



Synthèse de composés hétérocycliques aromatiques azotés, inhibiteurs potentiels de kinases

Fadoua Bouchikhi

► **To cite this version:**

Fadoua Bouchikhi. Synthèse de composés hétérocycliques aromatiques azotés, inhibiteurs potentiels de kinases. Chimie de coordination. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2008. Français. <NNT : 2008CLF21895>. <tel-00731331>

HAL Id: tel-00731331

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00731331>

Submitted on 12 Sep 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Numéro d'ordre : D.U. 1895

UNIVERSITE BLAISE PASCAL
(U.F.R. de Recherche Scientifique et Technique)

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES
N° : 595

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE
(Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE BIOLOGIQUE)

Par

Fadoua BOUCHIKHI
Master Recherche spécialité Chimie Organique, Bio-organique et Environnementale.

**Synthèse de composés hétérocycliques aromatiques azotés,
inhibiteurs potentiels de kinases.**

Soutenue publiquement le 05 Décembre 2008 devant la Commission d'Examen :

Rapporteurs : B. JOSEPH, Pr., Université Claude Bernard, Lyon I
V. THIERY, Pr., Université de La Rochelle

Examineurs : H. GALONS, Pr., Université René Descartes, Paris V
P. MOREAU, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand
F. ANIZON, Pr., Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand

*A ma mère,
A mon père,
A mes grands-parents,
A toute ma famille,
A tous ceux que j'aime,*

Avec toute ma reconnaissance et tout mon amour

Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur Jean BOLTE, Professeur à l'Université Blaise Pascal et Madame Anne-Marie DELORT, Directrice de Recherche CNRS, respectivement ancien et nouveau responsables de l'UMR SEESIB pour m'avoir accueillie dans leur laboratoire.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Madame Pascale MOREAU, Professeur, et à Monsieur Fabrice ANIZON, Professeur, pour m'avoir encadrée au cours de cette thèse. Leurs conseils et leur aide constante m'ont été précieux pour le bon déroulement de ce travail.

Je remercie également Madame Michelle PRUDHOMME, Professeur, de m'avoir accueillie dans son équipe et Madame Bettina ABOAB, Maîtres de Conférences pour son aide en modélisation moléculaire.

Je suis particulièrement reconnaissante envers Monsieur Benoît JOSEPH, Professeur à l'Université Claude Bernard Lyon 1, et Madame Valérie THIERY, Professeur à l'Université de La Rochelle, pour avoir jugé ce travail et accepté d'en être les rapporteurs.

Je tiens également à remercier Monsieur Hervé GALONS, Professeur à l'Université René Descartes Paris V, de l'intérêt qu'il a porté à ce travail en acceptant de participer au jury.

Je remercie Monsieur Jean-Daniel BRION, Professeur à la faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry ainsi que Monsieur Mouad ALAMI, Directeur de recherche CNRS. Qu'ils trouvent ici l'expression de toute ma reconnaissance pour m'avoir donnée l'occasion d'occuper un poste ATER pendant les derniers mois de thèse.

J'adresse mes remerciements les plus distingués à Pascale Moreau, avec qui j'ai parcouru un long chemin depuis mon stage de maîtrise. Son expérience, ses nombreux conseils et son aide constant ont permis l'accomplissement de ce travail. Qu'elle trouve ici les marques de ma reconnaissance et mon respect.

Des remerciements particuliers pour Docteur Samir Messaoudi, celui qui m'a initiée à la recherche pendant mon stage de DEUG au SEESIB et qui j'ai rejoint à la faculté de Pharmacie de Chatenay-Malabry pour mon poste ATER, une personne formidable que j'admire beaucoup.

Je voudrais également associer mes remerciements à Monsieur Régis EGROT pour la réalisation des spectres RMN ainsi que pour sa sympathie et sa bonne humeur, et à Monsieur Bertrand LEGERET pour avoir réalisé les spectres de masse.

Je remercie tous les membres du laboratoire qui ont partagés ma vie quotidienne tout au long de ces années et avec qui mes rapports furent aussi divers qu'enrichissants.

Je remercie fortement tout l'amicale du café Martine, Anne-Marie, Bruno, Elodie pour leur gentillesse, leur disponibilité et leur amicale écoute.

Une pensée émue et profonde pour tout les étudiants que j'ai cotoyés au laboratoires avec qui j'ai partagé un café ou un repas et qui sont devenus mes meilleurs amis Radouane Affani, Amina Melhaoui, Marlène Goubert, Stéphanie Durand, Charléne Charao, Grégory Simon, Carlos Fernandes, Héléne Henon, Nicolas Guisot, Anthony Ollivier, Stéphane Fontanella et mes deux rayons de soleil, Elisabeth Conchon " Babeth " et Sidonie Broch " ma petite Sido " pour toutes les parties de délire et surtout d'avoir supporter mes lamentations incessantes.

Des remerciements très chaleureux vont à mes deux colocataires Houda et Mounia à ma copine Ilham et à tous mes amis qui ont été présents pendant toutes ces années à Clermont-Fd.

Je ne saurais finir sans exprimer mes remerciements les plus sincères à ma très chère famille, qui malgré toutes la distance qui nous séparaient, leurs aides et leurs soutiens m'étaient les plus réconfortants durant tout le long de ce périple. Que mes grands parents, mes deux frères, ma sœur, mes oncles, mes tantes et surtout maman et papa trouveront la preuve de ma profonde reconnaissance.

Abréviations

Å : Angström
AIBN : Azobisisobutyronitrile
APTS : Acide *para*-toluènesulfonique
ATP : Adénosine triphosphate
BINAP : 2,2'-bis(diphénylphosphino)-1,1'-binaphthyl
Bn : Benzyle
Boc : *tert*-terbutyloxycarbonyle
(Boc)₂O : Di-*tert*-butyldicarbonate
BOM : Benzyloxycarbonyle
Bu₄N, HSO₄ : Tétrabutylammoniumhydrogénosulfate
BuLi : Butyllithium
Cbz : benzyloxycarbonyle
DABCO : 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane
DCM : Dichlorométhane
DDQ : 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-*p*-benzoquinone
DIEA : Diisopropyléthylamine
DIPEA : Diisopropyléthylamine
DMAP : 4-Diméthylaminopyridine
DMF : *N,N*-Diméthylformamide
DMF-DMA : diméthylformamide-*N,N*-diméthylacétal
Dppf : 1,1'-Bis(diphénylphosphino)ferrocène
HMDS : Bis(triméthylsilyl)amine
HSO₃Cl : Acide chlorosulfonique
*m*CPBA : Acide métachloroperbenzoïque
NBS : *N*-Bromosuccinimide
NEt₃ : Triéthylamine
PBPB : tribromure de pyridinium
Pd(OAc)₂ : Acétate de palladium
Pd(PPh₃)₂Cl₂ : Dichloro-bis(triphénylphosphine)palladium
Pd(PPh₃)₄ : Palladium tétrakis(triphénylphosphine)
Pd₂(dba)₃ : Tris(dibenzylidèneacétone)dipalladium
PIFA : Iodobenzène di(trifluoroacétate)
PPA : Acide polyphosphorique
PPh₃ : Triphénylphosphine
SO₂Ph : benzène sulfonyle
t. a. : Température ambiante
TBAF : Fluorure de tétrabutylammonium
THF : Tétrahydrofurane
TTMSS : Tris(triméthylsilyl)silane

Introduction	1
Première partie : Etude bibliographique	4
I- Introduction	5
II- Le cycle cellulaire	8
III- Les différents types de kinase	9
III-1- Les sérine/thréonine kinases	9
III-2- Les tyrosine kinases	15
III-2-1- Les récepteurs à activité tyrosine kinase.	15
III-2-2- Les tyrosine kinases non-récepteurs.	20
IV- Inhibiteurs de kinases possédant un motif indolin-2-one.	24
IV-1- Les 3-(arylméthylidène)indolin-2-ones et 3-(hétéroarylméthylidène)indolin-2-ones	25
IV-1-1 - Les 3-(pyrrolylméthylidène)indolin-2-ones	26
IV-1-1-a- Le SU5402 et le SU10944	26
IV-1-1-b- Le SU5416, le SU6668 et leurs analogues	28
IV-1-1-c- Le SU11274 et le PHA-665752	30
IV-1-1-d- Le SU11248	31
IV-1-1-e- Le SU14813	32
IV-1-1-f- Le BX-517	32
IV-1-1-g- Autres analogues de 3-(pyrrolylméthylidène)indolin-2-ones	34
IV-1-2 – Les benzylidèneindolin-2-ones	36
IV-2- Les 3-(arylaminoéthylidène)indolin-2-ones et 3-arylhydrazonoindolin-2-ones	38
IV-3- Les dérivés possédant un motif azaindolin-2-one	40
IV-4- Les 3-(Quinolénylidène)indolin-2-ones	41
IV-5- La famille des indirubines	41
IV-6- Autres composés portant un motif indolin-2-one	50
IV-7- Inhibiteurs à motif oxindole synthétisés au laboratoire	50
IV-7-1- La famille des glycosylisoindigos	51
IV-7-2- Les indolin-2-ones substituées en position 3 par une chaîne latérale fonctionnalisée par un groupement α -aminoacide	54
V- Conclusion	55
Deuxième Partie : Résultats et discussion	57
Chapitre I : Synthèse d'analogues de la famille A	61
I- Synthèse d'isoindigos glycosylés acétylés substitués sur les cycles A et D	61
I-1- Préparation des oxindoles	63
I-2- Préparation des isoindigos glycosylés acétylés	64
I-3- Synthèse d'isoindigos substitués sur le cycle D par couplages pallado-catalysés	69
I-3-1- Introduction de substituants sur l'indolin-2-one de départ	69
I-3-2- Couplages sur les 5'-iodoisoindigos glycosylés acétylés 25 et 26	71

I-3-2-a- Couplage du but-3-yn-1-ol	72
I-3-2-b- Couplage de la Cbz-propargylamine	73
II- Synthèse de 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés	75
II-1- Synthèse des 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés	76
II-1-1- Préparation de 7-azaoxindoles	77
II-1-2- Synthèse des 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés	77
II-2- Synthèse d'azaisoindigos substitués sur le cycle D par des couplages pallado-catalysés	79
III- Conclusion	84
Chapitre II : Les indolin-2-ones substituées en position 3 par des chaînes latérales fonctionnalisées par un groupement α -amino-acides (Famille B)	85
I- Introduction	85
II- Nouvelle voie de synthèse du composé V₃	86
III- Préparation des différents amino-acides protégés	89
III-1- Préparation de la <i>N</i> - α -Boc- <i>L</i> -ornithine	89
III-2- Préparation de l'acide <i>N</i> - α -Boc-2,4-diaminobutanoïque 59	90
IV- Couplage entre le composé 56 et les différents amino-acides	91
IV-1- Couplage du composé 56 avec la <i>N</i> - α -Boc- <i>L</i> -ornithine 58	91
IV-2- Tentative de couplage du composé 56 avec l'acide <i>N</i> - α -Boc-2,4-diaminobutanoïque 59	94
IV- Préparation des analogues bromés des composés V₃ et 60	94
V-1- Préparation du composé 61	94
V-2- Couplage entre le composé 61 et la <i>N</i> - α -Boc- <i>L</i> -ornithine 58	95
V-3- Préparation du composé 63 , analogue bromé du composé V₃	96
V- Conclusion	99
Chapitre III : Synthèse du tétracycle pyrrolo- α -carboline (Famille C)	101
I- Introduction	101
II- Différentes voies de synthèse testées précédemment aux laboratoires	101
III- Première stratégie de synthèse via le motif α -carboline	102
III-1- Préparation de l'intermédiaire 66	103
III-2-Préparation de l' α -carboline 67	110
III-3-Tentative de préparation du tétracycle 65 via des motifs 2-amino- α -carboline	113
III-3-1- Essai de préparation du tétracycle 65 via la voie A	115
III-3-2- Utilisation de la stratégie de synthèse décrite dans la voie B	120
IV- Deuxième stratégie de synthèse	123
IV-1- Préparation du 7-aza-6-chloroindole	124

IV-2- Préparation du tétracycle 65	124
V- Conclusion	127
Troisième partie : Tests d'activité biologique	128
I- Introduction	129
II- Résultats	129
II-1- Les isoindigos et les 7'-azaisoindigos	130
II-2- Famille des indolin-2-ones substituées par une chaîne latérale fonctionnalisée par un groupement α -amino-acide	133
II-3- Tétracycles 65 et 65'	134
III- Conclusion	135
Conclusion et perspectives	136
Partie Expérimentale	140

Introduction

Le cancer est un problème majeur de santé publique qui est dû à un dérèglement du processus de la division cellulaire. L'une des caractéristiques du cancer est la prolifération rapide et anarchique de cellules anormales qui peuvent également se répandre dans d'autres organes formant ainsi des métastases.

Actuellement, plusieurs traitements du cancer sont disponibles : la chirurgie, la radiothérapie ou la chimiothérapie. La combinaison de ces trois modes de traitement est utilisée pour guérir un certain nombre de cancers ou diminuer la prolifération des cellules cancéreuses, ce qui permet d'augmenter fortement l'espérance de vie des personnes atteintes par cette pathologie. En revanche, le manque de sélectivité des traitements chimiothérapeutiques existants provoque d'importants effets indésirables.

De ce fait, de nombreux laboratoires se consacrent à la recherche et au développement de nouveaux traitements plus efficaces et surtout plus sélectifs afin de limiter les effets secondaires.

Les organismes pluricellulaires possèdent plusieurs mécanismes de régulation de la division mettant en jeu diverses protéines, dont les kinases qui sont surexprimées dans de nombreux types de cancers.

Les inhibiteurs de kinases font donc partie des différentes familles de composés employés en chimiothérapie anticancéreuse.

Parmi les inhibiteurs de kinases développés, des molécules à motif indolin-2-one ont abouti, en 2006, à la mise sur le marché d'un nouveau médicament : le Sutent. Ce médicament est un inhibiteur de kinases compétitif de l'ATP (**Figure 1**).

Au laboratoire, une des thématiques de recherche est ciblée sur la conception et la synthèse d'inhibiteurs de kinases compétitifs de l'ATP à motif indolin-2-one.

Les travaux effectués précédemment au cours de la thèse de Mathieu Sassatelli ont essentiellement porté sur le développement de deux familles de composés à motif indolin-2-one (les isoindigos et les indolin-2-ones, **Figure 1**).

Dans le but d'approfondir l'étude de relations structure-activité déjà entreprise, et afin de déterminer les paramètres structuraux clés nécessaires à l'activité biologique, nous avons poursuivi le développement de ces deux familles. Nous nous sommes également intéressés à la synthèse d'un nouveau polyhétérocycle azoté (pyrrolo- α -carboline) (**Figure 1**).

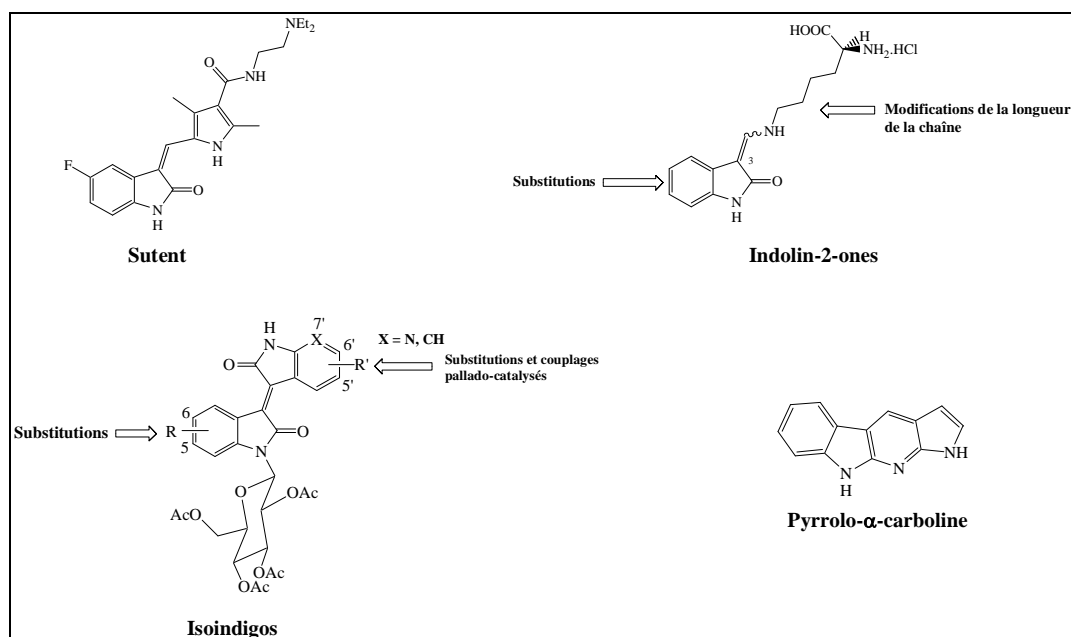


Figure 1 : Structure du Sutant et des différentes familles à développer.

Concernant les isoindigos, nous avons modulé la nature des substituants présents sur les cycles aromatiques. Ce travail a été poursuivi par la préparation de nouveaux analogues en remplaçant un des motifs indolin-2-ones par un 7-azaioxindole.

La famille des indolin-2-ones a été modifiée en faisant varier la longueur de la chaîne latérale portée en position 3 et en introduisant un atome d'halogène en position 5.

Ce mémoire se divisera en 4 parties :

- ✧ Une première partie sera consacrée à une étude bibliographique où seront présentées les différentes catégories de kinases ainsi que leurs principaux inhibiteurs à motif indolin-2-one décrits dans la littérature.

- ✧ Dans une deuxième partie, nous développerons les synthèses réalisées sur les trois familles.

- ✧ Dans une troisième partie, les propriétés biologiques des produits obtenus seront présentées.

- ✧ La partie expérimentale constituera la quatrième partie.

Première partie: Etude bibliographique

I- Introduction

Le cancer est dû à une dérégulation de la prolifération cellulaire causée par des altérations génétiques des cellules. De nombreux processus cellulaires peuvent alors être modifiés, en particulier le cycle cellulaire et les réponses aux signaux de croissance et de mort cellulaire.

Le développement, la différenciation ainsi que le maintien des fonctions vitales des organismes pluricellulaires nécessitent une régulation précise du lieu et du moment des divisions cellulaires. Ainsi, il existe plusieurs mécanismes de régulation de la division cellulaire mettant en jeu différentes protéines. Cinq types de protéines participent au contrôle de la croissance des cellules chez les mammifères : les facteurs de croissance, les récepteurs de facteurs de croissance, les transducteurs intracellulaires, les facteurs de transcription cellulaire et les protéines qui participent au contrôle du cycle cellulaire¹.

Parmi ces protéines, nous nous intéressons à celles qui possèdent une activité kinase permettant la phosphorylation des hydroxyles de résidus tyrosine, sérine ou thréonine de protéines substrats (**Figure 2**). Cette activité catalytique emploie comme substrat l'ATP, qui possède un site de fixation dans le domaine catalytique des kinases. En raison du rôle clé des kinases dans de nombreux processus liés à la prolifération cellulaire, ces enzymes sont de bons candidats pour la conception de nouveaux composés anti-tumoraux. Nous nous sommes donc intéressés à la conception et la synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases compétitifs de l'ATP.

¹Kurup, A.; Garg, R.; Hansch, C. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2573-2600.

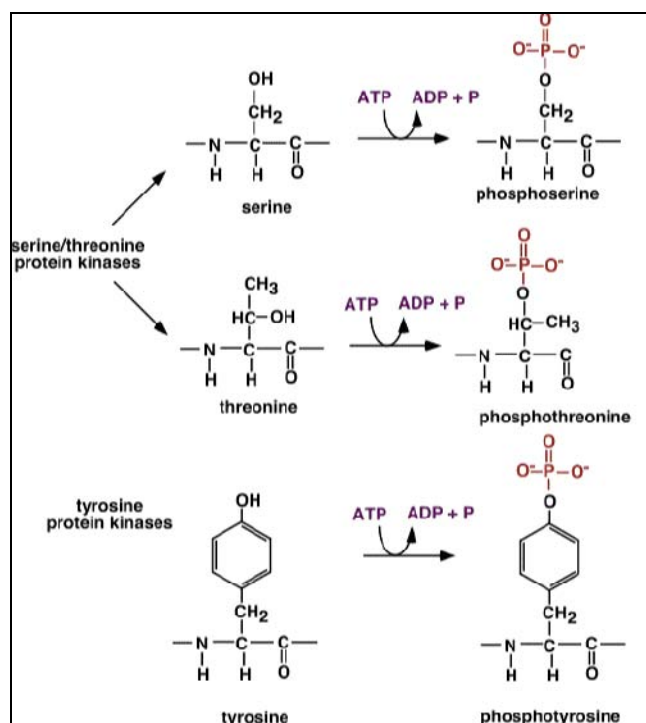


Figure 2 : Phosphorylation de résidus sérine, thréonine ou tyrosine par les kinases.

La résolution de la structure tridimensionnelle du site ATP de différentes kinases a permis d'orienter l'ensemble des travaux portant sur la conception de diverses familles d'inhibiteurs potentiels de kinases compétitifs de l'ATP. Compte tenu de l'existence dans la cellule d'une grande variété de protéines kinases, employant l'ATP comme substrat commun, on pourrait penser qu'il est inconcevable de préparer des inhibiteurs spécifiques du site ATP présentant une sélectivité vis-à-vis de certaines kinases. Cependant, diverses études de cristallographie aux rayons X de complexes kinase-ATP ou kinase-inhibiteurs ont montré qu'il existe des régions adjacentes à la zone de fixation de l'ATP présentant d'importantes diversités structurales d'une kinase à l'autre. Ceci explique la sélectivité d'inhibiteurs pour certaines kinases. A l'heure actuelle, les kinases ont fait leurs preuves comme cibles biologiques dans le développement de nouveaux agents anti-tumoraux, comme en témoigne la mise sur le marché d'inhibiteurs de kinases utilisés dans les traitements de chimiothérapie tels que le Glivec (inhibiteur de Bcr-Abl et de PDGFR), utilisé dans le traitement de certaines leucémies, et l'Iressa (inhibiteur d'EGFR) utilisé dans le traitement des NSCLC (Non-Small Cell Lung Cancers) (**Figure 3**).

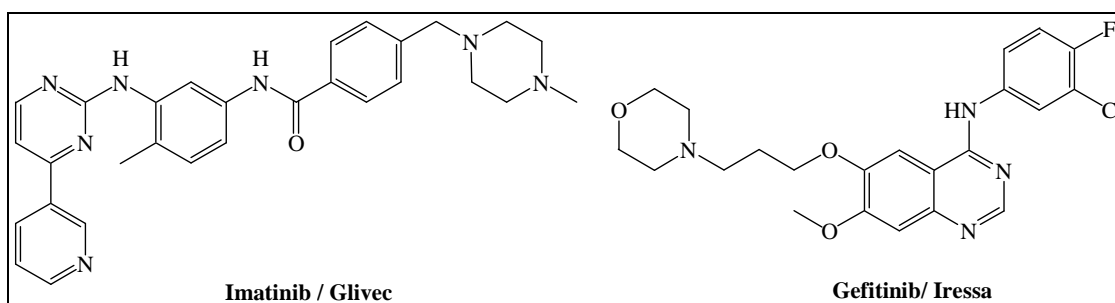


Figure 3 : Structure du Glivec et de l'Iressa.

Actuellement, un grand nombre d'inhibiteurs interagissant avec le site actif de kinases est en développement clinique. Parmi ces composés, on trouve des oxindoles dont le **SU11248**, un nouveau dérivé d'indolin-2-one récemment mis sur le marché qui présente une activité inhibitrice des VEGFR2 et PDGFR β (**Figure 4**).² Afin de concevoir un nouveau modèle d'inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase de récepteurs de facteurs de croissance, principalement du FGFR1, nous nous sommes tout d'abord orientés vers la synthèse de composés constitués d'un motif oxindolique par analogie avec les composés décrits dans la littérature.

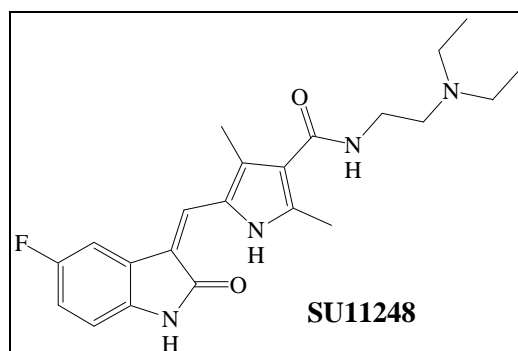


Figure 4 : Structure du SU11248.

Dans cette étude bibliographique, nous présenterons dans un premier temps, le cycle cellulaire, puis trois types de kinases : les sérine/thréonine kinases, les récepteurs à activité tyrosine kinase et les tyrosine kinases non-récepteurs. Nous nous intéresserons plus particulièrement à un exemple dans chaque catégorie présentée, à savoir la CDK2, le FGFR1 et la c-Src.

Enfin, nous décrirons les principaux inhibiteurs de kinase possédant un motif indolin-2-one présents dans la littérature.

² Sun, L.; Liang, C.; Shirazian, S.; Zhou, Y.; Miller, T.; Cui, J.; Fukuda, J.Y.; Chu, J.-Y.; Nematalla, A.; Wang, X.; Chen, H.; Sista, A.; Luu, T.C.; Tang, F.; Wei, J.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1116-1119.

II- Le cycle cellulaire³

Le cycle de division cellulaire est le processus fondamental par lequel les êtres vivants se divisent et croissent. Les détails du cycle cellulaire peuvent varier mais certaines exigences sont universelles. Tout d'abord, pour produire deux cellules filles identiques, l'ADN doit être répliqué correctement, puis les chromosomes dupliqués doivent être répartis dans les cellules filles. Le cycle cellulaire peut être divisé en quatre phases distinctes: G1, S, G2 et M (**Figure 5**).

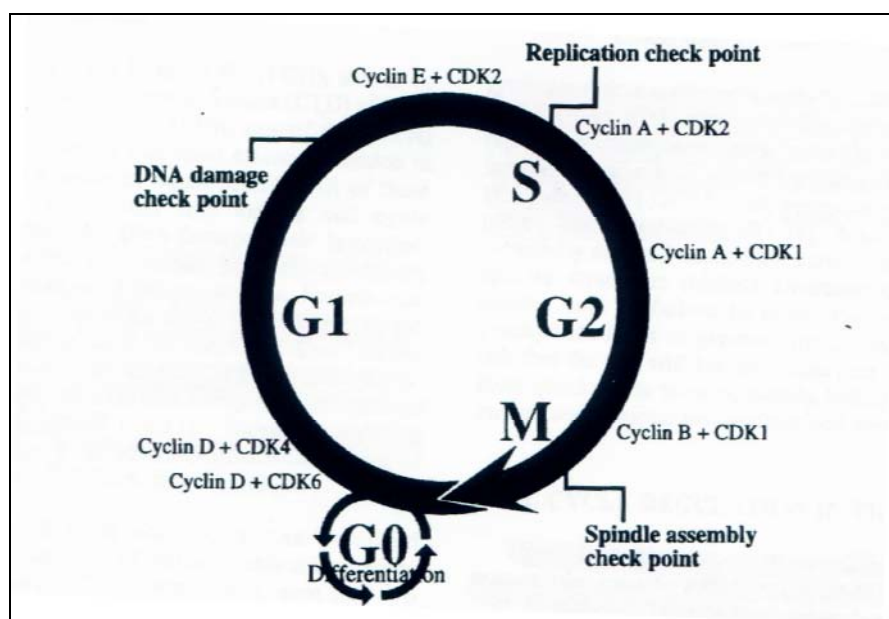


Figure 5 : Les différentes phases du cycle cellulaire.

La phase G0 est une période, plus ou moins longue, pendant laquelle la cellule est dans un état de repos, non prolifératif.

La première phase G1 (pour Gap), qui peut durer de 10 heures à quelques jours, est la phase durant laquelle les cellules se préparent à la phase suivante, la phase S, pendant laquelle s'effectue la réplication de l'ADN. Au cours de la phase G1, et jusqu'au point de non retour (R : point de restriction), les cellules dépendent des signaux extérieurs favorisant ou inhibant la division cellulaire, comme les facteurs de croissance (**Figure 6**). Au-delà du point de restriction, les cellules deviennent indépendantes de ces signaux et le cycle cellulaire peut se poursuivre.

³ Meijer, L. *Oncologie* 2003, 5, 311-326.

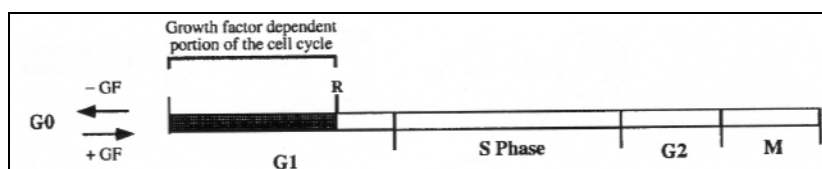


Figure 6 : Zone d'intervention des facteurs de croissance dans le cycle cellulaire.

La phase S (pour Synthèse), qui dure en moyenne 6 heures, est définie comme l'étape au cours de laquelle la synthèse de l'ADN s'effectue pour reproduire le génome.

La phase G2, d'une durée de 4 heures, vient ensuite. C'est au cours de cette phase que les cellules se préparent à la division. Elles sont alors tétraploïdes.

Enfin, au cours de la phase M (pour Mitose), d'une durée de 2 heures, le noyau puis le cytoplasme se divisent (respectivement mitose et cytotélerèse), donnant naissance à deux cellules filles parfaitement identiques.

La progression du cycle cellulaire est régie par une famille de protéines kinases, les kinases cycline-dépendantes (CDKs). La transition entre les différentes phases du cycle cellulaire est régulée par cette famille d'enzymes et leurs protéines associées, les cyclines, qui participent à l'activation de la kinase.

III- Les différents types de kinase

III-1- Les sérine/thréonine kinases

L'exemple choisi parmi cette famille de kinase est celui des CDKs et plus particulièrement de la CDK2. Parmi les centaines protéines kinases humaines, les kinases cycline-dépendantes (CDKs) ont été très étudiées à cause de leurs fonctions cellulaires essentielles. Une douzaine de CDKs et 18 cyclines associées ont été identifiées chez l'homme.⁴ Les CDKs jouent un rôle de contrôle dans le cycle cellulaire (CDK1, 2, 3, 4, 6, 7), l'apoptose (CDK2), les fonctions neuronales (CDK5) et la transcription (CDK7, 8, 9). L'activité des CDKs au cours de la progression du cycle cellulaire est contrôlée par l'expression ou non de leurs cyclines partenaires (**Figure 7**). Cependant, l'activation complète de l'activité catalytique des CDKs est également régulée par phosphorylation.^{5,6} En particulier, c'est la phosphorylation de la Thr¹⁶⁰ de la CDK2 qui permet son activation complète.

⁴ Banborough, P.; Drewry, D.; Harper, G.; Smith, G.; Schneider, K. *J. Med. Chem.* **2009**, 51, 7898-7914.

⁵ Desai, D.; Gu, Y.; Morgan, D. O. *Mol. Biol. Cell* **1992**, 3, 571-582.

⁶ Connell-Crowley, L.; Solomon, M. J.; Wei, N.; Harper, J. W. *Mol. Biol. Cell* **1993**, 4, 79-92.

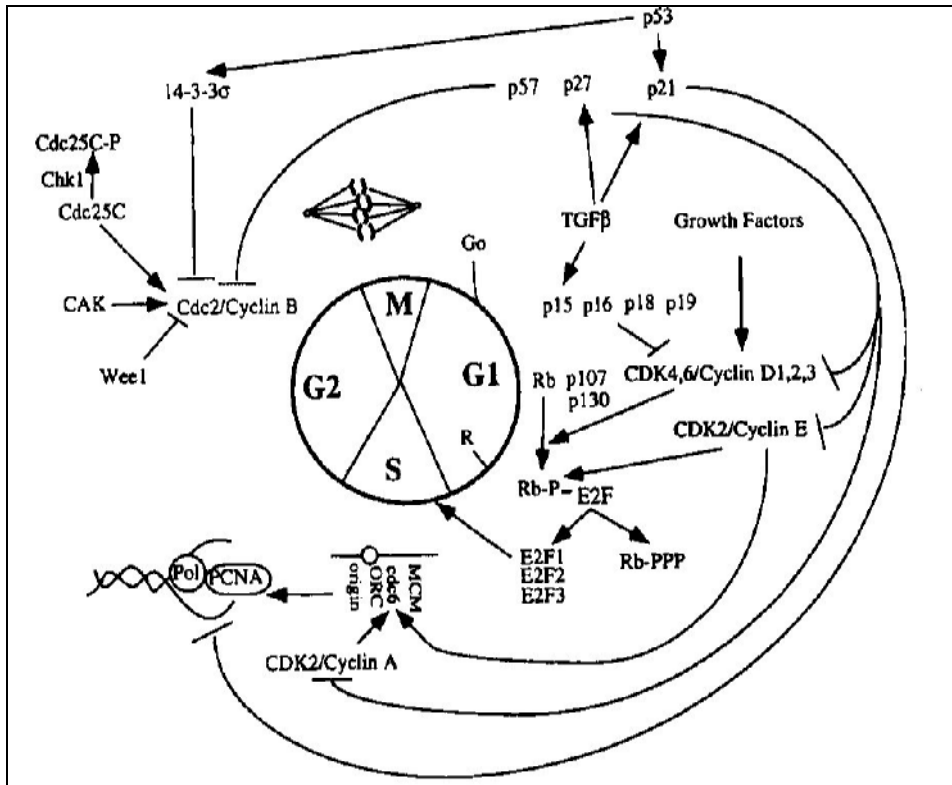


Figure 7 : Schéma des protéines impliquées dans la régulation de l'activité des complexes cyclines/CDKs.

La CDK2 est essentielle au contrôle de la progression du cycle cellulaire pendant la phase G1 (à partir du point de restriction), pour la phase S et au cours de la transition entre ces deux phases. C'est une petite protéine (34 kDa), qui s'associe aux cyclines A et E. Les structures cristallines de la CDK2 humaine et de son complexe ATP/Mg²⁺ ont été déterminées en 1993.

Comme toutes les protéines kinases, la structure de la CDK2 est constituée de deux lobes. Le plus petit lobe, le lobe N-terminal, est riche en feuillets β et ne possède qu'une seule hélice α. L'autre lobe, plus grand, est le lobe C-terminal, riche en hélices α. Le site de liaison à l'ATP et la boucle catalytique se situent dans la cavité entre ces deux lobes (**Figures 8 et 9**).

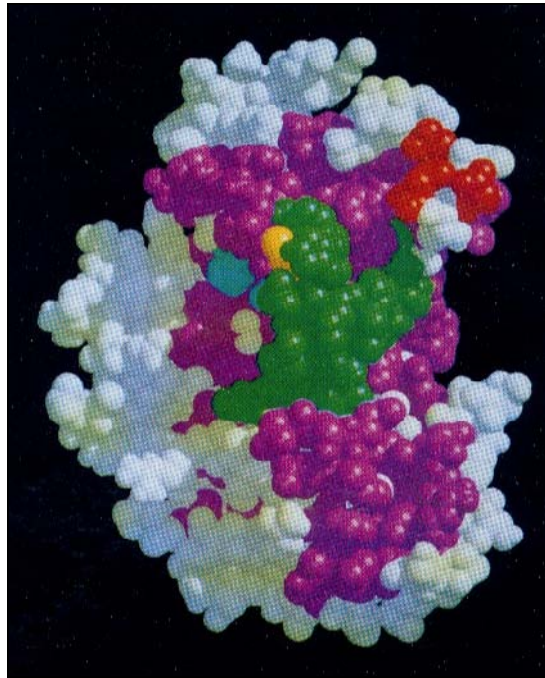


Figure 8 : Modèle moléculaire de la CDK2 humaine. En bleu, l'ATP, en rouge le groupe des trois résidus acides (Asp³⁸, Glu⁴⁰, Glu⁴²) qui sont impliqués dans la liaison de la cycline, et en vert la boucle-T (résidus 152-170) avec le résidu Thr¹⁶⁰ en jaune.

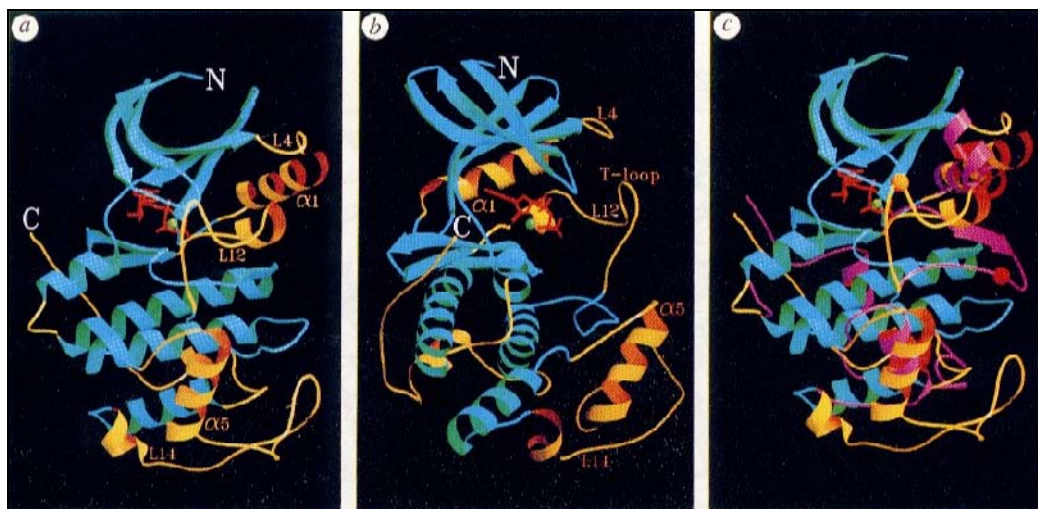


Figure 9 : a) Structure de la CDK2 humaine complexée avec l'ATP/Mg²⁺. En bleu, les éléments secondaires de la structure et les boucles conservées entre la CDK2 et la PKA. En jaune, les régions divergentes. En rouge, l'ATP et en vert le magnésium. b) Comme dans la vue a mais avec une rotation de 70 ° de la structure selon l'axe vertical. c) Superposition des structures du complexe CDK2-ATP/Mg²⁺ et de la PKA, dans la même orientation que dans la vue a. En bleu, les régions où les positions des atomes C α sont conservées dans les deux kinases. En jaune et en rose, les régions spécifiques de la CDK2 et de la PKA, respectivement, où les atomes C α diffèrent d'au moins 1,5 Å. Les boules montrent le site de phosphorylation du résidu Thr¹⁶⁰ qui n'est pas phosphorylé dans la CDK2 (en orange), et le site correspondant Thr¹⁹⁷ qui est phosphorylé dans la PKA (en rouge).

Le site de liaison de l'ATP

Dans une revue récente, s'appuyant sur les études de cristallographie aux rayons X réalisées sur la CDK2 en complexe avec certains de ses inhibiteurs, les caractéristiques structurales à

l'origine de l'inhibition de l'enzyme par des molécules variées ont été étudiées. Il en ressort que le site de liaison de l'ATP peut être divisé en 4 sous-domaines susceptibles d'être exploités dans le cadre de la conception de nouveaux inhibiteurs (**Figure 10**)⁷ :

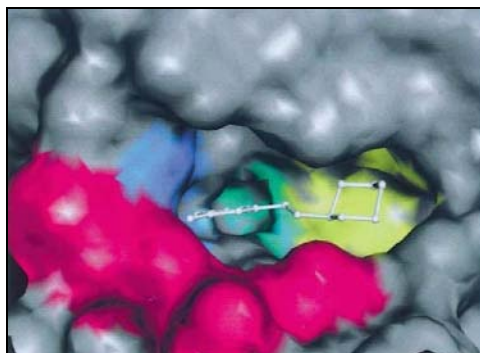


Figure 10 : Représentation du site ATP de la CDK2 en complexe avec le NU2058 (voir structure Fig. 11). Les sous-domaines sont représentés selon différentes couleurs : la région de la charnière (bleu), la poche Phe⁸⁰ (vert), le site ribose/phosphate (jaune), la surface de spécificité (rouge) (d'après Davies *et al.*⁷).

- *La région de la charnière.* Il s'agit de la région qui relie les parties C-terminale et N-terminale. Cette région contient une série de sites donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène qui doivent être satisfaits pour obtenir une liaison efficace de l'inhibiteur. Dans le cas de l'ATP, l'hétérocycle adénine forme deux liaisons hydrogène dans cette région, l'une entre l'azote N1 de l'adénine et l'hydrogène de la liaison peptidique de la Leu⁸³, l'autre entre un hydrogène de l'amine en N6 de l'adénine et le carbonyle du Glu⁸¹ (**Figure 11**). De façon générale, ces deux liaisons hydrogène sont présentes entre la CDK2 et la partie des inhibiteurs compétitifs de l'ATP qui « mime » l'adénine de l'ATP. Une troisième liaison hydrogène est également observée dans le cas de certains inhibiteurs entre le carbonyle du résidu Leu⁸³ et une fonction amine (NU2058, NU6027, les purines purvalanol B, olomoucine et roscovitine, l'hyménialdisine et l'acide indirubin-5-sulfonique). Les liaisons hydrogène ne sont pas les seules interactions présentes dans cette zone. En effet, des contacts hydrophobes existent dans la poche du site de fixation de l'ATP : le plan de l'hétérocycle adénine est inséré entre certains résidus hydrophobes (entre autres Ile¹⁰, Val¹⁸, Ala³¹, Phe⁸² et Leu¹³⁴).

⁷ Davies, T.G.; Pratt, D. J.; Endicott, J. A.; Johnson, L.N.; Noble, M.E.M. *Pharmacol. Ther.* **2002**, *93*, 125-133.

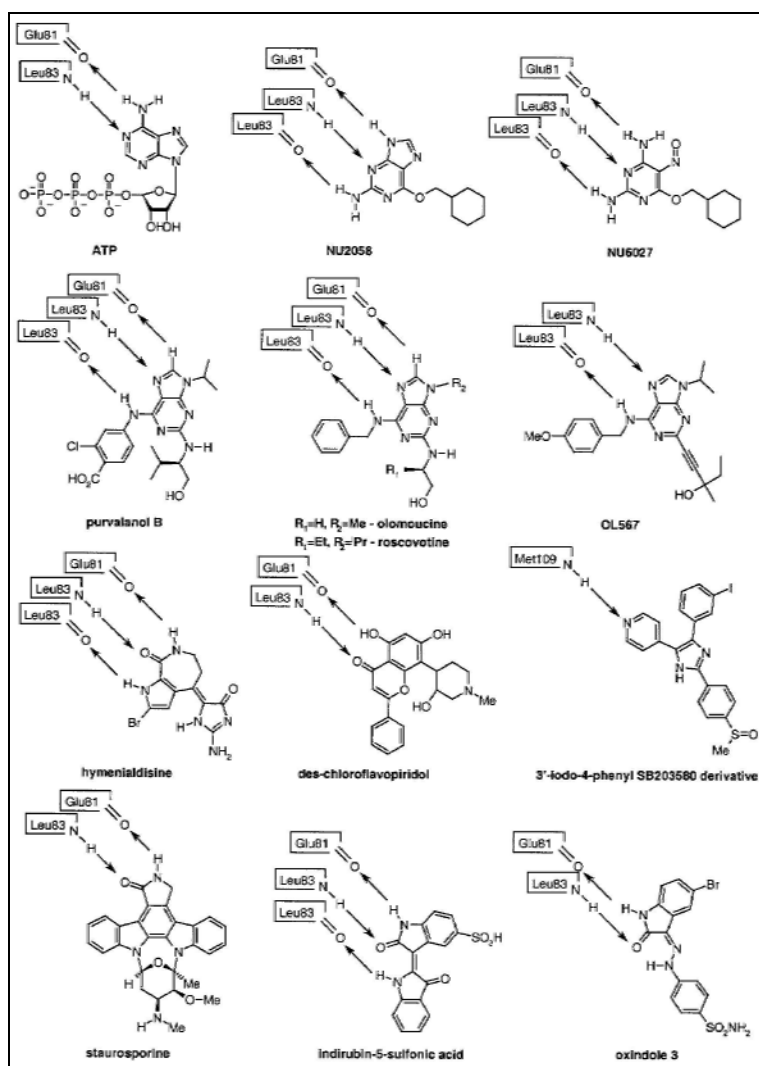


Figure 11 : Liaisons hydrogène formées dans la région charnière entre la CDK2 et divers inhibiteurs (d'après Davies *et al.*).

- *La poche Phe⁸⁰*. La CDK2 présente une cavité hydrophobe peu profonde au fond du site de liaison de l'ATP. Cette cavité, située au niveau de la chaîne latérale de la Phe⁸⁰, est inutilisée par le substrat naturel mais est exploitée par un certain nombre d'inhibiteurs de la CDK2 : la staurosporine, l'indirubine et l'hyménialdisine présentent dans cette zone un cycle hydrophobe tandis que les purines olomoucine, roscovitine et purvalanol B sont substituées sur le cycle à 5 (en N9) par un groupement alkyle (méthyle, isopropyle) (**Figure 10**).

- *Le site ribose/phosphate*. Il s'agit d'une large poche exposée au solvant dans laquelle la partie ribose/phosphate de l'ATP va établir un réseau de liaisons hydrogène. Les inhibiteurs de la CDK2 tels que la staurosporine, le purvalanol B ou l'olomoucine exploitent cette région de fixation du ribose : le groupement *N*-méthylamino de la staurosporine est susceptible de former des liaisons hydrogène avec la Gln¹³¹ et l'Asp⁸⁶ tandis que les deux autres molécules

forment une liaison hydrogène avec le Glu¹³¹ à l'aide de leur chaîne latérale hydroxylée. Le flavopiridol, l'hyménialdisine ou l'acide indirubin-5-sulfonique peuvent quant à eux établir des interactions dans la zone où se lient les α - et β - phosphates de l'ATP ; des liaisons hydrogène se forment entre le cycle pipéridine chargé du flavopiridol avec la Lys³³ et l'Asp¹⁴⁵ ou entre le cycle guanidine de l'hyménialdisine avec l'Asp¹⁴⁵, et le groupement sulfonate de l'acide indirubin-5-sulfonique établit des interactions charge-charge avec l' ϵ -NH₂ de la Lys³³.

- *La surface de « spécificité » de la CDK2.* La cavité de fixation de l'ATP est une région conservée d'une kinase à une autre. Par contre, il existe des différences de séquence à l'extérieur de cette zone. L'inhibition sélective de la CDK2 peut être améliorée en exploitant ces différences structurales. Les purines olomoucine, roscovitine, purvalanol B et OL567 ont montré qu'il est possible d'obtenir une augmentation de la sélectivité et de la capacité inhibitrice par cette approche ; ces deux composés présentent un groupement benzylamino substitué ou non en N6 qui établit des interactions hydrophobes dans un « tunnel » délimité par l'Ile¹⁰, la Phe⁸² et l'His⁸⁴. Le groupement sulfonamidophénylhydrazone de l'oxindole 3 (**Figure 11**) se situe également en dehors du site de fixation de l'ATP. Le sulfonamide forme deux liaisons hydrogène, respectivement entre un oxygène du sulfonamide et le NH de la liaison amide de l'Asp⁸⁶, et entre le NH du sulfonamide et un oxygène de la chaîne latérale de l'Asp⁸⁶.

Le site de liaison de la protéine substrat

Lorsque la CDK2 n'est pas liée avec une cycline, la protéine substrat ne peut pas accéder au site catalytique, qui est bloqué par une large boucle flexible, la boucle T (résidus 152 à 170), contenant le site de phosphorylation/activation Thr¹⁶⁰. La liaison de la CDK2 avec sa cycline induit un changement conformationnel de la CDK2 qui lève en partie le blocage du site catalytique. La phosphorylation de la Thr¹⁶⁰ lève totalement cette inhibition, ce qui permet à la protéine substrat de s'insérer dans la large cavité entre les deux lobes, permettant à l'hydroxyle de la sérine ou de la thréonine du substrat de se positionner près du phosphate γ de l'ATP.

III-2- Les tyrosine kinases

III-2-1- Les récepteurs à activité tyrosine kinase

Nous allons nous intéresser plus particulièrement aux récepteurs de facteurs de croissance qui sont des glycoprotéines transmembranaires. Ils sont constitués d'une partie extracellulaire, qui contient le domaine de fixation des facteurs de croissance correspondants, d'une partie transmembranaire structurée en hélice, et d'une partie intra-cytoplasmique constituée de différents domaines à activité tyrosine kinase. A ce jour, plus de 50 récepteurs à activité tyrosine kinase ont été identifiés. L'activité kinase permet de traduire le signal véhiculé par les facteurs de croissance à l'intérieur de la cellule, par l'intermédiaire d'une cascade de signaux transmis jusqu'au noyau pour y induire les transcriptions nécessaires à la prolifération, la différenciation, la migration, etc... (**Figure 12**). Ces tyrosine kinases sont par conséquent des enzymes régulatrices majeures impliquées dans une grande variété de mécanismes physiologiques ou pathologiques, comme la promotion tumorale.^{1,8}

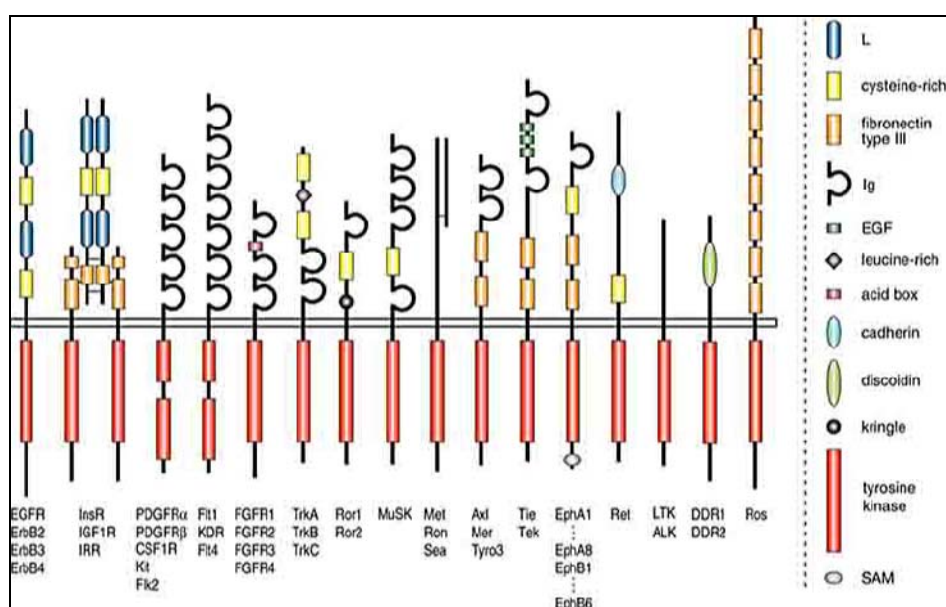


Figure 12 : Représentations schématiques de différents récepteurs avec leur partie extra-cytoplasmique (vers le haut) et leur partie intra-cytoplasmique, essentiellement constituée par différents domaines tyrosine kinase.

¹ Kurup, A.; Garg, R.; Hansch, C. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2573-2600.

⁸ Hubbard, S.R. *Front. Biosci.* **2002**, *7*, 330-340.

Jones, S. M.; Kazlauskas, A. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2413-2423.

Activation des récepteurs de facteur de croissance

La liaison du récepteur avec son facteur de croissance spécifique entraîne sa dimérisation, ce qui va permettre l'activation de son domaine tyrosine kinase (**Figure 13**).⁸ Les étapes nécessaires à la transmission du signal sont :

- La fixation du ligand
- La dimérisation du récepteur
- L'activation du domaine catalytique de la kinase (notamment par auto-phosphorylation de résidus tyrosines)
- La phosphorylation des protéines substrats.

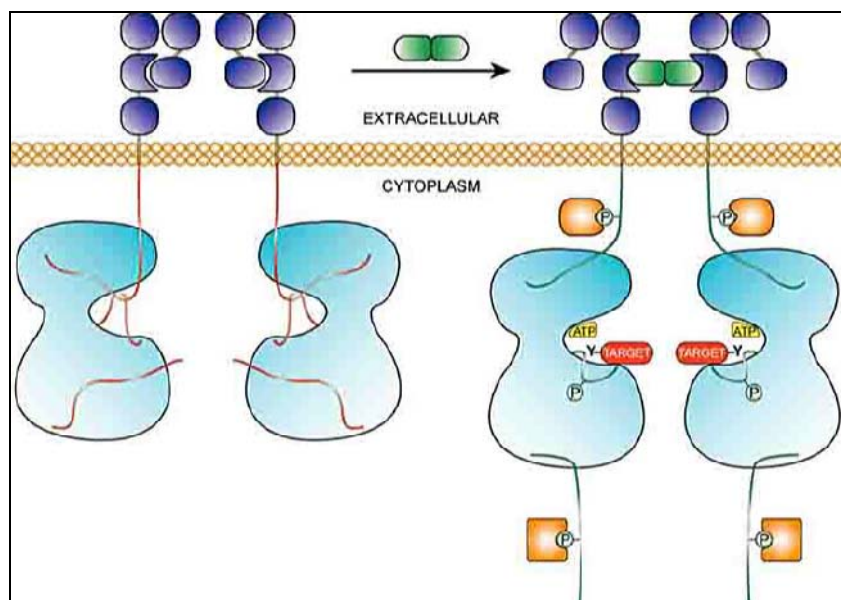


Figure 13 : Fixation du facteur de croissance à son récepteur, dimérisation du récepteur, ce qui entraîne la transmission du signal de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule.

Afin de présenter plus en détail la transduction d'un signal extracellulaire vers l'intérieur de la cellule par l'intermédiaire d'un récepteur de facteur de croissance, nous allons prendre pour exemple les FGFR, cibles biologiques qui étaient visées à l'origine de ce projet.

La famille des FGFR est composée d'un groupe de quatre récepteurs à activité tyrosine kinase homologues qui sont caractérisés par⁹ :

⁸ Jones, S. M.; Kazlauskas, A. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2413-2423.

⁹ Manetti, F.; Botta, M. *Curr. Pharm. Des.* **2003**, *9*, 399-409.

Stauber, D. J.; DiGabriele, A. D.; Hendrickson, W. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 49-54.

Mohammadi, M.; Schlessinger, J.; Hubbard, S. R. *Cell*, **1996**, *86*, 577-587.

- Un domaine extracellulaire contenant la partie *N*-terminale de la protéine ainsi qu'une zone de liaison de l'héparine.
- Une région transmembranaire faisant la liaison entre les domaines extra- et intra-cellulaire.
- Un domaine intracellulaire contenant un domaine à activité tyrosine kinase qui est activé lorsque le facteur de croissance se lie à son récepteur en présence d'héparine sulfatée (HS).

Une particularité de cette famille de récepteurs de facteurs de croissance vient du fait que contrairement à d'autres récepteurs qui sont dimériques, tels que les PDGFR, les FGFR sont des monomères qui sont incapables de se dimériser par eux-même. Cette dimérisation est rendue possible par interaction du récepteur avec le facteur de croissance correspondant (FGF) en présence d'héparine sulfatée. L'héparine est un décasaccharide qui peut-être décrit comme une hélice contenant la répétition d'un motif disaccharidique de résidus D-glucosamine et acide L-iduronique reliés par l'intermédiaire d'une liaison glycosidique α -1,4. Ces motifs sont sulfatés en trois positions : le groupement hydroxyle en position 2 de l'acide iduronique ainsi que le groupement amino en position 2 et le groupement hydroxyle en position 6 de la glucosamine (**Figure 14**).

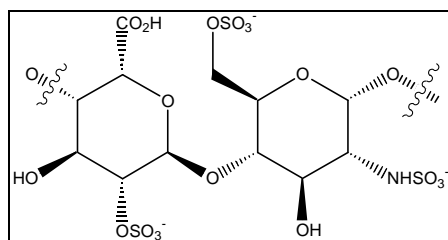


Figure 14 : Motif disaccharidique de résidus D-glucosamine et acide L-iduronique.

La dimérisation des FGFR en présence de molécules d'HS est indispensable pour activer l'autophosphorylation de résidus tyrosines spécifiques dans le domaine cytoplasmique. Nous allons maintenant nous intéresser plus particulièrement à la structure du domaine tyrosine kinase du FGFR1 (FGFR1K).

La structure globale du FGFR1K est constituée de deux lobes (**Figure 15**). La coordination de l'ATP s'effectue au niveau des résidus du domaine *N*-terminal alors que les liaisons avec les substrats peptidiques et les réactions de catalyse mettent en jeu des résidus du domaine *C*-terminal.

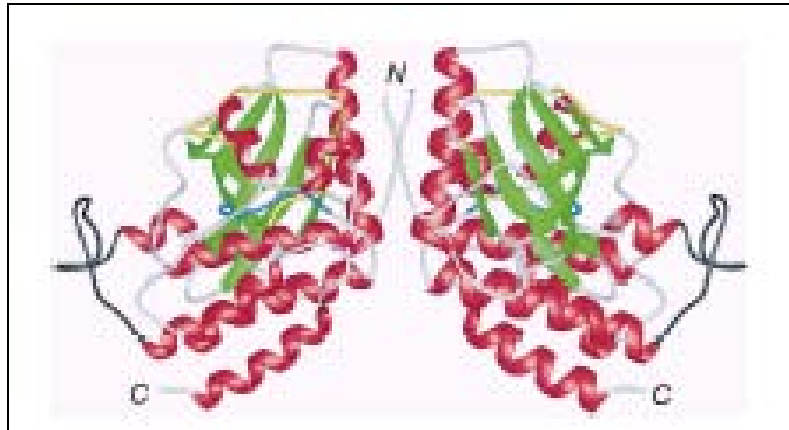


Figure 15 : Structure cristallographique de la forme dimérique du domaine tyrosine kinase du FGFR1. Les hélices α sont colorées en rouge, les feuillets β en vert, les boucles de liaison en orange, les boucles catalytiques en bleu et les boucles d'activation en jaune.

L'orientation relative ouverte des parties *N*- et *C*-terminales est caractéristique de la conformation des kinases inactives. Pour que l'autophosphorylation ait lieu, il suffit que de l'ATP et du magnésium soient présents.

On retrouve deux sites d'autophosphorylation, indispensables pour stimuler l'activité kinase du récepteur, qui sont conservés dans tous les FGFR : les résidus Tyr⁶⁵³ et Tyr⁶⁵⁴.

La boucle d'activation de FGFR1K est relativement flexible. Les résidus DFG (Asp⁶⁴¹, Phe⁶⁴², Gly⁶⁴³) du FGFR1K ne masquent pas le site de liaison de l'ATP. En conséquence, il n'y a pas de modifications structurales importantes lors de la fixation de l'AMP-PCP (adénosine-5'-(β,γ -méthylène)triphosphate : analogue de l'ATP non hydrolysable) et par extension de l'ATP.

Le motif adénine de l'AMP-PCP établit deux liaisons hydrogène d'une part entre le N1 et l'hydrogène de l'amide du résidu Ala⁵⁶⁴ et d'autre part entre un hydrogène du N6 et l'oxygène du carbonyle du Glu⁵⁶² (**Figure 16**). Par contre, les groupements hydroxyle du ribose ne forment pas de liaisons hydrogène directes avec la protéine. En fait, peu d'interactions sont observées entre l'AMP-PCP et le FGFR1K non phosphorylé.

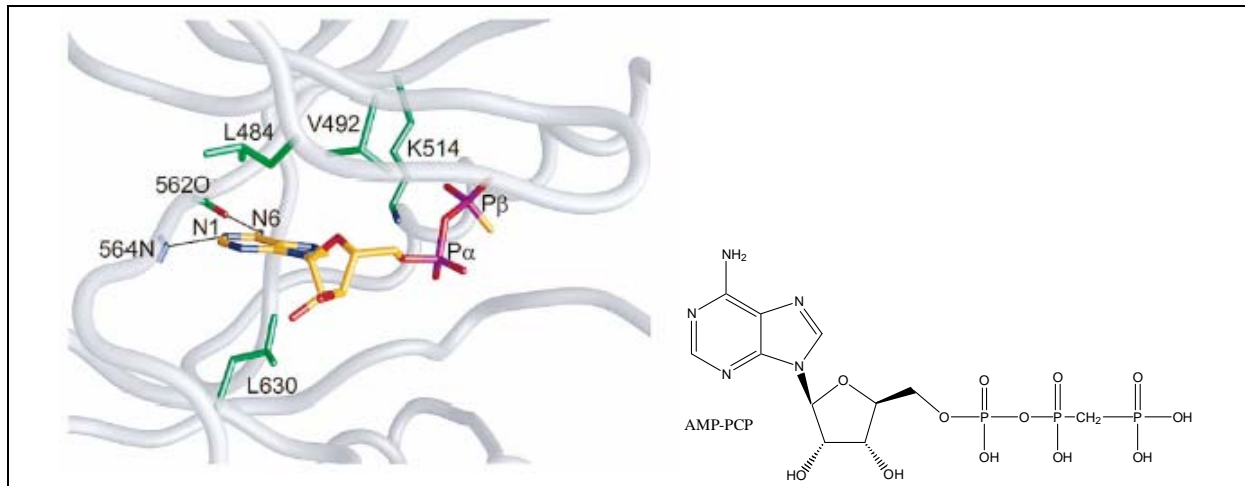


Figure 16 : Interactions de l'AMP-PCP avec le site actif du FGFR1K. Les couleurs sont les mêmes que sur la Figure 15 précédente. Les atomes de carbone de l'AMP-PCP sont colorés en orange et les atomes de phosphore en pourpre. Les liaisons hydrogène sont représentées par des traits noirs.

Résidus tyrosines, sites d'autophosphorylation

En plus des deux résidus tyrosines phosphorylables par autophosphorylation (Tyr⁶⁵³ et Tyr⁶⁵⁴) situés dans la boucle d'activation, il en existe quatre autres (**Figure 17**) :

- un dans la partie juxtamembranaire (Tyr⁴⁶³)
- deux dans le domaine «insert kinase» (Tyr⁵⁸³ et Tyr⁵⁸⁵)
- un au cœur du domaine C-terminal (Tyr⁷³⁰).

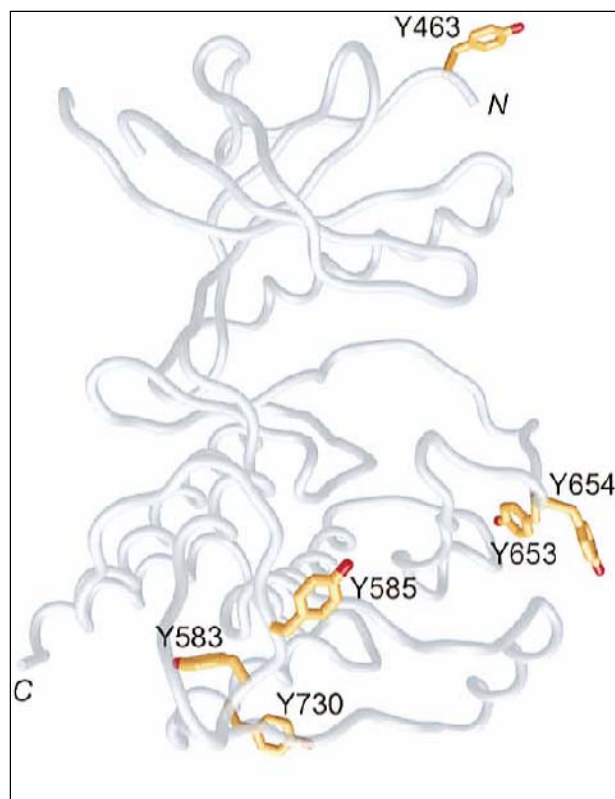


Figure 17 : Position des tyrosines des sites d'autophosphorylation dans le domaine kinase du FGFR1.

Ces résidus sont plus ou moins conservés dans les différents FGFR de mammifères. Les Tyr⁴⁶³ et Tyr⁵⁸⁵ sont présentes dans les FGFR1 et FGFR2, la Tyr⁵⁸³ dans les FGFR1-3 et la Tyr⁷³⁰ dans les FGFR1-4.

Ces phosphotyrosines vont ensuite soit stimuler l'activité kinase du récepteur, soit servir de site de liaison à des protéines possédant des domaines SH2 (Src Homology 2) ou PTB (PhosphoTyrosine Binding), intervenant en aval dans la transduction du signal (**Figure 18**).

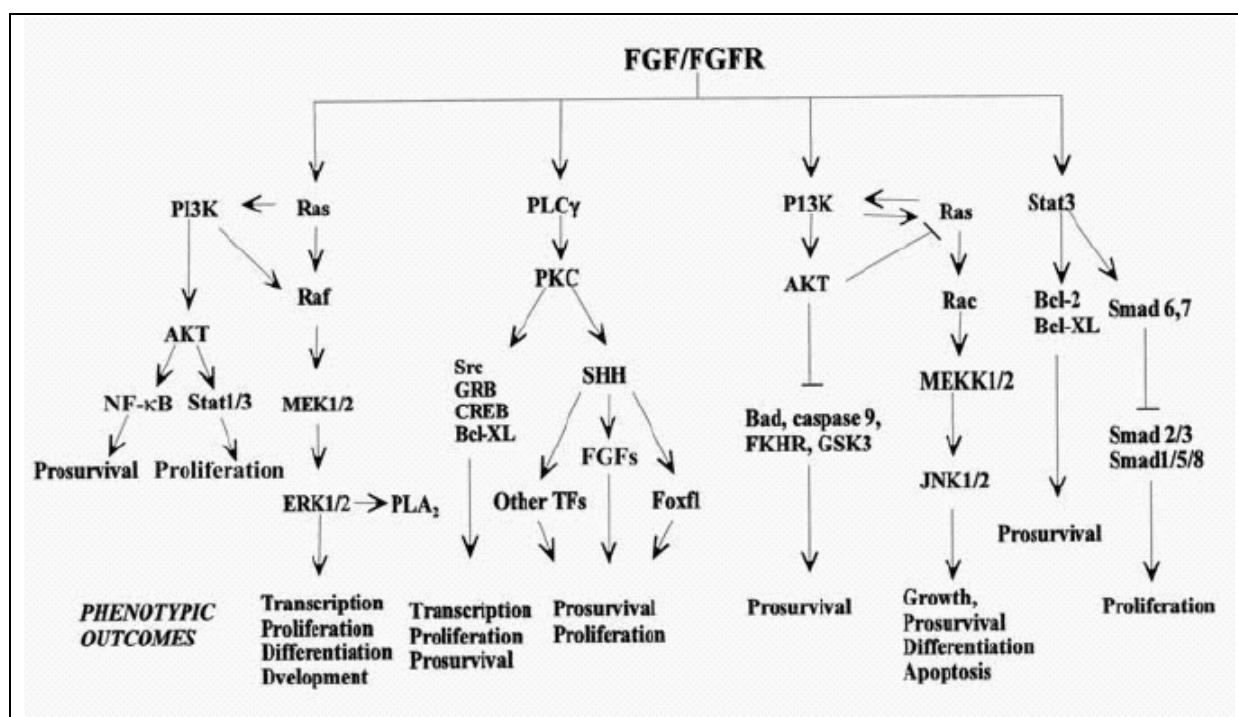


Figure 18 : Transduction du signal par les FGFR.

En résumé, l'activation des FGFR par réactions de trans-autophosphorylation se fait selon un mécanisme relativement complexe qui nécessite un certain nombre de modifications conformationnelles. Celles-ci sont engendrées par la dimérisation du récepteur, elle même dépendante de l'interaction du récepteur avec des ligands spécifiques (FGF et HS).

III-2-2- Les tyrosine kinases non-récepteurs

Parmi les 32 tyrosine kinases non-récepteurs humaines identifiées, les trois familles principales sont les Src, Abl (Abelson) et Jak (Janus Kinase). Ce sont des protéines cytoplasmiques qui agissent souvent comme des intermédiaires entre les RTKs et les cibles nucléaires (**Figure 19**).

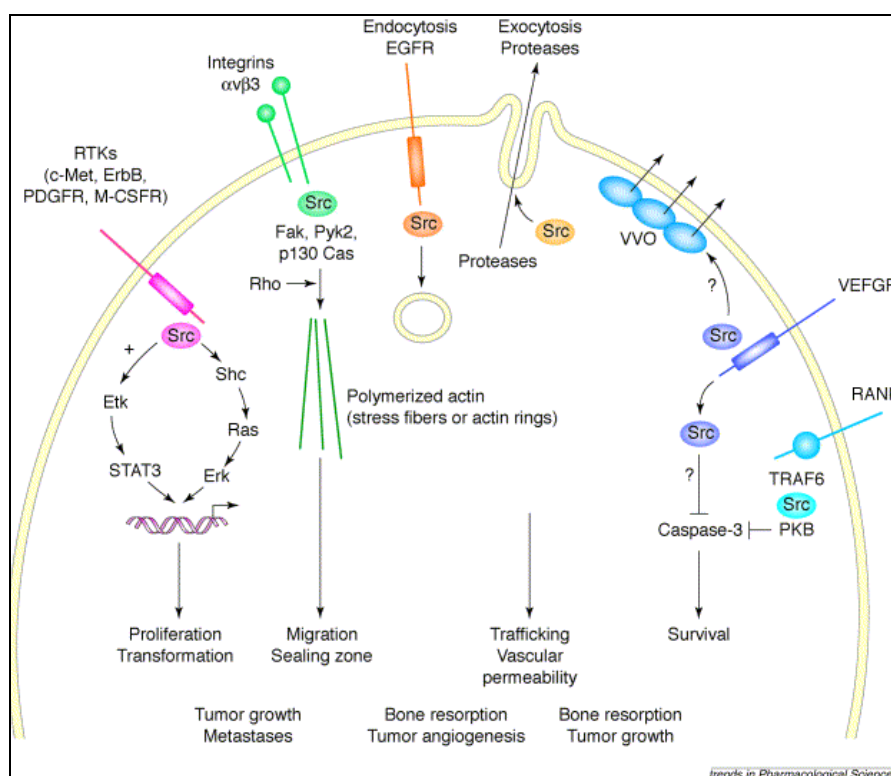


Figure 19 : Rôle des protéines Src. Abréviations: EGFR, epidermal growth factor receptor; Erk, extracellular regulated kinase; M-CSFR, macrophage colony stimulating factor receptor; PDGFR, platelet-derived growth factor receptor; PKB, protein kinase B; RANK, receptor activating nuclear factor κ B; RTKs, receptor tyrosine kinases; STAT3, signal transducer and activator of transcription 3; TRAF6, tumor necrosis factor receptor-associated factor 6; VEGFR, vascular endothelial growth factor receptor; VVO, vesiculo-vacuolar organelles.

La famille des Src comporte neuf membres (Src, Fyn, Yes, Fgr, Lyn, Hck, Lck, Blk et Yrc) qui présentent une architecture similaire avec cinq domaines fonctionnels distincts dont les domaines SH4, SH3, SH2 et un domaine catalytique à activité kinase. La partie N-terminale qui contient le domaine SH4 est une région flexible pour laquelle les différents membres de la famille présentent peu d'homologie structurale. Les domaines SH3 et SH2 sont impliqués dans la régulation de l'activité enzymatique des Src via des interactions intramoléculeaires. Le domaine kinase est formé de deux lobes : le lobe N-terminal qui est composé de cinq feuillets β et une hélice α et le lobe C-terminal qui est principalement structuré en hélices. Le site catalytique est situé entre les deux lobes (**Figure 20**).¹⁰

¹⁰ Bernadó, P.; Pérez, Y.; Svergun, D.I.; Pons, M. *J. Mol. Biol.* **2008**, *376*, 492-505.

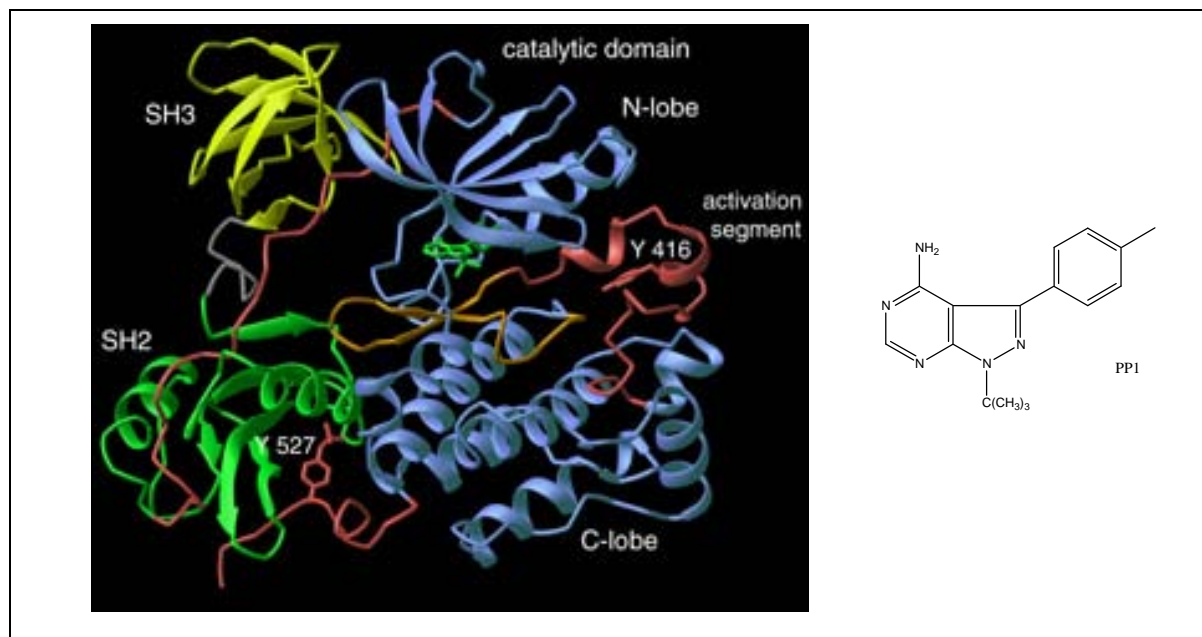


Figure 20 : Structure cristalline du complexe Hck-PP1. Le lobe *N*-terminal du domaine PTK est en rose et le lobe *C*-terminal est en bleu. La Tyr⁴¹⁶ est située au niveau de la boucle d'activation, la Tyr⁵²⁷ est située au niveau de la queue *C*-terminale représentée en rouge.¹¹

Le mécanisme principal de régulation des kinases Src met en jeu des interactions intermoléculaires impliquant un résidu Tyrosine situé dans la partie flexible *C*-terminale. Dans le cas de la Hck, ce résidu (Tyr⁵²⁷) peut-être phosphorylé par d'autres tyrosine kinases telles que Csk et CHK (Csk-homologous kinase). Lorsque le résidu Tyr⁵²⁷ est phosphorylé, il induit une interaction intramoléculaire du domaine *C*-terminal de la kinase avec le domaine SH2. Il s'ensuit des contacts entre le domaine SH3 et le bras reliant le domaine SH2 et le domaine kinase via une région riche en résidus proline (résidus 246-259).

Ces diverses interactions intramoléculaires conduisent la kinase à adopter une conformation fermée empêchant ainsi l'activité enzymatique.¹⁰

La **Figure 21** montre l'organisation générale du co-cristal entre la *c*-Src phosphorylée sur le résidu Tyr⁵²⁷ et l'AMP-PNP.¹²

¹⁰ Bernadó, P.; Pérez, Y.; Svergun, D.I.; Pons, M. *J. Mol. Biol.* **2008**, *376*, 492-505.

¹¹ Schindler, T.; Sicheri, F.; Pico, A.; Gazit, A.; Levitzki, A.; Kuriyan, J. *Molecular Cell* **1999**, *5*, 639-648.

¹² Xu, W.; Doshi, A.; Lei, M.; Eck, M.J.; Harrison, S. C. *Molecular Cell* **1999**, *3*, 629-638.

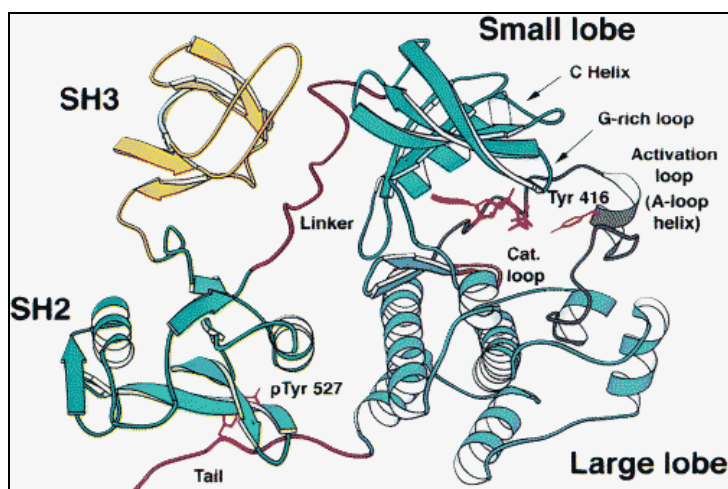


Figure 21 : Représentation du co-cristal entre la kinase c-Src et l'AMP-PNP : les domaines SH3 (en jaune) et SH2 (en vert) coordonnent le lien et les segments phosphorylés de la queue de la kinase. Le domaine tyrosine kinase est représenté en bleu et l'AMP-PNP (en rouge) est lié au site actif. La boucle d'activation est enserrée entre les lobes *N*- et *C*-terminaux de la kinase, séquestrant ainsi le résidu Tyr⁴¹⁶.

La déphosphorylation du résidu Tyr⁵²⁷ conduit à l'activation de la kinase en une forme ouverte qui est stabilisée par autophosphorylation du résidu Tyr⁴¹⁶ (Figure 22).

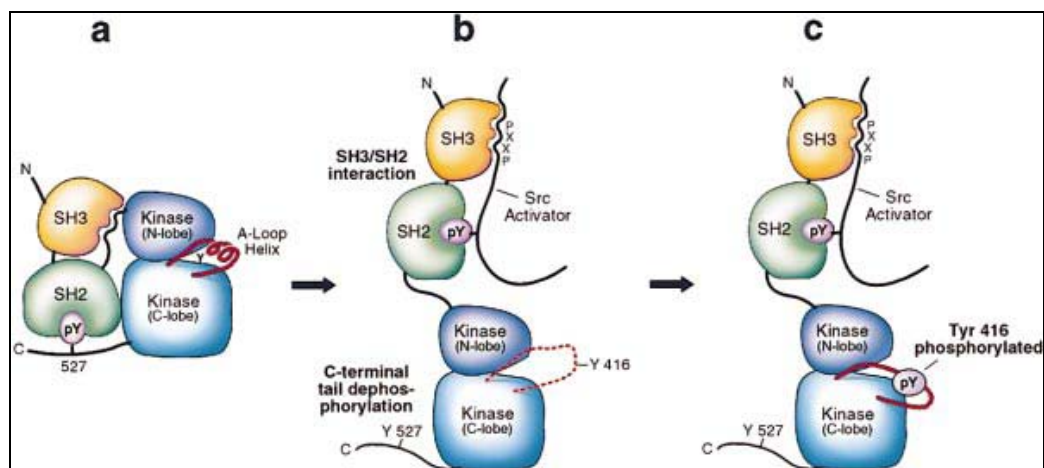


Figure 22 : Représentation schématique du modèle d'activation de c-Src. a) Conformation inactive fermée. b) Déplacement des domaines SH2 et SH3 par déphosphorylation du résidu Tyr⁵²⁷ afin de libérer le domaine kinase. c) Activation de la kinase par phosphorylation du résidu Tyr⁴¹⁶.

Site ATP du domaine kinase

La structure du domaine kinase de c-Src indiqué Figure 23 a été établi par modélisation à partir de la structure de la Hck.^{13,14} L'inhibiteur de c-Src utilisé, le CGP77675, est un dérivé appartenant à la série des 5,7-diphényl-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine. Ce composé présente les

¹² Xu, W.; Doshi, A.; Lei, M.; Eck, M.J.; Harrison, S. C. *Molecular Cell* **1999**, *3*, 629-638.

¹³ Susa, M.; Missbach, M.; Green, J. *Trends Pharmacol. Sci.* **2000**, *21*, 489-495.

¹⁴ Sicheri, F.; Moarefi, I.; Kuriyan, J. *Nature* **1997**, *385*, 602-609.

caractéristiques que l'on retrouve habituellement pour la plupart des inhibiteurs de kinases compétitifs de l'ATP, à savoir l'établissement de liaisons hydrogène avec le site ATP, plus particulièrement entre le NH₂ et l'atome d'azote situés respectivement en positions 4 et 3 de la partie pyrimidine de l'inhibiteur et les résidus Glu³³⁹ et Met³⁴¹. De plus, le CGP77675 établit une interaction supplémentaire entre l'azote de la pipéridine et le résidu Asp³⁴⁸, ainsi qu'une interaction hydrophobe importante entre le groupement méthoxyphényle situé en position 5 du motif pyrrolopyrimidine et une zone hydrophobe du site qui n'est habituellement pas occupée par l'ATP.

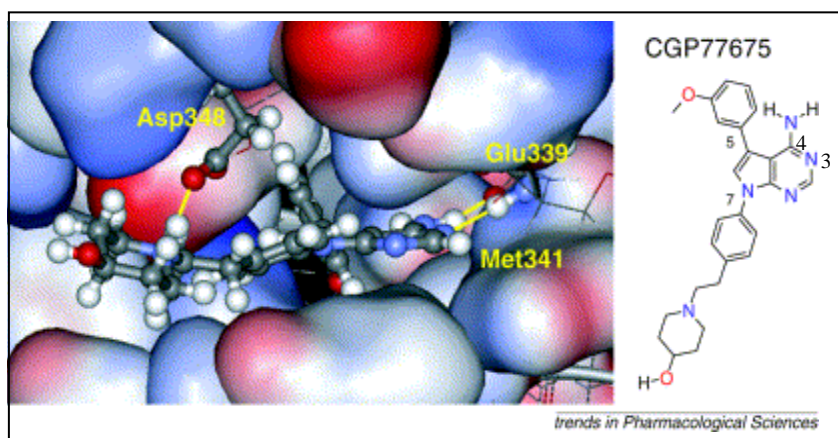


Figure 23 : Modélisation de la liaison du CGP77675 au site ATP du domaine kinase de la c-Src humaine. La surface du site ATP est représentée selon le code couleur suivant : rouge, résidus chargés négativement / bleu, résidus chargés positivement. Les amino-acides qui établissent des liaisons hydrogène (indiquées en jaune) avec l'inhibiteur sont représentés selon le modèle boules et bâtonnets.

En résumé, la phosphorylation de la Tyr⁴¹⁶ présente dans la boucle d'activation du domaine kinase active la protéine Src alors que la phosphorylation de la Tyr⁵²⁷ située au niveau de la queue C-terminale désactive la protéine. Ainsi, la phosphorylation et/ou la déphosphorylation des Tyr⁴¹⁶ et Tyr⁵²⁷ régulent l'activation de la protéine Src.

Après la présentation succincte de kinases, cibles potentielles des composés préparés dans le cadre de ce travail, nous allons maintenant décrire les principaux inhibiteurs de kinases possédant un motif indolin-2-one, décrits dans la littérature.

IV- Inhibiteurs de kinases possédant un motif indolin-2-one

Durant les deux dernières décennies, de nombreuses équipes se sont consacrées à l'identification et au développement d'inhibiteurs de kinases compétitifs de l'ATP.

Malgré leur grande diversité chimique, ils partagent pour la plupart des propriétés communes, à savoir une faible masse moléculaire (< 600), une structure chimique mimant le noyau adénine de l'ATP, ainsi qu'une activité inhibitrice par compétition avec l'ATP, par établissement de liaisons hydrogène et/ou par interactions hydrophobes au sein du site ATP des kinases ciblées.

Dans ce chapitre, nous verrons uniquement les inhibiteurs compétitifs de l'ATP à motif indolin-2-one.

IV-1- Les 3-(arylméthylidène)indolin-2-ones et 3-(hétéroarylméthylidène)indolin-2-ones

Les laboratoires SUGEN se sont beaucoup intéressés aux structures de type oxindole pour l'élaboration d'inhibiteurs de kinases compétitifs de l'ATP.

Les chefs de file de deux familles de composés brevetés en 1999, les **SU4314** et **SU4312**, ont montré une activité intéressante sur certains récepteurs de facteurs de croissance (**Figure 24**, **Tableau 1**).

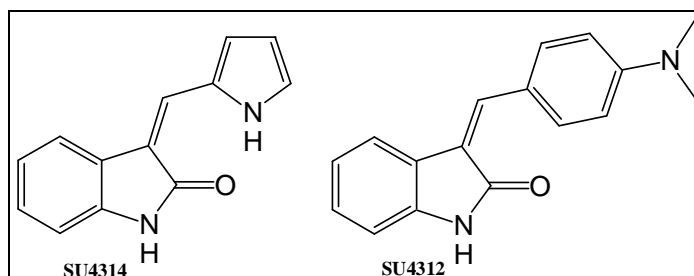


Figure 24 : Structure des SU4314 et SU4312.

Composés	PDGFR	Flk1
SU4314	19,4	0,8
SU4312	12,0	0,39

Tableau 1 : IC₅₀ (μM) des SU4314 et SU4312 sur le PDGFR et la Flk1.

On note une activité significative sur PDGFR et Flk1. Par contre, ces composés sont inactifs sur EGFR, HER2 et IGFR1 ($IC_{50} > 100 \mu M$).¹⁵ Ces activités intéressantes ont conduit au développement de nouveaux inhibiteurs.

IV-1-1- Les 3-(pyrrolylméthylidène)indolin-2-ones

Plusieurs analogues du SU4314 diversement substitués ont été préparés, parmi eux :

IV-1-1-a- Le SU5402 et le SU10944

Mohammadi et *al.* ont étudié l'effet du **SU5402** sur l'activité du domaine tyrosine kinase purifié du FGFR1 (**Figure 25**). Ils ont observé une IC_{50} de l'ordre de 10 à 20 μM en présence d'ATP à une concentration de 1 mM. Cette expérience démontre que l'inhibition est due aux interactions de l'inhibiteur avec le site ATP du FGFR1.¹⁶

L'effet du SU5402 a également été testé sur des cellules surexprimant le FGFR1 (NIH 3T3). Une inhibition de l'autophosphorylation du FGFR1 a également été observée, avec une IC_{50} de l'ordre de 10 à 20 μM .

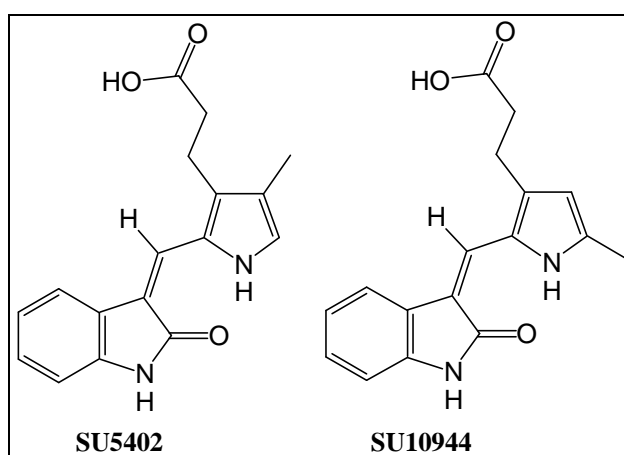


Figure 25 : Structure des SU5402 et SU10944.

Pour mieux comprendre comment le **SU5402** interagit avec l'enzyme, une étude de cristallographie aux rayons X du complexe FGFR1/SU5402 a été réalisée (**Figure 26**).

¹⁵ Sun, L.; Tran, N.; Tang, F.; App, H.; Hirth, P.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2588-2603.

¹⁶ Mohammadi, M.; McMahon, G.; Sun, L.; Tang, C.; Hirth, P.; Yeh, B.K.; Hubbard, S.R.; Schlessinger, J. *Science* **1997**, *276*, 955-960.

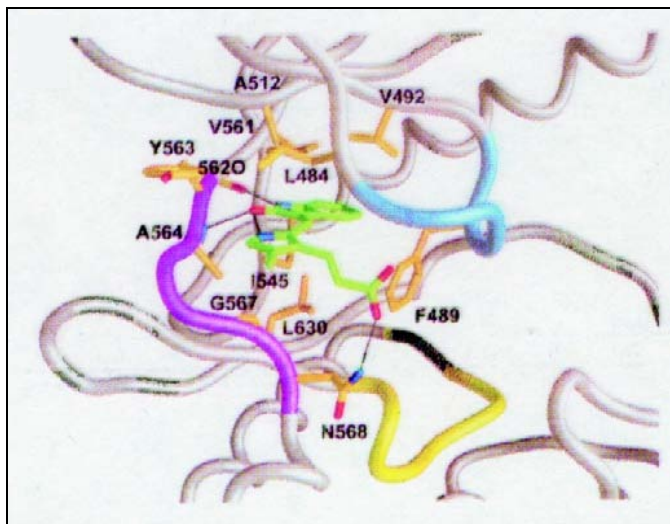


Figure 26 : Structure du complexe du SU5402 avec le site ATP du FGFR1.

Les études de radiocristallographie aux rayons X réalisées sur le complexe FGFR1/SU5402 ont montré que la partie oxindole se lie au domaine de liaison de l'adénine et utilise le même réseau de liaisons hydrogène que l'ATP. Ainsi, l'hydrogène porté par l'atome d'azote indolique établit une liaison hydrogène avec un groupement carbonyle du résidu Glu⁵⁶² et l'atome d'oxygène de la fonction carbonyle de l'oxindole établit une liaison hydrogène avec le NH du résidu Ala⁵⁶⁴. La spécificité du SU5402 pour le FGFR1 provient de la formation d'une liaison hydrogène supplémentaire entre la fonction acide carboxylique située à l'extrémité de la chaîne latérale en position 3' du noyau pyrrole et le résidu Asn⁵⁶⁸. De plus, on observe la formation d'une liaison hydrogène intramolécule entre l'atome d'hydrogène porté par l'azote du motif pyrrole et l'atome d'oxygène de la partie oxindole. Cette liaison hydrogène permet de maintenir les deux motifs hétérocycliques dans un même plan, ce qui semble nécessaire à l'activité de ce composé car des analogues substitués par un groupement méthyle sur l'atome d'azote du noyau pyrrole ne présentent aucune activité.¹⁶

Le SU10944, un isomère de position du SU5402, est décrit comme un inhibiteur sélectif des récepteurs de facteurs de croissance VEGFR avec des IC₅₀ de l'ordre du nanomolaire (96 ± 20 nM pour VEGFR1 et 21 ± 5 nM pour VEGFR2).¹⁷

¹⁶ Mohammadi, M.; McMahon, G.; Sun, L.; Tang, C.; Hirth, P.; Yeh, B.K.; Hubbard, S.R.; Schlessinger, J. *Science* **1997**, 276, 955-960.

¹⁷ Patel, N.; Sun, L.; Moshinsky, D.; Chen, H.; Leahy, K.M.; Le, P.; Moss, K.G.; Wang, X.; Rice, A.; Tam, D.; Laird, A.D.; Yu, X.; Zhang, Q.; Tang, C.; Machon, G.; Howlett, A. *J. Pharm. Exp. Therap.* **2003**, 306, 838-845.

IV-1-1-b- Le SU5416, le SU6668 et leurs analogues

Les activités inhibitrices du **SU5416** (connu sous le nom de Semaxinib) et de son analogue **SU6668** ont été évaluées sur plusieurs kinases et les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous (**Figure 27, Tableau 2**).

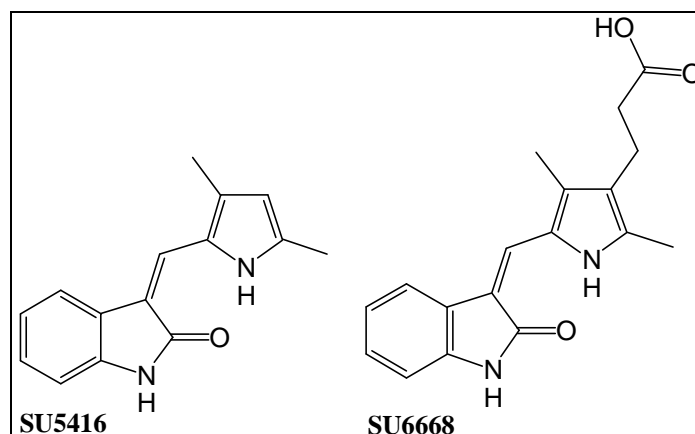


Figure 27 : Structure des SU5416 et SU6668.

Composés	VEGFR1	VEGFR2	VEGFR3	PDGFR β	CSFR1	Flt3
SU5416	43 \pm 11	220 \pm 34	54 \pm 4	68 \pm 2	84 \pm 4	35 \pm 4
SU6668	15 \pm 3	200 \pm 15	10 \pm 2	39 \pm 1	45 \pm 2	26 \pm 7

Tableau 2 : IC₅₀ (nM) des SU5416 et SU6668 sur différentes kinases.

Le **SU5416** et le **SU6668** sont des inhibiteurs de VEGFR et de PDGFR β . Ils inhibent également le CSFR1 (granulocyte-macrophage Colony Stimulating Factor Receptor) et la Flt3. De plus, ces deux inhibiteurs présentent des effets anti-angiogéniques ainsi qu'une activité antitumorale intéressante.¹⁸

L'activité accrue du **SU6668** est probablement liée à la présence de la fonction acide carboxylique qui augmente la solubilité.

En effet, l'étude de la solubilité des **SU6668** et **SU5416**, dans une solution tampon (KCl/HCl pour pH 2 ou phosphate pour pH 6) montre que le **SU6668** est soluble à une concentration de 18 μ g/mL à pH 6 alors que le **SU5416** montre une limite de solubilité de 1 μ g/mL quel que soit le pH.²

¹⁸ Manley, P.W.; Bold, G.; Brüggem, J.; Fendrich, G.; Furet, P.; Mestan, J.; Schenell, C.; Stolz, B.; Meyer, T.; Meyhack, B.; Stark, W.; Strauss, A.; Wood, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1697, 17-27.

² Sun, L.; Liang, C.; Shirazian, S.; Zhou, Y.; Miller, T.; Cui, J.; Fukuda, J.Y.; Chu, J.-Y.; Nematalla, A.; Wang, X.; Chen, H.; Sistla, A.; Luu, T.C.; Tang, F.; Wei, J.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 1116-1119.

Les études cliniques réalisées sur le **SU5416** seul ont été stoppées en raison de résultats décevants en phase clinique II. Cependant, son utilisation combinée à l'irinotecan ou au 5-fluorouracile est en étude de phase clinique I et donne des résultats très satisfaisants sur des tumeurs du côlon en stade métastatique.¹⁹

Quant au **SU6668**, plus soluble que le **SU5416**, il peut être administré par voie orale et il est actuellement en études cliniques de phase II.²⁰

Récemment Kammasu *et al.* ont préparé un nouvel analogue du **SU6668**, le **NP603**, décrit comme étant un inhibiteur puissant des FGFR (**Figure 28**).²¹

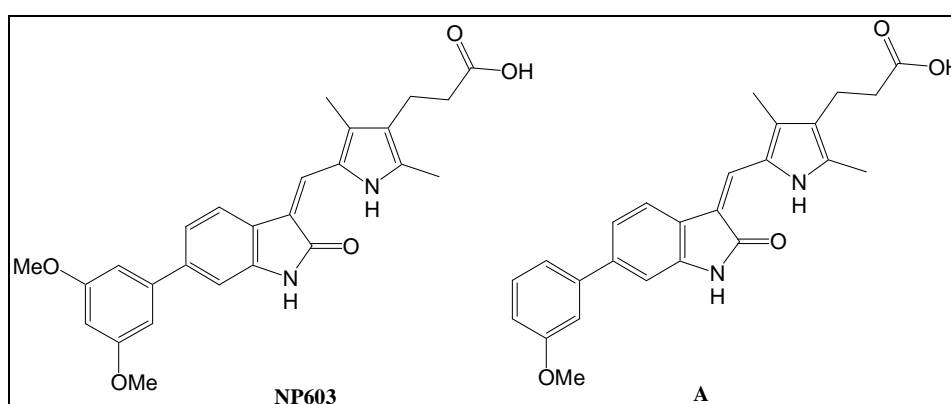


Figure 28 : Structure du NP603 et du composé A.

Les études menées sur le **NP603** et son analogue **A** (précédemment décrit par les laboratoires Sugen) ont montré que ces composés présentent une activité inhibitrice *in vitro* sur le FGFR1, avec une IC₅₀ de 0,4 μM pour le **NP603** et de 1,2 μM pour le composé A.

Pour expliquer l'activité inhibitrice du composé **NP603**, des études de modélisation moléculaire avec le site actif du domaine kinase du FGFR1 ont été effectuées. Elles ont permis de mettre en évidence, en plus des interactions du lactame avec les résidus Glu⁵⁶² et Ala⁵⁶⁴, la présence d'interactions hydrophobes entre le récepteur et le groupement diméthoxyphényle de l'inhibiteur (**Figure 29**).

¹⁹ Schenone, S.; Bondavalli, F.; Botta, M. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 2495-2516.

²⁰ Tkachenko, S.E.; Balakin, K.V.; Kiselyov, A. *Expert Opin. Investig. Drugs* **2007**, *16*, 83-107.

²¹ Kammasud, N.; Boonyarat, C.; Tsunoda, S.; Sakurai, H.; Saiki, I.; Grierson, D.S.; Vajragupta, O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4812-4818.

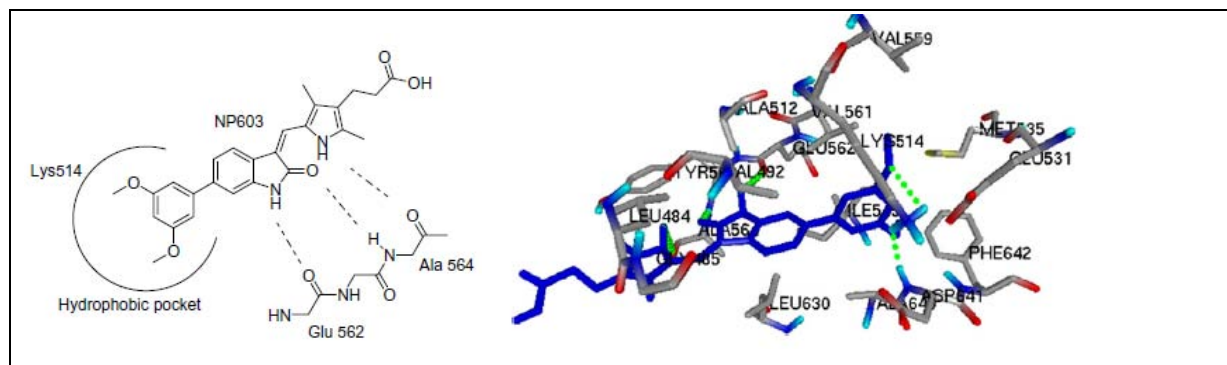


Figure 29 : Interactions établies entre le NP603 et le FGFR1.

IV-1-1-c- Le SU11274 et le PHA-665752 ^{22,23}

Le **SU11274** et le **PHA-665752** ont été décrits en tant qu'inhibiteurs sélectifs de la tyrosine kinase **Met** (Figure 30).

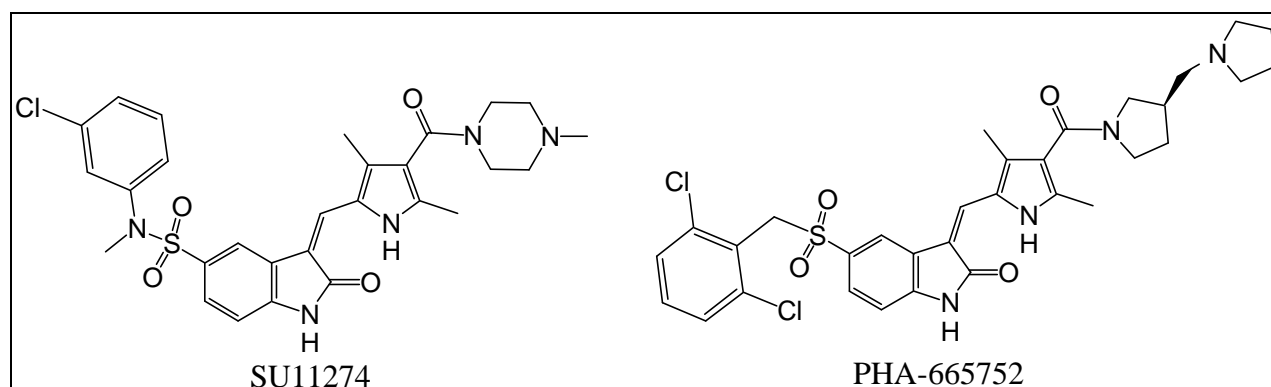


Figure 30 : Structure des SU11274 et PHA-665752.

Le **SU11274** et le **PHA-665752** possèdent des IC_{50} sur la kinase Met respectivement de 0,02 μ M et 9 nM.

Compte tenu de l'implication de la kinase Met dans la régulation de la croissance et la survie des tumeurs ainsi que dans les phénomènes de métastases, ces deux inhibiteurs sont de bons candidats pour le développement de nouveaux agents thérapeutiques.

²² Sattler, M.; Pride, Y.B.; Ma, P.; Gramlich, J.L.; Chu, S.C.; Quinnan, L.A.; Shirazian, S.; Liang, C.; Podar, K.; Christensen, J.G.; Salgia, R. *Cancer Research* **2003**, *63*, 5462-5469.

²³ Christensen, J.G.; Schreck, R.; Burrows, J.; Kuruganti, P.; Chan, E.; Le, P.; Chen, J.; Wang, X.; Ruslin, L.; Blake, R.; Lipson, K.E.; Ramphal, J.; Do, S.; Cui, J.J.; Cherrington, J.M.; Mendel, D.B. *Cancer Research* **2003**, *63*, 7345-7355.

IV-1-1-d- Le SU11248

Récemment mis sur le marché sous le nom de Sutent (connu sous le nom de Sunitinib), le **SU11248** est un analogue du **SU6668** modifié au niveau de la chaîne acide carboxylique et substitué en position 5 de l'oxindole par un atome de fluor (**Figure 31**).

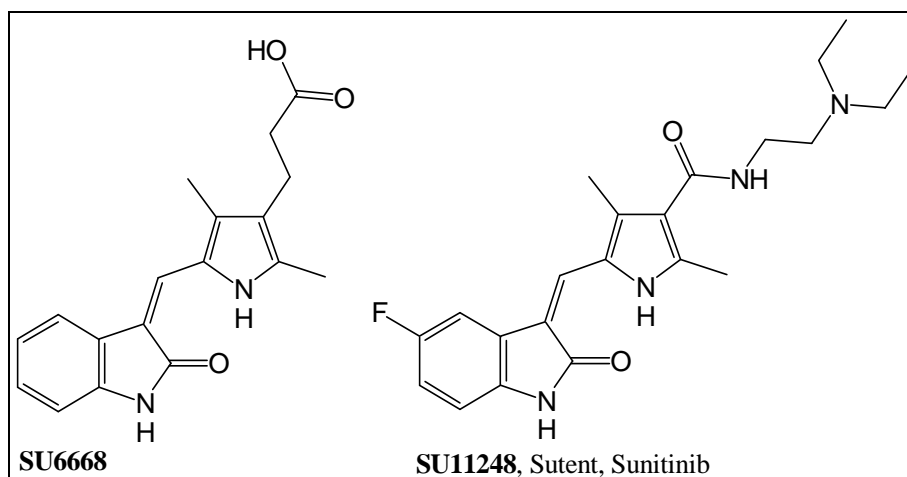


Figure 31 : Structure des SU6668 et SU11248.

Le Sunitinib inhibe les VEGFR1-3, PDGFR β , CSFR1 et Flt3 avec des activités inhibitrices d'ordre nanomolaire, et à une plus forte concentration le FGFR1 (**Tableau 3**).¹⁸

Composé	VEGFR1	VEGFR2	VEGFR3	PDGFR β	CSFR1	Flt3	FGFR1
SU11248	15 \pm 1	38 \pm 11	30 \pm 6	55 \pm 1	35 \pm 6	21 \pm 5	675 \pm 69

Tableau 3 : IC₅₀ (nM) du SU11248 sur diverses kinases.

L'ensemble des modifications structurales apportées au **SU6668** pour accéder au **SU11248** a augmenté la solubilité dans l'eau de manière significative. En effet, le **SU11248** est soluble dans une solution tampon (KCl/HCl pour pH 2 ou phosphate pH 6) à une concentration de 2,9 mg/mL à pH 2 et 0,5 mg/mL à pH 6 alors que la meilleure solubilité du **SU6668** est de 18 μ g/mL à pH 6.²

De ce fait, le Sunitinib est administré par voie orale. Il présente une activité anti-angiogénique sur un large panel de tumeurs (stromales, gastrointestinales, renales).¹⁹

¹⁸ Manley, P.W.; Bold, G.; Brüggem, J.; Fendrich, G.; Furet, P.; Mestan, J.; Schenell, C.; Stolz, B.; Meyer, T.; Meyhack, B.; Stark, W.; Strauss, A.; Wood, J. *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, *1697*, 17-27.

² Sun, L.; Liang, C.; Shirazian, S.; Zhou, Y.; Miller, T.; Cui, J.; Fukuda, J.Y.; Chu, J.-Y.; Nematalla, A.; Wang, X.; Chen, H.; Sistla, A.; Luu, T.C.; Tang, F.; Wei, J.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 1116-1119.

¹⁹ Schenone, S.; Bondavalli, F.; Botta, M. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 2495-2516.

IV-1-1-e- Le SU14813¹⁹

Le **SU14813** est un analogue du Sunitinib possédant une chaîne solubilisante modifiée. L'activité inhibitrice de ce composé a été évaluée sur diverses kinases (**Figure 32, Tableau 4**).

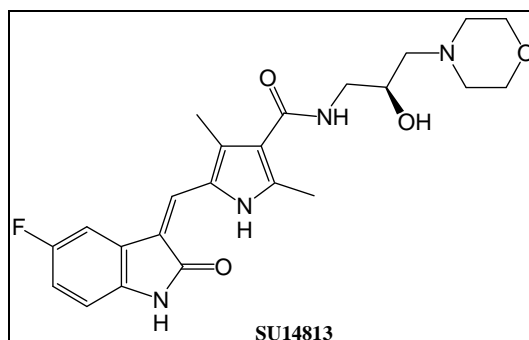


Figure 32 : Structure du SU14813.

Composé	VEGFR1	VEGFR2	PDGFR	Kit
SU14813	2	50	4	15

Tableau 4 : IC₅₀ du SU14813 (nM) sur VEGFR1, VEGFR2, PDGFR et Kit.

Ce composé inhibe les VEGFR, PDGFR et Kit. Il inhibe également la prolifération, la migration et la survie des cellules endothéliales et/ou cellules tumorales exprimant ces récepteurs à activité tyrosine kinase avec des IC₅₀ allant de 6 à 50 nM. In vivo, le **SU14813** est utilisé comme un agent anticancéreux seul, ou en combinaison avec d'autres agents thérapeutiques qui réduisent la croissance tumorale et l'angiogénèse.

Le **SU14813** est actuellement en étude de phase clinique II pour le traitement des tumeurs malignes avancées.

IV-1-1-f- Le BX-517^{24,25}

Récemment, le laboratoire Berlex Biosciences a réalisé un screening qui a permis de mettre en évidence l'inhibition modérée de la PDK1 par le **SU4314** (IC₅₀ = 0,52 μM). Afin d'augmenter

¹⁹ Schenone, S.; Bondavalli, F.; Botta, M. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 2495-2516.

²⁴ Islam, I.; Bryant, J.; Chou, Y.-L.; Kochanny, M.J.; Lee, W.; Philips, G.B.; Yu, H.; Adler, M.; Whitlow, M.; Ho, E.; Lentz, D.; Polokoff, M.A.; Subramanyam, B.; Wu, J.M.; Zhu, D.; Feldman, I.R.; Arnaiz, D.O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3814-3818.

²⁵ Islam, I.; Brown, G.; Bryant, J.; Hrvatin, P.; Kochanny, M.J.; Philips, G.B.; Yuan, S.; Adler, M.; Whitlow, M.; Lentz, D.; Polokoff, M.A.; Wu, J.; Shen, J.; Walters, J.; Ho, E.; Subramanyam, B.; Zhu, D.; Feldman, I.R.; Arnaiz, D.O. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3819-3825.

l'activité et la sélectivité de ce composé, plusieurs modifications structurales ont été apportées au **SU4314** ce qui a conduit au composé **B** et au **BX-517** (**Figure 33**).

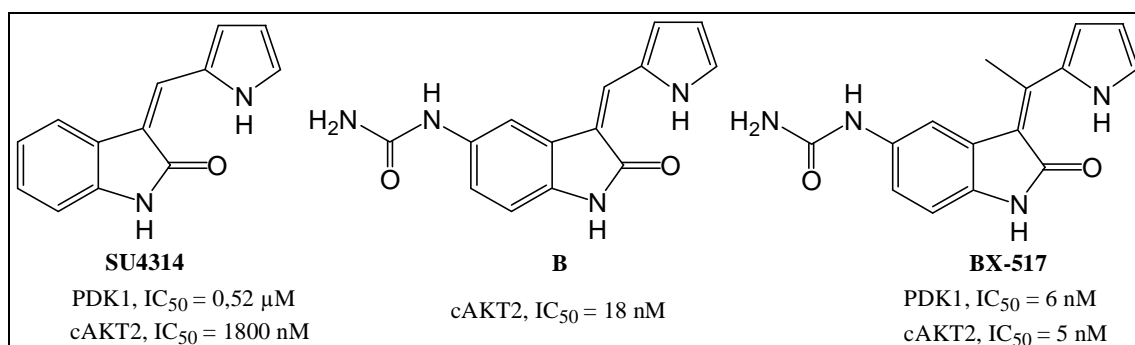


Figure 33 : Structure du **SU4314**, du composé **B** et du **BX-517**, et leurs activités sur **cAKT2** et **PDK1**.

Les activités de ces composés sur PDK1 et cAKT2 ont été évaluées. Ainsi, le motif urée en position 5 de l'oxindole du composé **B** a permis d'augmenter l'activité du composé **B** sur cAKT2 de plus de 100 fois par rapport au **SU4314**. Le méthyle sur le carbone éthylénique exocyclique du **BX-517** a également amélioré l'activité du **BX-517** sur cAKT2.

Des études de cristallographie aux rayons X du complexe **BX-517**/PDK1 ont montré que le motif oxindole se lie au même site de liaison que l'adénine de l'ATP, où il établit les liaisons hydrogène essentielles à son activité. Ainsi le NH et le CO de l'oxindole établissent des liaisons hydrogène respectivement avec le CO de la Ser¹⁶⁰ et le NH de l'Ala¹⁶², alors que le NH du pyrrole établit une liaison hydrogène avec le CO de l'Ala¹⁶² (**Figure 34**).

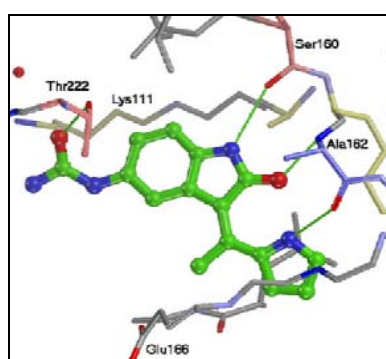


Figure 34 : Le **BX-517** en complexe avec la **PDK1**.

Cependant, malgré la puissante activité inhibitrice du **BX-517**, il présente une faible solubilité et biodisponibilité. Pour cela, différentes modifications structurales ont été effectuées pour optimiser le profil pharmacologique de ce composé.

Ainsi, différentes substitutions ont été effectuées en position 4' du **BX-517** (**Figure 35**) :

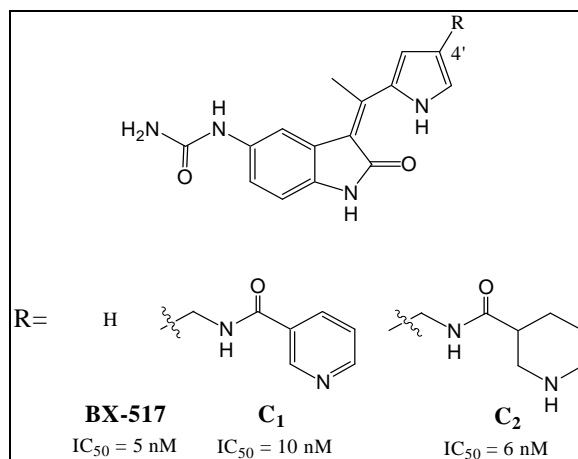


Figure 35 : Structure du BX-517 et de ses analogues, et leurs activités inhibitrices sur cAKT2.

Parmi les différents analogues préparés, seuls les composés **C₁** et **C₂** présentent des propriétés pharmacocinétiques meilleures que celles du **BX-517**, avec des propriétés inhibitrices comparables sur cAKT2.

IV-1-1-g- Autres analogues de 3-(pyrrolylméthylidène)indolin-2-ones²⁶

Le **SU9516** est un inhibiteur sélectif de la CDK2 avec une constante d'inhibition de 0,031 μM (sur la CDK2/cycline A) (**Figure 36**).

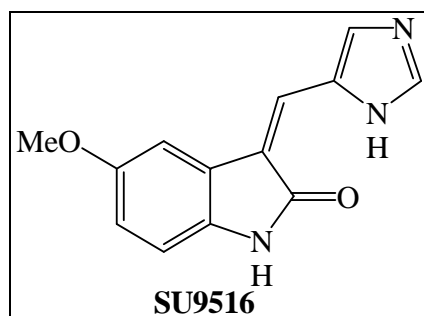


Figure 36 : Structure du SU9516.

Des études de cristallographie aux rayons X ont été effectuées sur le **SU9516**. Ces études ont permis de montrer que ce composé se lie dans la poche de fixation de l'ATP. Ainsi, le NH de l'imidazole et le CO de l'oxindole établissent respectivement des liaisons hydrogène avec les CO et NH de la Leu⁸³, tandis que le NH de l'oxindole établit une liaison hydrogène avec le CO du Glu⁸¹ (**Figure 37**).

²⁶ Moshinsky, D.J.; Bellamacina, C.R.; Boisvert, D.C.; Huang, P.; Hui, T.; Jancarik, J.; Kim, S.-H.; Rice, A.G. *Biochem. Biophys. Research Comm.* **2003**, *310*, 1026-1031.

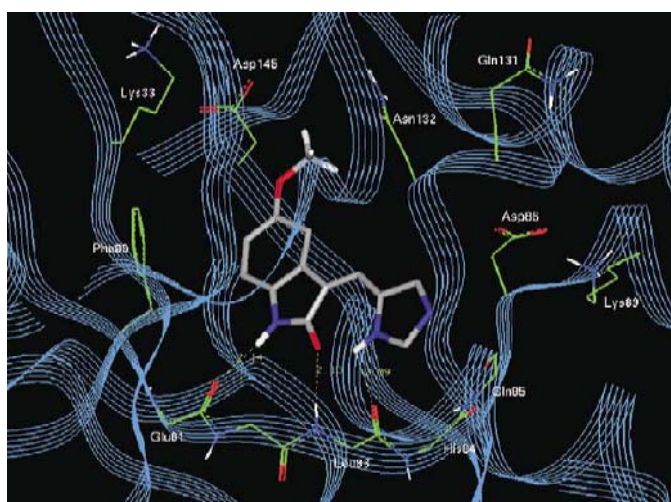


Figure 37 : Structure cristalline de la CDK2 en complexe avec le SU9516.

Des études de relations structure-activité ont été effectuées afin d'améliorer l'activité du **SU9516**. Ces études ont permis d'obtenir deux nouvelles familles de produits : les familles A et B (Figure 38, Tableau 5).

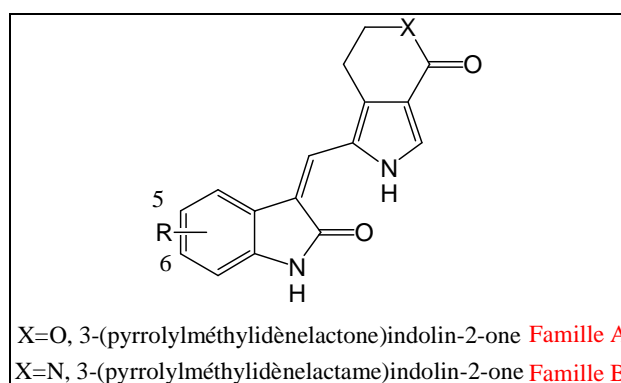


Figure 38 : Structure des familles A et B d'analogues du SU9516.

Composés	CDK2/cycline A
SU9516	0,11
X= O, R= 5-OMe	0,04
X= O, R= 5-SO₂NHCH₃	0,004
X= N, R= 5-OMe	0,25
X= N, R= 5-SO₂NHCH₃	0,009

Tableau 5 : IC₅₀ (μM) du SU9516 et des composés des deux familles A et B sur la CDK2/cycline A.

Les composés possédant un motif lactone (Famille A) possèdent une meilleure activité inhibitrice de la CDK2 que les dérivés possédant un motif lactame (Famille B) et que le **SU9516**.²⁷

IV-1-2- Les benzylidèneindolin-2-ones

Une étude de relations structure-activité a été effectuée à partir du chef de file de cette famille, le **SU4312**. Ainsi, divers substituants ont été étudiés, notamment en position 4', tels que des groupements morpholino, pipérazino, pyrrolidino et pipéridino. Parmi les composés préparés, le **SU4984** présente les meilleures activités inhibitrices sur Flk1 et PDGFR avec des IC₅₀ respectives de 1,6 μM et 5,1 μM (**Figure 39**).¹⁵

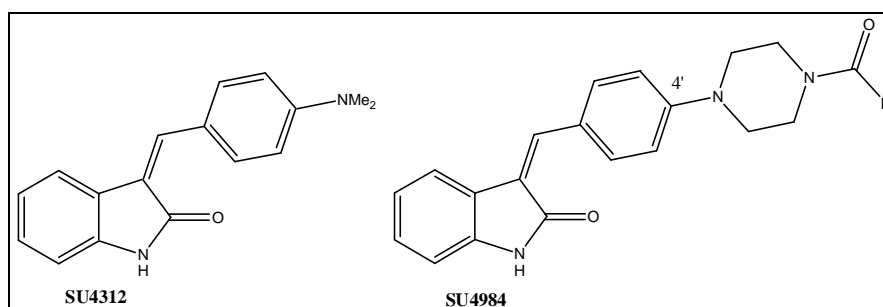


Figure 39 : Structure des SU4984 et SU4312.

Le complexe FGFR1/SU4984 a été cristallisé et les études de radiocristallographie aux rayons X réalisées sur ce complexe ont montré qu'il se fixait dans le site de liaison de l'ATP du FGFR1 par l'intermédiaire du même réseau de liaisons hydrogène que l'adénine de l'ATP (**Figure 40**).¹⁶

²⁷ Li, X.; Huang, P.; Cui, J.J.; Zhang, J.; Tang, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 1939-1942.

¹⁵ Sun, L.; Tran, N.; Tang, F.; App, H.; Hirth, P.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 2588-2603.

¹⁶ Mohammadi, M.; McMahon, G.; Sun, L.; Tang, C.; Hirth, P.; Yeh, B.K.; Hubbard, S.R.; Schlessinger, J. *Science* **1997**, 276, 955-960.

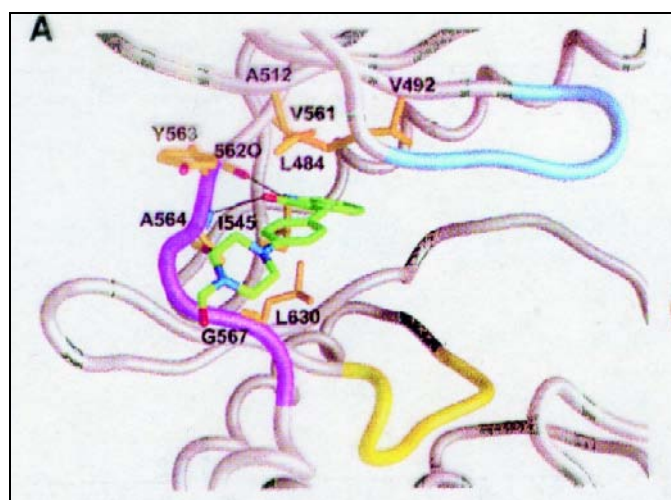


Figure 40 : Le SU4984 en complexe avec le FGFR1.

Les scientifiques des laboratoires GlaxoWellcome ont préparé plusieurs autres analogues du **SU4312** diversement substitués, notamment en position 5 (**Figure 41**).²⁸

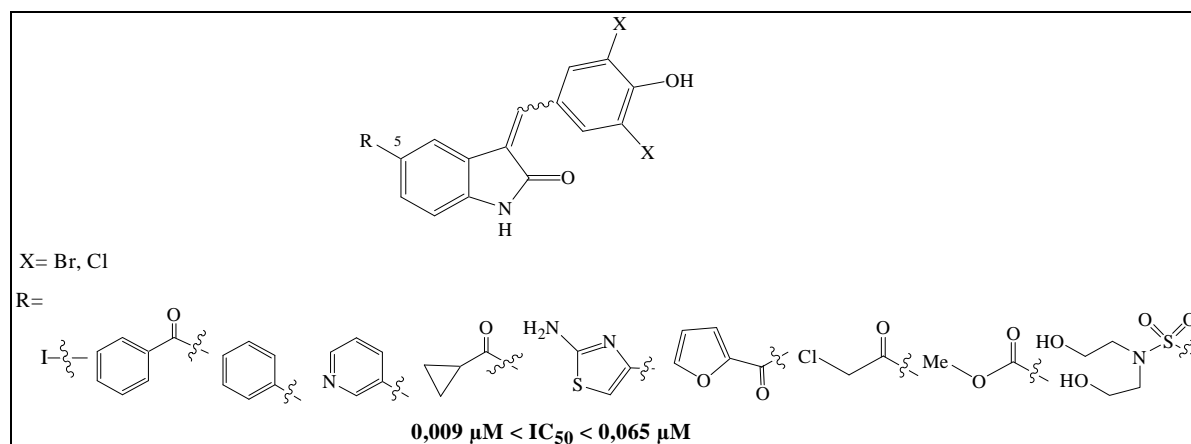


Figure 41 : Structure des composés décrits par GlaxoWellcome, et leurs IC_{50} sur c-Raf1.

Ces composés sont 100 fois plus sélectifs de la kinase c-Raf1 par rapport aux autres enzymes testées telles que les CDK1, CDK2, c-Src et VEGFR2.

Rizzi et *al.* ont identifié une nouvelle série d'inhibiteurs de la Ret kinase portant une fonction arylurée. La structure générale est indiquée **Figure 42**.²⁹

²⁸ Lackey, K.; Cory, M.; Davis, R.; Frye, S.V.; Harris, P.A.; Hunter, R.N.; Jung, D.K.; McDonald, O.B.; McNutt, R.; Peel, M.R.; Rutkowske, R.D.; Veal, J.M.; Wood, E.R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 223-226.

²⁹ Rizzi, E.; Cassinelli, G.; Dallavalle, S.; Lanzi, C.; Cincinelli, R.; Nannei, R.; Cuccuru, G.; Zunino, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 3962-3968.

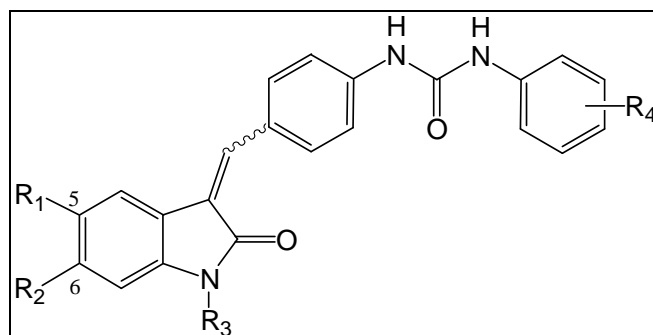


Figure 42 : Structure générale des 3-(arylurédobenzylidène)indolin-2-ones inhibiteurs de la kinase Ret.

L'étude de relations structure-activité effectuée sur cette série de composés a montré que le composé substitué d'une part par des groupements méthoxy en positions 5 et 6 et d'autre part par un hydroxy en para du groupement uréido (R_4) présente les meilleures activités inhibitrices sur la kinase Ret (**Figure 43**).

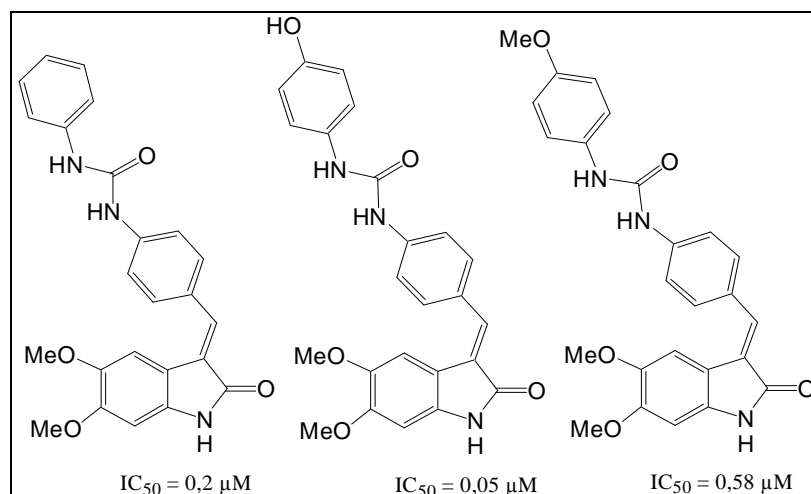


Figure 43 : Structure des composés les plus actifs de la série des 3-(arylurédobenzylidène)indolin-2-ones et leurs IC_{50} sur la kinase Ret.

IV-2- Les 3-(arylaminoéthylidène)indolin-2-ones et 3-arylhydrazonoindolin-2-ones

En 2001, le groupe GlaxoSmithKline a décrit une nouvelle famille d'inhibiteurs de CDK2 dont la structure générale est représentée **Figure 44**.³⁰

³⁰ Bramson, H. N.; Corona, J.; Davis, S. T.; Dickerson, S. H.; Edelstein M.; Frye, S. V.; Gampe, R. T.; Harris, P. A.; Hassell, A.; Holmes, W. D.; Hunter, R. N.; Lackey, K. E.; Lovejoy, B.; Luzzio, M J.; Montana, V.; Rosque, W. J.; Rusnak, D.; Shewchuk, L.; Veal, J. M.; Walker D. H.; Kuyper, L. F. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4339-4358.

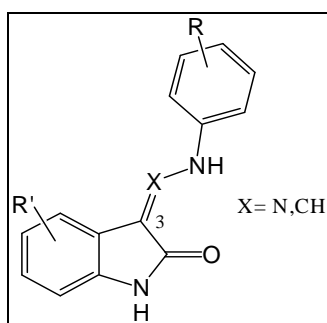


Figure 44 : Structure générale des composés décrit par GlaxoSmithKline.

Le premier chef de file de cette famille d'inhibiteurs est une hydrazone (composé **D₁**) (Figure 45). C'est un inhibiteur sélectif de la CDK2 par rapport à la CDK1 avec des IC_{50} de 60 nM et 780 nM, respectivement. La structure cristalline du complexe de ce composé avec la CDK2 a été résolue et a permis de développer une nouvelle génération de composés de type 3-(arylaminoéthylidène)indolin-2-one (composés **D₂** et **D₃**).

Le composé **D₂** est l'un des plus puissants inhibiteurs de cette nouvelle génération avec des IC_{50} de 0,54 nM sur la CDK2 et de 12 nM sur la CDK1. Quant à son analogue **D₃**, il est très sélectif de la CDK2 avec une IC_{50} de 9,7 nM. Cependant, on note également une affinité pour la CDK1 (IC_{50} = 100 nM), la CDK4 (IC_{50} = 130 nM), la GSK-3 (IC_{50} = 56 nM) et le VEGFR2 (IC_{50} = 22 nM).³¹

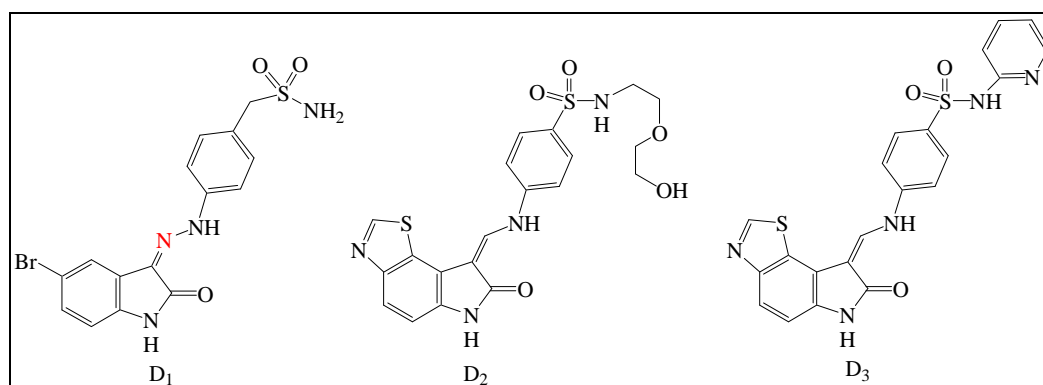


Figure 45 : Structure des composés **D₁**, **D₂** et **D₃**.

En 2004, les chercheurs du même laboratoire ont décrit d'autres dérivés de type 3-(arylaminoéthylène)indolin-2-one mais en tant qu'inhibiteurs sélectifs de TrkA vis-à-vis de la c-Raf1 et de la CDK2 (Figure 46, Tableau 6).³²

³¹ Huwe, A.; Mazitech, R.; Giannis, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2122-2138

³² Wood, E.R.; Kuyper, L.; Petrov, K.G.; Hunter, R.N.; Harris, P.A.; Lackey, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 953-957.

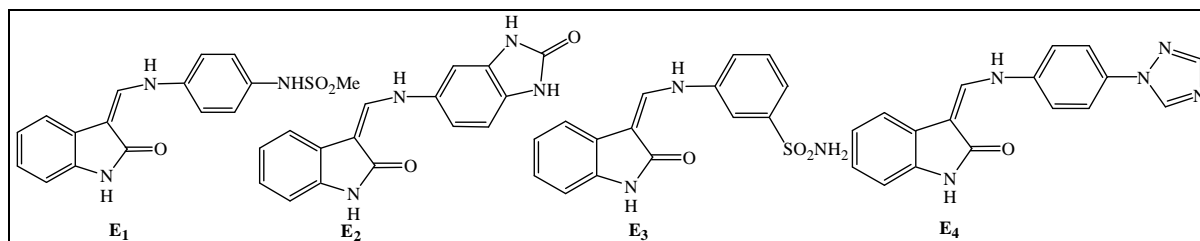


Figure 46 : Structure des composés sélectifs de la TrkA.

Composés	TrkA	c-Raf1	CDK2
E₁	0,006	>10	4,8
E₂	0,007	>10	2,5
E₃	0,063	>10	>10
E₄	0,008	>10	7,2

Tableau 6 : IC₅₀ (μM) des composés E₁-E₄ sur TrkA, cRaf1 et CDK2.

Les laboratoires Boehringer se sont également intéressés au motif oxindole pour concevoir des inhibiteurs puissants et compétitifs de l'ATP (**Figure 47**).¹⁹

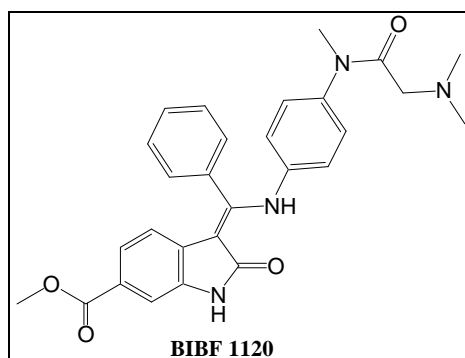


Figure 47 : Structure du BIBF 1120.

En particulier, le **BIBF 1120** présente une activité inhibitrice d'ordre nanomolaire sur les VEGFR1, 2 et 3 avec des IC₅₀ respectives de 40 nM, 28 nM et 142 nM. Actuellement, Le **BIBF 1120** est en études de phase clinique I.

IV-3- Les dérivés possédant un motif azaindolin-2-one²⁸

Le groupe GlaxoSmithKline a décrit des dérivés possédant un motif azaoxindolique comme inhibiteurs de TrkA, relativement sélectifs par rapport aux kinases c-Raf1 et CDK2, avec des IC₅₀ allant de 0,01 à 0,06 μM sur TrkA (**Figure 48, Tableau 7**).

¹⁹ Schenone, S.; Bondavalli, F.; Botta, M. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 2495-2516.

²⁸ Lackey, K.; Cory, M.; Davis, R.; Frye, S.V.; Harris, P.A.; Hunter, R.N.; Jung, D.K.; McDonald, O.B.; McNutt, R.; Peel, M.R.; Rutkowske, R.D.; Veal, J.M.; Wood, E.R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 223-226.

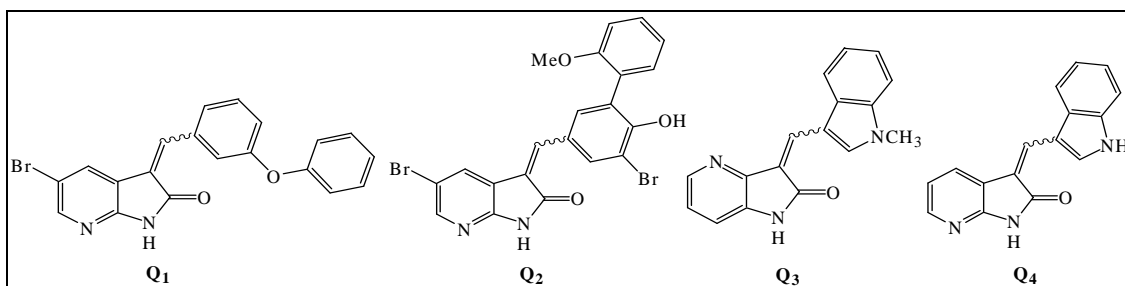


Figure 48 : Structure des composés possédant un motif azaindolin-2-one.

Composé	TrkA	c-Raf1	CDK2
Q₁	0,061	>50	>50
Q₂	0,008	0,70	10,4
Q₃	0,002	>12	>7
Q₄	0,012	7,2	>6

Tableau 7 : IC₅₀ (μM) des composés Q₁-Q₄ sur TrkA, c-Raf1 et CDK2.

IV-4- Les 3-(Quinolénylidène)indolin-2-ones^{19,33}

Le groupe pharmaceutique Yamanouchi s'est intéressé aux oxindoles substitués en position 3 par une 1,2-dihydroquinoléine (**Figure 49**). Ces composés ont été décrits en tant qu'inhibiteurs de VEGFR2.

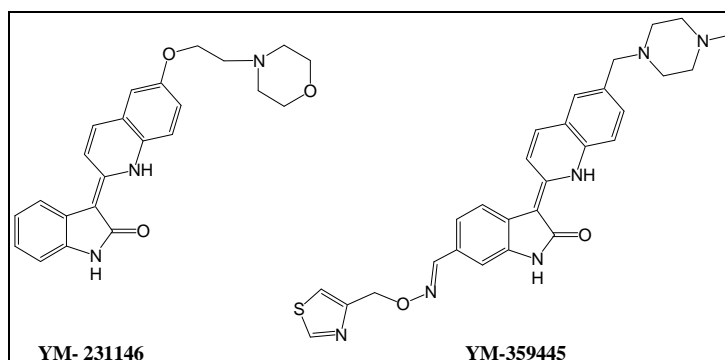


Figure 49 : Structure des composés YM-231146 et YM-359445.

Le composé **YM-231146** et son analogue **YM-359445**, décrits sous forme de sel d'acide tartrique, inhibent le VEGFR2 avec des IC₅₀ de 80 nM et 8,5 nM, respectivement.

IV-5- La famille des indirubines

L'indirubine est un isomère de l'indigo. Il est présent dans le mélange de plantes *Danggui Longhui Wan*, utilisé depuis 4000 ans en Chine dans le traitement de maladies comme la leucémie (**Figure 50**).³¹

¹⁹ Schenone, S.; Bondavalli, F.; Botta, M. *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 2495-2516.

³³ Amino, N.; Ideyama, Y.; Yamano, M.; Kuromitsu, S.; Tajinda, K.; Samizu, K.; Matsuhisa, A.; Shirasuna, K.; Kudoh, M.; Shibasaki, M. *Biol. Pharma. Bull.* **2005**, *28*, 2096-2101.

³¹ Huwe, A.; Mazitech, R.; Giannis, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2122-2138.

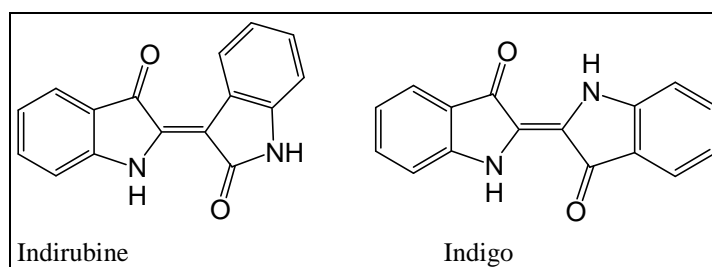


Figure 50 : Structure de l'indirubine et de l'indigo.

En 1999, lors d'un criblage de plantes médicinales chinoises, Hossel et *al.* ont découvert que l'indirubine et ses analogues sont des inhibiteurs puissants et sélectifs des kinases cycline-dépendantes (CDKs).³⁴ En 2001, Leclerc et *al.* ont montré que les indirubines sont également des inhibiteurs puissants de la GSK-3 β (Figure 51, Tableau 8).³⁵

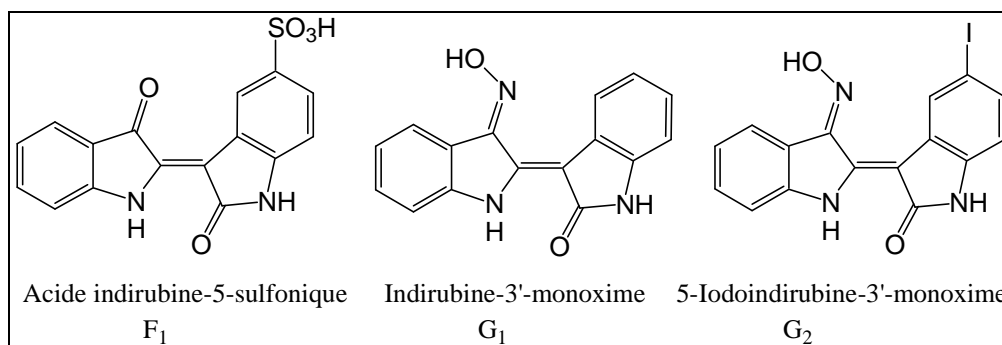


Figure 51 : Structure d'analogues de l'indirubine.

Composés	CDK1/B	CDK2/A	CDK2/E	CDK4/D	CDK5/p35	GSK-3 β
Indirubine	10	2,2	7,5	12	5,5	0,6
F₁	0,055	0,035	0,15	0,3	0,065	0,28
G₁	0,18	0,44	0,25	3,33	0,1	0,022
G₂	0,025	—	—	—	0,02	0,009

Tableau 8: IC₅₀ (μ M) des indirubines F₁, G₁ et G₂ sur diverses kinases.

L'étude de l'activité inhibitrice de l'indirubine et de ses analogues montre que les composés F₁, G₁ et G₂ sont plus actifs que l'indirubine.³¹

La cocrystallisation des analogues F₁ et G₁ de l'indirubine avec la CDK2 a montré que ces composés établissent des liaisons hydrogène dans la poche de fixation de l'ATP. Ainsi, l'hydrogène porté par l'atome d'azote N1' de l'oxindole établit une liaison avec le carbonyle du Glu⁸¹ et le carbonyle de l'oxindole établit une autre liaison avec le NH de la Leu⁸³. Une

³⁴ Hoessel, R.; Leclerc, S.; Endicott, J.A.; Nobel, M.E.M.; Lawrie, A.; Tunnah, P.; Leost, M.; Damiens, E.; Marie, D.; Marko, D.; Niederberger, E.; Tang, W.; Einsenbrand, G.; Meijer, L. *Nature Cell Bio.* **1999**, *1*, 60-67.

³⁵ Meijer, L.; Skaltsounis, A.-L.; Magiatis, P.; Polychronopoulos, P.; Knockaert, M.; Leost, M.; Ryan, X.P.; Vonica, C.A.; Brivanlou, A.; Dajani, R.; Crovace, C.; Tarricone, C.; Musacchio, A.; Roe, S.M.; Pearl, L.; Greengrad, P. *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1255-1266.

³¹ Huwe, A.; Mazitech, R.; Giannis, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2122-2138.

troisième liaison hydrogène est établie entre l'hydrogène du N1 et le carbonyle de la Leu⁸³. En plus de ces trois liaisons hydrogène présentes dans les deux complexes, on note la présence d'une interaction ionique entre le groupement sulfonate du composé **F₁** et la Lys³³ (**Figure 52**).³⁴

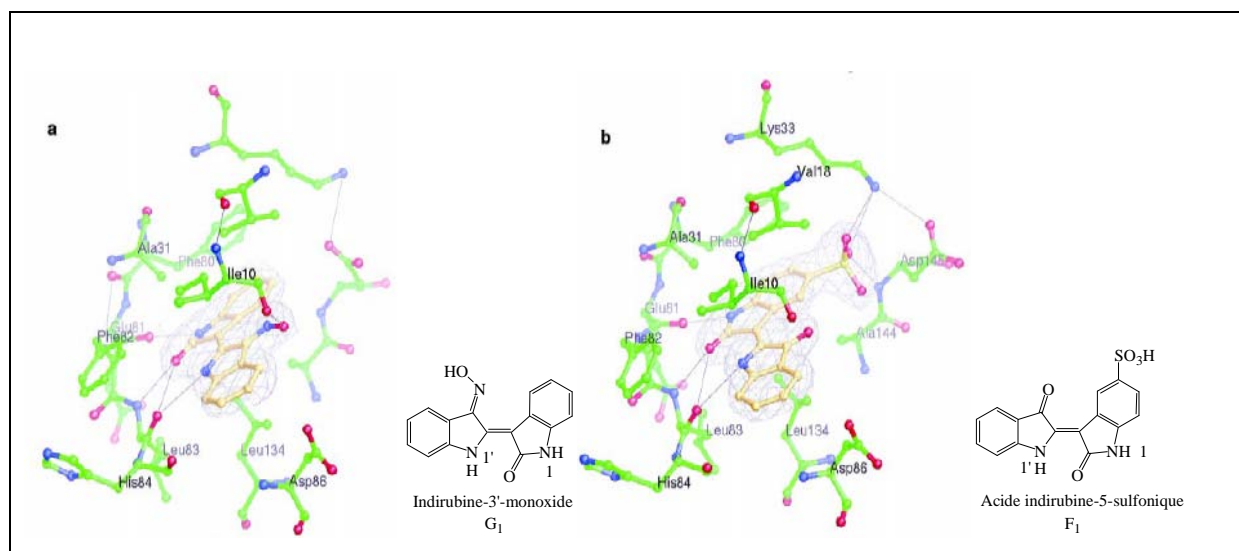


Figure 52 : Les composés **F₁ et **G₁** en complexe avec la CDK2.**

Afin de découvrir de nouveaux analogues de l'indirubine plus puissants et plus sélectifs, Meijer et *al.* sont parvenus à extraire et à identifier diverses bromo-indirubines à partir de mollusques marins *H. trunculus*. Parmi ces composés, il a été montré que la 6-bromoindirubine est un inhibiteur puissant de GSK-3.³⁵

Afin d'améliorer la solubilité et l'activité inhibitrice de ces composés, des analogues 3'-oxime ont été préparés, et leurs activités inhibitrices ont été étudiées sur certaines kinases (**Figure 53, Tableau 9**).

³⁴ Hoessel, R.; Leclerc, S.; Endicott, J.A.; Nobel, M.E.M.; Lawrie, A.; Tunnah, P.; Leost, M.; Damiens, E.; Marie, D.; Marko, D.; Niederberger, E.; Tang, W.; Einsenbrand, G.; Meijer, L. *Nature Cell Bio.* **1999**, *1*, 60-67.

³⁵ Meijer, L.; Skaltsounis, A.-L.; Magiatis, P.; Polychronopoulos, P.; Knockaert, M.; Leost, M.; Ryan, X.P.; Vonica, C.A.; Brivanlou, A.; Dajani, R.; Crovace, C.; Tarricone, C.; Musacchio, A.; Roe, S.M.; Pearl, L.; Greengrad, P. *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1255-1266.

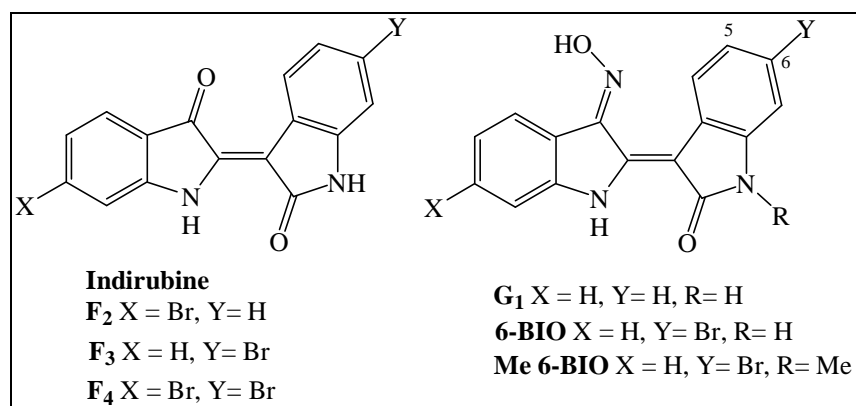


Figure 53 : Structure des indirubines bromées ou non en position 6.

Composés	GSK-3 α/β	CDK1/cyclineB	CDK5/p25
Indirubine	1,00	10,00	10,00
F₂	22,00	>100	>100
F₃	0,0045	90,00	53,00
F₄	4,5	100,00	>100
G₁	0,022	0,18	0,10
6-BIO	0,005	0,32	0,083
Me 6-BIO	>100	73,00	>100

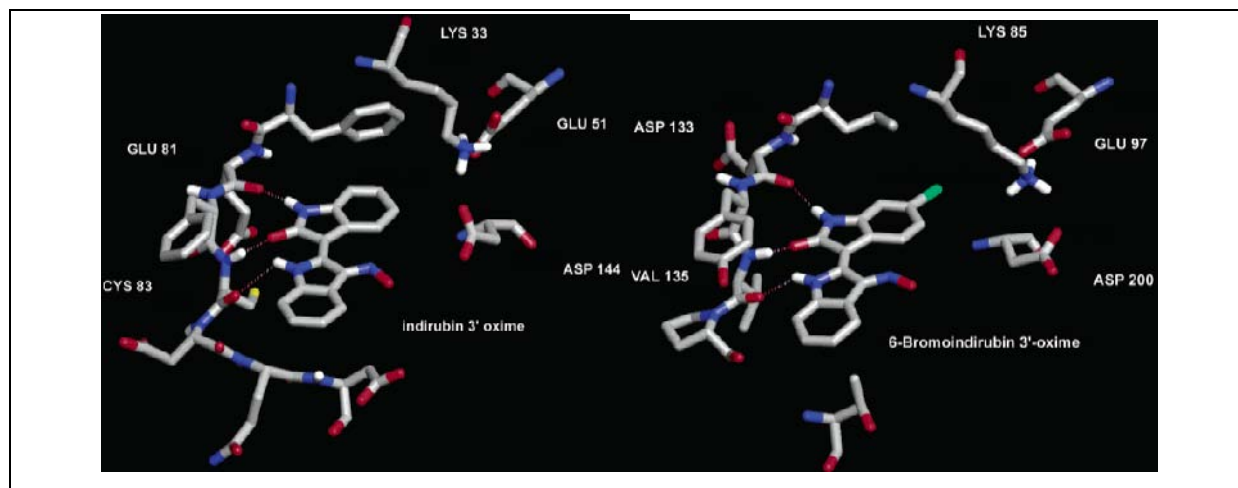
Tableau 9 : IC₅₀ (μ M) des indirubines bromées en position 6 sur diverses kinases.

Seul le composé **6-BIO** s'est révélé actif et sélectif de la GSK-3, tandis que son analogue méthylé sur l'azote N1 (**Me 6-BIO**) est totalement inactif.

La cocrystallisation de l'indirubine-3'-oxime **G₁** avec la CDK5 et celle du composé **6-BIO** avec la GSK-3 ont confirmé l'interaction des indirubines avec la poche de fixation de l'ATP des kinases cibles grâce à l'établissement de diverses liaisons hydrogène. Le complexe **G₁**/CDK5 montre la présence de liaisons entre l'hydrogène porté par l'atome N1' de l'oxindole et le CO du Glu⁸¹, le CO de l'oxindole et le NH de la Cys⁸³, et enfin entre l'hydrogène porté par le N1 et le CO de la Cys⁸³.

Quant au complexe **6-BIO**/GSK-3, trois liaisons hydrogène ont été observées. Ainsi, l'hydrogène porté par le N1' de l'oxindole établit une liaison avec le CO de l'Asp¹³³ tandis que le CO de l'oxindole interagit avec le NH de la Val¹³⁵. Enfin, l'hydrogène porté par le N1 établit une liaison hydrogène avec le CO de la Val¹³⁵ (**Figure 54**).³⁶

³⁶ Polychronopoulos, P.; Magiatis, P.; Skatsoumis, A.-L.; Myrianthopoulos, V.; Mikros, E.; Tarricone, A.; Musacchio, A.; Roe, S.M.; Pearl, L.; Leost, M.; Greengard, P.; Meijer, L. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 935-946.

Figure 54 : Les complexes $G_1/CDK5$ et 6-BIO/GSK-3.

Par ailleurs, l'étude des complexes inhibiteur/kinase a permis d'identifier une autre position de substitution (position 5) susceptible d'augmenter les interactions avec la GSK-3 ainsi que la solubilité et les propriétés pharmacocinétiques des indirubines.³⁵

De ce fait, de nombreuses indirubines substituées en positions 5 et/ou 6 ont été préparées et ont été testées sur les CDKs et les kinases GSK-3 α/β (Figure 55, Tableau 10).³⁶

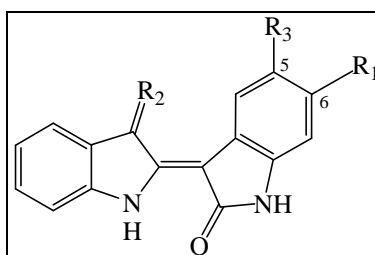


Figure 55 : Structure générale des indirubines substituées en positions 5 et/ou 6.

Composés	R ₁	R ₂	R ₃	CDK1/cyclineB	CDK5/p25	GSK-3 α/β
Indirubine	H	O	H	10,000	10,000	1,000
G₁	H	NOH	H	0,180	0,100	0,022
K₁	H	NOAc	H	1,200	0,700	0,200
F₃	Br	O	H	>100	53,000	0,045
6-BIO	Br	NOH	H	0,320	0,083	0,005
K₂	Br	NOAc	H	63,000	2,400	0,010
F₅	Br	O	CH ₃	30,000	60,000	0,025
G₃	Br	NOH	CH ₃	0,300	0,130	0,006
K₃	Br	NOAc	CH ₃	31,000	30,000	0,007

Tableau 10 : IC₅₀ (μ M) d'indirubines substituées sur diverses kinases.

³⁵ Meijer, L.; Skaltsounis, A.-L.; Magiatis, P.; Polychronopoulos, P.; Knockaert, M.; Leost, M.; Ryan, X.P.; Vonica, C.A.; Brivanlou, A.; Dajani, R.; Crovace, C.; Tarricone, C.; Musacchio, A.; Roe, S.M.; Pearl, L.; Greengard, P. *Chem. Biol.* **2003**, *10*, 1255-1266.

³⁶ Polychronopoulos, P.; Magiatis, P.; Skaltsounis, A.-L.; Myrianthopoulos, V.; Mikros, E.; Tarricone, A.; Musacchio, A.; Roe, S.M.; Pearl, L.; Leost, M.; Greengard, P.; Meijer, L. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 935-946.

L'étude de l'activité inhibitrice des composés préparés dans cette série a montré que pour la série de l'indirubine, la bromation en position 6 combinée à une substitution en position 5 (**F₅**) diminue l'activité inhibitrice vis-à-vis de la GSK-3 α/β par rapport au composé 6-bromo (**F₃**) et à l'indirubine. En revanche, dans la série des 3'-oximes, les composés **6-BIO** et **G₃** ont des IC₅₀ comparables sur les 3 kinases testées.

En 2004, Guengerich *et al.* ont décrit une nouvelle série d'indigos et d'indirubines mono ou disubstitués en positions 5 et/ou 5' obtenus grâce à l'oxydation de précurseurs indoliques par un cytochrome P450 mutant exprimé dans *E. coli* (**Figure 56**).³⁷

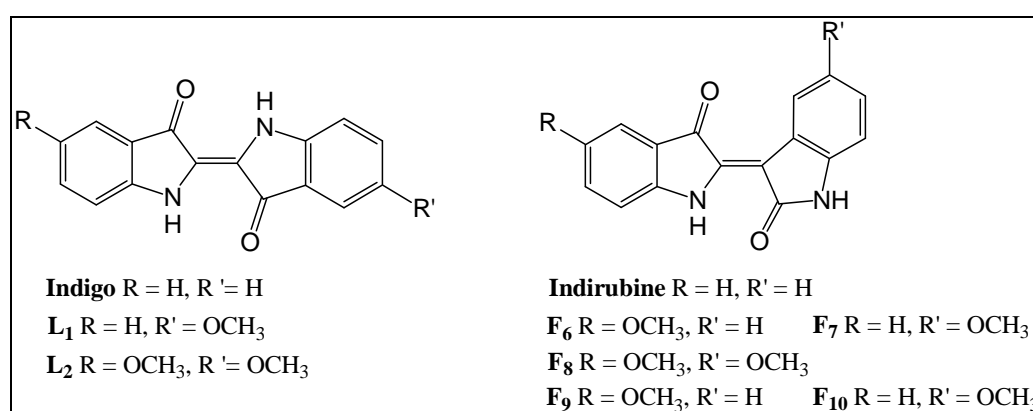


Figure 56 : Structure de l'indigo, de l'indirubine et de leurs analogues diversement substitués.

L'ensemble des composés obtenus a été testé sur les kinases CDK5/p25, CDK1/cycline B et GSK-3 α/β (**Tableau 11**).

Composés	CDK5/p25	CDK1/cyclineB	GSK-3 α/β
Indigo	>100	>100	>100
L₁	>100	>100	>100
L₂	26	1,2	6
Indirubine	5	6,5	2,5
F₆	1,2	2,1	0,6
F₇	1,2	1,5	0,8
F₈	0,8	0,4	0,2
F₉	1,9	ND	0,55
F₁₀	5	ND	0,8

Tableau 11 : IC₅₀ (μ M) sur les kinases CDK5/p25, CDK1/cyclineB, GSK-3 α/β .

³⁷ Guengerich, F.P.; Sorrells, J.L.; Schmitt, S.; Krauser, J.A.; Aryal, P.; Meijer, L. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3236-3241.

Ainsi, le composé disubstitué **L₂** a montré une activité inhibitrice meilleure que l'indigo et que son analogue monosubstitué. Pour les analogues de l'indirubine, les composés **F₆** et **F₇** présentent le même profil d'inhibition que l'indirubine, alors que le composé disubstitué **F₈** présente une activité inhibitrice supérieure à celle de l'indirubine sur les kinases testées.

Beauchard et *al.* ont préparé 34 nouveaux analogues d'indirubine substitués en position 5. L'ensemble de ces composés est divisé en 3 séries : la série des 5-nitroindirubines, la série des 5-aminoindirubines et celle des 5-halogénoindirubines (**Figure 57**).³⁸

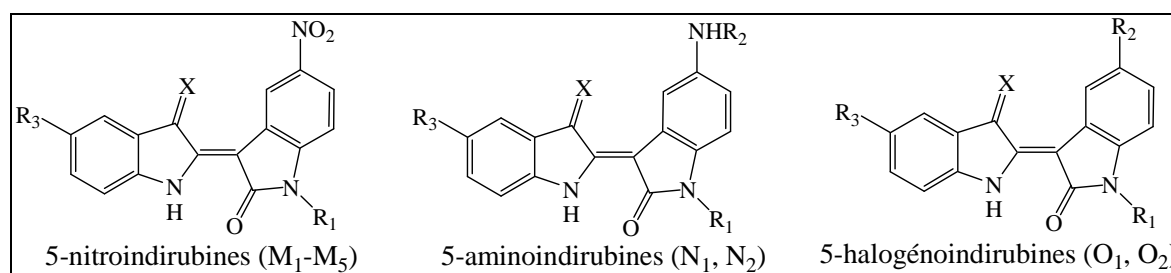


Figure 57 : Structure de différentes séries d'indirubines.

L'activité inhibitrice des différentes séries de composés a été évaluée sur les trois kinases suivantes : CDK1/cycline B, CDK5/p25 et GSK-3 (**Tableau 12**).

Composés	R1	R2	R3	X	CDK1	CDK5	GSK-3
5-nitroindirubines							
M₁	H	-	H	O	40	25	19
M₂	H	-	H	NOH	0,019	0,006	0,0021
M₃	CH ₃	-	H	NOH	2,2	1,4	0,53
M₄	H	-	Br	NOH	0,16	0,05	0,055
M₅	CH ₃	-	Br	NOH	8	3,3	9,3
5-aminoindirubines							
N₁	H	H	H	O	1,5	0,59	0,08
N₂	H	Ac	H	O	0,05	0,018	0,0075
5-halogénoindirubines							
O₁	H	Br	H	O	0,4	0,25	0,21
O₂	H	Br	H	NOH	0,033	0,016	0,053

Tableau 12 : IC₅₀ (μM) sur les kinases CDK1, CDK5 et GSK-3.

³⁸ Beauchard, A.; Ferandin, Y.; Frère, S.; Lozach, O.; Blairvacq, M.; Meijer, L.; Thiéry, V.; Besson, T. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 6434-6443.

Ainsi, pour la série des 5-nitroindirubines non méthylées sur l'atome d'azote ($R_1=H$), le monoxime M_2 est plus actif sur les kinases testées que les dérivés M_1 et M_4 . On remarque que la présence d'un méthyle sur l'azote N1 (M_3 et M_5) diminue l'activité inhibitrice.

Quant à la série des 5-aminoindirubines, le composé N_2 portant un groupement acétyle sur l'amine en position 5 est plus actif que son analogue non acétylé N_1 , notamment vis-à-vis de la kinase GSK-3.

Enfin, pour la série des 5-halogénoindirubines, l'oxime O_2 est 10 fois plus actif sur les kinases testées que l'indirubine O_1 correspondante.

Lors d'un screening des indirubines bromées en positions 5, 6 ou 7 sur les kinases GSK-3, CDK1/cycline B et CDK5/p25, il s'est avéré que, contrairement aux analogues bromés en position 5 ou 6, le composé **7-BIO** (Figure 58) présentait une très faible activité inhibitrice vis-à-vis de ces trois kinases (son analogue méthylé en position N1 **Me7-BIO** est totalement inactif). Les autres composés halogénés en position 7 sont également inactifs, mis à part le dérivé fluoré **7-FIO** qui présente une légère activité sur les kinases testées (Figure 58, Tableau 13).³⁹

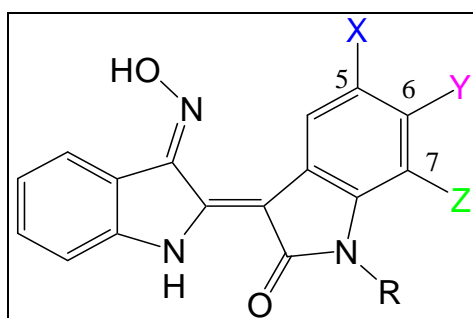


Figure 58 : Structure de différents bromoindirubin-3'-oximes.

Composés	X	Y	Z	R	GSK-3 α/β	CDK1/cyclineB	CDK5/p25
G₁	H	H	H	H	0,022	0,180	0,100
5-BIO	Br	H	H	H	0,016	0,045	0,028
6-BIO	H	Br	H	H	0,005	0,320	0,083
7-BIO	H	H	Br	H	32	22	33
7-CIO	H	H	Cl	H	21	3,7	6
7-IIO	H	H	I	H	16	66	77
7-FIO	H	H	F	H	0,270	1,5	0,510
Me7-BIO	H	H	Br	Me	>100	>100	>100

Tableau 13 : IC₅₀ (μ M) sur les kinases GSK-3 α/β , CDK1/cycline B et CDK5/p25.

³⁹ Ribas, J.; Bettayeb, K.; Ferandin, Y.; Knockaert, M.; Garrofé-Ochoa, X.; Totzke, F.; Schachtele, C.; Mester, J.; Polychronopoulos, P.; Magiatis, P.; Skaltsounis, A.-L.; Boix, J.; Meijer, L. *Oncogene*, **2006**, 25, 6304-6318.

Dernièrement, les IC_{50} des composés 7-BIO et 6-BIO ont été déterminées sur les 3 kinases Aurora A, B et C (**Tableau 14**). Cela a permis de confirmer que la substitution en position 6 par un atome de brome était plus favorable à l'inhibition de ces kinases.⁴⁰

Composés	Aurora A	Aurora B	Aurora C
6-BIO	0,6	0,9	0,2
7-BIO	100,0	4,6	0,7

Tableau 14 : IC_{50} (μM) des composés 6-Bio et 7-Bio sur les trois kinases Aurora A, B et C.

Ribas et *al.* ont montré que l'indirubin-3'-oxime non substitué **G₁** inhibe *in vitro* le récepteur FGFR1 avec une IC_{50} de 0,74 μM .³⁹ Ultérieurement, Zhen et *al.* ont révélé que ce même composé **G₁** présentait une activité inhibitrice sur FGFR1 meilleure que sur la CDK2. En effet, les tests effectués ont montré que le composé **G₁**, testé à une concentration de 5 μM , inhibe la prolifération des cellules NIH 3T3 (cellules surexprimant le FGFR1) et bloque l'autophosphorylation du FGFR1. En revanche, pour inhiber la CDK2, une concentration du composé **G₁** de l'ordre de 20 μM a été nécessaire.⁴¹

Récemment, Libnow et *al.* ont décrit une nouvelle famille d'indirubines-*N'*-glycosylées protégées ou non au niveau de la partie osidique et substituées ou non par des groupements méthyles en position 4' et 6' (**Figure 59**).⁴²

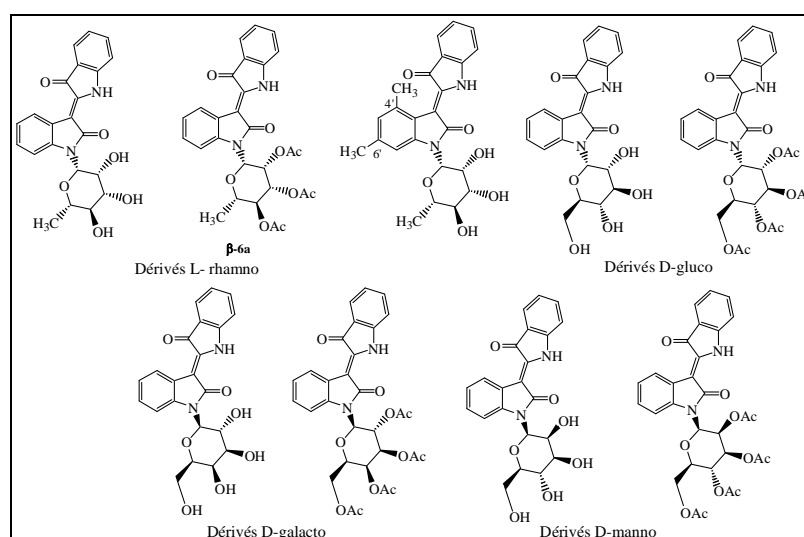


Figure 59 : Structure des indirubines-*N'*-glycosylées

⁴⁰ Myrianthopoulos, V.; Magiatis, P.; Ferandin, Y.; Skaltsounis, A.-L.; Meijer, L.; Mikros, E. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4027-4037.

³⁹ Ribas, J.; Bettayeb, K.; Ferandin, Y.; Knockaert, M.; Garrofé-Ochoa, X.; Totzke, F.; Schachtele, C.; Mester, J.; Polychronopoulos, P.; Magiatis, P.; Skaltsounis, A.-L.; Boix, J.; Meijer, L. *Oncogene*, **2006**, *25*, 6304-6318.

⁴¹ Zhen, Y.; Sørensen, V.; Jin, Y.; Suo, Z.; Wiedłocha, A. *Oncogene*, **2007**, *26*, 6372-6385.

⁴² Libnow, S.; Methling, K.; Hein, M.; Michalik, D.; Harms, M.; Wende, K.; Flemming, A.; Köckerling, M.; Reinke, H.; Bednarski, P.J.; Lalk, M.; Langer, P. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 5570-5583.

Les activités antiprolifératives *in vitro* de ces composés ont été évaluées. Les meilleures activités inhibitrices ont été observées sur les cellules MCF-7 (lignées cellulaires cancéreuses du sein) avec des IC_{50} de 0,76 μ M et 0,67 μ M pour les composés **β -6a** et **α -6a**, respectivement. Actuellement, la ou les cible(s) biologique(s) mise(s) en jeu dans la cytotoxicité de ces composés n'a /n'ont pas été identifiée(s).

IV-6- Autres composés portant un motif indolin-2-one⁴³

Les laboratoires Abbott ont décrit la synthèse d'une série de composés décrits en tant qu'inhibiteurs puissants et sélectifs de la kinase Akt avec des activités inhibitrices d'ordre nanomolaire (**Figure 60**).

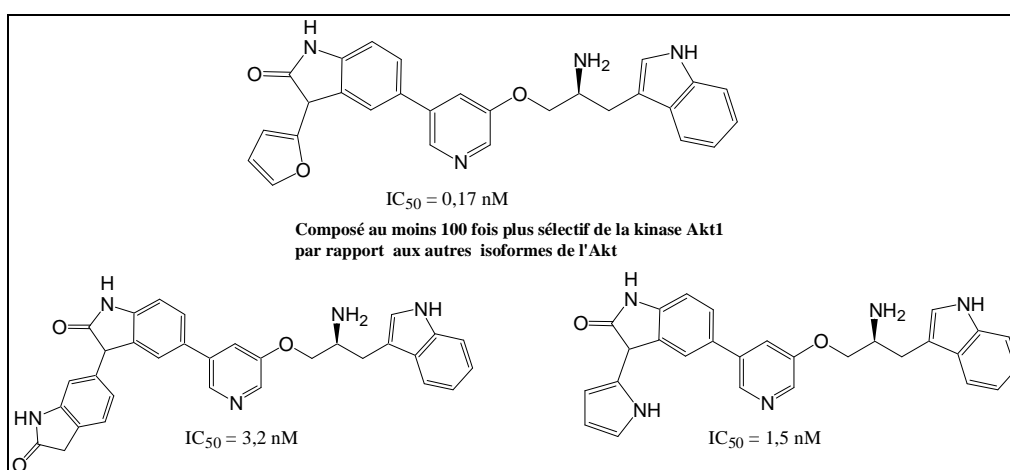


Figure 60 : Structure et activité des composés Abbott sur la kinase Akt1.

IV-7- Inhibiteurs à motif oxindole synthétisés au laboratoire

L'un des projets récemment développé au laboratoire concerne la conception d'inhibiteurs de kinases à motif oxindole. Les chefs de file de ces inhibiteurs, appartenant soit à la famille A des glycosylisoindigos, soit à la famille B des indolin-2-ones substituées en position 3 par une chaîne latérale comportant un groupement α -aminoacide, ont été développés par Mathieu Sassatelli au cours de sa thèse (thèse soutenue en novembre 2005) (**Figure 61**).

⁴³ Zhu, G.-D.; Gandhi, V.-B.; Jianchun, G.; Luo, Y.; Liu, X.; Shi, Y.; Guan, R.; Magnone, S.R.; Klinghofer, V.; Johnson, E.F.; Bouska, J.; Shoemaker, A.; Oleksijew, A.; Jarvis, K.; Park, C.; Jong, R.D.; Oltesdorf, T.; Li, Q.; Rosenberg, S.H.; Giranda, V.L. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3424-3429.

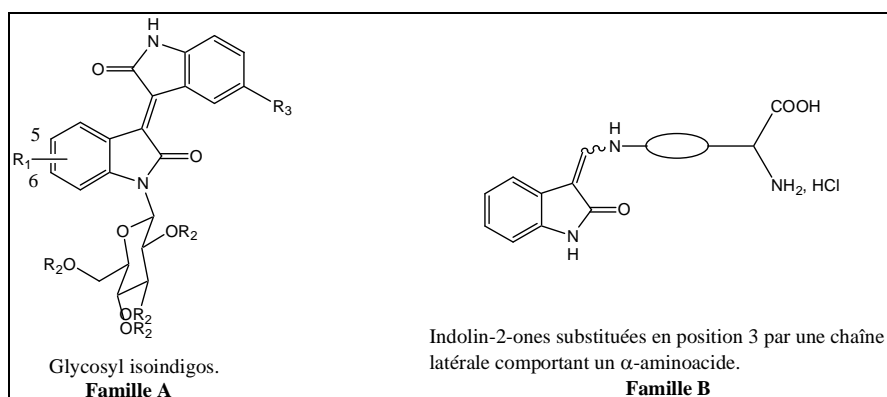


Figure 61 : Les composés à motifs oxindoles préparés au laboratoire.

IV-7-1- La famille des glycosylisoidigos^{44,45}

Plusieurs analogues des glycosylisoidigos ont été préparés. Ils diffèrent entre eux par la protection ou non de la partie osidique et par la nature des substituants présents sur la partie aromatique (**Figure 62**).

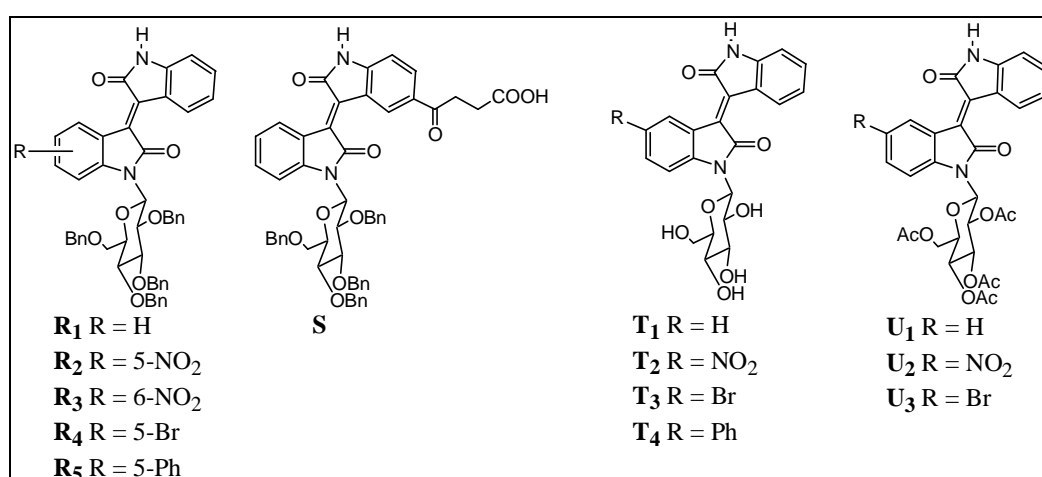


Figure 62 : Différents glycosylisoidigos.

Les pourcentages d'inhibition (à une concentration de 10 μ M) et les IC₅₀ de l'ensemble de ces produits ont été évalués sur diverses kinases (**Tableau 15**).

⁴⁴ Sassatelli, M.; Bouchikhi, F.; Messaoudi, S.; Anizon, F.; Debiton, E.; Barthomeuf, C.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 88–100.

⁴⁵ Sassatelli, F.; Bouchikhi, F.; Aboab, B.; Anizon, F.; Fabbro, D.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Anti-Cancer Drugs*, **2007**, *18*, 1069-1074.

Kinases	Isoindigo	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	S	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	U ₁	U ₂	U ₃
KDR	18	43 (0,91)	60 (0,79)	67 (1,1)	59 (0,85)	58 (0,36)	49 (4,5)	1 –	4 –	7 –	0 –	17 –	0 –	87 (2,2)
Flt3	14	0	0	1	0	0	11	10	12	11	0	15	0	45
IGFR1	30	42 (1,0)	70 (3,2)	64 (3,0)	76 (2,7)	60 (1,3)	13 > 10	0 –	0 –	3 –	0 –	26 –	0 –	77 (1,6)
Tek	3	22	41	48	38	34	34	6	10	8	0	16	4	38
c-Met	28	90 (0,43)	89 (0,51)	88 (0,79)	92 (0,34)	87 (0,48)	81 (2,8)	6 –	16 –	18 –	0 –	22 –	0 –	69 (9,5)
Ret	33	86 (1,7)	86 (2,0)	85 (3,3)	91 (1,5)	88 (2,1)	89 (6,9)	0 –	19 –	17 –	0 –	38 –	0 –	79 (9,6)
c-Src	5	97 (4,0)	98 (3,8)	98 (3,7)	97 (2,6)	98 (3,4)	96 (5,4)	0 –	0 –	4 –	0 –	33 –	0 –	85 > 10
c-Abl	11	33	33	32	38	43	24	0	0	15	0	16	0	48
PKA	0	2	0	0	29	5	0	0	0	3	0	0	0	12
CDK2/A	21	86 (0,14)	73 (0,76)	72 (0,13)	87 (0,20)	81 (0,21)	57 (4,2)	0 –	0 –	2 –	0 –	25 –	0 –	99 (1,2)

Tableau 15 : Activité des glycosylisoindigos sur diverses kinases : % d'inhibition à 10 μ M (IC₅₀).

Les composés **R₁-R₅** protégés au niveau de la partie osidique par des groupements benzyles ont le même profil d'inhibition. Ils sont particulièrement actifs vis-à-vis de la CDK2 avec une IC₅₀ de l'ordre de 0,1-0,2 μ M, sauf pour le composé **R₂** qui présente une IC₅₀ de 0,76 μ M. Ces produits inhibent également les kinases KDR, c-Met, IGFR1, Ret et c-Src avec des IC₅₀ d'ordre micromolaire.

Le composé **S** protégé sur la partie osidique par des groupements benzyles et substitué par une chaîne portant une fonction acide inhibe modestement les kinases KDR, c-Met, Ret, c-Src et CDK2/cycline A.

Les composés **T₁-T₄** non protégés sur la partie osidique ne présentent aucune activité vis-à-vis de l'ensemble des kinases testées.

Quant aux produits acétylés sur la partie osidique, ils présentent des profils d'inhibition différents. Le composé **U₃** bromé en position 5 est plus actif que son analogue portant une fonction nitro en position 5 et que son analogue non substitué.

Une étude de modélisation moléculaire a été effectuée pour évaluer les interactions des composés **R₁** et **U₃** avec le site ATP de la kinase CDK2 (**Figure 63**).

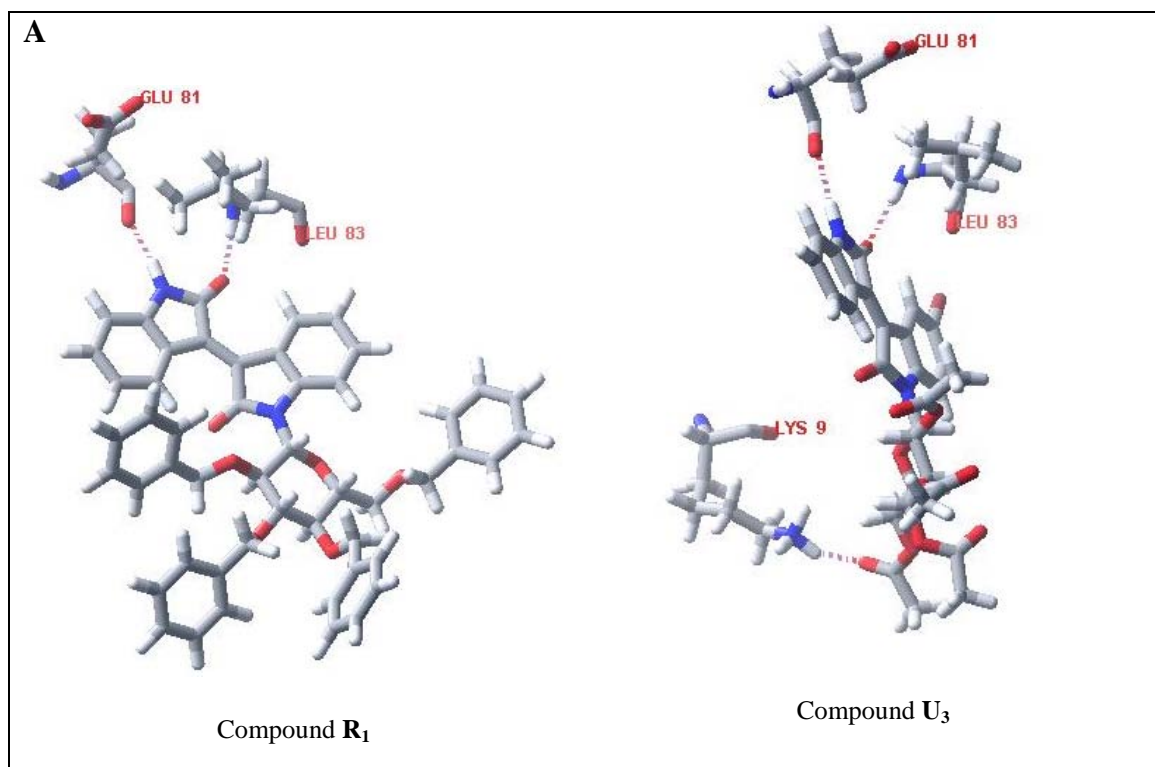


Figure 63 : Modélisation des complexes des composés R1 et U3 avec le site ATP de la CDK2.

Ainsi, le composé **R₁** se lie au niveau du site ATP de la CDK2 en établissant deux liaisons hydrogène d'une part entre l'hydrogène porté par le N1' et le CO du Glu⁸¹, et d'autre part entre le CO de l'oxindole et le NH de la Leu⁸³. Pour le complexe **U₃/CDK2**, on remarque le même réseau de liaisons hydrogène que dans le complexe **R₁/CDK2**. De plus, on note la présence d'une troisième liaison entre le CO du groupement acétate en position 6' du sucre et le NH de la Lys⁹.

Le composé **R₁** est un meilleur inhibiteur de CDK2 que le dérivé **U₃** alors qu'il établit moins de liaisons hydrogène avec le site ATP. En effet, le complexe **R₁/CDK2** est stabilisé par des interactions hydrophobes entre les groupements benzyles et des zones hydrophobes du site ATP.

Les activités antiprolifératives de ces produits ont été évaluées sur 6 lignées cellulaires cancéreuses humaines (mélanome M4 Beu, adénocarcinome du sein MCF7, adénocarcinome

de la prostate PC3, adénocarcinome du côlon DLD1, carcinome pulmonaire non à petites cellules A549, cancer des ovaires PA1) et une lignée humaine de fibroblastes.

Parmi les composés testés, seuls trois, les composés **S**, **U₁** et **U₃** possèdent des $IC_{50} < 50 \mu M$ sur les différentes lignées testées (**Tableau 16**).

Composés	Fibroblastes	L929	A-549	DLD-1	M4Beu	MCF-7	PA 1	PC3
S	4,7	6,5	12,4	6,0	7,0	8,0	2,5	4,7
U₁	inactif	8,7	inactif	17,3	inactif	25,1	6,2	25
U₃	inactif	8,1	inactif	17,0	inactif	24,0	6,1	3,7

Tableau 16 : Activités antiprolifératives des composés S, U₁ et U₃ (IC₅₀ en μM).

Ainsi, les composés **R₁-R₅**, présentant une activité inhibitrice de kinases, ne présentent aucune activité antiproliférative sur les lignées cellulaires testées. Ce résultat pourrait être expliqué par une faible pénétration cellulaire des composés benzylés.

Le composé **S**, benzylé sur la partie osidique, présente les meilleures activités antiproliférative de la série sur les cellules testées. Cette activité provient certainement de la substitution par la chaîne acide 4-oxobutanoïque puisque son analogue benzylé non substitué **R₁** est inactif sur les lignées cellulaires testées.

Les composés **T₁-T₄** et **U₂**, inactifs sur les kinases testées, sont également non cytotoxiques pour les lignées cellulaires utilisées.

Le composé **U₃**, actif sur certaines kinases, possède également une activité cytotoxique sur cellules L929, DLD-1, MCF7, PA1 et PC3.

Compte tenu de ces résultats, nous pouvons donc conclure que dans la famille des isoindigos, les composés acétylés sur la partie osidique sont plus cytotoxiques que leurs analogues benzylés, vraisemblablement grâce à une meilleure pénétration cellulaire. En revanche, les dérivés benzylés possède une capacité supérieure à inhiber les kinases testées, sans doute grâce à des interactions hydrophobes entre l'inhibiteur considéré et la kinase cible.

IV-7-2- Les indolin-2-ones substituées en position 3 par une chaîne latérale fonctionnalisée par un groupement α -aminoacide⁴⁶

Trois composés appartenant à la famille B, qui diffèrent entre eux par la rigidité et l'orientation des chaînes latérales en position 3 de l'oxindole, ont été préparés (**Figure 64**).

⁴⁶ Sassetelli, M.; Debiton, E.; Aboab, B.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 709-716.

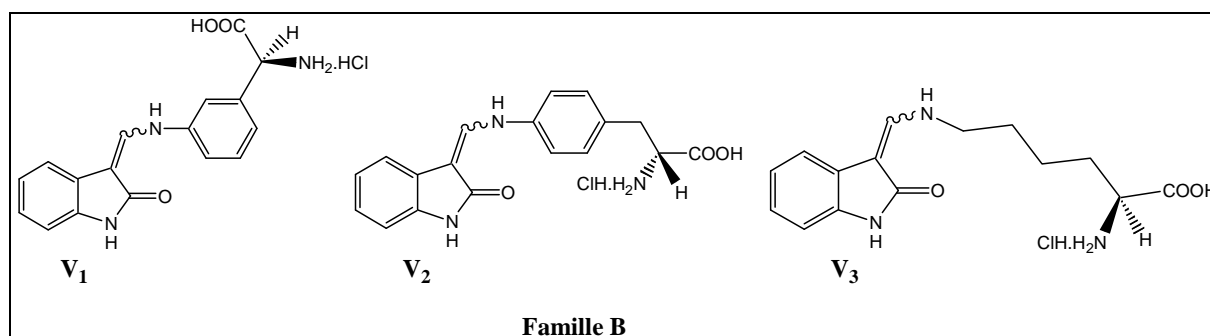


Figure 64 : Composés préparés dans la famille B.

Leur activité antiproliférative a été évaluée sur 6 lignées cellulaires cancéreuses humaines (mélanome M4 Beu, adénocarcinome de sein MCF7, adénocarcinome de la prostate PC3, adénocarcinome du côlon DLD1, adénocarcinome pulmonaire non à petites cellules A549, cancer des ovaires PA1), une lignée murine (L929) et une lignée humaine de fibroblaste. Parmi les composés testés, seul le composé **V₃**, substitué par une chaîne latérale flexible permettant l'établissement d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre le CO de l'oxindole et un hydrogène du α NH₂ de l'acide aminé, a démontré une légère cytotoxicité (IC₅₀ < 50 μ M) sur les différentes lignées testées (**Tableau 17**).

	Fibro	L929	A549	DLD1	M4Beu	MCF7	PA1	PC3
V₃ Test à l'Ho33342	14 ± 2	17 ± 1	>50	9,7 ± 0,3	34 ± 4	34 ± 4	15 ± 1	26 ± 1

Tableau 17 : Activités antiprolifératives du composé **V₃**.

V- Conclusion :

Ces dernières décennies ont connu un grand développement dans la conception d'inhibiteurs de kinases compétitifs de l'ATP. Les résultats obtenus ont permis de valider le choix des kinases comme cibles biologiques afin de développer de nouveaux agents antitumoraux. En effet, plusieurs inhibiteurs de kinases ont démontré une activité remarquable contre certains cancers et ont abouti à la mise sur le marché de nouveaux médicaments tels que le Glivec et l'Iressa en 2003. De plus, en 2006, le Sutent, un inhibiteur de kinases à structure oxindolique a été mis sur le marché.

Tous ces résultats nous ont donc incités à poursuivre nos travaux avec comme objectif la conception et la synthèse de nouveaux inhibiteurs de kinases à structure oxindolique,

substitués en position 3 par un système insaturé (caractéristique structurale commune à tous les inhibiteurs présentés précédemment).

La partie suivante présente les travaux réalisés au cours de ma thèse. Ainsi, les études de relations structure-activité entreprises sur les familles A et B (paragraphe IV-7) ont été poursuivies. Parallèlement, nous avons développé la synthèse d'une nouvelle structure polyhétérocyclique potentiellement inhibitrice de kinases.

Deuxième partie: Résultats et discussion

Comme nous venons de le rapporter, nous nous sommes intéressés à la synthèse de trois familles d'inhibiteurs de kinases, compétitifs de l'ATP (**Figure 65**).

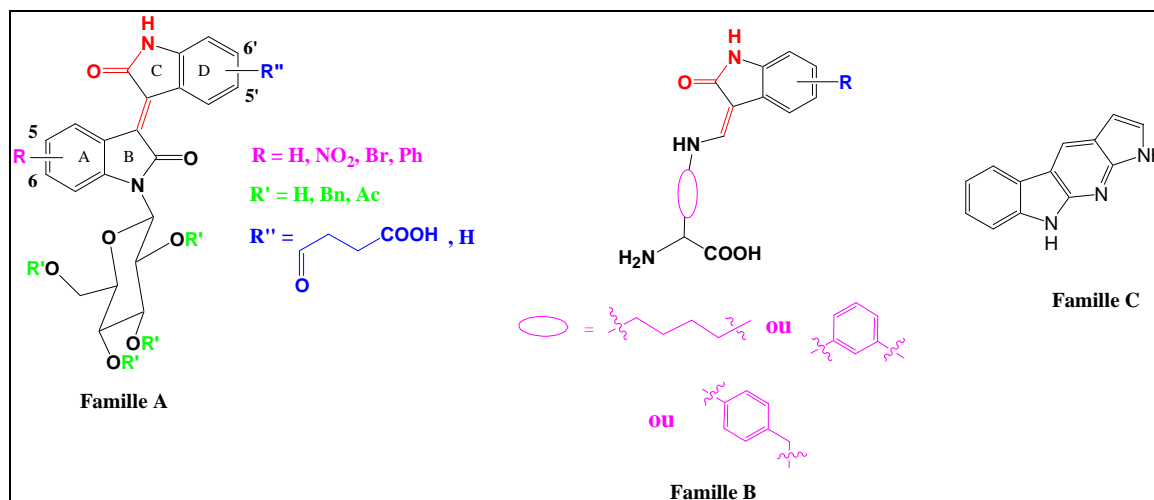


Figure 65 : Structures des familles A, B et C.

Les familles A et B possèdent un motif oxindole dans lequel l'atome d'azote n'est pas substitué ce qui devrait permettre l'établissement du même réseau de liaisons hydrogène que dans le cas de l'adénine de l'ATP dans le site actif de la kinase visée. De plus, ces composés présentent une analogie au niveau de la substitution de la position 3 de l'indolin-2-one. Cette position est substituée par un système conjugué, comme c'est le cas pour la plupart des inhibiteurs de kinases à motif oxindole décrits dans la littérature.

Dans le but d'approfondir l'étude de relations structure-activité entreprise au laboratoire et afin de déterminer les éléments structuraux nécessaires à l'activité biologique, plusieurs modifications ont été envisagées pour les familles A et B.

Ainsi, pour la famille A, notre premier objectif a été la préparation d'isoindigos glycosylés acétylés substitués sur les deux parties aromatiques, principalement sur la partie aromatique supérieure, notamment par des chaînes analogues au groupement acide 4-oxobutanoïque présent sur le composé **S**, composé le plus cytotoxique préparé par Mathieu Sassatelli^{44,45} (**Figure 66**).

Par ailleurs, nous avons également envisagé de préparer la nouvelle série des 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés (**Figure 66**) en remplaçant le motif oxindole supérieur par un motif 7-

⁴⁴ Sassatelli, M.; Bouchikhi, F.; Messaoudi, S.; Anizon, F.; Debiton, E.; Barthomeuf, C.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 88–100.

⁴⁵ Sassatelli, F.; Bouchikhi, F.; Aboab, B.; Anizon, F.; Fabbro, D.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Anti-Cancer Drugs*, **2007**, *18*, 1069–1074.

azaoxindole. Cette nouvelle famille de composés nous permettra d'étudier l'influence de l'introduction d'un atome d'azote supplémentaire sur les propriétés biologiques de ces composés.

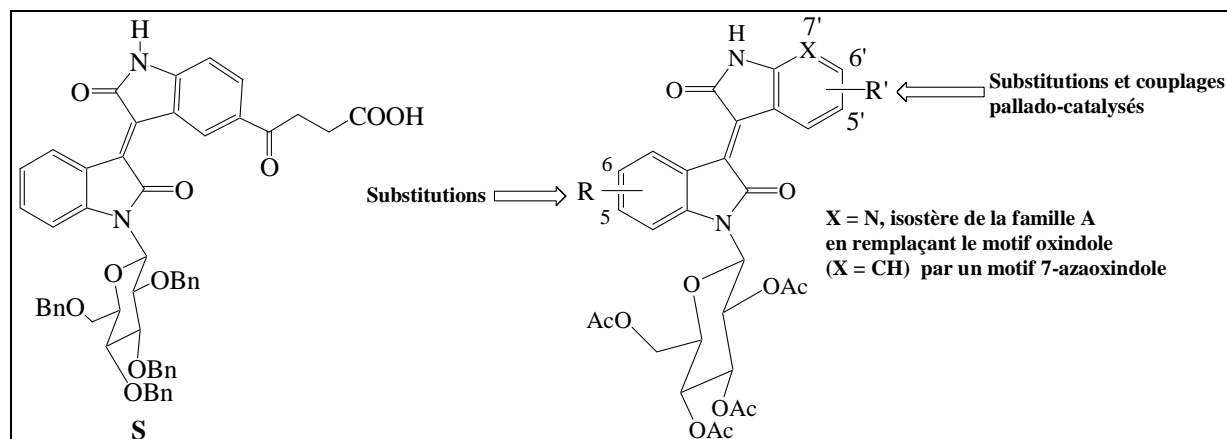


Figure 66 : Modifications prévues sur la famille A.

Pour la famille B, nous avons envisagé de préparer des analogues du composé **V₃**, là encore le composé le plus intéressant de la série préparée par Mathieu Sassetelli,⁴⁶ en introduisant divers substituants sur la partie aromatique et en modifiant la longueur de la chaîne latérale située en position 3 de l'oxindole (**Figure 67**).

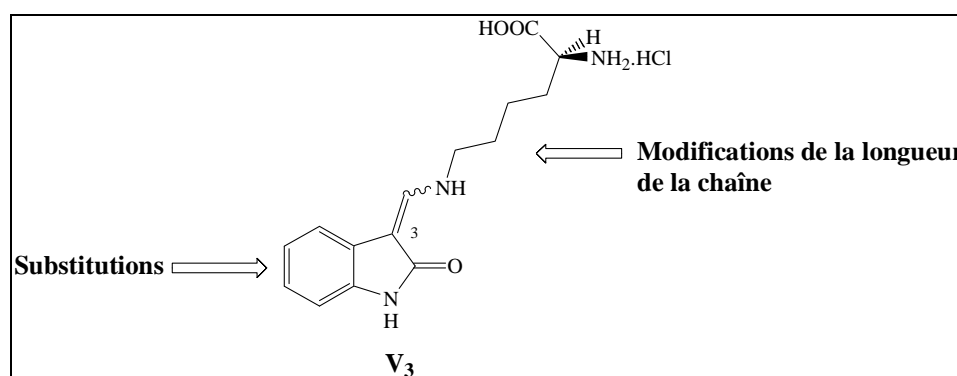


Figure 67 : Modifications apportées sur la famille B.

Dans le cas des inhibiteurs possédant une structure oxindolique substituée en position 3 par un noyau pyrrole tel que le **SU5402**, la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire entre l'atome d'hydrogène porté par l'azote du motif pyrrole et l'atome d'oxygène du carbonyle de l'oxindole a été observée sur la structure cristallographique du complexe FGFR1/**SU5402**. De plus, les analogues *N*-méthylés, ne pouvant pas établir cette liaison hydrogène intramoléculaire, sont inactifs. Cette liaison hydrogène permet notamment de maintenir les

⁴⁶ Sassetelli, M.; Debiton, E.; Aboab, B.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 709-716.

systèmes hétérocycliques dans un même plan et est donc indispensable à l'activité. Compte tenu de ces résultats, la préparation d'un système plus rigide a été envisagée en remplaçant cette liaison hydrogène par une liaison covalente (famille C, **Figure 68**).

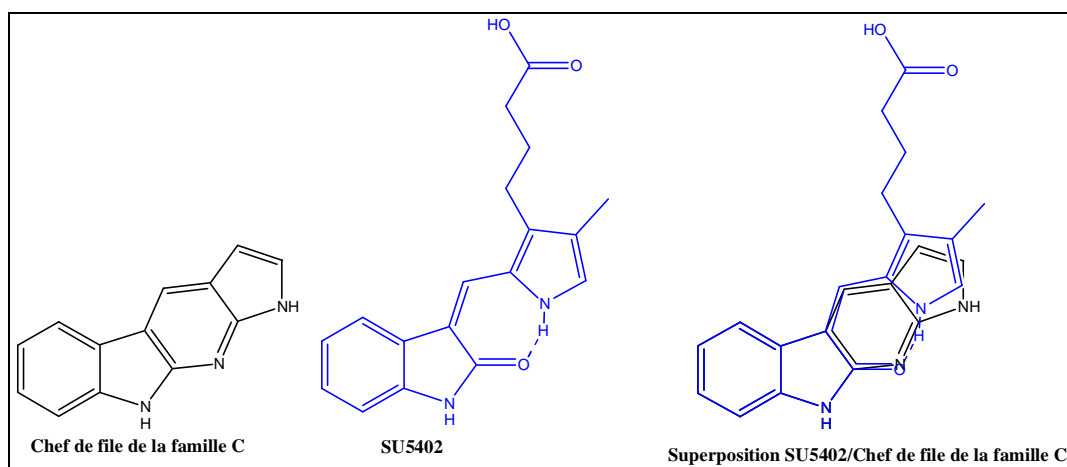


Figure 68 : Structure du chef de file de la famille C et du SU5402.

Chapitre I : Synthèse d'analogues de la Famille A

I- Synthèse d'isoidigos glycosylés acétylés substitués sur les cycles A et D (Figure 65)

Les intermédiaires clés dans ces synthèses sont les isatines glycosylées acétylées correspondantes. Pour accéder à ces composés, les indolines sont tout d'abord glycosylées, la partie glycosidique acétylée en présence de pyridine et d'anhydride acétique, l'indoline aromatisée à l'aide de DDQ, puis oxydée en isatine par action de l'oxyde de chrome dans un mélange eau/acétone/acide acétique (Figure 69).⁴⁴

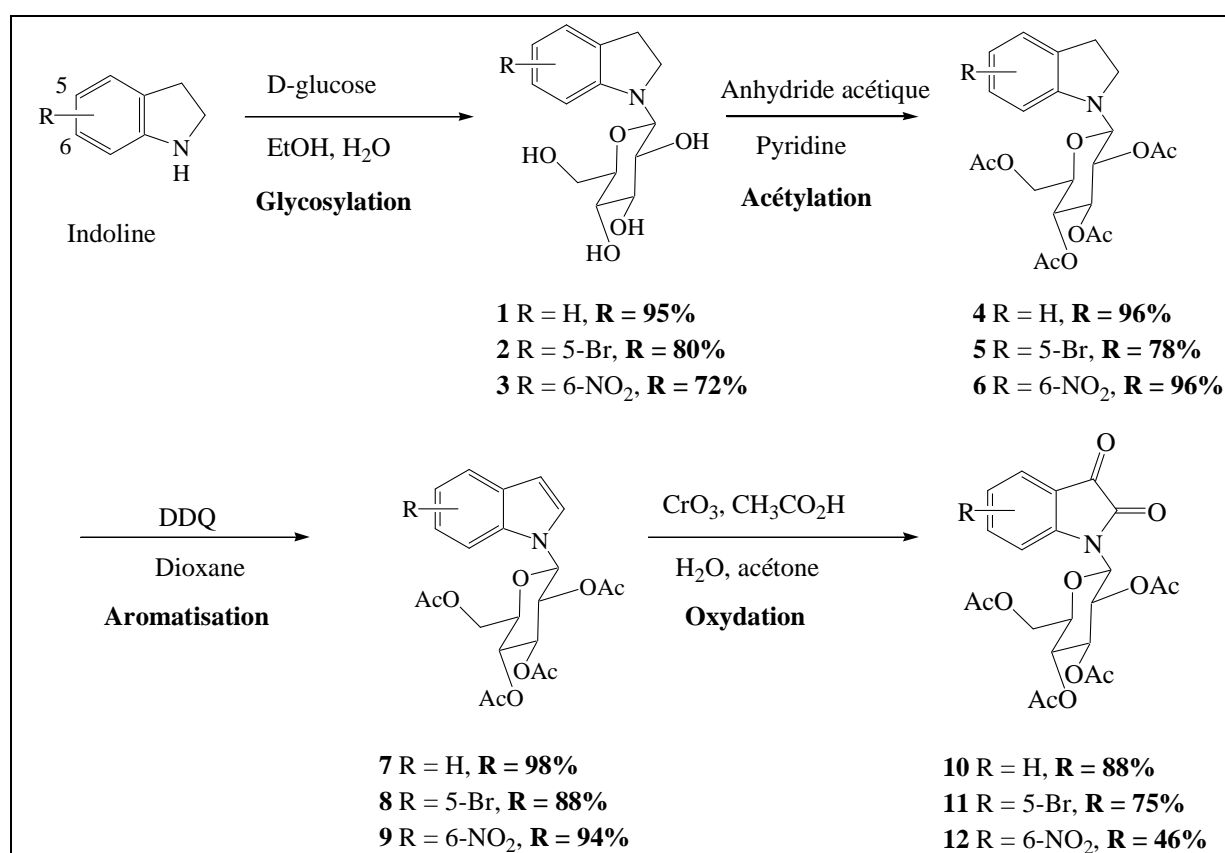


Figure 69 : Synthèse des isatines glycosylées acétylées.

Afin d'accéder aux isoidigos correspondants, les isatines glycosylées acétylées sont traitées à reflux du toluène en présence d'acide *para*-toluènesulfonique (APTS), des oxindoles substitués ou non et de tamis moléculaire 4 Å pendant 24 heures (Figure 70).

⁴⁴ Sassatelli, M.; Bouchikhi, F.; Messaoudi, S.; Anizon, F.; Debiton, E.; Barthomeuf, C.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 88-100.

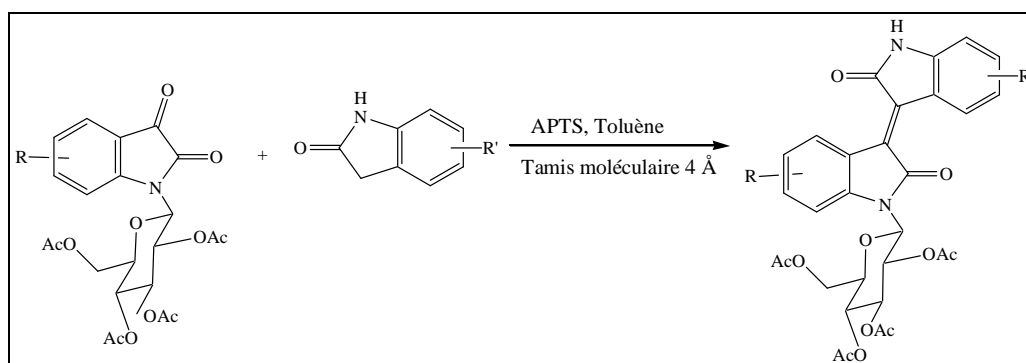


Figure 70 : Synthèse des isoindigos glycosylés acétylés.

Le mécanisme proposé pour cette réaction est classique et est décrit **Figure 71**.

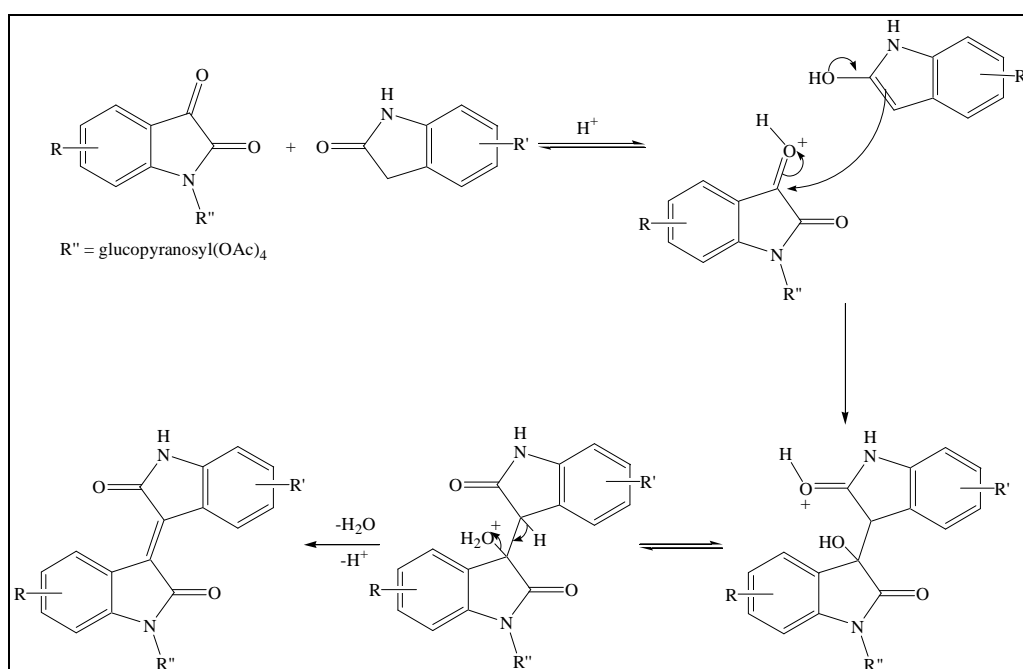


Figure 71 : Mécanisme du couplage en milieu acide entre une isatine glycosylée et un oxindole.

Pour accéder aux isoindigos glycosylés acétylés diversement substitués sur les parties aromatiques, nous avons envisagé deux voies de synthèse :

- ✧ Préparation de divers oxindoles substitués en position 5 à partir de produits commerciaux puis couplage avec une isatine glycosylée acétylée substituée ou non.
- ✧ Substitution par des couplages pallado-catalysés à partir d'intermédiaires de type isoindigo ou oxindole halogénés.

I-1- Préparation des oxindoles

Nous avons donc envisagé de préparer différents oxindoles substitués en position 5 de manière rapide à partir de différents produits commerciaux. La plupart de ces oxindoles sont préparés en une seule étape (**Figure 72**).

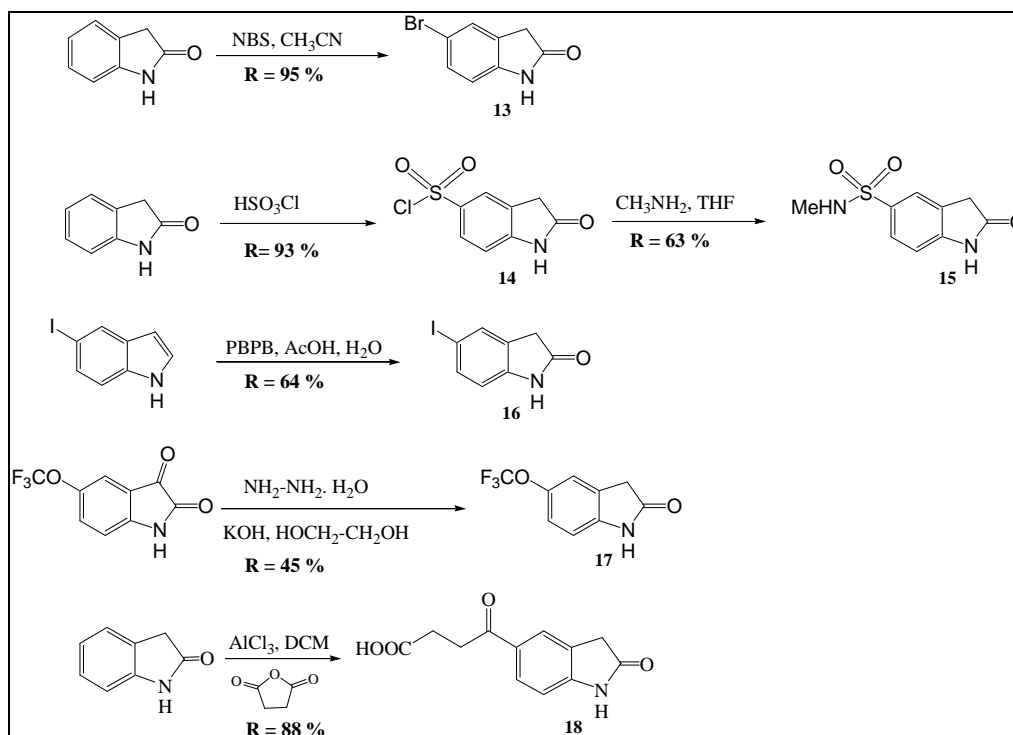


Figure 72 : Préparation d'oxindoles diversement substitués en position 5.

✧ Le 5-bromoxindole a été obtenu par bromation de l'oxindole commercial à l'aide de *N*-bromosuccinimide.¹⁵ Le composé **13** est obtenu avec un rendement de 95%.

✧ Le 5-chlorosulfonyloxindole **14** est obtenu avec 93% de rendement par sulfonation de l'oxindole à l'aide d'acide chlorosulfonique à 70 °C.⁴⁷ Son analogue **15** (5-*N*-méthylaminosulfonyloxindole) est obtenu avec un rendement de 63% par substitution du chlore à l'aide de méthylamine.⁴⁸

✧ Afin d'obtenir le 5-iodoxindole **16**, nous avons oxydé le 5-iodoindole commercial selon la méthode décrite par Stjernlöf *et al.* L'oxydation a été effectuée dans un mélange

¹⁵ Sun, L.; Tran, N.; Tang, F.; App, H.; Hirth, P.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2588-2603.

⁴⁷ Sun, L.; Tran, N.; Liang, C.; Tang, F.; Rice, A.; Schreck, R.; Waltz, K.; Shawver, L.K.; McMahon, G.; Tang, C. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5120-5130.

⁴⁸ Guan, H.; Laird, A. D.; Blake, R.A.; Tang, C.; Liang, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 187-190.

eau/acide acétique en présence de tribromure de pyridinium (PBPB).⁴⁹ A cause de l'instabilité du produit brut obtenu, une rapide purification par chromatographie est nécessaire. Elle nous conduit au produit attendu **16** avec un rendement de 64%.

✧ Le 5-trifluorométhoxyoxindole **17** est obtenu par réduction de l'isatine correspondante par une réaction de Wolff-Kishner.⁵⁰ La réaction est menée à 70 °C avec de l'hydrate d'hydrazine dans l'éthylène glycol en présence de potasse. Après purification par chromatographie sur colonne, le composé **17** est obtenu avec un rendement de 45%.

✧ L'oxindole **18** substitué par un groupement acide 4-oxobutanoïque a été préparé avec 88% de rendement par acylation de Friedel-Crafts entre l'oxindole commercial et l'anhydride succinique dans le DCM en présence d'AlCl₃.⁵¹

I-2- Préparation des isoindigos glycosylés acétylés

Les oxindoles diversement substitués ont ensuite été couplés avec des isatines glycosylées acétylées diversement substituées, à reflux de toluène en présence d'APTS et de tamis moléculaire 4 Å pour accéder aux isoindigos correspondants⁴⁴ (**Figure 73, Tableau 18**).

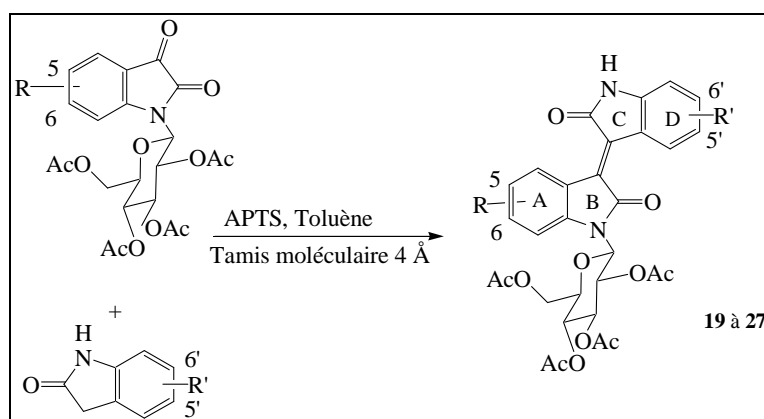


Figure 72 : Synthèse des isoindigos glycosylés acétylés.

⁴⁹ Stjernlöf, P.; Ennis, M. D.; Hansson, L. O.; Hoffman, R. L.; Ghazal, N. B.; Sundell, S.; Smith, M. W.; Svensson, K.; Carlsson, A.; Wikström, H. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2202-2216.

⁵⁰ Soledade, M.; Pedras, C.; Jha, M. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 1828-1834.

⁵¹ Kakushima, M.; Hamel, P.; Frenette, R.; Rokach, J. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3214-3219.

⁴⁴ Sassatelli, M.; Bouchikhi, F.; Messaoudi, S.; Anizon, F.; Debiton, E.; Barthomeuf, C.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 88-100.

Composés	R	R'	Temps de réaction	Rendement
19	H	5'-Br	24h	41%
20	H	5'-OCF ₃	36h	32%
21	H	5'-Cl	48h	32%
22	H	6'-Cl	48h	23%
23	H	5'-SO ₂ Cl	48h	9%
24	H	5'-SO ₂ NHCH ₃	24h	10%
25	H	5'-I	30h	61%
26	5-Br	5'-I	24h	68%
27	H	5'-CO(CH ₂) ₂ COOH	24h	Non isolé

Tableau 18 : Préparation des isoindigos diversement substitués sur les cycles A et D.

Les rendements de cette étape de couplage vont de 9% à 68%. Ces rendements sont très variables et parfois médiocres, à cause de la perte d'une importante quantité du produit lors de sa purification.

En effet, il est impossible de séparer les produits attendus des produits de départ résiduels par une simple purification chromatographique. Des purifications supplémentaires par lavage et/ou précipitation dans divers solvants sont nécessaires afin d'isoler l'isoindigo attendu.

Il est à noter que les composés **25** et **26** ont été préparés à l'abri de la lumière. En effet, nous avons observé une dégradation totale du produit **25** lors du premier essai de couplage à la lumière du jour. Nous avons également observé une dégradation du produit **25** à l'abri de la lumière au bout de 36 heures de réaction (**Tableau 18**).

Lorsque la réaction de couplage de l'oxindole **18** avec l'isatine glycosylée acétylée **10** a été testée (**Figure 74**), un changement de couleur du mélange réactionnel (jaune à rouge), caractéristique de la présence d'isoindigo, a été observé. Le mélange réactionnel a ensuite été purifié par chromatographie sur colonne pour conduire à un solide rouge. Malgré de multiples analyses par RMN, dans différents solvants, aucun spectre exploitable n'a été obtenu. Des analyses par spectroscopie de masse ESI ont été également effectuées et ont démontré la présence d'un pic de masse à 691 m/z qui correspond à la masse du produit attendu.

Diverses purifications ont alors été utilisées afin d'isoler le produit **27** (précipitation, lavage et/ou chromatographie dans différents mélange de solvants). Malheureusement, aucune d'entre elles ne nous a permis d'isoler le produit souhaité.

Nous avons tenté le même couplage à reflux de toluène en présence de tamis moléculaire, en remplaçant l'APTS par de la résine acide Amberlyst. De nouveau, nous avons été confronté aux mêmes problèmes (**Figure 74**).

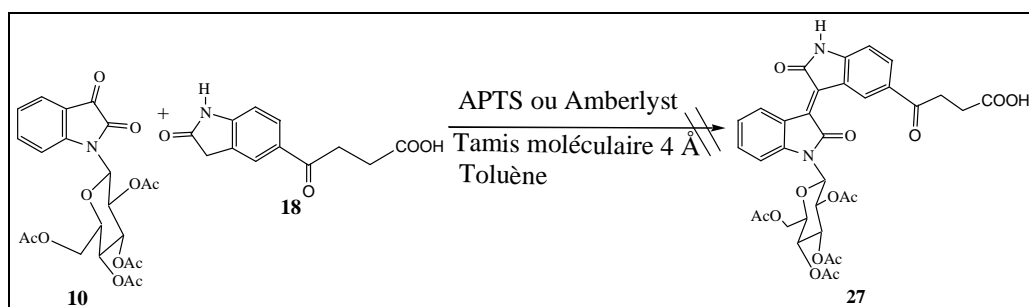
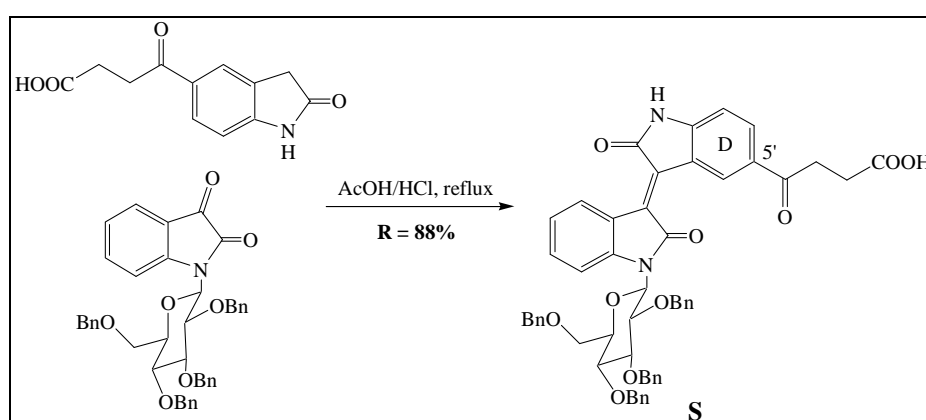


Figure 74 : Essais de préparation de l'isoindigo glycosylés 27.

Compte tenu des problèmes rencontrés lors de la préparation de ce produit et du fait que l'analogue benzylé **S** avait été préparé précédemment par Mathieu Sassatelli (Figure 75), nous avons voulu étudier l'influence de la partie osidique.

Figure 75 : Préparation du composé **S**.

Ainsi, nous avons envisagé de préparer l'isoindigo, non glycosylé, portant un groupement acide oxo-4-butanoïque en position 5', par couplage de l'isatine sur l'oxindole **18** à reflux du mélange acide acétique/acide chlorhydrique. Malheureusement, seuls des produits de dégradation ont été observés (Figure 76).

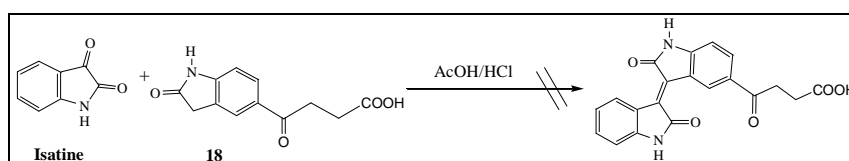


Figure 76 : Tentative de préparation de l'isoindigo portant le groupement acide 4-oxobutanoïque.

Nous avons décidé de protéger la fonction acide portée par le groupement acide 4-oxobutanoïque de l'oxindole **18** avant couplage avec l'isatine **10** afin d'obtenir l'isoindigo correspondant.

Le choix du groupement protecteur est limité en raison de la présence des acétates sur la partie osidique. En effet, très peu de groupements protecteurs de la fonction acide sont

déprotégés dans des conditions qui pourraient respecter la présence des acétates sur la partie osidique.

Dans la littérature, des travaux brevetés en **2005** ont décrit la déprotection sélective du groupement BOM, en présence d'un acétate, par hydrogénolyse en présence de Pd(OH)₂ dans un mélange MeOH/AcOEt (**Figure 77**).⁵²

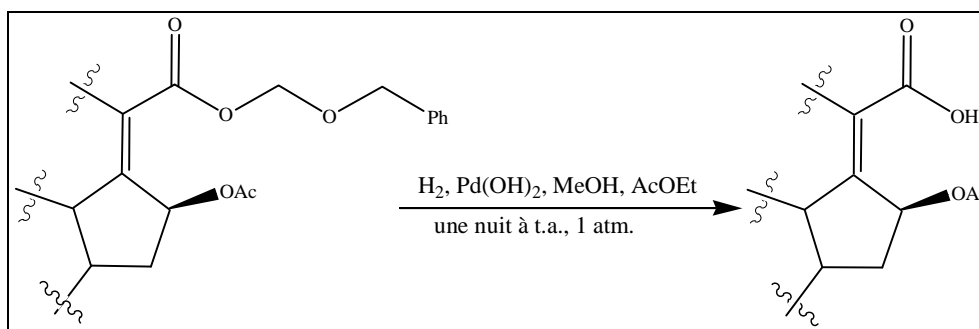


Figure 77 : Méthode de déprotection sélective du BOM.

En se référant à ces données de la littérature, nous nous sommes dirigés vers la protection de la fonction acide par un groupement BOM qui serait déprotégé sélectivement en fin de synthèse.

Ainsi, l'oxindole **18** a été traité en milieu basique en présence de diisopropyléthylamine (DIPEA) et de BOMCl afin d'obtenir le composé **28** avec un rendement de 73%.⁵³ Le composé **28** ainsi obtenu a été mis en réaction avec l'isatine **10** à reflux de toluène en présence d'APTS et de tamis moléculaire 4 Å (**Figure 78**).

Après purification du mélange réactionnel par chromatographie sur colonne, seuls des produits de dégradation ont été observés.

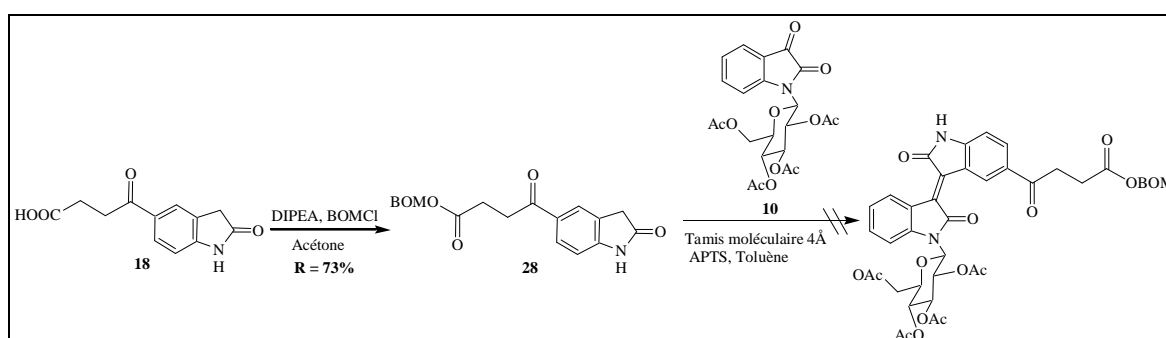


Figure 78 : Protection de l'oxindole 18 et essai de préparation de l'isoindigo correspondant.

⁵² Ascher, G.; Ferencic, M. WO049634 (2005) CA 143:7853.

⁵³ Hélène Hénon, Thèse de l'Université Blaise Pascal Clermont-Ferrand, 2005, D.U. 1610.

Etant donné que la protection de la fonction acide ne nous a pas permis d'obtenir le composé souhaité, nous avons envisagé de préparer l'isoindeigo glycosylé acétylé substitué en position 5' (cycle D) par un groupement 1-oxobutyle.

L'oxindole **29** a été obtenu par acylation de Friedel-Crafts dans le DCM en présence d' AlCl_3 entre l'oxindole commercial et le chlorure de butanoyle⁵¹ avec un rendement de 48% (**Figure 79**).

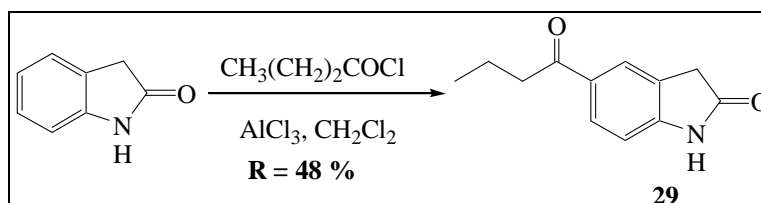


Figure 79 : Préparation de l'oxindole **29**.

L'oxindole **29** a ensuite été couplé avec les isatines substituées ou non en position 5 ou 6 (**Figure 80**).

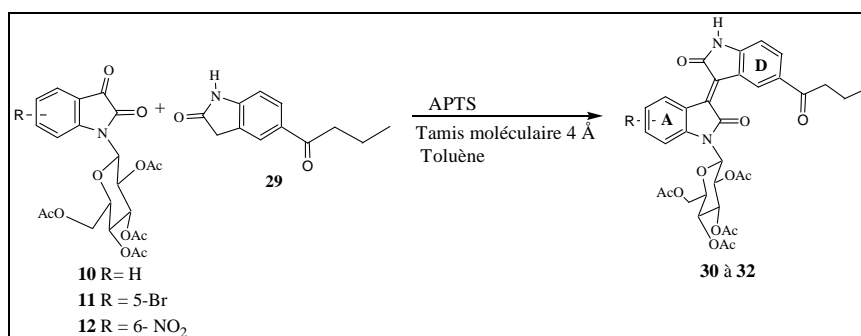


Figure 80 : Préparation des composés **30**, **31** et **32**.

L'ensemble des isoindeigos glycosylés acétylés attendus ont été obtenus dans les conditions de couplage classiques avec des rendements allant de 12 à 63% (**Tableau 19**).

Composés	R	Rendement
30	H	12%
31	6-NO ₂	63%
32	5-Br	45%

Tableau 19 : Rendements des réactions de couplage.

La préparation des composés **30-32** montre que l'introduction d'une chaîne carbonylée est possible en position 5' d'isoindeigos glycosylés acétylés. Les échecs successifs rencontrés lors des différents essais de préparation du composé **27** semblent donc liés à la présence d'une fonction acide carboxylique (protégée ou non) sur la chaîne latérale.

⁵¹ Kakushima, M.; Hamel, P.; Frenette, R.; Rokach, J. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3214-3219.

Ainsi, afin d'accéder, en série acétylée, à des composés substitués en position 5' par une chaîne latérale analogue à celle du composé **S**, nous nous sommes orientés vers une autre approche consistant à introduire diverses chaînes portant des fonctions facilement transformables en groupement acide carboxylique.

I-3- Synthèse d'isoindigos substitués sur le cycle D par couplages pallado-catalysés

I-3-1- Introduction de substituants sur l'indolin-2-one de départ

Nous avons tout d'abord envisagé de coupler une chaîne butanenitrile, ce qui devrait nous permettre d'accéder à d'autres fonctions telles que les fonctions acide carboxylique, amide ou encore amine.

Pour réaliser ce couplage, nous nous sommes inspirés des travaux de Matsushashi *et al.*⁵⁴ qui portent sur la mise au point d'un système catalytique permettant de coupler des alkylsilanes sur des aryles iodés ou bromés par couplage d'Hiyama (**Figure 81**).

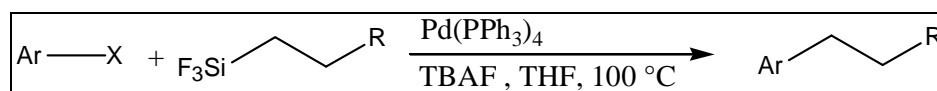


Figure 81 : Couplage pallado-catalysé d'alkyles trifluorosilanes sur des halogénoaryles.

Nous avons tout d'abord préparé le composé **33** à partir du cyanopropyltrichlorosilane commercial par substitution des atomes de chlore par des atomes de fluor dans l'éther en présence de $\text{CuF}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**Figure 82**).

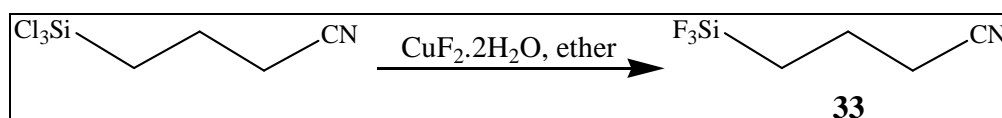


Figure 82 : Préparation du composé **33**.

Ensuite nous avons appliqué les conditions de couplage d'Hiyama au 5-iodooxindole **16** en présence du composé **33** (**Figure 83**).

⁵⁴ Matsushashi, H.; Satoshi, A.; Hirabayashi, K.; Hatanaka, Y.; Mori, A.; Hiyama, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1997**, *70*, 437-444.

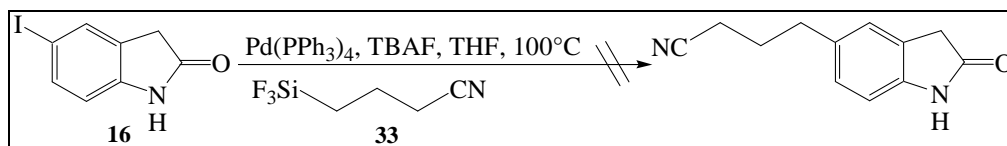


Figure 83 : Essai de couplage d'Hiyama sur le 5-iodooxindole.

Après purification du mélange réactionnel, nous avons récupéré uniquement du produit de départ en mélange avec l'oxindole (produit de déhalogénéation).

Le mécanisme mis en jeu lors du couplage pallado-catalysé d'Hiyama, est représenté sur la **Figure 84**.

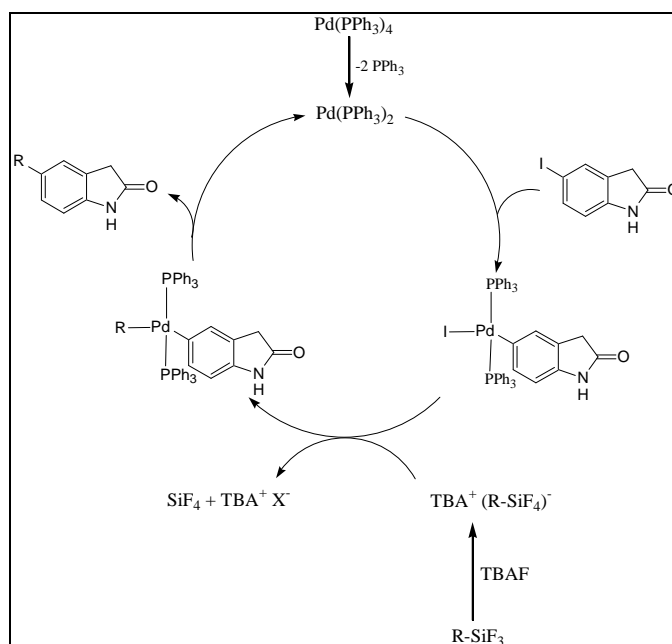


Figure 84 : Mécanisme du couplage d'Hiyama.

Le couplage d'Hiyama, comme tous les autres couplages palladiés, se fait suivant un cycle catalytique de trois étapes : addition oxydante, transmétallation et élimination réductrice. Par ailleurs, l'étape cruciale de ce couplage est la conversion de l'alkyltrifluorosilane en alkyltétrafluorosilicate par action du TBAF. Cette conversion est indispensable pour que la transmétallation se réalise.

Afin de voir si l'échec du couplage testé n'était pas lié à un problème de préparation de l'alkyltétrafluorosilicate *in situ*, nous avons préparé le composé **34**. Pour ce faire, le silane **33** a été traité par du KF en présence de l'éther-couronne 18-crown-6 dans le toluène selon la méthode décrite par Johnson *et al.*⁵⁵ (**Figure 85**).

⁵⁵ Johnson, M. R.; Day, R. O.; Holmes, R. R. *Inorg. Chem.* **1989**, 28, 3182-3189.

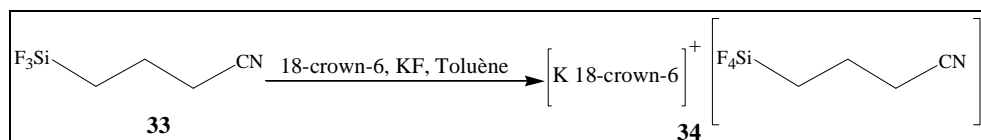


Figure 85 : Préparation du composé 34.

Nous avons ensuite tenté directement le couplage du composé **34** sur le 5-iodooxindole **16** dans les mêmes conditions que précédemment (Figure 86).

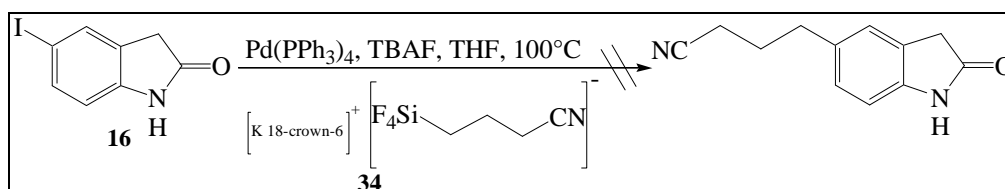


Figure 86 : Essai de couplage d'Hiyama sur le 5-iodooxindole.

Cette fois-ci encore, nous avons récupéré les mêmes produits que lors du premier essai, à savoir le produit de départ et l'oxindole (produit de déhalogénéation).

I-3-2- Couplages sur les 5'-iodoisoindigos glycosylés acétylés **25** et **26**

Compte tenu des résultats obtenus sur le 5-iodooxindole **16**, nous avons décidé de réaliser des couplages pallado-catalysés en fin de synthèse sur les isoindigos glycosylés acétylés iodés **25** et **26** (Figure 73, Tableau 18).

Afin d'accéder à des analogues de l'isoindigo **S** substitués par un groupement acide 4-oxobutanoïque, nous nous sommes inspirés de travaux réalisés antérieurement au laboratoire par Héléne Hénon lors de sa thèse (thèse soutenue Novembre 2005).

En effet, ces travaux décrivent l'obtention d'un carbonyle par oxydation d'une triple liaison^{55bis} (Figure 87).

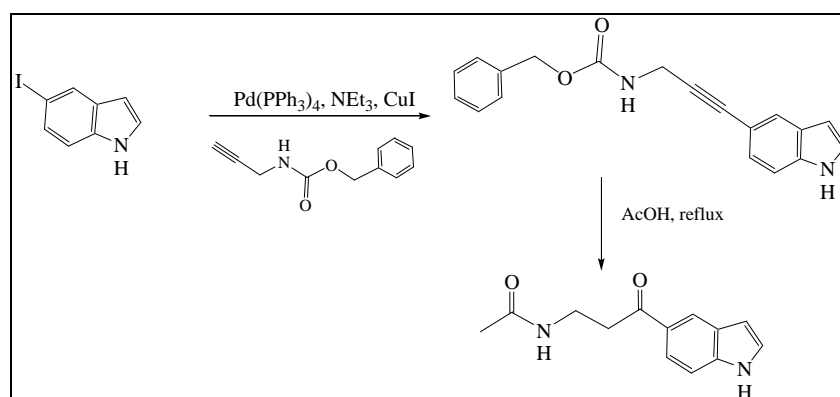


Figure 87 : Couplage de Sonogashira suivi d'une oxydation de la triple liaison.

^{55bis} Olivier, N.; Thomas, E.; Peyrat, J.-F.; Alami, M.; Brion, J.-D. *Synlett*, **2004**, 2175-2179.

Le Bras, G.; Provot, O.; Peyrat, J.-F.; Alami, M.; Brion, J.-D. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5497-5501.

L'accès à des analogues du composé **S** en série acétylé peut donc être envisagé par couplage d'un alcyne judicieusement fonctionnalisé afin d'accéder au motif acide 4-oxobutanoïque attendu (**Figure 88**).

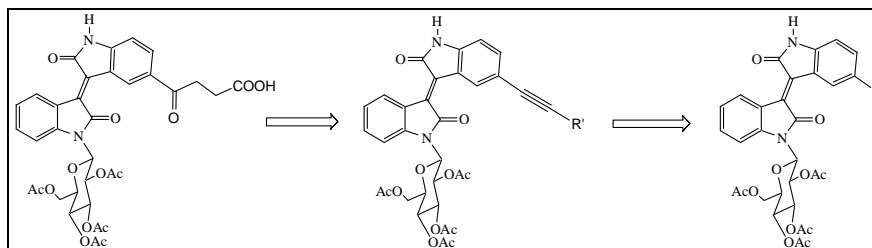


Figure 88 : Schéma rétrosynthétique envisagé pour introduire le motif acide 4-oxobutanoïque

En nous inspirant des travaux de Hénon et *al.*⁵⁶ et de Balle et *al.*⁵⁷ nous avons donc couplé différentes chaînes alcynes fonctionnalisées sur les composés **25** et **26** (**Figure 89**).

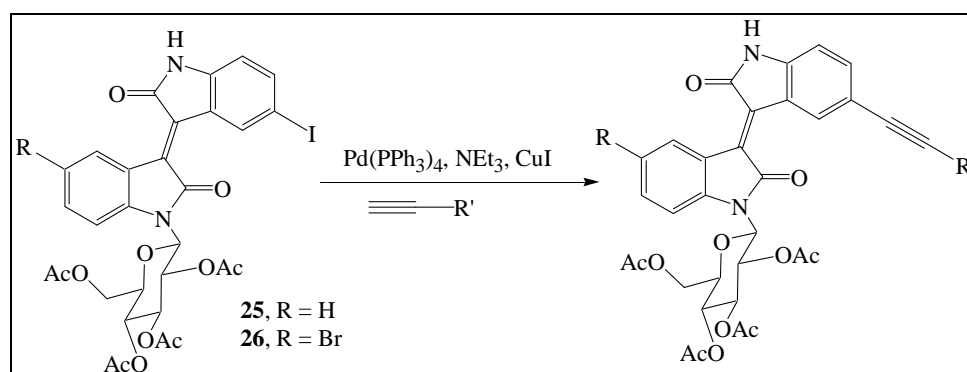


Figure 89 : Couplage de Sonogashira sur les composés **25** et **26**.

I-3-2-a- Couplage du but-3-yn-1-ol

L'introduction d'une chaîne portant une fonction alcool dans sa partie terminale devrait permettre, par oxydation, l'accès à une fonction acide carboxylique. Dans la littérature, Goulet *et al.*⁵⁸ ont décrit une méthode d'oxydation de la fonction alcool en fonction acide sans déprotection des fonctions acétates sur une partie osidique (**Figure 90**) :

⁵⁶ Hénon, H.; Anizon, F.; Golsteyn, R. M.; Léonce, S.; Hofmann, R.; Pfeiffer, B.; Prudhomme, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3825-3834.

⁵⁷ Balle, T.; Perregaard, J.; Ramirez, M.T.; Larsen, A.; K.; Søbey, K. K.; Liljefors, T.; Anderson, K. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 265-283

⁵⁸ Goulet, M. T.; Ujjainwalla, F.; Von Langen, D.; Ogawa, A. WO062824 (**2005**) CA 143:133635.

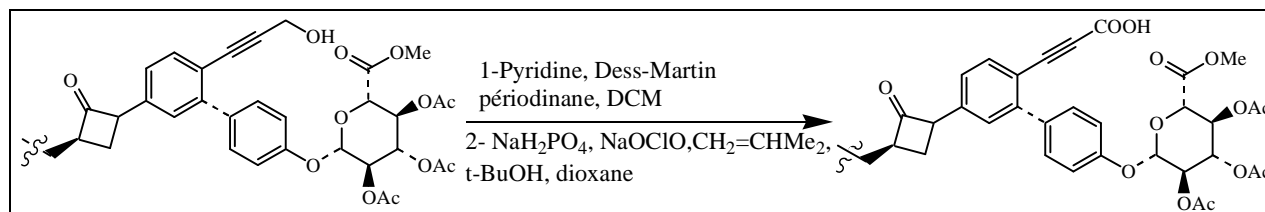


Figure 90 : Méthode d'oxydation de la fonction alcool en fonction acide.

Nous avons donc décidé de coupler le but-3-yn-1-ol commercial sur les composé **25** et **26** dans un mélange acétonitrile/triéthylamine en présence de palladium tétrakis(triphénylphosphine) ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) et d'iodure cuivreux. Ainsi, nous avons isolé les produits attendus **35** et **36** avec des rendements respectifs de 14% et 41% (Figure 91). Le faible rendement de cette réaction peut être expliqué à la fois par l'apparition de produits de dégradation au cours de la réaction ainsi que par des difficultés de purification.

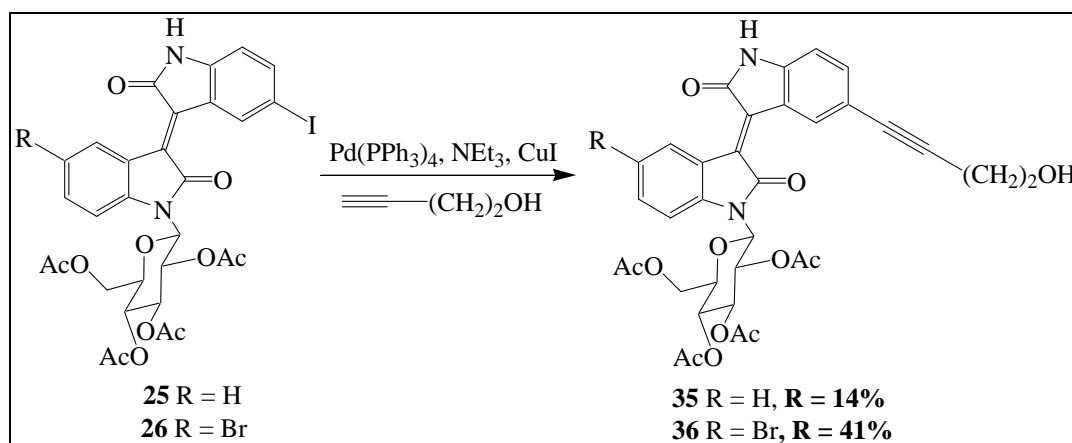


Figure 91 : Préparation des composés **35** et **36**.

Par manque de temps, la synthèse n'a pas été poursuivie jusqu'à son terme. Il reste à mettre au point l'obtention de la fonction carbonyle à partir de la triple liaison.

1-3-2-b- Couplage de la Cbz-propargylamine

Toujours dans le but de préparer des analogues du composé **S**, mais cette fois-ci avec une fonction amine en position terminale, nous avons décidé de coupler sur les composés **25** et **26**, la propargylamine protégée par un groupement Cbz. Ainsi, nous avons tout d'abord protégé la propargylamine par un groupement benzyloxycarbonyle dans les conditions décrites par Bieschofberger *et al.*⁵⁹ (Figure 92).

⁵⁹ Bieschofberger, N.; Waldmann, H.; Saito, T.; Simon, E. S.; Lees, W.; Bednarski, M. D.; Whitesides, M. J. *Org. Chem.* **1988**, *53*, 3457-3465.

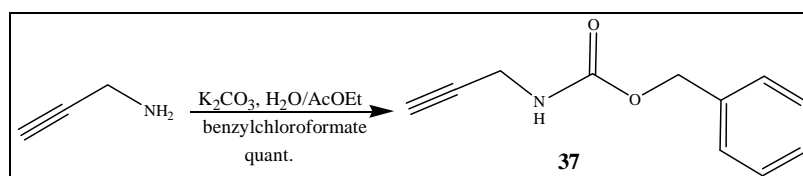


Figure 92 : Préparation de la Cbz-propargylamine 37.

Le composé **37** a ensuite été couplé au composé **25** dans les conditions décrites précédemment⁵⁷ afin d'obtenir le composé **38** avec un rendement de 24% (**Figure 93**). Pour isoler le composé **38**, nous avons été confronté aux mêmes problèmes de purification que pour les produits **35** et **36**.

Afin d'améliorer le rendement du couplage, nous avons tenté la même réaction, sans succès, à reflux d'un mélange DMF/triéthylamine en présence de Pd(PPh₃)₂Cl₂ et d'iodure cuivreux.⁶⁰ Seuls des produits de dégradations ont été observés.

Nous avons également réalisé le couplage la propargylamine protégée **37** sur le composé bromé **26**, à reflux du mélange acétonitrile/triéthylamine en présence de Pd(PPh₃)₄ et d'iodure de cuivre. Nous avons ainsi réalisé un couplage sur le cycle D qui nous a conduit au produit souhaité **39** avec un rendement de 33% (**Figure 93**).

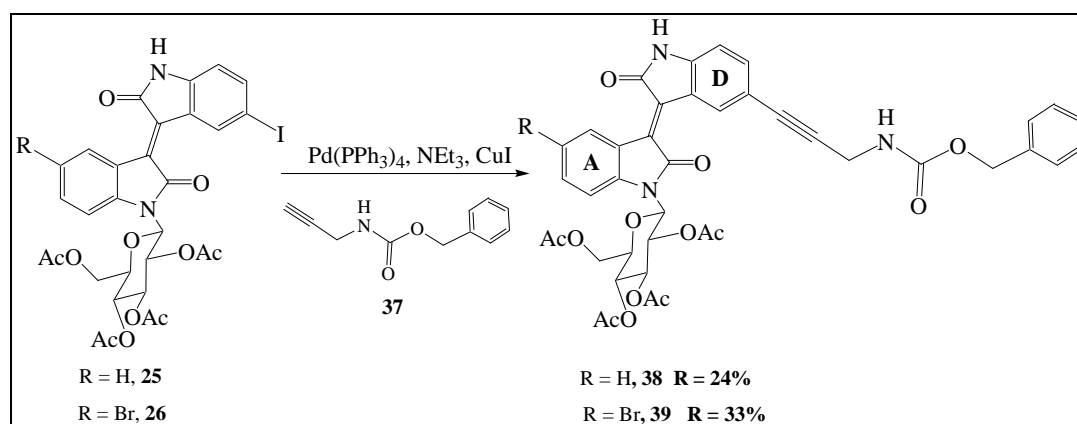


Figure 93 : Couplage de 37 sur les composés 25 et 26.

Malheureusement par manque de temps nous n'avons pas poursuivi cette voie de synthèse.

Dans cette famille de composés, 15 nouveaux isoindigos qui diffèrent entre eux par la nature des substituants sur les cycles A et D ont été préparés (**Figure 94**) et ont été soumis à différents tests biologiques. Les résultats de ces derniers seront détaillés dans la troisième partie.

⁵⁷ Balle, T.; Perregaard, J.; Ramirez, M.T.; Larsen, A.; K.; Søbey, K. K.; Liljefors, T.; Anderson, K. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 265-283.

⁶⁰ Yin, L.; Liebscher, J. *Synthesis* **2005**, *8*, 1345-1349.

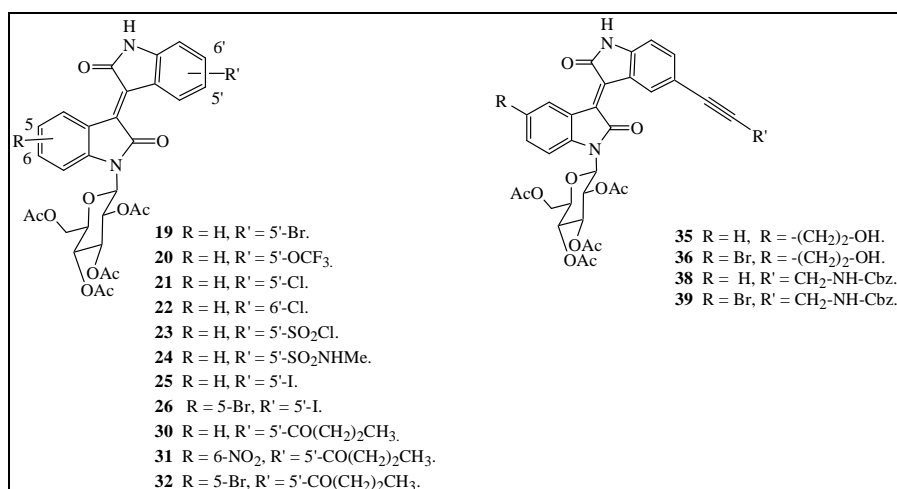


Figure 94 : Différents isoindigos préparés et soumis aux tests biologiques.

II- Synthèse de 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés

Les azaindoles sont des bio-isostères des indoles. Ils sont peu présents dans les produits naturels, contrairement à l'indole, mais ils ont démontré des propriétés pharmacologiques intéressantes.^{61,62,63} Les azaoxindoles sont des isostères de l'oxindole. Ils sont obtenus, pour la plupart d'entre eux, par oxydation de l'azaindole correspondant. Il existe 4 isomères : les 4, 5, 6 et 7-azaoxindoles. Seul le 7-azaoxindole est obtenu à partir du 7-azaindole commercial (Figure 95).

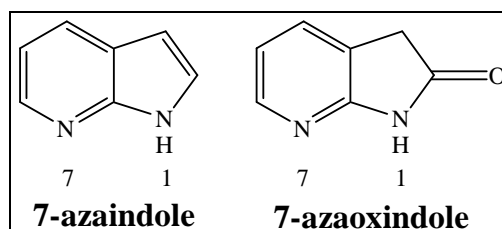


Figure 95 : Structure des 7-azaindole et 7-azaoxindole.

La présence d'un atome d'azote supplémentaire est susceptible de favoriser les interactions dans le site actif de l'enzyme cible et donc modifier le profil pharmacologique des composés en raison de la modification de la distribution électronique du squelette aromatique et/ou de la présence du doublet libre supplémentaire qui peut induire de nouvelles liaisons hydrogène. Par conséquent, nous avons décidé de préparer une nouvelle série de 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés, afin d'évaluer l'influence d'un atome d'azote supplémentaire sur

⁶¹ Hénon, H.; Messaoudi, S.; Anizon, F.; Aboab, B.; Kucharczyk, N.; Léonce, S.; Golsteyn, R. M.; Pfeiffer, B.; Prudhomme, M. *Eur. J. Pharmacology* **2007**, *554*, 106-112.

⁶² Messaoudi, S.; Anizon, F.; Peixoto, P.; David-Cordonnier, M.-H.; Golsteyn, R. M.; Léonce, S.; Pfeiffer, B.; Prudhomme, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 7551-7562.

⁶³ Popowycz, F.; Routier, S.; Joseph, B.; Mérour, J.-Y. *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 1031-1064.

l'activité de ces dérivés et approfondir ainsi l'étude de relations structure-activité dans cette série (**Figure 96**).

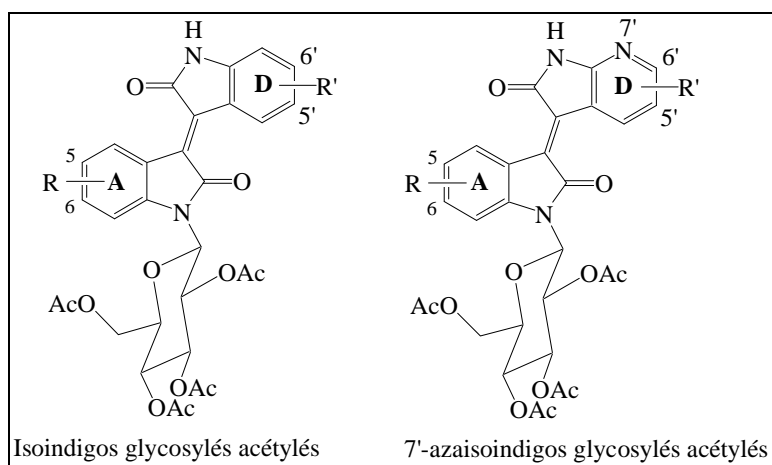


Figure 96 : Isoindigos glycosylés acétylés et leurs analogues 7'-aza.

II-1- Synthèse des 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés

Une voie de synthèse identique à celle décrite pour la préparation des isoindigos a été envisagée pour préparer ces composés : le couplage entre des isatines glycosylées acétylées et des azaoxindoles substitués ou non (**Figure 97**).

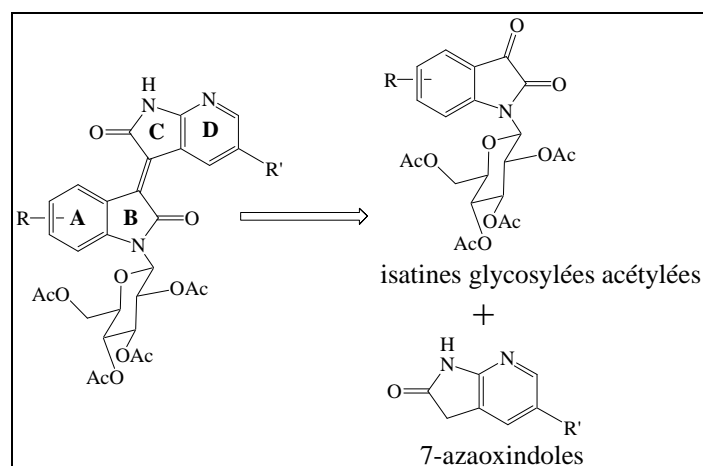


Figure 97 : Schéma rétrosynthétique envisagé pour l'accès aux glycosyl-7'-azaisoindigos.

II-1-1- Préparation de 7-azaoxindoles

Nous avons préparé dans un premier temps les 7-azaoxindoles **41** et **43**, bromés ou non en position 5, à partir du 7-azaindole.

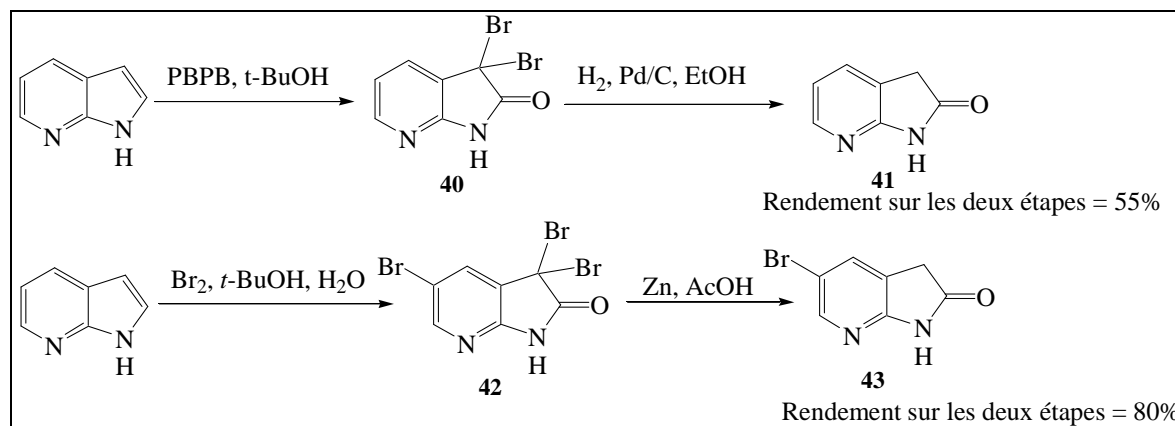


Figure 98 : Préparation du 7-azaoxindole et de son analogue 5-bromé.

✧ Le 7-azaindole commercial est oxydé par action du tribromure de pyridinium (PBPB) dans le *tert*-butanol, pour conduire à l'intermédiaire **40** qui est ensuite engagé dans une hydrogénolyse sous une pression de 30 psi dans l'EtOH.⁶⁴ Le 7-azaoxindole **41** est ainsi isolé avec un rendement de 55% sur les 2 étapes (**Figure 98**).

✧ Le 5-bromo-7-azaoxindole **43** est obtenu par bromation et oxydation du 7-azaindole en présence du dibrome dans un mélange *tert*-butanol/eau. L'intermédiaire **42** obtenu dans un premier temps est ensuite réduit par action du zinc dans l'AcOH⁶⁵ pour conduire au composé **43** avec 80% de rendement sur les deux étapes (**Figure 98**).

II-1-2- Synthèse des 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés

Une fois que les 7-azaoxindoles **41** et **43** ont été préparés, ils ont été couplés avec les isatines glycosylées acétylées **10** et **11** en présence d'APTS et de tamis moléculaire 4 Å dans le toluène à reflux.

Nous avons ainsi obtenu les composés **44** à **47** avec des rendements allant de 10% à 55% (**Figure 99**, **Tableau 20**).

⁶⁴ Marfat, A.; Carta, M. P. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 35, 4027-4030.

⁶⁵ Daniel, M.; Guillaumet, G.; Viaud, M. C. *Heterocycles*, **1999**, 50, 1065-1080.

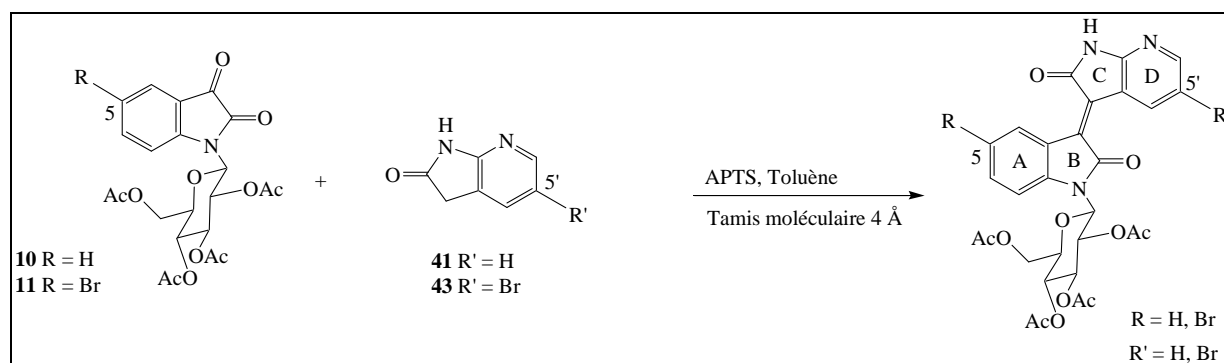


Figure 99 : Préparation des 7'-azaisoindigos 44-47.

Composés	R	R'	Rendement
44	H	H	10%
45	Br	H	20%
46	H	Br	55%
47	Br	Br	51%

Tableau 20 : Préparation de différents 7'-azaisoindigos diversement substitués.

Pour la purification des 7'-azaisoindigos, nous avons rencontré les mêmes problèmes que pour la série des isoindigos. Ainsi après une purification par chromatographie sur colonne, les composés **44** et **45** ont été précipités dans un mélange toluène/AcOH avec quelques gouttes d'eau. Les composés **46** et **47** ont été isolés directement par chromatographie sur colonne.

Afin d'étudier l'influence de la partie osidique sur l'activité biologique, nous avons également préparé le 7'-azaisoindigo non glycosylé.

Pour cela nous avons mis en réaction l'isatine et l'azaoxindole **41** en présence d'APTS et de tamis moléculaire 4 Å à reflux du toluène. Dans ces conditions, nous n'avons observé que des produits de dégradation. Compte tenu de ces résultats, nous avons repris les conditions de synthèse mises au point précédemment au laboratoire pour la préparation des isoindigos glycosylés benzylés.⁶⁶ Ainsi nous avons mis en réaction l'isatine et l'azaoxindole **41** à reflux d'acide acétique en présence d'HCl. Après purification, nous avons isolé le produit attendu **48** avec un rendement de 43% (**Figure 100**).

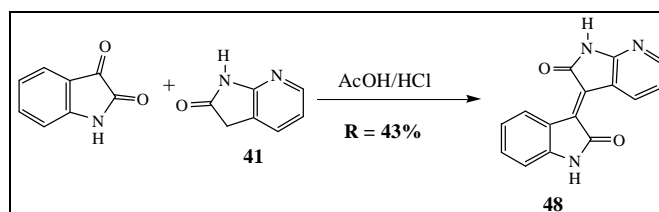


Figure 100 : Préparation du 7'-azaisoindigo 48.

⁶⁶ Sassatelli, M.; Saab, E.; Anizon, F.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4827-4830.

II-2- Synthèse d'azaisoindigos substitués sur le cycle D par des couplages pallado-catalysés

Etant donné que nous disposons de dérivés bromés sur le cycle D, nous avons entrepris dans un premier temps des couplages de Sonogashira sur les dérivés bromés, comme ceux effectués à partir des composés **25** et **26** pour accéder aux isoindigos **35** et **36**.

Lorsque nous avons tout d'abord tenté de coupler le but-3-yn-1-ol sur le composé **43**, dans les conditions décrites par Balle *et al.*⁵⁷, aucun produit identifiable n'a pu être isolé (**Figure 101**).

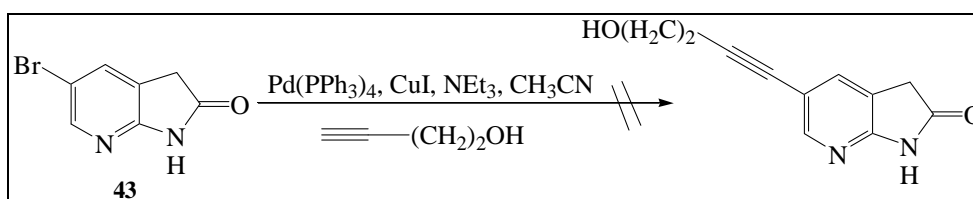


Figure 101 : Essai de couplage sur le composé **43**.

Nous avons donc tenté le même couplage mais cette fois-ci sur le composé **46** ; une fois de plus, aucun produit identifiable n'a pu être isolé (**Figure 102**).

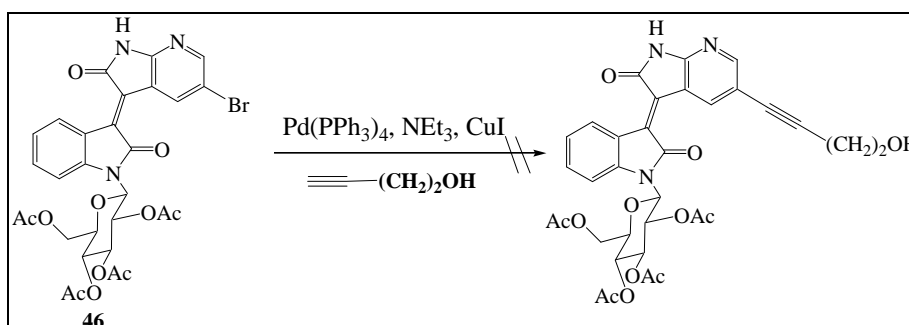


Figure 102 : Tentative de couplage pallado-catalysé sur le composé **46**.

Les réactions de couplage mettant en jeu des dérivés bromés posent apparemment des problèmes vraisemblablement liés à leur manque de réactivité. Afin de pallier ce problème, nous avons donc décidé de préparer les composés iodés correspondants.

Dans un premier temps, nous nous sommes orientés vers la préparation du 7-aza-5-iodo-oxindole par échange d'halogène à partir de son analogue bromé **43**.

Dans la littérature, différents exemples d'échange d'halogène ont été décrits sur des pyridines.

⁵⁷ Balle, T.; Perregaard, J.; Ramirez, M.T.; Larsen, A.; K.; Søbey, K. K.; Liljefors, T.; Anderson, K. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 265-283.

Kosaka *et al.*⁶⁷ ont décrit une méthode d'échange d'halogène par substitution nucléophile aromatique dans les conditions indiquées **Figure 103** :

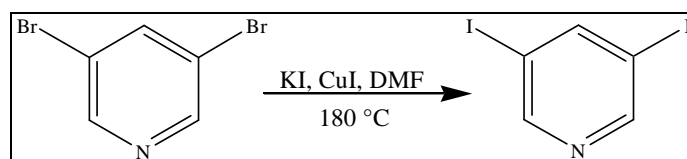


Figure 103 : Méthode d'échange d'halogène décrite par Kosaka *et al.*

Lorsque nous avons appliqué ces conditions au composé **43**, seuls des produits de dégradation ont été observés (**Figure 104**).

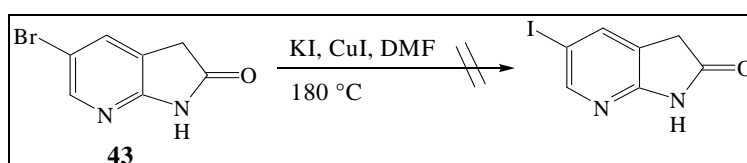


Figure 104 : Essai d'échange d'halogène selon Kosaka *et al.* sur le composé **43**.

Une autre méthode décrite par Lavilla *et al.* consiste d'abord à former un organolithien par métallation d'un halogénoaryle. Dans un deuxième temps, l'intermédiaire lithié réagit avec l'iode pour conduire au dérivé iodé correspondant⁶⁸ (**Figure 105**).

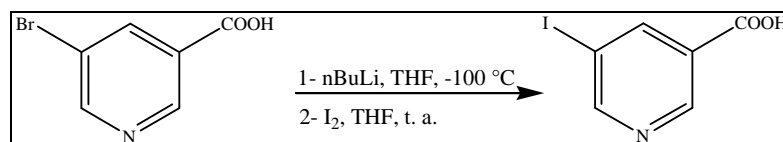


Figure 105 : Méthode d'échange d'halogène décrite par Lavilla *et al.*

Dans cet exemple, comme dans le cas des oxindoles, on note la présence d'un proton labile. Nous avons donc appliqué ces conditions au composé **43**. Dans ces conditions, le produit correspondant à l'échange d'halogène n'a pas été obtenu. Seuls des produits de dégradation ont été observés (**Figure 106**).

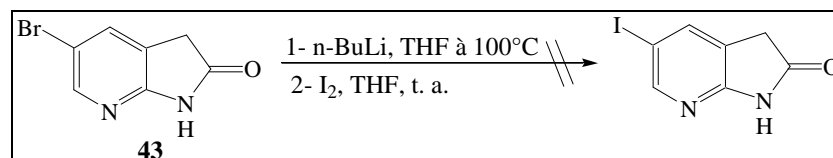


Figure 106 : Essai d'échange d'halogène selon Lavilla *et al.* sur le composé **43**.

⁶⁷ Kosaka, Y.; Yamamoto, H. M.; Nakao, A.; Tamura, M.; Kato, R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3054-3055.

⁶⁸ Lavilla, R.; Gullón, F.; Bosch, J. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, *2*, 373-378.

Enfin, nous nous sommes orientés vers la méthode d'échange d'halogène mise au point par Klapars et Buchwald⁶⁹ (**Figure 107**) :

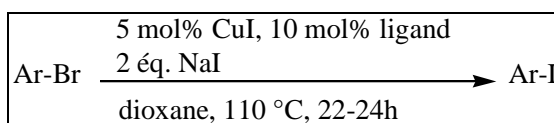


Figure 107 : Méthode d'échange d'halogène selon Klapars et Buchwald.

Ces conditions ont été appliquées sur plusieurs composés aromatiques dont des cycles pyridiniques. Les meilleurs rendements ont été obtenus en présence de *trans*-*N,N'*-diméthyl-1,2-cyclohexanediamine **49** en tant que ligand (**Figure 108**).

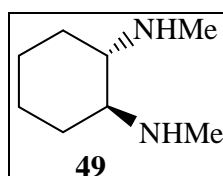


Figure 108 : Structure du ligand 49.

De ce fait, nous avons tout d'abord décidé de préparer le ligand **49** avant de tenter l'échange d'halogène sur le composé **43**. Selon les données de la littérature décrites par Klapars *et al.*⁷⁰ nous avons fait réagir la *trans*-1,2-cyclohexanediamine en présence de formiate d'éthyle à 60 °C. Après refroidissement et filtration de la suspension, l'intermédiaire réactionnel ainsi obtenu a été engagé directement dans une réaction de réduction en présence de LiAlH₄ dans le THF pour conduire au produit attendu **49** avec un rendement de 73% sur les 2 étapes (**Figure 109**).

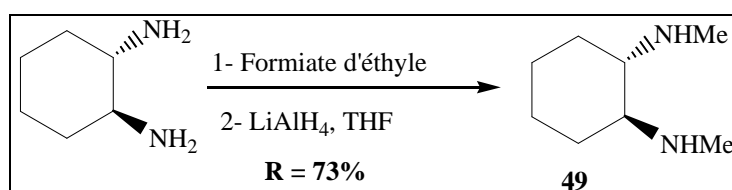
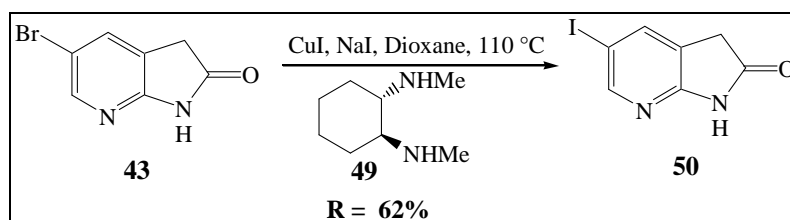


Figure 109 : Préparation du ligand 49.

Nous avons ensuite appliqué les conditions mises au point par Klapars et Buchwald au composé **43** (**Figure 110**).

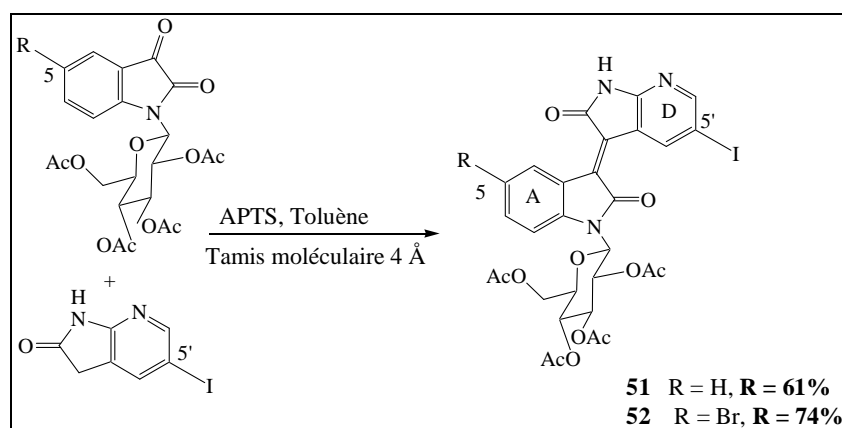
⁶⁹ Klapars, A.; Buchwald, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14844-14845.

⁷⁰ Klapars, A.; Huang, X.; Buchwald, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7421-7428.

Figure 110 : Préparation du composé **50**.

En raison de la forte instabilité du composé obtenu, la réaction, le traitement et la purification ont été réalisés à l'abri de la lumière. Grâce à cette méthode, nous avons obtenu le composé **50** souhaité avec un rendement de 62%.

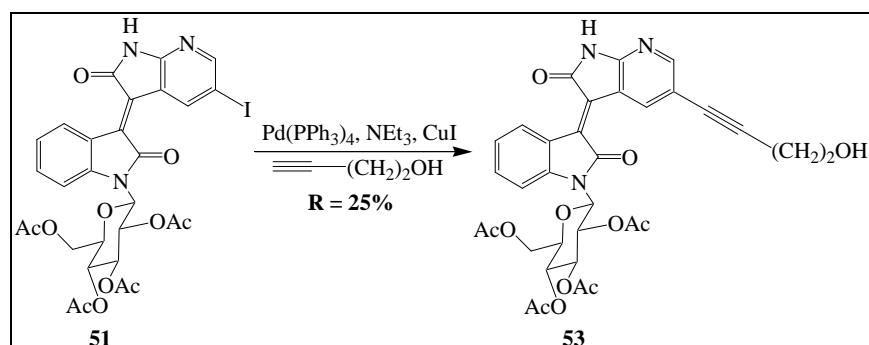
Le composé **50** a permis de préparer les 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés iodés **51** et **52**. Ceux-ci ont été obtenus dans les conditions de couplage classiques, en réalisant la réaction, le traitement et la purification à l'abri de la lumière (**Figure 111**).

Figure 111 : Préparations des composés **51** et **52**.

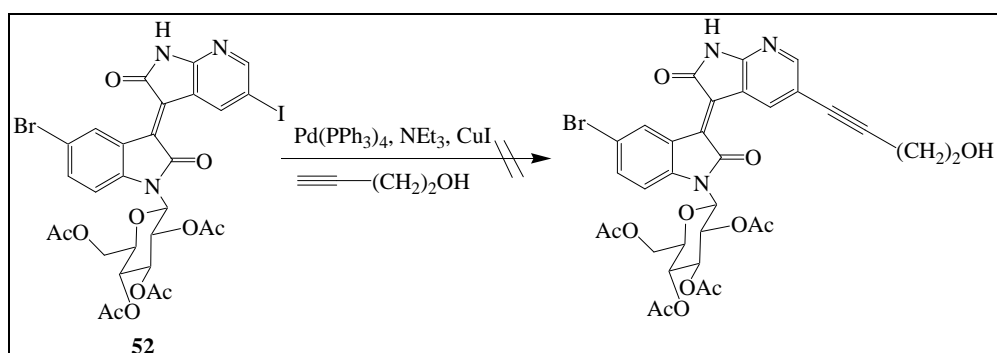
Nous disposons maintenant de 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés iodés qui devraient présenter une meilleure réactivité dans les couplages pallado-catalysés que leurs analogues bromés.

Afin de comparer par la suite les activités biologiques en série isoindigo et 7'-azaisoindigo, nous avons décidé de coupler les mêmes chaînes que celles utilisées dans la famille des isoindigos.

Ainsi, le composé **51** a été traité par le but-3-yn-1-ol à reflux dans un mélange acétonitrile/triéthylamine en présence de Pd(PPh₃)₄ et d'iodure cuivreux pour conduire au composé **53** avec un rendement de 25% (**Figure 112**).

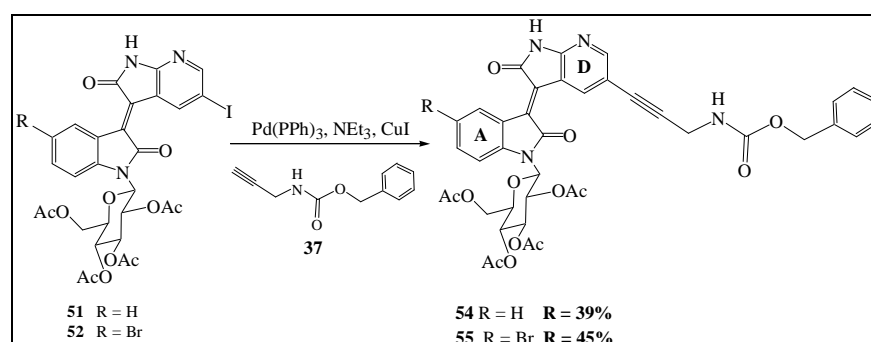
Figure 112 : Couplage de Sonogashira sur le composé **51**.

Nous avons essayé le même couplage sur le composé **52**. Malheureusement aucun produit identifiable n'a pu être isolé, malgré de nombreux essais de purification (**Figure 113**).

Figure 113 : Essai de couplage sur le composé **52**.

Par manque de temps nous n'avons pas essayé cette réaction dans d'autres conditions.

L'alcyne **37** a également été couplée aux composés **51** et **52** dans les conditions décrites précédemment. Après une purification par chromatographie sur colonne, nous avons isolé les composés **54** et **55** avec des rendements respectifs de 39% et 45% (**Figure 114**).

Figure 114 : Couplage de Sonogashira sur les composés **51** et **52**.

III- Conclusion

En résumé, dans cette série nous avons obtenu neuf 7'-azaisoindigos diversement substitués, structures qui n'avaient jamais été décrites auparavant (**Figure 115**).

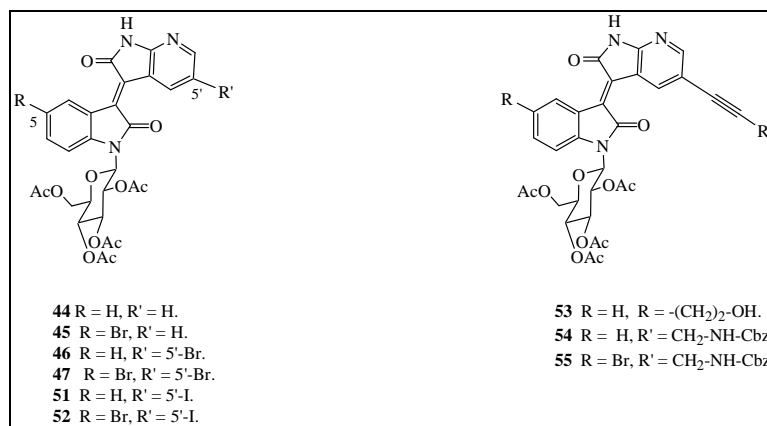


Figure 115 : Différents 7'-azaisoindigos préparés et soumis aux tests biologiques.

Ces composés ont été soumis à différents tests biologiques dont les résultats seront présentés dans la troisième partie.

Chapitre II : Les indolin-2-ones substituées en position 3 par des chaînes latérales fonctionnalisées par un groupement α -amino-acide (Famille B).

I- Introduction⁴⁶

La synthèse des premiers représentants de la famille B a été réalisée par Mathieu Sassetelli au cours de sa thèse, en trois étapes à partir de l'isatine commerciale. Les produits obtenus ont été isolés sous la forme d'un mélange non séparable de diastéréoisomères *Z/E*. Le schéma rétrosynthétique employé pour la préparation de ces composés est représenté **Figure 116**.

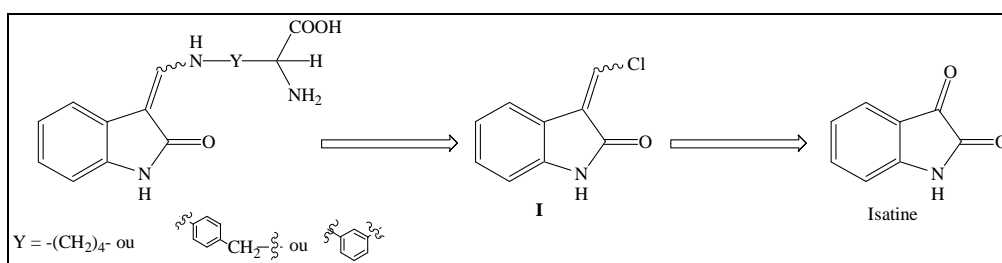


Figure 116 : Schéma rétrosynthétique d'accès aux composés de la famille B.

Le composé **I** a été obtenu grâce à une réaction de Wittig entre l'isatine et l'iodure de chlorométhyltriphenylphosphonium. Le composé **I** a été isolé avec un rendement de 51%, sous forme d'un mélange de deux diastéréoisomères *Z/E* dans un rapport 70:30.

Des amino-acides protégés par un groupement Boc sur l'atome d'azote porté par le $C\alpha$ ont ensuite été couplés en milieu basique avec le composé chloré **I**, puis déprotégés en milieu acide, pour conduire aux composés attendus (**V₁** à **V₃**) sous forme de chlorhydrates (**Figure 117**).

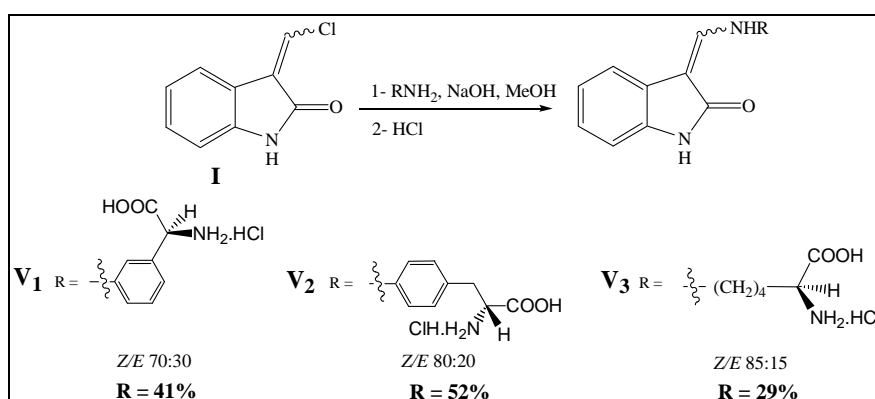


Figure 117 : Couplage entre les différents amino-acides et le composé **I**.

⁴⁶ Sassetelli, M.; Debiton, E.; Aboab, B.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 709-716.

Les composés V_1 à V_3 ont été obtenus avec des rendements allant de 29% à 52% sur les 2 étapes.

Comme nous l'avons déjà mentionné, le composé le plus actif de cette série est le composé V_3 qui possède une chaîne amino-acide flexible.

Compte tenu de ces résultats et afin de préparer d'autres analogues plus performants, nous nous sommes orientés vers la préparation d'indolin-2-ones substituées sur la position 3 par des chaînes latérales flexibles de longueur variable (2 ou 3 carbones), bromées ou non sur la position 5 de l'oxindole.

Par ailleurs, en raison du faible rendement de la préparation des composés de la famille B et particulièrement du composé V_3 , nous avons décidé d'explorer une autre voie de synthèse en remplaçant le chlore du composé **I** par un autre groupement partant (NMe_2 ou OEt).

Le schéma rétrosynthétique envisagé pour la préparation des composés souhaités comporte 3 étapes à partir d'un oxindole substitué ou non en position 5 (**Figure 118**).

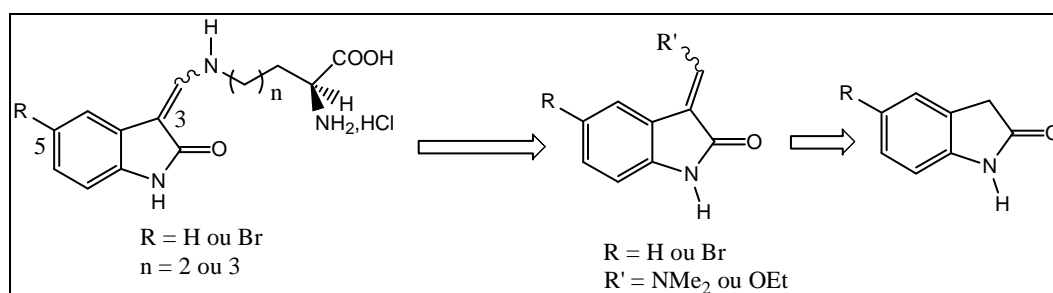


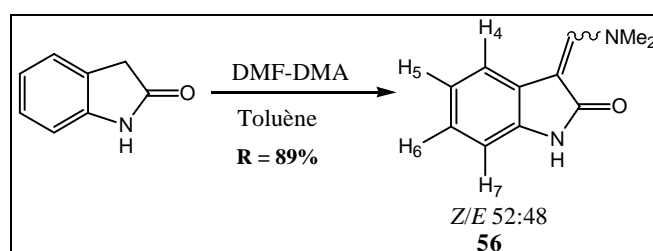
Figure 118 : Nouveau schéma rétrosynthétique pour la préparation des composés de la famille B.

Nous allons présenter dans un premier temps une nouvelle voie de synthèse pour préparer le composé V_3 avec de meilleurs rendements. Cette nouvelle voie de synthèse nous permettra par la suite de préparer d'autres composés, d'une part en changeant la longueur de la chaîne, d'autre part en introduisant un atome de brome en position 5 de l'oxindole.

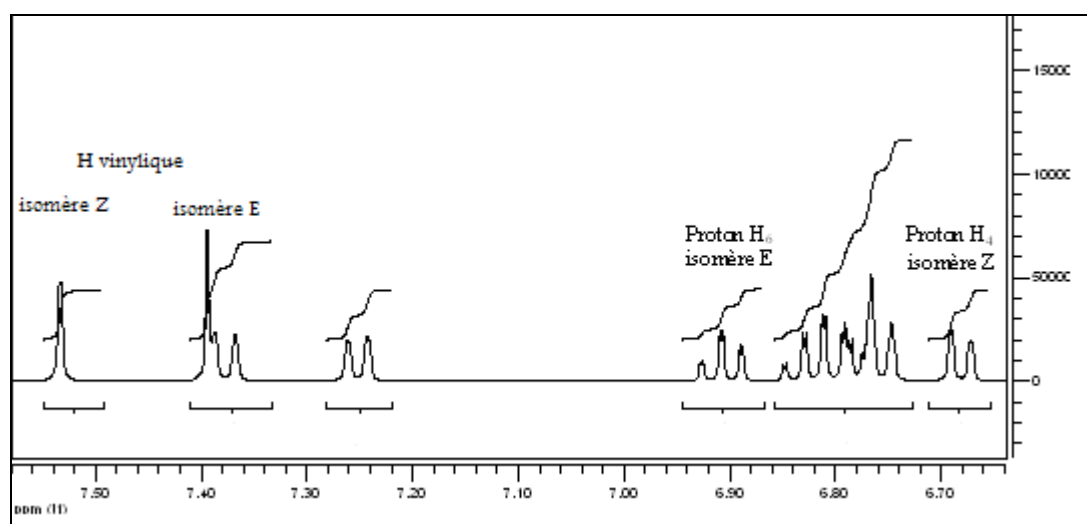
II- Nouvelle voie de synthèse du composé V_3

Nous nous sommes orientés dans un premier temps vers la préparation de l'analogue diméthylaminométhylène du composé **I**. Pour cela, en nous inspirant des travaux décrits par Abass *et al.*⁷¹ sur des 4-hydroxyquinolones, l'oxindole a été traité par un mélange *N,N*-diméthylformamide diméthylacétal (DMF-DMA) dans le toluène. Le composé **56** a ainsi été obtenu avec un rendement de 89% (**Figure 119**).

⁷¹ Abass, M.; Mostafa, B. B. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 6133-6144.

Figure 119 : Préparation du composé **56**.

Le composé **56** a été obtenu sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères *Z* et *E*, dont le rapport est de 52:48. Ce rapport a été déterminé par la mesure des courbes d'intégration du signal du proton H_4 à 6,68 ppm et du proton H_6 à 6,91 ppm, correspondant respectivement aux isomères *Z* et *E* (Figure 120).

Figure 120 : Spectre RMN ^1H du mélange de diastéréoisomères **56Z** et **56E** (400 MHz) dans le $\text{DMSO-}d_6$.

La configuration des isomères *Z* et *E* du composé **56** a été déterminée par RMN du proton par comparaison avec les travaux de Morales-Rios *et al.*⁷²

En effet, ces auteurs décrivent des 3-méthylèneoxindoles substitués par différents groupements et, dans tous les cas, le proton vinylique de l'isomère *Z* est plus déblindé que celui de l'isomère *E* (Figure 121).

⁷² Morales-Rios, M. S.; Garcia-Velgara, M.; Cervantes-Cuevas, H.; Alvarez-Cisneros, C.; Joseph-Nathan, P. *Magn. Reson. Chem.* **2000**, 38, 172-176.

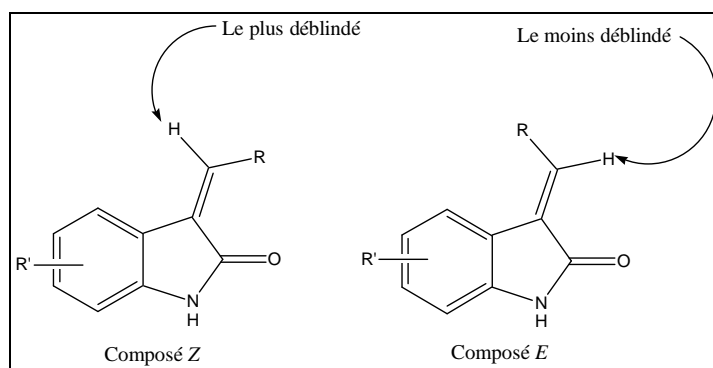


Figure 121 : Comparaison du déplacement chimique du proton vinylique des deux diastéréoisomères.

Toujours afin d'optimiser la méthode de synthèse du composé **V₃**, nous avons également envisagé de préparer le 3-éthoxyméthylène oxindole, intermédiaire qui possède un groupe partant éthoxy. Ce composé est obtenu par action du triéthylorthoformiate sur l'oxindole dans l'acide acétique.³⁰ Le produit attendu a été obtenu minoritairement en mélange avec le produit de départ (**Figure 122**).

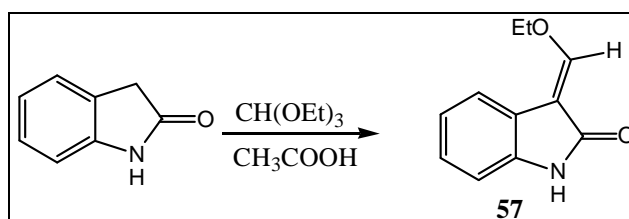


Figure 122 : Préparation du composé **57**.

Compte tenu du faible rendement de la préparation du composé **57**, nous avons décidé d'abandonner cette voie de synthèse et de poursuivre la préparation du composé **V₃** par couplage de la *N*- α -Boc-L-lysine commerciale sur le composé **56**.

Le couplage entre le composé **56** et la *N*- α -Boc-L-lysine a été réalisé en présence d'acide chlorhydrique dans l'éthanol. Le groupement Boc a ensuite été éliminé en milieu acide pour conduire au chlorhydrate du composé **V₃** avec 78% de rendement, sous la forme d'un mélange de diastéréoisomères *Z/E*, dans un rapport 70:30 (**Figure 123**).

³⁰ Bramson, H. N.; Corona, J.; Davis, S. T.; Dickerson, S. H.; Edelstein M.; Frye, S. V.; Gampe, R. T.; Harris, P. A.; Hassell, A.; Holmes, W. D.; Hunter, R. N.; Lackey, K. E.; Lovejoy, B.; Luzzio, M J.; Montana, V.; Rosque, W. J.; Rusnak, D.; Shewchuk, L.; Veal, J. M.; Walker D. H.; Kuyper, L. F. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4339-4358.

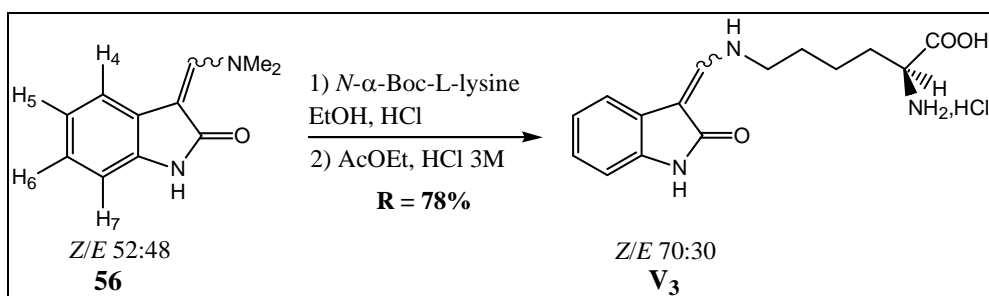


Figure 123 : Couplage entre le composé **56** et la *N*- α -Boc-L-lysine.

Le rendement global de la préparation du composé **V₃** *via* le composé **56** est de 69% sur les 3 étapes à partir de l'oxindole, tandis que le rendement de la préparation du même composé *via* le 3-chlorométhylèneoxindole **I** n'était que de 21% à partir de l'isatine.

Nous avons donc réussi à améliorer le rendement global de la synthèse du composé **V₃** avec un rendement 3 fois supérieur à celui de la méthode de synthèse précédemment mise au point au laboratoire.

Compte tenu de ces résultats, nous avons choisi d'utiliser cette méthode dans le but de diversifier la longueur de la chaîne (2 ou 3 carbones). Dans un premier temps, nous avons préparé les amino-acides nécessaires, protégés par un groupement Boc sur l'azote $N\alpha$, pour ensuite les coupler avec le composé **56** afin d'obtenir les analogues souhaités.

III- Préparation des différents amino-acides protégés

III-1- Préparation de la *N*- α -Boc- L-ornithine

Nous avons tout d'abord tenté de protéger la L-ornithine commerciale dans les conditions décrites par Belagali *et al.* pour la protection de différents amino-acides.⁷³

Ainsi, le chlorhydrate de la L-ornithine a été mis en réaction dans l'isopropanol en présence de $(\text{Boc})_2\text{O}$ et de soude (**Figure 124**).

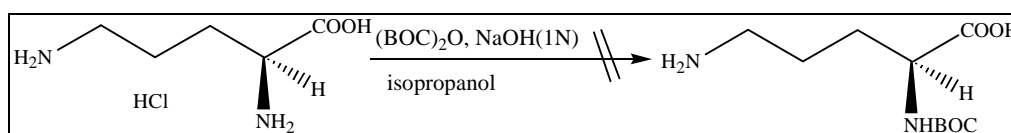


Figure 124 : Tentative de préparation de la Boc-Ornithine.

Malgré de nombreux essais, aucun produit identifiable n'a été isolé dans ces conditions.

⁷³ Belagali, S.L.; Mathew, T.; Himaja, M. *Indian. J. Chem.* **1995**, 34B, 45-47.

Nous avons donc essayé d'autres conditions afin de protéger l'azote $N\alpha$ de l'ornithine en utilisant du $(\text{Boc})_2\text{O}$ en présence de DMAP dans le THF (**Figure 125**).⁷⁴

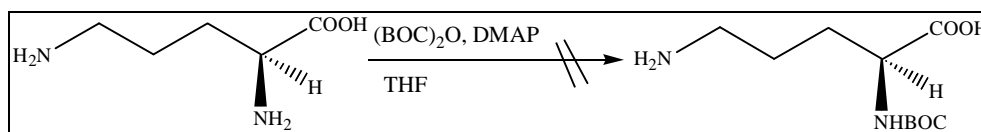


Figure 125 : Tentative de préparation de la $N\alpha$ -Boc-Ornithine.

Cet essai s'est également révélé infructueux. Il est probable que ces échecs sont liés à la faible solubilité de la L-ornithine dans le milieu réactionnel.

Face à ces problèmes, nous nous sommes orientés vers la déprotection sélective de la $N\alpha$ -Boc- $N\delta$ -benzyloxycarbonyl-L-ornithine commerciale par hydrogénolyse.⁷⁵

Par cette méthode, la $N\alpha$ -Boc-L-ornithine **58** a été obtenue quantitativement (**Figure 126**).

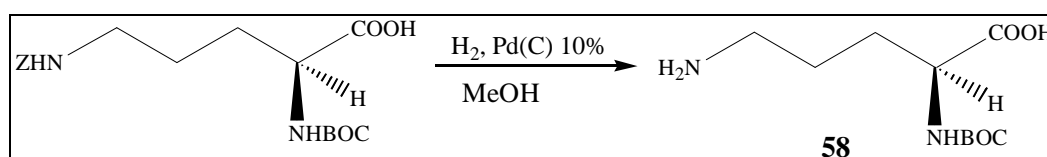


Figure 126 : Préparation de la $N\alpha$ -Boc-L-ornithine

III-2- Préparation de l'acide $N\alpha$ -Boc-2,4-diaminobutanoïque **59**

Nous avons préparé ce composé en nous basant sur des données décrites dans la littérature⁷⁶ (**Figure 127**).

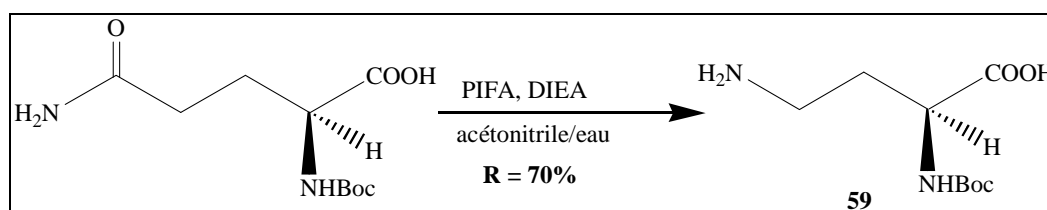


Figure 127 : Préparation du composé **59.**

Ce réarrangement d'Hofmann a été effectué en présence de PIFA (iodobenzène di(trifluoroacétate)) et de diisopropyléthylamine dans un mélange acétonitrile/eau. Nous

⁷⁴ Burgess, K.; Yeol Lim, D. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7815-7818.

⁷⁵ Wender, P. A.; Jessop, T. C.; Pattabiraman, K.; Pelkey, E. T.; VanDeusen, C. L. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3229-3232.

⁷⁶ Yu, C.; Taylor, J. W. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 161-175.

avons ainsi obtenu le produit attendu avec un rendement de 70%. Le mécanisme réactionnel de cette réaction est présenté **Figure 128**.

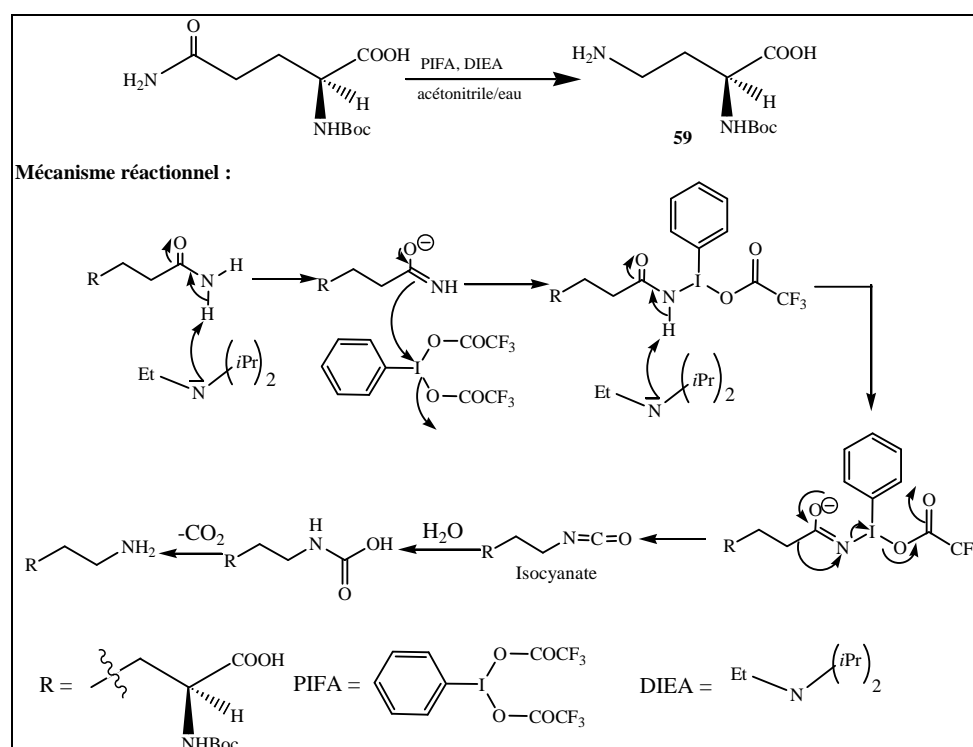


Figure 128 : Mécanisme du réarrangement d'Hofmann.

IV- Couplage entre le composé **56** et les différents amino-acides

IV-1- Couplage du composé **56** avec la *N*- α -Boc-L-ornithine **58**

Nous avons couplé le composé **56** avec la *N*- α -Boc-L-ornithine **58** dans les mêmes conditions que celles mises au point pour le couplage de la *N*- α -Boc-L-lysine (**Figure 129**).

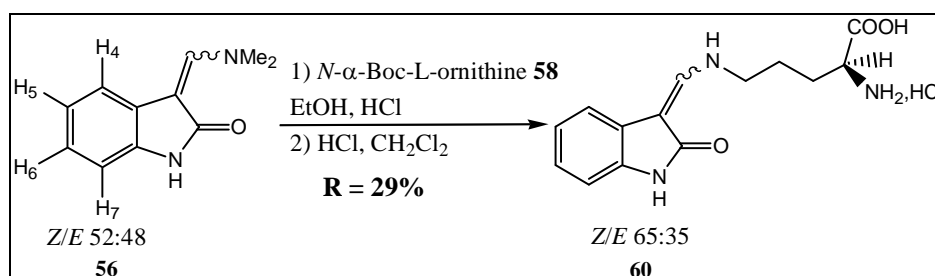


Figure 129 : Préparation du composé **60.**

Nous avons tenté par la suite la déprotection du groupement Boc dans une solution aqueuse d'HCl (3 M). Dans ce cas le produit de déprotection **60** a été identifié par RMN, mais il a été

obtenu en mélange avec des impuretés, qui malgré de nombreux essais de purification n'ont pas pu être éliminées.

Dans un deuxième temps nous avons essayé de déprotéger le groupement Boc en générant de l'HCl gazeux (acide sulfurique/NaCl) directement introduit dans une suspension de l'intermédiaire protégé dans le DCM.

Ainsi, nous avons isolé le produit souhaité **60** par filtration du précipité, avec un rendement de 29% sous la forme d'un mélange de diastéréoisomères *Z/E* dans un rapport de 65:35. Le rapport des diastéréoisomères *Z/E* est déterminé par l'intégration des signaux des protons vinyliques situés à 7,93 et 7,37 ppm correspondant respectivement aux isomères *Z* et *E* (**Figure 130**).

La conformation *syn* ou *anti* (**Figure 131**) a été déterminée d'après les constantes de couplage entre le proton vinylique et le NH. En effet, les protons vinyliques sont sous forme d'un doublet couplé avec le NH vinylique, avec une constante de couplage de 13,0 Hz (**Figure 130**).

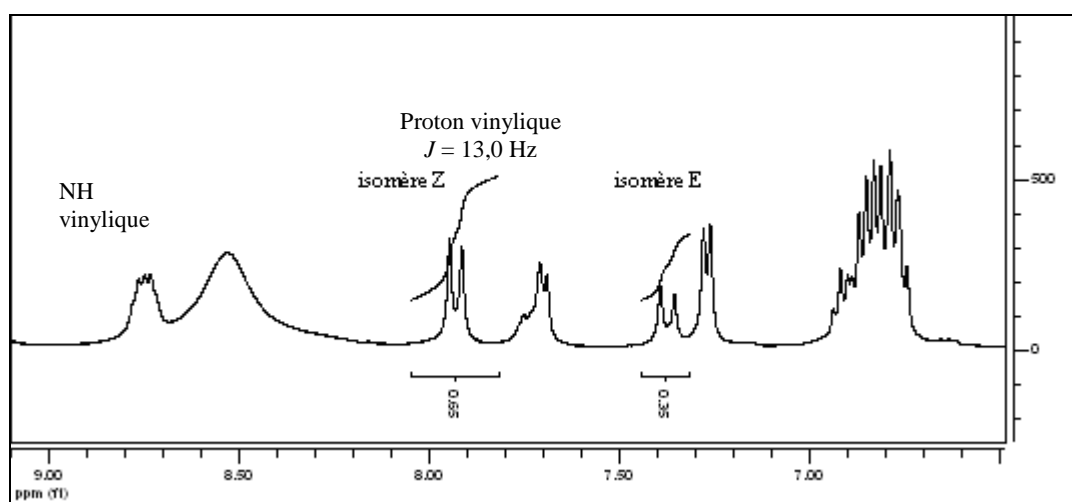


Figure 130 : Spectre RMN ^1H du mélange de diastéréoisomères **60Z** et **60E** (400 MHz) dans le $\text{DMSO-}d_6$.

Ce type de couplage a été décrit par Quintanilla-Licea *et al.* Ces chercheurs ont montré que dans certains cas, il existait une constante de couplage entre le proton porté par un atome de carbone sp^2 et le NH situé en α . La constante de couplage mesurée dans ce système est de l'ordre de 10,5 Hz dans le cas d'une conformation *anti*, alors qu'elle est nulle quand la conformation est *syn*.⁷⁷

⁷⁷ Quintilla-Licea, R.; Colunga-Valladares, J. F.; Caballero-Quintero, A.; Rodrigues-Padilla, C.; Tamez-Guerra, R.; Gomez-Flores, R.; Waksman, N. *Molecules* **2002**, 7, 662-673.

Les résultats de RMN obtenus pour les deux diastéréoisomères du composé **60** (**60E** et **60Z**) sont comparables à ceux obtenus pour les composés **V₁** à **V₃**, et nous laissent dire que l'hydrogène vinylique et l'hydrogène porté par l'atome d'azote sont en position antipériplanaire (**Figure 131**).

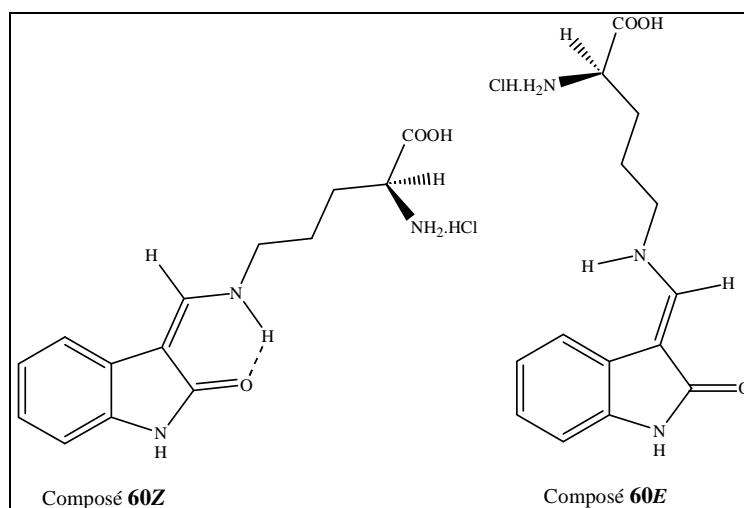


Figure 131 : Conformation *anti* des deux diastéréoisomères du composé **60**.

Par ailleurs, des calculs de minimisation d'énergie confirment que le composé **60Z** dont la chaleur de formation est de 26 kcal.mol^{-1} est stabilisé d'une part par une liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH vinylique et le carbonyle de l'oxindole et d'autre part par une liaison hydrogène supplémentaire entre le NH porté par le C α et le carbonyle de l'oxindole (**Figure 132**). Le stéréoisomère **60E** qui ne peut pas établir la liaison hydrogène intramoléculaire entre le NH vinylique et le CO, est moins stable avec une énergie de formation plus élevée de 34 kcal.mol^{-1}).

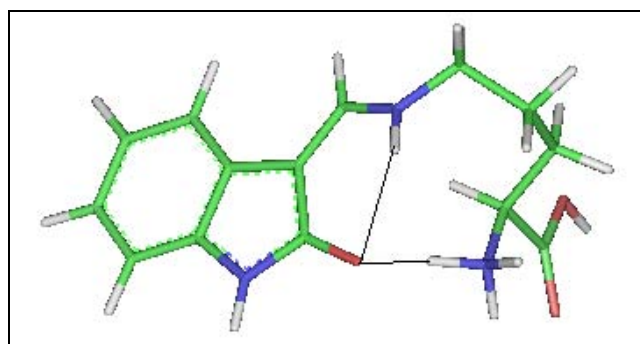


Figure 132 : Structure du composé **60Z anti**.

En mesurant la différence d'énergie entre les deux isomères, il est possible de déterminer un rapport théorique de formation de chaque isomère.⁴⁶ Dans le cas du composé **60**, le rapport *Z/E* théorique est de 99,9/0,1, également en faveur de l'isomère *Z*, ce qui confirme le rapport *Z/E* déterminé par RMN.

IV-2- Tentative de couplage du composé 56 avec l'acide N- α -Boc-2,4-diaminobutanoïque 59.

Nous avons tenté de coupler l'acide *N- α -Boc-2,4-diaminobutanoïque 59* dans les conditions utilisées pour la préparation des composés **V₃** et **60** (**Figure 133**).

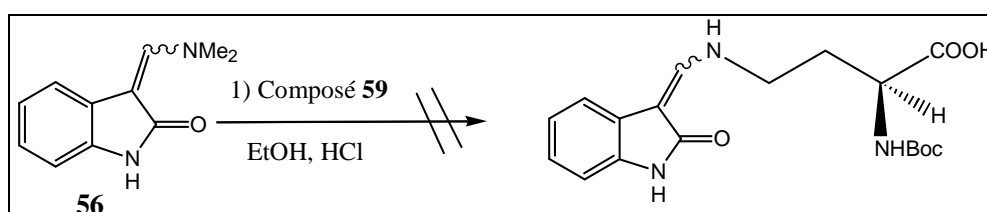


Figure 133 : Tentative de couplage entre le composé **56** et le composé **59**.

Malgré de nombreux essais aucun produit identifiable par RMN n'a pu être isolé. Par manque de temps, nous avons abandonné la préparation de ce produit.

Par la suite, nous avons décidé de nous orienter vers la préparation des analogues bromés des composés **V₃** et **60**.

V- Préparation des analogues bromés des composés **V₃** et **60**

V-1- Préparation du composé 61

En raison du faible rendement obtenu lors de la préparation du composé **60** via l'intermédiaire diméthylaminométhylène **56**, nous nous sommes orientés vers la préparation du composé **61** bromé en position 5, portant un groupe partant éthoxy (**Figure 134**).

⁴⁶ Sassatelli, M.; Debiton, E.; Aboab, B.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 709-716.

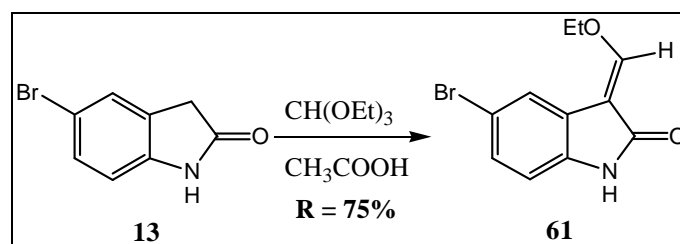


Figure 134 : Préparation du composé 61.

Le 5-bromooxindole **13**, obtenu par bromation de l'oxindole commercial, a été chauffé à reflux dans un mélange acétique/triéthylorthoformiate. Après précipitation dans un mélange toluène/cyclohexane, nous avons isolé le produit attendu **61** avec un rendement de 75%.³⁰

Le composé **61** obtenu possède une configuration *E*. Celle-ci a été confirmée par étude de la constante de couplage par RMN entre le proton vinylique et le carbone du carbonyle de l'oxindole.

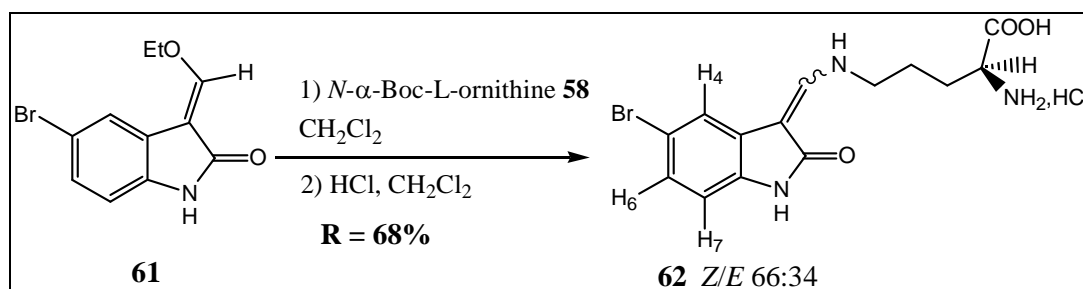
En effet, le couplage d'un proton vinylique avec le carbone d'un CO dans le cas de composés carbonylés α,β -insaturés a été étudiée par Stanovnik *et al.*⁷⁸ Ces chercheurs ont déterminé que cette constante de couplage se situe entre 2 et 6 Hz dans le cas d'une configuration *cis*, alors qu'elle est de 8 à 12 Hz dans le cas d'une configuration *trans*. Dans notre cas, la constante de couplage de 4 Hz montre que le composé **61** a une configuration *E*.

V-2- Couplage entre le composé 61 et la *N*- α -Boc-*L*-ornithine 58

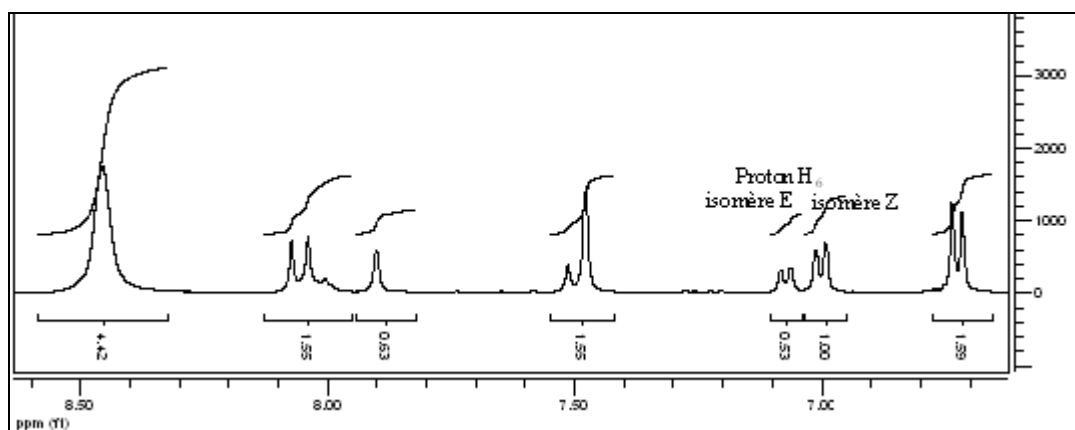
Une fois que le composé **61** a été préparé, il a été mis en réaction avec la *N*- α -Boc-*L*-ornithine **58** à reflux du DCM. L'intermédiaire protégé par un groupement Boc a été déprotégé par l'HCl gazeux (acide sulfurique/NaCl) généré directement dans une suspension de l'intermédiaire protégé dans le DCM (Figure 135).

³⁰ Bramson, H. N.; Corona, J.; Davis, S. T.; Dickerson, S. H.; Edelstein M.; Frye, S. V.; Gampe, R. T.; Harris, P. A.; Hassell, A.; Holmes, W. D.; Hunter, R. N.; Lackey, K. E.; Lovejoy, B.; Luzzio, M J.; Montana, V.; Rosque, W. J.; Rusnak, D.; Shewchuk, L.; Veal, J. M.; Walker D. H.; Kuyper, L. F. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4339-4358.

⁷⁸ Stanovnik, B.; Svete, J. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2433-2480.

Figure 135 : Préparation du composé **62**.

Le chlorhydrate du composé **62** a été obtenu avec un rendement de 68% sous la forme d'un mélange de deux diastéréoisomères *Z/E* dans un rapport de 66:34. Le rapport des diastéréoisomères *Z/E* a été déterminé par intégration des signaux du proton H_6 situés à 7,00 et 7,07 ppm correspondant respectivement aux isomères *Z* et *E* (Figure 136).

Figure 136 : Spectre RMN ^1H du mélange de diastéréoisomères **62Z** et **62E** (400 MHz) dans le $\text{DMSO-}d_6$.

De même que pour le composé **60**, les résultats de RMN nous suggèrent que pour les deux diastéréoisomères du composé **62** (**62Z** et **62E**), l'hydrogène vinylique et l'hydrogène porté par l'atome d'azote sont en position antipériplanaire.

Comme nous l'avons déjà décrit pour le composé **60**, l'isomère **62Z**, dont la chaleur de formation est de $30 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, est stabilisé par deux liaisons hydrogène intramoléculaires (Figure 137). En revanche, le composé **62E** qui ne peut établir qu'une liaison hydrogène intramoléculaire est moins stable avec une énergie de formation plus élevée ($38 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$).

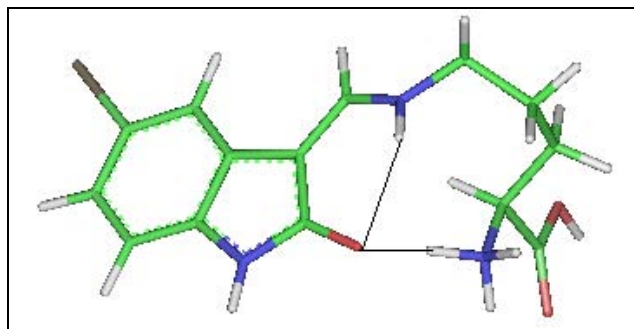
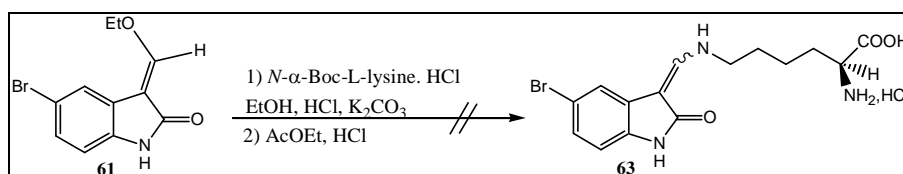


Figure 137 : Structure du composé 62Z anti.

V-3- Préparation du composé 63, analogue bromé du composé V₃

Dans un premier temps, nous avons décidé de coupler le composé **61** avec le chlorhydrate de *N*- α -Boc-L-lysine à reflux du DCM en présence de K_2CO_3 . Malgré de nombreuses tentatives de déprotection de l'intermédiaire protégé par un groupement Boc, en milieu acide, à la fois en présence d'HCl gazeux ou d'une solution aqueuse d'HCl 3M, aucun produit de déprotection n'a été isolé (**Figure 138**).

Figure 138 : Couplage entre le composé 61 et la *N*- α -Boc-lysine commercial.

Compte tenu de ces échecs, nous avons envisagé de préparer le composé **63** via l'intermédiaire **64**, analogue du composé **61** avec un groupe partant de type diméthylaminométhylène.

Le composé **64** a été préparé avec un rendement de 72% dans les mêmes conditions que celles décrites pour l'analogue non bromé, en présence de DMF-DMA (**Figure 139**).

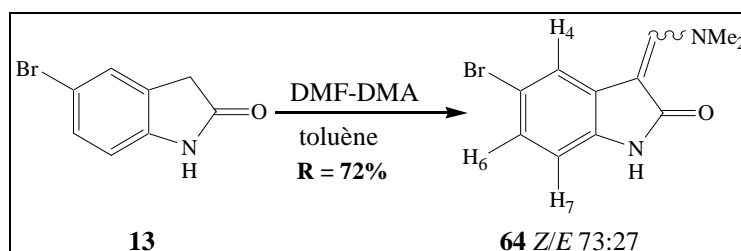


Figure 139 : Préparation du composé 64.

La configuration des deux diastéréoisomères du composé **64** a été déterminée, comme dans le cas du composé **61**, par mesure de la constante de couplage entre le proton vinylique et le carbone du CO de l'oxindole. Pour l'isomère **64Z**, cette constante de couplage est de 9 Hz alors qu'elle est de 5 Hz pour l'isomère **64E**.

Le couplage entre le composé **64** et la *N*- α -Boc-L-lysine commerciale a été réalisé en présence d'acide chlorhydrique dans l'éthanol. Le groupement Boc a ensuite été éliminé en milieu acide. Après filtration du précipité, le composé **63** a été isolé sous forme de chlorhydrate avec 38% de rendement. Le composé **63** est obtenu sous forme d'un mélange de diastéréoisomères *Z/E*, dans un rapport 69:31 (**Figure 140**).

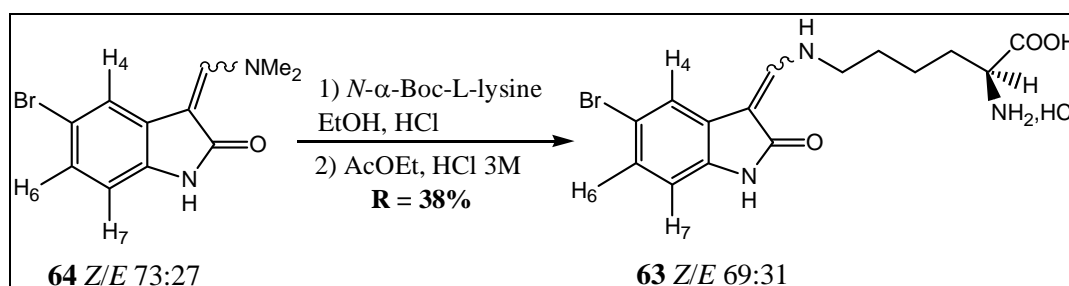


Figure 140 : Couplage entre le composé **64** et la *N*- α -Boc-L-lysine.

La proportion des diastéréoisomères *Z/E* a été déterminée par RMN grâce à l'intégration des signaux des protons H_6 situés à 6,99 et 7,06 ppm correspondant respectivement aux isomères *Z* et *E* (**Figure 141**).

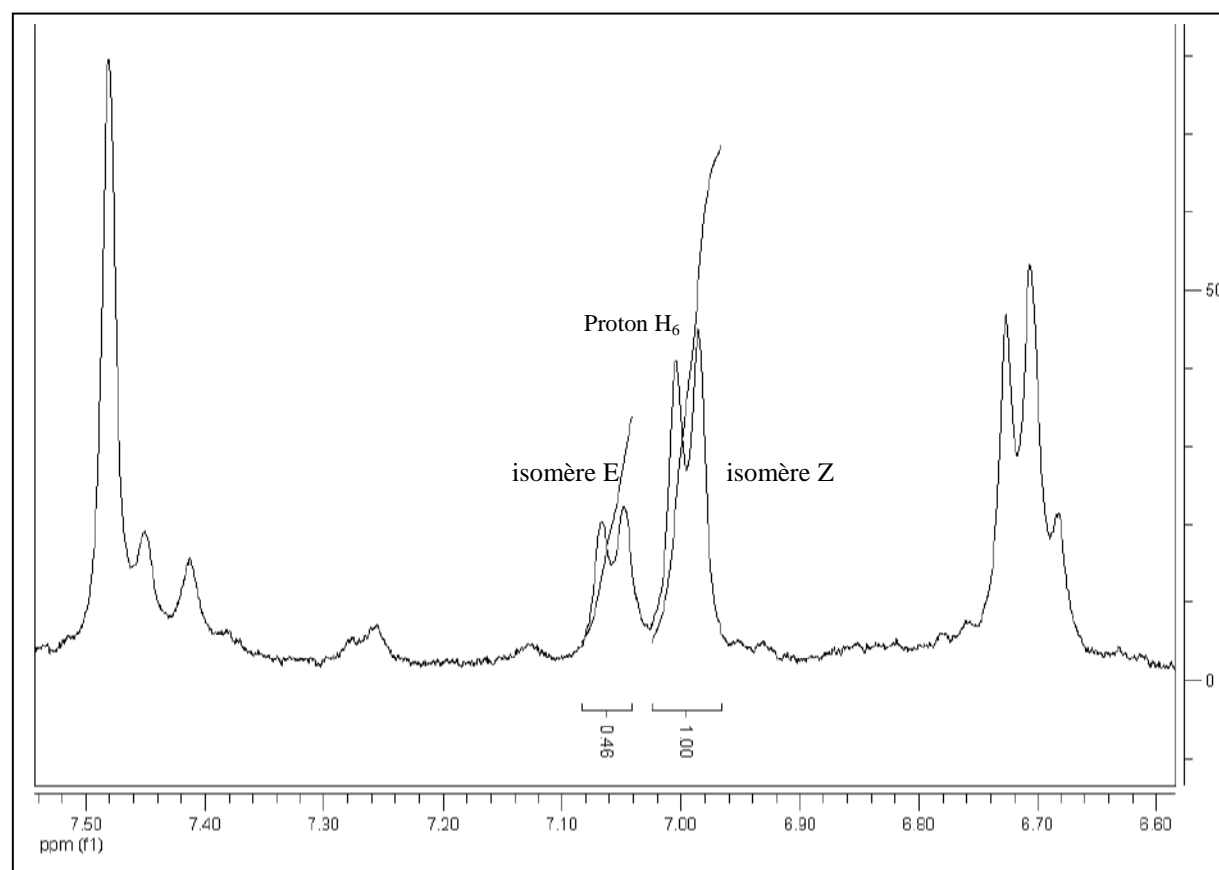


Figure 141 : Spectre RMN ^1H du mélange de diastéréoisomères **63Z** et **63E** (400 MHz) dans le $\text{DMSO-}d_6$.

Comme dans le cas des composés **60** et **62**, des calculs de minimisation d'énergie montrent que le composé **63Z** majoritaire, dont la chaleur de formation est de 23 kcal.mol^{-1} est stabilisé par deux liaisons hydrogène intramoléculaires (Figure 142) alors que le composé **63E**, qui ne possède qu'une liaison hydrogène intramoléculaire est moins stable, avec une énergie de 26 kcal.mol^{-1} .

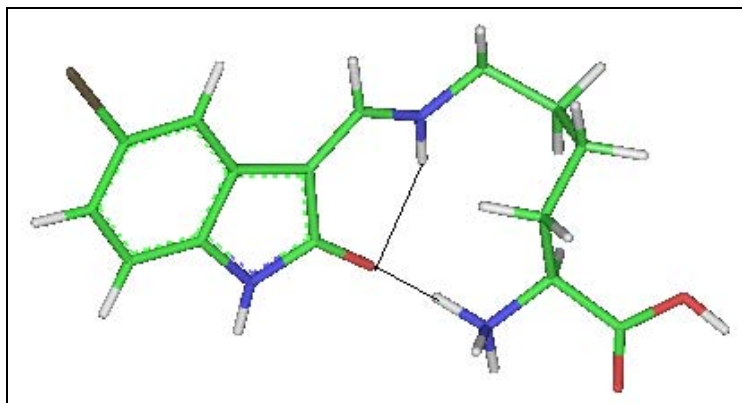


Figure 142 : Structure du composé **63Z anti**.

VI- Conclusion

Dans cette famille, nous avons tout d'abord amélioré la synthèse du composé **V₃**, en utilisant le 3-diméthylaminométhylène oxindole **56** comme intermédiaire de synthèse.

Par la suite, nous avons préparé 3 nouveaux produits qui diffèrent entre eux par la longueur de la chaîne latérale et par la bromation ou non de la position 5 de l'oxindole (Figure 143).

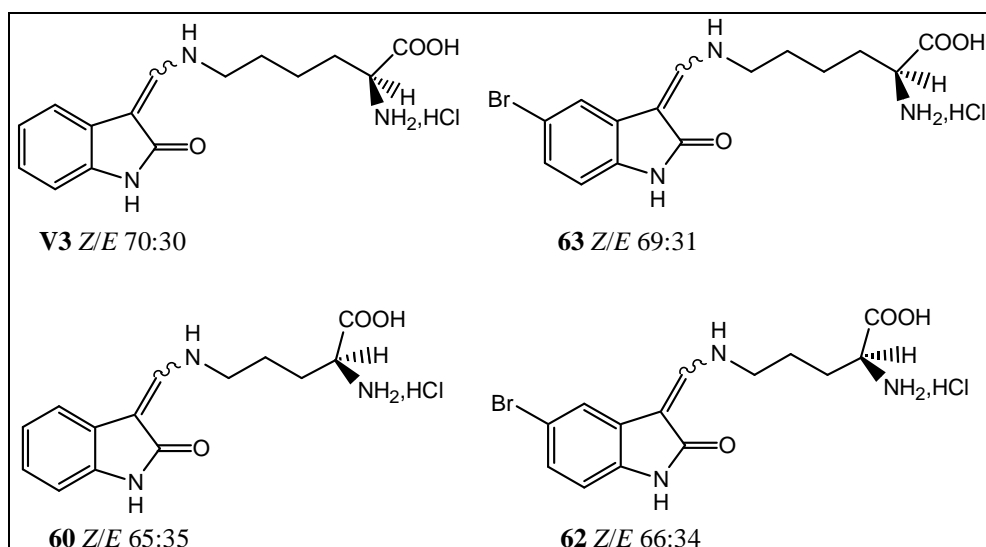


Figure 143 : Structure des différents composés de la famille B soumis aux tests biologiques.

L'ensemble de ces composés a été soumis à différents tests biologiques. Les résultats obtenus seront détaillés dans la troisième partie du manuscrit.

Le travail concernant la préparation des composés de cette famille a été réalisé en collaboration avec Emilie Rossignol lors du stage post-doctoral qu'elle a effectué au laboratoire.

Les études de modélisation moléculaire ont été réalisées par le Dr Bettina Aboab, Maître de Conférences au laboratoire SEESIB.

Chapitre III : Synthèse du tétracycle pyrrolo- α -carboline (Famille C)

I- Introduction

Les premières tentatives de préparation du chef de file de la famille C avaient été entreprises par Mathieu Sassatelli au cours de sa thèse. Cependant, malgré de multiples essais, aucun représentant de cette famille n'avait été obtenu.

Dans ce chapitre, nous allons tout d'abord rappeler les différentes voies de synthèse essayées par Mathieu Sassatelli pendant sa thèse avant de présenter les nouvelles approches qui ont été envisagées pour la préparation du tétracycle **65**.

II- Différentes voies de synthèse testées précédemment au laboratoire

Le schéma rétrosynthétique qui a été envisagé précédemment pour l'obtention du tétracycle **65** est représenté **Figure 144**.

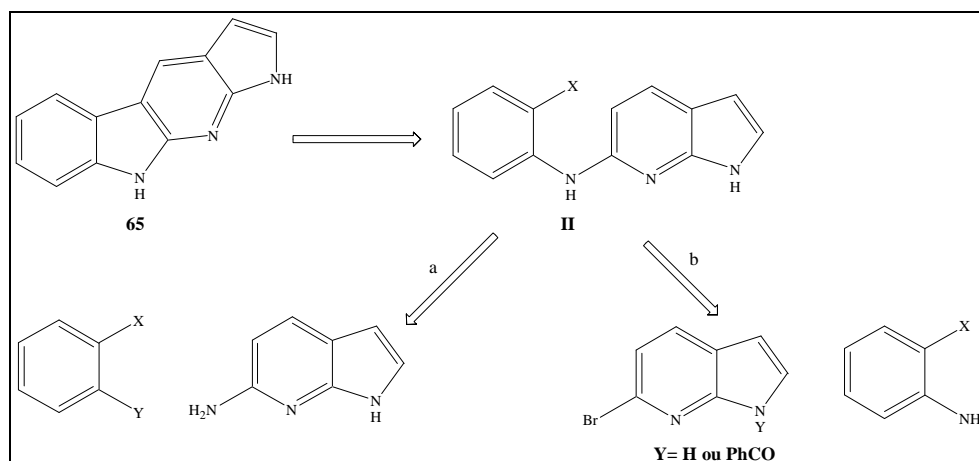


Figure 144 : Schéma rétrosynthétique d'accès au tétracycle **65**.

Le tétracycle **65** pourrait être obtenu par cyclisation de l'intermédiaire **II** qui peut être préparé de deux manières différentes :

- ✧ selon la **voie a** par réaction du 6-amino-7-azaindole sur un benzène orthodihalogéné.
- ✧ selon la **voie b** par réaction d'un 7-aza-6-bromoindole sur une aniline ortho-halogénée.

Parmi les nombreux essais effectués, seul le composé **II** ($X = H$) a été obtenu. La meilleure méthode de préparation de ce composé est une réaction de substitution nucléophile aromatique entre le composé **III** et l'aniline (voie b). Le composé **II** n'a été obtenu qu'avec un rendement de 23% (**Figure 145**).

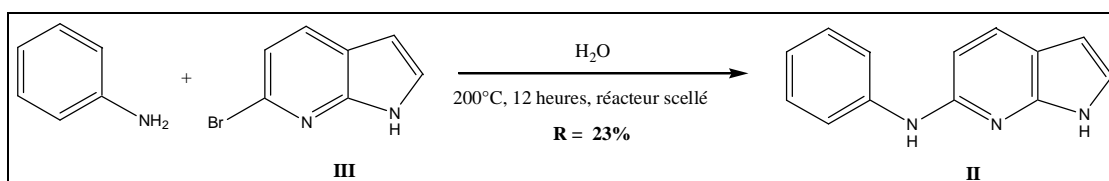


Figure 145 : Synthèse du composé II par couplage entre l'aniline et le bromoazaindole III.

Afin d'obtenir le chef de file de la famille C, différentes voies d'accès au composé **65** ont été essayées (Figure 146).

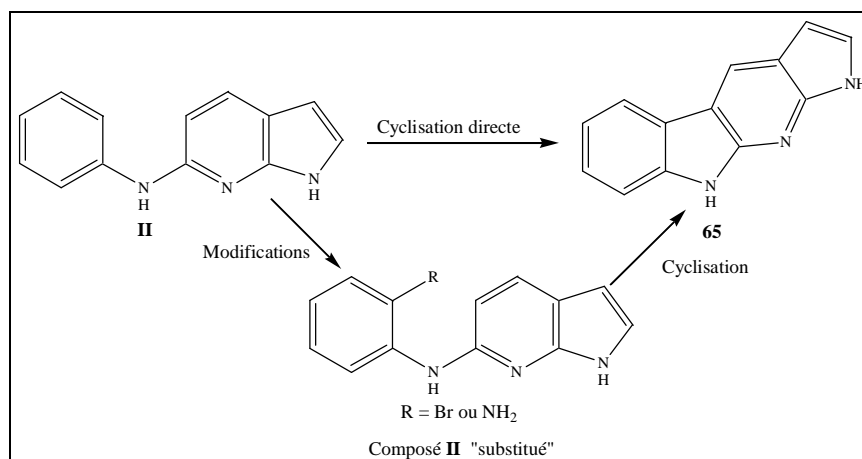


Figure 146 : Les différentes voies testées pour accéder au chef de file de la famille C.

Là encore, malgré les nombreux essais réalisés dans différentes conditions, le tétracycle **65** attendu n'a jamais été obtenu.

Par conséquent, de nouvelles voies de synthèse ont été envisagées :

✧ La première porte sur la formation d'un motif α -carboline suivi de la formation du noyau pyrrole du composé **65** à la fin de la synthèse.

✧ La deuxième correspond au couplage d'un 7-aza-6-halogénoindole avec le benzotriazole commercial pour conduire à un intermédiaire qui sera ensuite cyclisé.

III- Première stratégie de synthèse via le motif α -carboline

Notre première approche pour la formation du tétracycle **65** met en jeu un intermédiaire α -carboline qui, une fois obtenu, pourrait nous conduire au produit souhaité après formation du noyau pyrrole.

Pour cela, deux schémas rétrosynthétiques ont été envisagés, soit à partir de l'indolin-2-one, soit à partir de la 2,6-dichloropyridine (Figure 147).

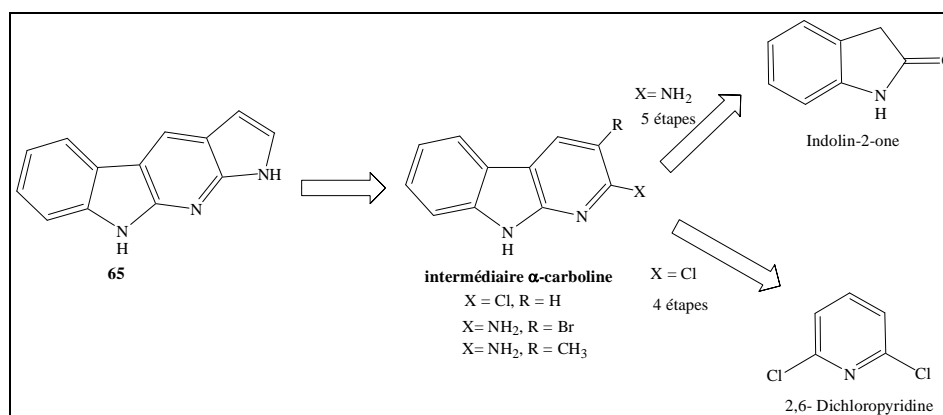


Figure 147 : Schéma rétrosynthétique pour la préparation du composé **65**.

III-1- Préparation de l'intermédiaire **66**

En vue de la préparation de l' α -carboline **67**, nous avons tout d'abord envisagé de coupler la 2,6-dichloropyridine avec la 2-bromoaniline pour aboutir au composé **66** qui par cyclisation pourrait conduire au noyau α -carboline **67**, chloré en position 2 (**Figure 148**).

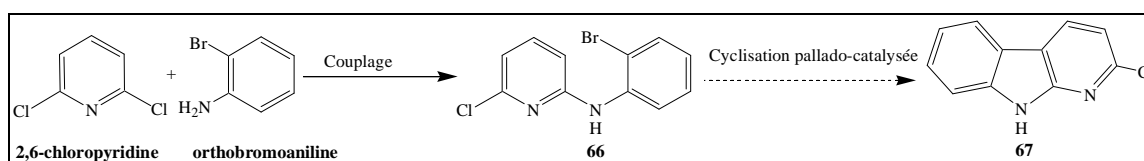


Figure 148 : Voie de synthèse envisagée pour la préparation du composé **67**.

Dans la littérature, plusieurs exemples de substitution nucléophile d'halogéno-pyridines par des amino-aryles sont décrits.

En 1979, Mack *et al.* ont décrit une série de composés obtenue par substitution nucléophile de pentahalogéno-pyridines par des orthohalogéno-phénol, -thiophénol ou -aniline (**Figure 149**).⁷⁹

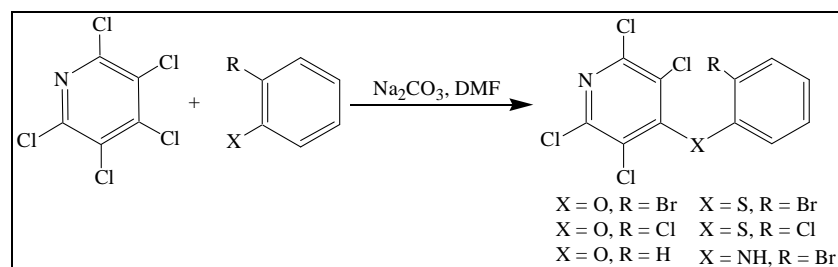


Figure 149 : Méthode de substitution décrite par Mack *et al.*

Ainsi, afin de préparer le composé **66**, nous avons mis en réaction la 2,6-dichloropyridine avec l'orthobromoaniline en présence de Na_2CO_3 dans le DMF (**Figure 150**).

⁷⁹ Mack, A. G.; Suschitzky, H.; Wakefield, B. J. *J. Chem. Soc. Perkin I* **1980**, 1682-1687.

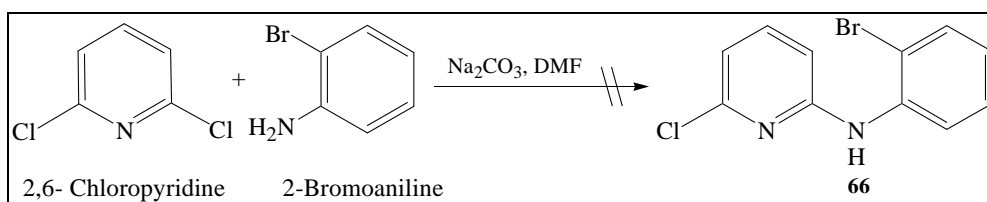


Figure 150 : Tentative de préparation du composé 66.

Nous avons tenté la réaction, soit à reflux du DMF, soit à plus haute température dans un tube scellé. Malheureusement, seuls des produits de dégradation ont été observés.

Zuo *et al.*⁸⁰ ont décrit le couplage d' α -chloroazahétérocycles avec la 5,7-diméthylnaphthyridylamine en présence de potasse dans le toluène à reflux (Figure 151).

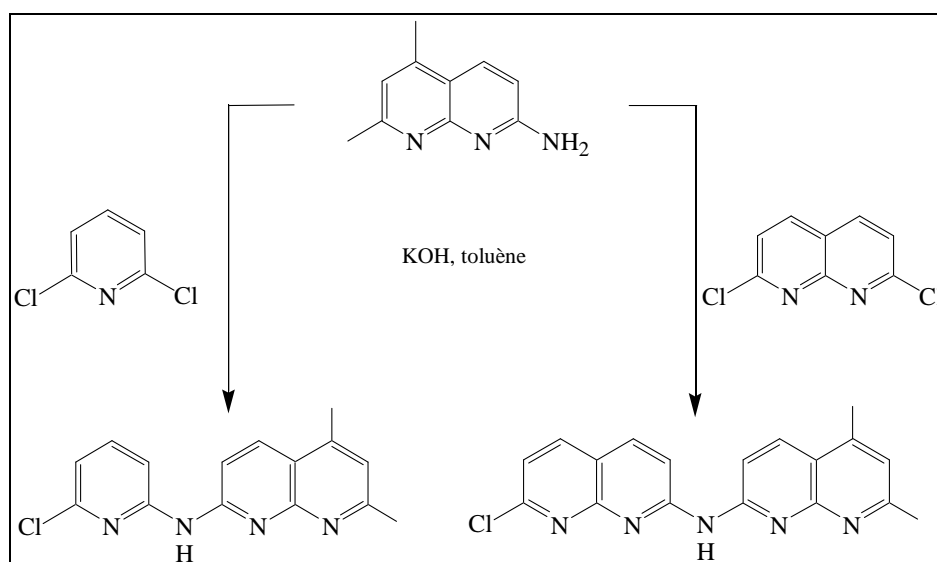


Figure 151 : Méthode de substitution nucléophile aromatique du chlore par une amine décrite par Zuo *et al.*

Nous avons donc appliqué ces conditions sur la 2,6-dichloropyridine et l'orthobromoaniline. Lors du premier essai effectué à reflux de toluène nous n'avons observé aucune réaction de substitution. Nous avons également réalisé un autre essai, cette fois-ci dans un réacteur scellé chauffé à 150 °C. Dans ces conditions, nous n'avons pas obtenu le produit attendu. En revanche, nous avons isolé un produit qui pourrait être issu de la polymérisation de la 5-bromoaniline (Figure 152).

⁸⁰ Zuo, J.-L.; Fu, W.-F.; Che, C.-M.; Cheng, K.-K. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, 2, 255-262.

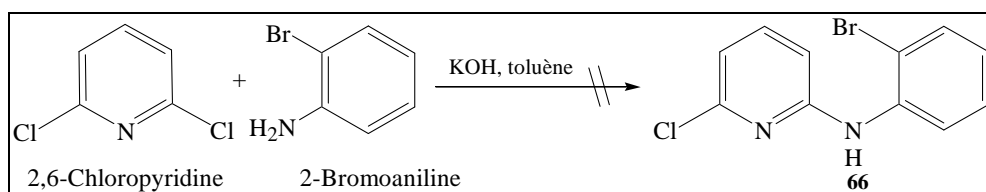
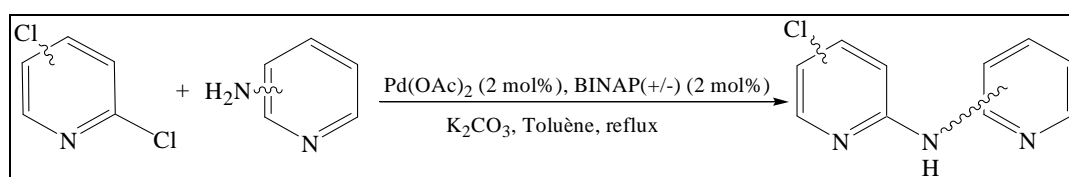


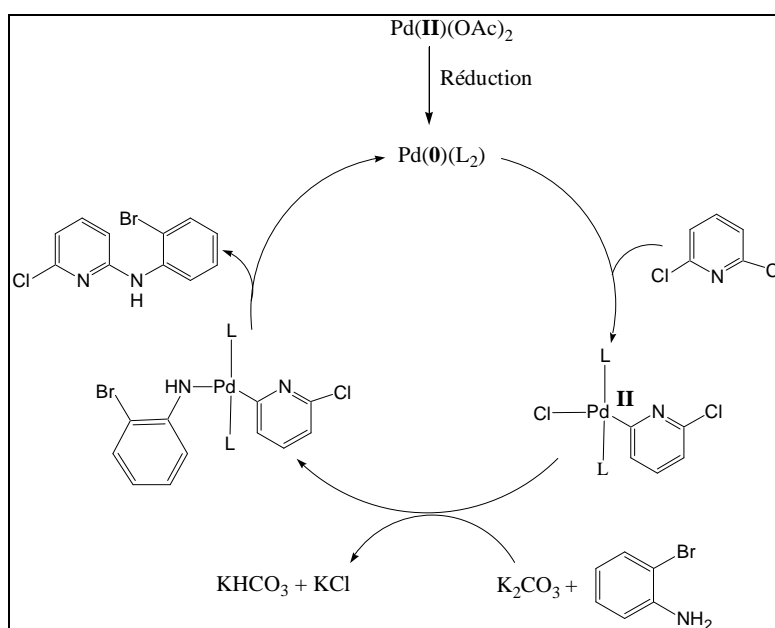
Figure 152 : Tentative de préparation du composé **66** selon la méthode décrite par Zuo *et al.*

En raison de l'échec de ces essais de substitution pour préparer le composé **66**, nous nous sommes orientés vers des aminations pallado-catalysées. Jonckers et ses collaborateurs⁸¹ décrivent le couplage pallado-catalysé de différentes aminopyridines sur des dichloropyridines (Figure 153).



En nous inspirant de ces travaux, nous avons effectué différents essais de manière à aboutir au produit attendu avec des rendements corrects.

Avant d'expliciter les différents essais réalisés permettant d'obtenir le composé **66**, nous allons tout d'abord décrire le mécanisme réactionnel mis en jeu lors de cette réaction qui est une amination de Buchwald-Hartwig (Figure 154).



⁸¹ M. Jonckers, T. H.; W. Maes, B. U.; F. Lemiére, G.L.; Dommissé, R. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7027-7034.

L'ensemble des essais réalisés figure dans le **Tableau 21**.

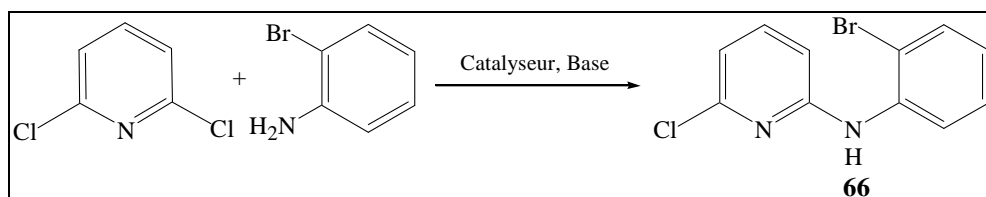


Figure 155 : Essais de couplages pallado-catalysés pour la préparation du composé **66**.

Essai	Système catalytique/base	Résultats
1	Pd(OAc) ₂ (2 mol%), BINAP(+/-) (2 mol%), K ₂ CO ₃ , toluène.	5% du produit 66 .
2	Pd(OAc) ₂ (2 mol%), BINAP(+/-) (2 mol%), PPh ₃ (2,5 mol%), K ₂ CO ₃ , toluène.	21% du produit 66 .
3	Pd(OAc) ₂ (2 mol%), P(tBu) ₃ (2 mol%), PPh ₃ (2,5 mol%), K ₂ CO ₃ , toluène.	Produits de dégradation.
4	Pd(OAc) ₂ (2 mol%), BINAP(+/-) (2 mol%), PPh ₃ (2,5 mol%), NEt ₃ , toluène.	Produits de dégradation.

Tableau 21 : Essais de préparation du composé **66** avec différents systèmes catalytiques.

Le premier essai, réalisé dans les conditions de couplage utilisées par Jonckers *et al.*⁸¹ (mélange de Pd(OAc)₂ et de BINAP (+/-) en présence de K₂CO₃), nous a permis d'accéder au composé **66** avec 5% de rendement.

Lors du 2^{ème} essai, nous nous sommes inspirés des travaux réalisés par Wolfe et Buchwald sur l'influence du système catalytique Pd/BINAP dans les réactions d'amination effectuées sur des halogénoaryles. Ces chercheurs ont montré l'effet de l'ordre d'ajout des réactifs sur l'étape d'addition oxydante. Celle-ci dépend de la formation du complexe Pd(0)(BINAP), qui est obtenu par réduction du Pd(OAc)₂. Le passage du Pd(OAc)₂ de son état d'oxydation II à son état d'oxydation 0 se fait grâce à la présence du BINAP.⁸² De ce fait, nous avons envisagé d'utiliser du PPh₃ pour réduire plus facilement le palladium.

Ainsi, le couplage réalisé en présence de Pd(OAc)₂, de BINAP (+/-) et de PPh₃ dans le toluène, a permis d'accéder au produit **66** avec un rendement de 21%.

⁸¹ M. Jonckers, T. H.; W. Maes, B. U.; F. Lemiere, G. L.; Dommissie, R. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7027-7034.

⁸² Wolfe, J.P.; Buchwald, S.L. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1144-1157.

Dans le 3^{ème} essai, inspiré des travaux d'Hartwig *et al.*⁸³, nous avons remplacé le ligand BINAP (+/-) par la $P(tBu)_3$. Dans ce cas, seuls des produits de dégradation ont été observés. Enfin, lors du 4^{ème} essai nous avons remplacé la base K_2CO_3 , utilisée dans les premiers essais par de la triéthylamine.⁸⁴ Malheureusement dans ces conditions seuls des produits de dégradation ont été observés.

En conclusion, le meilleur rendement obtenu pour la préparation du composé **66** n'est que de 21%.

Afin de contourner l'ensemble des problèmes rencontrés lors de la préparation de l'intermédiaire **66** à partir de la 2,6-dichloropyridine, nous avons envisagé une alternative mettant en jeu l'intermédiaire **68**, obtenu par substitution d'un des atomes de chlore présent sur la 2,6-dichloropyridine par une fonction amine. Le composé **68** sera ensuite couplé avec le 1-bromo-2-iodobenzène afin d'obtenir le composé **66** souhaité (Figure 156).

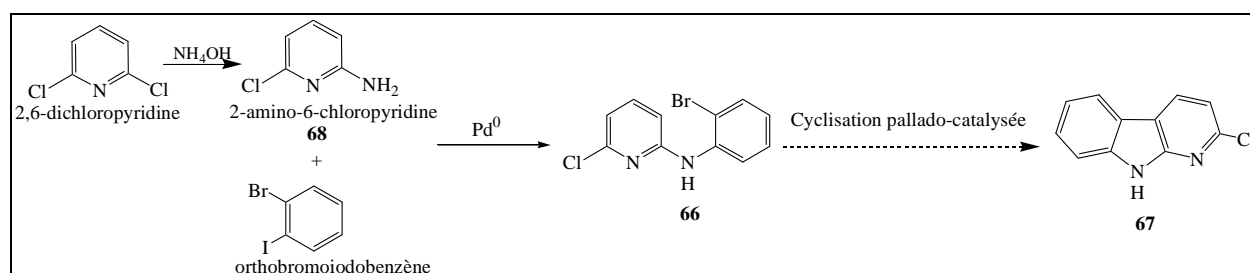


Figure 156 : Alternative à la préparation du composé **66**.

Le composé **68** a été préparé grâce à une réaction de substitution nucléophile aromatique selon la méthode décrite par Ikemoto *et al.*⁸⁵ (Figure 157, Tableau 22).

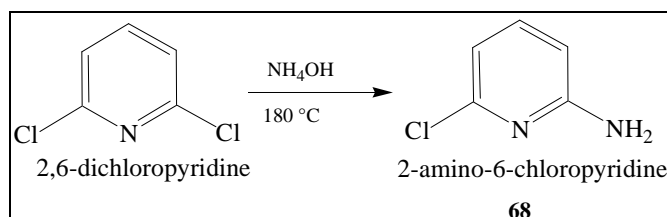


Figure 157 : Préparation du composé **68**.

⁸³ Hartwig, J. F.; Kawatsura, M.; Hauck, S. I.; Shaughnessy, K.; Alcazar-Roman, L. M. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 5575-5580.

⁸⁴ Wolfe, J.P.; Tomori, H.; Sadighi, J.P.; Yin, J.; Buchwald, S. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1158-1174.

⁸⁵ Ikemoto, T.; Kawamoto, T.; Wada, H.; Ishida, T.; Ito, T.; Isogami, Y.; Miyano, Y.; Mizuno, Y.; Tomimatsu, K.; Hamamura, K.; Takatani, M.; Wakimasu, M. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 489-493.

Essai	Conditions	Durée	Produits récupérés
1	Ammoniaque 125 °C	5h	Produits départs.
2	Ammoniaque 180 °C	5h	12% du composé 68 .
3	Ammoniaque 180 °C	18h	70% du composé 68 .

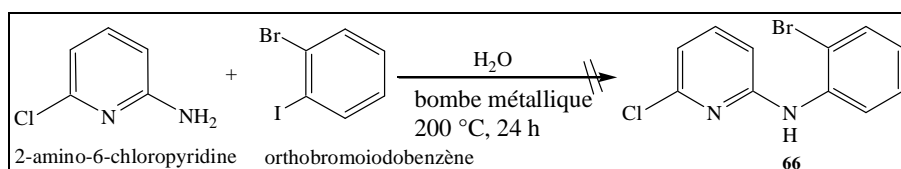
Tableau 22 : Préparation du composé **68**.

Le premier essai effectué dans un tube vissé à 125 °C ne nous a pas permis d'isoler le produit attendu, vraisemblablement à cause d'une température de réaction trop faible.

Deux autres essais ont donc été réalisés à 180 °C dans une bombe métallique pour conduire au produit attendu avec 70% de rendement après 18 heures de réaction.

Afin de préparer le composé **66**, différentes conditions de couplage du composé **68** sur l'orthobromiodobenzène commercial ont été testées.

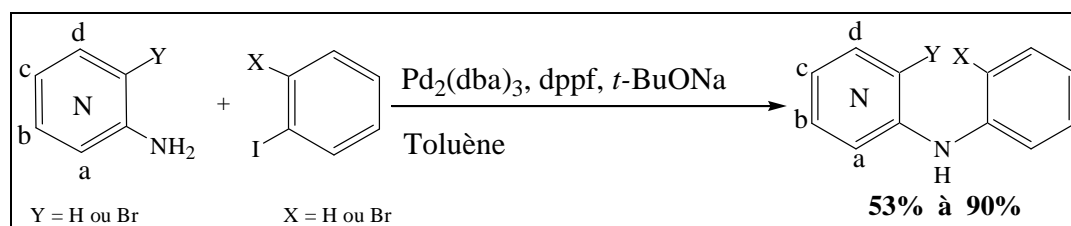
Pour synthétiser le composé **66**, nous nous sommes inspirés dans un premier temps des travaux réalisés précédemment au laboratoire pour la préparation du composé **II**, c'est-à-dire le couplage du 6-bromoazaindole avec l'aniline en présence d'eau dans une bombe métallique chauffée à 200 °C (**Figure 145**). Ces conditions, appliquées au mélange 2-amino-6-chloropyridine/orthobromiodobenzène n'ont pas permis l'obtention du produit **66** attendu puisqu'aucune réaction n'a été observée (**Figure 158**).

Figure 158 : Tentative de préparation du composé **66**.

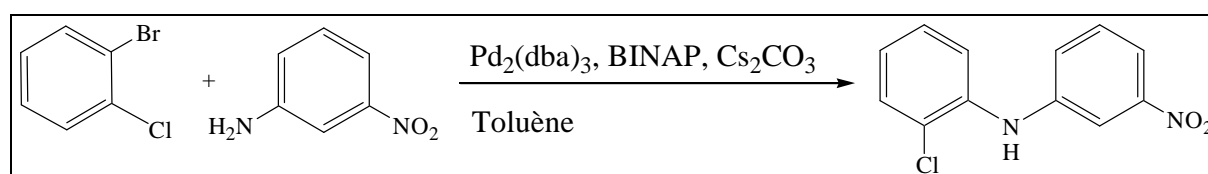
De ce fait, nous nous sommes une nouvelle fois orientés vers des aminations pallado-catalysées de type Buchwald-Hartwig.

En 1999 Iwaki *et al.* ont décrit une réaction d'amination d'iodobenzènes à l'aide d'aminopyridines en présence du système catalytique suivant : Pd₂(dba)₃, dppf, tBuONa. Ces réactions se font avec des rendements allant de 53% à 90% suivant la position de la fonction amine par rapport à l'azote de la pyridine⁸⁶ (**Figure 159**).

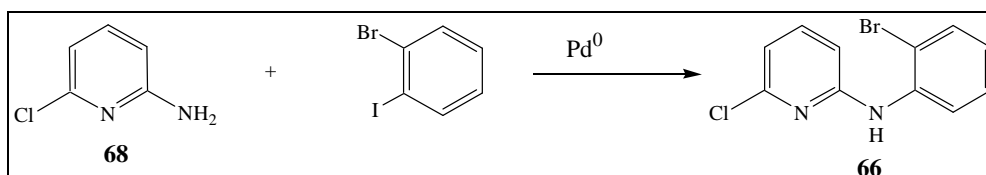
⁸⁶ Iwaki, T.; Yasuhara, A.; Sakamoto, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1999**, 1505-1510.



En 2000, Wolfe *et al.*⁸² ont décrit le couplage de l'orthobromochlorobenzène et de la métanitroaniline, catalysé par le $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ en présence de BINAP et de Cs_2CO_3 , dans le toluène. Cette réaction se fait avec un rendement de 80% (**Figure 160**).



En nous inspirant de ces différents travaux, nous avons effectué divers essais afin de préparer le composé **66** (**Figure 161**).



Le tableau présenté ci-dessous décrit les deux systèmes catalytiques utilisés (**Tableau 23**).

Essai	Systèmes catalytiques	Produits
1	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, dppf, tBuOK, toluène	Traces du produit attendu 66 en mélange avec la 2-amino-6-chloropyridine 68 .
2	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, BINAP, Cs_2CO_3 , toluène	69% du produit attendu 66 .

Tableau 23 : Différents essais de préparation du composé 66.

Dans l'essai n° 1, nous avons fait réagir le composé **68** et l'orthobromiodobenzène avec du $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, du dppf et du tBuOK dans le toluène. Dans ces conditions, le produit souhaité a été détecté par RMN en mélange avec le composé **68**.

⁸² Wolfe, J.P.; Buchwald, S.L. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1144-1157.

Dans l'essai n° 2, nous avons utilisé les conditions décrites par Wolfe *et al.*⁸² Dans ces conditions, nous avons isolé le produit attendu **66** avec 69% de rendement.

L'étape qui suit dans notre synthèse est la cyclisation du composé **66**. Nous allons donc explorer différentes méthodes de cyclisation afin de préparer le produit **67** (**Figure 162**).

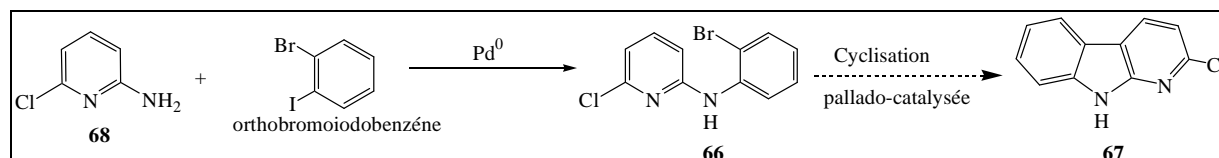


Figure 162 : Voie d'accès au composé 67.

III-2- Préparation de l' α -carboline **67**

En 1999, Iwaki *et al.*⁸⁶ ont décrit des cyclisations de (2-bromophénylamino)pyridines catalysées par du Pd(OAc)₂ en présence de Na₂CO₃ dans le DMF à reflux, avec des rendements allant de 31% à 61% selon la position de l'atome d'azote de la pyridine (**Figure 163**).

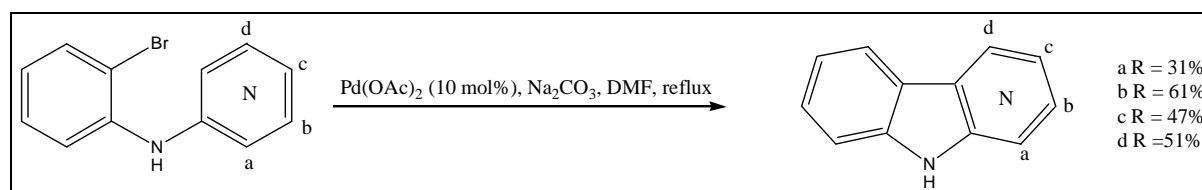


Figure 163 : Cyclisations de (2-bromophénylamino)pyridines catalysées par Pd(OAc)₂.

En 2005, Li *et al.*⁸⁷ ont mis au point un système catalytique pour des réactions de Heck. Ils décrivent des couplages entre des halogénoaryles et des systèmes allyliques catalysés par du Pd(OAc)₂/DABCO en présence de K₂CO₃ dans le DMF (**Figure 164**).

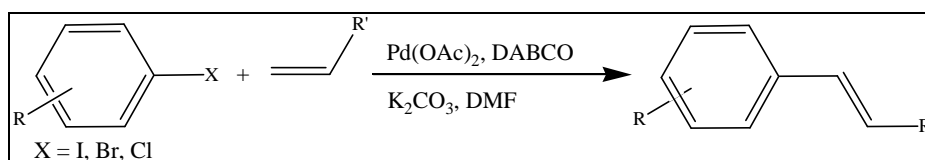


Figure 164 : Couplages de Heck sur des halogénoaryles décrits par Li *et al.*

En 2006, Quiroz et ses collaborateurs⁸⁸ ont décrit la préparation de thiénocarbazoles et thiénocarbolines, avec des rendements allant de 10% à 30%, par des cyclisations pallado-catalysées (**Figure 165**).

⁸² Wolfe, J.P.; Buchwald, S.L. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1144-1157.

⁸⁶ Iwaki, T.; Yasuhara, A.; Sakamoto, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1* **1999**, 1505-1510.

⁸⁷ Li, J-H.; Wang, D-P.; Xie, Y-X. *Synthesis*, **2005**, *13*, 2193-2197.

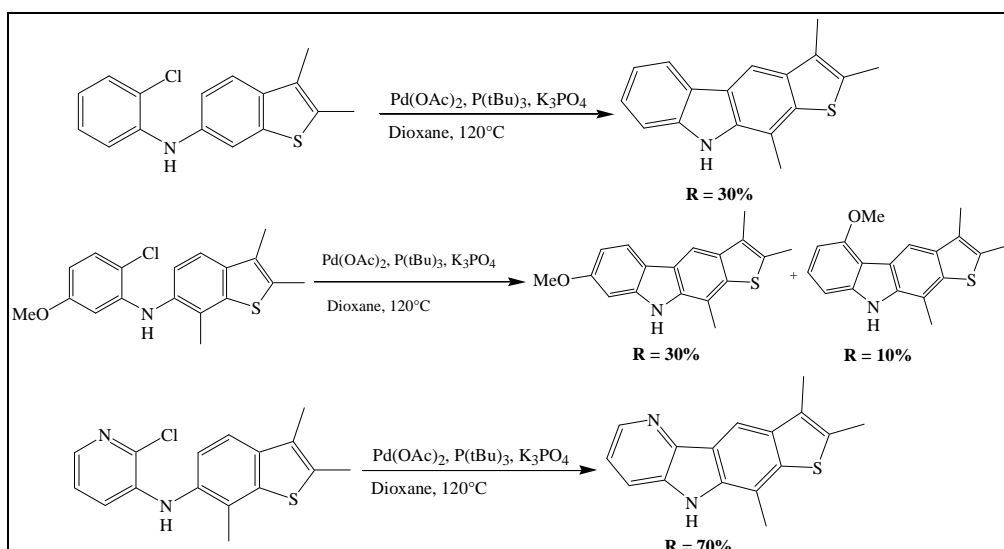


Figure 165 : Méthode de préparation de thienocarbazoles et thienocarbolines.

En nous inspirant de ces différents travaux, nous avons effectué divers essais afin d'accéder au composé **67** (Tableau 24).

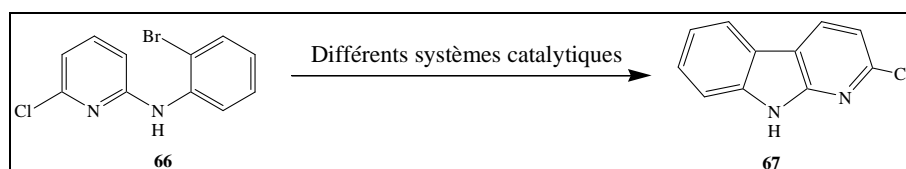


Figure 166 : Cyclisation pallado-catalysée du composé **66**

Essai	Conditions	Produits récupérés
1	Pd(OAc) ₂ , Na ₂ CO ₃ , DMF.	14% du composé 67 .
2	Pd(OAc) ₂ , K ₂ CO ₃ , DABCO, DMF.	28% du composé 67 .
3	Pd(OAc) ₂ , P(tBu) ₃ , K ₃ PO ₄ , dioxane.	Dégradation du produit départ.

Tableau 24 : Essais de préparation du composé **67**.

Dans l'essai n° 1, nous avons mis en réaction le composé **66** en solution dans le DMF en présence de Pd(OAc)₂ et de Na₂CO₃. Le composé **67** a été isolé avec 14% de rendement.

Dans l'essai n° 2, le composé **66**, en solution dans le DMF, a été traité par du Pd(OAc)₂ en présence de K₂CO₃ et de DABCO. Le composé **67** a ainsi été isolé avec 28% de rendement.

Afin d'améliorer le rendement obtenu pour la cyclisation du composé **66**, nous avons tenté un dernier essai dans les conditions réactionnelles décrites par Quieroz *et al.* en présence de Pd(OAc)₂, de P(tBu)₃ et de K₃PO₄ dans le dioxane anhydre. Malheureusement, dans ces conditions, seuls des produits de dégradation ont été observés.

⁸⁸ Quieroz, M.-J. R. P.; Ferreira, I. C. F. R.; De Gaetano, Y.; Kirsch, G.; Calhella, R. C.; Estevindo, L. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *14*, 6827-6831.

Compte tenu du faible rendement d'obtention du composé **67** par cyclisation du composé **66**, nous avons décidé de protéger l'azote du composé **66** avant d'entreprendre l'étape de cyclisation (**Figure 167**).

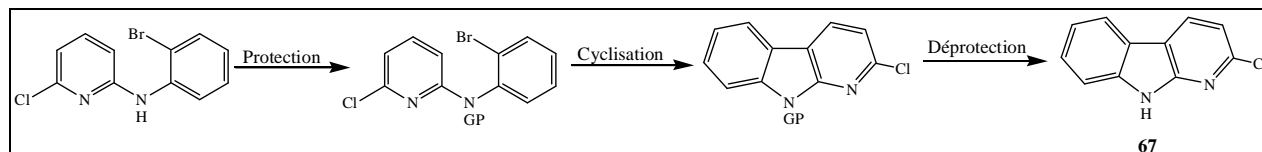


Figure 167 : Préparation du composé 67 à partir d'un produit protégé.

Nous avons choisi de protéger l'azote du composé **66** par un groupement Boc, en utilisant les conditions décrites par Jacquemard *et al.*⁸⁹ pour la protection d'azote indolique. Lorsque le composé **66** est traité par (Boc)₂O en présence de DMAP dans le THF, le produit attendu **69** est isolé avec un rendement de 97% (**Figure 168**).

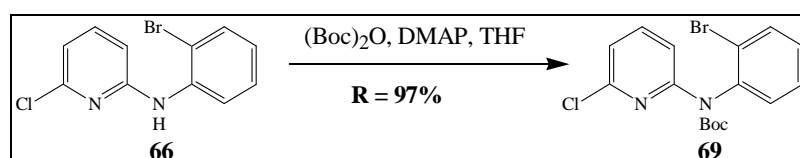


Figure 168 : Protection du produit 66.

Afin de cycliser le composé **69**, nous avons tout d'abord repris les conditions catalytiques des essais ayant permis la cyclisation de l'intermédiaire non protégé **66** (**Tableau 25**).

Essai	Conditions	Produits récupérés
1	Pd(OAc) ₂ , Na ₂ CO ₃ , DMF.	Produit de déprotection 66 + produit départ 69 .
2	Pd(OAc) ₂ , K ₂ CO ₃ , DABCO, DMF.	Produit de déprotection 66 + produit départ 69 .

Tableau 25 : Tentative de cyclisation du composé 69.

Dans les deux essais réalisés, nous n'avons obtenu que le produit départ **69** en mélange avec le produit de déprotection **66**.

Compte tenu des échecs des différents essais de cyclisation pallado-catalysée, nous avons envisagé une cyclisation radicalaire.

En 2002, Bannasar *et al.*⁹⁰ ont décrit des conditions de cyclisation radicalaire afin d'obtenir des pyrrolo[3,4-*b*]quinolines avec des rendements compris entre 65 et 70% (**Figure 169**).

⁸⁹ Jacquemard, U.; Bénéteau, V.; Lefoix, M.; Routier, S.; Mérour, J.-Y.; Coudert, G. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 10039-10047.

⁹⁰ Bannasar, M.-L.; Zulaica, E.; Juan, C.; Alonso, Y.; Bosch, J. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7465-7474.

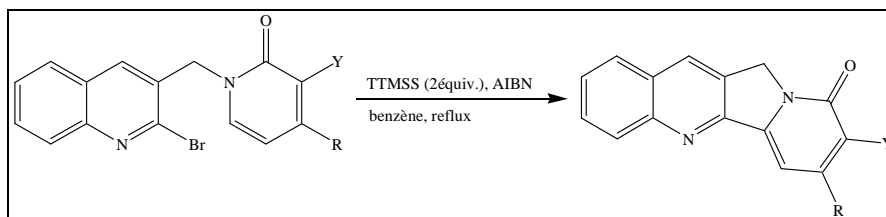


Figure 169 : Cyclisations radicalaires réalisées par Bennasar *et al.*

Nous avons donc traité le composé **69** par le TTMSS (tris(triméthylsilyl)silane), en présence d'AIBN, à reflux de toluène. Dans ces conditions, nous avons également obtenu le produit de départ en mélange avec le produit de déprotection (**Figure 170**).

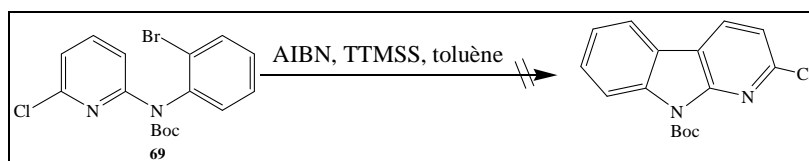


Figure 170 : Tentative de cyclisation radicalaire.

En conclusion, le meilleur rendement de préparation du composé **67** (28%) a été obtenu par cyclisation du composé **66** en présence de Pd(OAc)₂ et de DABCO dans le DMF.

Compte tenu de ces résultats nous avons abandonné cette voie de synthèse et nous nous sommes orientés vers la préparation de l'intermédiaire α -carboline portant une fonction amine en position 2 (**Figure 171**).

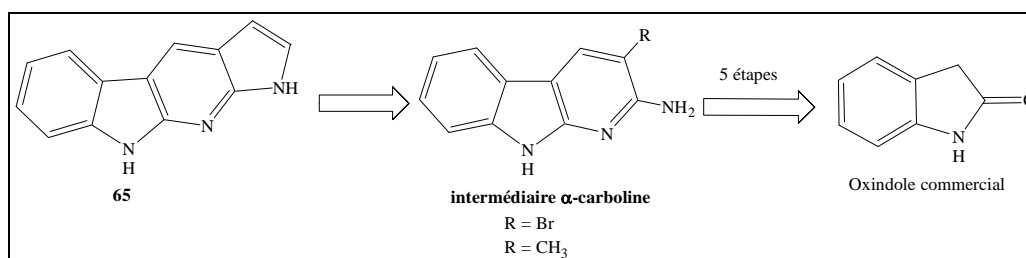
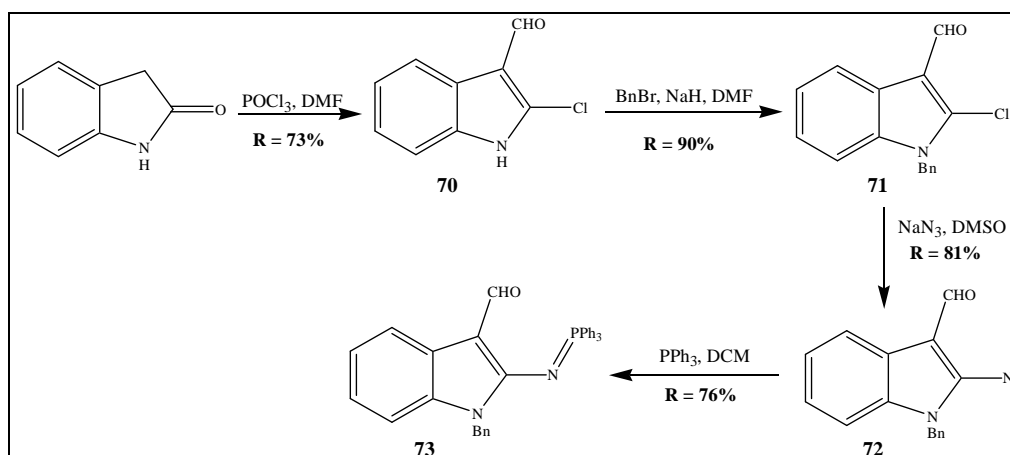


Figure 171 : Voie de synthèse envisagée pour la préparation du tétracycle **65**.

III-3- Tentative de préparation du tétracycle **65** via des motifs 2-amino- α -carboline

L'imino-phosphorane **73** a été synthétisé en 4 étapes à partir de l'oxindole, selon des méthodes décrites dans la littérature (**Figure 172**).

Figure 172 : Préparation de l'imino-phosphorane **73**.

Dans un premier temps nous avons préparé le composé **70** avec un rendement de 73%, par réaction de Vilsmeier, en présence de POCl₃ dans le DMF.⁹¹ Ensuite, l'azote indolique a été protégé par action de bromure de benzyle et d'hydrure de sodium dans le DMF pour nous conduire au composé **71** avec un rendement de 90%.⁹² Le chlore a ensuite été substitué par le groupement azoture dans le DMSO anhydre en présence d'azoture de sodium à l'abri de la lumière. Le composé **72** a ainsi été isolé avec 81% de rendement.⁹³ Enfin, le composé **72** a été engagé directement dans une réaction de Staudinger en présence de PPh₃ afin de former l'imino-phosphorane correspondant⁹⁴, avec un rendement de 76%.

En raison de l'instabilité du composé **73**, celui-ci a été engagé directement dans la réaction de Wittig suivante.

Dans le but de préparer le tétracycle **65**, deux voies de synthèse ont été envisagées, à partir de l'imino-phosphorane **73**, en utilisant différents bromures d'alkyltriphenylphosphonium⁹⁴,^{94bis} (Figure 173).

⁹¹ Showalter, H. D. H.; Sercel, A. D.; Leja, B. M.; Wolfangel, C. D.; Ambroso, L. A.; Elliott, W. L.; Fry, D. W.; Kraker, A. J.; Howard, C. T.; Lu, G. H.; Moore, C. W.; Nelson, J. M.; Roberts, B. J.; Vincent, P. W.; Denny, W.A.; Tompson, A. M. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 413-426.

⁹² Gatti, R.; Cavrini, V.; Roveri, P.; Bianucci, F.; Legnani, P. *Farmaco Ed. Sci.* **1981**, *36*, 102-108.

⁹³ Becher, J.; Pluta, K.; Krake, N.; Brøndum, K.; Christensen, N. J.; Vinader, M. V. *Synthesis* **1989**, 530-533.

⁹⁴ Hibino, S.; Sugino, E.; Kuwada, T.; Ogura, N.; Shintani, Y.; Satoh, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39*, 79-80.

^{94bis} Fresneda, P. M.; Molina, P. *Synlett* **2004**, 1-17.

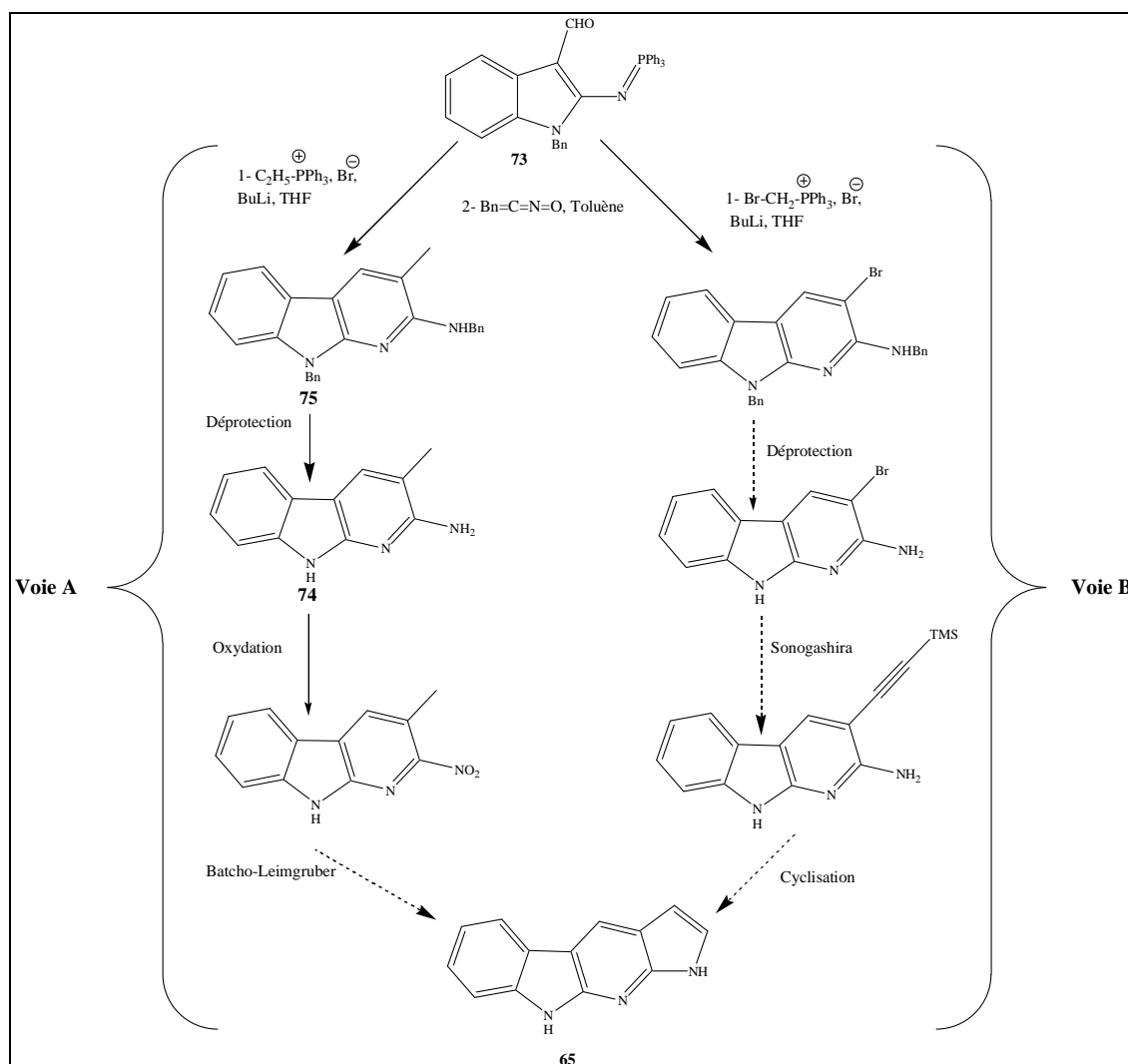


Figure 173 : Voies de synthèse envisagées pour la préparation du tétracycle **65**.

✧ Voie A : cette approche correspond à une réaction de Wittig mettant en jeu le bromure d'éthylphosphonium et le composé **73**, suivie d'une réaction d'aza-Wittig intramoléculaire et d'une déprotection afin d'aboutir au composé **74**. La fonction amine sera ensuite oxydée en groupement nitro avant de former le motif pyrrole par une réaction de Batcho-Leimgruber.

✧ Voie B : Nous avons prévu d'utiliser le bromure de bromométhylphosphonium dans une réaction de Wittig suivie d'une réaction d'aza-Wittig afin de préparer le motif α -carboline substitué par un brome en position 3. Ensuite le cycle pyrrole devrait être formé grâce à une séquence de réaction de Sonogashira-cyclisation.

III-3-1- Essai de préparation du tétracycle **65** via la voie A

La stratégie de synthèse utilisée repose sur les travaux réalisés par Hibino *et al.*⁹⁴

⁹⁴ Hibino, S.; Sugino, E.; Kuwada, T.; Ogura, N.; Shintani, Y.; Satoh, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39*, 79-80.

La formation du motif α -carboline se fait en deux étapes à partir du composé **73**. La première étape consistant en une réaction de Wittig sur l'aldéhyde permet de former la partie vinylique, puis une réaction d'aza-Wittig réalisée sur l'imino-phosphorane en présence de benzyloxy-carbonyl conduit à un carbodiimide qui est cyclisé pour accéder au motif α -carboline **75** correspondant (**Figure 174**).

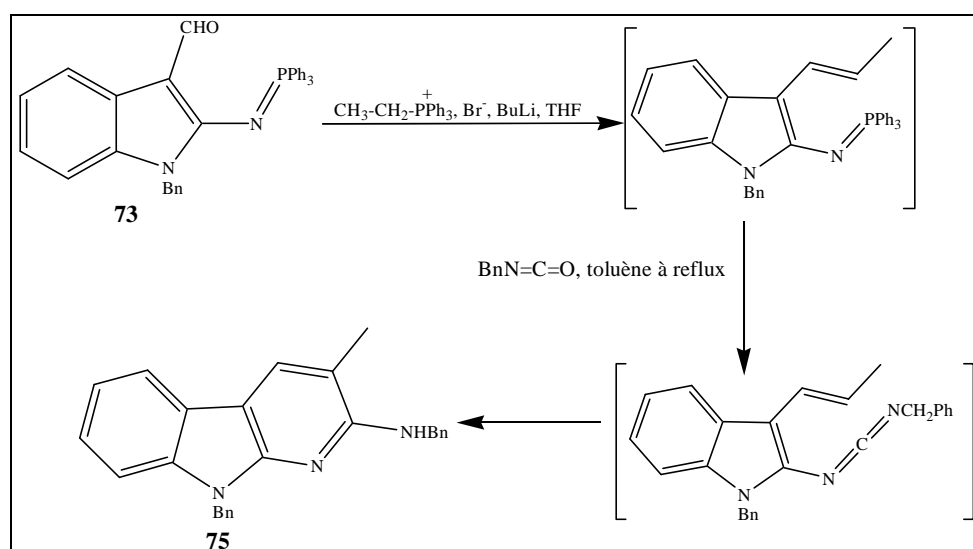


Figure 174 : Préparation du composé **75**.

Une adaptation des conditions opératoires décrites par Hibino et *al.* nous a permis d'obtenir le composé **75** avec un rendement de 86%.

L'étape suivante correspond à la déprotection du composé **75**. Lorsque la débenzylation est réalisée en présence d' AlCl_3 dans les conditions décrites dans la littérature, nous obtenons uniquement le produit mono-déprotégé **76** qui correspond à la déprotection de la fonction amine en position 2 du composé **75**, avec un rendement de 51% (**Figure 175**).

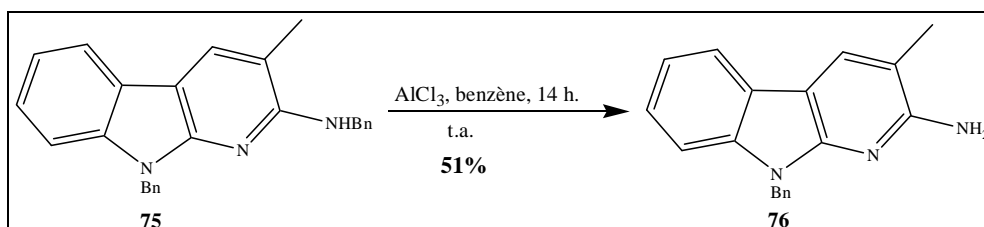
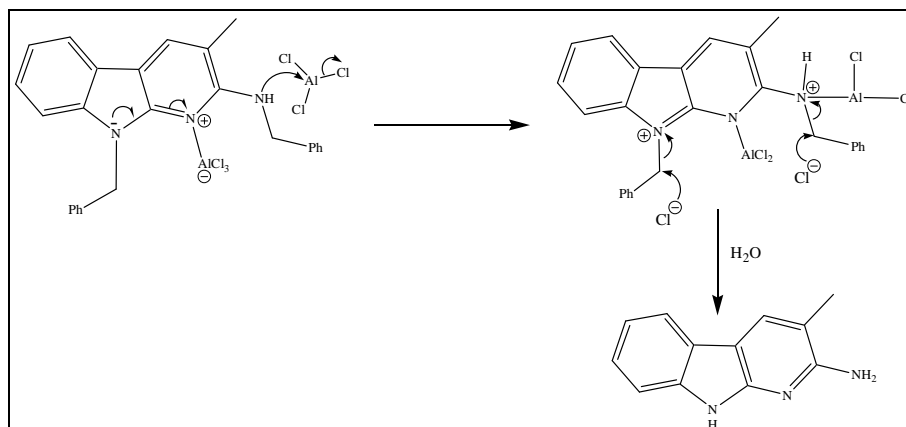
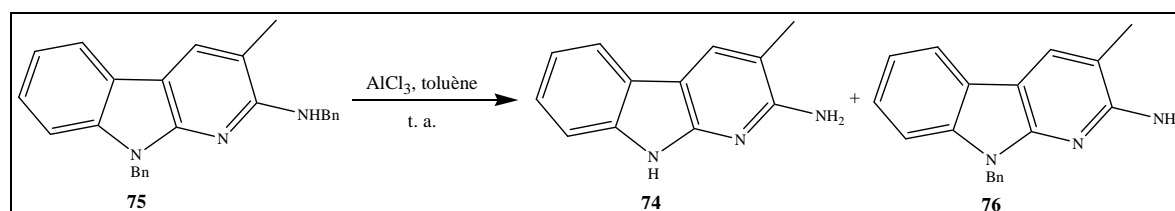


Figure 175 : Déprotection du composé **75**.

Le mécanisme réactionnel mis en jeu pour la débenzylation des fonctions amines en présence d' AlCl_3 est présenté **Figure 176**.

Figure 176 : Mécanisme de déprotection du composé **75**.

Afin d'accéder au produit complètement déprotégé, nous avons allongé la durée de la réaction et changé le solvant sans augmenter le nombre d'équivalents d' AlCl_3 , déjà en large excès (**Figure 177**).⁹⁵ Comme le montrent les résultats présentés **Tableau 26**, les meilleures conditions pour accéder au produit **74** attendu sont celles correspondant à une durée de réaction de 48 heures.

Figure 177 : Déprotection du composé **75**.

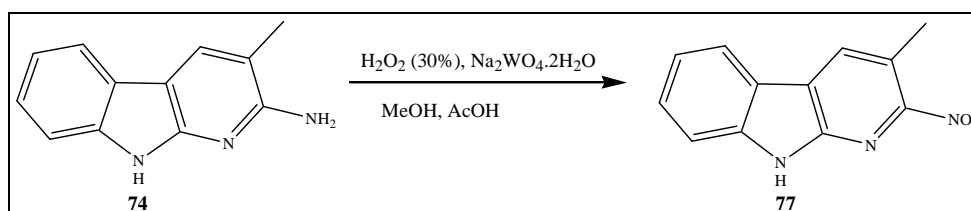
Essai	Temps de réaction	Rendement du produit 76 .	Rendement de produit du 74 .
1	30h	10%	55%
2	48h	3%	65%
3	60h	-	44% + produits de dégradations

Tableau 26 : Essais de déprotection du composé **75**.

Dans le but d'oxyder la fonction amine du composé **74** en fonction nitro, nous avons repris dans un premier temps les conditions décrites par Kazerani et *al.*⁹⁶ Ainsi, le composé **74** a été oxydé en présence d'eau oxygénée à 30% et de $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans un mélange méthanol/acide acétique (500:1). Dans ces conditions, nous avons isolé le produit souhaité **77** avec un rendement de 50% (**Figure 178**).

⁹⁵ Malapel-Andrieu, B.; Mérour, J.-Y. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 11079-11094.

⁹⁶ Kazerani, S.; Novak, M. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 895-897.

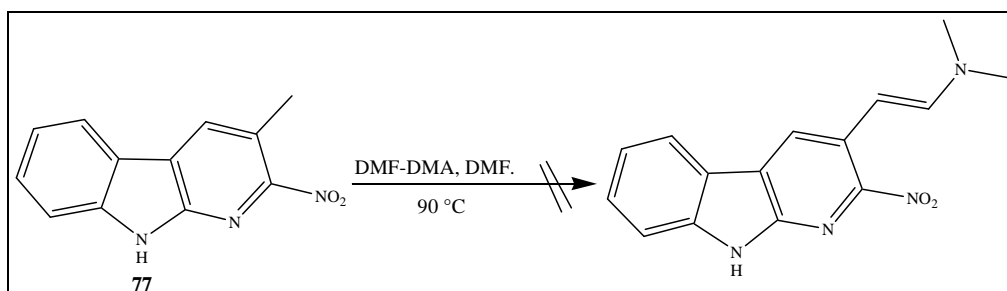
Figure 178 : Préparation du composé **77**.

Compte tenu du faible rendement obtenu pour la préparation du composé **77**, nous avons voulu tenter d'autres conditions. Cette fois-ci, en nous basant sur les travaux de Brown *et al.*⁹⁷, nous avons essayé l'oxydation du composé **74** dans l'acide acétique glacial en présence d'acide peracétique. Dans ces conditions, nous avons isolé le composé **77** avec un rendement de 38% seulement.

Malgré le faible rendement d'obtention du composé **77**, nous avons décidé de poursuivre cette voie de synthèse en réalisant la séquence de réaction de Batcho-Leimgruber.

Nous avons tout d'abord essayé de former le cycle pyrrole dans des conditions similaires à celles utilisées en 1993 par Dormoy *et al.* pour former un motif 5-azaindole. Pour ce faire, nous avons mis en réaction le composé **77** dans le DMF anhydre en présence de DMF-DMA.^{98,99}

Après 8 heures d'agitation, aucune réaction ne s'est produite (**Figure 179**). Ceci est vraisemblablement dû à la faible réactivité du méthyle en position 3 du composé **77**.

Figure 179 : Préparation du composé **77**.

Pour contourner ce problème, nous avons décidé de protéger l'azote du composé **77** et tenté de préparer l'énamine protégée qui sera déprotégée à la fin de la synthèse afin d'aboutir au tétracycle **65** (**Figure 180**).

⁹⁷ Brown, E. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 3565-3566.

⁹⁸ Dormoy, J.-R.; Heymes, A. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 2885-2914.

⁹⁹ Abdulla, R. F.; Brinkmeyer, R. S. *Tetrahedron* **1979**, *35*, 1675-1735.

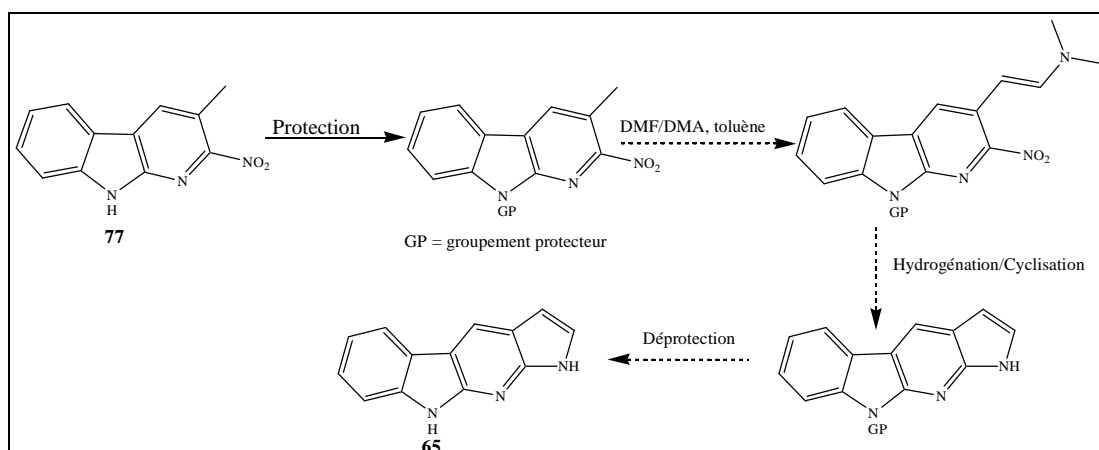


Figure 180 : Nouvelles stratégies de préparation du tétracycle 65.

Ainsi, nous avons protégé le composé **77** par un groupement SO_2Ph qui pourrait augmenter la réactivité du composé protégé pour la suite de la synthèse.

Des exemples de protection de l'azote azaindolique ou indolique ont été décrits dans la littérature, nous nous sommes inspirés de quelques uns d'entre eux et nous avons effectués différents essais afin de protéger le composé **77** (Figure 181).

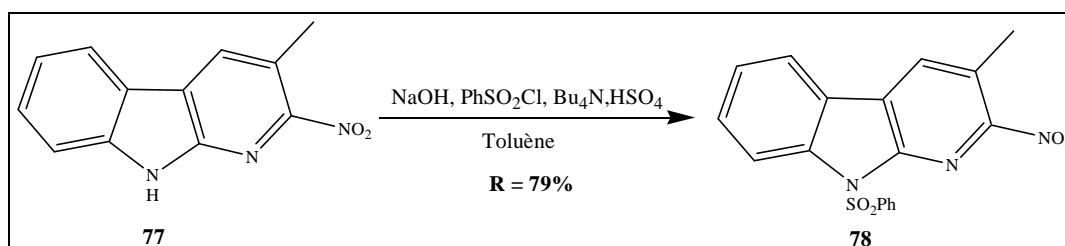


Figure 181 : Protection du composé 78.

Essai	Conditions opératoires	Produits isolés
1 ¹⁰⁰	1) NaH, THF. 1h à 0 °C. 2) PhSO ₂ Cl t. a.	Produit départ 77 .
2 ¹⁰¹	NaOH (12,5 M), HSO ₄ NBu ₄ , Toluène, PhSO ₂ Cl.	Produit départ 77 .
3 ⁹⁸	1) NaOH (poudre), DCE. 30 min à t. a. 2) PhSO ₂ Cl.	Produit qui n'a pas été identifié par RMN.
4 ¹⁰²	1) NaOH (poudre), HSO ₄ NBu ₄ , Toluène, 30 min à 0 °C 2) PhSO ₂ Cl. 4h à 60 °C.	Produit 78 .

Tableau 27 : Essais de protection du composé **77**.

Comme le montrent les résultats présentés dans le **Tableau 27**, les meilleurs résultats ont été obtenus en traitant séquentiellement le composé **77** tout d'abord par de la soude en présence

¹⁰⁰ Wenkert, E.; Moeller P., D. P.; Pietre R., S. *J. Am. Soc.* **1988**, *110*, 7188-7194.

¹⁰¹ Berry, J. M.; Bradshaw, T. D.; Fichtner, I.; Ren, R.; Schawalbe, C. H.; Wells, G.; Chew, E.-H.; Stevens, M. F. G.; Westwell, A. D. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 639-644.

⁹⁸ Dormoy, J.-R.; Heymes, A. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 2885-2914.

¹⁰² Smart, B. P.; Oslund, R. C.; Walsh, L. A.; Gelb, M. H. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 2858-2860.

d'hydrogénosulfate de tétrabutylammonium dans le toluène puis en ajoutant du chlorure de benzène sulfonyle. Dans ces conditions nous obtenons le composé **78** avec 79% de rendement.

Nous avons alors essayé de préparer l'énamine du composé **78** dans les conditions utilisées auparavant sur le composé **77** (**Figure 182**). Malheureusement, aucune réaction ne s'est produite.

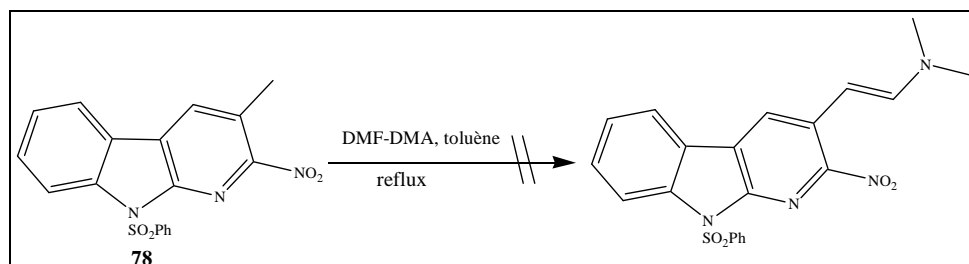


Figure 182 : Préparation de l'énamine.

Compte tenu des difficultés rencontrées, nous nous sommes orientés vers la voie de synthèse B.

III-3-2- Utilisation de la stratégie de synthèse décrite dans la voie B

Nous avons décidé de préparer le noyau α -carboline bromé en position 3 à partir du composé **73** en introduisant l'atome de brome en début de synthèse. Pour cela nous nous sommes principalement basés sur les travaux réalisés par Hibino et *al.*⁹⁴ (**Figure 183**).

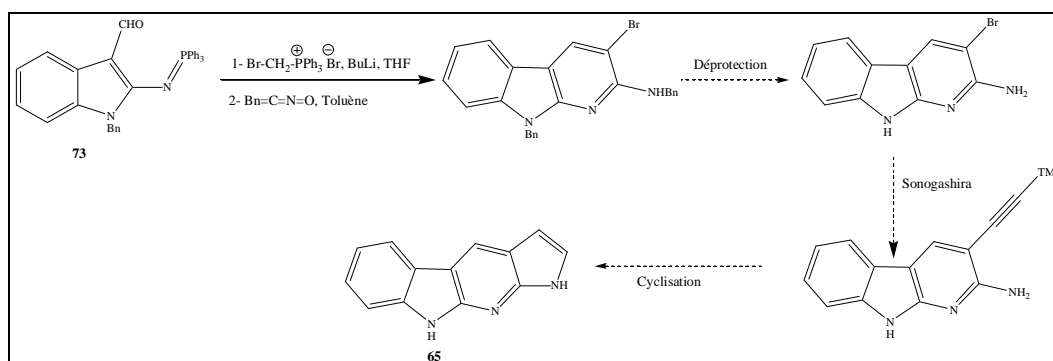


Figure 183 : Préparation du tétracycle 65 via le motif α -carboline bromé en position 3.

Pour la première étape qui est une réaction de Wittig, nous avons utilisé le bromure de bromométhyltriphenylphosphonium. Plusieurs exemples de la littérature décrivent des

⁹⁴ Hibino, S.; Sugino, E.; Kuwada, T.; Ogura, N.; Shintani, Y.; Satoh, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39*, 79-80.

réactions de Wittig réalisées en présence de ce sel afin d'accéder à des groupements bromovinyles en position terminale.^{103,104}

Nous avons donc réalisé la réaction de Wittig sur la fonction aldéhyde du composé **73** dans les conditions décrites par Hibino *et al.*⁹⁴ en présence de bromure de bromométhyltriphénylphosphonium et de BuLi dans le THF anhydre. L'intermédiaire obtenu est traité directement par le benzylisocyanate, afin de former le motif α -carboline bromé.

Notre surprise fut grande, lorsque nous avons identifié par RMN que le produit isolé avec un rendement de 30% n'était autre que le composé débromé **79** (Figure 184).

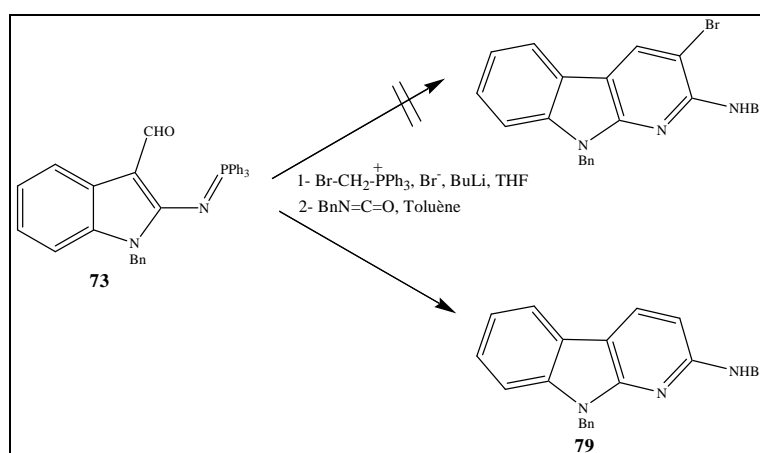


Figure 184 : Essai de préparation de l' α -carboline bromée en position 3.

Pour expliquer la formation du composé débromé **79**, on peut supposer que la base utilisée pour former l'ylure n'a pas été consommée totalement et que cet excès de butyllithium réagit avec le groupement bromovinyle terminal pour donner un composé acétylénique par réaction d'élimination. L'ylure formé in situ pourrait également jouer le rôle de base.

En effet dans la littérature plusieurs exemples d'obtention de composés acétyléniques à partir d'une fonction aldéhyde sont décrits en présence de BuLi.^{105,106}

Le mécanisme réactionnel proposé pour l'obtention du composé **79** à partir de **73** en présence du bromure de bromométhylphosphonium est présenté Figure 185.

¹⁰³ Nugent, B. M.; Williams, A. L.; Prabhakaran, E. N.; Johnston *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8877-8888.

¹⁰⁴ Rodriguez, J. G.; Martin-Villamil, R.; Lafuente, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 1021-1032.

⁹⁴ Hibino, S.; Sugino, E.; Kuwada, T.; Ogura, N.; Shintani, Y.; Satoh, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, *39*, 79-80.

¹⁰⁵ Williams, D. R.; Ihle, D. C.; Plummer, S.C. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1383-1386.

¹⁰⁶ Corey, E. J.; Fuchs, P. L. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *36*, 3769-3772.

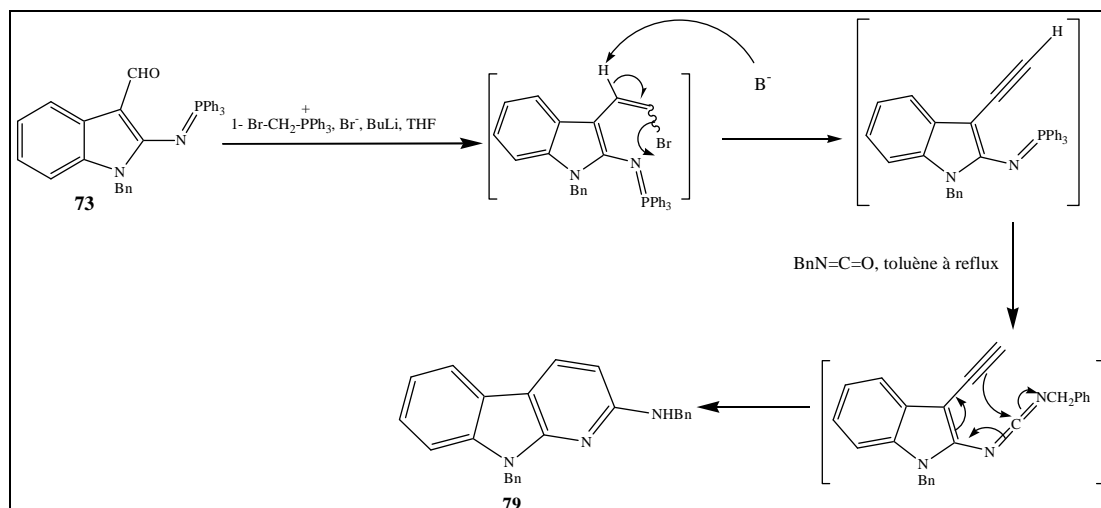


Figure 185 : Mécanisme proposé pour la formation du composé **79**.

L'imino-phosphorane formé réagit avec le benzylisocyanate afin d'obtenir un carbodiimide, qui conduit à la carboline **79** par cyclisation.^{107,108}

Etant donné que la bromation de la position 3 du cycle pyridinique n'a pas été possible en début de synthèse, nous avons essayé de bromer directement le composé **79** après avoir enlevé les groupements benzyles afin de limiter les réactions secondaires.

La déprotection du composé **79** a été réalisée en présence d' AlCl_3 comme mentionné précédemment. Malheureusement, cela ne nous a pas permis de déprotéger les deux fonctions amines (**Figure 186**).

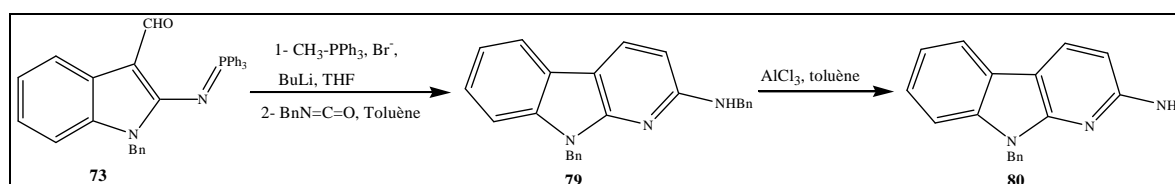


Figure 186 : Préparation et déprotection du composé **79**.

Nous avons malgré tout poursuivi la synthèse sur le produit **80** protégé au niveau de l'azote indolique.

De nombreuses conditions de bromation en position 3 du motif 2-aminopyridine décrites dans la littérature mettent en jeu du brome ou du NBS dans différents solvants (H_2O , DCM, CH_3CN).^{109,110,111}

¹⁰⁷ Shi, C.; Zhang, Q.; Wang, K. K. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 925-932.

¹⁰⁸ Zhang, Q.; Shi, C.; Zhang, H.-R.; Wang, K. K. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7977-7983.

¹⁰⁹ Kuo, G.-H.; Prouty, C.; Wang, A.; Emanuel, S.; DeAngelis, A.; Zhang, Y.; Song, F.; Beall, L.; Conolly, P. J.; Karnachi, P.; Chen, X.; Gruninger, R. H.; Sechler, J.; Fuentes-Pesquera, A.; Middleton, S. A.; Jolliffe, L.; Murray, W. V. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4892-4909.

¹¹⁰ Kelly, T. R.; Bridger, G. J.; Zhao, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8024-8034.

Nous avons effectué un seul essai de bromation, en présence d'un équivalent de NBS dans l'acétonitrile (**Figure 187**).

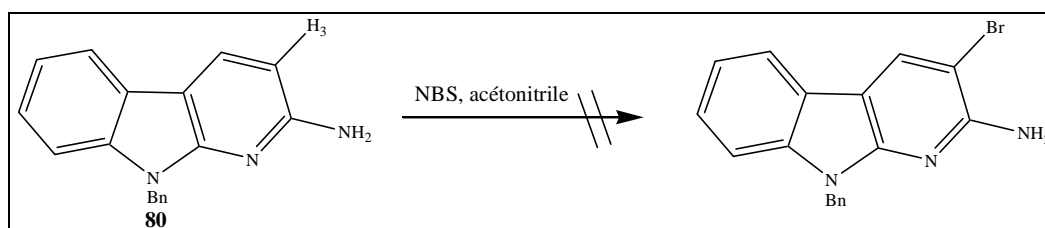


Figure 187 : Essai de bromation du composé **80**.

Nous avons observé la formation d'un nouveau produit. Après purification par chromatographie sur colonne, le mélange obtenu a été analysé par RMN et nous a montré la disparition du doublet vers 6,42 ppm caractéristique du proton H₃.

Néanmoins, nous n'avons pas pu effectuer d'autres analyses complémentaires à cause de la dégradation du produit.

Face à l'ensemble des problèmes rencontrés pour la préparation des différents motifs α -carbolines, ainsi que pour la suite des synthèses en vue de la préparation du tétracycle **65**, nous nous sommes orientés vers une autre approche.

IV- Deuxième stratégie de synthèse

Notre deuxième approche consiste à coupler le 6-chloro-7-azaindole avec le benzotriazole commercial. L'intermédiaire formé sera ensuite cyclisé selon une réaction de Graebe-Ullman afin d'aboutir au tétracycle **65**.

Le schéma rétrosynthétique envisagé est présenté sur la **Figure 188**.

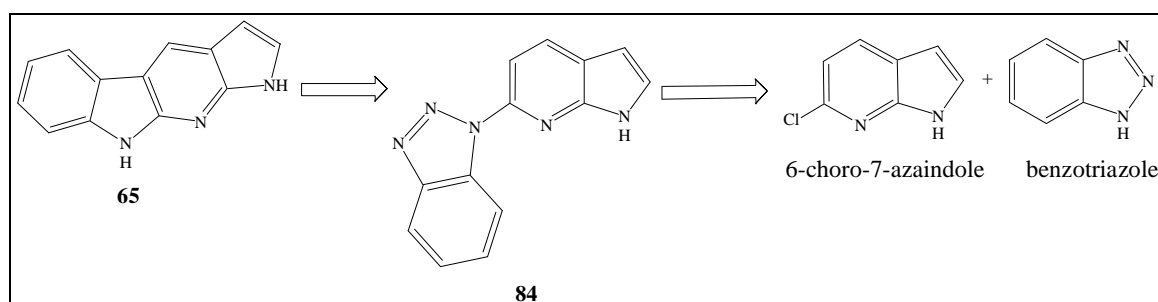


Figure 188 : Schéma rétrosynthétique d'accès au tétracycle **65**.

¹¹¹ Zhang, Y.; Pavlova, O. A.; Chefer, S. I.; Hall, A. W.; Kurian, V.; Brown, L. L.; Kimes, A. S.; Mukhin, A.; G.; Horti, A. G. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 2453-2465.

IV-1- Préparation du 7-aza-6-chloroindole

Le 6-chloro-7-azaindole **83** est préparé en 3 étapes à partir du 7-azaindole commercial, selon des méthodes décrites dans la littérature (**Figure 189 A**).^{112, 112bis,113,114}

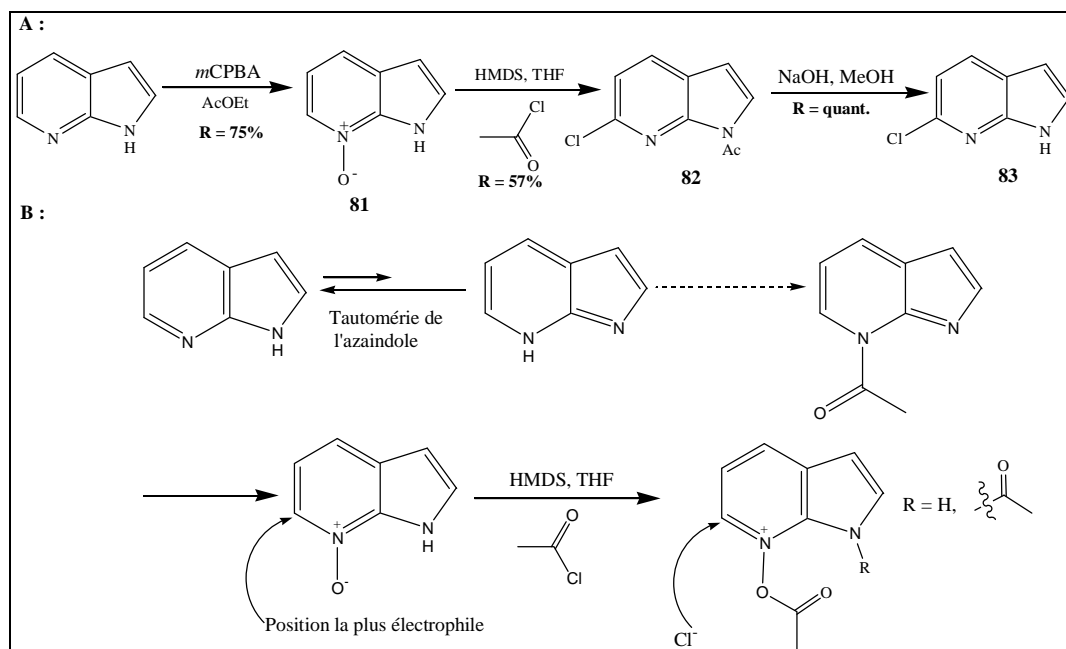


Figure 189 : Préparation du 6-chloro-7-azaindole.

Dans un premier temps, le *N*-oxyde de l'azaindole est obtenu par oxydation en présence de *m*CPBA dans l'AcOEt. Ensuite, le 6-chloroazaindole protégé **82** est obtenu par chloration du *N*-oxyde **81** en présence de chlorure d'acyle et de HMDS dans le THF anhydre. Cette technique est une méthode classique de fonctionnalisation de la position 6 d'un 7-azaindole. D'une part, le groupement *N*-oxyde empêche l'acylation de l'azote du cycle pyridinique qui pourrait s'effectuer à partir de la forme tautomère de l'azaindole, et d'autre part, cette fonctionnalisation active la position 6 et permet l'attaque de l'ion chlorure sur cette position (**Figure 189 B**). Enfin, le composé **82** est déprotégé pour donner le composé **83**.

IV-2- Préparation du tétracycle **65**

Dans la littérature, des exemples de formation de motifs α -carboline par couplage de benzotriazoles et de cycles pyridiniques chlorés en position 2 sont décrits. L'intermédiaire

¹¹² Schirok, H.; Figuerora-Pérez, S.; Thutewohl, M.; Paulsen, H.; Kroh, W.; Klewer, D. *Synthesis* **2007**, 2, 251-258.

^{112bis} Storz, T.; Bartberger, M. D.; Sukits, S.; Wilde, C.; Soukup, T. *Synthesis* **2008**, 201-214.

¹¹³ Cheng, C.-C.; Chang, C.-P.; Yu, W.-S.; Hung, F.-T.; Liu, Y.-I.; Wu, G.-R.; Chou, P.-T. *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107, 1459-1471.

¹¹⁴ Minakata, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. *Synthesis* **1992**, 661-663.

pyridylbenzotriazole obtenu est ensuite cyclisé par voie photochimique¹¹⁵, thermique ou encore par irradiation micro-ondes.^{116,116bis.}

En 2006, Vera-Luque *et al.*¹¹⁷ ont mis au point une méthode de formation du motif α -carboline en 2 étapes par irradiation micro-ondes sans solvant.

Afin d'obtenir l'intermédiaire pyridylbenzotriazole, la première étape est une réaction de couplage entre un benzotriazole substitué ou non et des cycles pyridiniques substitués en position 2 par des groupements partants. Les meilleurs rendements sont obtenus entre le benzotriazole non substitué et les cycles pyridiniques substitués en position 2 par un atome de chlore.

Ensuite, l'étape de cyclisation se fait selon une réaction de Graebe-Ullman en présence d'acide polyphosphorique (**Figure 190**).

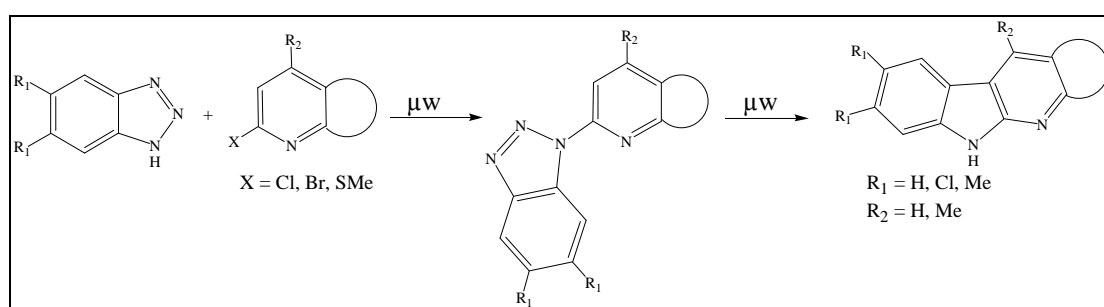


Figure 190 : Méthode de préparation du motif α -carboline décrite par Vera-Luque *et al.*

Nous inspirant de ces travaux, nous avons mis en réaction le benzotriazole avec le 7-aza-6-chloroindole préparé auparavant. Le mélange de poudre est mis dans un réacteur en verre scellé chauffé entre 180 °C et 200 °C à l'aide d'un appareil micro-ondes (CEM). Le produit **84** attendu est ainsi obtenu avec un rendement de 14% que nous n'avons pas réussi à améliorer, malgré de nombreux essais réalisés dans différentes conditions en faisant varier la durée, la température et la puissance d'irradiation de la réaction (**Figure 191**).

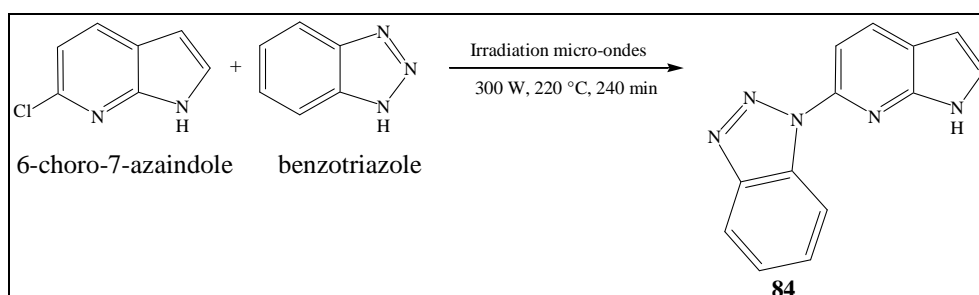


Figure 191 : Préparation du composé **84**.

¹¹⁵ Mehta, L. K.; Parrick, J.; Payne, F. J. *Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, 1261-1267.

¹¹⁶ Katritzky, A. R.; Lan, X.; Yang, J. Z.; Denisko, O. V. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 409-548.

^{116bis} Elks, J.; Gregory, G.I.; Cocker, J. D.; Stephenson, L.; Warburton, W. K. **1969**, 1268772.

¹¹⁷ Vera-Luque, P.; Alajarín, R.; Alvarez-Builla, J.; Juan J. Vaquero, J.-J. *Org. Lett.* **2006**, 8, 415-418.

En plus du produit attendu, nous avons isolé également du produit de départ et une forme tautomère du benzotriazole (Bzt2)¹¹⁶ (**Figure 192**).

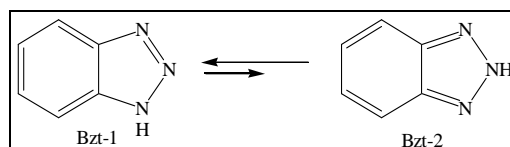


Figure 193 : Formes tautomères du benzotriazole.

Dans le but d'améliorer le rendement de la réaction, nous avons procédé à la préparation du composé **85** protégé au niveau de l'azote indolique par un groupement benzoyle, qui est un groupement électroattracteur. Ce groupement protecteur pourrait augmenter la réactivité de la liaison C-Cl et favoriser l'attaque nucléophile.

De ce fait nous avons préparé le composé **85** selon la méthode décrite précédemment en remplaçant le chlorure d'acétyl par le chlorure de benzoyle (**Figure 193**).

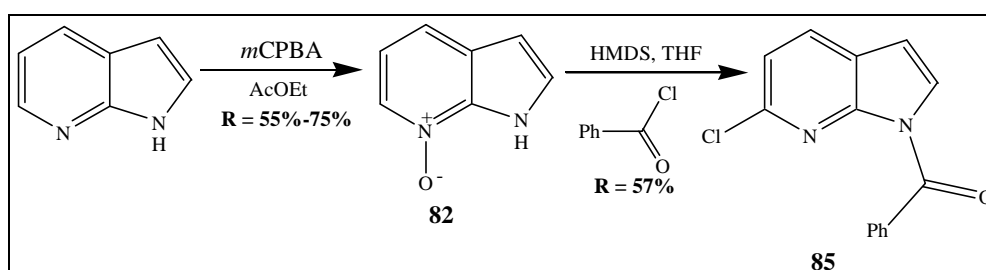


Figure 193 : Préparation du composé 85.

Nous avons tenté le couplage du benzotriazole avec le composé **85** sous irradiation micro-ondes à 180 °C pendant 120 min à 150 Watts. Malheureusement, aucun produit de substitution n'a été observé. Nous avons isolé uniquement le produit de déprotection et l'autre forme tautomère du benzotriazole (Bzt-2).

Par la suite, nous avons tenté la cyclisation du composé **84** en présence d'acide polyphosphorique à 200 °C.¹¹⁸

Lors du premier essai effectué à 200 °C, aucune réaction ne s'est produite : après 30 min, nous n'avons récupéré que du produit de départ. Un deuxième essai réalisé une nuit à 200 °C, nous a permis d'isoler un produit que nous n'avons pas réussi à caractériser (**Figure 194**).

¹¹⁶ Katritzky, A. R.; Lan, X.; Yang, J. Z.; Denisko, O. V. *Chem. Rev.* **1998**, 98, 409-548.

¹¹⁸ Schneider, C.; Gueyrard, D.; Popowycz, F.; Joseph, B.; Goekjian, P. G. *Synlett* **2007**, 2237-2241.

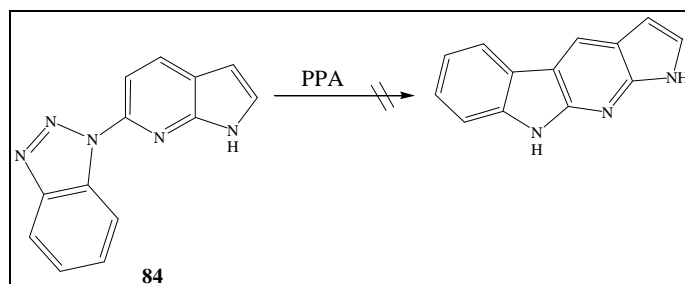


Figure 194 : Essai de cyclisation du composé **84** en présence de PPA.

Compte tenu de ces résultats, nous nous sommes orientés vers la cyclisation thermique de l'intermédiaire **84** dans un bain de sable chauffé à 300 °C, sous atmosphère inerte. Après purification du mélange réactionnel, nous avons isolé le produit souhaité **65** avec un rendement de 14%, ainsi que son régioisomère **65'** avec 38% de rendement (Figure 195).

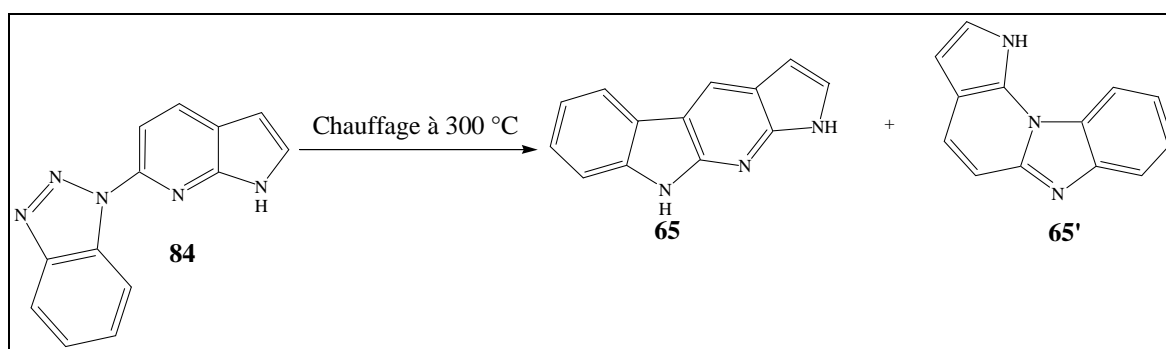


Figure 195 : Cyclisation du composé **84**.

La formation des deux isomères peut être expliquée par la formation de radicaux après la perte d'une molécule d'azote (Figure 196).

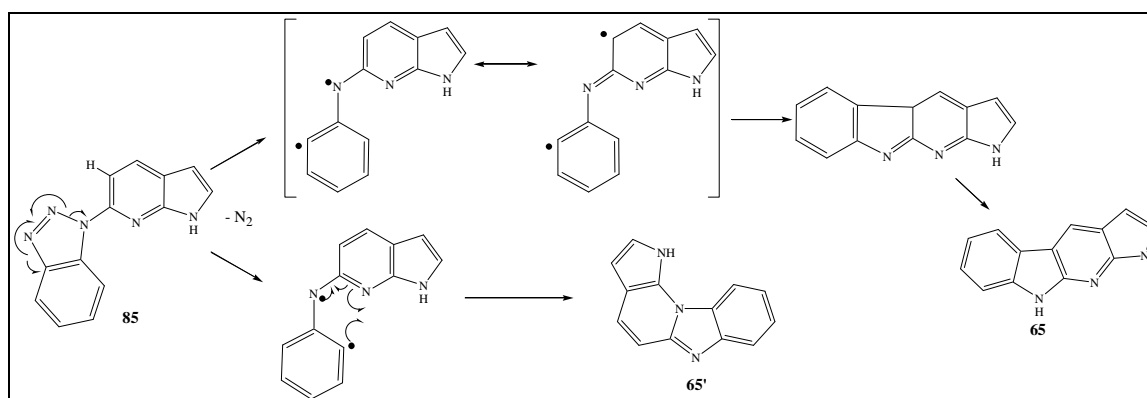


Figure 196 : Mécanisme de formation du composé **65** et de son régioisomère **65'**.

V- Conclusion

Dans cette famille de composés, nous avons pu préparer le chef de file **65**, ainsi que son régioisomère **65'**. Ces deux composés ont été soumis à différents tests biologiques. Les résultats de ces derniers vont être détaillés dans le chapitre suivant.

Troisième partie: Tests d'activité biologique

I- Introduction

L'évaluation des activités biologiques des différents composés préparés a été réalisée par plusieurs laboratoires extérieurs. La description détaillée des conditions expérimentales dans lesquelles ont été réalisés ces tests ne figure donc pas dans la partie expérimentale de ce mémoire. Ces conditions sont décrites dans les publications suivantes :

- activités antiprolifératives sur différentes lignées cellulaires.¹¹⁹
- inhibition des kinases c-Met, c-Src, c-Abl, PKA, CDK2/cycline A, FGFR3.⁴⁵
- inhibition des kinases CDK5, GSK3, CK1, Dyrk1A.¹²⁰

Les activités antiprolifératives des nouveaux composés préparés dans le cadre de ce travail ont été déterminées sur une lignée cellulaire cancéreuse humaine buccale (KB) et sur deux lignées cellulaires leucémiques humaines (K562, HL60) à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles (ICSN).

Les activités inhibitrices sur diverses kinases ont également été déterminées :

- c-Met, c-Src, c-Abl, PKA, CDK2/cycline A, FGFR3 : collaboration avec le Dr Doriano Fabbro, Novartis Pharma, Bâle (Suisse)
- CDK5, GSK3, CK1, Dyrk1A : collaboration avec le Dr Laurent Meijer, Station Biologique de Roscoff.

Les résultats de ces différents tests sont exposés et commentés dans cette troisième partie.

II- Résultats

Les activités biologiques des différents composés préparés seront présentées par famille. Nous allons tout d'abord présenter les résultats obtenus avec les isoindigos et les 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés diversement substitués sur les parties aromatiques. Nous aborderons ensuite la famille des indolin-2-ones substituées en position 3 par des chaînes latérales fonctionnalisées par un groupement α -amino-acide et enfin le tétracycle **65** ainsi que son régioisomère **65'**.

¹¹⁹ Bouchikhi, F.; Anizon, F.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 755-762.

⁴⁵ Sassatelli, F.; Bouchikhi, F.; Aboab, B.; Anizon, F.; Fabbro, D.; Prudhomme, M.; Moreau, P. *Anti-Cancer Drugs*, **2007**, *18*, 1069-1074.

¹²⁰ Echalié, A.; Bettayeb, K.; Ferandin, Y.; Lozach, O.; Monique, C.; Valette, A.; Liger, F.; Marquet, B.; Morris, J. C.; Endicott, J. A.; Joseph, B.; Meijer, L. *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 737-751.

II-1- Les isoindigos et les 7'-azaisoindigos

Les activités cytotoxiques de 11 produits (**Figure 197**) qui diffèrent entre eux par la nature des substituants sur les parties aromatiques ainsi que par la présence d'un atome d'azote supplémentaire dans le cycle D ont été évaluées par triple essai sur cellules cancéreuses humaines buccales (KB) et sur cellules leucémiques humaines (K562, HL60) en utilisant un test colorimétrique classique réalisé en présence de MTS (sel de [3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxyméthoxyphényl)-2-(4-sulfophényl)-2*H*-tétrazolium]).

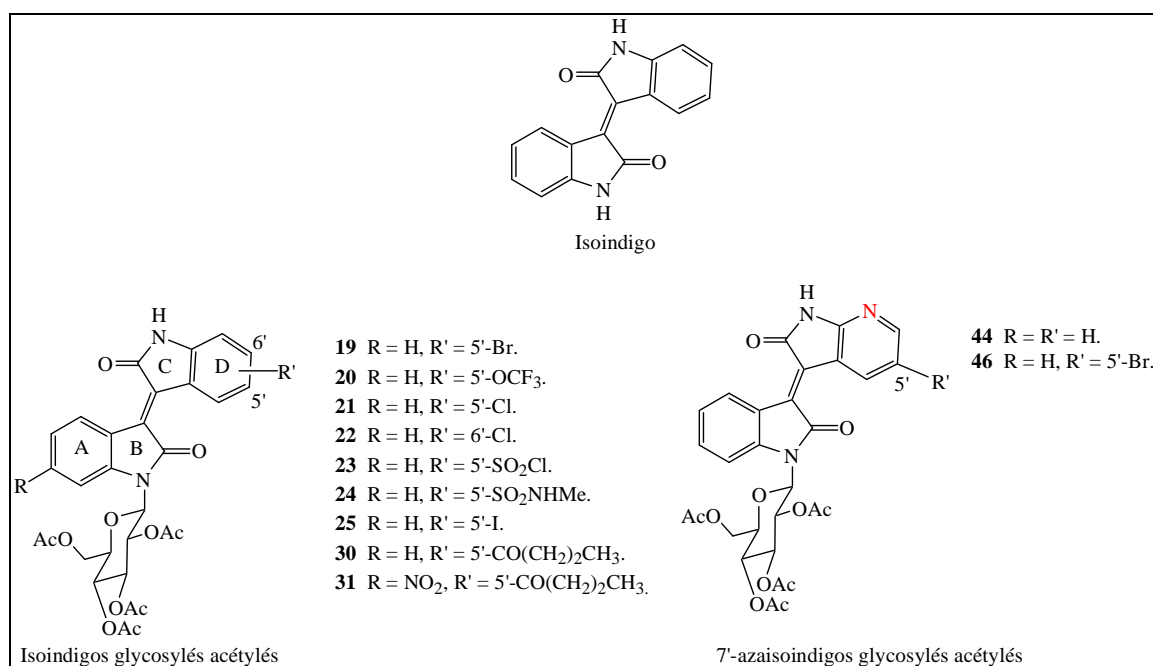


Figure 197 : Différents composés testés sur lignées cellulaires cancéreuses.

Le pourcentage d'inhibition de la prolifération cellulaire est déterminé après 72h de contact avec le composé testé à une concentration de 10^{-5} M, par comparaison avec un témoin réalisé en absence de drogue.

L'IC₅₀ correspond à la concentration de drogue inhibant de 50% la prolifération cellulaire (**Tableau 28**).

Composés	KB	HL60	K562
isoindigo	92 (1,6)	53	64
19	34	49	58
20	0	4	3
21	38	47	56
22	42	22	30
23	35	0	1
24	19	0	13
25	49	45	49
30	13	29	33
31	41	58	50
44	76 (1,6)	70	75
46	59 (13,9)	73	64

Tableau 28 : Pourcentage d'inhibition de la prolifération cellulaire. Composés testés à une concentration de 10^{-5} M. Les IC_{50} en μ M sont indiquées entre parenthèses.

L'isoindigo présente une légère activité vis-à-vis des cellules HL60 et K562. Ce composé inhibe plus fortement la prolifération des cellules KB avec une IC_{50} de 1,6 μ M. Aucun des produits appartenant à la famille des isoindigos substitués principalement sur la partie aromatique supérieure ne présente d'activité cytotoxique significative sur les lignées cellulaires testées.

En revanche, deux composés appartenant à la famille des 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés présentent des activités antiprolifératives intéressantes. Ainsi, le composé **44** inhibe respectivement la prolifération des cellules HL60 et K562 à 70% et 75%. De plus, ce composé possède une IC_{50} de 1,6 μ M sur les cellules KB. L'analogue bromé en position 5' (**46**) inhibe la prolifération des cellules HL60 et K562 à des pourcentages respectifs de 73% et 64%. Ce composé inhibe également la croissance des cellules KB avec une IC_{50} de 13,9 μ M.

L'activité des composés **19-25**, **30**, **44** et **46** a également été évaluée sur 6 kinases : c-Met, c-Src, c-Abl, PKA, CDK2/cycline A, FGFR3. Malheureusement, aucun des composés testés ne possède d' $IC_{50} < 10 \mu$ M sur les kinases étudiées.

En conclusion, sur l'ensemble des composés testés, on remarque que les 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés (**44** et **46**) présentent une activité cytotoxique plus intéressante que les

dérivés d'isoindigos testés ; le seul isoindigo actif est le composé non glycosylé. En revanche, aucun des composés testés n'a démontré d'activité significative vis-à-vis des kinases étudiées.

Les activités biologiques des autres composés appartenant soit à la série des isoindigos, soit à celle des 7'-azaisoindigos (**Figure 198**), n'ont pas été évaluées exactement sur les mêmes cibles que précédemment. Nous avons donc choisi de présenter les résultats correspondants dans le paragraphe suivant.

Les activités antiprolifératives de ces composés (testés à une concentration de 10 μ M) ont été évaluées sur cellules HL60 et K562. L'azaisoindigo non glycosylé **48** inhibe la prolifération des deux lignées cellulaires à 50%. Le composé **53**, azaisoindigo glycosylé substitué par une chaîne de type but-3-yn-1-ol, inhibe la croissance des cellules HL60 à 70% tandis qu'il inhibe celle des cellules K562 à 50%. Le composé **25** inhibe la prolifération des cellules K562 à 50%. Pour tous les autres composés de cette série, les pourcentages d'inhibition de prolifération cellulaire observés sont inférieurs à 50%.

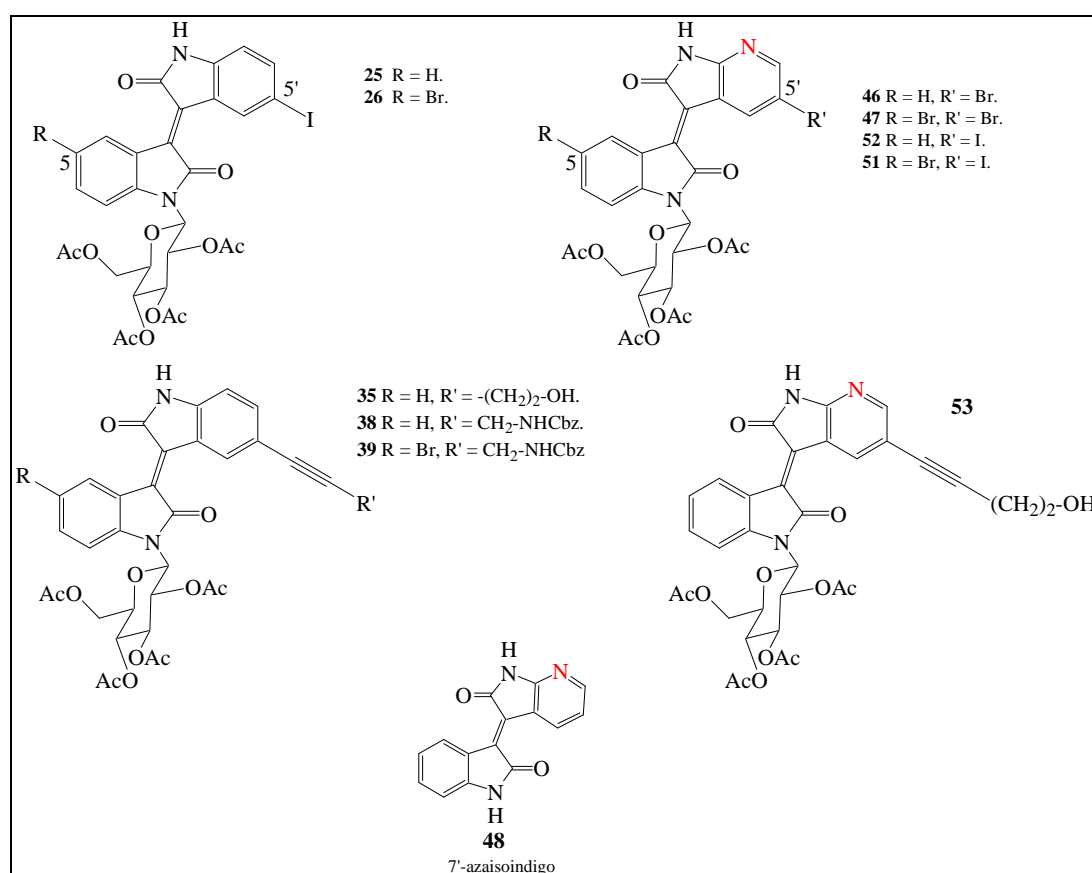


Figure 198 : Structure des différents composés testés sur kinases.

Les activités inhibitrices de ces composés ont été évaluées sur les kinases CDK5, GSK3, CK1 et DyrK1A. Les résultats des tests, exprimés en % d'activité résiduelle, sont présentés sur le **Tableau 29**.

Composés	CDK5	GSK3	CK1	DyrK1A
25	88	85	82	145
26	89	82	80	192
46	92	93	84	97
47	77	77	81	140
52	71	82	92	102
51	66	75	85	153
48	74	74	65	119
38	94	95	83	130
35	101	87	86	86
39	80	92	75	142
53	96	92	91	114

Tableau 29 : % d'activité résiduelle des kinases testées. [Composé testé] = 10 μ M.

Dans cette série, l'ensemble des composés présente une faible capacité à inhiber les kinases testées. Seul l'azaisoindigo **48** inhibe la CK1 à 35% tandis que le composé **51** inhibe la CDK5 à 34%. L'introduction de diverses chaînes en position 5' ne semble donc pas favorable à l'inhibition des kinases testées.

En conclusion, les activités biologiques des composés appartenant à la famille A (isoindigos ou azaisoindigos glycosylés acétylés diversement substitués) sont relativement modestes et il n'y a pas forcément de relation directe entre les inhibitions de kinases mesurées et les activités cytotoxiques observées.

II-2- Famille des indolin-2-ones substituées par une chaîne latérale fonctionnalisée par un groupement α -amino-acide

Les activités inhibitrices des composés **V₃**, **60**, **62** et **63**, testées à une concentration de 10 μ M, (**Figure 199**), ont été évaluées sur diverses kinases : KDR, IGF-1R, c-Met, Ret, Src, Abl, PKA et CDK2/Cycline A.

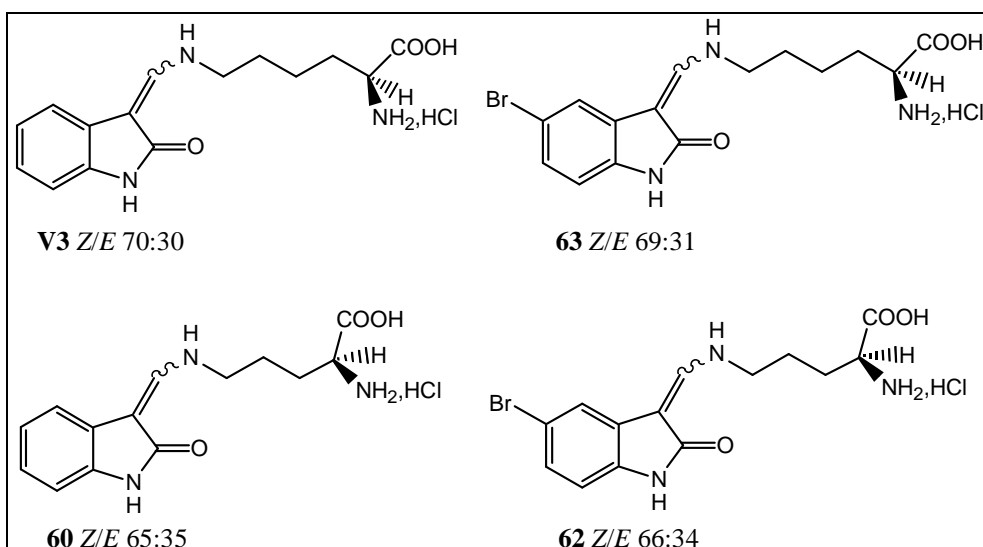


Figure 199 : Différents composés appartenant à la famille B.

Les composés **V₃**, **63** et **60** ne présentent aucune activité inhibitrice sur les kinases testées ($IC_{50} > 10 \mu M$). En revanche, le composé **62** présente une activité sur le complexe CDK2/cycline A avec une IC_{50} de $6,6 \mu M$ alors qu'il est inactif sur les autres kinases testées ($IC_{50} > 10 \mu M$).¹²¹

II-3- Tétracycles **65** et **65'**

L'évaluation des activités antiprolifératives du tétracycle **65** et de son régioisomère **65'** (testés à une concentration de $10 \mu M$) sur cellules HL60 et K562 a montré qu'aucun de ces composés ne présente d'activité significative sur ces lignées cellulaires (**Figure 200**).

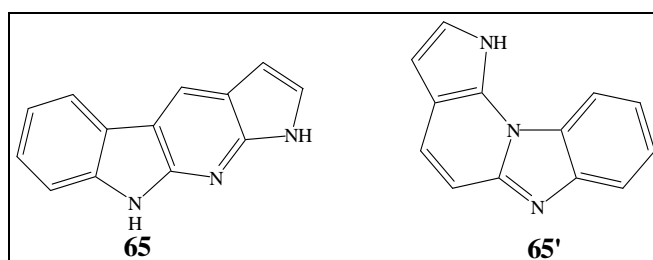


Figure 200 : Tétracycle **65** et régioisomère **65'**.

Les activités inhibitrices de ces composés (testés à une concentration de $10 \mu M$) ont été évaluées sur les kinases CDK5, GSK3, CK1 et DyrK1A (**Tableau 30**).

¹²¹ Bouchikhi, F.; Rossignol, E.; Sancelme, M.; Aboab, B.; Anizon, F.; Moreau, P. *Eur. J. Med. Chem.* **2008** (doi: 10.1016/j.ejmech.2008.01.010).

Composés	CDK5	GSK3	CK1	DyrK1A
65	90	104	53	108
65'	68	81	36	67

Tableau 30 : Pourcentage d'activité résiduelle des kinases testées. [Composé testé] = 10 μ M.

On remarque que le tétracycle **65** ainsi que son régioisomère **65'** inhibent la kinase CK1 avec des pourcentages d'inhibition respectifs de 47 et 64%.

III- Conclusion

Dans les familles d'isoindigos et 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés, les azaisoindigos **44** et **46** présentent une activité cytotoxique plus intéressante que leurs analogues isoindigos glycosylés acétylés sur cellules KB, K562 et HL60. En revanche, aucune activité inhibitrice significative n'a été mise en évidence sur les kinases testées.

Dans la famille des indolin-2-ones substituées par une chaîne latérale fonctionnalisée par un groupement α -amino-acide, seul le composé **62** présente une activité significative sur la CDK2 avec une IC_{50} de 6,6 μ M.

Enfin, parmi les kinases testées, le tétracycle **65** et son régioisomère **65'**, testés à une concentration de 10 μ M, inhibent uniquement la CK1 avec des pourcentages d'inhibition de l'ordre de 50 à 60%.

Conclusion

Dans le cadre de la recherche de nouveaux inhibiteurs de kinases à motifs indolin-2-ones, nous avons développé différentes familles de composés :

- une famille de glycosyl-isoindigos et 7'-azaisoindigos diversement substitués,
- une famille d'indolin-2-ones substituées par des chaînes latérales fonctionnalisées par un groupement α -amino-acide,
- un nouveau motif tétracyclique.

✧ Dans la famille des isoindigos glycosylés acétylés, nous avons essentiellement introduit divers substituants, notamment des chaînes fonctionnalisées, sur la partie aromatique supérieure.

Nous avons également préparé une nouvelle famille de composés, la famille des 7'-azaisoindigos, diversement substitués sur les parties aromatiques. Nous avons substitué ces azaisoindigos par les mêmes groupements que ceux introduits sur les isoindigos afin de permettre une comparaison de l'activité biologique de ces deux séries.

Ainsi, **25** nouveaux produits ont été préparés et ont été soumis à différents tests biologiques (**Figure 201**).

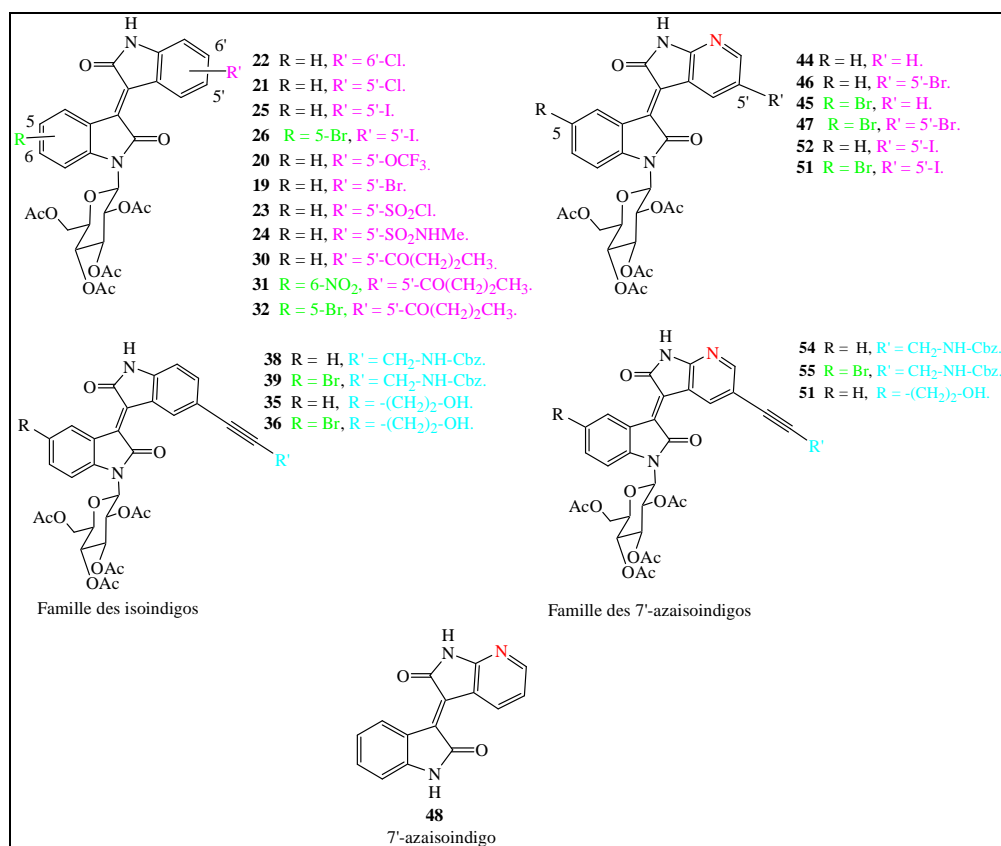


Figure 201 : Différents isoindigos et 7'-azaisoindigos préparés et soumis aux tests biologiques.

L'étude des activités cytotoxiques de ces composés sur diverses lignées cellulaires a montré de meilleurs résultats pour les composés appartenant à la famille des 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés par rapport à leurs analogues isoindigos. En revanche, aucune inhibition de kinases significative n'a été observée pour ces deux séries de composés.

Les travaux concernant la synthèse de composés appartenant à la famille A ne seront donc pas poursuivis.

✧ Dans la famille des indolin-2-ones substituées par des chaînes amino-acides, nous avons pu améliorer le rendement de préparation du composé **V₃** précédemment préparé par Mathieu Sassatelli au cours de sa thèse. Nous avons également fait varier la longueur de la chaîne et substitué la partie aromatique en position 5 (**Figure 202**).

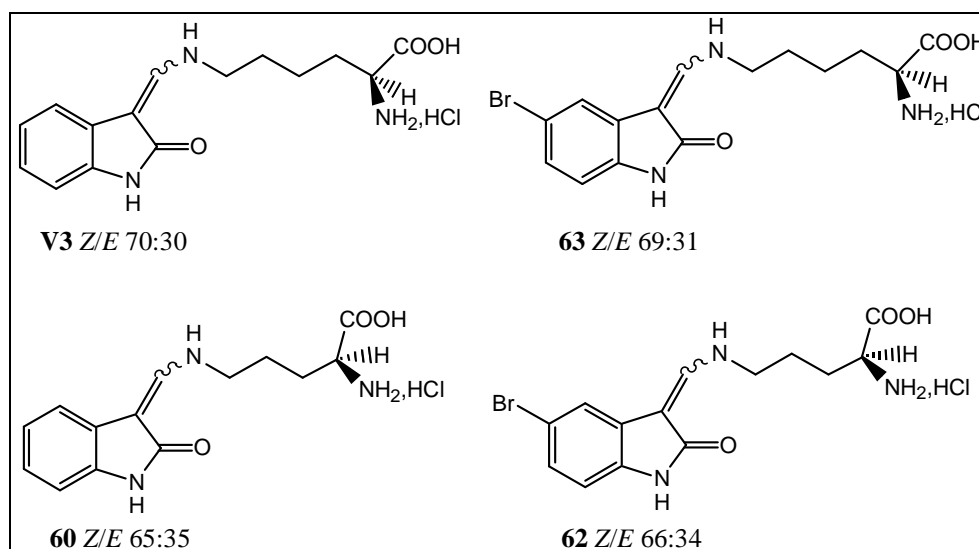


Figure 202 : Structures des composés de la famille B soumis aux tests biologiques.

Dans cette famille 3 nouveaux produits ont été préparés et testés sur certaines kinases. Parmi les composés préparés, seul le composé **62**, bromé en position 5 et substitué par un résidu ornithine, présente une activité intéressante sur le complexe CDK2/cycline A ($IC_{50} = 6,6 \mu M$). Il serait donc intéressant de préparer de nouveaux analogues du composé **62** diversement substitués afin de compléter l'étude de relations structure-activité entreprise dans cette famille.

✧ Enfin, le tétracycle **65** a été préparé et l'évaluation de son activité inhibitrice sur diverses kinases a montré une légère activité sur CK1.

Afin de préparer des analogues plus performants, par analogie avec la structure du **SU5402**, nous avons envisagé de substituer le tétracycle **65** en position 2 et 3 par des chaînes analogues à celles présentes sur le **SU5402** (**Figure 203**).

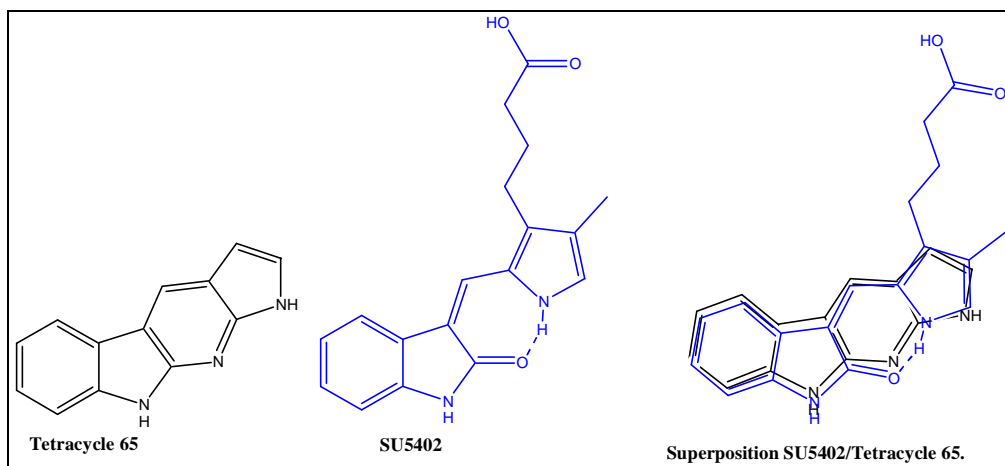


Figure 203 : Superposition entre le tétracycle 65 et le SU5402.

Dans un premier temps, pour introduire un substituant en position 3, nous avons envisagé de substituer le 7-aza-6-chloroindole en début de synthèse grâce à des acylations de Friedel-Crafts avant de réaliser un couplage avec le benzotriazole et enfin de réaliser une cyclisation thermique afin d'aboutir aux analogues du tétracycle **65** attendus (**Figure 204**).

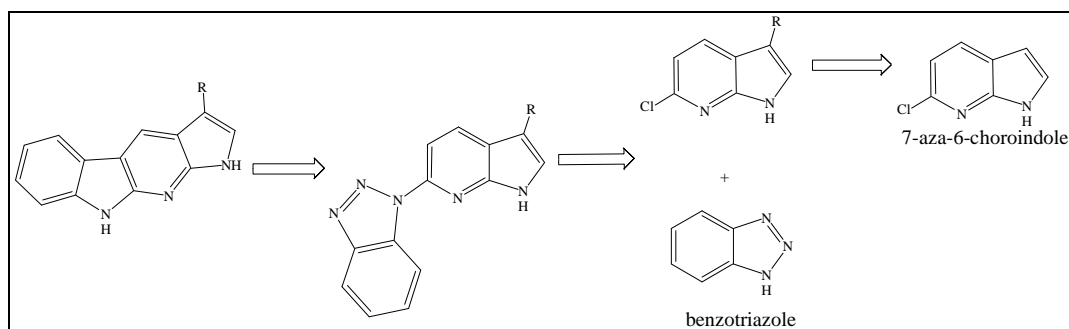


Figure 204 : Schéma rétrosynthétique envisagé pour la préparation des analogues du tétracycle 65.

Partie expérimentale

Méthodes d'analyses

Les points de fusion ont été mesurés sur un microscope Reichert.

Les spectres infra-rouge (IR) ont été enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer Paragon 500. Les spectres ont été réalisés à partir de pastilles de KBr pour les solides et sous forme de films (NaCl) pour les huiles. Les nombres d'onde des bandes principales sont exprimés en cm^{-1} .

Les spectres de masse haute résolution ont été réalisés au service de spectrométrie de masse de l'Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand en ionisation ElectroSpray positive (ES+) ou négative (ES-) sur un appareil Waters Micro Q-Toff.

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) ont été enregistrés sur des spectromètres Bruker Avance 400 (400 MHz en ^1H et 100 MHz en ^{13}C) et Avance 500 MHz (500 MHz en ^1H et 125 MHz en ^{13}C) pour certaines expériences 1D ou 2D de type HMBC, HSQC, COSY et NOESY. Les déplacements chimiques (δ) sont exprimés en partie par million (ppm). Les constantes de couplage (J) sont exprimées en hertz (Hz). Les abréviations utilisées pour l'interprétation des spectres sont les suivantes :

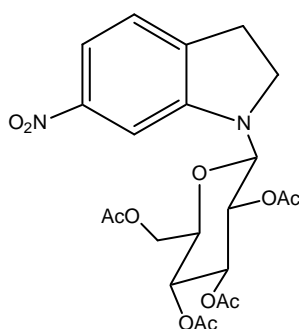
- s : singulet,
- se : signal élargi,
- d : doublet,
- de : doublet élargi,
- dd : doublet de doublets,
- ddd : doublet de doublets de doublets,
- dt : doublet de triplets ($J_d > J_t$),
- t : triplet,
- td : triplet de doublets ($J_t > J_d$),
- q : quadruplet,
- sext : sextuplet,
- m : multiplet

Les différentes synthèses ont été suivies par chromatographie sur couche mince (CCM). Celles-ci ont été effectuées sur des plaques de silice MERCK 60 F - 254.

Les purifications par chromatographie sur gel de silice ont été effectuées sur silice flash GEDURAN SI 60 (Merck) 0,040-0,063 mm.

Produits préparés

6-Nitro-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)indoline **6**



6

C₂₂H₂₆N₂O₁₁

M = 494,45

De l'anhydride acétique (7,5 mL) est ajouté à une solution de 1-(β -D-glucopyranos-1-yl)-6-nitroindoline **3** (960 mg ; 2,94 mmol) dans la pyridine (10,3 mL) refroidie à 0 °C. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 24h. Après hydrolyse, le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle puis les phases organiques rassemblées sont lavées à l'eau, avec une solution aqueuse saturée en NaHCO₃ puis à l'eau jusqu'à pH neutre. Après séchage sur MgSO₄, filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 8:2 puis 5:5) ce qui permet d'obtenir le composé **6** (1,4 g ; 2,83 mmol ; R = 96%) sous la forme d'un solide jaune.

F = 58 °C.

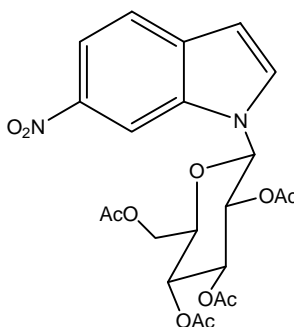
Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₂₂H₂₆N₂NaO₁₁ [M+Na]⁺ 517,1434 ; trouvée 517,1453.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1752 cm⁻¹.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,92 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,94 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,97 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,01 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,90–3,02 (1H, m) ; 3,05–3,15 (1H, m) ; 3,56–3,64 (2H, m) ; 3,98–4,12 (2H, m) ; 4,15–4,21 (1H, m) ; 4,97 (1H, t, $J = 10,0$ Hz) ; 5,18 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,45 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,72 (1H, d, $J = 9,5$ Hz) ; 7,28 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,55–7,58 (2H, m).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,3–20,4 (4C) (CH_3) ; 27,4 ; 45,7 ; 61,9 (CH_2) ; 68,2 ; 68,4 ; 72,0 ; 72,8 ; 81,6 (CH) ; 101,7 ; 114,7 ; 125,0 (CH_{arom}) ; 138,5 ; 147,9 ; 151,0 (C_{arom}) ; 169,3 ; 169,4 ; 169,6 ; 170,0 (C=O).

6-Nitro-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)indole **9**



9

$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_{11}$

$M = 492,44$

Le DDQ (210 mg ; 0,93 mmol) est ajouté par petites portions à une solution d'indoline **6** (350 mg ; 0,71 mmol) dans le 1,4-dioxane (45,5 mL) et le mélange est agité 3 jours à 100 °C. Après refroidissement, une solution aqueuse saturée de NaHCO_3 est ajoutée et le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution aqueuse saturée de NaCl , séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées. Le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/ AcOEt 1:1) ce qui permet d'obtenir le composé **9** (329 mg ; 0,67 mmol ; $R = 94\%$) sous la forme d'un solide jaune.

$F = 67$ °C.

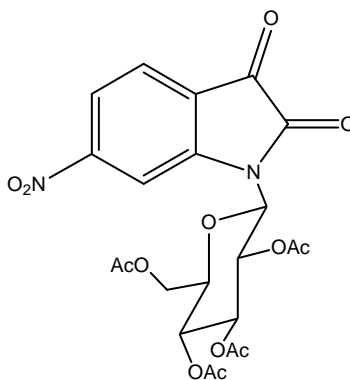
Masse exacte (ES $^+$) calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{NaO}_{11}$ [$M+\text{Na}$] $^+$ 515,1278 ; trouvée 515,1257.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1753 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,62 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,98 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,00 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,06 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,09–4,18 (2H, m) ; 4,30–4,36 (1H, m) ; 5,28 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,56 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,64 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 6,48 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 6,76 (1H, d, $J = 3,5$ Hz) ; 7,77 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 7,96 (1H, d, $J = 3,5$ Hz) ; 7,98 (1H, dd, $J_1 = 9,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 8,71 (1H, d, $J = 2,0$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 19,7 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,8 ; 70,2 ; 72,3 ; 73,2 ; 81,2 (CH) ; 104,3 ; 107,0 ; 115,4 ; 121,2 ; 132,2 (CH_{arom}) ; 133,3 ; 134,7 ; 142,8 (C_{arom}) ; 168,4 ; 169,4 ; 169,6 ; 170,0 (C=O).

6-Nitro-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)indoline-2,3-dione **12**



12

$\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_{13}$

$M = 522,42$

L'oxyde chromique (285 mg ; 2,85 mmol) est ajouté par petites portions à une suspension d'indole glycosylé **9** (150 mg ; 0,305 mmol) dans un mélange d'acétone (0,5 mL), d'acide acétique (2,3 mL) et d'eau (0,8 mL). Après 5 heures d'agitation à température ambiante, de l'eau glacée est ajoutée et le solide formé est isolé par filtration, ce qui permet d'obtenir le composé **12** (72,8 mg ; 0,139 mmol ; $R = 46\%$) sous la forme d'un solide jaune.

F = 110°C.

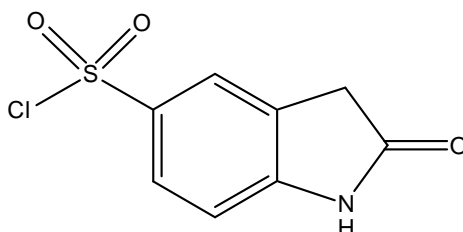
Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{22}H_{22}N_2NaO_{13}$ $[M+Na]^+$ 545,1020 ; trouvée 545,1003.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{C=O}$ 1800–1715 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) : 1,94 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,06 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,10 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,21 (3H, s, CH_3 acétate) ; 3,97–4,01 (1H, m) ; 4,21 (1H, dd, $J_1 = 12,5$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 4,38 (1H, dd, $J_1 = 13,0$ Hz, $J_2 = 3,0$ Hz) ; 5,37 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,44 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,48 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,74 (1H, d, $J = 9,0$ Hz) ; 7,85 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,10 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 8,17 (1H, d, $J = 1,5$ Hz).

RMN ^{13}C (100 MHz, $CDCl_3$) : 20,3 ; 20,6 (3C) (CH_3) ; 60,8 (CH_2) ; 67,2 ; 68,1 ; 72,4 ; 75,0 ; 80,4 (CH) ; 109,2 ; 119,9 ; 126,5 (CH_{arom}) ; 121,2 ; 148,6 , 153,5 (C_{arom}) ; 156,3 ; 169,4 ; 169,8 ; 169,9 ; 170,8 ; 180,6 (C=O).

5-Chlorosulfonyl-1H-indol-2(3H)-one **14**



14

$C_8H_6ClNO_3S$

M = 231,66

L'oxindole (5,0 g ; 37,6 mmol) est ajouté par petites portions à de l'acide chlorosulfonique (10,2 mL) maintenu à 30 °C. Le mélange réactionnel est ensuite agité à température ambiante pendant 1h30, chauffé à 70 °C durant 1h, puis refroidi. De l'eau est ajoutée et le solide formé est isolé par filtration, puis lavé à l'eau et séché sous vide. Le composé **14** (8,1 g ; 35,0 mmol ; R = 93%) est obtenu sous la forme d'un solide rose.

F = 185 °C.

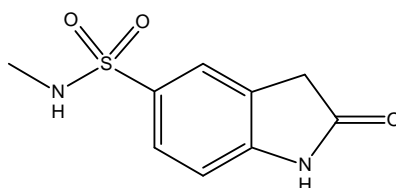
Masse exacte (ES+) calculée pour $C_8H_6NO_3S$ $[M-Cl]^+$ 196,0068 ; trouvée 196,0078.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3110 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1715 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1610 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,46 (2H, s) ; 6,72 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,40–7,45 (2H, m) ; 10,43 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 36,1 (CH_2) ; 108,5 ; 122,3 ; 125,6 (CH_{arom}) ; 125,7 ; 140,3 ; 144,9 (C_{arom}) ; 177,0 (C=O).

5-*N*-méthylaminosulfonyl-1*H*-indol-2(3*H*)-one **15**



15

$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$

$M = 226,26$

A une solution de composé **14** (200 mg ; 0,86 mmol) dans le THF, refroidie à 0°C, est ajoutée goutte à goutte une solution 2 M de méthylamine dans le THF (1,16 mL ; 2,32 mmol ; 2,7 équiv.). Le mélange réactionnel est agité pendant 24h à température ambiante puis, après évaporation du mélange réactionnel, le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 5:5 puis 3:7) ce qui permet d'obtenir le composé **15** (123 mg ; 0,54 mmol ; R = 63%) sous la forme d'un solide rose.

F = 190 °C.

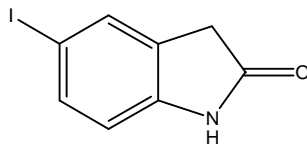
Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{NaO}_3^{32}\text{S}$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$ 249,0310 ; trouvée 249,0314.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3410–3050 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1696 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1620 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 2,38 (3H, d, $J = 4,5$ Hz) ; 3,59 (2H, s) ; 6,97 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,22–7,27 (1H, m, NHCH_3) ; 7,58 (1H, s) ; 7,61 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 10,76 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6): 28,7 (CH_3) ; 35,6 (CH_2) ; 108,9 ; 122,9 ; 127,4 (CH_{arom}) ; 126,7 ; 131,6 ; 147,4 (C_{arom}) ; 176,5 ($\text{C}=\text{O}$).

5-Iodo-1*H*-indol-2(3*H*)-one **16**



16

$\text{C}_8\text{H}_6\text{INO}$

$M = 259,05$

Une solution de tribromure de pyridinium (790 mg ; 2,47 mmol) dans l'acide acétique (100 mL) est ajoutée à une solution de 5-iodoindole (500 mg ; 2,06 mmol) dans un mélange d'acide acétique (100 mL) et d'eau (10 mL). Après 24h d'agitation à 80 °C le solvant est évaporé et le brut réactionnel est neutralisé par une solution de carbonate de sodium à 10%. Le mélange est extrait 3 fois à l'acétate d'éthyle puis les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées et évaporées. Le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/acétate d'éthyle 8:2) ce qui permet d'obtenir le composé **16** (341 mg ; 1,32 mmol ; R = 64%) sous la forme de cristaux gris.

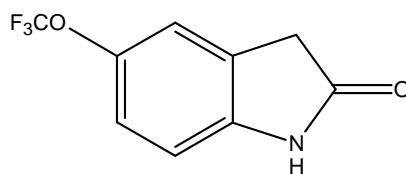
F = 170–172 °C

Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_8\text{H}_7\text{INO}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 259,9572 ; trouvée 259,9577.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3150 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C}=\text{O}}$ 1704 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C}=\text{C}}$ 1609 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,48 (2H, s) ; 6,65 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,48–7,52 (2H, m) ; 10,47 (1H, s, NH).

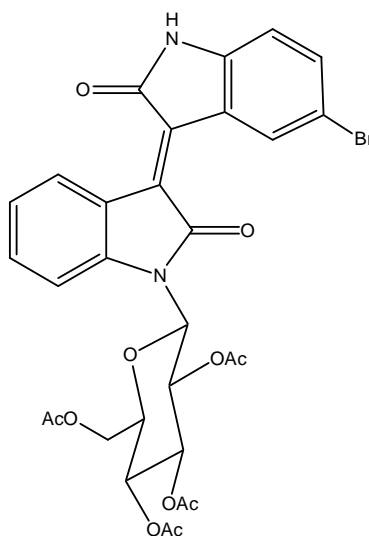
RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 35,5 (CH_2) ; 111,5 ; 132,7 ; 135,9 (CH_{arom}) ; 83,9 ; 128,8 ; 143,5 (C_{arom}) ; 175,8 ($\text{C}=\text{O}$).

5-Trifluorométhoxy-1H-indol-2(3H)-one 17**17****C₉H₆NO₂F₃****M = 217,15**

A une solution de 5-trifluorométhoxyisatine (100 mg ; 0,43 mmol) dans l'éthylène glycol (0,6 mL) sont ajoutés le KOH (147 mg) puis l'hydrate d'hydrazine (678 μ L ; 12,0 mmol). Le mélange réactionnel est agité à 70 °C pendant 30 min, puis refroidi à température ambiante. De l'eau est ajoutée, le mélange est neutralisé par une solution aqueuse d'HCl 10% puis extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée puis évaporée et le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **17** (42 mg ; 0,19 mmol ; R = 45%) sous la forme d'un solide rose.

F = 140 °C

Masse exacte (ES+) calculée pour C₉H₇¹⁹F₃NO₂ [M+H]⁺ 218,0429 ; trouvée 218,0431.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3298 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1705 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1669 cm⁻¹.RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 3,54 (2H, s) ; 6,86 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,16 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 7,24 (1H, s) ; 10,47 (1H, se, NH).RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 36,0 (CH₂) ; 109,6 ; 118,2 ; 120,6 (CH_{arom}) ; 120,2 (q, *J*_{C,F} = 255 Hz, OCF₃) ; 127,7 ; 142,8 ; 142,9 (C_{arom}) ; 176,3 (C=O).

5'-Bromo-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 19**19****C₃₀H₂₇BrN₂O₁₁****M = 671,45**

Une solution d'APTS (8,0 mg ; 0,042 mmol) dans le toluène anhydre (6,5 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. le 5-bromooxindole (35,0 mg ; 0,165 mmol ; 1,2 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (66,0 mg ; 0,138 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 24h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau puis séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 50:50:0,01). Le produit obtenu est repris dans un mélange AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré ce qui permet d'obtenir le composé **19** (38,1 mg ; 0,057 mmol ; R = 41%) sous la forme de cristaux rouges.

F > 290 °C.

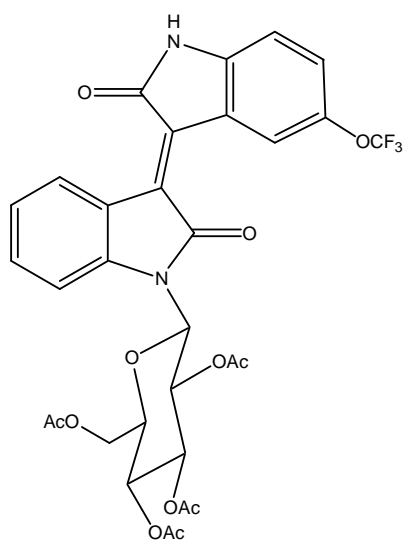
Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₃₀H₂₇⁷⁹BrN₂NaO₁₁ [M+Na]⁺ 693,0696 ; trouvée 693,0717.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3600–3310 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1790–1700 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1610 cm⁻¹.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,10–4,19 (2H, m) ; 4,32–4,39 (1H, m) ; 5,28–5,39 (1H, m) ; 5,58 (1H, t, $J = 8,5$ Hz) ; 5,54–5,70 (1H, m) ; 6,11–6,20 (1H, m) ; 6,82 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,11 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,47 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,49–7,58 (2H, m) ; 9,13 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,17 (1H, s) ; 11,11 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 19,9 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,1 ; 78,3 (CH) ; 111,6 ; 112,1 ; 122,5 ; 129,1 ; 131,3 ; 133,2 ; 135,1 (CH_{arom}) ; 112,8 ; 120,7 ; 123,2 ; 132,2 ; 133,3 ; 141,3 ; 143,5 (C_{arom}) ; 167,0 ; 168,2 ; 168,8 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)-5'-trifluorométhoxyisatindigo 18



18

$\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_{12}$

$M = 676,56$

Une solution d'APTS (6,7 mg ; 0,035 mmol) dans le toluène anhydre (5,9 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le composé **17** (30,0 mg ; 0,138 mmol ; 1,1 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (60,0 mg ; 0,126 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 36h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH

50:50:0,01). Le produit obtenu est repris dans une solution AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré ce qui permet d'obtenir le composé **18** (27,0 mg ; 0,40 mmol ; R = 32%) sous la forme de cristaux rouges.

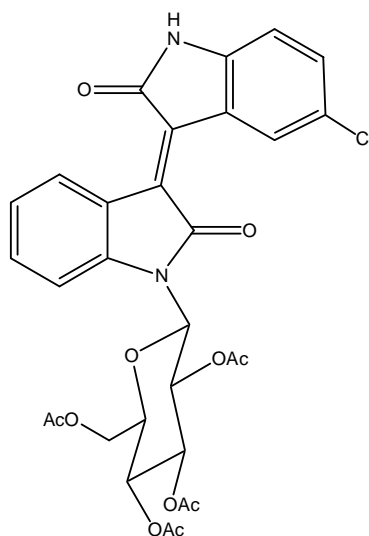
F = 270 °C.

Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{31}H_{27}^{19}F_3N_2NaO_{12} [M+Na]^+$ 699,1414 ; trouvée 699,1416.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{NH}$ 3605–3220 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=O}$ 1795–1690 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,77 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,10–4,19 (2H, m) ; 4,33–4,40 (1H, m) ; 5,28–5,39 (1H, m) ; 5,53–5,71 (2H, m) ; 6,11–6,21 (1H, m) ; 6,94 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,12 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,41 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,48 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,51–7,57 (1H, m) ; 9,01 (1H, s) ; 9,15 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,16 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 19,9 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,1 ; 78,3 (CH) ; 110,5 ; 112,2 ; 122,3 ; 122,5 ; 126,1 ; 129,1 ; 133,3 (CH_{arom}) ; 120,3 (q, $J_{C,F} = 255$ Hz, OCF_3) ; 120,7 ; 122,1 ; 132,4 ; 133,5 ; 141,3 ; 142,3 ; 143,4 (C_{arom}) ; 167,0 ; 168,5 ; 168,8 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

5'-Chloro-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 21**21****C₃₀H₂₇ClN₂O₁₁****M = 627,00**

Une solution d'APTS (11,2 mg ; 0,059 mmol) dans le toluène anhydre (10 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. le 5-chlorooxindole (70,2 mg ; 0,419 mmol ; 2 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (100 mg ; 0,209 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 48h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau puis séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 4:6 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 40:60:0,01). Le produit obtenu est chauffé à reflux dans le cyclohexane pendant 2h puis filtré à chaud, ce qui permet d'obtenir le composé **21** (41,7 mg ; 0,067 mmol ; R = 32%) sous la forme de cristaux rouges.

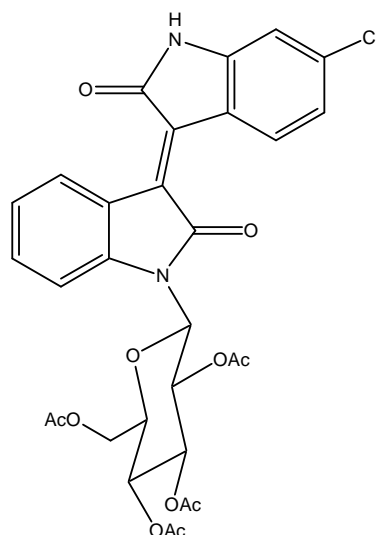
F = 242°C.

Masse exacte (ES+) calculée pour C₃₀H₂₇³⁵ClN₂NaO₁₁ [M+Na]⁺ 649,1201 ; trouvée 649,1213.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3570–3120 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1795–1695 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1611 cm⁻¹.RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,78 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,03 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,05 (3H, s, CH₃ acétate) ; 4,11–4,18 (2H, m) ; 4,32–4,38 (1H, m) ; 5,29–5,37

(1H, m) ; 5,58 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,54–5,70 (1H, m) ; 6,10–6,18 (1H, m) ; 6,87 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,11 (1H, t, $J = 8,5$ Hz) ; 7,43 (1H, dd, $J = 8,5$ Hz, $J = 2,0$ Hz) ; 7,47 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,50–7,56 (1H, m) ; 9,03 (1H, d, $J = 1,5$ Hz) ; 9,13 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,11 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,2 ; 78,3 (CH) ; 111,1 ; 112,0 ; 122,5 ; 128,6 ; 129,1 ; 132,4 ; 133,2 (CH_{arom}) ; 120,7 ; 122,7 ; 125,1 ; 132,2 ; 133,4 ; 141,3 ; 143,2 (C_{arom}) ; 167,0 ; 168,3 ; 168,8 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

6'-Chloro-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 22



22

$\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{ClN}_2\text{O}_{11}$

$M = 627,00$

Une solution d'APTS (11,2 mg ; 0,059 mmol) dans le toluène anhydre (10 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. le 6-chlorooxindole (70,2 mg ; 0,419 mmol ; 2 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (100 mg ; 0,209 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 48h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 4:6 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 40:60:0,01). Le produit obtenu est chauffé à reflux dans le cyclohexane pendant 2h puis filtré

à chaud, ce qui permet d'obtenir le composé **22** (30,3 mg ; 0,048 mmol ; R = 23%) sous la forme de cristaux rouges.

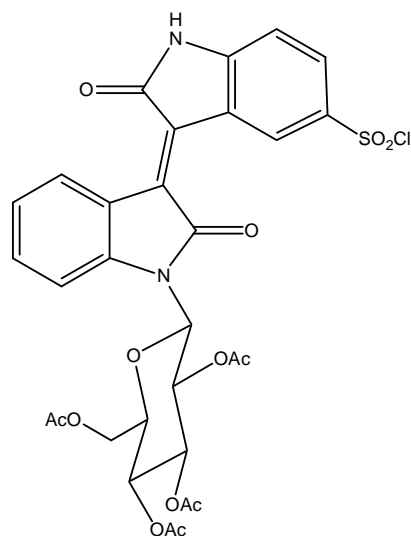
F > 280 °C.

Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{30}H_{27}^{35}ClN_2NaO_{11} [M+Na]^+$ 649,1201 ; trouvée 649,1196.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{NH}$ 3615–3215 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=O}$ 1800–1700 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=C}$ 1615 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,77 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,02 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,05 (3H, s, CH₃ acétate) ; 4,09–4,21 (2H, se) ; 4,31–4,40 (1H, m) ; 5,24–5,39 (1H, m) ; 5,52–5,71 (2H, m) ; 6,03–6,13 (1H, m) ; 6,88 (1H, s) ; 7,05 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,10 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,42–7,57 (2H, m) ; 8,92 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 9,09 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,12 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH₃) ; 61,9 (CH₂) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,1 ; 78,3 (CH) ; 109,7 ; 112,2 ; 121,0 ; 122,4 ; 128,9 ; 130,6 ; 132,9 (CH_{arom}) ; 120,3 ; 120,8 ; 131,3 ; 133,3 ; 137,0 ; 141,2 ; 145,7 (C_{arom}) ; 166,9 ; 168,6 ; 168,8 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

5'-Chlorosulfonyl-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 23**23****C₃₀H₂₇ClN₂O₁₃S****M = 691,07**

Une solution d'APTS (5,7 mg ; 0,030 mmol) dans le toluène anhydre (4,9 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le composé **14** (26,6 mg ; 0,115 mmol ; 1,1 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (50,0 mg ; 0,105 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 48h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 50:50:0,01). Le produit obtenu est repris dans une solution AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré ce qui permet d'obtenir le composé **23** (6,3 mg ; 9,1 μ mol ; R = 9%) sous la forme de cristaux rouges.

F = 235 °C.

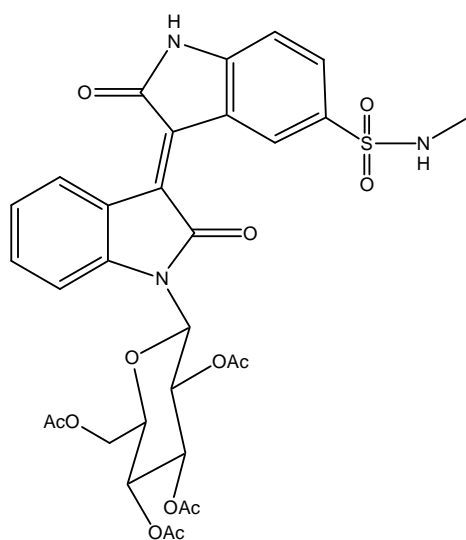
Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₃₀H₂₇³⁵ClN₂NaO₁₃³²S [M+Na]⁺ 713,0820 ; trouvée 713,0841.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3600–3200 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1795–1690 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1611 cm⁻¹.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,95 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,04 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,12–4,18 (2H, m) ; 4,33–4,40 (1H, m) ; 5,27–5,37 (1H, m) ; 5,51–5,68 (2H, m) ; 6,11–6,22 (1H, m) ; 6,79 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,09 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,44 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,48–7,54 (1H, m) ; 7,63 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 9,10 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 9,28 (1H, s) ; 11,04 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,8 (CH_2) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,6 ; 73,1 ; 78,3 (CH) ; 108,6 ; 112,0 ; 122,3 ; 127,0 ; 128,7 ; 130,8 ; 132,6 (CH_{arom}) ; 120,6 ; 120,9 ; 134,8 ; 141,1 ; 142,1 (2C) ; 144,5 (C_{arom}) ; 166,7 ; 168,8 ; 168,9 ; 169,4 (2C) ; 170,1 (C=O).

5'-*N*-méthylaminosulfonyl-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isatindigo 24



24

$\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_{13}\text{S}$

$M = 685,66$

Une solution d'APTS (5,6 mg ; 0,029 mmol) dans le toluène anhydre (4,9 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le composé **15** (26,0 mg ; 0,115 mmol ; 1,1 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (50,0 mg ; 0,105 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 24h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH

50:50:0,01). Le produit obtenu est repris dans une solution AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré ce qui permet d'obtenir le composé **24** (7,5 mg ; 10,9 μ mol ; R = 10%) sous la forme de cristaux rouges.

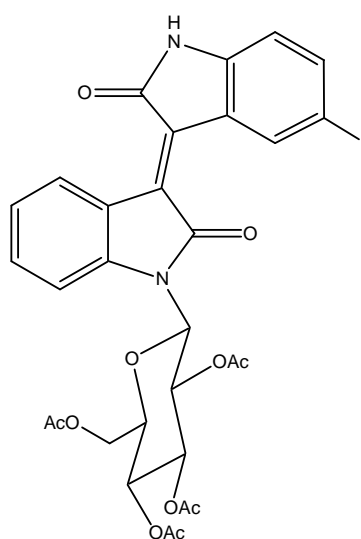
F = 231 °C.

Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{31}H_{31}N_3NaO_{13}^{32}S$ $[M+Na]^+$ 708,1475 ; trouvée 708,1496.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{NH}$ 3610–3230 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=O}$ 1780–1700 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=C}$ 1617 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,44 (3H, d, $J = 4,5$ Hz) ; 4,10–4,19 (2H, m) ; 4,35–4,42 (1H, m) ; 5,29–5,39 (1H, m) ; 5,53–5,68 (2H, m) ; 6,13–6,22 (1H, m) ; 7,05 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,12 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,29–7,35 (1H, m, NH) ; 7,48 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,52–7,57 (1H, m) ; 7,78 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,13 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,46 (1H, s) ; 11,40 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 19,9 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 ; 28,7 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,4 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,1 ; 78,3 (CH) ; 110,1 ; 112,3 ; 122,5 ; 128,1 ; 129,1 ; 131,6 ; 133,4 (CH_{arom}) ; 120,7 ; 121,2 ; 132,0 ; 132,5 ; 133,1 ; 141,4 ; 147,3 (C_{arom}) ; 166,9 ; 168,7 ; 168,9 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 (C=O).

5'-Iodo-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 25**25****C₃₀H₂₇IN₂O₁₁****M = 718,45**

Une solution d'APTS (59,8 mg ; 0,314 mmol) dans le toluène anhydre (49 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. le composé **16** (326 mg ; 1,26 mmol ; 1,2 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (500 mg ; 1,05 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 30h à l'abri de la lumière. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 50:50:0,01). Le produit obtenu est repris dans une solution AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré, chauffé à reflux dans le cyclohexane pendant 1h puis filtré à chaud. Le composé **25** (459 mg ; 0,64 mmol ; R = 61%) est obtenu sous la forme de cristaux rouges.

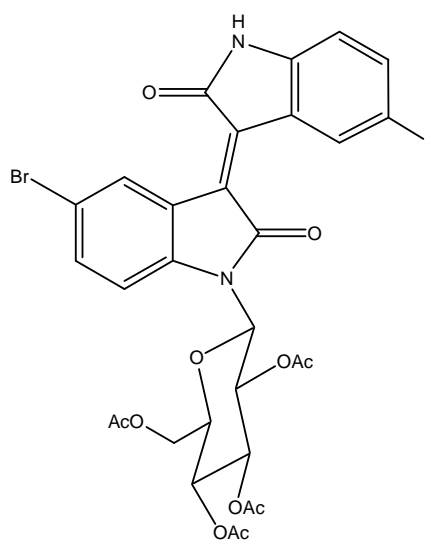
F = 228–230 °C.

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₃₀H₂₇¹²⁷IN₂NaO₁₁ [M+Na]⁺ 741,0557 ; trouvée 741,0574.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3615–3285 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1785–1675 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1610 cm⁻¹.

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,11–4,18 (2H, m) ; 4,32–4,38 (1H, m) ; 5,28–5,38 (1H, m) ; 5,52–5,68 (1H, m) ; 5,58 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 6,13–6,21 (1H, m) ; 6,71 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,10 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,46 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,49–7,56 (1H, m) ; 7,69 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 9,11 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,33 (1H, s) ; 11,09 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): 19,9 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,1 ; 78,3 (CH) ; 112,1 (2C) ; 122,5 ; 129,0 ; 133,1 ; 137,0 ; 140,9 (CH_{arom}) ; 84,0 ; 120,7 ; 123,7 ; 132,0 ; 133,2 ; 141,2 ; 143,9 (C_{arom}) ; 167,0 ; 168,0 ; 168,8 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

5-Bromo-5'-Iodo-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 26



26

$\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{BrIN}_2\text{O}_{11}$

$M = 797,34$

Une solution d'APTS (26,0 mg ; 0,137 mmol) dans le toluène anhydre (25 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le composé **16** (128 mg ; 0,494 mmol ; 1,1 équiv.) puis la 5-bromoisatine glycosylée **11** (250 mg ; 0,45 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à reflux pendant 24h à l'abri de la lumière. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1). Le produit obtenu

est repris dans une solution AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré, ce qui permet d'obtenir le composé **26** (243 mg ; 0,305 mmol ; R = 68%) est obtenu sous la forme de cristaux rouges.

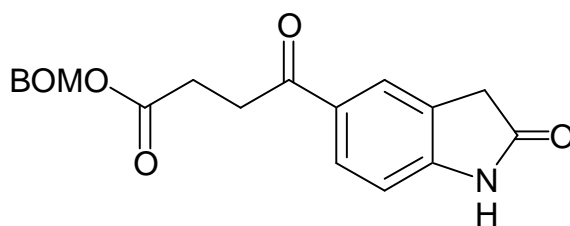
F = 270–273 °C

Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{30}H_{26}^{79}BrIN_2NaO_{11}$ $[M+Na]^+$ 818,9662 ; trouvée 818,9670.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{NH}$ 3385 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=O}$ 1775–1695 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,09–4,18 (2H, m) ; 4,32–4,38 (1H, m) ; 5,30–5,40 (1H, m) ; 5,52–5,64 (2H, m) ; 6,13–6,22 (1H, m) ; 6,72 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,55 (1H, de, $J = 7,5$ Hz) ; 7,63 (1H, de, $J = 7,5$ Hz) ; 7,71 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 9,34 (1H, s) ; 9,37 (1H, d, $J = 1,5$ Hz) ; 11,15 (1H, s, NH).

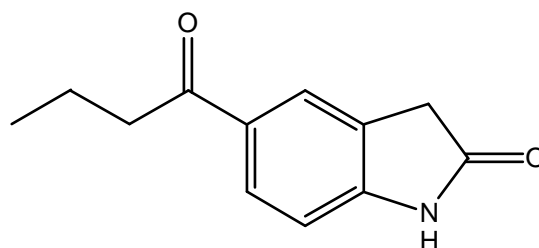
RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,2 ; 67,8 ; 72,3 ; 73,2 ; 78,2 (CH) ; 112,3 ; 114,1 ; 131,1 ; 134,9 ; 137,4 ; 141,5 (CH_{arom}) ; 84,2 ; 114,5 ; 122,6 ; 123,5 ; 130,4 ; 134,8 ; 140,0 ; 144,3 (C_{arom}) ; 166,6 ; 168,1 ; 168,9 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 (C=O).

4-Oxo-4-(2-oxo-2,3-dihydro-1H-indol-5-yl)butanoate de benzyloxyméthyle 28**28****C₂₀H₁₉NO₅****M = 353,37**

A une solution d'acide **18** (300 mg ; 1,29 mmol) dans l'acétone (9 mL) est ajouté de la diisopropyléthylamine (235 μ L ; 1,35 mmol). Après 15 min d'agitation à température ambiante, le BOMCl (475 μ L ; 2,05 mmol) est ajouté goutte à goutte. Le mélange réactionnel est agité pendant 3h à température ambiante. De l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée puis évaporée et le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 1:1) ce qui permet d'obtenir le composé **28** (332 mg ; 0,94 mmol ; R = 73%) sous la forme d'un solide rose.

F = 110 °C.

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₂₀H₁₉NNaO₅ [M+Na]⁺ 376,1161 ; trouvée 376,1147.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1679, 1709, 1731 cm⁻¹.RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,67 (2H, t, *J* = 6,0 Hz) ; 3,25 (2H, t, *J* = 6,0 Hz) ; 3,55 (2H, s) ; 4,63 (2H, s) ; 5,32 (2H, s) ; 6,91 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,27–7,38 (5H, m) ; 7,83 (1H, s) ; 7,89 (1H, dd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz) ; 10,78 (s, 1H, NH).RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 28,1 ; 32,5 ; 35,5 ; 70,8 ; 87,9 (CH₂) ; 108,8 ; 124,1 ; 127,7 (3C) ; 128,3 (2C) ; 129,0 (CH_{arom}) ; 126,1 ; 129,9 ; 137,3 ; 148,4 (C_{arom}) ; 172,1 ; 176,7 ; 196,7 (C=O).

5-(1-Oxobut-1-yl)-1H-indol-2(3H)-one 29**29****C₁₂H₁₃NO₂****M = 203,24**

A une suspension de chlorure d'aluminium (3,0 g ; 22,5 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (15,5 mL) est ajouté le chlorure de butanoyle (1,19 mL ; 11,5 mmol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 15 minutes avant l'addition d'une solution d'oxindole (500 mg ; 3,76 mmol) dans le dichlorométhane anhydre (10 mL). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 48 heures puis de l'eau est ajoutée. Le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle et la phase organique est lavée au NaHCO₃, séchée sur MgSO₄, filtrée puis évaporée. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1 à 6:4) ce qui permet d'obtenir le produit **29** (363 mg ; 1,79 mmol ; R = 48%) sous la forme d'une poudre blanche.

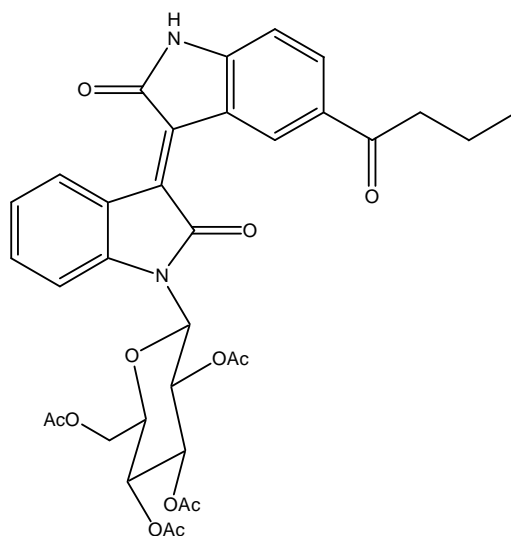
F = 143–144 °C.

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₂H₁₄NO₂ [M+H]⁺ 204,1025 ; trouvée 204,1029.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3280–3000 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1675,1717 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1610 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 0,91 (3H, t, *J* = 7,5 Hz, CH₃) ; 1,61 (2H, sext, *J* = 7,5 Hz, CH₂) ; 2,91 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, CH₂) ; 3,55 (2H, s) ; 6,89 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,81 (1H, s) ; 7,86 (1H, dd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz) ; 10,75 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 13,7 (CH₃) ; 17,6 ; 35,5 ; 39,4 (CH₂) ; 108,7 ; 124,1 ; 129,0 (CH_{arom}) ; 126,1 ; 130,4 ; 148,2 (C_{arom}) ; 176,8 ; 198,5 (C=O).

5'-(1-Oxobut-1-yl)-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranos-1-yl)isoinidigo 30**30****C₃₄H₃₄N₂O₁₂****M = 662,65**

Une solution d'APTS (12,7 mg ; 0,067 mmol) dans le toluène anhydre (10 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le composé **29** (85,1 mg ; 0,419 mmol ; 2 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (100 mg ; 0,209 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à reflux pendant 48 heures. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 4:6 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 40:60:0,01) ce qui permet d'obtenir le composé **30** (17,0 mg ; 0,0257 mmol ; R = 12%) sous la forme de cristaux rouges.

F = 210 °C.

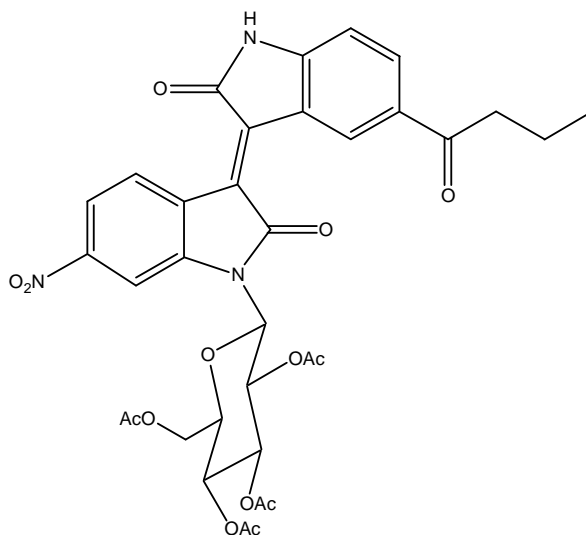
Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₃₄H₃₄N₂NaO₁₂ [M+Na]⁺ 685,2009 ; trouvée 685,1990.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3520–3175 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1785–1675 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1612 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 0,95 (3H, t, *J* = 7,5 Hz, CH₃) ; 1,67 (2H, sext, *J* = 7,5 Hz, CH₂) ; 1,78 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,03 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,05 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,95 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, CH₂) ; 4,12–4,19 (2H, m) ; 4,36–4,43 (1H, m) ; 5,28–5,41

(1H, m) ; 5,55–5,70 (2H, m) ; 6,13–6,24 (1H, m) ; 6,95 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,12 (1H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 7,47 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,49–7,57 (1H, m) ; 8,02 (1H, dd, $J_1 = 8,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 9,11 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,64 (1H, s) ; 11,36 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 13,7 ; 19,9 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 17,5 ; 39,4 ; 61,9 (CH_2) ; 67,4 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,0 ; 78,3 (CH) ; 109,6 ; 112,1 ; 122,4 ; 129,0 ; 129,6 ; 133,1 ; 133,4 (CH_{arom}) ; 120,8 ; 121,3 ; 130,5 ; 131,9 ; 133,7 ; 141,2 ; 148,0 (C_{arom}) ; 166,9 ; 168,8 ; 168,9 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 ; 198,4 ($\text{C}=\text{O}$).

6-Nitro-5'-(1-oxobut-1-yl) -1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo **31**



31

$\text{C}_{34}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_{14}$

$M = 707,65$

Une solution d'APTS (8,3 mg ; 0,044 mmol) dans le toluène anhydre (10 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le composé **29** (62,2 mg ; 0,306 mmol ; 2 équiv.) puis la 6-nitroisatine glycosylée **12** (80 mg ; 0,153 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à reflux pendant 48 heures. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 4:6 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 40:60:0,01). Le produit obtenu est chauffé à reflux dans le cyclohexane pendant 1h puis filtré à chaud. Le composé **31** (68 mg ; 0,096 mmol ; $R = 63\%$) est obtenu sous la forme de cristaux rouges.

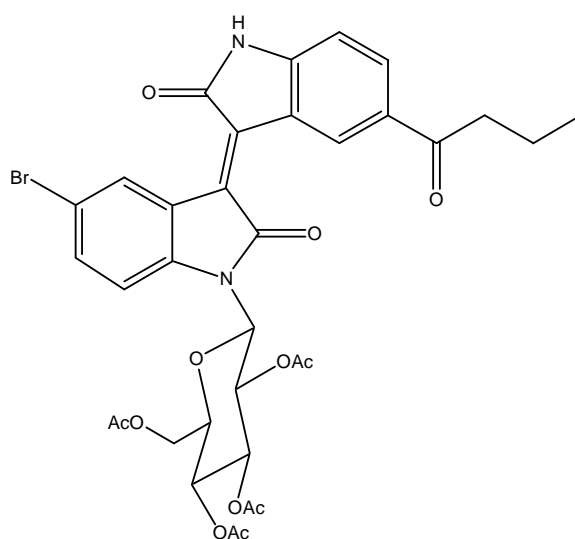
F > 250 °C.

Masse exacte (ES+) calculée pour C₃₄H₃₃N₃NaO₁₄ [M+Na]⁺ 730,1860 ; trouvée 730,1886.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3670–3125 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1780–1690 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1618 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 0,95 (3H, t, *J* = 7,5 Hz, CH₃) ; 1,68 (2H, sext, *J* = 7,5 Hz, CH₂) ; 1,79 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,98 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,06 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,07 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,95 (2H, t, *J* = 7,0 Hz, CH₂) ; 4,14 (1H, dd, *J*₁ = 12,5 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz) ; 4,24 (1H, dd, *J*₁ = 12,5 Hz, *J*₂ = 3,5 Hz) ; 4,42–4,48 (1H, m) ; 5,26–5,37 (1H, m) ; 5,49–5,68 (1H, m) ; 5,68 (1H, t, *J* = 9,0 Hz) ; 6,29 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 6,97 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,00 (1H, dd, *J*₁ = 9,0 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz) ; 8,07 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,15 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 9,32 (1H, d, *J* = 9,0 Hz) ; 9,62 (1H, s) ; 11,47 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 13,7 ; 19,9 ; 20,3 (2C) ; 20,4 (CH₃) ; 17,4 ; 39,5 ; 61,1 (CH₂) ; 67,2 ; 67,7 ; 72,0 ; 73,1 ; 78,8 (CH) ; 105,9 ; 110,0 ; 117,6 ; 129,5 ; 130,4 ; 134,8 (CH_{arom}) ; 121,0 ; 126,4 ; 129,2 ; 130,7 ; 137,8 ; 141,5 ; 149,0 ; 149,1 (C_{arom}) ; 166,5 ; 168,5 ; 169,1 ; 169,3 ; 169,5 ; 170,0 ; 198,2 (C=O).

5-Bromo-5'-(1-oxobut-1-yl)-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 32**32****C₃₄H₃₃BrN₂O₁₂****M = 741,54**

Une solution d'APTS (10,3 mg ; 0,054 mmol) dans le toluène anhydre (10 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le composé **29** (46,0 mg ; 0,226 mmol ; 1,3 équiv.) puis la 5-bromoisatine glycosylée **11** (100 mg ; 0,180 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à reflux pendant 48h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 4:6 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 40:60:0,01). Le produit obtenu est repris dans une solution AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré ce qui permet d'obtenir le composé **32** (60 mg ; 0,081 mmol ; R = 45%) sous la forme de cristaux rouges.

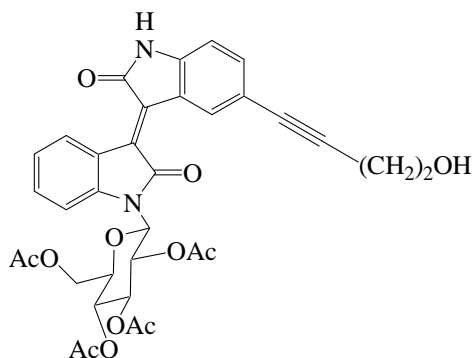
F = 218 °C.

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₃₄H₃₃⁷⁹BrN₂NaO₁₂ [M+Na]⁺ 763,1115 ; trouvée 763,1129.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3635–3195 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1780–1690 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1610cm⁻¹.RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) : 0,91–0,98 (3H, m, CH₃) ; 1,63–1,71 (2H, m, CH₂) ; 1,78 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,04 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,05 (3H, s, CH₃ acétate) ;

2,92–2,97 (2H, m, CH₂) ; 4,11–4,19 (2H, m) ; 4,36–4,43 (1H, m) ; 5,29–5,43 (1H, se) ; 5,48–5,65 (1H, se) ; 5,60–5,71 (1H, m) ; 6,14–6,26 (1H, se) ; 6,96 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,51–7,61 (1H, se) ; 7,61–7,68 (1H, m) ; 8,04 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 9,36 (1H, s) ; 9,64 (1H, s) ; 11,41 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 13,7 ; 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH₃) ; 17,5 ; 39,4 ; 61,8 (CH₂) ; 67,3 ; 67,7 ; 72,3 ; 73,1 ; 78,2 (CH) ; 109,8 ; 113,6 ; 129,9 ; 131,1 ; 134,0 ; 134,9 (CH_{arom}) ; 114,5 ; 121,1 ; 122,6 ; 130,3 ; 130,6 ; 135,3 ; 140,1 ; 148,4 (C_{arom}) ; 166,5 ; 168,9 (2C) ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 ; 198,3 (C=O).

5'-(4-Hydroxybut-1-ynyl)-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-β-D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 35



35

C₃₄H₃₂N₂O₁₂

M = 660,62

Un mélange d'isoindigo iodé **25** (100 mg ; 0,139 mmol) et de but-3-yn-1-ol (16 μL ; 0,210 mmol) dans l'acétonitrile (2 mL) en présence de triéthylamine (40 μL ; 0,287 mmol), d'iodure de cuivre (1,3 mg ; 0,0068 mmol ; 5 mol%) et de Pd(PPh₃)₄ (5,0 mg ; 0,0043 mmol ; 3 mol%) est chauffé à reflux pendant 14h. Après retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 5:5). Le produit obtenu est repris dans du toluène puis précipité par addition de cyclohexane. Après filtration, le composé **35** (12,5 mg ; 0,0189 mmol ; R = 14%) est obtenu sous la forme d'une poudre rouge.

F = 304 °C.

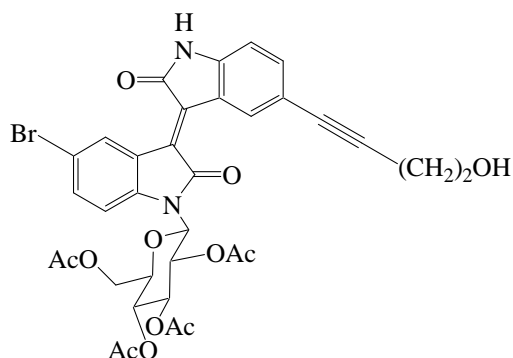
Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{34}H_{33}N_2O_{12}$ $[M+H]^+$ 661,2034 ; trouvée 661,2043.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{NH,OH}$ 3530–3160 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=O}$ 1775–1685 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=C}$ 1610 cm^{-1} .

RMN 1H (500 MHz, DMSO- d_6) : 1,77 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,56 (2H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 3,59 (2H, dt, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 4,11–4,18 (2H, m) ; 4,33–4,38 (1H, m) ; 4,90 (1H, t, $J = 5,5$ Hz) ; 5,29–5,38 (1H, se) ; 5,57 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 5,56–5,68 (1H, se) ; 6,10–6,20 (1H, se) ; 6,82 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,10 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,39 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,46 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,49–7,56 (1H, se) ; 9,01 (1H, s) ; 9,11 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,10 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 23,2 ; 59,9 ; 61,9 (CH_2) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,1 ; 78,3 (CH) ; 81,1 ; 86,5 (C_{alcyne}) ; 110,0 ; 111,8 ; 122,4 ; 129,0 ; 132,1 ; 132,9 ; 136,0 (CH_{arom}) ; 116,0 ; 120,8 ; 121,5 ; 131,6 ; 133,9 ; 141,3 ; 143,9 (C_{arom}) ; 166,9 ; 168,5 ; 168,8 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 (C=O).

5-Bromo-5'-(4-hydroxybut-1-ynyl)-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 36



36

$C_{34}H_{31}BrN_2O_{12}$

M = 739,52

Un mélange composé **26** (50 mg ; 0,063 mmol) et de but-3-yn-1-ol (8 μ L ; 0,105 mmol) dans l'acétonitrile (1 mL) en présence de triéthylamine (20 μ L ; 0,143 mmol), d'iodure de cuivre (0,6 mg ; 0,0032 mmol ; 5 mol%) et de $Pd(PPh_3)_4$ (2,2 mg ; 0,0019 mmol ; 3 mol%) est chauffé à reflux pendant 3h. Après retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée et le

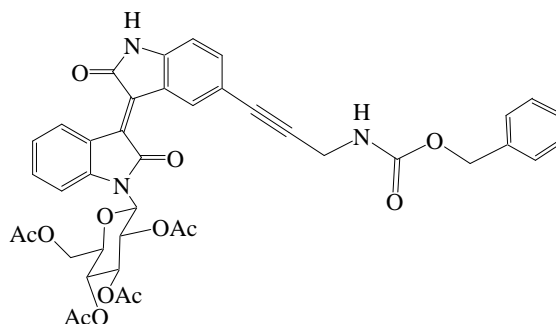
mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 5:5) ce qui permet d'obtenir le composé **36** en mélange avec 5,7% w/w d'oct-3,5-diyne-1,8-diol (20,4 mg ; 0,026 mmol ; R = 41% - rapport composé **36**/oct-3,5-diyne-1,8-diol estimé d'après le spectre de RMN ^1H)

Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{34}\text{H}_{32}^{79}\text{BrN}_2\text{O}_{12} [\text{M}+\text{H}]^+$ 739,1139 ; trouvée 739,1147.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3630–3160 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1770–1700 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1610 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,56 (2H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 3,58 (2H, dt, $J_1 = 7,0$ Hz, $J_2 = 5,5$ Hz) ; 4,09–4,18 (2H, m) ; 4,32–4,38 (1H, m) ; 4,91 (1H, t, $J = 5,5$ Hz) ; 5,30–5,40 (1H, m) ; 5,51–5,65 (2H, m) ; 6,11–6,20 (1H, m) ; 6,83 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,42 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,55 (1H, de, $J = 8,0$ Hz) ; 7,63 (1H, de, $J = 8,5$ Hz) ; 9,02 (1H, s) ; 9,37 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 11,17 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 23,2 ; 59,8 ; 61,9 (CH_2) ; 67,2 ; 67,8 ; 72,4 ; 73,2 ; 78,2 (CH) ; 81,0 ; 86,6 (C_{alcyne}) ; 110,2 ; 113,9 ; 131,0 ; 132,5 ; 134,7 ; 136,6 (CH_{arom}) ; 114,5 ; 116,1 ; 121,3 ; 122,6 ; 130,0 ; 135,5 ; 140,2 ; 144,3 (C_{arom}) ; 166,5 ; 168,6 ; 168,9 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 (C=O).

5'-(*N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminoprop-1-ynyl)-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo **38****38****C₄₁H₃₇N₃O₁₃****M = 779,74**

Un mélange d'isoindigo iodé **25** (200 mg ; 0,278 mmol) et de Cbz-propargylamine **37** (105 mg ; 0,555 mmol) dans l'acétonitrile (0,64 mL) en présence de triéthylamine (42 μ L ; 0,301 mmol), d'iodure de cuivre (2,6 mg ; 0,014 mmol ; 5 mol%) et de Pd(PPh₃)₄ (10,0 mg ; 0,0087 mmol ; 3 mol%) est chauffé à reflux pendant 24h. Après retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 4:6). Le produit obtenu est repris dans du toluène puis précipité par addition de cyclohexane. Le solide formé est filtré, ce qui permet d'obtenir le composé **38** (52 mg ; 0,067 mmol ; R = 24%) sous la forme d'une poudre rouge.

F = 200 °C.

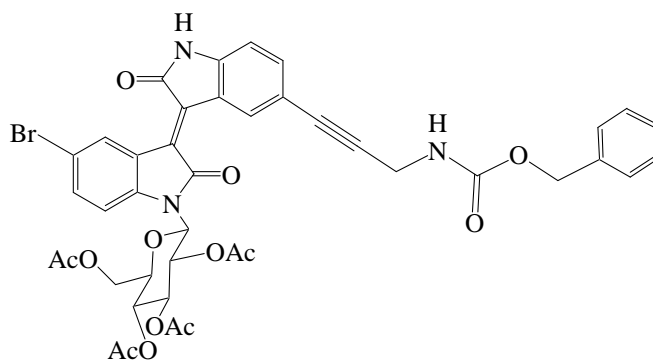
Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₄₁H₃₇N₃NaO₁₃ [M+Na]⁺ 802,2224 ; trouvée 802,2202.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3386 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1790–1710 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1600 cm⁻¹.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,77 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,03 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,05 (3H, s, CH₃ acétate) ; 4,08 (2H, d, *J* = 5,5 Hz) ; 4,10–4,18 (2H, m) ; 4,32–4,38 (1H, m) ; 5,07 (2H, s) ; 5,28–5,41 (1H, se) ; 5,57 (1H, t, *J* = 8,5 Hz) ; 5,56–5,67 (1H, se) ; 6,10–6,23 (1H, se) ; 6,85 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,11 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,30–7,40

(5H, m) ; 7,42 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,46 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,50–7,58 (1H, se) ; 7,85 (1H, t, $J = 5,5$ Hz, NH) ; 9,04 (1H, s) ; 9,11 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 11,17 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH₃) ; 30,6 ; 61,9 ; 65,6 (CH₂) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,2 ; 78,3 (CH) ; 81,9 ; 85,3 (C_{alcyne}) ; 110,1 ; 111,8 ; 122,5 ; 127,9 (3C) ; 128,4 (2C) ; 129,0 ; 132,2 ; 133,0 ; 136,1 (CH_{arom}) ; 114,9 ; 120,7 ; 121,5 ; 131,8 ; 133,7 ; 136,9 ; 141,1 ; 144,4 (C_{arom}) ; 156,0 ; 166,9 ; 168,5 ; 168,8 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

5'-(*N*-Benzyloxycarbonyl-3-aminoprop-1-ynyl)-5-bromo-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo **39**



39

C₄₁H₃₆BrN₃O₁₃

M = 858,64

Un mélange de composé **26** (50 mg ; 0,063 mmol) et de Cbz-propargylamine **37** (16,5 mg ; 0,087 mmol) dans l'acétonitrile (1 mL) en présence de triéthylamine (20 μL ; 0,143 mmol), d'iodure de cuivre (0,6 mg ; 0,0032 mmol ; 5 mol%) et de Pd(PPh₃)₄ (2,2 mg ; 0,0019 mmol ; 3 mol%) est chauffé à reflux pendant 6h. Après retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée et le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 4:6), ce qui permet d'obtenir le composé **39** (17,9 mg ; 0,021 mmol ; R = 33%) sous la forme d'une poudre rouge.

F = 130–132 °C.

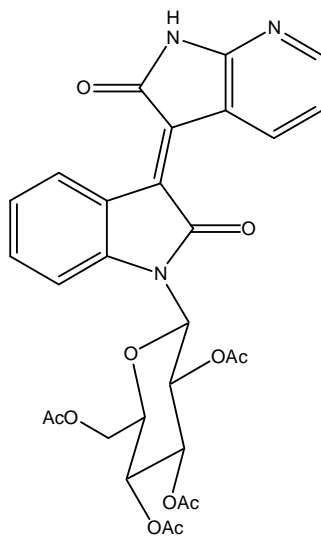
Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₄₁H₃₆⁷⁹BrN₃NaO₁₃ [M+Na]⁺ 880,1329 ; trouvée 880,1333.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3420 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1770–1700 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1610 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,77 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,08 (2H, d, $J = 5,5$ Hz) ; 4,10–4,18 (2H, m) ; 4,32–4,37 (1H, m) ; 5,07 (2H, s) ; 5,30–5,40 (1H, m) ; 5,53–5,64 (2H, m) ; 6,11–6,21 (1H, se) ; 6,86 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,29–7,40 (5H, m) ; 7,44 (1H, d, $J = 8,5$ Hz) ; 7,52–7,58 (1H, m) ; 7,63 (1H, de, $J = 8,0$ Hz) ; 7,83 (1H, t, $J = 5,5$ Hz, NH) ; 9,05 (1H, s) ; 9,37 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 11,20 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 30,6 ; 61,9 ; 65,6 (CH_2) ; 67,2 ; 67,8 ; 72,4 ; 73,2 ; 78,3 (CH) ; 81,7 ; 85,4 (C_{alcyne}) ; 110,3 ; 113,9 ; 127,9 (3C) ; 128,4 (2C) ; 131,1 ; 132,6 ; 134,8 ; 136,6 (CH_{arom}) ; 114,5 ; 115,1 ; 121,4 ; 122,6 ; 130,2 ; 135,3 ; 136,9 ; 140,1 ; 144,8 (C_{arom}) ; 156,0 ; 166,5 ; 168,6 ; 168,9 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 (C=O).

7'-Aza-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 44



44

$\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_{11}$

$M = 593,55$

Une solution d'APTS (12,0 mg ; 0,063 mmol) dans le toluène anhydre (4,6 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le 7-azaoxindole **41** (33,7 mg ; 0,251 mmol ; 1,2 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (100,0 mg ; 0,209 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel

est agité à reflux pendant 48h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 50:50:0,01). Le produit obtenu est repris dans un mélange AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré ce qui permet d'obtenir le composé **44** (11,8 mg ; 0,020 mmol ; R = 10%) sous la forme de cristaux rouges.

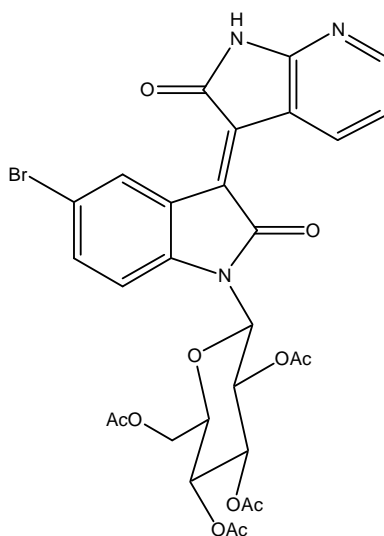
F = 196 °C.

Masse exacte (ES+) calculée pour C₂₉H₂₈N₃O₁₁ [M+H]⁺ 594,1724 ; trouvée 594,1712.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3625–3240 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1790–1690 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1603 cm⁻¹.

RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,77 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,02 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,05 (3H, s, CH₃ acétate) ; 4,10–4,18 (2H, m) ; 4,33–4,40 (1H, m) ; 5,27–5,41 (1H, m) ; 5,52–5,68 (2H, m) ; 6,04–6,16 (1H, m) ; 7,06 (1H, dd, *J*₁ = 7,5 Hz, *J*₂ = 5,5 Hz) ; 7,13 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,48 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,51–7,59 (1H, m) ; 8,20 (1H, d, *J* = 5,0 Hz) ; 9,14 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 9,17 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 11,59 (1H, s, NH).

RMN ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH₃) ; 61,9 (CH₂) ; 67,3 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,1 ; 78,3 (CH) ; 111,6 ; 117,7 ; 122,6 ; 129,1 ; 133,2 ; 136,4 ; 150,5 (CH_{arom}) ; 116,1 ; 120,6 ; 132,1 ; 132,5 ; 141,3 ; 157,9 (C_{arom}) ; 167,0 ; 168,2 ; 168,8 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

7'-Aza-5-bromo-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 45**45****C₂₉H₂₆BrN₃O₁₁****M = 672,43**

Une solution d'APTS (10,3 mg ; 0,054 mmol) dans le toluène anhydre (10 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le 7-azaosindole **41** (29,0 mg ; 0,216 mmol ; 1,2 équiv.) puis la 5-bromoisatine glycosylée **11** (100 mg ; 0,180 mmol) sont ajoutés et le mélange réactionnel est agité à reflux pendant 48h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 5:5). Le produit obtenu est repris dans un mélange AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré ce qui permet d'obtenir le composé **45** (23,7 mg ; 0,0352 mmol ; R = 20%) sous la forme de cristaux rouges.

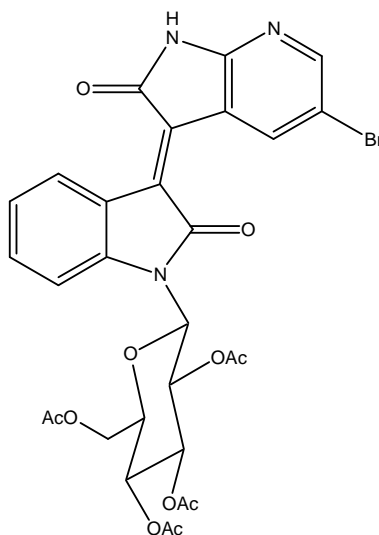
F = 200–202 °C.

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₂₉H₂₇⁷⁹BrN₃O₁₁ [M+H]⁺ 672,0829 ; trouvée 672,0840.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3560–3170 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1785–1705 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1602 cm⁻¹.RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,78 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,03 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,04 (3H, s, CH₃ acétate) ; 4,09–4,17 (2H, m) ; 4,33–4,40 (1H, m) ; 5,25–5,44

(1H, se) ; 5,46–5,73 (2H, se) ; 6,04–6,15 (1H, m) ; 7,07 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz) ; 7,50–7,61 (1H, se) ; 7,61–7,70 (1H, m) ; 8,22 (1H, dd, $J_1 = 5,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 9,17 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 9,38 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 11,66 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,2 ; 67,7 ; 72,3 ; 73,2 ; 78,3 (CH) ; 113,8 ; 117,9 ; 131,1 ; 135,0 ; 136,8 ; 151,0 (CH_{arom}) ; 114,6 ; 115,9 ; 122,5 ; 130,5 ; 134,1 ; 140,3 ; 158,3 (C_{arom}) ; 166,5 ; 168,3 ; 169,0 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 ($\text{C}=\text{O}$).

7'-Aza-5'-bromo-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo **46**



46

$\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{BrN}_3\text{O}_{11}$

$M = 672,44$

Une solution d'APTS (12,3 mg ; 0,065 mmol) dans le toluène anhydre (10 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le 7-aza-5-bromooxindole **43** (55,0 mg ; 0,258 mmol ; 1,2 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (103 mg ; 0,216 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à reflux pendant 48h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1 puis cyclohexane/AcOEt/AcOH 50:50:0,01) ce qui permet d'obtenir le composé **46** (80,2 mg ; 0,119 mmol ; R = 55%) sous la forme de cristaux rouges

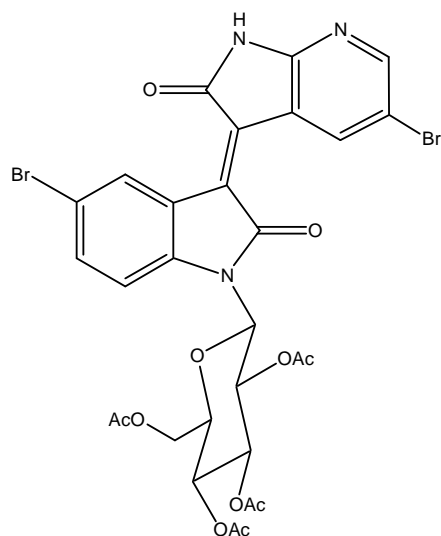
F = 228–230 °C.

Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{29}H_{27}^{79}BrN_3O_{11}$ $[M+H]^+$ 672,0829 ; trouvée 672,0833.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{NH}$ 3600–3300 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=O}$ 1800–1715 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=C}$ 1617 cm^{-1} .

RMN 1H (500 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,10–4,18 (2H, m) ; 4,32–4,38 (1H, m) ; 5,29–5,40 (1H, m) ; 5,52–5,68 (1H, m) ; 5,58 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 6,10–6,20 (1H, m) ; 7,15 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,50 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,53–7,60 (1H, m) ; 8,34 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 9,15 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,40 (1H, se) ; 11,80 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,2 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,2 ; 78,3 (CH) ; 111,8 ; 122,7 ; 129,4 ; 133,8 ; 138,2 ; 150,1 (CH_{arom}) ; 111,9 ; 117,8 ; 120,5 ; 131,2 ; 133,5 ; 141,6 ; 156,5 (C_{arom}) ; 167,1 ; 167,9 ; 168,9 ; 169,3 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

7'-Aza-5,5'-dibromo-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 47**47****C₂₉H₂₅Br₂N₃O₁₁****M = 751,33**

Une solution d'APTS (5,0 mg ; 0,026 mmol) dans le toluène anhydre (5 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le 7-aza-5-bromooxindole **43** (35,0 mg ; 0,164 mmol ; 1,8 équiv.) puis la 5-bromoisatine glycosylée **11** (50 mg ; 0,090 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à reflux pendant 48h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 5:5) ce qui permet d'obtenir le composé **47** (34,6 mg ; 0,046 mmol ; R = 51%) sous la forme de cristaux rouges

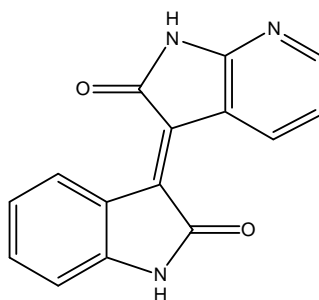
F = 280 °C.

Masse exacte (ES+) calculée pour C₂₉H₂₆⁷⁹Br₂N₃O₁₁ [M+H]⁺ 749,9934 ; trouvée 749,9951.IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3390 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1790–1715 cm⁻¹ ; 1600, 1458, 1368, 1232 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,79 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,03 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,04 (3H, s, CH₃ acétate) ; 4,09–4,17 (2H, m) ; 4,31–4,38 (1H, m) ; 5,29–5,41 (1H, m) ; 5,52–5,65 (2H, m) ; 6,11–6,19 (1H, m) ; 7,58 (1H, de, *J* = 7,5 Hz) ; 7,68 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,37 (1H, d, *J* = 2,0 Hz) ; 9,40 (2H, m) ; 11,86 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,1 ; 67,8 ; 72,3 ; 73,2 ; 78,2 (CH) ; 114,1 ; 131,4 ; 135,5 ; 138,5 ; 150,7 (CH_{arom}) ; 112,0 ; 114,7 ; 117,7 ; 122,3 ; 131,9 ; 132,8 ; 140,5 ; 156,9 (C_{arom}) ; 166,6 ; 168,0 ; 169,0 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 ($\text{C}=\text{O}$).

7'-Azaisoindigo **48**



48

$\text{C}_{15}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2$

$M = 263,25$

Une solution d'isatine commerciale (92 mg ; 0,63 mmol), de 7-azaoxindole **41** (100 mg ; 0,75 mmol) et d'acide chlorhydrique concentré (9,6 μL) dans l'acide acétique (1,6 mL) est chauffée à reflux pendant 24 heures. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1). Le produit obtenu est chauffé à reflux dans le cyclohexane pendant 1h puis filtré à chaud. Le composé **48** (70,5 mg ; 0,268 mmol ; R = 43%) est obtenu sous la forme de cristaux rouges.

F > 260 °C

Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 264,0773 ; trouvée 264,0777.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{C}=\text{O}}$ 1704, 1720 cm^{-1}

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,85 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 7,00 (1H, td, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 7,04 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 5,0$ Hz) ; 7,37 (1H, td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,0$ Hz) ; 8,18

(1H, dd, $J_1 = 5,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 9,08 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,30 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 10,98 (1H, s, NH) ; 11,52 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 109,7 ; 117,6 ; 121,4 ; 129,6 ; 133,3 ; 136,5 ; 149,9 (CH_{arom}) ; 116,2 ; 121,4 ; 131,0 ; 134,7 ; 144,6 ; 157,6 (C_{arom}) ; 168,6 ; 169,0 (C=O).

5-Iodo-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-2(3H)-one **50**



50

$\text{C}_7\text{H}_5\text{IN}_2\text{O}$

$M = 260,03$

Une solution de *trans*- N,N' -diméthyl-1,2-cyclohexanediamine **49** (22 mg ; 0,155 mmol ; 10 mol%) dans le dioxane anhydre (15,8 mL) est préparée dans un tube en verre à vis placé sous argon. Le 7-aza-5-bromooxindole **43** (330 mg ; 1,55 mmol), l'iodure de cuivre (15 mg ; 0,079 mmol ; 5 mol%) et l'iodure de sodium (465 mg ; 3,10 mmol ; 2 équiv.) sont ajoutés et le tube est hermétiquement fermé avant de chauffer le mélange à 110 °C pendant 24h à l'abri de la lumière. Après retour à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué avec une solution d'ammoniaque (10 mL, 28–30%), de l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait au DCM. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée puis évaporée et le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 7:3 puis 5:5) ce qui permet d'obtenir le composé **50** (250 mg ; 0,96 mmol ; R = 62%) sous la forme d'un solide blanc.

F = 70 °C.

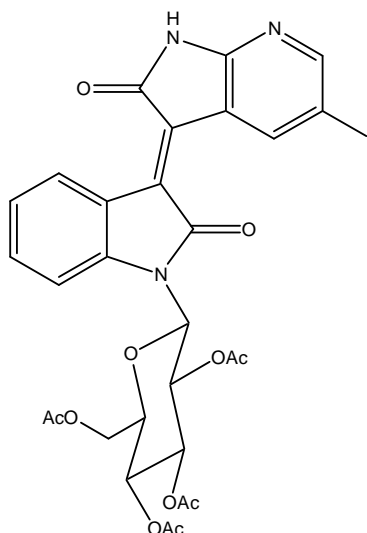
Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_7\text{H}_5\text{IN}_2\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 260,9525 ; trouvée 260,9522.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{C}=\text{O}}$ 1718 cm^{-1} ; 1206 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,55 (2H, s) ; 7,85 (1H, m) ; 8,26 (1H, m) ; 11,10 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 35,2 (CH_2) ; 139,2 ; 151,3 (CH_{arom}) ; 83,8 ; 123,3 ; 157,5 (C_{arom}) ; 175,2 ($\text{C}=\text{O}$).

7'-Aza-5'-iodo-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoinديو 51



51

$\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{IN}_3\text{O}_{11}$

$M = 719,43$

Une solution d'APTS (12,0 mg ; 0,063 mmol) dans le toluène anhydre (10 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le 7-aza-5-iodooxindole **50** (60,0 mg ; 0,231 mmol ; 1,1 équiv.) puis l'isatine glycosylée **10** (100 mg ; 0,209 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à reflux pendant 24h à l'abri de la lumière. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1). Le produit obtenu est repris dans une solution AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré, ce qui permet d'obtenir le composé **51** (91 mg ; 0,127 mmol ; R = 61%) sous la forme de cristaux rouges

F = 220–222 °C.

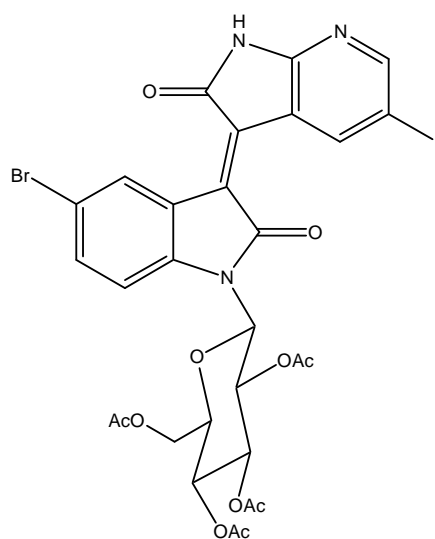
Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{27}\text{IN}_3\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 720,0690 ; trouvée 720,0687.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3450 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1770–1700 cm^{-1} ; 1227 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,10–4,19 (2H, m) ; 4,32–4,38 (1H, m) ; 5,29–5,39 (1H, m) ; 5,58 (1H, t, $J = 9,5$ Hz) ; 5,55–5,71 (1H, se) ; 6,11–6,20 (1H, m) ; 7,14 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,50 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,52–7,58 (1H, se) ; 8,42 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 9,15 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,53 (1H, s) ; 11,73 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,2 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,2 ; 78,2 (CH) ; 112,1 ; 122,7 ; 129,4 ; 133,7 ; 143,4 ; 155,0 (CH_{arom}) ; 83,9 ; 118,4 ; 120,5 ; 131,2 ; 133,2 ; 141,7 ; 156,7 (C_{arom}) ; 167,1 ; 167,7 ; 168,9 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

7'-Aza-5-bromo-5'-iodo-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo 52



52

$\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{BrIN}_3\text{O}_{11}$

$M = 798,33$

Une solution d'APTS (15,4 mg ; 0,081 mmol) dans le toluène anhydre (15 mL) est déshydratée pendant 1h à reflux à l'aide d'un montage Dean-Stark, en présence de quelques grains de tamis moléculaire 4 Å. Le 7-aza-5-iodooxindole **50** (77,0 mg ; 0,296 mmol ; 1,1 équiv.) puis la 5-bromoisatine glycosylée **11** (150 mg ; 0,270 mmol) sont ajoutés et le mélange est agité à reflux pendant 24h à l'abri de la lumière. Après refroidissement, de

l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 1:1). Le produit obtenu est repris dans une solution AcOH/toluène 1:1 puis quelques gouttes d'eau sont ajoutées. Le précipité formé est filtré, ce qui permet d'obtenir le composé **52** (159 mg ; 0,199 mmol ; R = 74%) sous la forme de cristaux rouges

F > 260 °C.

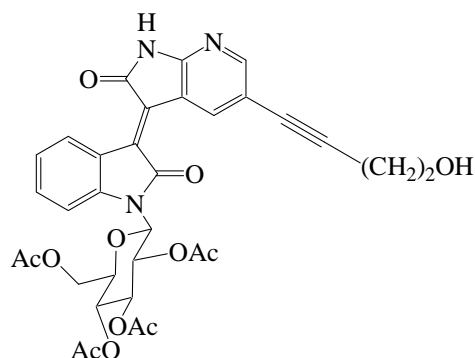
Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{26}^{79}\text{BrIN}_3\text{O}_{11}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 797,9795 ; trouvée 797,9814.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3460 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1780–1710 cm^{-1} ; 1601, 1458, 1365, 1234 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 1,79 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,07–4,18 (2H, m) ; 4,31–4,37 (1H, m) ; 5,30–5,41 (1H, m) ; 5,52–5,64 (2H, m) ; 6,12–6,20 (1H, m) ; 7,58 (1H, de, $J = 8,0$ Hz) ; 7,67 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,45 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 9,39 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 9,54 (1H, s) ; 11,81 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 61,9 (CH_2) ; 67,1 ; 67,8 ; 72,3 ; 73,2 ; 78,2 (CH) ; 114,1 ; 131,3 ; 135,4 ; 143,8 ; 155,6 (CH_{arom}) ; 84,0 ; 114,7 ; 118,2 ; 122,3 ; 131,6 ; 132,8 ; 140,6 ; 157,0 (C_{arom}) ; 166,6 ; 167,8 ; 169,0 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 (C=O).

7'-Aza-5'-(4-hydroxybut-1-ynyl)-1-(2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo **53**



53

C₃₃H₃₁N₃O₁₂

M = 661,61

Un mélange de composé **51** (90 mg ; 0,125 mmol) et de but-3-yn-1-ol (14 μ L ; 0,184 mmol) dans l'acétonitrile (2 mL) en présence de triéthylamine (38 μ L ; 0,273 mmol), d'iodure de cuivre (1,2 mg ; 0,0063 mmol ; 5 mol%) et de Pd(PPh₃)₄ (4,5 mg ; 0,0039 mmol ; 3 mol%) est chauffé à reflux pendant 14h. Après retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 4:6) ce qui permet d'obtenir le composé **53** (20,6 mg ; 0,031 mmol ; R = 25%) sous la forme d'une poudre rouge.

F = 160°C.

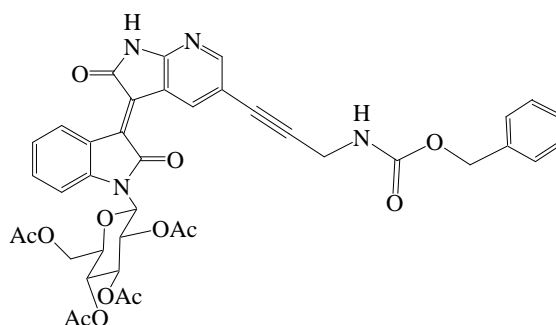
Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₃₃H₃₂N₃O₁₂ [M+H]⁺ 662,1986 ; trouvée 662,1983.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH,OH}}$ 3580–3150 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1770–1695 cm⁻¹ ; $\bar{\nu}_{\text{C=C}}$ 1609 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,78 (3H, s, CH₃ acétate) ; 1,96 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,03 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,05 (3H, s, CH₃ acétate) ; 2,60 (2H, t, *J* = 6,5 Hz) ; 3,61 (2H, dt, *J*₁ = 6,5 Hz, *J*₂ = 5,5 Hz) ; 4,10–4,19 (2H, m) ; 4,32–4,38 (1H, m) ; 4,93 (1H, t, *J* = 5,5 Hz) ; 5,28–5,40 (1H, m) ; 5,57 (1H, t, *J* = 9,5 Hz) ; 5,54–5,73 (1H, se) ; 6,09–6,18 (1H, m) ; 7,14 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) ; 7,50 (1H, t, *J* = 7,5 Hz) ; 7,52–7,59 (1H, m) ; 8,25 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 9,15 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 9,23 (1H, s) ; 11,76 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 23,3 ; 59,7 ; 61,9 (CH_2) ; 67,2 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,2 ; 78,3 (CH) ; 78,1 ; 89,6 (C_{alcyne}) ; 112,2 ; 122,7 ; 129,3 ; 133,5 ; 138,6 ; 152,5 (CH_{arom}) 113,7 ; 115,8 ; 120,5 ; 131,6 ; 133,0 ; 141,4 ; 156,6 (C_{arom}) ; 167,0 ; 168,2 ; 168,9 ; 169,3 ; 169,5 ; 170,0 ($\text{C}=\text{O}$).

7'-Aza-5'-(N-benzyloxycarbonyl-3-aminoprop-1-ynyl)-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranos-1-yl)isoindigo **54**



54

$\text{C}_{40}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_{13}$

$\text{M} = 780,73$

Un mélange de composé **51** (50,0 mg ; 0,069 mmol) et de Cbz-propargylamine **37** (20,0 mg ; 0,106 mmol) dans l'acétonitrile (1 mL) en présence de triéthylamine (20 μL ; 0,143 mmol), d'iodure de cuivre (0,7 mg ; 0,0037 mmol ; 5 mol%) et de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,4 mg ; 0,0021 mmol ; 3 mol%) est chauffé à reflux pendant 16h. Après retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 5:5), ce qui permet d'obtenir le composé **54** (21,2 mg ; 0,027 mmol ; R = 39%) sous la forme d'une poudre rouge.

F = 248–250 $^\circ\text{C}$.

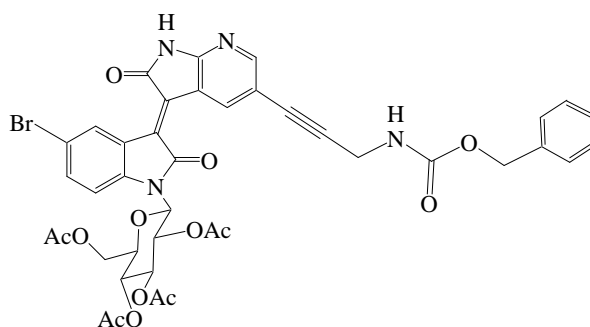
Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{40}\text{H}_{37}\text{N}_4\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 781,2357 ; trouvée 781,2358.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3430 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C}=\text{O}}$ 1780–1690 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{\text{C}=\text{C}}$ 1610 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,77 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,02 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,11 (2H, d, $J = 5,5$ Hz) ; 4,12–4,18 (2H, m) ; 4,31–4,38 (1H, m) ; 5,07 (2H, s) ; 5,28–5,41 (1H, se) ; 5,57 (1H, t, $J = 9,0$ Hz) ; 5,54–5,69 (1H, se) ; 6,09–6,19 (1H, se) ; 7,14 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,30–7,40 (5H, m) ; 7,49 (1H, t, $J = 7,5$ Hz) ; 7,53–7,60 (1H, m) ; 7,88 (1H, t, $J = 5,5$ Hz, NH) ; 8,28 (1H, d, $J = 1,5$ Hz) ; 9,15 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 9,25 (1H, s) ; 11,83 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,3 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 30,6 ; 61,9 ; 65,7 (CH_2) ; 67,2 ; 67,8 ; 72,5 ; 73,2 ; 78,3 (CH) ; 78,9 ; 88,2 (C_{alcyne}) ; 112,1 ; 122,7 ; 127,9 (3C) ; 128,4 (2C) ; 129,3 ; 133,6 ; 138,7 ; 152,6 (CH_{arom}) ; 112,7 ; 115,9 ; 120,5 ; 131,5 ; 133,1 ; 136,9 ; 141,6 ; 157,1 (C_{arom}) ; 156,0 ; 167,0 ; 168,2 ; 168,9 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,1 ($\text{C}=\text{O}$).

7'-Aza-5'-(N-Benzoyloxycarbonyl-3-aminoprop-1-ynyl)-5-bromo-1-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- β -D-glucopyranosyl)isoindigo **55**



55

$\text{C}_{40}\text{H}_{35}\text{BrN}_4\text{O}_{13}$

$M = 859,63$

Un mélange de composé **52** (53,0 mg ; 0,066 mmol) et de Cbz-propargylamine **37** (13,0 mg ; 0,069 mmol) dans l'acétonitrile (1 mL) en présence de triéthylamine (20 μL ; 0,143 mmol), d'iodure de cuivre (0,6 mg ; 0,0032 mmol, 5 mol%) et de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,3 mg ; 0,0020 mmol, 3 mol%) est chauffé à reflux pendant 6 heures. Après retour à température ambiante, de l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO_4 . Après filtration et évaporation du solvant, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 6:4 puis 4:6), ce qui permet d'obtenir le composé **55** (25,5 mg ; 0,030 mmol ; $R = 45\%$) sous la forme d'une poudre rouge.

F = 210–212 °C.

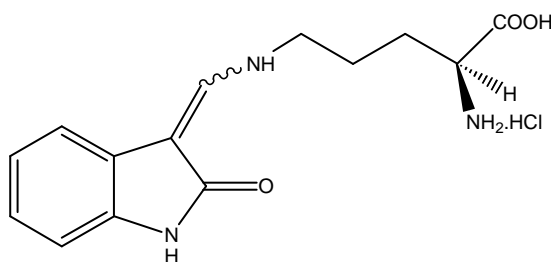
Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{40}H_{36}^{79}BrN_4O_{13}$ $[M+H]^+$ 859,1462 ; trouvée 859,1464.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{NH}$ 3414 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=O}$ 1770–1700 cm^{-1} ; $\bar{\nu}_{C=C}$ 1618 cm^{-1} .

RMN 1H (500 MHz, DMSO- d_6) : 1,78 (3H, s, CH_3 acétate) ; 1,96 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,03 (3H, s, CH_3 acétate) ; 2,05 (3H, s, CH_3 acétate) ; 4,11 (2H, d, $J = 5,5$ Hz) ; 4,09–4,17 (2H, m) ; 4,31–4,37 (1H, m) ; 5,07 (2H, s) ; 5,30–5,42 (1H, se) ; 5,52–5,64 (2H, m) ; 6,10–6,20 (1H, se) ; 7,30–7,40 (5H, m) ; 7,55–7,62 (1H, se) ; 7,67 (1H, de, $J = 7,5$ Hz) ; 7,88 (1H, t, $J = 5,5$ Hz, NH) ; 8,30 (1H, s) ; 9,25 (1H, s) ; 9,39 (1H, d, $J = 1,5$ Hz) ; 11,90 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 20,0 ; 20,2 ; 20,4 ; 20,5 (CH_3) ; 30,6 ; 61,9 ; 65,7 (CH_2) ; 67,1 ; 67,8 ; 72,4 ; 73,3 ; 78,3 (CH) ; 78,8 ; 88,3 (C_{alcyne}) ; 114,1 ; 127,9 (3C) ; 128,4 (2C) ; 131,3 ; 135,4 ; 139,0 ; 153,1 (CH_{arom}) ; 112,9 ; 114,7 ; 115,7 ; 122,3 ; 131,5 ; 133,1 ; 136,9 ; 140,4 ; 157,4 (C_{arom}) ; 156,0 ; 166,6 ; 168,3 ; 169,0 ; 169,4 ; 169,5 ; 170,0 (C=O).

Chlorhydrate d'acide (Z/E)-(2S)-2-amino-5-[(2-oxoindolin-3-ylidène)méthyl]amino) pentanoïque 60



60

$C_{14}H_{17}N_3O_3.HCl$

M = 311,77

A une suspension de (Z/E)-3-(N,N-diméthylaminométhylène)indolin-2-one **56** (156 mg ; 0,83 mmol) dans l'éthanol (3 mL) sont ajoutés de l'acide chlorhydrique concentré 37% (69 μL ; 0,83 mmol ; 1 équiv.) puis la N-(α)-Boc-L-ornithine **58** (231 mg ; 0,995 mmol ; 1,2 équiv.). Le mélange est agité à 50 °C pendant 48 heures. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (gradient d'éluion : acétate d'éthyle puis acétate

d'éthyle/méthanol 98:2 à 8:2) ce qui permet d'obtenir le produit de couplage. Celui-ci est repris dans le dichlorométhane anhydre (3,0 mL) puis le mélange est agité à température ambiante pendant 1h30 en milieu acide en faisant buller HCl (généralisé à l'aide d'un mélange H₂SO₄/NaCl). Le solvant est évaporé à l'aide d'un flux d'argon puis le produit est précipité dans un minimum d'éther ce qui permet d'obtenir après élimination du surnageant le composé **60** (74,1 mg ; 0,238 mmol ; R = 29% sur les deux étapes) sous forme d'une poudre grise.

Masse exacte (ES⁻) calculée pour C₁₄H₁₆N₃O₃ [M-H]⁻ 274,1192 ; trouvée 274,1192.

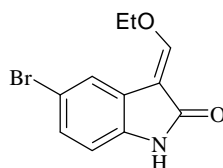
IR (KBr) : 3420, 1740, 1665, 1620 cm⁻¹.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C de l'isomère Z majoritaire (rapport Z/E 1:0,54) :

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,59–1,92 (4H, m, CH₂) ; 3,31–3,42 (2H, m, CH₂) ; 3,83–3,91 (1H, m, C_αH) ; 6,73–6,89 (3H, m) ; 7,27 (1H, d, *J* = 7,0 Hz) ; 7,93 (1H, d, *J* = 13,0 Hz, CH_{vinyle}) ; 8,35–8,69 (3H, se, NH₃Cl) ; 8,70–8,79 (1H, m, NH) ; 10,20 (1H, s, NH_{indole}). Le proton de la fonction acide carboxylique n'est pas visible sur le spectre.

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 26,4 ; 27,0 ; 47,5 (CH₂) ; 51,6 (C_αH) ; 108,6 ; 115,0 ; 119,7 ; 122,0 ; 147,8 (CH) ; 94,5 ; 125,3 ; 135,6 (C) ; 169,5 ; 170,8 (C=O).

(*E*)-5-bromo-3-éthoxyméthylèneindolin-2-one **61**



61

C₁₁H₁₀BrNO₂

M = 268,11

Une suspension de 5-bromooxindole (1,05 g ; 4,95 mmol) dans l'acide acétique (20 mL) est chauffée jusqu'à dissolution complète et le triéthylorthoformate (8,5 mL ; 51,1 mmol) est ajouté à cette température. Le mélange est agité à reflux pendant 5h. Le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est co-évaporé deux fois à l'aide de toluène. Le résidu

obtenu est dissous dans le toluène chaud (20 mL), du cyclohexane (400 mL) est ajouté puis le produit est laissé précipiter pendant 12h. Le précipité est collecté par filtration ce qui permet d'obtenir le composé **61** (997 mg ; 3,72 mmol ; R = 75%) sous la forme d'un solide jaune.

F = 180–182 °C.

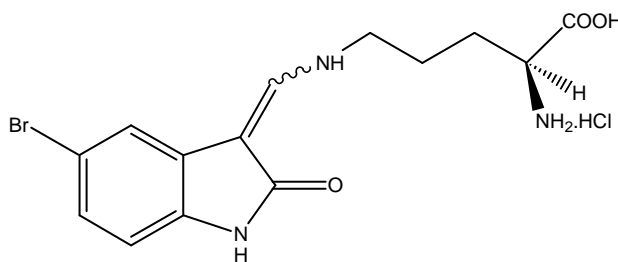
Masse exacte (ES+) calculée pour $C_{11}H_{11}^{79}BrNO_2 (M+H)^+$ 267,9973 ; trouvée 267,9967.

IR (KBr) : 3440, 1700, 1680, 1650, 1625 cm^{-1} .

RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 1,37 (3H, t, $J = 7,0$ Hz) ; 4,40 (2H, q, $J = 7,0$ Hz) ; 6,77 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,27 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,52 (1H, d, $J = 2,0$ Hz) ; 7,74 (1H, s) ; 10,36 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 15,4 (CH₃) ; 72,1 (CH₂) ; 110,8 ; 124,2 ; 129,1 ; 158,3 (CH) ; 106,2 ; 112,5 ; 138,4 (C) ; 168,9 (C=O).

Chlorhydrate d'acide (Z/E)-(2S)-2-amino-5-([(5-bromo-2-oxo-indolin-3-ylidène)méthyl]amino)pentanoïque **62**



62

$C_{14}H_{16}BrN_3O_3.HCl$

M = 390,66

A une suspension de (*E*)-5-bromo-3-éthoxyméthylèneindolin-2-one **61** (500 mg ; 1,86 mmol ; 1,6 équiv.) dans le dichlorométhane (10 mL) est ajoutée la *N*-(α)-Boc-L-ornithine **58** (269 mg ; 1,16 mmol). Le mélange est agité à reflux pendant une nuit. Le solvant est évaporé puis le résidu est repris dans un mélange CH_2Cl_2 /cyclohexane 1:1 puis quelques gouttes d'éther sont ajoutées. Le précipité formé est filtré, ce qui permet d'obtenir le produit de couplage (415

mg) sous la forme d'un solide jaune-orangé. Le produit obtenu (227 mg) est repris dans le dichlorométhane anhydre (8 mL) puis le mélange est agité à température ambiante pendant 1h30 en milieu acide en faisant buller HCl (généralisé à l'aide d'un mélange H₂SO₄/NaCl). Le solvant est évaporé à l'aide d'un flux d'argon puis le produit est précipité dans un minimum d'éther ce qui permet d'obtenir après élimination du surnageant le composé **62** (168 mg ; 0,43 mmol ; R = 68% sur les deux étapes) sous forme d'un solide jaune-orangé.

Masse exacte (ES⁻) calculée pour C₁₄H₁₅⁷⁹BrN₃O₃ [M-H]⁻ 352,0297 ; trouvée 352,0307.

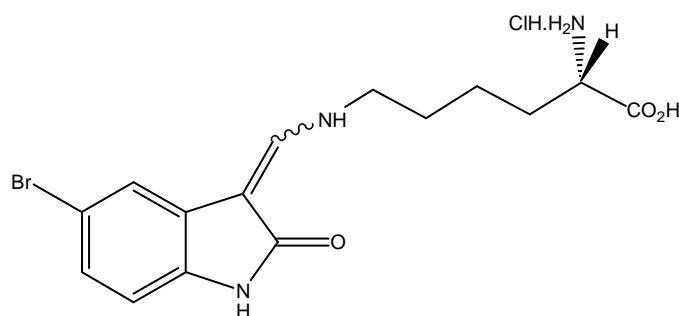
IR (KBr) : 3600–3000, 1737, 1654 cm⁻¹.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C de l'isomère Z majoritaire (rapport Z/E 1:0,52) :

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,59–1,91 (4H, m, CH₂) ; 3,33–3,44 (2H, m, CH₂) ; 3,89–3,98 (1H, m, C_αH) ; 6,73 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 7,00 (1H, dd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz) ; 7,48 (1H, d, *J* = 1,5 Hz) ; 8,06 (1H, d, *J* = 13,5 Hz, CH_{vinyle}) ; 8,38–8,53 (3H, se, NH₃Cl) ; 8,82–8,92 (1H, m, NH) ; 10,32 (1H, s, NH_{indole}). Le proton de la fonction acide carboxylique n'est pas visible sur le spectre.

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 26,2 ; 26,9 ; 47,7 (CH₂) ; 51,5 (CH) ; 110,3 ; 117,5 ; 124,0 ; 149,1 (CH) ; 93,7 ; 112,0 ; 127,9 ; 134,5 (C) ; 169,2 ; 170,9 (C=O).

Chlorhydrate d'acide (Z/E)-(2S)-2-amino-6-[(5-bromo-2-oxo-indolin-3-ylidène)méthyl]amino)hexanoïque 63



63

C₁₅H₁₈BrN₃O₃.HCl

M = 404,69

A un mélange de (Z/E)-5-bromo-3-diméthylaminométhylèneindolin-2-one **64** (57 mg ; 0,21 mmol) dans l'éthanol (2 mL) sont ajoutés de l'acide chlorhydrique concentré 37% (18 µL ; 0,21 mmol ; 1 équiv.) puis la *N*-(α)-Boc-L-lysine (64 mg ; 0,26 mmol ; 1,2 équiv.). Le mélange est agité à reflux pendant 48 heures. Le solvant est évaporé et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (acétate d'éthyle/méthanol 9:1). Le résidu obtenu est dissous dans l'acétate d'éthyle et le produit de couplage est précipité avec du cyclohexane, filtré puis lavé au dichlorométhane. Le solide obtenu est repris au diéthyléther (3 mL) puis le mélange est agité à température ambiante pendant 1h30 en milieu acide en faisant buller HCl (généralisé à l'aide d'un mélange H₂SO₄/NaCl). Le précipité est collecté par filtration sous argon, lavé au dichlorométhane ce qui permet d'obtenir le composé **63** (33 mg ; 0,082 mmol ; R = 38%) sous la forme d'un solide noir.

Masse exacte (ES+) calculée pour C₁₅H₁₉⁷⁹BrN₃O₃ [M+H]⁺ 368,0610 ; trouvée 368,0607.

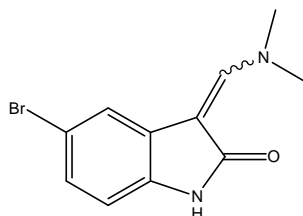
IR (KBr) : 3410, 1735, 1665, 1615 cm⁻¹.

Spectres de RMN ¹H et ¹³C de l'isomère Z majoritaire (rapport Z/E 1:0,46) :

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,30–1,52 (2H, m, CH₂) ; 1,53–1,67 (2H, m, CH₂) ; 1,77–1,89 (2H, m, CH₂) ; 3,84–3,93 (1H, m, C_αH) ; 6,72 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 6,99 (1H, d, *J* = 7,5 Hz) ; 7,48 (1H, s), 8,04 (1H, d, *J* = 13,5 Hz) ; 8,19–8,50 (3H, se, NH₃Cl) ; 8,82–8,93 (1H, m) ; 10,24–10,34 (1H, se, NH). Le signal du C_εH₂ se situe sous le signal de l'eau (3,00–3,70 ppm).

RMN ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6) : 21,2 ; 29,4 ; 29,9 ; 47,9 (CH_2) ; 51,7 (C_αH) ; 110,1 ; 117,3 ; 123,7 ; 149,0 (CH) ; 93,4 ; 111,8 ; 127,8 ; 134,3 (C) ; 169,1 ; 170,8 ($\text{C}=\text{O}$).

(Z/E)-5-bromo-3-(N,N-diméthylaminométhylène)indolin-2-one 64



64

$\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}$

$M = 267,13$

Du DMF-DMA (2,66 mL ; 20,0 mmol) est ajouté à une solution de 5-bromooxindole **13** (2,12 g ; 10,0 mmol) dans le toluène (40 mL). Le mélange est agité pendant 48h puis le précipité formé est collecté par filtration sur verre fritté et lavé au dichlorométhane ce qui permet d'obtenir le composé **64** (1,91 g ; 7,2 mmol ; R = 72%) sous la forme d'un solide beige.

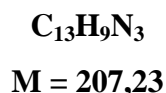
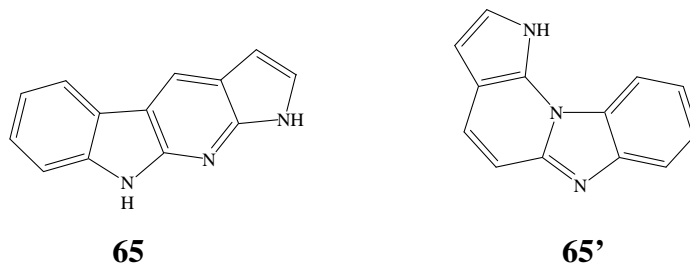
Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_{12}^{79}\text{BrN}_2\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 267,0133 ; trouvée 267,0132.

IR (KBr) : 3445, 1675, 1615, 1590 cm^{-1} .

Spectres de RMN ^1H et ^{13}C de l'isomère Z majoritaire (rapport Z/E 1:0,37) :

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 3,23–3,31 (3H, se) ; 3,61–3,69 (3H, se) ; 6,62 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 6,95 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 2,0$ Hz) ; 7,48 (1H, d, $J = 1,5$ Hz) ; 7,67 (1H, s) ; 10,07 (1H, s).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 42,3 ; 46,5 (CH_3) ; 109,3 ; 116,8 ; 123,5 ; 149,0 (CH) ; 92,1 ; 111,7 ; 131,4 ; 134,5 (C) ; 165,6 ($\text{C}=\text{O}$).

1,9-dihydropyrrolo[3',2':5,6]pyrido[2,3-*b*]indole 65**Et 1*H*-pyrrolo[3',2':5,6]pyrido[1,2-*a*]benzimidazole 65'**

Le composé **84** (43,7 mg ; 0,186 mmol) est chauffé à 300 °C sous argon pendant 1 heure. Après retour à température ambiante, le brut réactionnel est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 7:3 puis 5:5) ce qui permet d'isoler l'isomère **65** (5,3 mg ; 0,026 mmol ; R = 14%) sous la forme d'une gomme jaune et l'isomère **65'** (14,5 mg ; 0,070 mmol ; R = 38%) sous la forme d'une gomme orange foncée.

Isomère 65 :

Masse exacte (ES+) calculée pour C₁₃H₁₀N₃ [M+H]⁺ 208,0875 ; trouvée 208,0892.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3420 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 6,52 (1H, dd, *J*₁ = 3,5 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz) ; 7,14 (1H, ddd, *J*₁ = 7,5 Hz, *J*₂ = 7,0 Hz, *J*₃ = 1,0 Hz) ; 7,31 (1H, dd, *J*₁ = 3,5 Hz, *J*₂ = 2,5 Hz) ; 7,33 (1H, ddd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 7,0 Hz, *J*₃ = 1,0 Hz) ; 7,40 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,09 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,61 (1H, s) ; 11,28–11,30 (1H, se, NH) ; 11,34–11,38 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (125 MHz, DMSO-*d*₆) : 100,1 ; 110,4 ; 118,5 ; 119,7 ; 120,3 ; 123,3 ; 124,8 (CH_{arom}) ; 110,8 ; 114,6 ; 121,5 ; 138,7 ; 147,5 ; 149,8 (C_{arom}).

Isomère 65' :

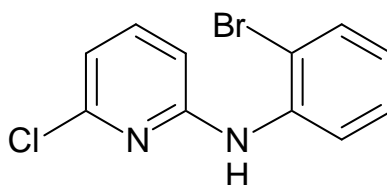
Masse exacte (ES+) calculée pour C₁₃H₁₀N₃ [M+H]⁺ 208,0875 ; trouvée 208,0878.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3420 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,67 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) ; 7,24 (1H, d, $J = 3,0$ Hz) ; 7,28 (1H, d, $J = 9,5$ Hz) ; 7,42 (1H, ddd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz, $J_3 = 1,0$ Hz) ; 7,51 (1H, ddd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz, $J_3 = 1,0$ Hz) ; 7,84 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,88 (1H, d, $J = 9,5$ Hz) ; 8,73 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 12,40–12,48 (1H, se, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 103,7 ; 107,7 ; 112,5 ; 118,5 ; 118,6 ; 120,2 ; 124,3 ; 127,0 (CH_{arom}) ; 109,6 ; 126,7 ; 128,9 ; 143,5 ; 147,8 (C_{arom}).

***N*-(2-Bromophényl)-6-chloro-pyridin-2-amine 66**



66

$\text{C}_{11}\text{H}_8\text{BrClN}_2$

$M = 283,55$

Dans un tube à vis, le Cs_2CO_3 (739 mg ; 2,27 mmol) est placé sous argon pendant 10 min avant l'addition du BINAP (30,2 mg ; 0,049 mmol), du $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (14,9 mg ; 0,0163 mmol) et du toluène anhydre (5 mL). Après 20 min d'agitation à température ambiante sous Argon, sont ajoutés successivement le 1-bromo-2-iodobenzène (1,18 mL ; 9,2 mmol) puis la 2-amino-6-chloropyridine (250 mg ; 1,94 mmol). Le tube est fermé hermétiquement et le mélange réactionnel est chauffé à 100 °C pendant 72h. Après retour à température ambiante et évaporation du solvant le brut réactionnel est repris dans l'acétate d'éthyle, filtré sur Célite, lavé à l'acétate d'éthyle, puis purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/toluène 8:2 puis cyclohexane/toluène/acétate d'éthyle 8:1:1) ce qui permet d'isoler le composé **66** (382 mg ; 1,35 mmol ; $R = 69\%$) sous forme de cristaux jaunes.

F = 35 °C

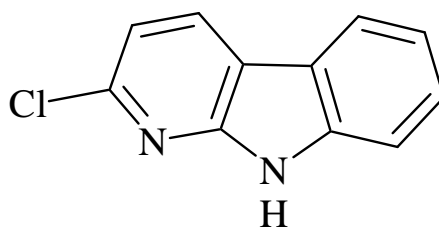
Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_9^{79}\text{Br}^{35}\text{ClN}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 282,9638 ; trouvée 282,9647.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3200 cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 6,74 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 6,78 (1H, d, $J = 7,5$ Hz) ; 7,08 (1H, td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,38 (1H, td, $J_1 = 7,5$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz) ; 7,57 (1H, t, $J = 8,0$ Hz) ; 7,65–7,69 (2H, m) ; 8,72 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 108,1 ; 113,4 ; 125,7 ; 128,2 ; 132,9 ; 140,5 (CH_{arom}) ; 117,9 ; 138,0 ; 148,0 ; 156,2 (C_{arom}).

2-Chloro-9H-pyrido[2,3-b]indole **67**



67

$\text{C}_{11}\text{H}_7\text{ClN}_2$

$M = 202,64$

Dans un tube en verre à vis fermé hermétiquement, un mélange de composé **66** (50 mg ; 0,176 mmol), de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (4,5 mg ; 0,020 mmol), de DABCO (4,5 mg ; 0,040 mmol) et de K_2CO_3 (48,6 mg ; 0,352 mmol) dans le DMF anhydre (1,1 mL) est chauffé à 100 °C pendant 36h. Après retour à température ambiante et évaporation du solvant, le résidu est repris dans l'acétate d'éthyle, filtré sur Célite, lavé à l'acétate d'éthyle, puis purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 9:1) ce qui permet d'isoler le composé **67** (10 mg ; 0,049 mmol ; R = 28%) sous la forme d'une poudre jaune pâle.

$F^{116\text{bis}} = 271\text{--}273$ °C.

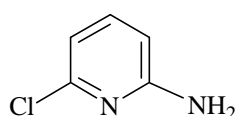
Masse exacte (ES+) calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_8^{35}\text{ClN}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 203,0376 ; trouvée 203,0380.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3170 cm^{-1}

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) : 7,26 (1H, ddd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz, $J_3 = 1,5$ Hz) ; 7,26 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 7,48 (1H, ddd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 7,0$ Hz, $J_3 = 1,0$ Hz) ; 7,53 (1H, ddd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz, $J_3 = 1,0$ Hz) ; 8,17 (1H, d, $J = 8,0$ Hz) ; 8,55 (1H, dd, $J_1 = 8,0$ Hz, $J_2 = 0,5$ Hz) ; 12,03 (1H, s, NH).

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) : 111,6 ; 114,5 ; 120,1 ; 121,3 ; 126,9 ; 131,4 (CH_{arom}) ; 114,2 ; 119,9 ; 138,8 ; 146,2 ; 151,0 (C_{arom}).

2-amino-6-chloropyridine 68

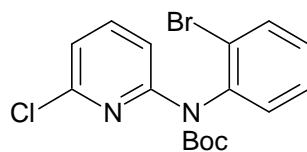


68

$\text{C}_5\text{H}_5\text{ClN}_2$
 $M = 128,56$

La 2,6-dichloropyridine (500,0 mg ; 3,402 mmol) est mise en suspension dans une solution aqueuse d'ammoniaque à 35% (20 mL) est chauffé, dans une bombe métallique, à 180 °C pendant 18 h. Après refroidissement, de l'acétate d'éthyle est ajouté puis le mélange est lavé à l'eau et séché sur MgSO_4 . Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie sur gel silice flash (cyclohexane/AcOEt 4:6 puis 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé 68 (304,6 mg ; 2,369 mmol ; $R = 70\%$) sous la forme de poudre blanche.

Les données spectrales sont décrites dans la littérature.⁸⁵

N*-(2-Bromophényl)-*N*-*tert*-butoxycarbonyl-6-chloropyridin-2-amine 69****69*C₁₆H₁₆BrClN₂O₂****M = 383,67**

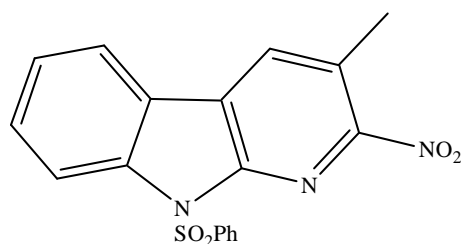
A une suspension de composé **66** (313 mg ; 1,10 mmol) dans le THF anhydre (13 mL) sont ajoutés successivement le DMAP (202 mg ; 1,65 mmol ; 1,5 équiv.) et le Boc₂O (376 µL ; 1,64 mmol ; 1,5 équiv.). Le mélange est agité à température ambiante pendant 3h puis le solvant est évaporé. Le brut réactionnel est repris à l'acétate d'éthyle puis acidifié avec une solution aqueuse pH 4 de HCl. Le mélange est extrait 3 fois à l'acétate d'éthyle puis les phases organiques rassemblées sont lavées avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃, séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées, ce qui permet d'obtenir le composé **69** (408 mg ; 1,06 mmol ; R = 97%) sous la forme d'une huile jaune.

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₆H₁₆⁷⁹Br³⁵ClN₂NaO₂ [M+Na]⁺ 404,9981 ; trouvée 404,9985.

IR (NaCl) : $\bar{\nu}_{\text{C=O}}$ 1723 cm⁻¹ ; 1578 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 1,36 (9H, s) ; 7,23 (1H, dd, *J*₁ = 7,5 Hz, *J*₂ = 0,5 Hz) ; 7,31 (1H, ddd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 7,0 Hz, *J*₃ = 2,0 Hz) ; 7,39 (1H, dd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 2,0 Hz) ; 7,45 (1H, ddd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 7,0 Hz, *J*₃ = 1,5 Hz) ; 7,72 (1H, dd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 1,5 Hz) ; 7,80 (1H, dd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 0,5 Hz) ; 7,89 (1H, t, *J* = 8,0 Hz) .

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 27,6 (CH₃) ; 116,7 ; 119,9 ; 128,6 ; 129,6 ; 131,4 ; 132,8 ; 141,1 (CH_{arom}) ; 82,0 ; 123,5 ; 139,3 ; 147,6 ; 153,4 (C_{arom}) ; 151,7 (C=O).

3-Méthyl-2-nitro-9-phénylsulfonyl-9H-pyrido[2,3-*b*]indole 78**78****C₁₈H₁₃N₃O₄S****M = 367,38**

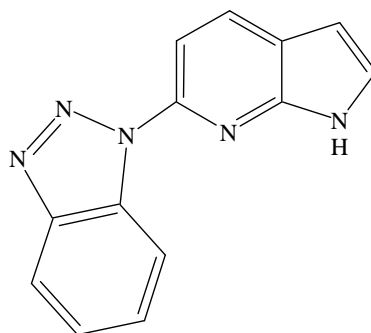
A une solution 3-méthyl-2-nitro-9H-pyrido[2,3-*b*]indole **77** (20 mg ; 0,088 mmol) dans le toluène anhydre est ajouté le HSO₄N(n-Bu)₄ (15 mg ; 0,044 mmol) puis le NaOH en poudre (11 mg ; 0,275 mmol). Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est refroidi à 0 °C puis le PhSO₂Cl (17 µL ; 0,133 mmol) est ajouté puis la solution est chauffée à 60 °C pendant 4h. De l'eau est ajoutée puis le mélange est extrait à l'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée, évaporée puis le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3) ce qui permet d'obtenir le composé **78** (25,7 mg ; 0,070 mmol ; R = 79%) sous la forme d'un solide jaune.

F = 95–97 °C

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₈H₁₃NaN₃O₄S [M+Na]⁺ 390,0524 ; trouvée 390,0518.IR (KBr) : 1543, 1449, 1374 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 2,58 (1H, s, CH₃) ; 7,54–7,62 (3H, m) ; 7,68–7,73 (1H, m) ; 7,77 (1H, ddd, *J*₁ = 8,5 Hz, *J*₂ = 7,5 Hz, *J*₃ = 1,0 Hz) ; 8,12–8,15 (2H, m) ; 8,28 (1H, d, *J* = 8,0 Hz) ; 8,40 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,84 (1H, s).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 18,0 (CH₃) ; 114,5 ; 122,7 ; 124,8 ; 127,3 (2C) ; 129,7 (2C) ; 130,4 ; 135,2 ; 135,4 (CH_{arom}) ; 121,0 ; 122,3 ; 122,9 ; 137,0 ; 138,7 ; 145,5 ; 153,6 (C_{arom}).

1-(1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-6-yl)-1H-benzotriazole 84**84****C₁₃H₉N₅****M = 235,24**

Un mélange de 7-aza-6-chloroindole (500 mg ; 3,28 mmol) et de benzotriazole (390 mg ; 3,27 mmol) est irradié sous micro-ondes (200 °C ; 300 W) dans un tube fermé (CEM, 10 mL) pendant 4 heures. Après retour à température ambiante, le mélange est repris à l'AcOEt puis lavé avec une solution aqueuse saturée de K₂CO₃. La phase organique est séchée sur MgSO₄ puis le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice flash (cyclohexane/AcOEt 9:1 puis 8:2) ce qui permet d'isoler le composé **84** (108 mg ; 0,46 mmol ; R = 14%) sous la forme d'un solide jaune.

F = 140 °C.

Masse exacte (ES⁺) calculée pour C₁₃H₁₀N₅ [M+H]⁺ 236,0936 ; trouvée 236,0945.

IR (KBr) : $\bar{\nu}_{\text{NH}}$ 3220 cm⁻¹.

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) : 6,62 (1H, d, *J* = 3,5 Hz) ; 7,56 (1H, ddd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 7,0 Hz, *J*₃ = 1,0 Hz) ; 7,62 (1H, d, *J* = 3,5 Hz) ; 7,74 (1H, ddd, *J*₁ = 8,0 Hz, *J*₂ = 7,0 Hz, *J*₃ = 1,0 Hz) ; 7,94 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,20 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,29 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 8,69 (1H, d, *J* = 8,5 Hz) ; 12,01–12,08 (1H, se, NH).

RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) : 100,7 ; 106,5 ; 114,3 ; 119,6 ; 125,1 ; 127,3 ; 128,8 ; 131,4 (CH_{arom}) ; 119,1 ; 131,0 ; 145,0 ; 146,0 ; 146,1 (C_{arom}).

Résumé

Au cours des dernières décennies, de nombreux composés à activité anti-tumorale agissant sur des cibles thérapeutiques variées ont été préparés. Parmi ceux-ci, les inhibiteurs de kinases ont démontré leurs activités et ont abouti à la mise sur le marché de nouveaux médicaments utilisés en oncologie. Ainsi, nous nous sommes intéressés à la préparation de nouveaux inhibiteurs de kinases compétitifs de l'ATP à motif indolin-2-one.

Dans la première partie bibliographique, les trois grandes familles de kinases ainsi que leur régulation et leur implication dans divers processus cellulaires sont décrites. Ensuite, les principales familles d'inhibiteurs à motif indolin-2-one décrites dans la littérature sont détaillées. Enfin, une description des différentes familles d'inhibiteurs à motif indolin-2-one précédemment préparés au laboratoire ainsi que leur activité biologique est présentée.

En tenant compte de ces résultats, la deuxième partie détaille l'étude de relation structure-activité qui a été poursuivie et a permis la préparation de quatre familles de composés : des isoindigos glycosylés acétylés, des 7'-azaisoindigos glycosylés acétylés, des indolin-2-ones substituées en position 3 par des chaînes latérales fonctionnalisées par un groupement α -amino-acides et un nouvel hétérocycle de type pyrrolo- α -carboline.

Dans la dernière partie, les activités antiprolifératives sur différentes lignées cellulaires cancéreuses des composés préparés dans le cadre de ce travail, ainsi que leur activité inhibitrice sur diverses kinases sont présentées.

Abstract

Recently, kinase inhibitors have demonstrated their activities in antitumor therapy and some of them are currently on the market. Thus, we are interested in the preparation of ATP competitive kinase inhibitors with indoline-2-one moieties.

In the first part, three major kinase families and their involvement in various cellular processes are described. Then, the main families of inhibitors with indolin-2-one moieties are detailed. Finally, a description of the different families of inhibitors previously prepared in the laboratory as well as their biological activity is presented.

Taking into account the biological results previously obtained, a structure-activity relationship study was pursued on four different families of compounds : acetylated glycosyl-isoindigos, acetylated glycosyl-7'-azaisoindigos, indolin-2-one substituted in the 3-position by a side-chain containing an α -amino acid group and tetracyclic pyrrolo- α -carboline. The synthesis of these compounds is presented in the second part.

Finally, the antiproliferative activities of the compounds prepared in this work have been determined on different cancer cell lines as well as their inhibitory activity on various kinases. These results are presented in the last part.