



HAL
open science

**CONCEPTION, SYNTHÈSE ET ÉVALUATION
PHARMACOLOGIQUE DE γ -CARBOLINES,
INHIBITEURS POTENTIELS DE 5-LIPOXYGENASE
ET DE CYCLOOXYGENASES.**

Alexandre Bridoux

► **To cite this version:**

Alexandre Bridoux. CONCEPTION, SYNTHÈSE ET ÉVALUATION PHARMACOLOGIQUE DE γ -CARBOLINES, INHIBITEURS POTENTIELS DE 5-LIPOXYGENASE ET DE CYCLOOXYGENASES.. Médicaments. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2005. Français. NNT: . tel-00068299

HAL Id: tel-00068299

<https://theses.hal.science/tel-00068299>

Submitted on 11 May 2006

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.

UNIVERSITE DE LILLE 2 – DROIT & SANTE
INSTITUT DE CHIMIE PHARMACEUTIQUE ALBERT LESPAGNOL

N° d'ordre

Thèse présentée pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 2

Discipline : Chimie Organique

Spécialité : Pharmacochimie

par

Alexandre BRIDOUX

Le 4 Novembre 2005

Conception, Synthèse et Evaluation pharmacologique de γ -carboline,

Inhibiteurs potentiels de 5-lipoxygénase et de cyclooxygénases

JURY :	Pr. J.-P. HENICHART	Directeur de thèse
	Dr. M. NEUWELS	Rapporteur
	Pr. B. PIROTTE	Rapporteur
	Dr. N. POMMERY	Examineur
	Dr. R. HOUSSIN	Examineur

Je dédie cette thèse :

A ma mère, qui se bat chaque jour contre la maladie

A mon père, pour son soutien moral et financier

A mon frère, pour son aide malgré la distance qui nous sépare.

A Monsieur le Professeur *Jonathan L. SESSLER*, Monsieur le Docteur *Hidekazu MIYAJI*, Mme le Docteur *Martine PERREE-FAUVET* et Madame le Docteur *Catherine BEAUR*, que je n'ai pas oubliés.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à Monsieur le Professeur Jean-Pierre HENICHART, Directeur de l'EA2692, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour m'avoir confié le sujet de cette thèse et pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider ce jury.

Je suis reconnaissant et je remercie également Monsieur Michel NEUWELS, Directeur du Département de Chimie du Soins, L'OREAL Paris et Monsieur le Professeur Bernard PIROTTE, Professeur à l'Université de Liège, pour avoir accordé le temps nécessaire à l'examen de cette thèse et d'en être les rapporteurs.

Je remercie Madame Nicole POMMERY, Maître de Conférences à l'Université de Lille 2. Je vous suis gré de l'intérêt que vous avez porté à ce travail et vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je remercie également Monsieur Raymond HOUSSIN, Maître de Conférences à l'Université de Lille 2, pour ses idées qui ont aidé à l'avancement de la thèse et pour avoir montré de l'intérêt pour ce travail. Je vous remercie de faire partie de ce jury.

J'exprime également mes remerciements à Mademoiselle Amélie LEMOINE, Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol, pour l'aide apportée lors de l'étude des propriétés biologiques des composés synthétisés ; à Monsieur Jean POMMERY, Maître de Conférences à l'Université de Lille 2, pour les études d'inhibition de la 5-lipoxygénase et des cyclooxygénases et à Monsieur Amory FARCE, Université de Lille 2, pour les études de modélisation moléculaire.

Je suis reconnaissant envers Madame Laurence GOOSSENS, Maître de Conférences à l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol, pour sa patience et pour les conseils qu'elle m'a donnés tout au long de mes recherches.

Je remercie également Monsieur le Professeur Patrick DEPREUX, Directeur de l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol, pour son accueil qui m'a permis de finaliser cette thèse.

Je remercie les membres des laboratoires de l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol, de Chimie Thérapeutique, de Chimie Organique, de Chimie Analytique, d'Application de Résonance Magnétique Nucléaire et de Toxicologie de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille 2 ainsi que le personnel technique de l'Université de Lille 2 et de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille 2 pour avoir contribué de près ou de loin à la concrétisation et à l'aboutissement de cette thèse. Je vous remercie tous chaleureusement de la rapidité de votre aide.

ABREVIATIONS	8
PREFACE	11
INTRODUCTION	12
<i>Incidence, genèse et chimiothérapie actuelle du cancer de la prostate</i>	13
I. <u>L'adénocarcinome de la prostate</u>	13
II. <u>L'hormonothérapie</u>	14
III. <u>La chimiothérapie</u>	14
<i>La cascade de l'acide arachidonique</i>	16
I. <u>La biochimie des enzymes 5-LO et COXs : leurs expressions et localisations intracellulaires</u>	16
1. La 5-lipoxygénase.....	16
2. Les cyclooxygénases.....	17
II. <u>Le métabolisme de l'acide arachidonique</u>	19
1. L'activité catalytique de la 5-LO.....	19
2. Les activités catalytiques des COXs.....	22
III. <u>Les récepteurs et fonctions des prostanoïdes</u>	26
<i>La surexpression des enzymes dans les cellules cancéreuses</i>	27
I. <u>La surexpression de la 5-lipoxygénase</u>	27
1. La 5-LO est surexprimée dans les cellules cancéreuses et les tumeurs humaines.....	27
2. La surexpression de la 5-LO facilite la progression du cancer.....	28
3. La surexpression de la 5-LO facilite la néo-angiogenèse.....	28
4. Les autres lipoxygénases sont également impliquées.....	28
II. <u>La surexpression de la cyclooxygénase-2</u>	29
1. Des quantités élevées de PGs ont été trouvées dans les tumeurs.....	29
2. La surexpression de COX ₂ engendre la carcinogenèse ; l'inhibition de COX ₂ est antinéoplasique.....	30
3. La surexpression de COX ₂ induit la néo-angiogenèse.....	32
<i>Les voies convergentes de 5-LO et COX₂</i>	34
CONCEPTION	37
<i>Les inhibiteurs de la 5-LO et des COXs</i>	38
I. <u>Les inhibiteurs de la 5-LO</u>	38
1. Les inhibiteurs redox.....	38
2. Les inhibiteurs chélateurs de fer.....	39
3. Les inhibiteurs non-redox.....	41
II. <u>Les inhibiteurs des COXs</u>	44
1. Les AINS de première génération.....	44
2. La structure des deux isoformes COXs.....	47
3. Les AINS de seconde génération : les C ₂ Is.....	51

<i>Conception des nouveaux inhibiteurs mixtes</i>	56
I. <u>Le motif de base est une tétrahydro-γ-carboline</u>	56
II. <u>Des pharmacomodulations sont apportées au motif de base</u>	59
III. <u>La représentation de l'interaction avec l'enzyme</u>	60
STRATEGIE DE SYNTHÈSE	63
I. <u>Synthèse du méthoxytétrahydropyranne (MTHP)</u>	65
1. Analyse rétrosynthétique.....	65
2. Schéma de synthèse.....	66
3. Discussion.....	66
a. Substitution nucléophile aromatique.....	66
b. Transmétallation.....	67
c. Méthylation.....	67
d. Débenzylation.....	67
II. <u>Synthèse des tétrahydro-γ-carbolines</u>	68
1. Synthèse selon Fischer.....	68
a. Réactivité des composés substitués par un groupe donneur.....	70
b. Réactivité des composés non substitués sur l'homocycle.....	71
c. Réactivité des composés substitués par un groupe électroattracteur.....	71
2. Oxydation d'un thioéther en sulfone.....	73
3. Essai d'obtention d'une sulfone par transmétallation.....	73
4. Sulfonation directe d'un dérivé bromé.....	74
5. Géométrie moléculaire du cycle pipéridine.....	74
III. <u>Stratégie de synthèse de type linéaire</u>	75
1. Analyse rétrosynthétique.....	75
2. Discussion.....	76
a. Benzoylation.....	76
b. Débenzylation.....	76
c. Alkylation de la chaîne polyméthylénique.....	77
d. Alkylation par le MTHP.....	78
e. Benzoylation.....	78
IV. <u>Stratégie de synthèse révisée de type convergente</u>	79
1. Analyse de rétrosynthèse.....	79
2. Discussion sur la synthèse.....	80
a. Alkylation du MTHP.....	80
b. Alkylation de la tétrahydro- γ -carboline.....	81
c. Benzoylation et benzylation.....	81
EVALUATION PHARMACOLOGIQUE	87
I. <u>Les principes et méthodes des différents tests existants</u>	88
1. Evaluation des activités 5-LO, COX ₁ et COX ₂	88
2. Evaluation de l'inhibition de la prolifération cellulaire.....	90
II. <u>Résultats des tests pharmacologiques</u>	91
III. <u>Interprétation des résultats pharmacologiques</u>	93
1. Tests <i>ex vivo</i> d'inhibition des 5-LO et COXs.....	93
2. Tests de cytotoxicité.....	95
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	96

<i>PARTIE EXPERIMENTALE</i>	100
A. <u>Appareillage et techniques</u>	101
B. <u>Protocoles expérimentaux</u>	103
Synthèse du chlorhydrate de 4-méthylthiophénylhydrazine, 11	103
Synthèse du 1-(benzyloxy)-3-bromo-5-fluorobenzène, 3	104
Synthèse du 4-(3-benzyloxy-5-fluorophényl)-4-hydroxytétrahydro-4 <i>H</i> -pyranne, 5	105
Synthèse du 4-(3-benzyloxy-5-fluorophényl)-4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -pyranne, 6	106
Synthèse du 3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénol, 7	107
Synthèse du 4-[3-(3-chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -pyranne, 49 ...	108
Synthèse du 4-[3-(3-bromopropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -pyranne, 50 et du 1,3-di-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propane, 51	109
Synthèse du 4-[3-(2-chloroéthoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -pyranne, 52	111
Synthèse de tétrahydro- γ -carboline selon la méthode de Fischer : modes opératoires généraux.	112
Synthèse du 2-carbéthoxy-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 14 b	113
Synthèse du 2-carbéthoxy-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 15 b	114
Synthèse du chlorhydrate de 8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 15 c	115
Synthèse du 8-bromo-2-carbéthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 16 b	116
Synthèse du chlorhydrate de 8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 16 c	117
Synthèse du 2-carbéthoxy-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 17 b	118
Synthèse du 2-carbéthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 18 b	119
Synthèse du 2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 18 c	120
Synthèse de la 1-carbéthoxy-4-pipéridone-(4-méthanesulfonylphényl)hydrazone, 22 b	122
Synthèse du chlorhydrate de la 4-pipéridone-(4-méthanesulfonylphényl)hydrazone, 22 c	123
Synthèse du chlorhydrate de la 1-carbéthoxy-4-pipéridone-(4-aminosulfonylphényl) hydrazone, 23 b	124
Synthèse du 8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 14 c	125
Synthèse du chlorhydrate de 2-benzyl-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>] indole, 15 a	127
Synthèse du 2-benzyl-8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 16 a	128
Synthèse du 2-benzyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 17 a	129
Synthèse de la 4-pipéridone-(4-aminosulfonylphényl)hydrazone, 23 c	130
Synthèse du 2-benzyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 14 a	131
Synthèse du 8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 17 c	132
Synthèse du 2-benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 18 a	133
Synthèse de la 1-benzyl-4-pipéridone-(4-méthanesulfonylphényl)hydrazone, 22 a	134

Synthèse de la 1-benzyl-4-pipéridone-(4-aminosulfonylphényl)hydrazone, 23 a	135
Synthèse du chlorhydrate de 4-pipéridone-(4-nitrophényl)hydrazone, 24 c	136
Synthèse du chlorhydrate de 2-benzyl-8-nitro-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 27 a ...	137
Synthèse du 2-carbéthoxy-8-nitro-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 27 b	138
Synthèse du 2-benzyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 25 a	139
Synthèse du 8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 25 c	141
Synthèse du sulfate de 2-benzyl-8-aminosulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 26 a	143
Synthèse du 2-benzyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 25 a	144
Synthèse du 2-carbéthoxy-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 25 b ...	145
Synthèse du 2-benzyl-5-tert-butoxycarbonyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 28	146
Synthèse du 2-benzyl-5-tert-butoxycarbonyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 29	147
Synthèse du 8-bromo-2-benzyl-5-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 30	148
Benzoylation et benzylation de tétrahydro- γ -carbolines, hydrogénation catalytique de 5-benzoyl-2-benzyl-tétrahydro- γ -carbolines, alkylation de 5-benzoyltétrahydro- γ -carbolines : modes opératoires généraux.....	149
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 32	151
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 33	152
Synthèse du chlorhydrate de 2-benzyl-5-benzoyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 34	153
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 35 .	154
Synthèse du 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 36	155
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 37	156
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl- 2, 3, 4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 38	157
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 39	158
Synthèse du 5-benzoyl-2-(3-chloropropyl)-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 41	160
Synthèse du 5-benzoyl-2-(3-chloropropyl)- 2,3,4,5-tétrahydropyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 42	161
Synthèse du 2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 43	162
Synthèse du 2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 44	163

Synthèse du 2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-5 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 43	164
Synthèse du 2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 44	165
Synthèse du 2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 53	166
Synthèse du 2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 54	167
Synthèse du 2,5-di {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 55	168
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 45	170
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 46	172
Synthèse du chlorhydrate de 5-(2-fluorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4<i>H</i>-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1<i>H</i>-pyrido[4,3-<i>b</i>]indole, 56.....	174
Synthèse du chlorhydrate de 5-(3-fluorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4<i>H</i>-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1<i>H</i>-pyrido[4,3-<i>b</i>]indole, 57.....	176
Synthèse du chlorhydrate de 5-(4-fluorobenzoyl)-2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 58	178
Synthèse du chlorhydrate de 5-(4-chlorobenzoyl)-2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 59	180
Synthèse du chlorhydrate de 5-(2,4,6-trichlorobenzoyl)-2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 60	182
Synthèse du chlorhydrate de 5-(4-bromobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4<i>H</i>-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1<i>H</i>-pyrido[4,3-<i>b</i>]indole, 61.....	184
Synthèse du chlorhydrate de 5-(4-diméthylaminométhylénaminosulfonylbenzoyl)-2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 62	186
Synthèse du chlorhydrate de 2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-5-(4-méthanesulfonylbenzyl)-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 63	188
Synthèse du chlorhydrate de 8-fluoro-2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-5-(4-méthanesulfonylbenzyl)-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 64 ...	190
Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2- {3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole, 65	192
C. <u>Mesure de l'activité inhibitrice des enzymes sur sang total</u>	194
D. <u>Mesure de la prolifération cellulaire</u>	196
E. <u>Modélisation moléculaire</u>	198
SOURCES ET BIBLIOGRAPHIE	199

ABREVIATIONS

β -OG = β -octyl-D-glucopyranoside
(TNF)- α = tumor necrosis factor-alpha
12(S)-HETE = acide 12(S)-hydroxyeicosatétraénoïque
12-HHTrE = acide 12-hydroxyheptadécatriénoïque
5(S)-HPETE ou 5-HPETE = acide 5(S)-hydroperoxy-6E, 8Z, 11Z, 14Z-eicosatétraénoïque
5-, 8-, 12-, 15-LO = 5-, 8-, 12-, 15-lipoxygénase
5-HEDH = 5-hydroxyeicosanoïde déshydrogénase
5-oxo-ETE = acide 5-oxo-eicosatétraénoïque
AA = acide arachidonique
AC = anhydrase carbonique
ACTH = adrénocorticotrophine
ADN = acide désoxyribonucléique
ADN_c = ADN « complémentaire »
AINS = anti-inflammatoire non-stéroïdien
AR = récepteur aux androgènes
ARN_m = acide ribonucléique messenger
ATP = adénosine triphosphate
bFGF = basic fibroblast growth factor
C₂Is = inhibiteurs sélectifs de COX₂
CI₅₀ = concentration inhibant 50% de l'activité de l'enzyme
COX₁, COX₂, COX₃ = cyclooxygénase de type 1, 2, 3
cPLA₂ = phospholipase A₂
CRH = corticotropin-releasing hormone
DCM = dichlorométhane
DES = diéthylstilbestrol
DHT = dihydrotestostérone
DIEA = *N, N*-diisopropyléthylamine
DMA = diméthylacétamide
DMAp = 4-diméthylaminopyridine
DMF = *N, N'*-diméthylformamide
DMSO = diméthylsulfoxyde
DPI = diphénylène iodonium
EGF = epidermal growth factor
ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay
FAP = polypose adénomateuse
FDA = food and drug administration
Fe (IV)=O PP^{·+} = oxyferrylprotoporphirine radicalaire dans l'état d'oxydation +4
FLAP = five-lipoxygenase activating protein
HSAB = théorie hard-soft acid-base
IL-1 β , IL-2 = interleukine-1 β , interleukine-2
INSERM = Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
LA = acide linoléique
LH-RH = luteinizing hormone-releasing hormone
LPS = lipopolysaccharide
LTs = leucotriènes
LX = lipoxines

MBD = membrane bound domain
MEM = méthiane ester de méthyle
MTHP = méthoxytétrahydropyranne
MTT = bromure de 3-(4,5-diméthylthiazole-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium
NADP⁺ = nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme oxydée)
NADPH = nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (forme réduite)
NOS = monoxyde d'azote synthétase
NOX = NADPH oxydase
P_{atm} = pression atmosphérique
PBS = phosphate buffered saline
PDGF = platelet-derived growth factor
PK-1 = phosphoinositide-dependent kinase-1
PGG₂, PGH₂ = prostaglandine G₂, prostaglandine H₂
PGHS = prostaglandine endoperoxyde H synthétase
PGs = prostaglandines
pKa = constante de dissociation d'un acide
PKB, PKC = protéine kinase B, C
PMA = phorbol-12-myristate-13-acétate
PMS = phénazine méthosulfate
POX = peroxydase
PPARs = peroxisome proliferator activated receptors
RMN = résonance magnétique nucléaire
RPMI = roswell park memorial institute
RSA = relations structure-activité
SDS = dodécylsulfate de sodium
SVF = sérum de veau foetal
t. amb. = température ambiante
THF = tétrahydrofuranne
TXA₂ = thromboxane A₂
UV = ultra-violet
VEGF = vascular endothelial growth factor
VIGOR = Vioxx Gastrointestinal Outcomes Research

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés à l'Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol (ICPAL), sous la direction scientifique de Monsieur le Professeur Jean-Pierre HENICHART. Ils ont pour but la conception, la synthèse et l'évaluation pharmacologique d'inhibiteurs mixtes potentiels des enzymes 5-LO et COX₂ et s'inscrivent dans le cadre général de recherches de molécules à visée anticancéreuse menées au sein du groupe.

Le cancer de la prostate est un adénocarcinome et est le plus fréquent des cancers chez l'homme. Les traitements les plus efficaces utilisés actuellement agissent au stade hormono-dépendant de la maladie et sont inefficaces lorsque le cancer devient hormono-indépendant. La forte documentation bibliographique actuelle signale qu'il serait possible d'intervenir lors de stades plus ou moins évolués de la maladie si l'on considère le dérèglement des processus biochimiques des deux enzymes : 5-LO et COX₂. Une étude approfondie de la biologie et de la biochimie de ces enzymes va nous permettre de comprendre leurs mécanismes d'action, leurs influences sur l'évolution du cancer, et comment l'utilisation d'inhibiteurs pharmacologiques peut entraîner un effet incontestable dans le traitement chimiothérapeutique de la maladie.

Après une présentation des généralités sur le cancer et les enzymes, j'exposerai la conception rationnelle de nouveaux inhibiteurs mixtes étayée sur des études bibliographiques et de modélisation moléculaire. Je terminerai par la présentation des diverses voies de synthèse imaginées et mises en œuvre pour obtenir ces composés ainsi que leur évaluation pharmacologique.

INTRODUCTION

Incidence, genèse et chimiothérapie actuelle du cancer de la prostate

I. L'adénocarcinome de la prostate

Le cancer de la prostate [Shaffer D.R. et Scher H.I., 2003] touche principalement l'homme vieillissant (> 50 ans). Les autres facteurs étiologiques et à risques du cancer de la prostate incluent l'histoire pathologique familiale, un taux élevé de testostérone dans le sang et la localisation géographique (Etats-Unis d'Amérique, Canada et Nord Ouest de l'Europe). La fréquence de telles tumeurs « latentes » a augmenté tous les dix ans depuis les années 1950 (une incidence de 5,3 à 14%) jusque dans les années 1990 (40 à 80%) et s'est stabilisée depuis. En France, l'estimation de l'INSERM pour 1975 était de 6800 cas de cancer de la prostate ; l'incidence estimée en 2002 est de 26500 cas (tableau 1).

Type de cancer	Population globale	Hommes	Femmes
Sein	34000	-	34000
Côlon	33400	19000	15300
Prostate	26500	26500	-
Poumon	22000	19000	3000
Vessie	10000	7700	2300
Estomac	7200	4500	2700
Rein	4900	3300	1600
Œsophage	4800	4200	600
Systèmes nerveux	4700	2700	2000
Mélanomes	4300	1800	2500
Leucémies	4000	2300	1700
Col utérus	3300	-	3300
Pancréas	3200	1800	1400
Ovaire	3150	-	3150
Testicule	1800	1800	-

Source : Tableau établi à partir des chiffres des cahiers de cancérologie.
Scotté F. et coll., 2002.

Tableau 1: Incidence du cancer en France, estimée en 2002.

L'incidence la plus élevée est en Amérique du Nord , avec une estimation en 2003 de 220900 nouveaux cancers décelés et 280900 décès. L'incidence la plus basse est en Asie. Actuellement, le risque encouru, au cours de la vie, de développer un cancer de la prostate est de 8%, chiffre équivalent au risque du cancer du sein chez la femme. A l'âge de 80 ans, le risque monte à 80% [Bostwick D.G. et coll., 2004].

Des études étiologiques ont été réalisées afin de déterminer les causes de la maladie. Elles montrent que les cancers sont associés à une prolifération cellulaire anormale et que les cellules principalement affectées sont des cellules épithéliales. [Tang D.G. et Porter A.T., 1997 ; Stapleton A.M. et coll., 1998].

Il a également été démontré que les cellules épithéliales prostatiques hormono-dépendantes entrent en apoptose après la privation de testostérone. La chimiothérapie retenue pour le traitement du cancer de la prostate au stade précoce est la privation hormonale. Le but d'un tel traitement est de diminuer les quantités d'hormones mâles dans le corps dont la principale est la testostérone.

II. L'hormonothérapie

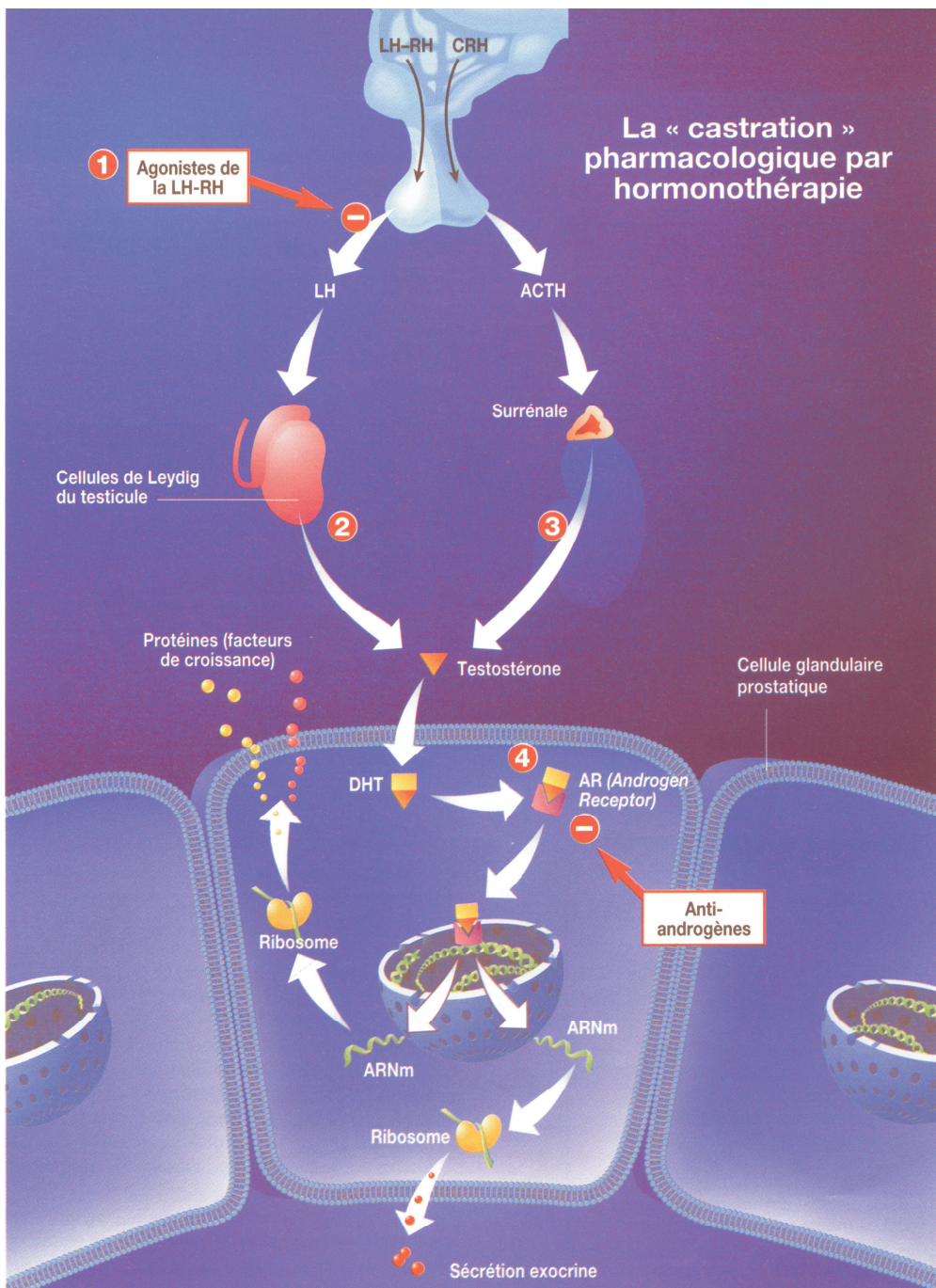
Au stade précoce de l'hormono-dépendance du cancer, le traitement consiste essentiellement en l'administration d'analogues de LH-RH (Luteinizing Hormone-Releasing Hormone) pour obtenir, par effet feed-back, un arrêt de la sécrétion de testostérone. En effet, cette production est normalement stimulée par un signal hormonal (LH-RH en particulier) émanant du système hypothalamus-hypophyse et l'excès de sécrétion de testostérone, lors du traitement, va provoquer par rétrocontrôle un arrêt de commande du système. Cet excès est transitoirement compensé par l'administration d'anti-androgènes.

Les analogues de la LH-RH ou agonistes LH-RH (1), telles que la Buséréline et la Goséréline, bloquent la production d'androgènes par le testicule (95% de la production totale) (2), mais non par la glande surrénale (3). Les anti-androgènes bloquent les récepteurs cytoplasmiques aux androgènes (4), dans les cellules cibles (figure 1).

III. La chimiothérapie

Mais l'hormonothérapie, si elle est efficace au stade hormono-dépendant, n'est, en réalité, ni la solution au cancer ni un substitut pour un traitement curatif. La recherche en chimiothérapie essaie d'une part de comprendre et d'étudier des processus biochimiques impliqués dans la carcinogenèse, l'hyperprolifération, et / ou la différenciation et d'autre part de trouver des agents possédant un potentiel chimiopréventif [Klein E.A., 2005] ou chimiothérapeutique afin de contrer le dérèglement de ces processus [Kelloff G.J. et coll., 1999].

Deux systèmes enzymatiques clés dans le processus de l'inflammation sont actuellement d'un grand intérêt car ils interviendraient dans la plupart des phénomènes biologiques liés au cancer de la prostate, dont la prolifération cellulaire et la suppression de l'apoptose : ce sont la 5-lipoxygénase [Myers C. et coll., 2001] et la cyclooxygénase de type 2 [Hussain T. et coll., 2003].



Source : Figure établie à partir du n°80 d'Actualités Innovations Médecine, 2002.

Figure 1: La castration pharmacologique par hormonothérapie.

La cascade de l'acide arachidonique

La 5-lipoxygénase et la cyclooxygénase-2 sont des enzymes qui font partie de la cascade de l'acide arachidonique. Ces enzymes contrôlent la formation des prostanoïdes biologiquement actifs.

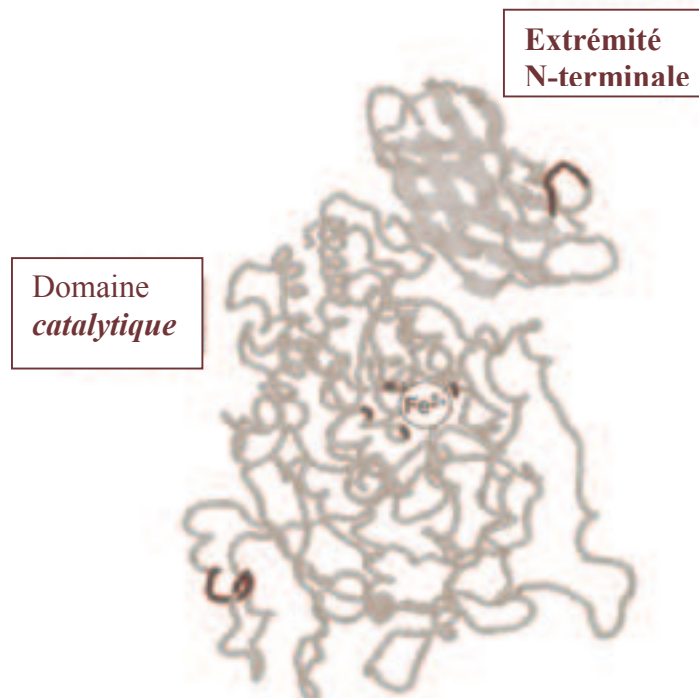
La 5-LO est une protéine à fer.

Il fut établi au début des années 1990 qu'il existait au moins deux isoformes COX présentes dans les cellules humaines : COX₁, constitutive et COX₂, inductible [Hla T. et Nielson K., 1992]. Plus récemment, une troisième forme, COX₃ (ou COX_{1b}), fut identifiée comme ayant pour caractéristique d'être spécialement sensible au paracétamol [Chandrasekharan N.V. et coll., 2002]. Depuis cette découverte, la recherche dans ce domaine en est toujours à ses débuts et n'a pas vraiment justifié de la réelle existence de COX₃. Le rôle que peut jouer cette protéine reste donc incertain et controversé [Davies N.M. et coll., 2004].

I. La biochimie des enzymes 5-LO et COXs : leurs expressions et localisations intracellulaires

1. La 5-lipoxygénase

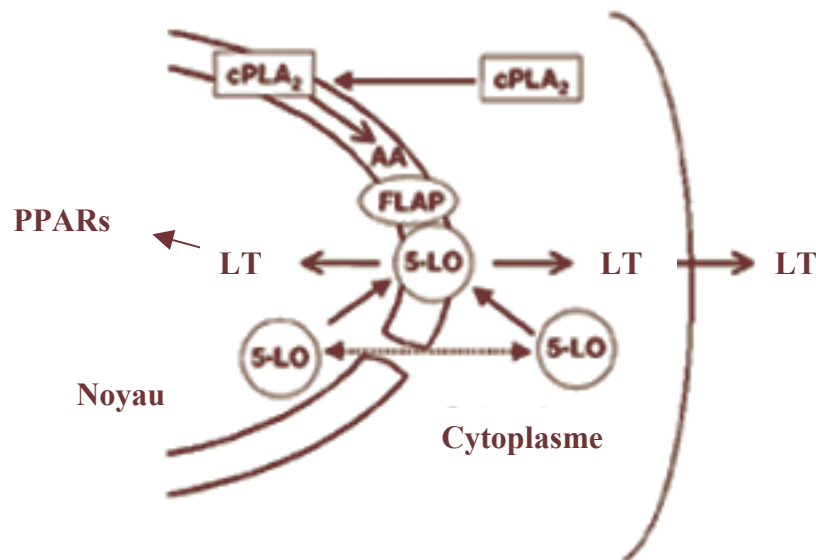
La 5-LO (figure 2) peut être localisée soit dans le cytoplasme [Peters-Golden M. et Brock T.G., 2000], soit dans le noyau [Jones S.M. et coll., 2002], selon le type de cellule.



Source : Figure établie à partir de Rådmark O., 2002.

Figure 2 : Structure présumée de la 5-lipoxygénase.

Elle est toujours transloquée vers l'enveloppe nucléaire suite à son activation dans la cellule [Peters-Golden M. et Brock T.G., 2000] (figure 3). Sur ce site, la 5-LO rencontre deux protéines, la phospholipase A₂ et une protéine appelée la « 5-LO-activating protein » (FLAP) qui facilite l'insertion de l'AA dans le site actif [Werz O. et coll., 2000] ; la biosynthèse des produits de la 5-LO commence sur ce plan [Pouliot M. et coll., 1996]. Pour une activité complète, elle requiert des cofacteurs tels que le calcium et l'ATP.



Source : Figure établie à partir de Peters-Golden M. et Brock T.G., 2000.

Figure 3 : Localisation de la 5-LO à l'intérieur de la cellule.

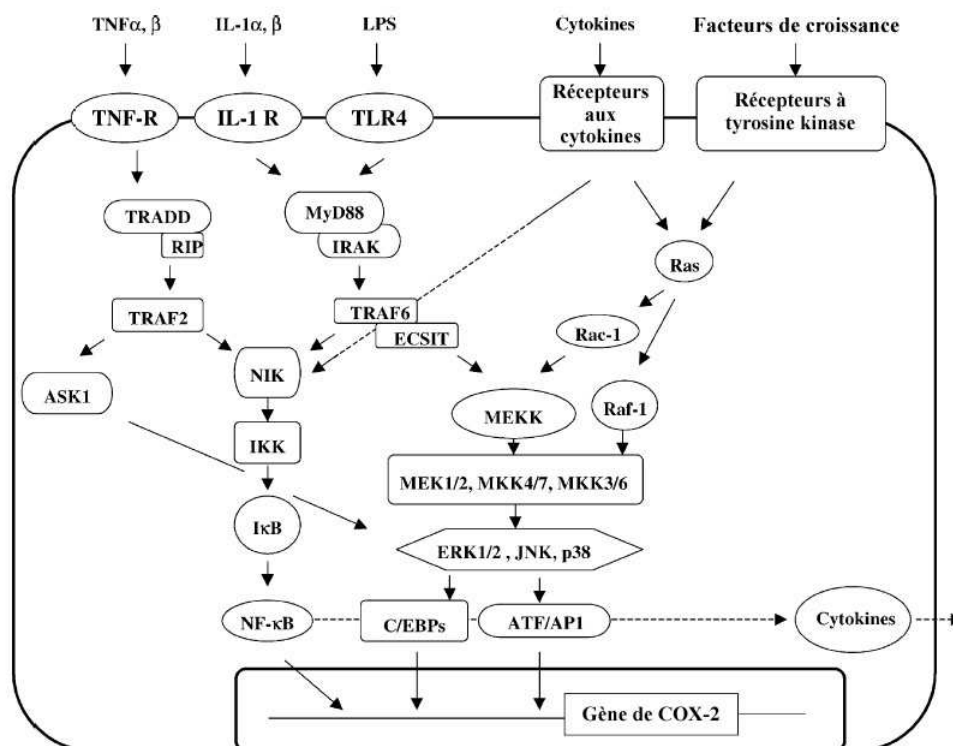
L'import nucléaire de la 5-LO est crucial pour la biosynthèse de ses produits car les séquences mutées de la 5-LO impliquées dans le ciblage du noyau conduisent toujours à une perte d'activité [Jones S.M. et coll., 2002].

2. Les cyclooxygénases

L'expression de COX₁ et de COX₂ et leur distribution tissulaire sont régulées de manière différente. COX₁ est ubiquitaire et constitutivement exprimée dans le système gastro-intestinal, les reins, le muscle lisse vasculaire et les plaquettes. COX₂ est indétectable dans la plupart des tissus, mais son expression peut être rapidement induite par une variété de stimuli (figure 4) :

- facteurs de croissance [EGF, PDGF],
- cytokines liées à la réponse inflammatoire [IL-1 β , IL-2 et (TNF)- α],
- promoteurs de tumeur tel que PMA.

Quoi qu'il en soit, cette distinction n'est pas entièrement justifiée, car COX₁ peut être induite ou régulée dans certaines conditions et COX₂ peut être exprimée de manière constitutive dans le cerveau [Bazan N.G. et coll., 2002], le rein et les plaquettes nouvellement formées [Morita I., 2002].



Source : Figure établie à partir de Tanabe T. et Tohno N., 2002.

Figure 4 : Voies de régulation de COX₂.

COX₁ et COX₂ sont des protéines membranaires localisées dans le cytoplasme. Toutes deux peuvent passer librement du cytoplasme vers le noyau et inversement : elles sont détectées expérimentalement, dans certaines cellules, en concentration égale dans le réticulum endoplasmique et les surfaces interne et externe de l'enveloppe nucléaire.

Les structures cristallines des isozymes COXs étant assez semblables, surtout dans la région du site actif, il est donc possible de les traiter comme biochimiquement identiques.

II. Le métabolisme de l'acide arachidonique

1. L'activité catalytique de la 5-LO

Comme d'autres membres de la famille des lipoxygénases (8-, 12-, 15-lipoxygénases), la 5-LO est une dioxygénase. Son activité fut décrite par *Borgeat et ses collaborateurs* en 1976.

L'AA libéré de l'enveloppe nucléaire par la cPLA₂ va rentrer dans le site actif de la 5-LO. A ce stade, l'atome de fer est activé dans l'état d'oxydation +3 (Fe³⁺). La 5-LO va alors pouvoir arracher un hydrogène au carbone 7 de son substrat naturel. Il se forme alors un complexe radicalaire entre le fer réduit à un état d'oxydation +2 et l'AA radicalaire nouvellement formé. Cette réaction est accompagnée par l'insertion de dioxygène moléculaire sur le carbone 5, suivi d'un réarrangement radicalaire, pour former l'acide 5(S)-hydroperoxy-6E,8Z,11Z,14Z-eicosatétraénoïque (5(S)-HPETE ou 5-HPETE) (figure 5).

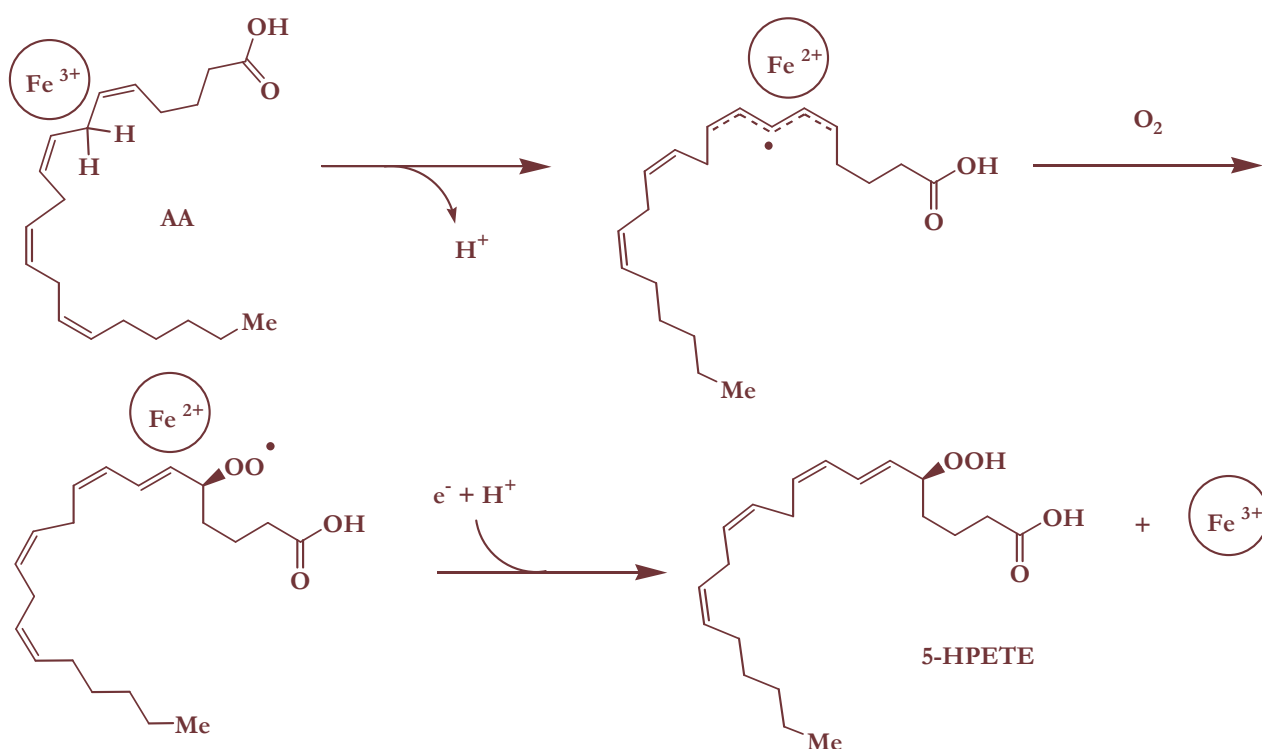


Figure 5 : Mécanisme de la 5-lipoxygénase. Formation du 5-HPETE.

Puis la 5-HPETE peut d'une part être soumise à l'arrachement stéréospécifique de l'hydrogène sur le carbone 10 de l'AA pour générer un époxyde allylique hautement instable, l'acide 5(S),6(S)-oxydo-7E,9E,11Z,15Z-eicosatétraénoïque ou Leucotriène A₄ (figure 6).

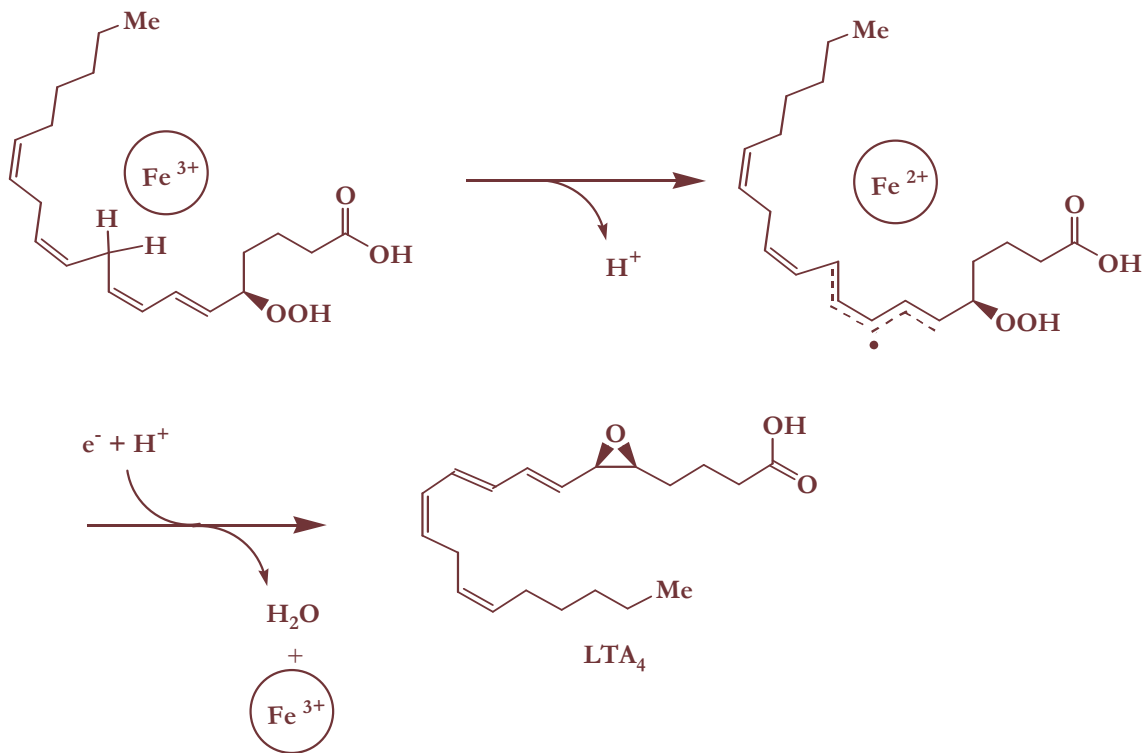
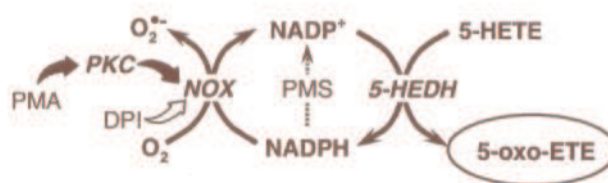


Figure 6 : Mécanisme de la 5-lipoxygénase. Formation du LTA₄.

Et par la suite, celui-ci peut être métabolisé par de multiples voies. Les mieux caractérisées sont les suivantes :

- la conversion en LTB₄ par la LTA₄ hydrolase [Haeggström J.Z. et coll., 2002],
- la transformation par la LTC₄ synthétase qui correspond à une réaction avec le glutathion [Lam B.K. et Frank Austen K., 2000]. LTC₄ est ensuite métabolisée en cystéinyleucotriènes (Cys-LTs), LTD₄ et LTE₄,
- la conversion en lipoxine (LX) A₄ et B₄ par la 12 ou la 15-LO [Serhan C.N. et Romano M., 1995].

D'autre part, 5-HPETE peut être réduit en acide 5 (S)-hydroxy-6E,8Z,11Z,14Z-eicosatétraénoïque (5-(S)-HETE ou 5-HETE) qui peut ensuite être métabolisé en 5-oxo-EETE. Une représentation schématique de ces voies est décrite sur la figure 8. Le métabolite 5-oxo-EETE n'est cependant pas contrôlé par la 5-LO mais par la 5-hydroxyeicosanoïde déshydrogénase (5-HEDH). Dans ce processus, l'hydroxyle en position 5 de la 5-HETE est déshydrogéné pour former une cétone et il y a production de NADPH (figure 7).



Source : Figure établie à partir de Powell W.S. et Rokach J., 2005.

Figure 7 : Contrôle de la formation de la 5-oxo-EETE.

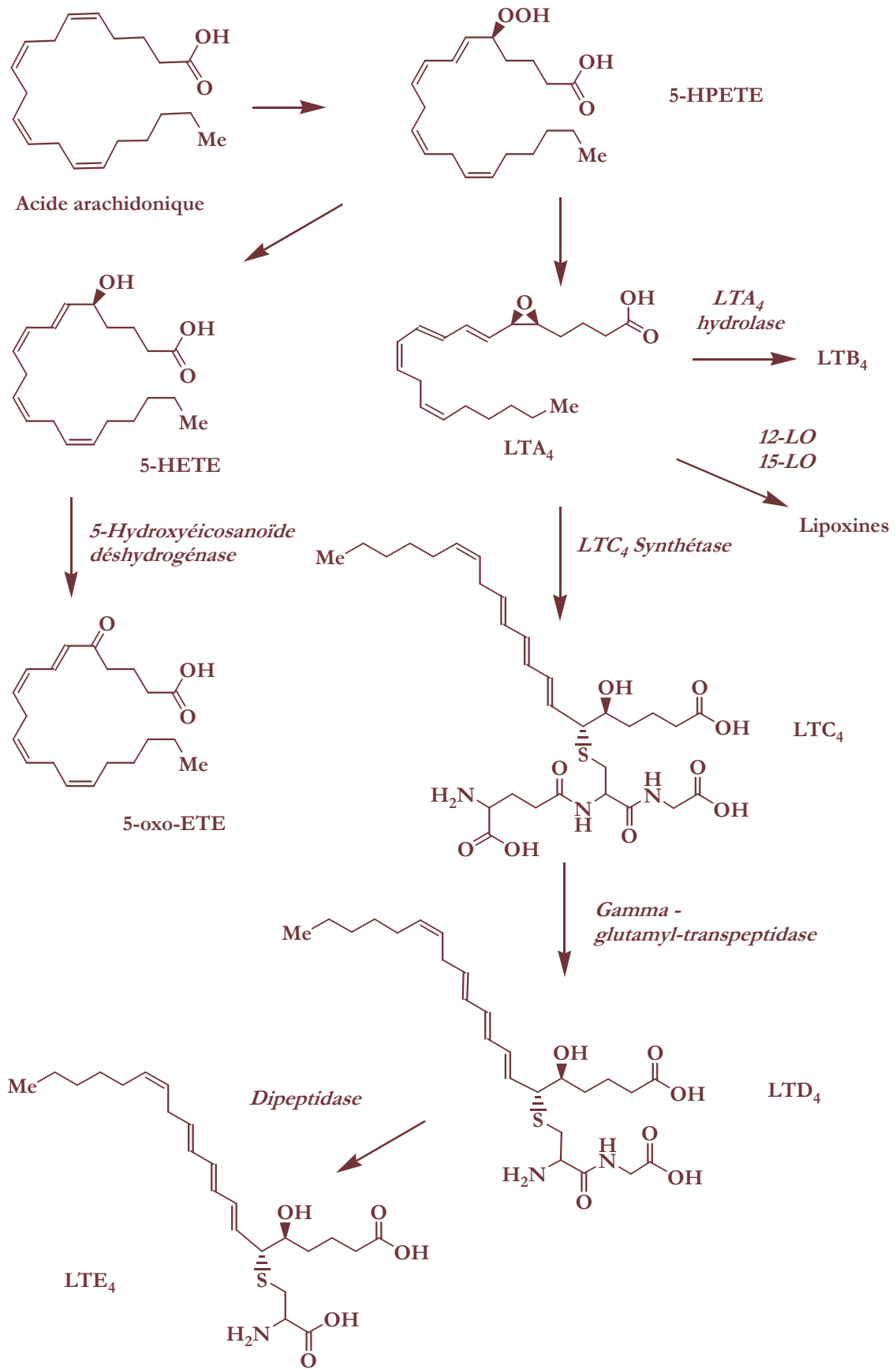


Figure 8 : Voie de la 5-LO.

3. Les activités catalytiques des COXs

La prostaglandine endoperoxyde H synthétase (PGHS) est souvent nommée cyclooxygénase de par sa première fonction catalytique. La COX est une enzyme bifonctionnelle contenant un groupe hème qui catalyse les deux premières étapes engagées dans la voie menant à la formation des prostaglandines (PGs) et du thromboxane TXA_2 à partir de l'acide arachidonique (AA), à savoir la cyclooxygénation et la peroxydation. D'une part, la catalyse ajoute et cyclise deux molécules d'oxygène sur l'acide arachidonique pour former l'hydroperoxyde cyclique PGG_2 : c'est l'activité cyclooxygénase. D'autre part, elle réduit PGG_2 en PGH_2 , c'est l'activité peroxydase.

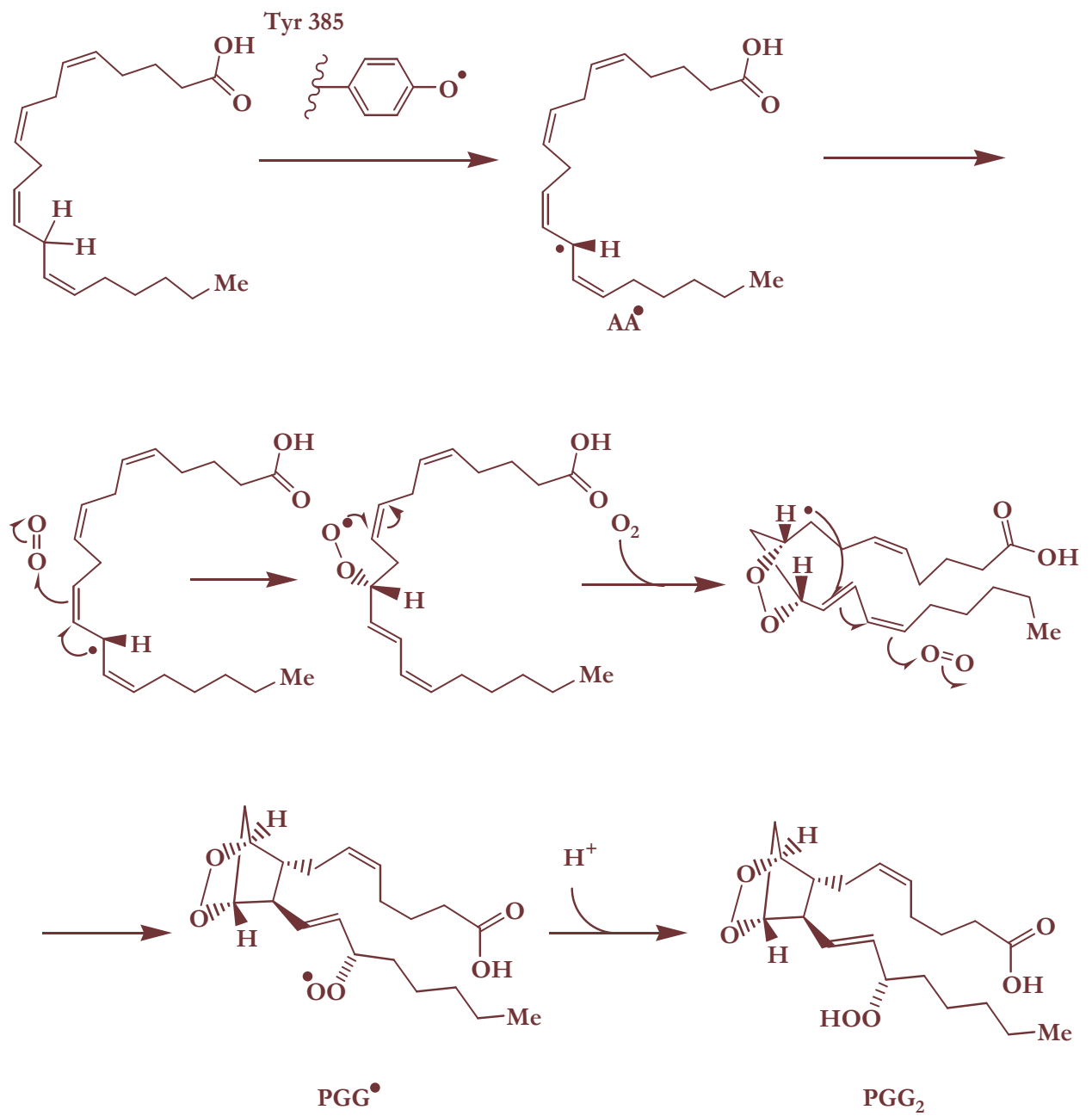
Le mécanisme de conversion de l'AA en prostaglandine G_2 (PGG_2) a longtemps été l'objet d'étude des chimistes et des biochimistes. Lors de ce processus, pas moins de quatre nouvelles liaisons carbone-carbone sont formées et cinq centres chiraux sont introduits dans l'AA achiral. Ces cinq dernières années furent le théâtre d'avancées importantes dans la compréhension détaillée des réactions catalytiques des COXs, c'est-à-dire dans l'identification des intermédiaires de réaction et des éléments responsables de la stéréosélectivité observée. Il fut déduit qu'en dépit de leur co-dépendance envers l'hème, il est possible de distinguer les activités cyclooxygénase et peroxydase en tant que sites indépendants mais interactifs [Smith W.L. et Song I., 2002]. La **Tyr**³⁸⁵ de COX_1 est l'acide aminé hypothétique qui ferait la connexion entre la réaction de peroxydase et la réaction de cyclooxygénase : le radical tyrosyle une fois généré peut ensuite initier la réaction cyclooxygénase [Wu G. et coll., 2003].

❖ La catalyse cyclooxygénase

L'activation de la fonction cyclooxygénase fut rationalisée par *Karthein et ses collaborateurs*, en 1988, en terme d'interaction oxydative à deux électrons entre des arylperoxydes (typiquement une molécule de PGG_2) et le groupement hème (au repos) qui résulte en la formation de la **Tyr**³⁸⁵ sous forme radicalaire [Dietz R. et coll., 1988].

Puis le cycle de cyclooxygénation s'initie par arrachement d'un atome d'hydrogène de l'AA par le radical tyrosyle afin de former un acide gras radicalaire (AA^\bullet). Suite à l'insertion de molécules d'oxygène moléculaire et à un réarrangement radicalaire de la structure polyinsaturée de l'acide gras, il y a formation du radical PGG_2 (PGG^\bullet). Puis le transfert d'un atome d'hydrogène de la **Tyr**³⁸⁵ au radical PGG_2 régénère le radical tyrosyle, ce qui va terminer le cycle cyclooxygénase (figure 9). Le radical tyrosyle est régénéré après chaque cycle (figure 10).

La PGG_2 instable ainsi formée au fur et à mesure des cycles, peut soit s'accumuler et diffuser pour activer d'autres protéines COX latentes, soit passer ensuite dans le site actif peroxydase (site POX) de l'enzyme où elle est réduite en PGH_2 .

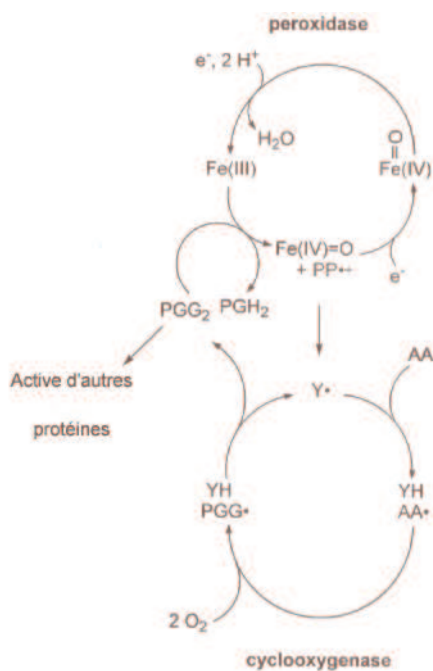


Source : Figure établie à partir de Blomberg L.M. et coll., 2003.

Figure 9: Mécanisme de l'activité COX.

❖ La catalyse peroxydase

Les peroxydases à hème ont pour caractéristique leur aptitude à casser les liaisons peroxyde [Smith W.L. et coll., 2000]. Le site actif de la POX se situe dans une poche, à l'endroit du noyau hème. Le fer de l'hème de la POX au repos est dans un état d'oxydation +3 (Fe^{3+}) et est pentacoordiné. Lorsque la COX₁, à l'état de repos, réagit avec une molécule de peroxyde (tel que PGG_2), elle génère un intermédiaire cationique à l'état d'oxydation +4 [$\text{Fe(IV)PP}^{\bullet+}$] qui se transforme, suite à un transfert d'électron intramoléculaire, en hème oxyferryle sous forme non radicalaire (figure 10) et il y a régénération du radical tyrosyle.



Source : Figure établie à partir de Selinsky B.S. et coll., 2001.

Figure 10 : Mécanisme de l'activité POX.

PGH_2 est un endoperoxyde hautement instable agissant en tant que substrat intermédiaire pour la biosynthèse de PGs des séries D_2 , E_2 et F_2 et également PGI_2 (prostacycline) et TXA_2 , par des synthétases spécifiques et des isomérases. Ces réactions sont spécifiques des cellules et tissus (figure 11) [Mardini I.A. et Fitzgerald G.A., 2001]. L'ensemble des PGs et TXA_2 est appelé les prostanoides (figure 11).

Logiquement, au plus il y a d'isozymes COXs activées, au plus la PGH_2 serait disponible pour évoluer en prostanoides. Mais les cycles catalytiques COX activés ne marchent cependant pas indéfiniment et les radicaux tyrosyle vont petit à petit se dissiper par des processus d'inactivation [Van der Donck W.A. et coll., 2002].

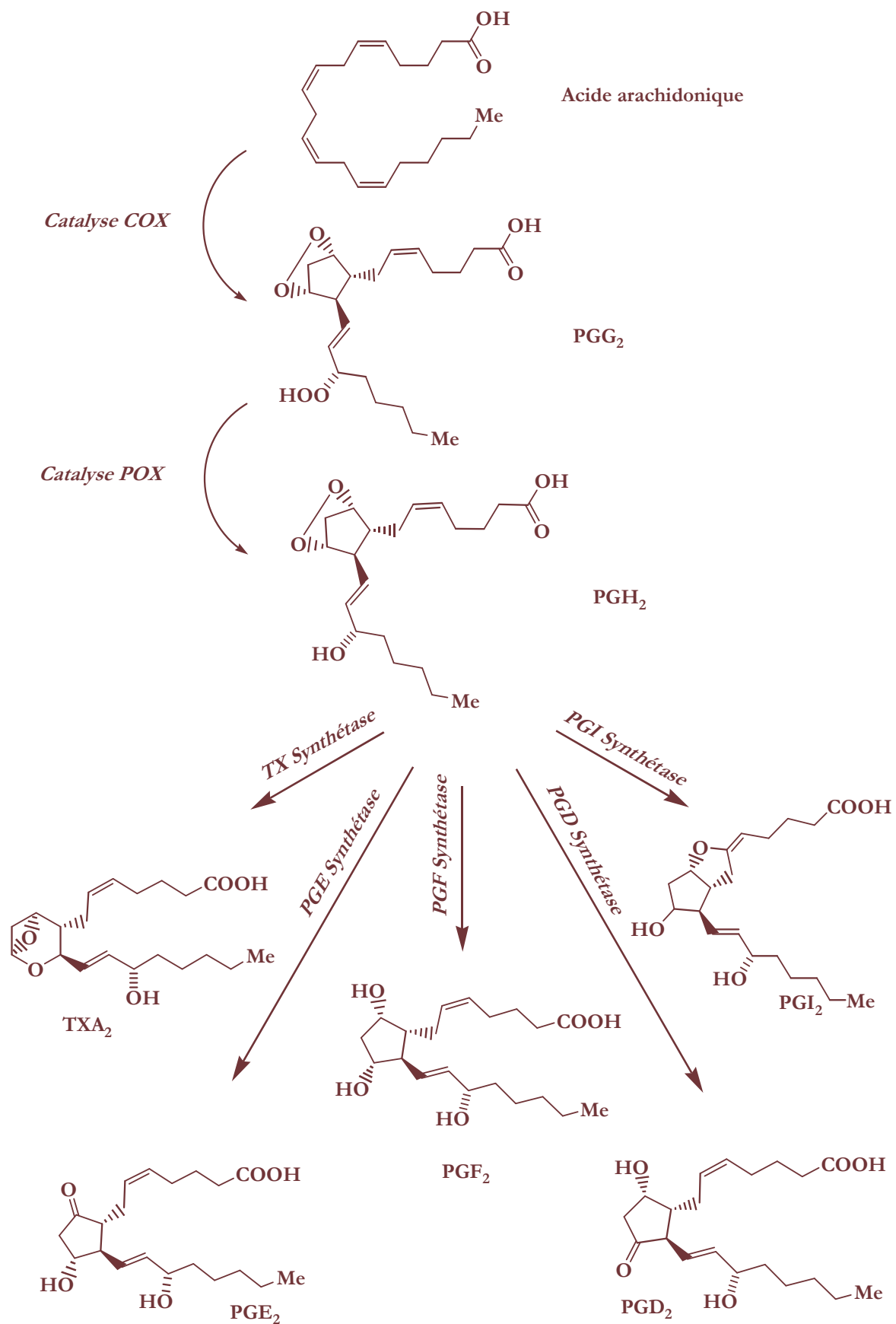


Figure 11: Voie des COXs.

III. Les récepteurs et fonctions des prostanoides

Dans les années 1990, le rôle physiopathologique attribué le plus souvent aux produits de la 5-LO était la régulation de la réponse inflammatoire immune et ils ne semblaient réguler aucun autre processus lors d'une activité normale de l'enzyme. LTB₄ est un activateur potentiel de la chimiotaxie du neutrophile, tandis que les Cys-LTs sont des médiateurs clés de l'inflammation allergique. Après synthèse, les leucotriènes situés dans le noyau ont une activité intrinsèque particulière car ils semblent réguler l'expression de la croissance de la cellule à travers l'activation des membres de la famille des Peroxisome Proliferator Activated Receptors (PPARs) [Avis I. et coll., 2001].

Les prostaglandines ont été nommées d'après leur site de découverte, dans la prostate, en tant que lipides solubles dans le cytoplasme. Après être synthétisés, les prostanoides activent des récepteurs spécifiques aux cellules et tissus [Tsuboi K. et coll., 2002]. Ces récepteurs de PGs sont au nombre de neuf dont quatre lient PGE₂ (EP₁-EP₄), deux lient PGD₂ (DP₁ et DP₂) et les autres sont des récepteurs uniques pour les formes PGF₂α, PGI₂ et TXA₂ (FP, IP et TP respectivement) [Funk C.D., 2001]. Après départ de la cellule et activation des récepteurs, elles exercent des actions opposées. Par exemple, PGD₂ et le thromboxane (TXA₂) entraînent la contraction du muscle lisse, alors que PGE₂ et la prostacycline (PGI₂) sont responsables de la relaxation. Il est donc convenu que l'effet net évoqué par les PGs doit finalement dépendre de la résultante de ces forces opposées [Hecker M. et coll., 1995]. L'induction de COX₂ coïncide, par ailleurs, avec des événements nucléaires comme la croissance cellulaire et la réplication. C'est pourquoi l'activité des prostaglandines contenues dans le noyau a été reliée à un éventuel système de signallement nucléaire, celui des PPARs [Spencer A.G. et coll., 1998].

Plus récemment, les études menées sur la surexpression des cyclooxygénases ont montré des analogies aux actions liées à la surexpression de la 5-LO dans les adénocarcinomes.

La surexpression des enzymes dans les cellules cancéreuses

I. La surexpression de la 5-lipoxygénase

L'idée de l'implication des métabolites de la voie de la 5-LO dans la pathobiologie du cancer a émergé suite à la découverte des effets anti-prolifératifs des inhibiteurs 5-LO sur les lignées cellulaires cancéreuses [Tsukada T. et coll., 1986]. Puis les recherches menées autour de cette maladie ont fourni des preuves de la surexpression de cette enzyme, de l'influence sur la progression de cellules transformées et sur l'entrée en néo-angiogenèse de l'adénocarcinome de la prostate.

1. La 5-LO est surexprimée dans les cellules cancéreuses et les tumeurs humaines

En plus de son expression dans les cellules normales, la 5-LO est surexprimée par une large variété de cellules cancéreuses incluant celles du côlon, du poumon, du sein, de la prostate, du pancréas, de l'os et du cerveau [Boado R.J. et coll., 1992 ; Kargman S. et coll., 1992 ; Avis I.M. et coll., 1996 ; Hong S.H. et coll., 1999 ; Avis I. et coll., 2001 ; Romano M. et coll., 2001 ; Hennig R. et coll., 2002]. Ainsi, l'expression de 5-LO est apparue comme n'étant plus régulée pendant la transformation néoplasique de la prostate puis lors de la phase de progression du cancer [Gupta S. et coll., 2001], ce qui stimule la croissance du cancer [Ohd J.F. et coll., 2003]. Ce n'est que très récemment que les activités du 5-HETE et du 5-oxo-EETE [Powell W.S. et Rokach J., 2005] ont été éclaircies notamment dans le cancer de la prostate [Zhao L. et Funk C.D., 2004].

- Les expériences ont d'abord montré que le 5-HETE agit en tant que facteur de croissance et de survie [Ghosh J. et Myers C.E., 1997] et elles furent confirmées par la suite [McCarty M.F., 2004].
- Puis le 5-oxo-EETE fut impliqué dans des changements de la taille de certaines cellules épithéliales (la modulation de l'activité de canaux à chlore et de canaux potassiques semble être l'élément déclenchant.) Il exerce également un effet stimulant sur les cellules LNCaP (hormono-dépendantes) et les cellules PC-3 (hormono-indépendantes) du cancer de la prostate, ce qui indique qu'il est exprimé, voire surexprimé, lors de tous les stades d'évolution de la maladie [O'Flaherty J.T. et coll., 2002].

Bien que les informations publiées sur la surexpression de 5-LO dans le cancer de la prostate soient peu nombreuses, elles sont assez significatives et les découvertes qu'elles relatent sont assez décisives pour permettre de conclure que le 5-oxo-EETE est indispensable au développement des cellules cancéreuses de la prostate, mais il n'est pas le seul impliqué. Toutefois, ce métabolite n'est pas sous le contrôle de la 5-LO mais de la 5-HEDH, il ne fait donc pas l'objet de cette étude.

2. La surexpression de la 5-LO facilite la progression du cancer

En 1999, *Myers et Ghosh* ont étudié l'influence de la surexpression de la 5-LO dans les cellules LNCaP et PC-3. Leurs résultats ont montré que l'inhibition de l'enzyme par une série d'inhibiteurs de la 5-LO suffit à ralentir la croissance cellulaire et à induire la mort cellulaire. Les seuls produits capables de promouvoir une nouvelle croissance furent 5-HPETE, 5-HETE et 5-oxo-EETE.

Les observations précédentes portent à conclure que ces métabolites sont également des facteurs de survie du cancer de la prostate qui agissent probablement comme des agents antiapoptotiques potentiels [Powell W.S. et Rokach J., 2005].

3. La surexpression de la 5-LO facilite la néo-angiogenèse

L'angiogenèse est un processus fondamental par lequel de nouveaux vaisseaux sanguins sont formés. Elle est essentielle pour les processus physiologiques tels que la croissance et la fertilité, [Los M. et Voest E.E., 2001 ; Tuxhorn J.A. et coll., 2001] mais aussi la croissance tumorale.

Il a été abondamment prouvé que les produits de la 5-LO : 5-HETE et LTA₄ sont impliqués mais pas LTB₄. Des investigations biologiques ont décelé qu'ils régulent potentiellement la transcription du VEGF dans les cellules humaines de la veine ombilicale, dans le modèle du mésothélium malin humain [Romano M. et coll., 2001].

Le VEGF est un régulateur clé de la migration de cellule endothéliale et de l'angiogenèse *in vitro*. Son expression est régulée par les hormones de la prostate [Joseph I.B. et coll., 1997]. Sa présence dans le cancer de la prostate fut prouvée par *Melnyk et ses collaborateurs* en 1999 et plus récemment détectée dans les cellules cancéreuses de la prostate [Kambhampati S. et coll., 2005].

4. Les autres lipoxgénases sont également impliquées

La 12-LO a des actions similaires à la 5-LO, car elle stimule la prolifération et peut être pro-angiogénique [Hsi L.C. et coll., 2002]. Elle existe sous trois isoformes : dans les plaquettes, dans les leucocytes et dans l'épithélium ; c'est la forme plaquettaire qui est fortement exprimée dans les cellules tumorales. Le métabolisme de l'acide arachidonique par la 12-LO libère l'acide 12(S)-hydroxyecosatétraénoïque [12(S)-HETE], qui est une molécule de signalisation dans l'activation de voies de l'apoptose [Yoshimoto T. et Takahashi Y., 2002].

Les isoformes 15-LO peuvent montrer des effets opposés sur les cellules cancéreuses où l'isoforme 1 [Kelavkar U. et coll., 2002] est stimulante et où l'isoforme 2 est inhibitrice de la prolifération de cellules cancéreuses [Horizoe T. et coll., 1998]. La 15-LO-1 est impliquée dans différentes formes de cancers épithéliaux. Elle peut être considérée comme un marqueur de la prolifération cellulaire [Hsi L.C. et coll., 2002].

II. La surexpression de la cyclooxygénase-2

Bien que des études récentes apportent la preuve de l'implication des COXs dans le cancer [Chulada P.C. et coll., 2000 ; Pham H. et coll., 2004], COX₂ apparaît être l'isoforme principalement impliquée dans la pathogenèse de la malignité de certains cancers [Dannenberg A.J. et coll., 2001], et particulièrement du cancer de la prostate [Hussain T. et coll., 2003]. Dans ce domaine d'études, les observations scientifiques les plus pertinentes reposent sur des découvertes majeures et sont rapportées ci-après. Elles apportent la preuve que COX₂ et les prostaglandines agissent par de multiples mécanismes sur la carcinogenèse, le développement du cancer de la prostate et sur son caractère invasif [Kirschenbaum A. et coll., 2001].

1. Des quantités élevées de PGs ont été trouvées dans les tumeurs

Dans les tissus de prostate humains, PGE₂ est le seul prostanoïde significativement produit [Chaudry A.A. et coll., 1994]. Il agit dans ces cellules par stimulation de la croissance des cellules cancéreuses [Chen Y. et Hughes-Fulford M., 2000]. De plus, lorsque des cellules PC-3 (cellules du cancer de la prostate hormono-indépendantes) sont traitées par de la PGE₂ exogène, la carcinogenèse ainsi que la surexpression de COX₂ augmentent [Hughes-Fulford M. et coll., 2001].

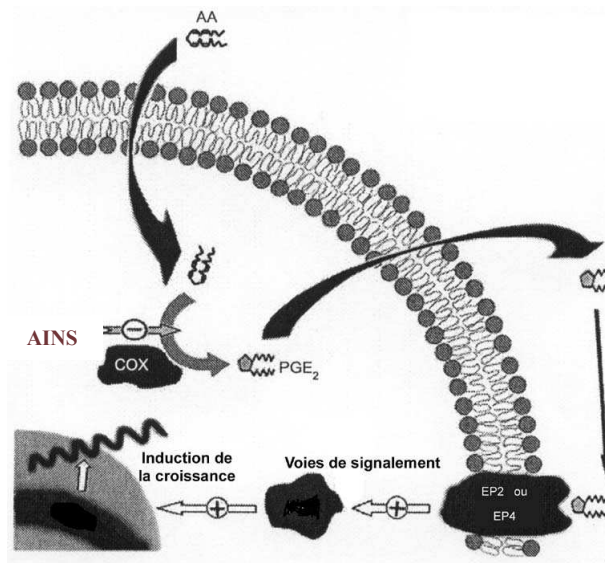
PGE₂ est synthétisée à partir de l'AA. Or les cellules humaines ne peuvent synthétiser l'AA *de novo* ; il doit donc être obtenu directement du régime alimentaire, ou synthétisé à partir de l'acide linoléique [Rose D.P. et Connolly J.M., 1999]. Par conséquent, la consommation des aliments à forte teneur en matières grasses (l'acide linoléique (LA) et l'acide arachidonique (AA)) sembla être un nouveau facteur de risque du cancer de la prostate. Cependant, alors que la consommation d'alcool [Bostwick D.G. et coll., 2004], l'obésité [Merrick G.S. et coll., 2005 ; Eichholzer M. et coll., 2005] ou la sédentarité ont été clairement impliquées dans le cancer, aucune relation directe entre la consommation de graisse et le cancer de la prostate n'a été prouvée et ceci même dans les pays à haut risque [Communication personnelle : Extrait d'un entretien avec Monsieur le docteur J. Bonnetterre (Centre Oscar Lambret de Lille), 10 janvier 2005].

Une autre hypothèse met en cause la surexpression de la COX dans les cellules cancéreuses [Hughes-Fulford M. et coll., 2001] qui pourrait conduire à une augmentation de la dégradation de l'AA et produire en conséquence davantage de PGE₂ que dans les cellules saines. Quoi qu'il en soit, l'origine cellulaire de la surexpression de COX₂ dans les tumeurs est inconnue et de nombreux mécanismes pouvant expliquer sa surexpression furent suggérés [Nithipatikom K. et coll., 2003 ; Badawi A.F. et coll., 2004 ; Pathak S.K. et coll., 2005].

2. La surexpression de COX₂ engendre la carcinogénèse ; l'inhibition de COX₂ est antinéoplasique.

i. La carcinogénèse

Les cellules de la prostate humaine expriment les récepteurs de prostaglandines EP₂ et EP₄. Une fois stimulés par PGE₂ dans les cellules du cancer de la prostate, ils pourraient induire rapidement la croissance cellulaire [Angel P. et Karin M., 1991] par une activation de voies de signalment sous-jacentes conduisant éventuellement à l'expression des gènes liés à la croissance des cellules [Chen Y. et Hughes-Fulford M., 2000] (figure 12).



Source : Figure établie à partir de Chen Y. et Hughes-Fulford M., 2000.

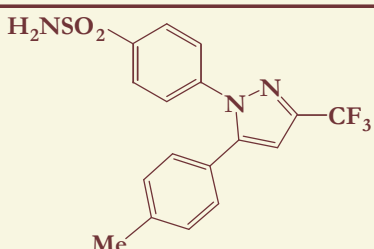
Figure 12 : Mécanisme impliquant l'AA dans la croissance des cellules PC-3.

En regard de ce mécanisme, il est facilement concevable que plus COX₂ est induite, plus ses produits contribuent à la prolifération des cellules. Dans le cas où celles-ci se trouvent transformées, alors le dérèglement de COX₂ contribuerait activement à la carcinogénèse [Rodrigues S. et coll., 2004].

❖ L'induction de l'apoptose

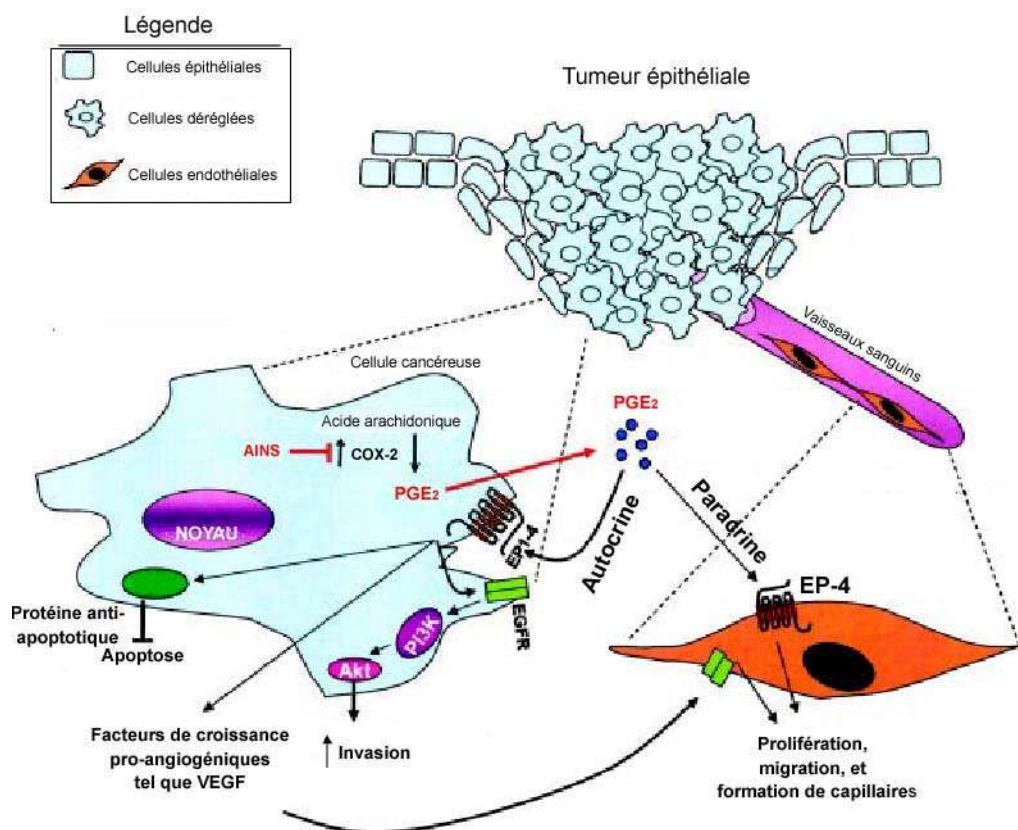
En général, les expériences ont révélé que les cellules surexprimant COX₂ engendrent des changements de phénotypes, incluant une adhérence accrue aux protéines de la matrice extracellulaire et une résistance à l'apoptose [Isaacs J.T., 2000]. L'inhibition de la mort programmée de la cellule dans le cancer de la prostate est pensée être régulée principalement par PGE₂ qui agirait sur des protéines intracellulaires anti-apoptotiques (figure 13) [Sheng H. et coll., 1998 ; Bruckheimer E.M. et coll., 2000].

De ce fait, de nombreuses expériences utilisant des inhibiteurs de COX₂ ont été menées pour savoir si leur activité avait une éventuelle influence sur l'évolution du cancer. En particulier, Hsu et ses collaborateurs, en 2000 ont démontré l'effet incontestable du Célécoxib (tableau 2) en tant qu'inducteur de l'apoptose dans les PC-3.

DCI	Structure	Activité
Célécoxib		$CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 69 nM$ sang total humain

Source : Tableau établi à partir des valeurs de la revue Dannhardt G. et Kiefer W., 2001.

Tableau 2: Activité inhibitrice du Célécoxib sur les COXs.



Source : Figure établie à partir de Wang D. et DuBois R.N., 2004.

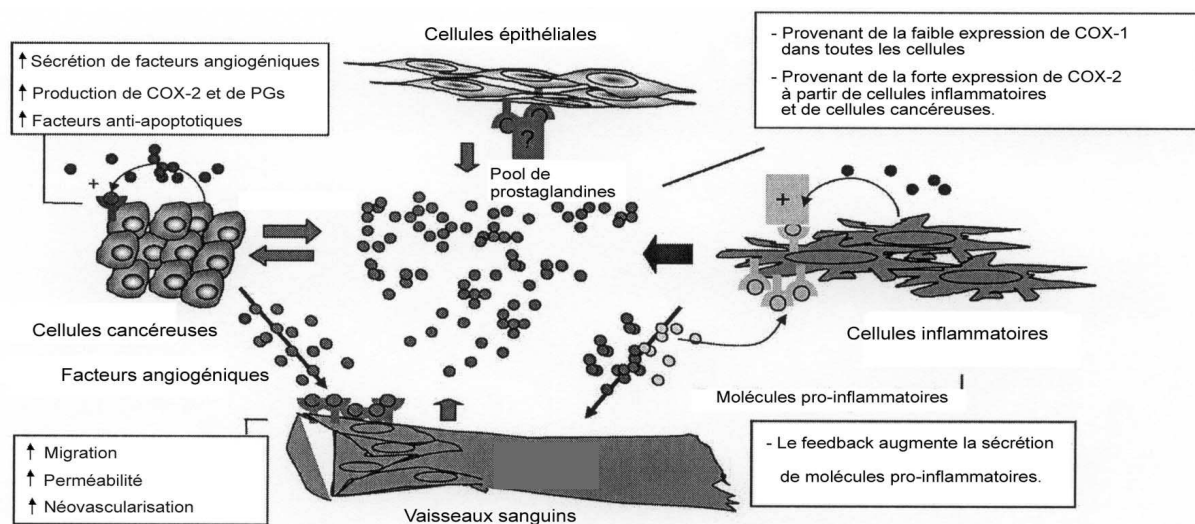
Figure 13: Mécanismes possibles impliquant COX₂ dans le développement tumoral.

En 2002, *Arico et ses collaborateurs* ont indiqué que l'induction de l'apoptose par le Célécoxib serait principalement due à l'inhibition du dérèglement d'une voie de signalment de survie et de croissance cellulaire indépendante des COXs : la voie PDK-1 / Akt / PKB [Pommery N. et Hénichart J.-P., 2005]. Des études tentent actuellement de déterminer explicitement comment agissent les inhibiteurs COX₂ sur ces voies [Pommery N. et coll., 2004 ; Kulp S.K. et coll., 2004].

3. La surexpression de COX₂ induit la néo-angiogenèse

Pour grossir, une tumeur doit continuellement stimuler la création de nouveaux capillaires sanguins. C'est le stade de la néo-angiogenèse. Ces nouveaux vaisseaux sanguins impliqués dans une tumeur créent un pont pour que les cellules tumorales entrent dans la circulation et métastasent le rein, le poumon ou les os (figure 13). Des molécules spécifiques de l'angiogenèse peuvent initier ce processus. Des molécules inhibitrices spécifiques peuvent la stopper. Des changements dans la balance relative d'inhibiteurs de l'angiogenèse ou d'inducteurs dictent ainsi son activité. Les prostaglandines PGE₁ et PGE₂ [Folkman J. et Shing Y., 1992] sont pro-angiogéniques.

Récemment, des études ont indiqué que la néo-angiogenèse requiert COX₂ [Tsuji M. et coll., 1998 ; Prescott S.M., 2000]. En effet, des relations entre la surexpression de COX₂ et celle du VEGF ont pu être observées dans les cellules cancéreuses de la prostate et du cancer du sein humain (figure 14) [Fujita H. et coll., 2002 ; Kirkpatrick K. et coll., 2002]. Les tissus sains de la prostate expriment en général peu ou pas du tout le VEGF [Doll J.A. et coll., 2001]. Par contre, les prostaglandines lorsqu'elles sont exprimées fortement induisent l'expression du VEGF et du facteur de transcription de VEGF [Hoper M.M. et coll., 1997 ; Liu X.H. et coll., 2002]. Leurs expressions sont liées aux tissus du cancer de la prostate invasif qui les surexpriment [Jennbacken K. et coll., 2005].

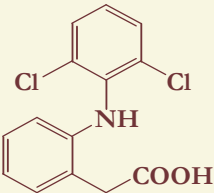


Source : Figure établie à partir de Zha S. et coll., 2004.

Figure 14 : COX₂ induit la néo-angiogenèse.

Les inhibiteurs sélectifs COX₂, tels que le Célécoxib, suppriment la croissance de vaisseaux capillaires chez les rats exposés au bFGF et inhibent la croissance de plusieurs tumeurs humaines implantées chez la souris [Williams C.S. et coll., 2000 ; Masferrer J.L. et coll., 2000 ; Fitzgerald G.A. et Patrono C., 2001].

Néanmoins, un rôle possible pour COX₁ dans la régulation de l'angiogénèse et de la prolifération du cancer de la prostate ne peut être exclu car le traitement des cellules endothéliales avec des inhibiteurs COX inhibent la formation de vaisseaux endothéliaux [Tsuji M. et coll., 1998]. En utilisant, le Diclofénac, inhibiteur mixte COX₁/ COX₂ (tableau 3), *Seed et ses collaborateurs*, en 1997 ont pu montrer que la croissance du cancer colorectal est inhibée par la suppression de l'angiogénèse.

DCI	Structure	Activité
Diclofénac		CI ₅₀ (COX ₁) = 0,14 μM
		CI ₅₀ (COX ₂) = 0,05 μM

Source : Tableau établi à partir des valeurs de la revue Dannhardt G. et Kiefer W., 2001.

Tableau 3: Activité inhibitrice du Diclofénac sur les COXs.

La surexpression de la 5-LO dans les cellules cancéreuses agit donc par un mécanisme double, un stimulus direct sur la prolifération des cellules cancéreuses et une potentialisation de la réponse pro-angiogénique dans les cellules hôtes. D'autre part, la surexpression de l'enzyme COX₂, mais pas de COX₁, est également impliquée dans de nombreux stades de l'évolution du cancer ainsi que dans de nombreux processus physiologiques liés tels que l'apoptose et la néo-angiogénèse.

Tous ces processus seraient liés ou communiqueraient entre eux pour aboutir à la progression du cancer jusqu'à un stade invasif pré-métastatique. L'inhibition pharmacologique de la cascade de l'acide arachidonique est donc d'une pertinence clinique toute particulière.

Les voies convergentes de 5-LO et COX₂

L'information sur l'implication du dérèglement du métabolisme de l'acide arachidonique dans le cancer qui vient d'être présentée est largement basée sur des études pharmacologiques. Il est évident que 5-LO et COX₂ montrent des similitudes dans leur expression et leur fonction dans le cancer humain :

- D'abord, 5-LO et COX₂ sont surexprimées dans un grand nombre de cancers et de tumeurs humaines, incluant le poumon, le côlon, la prostate, et le sein [Gupta S. et coll., 2000 ; Hennig R. et coll., 2002].
- Les deux enzymes 5-LO et COX₂ sont pro-angiogéniques avec une cible commune d'expression et de libération du VEGF [Doll J.A. et coll., 2001].
- Ensuite, les deux enzymes 5-LO et COX₂ actives sont localisées dans le noyau [Peters-Golden M. et Brock T.G., 2000].
- Finalement, la 5-LO et la COX₂ sont régulées par le stress génotoxique et inhibent la mort cellulaire [Han J.A. et coll., 2002].
- Les inhibiteurs de 5-LO, aussi bien que de COX₂, diminuent la croissance cellulaire et induisent la mort cellulaire par apoptose dans un certain nombre de cellules cancéreuses [Avis I. et coll., 2001] et semblent contrôler l'activation des PPARs [Jiang M. et coll., 2004].

En regard de ces résultats, peut-on émettre l'hypothèse que lorsqu'elles sont coexprimées, ces enzymes représentent un système intégré qui régule le potentiel prolifératif et pro-angiogénique des cellules cancéreuses ? Doit-on inclure dans ce système d'autres LOs (c'est-à-dire les isoformes 12 et 15) qui sont souvent exprimées dans les cellules cancéreuses [Hong S.H. et coll., 1999] ? Finalement, comment ce système fonctionne-t-il ?

Les inhibiteurs COX₂ sélectifs et non sélectifs furent utilisés *in vitro* et commencent à être utilisés *in vivo* pour étudier l'arrêt de la progression du cancer [Rao C.V. et Reddy B.S., 2004 ; Wagner M. et coll., 2005] :

- Un essai clinique (fait au hasard) a montré que le Célécoxib inhibe de manière significative la croissance de polypes adénomateux et cause la régression de polypes existant chez les patients avec une polypose adénomateuse (FAP) héréditaire [Steinbach G. et coll., 2000].
- Des études sur les rongeurs ont montré que l'inhibition pharmacologique sélective de l'activité de COX₂ prévient la carcinogenèse induite chimiquement [Kawamori T. et coll., 1998 ; Oshima M. et coll., 2001].

Récemment, le potentiel thérapeutique des inhibiteurs de COX₂ dans le cancer de la prostate a été prouvé [Keller J.J. et Giardiello F.M., 2003 ; Patel M.I. et coll., 2005].

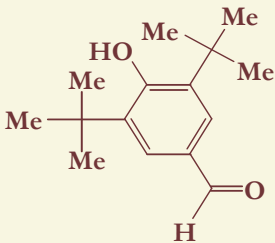
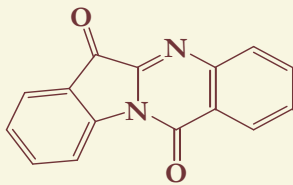
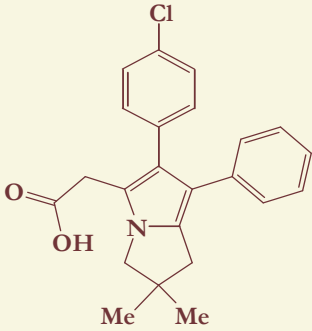
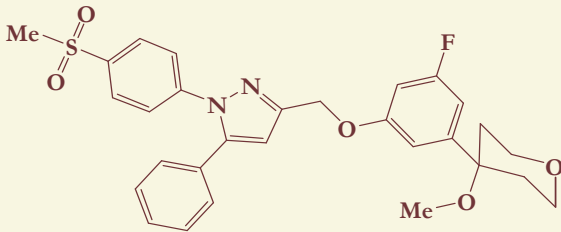
- Ces études *in vivo* ont clairement démontré que l'utilisation d'inhibiteurs sélectifs de COX₂ a un effet antitumoral remarquable, réduisant la surface tumorale de 93% [Zhu J. et coll., 2004 ; Patel M.I. et coll., 2005].
- Les études sur les animaux et les essais cliniques sont encourageants, particulièrement pour le cancer de la prostate [Pruthi R.S. et coll., 2004] bien que soient toujours en attente les résultats concernant leurs effets secondaires et le (ou les) mécanisme(s) précis d'action [Bresalier R.S. et coll., 2005].

Les inhibiteurs 5-LO sont aussi disponibles pour l'utilisation clinique [Drazen J.M., 1999] et les investigations menées sur eux en tant qu'agents anticancéreux potentiels semblent être encourageantes [Gupta S. et coll., 2001 ; Matsuyama M. et coll., 2004].

Un traitement idéal du cancer ciblé sur la dérégulation du métabolisme de l'acide arachidonique devrait donc bloquer 5-LO, COX₂, 12-LO et 15-LO-1 sans altérer ni induire la 15-LO-2. Aucun composé présentant ces capacités n'est actuellement disponible. Quoi qu'il en soit, la mise en évidence de l'activité sur l'arrêt de la progression cancéreuse justifie les recherches actuelles menées dans le but de trouver de nouveaux inhibiteurs mixtes 5-LO / COX₂ (tableau 4) :

- S-2474 [Inagaki M. et coll., 2000],
- la Tryptanthrine [Danz H. et coll., 2002],
- la Licofélone (ML-3000) [Tries S. et coll., 2002], entrée en phase III d'essais cliniques
- un dérivé méthoxytétrahydropyranne (ALIOX 18) [Barbey S. et coll., 2002].

Comparée à des inhibiteurs simples, cette classe d'inhibiteurs mixtes dispose de l'avantage d'une action anti-inflammatoire associée à une réduction d'effets indésirables [Fiorucci S. et coll., 2001]. Ces molécules n'ont pas encore été utilisées pour le traitement de patients atteints d'un cancer, car l'inhibition simultanée de 5-LO et de COX₂ doit pouvoir empêcher la production d'eicosanoïdes mitogènes et pro-angiogènes tels que PGE₂, 5-oxo-E₂E, 5(S)-HETE et LTA₄. Une difficulté dans la conception de tels inhibiteurs est de trouver une répartition du potentiel inhibiteur envers ces deux enzymes afin de ne pas favoriser une voie contrôlant la cascade de l'AA par rapport à l'autre [Julémont F. et coll., 2004].

Nom ou DCI	Structure	Activité
S-2474		$CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$
		$CI_{50} (COX_2) = 9,5 \text{ nM}$
		$CI_{50} (5\text{-LO}) = 2,5 \mu M$
Tryptanthrine		$CI_{50} (COX_1) = 37 \text{ nM}$
		$CI_{50} (COX_2) = 0,36 \mu M$
		$CI_{50} (5\text{-LO}) = 0,15 \mu M$
Licofélone		$CI_{50} (COX_1) = 0,16 \mu M$
		$CI_{50} (COX_2) = 0,37 \mu M$
		$CI_{50} (5\text{-LO}) = 0,21 \mu M$
ALIOX 18		$CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$
		$CI_{50} (COX_2) = 50 \text{ nM}$
		$CI_{50} (5\text{-LO}) = 3 \text{ nM}$

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Danz H. et coll., 2002 ; de De Leval X. et coll., 2002 et de Charlier C. et Michaux C., 2003.

Tableau 4 : Activité des inhibiteurs mixtes.

Les inhibiteurs de la 5-LO et des COXs

L'utilisation d'inhibiteurs mixtes 5-LO / COX₂ ouvre donc de nouvelles perspectives dans le traitement du cancer. Cette idée est effectivement attrayante d'un point de vue chimiothérapeutique car, contrairement aux thérapies agressives utilisées actuellement, qui fatiguent énormément le malade, ces molécules ne devraient toucher normalement que des processus biochimiques dont l'arrêt n'est pas létal pour les cellules saines.

Le but de cette étude est de concevoir avec l'assistance de la modélisation moléculaire, puis de synthétiser, une nouvelle classe d'inhibiteurs mixtes 5-LO / COX₂. Une première approche a consisté à effectuer une recherche bibliographique sur chaque type d'inhibiteurs afin de choisir, sur des critères d'activité et de sélectivité, des structures intéressantes à moduler en une nouvelle structure générale qui servira de support à des pharmacomodulations inspirées des relations structure-activité (RSA) décrites dans la littérature. De plus, en ayant conscience des récentes difficultés cardiovasculaires liées à la prise d'inhibiteurs COX₂ (C₂Is) pendant une expérience clinique sur le cancer du côlon [Bresalier R.S. et coll., 2005], les inhibiteurs mixtes seront modulés de façon à obtenir une inhibition potentielle envers la 5-LO associée à une inhibition envers COX₂ moins sélective. La CI₅₀ est la variable expérimentale la plus couramment utilisée pour rendre compte de l'activité inhibitrice des composés synthétisés mais peut varier suivant le modèle d'évaluation *in vitro* (sur cellules intactes ou cassées ou enzymes purifiées) ou *ex vivo* (sur sang total humain). Afin de distinguer les deux types de résultats, ceux obtenus sur sang total seront précisés.

I. Les inhibiteurs de la 5-LO

Des études sur les inhibiteurs de la 5-LO ont émergé trois classes d'inhibiteurs pouvant se distinguer en termes de sélectivité d'enzyme et d'interaction ou non avec l'atome de fer [i.e., en fonction de leur mécanisme d'action (figures 5 et 6)] :

- b.le mécanisme scavenger antioxydant et / ou de radicaux libres,
- c.le mécanisme qui chélate le fer de l'enzyme,
- d.le mécanisme par mimétisme du substrat.

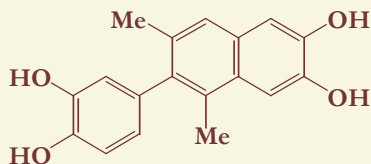
1. les inhibiteurs redox

Cette classe d'inhibiteurs englobe un large panel de composés qui agissent ponctuellement par réduction lors du mécanisme de la 5-LO : ils réduisent l'atome de fer activé (Fe³⁺) directement, ou bien l'intermédiaire radicalaire qui va ensuite désactiver l'enzyme.

❖ Les relations structure-activité décrites sur ces inhibiteurs

Peu de relations structure-activité peuvent être dégagées de cette classe de composés car ils sont peu reliés structuralement. Quelques critères sont toutefois remarquables :

- compte-tenu de la nature du substrat naturel, la lipophilie joue un rôle prédominant et les molécules sont généralement des aromatiques mono ou polycycliques (tableau 5),
- les potentiels oxydoréducteurs sont généralement bas.

Nom	Structure	Activité
Bis-catéchol		$CI_{50} (5-LO) = 0,80 \mu M$

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Dupont R. et coll., 2001.

Tableau 5 : Exemple d'inhibiteur redox.

❖ L'activité *in vivo* et la sélectivité de cette classe d'inhibiteurs

Les inhibiteurs redox sont des inhibiteurs potentiels de la 5-LO *in vitro* mais presque inactifs *in vivo*.

La faible sélectivité de ces composés envers la 5-LO peut s'expliquer parce qu'ils n'ont pas besoin de se lier fortement à l'enzyme pour agir et sont donc susceptibles d'interagir avec d'autres processus biochimiques oxydoréducteurs de l'organisme. D'ailleurs, l'une des conséquences de ces interactions est la formation de méthémoglobine dans le sang, ce qui les rend inutilisables en clinique [Bruneau P. et coll., 1991].

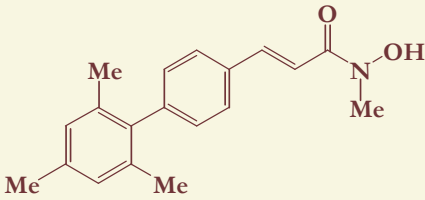
2. Les inhibiteurs chélateurs de fer

Les inhibiteurs chélateurs de fer sont une approche alternative pour l'inhibition de l'enzyme 5-LO.

En 1984, *Corey et ses collaborateurs* furent les premiers à évoquer que la seule présence d'un groupement acide hydroxamique, connu pour être un puissant chélateur de fer non hémique et de zinc des metalloprotéinases matricielles [Li Y.-L. et Xu W.-F., 2004], sur des molécules simples suffit pour obtenir des inhibiteurs potentiels de la 5-LO. Dès lors, cette fonctionnalité fut utilisée pour explorer le mode de liaison des ligands bidentates à la 5-LO [Kerdesky F.A.J. et coll., 1987].

❖ Les relations structure-activité décrites sur ces inhibiteurs

L'optimisation du pouvoir inhibiteur des acides hydroxamiques a fourni des composés dont l'inhibition *in vitro* est de l'ordre du nanomolaire (tableau 6).

Nom	Structure	Activité
Acide arylohydroxamique		$CI_{50} (5-LO) = 22 nM$

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Summers J.B. et coll., 1987.

Tableau 6 : Inhibiteur chélateur de fer optimisé.

Elle a permis également d'établir un modèle de pharmacophore (tableau 7) comprenant une fonction acide hydroxamique reliée à un motif lipophile par un espaceur.

	Acide hydroxamique de type A	Acide hydroxamique de type B
Structure		
Activité	CI_{50} (5-LO) = 0,28 μ M	CI_{50} (5-LO) = 0,37 μ M

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Summers J.B. et coll., 1988^a.

Tableau 7: Comparaison des deux types d'acide arylhydroxamique.

Ce pharmacophore fut désigné comme acide hydroxamique de type A. Mais la fonction hydroxamique présente une faiblesse *in vivo* : elle est sujette en partie au catabolisme qui la transforme en acide carboxylique totalement inactif sur l'enzyme. La désactivation *in vivo* peut être retardée si l'atome d'azote de la fonction hydroxamique est substitué par un méthyle, mais ceci n'est pas une issue et l'optimisation du pouvoir *in vivo* des chélateurs de fer a fourni des composés qui résistent à cette voie de métabolisme. Ils sont appelés « rétro-hydroxamates » (ou « acide hydroxamique de type B ») (tableau 7) car l'enchaînement atomique est inversé. Ces composés portent un petit chaînon tel qu'un méthyle attaché au carbonyle de l'acide hydroxamique et un substituant hydroxyle attaché à l'atome d'azote. Bien que cette inversion conduise à des composés isostères, il en résulte des propriétés profondément différentes *in vivo*.

Actuellement, le meilleur composé issu des plans de recherche sur l'optimisation des acides hydroxamiques de type B est une hydroxyurée : le Zileuton (Abbott-64077 ; *N*-(1-benzo[*b*]thiën-2-yléthyl)-*N*-hydroxyurée) (tableau 8) [Payne A.N. et coll., 1991]. Il fut commercialisé en 1996 en tant que premier médicament d'une nouvelle classe d'antileucotriènes mais a montré également de nombreux effets toxiques d'ordre hépatique.

Structure	Activité
	CI_{50} (5-LO) = 700 nM sang total humain

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Brooks C.D.W. et Summers J.B., 1996.

Tableau 8: Zileuton.

❖ L'activité *in vivo* et la sélectivité de cette classe d'inhibiteurs

Les acides hydroxamiques de type B présentent une forte biodisponibilité et circulent plus longtemps dans le sang. Par exemple sur le tableau 7, le composé de type B a un temps de demi-vie de 2,5 fois celui de son analogue de type A et sa voie majeure de métabolisme est la conjugaison en glucuronide suivi d'une excrétion biliaire.

En général, l'optimisation des composés des deux types d'acides hydroxamiques se traduit par un manque d'énantiosélectivité et ils disposent d'une sélectivité enzymatique limitée [Summers J.B. et coll., 1988^b]. De plus, en 1991, Riendeau et ses collaborateurs ont démontré que ces composés possèdent de faibles propriétés redox qui s'accroissent en présence de l'atome de fer. Face au doute sur la vraie activité des inhibiteurs chélateurs de fer, les recherches se sont poursuivies dans le but de trouver des composés interagissant spécifiquement et fortement avec l'enzyme.

3. Les inhibiteurs non-redox

Compte-tenu de la toxicité que peut apporter l'utilisation des inhibiteurs 5-LO conçus jusqu'ici, la firme pharmaceutique Astra Zeneca a entrepris des plans de recherche structure-activité dans le but de découvrir des inhibiteurs ciblant le site actif de la 5-LO et dépourvus de propriétés redox ou chélatrices de fer [Bird T.G.C. et coll., 1991]. De ces études, d'importantes RSA émanèrent et représentent, à l'heure actuelle, un accomplissement majeur dans le design *de novo* d'inhibiteurs 5-LO.

❖ Les relations structure-activité décrites sur ces inhibiteurs

Le raisonnement logique suivi pour la conception de ces inhibiteurs s'est basé sur la connaissance du mécanisme intrinsèque de la 5-LO qui implique une déprotonation (présence d'un acide aminé basique) et une oxydation (présence de fer).

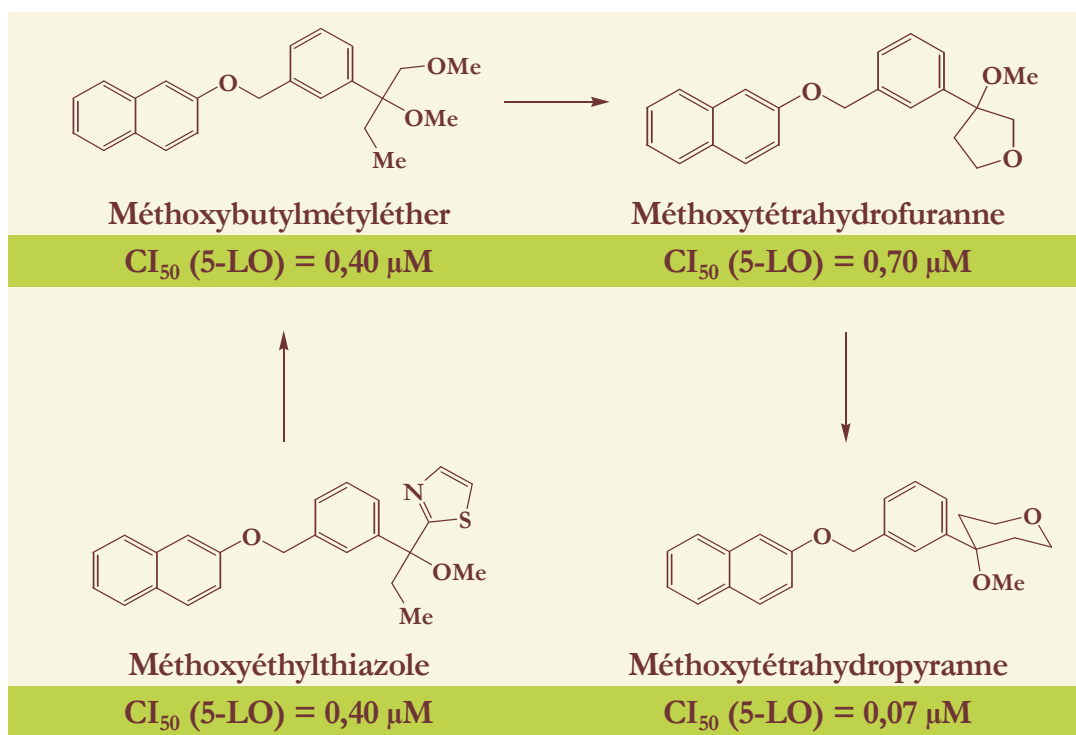
Les premières approches ont conduit à des séries d'hydroxyalkylimidazole (A) et de sulfonamidothiazole (B) (figure 15) qui comprenaient un groupe pouvant être déprotoné et un groupe pouvant interagir avec l'atome de fer.



Figure 15 : Premières approches.

Ces composés, bien qu'actifs *in vitro*, ont un défaut : ils perdent totalement leur activité *in vivo*. Alors, l'idée de fusionner les deux structures fut émise et fut positive car les composés de type méthoxyalkylthiazole (tableau 9), dont l'activité correspondait avec celle espérée sont apparus [Bird T.G.C. et coll., 1991].

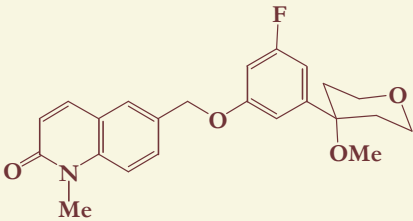
Le méthoxyéthylthiazole (CI₅₀ (5-LO) = 0,40 μM) représentait alors un « hit » à développer pour le design de nouveaux chefs de file. Son évolution s'effectua étape par étape à travers des séries d'éthers et d'esters [Crawley G.C. et coll., 1992 ; Falguyret J.P. et coll., 1993] pour aboutir à un dérivé méthoxytétrahydropyranne (tableau 9).



Source : Tableau établi à partir des valeurs de Brooks C.D.N. et Summers J.B., 1996.

Tableau 9 : Méthoxyéthylthiazole et son évolution.

Par la suite, en ciblant une alternative plus soluble que le groupe naphthyle, et bloquant un site potentiel de métabolisme par un fluor, l'exploration aboutit en l'inhibiteur achiral sélectif et oralement actif le ZD-2138 [Crawley G.C. et coll., 1992] (tableau 10).

Structure	Activité
	CI_{50} (5-LO) = 20 nM sang total humain

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Brooks C.D.N. et Summers J.B., 1996.

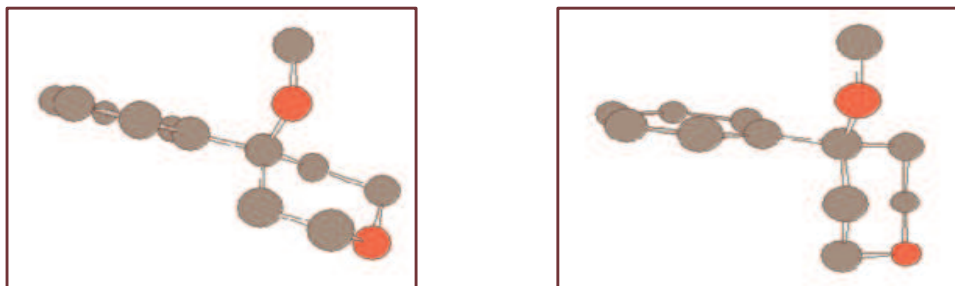
Tableau 10 : ZD-2138.

Les tests d'inhibition sur sang total humain menés sur les composés du tableau 9 confirmèrent l'importance de l'atome d'oxygène du tétrahydropyranne pour une bonne activité. Cet atome doit impérativement être séparé du carbone lié au fluorophényle par deux atomes de carbone saturés.

En complément, une étude de modélisation moléculaire fut réalisée dans le but d'identifier les conformations actives de ce composé (sa structure ne correspondant plus au modèle structure-activité original suivi pour le design de cette classe d'inhibiteurs) [Lambert-van der Brempt C. et coll., 1994].

Il fut démontré que :

- Le cycle phényle central et le méthoxy occupent l'espace à l'intérieur du site actif de la même façon que le thiazole,
- Le groupe méthoxy est important car il interagit avec l'enzyme mais aussi parce qu'il assure les conformations nécessaires à l'activité, avec le phényle en position équatoriale (figure 16).



Source : Figure établie à partir de Lambert-van der Brempt C. et coll., 1994.

Figure 16 : Modélisation moléculaire d'un modèle simplifié du ZD-2138. La conformation du phényle en position équatoriale est présente à 93%.

❖ L'activité *in vivo* et la sélectivité de cette classe d'inhibiteurs

Les recherches menées ont donc abouti à démontrer que les séries méthoxyalkylthiazole [Bird T.G.C. et coll., 1991] et 4-méthoxytétrahydropyranne [Bird T.G.C. et coll., 1992] ont des activités proches, sélectives *in vitro* sur sang total et *in vivo* sur la 5-LO ; et que les méthoxyalkylthiazoles entraînent une inhibition énantiométrique de la 5-LO.

La structure de la 5-LO n'ayant jamais été résolue par diffraction de rayons X, il est difficile d'apprécier le mode d'action de ces composés notamment s'ils sont de nature achiraux. Quoi qu'il en soit, les résultats des tests pharmacologiques attestent de leur activité et les programmes de recherche ont abouti à la définition de pharmacophores dont deux types sont remarquables et utilisables pour la conception d'inhibiteurs : les chélateurs du fer et les inhibiteurs compétitifs non-redox. Le but de cette étude étant de découvrir de nouveaux outils pharmacologiques, en regard des activités *in vitro* relevées et du fait qu'elles soient encore d'actualité [Surman M.D. et coll., 2002], la fonction acide hydroxamique de type A a été retenue. De plus, cette fonction est intéressante chimiquement car théoriquement facilement accessible en une étape à partir d'une fonction acide carboxylique tandis qu'une hydroxyurée n'est obtenue qu'après une synthèse multiétapes. La partie achirale méthoxytétrahydropyranne (MTHP) du ZD-2138 est retenue comme deuxième inhibiteur de choix. Le groupement méthylquinolonyl sera retiré en vue de le remplacer par la partie inhibitrice COX conçue dans cette étude (des RSA ont justifié que le groupement MTHP peut être utilisé avec d'autres supports lipophiles [Ducharme Y. et coll., 1994] et même être modulé [Mano T. et coll., 2005] sans que l'activité ne soit altérée). De plus, en regard des études récentes menées sur des composés très lipophiles [Kolossa T. et coll., 2000^a; Kolossa T. et coll., 2000^b; Audouin C. et coll., 2001], le MTHP reste le plus intéressant à utiliser pour la conception et l'évaluation d'inhibiteurs mixtes.

II. Les inhibiteurs des COXs

Les produits pharmaceutiques inhibant les COXs par excellence sont l'Aspirine et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS).

Les recherches en pharmacologie ont déterminé les structures des sites actifs des COXs et ont prouvé que les effets indésirables gastro-intestinaux de ces composés sont liés à l'inhibition de COX₁. L'exploitation des différences en acides aminés présents dans les sites actifs a permis d'élaborer la classe des inhibiteurs sélectifs de COX₂, les C₂Is, conçus pour régler les effets indésirables des AINS [Hawkey C.J., 1999].

La classification des inhibiteurs utilisée actuellement fut établie par *Kurumbail et ses collaborateurs* en 1996. Les inhibiteurs se distinguent principalement par leur mode d'interaction avec les protéines :

- Inhibiteurs irréversibles COX₁ et COX₂ (Aspirine)
- Inhibiteurs réversibles, compétitifs COX₁ et COX₂ (Ibuprofène)
- Inhibiteurs lents COX₁ et COX₂
- Inhibiteurs lents et irréversibles sélectifs COX₂

L'origine de ces composés date depuis plus d'un demi-siècle, et la molécule qui est à l'origine de la structure des AINS sélectifs de COX₂ est le NOVALDEX[®] (Tamoxifène) utilisé en oncologie.

1. Les AINS de première génération

L'évènement à l'origine de la recherche sur les inhibiteurs des COXs est la découverte des oestrogènes et d'un analogue de synthèse simplifié : le Diéthylstilbestrol (DES) car la pharmacomodulation de ce composé a conduit à de nouvelles molécules possédant une activité potentielle dans l'inflammation. Le premier composé issu de l'optimisation du DES pour des effets antagonistes aux oestrogènes, le Tamoxifène, fut commercialisé par Astra Zeneca dans le cadre du traitement du cancer du sein. Puis la restriction conformationnelle du Tamoxifène en système cyclique rigide conduisit à l'indène U-11,555 [Lednicer D. et coll., 1965]. Dans la continuité, les recherches débouchèrent sur un nouveau « lead » : l'Indoxole (figure 17).

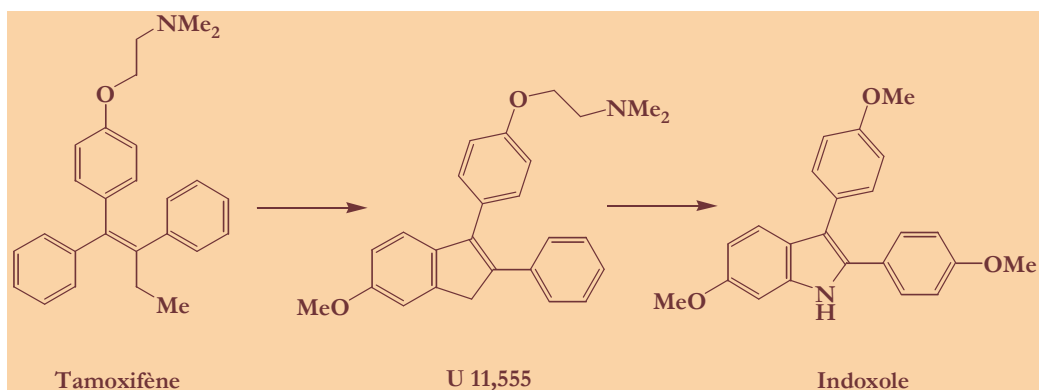


Figure 17: Evolution vers les premiers anti-inflammatoires.

L'Indoxole [Szmusjkovick B. et coll., 1966], conçu par la firme Upjohn, montra une activité anti-inflammatoire très bonne [Glenn M.Y. et coll., 1967 ; de Leval X. et coll., 2000] à rapprocher même de celle de l'Aspirine. La découverte du mécanisme d'action de l'Aspirine (figure 18) [Vane J.R., 1971] suscita de nouveaux programmes de recherche sur des composés de type « Aspirine-like » (c'est-à-dire des propriétés équipotentes à celles de l'Aspirine).

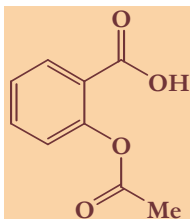


Figure 18 : Structure de l'aspirine.

Un travail utilisant les analogies de cycle entreprises sur le vieux lead Indoxole aboutit sur le chef de file nommé Itazigrel (figure 19) dans lequel les atomes d'hydrogène sur le méthyle du thiazole ont été remplacés par des atomes de fluor afin de pallier à l'hydrolyse et à la décarboxylation du composé méthylé en milieu acide [Rynbrandt R.H. et coll., 1981].

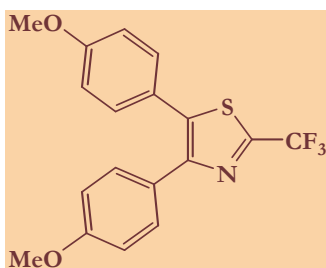


Figure 19 : Structure de l'Itazigrel.

Ce composé porte deux cycles phényle dans la même position que ceux de l'U-11,555 et ce motif sembla être responsable de l'activité anti-inflammatoire car toutes les modulations de structure effectuées ont engendré une perte d'activité (figure 20).

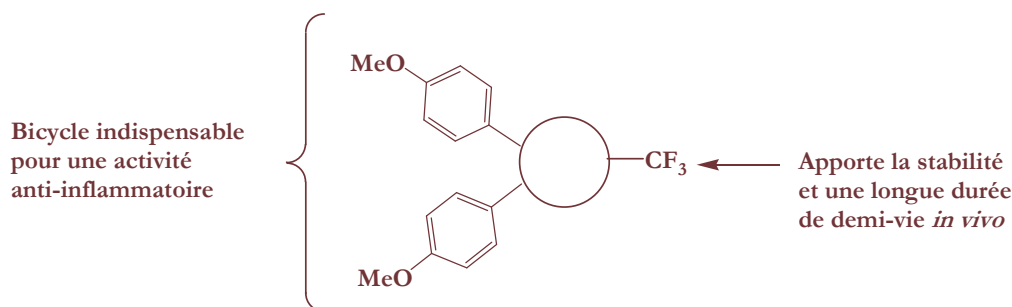
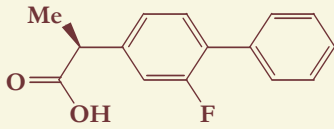
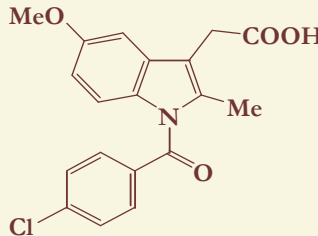
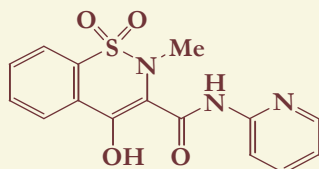
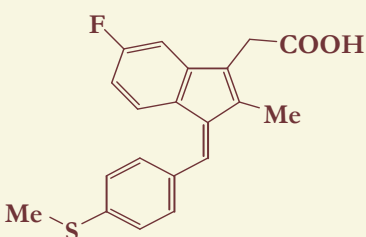


Figure 20 : RSA sur la structure de l'Itazigrel.

Les recherches se poursuivirent jusqu'au milieu des années 90, où furent découverts les « profènes » et les AINS les plus puissants tels que le Flurbiprofène, l'Indométacine, le Kétorolac, le Piroxicam et le Sulindac dont le sulfide est un métabolite actif (tableau 11). La plupart de ces médicaments tiennent leur efficacité d'une interaction forte avec le site de liaison du substrat par leur fonction acide carboxylique [Kurumbail R.G. et coll., 1996 ; Llorens O. et coll., 2002] et empêchent de la sorte l'entrée de l'AA dans l'enzyme.

DCI	Structure	Activité
S-Flurbiprofène		$CI_{50} (COX_1) = 0,29 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 2,56 \mu M$ sang total humain
Indométacine		$CI_{50} (COX_1) = 0,16 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 0,46 \mu M$ sang total humain
Kétorolac		$CI_{50} (COX_1) = 0,33 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 0,86 \mu M$ sang total humain
Piroxicam		$CI_{50} (COX_1) = 0,76 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 8,99 \mu M$ sang total humain
Sulindac sulfide		$CI_{50} (COX_1) = 1,02 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 10,43 \mu M$ sang total humain

Source : Tableau établi à partir des valeurs de la revue Dannhardt G. et Kiefer W., 2001.

Tableau 11: AINS les plus puissants.

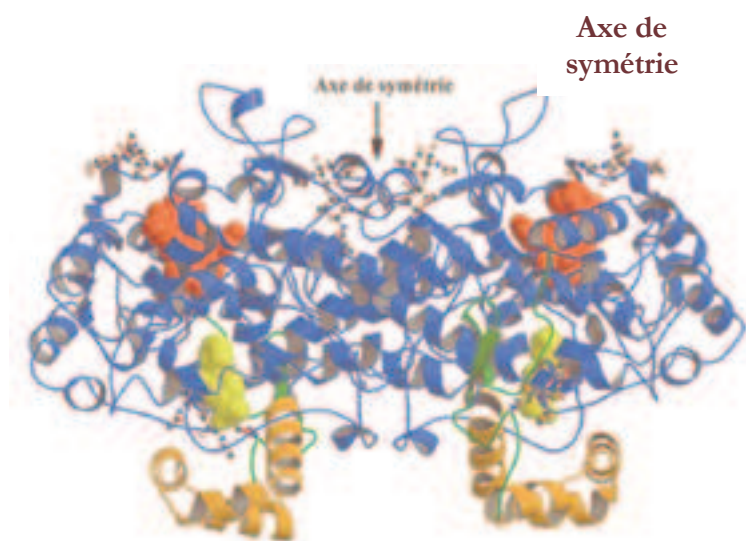
Les AINS présentent néanmoins un défaut bien connu qui se manifeste par la dégradation des muqueuses gastriques. Cet effet apparaît suite à l'inhibition des prostaglandines produites par COX_1 qui normalement régulent le bon fonctionnement de l'estomac [Blower P.R., 1992]. Depuis les trente dernières années, approximativement trente AINS ont été mis sur le marché et tous possèdent ces effets indésirables [Lewis A.J. et Furst D.E., 1994].

L'intérêt des chercheurs s'est ensuite dirigé vers la conception de molécules libérées de tout effet secondaire de type gastrique, c'est-à-dire des molécules inhibant COX_2 sélectivement, et qui a largement profité de l'amélioration des connaissances sur les sites actifs des isozymes.

2. La structure des deux isoformes COXs

La caractérisation structurale des COXs a montré qu'en dépit de leurs différences génétiques, elles possèdent des propriétés physiques et catalytiques proches. COX₁ et COX₂ ont une structure voisine : chez l'homme les séquences en acides aminés sont identiques pour plus de 60%. Les régions concernées sont les régions impliquées dans la catalyse enzymatique. La majeure partie des études structurales et biochimiques a été réalisée sur la COX₁ (figure 21).

❖ La structure de COX₁



Source : Figure établie à partir de Garavito R.M. et coll., 2002.

Figure 21 : Structure tridimensionnelle de COX₁.

Sa structure tridimensionnelle en homodimère [Garavito R.M. et coll., 2002] montre qu'il s'agit d'une hémoglycoprotéine membranaire constituée de deux sous-unités identiques possédant chacune trois domaines (figure 22) :

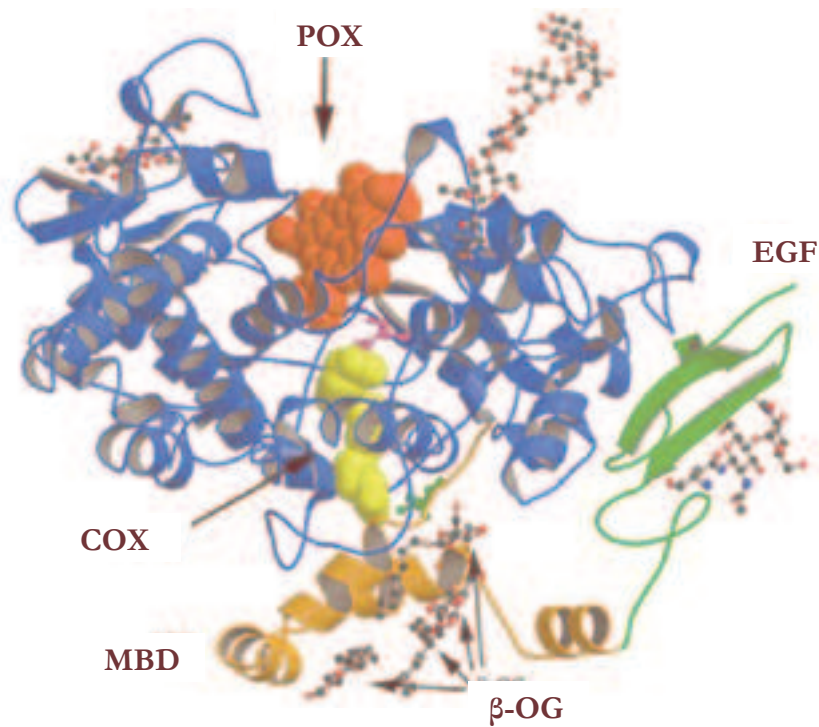
- un domaine EGF like (Epidermal Growth Factor) situé à l'extrémité N-terminale de la protéine,
- un domaine de liaison membranaire qui forme une large surface hydrophobe permettant l'ancrage de la protéine à la membrane,
- un domaine catalytique qui comporte en réalité deux sites adjacents mais distincts correspondant aux deux activités enzymatiques de la PGHS :

a. le site cyclooxygénase (COX)

b. le site peroxydase (POX)

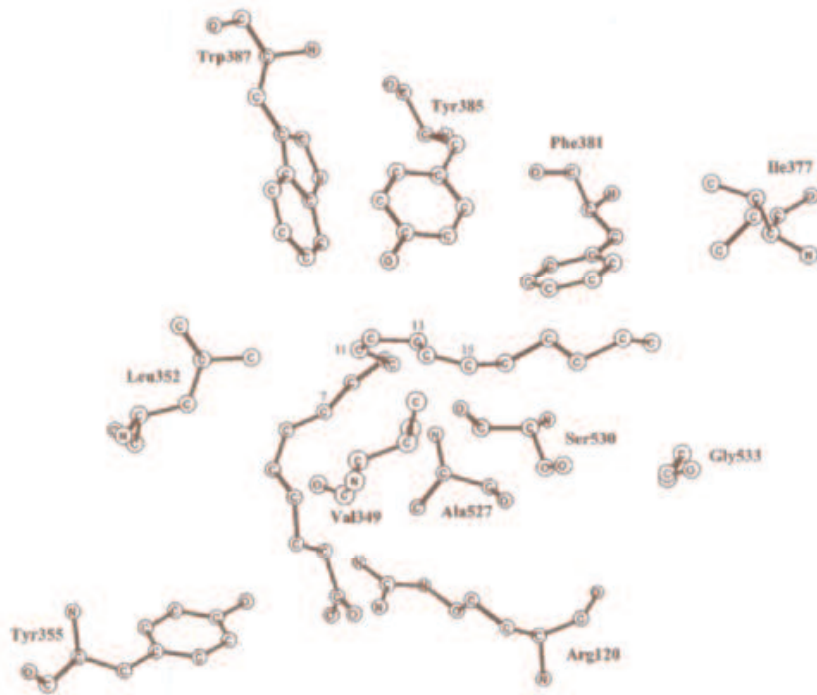
Le site actif de COX₁ (figure 22) se présente comme un long canal hydrophobe qui s'étend du domaine de liaison membranaire au centre du domaine catalytique. Il comporte des acides aminés essentiels à l'activité :

- **Arg¹²⁰** qui permet une liaison ionique avec le carboxylate de l'acide arachidonique.
- **Tyr³⁸⁵** qui initie l'activité cyclooxygénase en provoquant l'arrachement stéréospécifique de l'atome d'hydrogène en C₁₃ de l'acide arachidonique.
- **Ser⁵³⁰**, site d'acétylation de l'Aspirine, qui oblige l'acide arachidonique à se courber d'une façon particulière, en forme de «L» pour pouvoir être transformé (figure 22) [Park C.H., 1999].



Source : Figure établie à partir de Garavito R.M. et coll., 2002.

Figure 22 : Trois domaines d'activité de COX₁ ;
l'AA est coloré en jaune, l'hème en rouge.



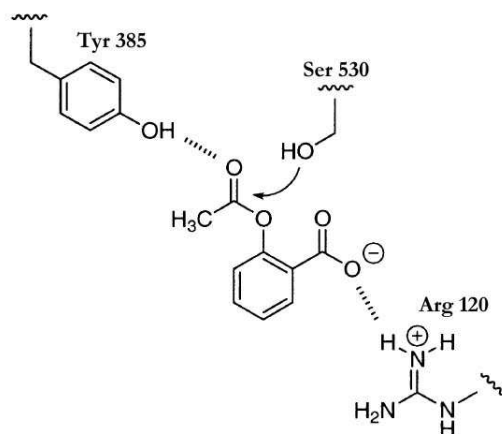
Source : Figure établie à partir de Blomberg L.M. et coll., 2003.

Figure 23 : Site actif de COX₁.

La figure 23 permet d'apprécier les interactions COX-AA significatives. Elles sont principalement hydrophobes sauf deux interactions hydrophiles à l'entrée du site actif. Les interactions hydrophiles sont caractérisées par une chélation (ou pont salin) entre le carboxylate de l'AA, l'acide aminé **Arg**¹²⁰ et l'hydroxyle de la **Tyr**³⁵⁵ [Thuresson E.D. et coll., 2001].

❖ Le mécanisme d'action de l'Aspirine

Les repliements de la protéine font que le site d'acétylation par l'Aspirine est situé au voisinage immédiat du site catalytique, et ces deux sites se trouvent au sommet du canal. La fixation des AINS ou de l'Aspirine sur la **Ser**⁵³⁰ (figure 24) bloque l'accès du canal hydrophobe à l'acide arachidonique qui ne peut plus être converti en PGs. Ce mécanisme d'« exclusion stérique » qui permet d'expliquer le mécanisme d'action des AINS fut mis en évidence par *Vane et ses collaborateurs* en 1971.



Source : Figure établie à partir de Marnett L.J., 2002.

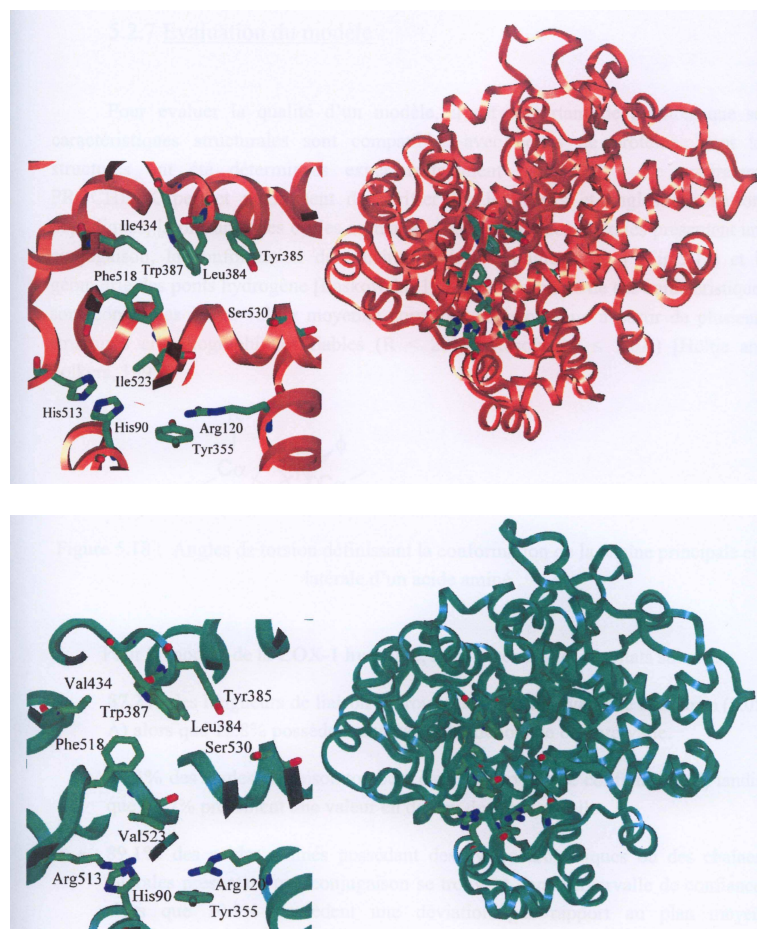
Figure 24 : Mécanisme d'action de l'Aspirine.

❖ La structure de COX₂

La récente résolution de la structure tridimensionnelle de COX₂ a permis, par comparaison avec COX₁, de mettre en évidence les modifications structurales pouvant jouer un rôle majeur dans une sélectivité d'inhibition vis-à-vis de COX₂ (figure 25) [Rome L.H. et Lands W.E.M., 1975].

Un acide aminé du canal hydrophobe situé au voisinage du site actif **Tyr³⁸⁵** et qui est une valine dans COX₂ au lieu d'une **Ile⁵²³**, favorise un élargissement du canal hydrophobe dans COX₂ (par diminution de l'encombrement stérique).

Un acide aminé situé au sommet du canal hydrophobe, qui est une **Leu⁵⁰³** dans COX₂ au lieu d'une **Phe⁵⁰³** dans COX₁, suggère qu'avec cette séquence le site actif de COX₂ est également un peu plus large.



Source : Figure établie à partir de Michaux C., 2004.

Figure 25 : Modèles de la COX₁ (rouge) et de la COX₂ (vert) humaines et sites actifs.

COX₁ et COX₂ sont donc des enzymes très semblables et ce n'est que la « poche latérale » (**Ile⁵²³** → **Val⁵²³**) de l'enzyme qui peut déterminer la sélectivité différentielle entre les COXs. Cette différence a alors été exploitée pour développer des antagonistes sélectifs de la COX₂, comme les C₂Is, qui grâce à un groupement stérique original, viennent se loger dans la cavité de COX₂ pour empêcher l'entrée du précurseur de la synthèse des PGs. L'absence de poche latérale et d'un canal trop étroit dans COX₁ ne permettent pas une inhibition semblable par ces molécules.

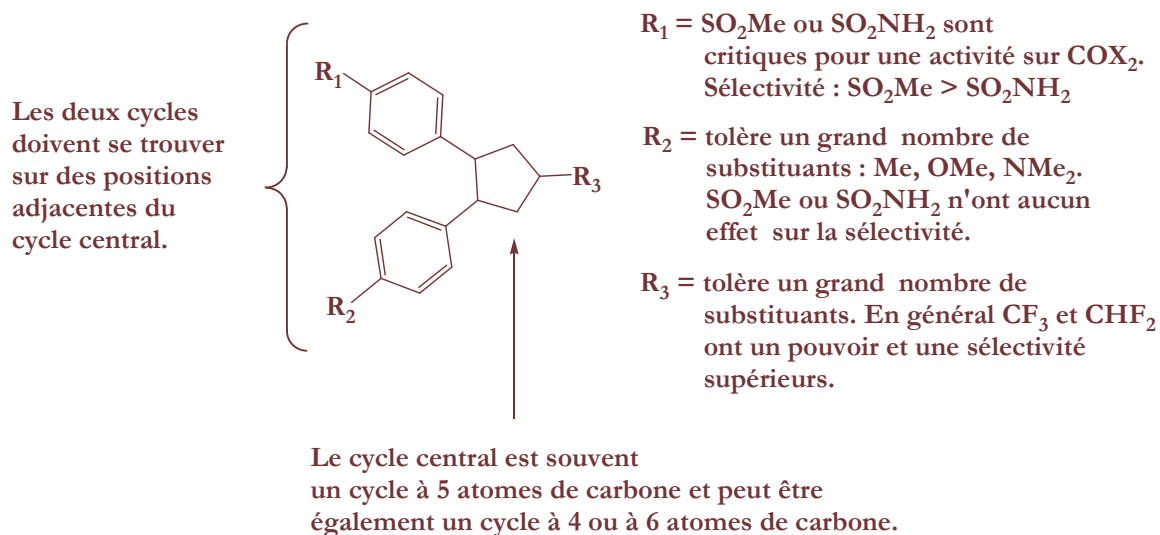
3. Les AINS de seconde génération : les C₂Is

Une nouvelle vague de recherche sur les AINS apparut vers la fin des années 90. Deux grandes voies ont abouti à la mise au point de molécules à fort potentiel sélectif vis-à-vis de COX₂.

❖ Les modulations effectuées sur le diarylhétérocycle.

En 1997, sur la base des RSA établies précédemment sur la structure de l'Itazigrel (figure 19), *Penning et ses collaborateurs* ont découvert un diarylpyrazole inhibant sélectivement COX₂ avec un effet réduit sur l'estomac : le Célécoxib (sélectivité : CI₅₀ (COX₂ / COX₁) = 0,002) (tableau 12). Les analogies de ce composé avec l'Itazigrel sont encore plus remarquables car le méthoxyphényle du thiazole est métabolisé en phénol et les groupes aminosulfonyls tels que celui présent sur le pyrazole sont toujours biologiquement isostères des phénols. Les produits issus de ce programme de recherche possèdent en effet une caractéristique structurale : le groupement méthylsulfone ou le groupement aminosulfone, qui leur permettent soit de s'insérer (méthylsulfone), soit de se lier par liaisons hydrogène (aminosulfone) dans la «cavité latérale» du site actif de COX₂ et qui leur confère cette sélectivité. **Ile**⁵²³ est donc suffisamment volumineuse pour en bloquer l'accès dans COX₁.

Les relations structure-activité issues de ces recherches (figure 26) ont ensuite été prises en compte pour la conception des nouveaux C₂Is et plus de 500 C₂Is ont été décrits depuis [Hashimoto H. et coll., 2002 ; Santagati A. et coll., 2003 ; Uddin J. et coll., 2003 ; Biava M. et coll., 2005]. Les structures des nouvelles molécules telles que le Rofécocixib [Prasit P. et coll., 1999], le Valdécocixib, le Parécocixib sodium [Sorbera L.A. et coll., 2001], et le Cimicocixib [Sorbera L.A. et Ramis T., 2004] gardent le squelette de base mais présentent cependant plusieurs changements dans leurs fonctionnalités (tableau 12). Les produits appartenant à ce groupe sont caractérisés par un ratio CI₅₀ (COX₂ / COX₁) < 0,01.



Source : Figure établie à partir des données de Penning T.D. et coll., 1997.

Figure 26 : RSA sur les diarylhétérocycles.

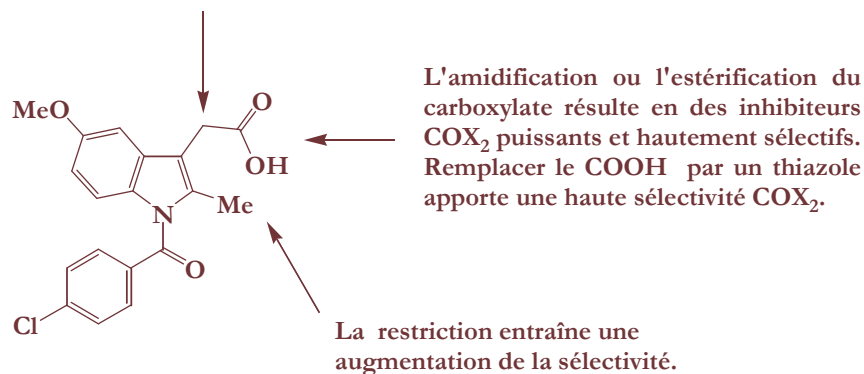
DCI	Rofécoxib	Cimicoxib	Célécoxib
Structure			
Activité	$CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 645 \text{ nM}$ sang total humain	$CI_{50} (COX_1) = 6 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 140 \text{ nM}$ sang total humain	$CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 69 \text{ nM}$ sang total humain
DCI	Parécocixib sodium (prodrogue)		Valdécoxib
Structure			
Activité	$CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 5 \text{ nM}$ sang total humain		

Tableau 12 : Nouveaux AINS : les coxibs.

❖ Les modulations de l'Indométacine en inhibiteurs COX₂ sélectifs

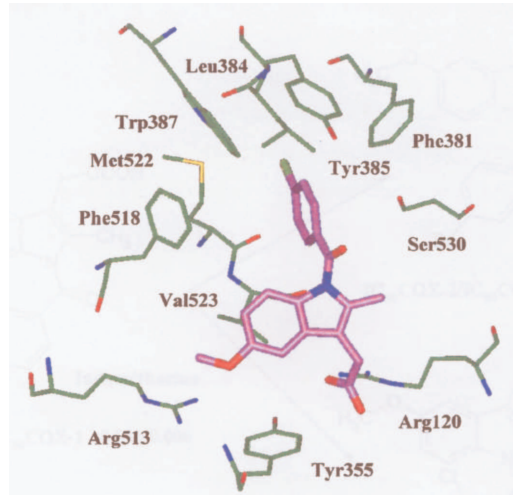
Les premières études montrant que de simples modifications sur la structure pouvaient inverser la sélectivité de l'inhibiteur et parfois en accentuer le potentiel (figure 27) ont pris en compte les informations des structures obtenues par diffraction de RX (figure 28).

L'homologation par élongation de la chaîne polyméthylénique à 3 et 4 atomes de carbone amène la sélectivité. Au delà, une perte d'activité est observée.



Source : Figure établie à partir des données de Black W.C. et coll., 1996 ; Kalgutkar A.S. et coll., 2000 ; Woods K.W. et coll., 2001.

Figure 27 : Premières modulations de l'Indométacine en C₂Is.



Source : Figure établie à partir de Michaux C., 2004.

Figure 28 : Indométacine dans le site actif de COX₂.

La cocrystallisation de l'Indométacine au sein de la COX₂ (4COX) et de la COX₁ (1 PGF, 1 PGG : format pdb) a prouvé que cette molécule interagit suivant un mode similaire à celui de l'Aspirine : elle se lie à **Arg**¹²⁰ par sa fonction acide et son squelette carboné remplit le canal hydrophobe. Le carbonyle est proche de **Ser**⁵³⁰ et le groupement méthoxy interagit avec **Tyr**³⁵⁵.

Les recherches se sont également dirigées vers la modulation du p-chlorobenzoyle. Les molécules issues d'une isomérisation de position [Allais A. et coll., 1975] possèdent un pouvoir ulcérogène rendant la marge thérapeutique comparable à celle de l'Indométacine (figure 29).

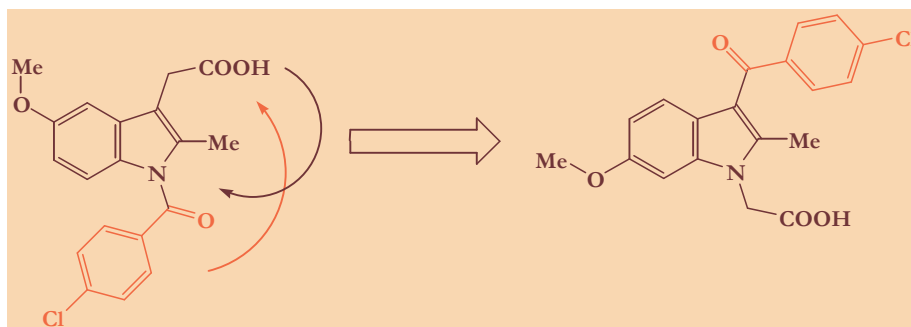
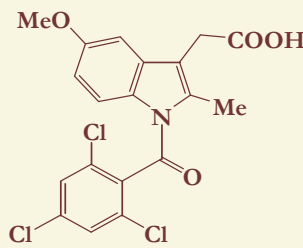
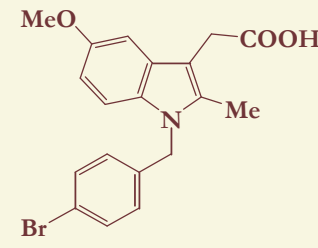


Figure 29 : Structure de la Clométacine.

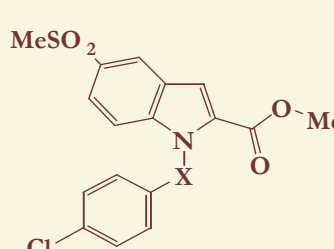
Puis la modulation par un trichlorobenzoyle plus encombré stériquement qui empêche l'insertion du L-748,780 dans le site actif de COX₁ ou un benzyle qui présente une lipophilie et une flexibilité augmentées ont mené à des chefs de file dénués de toute activité sur COX₁ (tableau 13) [Black W.C. et coll., 1996].

Nom	L-748,780	
Structure		
Activité	$CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 500 \text{ nM}$	$CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 9 \text{ nM}$

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Black W.C. et coll., 1996.

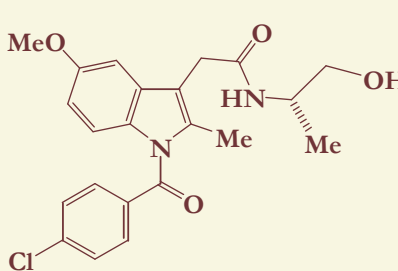
Tableau 13 : Modulations du benzoyle de l'Indométacine.

Les autres modulations effectuées sont d'une part, une approche de bioisostérie de l'éther de l'Indométacine par un groupe équivalent méthanesulfonyle qui pénètre certainement dans la poche latérale hydrophile responsable de la sélectivité combinée à la restriction de la fonction acide acétique (perte de la liaison à **Arg**¹²⁰) et à la modulation du méthyle latéral en ester de méthyle [Palomer A. et coll., 2002], d'autre part des molécules chirales de type éthanamide qui suivent le principe de stéréospécificité. L'énantiomère S fait preuve d'une inhibition sélective envers COX_2 [Woods K.N. et coll., 2001] tandis que l'énantiomère R inhibe les $COXs$ de manière non sélective. Ces approches ont fourni des composés dont l'inhibition sur COX_2 est de l'ordre du nanomolaire (tableaux 14 et 15).

Structure	Activité
	$X = CO$ $CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 730 \text{ nM}$
	$X = CH_2$ $CI_{50} (COX_1) > 10 \mu M$ $CI_{50} (COX_2) = 650 \text{ nM}$

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Palomer A. et coll., 2002.

Tableau 14 : Dérivé portant une méthylsulfone.

Structure	Enantiomère	Activité
	R	$CI_{50} (COX_2) / CI_{50} (COX_1) = 0,454$
	S	$CI_{50} (COX_2) / CI_{50} (COX_1) = 0,005$

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Woods K.N. et coll., 2001.

Tableau 15 : Dérivés énantiométriques de l'Indométacine.

Les programmes de recherche sur les C₂Is ont abouti à la création de pharmacophores dont deux catégories sont remarquables et peuvent être utilisées dans la conception d'inhibiteurs mixtes : les diarylhétérocycles et les dérivés de l'Indométacine. Si la toxicité digestive constitue le défaut majeur des AINS actuels, on ne saurait donner d'autres qualités aux C₂Is que d'être des AINS non ulcérogènes.

Les indications de Célécoxib actuellement reconnues sont le soulagement de symptômes dans le traitement de l'arthrose et de la polyarthrite rhumatoïde. Des premiers essais cliniques utilisant le Célécoxib [Solomon S.D. et coll., 2005] et le Rofécoxib [Bresalier R.S. et coll., 2005] ont débutés dans le cadre du traitement du cancer du côlon mais aucune conclusion ne peut être dressée suite aux observations d'effets secondaires d'ordre cardiovasculaire. Ces effets indésirables sont à relier aux risques d'infarctus du myocarde mis en évidence chez des patients sous Rofécoxib dans l'étude VIGOR [Mukherjee D. et coll., 2001]. Ils remettent en cause 20 années de prescription et sont rationalisés de la manière suivante : comme le Célécoxib et le Rofécoxib respectent COX₁, ils pourraient rompre l'équilibre entre PGE₂ et TXA₂ au profit de ce dernier, vasoconstricteur et pro-agrégant [Dogné J.M. et coll., 2005].

Par conséquent, ont été retirés du marché les composés « à risque » [Okie S., 2005 ; Eisenberg R.S., 2005 ; Drazen J.M., 2005] en attendant de mieux discerner les métabolites qui les rendent toxiques [Reddy L.R. et Corey E.J., 2005 ; Berembaum F., 2005]. Alors que des recherches sont en cours sur le développement des composés diarylhétérocycliques et que ce motif a déjà inspiré la conception d'une classe d'inhibiteurs mixtes [Barbey S. et coll., 2002], la voie de modulation de l'Indométacine en inhibiteur mixte a été moins étudiée [de Leval X. et coll., 2002]. Face à la qualité des activités décrites sur certains analogues C₂Is de l'Indométacine, la pharmacomodulation de l'AINS non sélectif le plus puissant en C₂I est le concept choisi dans cette étude.

CONCEPTION

Conception des nouveaux inhibiteurs mixtes

Au cours de la réflexion sur la conception d'inhibiteurs mixtes, certaines étapes de stratégie ont semblé essentielles à respecter.

- Il est possible de trouver une structure de base innovante et stable chimiquement qui soit en adéquation avec les relations structure-activité obtenues sur les deux classes d'inhibiteurs.
- Des hits peuvent être désignés suite à une représentation moléculaire en trois dimensions.
- Ces structures de base peuvent ensuite être modulées dans le but d'obtenir des analogues plus sélectifs.

I. Le motif de base est une tétrahydro- γ -carboline

L'Indométacine est un inhibiteur COX non sélectif [Prusakiewicz J.J. et coll., 2004] de type acide arylalcanoïque. La modulation de sa fonction acide carboxylique en acide hydroxamique a fourni un composé qui agit vraisemblablement par inhibition des PGs avec un effet comparable à celui de l'Indométacine [Franzone J.S. et coll., 1980]. Par ailleurs, la modulation en N-hydroxyurée (figure 30 ; tableau 16) se traduit par une activité inhibitrice augmentée envers la 5-LO mais l'activité envers les COXs n'est que partiellement conservée [de Leval X. et coll., 2002].

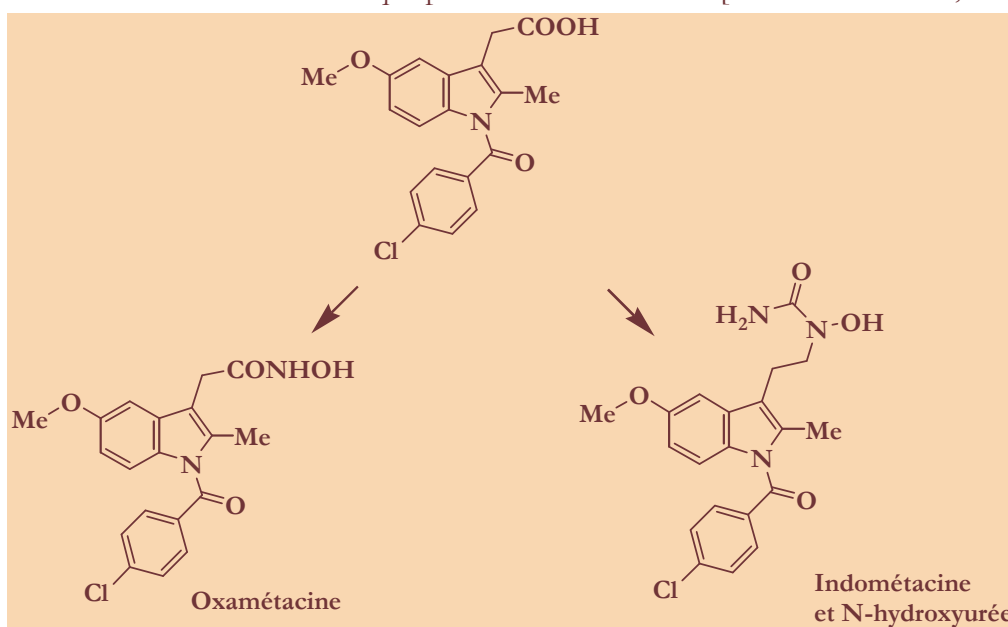
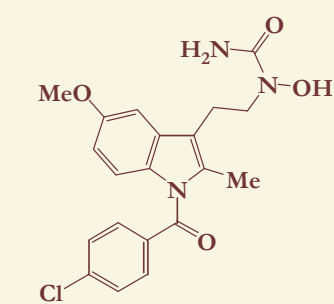
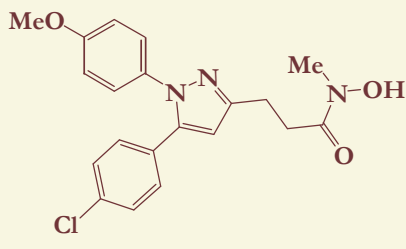


Figure 30: Modulations de l'Indométacine par un hydroxamate ou une hydroxyurée.

Ces résultats portent néanmoins à conclure que la fonction acide est cruciale à l'activité de l'Indométacine et que la seule pharmacomodulation de cette fonction ne suffit pas pour obtenir des inhibiteurs mixtes. C'est pourquoi cette étude se dirige vers la conception d'une molécule hétérocyclique analogue du motif indole benzoylé (afin de garder une configuration apte à s'insérer dans le site actif des COXs) qui serait reliée, et non pas modulée, à une fonction ou à une molécule inhibitrice de la 5-LO. C'est un principe qui fut précédemment utilisé par Connolly et ses collaborateurs en 1999 (tableau 16) et par Barbey et ses collaborateurs en 2002 (tableau 4).

Nom	Structure	Activité
Indométacine et N-hydroxyurée		% d'inhibition à 10 μM $\text{COX}_1 = 9\%$ $\text{COX}_2 = 48\%$
		$\text{CI}_{50} (5\text{-LO}) = 0,4 \mu\text{M}$
Tépoxaline		$\text{CI}_{50} (\text{COX}_1) > 10 \mu\text{M}$
		$\text{CI}_{50} (\text{COX}_2) = 4,2 \mu\text{M}$
		$\text{CI}_{50} (5\text{-LO}) = 1,7 \mu\text{M}$

Source : Tableau établi à partir des valeurs de Connolly P.J. et coll., 1999 et de De Leval X. et coll., 2002.

Tableau 16 : Structure d'inhibiteurs mixtes.

Le motif indolique est inadap t  pour cette étude car il ne dispose pas suffisamment de sites de modulation ; par contre sa modulation par changement de cycle a conduit à envisager un motif *N*-benzoyl- γ -carboline (figure 31) plus adéquat.

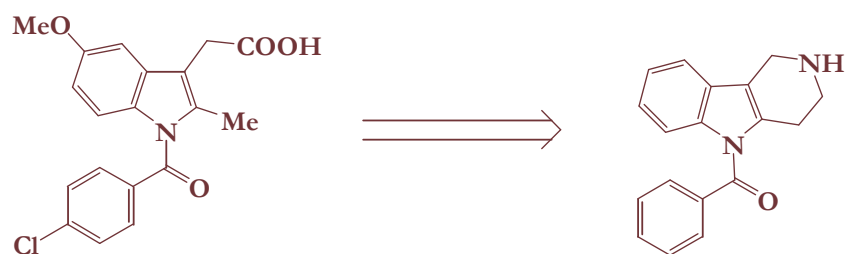


Figure 31 : Changement du squelette de l'Indom tacin.

Les γ -carbolines ou pyrido[4,3-*b*]indoles sont des azacarbazoles qui dérivent naturellement de la pyrolyse du tryptophane [Wakabayashi K. et coll., 1997]. Elles sont responsables de nombreuses activités biologiques : antipsychotique [Abou-Gharbia M. et coll., 1987], et antitumorale [Costache E. et coll., 1998 ; Guillonnet L. et coll., 1999]. De plus, certains dérivés très fonctionnalisés ont montré un effet inhibiteur sur l'agrégation des plaquettes [Ishikawa S. et coll., 1987]. Par comparaison avec leurs analogues β -carbolines [Tahri A. et coll., 1998 ; Magnier E. et Langlois Y., 1998], ces hétérocycles ont été peu étudiés pour leur activité biochimique (ils ont été principalement étudiés comme analogues moins rigides de l'ellipticine, un intercalant de l'ADN) [Rivall  C. et coll., 1983 ; Bisagni E. et coll., 1988 ; Costache E., 1996]. Ils sont décrits dans la littérature sous plusieurs formes : insaturées ou réduites telles que la tétrahydro- γ -carboline [Khorana N. et coll., 2003^b] ou l'hexahydro- γ -carboline [Sarges R. et coll., 1986]. La structure tétrahydro- γ -carboline est intéressante car elle dispose d'une partie plane constituée d'un homocycle et d'un pyrrole qui permettent la conservation de l'angle dièdre restreint de l'Indom tacin (voir figure 32) et d'un degré de flexibilité sur l'azote pipéridinique.

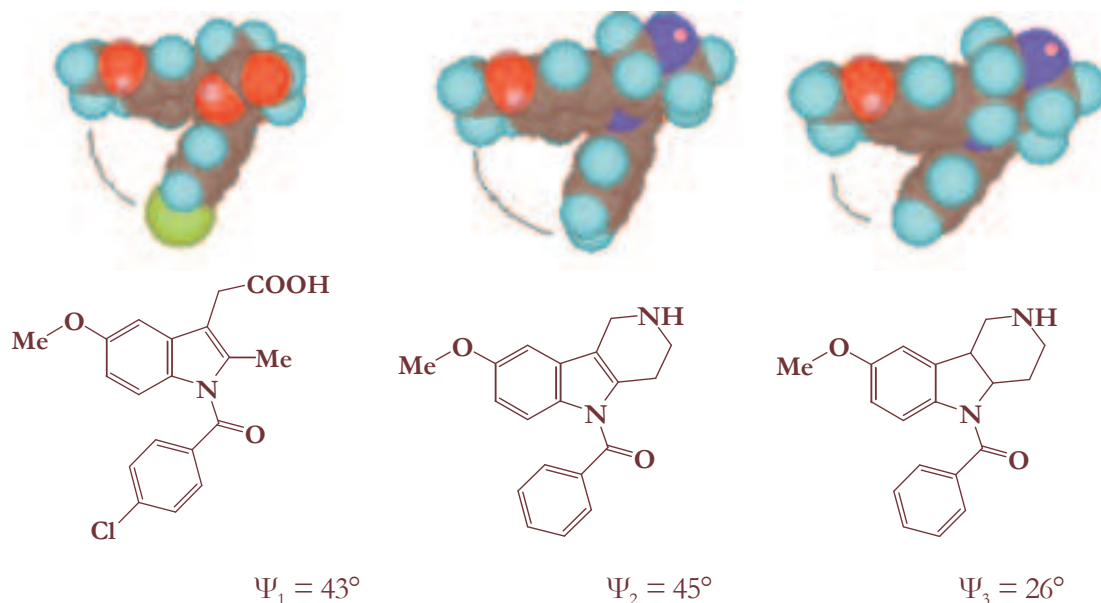


Figure 32 : Comparaison des angles dièdres de différentes structures. Vue du dessus effectuée avec « CS Chem3D™ », la minimisation est effectuée avec le champ MM2 et donne un minimum d'énergie stérique de $E_1 = 9,86 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour l'Indométacine, de $E_2 = 11,41 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour la tétrahydro- γ -carboline et $E_3 = 21,85 \text{ kcal.mol}^{-1}$ pour l'hexahydro- γ -carboline.

L'association des deux parties inhibitrices se fait sur l'azote pipéridinique situé en γ par rapport à l'azote indolique de manière à ce que celles-ci soient espacées au maximum et elle représente le point de départ d'une première approche de définition d'un set de molécules possédant toutes les caractéristiques d'un pharmacophore mixte 5-LO / COX. Les molécules issues de cette première approche de conception répondent à tout besoin éventuel de complémentarité stérique (remplissage des zones disponibles dans le site actif), électrostatique ou lipophile pour des interactions enzyme-ligand (figure 33).

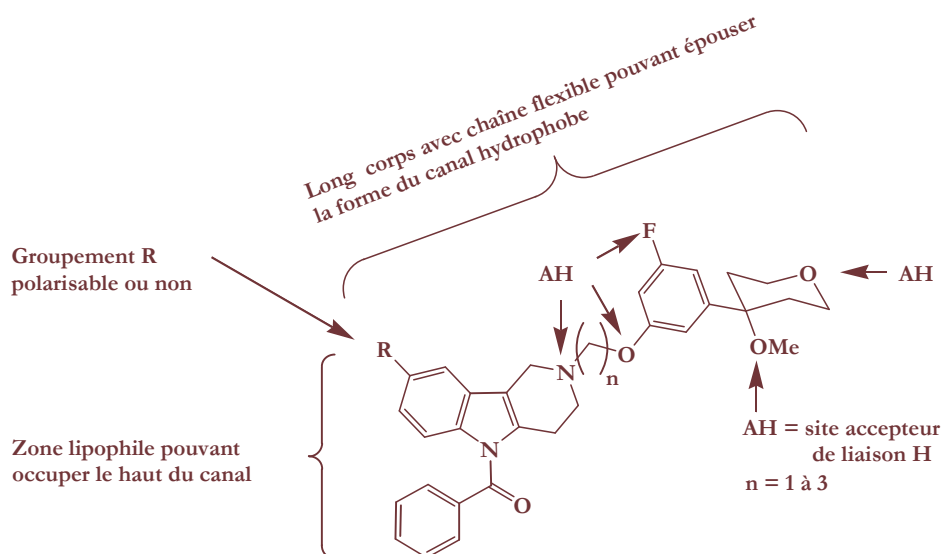


Figure 33 : Mise au point d'un modèle d'inhibiteur mixte.

II. Des pharmacomodulations sont apportées au motif de base

Les pharmacomodulations du motif *N*-benzoyltétrahydro- γ -carboline se font sur trois sites potentiels de substitution : les atomes de carbone de l'homocycle, les atomes d'azote du pyrrole et de la pipéridine. De nouvelles molécules ont été conçues sur la base de groupements intéressants, remarqués lors de l'étude bibliographique et choisis en fonction des activités et de la sélectivité qu'ils peuvent apporter. La structure générale des inhibiteurs mixtes est représentée ci-dessous.

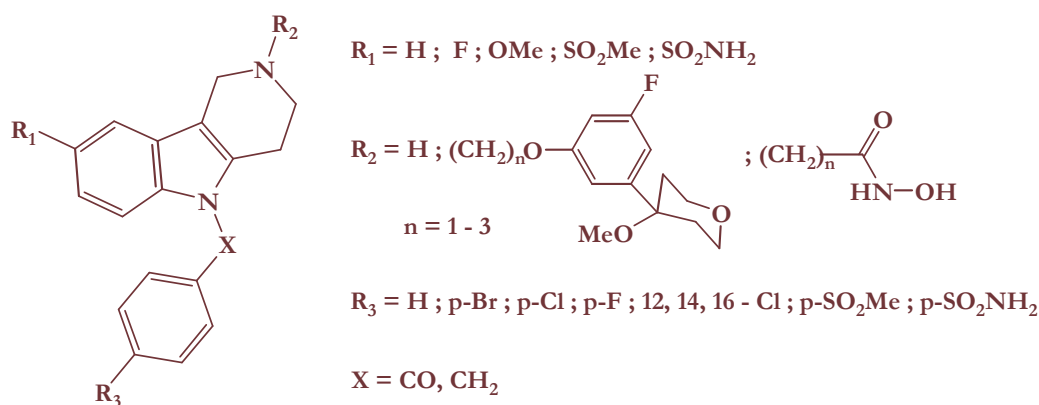


Figure 34 : Structure générale des tétrahydro- γ -carbolines.

Les modulations de la partie inhibitrice des COXs sont effectuées en position 8 sur la tétrahydro- γ -carboline (R_1) et en position para sur le benzoyle (R_3). Elles sont choisies dans le but d'élaborer des modèles d'inhibition envers les COXs issus d'un raisonnement logique :

❖ La mise au point d'un modèle de reconnaissance

Le substituant porté par le modèle de reconnaissance est un méthoxy, électrodonneur, choisi pour son analogie de position avec l'éther de l'Indométacine.

Le fluor est également un substituant souvent rencontré dans la littérature : sur le Sulindac ($\text{CI}_{50}(\text{COX}_1) = 1,02 \mu\text{M}$, $\text{CI}_{50}(\text{COX}_2) = 10,43 \mu\text{M}$) en cette même position [Piazza G.A. et coll., 1997 ; Dannhardt G. et Kiefer W., 2001].

❖ La mise au point d'un modèle de sélectivité

Le substituant porté par ce modèle est une méthylsulfone, électroattracteur, choisi pour sa contribution à une sélectivité COX_2 optimale sur n'importe quel type d'inhibiteur : Rofécoxib, ALIOX 18 et un dérivé de l'Indométacine (tableau 14). Si cette activité se confirme, il pourra être changé en aminosulfonyle, substituant porté par le Célécoxib qui agit sur de nombreuses cibles biologiques :

- *Weber et ses collaborateurs*, en 2004, ont relaté que le groupe aminosulfonyle confère aux Valdécoxib et Célécoxib une activité envers l'anhydrase carbonique et que ce dernier inhibe la croissance des cellules épithéliales principalement par suppression de l'activité de l'anhydrase carbonique de type IX mise en cause également dans certains carcinomes,

- l'aminosulfonyle est également la partie du Célécoxib qui influence l'inhibition de l'angiogénèse [Iñiguez M.A. et coll., 2003] et l'induction de l'apoptose [Zhu J. et coll., 2002 ; Pommery N. et coll., 2004 ; Dandekar D.S. et coll., 2005].

Par ailleurs, malgré les premières fausses notes dans le projet d'un éventuel traitement du cancer, les scientifiques continuent à penser que ces agents possèdent un réel potentiel thérapeutique bien supérieur aux effets indésirables : la FDA n'a-t-elle pas demandé au centre anticancer M.D Anderson, USA, de reprendre ses essais cliniques sur le Célécoxib dans le traitement du cancer du côlon déclaré chez les fumeurs (Source : www.cancerwise.org, août 2005) ?

Les groupes fonctionnels acide hydroxamique ou MTHP seront espacés de la partie tétrahydro- γ -carboline par une chaîne polyméthylénique de longueur variable entre 1 et 3 atomes de carbone.

La présence de l'azote pipéridinique salifiable va permettre de pallier à d'éventuels défauts de solubilité généralement rencontrés avec des molécules à chaîne polyméthylénique.

III. La représentation de l'interaction avec l'enzyme

Récemment, une étude par modélisation moléculaire effectuée sur les dérivés énantiosélectifs de l'Indométacine (tableau 15) [Moth C.W. et coll., 2005] a permis d'expliquer la raison de la sélectivité observée : les énantiomères (S) sont susceptibles d'interagir avec le site actif par de nombreuses liaisons hydrogène contrairement aux énantiomères (R), non sélectifs.

La représentation moléculaire en trois dimensions permet de prédire si une molécule peut ou non s'insérer dans un site et d'obtenir un modèle raisonnable d'inhibiteur. Le principe de modélisation utilisé est la méthode directe de conception de nouvelles molécules (ou structure based drug design). Le « design direct » [Hopfinger A.J., 1985] utilise les informations structurales disponibles sur la cible (ici COX₂) et permet d'évaluer visuellement le « fit » ligand-récepteur par l'emploi d'un code couleur.

Les structures choisies pour cette première visualisation en trois dimensions appartiennent aux deux types de modèles d'inhibition envers les COXs et sont pourvues en R₂ du fragment MTHP (figure 35). Le « fit » est d'abord réalisé avec la molécule seule dans le site actif de COX₂. Puis une superposition avec un composé dont l'activité est connue, ALIOX 18, va permettre de valider ou non le concept.

Le modèle de sélectivité conçu est assez flexible pour s'insérer dans le canal de l'isozyme sans provoquer de réarrangement des résidus entre eux (figure 36). Le méthanesulfonyle va hypothétiquement combler l'espace libre dans la poche latérale hydrophile. Le benzoyle constitue un facteur d'interactions non polaires qui rentre plus profondément dans le haut du canal que le phényle de ALIOX 18 (voir la superposition des deux molécules). Un chaînon à trois atomes de carbone permet de respecter une distance entre les deux types d'inhibiteurs ainsi qu'une flexibilité favorables au « fitting » du MTHP dans l'espace à l'entrée du canal.

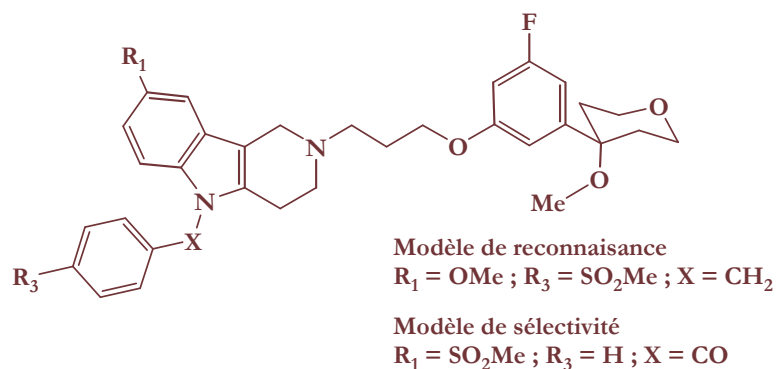


Figure 35 : Structures choisies pour la modélisation moléculaire.

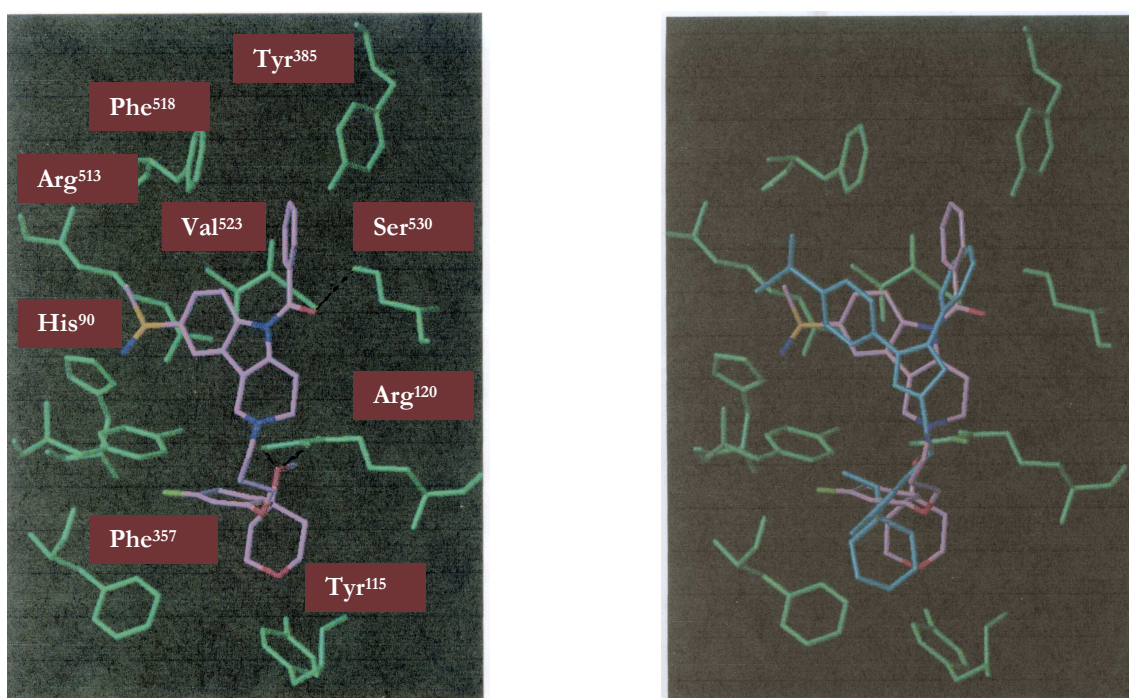


Figure 36 : Représentation moléculaire en trois dimensions du modèle de sélectivité dans le site actif de COX_2 .

Code couleur : vert= fluor, gris = carbone, rouge = oxygène, bleu = azote et jaune = soufre.

Une seconde approche de modélisation effectuée sur le modèle de reconnaissance prédit l'activité potentielle du composé portant un groupe para-méthanesulfonylbenzyle. La suppression du carbonyle pourrait permettre un mode d'insertion inverse à celui de l'Indométacine. Dans cette conformation, la méthylsulfone pénètre plus profondément dans la cavité que celle portée par ALIOX 18 et peut vraisemblablement interagir par liaison électrostatique avec les résidus **Arg**⁵¹³ et **Phe**⁵¹⁸ proches [Singh S.K. et coll., 2004] (figure 37).

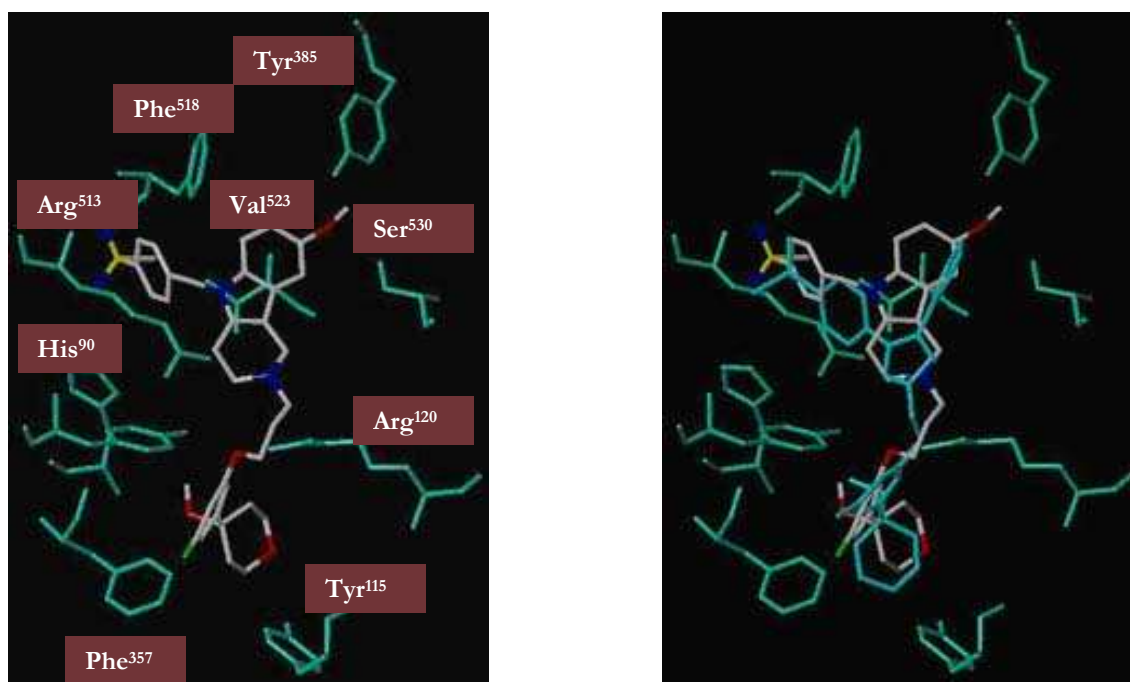


Figure 37: « Fit » du modèle de reconnaissance.

Ainsi, la conception a pu être faite sur la base du motif structural de l'Indométacine puis certaines des molécules imaginées ont été visualisées par représentation en trois dimensions. La modélisation moléculaire prédit la possible insertion dans le site actif de COX₂ des deux modèles élaborés. Des séries de composés conçues dans cette étude peuvent, par conséquent, être proposées en tant que nouveaux inhibiteurs mixtes potentiels. Elles sont au nombre de trois et se distinguent par la nature de leur substituant sur la position 8 (électrodonneur, neutre ou électroattracteur). Des recherches de modulation du benzoyle seront effectuées afin d'optimiser le pouvoir inhibiteur ou bien d'équilibrer la sélectivité entre les isoformes. Les *N*-benzoyltétrahydro- γ -carboline des trois séries non associées à l'inhibiteur 5-LO seront les premières molécules à être testées mais en tant que témoins négatifs.

STRATEGIE DE SYNTHÈSE

Stratégie de synthèse

La stratégie de synthèse des potentiels « hits » conçus sur la base du motif *N*-benzoyltétrahydro- γ -carboline repose sur l'association de trois modules (schéma 1) :

- Une partie tétrahydro- γ -carboline substituée ou non en position 8 par des groupements électrodonneurs ou électroattracteurs (synthon A).
- Un groupement chlorure de benzoyle substitué par des groupements de nature chimique différente (synthon B).
- Le fragment méthoxytétrahydropyranne du composé ZD-2138 (synthon C) ou un groupement acide hydroxamique (synthon D).

Elle est conçue en respectant les critères de l'analyse rétrosynthétique et comprend un nombre d'interconversions le plus faible possible.

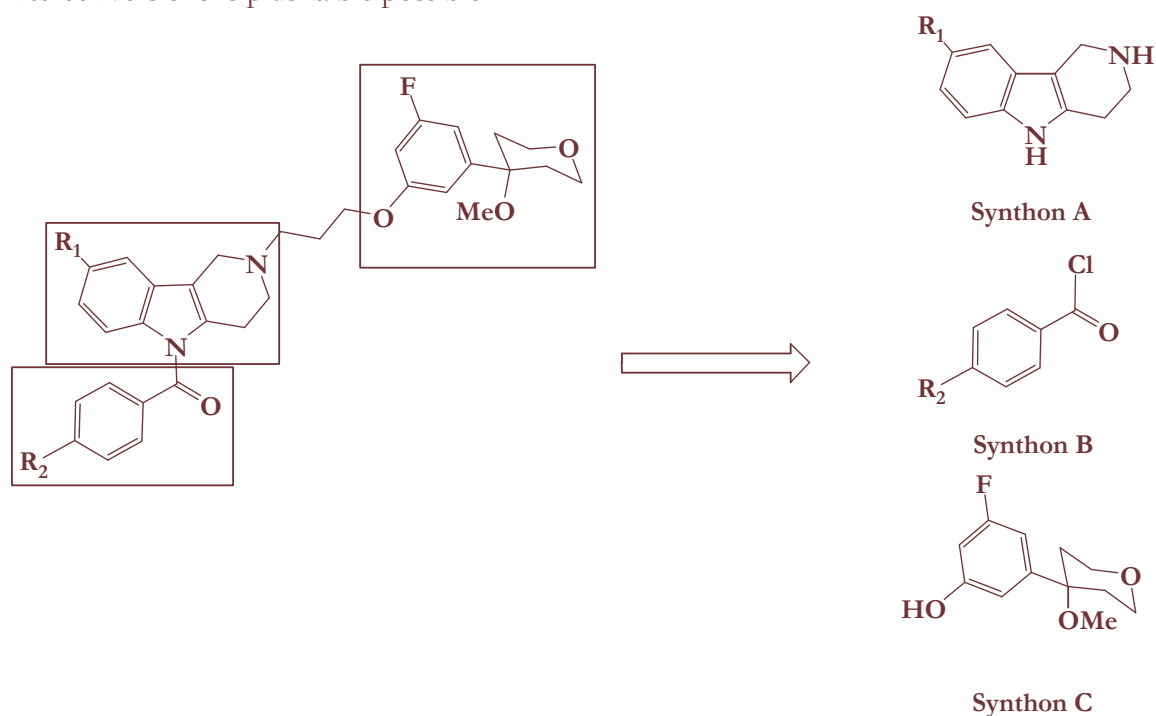


Schéma 1 : Association des trois synthons pour la synthèse des inhibiteurs mixtes.

Les γ -carbolines [Wynne J.H. et Stalick W.M., 2003] peuvent être synthétisées par de nombreuses méthodes telles que le protocole de Graebe-Ullmann [Lee C.-S. et coll., 1981], la cyclisation de Pictet-Spengler, l'annélation de Fischer [Zhang H. et Larock R.C., 2001], la réaction de Suzuki [Rocca P. et coll., 1993], la réaction intramoléculaire de Diels-Alder [Snyder S.A. et coll., 2000] ou l'annélation catalysée par le palladium [Zhang M. et Larock R.C., 2001]. La synthèse en parallèle de tétrahydro- γ -carbolines est envisagée dans notre cas par la méthode la plus utilisée : la méthode de Fischer [Fischer E. et Jourdan F., 1883 ; Robinson B., 1969]. Le chaînon polyméthylénique utilisé est constitué de trois atomes de carbone, celui-ci ayant montré des degrés de flexibilité avantageux lors de la conception. Les synthèses impliquant le méthoxytétrahydropyranne ont conduit aux pharmacophores désirés ; par contre la synthèse contenant la fonction acide hydroxamique, qui se prépare par substitution d'une fonction acide carboxylique par l'hydroxylamine a rencontré certains obstacles et a dû s'arrêter prématurément.

En effet, le nucléophile, qui se prépare à partir de l'hydroxylamine favorise la débenzoylation. Une benzylation supplémentaire, qui corrigerait cette perte du benzoyle après formation de l'hydroxamate, n'est pas envisageable sans substituer d'autres parties de la molécule, notamment l'hydroxyle de l'hydroxamate.

I. Synthèse du méthoxytétrahydropyranne (MTHP)

1. Analyse rétrosynthétique

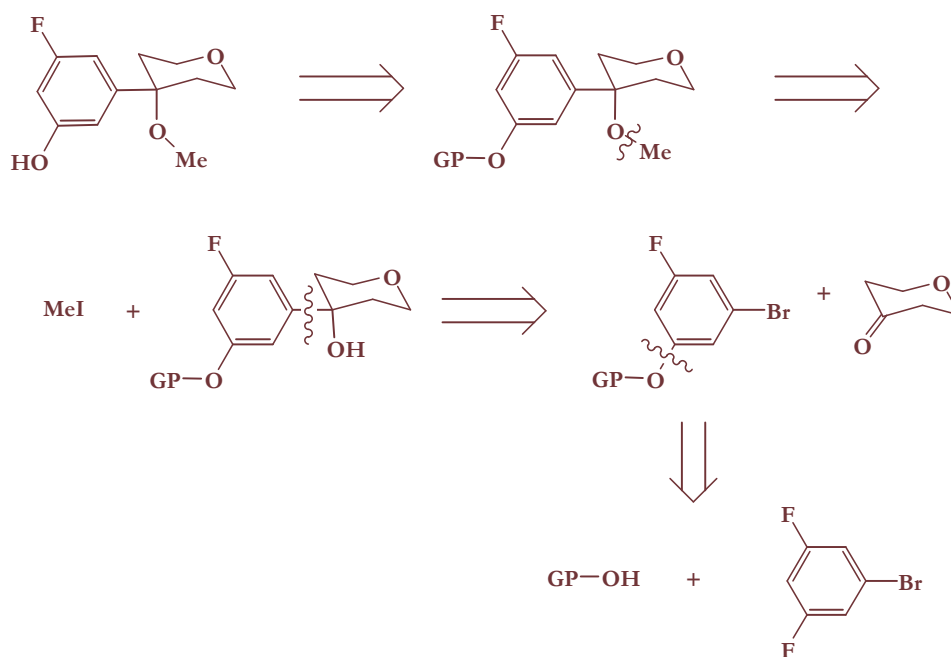


Schéma 2: Schéma de rétrosynthèse.

Le méthoxytétrahydropyranne comporte des fonctions importantes pour son activité telles que le fluor sur le phényle et le groupement méthoxy sur le tétrahydropyranne. L'hydroxyle porté par le phényle va lui permettre la liaison avec l'espaceur polyméthylénique. L'approche rétrosynthétique envisage la protection de la fonction phénol, importante pour permettre la méthylation de la fonction hydroxyle en méthoxy et pour pouvoir envisager les autres étapes. Une double déconnexion envisage d'une part la rupture de la liaison entre la partie phénol protégé et l'hydroxytétrahydro-4*H*-pyranne et d'autre part, une rupture de la liaison entre le benzène disubstitué et l'oxygène protégé.

Le groupement protecteur de choix de la fonction phénol est le benzyle. Il doit pouvoir protéger cette fonction jusqu'à la dernière étape de la synthèse car il n'est pas sensible aux conditions des réactions intermédiaires envisagées. De plus, sa déprotection peut se faire sans que d'autres fonctions ne soient affectées.

2. Schéma de synthèse

Le synthon méthoxytétrahydropyranne **7** est obtenu en quatre étapes avec un rendement global de 31% (schéma 3) [Pommery N. et coll., 2004].

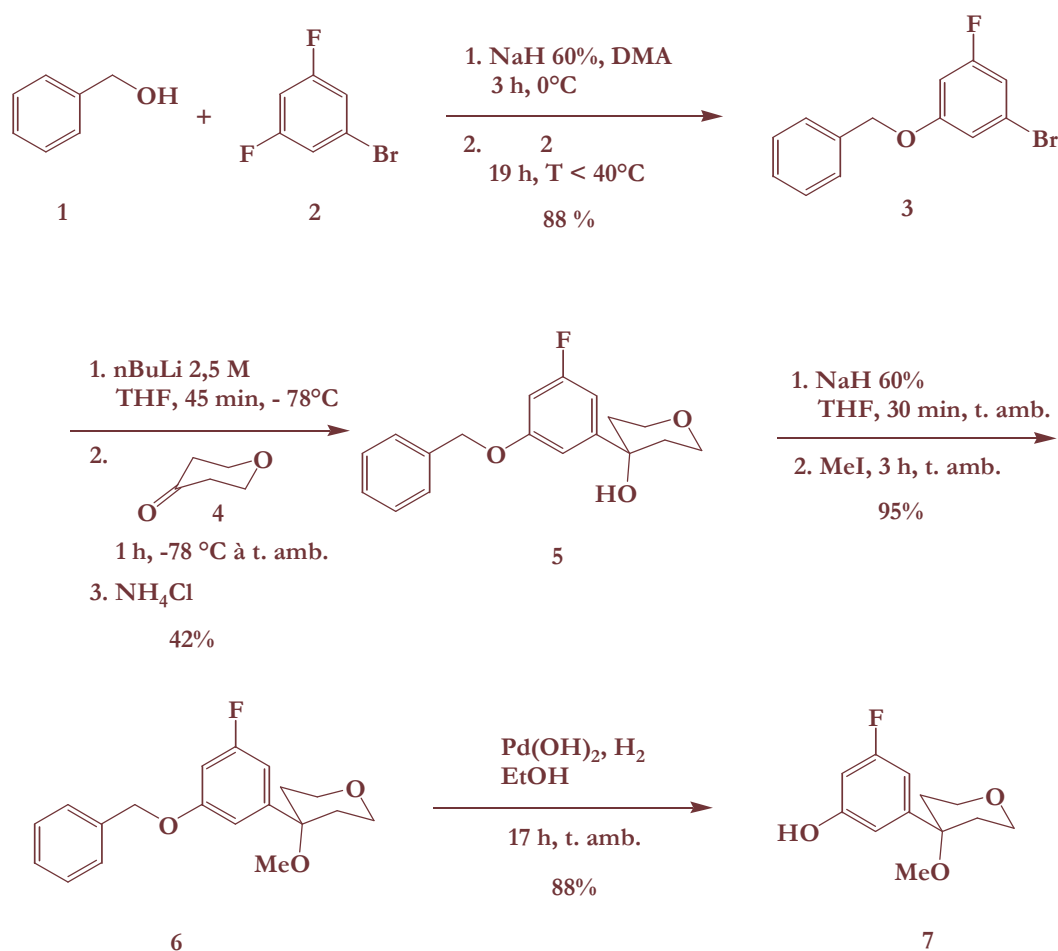
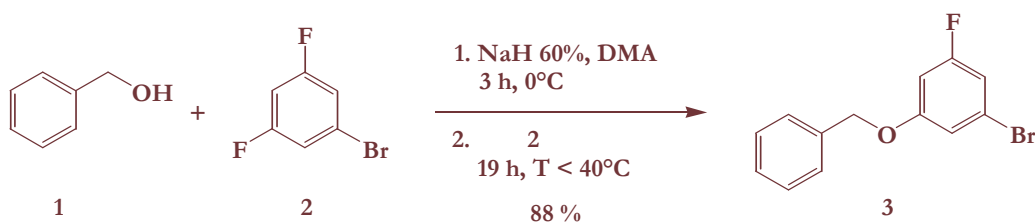


Schéma 3 : Synthèse du MTHP.

Le composé **7** est synthétisé à partir du 1-bromo-3, 5-difluorobenzène **2**. Un atome de fluor sur le cycle est substitué en premier lieu par l'alcool benzylique **1** puis, une transmétallation du brome du composé **3** en lithien fournit l'alcool **5** après une attaque nucléophile sur la tétrahydro-4H-pyran-4-one **4**. La méthylation de la fonction alcool de **5** s'effectue dans le THF fraîchement distillé avec l'iodure de méthyle et la débénzylation du composé résultant **6** conduit au méthoxytétrahydropyranne **7**.

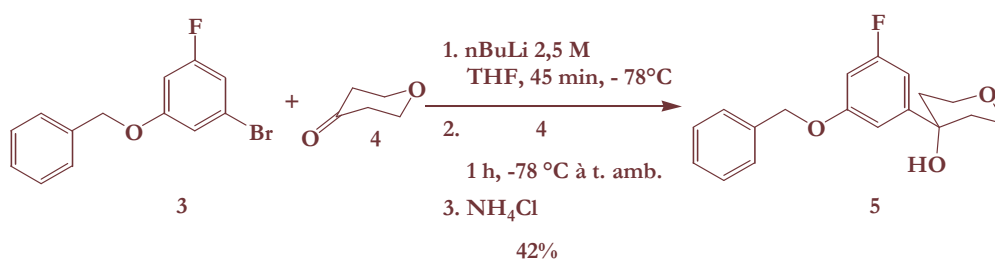
3. Discussion

a. Substitution nucléophile aromatique



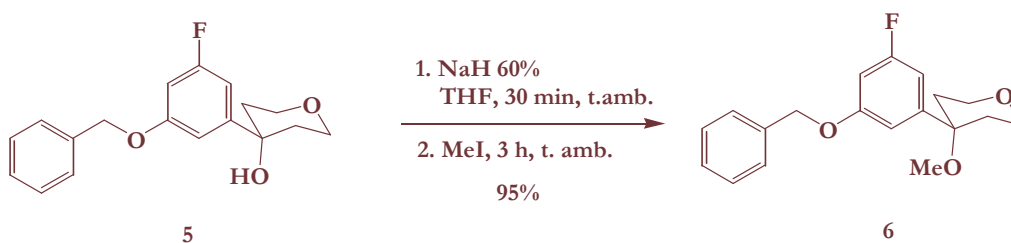
Après son activation par l'hydruure de sodium, l'alcool **1** va réagir sur l'un des deux fluors de **2**, composé symétrique suivant l'axe formé par la liaison C-Br, plutôt que sur l'atome de brome. Cette substitution nucléophile aromatique se réalise suivant le schéma d'addition-élimination et de préférence sur un fluor car cet halogène est hautement électronégatif et stabilise l'intermédiaire anionique réactionnel formé suite à l'addition de l'alcoolate. La réaction étant exothermique, il faut veiller à ce que la température ne dépasse pas 40°C.

b. Transmétallation



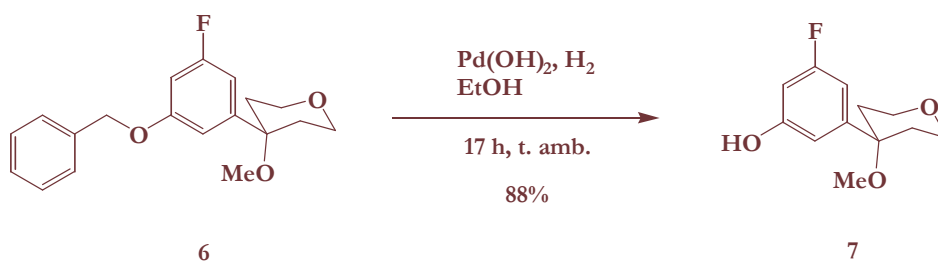
La transmétallation s'effectue dans le THF fraîchement distillé, solvant aprotique et apolaire. Le nucléophile utilisé est le nBuLi, fortement basique, stériquement non encombré. Il est commercialisé à une concentration de 2,5 M dans l'hexane et celle-ci est vérifiée par la méthode classique du double dosage [Finnegan R.A. et Kutta H.N., 1965 ; Whitesides G.M. et coll., 1971]. Il attaque le brome pour former un intermédiaire organolithié instable, fortement basique et nucléophile. L'organolithien réagit ensuite à -78°C en présence de la cétone **4** et le milieu est ramené à température ambiante pour être hydrolysé. Les produits secondaires ne sont pas caractérisés.

c. Méthylation



Le groupement hydroxyle est transformé en éther suivant la méthode de Williamson avec l'hydruure de sodium comme base et le composé **6** est obtenu avec un rendement quantitatif.

d. Débenzylation



La fonction phénol du composé 7 est déprotégée par hydrogénolyse catalytique à pression atmosphérique et à température ambiante. Le rendement de la réaction est optimisé à 88%, avec l'hydroxyde de palladium comme catalyseur.

II. Synthèse des tétrahydro- γ -carboline

L'étude de la synthèse de tétrahydro- γ -carboline substituées en position 8 s'effectue en suivant la méthode de Fischer et prend en compte trois facteurs : la nature du substituant sur l'homocycle, l'influence du groupement protecteur sur l'azote pipéridinique et les conditions de réaction pour la cyclisation (tableau 17). Des difficultés de synthèse des composés portant un substituant électroattracteur ont été rencontrées et ont nécessité l'utilisation d'autres méthodes pour essayer de les obtenir. Celles-ci sont l'oxydation d'un thioéther de méthyle en méthylsulfone, la transmétallation ou la sulfonation directe d'un dérivé bromé.

1. Synthèse selon Fischer

Les synthèses sont effectuées par réaction d'un dérivé de la 4-pipéridone sur le chlorhydrate de phénylhydrazine substitué ou non en para. Après formation de l'hydrazone, intermédiaire soluble dans le milieu, la cyclisation s'initie par la rupture de la liaison *N-N* dans des conditions de catalyse acide (schéma 4) [Spickett R.G.W., 1966 ; Harbert C.A. et coll., 1980] ou thermique [Buu-Hoï N.P. et coll., 1964 ; Khorana N. et coll., 2003^a]. Pour cette réaction, la catalyse par les acides protiques (acide chlorhydrique en particulier) est préférée à celles par les acides de Lewis [Chapman N.B. et coll., 1965] et le chlorhydrate de tétrahydro- γ -carboline précipite dans le milieu.

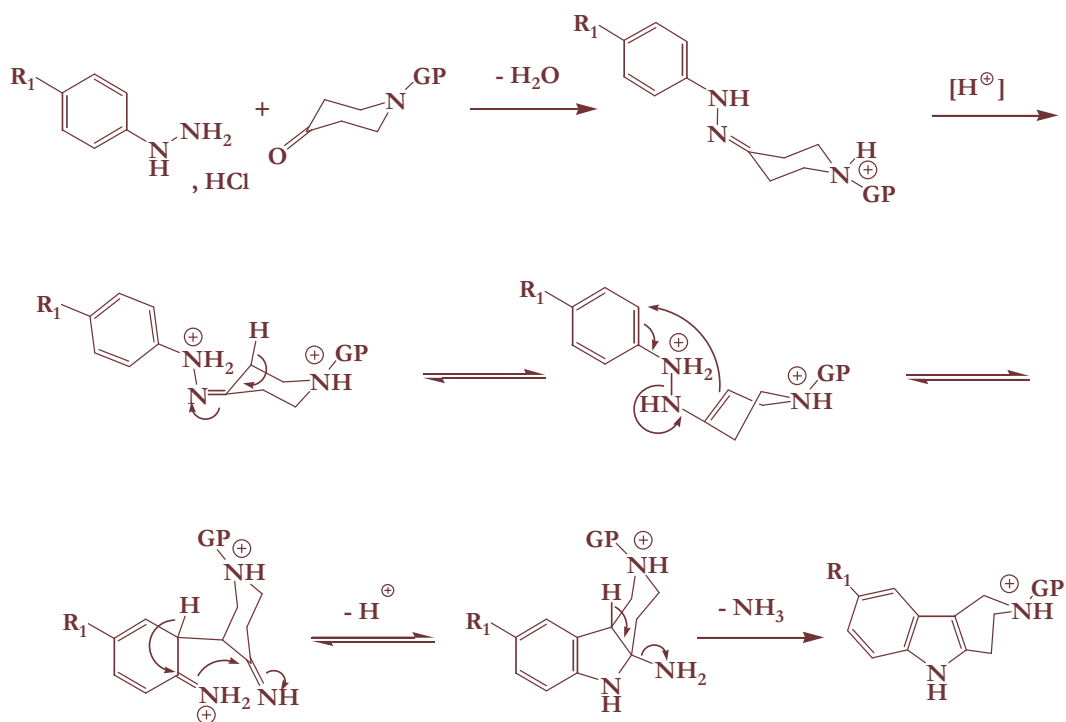
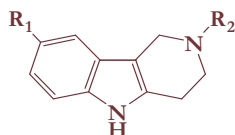


Schéma 4: Mécanisme de la cyclisation selon Fischer.

Le mécanisme de la réaction de Fischer fait intervenir une transposition de type aza-Cope. En milieu acide, l'intermédiaire réactionnel phénylhydrazone se protone. L'atome d'azote positivement chargé est rendu plus électro attracteur et favorise le déplacement du flux d'électrons suivant une sigmatropie d'ordre [3,3] exothermique. Après la fermeture du cycle pentagonal central, il y a perte d'une molécule d'ammoniac pour former la tétrahydro- γ -carboline. L'état de transition peut opérer suivant deux conformations, bateau et chaise. Cette dernière étant plus stable thermodynamiquement [von E. Doering W. et Roth W.R., 1962] (schéma 3).



Composé	R ₁	R ₂	Méthode	Rendement (%)
** 14 a	OMe	Bn	C	88
** 14 b	OMe	COOEt	A	60
** 14 c	OMe	H	B	75
* 15 a	F	Bn	B	82
** 15 b	F	COOEt	A	55
* 15 c	F	H	A	88
** 16 a	Br	Bn	B	92
** 16 b	Br	COOEt	A	55
* 16 c	Br	H	A	70
* 17 a	SMe	Bn	B	88
** 17 b	SMe	COOEt	A	61
** 17 c	SMe	H	C	20
17 d	SMe	Boc	-	-
** 18 a	H	Bn	C	71
** 18 b	H	COOEt	A	95
** 18 c	H	H	A	80
*** 25 a	SO ₂ Me	Bn	E	65
*** 25 c	SO ₂ Me	H	E	65
*** 26 a	SO ₂ NH ₂	Bn	E	70
* 27 a	NO ₂	Bn	D	20
** 27 b	NO ₂	COOEt	D	3

* : chlorhydrate

** : base

*** : sulfate

Méthodes A - C : voir schéma 5

Méthodes D - E : voir schéma 6

Tableau 17: Rendement des cyclisations effectuées selon la méthode de Fischer.

a. Réactivité des composés substitués par un groupe donneur

Les chlorures de phénylhydrazine utilisés sont commerciaux sauf le **11** qui est synthétisé à partir de l'aniline [Werbel L.M. et coll., 1993].

Les tétrahydro- γ -carbolines **14 b**, **15 b**, **15 c**, **16 b**, **16 c** et **17 b** sont synthétisées dans des conditions thermiques légèrement acides (méthode A) avec des rendements entre 55 et 95%. Tandis que la cyclisation des composés **14 c**, **15 a**, **16 a**, **17 a** s'effectue à reflux dans un milieu saturé en acide (méthode B) avec des rendements s'échelonnant entre 61 et 92%, les composés **14 a**, **17 c** s'obtiennent dans un milieu fortement acide (méthode C) avec des rendements compris entre 20 et 88% (schéma 5). Le solvant choisi pour les méthodes A et B est l'éthanol. Pour la méthode C, l'acide acétique glacial est utilisé car il est facilement éliminé en comparaison avec d'autres acides tels que l'acide sulfurique ou l'acide polyphosphorique.

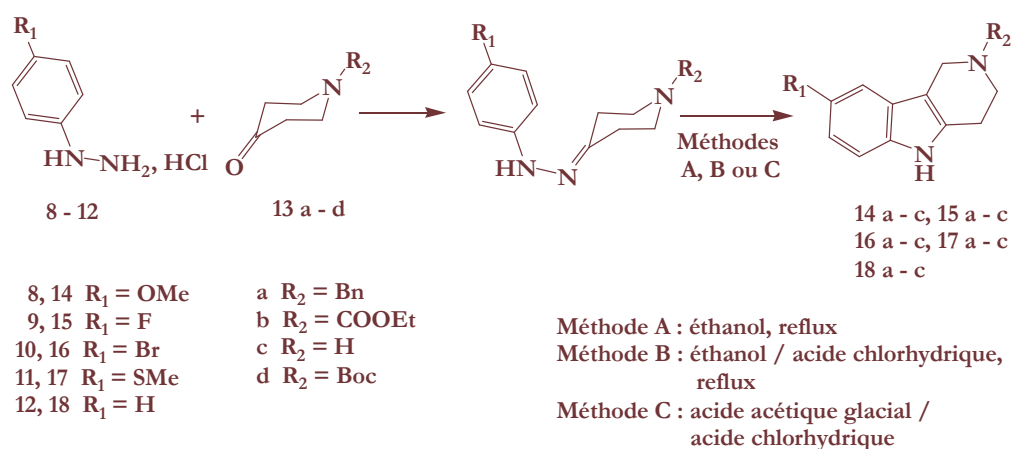


Schéma 5 : Synthèse des composés substitués par un groupe R_1 électrodonneur.

Des difficultés de synthèse ont été rencontrées avec les dérivés comportant un groupement thioéther de méthyle. Il fut observé que **11** et **13 d** ne mènent pas à **17 d** et ceci dans n'importe quelles conditions (probablement à cause de leur insolubilité dans le milieu). Bien que différentes méthodes aient été essayées, **17 c** ne s'obtient ni par la débenzylation de **17 a**, ni par la décarbamylation de **17 b** (alcali de Claisen [Abou-Gharbia M. et coll., 1987], acide bromhydrique [Magnus P. et coll., 1992]). L'étude de la débenzylation de **17 a** a été réalisée en faisant varier les catalyseurs et les méthodes décrites dans la littérature. Les différents catalyseurs employés lors des essais de débenzylation par hydrogénation catalytique à pression atmosphérique sont des catalyseurs au palladium (Pd/C 10% ou $\text{Pd}(\text{OH})_2$), ou au platine (PtO_2). L'essai d'hydrogénation avec un large excès de formiate d'ammonium en présence d'une quantité catalytique de $\text{Pd}(\text{OH})_2$ [O'Neill B.T. et coll., 2000] ne fut pas concluant, **17 a** resta inchangé sur plaque CCM. Ce manque de réactivité ne peut être dû au fait qu'il soit sous forme de chlorhydrate qui favorise normalement l'évolution de son état vers le produit de déprotection mais plutôt à la fonction thioéther de méthyle qui empoisonne le palladium. Quoi qu'il en soit, face à l'inefficacité de cette technique, une alternative fut envisagée en utilisant le chloroformiate de vinyle comme agent de déprotection. En solution, ce réactif se substitue au benzyle sur l'amine pipéridinique pour former un intermédiaire vinyloxycarbonyle qui est un groupement protecteur facilement clivable en milieu acide et à reflux [Howarth N.M. et coll., 1998]. Le produit de débenzylation n'est encore une fois pas obtenu, **17 a** étant sous forme de sel d'ammonium, insoluble dans l'eau basique et les solvants organiques, il est inactif vis-à-vis du chloroformiate de vinyle.

b. Réactivité des composés non substitués sur l'homocycle

Le composé **18 a** est synthétisé suivant la méthode C avec un rendement de 71%. **18 b, c** sont synthétisés par la méthode A avec des rendements de 95 et 80%, respectivement. La nitration directe (nitrite de sodium / acide trifluoroacétique) est la méthode décrite pour obtenir chimiosélectivement des 8-nitro- γ -carbolines [Lee C.-S. et coll., 1981 ; Trudell M.L. et coll., 1988] mais les tentatives de nitration de **18 b** n'ont pas conduit à **27 b**. Par ailleurs les essais de chlorosulfonation à basse ou haute température [Pal M. et coll., 2003] et de sulfonation [Trudell M.L. et coll., 1988] du composé **18 b** ont échoué. Ces méthodes sont pourtant celles les plus utilisées pour la synthèse de molécules aromatiques substituées par un sulfonamide.

c. Réactivité des composés substitués par un groupe électroattracteur

Afin de contourner les inconvénients d'inactivité des composés non substitués, plusieurs méthodes ont été envisagées pour la synthèse de tétrahydro- γ -carbolines portant des groupes électroattracteurs.

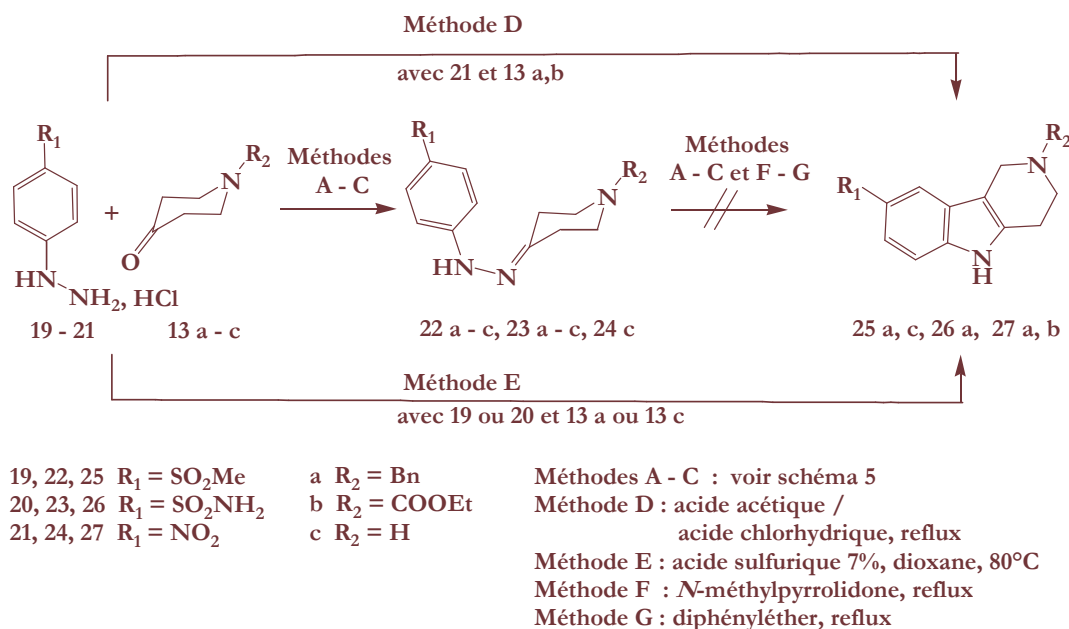
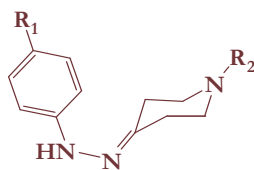


Schéma 6: Synthèse des composés substitués par un groupe R_1 électroattracteur.

La synthèse des molécules **25 a, c** et **26 a, c** portant une sulfone a d'abord été envisagée avec les méthodes A, B et C utilisées précédemment. La cyclisation ne s'effectue pas (schéma 6) car l'effet mésomère attracteur important apporté par la sulfone désactive l'homocycle et l'équilibre est totalement déplacé vers la formation des intermédiaires phénylhydrazones plus stables énergétiquement que les autres intermédiaires, même dans des conditions saturées en acide chlorhydrique (tableau 18). Les phénylhydrazones **22 c, 24 c** (méthode A) sont obtenues sous forme chlorhydrate tandis que **22 b** (méthode A) est obtenue suite à une purification en milieu aqueux basique suivi d'une extraction à l'acétate d'éthyle. Les phénylhydrazones substituées en R_2 par un benzyle sont obtenues sous forme base avec des rendements de 90% (méthode C) tandis que celles substituées en R_2 par le groupement carbéthoxy sont obtenues selon la méthode A. **23 b** est laissée sous forme chlorhydrate solide car la base est une huile. Le rendement de **23 b** est plus faible car ce composé est plus soluble dans les solvants organiques que les autres chlorhydrates de phénylhydrazone, ce qui entraîne une perte de produit lors de la filtration après évaporation de l'éthanol. Ces résultats démontrent que les phénylhydrazones sont toutes salifiables soit sur l'azote pipéridinique soit sur l'hydrazone.

Les composés benzylés ou non substitués sur l'atome d'azote pipéridinique sont monochlorhydratés sur l'amine de la pipéridine tandis que ceux substitués par le carbéthoxy le sont sur l'hydrazone.



Composé	R ₁	R ₂	Méthode	Rendement (%)
**22 a	SO ₂ Me	Bn	C	90
**22 b	SO ₂ Me	COOEt	A	90
*22 c	SO ₂ Me	H	A	95
**23 a	SO ₂ NH ₂	Bn	C	90
*23 b	SO ₂ NH ₂	COOEt	A	72
**23 c	SO ₂ NH ₂	H	B	95
*24 c	NO ₂	H	A	85

* : chlorhydrate

** : base

Méthodes A - C : voir schéma 5

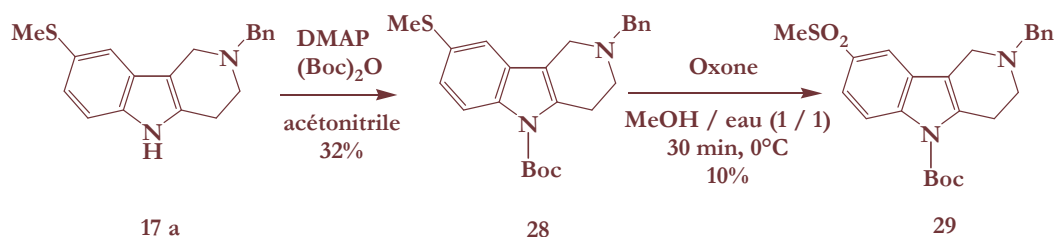
Tableau 18 : Rendement en phénylhydrazones.

Les conditions thermiques de cyclisation ont été ensuite poussées en chauffant les phénylhydrazones **22 a, b** et **23 a, b** sous forme chlorhydrate à reflux dans le diphényléther, $t \approx 280^\circ\text{C}$ (méthode G). Dans le cas où une transformation du produit fut observée par CCM, la même réaction fut ensuite effectuée dans la N-méthylpyrrolidone à reflux, $t \approx 230^\circ\text{C}$, car son élimination est plus facile que celle du diphényléther (méthode F). Il en résulte la formation de produits issus de la dégradation des phénylhydrazones suite à un temps de chauffage important.

Les changements de conditions thermiques n'ayant pas conduit aux produits attendus, la variation des conditions acides fut ensuite envisagée. Les composés **27 a, b** sont obtenus uniquement à reflux dans un milieu fortement acide (méthode D) avec de faibles rendements et cette méthode représente actuellement la seule manière d'obtenir ces composés. Par contre des conditions acides plus douces [Lizarzaburu M.E. et Shuttleworth S.J., 2004] (méthode E : 7% acide sulfurique / dioxane) permettent d'obtenir les composés **25 a, c** et **26 a**.

Les différentes conditions utilisées pour la synthèse de tétrahydro- γ -carbolines selon Fischer révèlent la haute sensibilité de cette réaction envers la concentration en acide du milieu. Les meilleurs rendements sont obtenus lorsqu'un groupe électrodonneur est combiné au groupement protecteur benzyle ou à l'amine pipéridinique non protégée ; ce qui rentre en contradiction avec les résultats décrits dans la littérature [Harbert C.A. et coll., 1980 ; Lee C.-S. et coll., 1981].

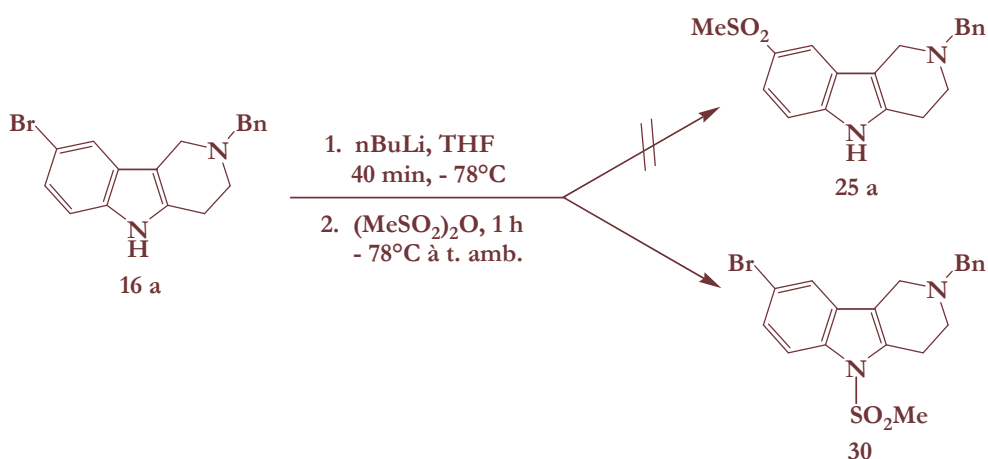
2. Oxydation d'un thioéther en sulfone



De nombreux agents oxydants ont été considérés : Oxone[®], [Zhao D. et coll., 1999], acide m-chloroperbenzoïque [Almansa C. et coll., 2003], monoperoxyphthalate de magnésium [Li C.-S. et coll., 1999], permanganate de potassium [Xie N. et coll., 2000 ; Shaabani A. et Lee D.G., 2001 ; Lai S. et Lee D.G., 2002], acide periodique [Xu L. et coll., 2003] et peroxyde d'hydrogène 35% [Baciochi E. et coll., 2004]. La formation d'un sulfoxyde à partir de **17 a** est observée par spectrométrie de masse ($t_r = 2,39 \text{ min}$, $m/e = 325 (M+H)^+$) suite à l'action du permanganate de potassium catalysée par le chlorure de zinc mais la remise en solution du composé ne conduit pas à la méthylsulfone. Toutes les autres conditions employées ne conduisent pas à une sulfone en partie parce que les agents oxydants, mis en réaction en quantité molaire équivalente au thioéther, n'ont pas un taux d'oxygène actif assez élevé [Sato K. et coll., 2001] pour effectuer l'oxydation. Les produits de dégradations observés par CCM sont supposés résulter de l'oxydation de la double liaison en α de l'azote indolique [Yang Y. et coll., 1992].

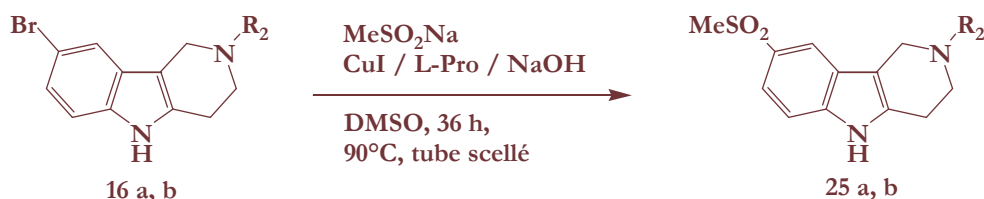
Par ailleurs, une oxydation de thioéther de méthyle portée par un indole récemment décrite [Campbell J.A. et coll., 2004] peut être appliquée pour la synthèse de la méthanesulfonyltétrahydro- γ -carboline (composé **29**). L'oxydation de **28** fut effectuée à froid et nécessite la protection préalable de l'atome d'azote indolique de **17 a** par le groupement Boc en présence d'une base forte (DMAP) dans un solvant polaire aprotique (l'acétonitrile). Cette oxydation s'effectue à froid avec l'oxone, agent d'oxydation soluble dans l'eau et facilement purifiable.

3. Essai d'obtention d'une sulfone par transmétallation



L'action du butyllithium sur **16 a** [Yang Y. et coll., 1992] puis l'ajout de l'anhydride méthanesulfonique ne conduisent pas à la substitution du brome par la méthylsulfone mais à une méthylation de l'atome d'azote indolique pour donner le composé **30**.

4. Sulfonation directe d'un dérivé bromé



La réaction du méthanesulfonate de sodium sur les composés **16 a, b** a pour conséquence la substitution du brome pour former **25 a, b** (60 et 40% respectivement). Cette réaction est cinétiquement lente et nécessite l'ajout d'un mélange catalytique iodure de cuivre et sel de sodium de la L-proline [Zhu W. et Ma D., 2005].

Le méthanesulfonate de sodium est un nucléophile ambident et sa réactivité suit la loi de Pearson (principe HSAB). Il réagit, selon un mécanisme $\text{S}_{\text{N}}2$ et de préférence dans un solvant aprotique, par son atome de soufre (centre mou) car le groupement partant sur la tétrahydro- γ -carboline est mou (effet de symbiose). Une autre explication est que la formation de la sulfone est probablement plus exothermique que la formation du méthanesulfonate ; elle est donc préférée.

5. Géométrie moléculaire du cycle pipéridine

Sur une pipéridine, les atomes en α et β de l'atome d'azote sont dans une conformation anti-périplanaire avec un angle entre les protons diaxiaux de 180° . La présence d'une double liaison insaturée sur la partie pipéridinique des tétrahydro- γ -carboline ne doit normalement pas changer cette conformation mais sa planéité peut diminuer la valeur des angles diaxiaux.

Les résonances des protons des atomes de carbone en α et β de l'atome d'azote pipéridinique du composé **14 a**, sous l'influence du nuage π du benzyle, sont observées à $\delta_{\text{ppm}} \approx 2,81$ correspondant à un hydrogène ; à 2,87 un doublet de doublets ($J = 20,2$ Hz, $J = 5,1$ Hz) correspondant à deux hydrogènes ; à 2,89 correspondant à un hydrogène. Les mêmes résonances sur les spectres des composés carbamoylés sont observées sous forme de triplets ($J = 5,0$ Hz) intégrés chacun pour deux hydrogènes car le carbéthoxy proche induit un fort déblindage sur le carbone en α .

Les couplages scalaires observés sur le spectre ^1H du composé **14 a** permettent d'identifier les protons dans les positions axiales et équatoriales : la relation diaxiale vaut 20 Hz, alors que les constantes de couplage axial-équatorial ou diéquatorial sont plus petites, entre 3,0 et 5,0 Hz. Une interprétation structurale utilisant la relation de Karplus permet d'une part de déterminer que le couplage diaxial n'est pas observé pour les molécules protégées par le carbéthoxy, et d'autre part de conclure que sur les composés substitués par un benzyle ou non, la valeur de l'angle entre les protons en relation diaxiale tend vers les 180° mais n'y est pas égale. Avec une constante J d'environ 5,0 Hz, les protons équatoriaux forment un angle compris entre 50° et 60° . Ces atomes de carbone ont donc une conformation décalée et suivant que l'angle de torsion diaxial soit positif ou négatif, les contraintes stériques conduisent à un changement de conformation de l'atome d'azote pipéridinique. Celui-ci peut théoriquement se positionner équipotentiellement soit au-dessus, soit en-dessous du plan formé par la liaison C-C insaturée et cet équilibre de conformation de l'atome d'azote diffère de celui de la pipéridine thermodynamiquement plus stable dans la conformation chaise.

III. Stratégie de synthèse de type linéaire

L'étude de la synthèse des tétrahydro- γ -carbolines substituées en position 8 a montré que celles protégées par un benzyle sont obtenues avec les meilleurs rendements. Elles constituent donc un point de départ intéressant pour une stratégie de synthèse de type linéaire.

1. Analyse rétrosynthétique

La molécule cible apparaît aisément accessible par association d'une molécule intermédiaire alkylée par une chaîne polyméthylénique au synthon C. Cette molécule intermédiaire résulte de l'association du synthon A protégé au synthon B (schéma 7).

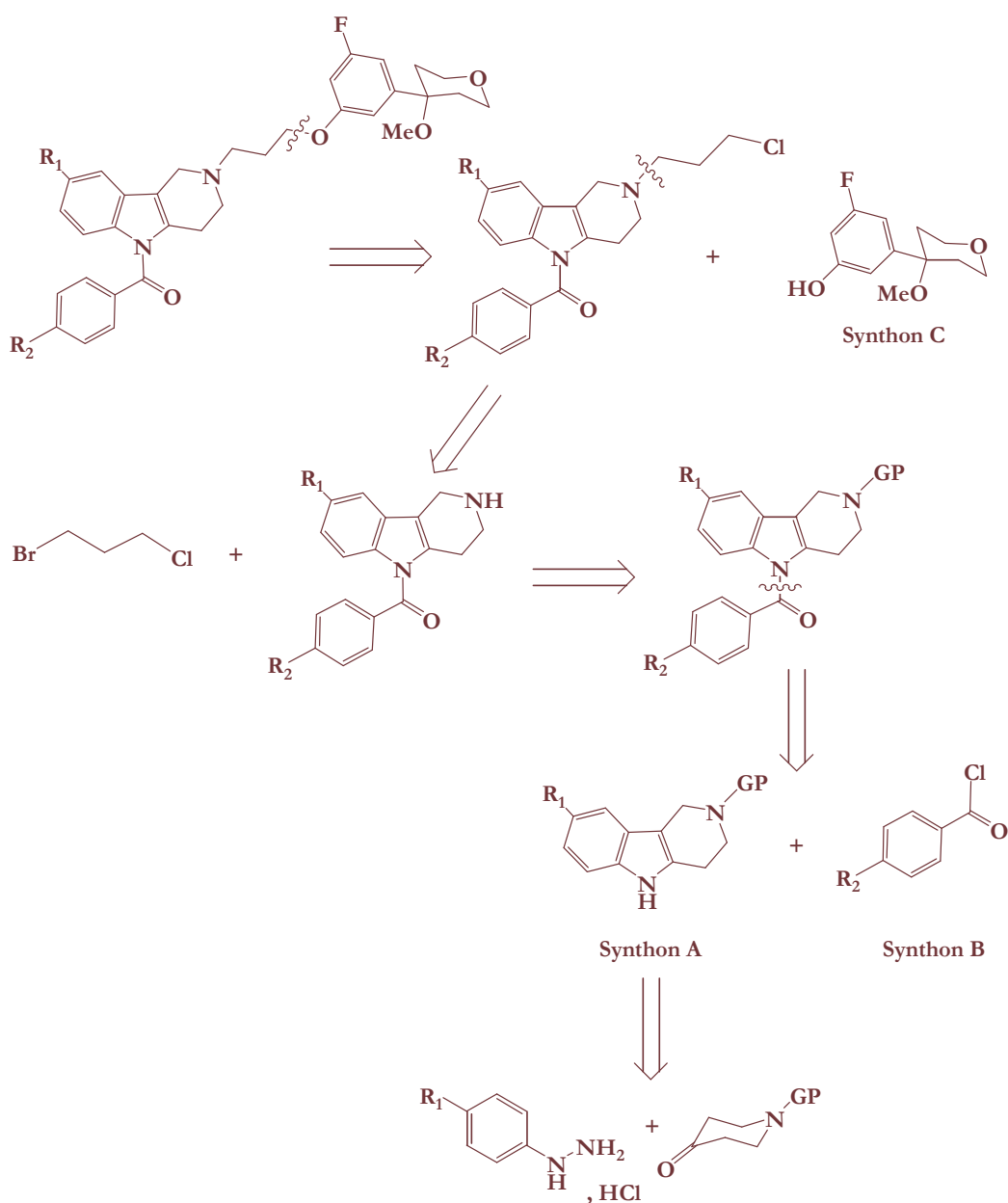
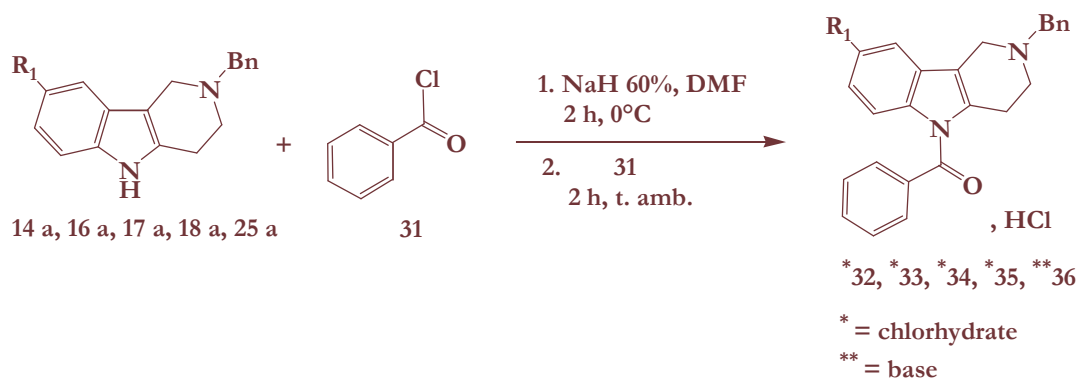


Schéma 7: Schéma de rétrosynthèse.

La stratégie de synthèse correspond donc à cinq étapes car les tétrahydro- γ -carbolines nécessitent une protection pour pouvoir être benzoylées sur l'atome d'azote indolique.

2. Discussion

a. Benzoylation



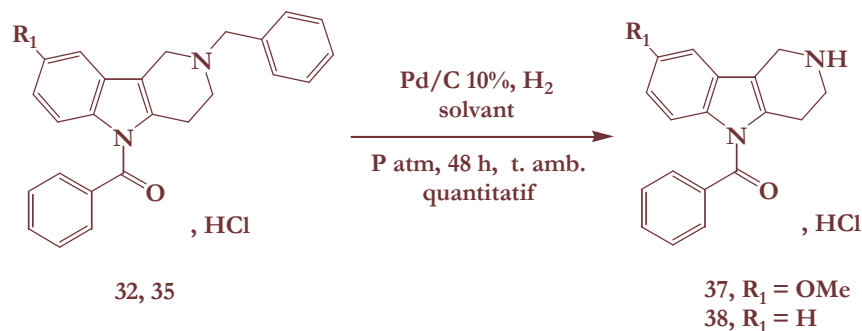
La préparation des amides **32-36** s'effectue par la déprotonation des tétrahydro- γ -carbolines **14 a**, **16 a**, **17 a**, **18 a**, **25 a** qui réagissent ensuite avec le chlorure de benzoyle **31**.

Composé	R ₁	Rendement (%)
32	OMe	48
33	Br	55
34	SMe	48
35	H	67
36	SO ₂ Me	30

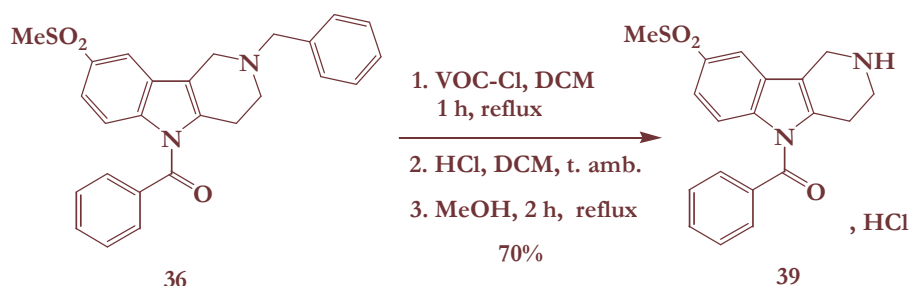
Tableau 19: Rendement de benzoylation.

Les composés sont obtenus avec des rendements comparables à ceux de la littérature [Jois Y.H.R. et Gibson H.W., 1991]. Le faible rendement du composé **36** peut être attribué au traitement basique : les tétrahydro- γ -carbolines sont instables en milieu aqueux et une extraction conduit à une perte de produit.

b. Débenzylation

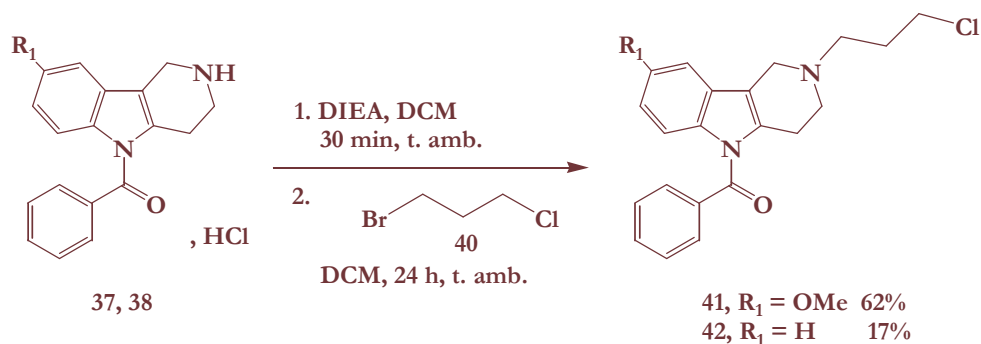


Les composés **32** et **35** sont débenzylés dans un mélange de solvants comprenant un alcool (**32** = dichlorométhane / éthanol, **35** = dichlorométhane / méthanol), avec de très bons rendements. Les alcools seuls ne peuvent pas solvater **32** et **35**, sous forme de sels d'ammonium.



Par contre, le composé **39** est obtenu sous forme de chlorhydrate après l'utilisation du chloroformiate de vinyle comme agent de débenzylation [Howarth N.M. et coll., 1998]. Lors de cette réaction, le doublet libre de l'atome d'azote piperidinique attaque le chloroformiate de vinyle sur le carbonyle pour fournir l'intermédiaire vinyloxy-carbonyle correspondant ; elle est favorisée par le chlore, bon groupement partant. L'intermédiaire quaternaire va ensuite perdre le substituant benzyle suite à une attaque du chlore nucléophile suivant un mécanisme de type S_N1 . La formation de l'intermédiaire est vérifiée par la présence de deux bandes C=O en IR puis par RMN 1H . L'hydrolyse du vinyloxy-carbonyle s'effectue en milieu acide dans le méthanol et à chaud.

c. Alkylation de la chaîne polyméthylénique

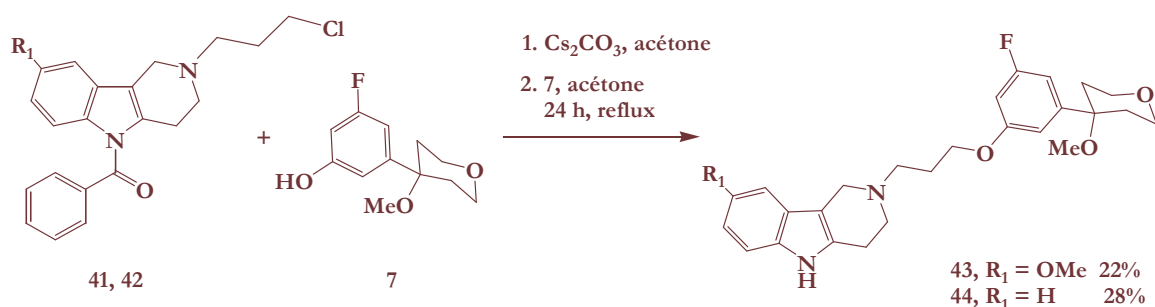


L'alkylation de l'amine secondaire libre peut se faire de deux manières : l'alkylation réductive de monoamines par la méthode de Eshweiler-Clarke [Pine S.H. et Sanchez B.L., 1971] ou bien par alkylation d'Hofmann.

Les amines secondaires des composés **37** et **38** sont nucléophiles et réagissent avec le 1-bromo-3-chloropropane pour former les produits de monoalkylation **41** et **42** avec des rendements de 62 et 17%, respectivement. Un seul équivalent du dérivé dihalogéné est mis en réaction afin de limiter la formation éventuelle de sels d'ammonium quaternaires.

Le composé **42** est instable au contact de l'eau. Une perte quantitative de produit est observée après le lavage aqueux basique et s'ajoute à la perte de produit liée à la séparation par chromatographie.

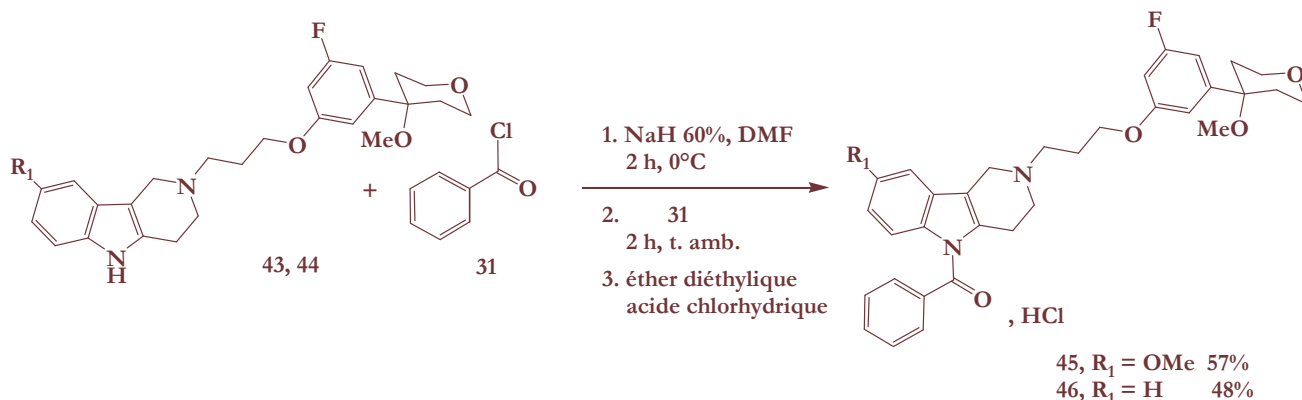
d. Alkylation par le MTHP



Les solvants polaires aprotiques comme l'acétone et le DMF favorisent l'alkylation des phénols [Walsh D.A. et coll., 1989]. Le carbonate de césium est utilisé en excès en tant que capteur de protons.

Si l'instabilité du groupe benzoyle de l'Indométacine fut étudiée en milieu aqueux à pH 8 et à température ambiante [Zouveleki D. et coll., 2002], la perte de ce groupe sur des tétrahydro- γ -carbolines est inédite dans l'acétone. Bien qu'il fut séché sur carbonate de potassium puis sur chlorure de calcium, ce solvant est difficile à déshydrater. La déacylation obtenue résulte vraisemblablement de la forte concentration en base minérale dans le milieu combinée à un long chauffage à reflux qui transformerait progressivement l'eau de l'acétone en hydroxyle. L'anion formé va ensuite attaquer le benzoyle et les produits de réaction sont les tétrahydro- γ -carbolines alkylées et le benzoate. L'alkylation du composé **41** fut ensuite essayée dans l'acétonitrile, plus lipophile que l'acétone, mais les mêmes produits ont été obtenus.

e. Benzoylation



Les valeurs de pK_a de l'atome d'azote indolique des tétrahydro- γ -carbolines sont comparables à celles de l'indole (qui est de 21 dans le DMSO). L'emploi d'une base forte telle que l'hydrure de sodium, l'hydroxyde de sodium ou le butyllithium est nécessaire pour obtenir une déprotonation totale. Toutefois l'hydrure de sodium ($\text{pK}_a = 45$) est préféré car l'organolithien est aussi un bon nucléophile. Les composés **45** et **46** sont obtenus sous forme de chlorhydrate solide après une courte agitation dans de l'éther diéthylique saturé en acide chlorhydrique.

IV. Stratégie de synthèse révisée de type convergente

La rétrotransformation qui a conduit à une synthèse linéaire des composés **45** et **46** présentait des déconnexions a priori viables mais la réalisation concrète, dans le sens synthétique, révèle une débenzoylation lors de la condensation de la molécule intermédiaire avec le MTHP alkylé. Cette débenzoylation a donc conduit à une modification de la stratégie de synthèse.

1. Analyse de rétrosynthèse

L'analyse par rétrotransformation révisée déconnecte d'abord le synthon B, puis le synthon C alkylé du synthon A non protégé. Elle joue sur la différence de basicité entre l'amine indolique ($pK_a = 21$) et l'amine pipéridinique ($pK_a = 11,2$) afin d'effectuer une alkylation sélective de l'amine pipéridinique (schéma 8).

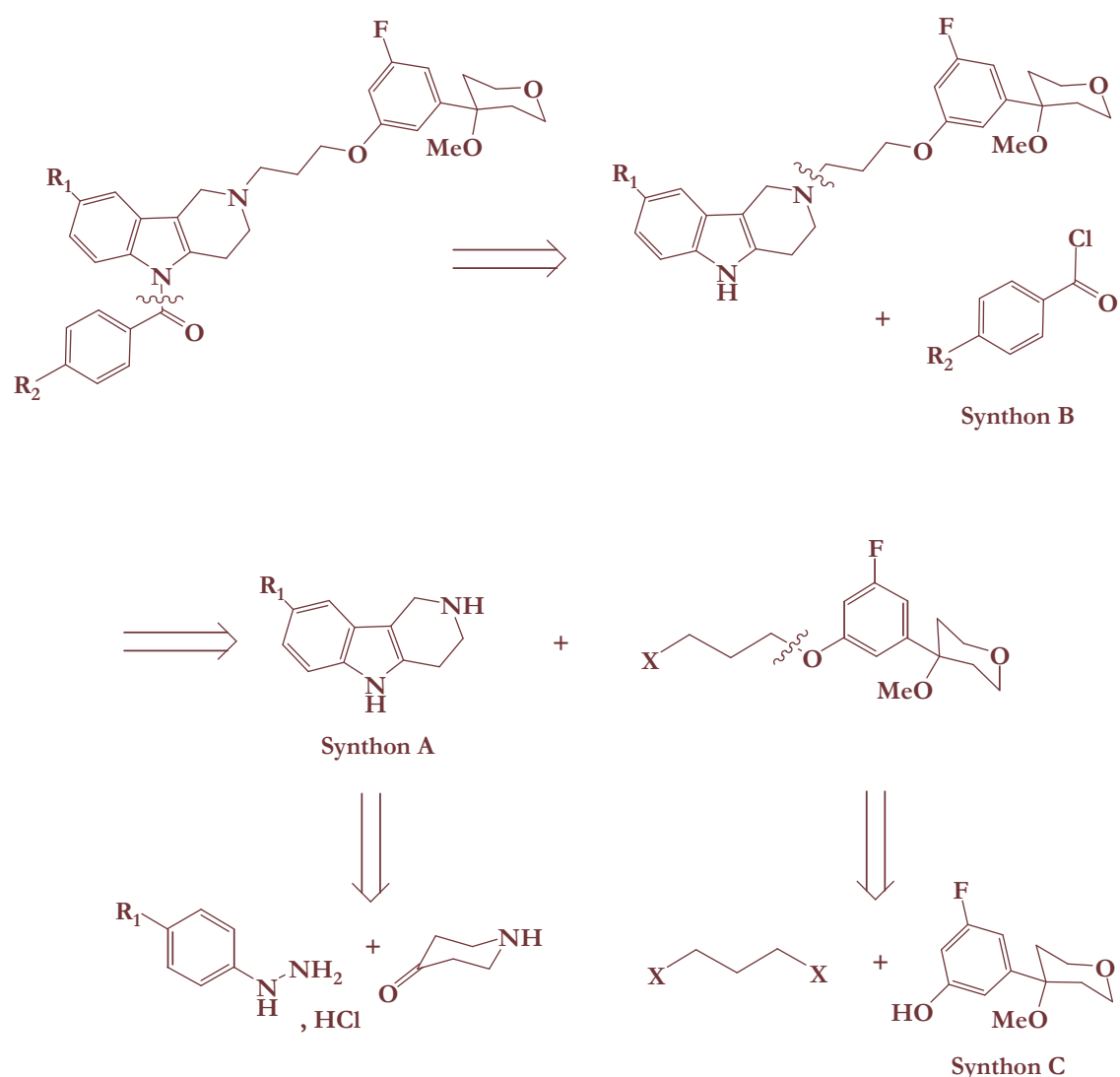
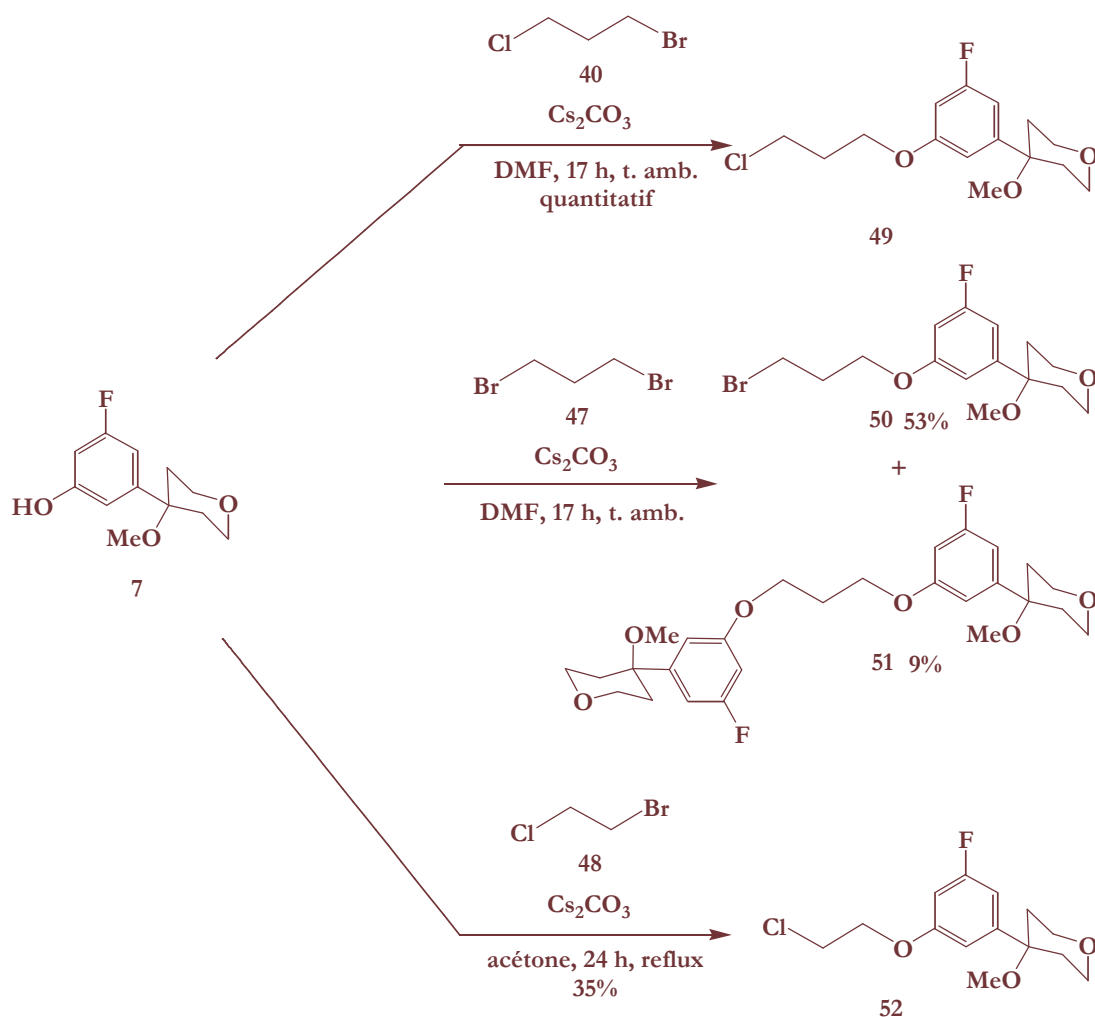


Schéma 8 : Schéma de rétrosynthèse.

Cette seconde approche rétrosynthétique conduit à une stratégie de synthèse de type convergente plus simple, qui ne comporte que quatre étapes et s'achevant par la benzoylation de l'atome d'azote indolique.

2. Discussion sur la synthèse

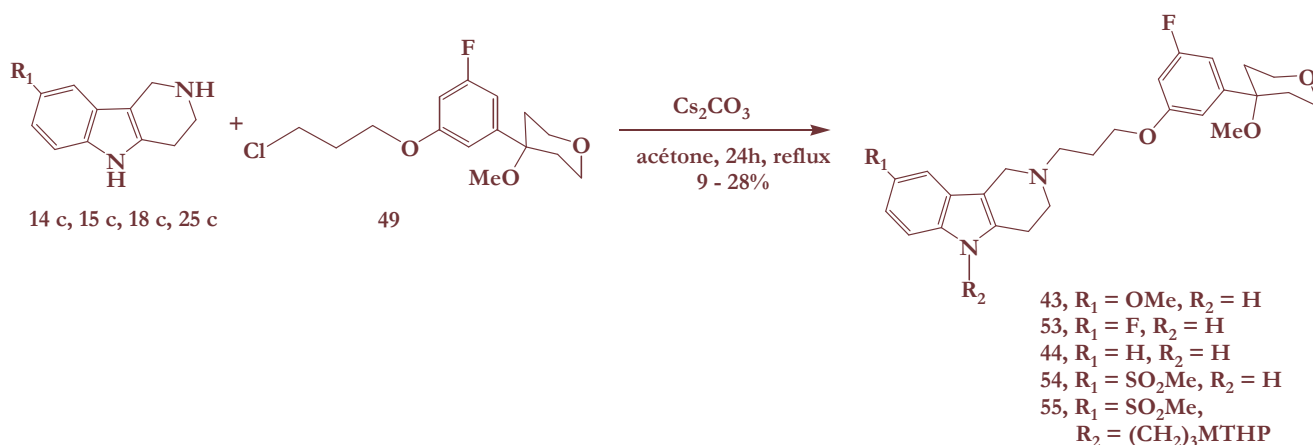
a. Alkylation du MTHP



L'alkylation du méthoxytétrahydropyran **7** se fait dans le DMF ou l'acétone en présence de carbonate de césium.

Afin d'optimiser le rendement global de ces synthèses, l'alkylation du MTHP par des chaînons comportant 2 ou 3 atomes de carbone différemment substitués a été envisagée. Elle est quantitative lorsqu'il réagit avec le 1-bromo-3-chloropropane tandis que l'alkylation du MTHP par le 1,3-dibromopropane ne s'est faite qu'avec un rendement moyen (**50**, 53%) et il y a formation d'un produit secondaire (**51**, 9%). L'alkylation du 1-bromo-2-chloroéthane dans l'acétone conduit au composé **52** avec un rendement de 35%.

b. Alkylation de la tétrahydro- γ -carboline

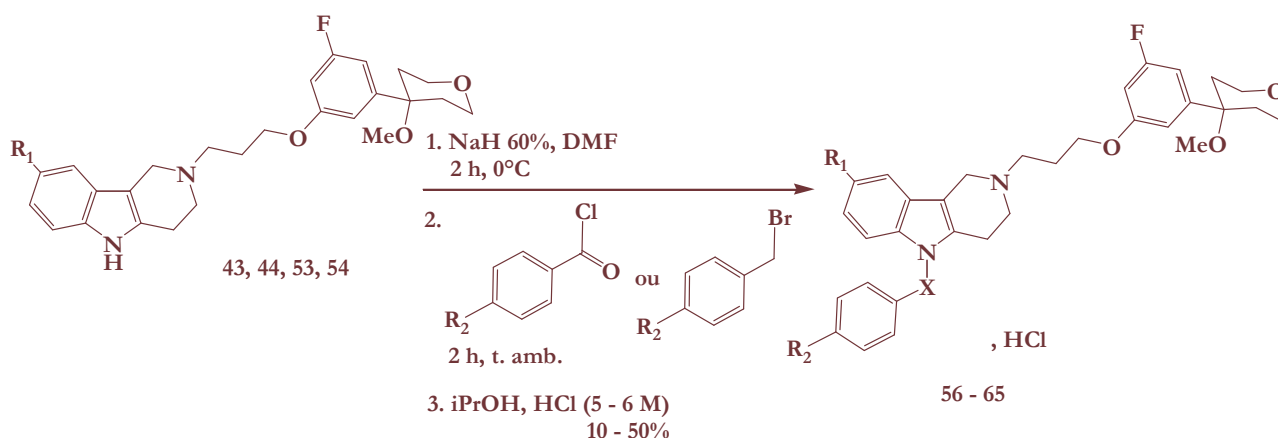


Les meilleurs rendements sont obtenus avec un mélange équimolaire de réactifs et un excès de base minérale. L'amine de la pipéridine réagit suivant un mécanisme S_N2 avec libération concertée d'une molécule d'acide chlorhydrique qui est plus facilement captée par le carbonate de césium que le carbonate de potassium. Par ailleurs, lorsque le milieu est concentré avec un large excès de **49**, l'alkylation s'effectue sur les deux atomes d'azote, **55**, avec un rendement similaire à celui du produit de monoalkylation **54** (tableau 20) [Boger D.L. et coll., 2001].

Composé	R ₁	R ₂	Rendement (%)
43	OMe	H	22
53	F	H	13
44	H	H	28
54	SO ₂ Me	H	9
55	SO ₂ Me	(CH ₂) ₃ MTHP	10

Tableau 20: Rendement de l'alkylation.

c. Benzoylation et benzylation



Les benzoylations et benzylations (tableau 21) sont effectuées en suivant les conditions optimisées décrites dans la littérature [Jois Y.H.R. et Gibson H.W., 1991].

Après réaction, l'huile obtenue subit un traitement particulier : elle est dissoute dans un volume minimum de solvant volatil et est ensuite ajoutée lentement à un grand volume de solution aqueuse légèrement basique. La transformation en base se fait lentement durant quatorze heures puis le précipité est purifié. Aucune débenzoylation n'a été observée. La granulométrie de la silice utilisée pour la purification est faible : 230-400 mesh ASTM afin d'obtenir une séparation optimale. Ces produits étant destinés à être testés pharmacologiquement, leur pureté atteint les 95-99%. Le passage au chlorhydrate permet d'obtenir des solides et s'effectue avec une solution d'acide chlorhydrique à 5-6 M dans l'alcool isopropylique.

Composé	R ₁	R ₂	X	Rendement (%)
56	OMe	2 - F	CO	16
57	OMe	3 - F	CO	10
58	OMe	4 - F	CO	11
59	OMe	4 - Cl	CO	33
60	OMe	2, 4, 6 - triCl	CO	50
61	OMe	4 - Br	CO	20
62	OMe	4 - SO ₂ NCHN(Me) ₂	CO	24
63	OMe	4 - SO ₂ Me	CH ₂	36
64	F	4 - SO ₂ Me	CH ₂	30
65	SO ₂ Me	H	CO	31

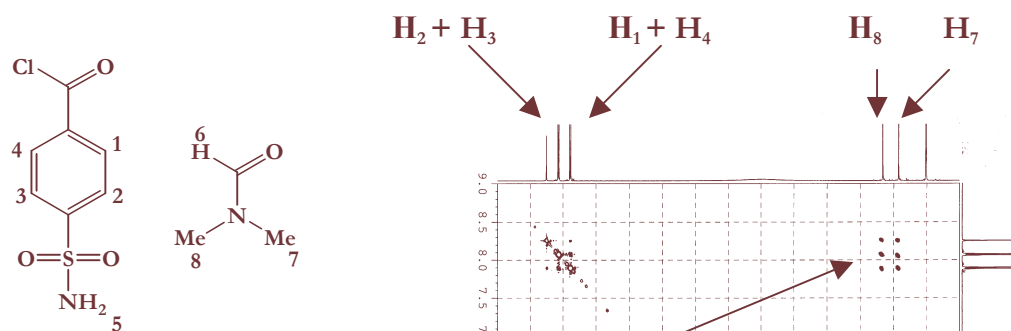
Tableau 21 : Rendement des benzoylation et benzylation.

❖ Réactivité du composé substitué en 8 par la méthylsulfone

La benzoylation de **54** par le chlorure de benzoyle nécessite une agitation préalable avec de la DMAP avant que l'amine ne soit totalement déprotonée par l'hydrure de sodium.

❖ Obtention du composé portant le 4-diméthylaminométhylénaminosulfonyl benzoyle en position 5 (**62**)

La benzoylation de **43** par le chlorure de 4-aminosulfonylbenzoyle ne conduit pas au produit benzoylé portant un groupement sulfonamide en para mais à un produit secondaire dont le substituant du benzoyle est le 4-diméthylaminométhylénaminosulfonyle. Ce substituant est décrit dans la littérature comme issu de la réaction du groupement sulfonamide avec une molécule de DMF [Kuwahara M. et coll., 1996]. Le chlorure de benzoyle utilisé est commercialisé sous le nom « complexe de DMF » sans aucune autre information sur sa forme réelle. Afin d'éclaircir sa structure, la connectivité de la molécule a été déterminée par une expérience de RMN 2D ROESY.



Cette carte montre des relations de proximité entre les protons du DMF et les protons aromatiques du benzoyle. Ces interactions n'existeraient pas si le groupe amino du sulfonamide était masqué.

L'interprétation des relations observées sur le spectre de RMN 2D montre donc le produit commercial comme étant en interaction spatiale de stacking entre le nuage π du benzoyle et une molécule de DMF (figure 38).

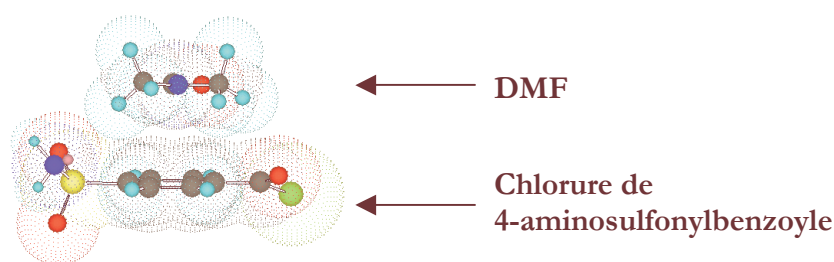


Figure 38: Complexe chlorure de 4-aminosulfonylbenzoyle-DMF.

Représentation des surfaces de Van der Waals effectuée avec « CS Chem3D™ ». La minimisation est effectuée avec le champ MM2 avec une énergie stérique minimisée de $E = -8,95 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

La présence inattendue de ce groupement est donc issue de la réaction du sulfonamide, peut-être déprotoné par l'hydrure de sodium qui n'a pas réagi, avec le DMF. La libération d'un tel groupement diméthylaminométhylénique s'effectue normalement dans des conditions acides : acide trifluoroacétique en mélange avec l'acide chlorhydrique [Kuwahara M. et coll., 1996] ou acide chlorhydrique 5N [Kuwahara M. et coll., 1997] pour redonner le sulfonamide. Cependant, le groupe méthoxy présent sur le pyranne est susceptible d'être clivé dans ces conditions. Cette perte est notamment observée sur les spectres LC-MS de **54**, **55** et **65** analysés en mode d'ionisation APCI⁺. Une réaction de déprotection a néanmoins été essayée dans des conditions acides douces (HCl 0,5 N) à reflux mais s'est traduite par la dégradation du réactif.

❖ Conformation du composé portant le 4-diméthylaminométhylénaminosulfonyl benzoylé

Les analyses par RMN 2D ont été réalisées afin d'attribuer les signaux obtenus aux protons du composé **62** sur le spectre de RMN ^1H . Sur les cartes obtenues, les observations ont également permis de déterminer la conformation adoptée par le benzoylé.

Il existe théoriquement deux isomères de conformation, *anti* et *syn* (schéma 9).

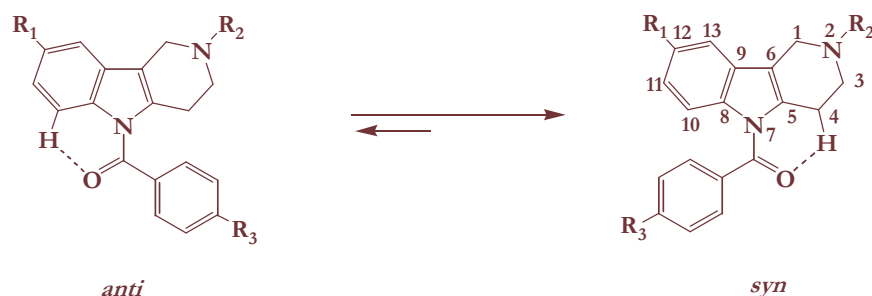
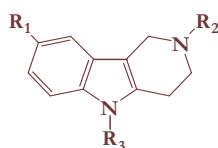


Schéma 9: Conformations *anti* et *syn* du benzoylé par rapport à l'homocycle.

L'effet de déblindage induit par l'oxygène du carbonyle permet normalement d'émettre des hypothèses sur son environnement. Or cette perturbation n'est observée ni sur les déplacements chimiques des protons des carbones 3 et 4, ni sur ceux des protons aromatiques 10 et 11 de l'homocycle. Par contre un effet de blindage de ces mêmes protons est observé sur de nombreux spectres en comparant les déplacements de ces protons avec ceux correspondants sur les molécules non benzoylées (tableau 22). Ces déplacements vers les hauts champs sont également observés en comparant les spectres des molécules **14 a** et **32**, ce qui démontre que le substituant MTHP n'induit aucune perturbation. Cette perturbation peut être dû à la structure non plane de la *N*-benzoyltétrahydro- γ -carboline ainsi qu'à la probable inexistence de la faible liaison hydrogène entre le proton porté par l'homocycle et le carbonyle (conformation *anti*) ou entre les protons du cycle pipéridinique et le carbonyle (conformation *syn*).



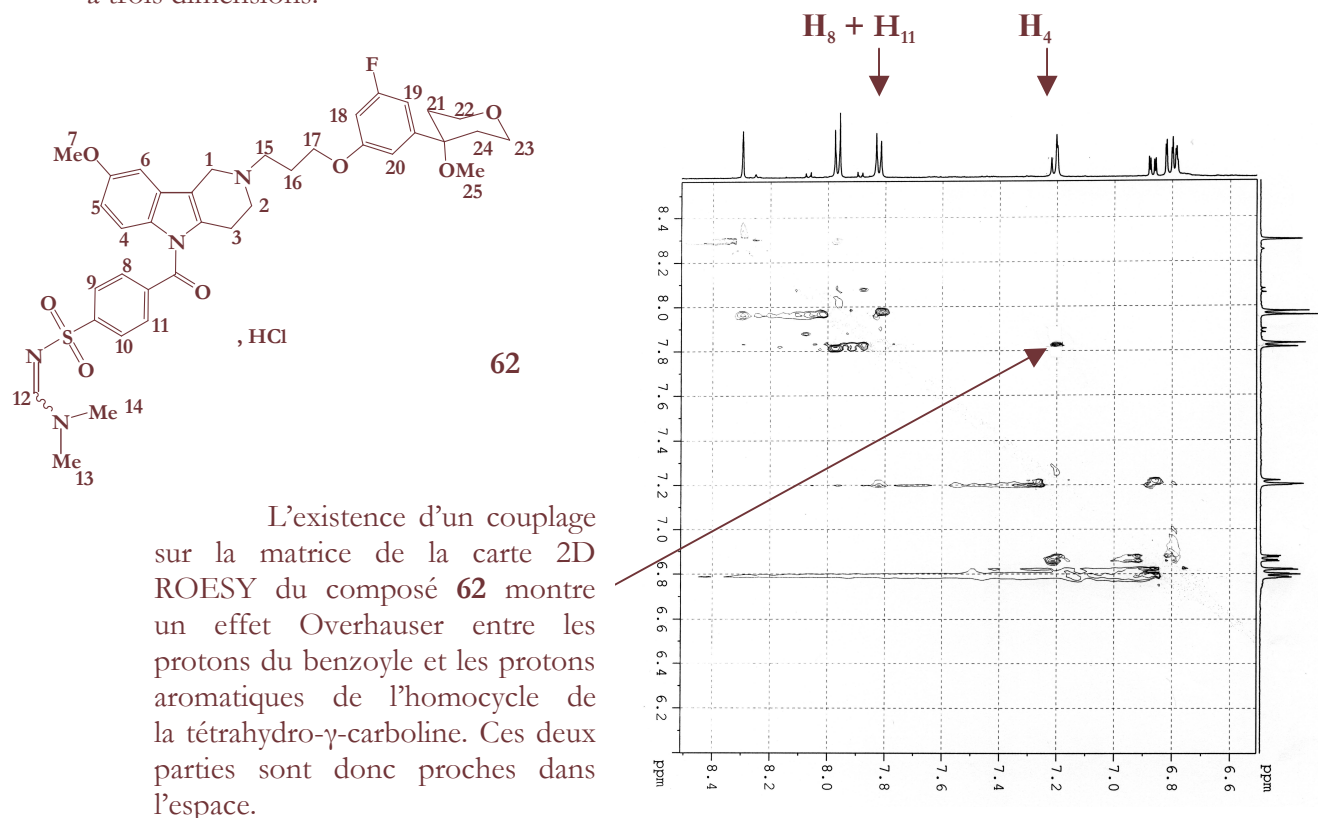
Composé	R ₁	R ₂	R ₃	δ_{ppm}			
				C ₃	C ₄	C ₁₀	C ₁₁
43	OMe	(CH ₂) ₃ MTHP	H	3,65	3,36	7,54	6,92
62	OMe	(CH ₂) ₃ MTHP	(Me) ₂ NCHNSO ₂ C ₆ H ₄ CO	2,80	2,73	6,81	6,77
54	SO ₂ Me	(CH ₂) ₃ MTHP	H	2,96	2,96	7,43	7,68
65	SO ₂ Me	(CH ₂) ₃ MTHP	C ₆ H ₅ CO	2,81	2,81	7,50	7,67
14a	OMe	C ₇ H ₇	H	2,89	2,81	7,14	6,77
32	OMe	C ₇ H ₇	C ₆ H ₅ CO	2,72	2,72	7,26	6,73

Tableau 22: Déplacements chimiques.

Les spectres comparés sont ceux des molécules sous forme base car lorsque les produits finaux sont sous forme de chlorures, les signaux des protons aliphatiques sortent éclatés sur les spectres entre 2,5 et 5,0 ppm.

La seule interprétation des déplacements chimiques et des couplages scalaires du spectre de RMN ^1H du composé **62** ne peut renseigner exactement sur la conformation prise par le benzoyle. Un troisième paramètre, qui est la constante de couplage direct, dipolaire entre les moments magnétiques nucléaires des protons proches dans l'espace, est détectable dans les expériences de RMN 2D et permet la définition de la géométrie de la molécule dans l'espace à trois dimensions.

La seule interprétation des déplacements chimiques et des couplages scalaires du spectre de RMN ^1H du composé **62** ne peut renseigner exactement sur la conformation prise par le benzoyle. Un troisième paramètre, qui est la constante de couplage direct, dipolaire entre les moments magnétiques nucléaires des protons proches dans l'espace, est détectable dans les expériences de RMN 2D et permet la définition de la géométrie de la molécule dans l'espace à trois dimensions.



L'existence d'un couplage sur la matrice de la carte 2D ROESY du composé **62** montre un effet Overhauser entre les protons du benzoyle et les protons aromatiques de l'homocycle de la tétrahydro- γ -carboline. Ces deux parties sont donc proches dans l'espace.

L'analyse des trois types de paramètres en RMN permet de conclure que la *N*-benzoyltétrahydro- γ -carboline **62** est plus stable dans la conformation *syn*. Dans cette conformation, le benzoyle tend à se placer presque perpendiculairement au plan de l'homocycle (voir minimisation : figure 39) afin d'optimiser les interactions de contact π -H. Ceci est vérifié par l'effet de blindage des protons aromatiques de l'homocycle et non de déblindage, qui aurait été observé si ces deux cycles étaient en relation de proximité H-H.

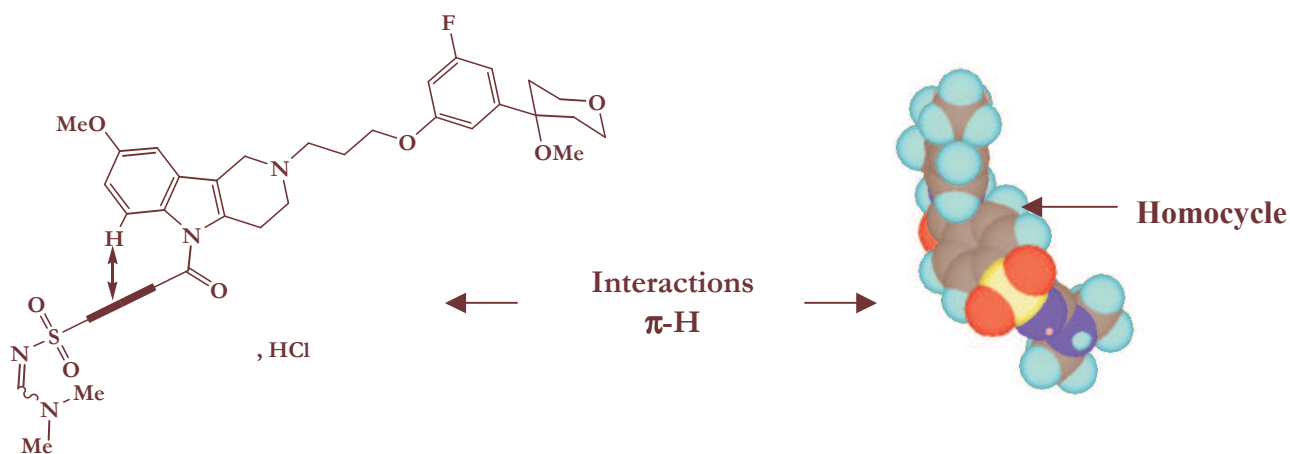
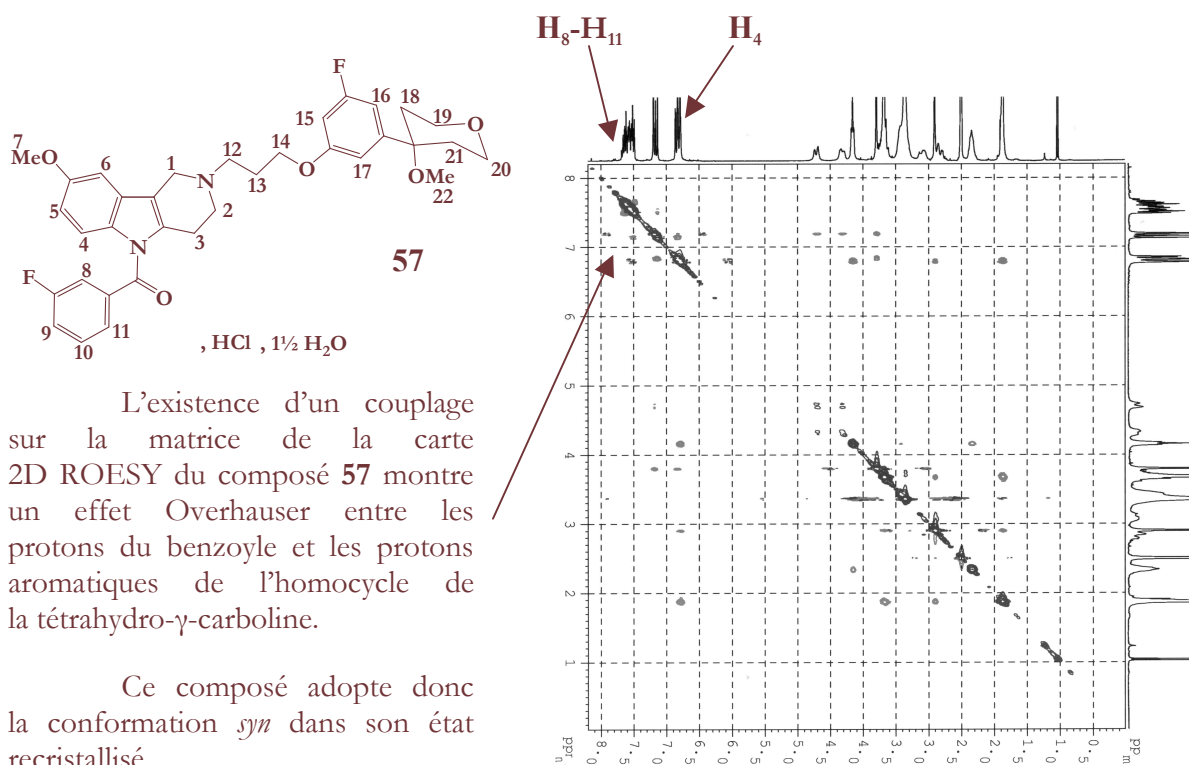


Figure 39: Vues de face et latérale des interactions de contact π -H entre le benzoyle et l'homocycle du composé **62** avec « CS Chem3D™ ».

La minimisation est effectuée avec le champ MM2 avec une énergie stérique minimisée de $E = 23,01 \text{ kcal.mol}^{-1}$.

Il est possible d'extrapoler les résultats de cette étude à l'ensemble des structures *N*-benzoyltétrahydro- γ -carbolines et d'émettre l'hypothèse que la conformation *syn* est énergiquement la plus stable. D'autres analyses de RMN 2D sont en cours et vont permettre de vérifier cette hypothèse. Il est particulièrement intéressant d'analyser les molécules portant un fluor en ortho (**56**), en méta (**57**) et en para (**58**) sur le benzoyle afin de connaître la potentielle influence de la position de ce substituant sur la conformation adoptée.



L'existence d'un couplage sur la matrice de la carte 2D ROESY du composé **57** montre un effet Overhauser entre les protons du benzoyle et les protons aromatiques de l'homocycle de la tétrahydro- γ -carboline.

Ce composé adopte donc la conformation *syn* dans son état recristallisé.

Mais la RMN 2D ROESY seule ne permet pas de connaître le positionnement du fluor en para sur le benzoyle dans l'espace. Une première difficulté d'interprétation est en effet rencontrée sur la carte du composé **57** car les déplacements chimiques des signaux des protons du benzoyle sont proches. Il est donc impossible de distinguer si les signaux des effets nucléaires Overhauser observés sont ceux de la relation entre les protons H_4 et H_8 de **57** ou bien des autres protons sur le benzoyle.

***EVALUATION
PHARMACOLOGIQUE***

Evaluation pharmacologique

Les produits finaux obtenus par synthèse ont été testés sous la direction de :

- Madame Nicole POMMERY, Université de Lille 2, pour l'inhibition de la prolifération cellulaire,
- Monsieur Jean POMMERY, Laboratoire de Toxicologie, Santé Publique et Environnement, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille 2, pour l'évaluation des activités inhibitrices 5-LO, COX₁ et COX₂.

Les protocoles expérimentaux sont décrits dans la partie expérimentale. Les résultats de ces tests vont permettre de déterminer si les molécules hybrides *N*-benzoyltétrahydro- γ -carbolines valident le concept d'inhibiteur mixte. Puis ils permettront de rationaliser les contributions individuelles des différents substituants sur le squelette de base.

I. Les principes et méthodes des différents tests existants

1. Evaluation des activités 5-LO, COX₁ et COX₂

L'évaluation de l'activité inhibitrice des enzymes contrôlant le métabolisme de l'AA peut se faire en faisant appel à des méthodes *in vitro* et *ex vivo* parfaitement codifiées.

❖ Les méthodes *in vitro*

Les trois méthodes expérimentales les plus couramment utilisées sont :

- la méthode utilisant des cellules normales exprimant COX₁ (ou COX₂)
- la méthode utilisant des cellules transfectées
- la méthode utilisant des tissus ou membranes cellulaires

L'activité COX est quantifiée par dosage direct de la PGE₂ par le test ELISA (figure 40). Ce test utilise un système antigène-anticorps qui reconnaissent spécifiquement la PGE₂. Son dosage est réalisé dans des puits recouverts d'anticorps de chèvre anti-souris. Le réactif de dosage, des anticorps de souris anti-PGE₂, est ajouté avant le standard, du PGE₂ lié à une peroxydase, et le PGE₂ cytoplasmique. Le milieu est incubé pendant une heure, afin qu'un équilibre compétitif s'établisse entre les complexes (PGE₂ cytoplasmique-anticorps) et (PGE₂ lié à une peroxydase-anticorps). Après rinçage des puits réactionnels, la TMB (3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine), substrat de la peroxydase, est additionnée dans chaque puits. Après 30 minutes d'incubation, la mesure de l'absorbance à 450 nm permet de doser la quantité de TMB ayant subi l'action de la peroxydase, c'est-à-dire la quantité de PGE₂ lié à une peroxydase qui a été fixé par l'anticorps de souris anti-PGE₂.

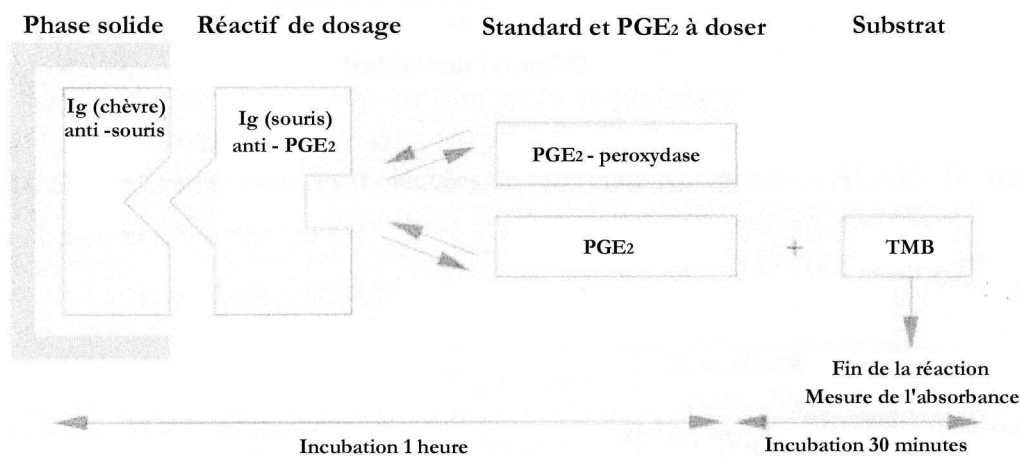


Figure 40 : Test ELISA.

La procédure idéale de mesure d'inhibition de COX₁ et COX₂ est celle des cellules intactes à partir de tissu humain fraîchement isolé. Ce test dispose d'une bonne sensibilité qui est de l'ordre de 10⁻⁷ M au minimum mais présente une faiblesse liée à la manière de calculer la sélectivité. Par exemple, dans leur étude en 2002, *Barbey et ses collaborateurs* ont évalué les activités d'inhibition envers les COXs en utilisant des cellules différentes (monocytes pour COX₁ et ostéosarcomes pour COX₂). Les valeurs de CI₅₀ trouvées pour ALIOX 18 sont > 10 µM pour COX₁ et de 0,05 µM pour COX₂. Le rapport de ces résultats conduit à conclure sur une sélectivité supérieure à 200 qui ne reflète pas la réalité physiologique. Par conséquent, à moins de mesurer l'inhibition sur les mêmes cellules, les tests d'inhibition des composés synthétisés sont effectués *ex-vivo* sur sang total afin d'évaluer la sélectivité de manière plus représentative.

❖ Les méthodes d'étude *ex vivo*

Les dosages sont réalisés sur sang total :

- l'effet sur la 5-LO est mesuré par la concentration des marqueurs LTB₄ et 5-HETE produits après stimulation des leucocytes et des plaquettes par un ionophore calcique,
- l'effet sur COX₁ est mesuré par la quantité de thromboxane TXB₂, métabolite stable de TXA₂, libéré par les plaquettes pendant la coagulation,
- l'effet sur COX₂ est mesuré en fluorescence par la concentration de PGE₂ provenant des monocytes stimulés par le LPS [Panara M.R. et coll., 1995].

La technique d'analyse des eicosanoïdes utilisée est la CLHP couplée à un détecteur UV. Etant donné la faible réponse envisageable pour les prostaglandines, le marqueur d'activité retenu a été l'acide 12-hydroxyheptadécatriénoïque (12-HHTr).

Ce modèle présente plusieurs avantages par rapport aux méthodes *in vitro* :

- tous ces marqueurs peuvent être observés ensemble sur un chromatogramme avec le standard interne qui n'interfère pas avec leurs signaux,
- les taux de recouvrement de ces marqueurs LTB₄, 12-HHT_r, 13-HODE, 5-HETE, 12-HETE, 15-HETE, sont supérieurs à 90% [Surette M.E. et coll., 1994],
- la sélectivité est évaluée au travers d'un test unique réalisé dans le même milieu physiologique,
- les CI₅₀ obtenues reflètent à la fois l'activité propre des molécules et leur fixation aux protéines plasmatiques et peuvent donc être comparées aux concentrations thérapeutiques,
- les valeurs d'indice de sélectivité (S), plus homogènes et inférieures à celles obtenues dans d'autres systèmes *in vitro*, paraissent plus représentatives de la réalité physiologique.

❖ Méthode d'évaluation de la sélectivité COX₂ / COX₁

La CI₅₀ est la variable expérimentale la plus couramment utilisée. Par définition, il s'agit de la concentration du produit testé capable d'inhiber 50% de l'activité enzymatique. Le rapport des CI₅₀ est utilisé comme indice de sélectivité.

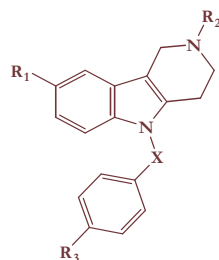
Ainsi, dans le cas présent, il s'agit de trouver une molécule ayant une CI₅₀ très grande pour la COX₁ et basse pour la COX₂.

Cela se traduit par le rapport : $\frac{CI_{50} COX_2}{CI_{50} COX_1} \ll 1$

2. Evaluation de l'inhibition de la prolifération cellulaire

Les tests mesurant l'inhibition de la prolifération cellulaire ont été effectués sur la lignée cellulaire PC-3 pour le cancer de la prostate, lignée cellulaire humaine hormono-indépendante, issue d'une métastase osseuse et considérée comme très invasive, et sur les lignées L-1210 pour les leucémies murines et MCF7 pour le cancer du sein.

II. Résultats des tests pharmacologiques



Molécules	Structures	CI ₅₀ (10 ⁻⁵ M) et (% d'inhibition à 10 ⁻⁵ M)				Sélectivité S
		LTB ₄	5-HETE	12-HHT _r	12-HHT _r *	
Zileuton	-	0,1 ± 0,4	0,1 ± 1,1	pas d'activité	pas d'activité	-
Indométacine (NS)	-	pas d'activité	pas d'activité	0,03 ± 0	0,05 ± 0	1,81
Célécoxib (S)	-	pas d'activité	pas d'activité	1,3 ± 0,8	0,1 ± 0,3	0,06
	R ₂ = H					
37	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = H	pas d'activité	pas d'activité	0,6 ± 0,2	8,8 ± 1,4	> 10
39	R ₁ = SO ₂ Me ; X = CO ; R ₃ = H	pas d'activité	pas d'activité	2,4 ± 1,8	pas d'activité	-
	R ₂ = (CH ₂) ₃ MTHP					
45	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = H	6,6 ± 0,2	10,8 ± 2,1	(84,3%)	7,8 ± 0,7	> 7,8
46	R ₁ = H ; X = CO ; R ₃ = H	9,3 ± 0,9	20,6 ± 15,6	1,8 ± 0,6	10,2 ± 1,0	5,6
56	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 2 - F	3,9 ± 0,5	> 10	(83,5%)	12,6 ± 3,5	> 10
57	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 3 - F	3,8 ± 0,7	4,0 ± 1,5	0,8 ± 0,2	35,7 ± 2,5	> 10
58	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 4 - F	5,8 ± 0,4	5,9 ± 0,1	(71,6%)	5,4 ± 0,7	> 5,4
59	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 4 - Cl	5,9 ± 0,1	11,9 ± 2,3	0,7 ± 0,8	19,8 ± 2,9	> 10
60	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 2, 4, 6 - triCl	4,5 ± 0,2	5,5 ± 0	3,7 ± 0,2	10,0 ± 0	2,7
61	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 4 - Br	4,7 ± 0,1	6,2 ± 0,3	1,6 ± 0,6	8,5 ± 0,9	5,2
62	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 4 - SO ₂ NCHN(Me) ₂	interférence	(81,4%)	pas d'activité	pas d'activité	-
63	R ₁ = OMe ; X = CH ₂ ; R ₃ = 4 - SO ₂ Me	7,6 ± 4,53	10,9 ± 8,2	pas d'activité	10,9 ± 0	-
64	R ₁ = F ; X = CH ₂ ; R ₃ = 4 - SO ₂ Me	2,9 ± 0	2,5 ± 0	18,0 ± 5,4	pas d'activité	-
65	R ₁ = SO ₂ Me ; X = CO ; R ₃ = H	interférence	pas d'activité	2,4 ± 1,4	(8,4%)	-

S = sélectif

NS = non sélectif

interférence = la molécule testée interfère avec le marqueur

Tableau 23: Résultats des tests sur sang total.

Molécules	Structures	CI ₅₀ (10 ⁻⁵ M) et (% d'inhibition à 10 ⁻⁵ M)		
		L-1210	MCF7	PC-3
Zileuton	-		Non testé	
Indométacine	-		Non testé	
Célécoxib	-	4,40	5,02	4,85
	R ₂ = H			
37	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = H	(32%)	(0%)	(0%)
37	R ₁ = SO ₂ Me ; X = CO ; R ₃ = H	(0%)	(0%)	(7%)
	R ₂ = (CH ₂) ₃ MTHP			
45	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = H	(20%)	(18%)	(20%)
46	R ₁ = H ; X = CO ; R ₃ = H	(24%)	(30%)	(6%)
56	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 2 - F	(45%)	(21%)	(15%)
57	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 3 - F	(40%)	(8%)	(44%)
58	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 4 - F	(44%)	(37%)	(0%)
59	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 4 - Cl	0,78	0,84	(9%)
60	R ₁ = OMe ; X=CO ; R ₃ = 2, 4, 6 - triCl	(11%)	(36%)	(0%)
61	R ₁ = OMe ; X=CO ; R ₃ = 4 - Br	(42%)	(39%)	(0%)
62	R ₁ = OMe ; X = CO ; R ₃ = 4 - SO ₂ NCHN(Me) ₂	0,64	(21%)	(42%)
63	R ₁ = OMe ; X = CH ₂ ; R ₃ = 4 - SO ₂ Me	0,52	(27%)	0,87
64	R ₁ = F ; X =CH ₂ ; R ₃ = 4 - SO ₂ Me	0,46	(34%)	0,80
65	R ₁ = SO ₂ Me ; X = CO ; R ₃ = H	(38%)	(15%)	(37%)

Tableau 24: Résultats des tests de cytotoxicité des N-benzoyltétrahydro- γ -carbolines et des N-benzyltétrahydro- γ -carbolines.

Molécule	Structure	CI ₅₀ (10 ⁻⁵ M) et (% d'inhibition à 10 ⁻⁵ M)		
		L-1210	MCF7	PC-3
55		0,39	(36%)	0,67

(Ce composé interfère avec tous les marqueurs d'activité enzymatique)

Tableau 25: Résultat du test de cytotoxicité du composé 55 sur PC-3.

III. Interprétation des résultats pharmacologiques

Les tétrahydro- γ -carbolines sont obtenues sous forme d'huile lorsqu'elles sont basiques. Les propriétés de solubilité de ces composés ont été optimisées par la salification de l'amine pipéridinique en chlorhydrate avant d'effectuer les tests. De manière générale, les composés présentent une bonne solubilité à 10⁻⁴ M dans le DMSO sauf pour le composé **60** (soluble à 5.10⁻⁵M).

1. Tests *ex vivo* d'inhibition des 5-LO et COXs

Les activités de l'Indométacine [Dannhardt G. et Kiefer W., 2001] et du Zileuton [Brooks C.D.W. et Summers J.B., 1996] ont d'abord été évaluées et montrent des résultats de même ordre que ceux décrits dans la littérature avec le même test (CI₅₀ (COX₁) = 0,016.10⁻⁵ M et CI₅₀ (COX₂) = 0,046.10⁻⁵ M pour l'Indométacine ; CI₅₀ (5-LO) = 0,07.10⁻⁵ M pour le Zileuton) tandis que le Célécoxib a une activité plus faible par rapport à celle décrite (CI₅₀ (COX₁) > 100.10⁻⁵ M et CI₅₀ (COX₂) = 0,007 10⁻⁵ M) [Dannhardt G. et Kiefer W., 2001]. Les résultats obtenus avec ce test d'inhibition doivent toujours être analysés sans perdre de vue la communication qui existe entre les diverses voies de métabolisme de l'AA, l'inhibition d'une de ces voies pouvant entraîner une stimulation compensatrice d'une ou de plusieurs de ces autres voies. Quelque soit la pharmacomodulation envisagée, les indices de sélectivité montrent la détérioration de la sélectivité et révèlent le pouvoir inhibiteur mixte 5-LO / COX₁ des tétrahydro- γ -carbolines.

❖ Activités des tétrahydro- γ -carbolines

➤ Les molécules ne portant pas le MTHP

La comparaison de l'activité de l'Indométacine avec celle du composé **37** montre que la fonction acide acétique est essentielle à l'activité d'inhibition de l'Indométacine. De manière générale, le motif *N*-benzoyltétrahydro- γ -carboline seul, c'est-à-dire non substitué par le groupe MTHP inhibe COX₁ avec une activité observée de l'ordre de 10⁻⁵ M mais n'inhibe ni 5-LO ni COX₂.

➤ Les molécules hybrides

Les molécules testées portant un groupement électrodonneur ou neutre en position 8 inhibent potentiellement 5-LO (CI₅₀ \approx 10⁻⁵ M) et COX₁ (10⁻⁵ M < CI₅₀ < 10⁻⁶ M) alors que l'activité envers COX₂ est plus modérée (10⁻⁴ M).

La sélectivité du composé **65** n'est pas fiable car ce composé a montré à deux reprises de se dégrader dans le temps. Il est indétectable après induction de COX₂ sur CLHP.

La meilleure activité sur 5-LO est obtenue avec le composé **62** (81,4% à 10⁻⁵ M), qui est cependant dépourvu d'activité envers les COXs, et d'autres résultats sont également intéressants avec les composés **57**, **59** et **61** portant des substituants halogènes sur le benzoyle.

Les meilleures activités d'inhibition de COX₁ sont appréciées quelque soit la substitution en 8 de la γ -carboline avec un benzoyle substitué ou non par un halogène.

Le composé le plus performant vis-à-vis de COX₂ est le composé **58** substitué en para par un atome de fluor. Le changement de position du fluor (en ortho ou en méta) entraîne une perte d'activité sur COX₂ et la présence ou l'absence d'un autre halogène sur la position para n'affecte en rien l'activité. Un brome en position para (**61**) est équivalent à un chlore (**59**).

De manière générale les substituants sur le benzoyle ne doivent pas être trop volumineux :

– le groupement 4-diméthylaminométhyléminosulfonylbenzoyle (**62**) entraîne une perte d'activité envers les COXs mais conduit à une bonne inhibition de 5-LO. L'inactivité envers les COXs peut provenir du facteur stérique et de la longueur du substituant 4-diméthylaminométhyléminosulfonyle qui pourraient empêcher l'insertion de la molécule dans le site actif.

– changer le groupement benzoyle par un groupement méthanesulfonylbenzyle (**63**, **64**) en libre rotation autour du plan de la tétrahydro- γ -carboline entraîne une perte d'activité sur les COXs quelque soit le groupement présent sur la tétrahydro- γ -carboline. L'activité sur la 5-LO est par ailleurs conservée.

❖ Sélectivités des tétrahydro- γ -carbolines

Contrairement à ce qu'il aurait pu être prédit, la substitution d'un méthoxy par une méthylsulfone (**39**) n'inverse pas la sélectivité. Les molécules testées portant un groupement électrodonneur ou neutre en position 8 ont un rapport de sélectivité modeste : $5 \leq S \leq 10$, voire faible $S \gg 10$, qui varie selon les substitutions du groupement benzoyle. Une substitution en para entraîne un gain en sélectivité d'un facteur 2 par rapport à la position ortho et d'un facteur important par rapport à la position méta.

Le groupement trichlorobenzoyle (**60**), fortement encombré, n'entraîne aucune inversion de la sélectivité contrairement au composé L-748-780 décrit dans la littérature comme sélectif COX₂ suite à un test *in vitro* sur cellules normales [Dannhardt G. et Kiefer W., 2001]. Un gain en sélectivité est toutefois observé par rapport au composé **59** portant un chlore en para sur le benzoyle. Un fluor (**58**) ou un brome (**61**) à la place du chlore en para améliore la sélectivité, celle-ci ne dépend donc pas de la taille de l'halogène.

2. Tests de cytotoxicité

Les relations structure-activité qui émanent des tests de cytotoxicité montrent que les molécules qui inhibent la prolifération sont caractérisées par la présence de différents groupes fonctionnels indispensables à l'activité. Ces motifs sont le 4-chlorobenzoyle et le 8-méthoxy, présents sur l'Indométacine, pour une bonne activité sur L-1210 et MCF7. La différence d'activité entre les composés portant ou non le MTHP confirme que l'inhibition de la 5-LO peut jouer potentiellement un rôle dans l'inhibition de la croissance de ces cellules.

Les composés portant une méthylsulfone ont tous été testés sur les lignées métastatiques du cancer de la prostate et montrent pour la plupart de bons résultats (CI₅₀ (**55**) = 0,67.10⁻⁵ M, CI₅₀ (**63**) = 0,87.10⁻⁵ M, CI₅₀ (**64**) = 0,80.10⁻⁵ M et % d'inhibition à 10⁻⁵ M (**65**) = 37%). Les activités des molécules **63** et **64**, inhibant toutes les deux la prolifération de ces cellules quelque soit la substitution sur la position 8 de la γ -carboline, permettent de conclure que le substituant 4-méthanesulfonylbenzyle est pharmacophore envers les PC-3. L'isomérisation de position du groupe méthylsulfone sur l'homocycle de la tétrahydro- γ -carboline conduit à des inhibiteurs (**55** et **65**) dont l'activité inhibitrice envers les cellules PC-3 varie suivant la substitution sur l'atome d'azote indolique.

Bien que les activités *ex vivo* des *N*-benzoyltétrahydro- γ -carboline soient modestes le concept est validé en tant que nouveaux inhibiteurs mixtes 5-LO / COX mais non sélectif COX₂ et a néanmoins permis d'établir de nouvelles relations structure-activité. Le composé **63** est en cours d'évaluation sur sang total, l'activité obtenue déterminera définitivement si le substituant méthylsulfone peut influencer ou non la sélectivité sur ce type de structure. Les résultats des tests de cytotoxicité valident la structure tétrahydro- γ -carboline-MTHP comme nouveau concept de base dont l'activité dépend fortement de la substitution sur l'azote indolique. Les activités des composés **55**, **59**, **63** et **64** en sont la preuve. Elles sont meilleures que celles obtenues avec le Célécoxib mais ne peuvent être reliées à l'inhibition des enzymes 5-lipoxygénase et cyclooxygénases. Leur cible biochimique diffère donc de celles envisagées et reste à être élucidée.

CONCLUSION

Conclusion et perspectives

Dans le cadre de la recherche d'un traitement du cancer de la prostate, la surexpression de deux enzymes clés dans le processus inflammatoire, la 5-lipoxygénase et la cyclooxygénase de type 2, a été impliquée dans la régulation de processus biochimiques associés tels que la prolifération cellulaire néoplasique et l'angiogénèse.

L'inhibition de la 5-LO favorise le ralentissement de ces processus biochimiques, ainsi que l'induction de l'apoptose. De plus, les inhibiteurs de COX₂ sont des agents antinéoplasiques puissants qui exercent leurs effets proapoptotiques sur des cellules cancéreuses selon des mécanismes COX-dépendant et / ou COX-indépendant. Le Célécoxib, un inhibiteur de COX₂ sélectif possédant l'effet antitumoral le plus marqué dans cette classe thérapeutique, empêche la croissance tumorale par l'induction de l'apoptose, induction dans laquelle l'inhibition de la signalisation par PDK1 et l'inhibition de la phosphorylation d'Akt sont impliquées. Le Célécoxib est un inhibiteur potentiel de l'activité PDK1 avec une CI₅₀ moyenne de 3,5 μM [Osaki M. et coll., 2004 ; Pommery N. et Hénichart J.-P., 2005]. Les molécules conçues ont été pharmacomodulées afin de pouvoir s'ancrer au mieux à l'intérieur des sites actifs des deux enzymes cibles et les substituants ont été choisis en fonction des effets stéréo-électroniques qu'ils apportent aux meilleurs représentants de chaque classe d'inhibiteurs.

La synthèse de ces inhibiteurs mixtes s'est effectuée en deux temps. Une première stratégie de synthèse de type linéaire qui met en jeu trois synthons permet d'obtenir les premières molécules mais une débenzoylation inattendue lors d'une réaction intermédiaire entraîna une étape supplémentaire ce qui affecta également le rendement global. La révision de la stratégie aboutit en une nouvelle synthèse, de type convergente, qui ne laisse pas de possibilité de débenzoylation. De plus, elle compte moins d'étape que la précédente, un rendement global plus élevé et permet d'obtenir de nombreux composés appartenant à chacune des trois séries conçues et modulées sur la position 8 de la tétrahydro-γ-carboline et sur le benzoyle. Les inhibiteurs synthétisés portent le groupement pharmacophore MTHP. Par contre ceux portant la fonction acide hydroxamique n'ont pas pu être synthétisés.

L'activité d'inhibition mixte 5-LO / COX₂ a été évaluée *ex vivo* sur sang total humain puis leur cytotoxicité fut testée sur cellules humaines et murines tumorales. Ceci a permis de sélectionner de nouveaux composés qui ont une activité d'inhibition mixte 5-LO / COXs et qui sont des « hits » dans l'inhibition de la prolifération cellulaire :

- le composé **58** (R₁ = OMe ; R₂ = (CH₂)₃MTHP ; R₃ = 4 - F ; X = CO) qui inhibe la 5-LO avec une CI₅₀ moyenne de 59 μM et qui inhibe COX₁ avec une CI₅₀ moyenne de environ 10 μM et COX₂ avec une CI₅₀ moyenne de 54 μM.
- le composé **59** (R₁ = OMe ; R₂ = (CH₂)₃MTHP ; R₃ = 4 - Cl ; X = CO) a montré qu'il peut réduire la prolifération cellulaire des cellules tumorales du sein et de la leucémie murine avec des CI₅₀ moyennes de 7,88 μM et de 8,42 μM, respectivement. Deux molécules, **63** (R₁ = OMe ; R₂ = (CH₂)₃MTHP ; R₃ = 4 - SO₂Me ; X = CH₂) et **64** (R₁ = F ; R₂ = (CH₂)₃MTHP ; R₃ = 4 - SO₂Me ; X = CH₂) ont montré qu'elles arrêtent la prolifération cellulaire des cellules tumorales invasives de la prostate avec des CI₅₀ moyennes de 8,73 μM et de 8,00 μM, respectivement. L'activité obtenue *ex vivo* ne correspondant pas à leur potentiel cytotoxique, leur(s) cible(s) réelle(s) d'action reste(nt) donc à être déterminée(s) en utilisant, par exemple, la technique de mutagenèse dirigée et la technique de modélisation moléculaire.

- L'interaction entre le ligand et le récepteur peut être améliorée en utilisant les résultats générés par cette étude pour affiner les performances des nouveaux ligands en vue d'obtenir des chefs de file. La création de nouvelles molécules se fera sur la base du squelette utilisé pour établir les modèles de reconnaissance et de sélectivité de cette étude, et après plusieurs cycles d'optimisation pharmacochimique associée à une recherche par modélisation moléculaire du fit optimal entre le ligand et le récepteur de COX₂.

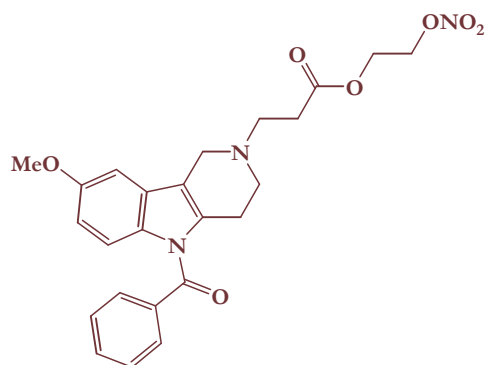
Une amélioration de l'activité des tétrahydro- γ -carbolines peut être apportée sur les trois sites de modulation définis dans cette étude :

❖ Optimisation du potentiel d'inhibition mixte :

Une première modification peut être envisagée sur la tétrahydro- γ -carboline par remplacement de la méthylsulfone (modèle de sélectivité) par une aminosulfone susceptible de mieux interagir par liaisons hydrogène dans le site actif COX₂. Si les activités des composés se révèlent comparables à celles décrites dans la littérature, alors le benzoyle porté par cette série de composés pourra être modulé en son analogue plus performant para-fluoro-benzoyle, groupe pharmacophore issu des recherches structure-activité de cette étude puis en phénylurée dont l'intérêt fut mis en lumière par les études de docking.

L'optimisation du MTHP peut également être envisagée car cette entité a récemment montré des effets indésirables oculaires comme la formation de cataracte [Mano T. et coll., 2004] et le changement du groupement méthoxy labile en milieu acide par un groupe carboxamide a conduit à un composé qui a d'ores et déjà montré des effets pharmacocinétiques bénéfiques et qui est dépourvu d'effets secondaires [Mano T. et coll., 2005]. L'apport d'un centre chiral est également intéressant car l'insertion d'un méthyle sur le MTHP, en α de l'oxygène du pyranne, a montré une énantiosélectivité [Crawley G.C. et coll., 1993].

Une autre approche de conception d'inhibiteurs mixtes peut être envisagée en regard du concept des AINS donneurs de monoxyde d'azote (NO) qui fait référence à la formation d'ulcères induits par ces médicaments. Le NO est un radical libre à temps de demi-vie très court (5 à 6 secondes) produit dans les cellules à partir de la L-arginine sous l'action des NO synthétases (NOS). Il pourrait exercer un effet protecteur sur l'ensemble de la muqueuse gastro-intestinale par une action vasodilatatrice puissante. Des molécules synthétisées par estérification de la fonction acide carboxylique avec le 2-nitrooxyéthanol, porteur de NO, par analogie à ce qui a été fait par addition du nitrooxybutylester sur des molécules comme le sulindac (dont l'efficacité sur le cancer de la prostate a été démontrée [Huguenin S. et coll., 2005]), sont en cours de testing.

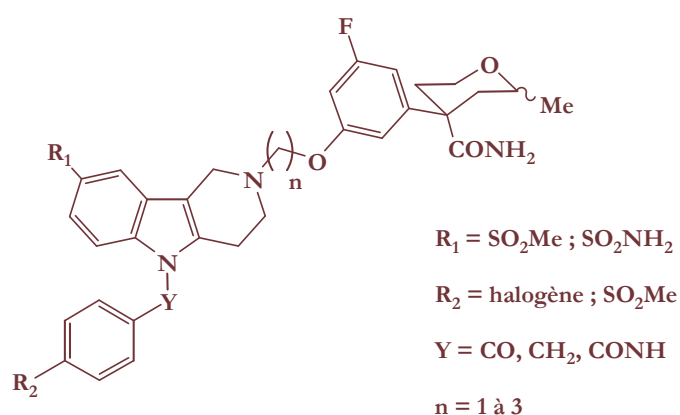


❖ Optimisation du potentiel cytotoxique

L'activité des molécules sulfonées se confirme (composé **55**). Il serait possible d'apprécier l'activité d'un analogue portant une aminosulfone plus largement sur d'autres cibles par des tests d'inhibition de l'angiogenèse, de l'anhydrase carbonique et de la protéine PDK1.

Le groupe pharmacophore méthanesulfonylbenzyle est indispensable à une activité sur PC-3. Peut être qu'une tétrahydro- γ -carboline méthylsulfonée porteuse de ce groupement peut faire preuve d'une meilleure cytotoxicité.

Les molécules issues de ces perspectives d'optimisation auraient donc la structure générale suivante :



Dans tous les cas, tout se passe comme si le méthoxytétrahydropyranne du ZD-2138, qui est un puissant inhibiteur de la 5-LO, déprimait l'activité inhibitrice de l'analogue N-benzoyltétrahydro- γ -carboline de l'Indométacine. Il serait donc judicieux, en perspectives, d'envisager la synthèse de γ -carbolines hybrides Indométacine-Zileuton, qui sont deux inhibiteurs de force quasi équivalente. Leur activité après association en inhibiteur mixte serait peut-être moins dévaluée.

PARTIE EXPERIMENTALE

A. Appareillage et techniques

Pesée

La masse des produits a été déterminée sur une balance Mettler PB 602, Max = 610 g, Min = 0,5 g, déviation standard interne 10 mg et une balance Précisa XB 120A, Max = 120 g, Min = 0,01 g, déviation standard interne 0,0001 g.

Chromatographie sur couche mince (CCM)

La pureté des produits est systématiquement contrôlée par chromatographie sur couche mince :

- ✓ Support : gel de silice 60F₂₅₄ d'épaisseur 0,2 mm (Référence : 1.05735.0001 Merck).
- ✓ L'éluant est précisé pour chaque produit.
- ✓ Révélation :
 - UV : pour les composés à liaisons multiples (254 et 366 nm)
 - Iode : pour les composés comportant une fonction amide ou une double liaison
 - Ninhydrine : pour les composés possédant une fonction amine.

Les produits sont caractérisés par leur rapport frontal (R_f).

Chromatographie sur gel de silice et chromatographie sur couche épaisse (CCE)

Les chromatographies sur gel de silice ont été réalisées avec un gel de silice 60, granulométrie 40-63 μm (230-400 mesh ASTM) (Référence : 1.11567.9025 Merck) et Geduran

Si 60, granulométrie 63-200 μm (70-230 mesh ASTM) (Référence : 1.10832.9025 Merck). Certains produits sont purifiés par chromatographie sur couche épaisse de gel de silice 60F₂₅₄ (Référence 1.07730.1000 Merck). L'éluant est choisi de façon à obtenir un rapport frontal compris entre 0,30 et 0,35 sur plaques de CCM.

Spectrométrie infrarouge (IR)

Les spectres infrarouge sont réalisés sur un spectromètre à transformée de Fourier Bruker Vector 22. Pour les analyses, les produits, solides ou huileux, sont déposés directement sur un disque en germanium. Les absorbances caractéristiques sont repérées par leur nombre d'onde exprimé en cm^{-1} .

Points de fusion (F)

Les points de fusion sont mesurés par la méthode des capillaires sur un appareil Büchi 535 et ne sont pas corrigés. Ils sont exprimés en degrés Celsius ($^{\circ}\text{C}$).

Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

Les expériences de RMN ^1H et de RMN ^{13}C sont réalisées au laboratoire d'Application de RMN, Service Commun de Physicochimie de l'Université de Lille 2, sur des appareils à transformée de Fourier Bruker (300 MHz) AC300P et Avance 300 avec le TMS comme référence interne. Chaque signal est caractérisé par son déplacement chimique δ exprimé en ppm, son intensité (nombre de protons), sa multiplicité en fonction de l'allure du pic (s, singulet ; d, doublet ; dd, doublet dédoublé ; t, triplet ; q, quadruplet ; m, multiplet ou « massif » ; sl, singulet large) et sa constante de couplage J en Hertz. Dans le cas de « massifs », celle-ci n'est pas mesurable.

LC-MS

Les spectres de LC-MS sont enregistrés au Centre Universitaire de Mesures et d'Analyses de l'Université de Lille 2, sur un appareil Thermo Electron Surveyor MSQ. La chromatographie liquide haute performance (colonne ODS, phase mobile : eau / acétonitrile / acide formique 0,1% en mode gradient) est couplée à un détecteur UV et à un détecteur de masse de type APCI⁺ (Ionisation Chimique à Pression Atmosphérique).

Chromatographie liquide haute performance (CLHP)

La pureté de certains produits a été contrôlée par chromatographie liquide haute performance : les analyses sont réalisées sur un appareil Kontron 325 System équipé d'un détecteur UV à barrette de diodes DAD 440L, en mode isocratique. Les produits sont détectés par balayage UV de 200 à 400 nm. Les colonnes utilisées sont des colonnes phase inverse (Kromasil C18, 5.0 μM , 150 \times 4,6 mm). Les phases mobiles sont précisées pour chacun des produits qui sont caractérisés par leur temps de rétention (tr).

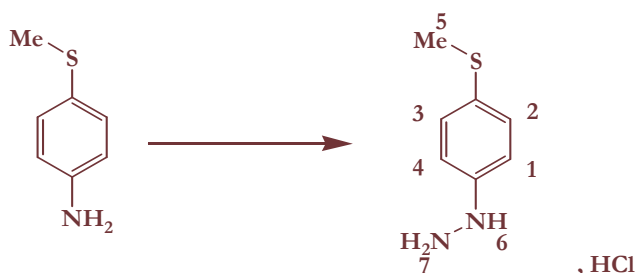
Analyse élémentaire

Les analyses élémentaires des produits sont effectuées par le Service Central d'Analyse – Département Analyse Élémentaire - du C.N.R.S (F.69390 Vernaison). Une marge d'erreur de $\pm 0,4\%$ est tolérée sur les pourcentages trouvés.

Toutes les réactions, excepté les hydrogénations catalytiques, ont été réalisées sous atmosphère d'azote. Le DMF utilisé est du DMF commercial, pur et anhydre. Le THF est séché et distillé sur sodium et benzophénone. L'éthanol et le méthanol ont été séchés sur tamis moléculaire de 3 Å. L'acétone, l'acétonitrile, le dichlorométhane et le dioxane ont été séchés au préalable sur carbonate de potassium puis sur chlorure de calcium. Toutes les solutions organiques ont été séchées sur MgSO_4 .

B. Protocoles expérimentaux

Synthèse du chlorhydrate de 4-méthylthiophénylhydrazine, 11



La 4-méthylthioaniline (10,0 mL 80,4 mmoles ; 1,0 éq.) est transformée en chlorhydrate dans l'acide chlorhydrique concentré (25 mL) à chaud. La solution est agitée à 0°C pendant 30 minutes. Puis une solution aqueuse de nitrite de sodium (22,2 g ; 321,6 mmoles ; 4,0 éq.) (150 mL) est ajoutée lentement au chlorhydrate d'aniline. La solution bleutée est agitée à température ambiante jusqu'à ce qu'elle devienne orange. Parallèlement, le chlorure d'étain dihydraté (91,0 g ; 402,0 mmoles ; 5,0 éq.) est mis en solution dans de l'acide chlorhydrique concentré (100 mL), puis est ajouté goutte à goutte à la solution de sel de diazonium. Après l'addition, le milieu réactionnel est ramené à température ambiante puis laissé sous agitation pendant 15 heures. Le précipité formé est filtré, lavé à l'éther puis séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 4-méthylthiophénylhydrazine (12,0 g ; 77,7 mmoles) est obtenu sous forme de poudre marron clair avec un rendement de 97%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,54 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 5 / 5)

Point de fusion : 197°C

Solvant de recristallisation : eau

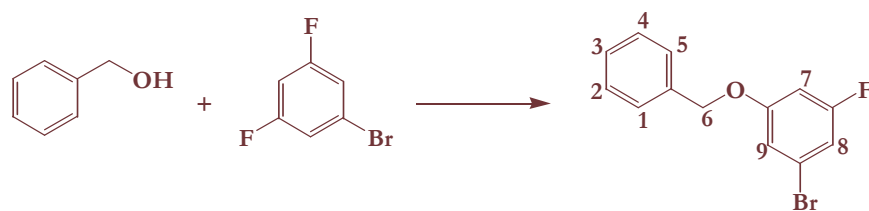
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3233 NH_3^+
1407 O-SMe

RMN ^1H (DMSO- d_6)

δ = 2,42 (s, 3H, H_5), 6,95 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H_1 , H_4), 7,24 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H_2 , H_3), 8,25 (sl, 1H, H_6), 9,99 (sl, 3H, H_7 , NH_2^+)

Synthèse du 1-(benzyloxy)-3-bromo-5-fluorobenzène, 3



A une solution d'alcool benzylique (10,0 mL ; 96,7 mmoles ; 1,0 éq.) dans le DMA (125 mL) est ajouté par portions à 0°C, l'hydrure de sodium 60% (3,9 g ; 97,6 mmoles ; 1,01 éq.). Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante et est agité pendant 3 heures sous atmosphère inerte, puis le 1-bromo-3,5-difluorobenzène (11,2 mL ; 97,6 mmoles ; 1,01 éq.) est ajouté goutte à goutte en veillant à ne pas dépasser 40°C. L'agitation est poursuivie pendant 19 heures à température ambiante. Le milieu est ensuite versé dans l'eau (125 mL) et la solution aqueuse est agitée pendant quelques minutes. Les deux phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite par de l'éther diéthylique (3 × 150 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées par une solution aqueuse saturée en NaCl (2 × 250 mL), séchées sur MgSO₄, filtrées puis portées à sec. L'huile jaune récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (heptane). Le 1-benzyloxy-3-bromo-5-fluorobenzène (23,8 g ; 84,7 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 88%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,61 (heptane / acétate d'éthyle 9 / 1)

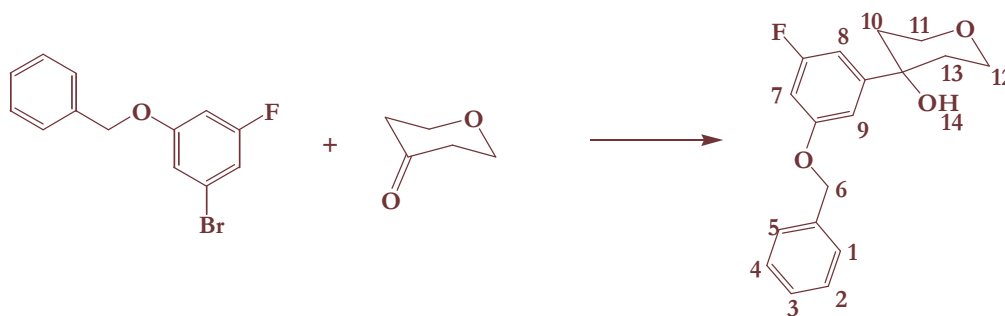
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 1141 cm^{-1} C-O-CH_2

RMN ^1H (CDCl_3)

δ = 5,04 (m, 2H, H₆), 6,68 (d, J = 8,2 Hz, 1H, H₈), 6,90 (d, J = 8,2 Hz, 1H, H₉), 6,97 (m, 1H, H₇), 7,35 à 7,47 (m, 5H, H₁, H₂, H₃, H₄, H₅)

Synthèse du 4-(3-benzyloxy-5-fluorophényl)-4-hydroxytétrahydro-4*H*-pyranne, 5



A une solution du 1-benzyloxy-3-bromo-5-fluorobenzène (23,8 g ; 84,7 mmoles ; 1,0 éq.) dans le THF anhydre (300 mL) est ajouté goutte à goutte, sous atmosphère inerte et à -78°C , le *n*-butyllithium (2,5 M en solution dans l'hexane) (40,7 mL ; 101,7 mmoles ; 1,2 éq.). Le milieu réactionnel est agité pendant 45 minutes à -78°C , puis la tétrahydro-4*H*-pyran-4-one (11,7 mL ; 12,7 mmoles ; 1,5 éq.) est ajoutée à cette température. La réaction se poursuit pendant 1 heure avant d'être progressivement ramenée à température ambiante. Le milieu est versé dans une solution aqueuse saturée en NH_4Cl (200 mL) et la solution aqueuse est agitée pendant quelques minutes. Les deux phases sont ensuite séparées et la phase aqueuse est extraite par de l'éther diéthylique (3×200 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées par une solution aqueuse saturée en NaCl (2×300 mL), séchées sur MgSO_4 , filtrées puis portées à sec. Le 4-(3-benzyloxy-5-fluorophényl)-4-hydroxytétrahydro-4*H*-pyranne (10,6 g ; 35,2 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile jaunâtre avec un rendement de 42%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,37 (heptane / acétate d'éthyle 1 / 1)

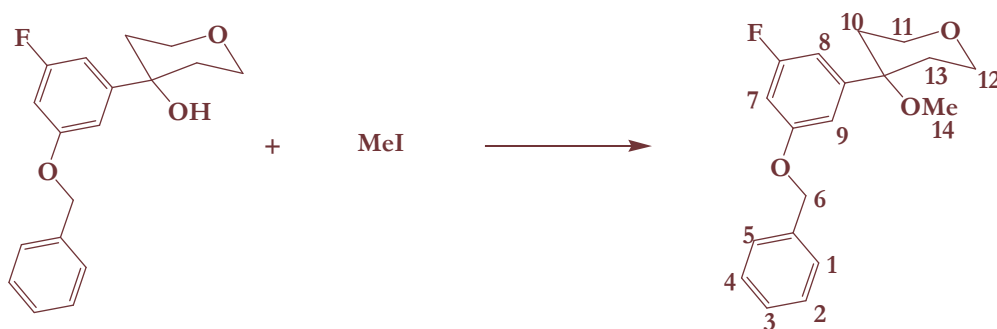
Données spectrales :

IR (ν_{max}) :	3398	OH
	1139	Ø-O-CH ₂
	1106	éther cyclique
	1095	Ø-F

RMN ¹H (CDCl₃)

$\delta = 1,64$ (m, 4H, H₁₀, H₁₃), 1,81 (sl, 1H, H₁₄), 3,90 (m, 4H, H₁₁, H₁₂), 5,04 (m, 2H, H₆), 6,62 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, H₈), 6,74 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, H₉), 6,83 (m, 1H, H₇), 7,40 (m, 5H, H₁, H₂, H₃, H₄, H₅)

Synthèse du 4-(3-benzyloxy-5-fluorophényl)-4-méthoxytétrahydro-4*H*-pyranne, 6



A une solution de 4-(3-benzyloxy-5-fluorophényl)-4-hydroxytétrahydro-4*H*-pyranne (10,6 g ; 35,2 mmoles ; 1,0 éq.) dans le THF fraîchement distillé (125 mL) est ajouté par portions, sous atmosphère inerte et à 0°C, l'hydrure de sodium 60% (2,8 g ; 70,4 mmoles ; 2,0 éq.). Le milieu est agité pendant 30 minutes puis l'iodure de méthyle (4,4 mL ; 70,4 mmoles ; 2,0 éq.) est ajouté goutte à goutte. Le milieu réactionnel est lentement ramené à température ambiante et la réaction se poursuit pendant 3 heures. Le milieu est ensuite versé dans l'eau (150 mL) et la solution aqueuse est agitée pendant quelques minutes. Les deux phases sont séparées et la phase aqueuse est extraite par de l'éther diéthylique (3 × 150 mL). Les phases organiques sont rassemblées, lavées par une solution aqueuse saturée en NaCl (2 × 250 mL), séchées sur MgSO₄, filtrées puis portées à sec. Le 4-(3-benzyloxy-5-fluorophényl)-4-méthoxytétrahydro-4*H*-pyranne (10,6 g ; 35,2 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile jaune avec un rendement de 95%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,63 (cyclohexane / acétate d'éthyle 6 / 4)

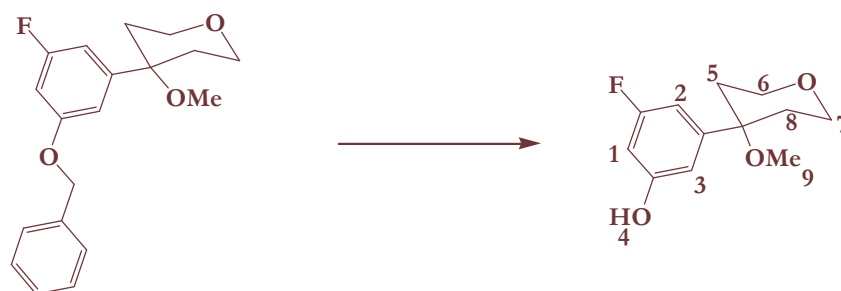
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	1137	Ø-O-CH ₂
	1104	éther cyclique
	1073	Ø-F

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,85 à 2,16 (m, 4H, H₁₀, H₁₃), 2,99 (s, 3H, H₁₄), 3,84 (m, 4H, H₁₁, H₁₂), 5,07 (s, 2H, H₆), 6,63 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H₈), 6,74 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H₉), 6,80 à 6,83 (s, 1H, H₇), 7,30 à 7,49 (m, 5H, H₁, H₂, H₃, H₄, H₅)

Synthèse du 3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénol, 7



Une quantité catalytique d'hydroxyde de palladium est ajoutée à une solution de 4-(3-benzyloxy-5-fluorophényl)-4-méthoxytétrahydro-4H-pyranne (6,0 g ; 19,0 mmoles ; 1,0 éq.) solubilisé dans l'éthanol absolu (150 mL). Puis le milieu réactionnel est mis sous atmosphère d'hydrogène et agité pendant 17 heures à température ambiante. Le milieu est ensuite filtré sur célite et le filtrat est évaporé. Après recristallisation, le 3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénol (3,8 g ; 16,7 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 88 %.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,57 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 99°C

1. **Solvant de recristallisation :** cyclohexane / toluène (1 / 1)

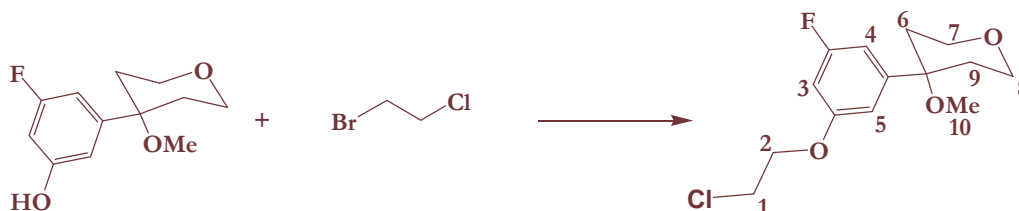
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3239	OH
	1128	Ø-O-CH ₂
	1096	éther cyclique
	1072	Ø-F

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,00 (m, 4H, H₅, H₈), 2,99 (s, 3H, H₉), 3,84 (m, 4H, H₆, H₇), 5,49 (s, 1H, H₄), 6,47 (m, 1H, H₂), 6,70 (m, 2H, H₁, H₃)

Synthèse du 4-[3-(2-chloroéthoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4*H*-pyranne,
52



Le 1-bromo-2-chloroéthane (736 μL ; 8,8 mmoles ; 2,0 éq.) est dilué dans l'acétone anhydre (25 mL) puis le carbonate de césium (4,3 g ; 13,3 mmoles ; 2,0 éq.) est ajouté. Parallèlement, une solution de 3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénol (1,0 g ; 4,4 mmoles ; 1,0 éq.) dilué dans l'acétone anhydre (10 mL) est lentement additionnée. Lorsque l'addition est terminée, le milieu réactionnel est laissé sous agitation à reflux et sous atmosphère inerte pendant 24 heures. Le milieu est ensuite filtré puis le filtrat est évaporé à sec. Le solide récupéré est repris dans 10 mL de dichlorométhane. Cette solution est alors lavée plusieurs fois par une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium (1N). La phase organique récoltée est séchée sur MgSO_4 , filtrée et évaporée. L'huile de couleur jaune récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (heptane / acétate d'éthyle 6 / 4) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. Le 4-[3-(2-chloroéthoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4*H*-pyranne (447 mg ; 1,5 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 35%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,51 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1)

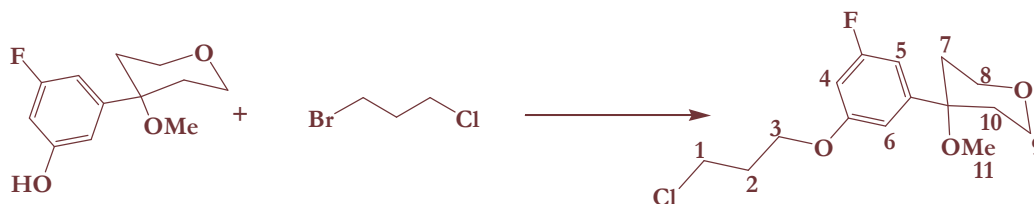
Données spectrales :

IR (ν_{max}) :	1140	$\text{O}-\text{CH}_2$
	1104	éther cyclique
	1073	$\text{O}-\text{F}$

RMN ^1H (CDCl_3)

δ = 1,95 (m, 4H, H_6, H_9), 3,00 (s, 3H, H_{10}), 3,83 (m, 6H, $\text{H}_7, \text{H}_8, \text{H}_1$), 4,23 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H, H_2), 6,55 (dd, $J = 10,0$ Hz, $J = 2,6$ Hz, 1H, H_4), 6,72 (m, 1H, H_5), 6,76 (m, 1H, H_3)

Synthèse du 4-[3-(3-chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4H-pyranne, 49



Le 3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénol (3,8 g ; 16,8 mmoles ; 1,0 éq.) est dissous dans le DMF anhydre (30 mL) puis le carbonate de césium (8,3 g ; 25,2 mmoles ; 1,5 éq.) est ajouté. Cette suspension est mis sous agitation à température ambiante Parallèlement, une solution de 1-bromo-3-chloropropane (2,5 mL ; 25,2 mmoles ; 1,0 éq.) dans le DMF anhydre (5 mL) est agitée lentement à température ambiante et sous atmosphère inerte. Lorsque l'addition est terminée, le milieu réactionnel est agité à température ambiante et sous atmosphère inerte pendant 17 heures. Le milieu réactionnel est versé dans l'eau (100 mL) et la solution aqueuse est agitée pendant 1 heure. Elle est ensuite extraite par du dichlorométhane. Les phases organiques sont récupérées et séchées sur MgSO₄. Après filtration, le filtrat est évaporé et l'huile cristallise à température ambiante. Après recristallisation, le 4-[3-(3-chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4H-pyranne (4,7 g ; 15,4 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux incolores avec un rendement de 92%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,68 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1)

Point de fusion : 73°C

2. Solvant de recristallisation : éther diéthylique

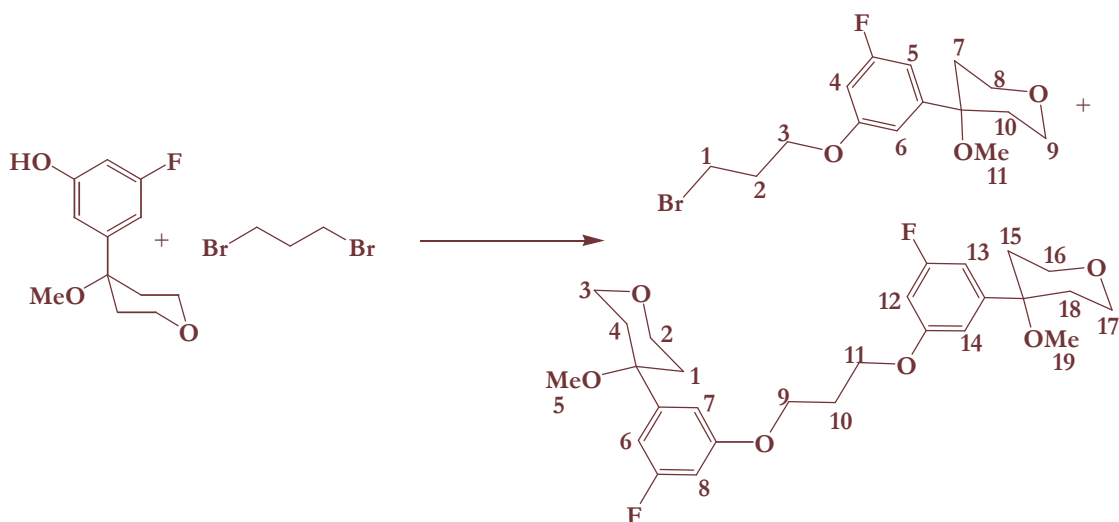
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	1139	Ø-O-CH ₂
	1105	éther cyclique
	1073	Ø-F

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,96 (m, 4H, H₇, H₁₀), 2,24 (m, 2H, H₂), 3,00 (s, 3H, H₁₁), 3,78 (m, 6H, H₁, H₈, H₉), 4,11 (t, J = 5,0 Hz, 2H, H₃), 6,55 (dd, J = 10,3 Hz, J = 2,6 Hz, 1H, H₅), 6,71 (m, 1H, H₆), 6,76 (m, 1H, H₄)

Synthèse du 4-[3-(3-bromopropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4H-pyranne, 50 et du 1,3-di-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propane, 51



Le 1,3-dibromopropane (1,6 mL ; 14,4 mmoles ; 1,0 éq.) est dilué dans le DMF anhydre (25 mL) puis le carbonate de césium (14,1 g ; 43,2 mmoles ; 3,0 éq.) est ajouté. Cette solution est agitée à température ambiante et sous atmosphère inerte pendant 30 minutes. Parallèlement, une solution de 3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénol (3,3 g ; 14,4 mmoles ; 1,0 éq.) dissous dans le DMF anhydre (25 mL) est lentement ajoutée. Lorsque l'addition est terminée, le milieu réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante et sous atmosphère inerte pendant 48 heures. Le milieu est ensuite versé dans de l'eau distillée (100 mL) puis extrait par de l'acétate d'éthyle (3 × 100 mL). Les phases organiques récupérées sont séchées sur MgSO₄, filtrées et évaporées pour donner une huile de couleur jaune qui est purifiée par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane / acétate d'éthyle 9 / 1) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. Après évaporation du solvant, le 4-[3-(3-bromopropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4H-pyranne (2,6 g ; 7,6 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 53%. Le 1,3-di-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propane (510 mg ; 1,0 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile jaune avec un rendement de 7%.

Caractérisation du 4-[3-(3-bromopropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4H-pyranne

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,80 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 1 / 1)

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	1138	Ø-O-CH ₂
	1105	éther cyclique
	1073	Ø-F

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,86 (m, 4H, H₇, H₁₀), 2,26 (m, 2H, H₂), 2,94 (s, 3H, H₁₁), 3,54 (t, J = 5,8 Hz, 2H, H₁), 3,75 (m, 4H, H₈, H₉), 4,04 (t, J = 5,9 Hz, 1H, H₃), 6,50 (d, J = 10,4 Hz, 1H, H₅), 6,68 (d, J = 10,0 Hz, 1H, H₆), 6,70 (sl, 1H, H₄)

Caractérisation du 1,3-di-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranil)phénoxy]propane

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,63 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 1 / 1)

Données spectrales :

IR (ν _{max}) :	1138	Ø-O-CH ₂	UV (λ _{max}) :	230 nm
	1104	éther cyclique		
	1073	Ø-F		

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,93 (m, 8H, H₁, H₄, H₁₅, H₁₈), 2,27 (m, 2H, H₁₀), 2,98 (s, 6H, H₅, H₁₉), 3,79 (m, 8H, H₂, H₃, H₁₆, H₁₇), 4,14 (t, J = 5,8 Hz, 2H, H₉, H₁₁), 6,54 (dd, J = 10,4 Hz, J = 2,4 Hz, 2H, H₇, H₁₃), 6,68 (dd, J = 9,5 Hz, J = 2,3 Hz, 2H, H₆, H₁₄), 6,74 (m, 2H, H₈, H₁₂)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	4,45 min
m/e	429 (M+H-2 MeOH) ⁺

Synthèse de tétrahydro- γ -carbolines selon la méthode de Fischer

Modes opératoires généraux :

Méthode A

Le chlorhydrate de phénylhydrazine substitué en position 4 est mis en suspension dans l'éthanol absolu (20-40 mL) puis le dérivé de la 4-pipéridone est additionné. Le milieu réactionnel est agité à reflux sous atmosphère inerte pendant 2 heures. Le milieu est ensuite ramené à température ambiante puis laissé reposer pendant 12 heures.

Méthode B

Le chlorhydrate de phénylhydrazine substituée en position 4 est mis en suspension dans l'éthanol anhydre saturé en acide chlorhydrique (20-40 mL) puis le dérivé de la 4-pipéridone est additionné lentement. Le mélange est agité à reflux sous atmosphère inerte pendant 4 heures. Le milieu est ramené à température ambiante et laissé reposer pendant 12 heures.

Méthode C

A une suspension de chlorhydrate de phénylhydrazine substitué en position 4 dans l'acide acétique glacial (100 mL) est ajouté goutte à goutte le dérivé de la 4-pipéridone. L'ensemble est agité à température ambiante et sous atmosphère inerte pendant 2 heures. Puis de l'acide acétique glacial saturé en acide chlorhydrique (150 mL) est ajouté. Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante puis agité sous atmosphère inerte pendant 2 heures. La solution obtenue est concentrée sous vide puis reprise dans l'eau (200 mL), alcalinisée jusqu'à pH 8 avec une solution de carbonate de potassium 10%.

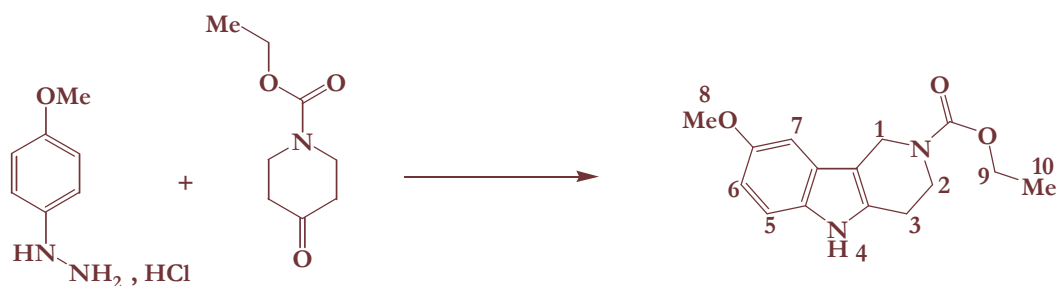
Méthode D

La 4-nitrophénylhydrazine est dissoute dans l'acide acétique glacial (25 mL) puis le dérivé de la 4-pipéridone est additionné lentement. Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 heures puis de l'acide acétique glacial saturé en acide chlorhydrique (25 mL) est ajouté. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à reflux sous atmosphère inerte pendant 14 heures, puis ramené à température ambiante.

Méthode E

Le chlorhydrate de phénylhydrazine substitué en position 4 est mis en suspension dans un mélange acide sulfurique (7%) dioxane anhydre (20 mL) puis le dérivé de la 4-pipéridone est additionné lentement. Le milieu réactionnel est agité à reflux sous atmosphère inerte pendant 14 heures. Le milieu est ensuite ramené à température ambiante puis laissé reposer pendant 12 heures.

Synthèse du 2-carbéthoxy-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 14 b



Méthode A :

Chlorhydrate de 4-méthoxyphénylhydrazine
N-Carbéthoxy-4-pipéridone

(1,0 g ; 5,7 mmoles ; 1,0 éq.)
(864 μ L ; 5,7 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré puis séché. Après recristallisation, le 2-carbéthoxy-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (560 mg ; 2,0 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 36%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,49 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacque)

Point de fusion : 160°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :

3305

1670

1459

NH

C=O

Ø-OMe

UV (λ_{\max}) :

250 nm

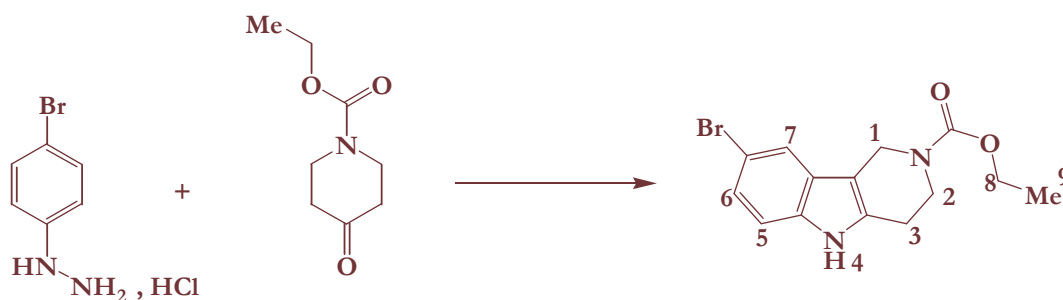
RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,22 (t, J = 7,3 Hz, 3H, H₁₀), 2,77 (m, 2H, H₃), 3,72 (m, 2H, H₂), 3,75 (s, 3H, H₈), 4,10 (q, J = 7,0 Hz, 2H, H₉), 4,55 (s, 2H, H₁), 8,11 (dd, J = 8,8 Hz, J = 2,3 Hz, 1H, H₆), 8,27 (m, 1H, H₇), 8,45 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₅), 10,73 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,44 min
m/e	275 (M+H) ⁺

Synthèse du 8-bromo-2-carbéthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 16 b



Méthode A :

Chlorhydrate de 4-bromophénylhydrazine
N-Carbéthoxy-4-pipéridone

(1,0 g ; 4,5 mmoles ; 1,0 éq.)
(675 μ L ; 4,5 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré puis séché. Après recristallisation, le 8-bromo-2-carbéthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (800 mg ; 2,5 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux orange avec un rendement de 55%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,86 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacale)

Point de fusion : 193°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3284
1665

NH
C=O

UV (λ_{\max}) : 245 nm

RMN ^1H (DMSO- d_6)

δ = 1,21 (t, J = 7,0 Hz, 3H, H_9), 2,79 (t, J = 5,5 Hz, 2H, H_3), 3,73 (t, J = 5,5 Hz, 2H, H_2), 4,40 (q, J = 7,3 Hz, 2H, H_8), 4,55 (s, 2H, H_1), 7,12 (dd, J = 8,5 Hz, J = 1,7 Hz, 1H, H_6), 7,25 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H_5), 7,25 (d, J = 1,7 Hz, 1H, H_7), 11,15 (sl, 1H, H_4)

LC-MS (APCI $^+$) :

tr	3,88 min
m/e	323 (M)
	325 (M+2)

Synthèse du chlorhydrate de 8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 16 c



Méthode A:

Chlorhydrate de 4-bromophénylhydrazine (1,2 g ; 5,2 mmoles ; 1,0 éq.)
 Chlorhydrate de 4-pipéridone monohydraté (797 mg ; 5,2 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré puis séché. Après recristallisation, le 8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (1,0 g ; 3,6 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux marrons avec un rendement de 70%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,63 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacque)

Point de fusion : 229°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3222 NH **UV** (λ_{\max}) : 240 nm
 3080 NH₂⁺

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 3,03 (t, J = 7,0 Hz, 2H, H₄), 3,42 (t, J = 7,0 Hz, 2H, H₃), 4,24 (s, 2H, H₁),
 7,15 à 7,58 (m, 2H, H₆, H₇), 7,68 (s, 1H, H₈), 9,79 (sl, 2H, H₂, NH⁺), 11,55 (sl, 1H, H₅)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,53 min
m/e	250 (M)
	252 (M+2)

Synthèse du chlorhydrate de 8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 15 c



Méthode A :

Chlorhydrate de 4-fluorophénylhydrazine (2,0 g ; 12,3 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorhydrate de 4-pipéridone monohydraté (1,9 g ; 12,3 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré puis séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (2,8 g ; 10,9 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux bordeaux avec un rendement de 88%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,45 (méthanol + ammoniacque)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : méthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3208 NH **UV** (λ_{\max}) : 230 nm
3050 NH₂⁺
1068 Ø-F

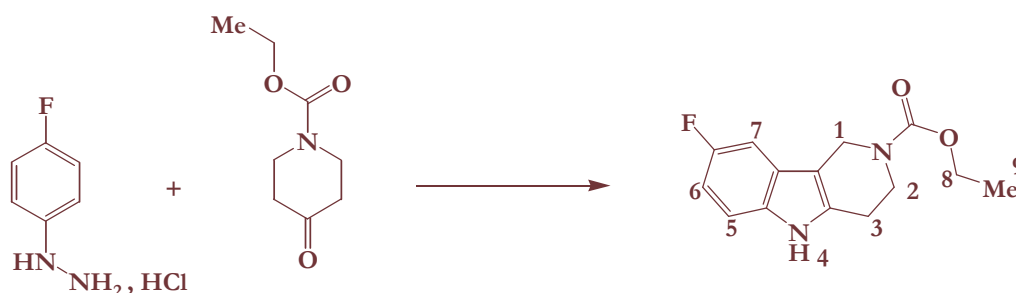
RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 3,03 (m, 2H, H₄), 3,44 (m, 2H, H₃), 4,25 (m, 2H, H₁), 6,91 à 7,32 (m, 3H, H₆, H₇, H₈), 9,47 (sl, 1H, H₅), 11,34 (sl, 2H, H₂, NH⁺)

LC-MS (APCI⁺) :

tr 2,02 min
m/e 191 (M+H)⁺

Synthèse du 2-carbéthoxy-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 15 b



Méthode A :

Chlorhydrate de 4-fluorophénylhydrazine (1,0 g ; 6,1 mmoles ; 1,0 éq.)

N-Carbéthoxy-4-pipéridone (928 μ L ; 6,1 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré puis séché. Après recristallisation, le 2-carbéthoxy-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (910 mg ; 2,0 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 56%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,74 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacque)

Point de fusion : 169°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3278	NH	UV (λ_{\max}) :	255 nm
	1672	C=O		
	1111	Ø-F		

RMN ¹H (DMSO-*d*₆)

δ = 1,21 (t, J = 7,0 Hz, 3H, H₉), 2,78 (t, J = 5,5 Hz, 2H, H₃), 3,74 (t, J = 5,5 Hz, 2H, H₂), 4,01 (q, J = 7,0 Hz, 2H, H₈), 4,55 (s, 2H, H₁), 6,85 (ddd, J = 9,9 Hz, J = 8,8 Hz, J = 2,4 Hz, 1H, H₆), 7,19 (dd, J = 9,9 Hz, J = 2,0 Hz, 1H, H₇), 7,27 (dd, J = 8,7 Hz, J = 4,6 Hz, 1H, H₅), 11,10 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,62 min
m/e	263 (M+H) ⁺
pureté	100%

Caractérisation du produit sous forme base

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,49 (méthanol + ammoniac)

Point de fusion : 224°C

Solvant de recristallisation : éthanol

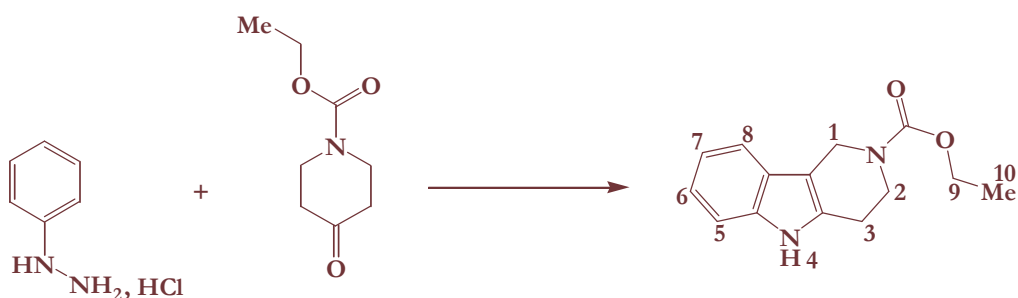
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3293 NH

RMN ^1H (CDCl_3 + DMSO-d_6)

δ = 2,58 (m, 1H, H_2), 2,78 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H, H_4), 3,20 (t, $J = 5,8$ Hz, 2H, H_3), 4,04 (m, 2H, H_1), 7,01 (m, 2H, H_7 , H_8), 7,32 (m, 2H, H_6 , H_9), 9,87 (sl, 2H, H_2 , H_5)

Synthèse du 2-carbéthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 18 b



Méthode A:

Chlorhydrate de phénylhydrazine
N-Carbéthoxy-4-pipéridone

(1,3 g ; 9,2 mmoles ; 1,0 éq.)
(1,4 mL ; 9,2 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré puis séché. Après recristallisation, le 2-carbéthoxy-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (2,1 g ; 2,1 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux orange avec un rendement de 95%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,68 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 121°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3300
1667

NH
C=O

UV (λ_{\max}) : 265 nm

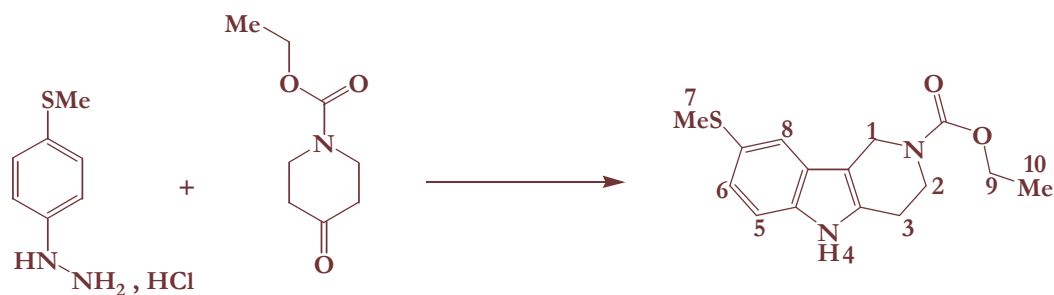
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,31 (t, J = 7,1 Hz, 3H, H₁₀), 2,86 (t, J = 5,8 Hz, 2H, H₃), 3,87 (t, J = 5,4 Hz, 2H, H₂), 3,75 (s, 3H, H₈), 4,21 (q, J = 7,1 Hz, 2H, H₉), 4,71 (s, 2H, H₁), 7,09 (m, 2 H, H₆, H₇), 7,32 (d, J = 7,8 Hz, 1H, H₈), 7,47 (d, J = 7,1 Hz, 1H, H₅), 7,88 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,57 min
m/e	245 (M+H) ⁺

Synthèse du 2-carbéthoxy-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 17 b



Méthode A :

Chlorhydrate de 4-méthylthiophénylhydrazine
N-Carbéthoxy-4-pipéridone

(6,2 g ; 32,5 mmoles ; 1,0 éq.)
(4,9 mL ; 32,5 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le milieu est versé dans l'eau (100 mL). La solution aqueuse est alcalinisée par une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% puis est extraite plusieurs fois par de l'acétate d'éthyle (3 × 200 mL) et les phases organiques récoltées sont séchées sur MgSO₄, filtrées puis évaporées. L'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1) pour conduire à une solution qui est enfin filtrée puis portée à sec. Le 2-carbéthoxy-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (5,8 g ; 19,9 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile marron avec un rendement de 61%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,57 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 1 / 1)

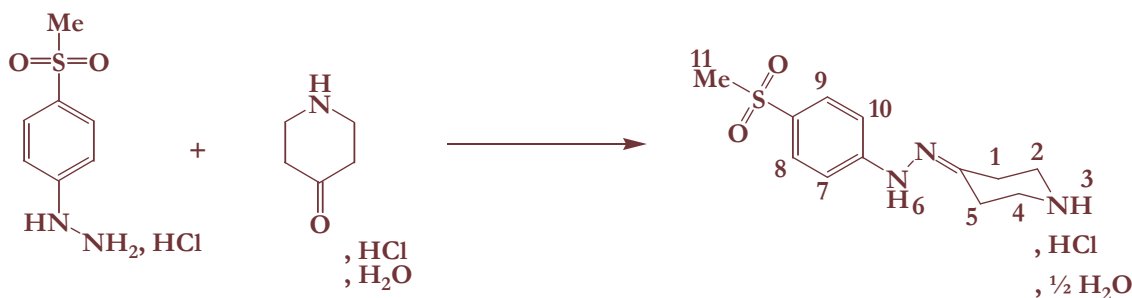
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3291 NH
 1668 C=O
 1317 Ø-SMe

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,31 (t, J = 7,0 Hz, 3H, H₁₀), 2,52 (s, 3H, H₈), 2,83 (t, J = 5,1 Hz, 2H, H₃), 3,86 (m, 2H, H₂), 4,21 (q, J = 7,0 Hz, 2H, H₉), 4,68 (s, 2H, H₁), 7,18 (d, J = 8,4 Hz, 1H, H₅), 7,21 (d, J = 8,4 Hz, 1H, H₆), 7,45 (s, 1H, H₇), 8,02 (sl, 1H, H₄)

Synthèse du chlorhydrate de la 4-pipéridone-(4-éthanesulfonylphényl)hydrazone,
22 c



Méthode A :

Chlorhydrate de 4-méthanesulfonylphénylhydrazine (1,2 g ; 5,3 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorhydrate de 4-pipéridone monohydraté (823 mg ; 5,3 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré puis séché. Après recristallisation, la 4-pipéridone-(4-méthanesulfonylphényl)hydrazone (1,5 g ; 5,0 mmoles) est obtenue sous forme de cristaux jaune avec un rendement quantitatif.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,48 (méthanol + ammoniacque)

Point de fusion : 189°C

Solvant de recristallisation : méthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3328	NH	
	2901	NH ₂ ⁺	
	1292	SO ₂ Me	UV (λ_{\max}) :
	1143	SO ₂ Me	300 nm

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 2,62 (t, J = 5,9 Hz, 2H, H₂ ou H₄), 2,83 (t, J = 5,9 Hz, 2H, H₂ ou H₄), 3,09 (s, 3H, H₁₁), 3,23 (m, 4H, H₁, H₃), 7,22 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H₇, H₁₀), 7,67 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H₈, H₉), 9,44 (s, 2H, H₃, NH⁺), 9,99 (sl, 1H, H₆)

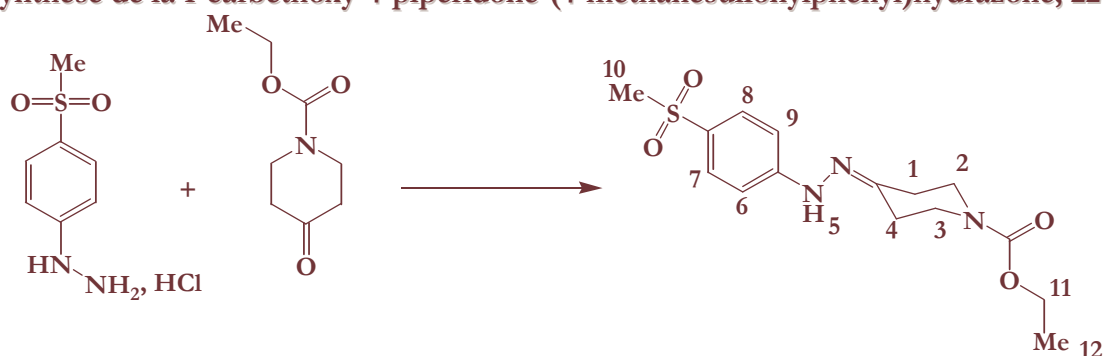
LC-MS (APCI⁺) :

tr	1,14 min
m/e	268 (M+H) ⁺

Analyse élémentaire : C₁₂H₁₇N₃O₂S. HCl. ½ H₂O 312,81 g/mol

	C	H	N
% théorique	46,03	6,07	13,43
% expérimental	46,27	5,96	13,59

Synthèse de la 1-carbéthoxy-4-pipéridone-(4-méthanesulfonylphényl)hydrazone, 22 b



Méthode A :

Chlorhydrate de 4-méthanesulfonylphénylhydrazine (300 mg ; 1,3 mmoles ; 1,0 équ.)
 N-Carbéthoxy-4-pipéridone (202 µL ; 1,3 mmoles ; 1,0 équ.)

Purification : Le précipité formé est filtré puis lavé par dichlorométhane chaud et séché. Après recristallisation, la 1-carbéthoxy-4-pipéridone-(4-méthanesulfonylphényl)hydrazone (409 mg ; 1,2 mmoles) est obtenue sous forme de cristaux jaunes avec un rendement de 90%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,69 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 170°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3325	NH	UV (λ_{\max}) :	265 nm
	1690	C=O		
	1296	SO ₂ Me		
	1140	SO ₂ Me		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,20 (t, J = 7,1 Hz, 3H, H₁₂), 2,43 (t, J = 6,1 Hz, 4H, H₁, H₄), 2,57 (t, J = 6,1 Hz, 4H, H₂, H₃), 3,08 (s, 3H, H₁₀), 4,07 (q, J = 7,1 Hz, 2H, H₁₁), 7,20 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H₆, H₉), 7,66 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H₇, H₈), 10,65 (sl, 1H, H₅)

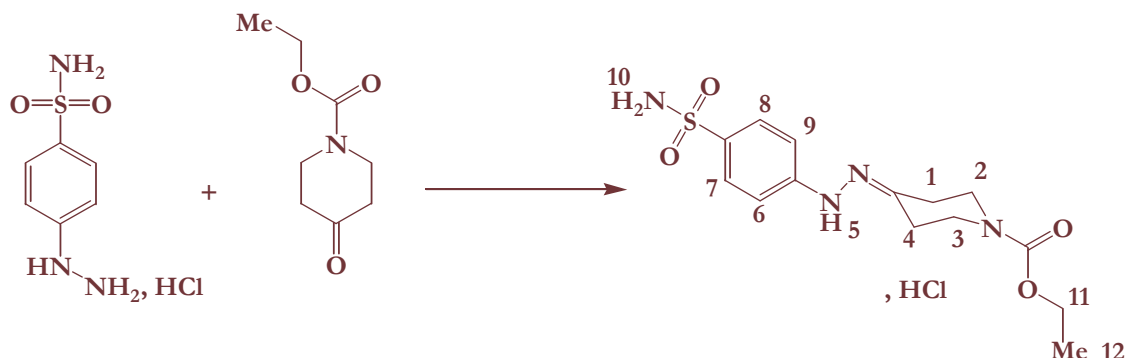
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,22 min
m/e	340 (M+H) ⁺
	381 (M+H+MeCN) ⁺

Analyse élémentaire : C₁₅H₂₁N₃O₄S 339,41 g/mol

	C	H
% théorique	53,08	6,24
% expérimental	52,73	6,12

Synthèse du chlorhydrate de la 1-carbéthoxy-4-pipéridone-(4-aminosulfonylphényl)hydrazone, 23 b



Méthode A :

Chlorhydrate de 4-aminosulfonylphénylhydrazine (1,2 g ; 5,3 mmoles ; 1,0 éq.)
 N-Carbéthoxy-4-pipéridone (804 μ L ; 5,3 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré et séché. Après recristallisation, la 1-carbéthoxy-4-pipéridinone-(4-aminosulfonylphényl)hydrazone (1,3 g ; 3,4 mmoles) est obtenue sous forme de cristaux jaunes avec un rendement de 72%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,84 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 5 / 5)

Point de fusion : 187°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3199	NH	UV (λ_{\max}) :	290 nm
	1713	C=O		
	1322	SO ₂ NH ₂		
	1155	SO ₂ NH ₂		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,20 (t, J = 6,6 Hz, 3H, H₁₂), 2,42 (t, J = 5,9 Hz, 2H, H₁ ou H₄), 2,52 (t, J = 5,9 Hz, 2H, H₁ ou H₄), 3,50 (m, 4H, H₂, H₃), 4,05 (q, J = 7,3 Hz, 2H, H₁₁), 7,10 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H₆, H₉), 7,59 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H₇, H₈), 9,56 (sl, 2H, H₁₀), 10,49 (sl, 2H, H₅, NH⁺)

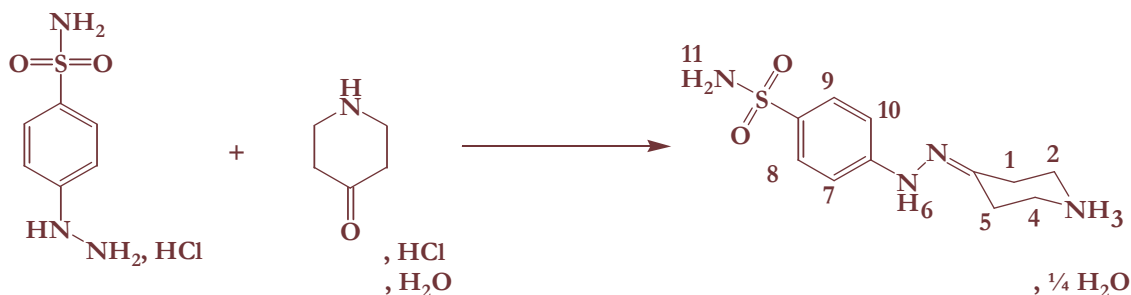
LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,96 min
m/e	341 (M+H) ⁺
	382 (M+H+MeCN) ⁺

Analyse élémentaire : C₁₄H₂₀N₄O₄S. HCl 376,86 g/mol

	C	H	N
% théorique	44,62	5,62	14,87
% expérimental	44,77	5,75	14,82

Synthèse de la 4-pipéridone-(4-aminosulfonylphényl)hydrazone, 23 c



Méthode B :

Chlorhydrate de 4-aminosulfonylphénylhydrazine (3,0 g ; 13,4 mmoles ; 1,0 éq.)
 Chlorhydrate de 4-pipéridone monohydraté (2,1 g ; 13,4 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le milieu est dilué dans l'eau (100 mL) et alcalinisé par une solution de carbonate de potassium 10%. La solution aqueuse est ensuite extraite par de l'acétate d'éthyle (3 × 125 mL). La phase organique récoltée est séchée sur MgSO₄, filtrée puis évaporée à sec. Après recristallisation, la 4-pipéridone-(4-aminosulfonylphényl)hydrazone (3,4 g ; 12,7 mmoles) est obtenue sous forme de cristaux jaunes avec un rendement quantitatif.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,50 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 200°C

Solvant de recristallisation : isopropanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3333	NH	UV (λ_{\max}) :	290 nm
	3300	NH		
	1315	SO ₂ NH ₂		
	1145	SO ₂ NH ₂		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,89 (s, 4H, H₂, H₄), 1,96 (s, 4H, H₁, H₅), 7,02 (sl, 3H, H₃, H₁₁), 7,11 (d, 2H, J = 8,5 Hz, H₇, H₁₀), 7,59 (d, J = 8,5 Hz, 2H, H₈, H₉), 9,16 (sl, 1H, H₆)

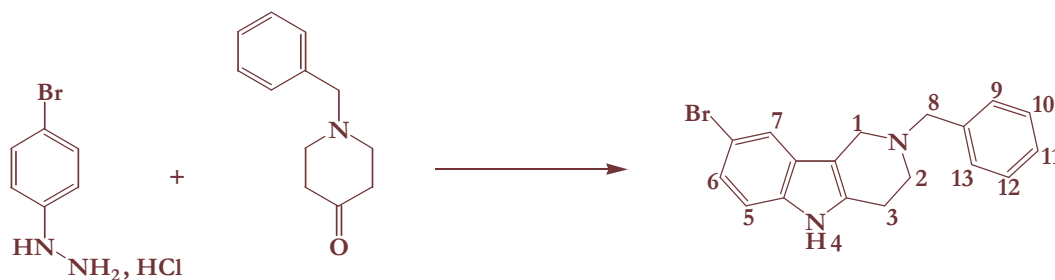
LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,46 min
m/e	269 (M+H) ⁺

Analyse élémentaire : C₁₁H₁₆N₄O₂S. ¼ H₂O 272,84 g/mol

	C	H
% théorique	46,03	6,07
% expérimental	48,70	6,02

Synthèse du 2-benzyl-8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 16 a



Méthode B :

Chlorhydrate de 4-bromophénylhydrazine
N-Benzyl-4-pipéridone

(4,0 g ; 17,9 mmoles ; 1,0 éq.)
(3,2 mL ; 17,9 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est mis en suspension dans l'eau (100 mL) puis alcalinisé par une solution de carbonate de potassium 10% et extrait par de l'acétate d'éthyle (3 × 100 mL). La phase organique récoltée est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée puis le solide récupéré est séché. Après recristallisation, le 2-benzyl-8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (5,6 g ; 16,5 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 92%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,53 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3207 NH

UV (λ_{\max}) : 275 nm

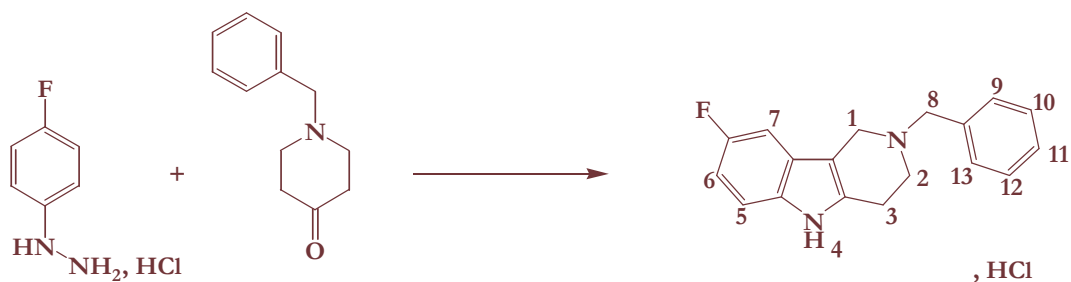
RMN ¹H (MeOH-d₄)

δ = 3,40 (m, 2H, H₃), 3,50 (m, 2H, H₂), 3,87 (m, 1H, H₈), 4,62 (s, 2H, H₁), 7,44 (m, 2H, H₅, H₆), 7,71 (m, 6H, H₇, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₃)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,15 min
m/e	341 (M)
	343 (M+2)

Synthèse du chlorhydrate de 2-benzyl-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 15 a



Méthode B :

Chlorhydrate de 4-fluorophénylhydrazine (1,0 g ; 6,15 mmoles ; 1,0 éq.)
 N-Benzyl-4-pipéridone (1,1 mL ; 6,15 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité obtenu est filtré puis séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 2-benzyl-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (830 mg ; 2,6 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 43%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,47 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacque)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : méthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3088	NH	UV (λ_{\max}) :	255 nm
	2980	NH ⁺		
	1137	Ø-F		

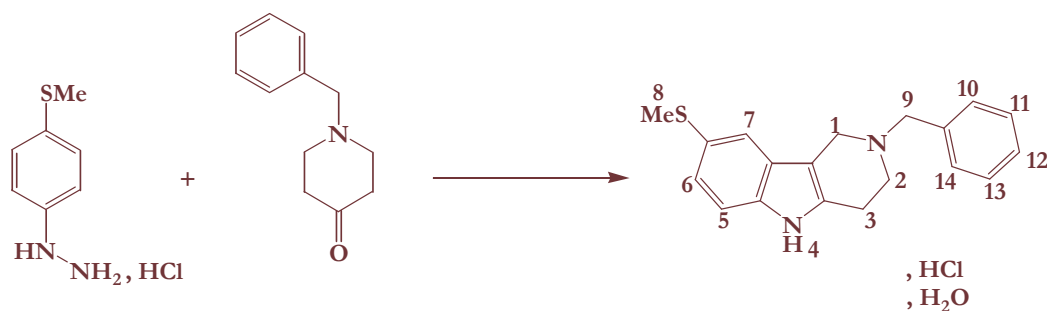
RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 3,04 (m, 1H, H₃), 3,23 (m, 1H, H₃), 3,42 (m, 1H, H₂), 3,68 (m, 1H, H₂), 4,27 (m, 2H, H₈), 4,49 (m, 2H, H₁), 6,90 (ddd, $J = 9,0$ Hz, $J = 8,8$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 1H, H₆), 7,20 (dd, $J = 9,9$ Hz, $J = 2,1$ Hz, 1H, H₇), 7,32 (dd, $J = 8,8$ Hz, $J = 4,7$ Hz, 1H, H₅), 7,48 (m, 3H, H₁₀, H₁₁, H₁₂), 7,70 (m, 2H, H₉, H₁₃), 11,42 (sl, 1H, H₄), 11,47 (sl, 1H, NH⁺)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,82 min
m/e	281 (M+H) ⁺

Synthèse du 2-benzyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 17 a



Méthode B :

Chlorhydrate de 4-méthylthiophénylhydrazine
N-Benzyl-4-pipéridone

(12,0 g ; 77,7 mmoles ; 1,0 éq.)
(13,9 mL ; 77,7 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le milieu est ramené à température ambiante, concentré sous vide puis dilué dans de l'eau (200 mL) et alcalinisé jusqu'à pH 8 par une solution saturée en bicarbonate de sodium. Le précipité marron clair formé est filtré, rincé avec de l'eau et séché sous vide. Après recristallisation, le 2-benzyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (20,3 g ; 65,9 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre marron avec un rendement de 88%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,30 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3144
1316

NH
Ø-SMe

UV (λ_{\max}) : 240 nm

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,50 (s, 3H, H₈), 2,76 (m, 1H, H₃), 2,83 (dd, J = 22,5 Hz, J = 5,5 Hz, 2H, H₂, H₃), 2,89 (d, J = 5,5 Hz, 1H, H₂), 3,71 (s, 2H, H₁), 3,82 (s, 2H, H₉), 7,15 (m, 1H, H₅), 7,16 à 7,45 (m, 7H, H₆, H₇, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₃, H₁₄), 8,03 (sl, 1H, H₄)

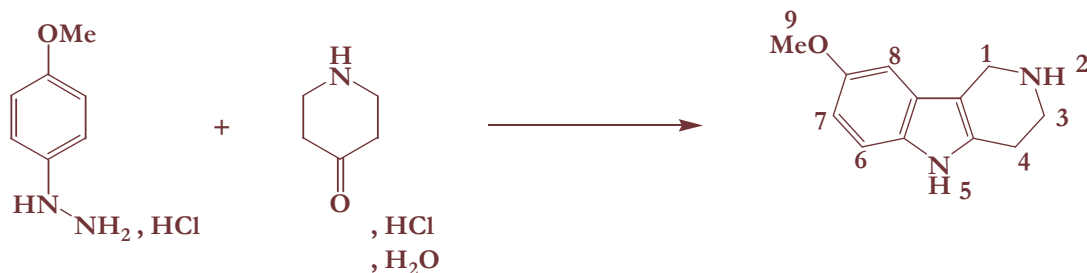
LC-MS (APCI⁺) :

tr 2,84 min
m/e 309 (M+H)⁺

Analyse élémentaire : C₁₉H₂₀N₂S. HCl. H₂O 362,12 g/mol

	C	H	N
% théorique	62,88	6,39	7,72
% expérimental	62,87	6,59	8,02

Synthèse du 8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 14 c



Méthode B :

Chlorhydrate de 4-méthoxyphénylhydrazine (10,0 g ; 57,3 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorhydrate de 4-pipéridone monohydraté (8,8 g ; 57,3 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité obtenu est filtré puis lavé par de l'acétonitrile chaud (60 mL). Le chlorhydrate est ainsi obtenu avec un rendement quantitatif. Le solide mauve est ensuite mis en suspension dans de l'eau (200 mL) puis alcalinisé par une solution de carbonate de potassium 10 %. Après 30 minutes d'agitation, la solution aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (3 × 200 mL). La phase organique récoltée est ensuite séchée sur MgSO₄, filtrée puis évaporée à sec. Après évaporation, la poudre de méthoxy- γ -carboline est ensuite séchée sous vide pendant 1 heure. Après recristallisation, le 8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (9,8 g ; 48,3 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux orange avec un rendement de 84%.

Caractérisation du produit sous forme chlorhydrate

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,39 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacque)

Point de fusion > 230°C

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3219	NH	UV (λ_{\max}) :	230 nm
	2942	NH ₂ ⁺		
	1462	Ø-OMe		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 3,00 (m, 2H, H₄), 3,39 (m, 2H, H₃), 3,73 (s, 3H, H₉), 4,21 (m, 2H, H₁), 6,70 (d, J = 9,1 Hz, 1H, H₇), 6,98 (s, 1H, H₈), 7,21 (d, J = 9,1 Hz, 1H, H₆), 9,82 (sl, 2H, H₂, NH⁺), 11,14 (sl, 1H, H₅)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	1,97 min
m/e	203 (M+H) ⁺

Caractérisation du produit sous forme base

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,46 (méthanol + ammoniacque)

Point de fusion : 187°C

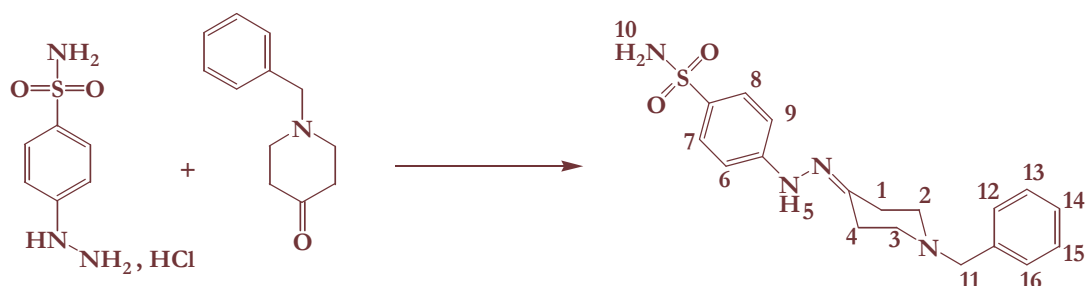
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3302 NH
 1462 Ø-OMe

RMN ^1H (DMSO- d_6)

δ = 2,27 (sl, 1H, H₂), 2,64 (t, J = 5,0 Hz, 2H, H₂), 3,00 (t, J = 5,5 Hz, 2H, H₂), 3,73 (s, 3H, H₉),
3,81 (m, 2H, H₁), 6,63 (dd, J = 8,9 Hz, J = 2,2 Hz, 1H, H₇), 6,81 (d, J = 2,2 Hz, 1H, H₈),
7,14 (d, J = 8,9 Hz, 1H, H₆), 10,50 (sl, 1H, H₃)

Synthèse de la 1-benzyl-4-pipéridone-(4-aminosulfonylphényl)hydrazone, 23 a



Méthode C :

Chlorhydrate de 4-aminosulfonylphénylhydrazine (500 mg ; 2,2 mmoles ; 1,0 éq.)
 N-Benzyl-4-pipéridone (399 μ L ; 2,2 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : La solution aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (3 \times 125 mL). La phase organique récoltée est séchée sur $MgSO_4$, filtrée puis évaporée à sec. Après recristallisation, la 1-benzyl-4-pipéridone-(4-aminosulfonylphényl)hydrazone (761 mg ; 2,1 mmoles) est obtenue sous forme de cristaux jaunes avec un rendement quantitatif.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,17 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 199°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{max}) :	3263	NH	UV (λ_{max}) :	230 nm
	1315	SO ₂ NH ₂		
	1158	SO ₂ NH ₂		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 2,34 (m, 4H, H₁, H₄), 2,50 (m, 4H, H₂, H₃), 3,54 (s, 2H, H₁₁), 7,02 (sl, 2H, H₁₀), 7,08 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H₆, H₉), 7,33 (m, 5H, H₁₂, H₁₃, H₁₄, H₁₅, H₁₆), 7,58 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H₇, H₈), 8,32 (sl, 2H, NH₂), 9,45 (sl, 1H, H₅),

LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,25 min
m/e	359 (M+H) ⁺

Analyse élémentaire : C₁₈H₂₂N₄O₂S 358,46 g/mol

	C	H
% théorique	60,31	6,19
% expérimental	60,43	6,44

Synthèse du 8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 17 c



Méthode C :

Chlorhydrate de 4-méthylthiophénylhydrazine (1,0 g ; 5,2 mmoles ; 1,0 équ.)
 Chlorhydrate de 4-pipéridone monohydraté (806 mg ; 5,2 mmoles ; 1,0 équ.)

Purification : La solution aqueuse est extraite plusieurs fois par de l'acétate d'éthyle (3 × 100 mL), les phases organiques récoltées sont séchées sur MgSO₄, filtrées puis évaporées. L'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / méthanol 9 / 1) pour conduire à une solution qui est enfin portée puis séchée à sec. Le 8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (227 mg ; 1,0 mmole) est obtenu sous forme d'une huile marron avec un rendement de 20%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,11 (dichlorométhane / méthanol 8 / 2)

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3391 NH
 1318 Ø-SMe
UV (λ_{\max}) : 255 nm

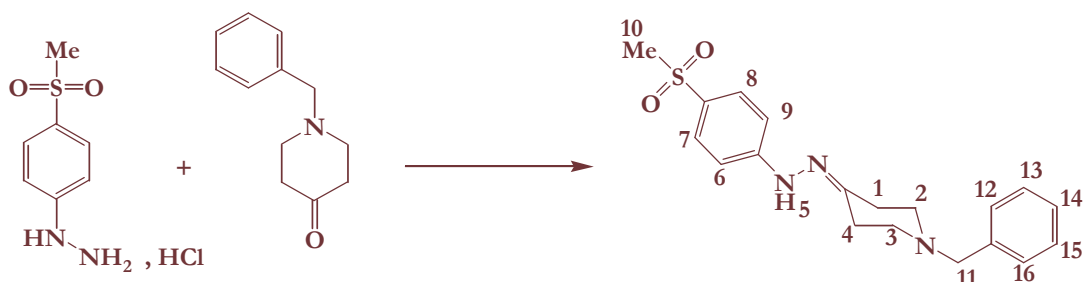
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,43 (t, J = 7,0 Hz, 2H, H₃), 2,79 (m, 2H, H₄), 3,24 (m, 2H, H₁), 4,07 (sl, 1H, H₂), 7,20 (m, 2H, H₆, H₇), 7,41 (s, 1H, H₈), 8,08 (sl, 1H, H₅)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,49 min
m/e	219 (M+H) ⁺
	260 (M+H+MeCN) ⁺

Synthèse de la 1-benzyl-4-pipéridone-(4-méthanesulfonylphényl)hydrazone, **22 a**



Méthode C :

Chlorhydrate de 4-méthanesulfonylphénylhydrazine (600 mg ; 2,7 mmoles ; 1,0 éq.)
 N-Benzyl-4-pipéridone (479 μ L ; 2,7 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : La solution aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (3×125 mL). La phase organique récoltée est séchée sur $MgSO_4$, filtrée puis évaporée à sec. Après recristallisation, la 1-benzyl-4-pipéridone-(4-méthanesulfonylphényl)hydrazone (862 mg ; 2,4 mmoles) est obtenue sous forme de cristaux jaunes avec un rendement de 90%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,34 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 169°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{max}) :	3331	NH	UV (λ_{max}) :	290 nm
	1299	SO_2Me		
	1133	SO_2Me		

RMN 1H ($CDCl_3$)

δ = 2,44 à 2,64 (m, 8H, H_1, H_2, H_3, H_4), 3,02 (s, 3H, H_{10}), 3,60 (s, 2H, H_{11}), 7,10 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H_6, H_9), 7,33 (m, 5H, $H_{12}, H_{13}, H_{14}, H_{15}, H_{16}$), 7,52 (sl, 1H, H_5), 7,74 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H_7, H_8)

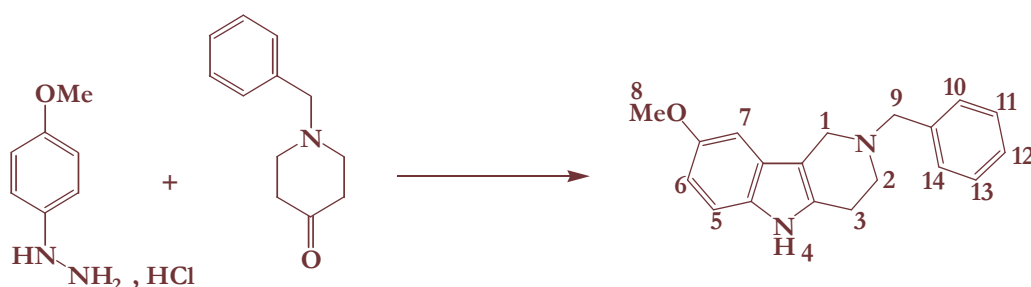
LC-MS (APCI $^+$) :

tr	2,61 min
m/e	358 ($M+H$) $^+$

Analyse élémentaire : $C_{19}H_{23}N_3O_2S$ 357,47 g/mol

	C	H	N
% théorique	63,84	6,49	11,75
% expérimental	63,56	6,59	11,82

Synthèse du 2-benzyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 14 a



Méthode C :

Chlorhydrate de 4-méthoxyphénylhydrazine (5,0 g ; 28,0 mmoles ; 1,0 éq.)
 N-Benzyl-4-pipéridone (5,1 mL ; 28,0 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité marron formé est filtré, lavé avec de l'eau puis séché sous vide. Après recristallisation, le 2-benzyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (7,2 g ; 24,6 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre marron avec un rendement de 88%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,56 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 120°C

1. Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3387 NH UV (λ_{\max}) : 270 nm
 1456 Ø-OMe

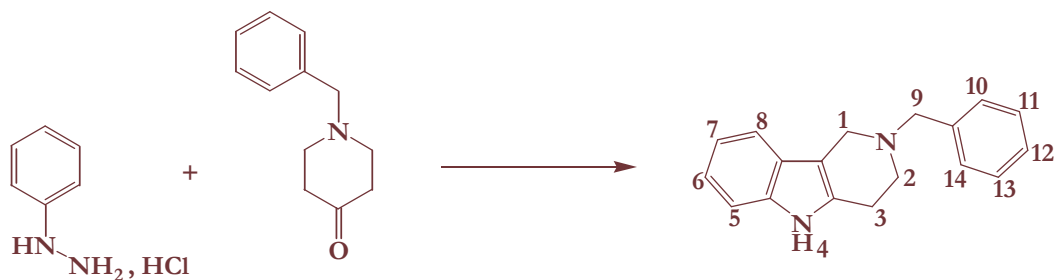
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,81 (m, 1H, H₃), 2,85 (dd, J = 20,2 Hz, J = 5,1 Hz, H₂, H_{3'}), 2,89 (m, 1H, H₂), 3,72 (s, 2H, H₉), 3,82 (s, 2H, H₁), 3,84 (s, 3H, H₈), 6,77 (dd, J = 8,8 Hz, J = 2,3 Hz, H₆), 6,84 (m, 1H, H₇), 7,14 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H₅), 7,31 à 7,46 (m, 5H, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₃, H₁₄), 7,77 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr 2,75 min
 m/e 293 (M+H)⁺

Synthèse du 2-benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 18 a



Méthode C :

Chlorhydrate de 4-phénylhydrazine (5,3 g ; 37,0 mmoles ; 1,0 éq.)

N-Benzyl-4-pipéridone (6,6 mL ; 37,0 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré, lavé avec de l'eau et séché sous vide. Après recristallisation, le 2-benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (6,9 g ; 26,3 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre marron clair avec un rendement de 71%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,43 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 159°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3377 NH

UV (λ_{\max}) : 265 nm

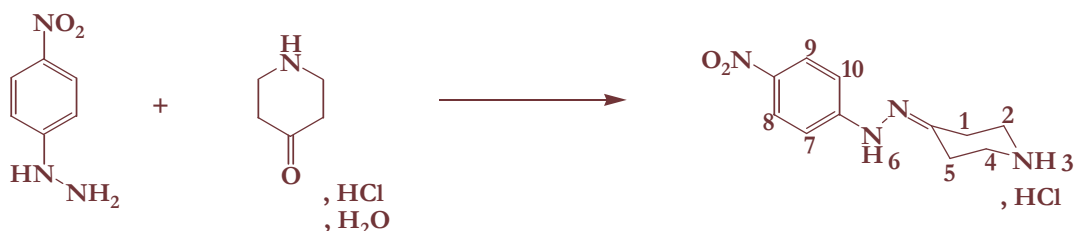
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,80 (m, 4H, H₂, H₃), 3,71 (s, 2H, H₉), 3,83 (s, 2H, H₁), 7,00 à 7,50 (m, 8H, H₅, H₆, H₈, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₃, H₁₄), 7,73 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,80 min
m/e	263 (M+H) ⁺

Synthèse du chlorhydrate de 4-pipéridone-(4-nitrophényl)hydrazone, 24 c



Méthode D :

4-Nitrophénylhydrazine (1,0 g ; 6,5 mmoles ; 1,0 éq.)
 Chlorhydrate de 4-pipéridone monohydraté (998 mg ; 6,5 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est enfin filtré puis séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 4-pipéridone-(4-nitrophényl)hydrazone (1,5 g ; 5,5 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux jaunes avec un rendement de 85%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,10 (méthanol)
Point de fusion > 230°C
Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3221 NH
 2950 NH_2^+
 1305 $\text{O}-\text{NO}_2$
UV (λ_{\max}) : 395 nm

RMN ^1H (DMSO- d_6)

δ = 2,65 (t, J = 6,0 Hz, 2H, H_2 ou H_4), 2,84 (t, J = 6,0 Hz, 2H, H_2 ou H_4), 3,24 (d, J = 10,0 Hz, 2H, H_1 ou H_5), 3,26 (d, J = 10,0 Hz, H_1 ou H_5), 7,20 (d, J = 9,4 Hz, 2H, H_7 , H_{10}), 8,10 (d, J = 9,4 Hz, 2H, H_8 , H_9), 9,31 (sl, 2H, H_3 , NH^+), 10,37 (s, 1H, H_6)

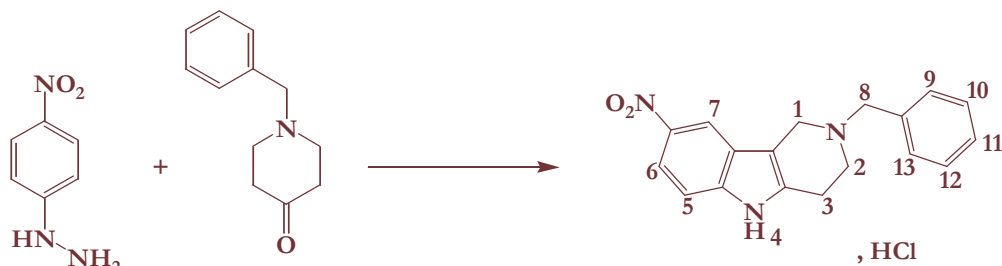
LC-MS (APCI $^+$) :

tr 2,23 min
 m/e 235 (M+H) $^+$
 276 (M+H+MeCN) $^+$

Analyse élémentaire : $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \text{HCl}$ 270,72 g/mol

	C	H	N
% théorique	48,80	5,58	20,70
% expérimental	48,65	5,68	20,81

Synthèse du chlorhydrate de 2-benzyl-8-nitro-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 27 a



Méthode D :

4-Nitrophénylhydrazine
N-Benzyl-4-pipéridone

(1,0 g ; 6,5 mmoles ; 1,0 éq.)
(1,2 mL ; 6,5 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le solide récupéré est filtré, lavé par de l'acide acétique puis séché sous vide. Après recristallisation, le chlorhydrate de 2-benzyl-8-nitro-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (500 mg ; 1,5 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux jaunes avec un rendement de 22%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,61 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacque)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3350	NH	UV (λ_{\max}) :	255 nm
	3088	NH ⁺		
	1336	Ø-NO ₂		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 2,87 (m, 2H, H₃), 3,39 (m, 1H, H₂), 3,73 (m, 1H, H₂), 4,37 (m, 1H, H₁), 4,49 (m, 2H, H₈), 4,53 (m, 1H, H₁), 7,51 (m, 3H, H₁₀, H₁₁, H₁₂), 7,52 (d, J = 9,0 Hz, 1H, H₅), 7,68 (m, 2H, H₉, H₁₃), 7,99 (d, J = 9,0 Hz, 1H, H₆), 8,52 (d, J = 2,0 Hz, 1H, H₇), 11,25 (sl, 1H, H₄), 12,10 (sl, 1H, NH⁺)

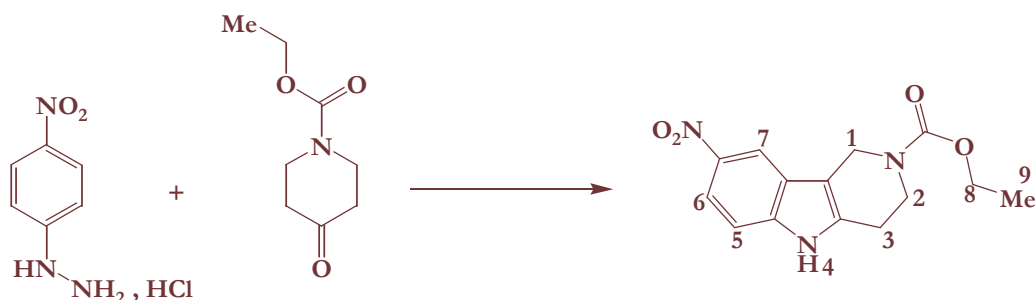
LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,89 min
m/e	308 (M+H) ⁺

Analyse élémentaire : C₁₈H₁₇N₃O₂ · HCl 343,81 g/mol

	C	H	N
% théorique	62,88	5,28	12,22
% expérimental	62,63	5,33	12,21

Synthèse du 2-carbéthoxy-8-nitro-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 27 b



Méthode D :

4-Nitrophénylhydrazine (850 mg ; 5,5 mmoles ; 1,0 équ.)
N-Carbéthoxy-4-pipéridone (837 μ L ; 5,5 mmoles ; 1,0 équ.)

Purification : Le milieu est dilué dans l'eau (100 mL). La solution aqueuse est alcalinisée par une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% puis est extraite plusieurs fois par de l'acétate d'éthyle (3 \times 200 mL) et les phases organiques récoltées sont séchées sur MgSO₄, filtrées puis évaporées. L'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1). L'huile obtenue est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) et de l'acide chlorhydrique en solution dans l'alcool isopropylique (5 - 6 M) (33 μ L ; 0,1 mmole) est additionné goutte à goutte. Après 5 minutes d'agitation, le solvant est évaporé et l'huile est reprise dans l'éther éthylique (10 mL) puis triturée pour former un solide qui est filtré et séché. Après recristallisation, le 2-carbéthoxy-8-nitro-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (48 mg ; 0,1 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre jaune avec un rendement de 3%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,52 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 5 / 5)

Point de fusion : 200°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3249 NH **UV** (λ_{\max}) : 255 nm
1658 C=O
1330 \emptyset -NO₂

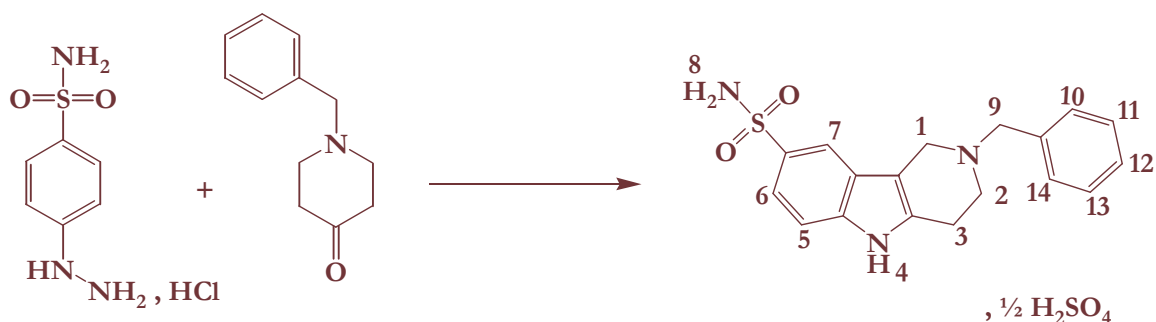
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,46 (t, J = 7,3 Hz, 3H, H₉), 2,94 (t, J = 5,0 Hz, 2H, H₃), 3,97 (m, 2H, H₂), 4,31 (q, J = 7,3 Hz, 2H, H₈), 4,75 (s, 2H, H₁), 7,36 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H₅), 8,11 (dd, J = 8,8 Hz, J = 2,3 Hz, 1H, H₆), 8,27 (sl, 1H, H₄), 8,45 (d, J = 2,3 Hz, 1H, H₇)

LC-MS (ESI) :

tr 3,55 min
m/e 290 (M+H)⁺
331 (M+H+MeCN)⁺

Synthèse de l'hémisulfate de 2-benzyl-8-aminosulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 26 a



Méthode E :

Chlorhydrate de 4-aminosulfonylphénylhydrazine (500 mg ; 2,2 mmoles ; 1,0 éq.)
 N-Benzyl-4-pipéridone (414 μ L ; 2,2 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré, lavé au dioxane, puis séché. Après recristallisation, l'hémisulfate de 2-benzyl-8-aminosulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (400 mg ; 1,0 mmole) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 47%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,32 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacque)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : acétonitrile / eau (1 / 1)

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3320	NH	UV (λ_{\max}) :	235 nm
	3010	NH ⁺		
	1320	SO ₂ NH ₂		
	1152	SO ₂ NH ₂		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 2,97 (m, 2H, H₃), 3,23 (m, 2H, H₂), 3,97 (s, 2H, H₉), 4,07 (sl, 2H, H₈), 4,13 (s, 2H, H₁), 7,38 à 7,53 (m, 7H, H₅, H₆, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₃, H₁₄), 7,81 (m, 1H, H₇), 9,96 (sl, 1H, H₄), 11,49 (sl, 1H, NH⁺)

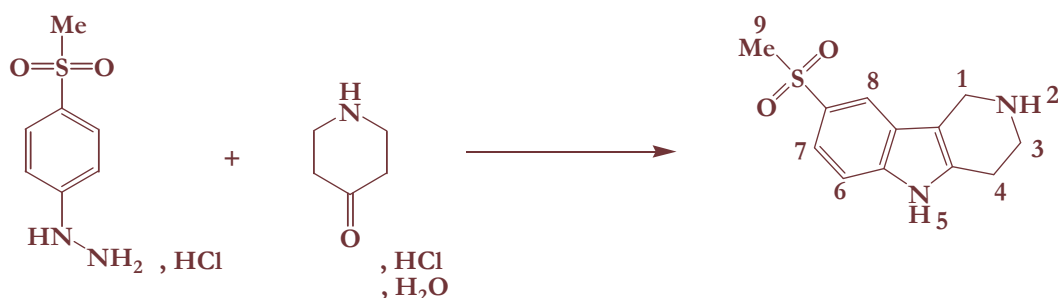
LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,29 min
m/e	342 (M+H) ⁺

Analyse élémentaire : C₁₈H₁₉N₃O₂S. $\frac{1}{2}$ H₂SO₄ 390,41 g/mol

	C	H	N
% théorique	51,78	5,15	10,07
% expérimental	51,48	5,39	10,02

Synthèse du 8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 25 c



Méthode E :

Chlorhydrate de 4-méthylphénylhydrazine (7,5 g ; 33,7 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorhydrate de 4-pipéridone monohydraté (5,2 g ; 33,7 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité obtenu est filtré puis lavé par du dioxane (60 mL) et séché. Après recristallisation, le sulfate est ainsi obtenu avec un rendement quantitatif. Le solide jaune est ensuite dissous dans de l'eau (250 mL) puis alcalinisé par une solution de carbonate de potassium 10%. Après 30 minutes d'agitation, la solution aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (3 × 250 mL). La phase aqueuse est ensuite concentrée (50 mL) et la poudre de méthanesulfonyl- γ -carboline est ensuite filtrée puis séchée sous vide pendant 1 heure. Après recristallisation, le 8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (7,6 g ; 30,2 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux jaunes avec un rendement de 90%.

Caractérisation du produit sous forme chlorhydrate

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,48 (méthanol + ammoniacque)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : méthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3200	NH	UV (λ_{\max}) :	240 nm
	3114	NH ₂ ⁺		
	1271	SO ₂ Me		
	1115	SO ₂ Me		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 3,07 (m, 2H, H₄), 3,15 (s, 3H, H₉), 3,50 (m, 2H, H₃), 4,40 (m, 2H, H₁), 7,59 (m, 2H, H₆, H₇), 8,12 (m, 1H, H₈), 9,10 (sl, 2H, H₂, NH⁺), 11,77 (sl, 1H, H₅)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	0,33 min
m/e	251 (M+H) ⁺

Caractérisation du produit sous forme base

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,34 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniaque)

Point de fusion : 182°C

Solvant de recristallisation : eau

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	2992	NH
	1274	SO ₂ Me
	1125	SO ₂ Me

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 2,94 (m, 2H, H₄), 3,13 (s, 3H, H₉), 3,28 (m, 2H, H₃), 4,20 (m, 2H, H₁), 7,52 (m, 2H, H₆, H₇), 8,02 (m, 1H, H₈), 11,78 (sl, 1H, H₂)

Synthèse du 2-benzyl-8-méthanésulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 25 a



Méthode E :

Chlorhydrate de 4-méthanésulfonylphénylhydrazine
N-Benzyl-4-pipéridone

(2,5 g ; 11,2 mmoles ; 1,0 éq.)
(2,1 mL ; 11,2 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Le précipité formé est filtré, lavé au dioxane puis recristallisé. Le sulfate est ensuite dissous dans l'eau (100 mL). La solution aqueuse est ensuite alcalinisée par une solution de carbonate de potassium 10% puis extraite par de l'acétate d'éthyle (3 × 100 mL). La phase organique récoltée est séchée sur MgSO₄, filtrée puis portée à sec. Après recristallisation, le 2-benzyl-8-méthanésulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (5,0 g ; 10,4 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 93%.

Caractérisation du produit sous forme sulfate

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,32 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion > 230°C (sulfate)

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3346 NH
2975 NH⁺
1340 SO₂Me
1149 SO₂Me

UV (λ_{\max}) : 240 nm

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,91 (m, 4H, H₂, H₃), 3,06 (s, 3H, H₈), 3,72 (s, 2H, H₉), 3,82 (s, 2H, H₁), 7,29 à 7,63 (m, 6H, H₅, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₃, H₁₄), 7,63 (dd, J = 7,5 Hz, J = 1,5 Hz, 1H, H₆), 8,00 (d, J = 1,2 Hz, 1H, H₇), 8,38 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr 2,53 min
m/e 341 (M+H)⁺

Caractérisation du produit sous forme base

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,35 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

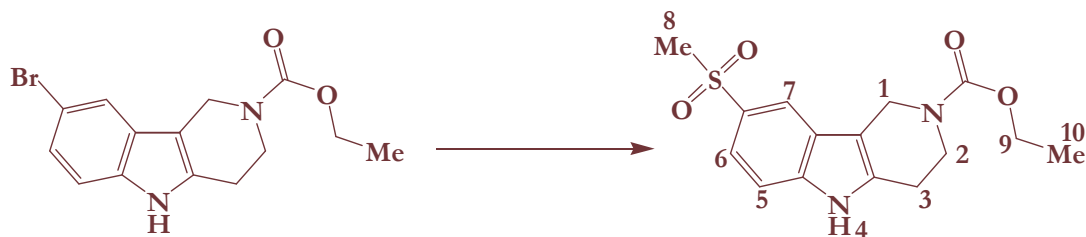
Point de fusion = 173°C

Solvant de recristallisation : méthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3300	NH
	1340	SO ₂ Me
	1149	SO ₂ Me

Synthèse du 2-carbéthoxy-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole, 25 b



Un mélange du 8-bromo-2-carbéthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (400 mg ; 1,2 mmoles ; 1,0 éq.), de méthanesulfonate de sodium (293 mg ; 2,5 mmoles ; 2,0 éq.), d'iodure de cuivre (48 mg ; 0,2 mmole ; 0,2 éq.), de L-proline (58 mg ; 0,5 mmole ; 0,4 éq.) et d'hydroxyde de sodium (10 mg ; 0,2 mmole, 0,2 éq.) dans le diméthylsulfoxyde (10 mL) est agité dans un tube scellé à 90°C, sous atmosphère inerte, pendant 36 heures. Après être ramené à température ambiante, le milieu réactionnel est repris dans l'eau (100 mL) puis extrait par de l'acétate d'éthyle (3 × 100 mL). La phase organique récoltée est séchée sur MgSO₄, filtrée puis évaporée à sec. L'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / acétate d'éthyle 6 / 4) pour conduire à un solide qui est filtré puis séché. Après recristallisation, le 2-carbéthoxy-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (160 mg ; 0,5 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre jaune avec un rendement de 40%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,23 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 7 / 3)

Point de fusion : 206°C

Solvant de recristallisation : méthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3300 NH

1679 C=O

1293 SO₂Me

1143 SO₂Me

UV (λ_{\max}) : 245 nm

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,31 (t, J = 7,3 Hz, 3H, H₁₀), 2,89 (m, 2H, H₃), 3,09 (s, 3H, H₈), 3,87 (m, 2H, H₂), 4,22 (q, J = 7,0 Hz, 2H, H₉), 4,71 (s, 2H, H₁), 7,41 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H₅), 7,62 (d, J = 8,2 Hz, 1H, H₆), 8,06 (s, 1H, H₇), 9,39 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,06 min
m/e	323 (M+H) ⁺
	364 (M+H+MeCN) ⁺

Benzoylation et benzylation de tétrahydro- γ -carbolines

Mode opératoire général :

A une suspension d'hydrure de sodium 60% à 0°C dans le DMF (10 mL) est ajoutée lentement une solution anhydre de dérivé du 2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole préalablement dissous dans le DMF (20 mL). Le milieu est agité pendant 2 heures à 0°C et sous atmosphère inerte. Puis le chlorure de benzoyle, ou le bromure de benzyle, est additionné goutte à goutte à 0°C. Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante puis agité pendant 2 heures sous atmosphère inerte. Il est ensuite filtré et le filtrat est évaporé à sec.

Hydrogénation catalytique de 5-benzoyl-2-benzyl-tétrahydro- γ -carbolines

Mode opératoire général :

Le dérivé du 5-benzoyl-2-benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole est dissous dans un mélange de solvant comprenant un alcool. Après dissolution complète de la tétrahydro- γ -carboline, une quantité catalytique de palladium sur charbon 10% est ajoutée. Le milieu réactionnel est agité sous atmosphère d'hydrogène à pression atmosphérique et à température ambiante pendant 48 heures. Le milieu est ensuite filtré sur célite puis évaporé sous vide.

Alkylation de 5-benzoyltétrahydro- γ -carbolines

Mode opératoire général A :

Le dérivé du chlorhydrate de 5-benzoyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole est dissous dans le dichlorométhane (50 mL) puis on ajoute de la *N,N*-diisopropyléthylamine.

Cette solution est agitée à température ambiante et sous atmosphère inerte pendant 30 minutes. Parallèlement, le 1-bromo-3-chloropropane dilué dans du dichlorométhane (7 mL) est agité à température ambiante et sous azote. La solution de tétrahydro- γ -carboline est ensuite lentement additionnée à cette solution. Lorsque l'addition est terminée, le milieu est laissé sous agitation à température ambiante et sous atmosphère inerte pendant 24 heures. Il est ensuite concentré sous vide et l'huile obtenue est reprise dans l'acétate d'éthyle (100 mL). La solution est extraite par une solution de carbonate de potassium 10% (3 \times 100 mL) puis séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée sous vide. Le résidu huileux est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de silice pour conduire à une solution qui est enfin filtrée puis portée à sec.

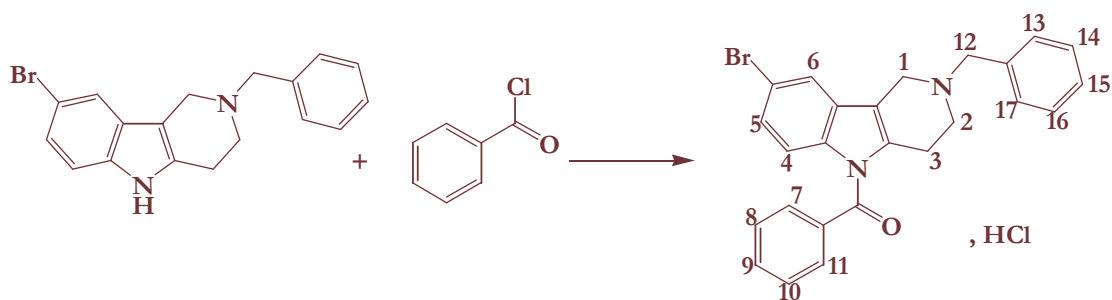
Mode opératoire général B :

A un mélange de dérivé 5-benzoyl-2-(3-chloropropyl)-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole et de carbonate de césium anhydre dans l'acétone (30 mL) est ajoutée une solution de 3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénol préalablement dissous dans l'acétone (10 mL). Le milieu, sous agitation, est ensuite chauffé à reflux et sous atmosphère inerte pendant 24 heures. Après être ramené à température ambiante, il est filtré et le solvant du filtrat est évaporé. L'huile résiduelle est ensuite purifiée par chromatographie sur gel de silice pour conduire à une solution qui est enfin filtrée puis portée à sec.

Mode opératoire général C :

A un mélange de dérivé du 2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole et de carbonate de césium anhydre dans l'acétone (30 mL) est ajoutée une solution de 4-[3-(3-chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydropyranne préalablement dissous dans l'acétone (10 mL). Le milieu, sous agitation, est ensuite chauffé à reflux et sous atmosphère inerte pendant 24 heures. Après être ramené à température ambiante, il est filtré et le solvant du filtrat est évaporé. L'huile résiduelle est ensuite purifiée par chromatographie sur gel de silice pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec.

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 33



Hydruure de sodium 60%	(293 mg ; 7,3 mmoles ; 1,0 éq.)
2-Benzyl-8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(2,5 g ; 7,3 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorure de benzoyle	(850 μ L ; 7,3 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile orangée est reprise dans l'acétonitrile (60 mL) se solidifie. Après recristallisation, le chlorhydrate de 2-benzyl-5-benzoyl-8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (1,8 g ; 4,0 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 55%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,94 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	2920	NH ⁺	UV (λ_{\max}) :	260 nm
	1686	C=O		

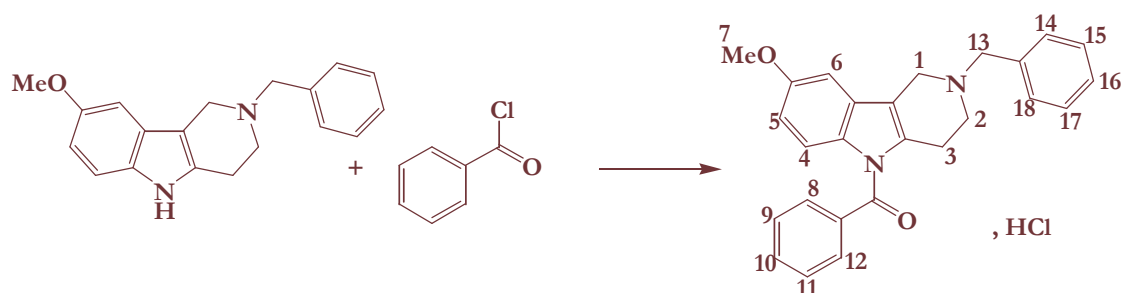
RMN ¹H (DMSO-*d*₆)

δ = 2,77 (m, 1H, H₃), 3,00 (m, 1H, H₃'), 3,19 (m, 1H, H₂), 3,52 (m, 1H, H₂'), 4,27 (s, 2H, H₁₂), 4,40 (s, 2H, H₁), 7,04 à 7,77 (m, 13H, H₄, H₅, H₆, H₇, H₈, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₄, H₁₅, H₁₆, H₁₇), 11,59 (sl, 1H, NH⁺)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,59 min
m/e	445 (M)
	447 (M+2)

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 32



Hydrure de sodium 60%	(958 mg ; 24,0 mmoles ; 1,0 éq.)
2-Benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(7,0 g ; 24,0 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorure de benzoyle	(2,8 mL ; 24,0 mmoles ; 1 éq.)

Purification : L'huile est séchée sous vide pendant 12 heures pour former des cristaux marron. Les cristaux sont filtrés puis lavés par de l'éthanol 95%. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (5,0 g ; 10,5 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 48%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,51 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 8 / 2)

Point de fusion : 118°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

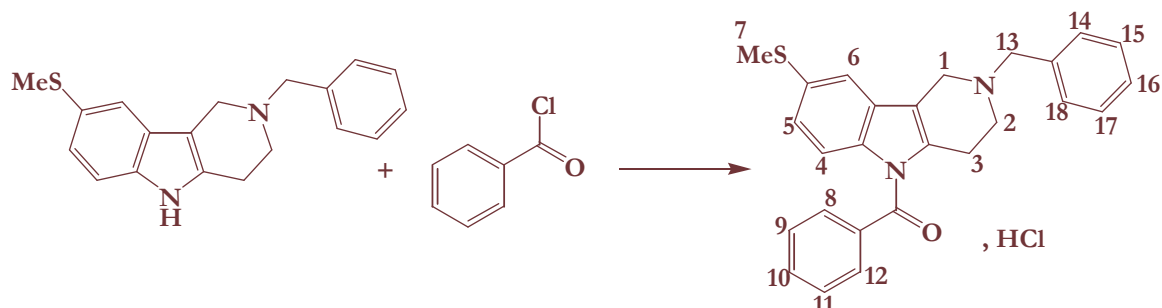
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	2923	NH ⁺
	1672	C=O
	1466	Ø-OMe

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,72 (m, 4H, H₂, H₃), 3,67 (m, 2H, H₁₃), 3,79 (m, 2H, H₁), 3,83 (s, 3H, H₇), 6,73 (dd, J = 9,0 Hz, J = 2,6 Hz, 1H, H₅), 6,78 (sd, J = 2,6 Hz, 1H, H₆), 7,26 à 7,58 (m, 11H, H₄, H₈, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₄, H₁₅, H₁₆, H₁₇, H₁₈)

Synthèse du chlorhydrate de 2-benzyl-5-benzoyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 34



Hydrure de sodium 60% (221 mg ; 5,5 mmoles ; 1,0 éq.)
 2-Benzyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (1,7 g ; 5,5 mmoles ; 1,0 éq.)
 Chlorure de benzoyle (641 µL ; 5,5 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile est séchée sous vide pendant 12 heures forme des cristaux marron. Les cristaux sont filtrés puis lavés par de l'éthanol 95% (100 mL). Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (1,2 g ; 2,6 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 48%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,69 (heptane / acétate d'éthyle 6 / 4)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	2929	NH ⁺	UV (λ_{\max}) :	205 nm
	1674	C=O		
	1325	Ø-SMe		

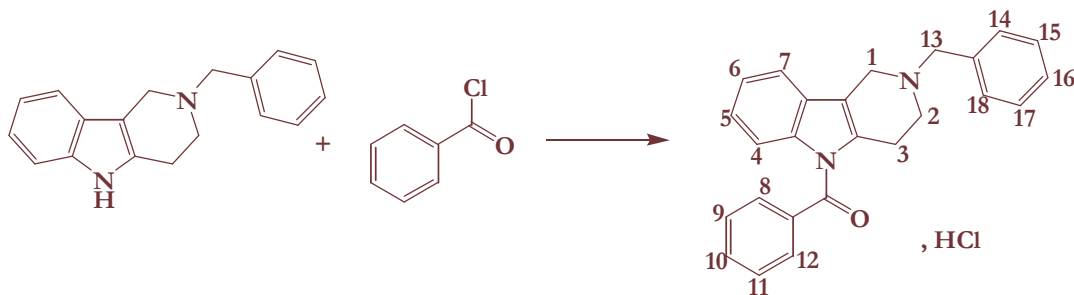
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,50 (s, 3H, H₇), 2,76 (m, 2H, H₃), 2,88 (m, 2H, H₂), 3,79 (s, 2H, H₁₃), 3,91 (m, 2H, H₁), 7,07 (d, *J* = 8,5 Hz, *J* = 1,7 Hz, 1H, H₅), 7,23 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H, H₄), 7,32 (m, 6H, H₆, H₁₄, H₁₅, H₁₆, H₁₇, H₁₈), 7,60 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H, H₉, H₁₀, H₁₁), 7,67 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H, H₈, H₁₂)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,52 min
m/e	413 (M+H) ⁺

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 35



Hydruide de sodium 60%

2-Benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole

Chlorure de benzoyle

(1,2 g ; 28,9 mmoles ; 1,1 équ.)

(6,9 g ; 26,3 mmoles ; 1,0 équ.)

(3,0 mL ; 26,3 mmoles ; 1,0 équ.)

Purification : L'huile séchée sous vide pendant 12 heures forme des cristaux marron. Les cristaux sont ensuite filtrés puis lavés par de l'éthanol 95%. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (7,1 g ; 17,6 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 67%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,92 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 143°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

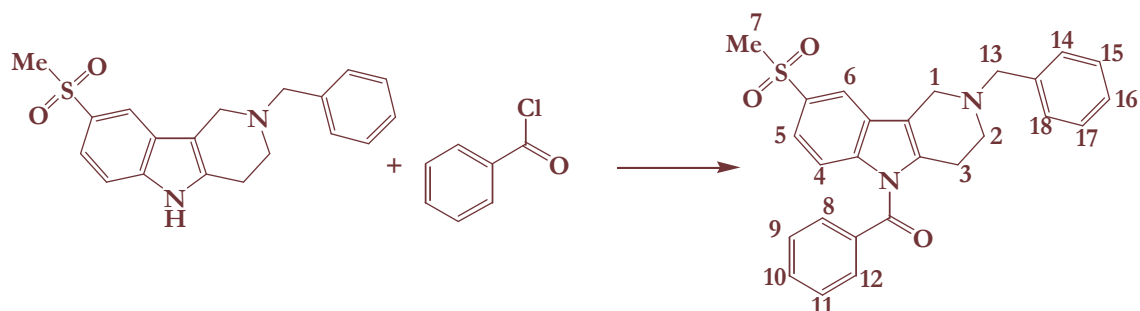
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 2922 NH⁺
 1676 C=O

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,73 (m, 4H, H₂, H₃), 3,71 (s, 2H, H₁₃), 3,79 (s, 2H, H₁), 7,15 (m, 2H, H₁₄, H₁₈), 7,30 à 7,80 (m, 12H, H₄, H₅, H₆, H₇, H₈, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₄, H₁₇, H₁₈)

Synthèse du 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 36



Hydruide de sodium 60% (350 mg ; 10,4 mmoles ; 1,0 éq.)
 2-Benzyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (5,0 g ; 10,4 mmoles ; 1,0 éq.)
 Chlorure de benzoyle (1,2 mL ; 10,4 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle est reprise dans l'acétate d'éthyle (50 mL) puis lavée par une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (50 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite par de l'acétate d'éthyle (3 x 50 mL). La phase organique récoltée est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. L'huile récupérée est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1) pour conduire à un solide qui est filtré puis séché. Après recristallisation, le 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (1,4 g ; 3,1 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 30%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,24 (heptane / acétate d'éthyle 5 / 5)

Point de fusion : 175°C

Solvant de recristallisation : méthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	1674	C=O	UV (λ_{\max}) :	250 nm
	1318	SO ₂ Me		
	1148	SO ₂ Me		

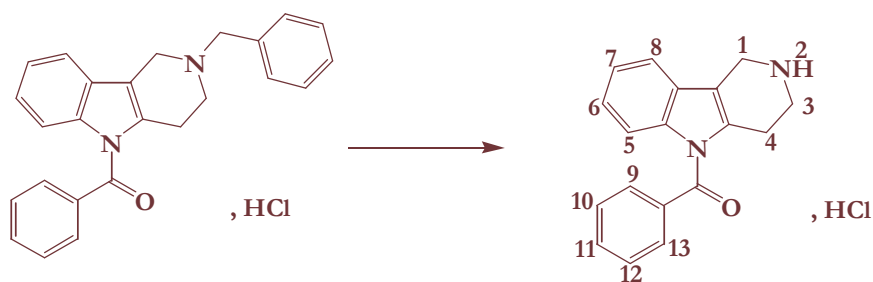
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,75 (m, 2H, H₃), 2,79 (m, 2H, H₂), 3,07 (s, 3H, H₇), 3,71 (s, 2H, H₁₃), 3,81 (s, 2H, H₁), 7,32 à 7,56 (m, 8H, H₄, H₈, H₁₂, H₁₄, H₁₅, H₁₆, H₁₇, H₁₈), 7,59 (m, 4 H, H₅, H₉, H₁₀, H₁₁), 7,97 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H₆)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,06 min
m/e	445 (M+H) ⁺

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl- 2, 3, 4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 38



2-Benzyl-5-benzoyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (7,1 g ; 17,6 mmoles ; 1,0 éq.)
Mélange de solvants : dichlorométhane / méthanol (1 / 3) (400 mL)

Purification : Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-benzoyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (4,9 g ; 15,6 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux orange avec un rendement de 90%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,12 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol 95%

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3395 NH_2^+ **UV** (λ_{\max}) : 245 nm
1632 C=O

RMN ^1H (DMSO- d_6)

δ = 2,90 (m, 2H, H_4), 3,36 (m, 2H, H_3), 4,35 (m, 2H, H_1), 7,18 (m, 3H, H_6 , H_7 , H_8), 7,57 à 7,76 (m, 6H, H_5 , H_9 , H_{10} , H_{11} , H_{12} , H_{13}), 9,78 (sl, 2H, H_2 , NH^+)

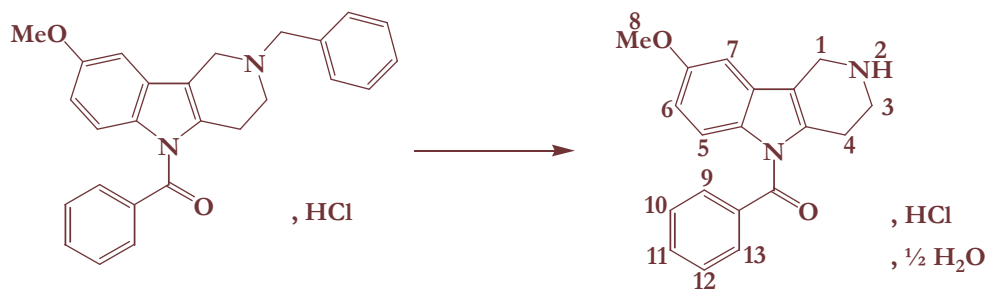
CLHP (Kromasil C18, H_2O 50% MeOH 50% TFA 0,1%, λ = 220 nm)

tr 9,76 min
pureté 99,6%

LC-MS (APCI $^+$) :

tr 2,69 min
m/e 277 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$
pureté 100%

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 37



Chlorhydrate de 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthoxy -2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole
(5,0 g ; 10,5 mmoles ; 1,0 éq.)
Mélange de solvants : dichlorométhane / éthanol (1 / 1) (200 mL)

Purification : Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-benzoyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (3,5 g ; 10,3 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre grise avec un rendement de 98%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,54 (dichlorométhane / méthanol 8 / 2)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 3245 NH_2^+ **UV** (λ_{\max}) : 230 nm
1683 C=O

RMN ^1H (CDCl_3)

δ = 1,26 (sl, 2H, H_2 , NH^+), 3,15 (m, 2H, H_4), 3,43 (m, 2H, H_3), 3,79 (s, 3H, H_8), 4,41 (m, 2H, H_1), 6,67 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, H_6), 6,85 (m, 1H, H_7), 6,88 (t, $J = 9,0$ Hz, 1H, H_5), 7,48 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H, H_{13}), 7,51 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H, H_9), 7,63 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H, H_{10} , H_{11} , H_{12})

CLHP (Kromasil C18, H_2O 46 % MeOH 54 % TFA 0,1 %, $\lambda = 220$ nm)

tr	5,11 min
pureté	100%

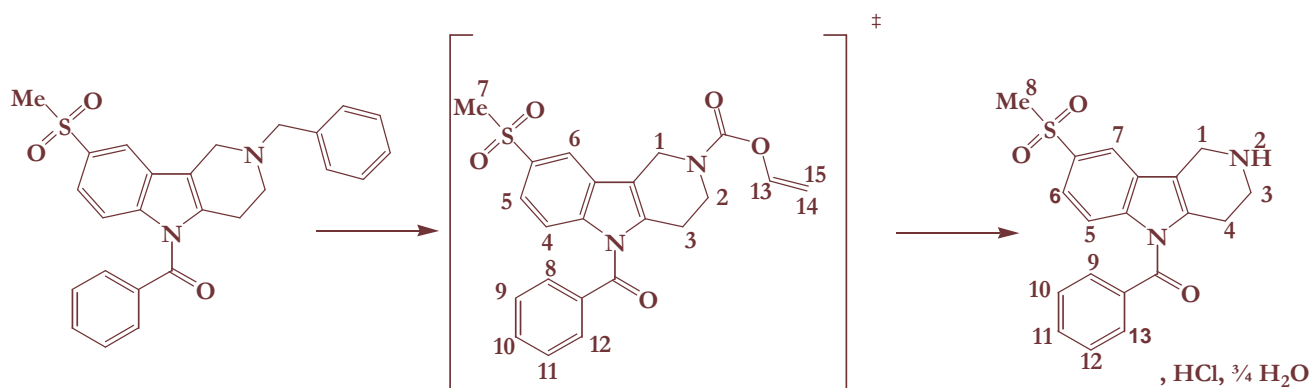
LC-MS (APCI $^+$) :

tr	2,70 min
m/e	307 (M+H) $^+$
pureté	100%

Analyse élémentaire : $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{HCl} \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ 351,82 g/mol

	C	H	N
% théorique	64,96	5,70	7,98
% expérimental	65,06	5,79	8,18

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 39



Le chloroformate de vinyle (150 μ L ; 1,75 mmoles ; 1,0 eq.) est ajouté goutte à goutte à une solution de 5-benzoyl-2-benzyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (780 mg ; 1,75 mmoles ; 1,0 eq.) dissous dans le dichlorométhane anhydre (25 mL).

Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à reflux pendant 1 heure sous atmosphère inerte.

Après être revenu à température ambiante, le solvant est évaporé à sec et l'huile résiduelle est triturée dans un mélange heptane / acétate d'éthyle (7 / 3), le solide formé est dispersé

aux ultrasons et filtré. Après recristallisation, le 2-vinyloxycarbonyl-5-benzoyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (566 mg ; 1,3 mmoles) est obtenu

de cristaux avec un rendement de 76%. Il est ensuite solubilisé dans du dichlorométhane anhydre (10 mL) puis la solution est saturée en acide chlorhydrique et le solvant est évaporé.

L'huile rouge récupérée est ensuite diluée dans le méthanol (25 mL) et la solution est chauffée

à reflux pendant 2 heures puis évaporée à sec. L'huile rouge est reprise dans le méthanol (10 mL) puis le précipité jaune formé est filtré et séché sous vide. Après recristallisation, le 5-benzoyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (480 mg ; 1,2 mmoles) est obtenu sous forme de cristaux jaunes avec un rendement de 70%.

Caractérisation du 2-vinyloxycarbonyl-5-benzoyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,43 (heptane / acétate d'éthyle 5 / 5)

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{max}) :	1709	C=O
	1681	C=O
	1326	SO ₂ Me

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 2,59 (m, 2H, H₃), 3,23 (s, 3H, H₇), 3,68 (m, 2H, H₂), 4,57 (m, 1H, H₁), 4,74 (m, 1H, H₁₇), 4,88 (m, 2H, H₁₄, H₁₅), 7,18 (dd, J = 6,4 Hz, J = 6,4 Hz, H₁₃), 7,59 (m, 3H, H₄, H₈, H₁₂), 7,73 (m, 4H, H₅, H₉, H₁₀, H₁₁), 8,24 (s, 1H, H₆)

Caractérisation du chlorhydrate 5-benzoyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,63 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1 + ammoniacque)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : méthanol

Données spectrales :

IR (ν _{max}) :	1697	C=O
	1298	SO ₂ Me
	1143	SO ₂ Me

UV (λ_{max}) : 250 nm

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,90 (m, 2H, H₄), 3,34 (s, 3H, H₈), 3,39 (m, 2H, H₃), 4,46 (s, 2H, H₁), 7,39 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H₅), 7,62 (m, 2H, H₉, H₁₃), 7,70 à 8,32 (m, 4H, H₆, H₁₀, H₁₁, H₁₂), 8,27 (s, 1H, H₇), 9,55 (sl, 2H, H₂, NH⁺)

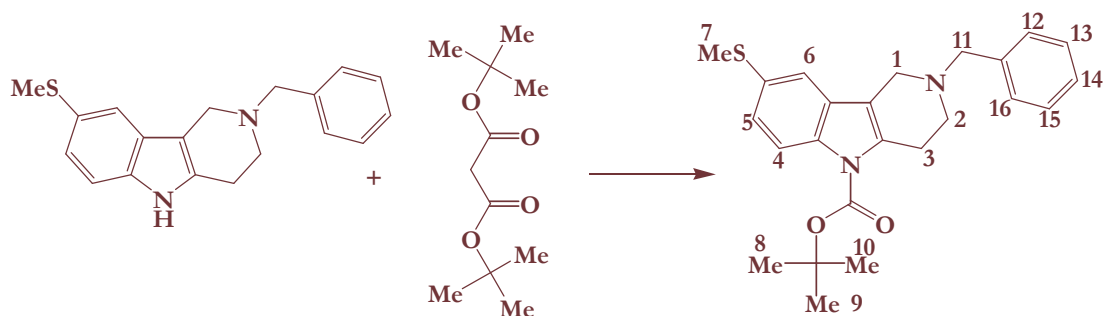
LC-MS (APCI⁺) :

tr	2,75 min
m/e	355 (M+H) ⁺
	396 (M+H+MeCN) ⁺
pureté	99%

Analyse élémentaire : C₁₉H₁₈N₂O₂ · HCl · ³/₄ H₂O 403,58 g/mol

	C	H	N
% théorique	56,50	5,08	6,94
% expérimental	56,63	4,95	6,99

Synthèse du 2-benzyl-5-tert-butoxycarbonyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole, 28



La 4-diméthylaminopyridine (460 mg ; 3,8 mmoles ; 1,0 éq.) est ajoutée par portions à une solution de 2-benzyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (1,2 g ; 3,8 mmoles ; 1,0 éq.) dissous dans l'acétonitrile (25 mL). Après 2 heures d'agitation sous atmosphère inerte, le dicarbonate de di-tert-butyle (822 mg ; 3,8 mmoles ; 1,0 éq.) est ajouté par portions. Le milieu réactionnel est agité pendant 2 heures puis filtré. Le solvant du filtrat est évaporé et l'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1) pour conduire à un solide qui est enfin filtré puis séché. Après recristallisation, le 2-benzyl-5-tert-butoxycarbonyl-8-méthylthio-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (500 mg ; 1,2 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 32%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,56 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1)

Point de fusion : 181°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 1731 C=O

1324 Ø-SMe

UV (λ_{\max}) : 255 nm

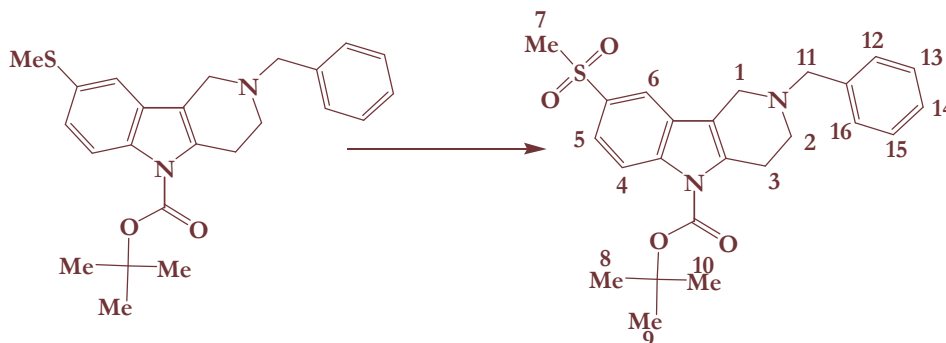
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,68 (m, 9H, H₈, H₉, H₁₀), 3,09 (s, 3H, H₇), 2,99 (t, J = 5,3 Hz, 2H, H₃), 3,87 (m, 2H, H₂), 4,21 (q, J = 7,1 Hz, 2H, H₁), 4,71 (m, 2H, H₁₁), 7,20 (m, 1H, H₄), 7,24 (m, 1H, H₆), 8,04 (m, 1H, H₅)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,86 min
m/e	409 (M+H) ⁺

Synthèse du 2-benzyl-5-tert-butoxycarbonyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole, 29



Le 2-benzyl-5-tert-butoxycarbonyl-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (500 mg ; 1,2 mmoles ; 1,0 éq.) dissous dans le méthanol (10 mL) est agité à 0°C puis l'Oxone[®] (1,5 g ; 2,4 mmoles ; 2,0 éq.) préalablement dissous dans de l'eau (10 mL) est ajoutée goutte à goutte. Après trente minutes, le milieu réactionnel est extrait par du chloroforme (3 × 50 mL). La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée puis portée à sec. L'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1) pour conduire à un solide qui est enfin filtré puis séché. Après recristallisation, le 2-benzyl-5-tert-butoxycarbonyl-8-méthylsulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-*b*]indole (57 mg ; 0,1 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 10%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,54 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 190°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	1734	C=O	UV (λ_{\max}) :	270 nm
	1291	SO ₂ Me		
	1141	SO ₂ Me		

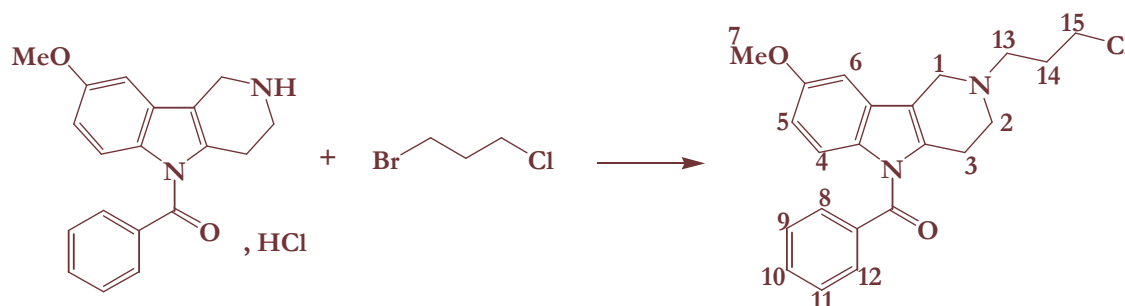
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,67 (s, 9H, H₈, H₉, H₁₀), 2,90 (t, J = 5,4 Hz, 2H, H₃), 3,07 (s, 3H, H₇), 3,16 (m, 2H, H₂), 3,65 (s, 2H, H₁₁), 3,81 (s, 2H, H₁), 7,36 (m, 5H, H₁₂, H₁₃, H₁₄, H₁₅, H₁₆), 7,79 (dd, J = 8,8 Hz, J = 1,7 Hz, 1H, H₅), 7,91 (d, J = 1,8 Hz, 1H, H₆), 8,34 (d, J = 8,9 Hz, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,31 min
m/e	441 (M+H) ⁺

Synthèse du 5-benzoyl-2-(3-chloropropyl)-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 41



Alkylation A :

Chlorhydrate de 5-benzoyl-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole

(3,5 g ; 10,3 mmoles ; 1,0 équ.)

N,N-Diisopropyléthylamine

(4,3 mL ; 20,7 mmoles ; 2,0 équ.)

1-Bromo-3-chloropropane

(1,1 mL ; 11,4 mmoles ; 1,1 équ.)

Purification : Chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / acétate d'éthyle 8 / 2). Le 5-benzoyl-2-(3-chloropropyl)-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (2,5 g ; 6,4 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile blanche avec un rendement de 62%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,48 (dichlorométhane / acétate d'éthyle 5 / 5)

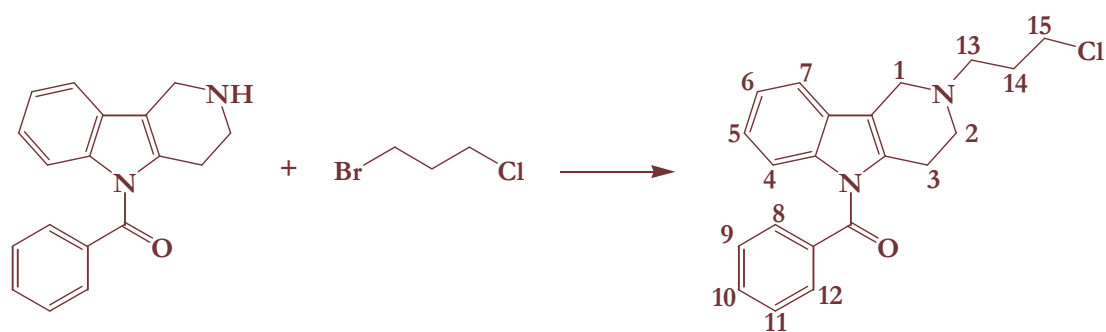
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 1720 C=O
 1452 Ø-OMe

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,13 (m, 2H, H₁₄), 2,75 (m, 6H, H₂, H₃, H₁₃), 3,68 (t, J = 8,3 Hz, 2H, H₁₅), 3,70 (s, 2H, H₁), 3,85 (s, 3H, H₇), 6,73 (dd, J = 9,2 Hz, J = 2,8 Hz, 1H, H₅), 6,81 (d, J = 2,5 Hz, 1H, H₆), 7,27 (m, 1H, H₄), 7,47 à 7,61 (m, 5H, H₈, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂)

Synthèse du 5-benzoyl-2-(3-chloropropyl)-2,3,4,5-tétrahydropyrido[4,3-*b*]indole, 42



Alkylation A :

Chlorhydrate de 5-benzoyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole

(4,9 g ; 15,6 mmoles ; 1,0 éq.)

N,N-Diisopropyléthylamine

(2,7 mL ; 31,2 mmoles ; 2,0 éq.)

1-Bromo-3-chloropropane

(1,5 mL ; 15,6 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1).
Le 5-benzoyl-2-(3-chloropropyl)-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (960 mg ; 2,7 mmoles)
est obtenu sous forme d'une huile blanche avec un rendement de 17%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,54 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

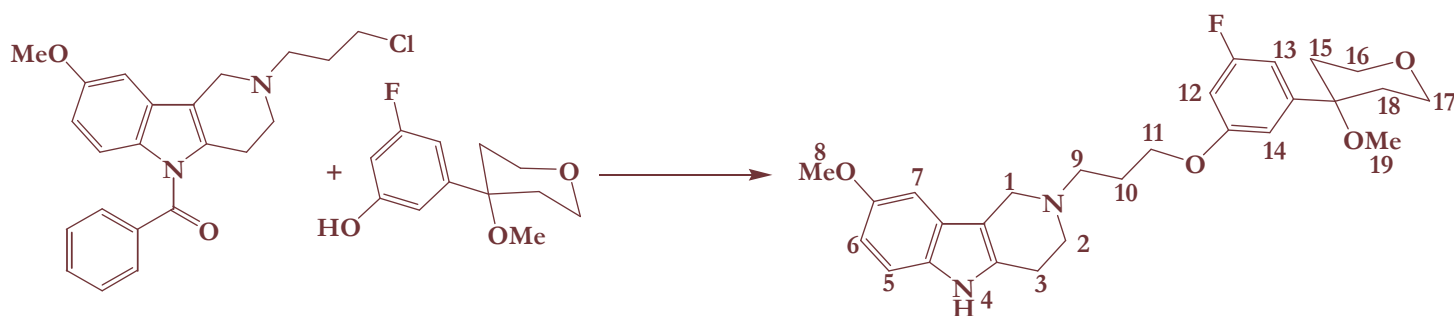
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 1680 C=O

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,08 (m, 2H, H₁₄), 2,75 (m, 6H, H₂, H₃, H₁₃), 3,69 (t, J = 7,2 Hz, 2H, H₁₅), 3,71 (s, 2H, H₁),
7,10 à 7,85 (m, 9H, H₄, H₅, H₆, H₇, H₈, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂)

Synthèse du 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 43



Alkylation B :

5-benzoyl-2-(3-Chloropropyl)-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (2,5 g ; 6,4 mmoles ; 1,0 éq.)
 Carbonate de césium (3,1 g ; 9,6 mmoles ; 1,5 éq.)
 3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénol (1,5 g ; 6,4 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / méthanol 95 / 5). Le 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (809 mg ; 14,1 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile blanche avec un rendement de 22%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,50 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

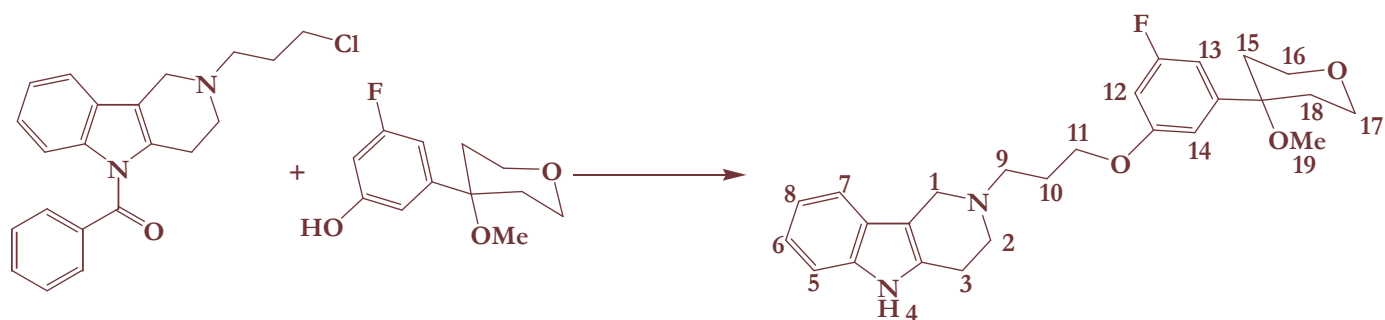
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3270	NH	UV (λ_{\max}) :	235 nm
	1460	Ø-OMe		
	1455	Ø-OMe		
	1076	Ø-F		

RMN ¹H (DMSO-*d*₆)

δ = 1,87 (m, 4H, H₁₅, H₁₈), 2,31 (m, 2H, H₁₀), 2,89 (s, 3H, H₁₉), 3,36 (m, 2H, H₃), 3,65 (m, 8H, H₂, H₉, H₁₆, H₁₇), 3,74 (m, 1H, H₁), 3,79 (s, 3H, H₈), 3,88 (m, 1H, H₁), 4,14 (m, 2H, H₁₁), 6,78 (m, 3H, H₁₂, H₁₃, H₁₄), 6,92 (dd, $J = 8,8$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, H₆), 7,54 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H, H₅), 7,61 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H₇), 10,05 (sl, 1H, H₄)

Synthèse du 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 44



Alkylation B :

5-benzoyl-2-(3-Chloropropyl)- 2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole

(960 mg ; 2,7 mmoles ; 1,0 éq.)

Carbonate de césium

(874 mg ; 2,7 mmoles ; 1,0 éq.)

3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénol

(607 mg ; 2,7 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / méthanol 95 / 5). Le 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (340 mg ; 0,8 mmole) est obtenu sous forme d'une huile blanche avec un rendement de 28%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,20 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

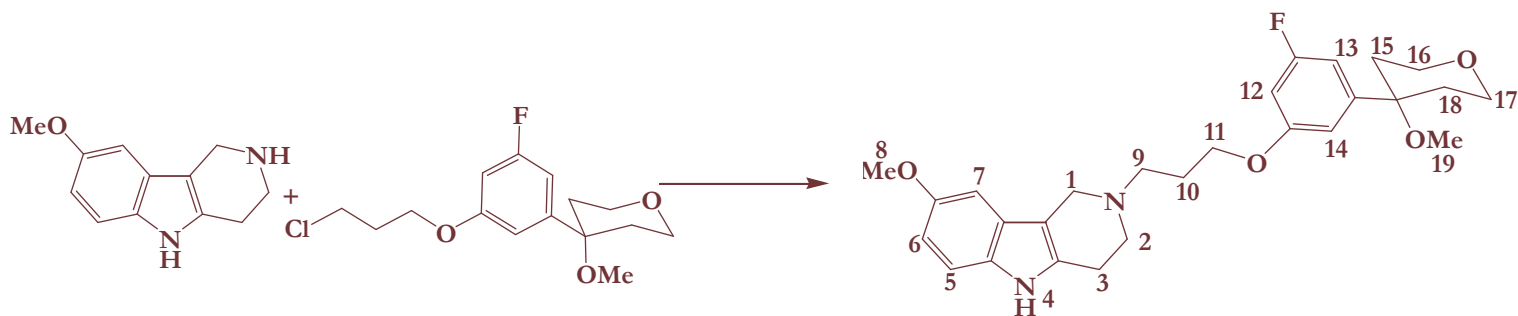
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3300	NH	UV (λ_{\max}) :	230 nm
	1460	Ø-OMe		
	1455	Ø-OMe		
	1072	Ø-F		

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,98 (m, 4H, H₁₅, H₁₈), 2,14 (m, 2H, H₁₀), 2,89 (m, 6H, H₂, H₃, H₉), 3,00 (s, 3H, H₁₉), 3,77 (m, 2H, H₁), 3,83 (m, 4H, H₁₆, H₁₇), 4,08 (m, 2H, H₁₁), 6,56 (ddd, $J = 11,0$ Hz, $J = 2,0$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, H₁₃), 6,71 (ddd, $J = 9,8$ Hz, $J = 1,8$ Hz, $J = 1,8$ Hz, 1H, H₁₂), 6,75 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H, H₁₄), 7,10 (m, 2H, H₆, H₇), 7,28 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H, H₈), 7,41 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H, H₅), 7,99 (sl, 1H, H₄)

Synthèse du 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 43



Alkylation C :

8-Méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(3,0 g ; 14,8 mmoles ; 1,0 éq.)
Carbonate de césium	(9,7 g ; 29,7 mmoles ; 2,0 éq.)
4-[3-(3-Chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -pyranne	(4,5 g ; 14,8 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / méthanol 9 / 1). Le 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (1,8 g ; 3,8 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile blanche avec un rendement de 22%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,50 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

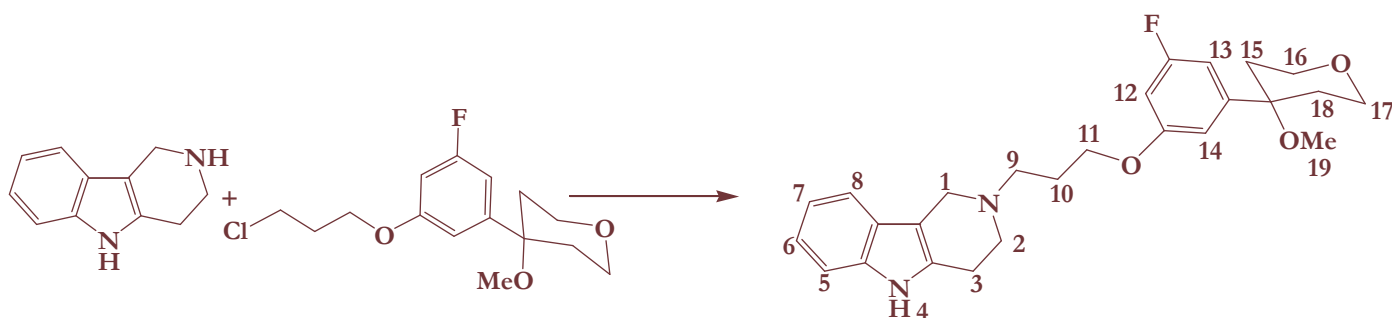
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3270	NH
	1460	Ø-OMe
	1455	Ø-OMe
	1076	Ø-F

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,36 min
m/e	469 (M+H) ⁺

Synthèse du 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 44



Alkylation C :

2,3,4,5-Tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(1,2 g ; 6,6 mmoles ; 1,0 éq.)
Carbonate de césium	(3,3 g ; 9,9 mmoles ; 1,5 éq.)
4-[3-(3-Chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -pyranne	(2,0 g ; 6,6 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1). Le 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (800 mg ; 1,9 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile blanche avec un rendement de 28 %.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,20 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

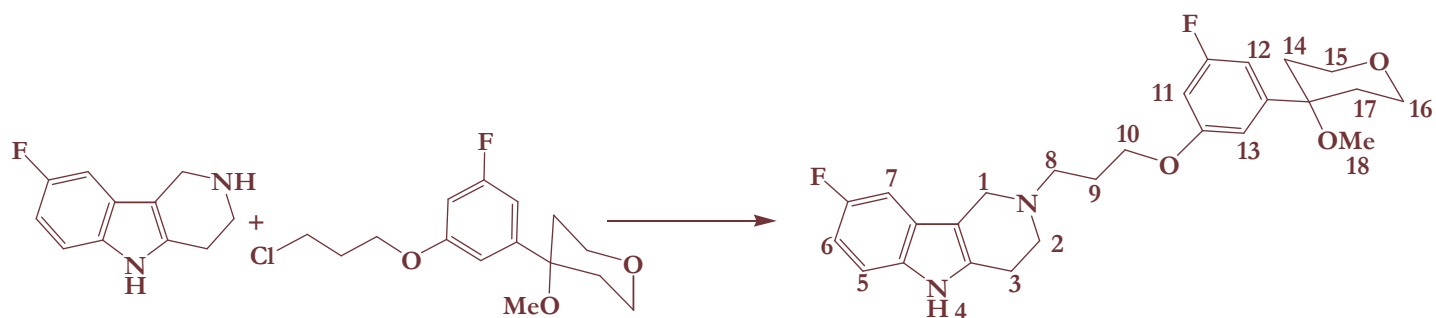
Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3300	NH
	1460	Ø-OMe
	1455	Ø-OMe
	1072	Ø-F

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,41 min
m/e	457 (M+H) ⁺

Synthèse du 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 53



Alkylation C :

8-Fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(2,8 g ; 14,8 mmoles ; 1,0 éq.)
Carbonate de césium	(6,5 g ; 20,0 mmoles ; 2,0 éq.)
4-[3-(3-Chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -pyranne	(4,5 g ; 14,8 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : Chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1) pour conduire à une huile qui est filtrée puis séchée. Le 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-fluoro-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (770 mg ; 1,7 mmoles) est obtenu sous forme d'une huile marron avec un rendement de 13%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,40 (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1)

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3303	NH	UV (λ_{\max}) :	265 nm
	1079	Ø-F		

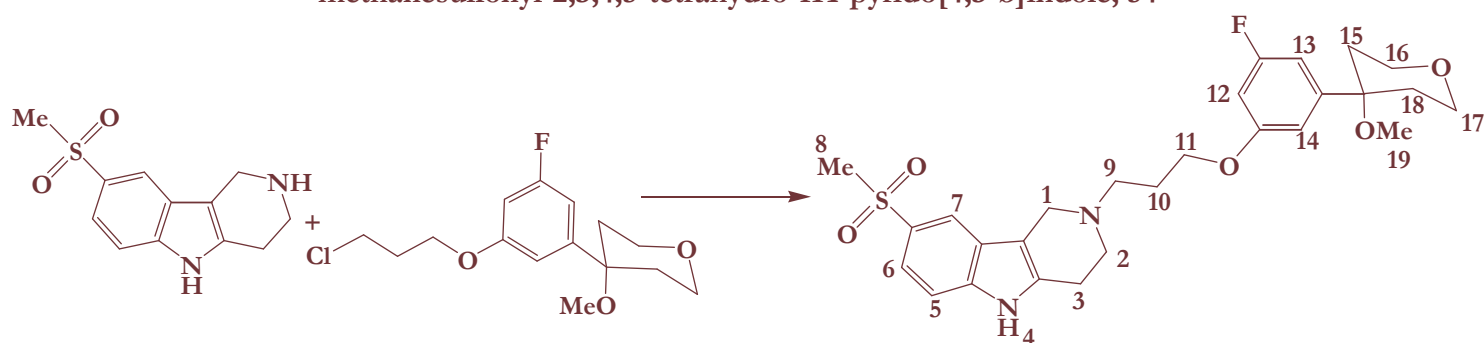
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,89 (m, 1H, H₃), 1,94 (m, 4H, H₁₄, H₁₇), 2,07 (m, 1H, H_{3'}), 2,15 (m, 2H, H₉), 2,85 (m, 2H, H₈), 2,91 (m, 2H, H₂), 3,00 (s, 3H, H₁₈), 3,72 (m, 2H, H₁), 3,83 (m, 4H, H₁₅, H₁₆), 4,08 (m, 2H, H₁₀), 6,56 (ddd, $J = 10,4$ Hz, $J = 2,1$ Hz, $J = 2,1$ Hz, 1H, H₁₂), 6,70 (dd, $J = 10,0$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, H₁₁), 6,74 (m, 1H, H₁₃), 6,84 (ddd, $J = 10,2$ Hz, $J = 9,3$ Hz, $J = 2,3$ Hz, 1H, H₆), 7,04 (dd, $J = 9,6$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, H₇), 7,15 (dd, $J = 8,4$ Hz, $J = 4,3$ Hz, 1H, H₅), 8,15 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,27 min
m/e	457 (M+H) ⁺

Synthèse du 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 54



Alkylation C :

8-Méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (2,4 g ; 9,6 mmoles ; 1,0 éq.)
 Carbonate de césium (8,3 g ; 25,4 mmoles ; 2,6 éq.)
 4-[3-(3-Chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4*H*-pyranne (7,7 g ; 25,4 mmoles ; 2,6 éq.)

Purification : Chromatographie sur colonne de silice (acétate d'éthyle / éthanol 8 / 2).
 Le 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (500 mg ; 0,9 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre jaune avec un rendement de 9%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,39 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 223°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	3333	NH	UV (λ_{\max}) :	240 nm
	1460	Ø-OMe		
	1300	SO ₂ Me		
	1140	SO ₂ Me		
	1073	Ø-F		

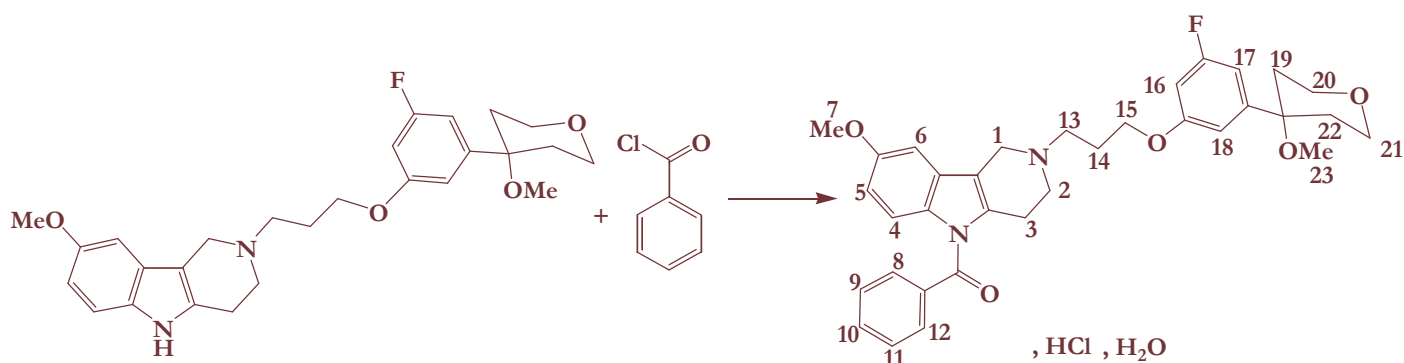
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,94 (m, 4H, H₁₅, H₁₈), 2,14 (m, 2H, H₁₀), 2,86 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H, H₉), 2,96 (m, 4H, H₂, H₃), 3,01 (s, 3H, H₁₉), 3,09 (s, 3H, H₈), 3,78 (s, 2H, H₁), 3,84 (m, 4H, H₁₆, H₁₇), 4,11 (t, *J* = 7,0 Hz, 2H, H₁₁), 6,57 (ddd, *J* = 10,5 Hz, *J* = 2,3 Hz, *J* = 2,2 Hz, 1H, H₁₃), 6,71 (ddd, *J* = 9,9 Hz, *J* = 2,2 Hz, *J* = 2,2 Hz, 1H, H₁₂), 6,76 (dd, *J* = 2,3 Hz, *J* = 1,9 Hz, 1H, H₁₄), 7,43 (dd, *J* = 8,5 Hz, *J* = 0,5 Hz, 1H, H₅), 7,68 (dd, *J* = 8,5 Hz, *J* = 1,8 Hz, 1H, H₆), 8,07 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H, H₇), 8,29 (sl, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,17 min
m/e	517 (M+H) ⁺
	485 (M+H-MeOH) ⁺

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 45



Hydruide de sodium 60%	(23 mg ; 0,6 mmole ; 1,0 éq.)
2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(270 mg ; 0,6 mmole ; 1,0 éq.)
Chlorure de benzoyle	(67 μ l ; 0,6 mmole ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle obtenue est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (75 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du dichlorométhane (5 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition lente d'une solution d'éther diéthylique saturé en acide chlorhydrique (5 mL). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (10 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-benzoyl-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (200 mg ; 0,3 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre marron clair avec un rendement de 57%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,78 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 183°C

Solvant de recristallisation : isopropanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	2956	NH ⁺	UV (λ_{\max}) :	260 nm
	1678	C=O		
	1464	Ø-OMe		

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,92 (m, 4H, H₁₉, H₂₂), 2,62 (m, 2H, H₁₄), 2,99 (s, 3H, H₂₃), 3,00 (m, 1H, H₃), 3,25 (m, 3H, H₃, H₁₃), 3,47 (m, 4H, H₂₀, H₂₁), 3,70 (m, 1H, H₂), 3,84 (s, 3H, H₇), 3,90 (m, 1H, H₂), 4,14 (m, 2H, H₁₅), 4,15 (m, 1H, H₁), 4,85 (m, 1H, H₁), 6,53 (m, 1H, H₁₇), 6,74 (m, 4H, H₅, H₆, H₁₆, H₁₈), 6,91 (d, J = 8,9 Hz, 1H, H₄), 7,56 (t, J = 7,7 Hz, 1H, H₁₀), 7,63 à 7,73 (m, 4H, H₈, H₉, H₁₁, H₁₂), 13,40 (sl, 1H, NH⁺)

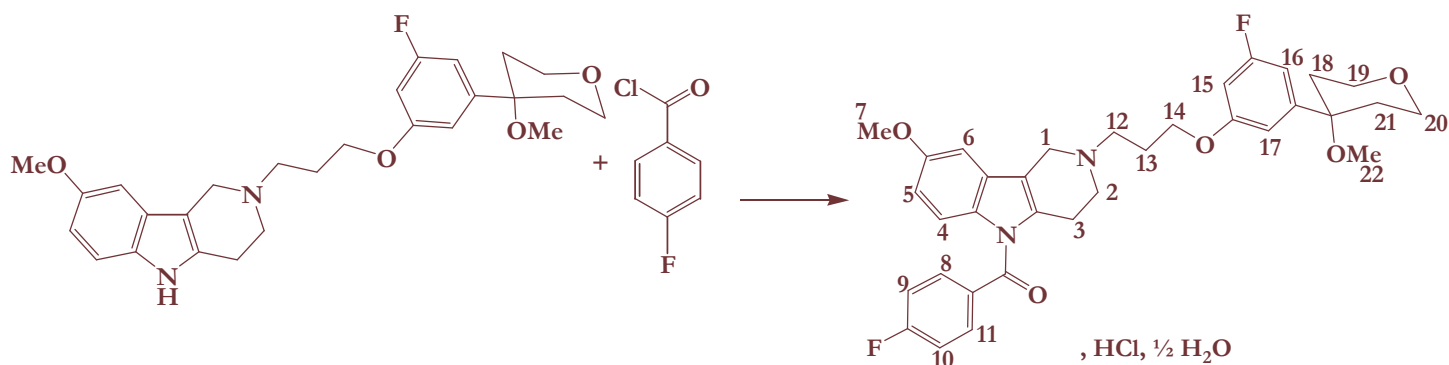
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,60 min
m/e	573 (M+H) ⁺
pureté	95%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₇FN₂O₅ · HCl · H₂O 627,14 g/mol

	C	H	N
% théorique	65,12	6,43	4,47
% expérimental	64,99	6,21	4,45

Synthèse du chlorhydrate de 5-(4-fluorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxy-tétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 58



Hydruide de sodium 60%	(50 mg ; 1,1 mmoles ; 1,0 éq.)
2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(500 g ; 1,1 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorure de 4-fluorobenzoyl	(128 μ L ; 1,1 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle obtenue est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh(acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (20 μ L ; 0,1 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-(4-fluorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (70 mg ; 0,1 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre marron avec un rendement de 11%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,69 (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1)

Point de fusion : 177°C

Solvant de recristallisation : isopropanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 2946
1679

NH⁺
C=O

UV (λ_{\max}) : 230 nm

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,88 (m, 4H, H₁₈, H₂₁), 2,35 (m, 2H, H₁₃), 2,82 (m, 1H, H₃), 2,91 (s, 3H, H₂₂), 3,09 (m, 1H, H₃), 3,37 (m, 1H, H₂), 3,44 (m, 2H, H₁₂), 3,68 (m, 4H, H₁₉, H₂₀), 3,76 (m, 1H, H₂), 3,80 (s, 3H, H₇), 4,16 (m, 2H, H₁₄), 4,33 (m, 1H, H₁), 4,75 (m, 1H, H₁), 5,72 (sl, 1H, NH⁺), 6,82 (m, 4H, H₅, H₁₅, H₁₆, H₁₇), 7,18 (d, J = 9,1 Hz, 1H, H₄), 7,19 (d, J = 2,0 Hz, 1H, H₆), 7,44 (dd, J = 8,7 Hz, J = 8,5 Hz, 2H, H₉, H₁₀), 7,72 (dd, J = 8,3 Hz, J = 5,3 Hz, 2H, H₈, H₁₁)

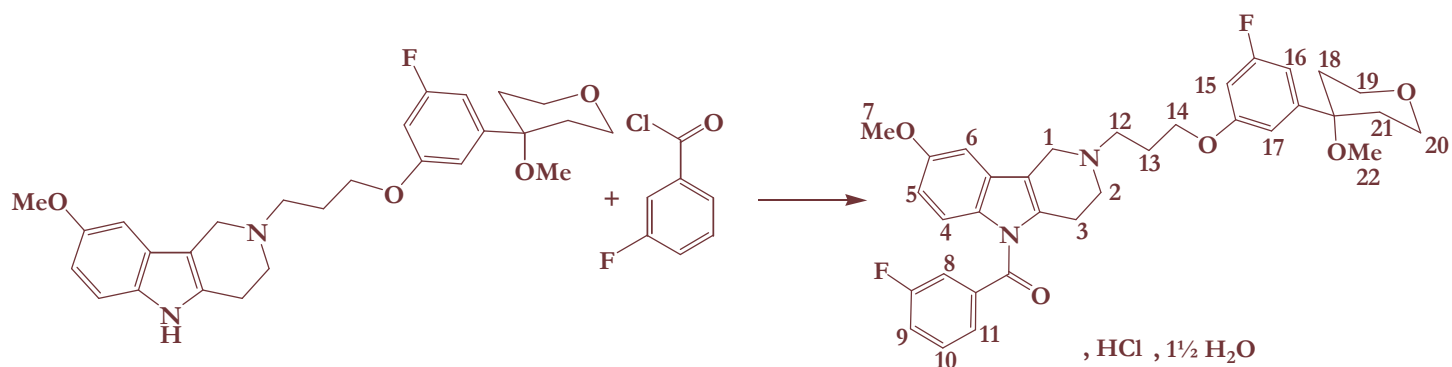
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,72 min
m/e	591 (M+H) ⁺
pureté	95%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₆F₂N₂O₅ · HCl · ½ H₂O 636,12 g/mol

	C	H	N
% théorique	64,23	5,82	4,41
% expérimental	64,05	6,13	4,51

Synthèse du chlorhydrate de 5-(3-fluorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 57



Hydruure de sodium 60%	(70 mg ; 1,7 mmoles ; 1,0 éq.)
2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole	(800 mg ; 1,7 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorure de 3-fluorobenzoyle	(416,5 μ L ; 3,4 mmoles ; 2,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle obtenue est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (dichlorométhane / acétate d'éthyle 6 / 4) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (48 μ L ; 0,2 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-(3-fluorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (110 mg ; 0,2 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre marron avec un rendement de 10%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,62 (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1)

Point de fusion : 213 °C

Solvant de recristallisation : isopropanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 2954
1687

NH⁺
C=O

UV (λ_{\max}) : 260 nm

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,87 (m, 4H, H₁₈, H₂₁), 2,34 (m, 2H, H₁₃), 2,85 (m, 1H, H₃), 2,90 (s, 3H, H₂₂), 3,08 (m, 1H, H₃), 3,36 (m, 2H, H₁₂), 3,67 (m, 1H, H₂), 3,68 (m, 4H, H₁₉, H₂₀), 3,79 (s, 3H, H₇), 3,87 (m, 1H, H₂) 4,15 (m, 2H, H₁₄), 4,33 (m, 1H, H₁), 4,70 (m, 1H, H₁), 6,81 (m, 4H, H₅, H₁₅, H₁₆, H₁₇), 7,13 (d, J = 9,0 Hz, 1H, H₄), 7,19 (m, 1H, H₆), 7,56 (m, 4H, H₈, H₉, H₁₀, H₁₁), 11,33 (sl, 1H, NH⁺)

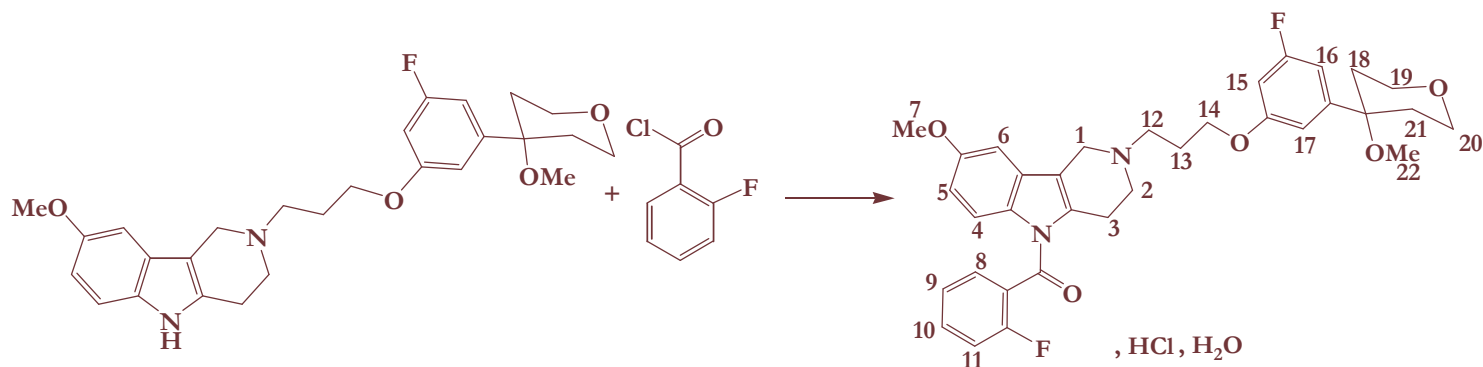
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,70 min
m/e	591 (M+H) ⁺
pureté	100%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₆ClF₂N₂O₅ · HCl · 1½ H₂O 654,13 g/mol

	C	H	N
% théorique	62,37	6,11	4,28
% expérimental	62,36	6,18	4,09

Synthèse du chlorhydrate de 5-(2-fluorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxy tétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 56



Hydruide de sodium 60% (77 mg ; 1,7 mmoles ; 1,0 éq.)
 2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (800 mg ; 1,7 mmoles ; 1,0 éq.)
 Chlorure de 2-fluorobenzoyl (205 µl ; 1,7 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle obtenue est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (dichlorométhane / acétate d'éthyle 6 / 4) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (136 µL ; 0,3 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-5-(2-fluorobenzoyl)-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (160 mg ; 0,3 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 16%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,81 (acétate d'éthyle / éthanol 8 / 2)
Point de fusion > 230°C
Solvant de recristallisation : isopropanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 2930 NH⁺ **UV** (λ_{\max}) : 260 nm
 1676 C=O

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,87 (m, 4H, H₁₈, H₂₁), 2,31 (m, 2H, H₁₃), (m, 1H, H₃), 2,90 (s, 3H, H₂₂), 2,97 (m, 1H, H₃), 3,42 (m, 2H, H₁₂), 3,65 (m, 1H, H₂), 3,66 (m, 4H, H₁₉, H₂₀), 3,75 (m, 1H, H₂), 3,79 (s, 3H, H₇), 4,15 (m, 2H, H₁₄), 4,33 (m, 1H, H₁), 4,71 (m, 1H, H₁), 6,82 (m, 3H, H₁₅, H₁₆, H₁₇), 6,85 (dd, J = 9,3 Hz, J = 2,6 Hz, 1H, H₅), 7,19 (m, 2H, H₆, H₈), 7,46 (m, 2H, H₁₀, H₁₁), 7,73 (m, 2H, H₄, H₉), 10,72 (sl, 1H, NH⁺)

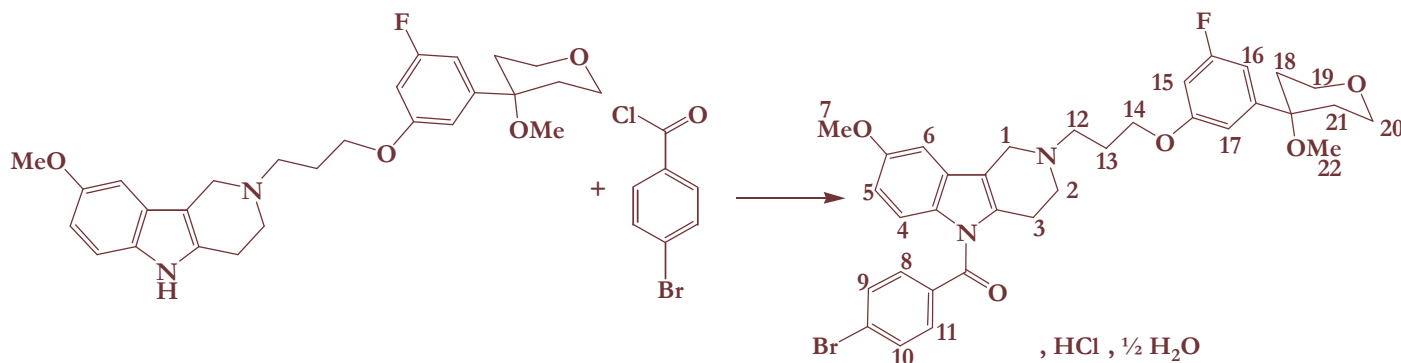
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,74 min
m/e	591 (M+H) ⁺
pureté	100%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₆F₂N₂O₅ · HCl · H₂O 645,13 g/mol

	C	H	N
% théorique	63,30	6,09	4,34
% expérimental	63,21	6,11	4,32

Synthèse du chlorhydrate de 5-(4-bromobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxy tétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 61



Hydruide de sodium 60% (60 mg ; 1,3 mmoles ; 1,0 éq.)
 2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (600 mg ; 1,3 mmoles ; 1,0 éq.)
 Chlorure de 4-bromobenzoyl (281 mg ; 1,3 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle obtenue est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (dichlorométhane / acétate d'éthyle 1 / 9) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (60 µL ; 0,3 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-(4-bromobenzoyl)-2-{3-3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (180 mg ; 0,3 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre marron clair avec un rendement de 20%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,53 (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1)

Point de fusion : 165°C

Solvant de recristallisation : isopropanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 2954 NH⁺ **UV** (λ_{\max}) : 255 nm
 1700 C=O

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,88 (m, 4H, H₁₈, H₂₁), 2,35 (m, 2H, H₁₃), 2,81 (m, 1H, H₃), 2,81 (s, 3H, H₂₂), 3,10 (m, 1H, H₃), 3,30 (m, 1H, H₂), 3,37 (m, 2H, H₁₂), 3,64 (m, 4H, H₁₉, H₂₀), 3,90 (m, 1H, H₂), 3,80 (s, 3H, H₇), 4,16 (m, 2H, H₁₄), 4,33 (m, 1H, H₁), 4,71 (m, 1H, H₁), 6,81 (m, 4H, H₅, H₁₅, H₁₆, H₁₇), 7,16 (m, 2H, H₄, H₆), 7,62 (d, J = 7,9 Hz, 2H, H₈, H₁₁), 7,81 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H₉, H₁₀), 11,32 (sl, 1H, NH⁺)

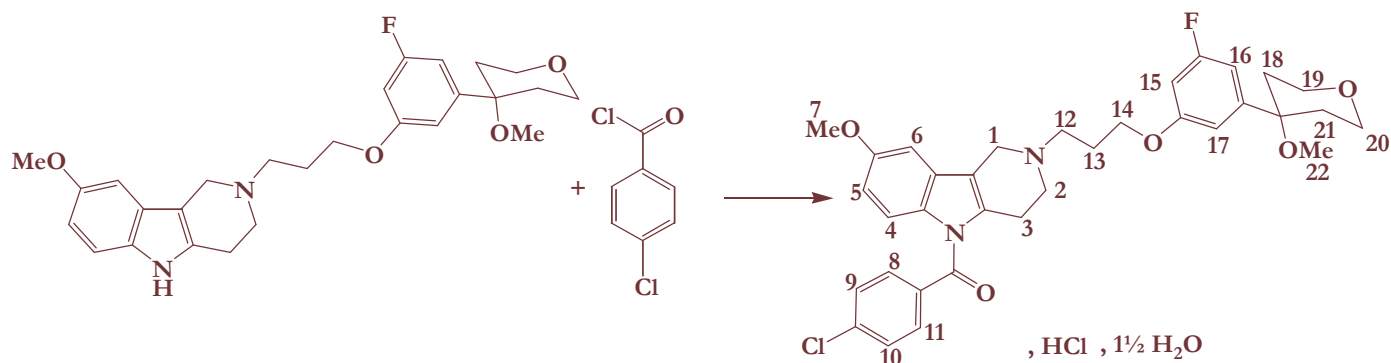
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,81 min
m/e	651 (M)
	653 (M+2)
pureté	95%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₆BrFN₂O₅ · HCl · ½ H₂O 697,02 g/mol

	C	H	N
% théorique	58,53	5,16	4,01
% expérimental	58,60	5,42	4,22

Synthèse du chlorhydrate de 5-(4-chlorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxy tétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 59



Hydruide de sodium 60%	(85 mg ; 2,1 mmoles ; 1,0 éq.)
2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(1,0 g ; 2,1 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorure de 4-chlorobenzoyl	(271 μ L ; 2,1 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle obtenue est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (dichlorométhane / méthanol 99 / 1) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (135 μ L ; 0,7 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-(4-chlorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (450 mg ; 0,7 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre marron clair avec un rendement de 33%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,67 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 172°C

Solvant de recristallisation : dichlorométhane / cyclohexane (1 / 1)

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	2948	NH ⁺	UV (λ_{\max}) :	255 nm
	1681	C=O		

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,93 (m, 4H, H₁₈, H₂₁), 2,60 (m, 2H, H₁₃), 2,90 (m, 1H, H₃), 2,98 (s, 3H, H₂₂), 3,16 (m, 1H, H₃), 3,42 (m, 2H, H₁₂), 3,60 (m, 1H, H₂), 3,65 (m, 4H, H₁₉, H₂₀), 3,83 (s, 3H, H₇), 3,90 (m, 1H, H₂), 4,07 (m, 2H, H₁₄), 4,20 (m, 1H, H₁), 4,78 (m, 1H, H₁), 6,50 (d, J = 9,3 Hz, 1H, H₁₆), 6,73 (m, 3H, H₅, H₁₅, H₁₇), 6,83 (m, 1H, H₆), 6,92 (d, J = 8,8 Hz, H₄), 7,51 (d, J = 7,8 Hz, H₈, H₁₁), 7,67 (d, J = 7,8 Hz, H₉, H₁₀), 13,24 (sl, 1H, NH⁺)

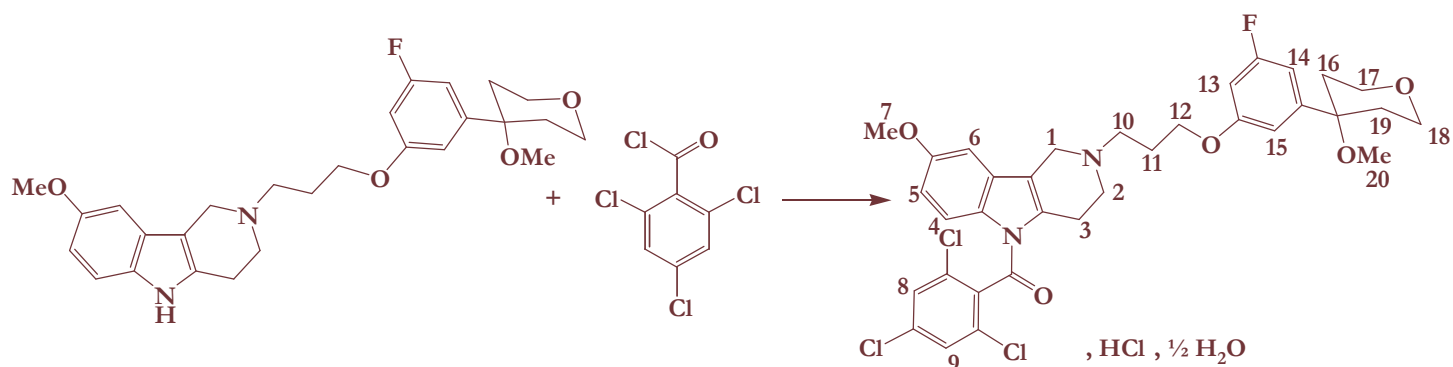
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,81 min
m/e	607 (M+H) ⁺
	609 (M+H+2) ⁺
pureté	95%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₆ClFN₂O₅ · HCl · 1½ H₂O 670,59 g/mol

	C	H	N
% théorique	60,84	5,96	4,17
% expérimental	60,95	5,99	4,37

Synthèse du chlorhydrate de 5-(2,4,6-trichlorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 60



Hydruide de sodium 60%	(85 mg ; 2,1 mmoles ; 1,0 éq.)
2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(1,0 g ; 2,1 mmoles ; 1,0 éq.)
Chlorure de 2,4,6-trichlorobenzoyl	(667 μ L ; 4,3 mmoles ; 2,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (dichlorométhane / acétate d'éthyle 2 / 8) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (210 μ L ; 1,0 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-(2,4,6-trichlorobenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (710 mg ; 1,0 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre marron clair avec un rendement de 50%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,80 (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : isopropanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	2954	NH ⁺	UV (λ_{\max}) :	255 nm
	1700	C=O		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,86 (m, 4H, H₁₆, H₁₉), 2,30 (m, 2H, H₁₁), 2,70 (m, 1H, H₃), 2,89 (s, 3H, H₂₀), 3,17 (m, 1H, H₃), 3,59 (m, 2H, H₁₀), 3,67 (m, 4H, H₁₇, H₁₈), 3,76 (m, 2H, H₂), 3,83 (s, 3H, H₇), 4,15 (m, 2H, H₁₂), 4,36 (m, 1H, H₁), 4,67 (m, 1H, H₁), 6,77 (m, 3H, H₁₃, H₁₄, H₁₅), 7,05 (d, J = 9,1 Hz, 1H, H₅), 7,22 (m, 1H, H₆), 7,99 (d, J = 1,7 Hz, 1H, H₈), 8,05 (d, J = 1,7 Hz, 1H, H₉), 8,39 (d, J = 9,0 Hz, 1H, H₄), 11,19 (sl, 1H, NH⁺)

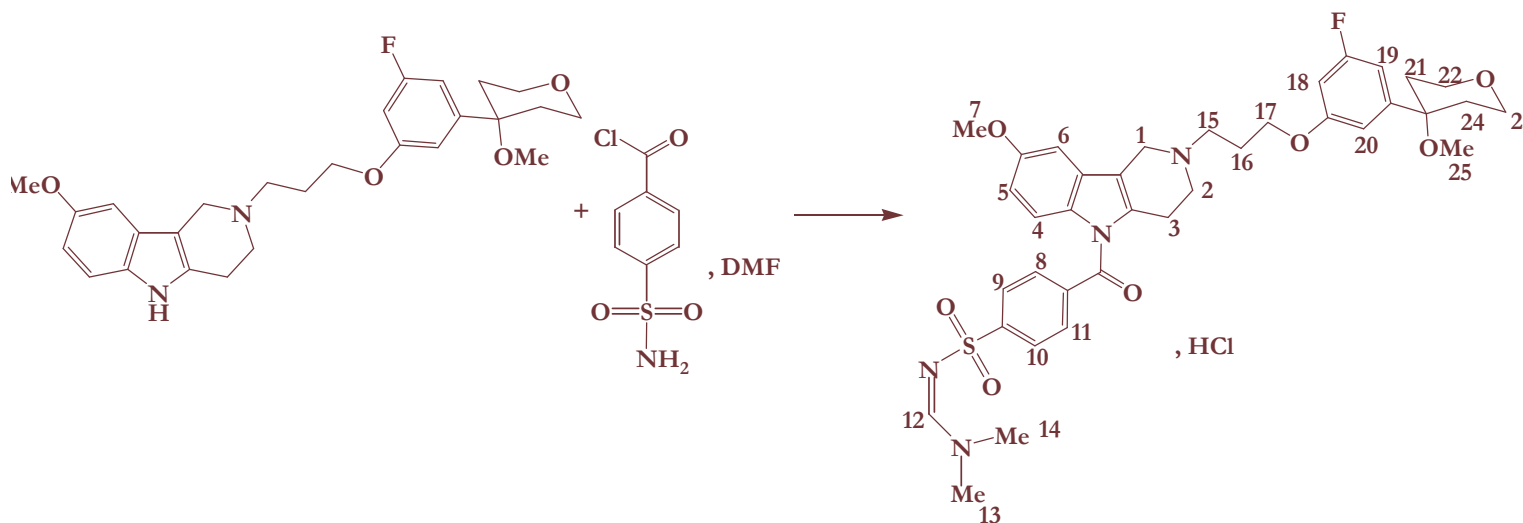
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,93 min
m/e	675 (M+H) ⁺ 677 (M+H+2) ⁺
pureté	95%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₄Cl₃FN₂O₅ · HCl · ½ H₂O 721,46 g/mol

	C	H	N
% théorique	56,55	4,71	3,88
% expérimental	56,50	4,97	3,93

Synthèse du chlorhydrate de 5-(4-diméthylaminométhylènesulfonylbenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 62



Hydruide de sodium 60% (68 mg ; 1,7 mmoles ; 1,0 équ.)
 2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (800 mg ; 1,7 mmoles ; 1,0 équ.)
 Chlorure de 4-sulfaminobenzoyle en complexe avec le DMF (750 mg ; 2,6 mmoles ; 1,5 équ.)

Purification : L'huile résiduelle est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (85 µL ; 0,4 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché . Le chlorhydrate de 5-(4-diméthylaminométhylènesulfonylbenzoyl)-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (300 mg ; 0,4 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre marron avec un rendement de 24%.

Caractérisation du produit sous forme base

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,46 (acétate d'éthyle / éthanol 8 / 2)

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	1625	C=O
	1340	SO ₂ NR ₂
	1149	SO ₂ NR ₂

RMN ^1H (CDCl_3)

δ = 1,93 (m, 4H, H_{21} , H_{24}), 2,11 (m, 2H, H_{16}), 2,59 (t, J = 5,0 Hz, 2H, H_{15}), 2,73 (t, J = 5,7 Hz, 2H, H_3), 2,80 (t, J = 7,2 Hz, 2H, H_2), 3,00 (s, 3H, H_{25}), 3,06 (s, 3H, H_{13}), 3,18 (s, 3H, H_{14}), 3,67 (m, 1H, H_1), 3,83 (m, 7H, H_7 , H_{22} , H_{23}), 4,07 (t, J = 6,2 Hz, 2H, H_{17}), 6,56 (ddd, J = 10,4 Hz, J = 2,2 Hz, J = 2,1 Hz, 1H, H_{19}), 6,70 (ddd, J = 9,8 Hz, J = 1,8 Hz, J = 1,6 Hz, H_{18}), 6,75 (d, J = 2,2 Hz, H_{16}), 6,77 (dd, J = 8,6 Hz, 1H, H_5), 6,81 (d, J = 2,2 Hz, 1H, H_4), 7,74 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H_8 , H_{11}), 8,01 (d, J = 8,1 Hz, 2H, H_9 , H_{10}), 8,17 (s, 1H, H_{12})

Caractérisation du produit sous forme chlorhydrate

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,36 (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1)

Point de fusion > 230°C

Données spectrales :

IR (ν_{max}) :	1625	C=O	UV (λ_{max}) :	235 nm
	1340	SO_2NR_2		
	1149	SO_2NR_2		

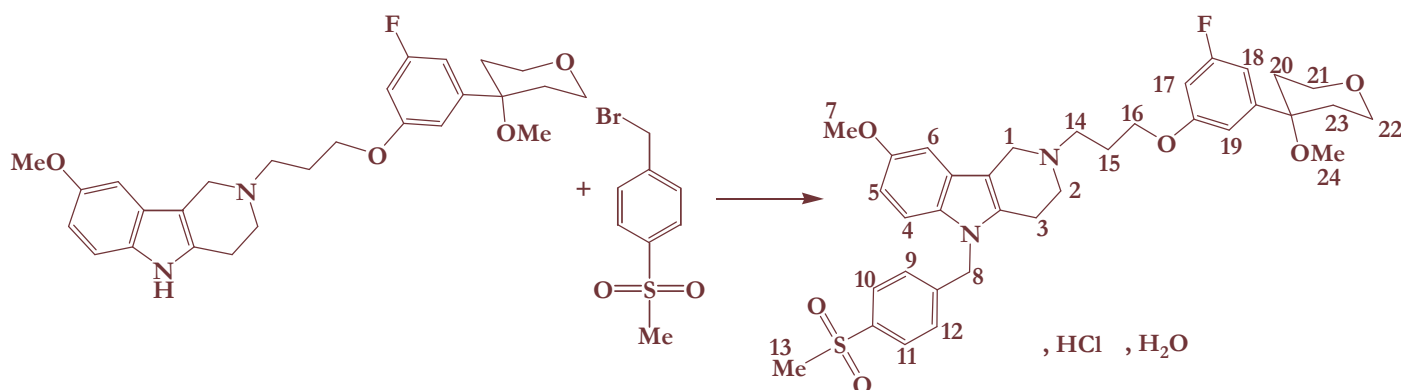
RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$)

δ = 1,88 (m, 4H, H_{21} , H_{24}), 2,34 (m, 2H, H_{16}), 2,83 (m, 1H, H_3), 2,92 (s, 3H, H_{25}), 2,96 (s, 3H, H_{13}), 3,05 (m, 1H, H_3), 3,19 (s, 3H, H_{14}), 3,32 (m, 1H, H_2), 3,38 (m, 4H, H_{22} , H_{23}), 3,44 (m, 2H, H_{15}), 3,76 (m, 1H, H_2), 3,81 (s, 3H, H_7), 4,16 (m, 2H, H_{17}), 4,32 (m, 1H, H_1), 4,73 (m, 1H, H_1), 6,80 (m, 3H, H_{18} , H_{19} , H_{20}), 6,54 (d, J = 9,4 Hz, 1H, H_5), 7,19 (m, 2H, H_4 , H_6), 7,82 (d, J = 8,2 Hz, 1H, H_8 , H_{11}), 7,97 (d, J = 8,2 Hz, 1H, H_9 , H_{10}), 8,30 (s, 1H, H_{12}), 11,09 (sl, 1H, NH^+)

LC-MS (APCI $^+$) :

tr	3,49 min
m/e	707 (M+H) $^+$
pureté	95%

Synthèse du chlorhydrate de 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-5-(4-méthanesulfonylbenzyl)-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 63



Hydruide de sodium 60% (43 mg ; 1,1 mmoles ; 1,0 équ.)
 2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (500 mg ; 1,1 mmoles ; 1,0 équ.)
 Bromure de 4-méthanesulfonylbenzyle (266 mg ; 1,1 mmoles ; 1,0 équ.)

Purification : L'huile résiduelle est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (dichlorométhane / acétate d'éthyle 2 / 8) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (78 µL ; 0,4 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé aux ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-5-(4-méthanesulfonylbenzyl)-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (262 mg ; 0,4 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 36%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,53 (acétate d'éthyle / éthanol 8 / 2)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 2954 NH⁺
 1310 SO₂Me
 1146 SO₂Me

UV (λ_{\max}) : 235 nm

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,86 (m, 4H, H₂₀, H₂₃), 2,27 (m, 2H, H₁₅), 2,72 (m, 1H, H₃), 2,89 (s, 3H, H₂₄), 3,09 (m, 1H, H₃), 3,17 (s, 3H, H₁₃), 3,45 (m, 2H, H₁₄), 3,46 (m, 1H, H₂), 3,67 (m, 4H, H₂₁, H₂₂), 3,76 (s, 3H, H₇), 3,87 (m, 1H, H₂), 4,14 (t, J = 5,0 Hz, 2H, H₁₀), 4,33 (m, 1H, H₁), 4,75 (m, 1H, H₁), 5,52 (q, J_{AB} = 17,5 Hz, 2H, H₈), 6,78 (m, 4H, H₅, H₁₇, H₁₈, H₁₉), 7,09 (d, J = 2,3 Hz, 1H, H₆), 7,27 (d, J = 8,2 Hz, 2H, H₉, H₁₂), 7,37 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H₄), 7,85 (d, J = 8,2 Hz, 2H, H₁₀, H₁₁), 10,10 (sl, 1H, NH⁺)

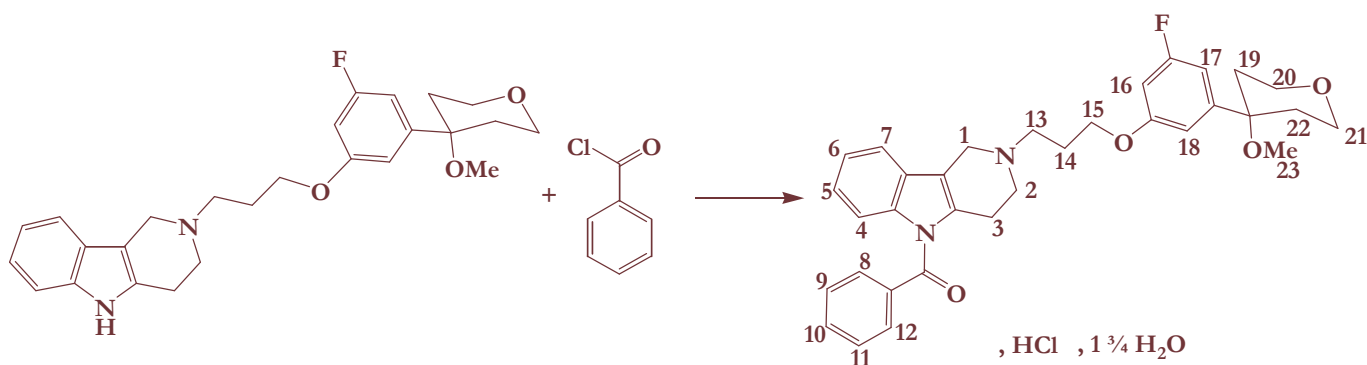
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,51 min
m/e	637 (M+H) ⁺
pureté	96%

Analyse élémentaire : C₃₅H₄₁FN₂O₆S. HCl. H₂O 691,25 g/mol

	C	H	N
% théorique	60,81	6,42	4,05
% expérimental	60,45	6,32	3,94

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 46



Hydruure de sodium 60%	(15 mg ; 0,4 mmole ; 1,0 éq.)
2-{3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4 <i>H</i> -4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1 <i>H</i> -pyrido[4,3- <i>b</i>]indole	(160 mg ; 0,4 mmole ; 1,0 éq.)
Chlorure de benzoyle	(43 μ L ; 0,4 mmole ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle obtenue est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (75 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (dichlorométhane / acétate d'éthyle 5 / 5) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du dichlorométhane (5 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'éther diéthylique saturé en acide chlorhydrique anhydre (5 mL). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (10 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-benzoyl-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (104 mg ; 0,2 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre marron clair avec un rendement de 48%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,78 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 174°C

Solvant de recristallisation : dichlorométhane / éther diéthylique (5 / 5)

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	2976	NH ⁺	UV (λ_{\max}) :	250 nm
	1685	C=O		

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,92 (m, 4H, H₁₉, H₂₂), 2,64 (m, 2H, H₁₄), 2,99 (s, 3H, H₂₃), 3,25 (m, 1H, H₃), 3,45 (m, 2H, H₁₃), 3,58 (m, 1H, H_{3'}), 3,71 (m, 1H, H₂), 3,82 (m, 4H, H₂₀, H₂₁), 3,86 (m, 1H, H₂), 4,14 (m, 2H, H₁₅), 4,23 (m, 1H, H₁), 4,82 (m, 1H, H₁), 6,51 (ddd, J = 10,3 Hz, J = 2,1 Hz, J = 2,1 Hz, 1H, H₁₇), 6,71 (m, 1H, H₁₆), 6,73 (d, J = 2,1 Hz, 1H, H₁₈), 7,12 à 7,72 (m, 9H, H₄, H₅, H₆, H₇, H₈, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂), 13,35 (sl, 1H, NH⁺)

CLHP (Kromasil C18, H₂O 26% MeOH 74% TFA 0,1%, λ = 220 nm)

tr	7,62 min
pureté	90,0%

LC-MS (APCI⁺) :

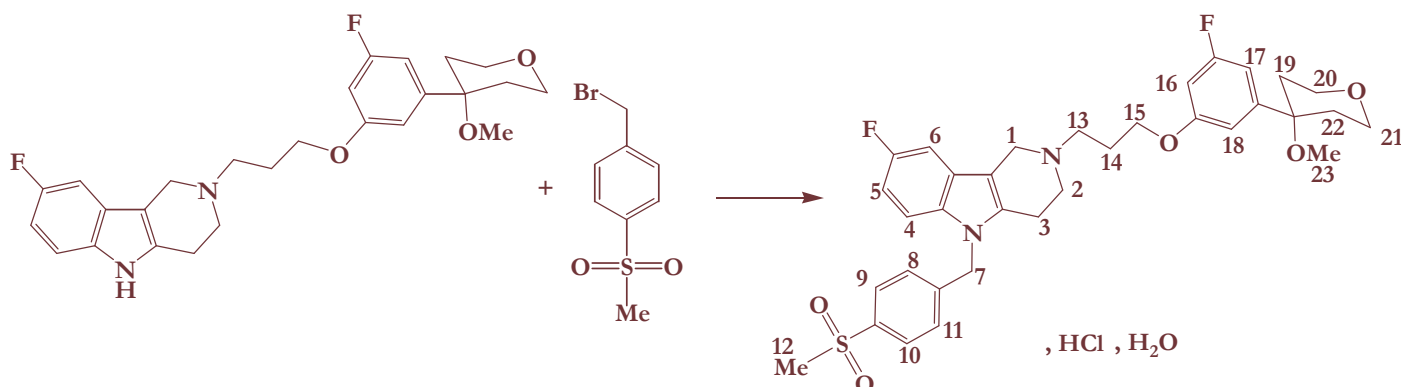
tr	3,62 min
m/e	543 (M+H) ⁺
pureté	100%

Analyse élémentaire : C₃₃H₃₅FN₂O₃. HCl. 1 ¾ H₂O 609,50 g/mol

	C	H	N
% théorique	64,97	6,19	4,59
% expérimental	64,93	6,15	4,85

La dégradation du produit dans le temps a été observée lors de l'analyse.

Synthèse du chlorhydrate de 8-fluoro-2-{-3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-5-(4-méthanesulfonylbenzyl)-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole, 64



Hydruide de sodium 60%	(42 mg ; 1,1 mmoles ; 1,0 éq.)
2-{-3-[3-Fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthoxy-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole	(500 mg ; 1,1 mmoles ; 1,0 éq.)
Bromure de 4-méthanesulfonylbenzyle	(259 mg ; 1,1 mmoles ; 1,0 éq.)

Purification : L'huile résiduelle obtenue est reprise dans le minimum d'acétone et cette solution est ajoutée lentement à une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (150 mL). Il se forme progressivement un précipité qui est laissé reposer pendant 14 heures. Après filtration, le brut est purifié par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (acétate d'éthyle / éthanol 95 / 5) pour conduire à une solution qui est ensuite diluée dans du chloroforme (10 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (62 µL ; 0,3 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (20 mL) pour former un solide qui est dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 8-fluoro-2-{-3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4H-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-5-(4-méthanesulfonylbenzyl)-2,3,4,5-tétrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole (204 g ; 0,3 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 30%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,37 (acétate d'éthyle / éthanol 8 / 2)

Point de fusion > 230°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	1306	SO ₂ Me	UV (λ_{\max}) :	270 nm
	1149	SO ₂ Me		
	1070	Ø-F		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,86 (m, 4H, H₁₉, H₂₂), 2,29 (m, 2H, H₁₄), 2,72 (m, 1H, H₃), 2,89 (s, 3H, H₂₃), 3,12 (m, 1H, H₃), 3,17 (s, 3H, H₁₂), 3,44 (m, 2H, H₁₃), 3,63 (m, 1H, H₂), 3,66 (m, 4H, H₂₀, H₂₁), 3,88 (m, 1H, H₂), 4,15 (m, 2H, H₁₅), 4,33 (m, 1H, H₁), 4,75 (m, 1H, H₁₇), 5,57 (q, J_{AB} = 17,0 Hz, 2H, H₇), 6,77 (m, 3H, H₁₆, H₁₇, H₁₈), 7,01 (dd, J = 8,8 Hz, J = 8,5 Hz, 1H, H₅), 7,28 (d, J = 8,2 Hz, 2H, H₈, H₁₁), 7,38 (dd, J = 9,9 Hz, J = 2,5 Hz, 1H, H₆), 7,50 (dd, J = 8,6 Hz, J = 4,2 Hz, 1H, H₄), 7,86 (d, J = 8,2 Hz, 2H, H₉, H₁₀), 10,31 (sl, 1H, NH⁺)

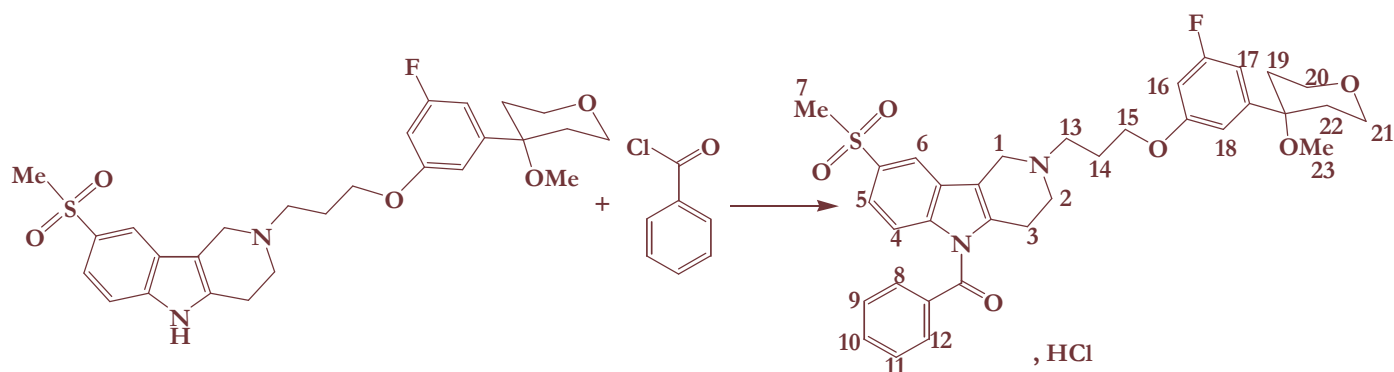
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,48 min
m/e	625 (M+H) ⁺
pureté	100%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₈F₂N₂O₅S. HCl. H₂O 679,21 g/mol

	C	H	N
% théorique	61,76	5,95	4,24
% expérimental	61,54	6,11	4,12

Synthèse du chlorhydrate de 5-benzoyl-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxy tétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 65



A une suspension de 4-diméthylaminopyridine (90 mg ; 0,7 mmole ; 1,0 éq.) à 0°C dans le DMF (5 mL) est ajoutée lentement une solution de 2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxy tétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (380 mg ; 0,7 mmole ; 1,0 éq.) préalablement dissous dans le DMF (5 mL). Puis l'hydrure de sodium 60% (30 mg ; 0,7 mmole ; 1,0 éq.) est ajouté. Le milieu est agité pendant 2 heures à 0°C et sous atmosphère inerte. Le chlorure de benzoyle (171 µL ; 1,5 mmoles ; 2,0 éq.) est additionné goutte à goutte à 0°C. Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante puis agité pendant 2 heures sous atmosphère inerte. Il est ensuite filtré et le filtrat est évaporé à sec. L'huile résiduelle obtenue est reprise dans l'acétate d'éthyle (10 mL) et cette solution est lavée par une solution aqueuse de carbonate de potassium 10% (15 mL). La phase aqueuse est ensuite extraite par de l'acétate d'éthyle (3 × 15 mL). La phase organique récoltée est séchée sur MgSO₄, filtrée puis évaporée à sec. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur gel de silice de granulométrie 230-400 mesh (acétate d'éthyle) pour conduire à une solution qui est filtrée puis portée à sec. L'huile récupérée est ensuite diluée dans du chloroforme (5 mL) puis transformée en chlorhydrate par addition d'une solution d'acide chlorhydrique dans l'isopropanol (5 - 6 M) (10 µL ; 0,3 mmole). Après 5 minutes d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé. L'huile récupérée est triturée dans de l'éther diéthylique (25 mL) pour former un solide qui est enfin dispersé par ultrasons pendant 30 minutes puis filtré et séché. Après recristallisation, le chlorhydrate de 5-benzoyl-2-{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (150 mg ; 0,2 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 31%.

Caractérisation du produit sous forme base

Caractéristiques physico-chimiques

Rapport frontal : 0,60 (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1)

Données spectrales :

IR (ν _{max}) :	1690	C=O
	1306	SO ₂ CH ₃
	1137	SO ₂ CH ₃
	1074	Ø-F

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,95 (m, 4H, H₁₉, H₂₂), 2,13 (m, 2H, H₁₄), 2,81 (m, 6H, H₂, H₃, H₁₃), 3,01 (s, 3H, H₂₃), 3,10 (s, 3H, H₇), 3,77 (m, 1H, H₁), 3,82 (m, 4H, H₂₀, H₂₁), 4,09 (t, J = 6,2 Hz, H₁₅), 6,58 (ddd, J = 10,4 Hz, J = 2,2 Hz, J = 2,2 Hz, 1H, H₁₇), 6,71 (ddd, J = 9,9 Hz, J = 2,2 Hz, J = 2,2 Hz, 1H, H₁₈), 6,75 (dd, J = 2,1 Hz, J = 2,0 Hz, 1H, H₁₆), 7,50 (m, 3H, H₄, H₈, H₁₂), 7,67 (m, 4H, H₅, H₉, H₁₀, H₁₁), 8,03 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H₆)

Caractérisation du produit sous forme chlorhydrate

Caractéristiques physico-chimiques

Rapport frontal : 0,49 (acétate d'éthyle / éthanol 9 / 1)

Point de fusion : °C

Solvant de recristallisation : acétonitrile

Données spectrales :

IR (ν _{max}) :	3441	NH ⁺		
	1695	C=O		
	1303	SO ₂ CH ₃	UV (λ _{max}) :	250 nm
	1140	SO ₂ CH ₃		

RMN ¹H (DMSO-d₆)

δ = 1,88 (m, 4H, H₁₉, H₂₂), 2,35 (m, 2H, H₁₄), 2,90 (s, 3H, H₂₃), 2,96 (m, 1H, H₃), 3,16 (m, 1H, H₃), 3,22 (s, 3H, H₇), 3,35 (m, 1H, H₂), 3,46 (m, 2H, H₁₃), 3,68 (m, 4H, H₂₀, H₂₁), 3,78 (m, 1H, H₂), 4,14 (t, J = 5,6 Hz, H₁₅), 4,40 (m, 1H, H₁), 4,90 (m, 1H, H₁), 6,78 (m, 2H, H₁₇, H₁₈), 6,82 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H₁₆), 7,41 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H₄), 7,61 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H₁₂), 7,63 (d, J = 7,3 Hz, 1H, H₈), 7,75 (td, J = 9,1 Hz, J = 1,7 Hz, 4H, H₅, H₉, H₁₀, H₁₁), 8,30 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H₆), 11,05 (sl, 1H, NH⁺)

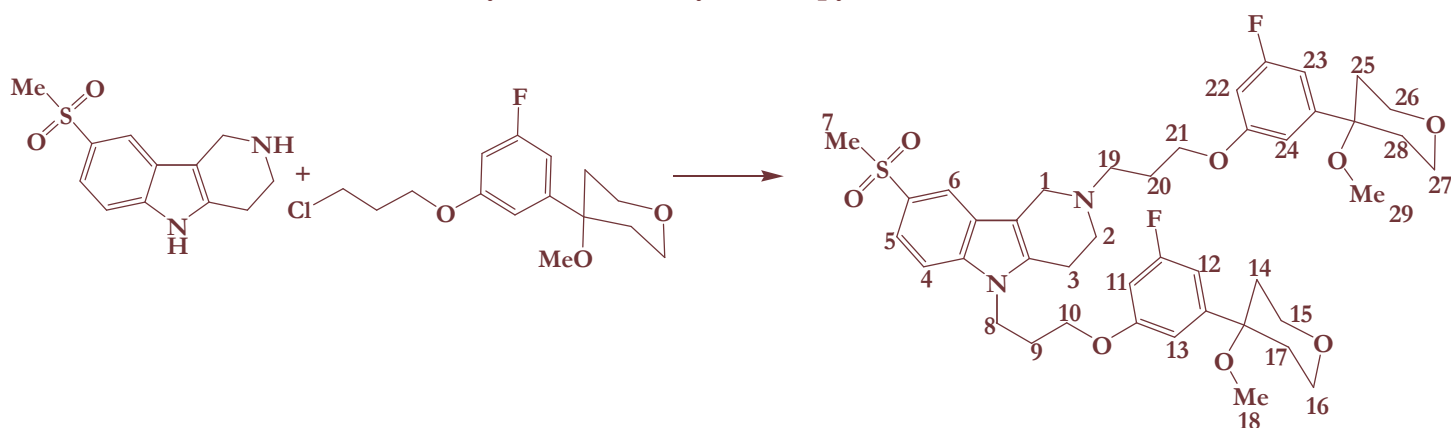
LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,21 min
m/e	621 (M+H) ⁺
	589 (M+H-MeOH) ⁺
pureté	100%

Analyse élémentaire : C₃₄H₃₇FN₂O₆S. HCl. H₂O 675,21 g/mol

	C	H	N
% théorique	60,48	5,97	4,15
% expérimental	60,50	5,95	4,13

Synthèse du 2,5-di{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 55



Alkylation C :

8-Méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (2,4 g ; 9,6 mmoles ; 1,0 éq.)
 Carbonate de césium (8,3 g ; 25,4 mmoles ; 2,6 éq.)
 4-[3-(3-Chloropropoxy)-5-fluorophényl]-4-méthoxytétrahydro-4*H*-pyranne (7,7 g ; 25,4 mmoles ; 2,6 éq.)

Purification : Chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle / éthanol 8 / 2).
 Après recristallisation, le 2,5-di{3-[3-fluoro-5-(4-méthoxytétrahydro-4*H*-4-pyranyl)phénoxy]propyl}-8-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (780 mg ; 1,0 mmole) est obtenu sous forme d'une poudre jaune avec un rendement de 10%.

Caractéristiques physico-chimiques :

Rapport frontal : 0,52 (acétate d'éthyle / éthanol 8 / 2)

Point de fusion : 223°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) :	1460	Ø-OMe	UV (λ_{\max}) :	245 nm
	1300	SO ₂ Me		
	1136	SO ₂ Me		
	1071	Ø-F		

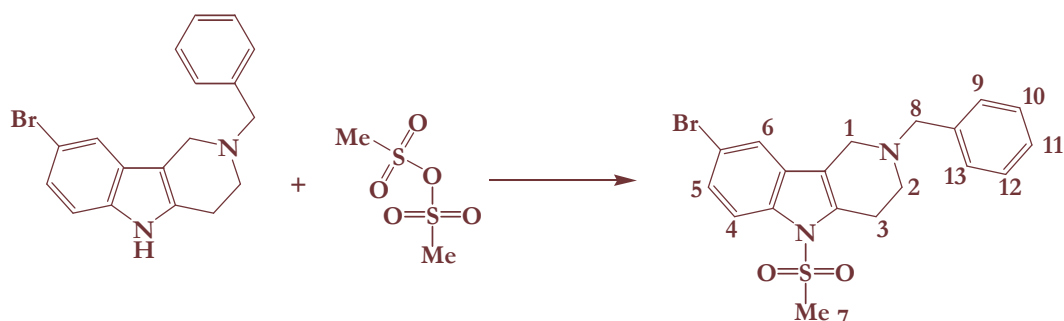
RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 1,94 (m, 8H, H₁₄, H₁₇, H₂₅, H₂₈), 2,12 (m, 2H, H₂₀), 2,25 (m, 2H, H₉), 2,83 (t, J = 7,3 Hz, 2H, H₁₉), 2,91 (m, 4H, H₂, H₃), 3,00 (s, 3H, H₂₉), 3,01 (s, 3H, H₁₈), 3,07 (s, 3H, H₇), 3,77 (s, 2H, H₁), 3,86 (m, 10H, H₈, H₁₅, H₁₆, H₂₆, H₂₇), 3,88 (t, J = 5,4 Hz, 2H, H₈), 4,08 (t, J = 6,4 Hz, 2H, H₂₁), 4,34 (t, J = 5,9 Hz, 2H, H₁₀), 6,57 (ddd, J = 10,5 Hz, J = 2,0 Hz, J = 2,3 Hz, 1H, H₁₂), 6,72 (m, 4H, H₁₁, H₁₃, H₂₂, H₂₄), 7,40 (d, J = 8,7 Hz, 1H, H₄), 7,68 (dd, J = 8,7 Hz, J = 1,8 Hz, 1H, H₆), 8,07 (d, J = 1,7 Hz, 1H, H₆), 8,29 (s, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,63 min
m/e	783 (M+H) ⁺
	751 (M+H-MeOH) ⁺
	719 (M+H-2 MeOH) ⁺
pureté	90%

Synthèse du 8-bromo-2-benzyl-5-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, 30



Le 2-benzyl-8-bromo-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (2,5 g ; 7,3 mmoles ; 1,0 équ.) est dissous dans le THF anhydre (25 mL) et mis sous agitation à -78°C sous atmosphère inerte. Le butyllithium (1,6 M dans l'hexane) (9,1 mL ; 14,6 mmoles ; 2,5 équ.) est ensuite additionné lentement. Après 40 minutes d'agitation, l'anhydride méthanesulfonique (2,5 g ; 14,6 mmoles ; 2,5 équ.) est ensuite ajouté par portions à -78°C. Après 1 heure, le milieu est ramené à température ambiante et l'agitation est continuée pendant 14 heures. Le solvant est ensuite évaporé et l'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur gel de silice (dichlorométhane / acétate d'éthyle 9 / 1) pour conduire à un solide qui est filtré puis séché. Après recristallisation, le 8-bromo-2-benzyl-5-méthanesulfonyl-2,3,4,5-tétrahydro-1*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (1,9 g ; 4,5 mmoles) est obtenu sous forme d'une poudre blanche avec un rendement de 62%.

Caractéristiques physico-chimiques

Rapport frontal : 0,87 (dichlorométhane / méthanol 9 / 1)

Point de fusion : 134°C

Solvant de recristallisation : éthanol

Données spectrales :

IR (ν_{\max}) : 1367 SO₂Me **UV** (λ_{\max}) : 235 nm

1163 SO₂Me

RMN ¹H (CDCl₃)

δ = 2,90 (t, J = 5,5 Hz, 2H, H₃), 3,01 (s, 3H, H₇), 3,08 (m, 2H, H₂), 3,59 (s, 2H, H₈), 3,80 (s, 3H, H₁), 7,36 (m, 6H, H₅, H₉, H₁₀, H₁₁, H₁₂, H₁₃), 7,47 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H₆), 7,84 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H₄)

LC-MS (APCI⁺) :

tr	3,34 min
m/e	418 (M)
	421 (M+2)

C. Mesure de l'activité inhibitrice des enzymes sur sang total

• Sang total

Le sang utilisé est du sang humain veineux fraîchement collecté chez des volontaires sains (moins de 4 à 5 heures) sur tube Vacutainer, sous héparine.

• Incubation du sang

Le sang (1 mL) est réparti dans des tubes en verre contenant l'inhibiteur testé en solution dans le DMSO (1%), puis placé à 37°C sous agitation pendant 15 minutes.

❖ Stimulation de la 5-LO par l'ionophore calcique

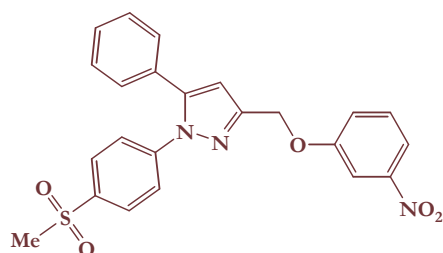
A l'issue de cette pré-incubation, le A23187 est ajouté à la concentration de 4.10^{-5} M. L'incubation est poursuivie à 37°C sous agitation pendant 30 minutes.

❖ Induction de la COX₂ par le lipopolysaccharide

L'induction de la COX₂ est réalisée par un ajout de LPS (100 µL d'une solution à 5 mg / mL dans le PBS). L'incubation en présence du A23187 est poursuivie pendant 24 heures.

• Analyse des eicosanoïdes

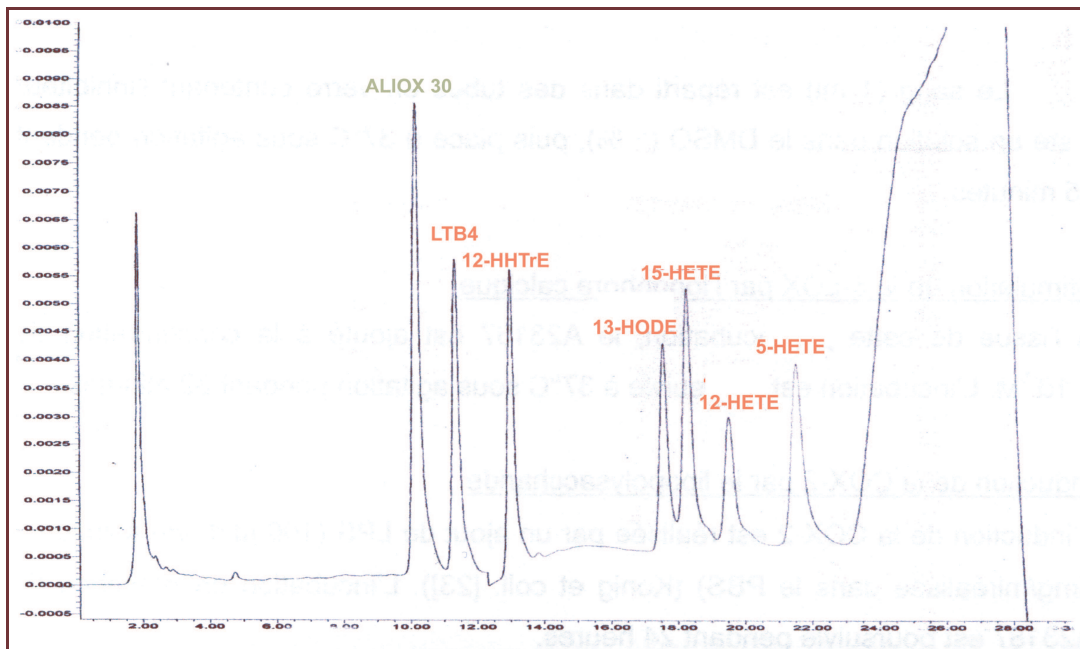
L'arrêt de l'incubation est réalisé par un ajout du standard interne en solution méthanolique suivi d'une extraction à l'acétate d'éthyle (3 mL). Après centrifugation, la phase organique est évaporée à sec sous courant d'azote. Le résidu sec est repris par la phase mobile puis analysé en CLHP suivant les conditions décrites ci-après.



Standard interne

• Analyse par CLHP

La chromatographie a été réalisée sur système CLHP constitué d'une colonne Hypersil 4,6 × 125 mm 3 µm ODS. La phase mobile est constituée de méthanol (A) et d'eau (B) contenant 0,08% d'acide acétique, pH 6,0. Débit : 1 mL / min. Gradient : passage de 70 à 80% de A pendant 10 min, 100% de A de la 19^{ème} à la 23^{ème} minute, puis retour instantané à 70% de A. Détection UV 270 nm pendant 12 min puis 245 nm jusqu'à 30 min.



Exemples de pics des différents marqueurs

- **Interprétation**

Le choix des marqueurs de l'activité 5-LO s'est porté sur le LTB₄ et le 5-HETE. Le 5-HETE constitue le marqueur le plus précoce et le plus représentatif de l'altération de cette seule activité.

a. En l'absence d'un inhibiteur COX₁ / COX₂

Le signal 12-HHTrE obtenu à 30 minutes (en l'absence de LPS) correspond à l'activité COX₁ (12-HHTrE COX₁)

Le signal 12-HHTrE* obtenu à 24 heures (en présence de LPS) correspond à l'activité COX₂ (12-HHTrE* COX₂)

b. En présence d'un inhibiteur COX₁ / COX₂

Les activités envers chaque enzyme sont calculées de la manière suivante :

$$12\text{-HHTrE}^* \text{ résultant total} = 12\text{-HHTrE} \text{ résultant de COX}_1 + 12\text{-HHTrE}^* \text{ résultant de COX}_2$$

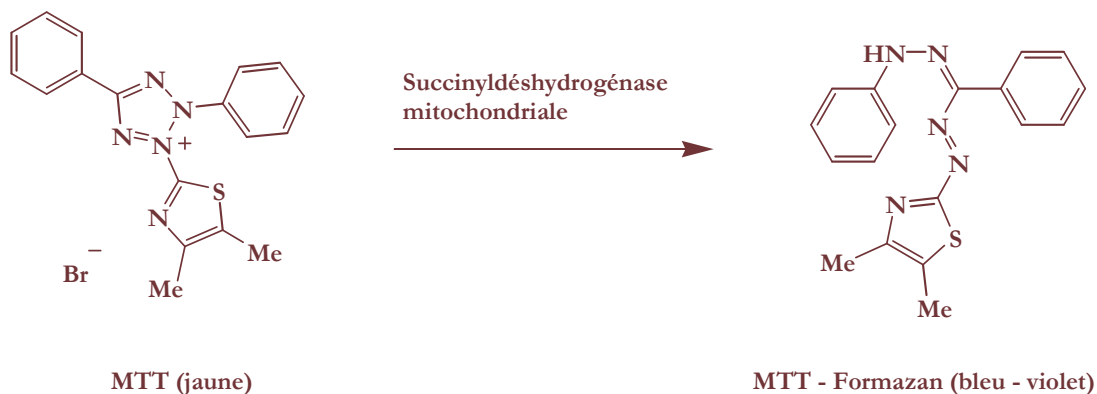
$$\% \text{ activité inhibitrice COX}_1 = \left[1 - \left(\frac{12\text{-HHTrE} \text{ résultant COX}_1}{12\text{-HHTrE} \text{ COX}_1} \right) \right] \times 100$$

$$\begin{aligned} \% \text{ activité inhibitrice COX}_2 &= \left[1 - \left(\frac{12\text{-HHTrE}^* \text{ résultant COX}_2}{12\text{-HHTrE}^* \text{ COX}_2} \right) \right] \times 100 \\ &= \left[1 - \left(\frac{12\text{-HHTrE}^* \text{ résultant total} - 12\text{-HHTrE} \text{ résultant COX}_1}{12\text{-HHTrE}^* \text{ total} - 12\text{-HHTrE} \text{ COX}_1} \right) \right] \times 100 \end{aligned}$$

D. Mesure de la prolifération cellulaire

- **Principe du test MTT (lignées cellulaires PC-3 et MCF7)**

La mesure de la prolifération cellulaire repose sur le test MTT. Cette technique est basée sur la quantification de l'activité enzymatique de la succinyldéshydrogénase mitochondriale présente dans les cellules vivantes, qui clive un sel de tétrazolium de couleur jaune soluble dans l'eau, le bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium (ou MTT) en un dérivé formazan de couleur bleu insoluble dans l'eau. Les cristaux formés sont ensuite dissous dans une solution de SDS/HCl (7% de SDS dans HCl 0,01 N) et l'absorbance de la solution est déterminée à 570 nm avec une correction à 630 nm.



Les cellules sont ensemencées en plaques de 96 puits à raison de 3200 cellules PC-3 par puits et 10000 cellules MCF7 par puits. Les cellules PC-3 sont cultivées durant trois jours dans du milieu RPMI contenant 10% de SVF. Un lavage des puits est ensuite effectué au PBS (Phosphate Buffer Saline) avant l'ajout de milieu RPMI sans sérum qui permet la synchronisation (ou la quiescence). Cette étape dure 24 heures. Les cellules MCF7 sont cultivées durant trois jours dans du milieu MEM contenant 10% de SVF. Les cellules sont alors traitées pendant 72 heures par différents inhibiteurs de 5-LO/COXs, à différentes concentrations, dans un milieu à 10% SVF.

La prolifération cellulaire est ensuite évaluée par le test MTT : les cellules de chaque puit sont mises au contact, pendant 4 heures, de 80 μ L de milieu RPMI sans SVF et 20 μ L de solution de MTT à 4 mg/mL dans du tampon PBS à 10% (solution filtrée avant usage sur une membrane de porosité 0,2 μ m). Les cristaux formés (dérivés formazan) sont ensuite solubilisés par l'ajout de 100 μ L de la solution de SDS/HCl. Après 18 heures à 37°C, on procède à une lecture des plaques au spectrophotomètre.

- **Principe du test des lignées cellulaires L1210**

Les cellules sont ensemencées en plaques de 24 puits à raison de 20000 cellules par puit et sont cultivées dans du milieu RPMI contenant 10% de SVF. Les molécules à tester sont mises au contact des cellules pendant 72 heures à différentes concentrations. A l'issue de ce traitement, un comptage est effectué après dilution au bleu trypan.

- **Expression des résultats**

L'ensemble des résultats est exprimé en pourcentage de croissance par rapport au jour du traitement :

$$\left(\frac{A_J - A_{J_0}}{A_{J_0}}\right) \times 100 \quad \text{avec : } \begin{array}{l} A, \text{ la valeur de l'absorbance} \\ J_0, \text{ le premier jour de traitement} \\ J, \text{ le dernier jour de traitement} \end{array}$$

Les valeurs obtenues sont ensuite rapportées au pourcentage de croissance du témoin (fixé à 100%) ce qui permet d'en déduire les pourcentages d'inhibition de la prolifération cellulaire.

E. Modélisation moléculaire

Les études de modélisation moléculaire ont été réalisées par Monsieur Amory FARCE dans le laboratoire de Monsieur le professeur Philippe CHAVATTE, Laboratoire de Chimie Thérapeutique, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille 2.

Tous les calculs ont été réalisés sur des postes de travail Silicon Graphics Octane 2 fonctionnant sous Irix. Un modèle d'homologie de COX₂ humaine a été établi à partir de l'enzyme murine cocristallisée avec SC-558 pris du fichier informatique 6COX au format PDB [Kurumbail R.G. et coll., 1996]. Comme l'homologie de séquence est importante, le modèle réalisé a été directement minimisé avec le champ de force AMBER95 et les charges partielles ont été minimisées à un gradient de 0,001 Kcal/mol.Å en utilisant Sybyl 6.9.1 sans autres investigations. Les structures des inhibiteurs ont été également étudiées sur Sybyl et minimisées à un gradient minimum de 0,001 avant leur ancrage dans le modèle COX₂ humaine avec Gold [Jones G. et coll, 1995 ; Jones G. et coll., 1997]. La meilleure conformation d'ancrage (celle obtenue le plus grand nombre de fois) a été visualisée et choisie en utilisant Goldscore et Xscore [Wang R. et coll., 2002].

SYBYL 6.9.1 - Molecular modeling software

2001, Tripos Inc., 1699 South Hanley Road, St. Louis, MO 63144-2913, U.S.A..

SOURCES ET BIBLIOGRAPHIE

Abou-Gharbia M., Patel U.R., Webb M.B., Moyer J.A., Andree T.H., Muth E.A., 1987.
Antipsychotic activity of substituted γ -carbolines.
J. Med. Chem. ; **30** ; 1818-1823.

Allais A., Meier J., Mathieu J., Nomine G., Peterfalvi M., Deraedt R., Chifflet L., Benzoni J., Fournex R., 1975.
Recherche d'analgésiques non narcotiques et d'anti-inflammatoires dans la série des carboxyalkoyl-1-acyl-3-indoles.
Eur. J. Med. Chem. ; **10** ; 197-199.

Almansa C., Alfon J., de Arriba A.F., Cavalcanti F.L., Escamilla I., Gomez L.A., Miralles A., Soliva R., Bartroli J., Carceller E., Merlos M., Garcia-Rafanell J., 2003.
Synthesis and structure-activity relationship of a new series of COX-2 selective inhibitors: 1,5-diarylimidazoles.
J. Med. Chem. ; **46** ; 3463-3475.

Angel P., Karin M., 1991.
The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation.
Biochim. Biophys. Acta ; **1072** ; 129-157.

Arico S., Pattingre S., Bauvy C., Gane P., Barbat A., Codogno P., Ogier-Denis E., 2002.
Celecoxib induces apoptosis by inhibiting 3-phosphoinositide dependent protein kinase-1 activity in the human colon cancer HT-29 cell line.
J. Biol. Chem. ; **277** ; 27613-27621.

Audouin C., Mestdagh N., Lassoie M.-A., Houssin R., Hénichart J.-P., 2001.
N-aminoindoline derivatives as inhibitors of 5-lipoxygenase.
Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **11** ; 845-848.

Avis I., Hong S.H., Martinez A., Moody T., Choi Y.H., Trepel J., Das R., Jett M., Mulshine J.L., 2001.
Five-lipoxygenase inhibitors can mediate apoptosis in human breast cancer cell lines through complex eicosanoid interactions.
FASEB J. ; **15** ; 2007-2009.

Avis I.M., Jett M., Boyle T., Vos M.D., Moody T., Treston A.M., Martinez A., Mulshine J.L., 1996.
Growth control of lung cancer by interruption of 5-lipoxygenase-mediated growth factor signaling.
J. Clin. Invest. ; **97** ; 806-813.

Baciacchi E., Gerini M.F., Lapi A., 2004.
Synthesis of sulfoxides by the hydrogen peroxide induced oxidation of sulfides catalysed by iron tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin: scope and chemoselectivity.
J. Org. Chem. ; **69** ; 3586-3589.

Badawi A.F., Liu Y., Eldeen M.B., Morrow W., Razak Z.R., Maradeo M., Badr M.Z., 2004.
Age-associated changes in the expression pattern of cyclooxygenase-2 and related apoptotic markers in the cancer susceptible region of rat prostate.
Carcinogenesis ; **25** ; 1681-1688.

Barbey S., Goossens L., Taverne T., Cornet J., Choismel V., Rouaud C., Gimeno G., Yannic-Arnoult S., Michaux C., Charlier C., Houssin R., Hénichart J-P., 2002.
Synthesis and activity of a new methoxytetrahydropyran derivative as dual cyclooxygenase-2/5-lipoxygenase inhibitor.
Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **12** ; 779-782.

Bazan N.G., Colangelo V., Lukiw W.J., 2002.
Prostaglandins and other lipid mediators in Alzheimer's disease.
Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 197-210.

Berenbaum F., 2005.
VIOXX et complications cardiovasculaires : une affaire de famille ?
Rev. Rhum. ; **72** ; 1-3.

Biava M., Porretta G.C., Cappelli A., Vomero S., Manetti F., Botta M., Sautebin L., Rossi A., Makovec F., Anzini M., 2005.
1,5-Diarylpyrrole-3-acetic acids and esters as novel classes of potent and highly selective cyclooxygenase-2 inhibitors.
J. Med. Chem. ; **48** ; 3428-3432.

Bird T.G.C., Bruneau P., Crawley G.C., Edwards M.P., Foster S.J., Girodeau J-M., Kingston J.F., McMillan R.M., 1991.
(Methoxyalkyl)thiazoles: a new series of potent, selective, and orally active 5-lipoxygenase inhibitors displaying high enantioselectivity.
J. Med. Chem. ; **34** ; 2176-2186.

Bird T.G.C., Dowell R.I., Edwards P.N., Foster S.J., McMillan R.M., Walker E.R.H., Waterson D., 1992.
Methoxytetrahydropyrans. A new series of selective and orally potent 5-lipoxygenase inhibitors.
J. Med. Chem. ; **35** ; 2600-2609.

Bisagni E., Nguyen C.H., Pierré A., Pépin O., De Cointet P., Gros P., 1988.
1-Amino-substituted 4-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indoles (γ -carbolines) as tricyclic analogues of ellipticines: a new class of antineoplastic agents.
J. Med. Chem. ; **31** ; 398-405.

Black W. C., Bayly C., Belley M., Chan C.-C., Charleson S., Denis D., Gauthier J. Y., Gordon R., Guay D., Kargman S., Lau C. K., Leblanc Y., Mancini J., Ouellet M., Parcival D., Roy P., Skorey K., Tagari P., Vickers P., Wong E., Xu L., Prasit P., 1996.
From indomethacin to a selective COX-2 inhibitor: development of indolalkanoic acids as potent and selective cyclooxygenase-2 inhibitors.
Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **6** ; 725-730.

Blomberg L.M., Blomberg M.R.A., Siegbahn P.E.M., Van der Donk W.A., Tsai A., 2003.
A quantum chemical study of the synthesis of prostaglandin G₂ by the cyclooxygenase active site in prostaglandin endoperoxide H synthase 1.
J. Phys. Chem. B ; **107** ; 3297-3308.

Blower P.R., 1992.
The unique profile of nabumetone.
J. Rheumatol. Suppl. ; **36** ; 13-19.

Boado R.J., Partridge W.M., Vinters H.V., Black K.L., 1992.

Differential expression of arachidonate 5-lipoxygenase transcripts in human brain tumors: evidence for the expression of a multitranscript family.

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. ; **89** ; 9044-9048.

Boger D.L., Hughes T.V., Hedrick M.P., 2001.

Synthesis, chemical properties, and biological evaluation of CC1065 and duocarmycin analogues incorporating the 5-methoxycarbamoyl-1,2,9,9-*a*-tetrahydrocyclopropa[*d*]benz[*e*]indol-4-one alkylation subunit.

J. Org. Chem. ; **66** ; 2207-2216.

Bostwick D.G., Burke H.B., Djakiew D., Euling S., Ho S.-M., Landolph J., Morrison H., Sonawane B., Shifflett T., Waters D.J., Timms B., 2004.

Human prostate cancer risk factors.

Cancer ; **101** ; 2371-2490.

Bresalier R.S., Sandler R.S., Quan H., Bolognese J.A., Stat M., Oxenius B., Horgan K., Lines C., Riddell R., Morton D., Lanas A., Konstam M.A., Baron J.A., 2005.
Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial.

N. Engl. J. Med. ; **352** ; 1092-1102.

Brideau C., Kargman S., Liu S., Dallob A.L., Ehrich E.W., Rodger I.W., Chan C.C., 1996.
A human whole blood assay for clinical evaluation of biochemical efficacy of cyclooxygenase inhibitors.

Inflamm. Res. ; **45** ; 68-74.

Brooks C.D.W., Summers J.B., 1996.

Modulators of leukotriene biosynthesis and receptor activation.

J. Med. Chem. ; **39** ; 2630-2654.

Bruckheimer E.M., Cho S., Brisbay S., Johnson D.J., Gingrich J.R., Greenberg N., McDonnell T.J., 2000.

The impact of bcl-2 expression and bax deficiency on prostate homeostasis in vivo.

Oncogene ; **19** ; 2404-2412.

Bruneau P., Delvare C., Edwards M.P., Mc. Millan R.M., 1991.

Indazolinones, a new series of redox-active 5-lipoxygenase inhibitors with built-in selectivity and oral activity.

J. Med. Chem. ; **34** ; 1028-1036.

Buu-Hoi N.P., Roussel O., Jacquignon P., 1964.

Carcinogenic nitrogen compounds. Part XXXIX. A new synthesis of γ -carbolines and of 2,10-diaza-anthracenes.

J. Chem. Soc. ; 708-711.

Campbell J.A., Bordunov V., Broka C.A., Browner M.F., Kress J.M., Mirzadegan T., Ramesha C., Sanpablo B.F., Stabler R., Takahara P., Villasenor A., Walker K.A.M., Wang J.-H., Welch M., Weller P., 2004.

Rational design of 6-methylsulfonylindoles as selective cyclooxygenase-2 inhibitors.

Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **14** ; 4741-4745.

Chandrasekharan N.V., Dai H., Roos K.L., Evanson N.K., Tomsik J., Elton T.S., Simmons D.L., 2002.

COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. ; **99** ; 13926-13931.

Charlier C., Michaux C., 2003.

Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs.

Eur. J. Med. Chem. ; **38** ; 645-659.

Chapman N.B., Clarke K., Hugues H., 1965.

Synthesis of some 5-substituted-2-methyltryptamines and their N-mono- and -di-alkyl derivatives.

J. Chem. Soc. ; 1424-1428.

Chaudry A.A., Wahle K.W., McClinton S., Moffat L.E., 1994.

Arachidonic acid metabolism in benign and malignant prostate tissue in vitro: effects of fatty acids and cyclooxygenase inhibitors.

Int. J. Cancer ; **57** ; 176-180.

Chen Y., Hughes-Fulford M., 2000.

Prostaglandin E₂ and the protein kinase A pathway mediate arachidonic acid induction c-fos in human prostate cancer cells.

Br. J. Cancer ; **82** ; 2000-2006.

Chulada P.C., Thompson M.B., Mahler J.F., Doyle C.M., Gaul B.W., Lee C., Tiano H.F., Morham S.G., Smithies O., Langenbach R., 2000.

Genetic disruption of Ptgs-1, as well as Ptgs-2, reduces intestinal tumorigenesis in Min mice.

Cancer Res. ; **60** ; 4705-4708.

Connolly P.J., Wetter S.K., Beers K.N., Hamel S.C., Chen R.H.K., Wachter M.P., Ansell J., Singer M.M., Steber M., Ritchie D.M., Argentieri D.C., 1999.

N-hydroxyurea and hydroxamic acid inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase.

Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **9** ; 979-984.

Corey E.J., Lansbury P.T., Jr., Cashman J.R., Kantner S.S., 1984.

Mechanism of the irreversible deactivation of arachidonate 5-lipoxygenase by 5,6-dehydro arachidonate.

J. Am. Chem. Soc. ; **106** ; 1501-1503.

Costache E., 1996.

γ-carbolines et analogues. Nouvelles synthèses et étude des relations structure-activité cytotoxique et antitumorale.

Thèse de doctorat en sciences ; Paris XI Orsay ; 119 p.

Costache E., Nguyen C.H., Léonce S., Pierré A., Atassi G., Bisagni E., 1998.

1-Amino-substituted 8-hydroxy-4,5-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indoles with propyl- or methyl-substituents at the 9-, and 7,9-positions: synthesis and biological evaluation.

Anticancer Drug Des. ; **13** ; 361-372.

Crawley G.C., Dowell R.I., Edwards P.N., Foster S.J., McMillan R.M., Walker E.R.H., Waterson D., 1992.

Methoxytetrahydropyrans. A new series of selective and orally potent 5-lipoxygenase inhibitor.
J. Med. Chem. ; **35** ; 2600-2609.

Crawley G.C., Briggs M.T., Dowell R.I., Edwards P.N., Hamilton P.M., Kingston J.-F., Oldham K., Waterson D., Whalley D.P., 1993.

4-Méthoxy-2-méthyltétrahydropyrans: chiral leukotriene biosynthesis inhibitors, related to ICI D2138, which display enantioselectivity.
J. Med. Chem. ; **36** ; 295-296.

Dandekar D.S., Lopez M., Carey R.I., Lokeshwar B.L., 2005.

Cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib augments chemotherapeutic drug-induced apoptosis by enhancing activation of caspase-3 and -9 in prostate cancer cells.
Int. J. Cancer ; **115** ; 484-492.

Dannhardt G., Kiefer W., 2001.

Cyclooxygenase inhibitors – current status and future prospects.
Eur. J. Med. Chem. ; **36** ; 109-126.

Dannenbergh A.J., Altorki N.K., Boyle J.O., Dang C., Howe L.R., Weksler B.B., Subbaramaiah K., 2001.

Cyclooxygenase-2: a pharmacological target for the prevention of cancer.
Lancet Oncol. ; **2** ; 544-551.

Danz H., Stoyanova S., Thomet O.A., Simon H.U., Dannhardt G., Ulbrich H., Hamburger M., 2002.

Inhibitory activity of tryptanthrin on prostaglandin and leukotriene synthesis.
Planta Med. ; **68** ; 875-880.

Davies N.M., Good R.L., Roupe K.A., Yañez J.A., 2004.

Cyclooxygenase-3: axiom, dogma, anomaly, enigma or splice error? - Not as easy as 1, 2, 3.
J. Pharm. Sci. ; **7** ; 217-226.

De Leval X., Delarge J., Somers F., de Tullio P., Henrotin Y., Pirotte B., Dogné J.M., 2000.

Recent advances in inducible cyclooxygenase (COX-2) inhibition.
Curr. Med. Chem. ; **7** ; 1041-1062.

De Leval X., Julémont F., Delarge J., Pirotte B., Dogné J.-M., 2002.

New trends in dual 5-LOX/COX inhibition.
Curr. Med. Chem. ; **9** ; 941-962.

Dietz R., Nastainczyk W., Ruf H.H., 1988.

Higher oxidation states of prostaglandin H synthase. Rapid electronic spectroscopy detected two spectral intermediates during the peroxidase reaction with prostaglandin G₂.
Eur. J. Biochem. ; **171** ; 321-328.

von E. Doering W., Roth W.R., 1962.

The overlap of two allyl radicals or a four-centered transition state in the Cope rearrangement.
Tetrahedron ; **18** ; 67-74.

Dogné J.-M., Supuran C.T., Pratico D., 2005.

Adverse cardiovascular effects of the coxibs.

J. Med. Chem. ; **48** ; 1-7.

Doll J.A., Reiher F.K., Crawford S.E., Pins M.R., Campbell S.C., Bouck N.P., 2001.

Thrombospondin-1, vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor-2 are key functional regulators of angiogenesis in the prostate.

Prostate ; **49** ; 293-305.

Drazen J.M., 1999.

Asthma therapy with agents preventing leukotriene synthesis or action.

Proc. Assoc. Am. Physicians ; **111** ; 547-559.

Drazen J.M., 2005.

COX-2 inhibitors – A lesson in unexpected problems.

N. Engl. J. Med. ; **352** ; 1131-1132.

Ducharme Y., Brideau C., Dubé D., Chan C.-C., Falguyret J.-P., Gillard J.W., Guay J., Hutchinson J.H., McFarlane C.S., Riendeau D., Scheigetz J., Girard Y., 1994.

Naphthalenic lignan lactones as selective, nonredox 5-lipoxygenase inhibitors. Synthesis and biological activity of (methoxyalkyl)thiazole and methoxytetrahydropyran hybrids.

J. Med. Chem. ; **37** ; 512-518.

Dupont R., Goossens J.-F., Cotelte N., Vrielynck L., Vezin H., Hénichart J.-P., Cotelte P., 2001.

New bis-catechols 5-lipoxygenase inhibitors.

Bioorg. Med. Chem. ; **9** ; 229-235.

Eichholzer M., Bernasconi F., Jordan P., Stähelin H.B., 2005.

Body mass index and the risk of male mortality of various sites: 17-year follow-up of the Basel cohort study.

Swiss Med. Wkly. ; **135** ; 27-33.

Eisenberg R.S., 2005.

Learning the value of drugs – Is Rofecoxib a regulatory success story?

N. Engl. J. Med. ; **352** ; 1285-1287.

Falguyret J.-P., Hutchinson J.H., Riendeau D., 1993.

Criteria for the identification of non-redox inhibitors of 5-lipoxygenase.

Biochem. Pharmacol. ; **45** ; 978-981.

Finnegan R.A., Kutta H.W., 1965.

Organometallic chemistry. XII. The thermal decomposition of n-butyllithium, a kinetic study.

J. Org. Chem. ; **30** ; 4138-4144.

Fiorucci S., Meli R., Bucci M., Cirino G., 2001.

Dual inhibitors of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase. A new avenue in anti-inflammatory therapy?

Biochem. Pharmacol. ; **62** ; 1433-1438.

Fischer E., Jourdan F., 1883.

Ueber die hydrazine der brenztraubensäure.

Ber. Dtsch. Chem. Ges. ; **16** ; 2241-2245.

Fitzgerald G.A., Patrono C., 2001.

The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2.

N. Engl. J. Med. ; **345** ; 433-442.

Folkman J., Shing Y., 1992.

Angiogenesis.

J. Biol. Chem. ; **267** ; 10931-10934.

Franzone J.-S., Natale T., Cirillo R., 1980.

Effect of a new anti-inflammatory drug (oxamethacine) on the prostaglandin biosynthesis.

Farmacol. ; **35** ; 498-503.

Fujita H., Koshida K., Keller E.T., Takahashi Y., Yoshimoto T., Namiki M., Mizokami A., 2002.

Cyclooxygenase-2 promotes prostate cancer progression.

Prostate ; **53** ; 232-240.

Funk C.D., 2001.

Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology.

Science ; **294** ; 1871-1875.

Garavito R.M., Malkowski M.G., DeWitt D.L., 2002.

The structures of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2.

Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 129-152.

Ghosh J., Myers C.E., 1997.

Arachidonic acid stimulates prostate cancer cell growth: critical role of 5-lipoxygenase.

Biochem. Biophys. Res. Commun. ; **235** ; 418-423.

Glenn E.M., Bowman B.J., Kooyers W., Koslowke T., Myers M.L., 1967.

The pharmacology of 2,3-bis-(p-methoxyphenyl) indole (indoxole).

J. Pharm. Exp. Ther. ; **155** ; 157-166.

Guilloneau C., Pierre A., Charton Y., Guilbaud N., Kraus-Berthier L., Leonce S., Michel A., Bisagni E., Atassi G., 1999.

Synthesis of 9-O-substituted derivatives of 9-hydroxy-5,6-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazole-1-carboxylic acid(2-(dimethylamino)ethyl)amide and their 10- and 11- methyl analogues with improved antitumor activity.

J. Med. Chem. ; **42** ; 2191-2203.

Gupta S., Srivastava M., Ahmad N., Bostwick D.G., Mukhtar H., 2000.
Over-expression of cyclooxygenase-2 in human prostate adenocarcinoma.

Prostate ; **42** ; 73-78.

Gupta S., Srivastava M., Ahmad N., Sakamoto K., Bostwick D.G., Mukhtar H., 2001.

Lipoxygenase-5 is overexpressed in prostate adenocarcinoma.

Cancer ; **91** ; 737-743.

Haeggström J.Z., Kull F., Rudberg P.C., Tholander F., Thunnissen M.M.G.M., 2002.
Leukotriene A₄ hydrolase.
Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 495-510.

Han J.A., Kim J.-I., Ongusaha P.P., Hwang D.H., Ballou L.R., Mahale A., Aaronson S.A., Lee S.W., 2002.
P53-mediated induction of COX-2 counteracts p53- or genotoxic stress-induced apoptosis.
EMBO J. ; **21** ; 5635-5644.

Harbert C.A., Plattner J.J., Welch W.M., 1980.
Neuroleptic activity in 5-aryltetrahydro- γ -carbolines.
J. Med. Chem. ; **23** ; 635-643.

Hashimoto H., Imura K., Haruta J.-I., Wakitani K., 2002.
4-(4-Cycloalkyl/aryl-oxazol-5-yl)benzenesulfonamides as selective cyclooxygenase-2 inhibitors: enhancement of the selectivity by introduction of a fluorine atom and identification of a potent, highly selective, and orally active COX-2 inhibitor JTE-522.
J. Med. Chem. ; **45** ; 1511-1517.

Hawkey C.J., 1999.
COX-2 inhibitors.
Lancet ; **353** ; 307-314.

Hecker M., Foegh M.L., Ramwell P.W., 1995.
The eicosanoids: Prostaglandins, Thromboxanes, Leukotrienes and related compounds.
Basic and Clinical Pharmacology (Katzung, B.G., ed) pp. 290-304, Appleton & Lange, Norwalk, CT.

Hennig R., Ding X.Z., Tong W.G., Schneider M.B., Standop J., Friess H., Buchler M.W., Pour P.M., Adrian T.E., 2002.
5-Lipoxygenase and leukotriene B(4) receptor are expressed in human pancreatic cancers but not in pancreatic ducts in normal tissue.
Am. J. Pathol. ; **161** ; 421-428.

Hla T., Neilson K., 1992.
Human cyclooxygenase-2 cDNA.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. ; **89** ; 7384-7388.

Hong S.H., Avis I., Vos M.D., Martinez A., Treston A.M., Mulshine J.L., 1999.
Relationship of arachidonic acid metabolizing enzyme expression in epithelial cancer cell lines to the growth effect of selective biochemical inhibitors.
Cancer Res. ; **59** ; 2223-2228.

Hoper M.M., Voelkel N.F., Bates T.O., Allard J.D., Horan M., Shepherd D., Tuder R.M., 1997.
Prostaglandins induce vascular endothelial growth factor in a human monocytic cell line and rat lungs via cAMP.
Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. ; **17** ; 748-756.

Hopfinger A.J., 1985.
Computer-assisted drug design.
J. Med. Chem. ; **28** ; 1133-1139.

Horizoe T., Nagakura N., Chiba K., Shiota H., Shinoda M., Kobayashi N., Numata H., Okamoto Y., Kobayashi S., 1998.

ER-34122, a novel dual 5-lipoxygenase/cyclooxygenase inhibitor with potent anti-inflammatory activity in an arachidonic acid-induced ear inflammation model. *Inflamm. Res.* ; **47** ; 375-383.

Howarth N.M., Malpass J.R., Smith C.R., 1998.

Manipulation of substituents at nitrogen in tropanes, homotropanes, and dehydro-derivatives. *Tetrahedron* ; **54** ; 10899-10914.

Hsi L.C., Wilson L.C., Eling T.E., 2002.

Opposing effects of 15-lipoxygenase-1 and -2 metabolites on MAPK signaling in prostate. Alteration in peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J. Biol. Chem.* ; **277** ; 40549-40556.

Hsu A.L., Ching T.T., Wang D.S., Song X., Rangnekar V.M., Chen C.S., 2000.
The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib induces apoptosis by blocking Akt activation in human prostate cancer cells independently of Bcl-2.

J. Biol. Chem. ; **275** ; 11397-11403.

Huguenin S., Vacherot F., Fleury-Feith J., Riffaud J.-P., Chopin D.K., Bolla M., Jaurand M.-C., 2005.

Evaluation of the antitumoral potential of different nitric oxide-donating non-steroidal anti-inflammatory drugs (NO-AINS) on human urological tumor cell lines. *Cancer Lett.* ; **218** ; 163-170.

Hughes-Fulford M., Chen Y., Tjandrawinata R.R., 2001.

Fatty acid regulates gene expression and growth of human prostate cancer PC-3 cells. *Carcinogenesis* ; **22** ; 701-707.

Hussain T., Gupta S., Mukhtar H., 2003.

Cyclooxygenase-2 and prostate carcinogenesis. *Cancer Lett.* ; **191** ; 125-135.

Inagaki M., Tsuru T., Jyoyama H., Ono T., Yamada K., Kobayashi M., Hori Y., Arimura A., Yasui K., Ohno K., Kakudo S., Koizumi K., Suzuki R., Kawai S., Kato M., Matsumoto S., 2000.

Novel antiarthritic agents with 1,2-isothiazolidine-1,1-dioxide (gamma-sultam) skeleton: cytokine suppressive dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *J. Med. Chem.* ; **43** ; 2040-2048.

Iñiguez M.A., Rodriguez A., Volpert O.V., Fresno M., Redondo J.M., 2003.

Cyclooxygenase-2 : a therapeutic target in angiogenesis. *Trends Mol. Med.* ; **9** ; 73-78.

Isaacs J.T., 2000.

Apoptosis: translating theory to therapy for prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* ; **92** ; 1367-1369.

Ishikawa S., Manabe S., Yanagisawa H., Kitayawa Y., Kani Y., Wada O., 1987.
Inhibitory effects of tryptophan pyrolysis products on human platelet aggregation through inhibition of prostaglandin endoperoxide synthetase.
Food Chem. Toxicol. ; **25** ; 829-835.

Jennbacken K., Vallbo C., Wang W., Damber J.E., 2005.
Expression of vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) and VEGF receptor-3 in human prostate cancer is associated with regional lymph node metastasis.
Prostate ; **65** ; 110-116.

Jiang M., Shappell S.B., Hayward S.W., 2004.
Approaches to understanding the importance and clinical implications of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) signaling in prostate cancer.
J. Cell. Biochem. ; **91** ; 513-527.

Jois Y.H.R., Gibson H.W., 1991.
Synthesis of 2-cyano-1,3-dibenzoyl-2,3-dihydrobenzimidazole: a novel Reissert compound from benzimidazole
J. Org. Chem. ; **56** ; 865-867.

Jones S.M., Luo M., Healy A.M., Peters-Golden M., Brock T.G., 2002.
Structural and functional criteria reveal a new nuclear import sequence on the 5-lipoxygenase protein.
J. Biol. Chem. ; **277** ; 38550-38556.

Joseph I.B., Nelson J.B., Denmeade S.R., Isaacs J.T., 1997.
Androgens regulate vascular endothelial growth factor content in normal and malignant prostatic tissue.
Clin. Cancer Res. ; **3** ; 2507-2511.

Julémont F., Dogné J.M., Pirotte B., de Leval X., 2004.
Recent development in the field of dual COX / 5-LOX inhibitors.
Mini Rev. Med. Chem. ; **4** ; 633-638.

Kalgutkar A.S., Marnett A.B., Crews B.C., Rimmel R.P., Marnett L.J., 2000.
Ester and amide derivatives of the nonsteroidal antiinflammatory drug, indomethacin, as selective cyclooxygenase-2 inhibitors.
J. Med. Chem. ; **43** ; 2860-2870.

Kambhampati S., Ray G., Sengupta K., Reddy V.P., Banerjee S.K., Van Veldhuizen P.J., 2005.
Growth factors involved in prostate carcinogenesis.
Front. Biosci. ; **10** ; 1355-1367.

Kargman S., Vickers P.J., Evans J.F., 1992.
A23187-induced translocation of 5-lipoxygenase in osteosarcoma cells.
J. Cell Biol. ; **119** ; 1701-1709.

Karthein R., Dietz R., Nastainczyk W., Ruf H.H., 1988.

Higher oxidation states of prostaglandin H synthase. EPR study of a transient tyrosyl radical in the enzyme during the peroxidase reaction.

Eur. J. Biochem. ; **171** ; 313-320.

Kawamori T., Rao C.V., Seibert K., Reddy B.S., 1998.

Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, against colon carcinogenesis.

Cancer Res. ; **58** ; 409-412.

Kelavkar U., Glasgow W., Eling T.E., 2002.

The effect of 15-lipoxygenase-1 expression on cancer cells.

Curr. Urol. Rep. ; **3** ; 207-214.

Keller J.J., Giardiello F.M., 2003.

Chemoprevention strategies using NSAIDs and COX-2 inhibitors.

Cancer Biol. Ther. ; **2** ; S140-149.

Kelloff G.J., Lieberman R., Steele V.E., Boone C.W., Lubet R.A., Kopelovitch L., Malone W.A., Crowell J.A., Sigman C.C., 1999.

Chemoprevention of prostate cancer: concepts and strategies.

Eur. Urol. ; **35** ; 342-350.

Kerdesky F.A.J., Schmidt S.P., Holms J.H., Dyer R.D., Carter G.W., Brooks D.W., 1987.
Synthesis and 5-lipoxygenase inhibitory activity of 5-hydroperoxy-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid analogues.

J. Med. Chem. ; **30** ; 1177-1186.

Khorana N., Purohit A., Herrick-Davis K., Teitler M., Glennon R.A., 2003^a.

γ -Carbolines: binding at 5-HT_{5A} serotonin receptors.

Bioorg. Med. Chem. ; **11** ; 717-722.

Khorana N., Smith C., Herrick-Davis K., Purohit A., Teitler M., Grella B., Dukat M., Glennon R.A., 2003^b.

Binding of tetrahydrocarboline derivatives at human 5-HT_{5A} receptors.

J. Med. Chem. ; **46** ; 3930-3937.

Kirkpatrick K., Ogunkolade W., Elkak A., Bustin S., Jenkins P., Ghilchik M., Mokbel K., 2002.

The mRNA expression of cyclo-oxygenase-2 (COX-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in human breast cancer.

Curr. Med. Res. Opin. ; **18** ; 237-241.

Kirschenbaum A., Liu X-H., Yao S., Levine A.C., 2001.

The role of cyclooxygenase-2 in prostate cancer.

Urology ; **58** ; 127-131.

Klein E.A., 2005.

Chemoprevention of prostate cancer.

Crit. Rev. Oncol. Hematol. ; **54** ; 1-10.

Kolasa T., Gunn D.E., Bhatia P., Basha A., Craig R.A., Stexart A.O., Bouska J.B., Harris R.R., Hulkower K.I., Malo P.E., Bell R.L., Carter G.W., Brooks C.D.W., 2000^a. Symmetrical bis(heteroarylmethoxyphenyl)carboxylic acids as inhibitors of leukotriene biosynthesis.

J. Med. Chem. ; **43** ; 3322-3334.

Kolasa T., Gunn D.E., Bhatia P., Woods K.W., Gane T., Stewart A.O., Bouska J.B., Harris R.R., Hulkower K.I., Malo P.E., Bell R.L., Carter G.W., Brooks C.D.W., 2000^b. Heteroarylmethoxyphenylalkoxyiminoalkylcarboxylic acids as leucotriene biosynthesis inhibitors.

J. Med. Chem. ; **43** ; 690-705.

Kulp S.K., Yang Y.-T., Hung C.-C., Chen K.-F., Lai J.-P., Tseng P.-H., Fowble J. W., Ward P. J., Chen C.-S., 2004.

3-Phosphoinositide-dependent protein kinase-1/Akt signaling represents a major cyclooxygenase-2-independent target for celecoxib in prostate cancer cells.

Cancer Res. ; **64** ; 1444-1451.

Kurumbail R.G., Stevens A.M., Gierse J.K., McDonald J.J., Stegeman R.A., Pak J.Y., Gildehaus D., Miyashiro J.M., Penning T.D., Seibert K., Isakson P.C., Stallings W.C., 1996.

Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents.

Nature ; **384** ; 644-648.

Kuwahara M., Kawano Y., Shimazu H., Ashida Y., Miyake A., 1996.

Synthetic studies on condensed-azole derivatives. IV. ¹⁾ Synthesis and anti-asthmatic activities of ω -sulfamoylalkyloxyimidazo[1,2-*b*]pyridazines.

Chem. Pharm. Bull. ; **44** ; 122-131.

Kuwahara M., Kawano Y., Kajino M., Ashida Y., Miyake A., 1997.

Synthetic studies on condensed-azole derivatives. V. 1) Synthesis and anti-asthmatic activities of ω -sulfamoylalkyloxy[1,2,4]triazolo[1,5-*b*]pyridazines.

Chem. Pharm. Bull. ; **45** ; 1447-1457.

Lai S., Lee D.G., 2002.

Lewis acid assisted permanganate oxidations.

Tetrahedron ; **58** ; 9879-9887.

Lam B.K., Frank Austen K., 2000.

Leukotriene C4 synthase. A pivotal enzyme in the biosynthesis of the cysteinyl leukotrienes.

Am. J. Respir. Crit. Care Med. ; **161** ; S16-19.

Lambert-van der Brempt C., Bruneau P., Lamorlette M.A., 1994.

Conformational analysis of 5-lipoxygenase inhibitors: role of the substituents in chiral recognition and on the active conformations of the (methoxyalkyl)thiazole and methoxytetrahydropyran series.

J. Med. Chem. ; **37** ; 113-124.

Lednicer D., Babcock J.C., Marlatt P.E., Lyster S.C., Duncan G.W., 1965.

Mammalian antifertility agents. I. Derivatives of 2,3-diphenylindenes.

J. Med. Chem. ; **39** ; 52-57.

Lee C.-S., Ohta T., Shudo K., Okamoto T., 1981.

Some reactions of pyrido[4,3-*b*]indole (γ -carboline).

Heterocycles ; **16** ; 1081-1084.

Lewis A.J., Furst D.E., 1994.

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Mechanisms and clinical uses. Second edition.

Marcel Dekker, Inc. ; New York ; 463 p.

Li C.-S., Black W.C., Brideau C., Chan C.C., Charleson S., Cromlish W.A., Claveau D., Gauthier J.Y., Gordon R., Greig G., Grimm E., Guay J., Lau C.K., Riendeau D., Thérien M., Visco D.M., Wong E., Xu L., Prasit P., 1999.

A new structural variation on the methanesulfonylphenyl class of selective cyclooxygenase-2 inhibitors.

Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **9** ; 3181-3186.

Li Y.-L., Xu W.-F., 2004.

Design, synthesis, and activity of caffeoyl pyrrolidine derivatives as potential gelatinase inhibitors.

Bioorg. Med. Chem. ; **12** ; 5171-5180

Liu X.H., Kirschenbaum A., Lu M., Yao S., Dosoretz A., Holland J.F., Levine A.C., 2002.

Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1 α stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line.

J. Biol. Chem. ; **277** ; 50081-50086.

Lizarzaburu M.E., Shuttleworth S.J., 2004.

1,2,3,4-Tetrahydro- γ -carbolinium salts: novel reactions with thiols, mediated by polymer-supported reagents.

Tetrahedron Lett. ; **45** ; 4781-4783.

Llorens O., Perez J.J., Palomer A., Mauleon D., 2002.

Differential binding mode of diverse cyclooxygenase inhibitors.

J. Mol. Graph. Model. ; **20** ; 359-371.

Los M., Voest E.E., 2001.

The potential role of anti-vascular therapy in the adjuvant and neoadjuvant treatment of cancer.

Semin. Oncol. ; **28** ; 93-105.

McCarty M.F., 2004.

Targeting multiple signaling pathways as a strategy for managing prostate cancer: multifocal signal modulation therapy.

Integr. Cancer Ther. ; **3** ; 349-380.

Magnier E., Langlois Y., 1998.

Manzamine alkaloids, syntheses and synthetic approaches.

Tetrahedron ; **54** ; 6201-6258.

Magnus P., Rodriguez-López J., Mulholland K., Matthews I., 1992.

Biomimetic synthesis of the pentacyclic alkaloid (\pm)-Nirunine and possible biogenetic rearrangement of a precursor into (\pm)-Norsecurinine.

J. Am. Chem. Soc. ; **114** ; 382-383.

Mano T., Okumura Y., Sakakibara M., Okumura T., Tamura T., Miyamoto K., Stevens R.W., 2004.

4-[5-Fluoro-3-[4-(2-methyl-1*H*-imidazol-1-yl)benzyloxy]phenyl]-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran- 4 -carboxamide, an orally active inhibitor of 5-lipoxygenase with improved pharmacokinetic and toxicology characteristics.

J. Med. Chem. ; **47** ; 720-725.

Mano T., Stevens R.W., Ando K., Kawai, M., Kawamura K., Nakao K., Okumura Y., Okumura T., Sakakibara M., Miyamoto K., Tamura T., 2005.

Optimization of imidazole 5-lipoxygenase inhibitors and selection and synthesis of a development candidate.

Chem. Pharm. Bull. ; **53** ; 965-973.

Mardini I.A., Fitzgerald G.A., 2001.

Selective inhibitors of cyclooxygenase-2: a growing class of anti-inflammatory drugs.

Mol. Interv. ; **1** ; 30-38.

Marnett L.J., 2002.

Recent developments in cyclooxygenase inhibition.

Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 153-164.

Masferrer J.L., Leahy K.M., Koki A.T., Zweifel B.S., Settle S.L., Woerner B.M., Edwards D.A., Flickinger A.G., Moore R.J., Seibert K., 2000.

Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors.

Cancer Res. ; **60** ; 1306-1311.

Matsuyama M., Yoshimura R., Tsuchida K., Takemoto Y., Segawa Y., Kawahito Y., Sano H., Nakatani T., 2004.

Lipoxygenase inhibitors prevent urological cancer cell growth.

Int. J. Mol. Med. ; **13** ; 665-668.

Melnyk O., Zimmerman M., Kim K.J., Shuman M., 1999.

Neutralizing anti-vascular endothelial growth factor antibody inhibits further growth of established prostate cancer and metastases in a pre-clinical model.

J. Urol. ; **161** ; 960-963.

Merrick G.S., Butler W.M., Wallner K.E., Galbreath R.W., Allen Z., Lief J.H., Adamovich E., 2005.

Influence of body mass index on biochemical outcome after permanent prostate brachytherapy.

Urology ; **65** ; 95-100.

Michaux C., 2004.

Elaboration d'un modèle de pharmacophore et d'interactions d'inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase-2. Identification et conception de molécules originales.

Thèse de doctorat en Sciences ; FUNDP Namur ; 373 p.

Morita I., 2002.

Distinct functions of COX-1 and COX-2.

Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 165-175.

Moth C.W., Prusakiewicz J.J., Marnett L.J., Lybrand T.P., 2005.

Stereoselective binding of indomethacin ethanolamide derivatives to cyclooxygenase-1.
J. Med. Chem. ; **48** ; 3613-3620.

Mukherjee D., Nissen S.E., Topol E.J., 2001.

Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors.
JAMA ; **286** ; 954-959.

Myers C., Koki A. Pamukcu R., Wechter W., Padley R.J., 2001.

Proapoptotic anti-inflammatory drugs.
Urology ; **57** ; 73-76.

Myers C.E., Ghosh J., 1999.

Lipoxygenase inhibition in prostate cancer.
Eur. Urol. ; **35** ; 395-398.

Nithipatikom K., Laabs N.D., Isbell M.A., Campbell W.B., 2003.

Liquid chromatographic-mass spectrometric determination of cyclooxygenase metabolites of arachidonic acid in cultured cells.
J. Chromatogr. B. ; **785** ; 135-145.

O'Flaherty J.T., Rogers L.C., Chadwell B.A., Owen J.S., Rao A., Cramer S.D., Daniel L.W., 2002.

5(S)-Hydroxy-6,8,11,14-E,Z,Z,Z-eicosatetraenoate stimulates PC3 cell signaling and growth by a receptor-dependent mechanism.
Cancer Res. ; **62** ; 6817-6819.

Ohd J.F., Nielsen C.K., Campbell J., Landberg G., Lofberg H., Sjolander A., 2003.
Expression of the leukotriene D4 receptor CysLT1, COX-2, and other cell survival factors in colorectal adenocarcinomas.

Gastroenterology ; **124** ; 57-70.

Okie S., 2005.

Raising the safety bar – The FDA's coxib meeting.
N. Engl. J. Med. ; **352** ; 1283-1285.

O'Neill B.T., Yohannes D., Bundesmann M.W., Arnold E.P., 2000.

Total synthesis of (±)-Cytisine.
Org. Lett. ; **2** ; 4201-4204.

Osaki M., Oshimura M., Ito H., 2004.

PI3K-Akt pathway : its functions and alterations in human cancer.
Apoptosis ; **9** ; 667-676.

Oshima M., Murai N., Kargman S., Arguello M., Luk P., Kwong E., Taketo M.M., Evans J.F., 2001.

Chemoprevention of intestinal polyposis in the Apc delta716 mouse by rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor.
Cancer Res. ; **61** ; 1733-1740.

Pal M., Madan M., Padakanti S., Pattabiraman V.R., Kaleda S., Vanguri A., Mullangi R., Mamidi N.V., Casturi S.R., Malde A., Gopalakrishnan B., Yeleswarapu K.R., 2003. Synthesis and cyclooxygenase-2 inhibiting property of 1,5-diarylpyrazoles with substituted benzenesulfonamide moiety as pharmacophore: preparation of sodium salt for injectable formulation.

J. Med. Chem. ; **46** ; 3975-3984.

Palomer A., Cabre F., Pascual J., Campos J., Trujillo M.A., Entrena A., Gallo M.A., Garcia L., Mauleon D., Espinosa A., 2002.

Identification of novel cyclooxygenase-2 selective inhibitors using pharmacophore models.
J. Med. Chem. ; **45** ; 1402-1411.

Panara M.R., Greco A., Santini G., Sciulli M.G., Rotondo M.T., Padovano R., di Giamberardino M., Cipollone F., Cuccurullo F., Patrono C., 1995.

Effects of the novel anti-inflammatory compounds, N-[2-(cyclohexyloxy)-4-nitrophenyl]methanesulphonamide (NS-398) and 5-méthanesulphonamido-6-(2,4-difluorothio-phenyl)-1-indanone (L-745,337), on the cyclo-oxygenase activity of human blood prostaglandin endoperoxide synthases.

Br. J. Pharmacol. ; **116** ; 2424-2429.

Park C.H., 1999.

Conception et synthèse d'inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase-2.

Thèse de doctorat en pharmacochimie ; Lille 2 ; 203 p.

Patel M.I., Subbaramaiah K., Du B., Chang M., Yang P., Newman R.A., Cordon-Cardo C., Thaler H.T., Dannenberg A.J., 2005.

Celecoxib inhibits prostate cancer growth: evidence of a cyclooxygenase-2-independent mechanism.

Clin. Cancer Res. ; **11** ; 1999-2007.

Pathak S.K., Sharma R.A., Steward W.P., Mellon J.K., Griffiths T.R.L., Gesher A.J., 2005.

Oxidative stress and cyclooxygenase activity in prostate carcinogenesis: targets for chemopreventive strategies.

Eur. J. Cancer ; **41** ; 61-70.

Payne A.N., Jackson W.P., Salmon J.A., Nicholls A., Yeadon M., Garland L.G., 1991.

Hydroxamic acids and hydroxyureas as novel, selective 5-lipoxygenase inhibitors for possible use in asthma.

Agents Actions suppl. ; **34** ; 189-199.

Penning T.D., Talley J.J., Bertenshaw S.R., Carter J.S., Collins P.W., Docter S., Graneto M.J., Lee L.F., Malecha J.W., Miyashiro J.M., Rogers R.S., Rogier D.J., Yu S.S., Anderson G.D., Burton E.G., Cogburn J.N., Gregory S.A., Koboldt C.M., Perkins W.E., Seibert K., Veenhuizen A.W., Zhang Y.Y., Isakson P.C., 1997.

Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (SC-58635, celecoxib).

J. Med. Chem. ; **40** ; 1347-1365.

Peters-Golden M., Brock T.G., 2000.

Intracellular compartmentalization of leukotriene biosynthesis.

Am. J. Respir. Crit. Care Med. ; **161** ; S36–S40.

Pham H., Banerjee T., Ziboh V.A., 2004.

Suppression of cyclooxygenase-2 overexpression by 15S-hydroxyeicosatrienoic acid in androgen-dependent prostatic adenocarcinoma cells.

Int. J. Cancer ; **111** ; 192-197.

Piazza G.A., Rahm A.K., Finn T.S., Fryer B.H., Li H., Stoumen A.L., Pamukcu R., Ahnen D.J., 1997.

Apoptosis primarily accounts for the growth-inhibitory properties of sulindac metabolites and involves a mechanism that is independent of cyclooxygenase inhibition, cell cycle arrest, and p53 induction.

Cancer Res. ; **57** ; 2452-2459.

Pine S.H., Sanchez B.L., 1971.

Formic acid-formaldehyde methylation of amines.

J. Org. Chem. ; **36** ; 829-832.

Pommery N., Hénichart J.-P., 2005.

Involvement of PI3K/Akt pathway in prostate cancer. Potential strategies for developing targeted therapies.

Ann. Pharm. Fr. ; **63** ; 69-75.

Pommery N., Taverne T., Telliez A., Goossens L., Charlier C., Pommery J., Goossens J.-F., Houssin R., Durant F., Hénichart J.-P., 2004.

New COX-2/5-LOX inhibitors: apoptosis-inducing agents potentially useful in prostate cancer chemotherapy.

J. Med. Chem. ; **47** ; 6195-6206.

Pouliot M., McDonald P.P., Krump E., Mancini J.A., McColl S.R., Weech P.K., Borgeat P., 1996.

Colocalization of cytosolic phospholipase A2, 5-lipoxygenase, and 5-lipoxygenase-activating protein at the nuclear membrane of A23187-stimulated human neutrophils.

Eur. J. Biochem. ; **238** ; 250-258.

Powell W.S., Rokach J., 2005.

Biochemistry, biology and chemistry of the 5-lipoxygenase product 5-oxo-ETE.

Prog. Lipid Res. ; **44** ; 154-183.

Prasit P., Wang Z., Brideau C., Chan C.-C., Charleson S., Cromlish W., Ethier D., Evans J.F., Forf-Hutchinson A.W., Gauthier J.Y., Gordon R., Guay J., Gresser M., Kargman S., Kennedy B., Leblanc Y., Léger S., Mancini J., O'Neill G.P., Ouellet M., Percival M.D., Perrier H., Riendeau D., Rodger I., Tagari P., Thérien M., Vickers P., Wong E., Xu L.-J., Young R .N., Zamboni R., 1999.

The discovery of rofecoxib, [MK 966, Vioxx[®], 4-(4'-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2(5H)-furanone], an orally active cyclooxygenase-2 inhibitor.

Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **9** ; 1773-1778.

Prescott S.M., 2000.

Is cyclooxygenase-2 the alpha and the omega in cancer ?
J. Clin. Invest. ; **105** ; 1511-1513.

Pruthi R.S., Derksen J.E., Moore D., 2004.

A pilot study of use of the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib in recurrent prostate cancer after definitive radiation therapy or radical prostatectomy.
Br. J. Urol. ; **93** ; 275-278.

Prusakiewicz J.J., Felts A.S., Mackenzie B.S., Marnett L.J., 2004.

Molecular basis of the time-dependent inhibition of cyclooxygenases by indomethacin.
Biochemistry ; **43** ; 15439-15445.

Rådmark O., 2002.

Arachidonate 5-lipoxygenase.
Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 211-234.

Rao C.V., Reddy B.S., 2004.

NSAIDs and chemoprevention.
Curr. Cancer Drug Targets ; **4** ; 29-42.

Reddy L.R., Corey E.J., 2005.

Facile air oxidation of the conjugate base of rofecoxib (Vioxx™), a possible contributor to chronic human toxicity.
Tetrahedron Lett. ; **46** ; 927-929.

Riendeau D., Falguyret J.-P., Guay J., Ueda N., Yamamota S., 1991.

Pseudoperoxidase activity of 5-lipoxygenase stimulated by potent benzofuranol and hydroxyurea inhibitors of the lipoxygenase reaction.
Biochem. J. ; **274** ; 287-292.

Rivale C., Wendling F., Tambourin P., Lhoste J.-M., Bisagni E., Chermann J.-C., 1983.

Antitumor amino-substituted pyrido[3',4': 4,5]pyrrolo[2,3-g]isoquinolines and pyrido[4,3-b]carbazole derivatives: synthesis and evaluation of compounds resulting from new side chain and heterocycle modifications.
J. Med. Chem. ; **26** ; 181-185.

Robinson R., 1969.

Recent studies on the Fischer indole synthesis.
Chem. Rev. ; **69** ; 227-250.

Rocca B., Secchiero P., Ciabattoni G., Ranelletti F.O., Catani L., Guidotti L., Melloni E., Maggiano N., Zauli G., Patrono C., 2002.

Cyclooxygenase-2 expression is induced during human megakaryopoiesis and characterizes newly formed platelets.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. ; **99** ; 7634-7639.

Rocca P., Marsais F., Godard A., Queguiner G., 1993.

Connection between metalation and cross-coupling strategies. A new convergent route to azacarbazoles.
Tetrahedron ; **49** ; 49-64.

Rodrigues S., Bruyneel E., Rodrigue C.M., Shahin E., Gespach C., 2004.
Cyclooxygenase 2 et carcinogénèse.
Bull. Cancer ; **91** ; 61-76.

Romano M., Catalano A., Nutini M., D'Urbano E., Crescenzi C., Claria J., Libner R., Davi G., Procopio A., 2001.
5-Lipoxygenase regulates malignant mesothelial cell survival: involvement of vascular endothelial growth factor.
FASEB J. ; **15** ; 2326-2336.

Rome L.H., Lands W.E.M., 1975.
Structural requirements for time-dependent inhibition of prostaglandin biosynthesis by anti-inflammatory drugs.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. ; **72** ; 4863-4865.

Rose D.P., Connolly J.M., 1999.
Omega-3 fatty acids as cancer chemopreventive agents.
Pharmacol. Ther. ; **83** ; 217-244.

Rynbrandt R.H., Nishizawa E.E., Balogoyen D.P., Mendoza A.R., Annis K.A., 1981.
Synthesis and platelet aggregation inhibitory activity of 4,5-bis(aryl)-2-substituted-thiazoles.
J. Med. Chem. ; **24** ; 1507-1510.

Santagati A., Marrazzo A., Granata G., 2003.
Synthesis of potential selective COX-2 enzyme inhibitors derived from ethyl ester of 2-isothiocyanato-5-phenyl-3-thiophencarboxylic acid.
J. Heterocyclic Chem. ; **40** ; 869-873.

Sarges R., Howard H.R., Donahue K.M., Welch W.M., Dominy B.W., Weissman A., Koe B.K., Bordner J., 1986.
Neuroleptic activity of chiral *trans*-hexahydro- γ -carbolines.
J. Med. Chem. ; **29** ; 8-19.

Sato K., Hyodo M., Aoki M., Zheng X.-Q., Noyori R., 2001.
Oxidation of sulfides to sulfoxides and sulfones with 30% hydrogen peroxide under organic solvent- and halogen-free conditions.
Tetrahedron ; **57** ; 2469-2476.

Scotté F., Colonna P., Andrieu J.-M., 2002.
Cahiers de Cancérologie.
Ellipses ; Paris ; 293-302.

Seed M.P., Brown J.R., Freemantle C.N., Papworth J.L., Colville-Nash P.R., Willis D., Somerville K.W., Asculai S., Willoughby D.A., 1997.
The inhibition of colon-26 adenocarcinoma development and angiogenesis by topical diclofenac in 2.5% hyaluronan.
Cancer Res. ; **57** ; 1625-1629.

Selinsky B.S., Gupta K., Sharkey C.T., Loll P.J., 2001.

Structural analysis of NSAID binding by prostaglandin H₂ synthase: time-dependent and time-independent inhibitors elicit identical enzyme conformations.

Biochemistry ; **40** ; 5172-5180.

Serhan C.N., Romano M., 1995.

Lipoxin biosynthesis and actions: role of the human platelet LX-synthase.

J. Lipid Mediat. Cell Signal. ; **12** ; 293-306.

Shaabani A., Lee D.G., 2001.

Solvent free permanganate oxidations.

Tetrahedron Lett. ; **42** ; 5833-5836.

Shaffer D.R., Scher H.I., 2003.

Prostate cancer: a dynamic illness with shifting targets.

Lancet Oncol. ; **4** ; 407-414.

Sheng H., Shao J., Morrow J.D., Beauchamp R.D., Dubois R.N., 1998.

Modulation of apoptosis and bcl-2 expression by prostaglandin E₂ in human colon cancer cells.

Cancer Res. ; **58** ; 362-366.

Singh S.K., Vobbalareddy S., Shivaramakrishna S., Krishnamraju A., Rajjak S.A., Casturi S.R., Akhila V., Rao Y.K., 2004.

Methanesulfonamide group at position-4 of the C-5-phenyl ring of 1,5-diarylpyrazole affords a potent class of cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors.

Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **14** ; 1683-1688.

Smith W.L., DeWitt D.L., Garavito R.M., 2000.

Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology.

Annu. Rev. Biochem. ; **69** ; 145-182.

Smith W.L., Song I., 2002.

The enzymology of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2.

Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 115-128.

Snyder S.A., Vosburg D.A., Jarvis M.G., Markgraf J.H., 2000.

Intramolecular hetero Diels-Alder routes to γ -carboline alkaloids.

Heterocycles ; **56** ; 5329-5335.

Solomon S.D., McMurray J.J.V., Pfeffer M.A., Wittes J., Fowler R., Finn P., Anderson W.F., Zauber A., Hawk E., Bertagnolli M., 2005.

Cardiovascular risk associated with celecoxib in a clinical trial for colorectal adenoma prevention.

N. Engl. J. Med. ; **352** ; 1071-1080.

Sorbera L.A., Leeson P.A., Castañer J., Castañer R.M., 2001.

Valdecoxib and parecoxib sodium.

Drugs of the Future ; **26** ; 133-140.

Sorbera L.A., Ramis I., 2004.

Cimicoxib.

Drugs of the Future ; **29** ; 325-330.

Spencer A.G., Woods J.W., Arakawa T., Singer I.I., Smith W.L., 1998.

Subcellular localization of prostaglandin endoperoxide H synthases-1 and -2 by immunoelectron microscopy.

J. Biol. Chem. ; **273** ; 9886-9893.

Spickett R.G.W., 1966.

Compounds affecting the central nervous system. II. Substituted 1,2,3,4-tetrahydropyrido [4,3-*b*]indoles.

J. Med. Chem. ; **9** ; 436-438.

Stapleton A.M., Zbell P., Kattan M.W., Yang G., Wheeler T.M., Scardino P.T., Thompson T.C., 1998.

Assessment of the biologic markers p53, Ki-67, and apoptotic index as predictive indicators of prostate carcinoma recurrence after surgery.

Cancer ; **82** ; 168-175.

Steinbach G., Lynch P.M., Phillips R.K., Wallace M.H., Hawk E., Gordon G.B., Wakabayashi N., Saunders B., Shen Y., Fujimura T., Su L.K., Levin B., 2000.

The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis.

N. Engl. J. Med. ; **342** ; 1946-1952.

Summers J.B., Gunn B.P., Mazdiasni H., Goetze A.M., Young P.R., Bouska J.B., Dyer R.D., Brooks D.W., Carter G.W., 1987.

In vivo characterization of hydroxamic acid inhibitors of 5-lipoxygenase.

J. Med. Chem. ; **30** ; 2121-2126.

Summers J.B., Gunn B.P., Martin J.G., Martin M.B., Mazdiasni H., Stewart A.O., Young P.R., Bouska J.B., Goetze A.M., Dyer R.D., Brooks D.W., Carter G.W., 1988^a.

Structure-activity analysis of a class of orally active hydroxamic acid inhibitors of leukotriene biosynthesis.

J. Med. Chem. ; **31** ; 1960-1964.

Summers J.B., Gunn B.P., Martin J.G., Mazdiasni H., Stewart A.O., Young P.R., Goetze A.M., Bouska J.B., Dyer R.D., Brooks D.W., Carter G.W., 1988^b.

Orally active hydroxamic acid inhibitors of leukotriene biosynthesis.

J. Med. Chem. ; **31** ; 3-5.

Surette M.E., Odeimat A., Palmantier R., Marleau S., Poubelle P.E., Borgeat P., 1994.

Reverse-phase high-performance liquid chromatography analysis of arachidonic acid metabolites in plasma after stimulation of whole blood *ex vivo*.

Anal. Biochem. ; **216** ; 392-400.

Surman M.D., Mulvihill M.J., Miller M.J., 2002.

Regio- and stereoselective ring openings of 3-aza-2-oxabicyclo[2.2.1]hept-5-ene systems with copper catalyst-modified Grignard reagents: application to the synthesis of an inhibitor of 5-lipoxygenase.

J. Org. Chem. ; **67** ; 4115-4121.

SYBYL 6.9.1 - Molecular modeling software

2001, Tripos Inc., 1699 South Hanley Road, St. Louis, MO 63144-2913, U.S.A.

Szmuszkowicz J., Glenn E.M., Heinzelman R.V., Hester J.B., Jr., Youngdale G.A., 1966.
Synthesis and antiinflammatory activity of 2,3-bis(p-methoxyphenyl)indole and related compounds.

J. Med. Chem. ; **9** ; 527-536.

Tahri A., Buysens K.J., Van der Eycken E.V., Vandenberghe D.M., Hoornaert G.J., 1998.
Synthesis of α -carbolines and β -carbolines via intramolecular Diels-Alder reactions of 2(1*H*)-pyrazinones.

Tetrahedron ; **54** ; 13211-13226.

Tanabe T., Tohnai N., 2002.

Cyclooxygenase isozymes and their gene structures and expression.

Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 95-114.

Tang D.G., Porter A.T., 1997.

Target to apoptosis: a hopeful weapon for prostate cancer.

Prostate ; **32** ; 284-293.

Thureson E.D., Lakkides K.M., Rieke C.J., Sun Y., Wingerd B.A., Micielli R., Mulichak A.M., Malkowski M.G., Garavito R.M., Smith W.L., 2001.

Prostaglandin endoperoxide H synthase-1.

J. Biol. Chem. ; **276** ; 10347-10359.

Tremont-Lukats I.W., Bobustuc G., Lagos G.K., Lolas K., Kyritsis A.P., Puduvalli V.K., 2003.

Brain metastasis from prostate carcinoma: the M.D. Anderson cancer center experience.

Cancer ; **98** ; 363-368.

Tries S., Neupert W., Laufer S., 2002.

The mechanism of action of the new antiinflammatory compound ML3000: inhibition of 5-LOX and COX-1/2.

Inflamm. Res. ; **51** ; 135-143.

Trudell M.L., Lifer S.L., Tan Y.-C., England W.B., Cook J.M., 1988.

Reactivity of 7,12-dihydropyrido[3,2-*b*:5,4-*b'*]diindole with electrophilic reagents. Experimental and computational results.

J. Org. Chem. ; **53** ; 4185-4190.

Tsuboi K., Sugimoto Y., Ichikawa A., 2002.

Prostanoid receptor subtypes.

Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; **68-69** ; 535-556.

Tsujii M., Kawano S., Tsuji S., Sawaoka H., Hori M., Dubois R.N., 1998.

Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells.

Cell ; **93** ; 705-716.

Tsukada T., Nakashima K., Shirakawa S., 1986.

Arachidonate 5-lipoxygenase inhibitors show potent antiproliferative effects on human leukemia cell lines.

Biochem. Biophys. Res. Commun. ; **140** ; 832-836.

Tuxhorn J.A., Ayala G.E., Rowley D.R., 2001.

Reactive stroma in prostate cancer progression.

J. Urol. ; 166 ; 2472-2483.

Uddin J., Rao P.N.P., Knaus E.E., 2003.

Design and synthesis of novel rofecoxib analogs as potential cyclooxygenase (COX-2) inhibitors: replacement of the methylsulfonyl pharmacophore by a sulfonylazide bioisostere.

J. Heterocyclic Chem. ; 40 ; 861-867.

Ulbrich H., Fiebich B., Dannhardt G., 2002.

Cyclooxygenase-1/2 (COX-1/COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) inhibitors of the 6,7-diaryl-2,3-1*H*-dihydropyrrolizine type.

Eur. J. Med. Chem. ; 37 ; 953-959.

Van der Donk W.A., Tsai A., Kulmacz R.J., 2002.

The cyclooxygenase reaction mechanism.

Biochemistry ; 41 ; 15451-15458.

Van Moorselaar R.J.A., Voest E.E., 2002.

Angiogenesis in prostate cancer: its role in disease progression and possible therapeutic approaches.

Mol. Cell. Endocrinol. ; 197 ; 239-250.

Vane J.R., 1971.

Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs.

Nat. New Biol. ; 231 ; 232-235.

Wagner M., Loos J., Weksler N., Gantner M., Corless C.L., Barry J.M., Beer T.M., Garzotto M., 2005.

Resistance of prostate cancer cells lines to COX-2 inhibitor treatment.

Biochem. Biophys. Res. Commun. ; 332 ; 800-807.

Wakabayashi K., Totsuka Y., Fukutome K., Oguri A., Ushiyama H., Sugimura T., 1997.

Human exposure to mutagenic/carcinogenic heterocyclic amines and comutagenic β -carbolines.

Mutation Res. ; 376 ; 253-259.

Walsh D.A., Franzysheh S.K., Yanni J.M., 1989.

Synthesis and antiallergy activity of 4-(diarylhydroxymethyl)-1-[3-(aryloxy)propyl] piperidines and structurally related compounds.

J. Med. Chem. ; 32 ; 105-118.

Wang D., DuBois R.N., 2004.

Cyclooxygenase 2-derived prostaglandin E2 regulates the angiogenic switch.

Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. ; 101 ; 415-416.

Wang R., Lai L., Wang S., 2002.

Further development and validation of empirical scoring functions for structure-based binding affinity prediction.

J. Comp.-Aided Mol. Des. ; 16 ; 11-26.

Weber A., Casini A., Hrinr A., Kuhn D., Supuran C.T., Scozzafava A., Klebe G., 2004.
Unexpected nanomolar inhibition of carbonic anhydrase by COX-2-selective celecoxib:
new pharmacological opportunities due to related binding site recognition.
J. Med. Chem. ; **47** ; 550-557.

Werbel L.M., Kesten S.J., Turner W.R., 1993.
Structure-activity relationships of antimalarial indolo[3,2-*c*]quinolines [1, 2].
Eur. J. Med. Chem. ; **28** ; 837-852.

Werz O., Klemm J., Samuelsson B., Rådmark O., 2000.
5-Lipoxygenase is phosphorylated by p38 kinase-dependent MAPKAP kinases.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. ; **97** ; 5261-5266.

Whitesides G.M., Casey C.P., Krieger J.K., 1971.
The thermal decomposition of vinylic copper (I) and silver (I) organometallic compounds.
J. Am. Chem. Soc. ; **93** ; 1379-1389.

Williams C.S., Watson A.J.M., Sheng H., Helou R., Shao J., Dubois R.N., 2000.
Celecoxib prevents tumor growth *in vivo* without toxicity to normal gut: lack of correlation
between *in vitro* models.
Cancer Res. ; **60** ; 6045-6051.

**Woods K.W., McCroskey R.W., Michaelides M.R., Wada C.K., Hulkower K.I.,
Bell R.L., 2001.**
Thiazole analogues of the NSAID indomethacin as selective COX-2 inhibitors.
Bioorg. Med. Chem. Lett. ; **11** ; 1325-1328.

Wu G., Kulmacz R.J., Tsai A., 2003.
Cyclooxygenase inactivation kinetics during reaction of prostaglandin H synthase-1 with
peroxide.
Biochemistry ; **42** ; 13772-13777.

Wynne J.H., Stalick W.M., 2003.
Syntheses of functionalized 1,4-disubstituted γ -carbolines.
J. Org. Chem. ; **68** ; 4845-4849.

**Xie N., Binstead R.A., Block E., Chandler W.D., Lee D.G., Meyer T.J., Thiruvazhi M.,
2000.**
Reduction of permanganate by thioanisole: Lewis acid catalysis.
J. Org. Chem. ; **65** ; 1008-1015.

Xu L., Cheng J., Trudell M.L., 2003.
Chromium (VI) oxide catalysed oxidation of sulfides to sulfones with periodic acid.
J. Org. Chem. ; **68** ; 5388-5391.

Yang Y., Martin A.R., Nelson D.L., Regan J., 1992.
Synthesis of some 5-substituted indoles.
Heterocycles ; **34** ; 1169-1175.

Yoshimoto T., Takahashi Y., 2002.

Arachidonate 12-lipoxygenases.

Prostaglandins Other Lipid Mediat. ; 68-69 ; 245-262.

Zha S., Yegnasubramanian V., Nelson W.G., Isaacs W.B., De Marzo A.M., 2004.

Cyclooxygenases in cancer: progress and perspective.

Cancer Lett.; **215** ; 1-20.

Zhang H., Larock R.C., 2001.

Synthesis of beta- and gamma- carbolines by the palladium-catalyzed iminoannulation of internal alkynes.

Org. Lett. ; **3** ; 3083-3086.

Zhao L., Funk C.D., 2004.

Lipoxygenase pathways in atherogenesis.

Trends Cardiovasc. Med. ; **14** ; 191-195.

Zhao D., Xu F., Chen C., Yillyer R.D., Grabowski E.J.J., Reider P.J., 1999.

Efficient syntheses of 2-(3',5'-difluorophenyl)-3-(4'-methylsulfonylphenyl)-cyclopent-2-enone, a potent COX-2 inhibitor.

Tetrahedron ; **55** ; 6001-6018.

Zhu J., Song X.S., Lin H.-P., Young D.C., Yan S., Marquez V.E., Chen C.-S., 2002.

Using cyclooxygenase-2 inhibitors as molecular platforms to develop a new class of apoptosis-inducing agents.

J. Natl. Cancer Inst. ; **94** ; 1745-1757.

Zhu J., Huang J.-W., Tseng P.-H., Yang Y.-T., Fowble J., Shiau C.-W., Shaw Y.-J., Kulp S.K., Chen C.-S., 2004.

From the cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib to a novel class of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 inhibitors.

Cancer Res. ; **64** ; 4309-4318.

Zhu W., Ma D., 2005.

Synthesis of aryl sulfones via L-proline-promoted CuI-catalyzed coupling reaction of aryl halides with sulfinic acid salts.

J. Org. Chem. ; **70** ; 2696-2700.

Zouvelekis D., Yannakopoulou K., Mavridis I.M., Antoniadou-Vyza E., 2002.

The self-association of the drug acetamin and its interactions and stabilization with β -cyclodextrin in aqueous solution as inferred from NMR spectroscopy and HPLC studies.

Carbohydrate Res. ; **337** ; 1387-1395.

CONCEPTION, SYNTHÈSE ET ÉVALUATION PHARMACOLOGIQUE
DE γ -CARBOLINES,
INHIBITEURS POTENTIELS DE 5-LIPOXYGENASE ET DE CYCLOOXYGENASES.

Deux systèmes enzymatiques clés dans l'inflammation se sont révélés être impliqués dans de nombreux cancers (côlon, pancréas, sein, poumon) et notamment dans le cancer de la prostate (CaP). La 5-lipoxygénase (5-LO) contrôle la formation des leucotriènes, médiateurs de l'inflammation de l'allergie. La cyclooxygénase existe sous deux isoformes : COX₁ et COX₂. COX₁ est exprimée de manière constitutive et COX₂ est exprimée de manière inductible. La voie des cyclooxygénases contrôle la formation des prostaglandines, médiateurs de la réponse inflammatoire. En regard des similitudes de leurs surexpressions dans le cancer humain, il est possible d'envisager un nouveau traitement du cancer ciblé sur la dérégulation du métabolisme de l'acide arachidonique. L'objet de cette étude est de participer à la recherche sur le cancer de la prostate par la conception puis la synthèse en parallèle de N-benzoyltétrahydro- γ -carbolines, inhibiteurs potentiels mixtes 5-LO / COXs. Dans ce but, une stratégie de synthèse de type convergente fut développée à partir de chlorures de phénylhydrazine substitués en position para et de dérivés de pipéridin-4-one qui se cyclisent en tétrahydro- γ -carbolines par catalyse acide (méthode de Fischer). Parallèlement à cette voie de synthèse, un composé inhibiteur de la 5-LO, le méthoxytétrahydropyranne (MTHP) du ZD-2138, est alkylé par une chaîne polyméthylénique à trois carbones. La condensation de la tétrahydro- γ -carboline et du MTHP alkylé en milieu basique fournit un composé dont l'azote indolique libre est ensuite benzoylé ou benzylé. Les activités 5-LO et COX₁/COX₂ ont été obtenues *ex vivo* sur sang total humain. Les tests concernant l'inhibition de la prolifération cellulaire sont effectués sur différentes lignées cellulaires (de type L-1210, MCF7 et PC-3) afin de mettre en évidence le pouvoir cytotoxique des composés.

**DESIGN, SYNTHESIS AND PHARMACOLOGICAL VALUATION OF γ -
CARBOLINES,
POTENTIAL INHIBITORS OF 5-LIPOXYGENASE AND OF
CYCLOOXYGENASES.**

Two key enzymatic systems in the inflammation process revealed being implicated in many cancers (colon, pancreas, breast, lung) and more particularly in prostate cancer (PCa). The 5-lipoxygenase (5-LO) monitors leucotrienes' formation which are inflammation of allergy mediators. There are two isoforms of the cyclooxygenase enzyme : COX₁ and COX₂. COX₁ is constitutively expressed and COX₂ is the inducible isoform. The cyclooxygenases monitor the formation of the prostaglandins, responsive inflammation mediators. Facing the similarities of the overexpressions of those enzymes in human cancer, a new treatment based on the disregulation of the arachidonic acid metabolism can be considered. The purpose of this study is to participate to the PCa therapeutical research particularly in its hormono-independant state by the rational design, the organic synthesis and then the pharmacological valuation of some N-benzoyltetrahydro- γ -carbolines, a new class of potential 5-LO/COX dual inhibitors. With this intention, a convergent synthetic strategy was developed starting from para substituted phenylhydrazine chlorides and 4-piperidone derivatives which further cyclise in tetrahydro- γ -carbolines by an acid catalysis (the Fischer method). In parallel, a 5-LO inhibitor, the methoxy tetrahydropyran (MTHP) part of ZD-2138, is alkylated by a polymethylene scheme composed of three carbon atoms. The condensation reaction between the tetrahydro- γ -carboline and the alkylated MTHP in alkaline medium results in a compound which is subsequently benzoylated or benzylated. 5-LO and COX₁/COX₂ activities were obtained *ex vivo* on human whole blood. The tests measuring the inhibition of the cellular proliferation were achieved on different cellular issues (L-1210, MCF7, PC-3) in order to display the cytotoxic potential of the compounds.
