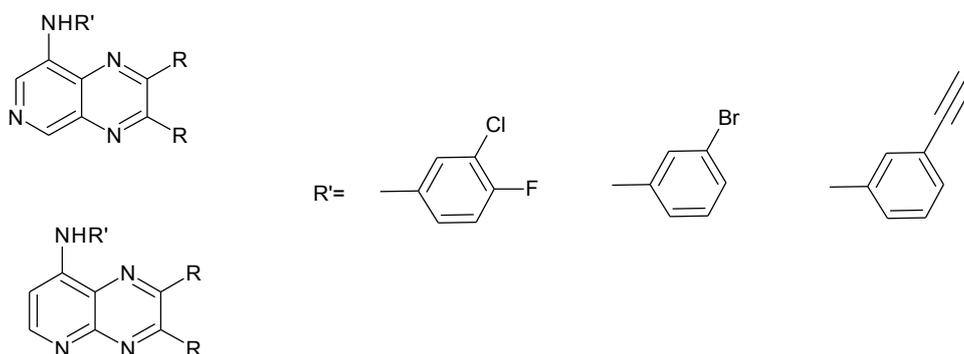


Figure 3

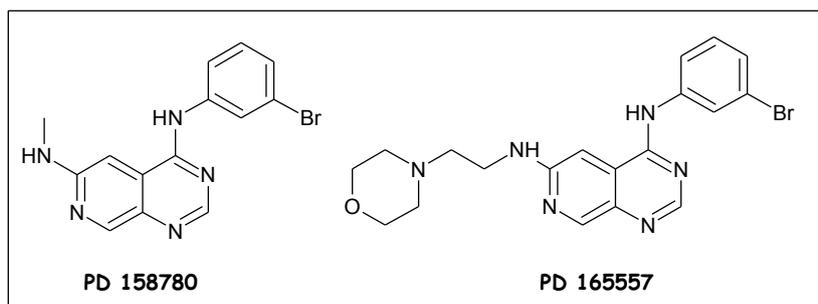


Figure 4

synthétiser des composés où R est un éther ; on pourrait ainsi introduire des chaînes tels que des groupements morpholino ou diméthylamino afin d'améliorer la solubilité des composés et leur biodisponibilité.

REFERENCES

- 1 Rapport de la commission d'orientation sur le cancer, 16 janvier 2003.
<http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/cancer/rapport/htm>
- 2 G.M. Cooper, La cellule : une approche moléculaire, Edition De Boeck.
- 3 Médicaments antitumoraux et perspectives dans le traitement des cancers, *Traité de Chimie Thérapeutique*, Volume 6, Tec & Doc, **2003**.
- 4 K.H. Downing et E. Nogales, Tubulin structure: insights into microtubule properties and functions, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1998**, 8, 785-791.
- 5 H.C. Joshi, Microtubule dynamics in living cells, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1998**, 10, 35-44.
- 6 R.H. Wayde et A.A. Hyman, Microtubule structure and dynamics, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1997**, 9, 12-17.
- 7 K.H. Downing et E. Nogales, Tubulin and microtubule structure, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1998**, 10, 16-22.
- 8 A. Desai et T.J. Mitchison, Microtubule polymerization dynamics, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **1997**, 13, 83-117.
- 9 P. Wadsworth et A. Khodjakov, E pluribus unum: towards a universal mechanism for spindle assembly, *Trends Cell Biol.*, **2004**, 14 (8), 413-419.
- 10 E. Mandelkow et E.-M. Mandelkow, Microtubules and microtubule-associated proteins, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1995**, 7, 72-81.
- 11 F.J. McNally, Modulation of microtubule dynamics during the cell cycle, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1996**, 8, 23-29.
- 12 L. Cassimeris, Accessory protein regulation of microtubule dynamics throughout the cell cycle, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1999**, 11, 134-141.
- 13 K. Kinoshita, B. Habermann et A.A. Hyman, XMAP215: a key component of the dynamic microtubule cytoskeleton, *Trends Cell Biol.*, **2002**, 12, 267-273.
- 14 S.S.L. Andersen, Spindle assembly and the art of regulating microtubule dynamics by MAPs and Stathmin/Op18, *Trends Cell Biol.*, **2000**, 10, 261-267.
- 15 A. Moore et L. Wordeman, The mechanism, function and regulation of depolymerizing kinesins during mitosis, *Trends Cell Biol.*, **2004**, 14 (10), 537-546.
- 16 L. Cassimeris, The oncoprotein 18/stathmin family of microtubule destabilizers, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2002**, 14, 18-24.
- 17 C.E. Walczak, Microtubule dynamics and tubulin interacting proteins, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **2000**, 12, 52-56.
- 18 A. Desai, S. Verma, T.J. Mitchison et C.E. Walczak, Kin I kinesins are microtubule-destabilizing enzymes, *Cell*, **1999**, 96, 69-78.

- ¹⁹ J.C. Waters et E.D. Salmon, Pathways of spindle assembly, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1997**, 9, 37-43.
- ²⁰ C.G. Pearson et K. Bloom, Dynamic microtubules lead the way for spindle positioning, *Nature*, **2004**, 5, 481-492.
- ²¹ C.E. Walczak, I. Vernos, T.J. Mitchison, E. Karsenti et R. Heald, A model for the proposed roles of different microtubule-based motor proteins in establishing spindle bipolarity, *Curr. Biol.*, **1998**, 8, 903-913.
- ²² I. Vernos et E. Karsenti, Motors involved in spindle assembly and chromosome, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **1996**, 8, 4-9.
- ²³ R. Heald et C.E. Walczak, Microtubule-based motor function in mitosis, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1999**, 9, 268-274.
- ²⁴ D.J. Sharp, G.C. Rogers et J.M. Scholey, Microtubule motors in mitosis, *Nature*, **2000**, 407, 41-47.
- ²⁵ S.A. Endow, Microtubule motors in spindle assembly and chromosome motility, *Eur. J. Biochem.*, **1999**, 262, 12-18.
- ²⁶ M.A. Jordan, Mechanism of action of antitumor drugs that interact with microtubules and tubulin, *Curr. Med. Chem., Anticancer Agents*, **2002**, 2, 1-17.
- ²⁷ T. Beckers et S. Mahboobi, Natural, semisynthetic and synthetic microtubule inhibitors for cancer therapy, *Drugs of the future*, **2003**, 28 (8), 767-785.
- ²⁸ M. Kavallaris, N.M. Verrills et B.T. Hill, Anticancer therapy with novel tubulin-interacting drugs, *Drug Resistance Updates*, **2001**, 4, 392-401.
- ²⁹ J.A. Hadfield, S. Ducki, N. Hirst et A.T. McGown, Tubulin and microtubules as targets for anticancer drugs, *Prog. Cell Cycle Research*, **2003**, 5, 309-325.
- ³⁰ G. Attard, A. Greiptoke, S. Kaye et J. De Bono, Update on tubulin-binding agents, *Pathologie Biologie*, **2005**, article in press.
- ³¹ K-H. Altmann, Microtubule-stabilizing agents: a growing class of important anticancer drugs, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2001**, 5, 424-431.
- ³² P.M. Checchi, J.H. Nettles, J. Zhou, J.P. Snyder et H.C. Joshi, Microtubule-interacting drugs for cancer treatment, *Trends in Pharm. Sciences*, **2003**, 24 (7), 361-365.
- ³³ L. He, G.A. Orr et S. Band Horwitz, Novel molecules that interact with microtubules and have functional activity similar to Taxol™, *Drug discovery today*, **2001**, 6 (22), 1153-1164.
- ³⁴ G. Bacher, T. Beckers, P. Emig, T. Klenner, B. Kutscher et B. Nickel, New small molecule tubulin inhibitors, *Pure Appl. Chem.*, **2001**, 73 (9), 1459-1464.
- ³⁵ G. Bacher, B. Nickel, P. Emig, U. Vanhoefer, S. Seeber, A. Shandra, T. Klenner et T. Beckers, D-24851, a novel synthetic microtubule inhibitor, exerts curative antitumoral activity

in vivo, shows efficacy toward multidrug-resistant tumor cells, and lacks neurotoxicity, *Cancer Research*, **2001**, 61, 392-399.

- ³⁶ M. Knacck, P. Emig, J.W. Bats, M. Kiesel, A. Müller et E. Günther, Synthesis and characterization of the biologically active 2-[1-(4-chlorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-2-oxo-*N*-pyridin-4-yl acetamide, *Eur. J. Org. Chem.*, **2001**, 3843-3847.
- ³⁷ F. Benington, R.D. Morin et L.C. Clark, Jr., Synthesis of some 5- and 6-chloro, 5-methyl, and 5,6,7-trimethyl derivatives of tryptamine, *J. Org. Chem.*, **1960**, 25, 1542-1547.
- ³⁸ C. Martini, T. Gervasio, A. Lucacchini, A. Da Settimo, G. Primofiore et A.M. Marini, Specific inhibition of benzodiazepine receptor binding by some *N*-(indol-3-ylglyoxylyl)amino acid derivatives, *J. Med. Chem.*, **1985**, 28, 506-509.
- ³⁹ G. Primofiore, A.M. Marini, F. Da Settimo, C. Martini, A. Bardellini, G. Giannaccini et A. Lucacchini, Specific inhibition of benzodiazepine receptor binding by some *N*-(indol-3-ylglyoxylyl)amino acid derivatives: stereoselective interactions, *J. Med. Chem.*, **1989**, 32, 2514-2518.
- ⁴⁰ J.E. Macor, R. Post et K. Ryan, A simple synthesis of 5-amino-3-(2-dimethylaminoethyl)indole, *Synth. Comm.*, **1993**, 23, 65-72.
- ⁴¹ B. Cardillo, G. Casnati, A. Pochini et A. Ricca, Alkylation of indole sodium salt as ambifunctional nucleophilic system, *Tetrahedron*, **1967**, 23, 3771-3783.
- ⁴² S. Nunomoto, Y. Kawakami, Y. Yamashita, H. Takeuchi et S. Eguchi, Regioselectivity control in alkylation reactions of indolyl ambident anion, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1990**, 111-114.
- ⁴³ M.E. Speeter et W.C. Anthony, The action of oxalyl chloride on indoles: a new approach to tryptamines, *J. Am. Chem. Soc.*, **1954**, 76, 6208-6210.
- ⁴⁴ P. Marchand, Synthèse et évaluation pharmacologique de dérivés indoliques à activités immunosuppressive et antitumorale, *Thèse de doctorat*, Université de Nantes, **1999**.
- ⁴⁵ N.M. Yoon et C.S. Pak, Selective reductions. XIX. The rapid reaction of carboxylic acids with borane-tetrahydrofuran. A remarkably convenient procedure for the selective conversion of carboxylic acids to the corresponding alcohols in the presence of other functional groups, *J. Org. Chem.*, **1973**, 38 (16), 2786-2792.
- ⁴⁶ M.S. Newman, The synthesis of 4,5-dimethylchrysene, *J. Am. Chem. Soc.*, **1940**, 62, 2295-2300.
- ⁴⁷ A.G. Anderson, Jr., N.E.T. Owen, F.J. Freenor et D. Erickson, The reaction of primary and secondary alcohols with phosphorus trichloride/dimethylformamide reagents, *Synthesis*, **1976**, 398-399.
- ⁴⁸ J. Cason et J.S. Correia, Investigation of methods for preparing pure secondary alkyl halides, *J. Org. Chem.*, **1961**, 26, 3645-3649.
- ⁴⁹ K. Tsubaki, T. Otsubo, T. Morimoto, H. Maruoka, M. Furukawa, Y. Momose, M. Shang et K. Fuji, Modification of the upper rim of homooxalix[3]arenes and complexation between a nitrohomooxalix[3]arene derivatives and *n*-hexylamine, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 8151-8156.

- ⁵⁰ C. Djerassi, Brominations with N-bromosuccinimide and related compounds, *Chem. Rev.*, **1947**, 43, 271-317.
- ⁵¹ L. Anzalone et J.A. Hirsch, Substituent effects on hydrogenation of aromatic rings: hydrogenation vs. hydrogenolysis in cyclic analogues of benzyl ethers, *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 2128-2133.
- ⁵² A.B. Edsall, A.K. Mohanakrishnan, D. Yang, P.E. Fanwick, E. Hamel, A.D. Hanson, G.E. Agoston et M. Cushman, Effects of altering the electronics of 2-methoxyestradiol on cell proliferation, on cytotoxicity in human cancer cell cultures, and on tubulin polymerization, *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 5126-5139.
- ⁵³ L.C. King, M. McWhirter et D.M. Barton, The reaction of acetophenols with iodine and pyridine and the preparation of hydroxybenzoic acids, *J. Am. Chem. Soc.*, **1945**, 67, 2089-2092.
- ⁵⁴ S.A. Weissman et D. Zewge, Recent advances in ether dealkylation, *Tetrahedron*, **2005**, 61, 7833-7863.
- ⁵⁵ F.L. Benton et T.E. Dillon, The cleavage of ethers with boron bromide. Some common ethers, *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, 64, 1128-1129.
- ⁵⁶ H.K.A.C. Coolen, J.A.M. Meeuwis, P.W.N.M. Van Leeuwen et R.J.M. Nolte, Substrate selective catalysis by rhodium metallohosts, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 11906-11913.
- ⁵⁷ M.E. Jung et M.A. Lyster, Quantitative dealkylation of alkyl ethers via treatment with trimethylsilyliodide. A new method for ether hydrolysis, *J. Org. Chem.*, **1977**, 42 (23), 3761-3764.
- ⁵⁸ G.M. Anstead, J.L. Ensign, C.S. Peterson et J.A. Katzenellenbogen, 2-arylindenes and 2-arylindenones: synthesis of probes to study the binding orientation of unsymmetrical nonsteroidal ligands to the estrogen receptor, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 1485-1491.
- ⁵⁹ P.P. Kulkarni, A.J. Kadam, R.B. Mane, U.V. Desai et P.P. Wadgaonkar, Demethylation of methyl aryl esters using pyridine hydrochloride in solvent-free conditions under microwave irradiation, *J. Chem. Res.*, **1999**, 394-395.
- ⁶⁰ D.T. Richter et T.D. Lash, Conjugated macrocycles related to the porphyrins. Part 18: synthesis and spectroscopic characterization of electron-rich benzi- and oxobenziporphyrins: influence of steric and electronic factors on porphyrinoid aromaticity, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 3657-3671.
- ⁶¹ M.S. Reddy et J.M. Cook, The synthesis of roeharmine and (-)-1,2,3,4-tetrahydroroeharmine, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 5413-5416.
- ⁶² H.T. Openshaw et N. Whittaker, The synthesis of emetine and related compounds. Part VII. The utility of bi-functional catalysts in amine-ester interactions, *J. Chem. Soc.*, **1969**, C, 89-91.
- ⁶³ L. Perreux, A. Loupy et M. Delmotte, Microwave effects in solvent-free esters aminolysis, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 2185-2189.

- ⁶⁴ L. Perreux, A. Loupy et F. Volatron, Solvent-free preparation of amides from acids and primary amines under microwave irradiation, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 2155-2162.
- ⁶⁵ E. Bald, K. Saigo et T. Mukaiyama, A facile synthesis of carboxamides by using 1-methyl-2-halopyridinium iodides as coupling reagents, *Chem. Lett.*, **1975**, 1163-1166.
- ⁶⁶ R. Paul et G.W. Anderson, N,N'-carbonyldiimidazole, a new peptide forming reagent, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 4596-4600.
- ⁶⁷ A. Arrieta, F.P. Cossio et C. Palomo, Synthesis of β -lactams from acetic acids and imines induced by phenyl dichlorophosphate, *Tetrahedron*, **1985**, 41, 1703-1712.
- ⁶⁸ P. Li et J.-C. Xu, New and highly efficient immonium type peptide coupling reagents: synthesis, mechanism and applications, *Tetrahedron*, **2000**, 56, 4437-4445.
- ⁶⁹ M. Kunishima, C. Kawachi, J. Morita, K. Terao, F. Iwasaki et S. Tani, 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride: an efficient condensing agent leading to the formation of amides and esters, *Tetrahedron*, **1999**, 55, 13159-13170.
- ⁷⁰ C.F.H. Allen et W.E. Backer, *Org. Syn. Coll.*, John Wiley & sons, **1943**, 2, 156.
- ⁷¹ A.I. Vogel, *Textbook of practical organic chemistry*, Longman scientific and technical, **1989**, 720.
- ⁷² R. Adams et L.H. Ulich, The use of oxalyl chloride and bromide for producing acid chlorides, acid bromides or acid anhydrides, *J. Am. Chem. Soc.*, **1920**, 42, 599-611.
- ⁷³ T.W. Greene, *Protective groups in organic synthesis*, Wiley interscience, **1981**.
- ⁷⁴ C.G. Skinner, T.J. Mc Cord, J.M. Ravel et W. Shive, O-carbamyl-L-serine, an inhibitory analogs of L-glutamine, *J. Am. Chem. Soc.*, **1956**, 78, 2412-2414.
- ⁷⁵ A.J.L. Cooper, J.Z. Ginos et A. Meister, Synthesis of the α -keto acids, *Chem. Rev.*, **1983**, 83, 321-358.
- ⁷⁶ K.L. Waters, The α -keto acids, *Chem. Rev.*, **1947**, 41, 585-598.
- ⁷⁷ R.E. Bolton, C.J. Moody, M. Pass, C.W. Rees et G. Tojo, Formal synthesis of the antitumour antibiotic CC-1065, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1*, **1988**, 8, 2491-2499.
- ⁷⁸ C.J. Moody, M.Pass, C.W. Rees et G. Tojo, Synthesis of the left-hand unit of the antitumour agent CC-1065, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1986**, 14, 1062-1063.
- ⁷⁹ A.J. Muller, K. Nishiyama, G.W. Griffin, K. Ishiwaka et D.M. Gibson, Reductive condensation of methyl arylglyoxylates. Direct synthesis of 2,3-bis(carbomethoxy)stilbene oxides and related systems, *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 2342-2352.
- ⁸⁰ M. Seiler, A. Schumacher, U. Lindemann, F. Barbosa et B. Giese, Diastereoselective photocyclisation to dihydroindolinols, *Synlett*, **1999**, 1588-1590.
- ⁸¹ M.D. Nikalje, I.S. Ali, G.K. Dewkar et A. Sudalai, Synthesis of aryl α -ketoacids via the Cu-catalyzed conversion of aryl nitroaldol products, *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, 959-961.
- ⁸² F.A. Luzzio, The Henry reaction: recent examples, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 915-945.

- ⁸³ R. Ballini et G. Bosica, Nitroaldol reaction in aqueous media: an important improvement of the Henry reaction, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 425-427.
- ⁸⁴ V.J. Bulbule, G.K. Jnaneshwara, R.R. Deshmukh, H.B. Borate et V.H. Deshpande, Benzyltrimethylammonium hydroxyde catalysed nitroaldol condensation, *Synth. Comm.*, **2001**, 31, 3623-3626.
- ⁸⁵ B.S. Jursic, F. Douelle, K. Bowdy et E.D. Stevens, A new facile method for preparation of heterocyclic α -iminonitriles and α -oxoacetic acids from heterocyclic aldehydes, *p*-aminophenol, and sodium cyanide, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 5361-5365.
- ⁸⁶ F. Zouhiri, D. Desmaële, J. d'Angelo, M. Ourevitch, J-F. Mouscadet, H. Leh et M. Le Bret, HIV-1 replication inhibitors of the styrylquinone class: incorporation of a masked diketo acid pharmacophore, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 8189-8192.
- ⁸⁷ M. Barbero, S. Cadamuro, I. Degani, S. Dughera et R. Fochi, Synthesis of trimethyl α -keto trithioorthoesters and dimethyl α -keto dithioacetals by reaction of esters with tris(methylthio)methylithium, *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 6017-6024.
- ⁸⁸ I. Degani, S. Dughera, R. Fochi et A. Gatti, A simple and high yield general route to methyl α -oxothiocarboxylates, *Synthesis*, **1996**, 467-469.
- ⁸⁹ R.D. Clark et D.B. Repke, The Leimgruber-Batcho indole synthesis, *Heterocycles*, **1984**, 22 (1), 195-221.
- ⁹⁰ P.J. Harrington et L.S. Hegedus, Palladium catalyzed reactions in the synthesis of 3- and 4-substituted indoles. Approaches to ergot alkaloids, *J. Org. Chem.*, **1984**, 49 (15), 2657-2662.
- ⁹¹ M.P. Moyer, J.F. Shiurba et H. Rapoport, Metal-halogen exchange of bromoindoles. A route to substituted indoles, *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 5106-5110.
- ⁹² A.P. Kozikowski, H. Ishida et Y.Y. Chen, New synthesis and some selected reactions of the potential ergot alkaloid precursor indole-4-carboxaldehyde, *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 3350-3352.
- ⁹³ G.S. Ponticello et J.J. Baldwin, Useful synthesis of 4-substituted indoles, *J. Org. Chem.*, **1979**, 44 (22), 4003-4005.
- ⁹⁴ J.M. Muchowski, Synthesis of indole-4-carboxaldehydes and 4-acetylindole from *N*-alkyl-5-aminoisoquinolinium salts, *J. Heterocyclic Chem.*, **2000**, 37, 1293-1297.
- ⁹⁵ K.T. Potts, D. Bhattacharjee et E.B. Walsh, Cycloaddition routes to azaanthraquinone derivatives. Use of azadienophiles, *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 2011-2021.
- ⁹⁶ S.K. Srivastava, P.M.S. Chauhan, S.K. Agarwal, A.P. Bhaduri, S.N. Singh, N. Fatma, R.K. Chatterjee, C. Bose et V.M.L. Srivastava, Syntheses and antifilarial profile of 5-amino and 5,8-diaminoisoquinoline derivatives: a new class of antifilarial agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6 (22), 2623-2628.
- ⁹⁷ J.J. Craig et W.E. Cass, Derivatives of aminoisoquinoline, *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, 64, 783-784.

- ⁹⁸ P. Saravanan, R.V. Anand et V.K. Singh, Cu(OTf)₂ catalyzed trimethylsilyl cyanide addition to carbonyl compounds, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 3823-3824.
- ⁹⁹ E.J. Corey et G. Schmidt, Useful procedures for the oxidation of alcohols involving pyridinium dichromate in aprotic media, *Tetrahedron Lett.*, **1979**, 5, 399-402.
- ¹⁰⁰ T. Sakamoto, Y. Kondo et H. Yamanaka, Synthesis of condensed heteroaromatic compounds using palladium-catalyzed reactions, *Heterocycles*, **1988**, 27, 2225-2249.
- ¹⁰¹ F. Sternfeld, A.R. Guiblin, R.A. Jelley, V.G. Matassa, A.J. Reeve, P.A. Hunt, M.S. Beer, A. Heald, J.A. Stanton, B. Sohal, A.P. Watt et L.J. Street, Synthesis and serotonergic activity of 3-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl]indoles: potent antagonists for the h5-HT_{1B} receptor with high selectivity over the h5-HT_{1B} receptor, *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 677-690.
- ¹⁰² D.M. Ketcha, B.A. Lieurance et D.F.J. Homan, Synthesis of alkyl-substituted *N*-protected indoles *via* acylation and reductive deoxygenation, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 4350-4356.
- ¹⁰³ G.A. Olah et S.J. Kuhn, Formylation with formyl fluoride: a new aldehyde synthesis and formylation method, *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, 82, 2380-2382.
- ¹⁰⁴ Y. Sato, M. Yato, T. Ohwada, S. Saito et K. Shudo, Involvement of dicationic species as the reactive intermediates in Gattermann, Houben-Hoesch, and Fiedel-Crafts reactions of nonactivated benzenes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 3037-3043.
- ¹⁰⁵ C.-W. Wen Ko et T. Chou, Preparation and reactions of benzofurano-, indolo-, and benzothieno-3-sulfolenes, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 4645-4653.
- ¹⁰⁶ E. Walton, F.W. Holly et S.R. Jenkins, Indole and 4-aminoindole nucleosides, *J. Org. Chem.*, **1968**, 33, 192-197.
- ¹⁰⁷ A.I. Vogel, *Textbook of practical organic chemistry*, Longman scientific and technical, **1989**, 1228.
- ¹⁰⁸ A. Yasuhara et T. Sakamoto, Deprotection of *N*-sulfonyl nitrogen-heteroaromatics with tetrabutylammonium fluoride, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 595-596.
- ¹⁰⁹ H. Muratake et M. Natsume, Preparation of alkyl-substituted indoles in the benzene portion, *Heterocycles*, **1989**, 29 (4), 783-794.
- ¹¹⁰ H. Takami, H. Koshimura, N. Kishibayashi, A. Ishii, H. Nonaka, S. Aoyama, H. Kase et T. Kumazawa, Indole derivatives as a new class of steroid 5 α -reductase inhibitors, *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 5047-5052.
- ¹¹¹ D.M. Ketcha et G.W. Gribble, A convenient synthesis of 3-acylindoles *via* Friedel-Crafts acylation of 1-(phenylsulfonyl)indole. A new route to pyridocarbazole-5,11-quinones and ellipticine, *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 5451-5457.
- ¹¹² O. Ottoni, A. De V.F. Neder, A.K. Dias, R.P.A. Cruz et L.B. Aquino, Acylation of indole under Friedel-Crafts conditions-an improved method to obtain 3-acylindoles regioselectively, *Org. Lett.*, **2001**, 3, 1005-1007.
- ¹¹³ G.C.G. Pais, X. Zhang, C. Marchand, N. Neamati, K. Cowansage, E.S. Svarovskaia, V.K. Pathak, Y. Tang, M. Nicklaus, Y. Pommier et T.R. Burke, Jr., Structure activity of 3-aryl-

- 1,3-diketo-containing compounds as HIV-1 integrase inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3184-3194.
- ¹¹⁴ R. Nagarajan et P.T. Perumal, InCl_3 and $\text{In}(\text{OTf})_3$ catalyzed reactions: synthesis of 3-acetylindoles, bis-indolylmethane and indolylquinone derivatives, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 1229-1232.
- ¹¹⁵ T.-P. Loh, L.-C. Feng et L.-L. Wei, InCl_3 -catalyzed direct aldol reactions of glyoxylic acid monohydrate and glyoxylates with various ketones: scope and limitations, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 4231-4236.
- ¹¹⁶ J.S. Wai, M.S. Egbertson, L.S. Payne, T.E. Fisher, M.W. Embrey, L.O. Tran, J.Y. Melamed, H.M. Langford, J.P. Guare, Jr., L. Zhuang, V.E. Grey, J.P. Vacca, M.K. Holloway, A.M. Naylor-Olsen, D.J. Hazuda, P.J. Felock, A.L. Wolfe, K.A. Stillmock, W.A. Schleif, L.J. Gabryelski et S.D. Young, 4-Aryl-2,4-dioxobutanoic acid inhibitors of HIV-1 integrase and viral replication in cells, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 4923-4926.
- ¹¹⁷ L. Zhuang, J.S. Wai, M.W. Embrey, T.E. Fisher, M.S. Egbertson, L.S. Payne, J.P. Guare, Jr., J.P. Vacca, D.J. Hazuda, P.J. Felock, A.L. Wolfe, K.A. Stillmock, M.V. Witmer, G. Moyer, W.A. Schleif, L.J. Gabryelski, Y.M. Leonard, J.J. Lynch, Jr., S.R. Michelson et S.D. Young, Design and synthesis of 8-hydroxy-[1,6]naphthyridines as novel inhibitors of HIV-1 integrase *in vitro* and in infected cell, *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 453-456.
- ¹¹⁸ P.W. Manley, P. Furet, G. Boldi, J. Brüggem, J. Mestan, T. Meyer, C.R. Schnell et J. Wood, Anthranilic acid amids : a novel class of antiangiogenic VEGF receptor kinase inhibitors, *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 5687-5693.
- ¹¹⁹ H. Yazawa, K. Tanaka et K. Kariyone, The reaction of carboxylic esters with boron tribromide a convenient method for the synthesis of amides and transesterification, *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 15 (45), 3995-3997.
- ¹²⁰ D.T.S. Rijkers, H.P.H.M. Adams, H.C. Hemker et G.I. Tesser, A convenient synthesis of amino acid *p*-nitroanilides; synthons in the synthesis of protease substrates, *Tetrahedron*, **1995**, 51 (41), 11235-11250.
- ¹²¹ L.H.P. Meijer et U.K. Pandit, NAD(P)H models 20, Chemioselective metal ion catalyzed reduction of α -keto- β,γ -unsaturated esters by 1,4-dihydropyridine derivatives, *Tetrahedron*, **1985**, 41 (2), 467-472.
- ¹²² D.Y. Kim, M.S. Kong et K. Lee, Acylation of *in situ* generated trimethylsilyl diethylphosphonoacetate using magnesium chloride-triethylamine: a practical synthesis of β -keto phosphonates, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1997**, 1361-1363.
- ¹²³ C. Grison, C. Comoy, D. Chatenet et P. Coutrot, Synthesis of P-chiral enophosphonic acid derivatives, *J. Organometallic Chem.*, **2002**, 662, 83-97.
- ¹²⁴ Y. Hayashi, J. Yamaguchi et M. Shoji, The diastereoselective assymmetric total synthesis of NG-391, a neuronal cell-protecting molecule, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 9839-9846.
- ¹²⁵ M.K. Eberle, M.J. Shapiro et R. Stucki, Intramolecular Diels-Alder reactions of indole-3-acrylates, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 4661-4665.
- ¹²⁶ S. Frattini, M. Quai et E. Cereda, Kinetic study of microwave-assisted Wittig reaction of stabilised ylides with aromatic aldehydes, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 6827-6829.

- ¹²⁷ K. Kuramochi, Y. Osada et T. Kitahara, Synthetic study on indolic enamides, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 9447-9454.
- ¹²⁸ T. Sakamoto, T. Nagano, Y. Kondo et H. Yamanaka, Palladium-catalyzed reaction of 3-iodoindoles and 3-iodobenzo[*b*]thiophene with terminal acetylenes, *Chem. Pharm. Bull.*, **1988**, 36 (6), 2248-2252.
- ¹²⁹ P.D. Greenspan, R.A. Fujimoto, P.J. Marshall, A. Raychaudhuri, K.E. Lipson, H. Zhou, R.A. Doti, D.E. Coppa, L. Zhu, R. Pelletier, S. Uziel-Fusi, R.H. Jackson, M.H. Chin, B.L. Kotyuk et J.J. Fitt, Carboxy-substituted cinnamides: a novel series of potent, orally active LTB₄ receptor antagonists, *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 164-172.
- ¹³⁰ V. Bocchi et G. Palla, High yield selective bromination and iodination of indoles in *N,N*-dimethylformamide, *Synthesis*, **1982**, 1096-1097.
- ¹³¹ A. Dassonville, Synthèse et évaluation pharmacologique de 3,6-diaryl-2,5-dihydroxy-1,4-benzoquinones à activité insulino-mimétique, *Thèse de doctorat*, Université de Nantes, **2003**.
- ¹³² P.C.B. Page, J.P.G. Moore, I. Mansfield, M.J. McKenzie, W.B. Bowler et J.A. Gallagher, Synthesis of bone-targeted oestrogenic compounds for the inhibition of bone resorption, *Tetrahedron*, **2001**, 1837-1847.
- ¹³³ D. Bogdal, M. Cerkasiewicz, J. Pielichowski, A. Miciak et Sz. Bednary, Microwave-assisted oxidation of alcohols using Magtrieve, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 649-653.
- ¹³⁴ H.-D. Becker, A. Björk et E. Adler, Quinone dehydrogenation. Oxidation of benzylic alcohols with 2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone, *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 1596-1600.
- ¹³⁵ E.J. Corey, N.W. Gilman et B.E. Ganern, New methods for the oxidation of aldehydes to carboxylic acids and esters, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 5616-5617.
- ¹³⁶ S.P. Kolis, M.T. Clayton, J.L. Grutsch et M.M. Faul, Synthesis of 7-cyano- and 7-acetamido-indoles via cyanocarbonylation/hydrogenation of 7-formylindole, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 5707-5710.
- ¹³⁷ M.-T. Le Bris, Synthesis and properties of some 7-dimethylamino-1,4-benzoxazin-2-ones, *J. Heterocyclic Chem.*, **1984**, 22, 1275-1280.
- ¹³⁸ D.A. Seudiero, R.H. Schoemaker, K.D. Paull, A. Monks, S. Tierney, T.H. Nofziger, M.J. Currens, D. Seniff et M.R. Boyd, Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines, *Cancer Res.*, **1988**, 48, 4827-4833.
- ¹³⁹ K.S. Kolibaba et B.J. Druker, Protein tyrosine kinases and cancer, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1997**, 1333, F217-F248.
- ¹⁴⁰ C. Peyssonnaud et A. Eychène, The Raf/MEK/ERK pathway: new concepts of activation, *Biology of the Cell*, **2001**, 93, 53-62.
- ¹⁴¹ R.A. Hilger, M.E. Scheulen et D. Strumberg, The Ras-Raf-MEK-ERK pathway in the treatment of cancer, *Onkologie*, **2002**, 25, 511-518.

- 142 T. Rajkumar, Growth factors and growth factor receptors in cancer, *Current Science*, **2001**, 81 (5), 535-541.
- 143 D. Fabbro, S. Ruetz, E. Buchdunger, S.W. Cowan-Jacob, G. Fendrich, J. Liebetanz, J. Mestan, T. O'Reilly, P. Traxler, B. Chaudhuri, H. Fretz, J. Zimmermann, T. Meyer, G. Caravatti, P. Furet et P.W. Manley, Protein kinase as targets for anticancer agents: from inhibitors to useful drugs, *Pharmacology & Therapeutics*, **2002**, 93, 79-98.
- 144 J.R. Grandis et J.C. Sok, Signaling through the epidermal growth factor receptor during the development of malignancy, *Pharmacology & Therapeutics*, **2004**, 102, 37-46.
- 145 M.D. Garrett, Cell cycle control and cancer, *Curr. Science*, **2001**, 81 (5), 515-522.
- 146 J. Pines, Cyclins, CDKs and cancer, *Seminars in Cancer Biology*, **1995**, 6, 63-72.
- 147 N. Kong, N. Fotouhi, P.M. Wovkulich et J. Roberts, Cell cycle inhibitors for the treatment of cancer, *Drugs of the Future*, **2003**, 28 (9), 881-896.
- 148 Y. Dai et S. Grant, Cyclin-dependent kinase inhibitors, *Curr. Opin. in Pharmacology*, **2003**, 3, 362-370.
- 149 T.M. Sielecki, J.F. Boylan, P.A. Benfield et G.L. Trainor, Cyclin-dependent kinase inhibitors: useful targets in cell cycle regulation, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43 (1), 1-18.
- 150 P.M. Fischer et D.P. Lane, Inhibitors of cyclin-dependent kinases as anti-cancer therapeutics, *Curr. Med. Chem.*, **2000**, 7, 1213-1245.
- 151 M.D. Garrett et A. Fattaey, CDK inhibition and cancer therapy, *Curr. Opin. in Genetics and Development*, **1999**, 9, 104-111.
- 152 L. Meijer, Cyclin-dependent kinases inhibitors as potential anticancer, antineurodegenerative, antiviral and antiparasitic agents, *Drug Resistance Updates*, **2000**, 3, 83-88.
- 153 D.W. Fry, Inhibition of the epidermal growth factor receptor family of tyrosine kinases as an approach to cancer chemotherapy: progression from reversible to irreversible inhibitors, *Pharmacol. Ther.*, **1999**, 82 (2-3), 207-218.
- 154 J.R. Woodburn, The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy, *Pharmacol. Ther.*, **1999**, 82 (2-3), 241-250.
- 155 A.E. Wakeling, Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors, *Curr. Opin. Pharmacology*, **2002**, 2, 382-387.
- 156 G. Speake, B. Holloway et G. Costello, Recent developments to the EGFR as a target for cancer chemotherapy, *Curr. Opin. Pharmacology*, **2005**, 5, 343-349.
- 157 S.M. Thomas et J.R. Grandis, Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of EGFR inhibitors under clinical investigation, *Cancer Treatment reviews*, **2004**, 30, 255-268.
- 158 V. Grünwald et M. Hidalgo, Developing inhibitors of the epidermal growth factor receptor for cancer treatment, *J. National Cancer Institute*, **2003**, 95 (12), 851-867.
- 159 E. Schaumann, Hetarenes IV – Six-membered and larger heterorings with maximum unsaturation, Volume E 9c, Pyridopyrazines, **1998**, 227-269.

- 160 S. Kano et Y. Yuasa, Synthesis of 2-arylpyrido[3,4-*b*]pyrazine derivatives through condensation of 3,4-diaminopyridine with β -keto sulfoxides, *Synthesis*, **1983**, 769-770.
- 161 C.A. Ibarra, R.C. Rodriguez, M.C.F. Monreal, F.J.G. Navarro et J.M. Tesorero, One-pot synthesis of β -keto sulfones and β -keto sulfoxides from carboxylic acids, *J. Org. Chem.*, **1989**, 54, 5620-5623.
- 162 E.J. Corey et M. Chaykovsky, Methylsulfinyl carbanion ($\text{CH}_3\text{-SO-CH}_2^-$). Formation and applications to organic synthesis, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87 (6) 1345-1353.
- 163 A. Rosowsky et K.K.N. Chen, Pteridines. I. β -keto sulfoxides and α -keto aldehyde hemithioacetals as pteridine precursors. A new selective synthesis of 6- and 7-substituted pteridines, *J. Org. Chem.*, **1973**, 38 (11), 2073-2077.
- 164 S. Kano, S. Shibuya et Y. Yuasa, Synthesis of quinoxaline derivatives through condensation of 1,2-diaminobenzenes with β -keto sulfoxides, *J. Heterocyclic Chem.*, **1980**, 17, 1559-1561.
- 165 H. Kropp, Synthese von substituierten pyridopyrazinen als potentielle kinase-inhibitoren, thèse soutenue à Wiesbaden, **2000**.
- 166 L. Brzozka, W. Baran, W. Kraus et P. Tomasik, Syntheses with aromatic nitramines. IX. Halogenation of 2- and 4-nitraminopyridines, *Polish. J. Chem.*, **1995**, 69, 605-611.
- 167 L.W. Deady, M.R. Grimmet et C.H. Potts, Studies on the mechanism of the nitroaminopyridine rearrangement, *Tetrahedron*, **1979**, 35, 2895-2900.
- 168 L.W. Deady, O.L. Korytsky et J.E. Rowe, Substituent effects on the isomer ratios in the rearrangement of some 2- and 4-nitraminopyridines, *Aust. J. Chem.*, **1982**, 35, 2025-2034.
- 169 M.G. Harris et R. Stewart, Amino group acidity in aminopyridines and aminopyrimidines, *Can. J. Chem.*, **1977**, 55, 3800-3806.
- 170 S.X. Cai, J.-C. Huang, S.A. Espitia, M. Tran, V.I. Ilyin, J.E. Hawkinson, R.M. Woodward, E. Weber et J.F.W. Keana, 5-(*N*-oxyaza)-7-substituted-1,4-dihydroquinaxoline-2,3-diones: novel, systemically active and broad spectrum antagonists for NMDA/glycine, AMPA, and kainate receptors, *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 3679-3686.
- 171 M. Israel et A.R. Day, Preparation of pyrido[2,3-*b*]pyrazines, pyrido[3,4-*b*]pyrazines et imidazo[*b*]pyridines, *J. Org. Chem.*, **1959**, 24, 1455-1460.
- 172 M.H. Norman, N. Chen, Z. Chen, C. Fotsch, C. Hale, N. Han, R. Hurt, T. Jenkins, J. Kincaid, L. Liu, Y. Lu, O. Moreno, V.J. Santora, J.D. Sonnenberg et W. Karbon, Structure-activity relationships of a series of pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine derivatives and related compounds as neuropeptide Y5 receptor antagonists, *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 4288-4312.
- 173 E. Delfourne, F. Darro, N. Bontemps-Subielos, C. Decaestecker, J. Bastide, A. Frydman et R. Kiss, Synthesis and characterization of the antitumor activities of analogues of meridine, a marine pyridoacridine alkaloid, *J. Med. Chem.*, **2001**, 44, 3275-3282.
- 174 E.F.V. Scriven et K. Turnbull, Azides : their preparation and synthetic uses, *Chem. Rev.*, **1988**, 22 (2), 297-368.

- 175 P. Molina, P.M. Frsneda et M.A. Sanz, A new method for the formation of the imidazo[4', 5'; 3,4]pyrido[2,3-*b*]indole ring: formal synthesis of the alkaloids from marine grossularines –1 and 2, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38 (39), 6909-6912.
- 176 B.H. Yang et S.L. Buchwald, Palladium-catalyzed amination of aryl halides and sulfonates, *J. Organometallic Chem.*, **1999**, 576, 125-146.
- 177 M. Prashad, B. Hu, Y. Lu, R. Draper, D. Har, O. Repic et T.J. Blacklock, β -hydrogen-containing sodium alkoxides as suitable bases in palladium-catalyzed aminations of aryl halides, *J. Org. Chem.*, **2000**, 65, 2612-2614.
- 178 H. Li, Y. Wang, L. Yan, R.M. Campbell, B.D. Anderson, J.R. Wagner et J.M. Yingling, Novel and potent transforming growth factor beta type I receptor kinase domain inhibitor: 7-amino 4-(2-pyridin-2-yl-5,6-dihydro-4H-pyrrolo[1,2-*b*]pyrazol-3-yl)-quinolines, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 3585-3588.
- 179 J.P. Wolfe, J. Ahman, J.P. Sadighi, R.A. Singer et S.L. Buchwald, An ammonia equivalent for the palladium-catalyzed amination of aryl halides and triflates, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38 (36), 6367-6370.
- 180 H. Graboyes et A.R. Day, Metabolite analogs. VIII. Syntheses of some imidazopyridines and pyridotriazoles, *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79, 6421-6426.
- 181 C. Temple, Jr., A.G. Laseter, J.D. Rose et J.A. Montgomery, Synthesis of potential antimalarial agents. VII. Azaquinolines. I. The preparation of some pteridines and pyrido[3,4-*b*]pyrazines, *J. Heterocyclic Chem.*, **1970**, 7 (5), 1195-1202.
- 182 Z. Zhao, .D.D. Wisnoski, S.E. Wolkenberg, W.H. Leister, Y. Wang et C.W. Lindsley, General microwave-assisted protocols for the expedient synthesis of quinoxalines and heterocyclic pyrazines, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 4873-4876.

Titre de la thèse : Synthèse et évaluation pharmacologique de composés indoliques et pyridopyraziniques à visée antitumorale

Title : Synthesis and pharmacological evaluation of antitumor indole and pyridopyrazine compounds

Résumé :

Des travaux préalablement réalisés dans notre laboratoire ont montré l'intérêt thérapeutique en chimiothérapie anticancéreuse du 2-[1-(4-chlorobenzyl)indol-3-yl]-N-(pyridin-4-yl)glyoxamide I en tant qu'inhibiteur de la polymérisation de la tubuline. Tout en conservant la structure de base de I, l'accès à des analogues en position 4 et 5 du noyau indolique, ainsi que la pharmacomodulation sur le groupement 4-chlorobenzyle et en position 3 de l'hétérocycle en séries acide aminé, vinylogue et 2,4-dioxobutyramide sont décrits. Les protéines kinases constituent une cible thérapeutique d'intérêt croissant, notamment dans le traitement des cancers. La conception de pyrido[2,3-*b*] et [3,4-*b*]pyrazines substituées en position 2, 3 et 8, inhibiteurs potentiels de kinases, est développée. L'accès à ces structures a été envisagé par condensation entre une orthodiaminopyridine et une dicétone symétrique en série biaryle. Diverses voies d'accès en série monoaryle sont également décrites.

Summary :

Previous works in our laboratory showed the therapeutic interest for antitumor chemotherapy of 2-[1-(4-chlorobenzyl)indol-3-yl]-N-(pyridin-4-yl)glyoxamide I as a tubuline polymerisation inhibitor. Keeping the core structure of I, the access to the analogues in positions 4 and 5 of the indole ring and the pharmacomodulation of the 4-chlorobenzyle moiety and in position 3 of the heterocycle in amino-acid, vinylogue and 2,4-dioxobutyramide series are described. Protein kinases constitute a therapeutic target with growing interest, especially in cancer treatment. The conception of pyrido[2,3-*b*] or [3,4-*b*]pyrazines substituted in positions 2,3 or 8, potent kinase inhibitors, is developed. The access to these structures was envisaged by the condensation between an orthodiaminopyridine and a symmetrical diketone in biaryl series. Various routes in monoaryles are also described.

Discipline : Pharmacie

Mots clés : Indolyglyoxamides, activité antitumorale, antimitotiques, inhibiteurs de la polymérisation de la tubuline, pyrido[2,3-*b*]pyrazines, pyrido[3,4-*b*]pyrazines, inhibiteurs de kinases.

Adresse de l'auteur :

Laboratoires de Chimie Thérapeutique et de Chimie Organique
U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques 1, rue Gaston Veil 44035 NANTES CEDEX 01
